

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014 年 4 月 3 日(03.04.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/050133 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/01 (2006.01) *G01N 21/65* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/005755
- (22) 国際出願日: 2013 年 9 月 27 日(27.09.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-217669 2012 年 9 月 28 日(28.09.2012) JP
- (71) 出願人: 富士フイルム株式会社(FUJIFILM CORPORATION) [JP/JP]; 〒1068620 東京都港区西麻布 2 丁目 2 6 番 3 0 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 納谷 昌之(NAYA, Masayuki); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島 5 7 7 番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 山添 昇吾(YAMAZOE, Shogo); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島 5 7 7 番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 柳田 征史, 外(YANAGIDA, Masashi et al.); 〒2220033 神奈川県横浜市港北区新横浜 3 - 1 8 - 3 新横浜 K S ビル 7 階 柳田国際特許事務所 Kanagawa (JP).

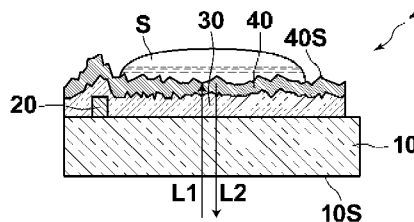
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正を受理した際には再公開される。(規則 48.2(h))

(54) Title: OPTICAL ELECTRIC FIELD AMPLIFICATION DEVICE AND MANUFACTURING METHOD THEREFOR, AND MEASUREMENT DEVICE USING SAME

(54) 発明の名称: 光電場増強デバイスとその製造方法、及びそれを用いた測定装置



(57) Abstract: [Problem] To deliver chemical imaging with which a highly accurate signal image can be obtained without requiring precision machine control, and which is applicable to samples of at least μm order, such as cells. [Solution] An optical electric field amplification device (1) used in a measurement method that carries out two-dimensional scanning inwards of a surface, detects, from the rear surface (10s) side, signal light from each scanning point that has been irradiated with excitation light (L1), and obtains a two-dimensional signal image of the surface on the basis of the detected signal light, said optical electric field amplification device (1) being provided with: a transparent substrate (10); a marker pattern (20) formed directly above the transparent substrate (10) and extending in a direction non-parallel to the main scanning direction of the two-dimensional scanning; and microrelief structures (30, 40) which are formed on the marker pattern (20) and the transparent substrate (10), and of which at least the surface (40s) comprises a metallic film (40).

(57) 要約: 【課題】精密な機械制御を要することなく精度の高い信号画像を取得可能であり、細胞などの μm オーダー以上の試料にも適用可能なケミカルイメージングを実現する。【解決手段】光電場増強デバイス (1) は、表面内方向に 2 次元走査して、励起光 (L1) 照射した各走査点からの各信号光を裏面 (10s) 側から検出し、検出された信号光に基づいて表面における 2 次元信号画像を取得する測定方法に用いられるものであり、透明基板 (10) と、透明基板 (10) 上に直接形成され、2 次元走査における主走査方向と非平行方向に延びるマーカーパターン (20) と、マーカーパターン (20) 及び透明基板 (10) 上に形成された少なくとも表面 (40s) が金属膜 (40) からなる微細凹凸構造 (30, 40) を備えた構成としている。

WO 2014/050133 A1

明 細 書

発明の名称：

光電場増強デバイスとその製造方法、及びそれを用いた測定装置

技術分野

[0001] 本発明は、局在プラズモンを誘起しうる微細な金属凹凸構造を備えた光電場増強デバイスとその製造方法、及び、この光電場増強デバイスを用いて増強された信号光を検出してその物理特性を測定する測定装置に関するものである。

背景技術

[0002] 金属表面における局在プラズモン共鳴現象による電場増強効果を利用した光電場増強デバイスが知られている。かかる光電場増強デバイスは、金属体、特に表面にナノオーダーの凹凸を有する金属体に試料を接触させた状態で光を照射すると、その表面に局在プラズモン共鳴による増強電場を生じることから、光の照射により被検体から発せられる信号光の光特性に基づいて被検体の同定や定量を行う測定装置において、被検体を担持する担体（基板）として適用することにより、信号光を増強電場により増強させて高感度な測定を可能にする。

[0003] 光電場増強デバイスを利用した測定方法として、表面増強ラマン（S E R S）分光法が良く知られている（非特許文献 1 参照）。ラマン分光法は、物質に単波長光を照射して得られる散乱光を分光して、ラマン散乱光のスペクトル（ラマンスペクトル）を得る方法であり、ラマンシフトの検出による物質の同定や、ラマンスペクトル強度による試料中の被検体濃度の測定等に使われている。

[0004] 光電場増強デバイスとしては、S i 基板の表面に凹凸を設け、その凹凸面に金属膜を形成した基板が主に用いられている（特許文献 1 ～ 3 参照）。

[0005] また、A l 基板の表面を陽極酸化して一部を金属酸化物層（ $A l_2 O_3$ ）とし、陽極酸化の過程で金属酸化物層内部に自然形成され、金属酸化物層の表

面において開口した複数の微細孔内に、金属が充填された基板も提案されている（特許文献4参照）。

[0006] また、細胞などの μm オーダー以上の試料であっても、試料自身が信号光に対する遮蔽体ならず良好なS/Nで増強された信号光を検出可能にする光電場増強デバイスとして、本発明者らは、ベーマイトと呼ばれる透明微細凹凸構造の凹凸表面を、金属膜で覆った光電場増強デバイスを開示している（特許文献5，6）。

[0007] かかる光電場増強デバイスによれば、デバイスの裏面側（試料担持面と反対側）から増強された信号光を検出することができるため、被検体により遮蔽されることなく増強光電場により増強された信号光を検出することができる。

[0008] 一方、担体上の試料を決まったポイント間隔（空間分解能）で走査して多点測定を行い、測定結果を可視化して面分布画像（マップ）を表示するケミカルイメージング技術がある。ケミカルイメージングによれば、試料の面内における成分分布等を直感的に把握することができる。特許文献7，8にはラマンスペクトルイメージングが開示されている。

