

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4732583号  
(P4732583)

(45) 発行日 平成23年7月27日(2011.7.27)

(24) 登録日 平成23年4月28日(2011.4.28)

(51) Int.Cl.

F 1

<b>GO 1 N</b>	<b>33/543</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 N	33/543	5 9 5
<b>GO 1 N</b>	<b>21/27</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 N	21/27	C
<b>GO 1 N</b>	<b>33/553</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 N	33/553	
<b>GO 1 N</b>	<b>23/227</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 N	23/227	

請求項の数 20 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2000-565400 (P2000-565400)
(86) (22) 出願日	平成11年8月6日(1999.8.6)
(65) 公表番号	特表2002-522790 (P2002-522790A)
(43) 公表日	平成14年7月23日(2002.7.23)
(86) 國際出願番号	PCT/NL1999/000504
(87) 國際公開番号	W02000/010012
(87) 國際公開日	平成12年2月24日(2000.2.24)
審査請求日	平成18年8月4日(2006.8.4)
(31) 優先権主張番号	1009871
(32) 優先日	平成10年8月14日(1998.8.14)
(33) 優先権主張国	オランダ(NL)

(73) 特許権者	501060552 ホラント・バイオマテリアルズ・グループ ・ペスローテン・フェンノートシャッップ H O L L A N D B I O M A T E R I A L S G R O U P B. V. オランダ、エヌエル-7522エヌベー・ エンスヘデ、ドリーナーロラーン5番
(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 葉
(74) 代理人	100088801 弁理士 山本 宗雄

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 化学的相互作用を調査する装置およびそれを用いる方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

相互作用する化学および/または生物学的種の間の反応を調査する装置であつて、該装置が、基材と、該基材上に蒸着されたプラズマ層とを含み、該基材が、本質的に金からなる遊離電子金属のフィルムを含み、該遊離電子金属のフィルム上に蒸着された該プラズマ層が、硫黄を含み、該プラズマ層が、ポリマー物質である、装置。

## 【請求項 2】

前記プラズマ蒸着層が、前記遊離電子金属フィルム上に直接配置される、請求項 1記載の装置。 10

## 【請求項 3】

前記プラズマ蒸着層が、1またはそれ以上の化学および/または生物学的官能基を含む、請求項 1または2に記載の装置。

## 【請求項 4】

さらに、湿潤化学方法で前記プラズマ蒸着層上に配置された1またはそれ以上の層を含む、請求項 3記載の装置。

## 【請求項 5】

前記プラズマ層が、チオール類、スルフィド類およびジスルフィド類またはジアリルスルフィドからなる群から選択される、1またはそれ以上の硫黄化合物を含む、請求項 1 ~

4のいずれかに記載の装置。

【請求項 6】

前記プラズマ蒸着層が、さらに、1またはそれ以上のアミン化合物を含む、請求項 1 ~ 5のいずれかに記載の装置。

【請求項 7】

1またはそれ以上のアミン化合物を含むさらなるプラズマ蒸着層が存在する、請求項 1 ~ 6のいずれかに記載の装置。

【請求項 8】

相互作用する化学および／または生物学的種の間の反応を調査する装置を提供するための方法であって、該方法は、

10

予め選択した基材を提供する工程であって、該基材が、本質的に金からなる遊離電子金属のフィルムを含む、工程と、

該金フィルム上に、プラズマ蒸着によって、硫黄を含むポリマー物質のプラズマ層を配置する工程と

を含む、方法。

【請求項 9】

前記プラズマ層が、前記基材の前記遊離電子金属のフィルム上に直接蒸着される、請求項 8記載の方法。

【請求項 10】

前記プラズマ層が、ガス状態のモノマー／オリゴマー／ポリマーから蒸着される、請求項 8 または 9記載の方法。

20

【請求項 11】

前記基材が、前記プラズマ蒸着工程の前に、プラズマエッティング工程によって該基材を前処理することを含む予備洗浄工程に付される、請求項 8 ~ 10のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

