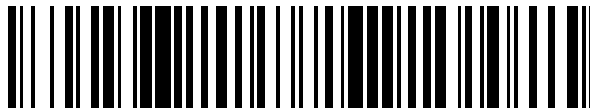


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 941 058**

51 Int. Cl.:

G01N 21/11 (2006.01)

G01N 21/03 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

B01L 3/14 (2006.01)

G01N 35/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2016 PCT/JP2016/082044**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2017 WO17086128**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2016 E 16866130 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2023 EP 3379255**

54 Título: **Método de detección, dispositivo de detección y kit de inspección**

30 Prioridad:

16.11.2015 JP 2015224213

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.05.2023

73 Titular/es:

**OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
2-9, Kanda Tsukasa-machi, Chiyoda-ku
Tokyo 101-8535, JP**

72 Inventor/es:

**TAKEUCHI, MAMI y
MATSUO, MASATAKA**

74 Agente/Representante:

BERTRÁN VALLS, Silvia

ES 2 941 058 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de detección, dispositivo de detección y kit de inspección

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método de detección y a un aparato de detección para detectar la presencia o cantidad de una sustancia objetivo de detección, y a un kit de prueba usado para detectar la presencia o cantidad de la sustancia objetivo de detección.

10

Antecedentes de la técnica

Con la capacidad en una prueba clínica o similar de detectar una cantidad traza de una sustancia objetivo de detección tal como proteína o ADN de manera cuantitativa con alta sensibilidad, es posible entender rápidamente estados de un paciente en tratamiento. Por tanto, se han desarrollado aparatos de detección para detectar una cantidad traza de una sustancia objetivo de detección de manera cuantitativa con alta sensibilidad (véase el documento de patente 1, por ejemplo).

15

20

25

30

35

El aparato de detección descrito en el documento de patente 1 usa un chip de detección que incluye: un cuerpo principal de chip que incluye una trayectoria de flujo (alojamiento) que aloja una muestra y una abertura que proporciona comunicación entre el interior y el exterior de la trayectoria de flujo; y un elemento elástico (lámina elástica) que cubre la abertura. La lámina elástica tiene una estructura de tres capas que incluye una primera lámina, una segunda lámina y una primera lámina apiladas en este orden. La primera lámina es una lámina de polímero (película) que tiene una alta ductilidad y baja elasticidad. La segunda lámina es una lámina de aluminio que tiene una ductilidad inferior a la primera lámina. En el aparato de detección descrito en documento de patente 1, un elemento de boquilla (también denominado a continuación en el presente documento simplemente "boquilla") para inyectar un líquido en una trayectoria de flujo y aspirar un líquido a partir de una trayectoria de flujo se presiona contra una lámina elástica para romper la lámina. Esto forma una porción de abertura en la lámina elástica y permite poner la lámina elástica en estrecho contacto con una superficie periférica exterior de la boquilla. Con esta operación, el aparato de detección descrito en documento de patente 1 es capaz de impedir fugas de líquido a partir de la porción de abertura (porción de penetración formada por la rotura de lámina) que puede generarse mediante la variación de presión en la trayectoria de flujo. Además, dado que la boquilla y la lámina elástica están en estrecho contacto entre sí en este aparato de detección, es posible mantener la presión en la trayectoria de flujo generada en el momento de la administración de líquido, conduciendo a una administración apropiada del líquido.

Lista de referencias

Bibliografía de patentes

40 Documento de patente 1: documento JP 2012-159358 A

45

50

El documento EP 2 672 273 A1 describe un chip de inspección y un conjunto de chips de inspección dotado del chip de inspección en el que un orificio está formado en un elemento de sello para inyectar y aspirar una disolución de prueba en y fuera de un canal de fluido que tiene una abertura de extremo del mismo sellada por el elemento de sello, y la unidad de chip de prueba con el chip de prueba incorporado; y en particular un chip de prueba que va a usarse en una prueba bioquímica, y una unidad de chip de prueba con el chip de prueba incorporado. El dispositivo permite impedir la adhesión de disolución de muestra en el chip de pipeta a la periferia de abertura de inserción, es decir la porción tubular, del elemento de sello del chip de prueba cuando se baja el chip de pipeta y la punta del chip de pipeta pasa a través de la abertura de inserción. Además, se obtiene una adhesión suficiente entre el chip de pipeta y el elemento de sello porque la porción tubular, es decir la periferia de abertura de inserción, puede hacerse funcionar para adherirse a la porción de punta, es decir la superficie circunferencial exterior, del chip de pipeta está formado sobre la primera lámina que tiene una elasticidad predeterminada entre las láminas que constituyen el elemento de sello.