先行技術文献

特許文献

- [0009] 特許文献1：特表2006-514286号公報
特許文献2：特許第4347801号公報
特許文献3：特開2006-145230号公報
特許文献4：特開2005-172569号公報
特許文献5：特開2012-63293号公報
特許文献6：特開2012-63294号公報
特許文献7：特開2000-055809号公報
特許文献8：特開2007-147357号公報

非特許文献

- [0010] 非特許文献1：Optics Express Vol.17, No.2118556

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0011] ケミカルイメージングにおいては、2次元走査による多点測定を行うが、2次元走査において、副走査方向のスタートラインが装置のクロック等の影響（ジッタ）によって揃わなくなる現象を生じるため、精度の高い信号画像を取得するためにジッタの補正（除去）を行う必要がある。ジッタ補正は、精密な機械制御を行うことが一般的であるが、精密な機械制御には高価な制御装置が必要となることから、低コスト化が望まれている。
- [0012] 本発明は上記事情に鑑みてなされたものであり、精密な機械制御を要することなく精度の高い信号画像を取得可能なケミカルイメージングが可能であり、細胞などの μm オーダー以上の試料であっても高いS/Nにて測定が可能な測定装置及びそれを可能にする光電場増強デバイスを提供することを目的とするものである。

課題を解決するための手段

- [0013] 本発明の光電場増強デバイスは、励起光の照射により表面に局在プラズモンが誘起され、励起光の照射により表面に載置された試料から発せられる信号光の強度を増強する光電場増強デバイスであって、その表面に対して、励起光を表面内方向に2次元走査して、各走査点からの各信号光を裏面側から検出し、検出により得られた各信号光に基づいて表面における2次元信号画像を取得する測定方法に用いられるものであり、透明基板と、透明基板上に直接形成され、2次元走査における主走査方向と非平行方向に延びるマーカパターンと、マーカパターン及び透明基板上に形成された少なくとも表面が金属膜からなる微細凹凸構造を備えたことを特徴とするものである。
- [0014] ここで、透明とは、励起光、および該光により被検体から生じる光に対して、透過率が50%以上であることをいうものとする。なお、これらの光に対して、透過率は75%以上、さらには90%以上であることが好ましい。
- [0015] 少なくとも表面を覆う金属微細構造の下層の透明下地基材は、下地基材に

照射される励起光、および励起光により被検体から生じる光に対し、透過率が50%以上であるものとする。なお、これらの光に対して、透過率は75%以上、さらには90%以上であることが好ましい。

[0016] ここで「載置された試料」とは、具体的にはデバイス表面に接触あるいは隣接している試料や、デバイス表面に近接して存在する試料等である。

[0017] 微細凹凸構造は、バイヤーライト又はベーマイトからなる透明微細凹凸構造の凹凸面に金属膜が成膜されてなるものであることが好ましい。

[0018] マーカーパターンの好適な態様としては、主走査方向と略垂直に交わるライン状のパターンが挙げられる。

[0019] マーカーパターンとしては、Cr, Au, Al, 又はAg等の、励起光に対する反射率が高い少なくとも1種の材料から形成されてなる態様、又は、カーボンブラック又は窒化チタン等の、励起光に対する吸収率が高い少なくとも1種の材料により形成されてなる態様、励起光の照射により蛍光を発する材料により形成されてなる態様が挙げられる。

[0020] 本発明の測定装置は、上記本発明の光電場増強デバイスと、励起光をデバイスの試料が載置される表面に照射する励起光照射手段と、励起光をデバイスの表面内方向に2次元走査させる走査手段と、各走査点からの各信号光を裏面側から検出する検出手段と、検出手段により検出された走査点からの信号光に基づいて、表面における2次元信号画像及びマーカーパターン画像を取得する画像取得手段と、マーカーパターン画像に基づいて、取得された2次元信号画像を補正する画像補正手段と、画像補正手段により補正された2次元信号画像を表示する表示手段を備えたことを特徴としている。

[0021] 本発明の測定装置において、透明基板のマーカーパターン形成面と、微細凹凸構造表面との距離が、検出手段の焦点深度以内であることが好ましい。

[0022] 本発明の光電場増強デバイスの製造方法は、透明基板を用意し、透明基板上に、2次元走査における主走査方向と非平行方向に延びるマーカーパターンを直接形成し、このマーカーパターンが形成された透明基板上に、アルミニウムを主成分とする金属膜を形成し、少なくとも該金属膜を浸水させた後

に煮沸処理を施すことによりベーマイト層を形成し、ベーマイト層上に金属膜を形成することを特徴とするものである。

[0023] マーカーパターンは、リソグラフィにより形成することが好ましい。

発明の効果

[0024] 本発明の光電場増強デバイスは、透明基板と、透明基板上に直接形成され、2次元走査における主走査方向と非平行方向に延びるマーカーパターンと、マーカーパターン及び透明基板上に形成された少なくとも表面が金属膜からなる微細凹凸構造を備えた構成としている。かかる構成の光電場増強デバイスを用いたケミカルイメージング測定では、励起光照射のジッタに基づく2次元画像のずれを、マーカーパターンの画像のずれ量に基づいて補正することにより補正して精度の高い信号画像を取得することができる。また、光電場増強デバイスが励起光や信号光に対して透明な材料により構成していることから、信号光の検出やマーカーパターンの検出を光電場増強デバイスの裏面側（試料接触面と反対側）から実施することができる。従って、本発明によれば、精密な機械制御を要することなく精度の高い信号画像を取得可能であり、細胞などの μm オーダー以上の試料であっても高いS/Nにてケミカルイメージングを実施することができる。