前記プラズマ層が、次の条件：

5000ワット以下の放電力、

1000秒以下の露出時間、

10000cm<sup>3</sup> / 分以下のプラズマガス流量、

1バール (bar) 以下の圧力、

30

D C、A C、R F および M W を含む振動数で蒸着される、請求項 8 ~ 11のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

前記放電力を前記プラズマにパルス放電し、該パルス放電を1000秒以下ごとに分割する、請求項 12記載の方法。

【請求項 14】

前記基材がアフターグロー (after-glow) 中で処理される、請求項 12 または 13記載の方法。

【請求項 15】

前記パルス放電後、予め選択したガスで前記基材を後処理する、請求項 13 ~ 14記載の方法。

40

【請求項 16】

相互作用する生物／化学種の間の反応を表面プラズモン共鳴分光で調査するのに適した、請求項 8 ~ 15のいずれかに記載の方法であって、以下の工程：

基材を予め選択する工程であって、

該基材は、表面プラズモン共鳴分光による調査を可能とするのに適したものであり、

予め選択した第1の官能基種をプラズマ蒸着によって該基材に配置し、

該第1の官能基種が、該プラズマ蒸着された第1の官能基種と相互作用する第2の官能基種から、該基材を保護し、該相互作用は調査することができるものであり、

該基材と、該第2の官能基種との間の望ましくない相互作用を防止する、工程と、

50

該プラズマ蒸着した第1の官能基種の層に、第2の官能基種を配置する工程であって、該第1の官能基種層と、該第2の官能基種層との間の相互作用を表面プラズモン共鳴分光によって調査することができる、工程と  
を含む、方法。

【請求項17】

相互作用する生物／化学種の間の反応を表面プラズモン共鳴分光で調査するのに適した  
、請求項8～16のいずれかに記載の方法であって、以下の工程：  
金である基材を予め選択する工程であって、

該基材は、表面プラズモン共鳴分光による調査を可能とするのに適したものであり、  
予め選択した第1の官能基種をプラズマ蒸着によって該基材に配置し、該官能基種は  
、硫黄化合物から選択され、

該第1の官能基種が、該プラズマ蒸着された第1の官能基種と相互作用する第2の官能基種から、該基材を保護し、該相互作用は調査することができるものであり、

該基材と、該第2の官能基種との間の望ましくない相互作用を防止する、工程  
を含む、方法。

【請求項18】

請求項8～17のいずれかに記載の方法により得られる、請求項1～7記載の装置。

【請求項19】

所定の化学および／または生物学的種の相互作用を調査するための方法であって、請求項1～7および18のいずれかに記載の装置に配置された化学および／または生物学的種の間の相互作用を解析する工程を含む、方法。

【請求項20】

化学的に相互作用する種の間の反応を調査するため、表面プラズモン共鳴分光で使用する、請求項1～7および18のいずれかに記載の装置の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は相互作用性化学および／または生物学種間の反応を検出する装置、そのような装置を提供する方法および化学および／または生物学的相互作用、たとえば生物分子相互作用を装置を用いて検出する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

化学および／または生物学的反応は化学および／または生物学的相互作用の元に理解されている。

【0003】

特定の化合物の固体表面での相互作用は分析光学、たとえばR I AおよびE L I S Aの技術を含む化学および生物学的現象および領域における重要な役目を果たす。

【0004】

表面相互作用を検知もしくは検査するために、「感受性の高い」表面を必要とする。

【0005】

表面反応の即時検出のために、いくつかの方法がたとえば楕円偏光(ellipsometry)、反射光学(reflectometry)、および表面プラズモン共鳴分光学(Surface Plasmon Resonance Spectroscopy: S P R)である。これらの技術は、レーザーによって起る光の反射を用いて生物学的分子の層の成長や破壊を表面で解析する点で共通性をもっている。