55

Sumario de la invención

Problema técnico

60

65

Sin embargo, desafortunadamente, el aparato de detección descrito en el documento de patente 1 debe presionar la boquilla contra la lámina elástica para provocar la rotura, conduciendo a una gran cantidad de carga aplicada a la boquilla y al aparato de detección en el momento de la rotura. Por tanto, la boquilla y el aparato de detección deben tener una rigidez suficiente para resistir la carga durante la rotura. Además, debido a la ductilidad de la lámina elástica, la lámina elástica se estira una distancia predeterminada sin romperse inmediatamente ni siquiera cuando se presiona la boquilla contra la lámina elástica. Por este motivo, el aparato de detección descrito en el documento de patente 1 debe garantizar un espacio en el alojamiento, permitiendo estirar la lámina elástica para la rotura. Por tanto, el chip de detección descrito en el documento de patente 1 puede mejorarse desde el punto de vista de la miniaturización.

Un primer objetivo de la presente invención es proporcionar un método de detección y un aparato de detección capaces de permitir que la boquilla de administración de líquido entre en contacto con la lámina elástica sobre la cual se proporciona una porción de penetración para cerrar la porción de penetración para realizar de manera apropiada la administración de líquido, sin romper la lámina elástica del chip de detección. Un segundo objetivo de la presente invención es proporcionar un kit de prueba capaz de permitir que la boquilla de administración de líquido entre en contacto con la lámina elástica para cerrar la porción de penetración sin romper la lámina elástica del chip de detección.

Solución al problema

Con el fin de resolver los problemas anteriores, la presente invención proporciona el objeto de las reivindicaciones independientes, en la que realizaciones ventajosas se describen en las reivindicaciones dependientes. Los ejemplos y las descripciones, productos y/o métodos en la descripción y/o los dibujos que no están cubiertos por las reivindicaciones son antecedentes de la técnica o ejemplos útiles para entender la invención. Un método de detección según un ejemplo es un método de detección para detectar la presencia o cantidad de una sustancia objetivo de detección en una muestra, incluyendo el método: una etapa de suministrar un líquido a un chip de detección que incluye un alojamiento que tiene una porción de abertura y que aloja de manera interna un líquido y que incluye una lámina elástica que cubre la porción de abertura y que tiene una porción de penetración que proporciona comunicación entre el interior y el exterior del alojamiento, específicamente insertando una boquilla de administración de líquido en el alojamiento a través de la porción de penetración y suministrando el líquido en el alojamiento en un estado en el que la boquilla está en contacto con la lámina elástica para cerrar la porción de penetración, en el que la porción de penetración es uno de un orificio y una muesca, y una de una longitud máxima de la abertura del orificio y una longitud máxima de la muesca es menor que un diámetro externo de la boquilla en una porción que entra en contacto con la lámina elástica cuando se inserta la boquilla para cerrar la porción de penetración cuando se suministra el líquido en el alojamiento.

Con el fin de resolver los problemas anteriores, un aparato de detección según una realización de la presente invención es un aparato de detección para detectar la presencia o cantidad de una sustancia objetivo de detección en una muestra, incluyendo el aparato de detección: un soporte de chip que soporta un chip de detección que incluye un alojamiento que tiene una porción de abertura y que aloja de manera interna un líquido y que incluye una lámina elástica que cubre la porción de abertura y que proporciona comunicación entre el interior y el exterior del alojamiento; y una sección de administración de líquido que incluye una bomba a la que está unida una boquilla de administración de líquido y que administra un líquido en el alojamiento del chip de detección soportado por el soporte de chip, en el que la sección de administración de líquido inserta la boquilla en el alojamiento a través de la porción de penetración y suministra un líquido en el alojamiento en un estado en el que la boquilla está en contacto con la lámina elástica para cerrar la porción de penetración, y la porción de penetración es uno de un orificio y una muesca, y una de una longitud máxima de la abertura del orificio y una longitud máxima de la muesca es menor que un diámetro externo de la boquilla en una porción que entra en contacto con la lámina elástica cuando se inserta la boquilla para cerrar la porción de penetración cuando la sección de administración de líquido suministra el líquido en el alojamiento.