図面の簡単な説明

[0025] [図1A]本発明の光電場増強デバイスの一実施形態を示す上面概略図

[図1B]本発明の光電場増強デバイスの一実施形態を示す厚み方向断面概略図

[図2A]本発明の光電場増強デバイスのその他の実施形態を示す上面概略図（その1）

[図2B]本発明の光電場増強デバイスのその他の実施形態を示す上面概略図（その2）

[図3]本発明の光電場増強デバイスの製造方法の一実施形態を示す厚み方向断面図

[図4]本発明の光電場増強デバイスを用いた測定装置の一実施形態を示す概略断面図

[図5]本発明の測定装置における画像補正手段の処理前（左図）及び処理後（右図）のマーカパターン画像を示す模式図

発明を実施するための形態

[0026] 以下、図面を参照して本発明の測定方法および測定装置の実施形態について説明する。なお、視認しやすくするため、図面中の各構成要素の縮尺等は実際のものとは適宜異ならせてある。

[0027] 「光電場増強デバイス及びそれを用いた測定装置」

図1Aは、本発明の一実施形態にかかる光電場増強デバイス1の上面概略図、図1Bは厚み方向断面概略図である。

光電場増強デバイス1は、図1Aに示されるように、試料が載置される表面40sに対して、主走査方向と副走査方向に2次元走査して、各走査点からの各信号光に基づいて表面における2次元信号画像を得るイメージングに用いられるものであり、図1Bに示されるように、励起光L1の照射により表面40sに局在プラズモンが誘起され、励起光L1の照射により表面40sに載置された試料から発せられる信号光L2の強度を増強するものである。

[0028] 光電場増強デバイス1は、透明基板10上に、透明基板10上に直接形成されたマーカパターン20と、透明基板10及びマーカパターン20上に形成された、透明微細凹凸構造30と、透明微細凹凸構造30上に形成された金属膜からなる微細凹凸構造40とからなり、各走査点からの各信号光L2は、裏面10s側から検出される。

[0029] 透明基板10は、透明性を有していれば特に制限されないが、透明性が高い方が好ましく、例えばガラスやアクリル樹脂等が挙げられる。透明基板10は単層構造であっても積層構造であってもよい。積層基板は、例えば、ガラス基板上に保護膜としてTiO₂膜を形成してなるもの等が挙げられる。

[0030] マーカパターン20は、励起光L1の照射により、信号光L2を生じて後記する画像取得手段により2次元信号画像を取得可能なものであれば特に制限されないが、励起光L1に対して反射率が高い材料や、励起光L1に対

する吸収率が高い材料、また、励起光 L 1 の照射により蛍光を発する材料等が挙げられる。

[0031] 励起光 L 1 に対して反射率の高い材料としては、金属が挙げられ、C r, A u, 又は A g, A l 等が挙げられる。マーカパターン 2 0 は、C r, A u, A l, 又は A g のうち少なくとも 1 種の金属から形成されてなることが好ましく、C r が特に好ましい。

励起光 L 1 に対して吸収率の高い材料としては、カーボンブラック又は窒化シリコン等が挙げられる。

[0032] また、蛍光は、検出器に到達するまでに配される波長選択フィルタによりカットされにくいことから、特定領域にのみ形成するマーカとして利用することも出来る。

[0033] マーカパターン 2 0 は、副走査方向のスタートラインが装置のクロック等の影響（ジッタ）によって揃わなくなる現象を補正（除去）して、精度の高い信号画像を取得するために用いられるものであるため、主走査方向と平行方向に延びるパターンではその補正に用いることができない。従って、マーカパターン 2 0 は、主走査方向と非平行方向に延びるパターンを有していればよいが、図 1 A に示されるように、主走査方向と略垂直に交わるライン状のパターンが補正しやすく好ましい。

[0034] 図 1 A に示されるパターン以外には、図 2 A に示されるストライプ状のパターンや、図 2 B に示される格子状のパターン等を用いることができる。ストライプ状のパターンは、より細かい補正が実施でき、格子状のパターンは、副走査方向のジッタ補正にも有効である。チェッカーボード形状等の微細なパターンは、局所的な場所を精密に特定する測定に有効である。

[0035] マーカパターン 2 0 は、感度良く信号光を検出可能とするためには、5 0 n m 以上の厚みを有していることが好ましい。

[0036] 透明微細凹凸構造 3 0 としては、その上に成膜される金膜の表面である微細凹凸構造 4 0 の表面において局在プラズモンが誘起されうる凹凸構造（平均深さ、平均ピッチ）であれば特に制限されない。透明微細凹凸構造 3 0 と

しては、バイヤーライト層又はベーマイト層が好ましく、形成方法が容易であり、凹凸構造の面内均一性が高いことからベーマイト層であることが最も好ましい。ベーマイトを用いた光電場増強デバイス 1 を用いた態様では、表面凹凸構造の面内均一性が高いので、同一試料に対して、光照射箇所を変えて測定を実施しても、再現性のよいデータが得られる。したがって、同一試料に対して、光照射箇所を変えて複数のデータを取り、データの信頼性を上げることが可能である。

[0037] 上記透明微細凹凸構造 30 としては、その他にアルミニウムを陽極酸化した後非陽極酸化部分を除去して得られる陽極酸化アルミニウム皮膜等が例示される。また、本実施形態では透明基板 10 と透明微細凹凸構造 30 とが異なる材料により構成された態様について示してあるが、透明基板 10 の表面を加工して透明微細凹凸構造 30 を形成した態様であってもよく、この場合は、透明基板 10 と透明微細凹凸構造 30 とが一体化されてなる構成となる。かかる構成は、例えば、ガラス基板の表面をリソグラフィーとドライエッチング処理することにより形成することができる。

[0038] 金属膜からなる微細凹凸構造 40 としては特に制限されず、励起光 L1 の照射により良好な局在プラズモンを誘起可能な金属であることが好ましい。かかる金属としては、Au、Ag、Cu、Al、Pt、およびこれらを主成分とする合金等が挙げられ、Au が特に好ましい。

[0039] 金属膜からなる微細凹凸構造 40 は、その凹凸の凸部の平均的な大きさおよび平均ピッチは、励起光 L1 の照射により表面において局在プラズモンを生じさせるものであれば特に限定されないが、励起光 L1 の波長より短いことが好ましい。金属膜からなる微細凹凸構造 40 は、凸部頂点から隣接する凹部の底部までの平均深さが 200 nm 以下、凹部を隔てた最隣接凸部の頂点同士の平均ピッチが 200 nm 以下であることが望ましい。