【0006】

これらの技術には、反射表面が必要である。S P Rの場合、遊離電子金属、たとえば金を含有する表面が多く用いられる。

【0007】

他の相互作用を検出するためにこの技術を用いるには、(生物)分子の遊離電子金属表面との相互作用の他に、遊離電子表面がたとえば生分子、たとえばタンパク質の吸収および

10

20

30

40

50

溶媒キャストまたはスピンドルコート法においてポリマー層でその被膜によって改質されてきた。

**【0008】**

タンパク質の固定化のために特定の化学基で金表面を提供する方法も開発され、その表面はついで他の（生物的）物質、たとえば抗原抗体相互作用を研究するために用いられている。

**【0009】**

S P R センサー表面を形成する方法には、有機表面を金層に湿润化学方法、たとえば溶媒キャスティングまたはスピンドルコーティングで、プラズマエッチング処理の前に配置することを含む。

10

**【0010】**

別の方法には、化学的官能界面活性剤の変性される表面への湿润化学方法による吸着であり、界面活性剤の固定化はアルゴンプラズマによって行われ、いわゆるプラズマイモビライゼーションが含まれる。

**【0011】**

これらの既知の技術の欠点は官能性表面層の安定性の欠如である。

**【0012】**

**【発明の開示】**

本発明の目的は相互作用しうる化学種間の反応を検出する改良された装置を提供することにある。本発明によれば、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の装置を提供する。

20

**【0013】**

本発明の装置はプラズマ蒸着層の優れた付着性、その優れた安定性および優れた感受性を示す装置を提供し、それにより基材が官能性層を有し、その官能性が化学基、たとえば、アミン、カルボキシル基、酸基、ヒドロキシル基、酸塩基、イソシアネート基、アルデヒド基、酸無水物基、エポキシド基およびチオール基によって提供される。

**【0014】**

本発明の第 2 の観点では、本発明の装置を提供するための請求項 9 ~ 19 に記載の方法を提供することである。

**【0015】**

官能性基層はプラズマ蒸着されるから、その蒸着のコントロールは正確に行われ、それにより薄い層が形成され、非常に感受性の高い装置を提供する。このことは基材上に湿润化学方法による有機層の配置を必要とせず、検出が行われる点にある。

30

**【0016】**

本発明による方法は制御性が高い。

**【0017】**

本来のセンサー装置において、層が湿润化学方法により基材上に配置される場合、その方法は時間がかかり、実施が難しく、しかも非常に注意して扱わないと感受性が欠如する方法と比べて、本発明の方法は極端に有用性が高く、コストパフォーマンスが高い。

**【0018】**

プラズマ蒸着法はプラズマ層から基材上への有機種の付着を含む。たとえば（揮発性）モノマーをガス層として適用することにより、その構造が対応するポリマーと似ている有機層を付着することができる。化学官能性を有する（揮発性）モノマーを適用することにより、化学的官能性ポリマー層も得ることができる。

40

**【0019】**

プラズマは好ましくは不飽和モノマー類；アクリル酸、アリルアミン、アリルイソシアネート、アリルメルカプタン、メタクリル酸、アリルアルコール、アリルアセテート、アリル酢酸、アリルグリシジルエーテル、3 - アリロキシ、1 - 2 プロパンオール、ビニルアセテート、アクリル酸ハライド、

**【0020】**

不飽和モノマー；アルコール類、メタノール、エタノール、プロパンオール、酸、例えば、

50

プロピオン酸、酢酸など、ホルムアルデヒド、プロピオンアルデヒド、グルタルアルデヒド、アミノエタン、アミノエタノール、エチレンオキシド、アセトンメタン、エタン、ブロパンおよびこれらの類似物からなる群から実質的に選択される群から選択されるモノマーから提供され、基材は対応する官能性を提供される。

#### 【0021】

不飽和および不飽和モノマーのプラズマ蒸着とは離れて、官能性がその場でプラズマ層中にモノマーの再配置またはプラズマガスの混合物間の反応によって形成され、その後この現場で形成された官能性が付着する。