Un kit de prueba según un ejemplo incluye: un chip de detección que incluye un alojamiento que tiene una porción de abertura y que aloja de manera interna un líquido, y que incluye una lámina elástica que cubre la porción de abertura y que tiene una porción de penetración que proporciona comunicación entre el interior y el exterior del alojamiento; y una boquilla de administración de líquido que va a insertarse en el alojamiento a través de la porción de penetración y que suministra un líquido al alojamiento, en el que la porción de penetración es uno de un orificio o una muesca, y una de una longitud máxima de la abertura del orificio y una longitud máxima de la muesca es menor que un diámetro externo de la boquilla en una posición desde un extremo de la boquilla en una dirección longitudinal de la boquilla, correspondiente a una profundidad desde una superficie inferior del alojamiento hasta la lámina elástica.

Efectos ventajosos de la invención

Según la presente invención, la administración de líquido puede realizarse de manera apropiada, haciendo posible detectar una sustancia objetivo de detección con alta precisión. Además, dado que no hay necesidad de romper la lámina elástica, es posible reducir el nivel de rigidez necesario para la boquilla de administración de líquido y el aparato de detección, y miniaturizar el chip de detección.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama que ilustra una configuración de un aparato de detección de fluorescencia potenciada por campo de plasmón superficial según una realización de la presente invención.

Las figuras 2A a 2C son diagramas que ilustran una configuración de un chip de detección según una realización de la presente invención.

La figura 3A y la figura 3B son vistas en planta que ilustran una configuración de una lámina elástica en un chip de detección según una modificación de una realización de la presente invención.

Las figuras 4A a 4C son vistas en sección esquemáticas parciales de un chip de detección según una realización de la presente invención para explicar la función de una lámina elástica.

5 La figura 5 es un diagrama de flujo que ilustra un ejemplo de un procedimiento de funcionamiento del aparato de detección de fluorescencia potenciada por campo de plasmón superficial según una realización de la presente invención.

10 Las figuras 6A y 6B son gráficos que ilustran una relación entre una distancia de inserción de la boquilla y la fuerza aplicada a la boquilla.

Las figuras 7A y 7B son gráficos que ilustran una relación entre el diámetro de un orificio (porción de penetración) y una distancia de rotura o una distancia de penetración o fuerza de rotura o fuerza de inserción.

15 Descripción de realizaciones

A continuación en el presente documento, se describirá en detalle una realización de la presente invención con referencia a los dibujos. La siguiente descripción usa, como ejemplo representativo de un aparato de detección, un aparato que usa un método de análisis de fluorescencia por resonancia de plasmón superficial (espectroscopía de fluorescencia potenciada por campo de plasmón superficial: abreviado a continuación en el presente documento como "SPFS"). El aparato también se denominará "aparato de SPFS".

20 La figura 1 es un diagrama que ilustra una configuración de un aparato 100 de SPFS según una realización de la presente invención. Tal como se ilustra en la figura 1, el aparato 100 de SPFS incluye una unidad 110 de emisión de luz (sección de emisión de luz) para emitir luz sobre un chip 10 de detección, una unidad 120 de recepción de luz (detector de luz) para detectar fluorescencia γ emitida a partir del chip 10 de detección, una unidad 130 de administración de líquido (sección de administración de líquido) para administrar líquidos, una unidad 140 de transporte para transportar el chip 10 de detección, y una sección 150 de control (sección de procesamiento) para controlar estos componentes. El aparato 100 de SPFS se usa en un estado en el que el chip 10 de detección está unido a un soporte 141 de chip de la unidad 140 de transporte. Por consiguiente, en primer lugar, se describirá el chip 10 de detección y posteriormente se describirán componentes individuales del aparato 100 de SPFS.