[0040] 金属膜からなる微細凹凸構造 40 は、本実施形態のように下地基材に微細凹凸構造 30 を備え、下地の凹凸構造に応じた微細凹凸構造を有するものであってもよいし、下地基材に表面平滑性の高い基材を用い、下地基材の表面

の形状によらない微細凹凸構造を有するものであってもよい。ただし、下地の凹凸構造に応じた微細凹凸構造である場合でも、金属は凝集等をしやすいことから、下地と同じ形状のものとなるとは限らない。

[0041] マーカーパターン20と試料との焦点を考慮すると、マーカーパターン20は金属膜からなる微細凹凸構造40上に形成されてなることが好ましいと通常は考えられるが、ナノオーダーの極薄い微細凹凸構造上へのマーカーのパターニングは、微細凹凸構造に亀裂を生じやすく製造上困難である。本実施形態の構成によれば、微細凹凸構造に影響を与えることなく精度良い形状のマーカーパターンを形成することができる。

[0042] 光電場増強デバイス1において、マーカーパターン20、透明微細凹凸構造30、金属膜からなる微細凹凸構造40の各層の厚みは、信号光L2の検出を裏面10s側からマーカーパターン20及び、試料Sからの信号光（反射光や吸収光）を感度良く検出可能な厚みとなるように設計されることが好ましい。なお、透明基板10については、その厚みが厚く、オーダーが全く異なるため考慮する必要はない（基板はミリオーダー、他の層はナノオーダー）。

[0043] 裏面10s側からマーカーパターン20及び、試料Sからの信号光を感度良く検出可能とするためには、マーカーパターン20が基板10上に直接形成されてなることから、基板10の表面（マーカー形成面）と、金属膜からなる微細凹凸構造40の表面40sとが、信号光を検出する光学系の焦点深度内に存在する必要がある。

[0044] 従って、透明微細凹凸構造30と金属膜からなる微細凹凸構造40との合計膜厚は、検出に用いられる光学系の焦点深度を考慮して設計する必要がある。

[0045] 例えば、ラマン分光装置に適用する場合に、励起光として780nmのレーザを用い、透明基板10側から、倍率100倍、開口数0.9の顕微鏡レンズにて検出する系における焦点深度は約700nmである。この場合、透明微細凹凸構造30と金属膜からなる微細凹凸構造40との合計膜厚は70

0 nm以下において、十分な電場増強効果が得られる膜厚であればよいことになる。

[0046] 金属膜からなる微細凹凸構造40の平均膜厚は、励起光L1の照射により良好に局在プラズモンが誘起可能であり、10～100 nmの範囲内であることが好ましい。

[0047] 上記した焦点深度と局在プラズモンを良好に誘起可能である金属膜の膜厚を考慮した値であれば、透明微細凹凸構造30の厚みは特に制限されず、製造しやすい膜厚とすることが好ましい。例えば、透明微細凹凸構造30を200 nmの膜厚で形成し、その上に金膜を50 nmとすれば、合計膜厚が250 nmであり、マーカが形成される基板面と金属微細構造で形成される測定面は十分に焦点深度内の膜厚とすることができ、マーカからの反射光と信号光を同時に感度良く検出することができる。

[0048] 次に、図3を参照して、光電場増強デバイス1の製造方法について、透明微細凹凸構造30としてベーマイト層を備えた態様を例に説明する。

まず板状の透明基板10を用意し、透明基板10を純水洗浄したのち、マーカパターン20をパターン形成する。

[0049] パターン形成方法としては特に制限されないが、高精度なパターニングが可能なことから、光リソグラフィ技術により形成されることが好ましい。

[0050] その後、表面を純水洗浄した後、透明基板10及びマーカパターン20の表面にスパッタ法によりアルミニウム層30aを数十 nm程度の膜厚にて成膜する。

[0051] 次いで、純水を沸騰させた中に、アルミニウム層30a付き透明基板10を浸水させ、数分（5分程度）後に取り出す。この煮沸処理（ベーマイト処理）により、アルミニウム層は透明化し、透明微細凹凸構造（ベーマイト層）30が形成される。

[0052] 得られたベーマイト層30上に、Au等の金属膜を蒸着により成膜し、少なくとも表面に金属微細凹凸構造40を備えた光電場増強デバイス1を得ることができる。なお、金属膜40は、蒸着に限らず、たとえば金属の微粒子

を固定化して形成するようにしてもよい。また、蒸着法についても、通常の蒸着法に限らず、斜め蒸着法を用いてもよい。

以上のようにして光電場増強デバイスは製造することができる。

[0053] 次に、光電場増強デバイス1を用いてイメージングを実施する測定装置100について説明する。図4は、測定装置100の構成を示す概略断面図である。

[0054] 図4に示すように、測定装置100は、試料Sを表面40Sに載置した光電場増強デバイス1と、光電場増強デバイス1の裏面10s側（透明基板10側）から試料Sへ励起光L1を照射する励起光照射手段110と、励起光L1をデバイス1の表面内方向に2次元走査させる走査手段140と、試料S中の被検体から発せられ光電場増強デバイス1の作用により増強された各走査点からの信号光L2を、裏面10s側から検出する検出手段120と、検出手段120により検出された走査点からの信号光L2に基づいて、表面40sにおける2次元信号画像及びマーカパターン画像を取得する画像取得手段130と、マーカパターン20の画像に基づいて、取得された2次元信号画像を補正する画像補正手段150と、画像補正手段150により補正された2次元信号画像を表示する表示手段160とを備えている。

[0055] 本発明の測定装置において、既に述べたように、光電場増強デバイス1は、透明基板10のマーカパターン形成面と、微細凹凸構造表面40sとの距離は、検出手段の焦点深度以内となるように設計されている。