#### 【0022】

高い表面エネルギーを有する表面、例えば一般に金属表面は、環境からの種による表面の不純物による急速な表面疎水性を引き起こす。この表面不純物は最終表面の安定性に関して表面をより改質することに弊害をもたらす。従って、この表面不純物は、可能な限り、例えば、表面を不活性環境に貯蔵するおよび表面調製と改質の間の時間の短縮、改質を行う前に表面の洗浄によって避けられなければならない。プラズマエッティングは、このクリーニングの優れた方法を提供する。プラズマクリーニングは、迅速で、かつ有機溶剤の使用や環境に悪影響を与える試薬の使用を含まないので、その方法自体クリーンである。本発明では、プラズマ蒸着による実際の改質の前に基材をプラズマクリーニングすることが有用である。

10

#### 【0023】

プラズマ蒸着層は、好ましくは一以上の硫黄化合物、チオール、スルフィド、および/またはジスルフィド、即ち、メルカプト酢酸、2-メルカプトプロピオン酸、3-メルカプトプロピオン酸、1-メルカプトプロペノル、2-メルカプトエタノール等、好ましくはジアリルスルフィドの形で含む。なぜならば特に、金を基材に用いるときには、安定性の改良が必要だからである。

20

#### 【0024】

本発明の更なる観点では、化学および/または生物種間の相互作用の監視方法、例えば請求項14または15の即時表面相互作用の監視方法を提供する。

#### 【0025】

本発明を以下の実施例により、図1を参照して更に詳細に説明する。図1は、実施例12により行ったCOOHディスクへのアルブミンの固定化を示すグラフである。

30

#### 【0026】

#### 実施例1

##### カルボキシル酸官能性金表面の調製

金を被覆したガラスディスク(60)をプラズマ反応器の中心に置き、反応器は3つの電極を外側に配置したガラスチューブ(長さ150cm、径10cm)であり、中心の電極は電気をかけて、他の2つは印加電極から30cm離れた距離でアースされている。電極はRF発電機(13.56MHzヘルツ、ENI ACG-3、ENIパワーシステム)にマッチングネットワーク(ENIマッチワーク(Matchwork)5)およびマッチングネットワークコントロールユニット(ENI TH-1000、ENI)を通して接続されていた。発電機はタイマー(タイムコントロールプログラム付きアップル・イル(Apple IIe)・コンピューター)でコントロールされていた。

40

#### 【0027】

反応器はロータリーポンプ(DUO 004B、Pfeifer)により0.001mbar以下の圧力に排気され、ロータリーポンプはフィルター(ONF 025、Pfeifer)によりオイルの逆流を防止した。圧力はプレッシャゲージ(BARATRON 628A01MDE、MKS・インスツルメンツ)により測定され、ディスプレイモジュール(R4000、MSK・インスツルメンツ)から読み取った。5scm/minの空気流が約0.12mbarの圧力をもたらし、5分後ディスクを同じ流れ条件下で1分間ダイナミックエアープラズマ(85ワット)で処理した。空気流はマスフローコントローラ(タイプ1259+PR3000コントロールユニット、MKS・インスツルメンツ)によりコントロ

50

ールした。プラズマ処理後、空気流を2分間継続し、停止した後、アクリル酸流を反応器中にディレクトモノマーインレットを経由して確立し、約0.03 mbarの圧力を得た。アクリル酸が反応器から出てポンプに到達するのを避けるために、アクリル酸流は液体窒素で冷却したコールドトラップでバイパスされた。貯蔵コンテナ中でのアクリル酸の温度は室温であった。2分後表面が放電力75ワットでアクリル酸プラズマの5パルスで処理され、パルスは反応器を通してアクリル酸流の30秒によって分離されていた。最終のパルス後、表面をアクリル酸流にさらに2分、その後アクリル酸流を止めて、反応器を空気で大気圧に戻した。

## 【0028】

## 実施例2

10

## アミン官能性表面の調製

金を被覆したガラスディスク(60)を実施例1に記載したプラズマ反応器に置いた。反応器は0.05 mbar以下の圧力に排気し、5 sccm/分の空気流を5分間形成し、ディスクをダイナミックエアープラズマ(85W)で同じ流量条件下で1分処理した。空気流を止めて、アリルアミン流(0.07 mbar)を反応器中に形成し、モノマー貯蔵コンテナの温度を36にした。2分後表面を反応器中でアリルアミン流10秒で分離された75Wの放電力でアリルアミンプラズマの10パルスで処理した。最終パルス後、表面をさらにアリルアミン流で2分間処理し、その後アリルアミン流を止めて、反応容器を空気で大気圧に戻した。