(Configuración de chip de detección)

35 Las figuras 2A a 2C son diagramas que ilustran una configuración del chip 10 de detección según la presente realización. La figura 2A es una vista en planta del chip 10 de detección, la figura 2B es una vista lateral izquierda del chip 10 de detección y la figura 2C es una vista en sección transversal tomada a lo largo de la línea C-C en la figura 2A.

40 El chip 10 de detección incluye: un prisma 20 que tiene una superficie 21 incidente, una superficie 22 de formación de película y una superficie 23 de emisión; una película 30 de metal formada sobre la superficie 22 de formación de película; una tapa 40 de trayectoria de flujo dispuesta sobre la película 30 de metal y que incluye un primer orificio 41 pasante, un orificio 42 pasante de agitación y un surco 43 de trayectoria de flujo; y una lámina 50 elástica dispuesta sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo. El chip 10 de detección puede incluir u omitir una lámina que cubre el orificio 42 pasante de agitación. El chip 10 de detección según la presente realización incluye además una lámina 60 dispuesta sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo. Con la tapa 40 de trayectoria de flujo dispuesta sobre la película 30 de metal, se forma un alojamiento que tiene una porción de abertura y configurado para alojar de manera interna el líquido. En la presente realización, el surco 43 de trayectoria de flujo formado en la tapa 40 de trayectoria de flujo está cerrado por la película 30 de metal, para formar una trayectoria 44 de flujo a través de la cual fluye el líquido. Al mismo tiempo, el primer orificio 41 pasante formado en la tapa 40 de trayectoria de flujo y una abertura del orificio 42 pasante de agitación están cerrados por la película 30 de metal. La otra abertura del primer orificio 41 pasante es una porción 45 de abertura que proporciona comunicación entre el interior y el exterior de la trayectoria 44 de flujo. La lámina 50 elástica cubre la otra abertura del primer orificio 41 pasante, mientras que la lámina 60 cubre la otra abertura del orificio 42 pasante de agitación. En la presente realización, el alojamiento incluye la trayectoria 44 de flujo y el primer orificio 41 pasante y el orificio 42 pasante de agitación, en el que una abertura está cerrada por la película 30 de metal. En esta descripción, el término "lámina" se usa como término que incluye una película.

60 El prisma 20 está formado por un material dieléctrico transparente a la luz de excitación α . Tal como se describió anteriormente, el prisma 20 incluye la superficie 21 incidente, la superficie 22 de formación de película y la superficie 23 de emisión.

65 La superficie 21 incidente permite que la luz de excitación α procedente de la unidad 110 de emisión de luz incida sobre el interior del prisma 20. La película 30 de metal está dispuesta sobre la superficie 22 de formación de película. La luz de excitación α incidente sobre el interior del prisma 20 se refleja por la película 30 de metal. Más específicamente, la luz de excitación α se refleja en una superficie de contacto (superficie 22 de formación de película) entre el prisma 20 y la película 30 de metal. La superficie 23 de emisión emite la luz de excitación α reflejada por la

película 30 de metal al exterior del prisma 20.

La forma del prisma 20 no está particularmente limitada. Tal como se ilustra en las figuras 2B y 2C, la forma del prisma 20 en la presente realización es un cuerpo columnar que tiene un trapecoide como superficie inferior. La superficie correspondiente a un lado inferior del trapecoide es la superficie 22 de formación de película, la superficie correspondiente a una pata es la superficie 21 incidente, y la superficie correspondiente a la otra pata es la superficie 23 de emisión. La superficie 21 incidente está formada para suprimir el retorno de la luz de excitación α a la unidad 110 de emisión de luz. En un caso en el que la fuente de luz de la luz de excitación α es un diodo de láser (también denominado a continuación en el presente documento "LD"), el retorno de la luz de excitación α al LD perturbará el estado excitado del LD para inducir una variación en la longitud de onda y la salida de la luz de excitación α . Por tanto, en un intervalo de exploración alrededor del ángulo de resonancia ideal o ángulo de potenciación como centro, el ángulo de la superficie 21 incidente se establece para suprimir la incidencia de la luz de excitación α en la superficie 21 incidente de manera perpendicular.