[0056] 励起光照射手段110は、励起光L1を射出する励起光源111と、励起光L1を基板10側へ透過させ、該励起光L1の照射により試料S中の被検体から生じ増強された信号光L2を含む基板10側からの光を光検出部120側へ反射させるダイクロイックミラー112と、該ダイクロイックミラー112を透過した励起光L1を光電場増強デバイス1の試料S載置された領域に集光すると共に、試料側からの光を平行光化するレンズ113とを備えている。

[0057] 励起光照射手段110には、必要に応じて、励起光源111から射出され

た光 L_1 を特定の波長の励起光とするレーザーラインフィルタ等を備えてもよい。

[0058] 光検出手段120は、透明基板10の裏面側に配置されてなり、信号光 L_2 を含みダイクロイックミラー112を透過してきた光のうち励起光 L_1 を吸収し、それ以外の光を透過するノッチフィルタ122と、分光器等の光検出器121とを備えている。光検出手段121には、ノッチフィルタ122と光検出器121との間に、ノイズ光を除去して分光器等の光検出器121に信号光 L_2 を平行光化して入射させるスリット及びレンズ対を備えていることが好ましい。ラマン散乱光を検出する場合、分光器を備えた態様では、入射されたラマン散乱光 L_s が分光されてラマンスペクトルが得られる。

[0059] 光検出器120により検出は、走査手段140により図1に示された主走査方向及び副走査方向に走査するとともに所定の間隔で配された各走査点において実施され、各走査点において検出された信号光 L_2 の強度やスペクトル等の検出結果は、画像取得手段130に送られる。

[0060] 画像取得手段130では、各走査点の検出結果に基づいて、表面40sにおける2次元信号画像及びマーカパターン画像を取得する。例えば、得られる検出結果がラマンスペクトルのような分光結果である場合には、得られるスペクトルパターンの中から所望の波長を決定し、表面40sにおける各走査点に対応する位置に、得られた信号を表示することによって、ラマンスペクトルの検出結果を可視化して2次元のイメージングを行うことができる。

[0061] しかしながら、この段階で得られる2次元画像はジッタのずれを含んだ画像である。測定装置100では、試料における2次元画像と共に、マーカパターン20の2次元画像も得られている。測定装置100の画像取得手段130において得られる画像の模式図を図5の左側に示す。

[0062] 図示されるように、ジッタのずれを含んだ画像は、マーカ信号画像と同様のずれを含んでいることになる。従って、予め、正しいマーカ信号画像を画像補正手段150に記憶しておき、画像補正手段150にて、画像取得

手段 130 において得られた 2 次元信号画像を、記憶されている正しいマーカ信号画像に基づいて、測定されたマーカ信号画像を正しく補正するように補正することにより、ジッタのずれを除去した正しい 2 次元信号画像を取得することができる。

[0063] 画像補正手段 150 により補正された 2 次元信号画像は、それを表示する表示手段 160 に送られて、図 5 右図のような正しい 2 次元信号画像として表示される。

[0064] 光電場増強デバイス 1 及びそれを用いた測定装置 100 は、ラマン散乱光、蛍光、高次高調波、レーリー散乱光あるいはミー散乱光等のケミカルイメージングに好適に使用することができる。

[0065] 光電場増強デバイス 1 は、透明基板 10 と、透明基板 10 上に直接形成され、2 次元走査における主走査方向と非平行方向に延びるマーカパターン 20 と、マーカパターン 20 及び透明基板 10 上に形成された少なくとも表面 40 s が金属膜 40 からなる微細凹凸構造 (30, 40) を備えた構成としている。かかる構成の光電場増強デバイスを用いたケミカルイメージング測定では、励起光 L1 照射のジッタに基づく 2 次元画像のずれを、マーカパターン 20 の画像のずれ量に基づいて補正することにより補正して精度の高い信号画像を取得することができる。また、光電場増強デバイス 1 は、励起光 L1 や信号光 L2 に対して透明な材料により構成していることから、試料の信号光 L2 の検出やマーカパターン 20 の検出を光電場増強デバイスの裏面 10 s 側 (試料接触面と反対側) から実施することができる。従って、本発明によれば、精密な機械制御を要することなく精度の高い信号画像を取得可能であり、細胞などの μm オーダー以上の試料であっても高い S/N にてケミカルイメージングを実施することができる。

[0066] 「設計変更」

上記実施形態において、励起光照射手段 110 は光検出手段 120 と共に、光電場増強デバイス 1 の裏面側に配置され、裏面側から励起光を照射する構成について説明したが、励起光照射手段 110 は、光電場増強デバイス 1

の表面側（被検体配置面側）に配置し、表面側から励起光を照射する構成としてもよい。光電場増強デバイスの金属微細凹凸構造に対しては、表裏のいずれから励起光が入射されても同様に局在プラズモン共鳴を誘起することができ、光電場増強効果を得ることができる。

請求の範囲

- [請求項1] 励起光の照射により表面に局在プラズモンが誘起され、前記照射により前記表面に載置された試料から発せられる信号光の強度を増強する光電場増強デバイスであって、
- 前記表面に対して、前記励起光を前記表面内方向に2次元走査して、各走査点からの各前記信号光を裏面側から検出し、該検出により得られた各信号光に基づいて前記表面における2次元信号画像を取得する測定方法に用いられるものであり、
- 透明基板と、
- 該透明基板上に直接形成され、前記2次元走査における主走査方向と非平行方向に延びるマーカーパターンと、
- 該マーカーパターン及び前記透明基板上に形成された少なくとも表面が金属膜からなる微細凹凸構造を備えたことを特徴とする光電場増強デバイス。
- [請求項2] 前記微細凹凸構造が、バイヤーライト又はベーマイトからなる透明微細凹凸構造の凹凸面に金属膜が成膜されてなるものであることを特徴とする請求項1に記載の光電場増強デバイス。
- [請求項3] 前記マーカーパターンが、前記主走査方向と略垂直に交わるライン状のパターンであることを特徴とする請求項1又は2に記載の光電場増強デバイス。
- [請求項4] 前記マーカーパターンが、前記励起光に対する反射率が高い材料により形成されてなることを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載の光電場増強デバイス。
- [請求項5] 前記マーカーパターンが、Cr, Au, Al, 又はAgのうち少なくとも1種の金属により形成されてなることを特徴とする請求項4に記載の光電場増強デバイス。
- [請求項6] 前記マーカーパターンが、前記励起光に対する吸収率が高い材料により形成されてなることを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載