## 【0029】

20

## 実施例3

金被覆基材(6)を反応器のガス導入側にあるコールド電極とホット電極との間にプラズマ反応器(実施例2参照)中に置いた。反応器は0.005 mbar以下の圧力に排気し、5 sccmの空気流を反応器中に形成した。空気流を形成した後2分後、基材をダイナミックエアープラズマ(5 sccm、85W)で1分間処理し、ついで5 sccmの空気流に約10分間露出した。ついで空気流を止めて、反応器を排気後、アリルアミン流(0.095 mbarの圧力)形成した。2分後、基材を1秒間に10パルスのアリルアミンプラズマ(85W放電力)に露出し、パルスは10秒のアリルアミン流によって分離されている。最終のアリルアミンプラズマ後、アリルアミン流を2分間継続し、その後流れを停止し、反応器を排気し、空気で大気圧に戻した。ついで、表面を炭素、酸素、窒素および金についてX線ホトエレクトロンスペクトルスコピーで解析し、その結果を以下の表に示す。また、水で1時間洗浄後乾燥した表面をXPSで解析した。

30

## 【0030】

## 【表1】

元素	表面組成(元素%)	
	洗浄前	洗浄後
C	65.4	62.4
O	10.3	10.5
N	17.5	13.6
Au	6.8	13.4

40

## 【0031】

## 実施例4

金被覆基材(6)をガス導入側のコールド電極およびホット電極間にプラズマ反応器(実

50

施例 2 参照) 中に置いた。反応器を 0.005 mbar 以下に排気し、アルゴン流 5 sccm を反応器中に形成した。アルゴン流 2 分後、基材をダイナミックアルゴンプラズマ (5 sccm、85 W) で 1 分間処理し、さらに 10 分 5 sccm のアルゴン流に晒した。ついで、アルゴン流を止めて、反応容器を排気した後、アリルアミン流 (0.095 mbar) を反応器中に形成した。2 分後、基材を放電力 85 W で、パルスは 10 秒のアリルアミン流で分離されており、1 秒間の 10 パルスに露出した。最終のアリルアミンプラズマ後、アリルアミン流を 2 分間継続し、その後流れを停止し、反応容器を排気した後空気で大気圧に戻した。

### 【0032】

#### 実施例 5

金被覆基材 (6) を反応器のガス導入部分のコールド電極とホット電極間にプラズマ反応器 (実施例 2 参照) 中に置いた。反応器を 0.005 mbar 以下に排気し、空気流 5 sccm を反応器中に確立した。空気流形成後 2 分後、基材を 1 分間ダイナミックエアープラズマ (5 sccm、85 W) 処理し、さらに 10 分間 5 sccm 空気流に晒した。ついで、空気流を停止し、排気後、0.095 mbar の圧力でアリルアミン流を反応器に形成した。アリルアミン流 2 分後、基材をアリルアミンプラズマの 1 秒の 5 パルスに露出した。パルスは 170 W 放電力を有し、10 秒のアリルアミン流で分離されていた。ついで、放電力 85 W でアリルアミン流の 5 パルスに露出し、このパルスも 10 秒のアリルアミン流で分離されていた。最終のアリルアミンプラズマパルスの後、アリルアミン流を 2 分間継続し、流れを停止した後、反応容器を排気し、空気で大気圧に戻した。ついで、表面を X 線ホトエレクトロン・スペクトルスコピーで炭素、酸素、窒素および金の解析を行ない、その結果を以下の表に示す。