の光電場増強デバイス。

[請求項7] 前記マーカパターンが、カーボンブラック又は窒化チタンのうち少なくとも1種より形成されてなることを特徴とする請求項6に記載の光電場増強デバイス。

[請求項8] 前記マーカパターンが、前記励起光の照射により蛍光を発する材料により形成されてなることを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載の光電場増強デバイス。

[請求項9] 請求項1～8のいずれかに記載の光電場増強デバイスと、
前記励起光を前記表面に照射する励起光照射手段と、
前記励起光を前記表面内方向に2次元走査させる走査手段と、
前記各走査点からの前記各信号光を前記裏面側から検出する検出手段と、

該検出手段により検出された前記走査点からの信号光に基づいて、
前記表面における前記2次元信号画像及び前記マーカパターン画像
を取得する画像取得手段と、

該マーカパターン画像に基づいて、前記取得された2次元信号画像
を補正する画像補正手段と、

該画像補正手段により補正された前記2次元信号画像を表示する表示
手段を備えたことを特徴とする測定装置。

[請求項10] 前記透明基板の前記マーカパターン形成面と、前記表面との距離が、
前記検出手段の焦点深度以内であることを特徴とする請求項9に記載
の測定装置。

[請求項11] 励起光の照射により表面に局在プラズモンが誘起され、前記照射に
より前記表面に載置された試料から発せられる信号光の強度を増強する
ものであり、

前記表面に対して、前記励起光を前記表面内方向に2次元走査して、
各走査点からの各前記信号光を裏面側から検出し、該検出により得
られた各信号光に基づいて前記表面における2次元信号画像を取得す

る測定方法に用いられる光電場増強デバイスの製造方法であって、

透明基板を用意し、

該透明基板上に、前記２次元走査における主走査方向と非平行方向に延びるマーカパターンを直接形成し、

該マーカパターンが形成された前記透明基板上に、

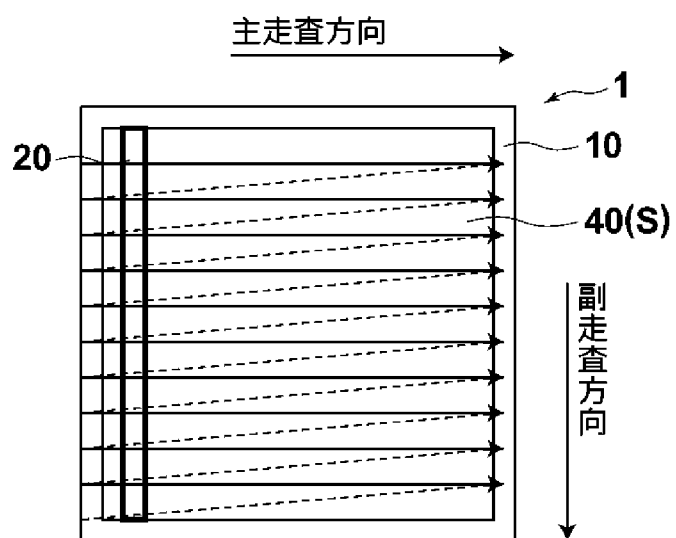
アルミニウムを主成分とする金属膜を形成し、

少なくとも該金属膜を浸水させた後に煮沸処理を施すことによりベーマイト層を形成し、

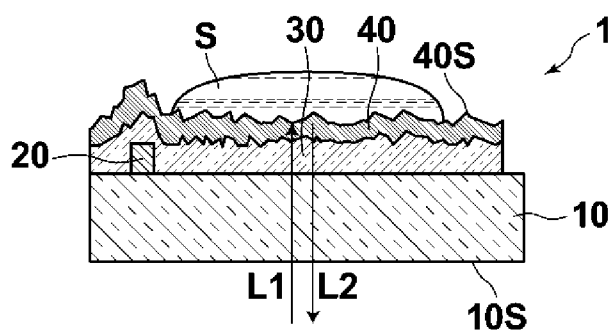
該ベーマイト層上に金属膜を形成することを特徴とする光電場増強デバイスの製造方法。

[請求項12] 前記マーカパターンを、リソグラフィにより形成することを特徴とする請求項１１に記載の光電場増強デバイスの製造方法。

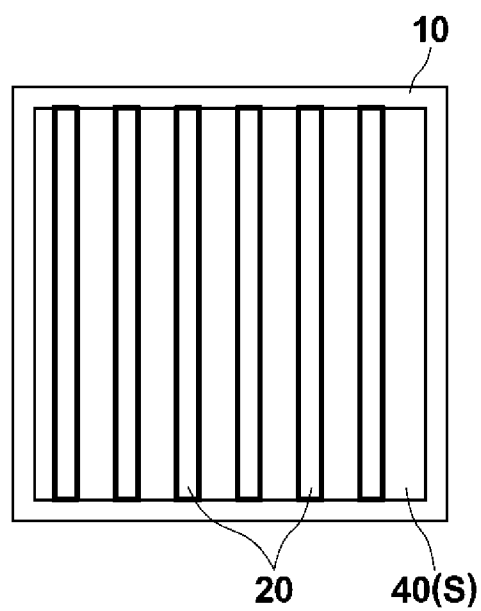
[図1A]



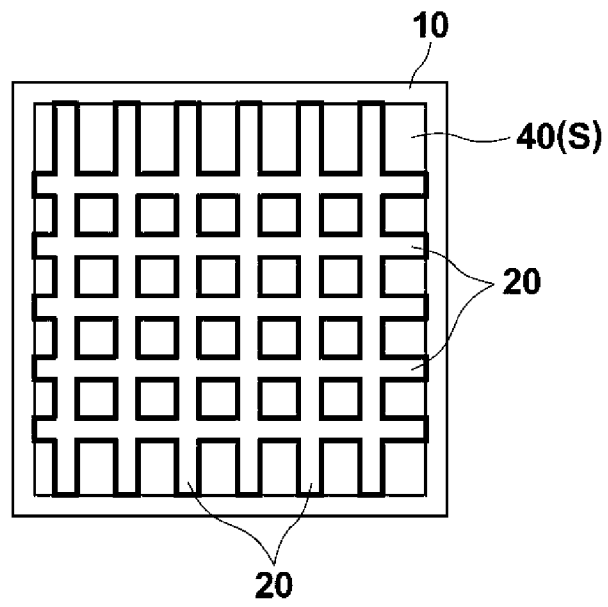
[図1B]



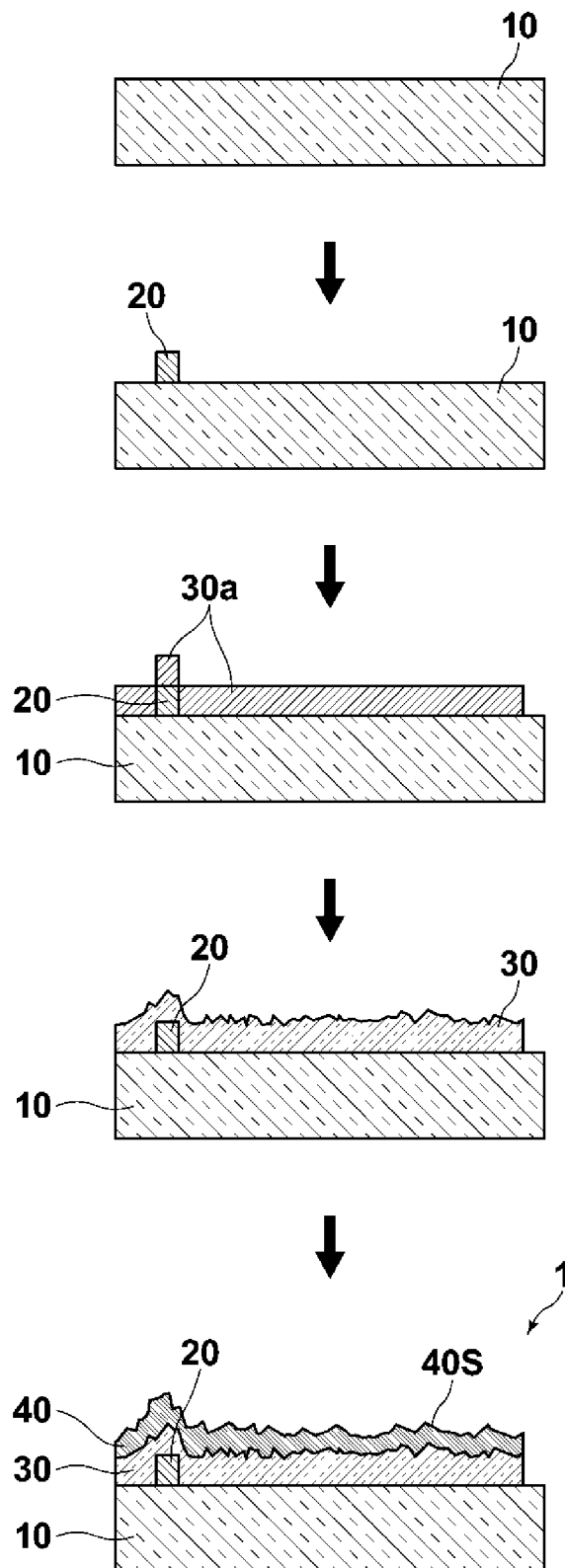
[図2A]



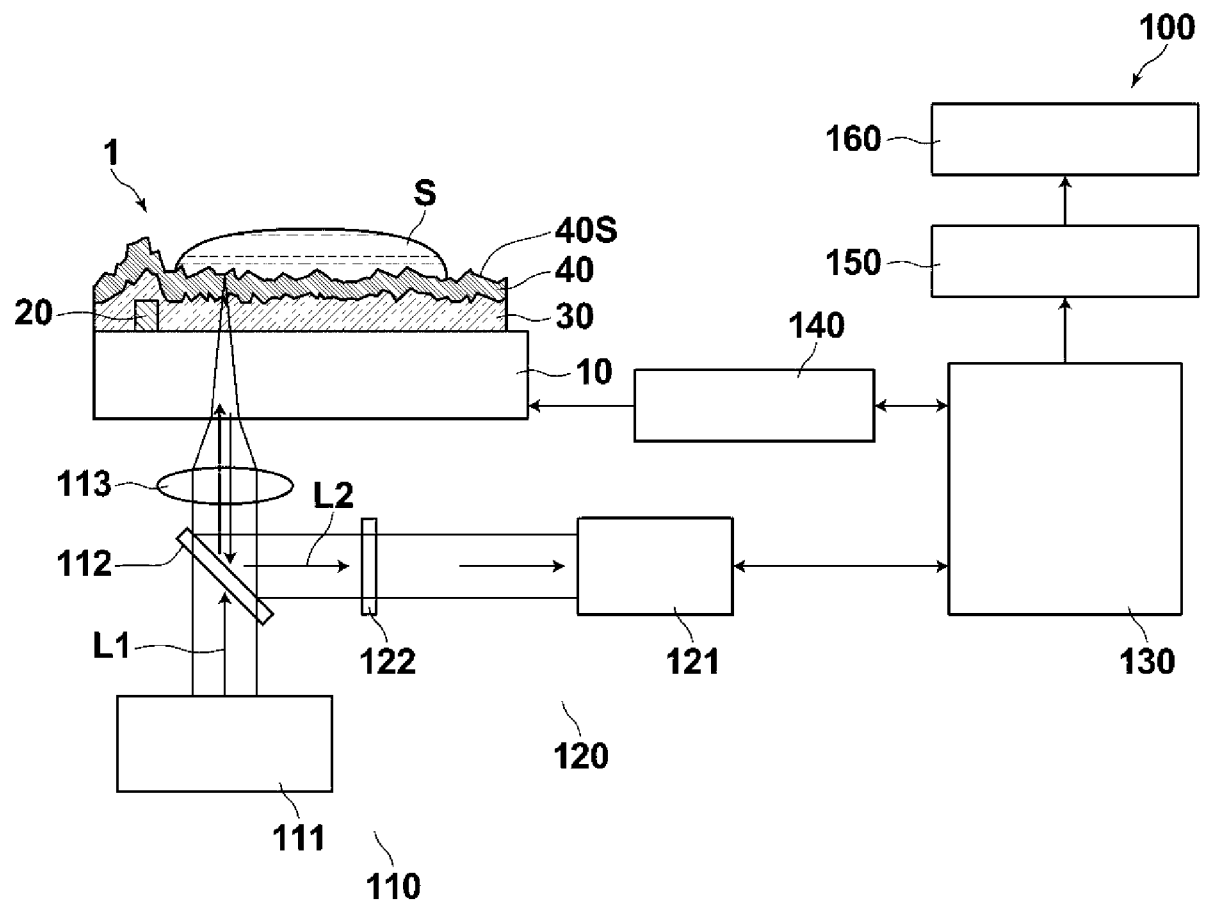
[図2B]