### 【0033】

#### 【表 2】

元素	表面組成 (元素%)
C	62.8
O	9.8
N	20.8
Au	6.6

### 【0034】

#### 実施例 6

金被覆基材 (6) を反応器のガス導入側コールド電極およびホット電極間にプラズマ反応器 (実施例 2 参照) 中に置いた。反応器を 0.005 mbar 以下の圧力に排気し、空気流 5 sccm を反応容器中に形成した。空気流 2 分後、基材を 1 分間ダイナミックエアープラズマ (5 sccm、85 W) で処理し、さらに 10 分間 5 sccm の空気流に晒した。ついで、空気流を停止し、反応容器を排気した後、アリルアミンとオクタジエン (アリルアミン 6.6 体積 %) の混合流を 0.055 mbar の圧力で反応容器に形成した。アリルアミン / オクタジエン流 2 分後、基材を 85 W 放電力のアリルアミン / オクタジエンプラズマの 1 秒の 10 パルスに露出し、そのパルスは 10 秒のアリルアミン / オクタジエン流で分離されていた。最終のプラズマパルス後、アリルアミン / オクタジエン流を 2 分間継続し、流れを停止して反応容器を排気した後、空気で大気圧に戻した。ついで、表面を X 線ホトエレクトロン・スペクトルスコピーで炭素、酸素、窒素および金を解析した。その結果を表 3 に示す。

### 【0035】

10

20

30

40

50

【表3】

元素	表面組成（元素%）
C	73.1
O	7.9
N	11.7
Au	7.3

10

## 【0036】

## 実施例7

金被覆基材(6)をプラズマ反応器(実施例2参照)中で容器のガス導入側のコールド電極とホット電極間に置いた。反応器を0.005mbar以下の圧力に排気し、空気流5sccmを反応器に形成した。空気流2分後、基材を1分間ダイナミックエープラズマ(5sccm、85W)で処理し、さらに10分間空気流5sccmに露出した。ついで、空気流を停止し、反応容器を排気後、アリルアミンおよびジアリルスルフィルド(66体積%アリルアミン)の混合流を0.065mbarの圧力で反応容器中に形成した。アリルアミン/ジアリルスルフィルド流2分後、基材を放電力85Wでアリルアミン/ジアリルスルフィルドプラズマの1秒の10回パルスに露出し、パルスは10秒のアリルアミン/ジアリルスルフィルド流で分離されていた。最終プラズマパルス後、アリルアミン/ジアリルスルフィルド流をさらに2分間継続し、その後流れを停止して反応容器を排気した後、空気で大気圧に戻した。

20

## 【0037】

ついで、表面をX線ホトエレクトロン・スペクトルスコピーで炭素、酸素、窒素および金を解析し、その結果を以下の表に示す。また、水で1時間リシスした後、乾燥した表面をXPSで解析した。

## 【0038】

30

【表4】

元素	表面組成（元素%）	
	洗浄前	洗浄後
C	73.4	68.3
O	4.4	5.3
N	8.3	9.0
S	13.3	16.5
Au	0.7	0.9

40

## 【0039】

## 実施例8

金被覆基材(6)をプラズマ反応器中で、ホット電極と反応器のガス導入側のコールド電極間に置いた。反応器を0.005mbar以下に排気し、空気流5sccmを反応器中に形成した。アルゴン流2分後、基材を1分間ダイナミックアルゴンプラズマ(5scc

50

m、85W)で処理し、ついで10分間アルゴン流5sccmに露出した。ついで、アルゴン流を停止し、排気後、アリルアミンおよびジアリルスルフィルド(アリルアミン66体積%)の混合流を0.065mbarの圧で反応器中に形成した。2分のアリルアミン/ジアリルスルフィルド流の後、基材を放電力85Wでアリルアミン/ジアリルスルフィルドプラズマの1秒の10回パルスに露出し、パルスは10秒のアリルアミン/ジアリルスルフィルド流で分離されていた。最終プラズマパルス後、アリルアミン/ジアリルスルフィルド流を2分間継続し、その後流れを停止した後、排気し、空気で大気圧に戻した。

#### 実施例9

金被覆基材(6)をプラズマ反応器(実施例2参照)中で容器のガス導入側のコールド電極とホット電極間に置いた。反応器を0.005mbar以下の圧力に排気し、空気流5sccmを反応器に形成した。空気流2分後、基材を1分間ダイナミックエープラズマ(5sccm、85W)で処理し、さらに10分間空気流5sccmに露出した。ついで、空気流を停止し、反応容器を排気後、ジアリルスルフィルド流を0.025mbarの圧力で反応容器中に形成した。ジアリルスルフィルド流2分後、基材を放電力85Wでジアリルスルフィルドプラズマの1秒の10回パルスに露出し、パルスは10秒のジアリルスルフィルド流で分離されていた。最終プラズマパルス後、ジアリルスルフィルド流をさらに1分間継続し、その後流れを停止して反応容器を0.001mbarに排気した。次いで、アリルアミン流を0.090mbarで反応器中に形成した。アリルアミン流2分後、基材をアリルアミンプラズマ(85W)の1秒の10パルスに露出した。パルスは10秒のアリルアミン流で分離されていた。最終アリルアミンプラズマパルス後、アリルアミン流を停止し、反応器を0.001mbar以下に排気した後、空気で大気圧に戻した。

ついで、表面をX線ホトエレクトロン・スペクトルスコピーで炭素、酸素、窒素および金を解析し、その結果を以下の表に示す。また、水で1時間リソスした後、乾燥した表面をXPSで解析した。

【表5】

元素	表面組成(元素%)	
	洗浄前	洗浄後
C	69.8	68.3
O	6.9	10.2
N	14.8	12.9
S	8.5	8.6
Au	0.0	0.0

#### 【0040】

#### 実施例10

金被覆基材(6)をプラズマ反応器中で、ホット電極と反応器のガス導入側のコールド電極間に置いた。反応器を0.005mbar以下に排気し、空気流5sccmを反応器中に形成した。アルゴン流2分後、基材を1分間ダイナミックアルゴンプラズマ(5sccm、85W)で処理し、ついで10分間アルゴン流5sccmに露出した。ついで、アルゴン流を停止し、排気後、ジアリルスルフィルド流を0.025mbarの圧で反応器中に形成した。2分のジアリルスルフィルド流を、基材を放電力85Wでジアリルスルフィルドプラズマの1秒の10回パルスに露出し、パルスは10秒のジアリルスルフィルド流で分離されていた。最終ジアリルスルフィルドプラズマパルス後、ジアリルスルフィルド

10

20

30

40

50

流を1分間継続し、その後流れを停止した後、0.001 mbarに排気した。次いで、アリルアミン流を0.090 mbarで反応器中に形成した。アリルアミン流2分後、基材をアリルアミンプラズマ(85W)の1秒の10パルスに露出した。パルスは10秒のアリルアミン流で分離されていた。最終アリルアミンプラズマパルス後、アリルアミン流を停止し、反応器を0.001 mbar以下に排気し、空気で大気圧に戻した。

#### 【0041】

##### 実施例11

###### アミン官能化金表面へのCMDのカップリング

カルボキシメチルセルロース(100mg)を2-(N-モルホリノ)エタンスルフォン酸0.05M 10mlに溶解した後、N-ヒドロキシスクシンイミド5mgを加えた。完全に溶解した後、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド20gを加えた。3分の活性化後アミン官能化金表面をこのカルボキシメチルデキストラン溶液1mlで2.5時間インキュベートした。ついで、表面をホスフェート緩衝食塩水で洗浄し、水で洗浄した後乾燥した。全体の固定化操作は室温で行なった。

10

#### 【0042】

この実施例においてカルボキシメチルデキストランを化学官能基(一般にデキストラン、たとえばカルボキシメチルデキストラン、カルボキシメチルセルロース、モノ-、ジ-、オリゴ-、ポリ-サッカライド、ガムキサンタン、カルボキシレートおよびアミンデンドリマー、およびモノ-、ホモ-、およびヘテロ-官能性カルボキシレートおよびポリエチレングリコールおよびポリエチレンオキシド、ポリエチレンイミン、ポリアクリル酸、ポリビニルアルコールなど)を含む化合物を含有する化学官能性基のためのモデル化合物として用いる。