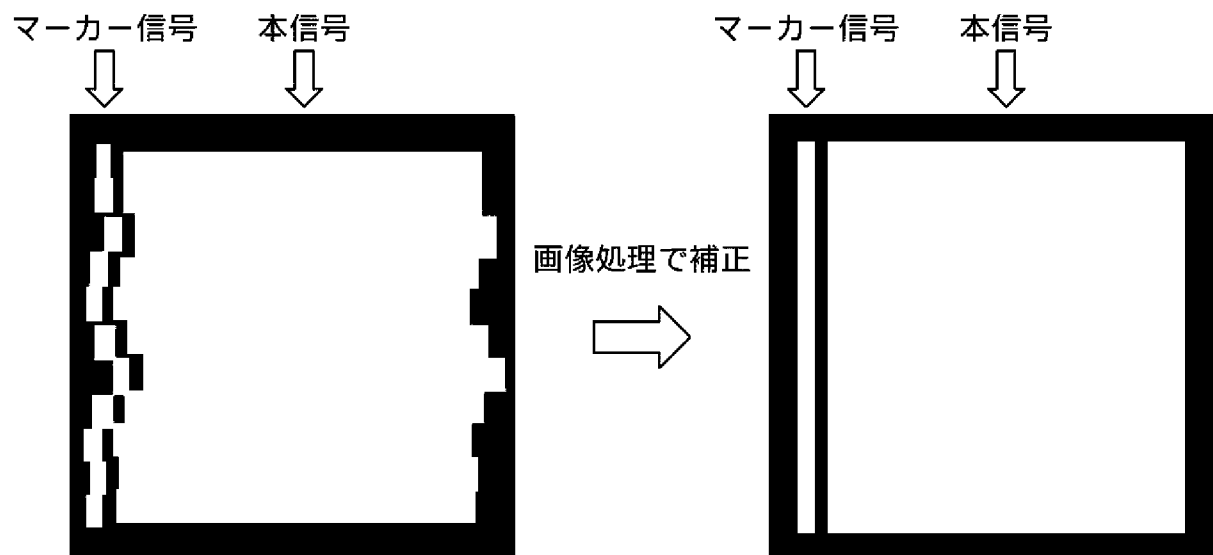
[図3]



[図4]



[図5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/005755

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/01(2006.01) i, G01N21/65(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N21/00-G01N21/65

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	US 2012/0236301 A1 (SEIKO EPSON CORP.), 20 September 2012 (20.09.2012), paragraphs [0083] to [0089], [0131] to [0159]; fig. 2 to 4, 10 to 13 & JP 2012-198059 A & CN 102680450 A	1-9, 11, 12 10
Y A	JP 2002-168786 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 14 June 2002 (14.06.2002), paragraphs [0275] to [0480]; fig. 10 to 19 (Family: none)	1-9, 11, 12 10
Y	JP 2012-63294 A (Fujifilm Corp.), 29 March 2012 (29.03.2012), paragraphs [0036] to [0062]; fig. 1 to 4 & US 2013/0182248 A1 & EP 2618134 A1 & WO 2012/035717 A & CN 103109178 A	2

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
20 January, 2014 (20.01.14)

Date of mailing of the international search report
04 February, 2014 (04.02.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/005755

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2003-248007 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 05 September 2003 (05.09.2003), paragraphs [0022] to [0023]; fig. 4 to 5 (Family: none)	10

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N21/01(2006.01)i, G01N21/65(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N21/00- G01N21/65

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y A	US 2012/0236301 A1 (SEIKO EPSON CORPORATION) 2012.09.20, [0083]-[0089], [0131]-[0159], Fig.2-Fig.4, Fig.10-Fig.13 & JP 2012-198059 A & CN 102680450 A	1-9, 11, 12 10
Y A	JP 2002-168786 A (富士写真フイルム株式会社) 2002.06.14, 【0275】-【0480】、図10-図19（ファミリーなし）	1-9, 11, 12 10

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 0 . 0 1 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

0 4 . 0 2 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

波多江 進

2W

9508

電話番号 03-3581-1101 内線 3292

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2012-63294 A (富士フイルム株式会社) 2012. 03. 29, 【0036】－【0062】、図1－図4 & US 2013/0182248 A1 & EP 2618134 A1 & WO 2012/035717 A & CN 103109178 A	2
A	JP 2003-248007 A (松下電器産業株式会社) 2003. 09. 05, 【0022】－【0023】、図4－図5 (ファミリーなし)	10