20

#### 【0043】

固定化されるべき化合物を含むこれらの官能基の量は反応パラメーター、たとえば反応時間、化合物含有官能基の濃度および化合物含有官能基に対するカップリング剤の比でコントロールする。

#### 【0044】

##### 実施例12

###### COOH官能基官能装置上へのアルブミンの固定化

プラズマ蒸着法によりCOOH官能化されたもののセンサー装置をアルブミンの固定化に用いた。22.5で行なわれた固定化工程の間、表面の状態をサフェース・プラズモン・レゾンナンス・スペクトロスコピーでモニターし、その結果を図1に示す。SPR装置中に官能化感應装置を裁置した後、感應表面を10mM HEPES緩衝液で約5分間インキュベートした。ついでHEPES緩衝液をEDC(20mg/ml)-NHS(4mg/ml)溶液で水中で交換した。5分活性化の後、EDC/NHS溶液をアルブミン溶液(10mM HEPES中2mg/ml)へ交換し、15分間の固定化時間をかけた。ついで感應表面をHEPES緩衝液で洗浄し、HEPES緩衝液中で固定化されたアルブミンの安定性を3分間モニターし、その後HEPES緩衝液での洗浄工程を繰返した。0.2NHC1中で固定化されたアルブミンの安定性を検討するために、HEPES緩衝液を0.1N(規定)HClで置換し、感應表面を3分間この溶液でインキュベートした後、0.1N(規定)HClを新しい0.1規定HClに置換え、さらに3分間測定を継続した。ついで表面を0.1規定HEPES緩衝液で洗浄し、感應表面のインキュベーションを最終5分間この緩衝液中で行った。

30

この結果、EDC/NHSで感應表面を活性化し、アルブミンの固定化をし、HEPES緩衝液で洗浄した後、応答は約700ミリデグリーで上昇し、アルブミンのCOOH官能化官能表面への固定化を確認した。0.1規定HClでの表面の洗浄は約30ミリデグリーのシグナルの減少をもたらし、そのことはアルブミンの固定化が非常に安定であることを示す。

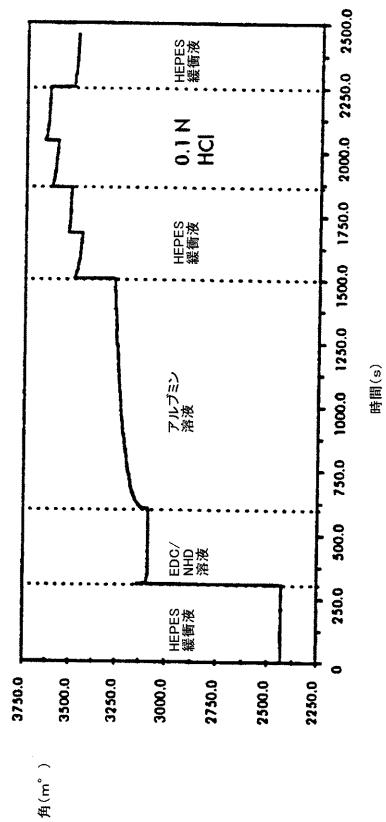
40

#### 【0045】

本発明は上記記載に限定されず、特許請求の範囲の記載により決定される。

50

【図1】



---

フロントページの続き

(72)発明者 ヨハネス・ヘイスペルトゥス・アントニウス・テルリングン  
オランダ、エヌエル - 6373ヴェーテー・ラントグラーフ、アーン・デ・プット 14 番  
(72)発明者 ヘラルドゥス・ヘンリクス・マリア・エンゲベルス  
オランダ、エヌエル - 7577エムベー・オルデンザール、フラーンデレンラーン 3 番

審査官 浅野 美奈

(56)参考文献 特開平09-264843 (JP, A)  
特開平08-193948 (JP, A)  
特開昭59-080442 (JP, A)  
国際公開第97/022631 (WO, A1)  
特開平10-114832 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/543  
G01N 21/27  
G01N 33/553  
G01N 23/227