Obsérvese que el "ángulo de resonancia" significa un ángulo de incidencia cuando la cantidad de luz de la luz reflejada (no ilustrada) emitida a partir de la superficie 23 de emisión se minimiza en un caso en el que se explora el ángulo de incidencia de la luz de excitación α con respecto a la película 30 de metal. Además, el "ángulo de potenciación" es un ángulo de incidencia cuando la cantidad de luz de luz de dispersión β (denominada a continuación en el presente documento "luz dispersada por plasmón") que tiene una misma longitud de onda que la luz de excitación α emitida por encima del chip 10 de detección se maximiza cuando se explora el ángulo de incidencia de la luz de excitación α con respecto a la película 30 de metal. Por ejemplo, el ángulo entre la superficie 21 incidente y la superficie 22 de formación de película y el ángulo entre la superficie 22 de formación de película y la superficie 23 de emisión son ambos de aproximadamente 80°.

Los ejemplos de materiales para el prisma 20 incluyen resina y vidrio. Los ejemplos de la resina para formar el prisma 20 incluyen poli(metacrilato de metilo) (PMMA), policarbonato (PC) y polímero basado en cicloolefina. El prisma 20 es preferiblemente una resina que tiene un índice de refracción de 1,4 a 1,6 y una pequeña birrefringencia.

La película 30 de metal está formada sobre una superficie (superficie 22 de formación de película) del prisma 20 y en la trayectoria 44 de flujo. Con la presencia de la película 30 de metal, se produce interacción (resonancia de plasmón superficial; SPR) entre los fotones de la luz de excitación α incidente sobre la superficie 22 de formación de película en la condición de reflexión total y los electrones libres en la película 30 de metal, haciendo posible generar luz de campo localizado sobre la superficie de la película 30 de metal. El material de la película 30 de metal no está particularmente limitado siempre que sea un metal que genera resonancia de plasmón superficial. Los ejemplos del material de la película 30 de metal incluyen oro, plata, cobre, aluminio y aleaciones de los mismos. En la presente realización, la película 30 de metal es una película delgada de oro. El grosor de la película 30 de metal no está particularmente limitado. Además, el grosor está preferiblemente en el intervalo de 30 nm a 70 nm.

Además, un agente de captura (no ilustrado) para capturar la sustancia objetivo de detección está inmovilizado sobre una superficie de la película 30 de metal no orientada hacia el prisma 20. Más específicamente, el agente de captura está directa o indirectamente inmovilizado sobre la superficie de la película 30 de metal. La sustancia objetivo de detección puede detectarse selectivamente por el agente de captura. Al menos una porción de la superficie de la película 30 de metal sobre la cual está inmovilizado el agente de captura se establece como campo de reacción en el que reacciones tales como unión del agente de captura a la sustancia objetivo de detección (reacción primaria) o marcaje de fluorescencia (reacción secundaria) de la sustancia objetivo de detección. El tipo del agente de captura no está particularmente limitado siempre que pueda capturar una sustancia objetivo de detección. Por ejemplo, el agente de captura es un anticuerpo completo o un fragmento de un anticuerpo capaz de unirse específicamente a la sustancia objetivo de detección.

La tapa 40 de trayectoria de flujo está dispuesta sobre la superficie de la película 30 de metal no orientada hacia el prisma 20 con la trayectoria 44 de flujo interpuesta entre medias. Cuando la película 30 de metal no está formada sobre toda la superficie del prisma 20, la tapa 40 de trayectoria de flujo puede estar dispuesta sobre la superficie 22 de formación de película con la trayectoria 44 de flujo interpuesta entre medias. Tal como se describió anteriormente, el surco 43 de trayectoria de flujo está formado sobre la superficie trasera de la tapa 40 de trayectoria de flujo. Con la tapa 40 de trayectoria de flujo dispuesta sobre la película 30 de metal, se forma la trayectoria 44 de flujo que permite que fluyan líquidos tales como una muestra, un líquido de marcaje fluorescente y un líquido de lavado. El campo de reacción está expuesto en la trayectoria 44 de flujo. Cuando se inyectan líquidos en la trayectoria 44 de flujo, los líquidos entran en contacto con el agente de captura del campo de reacción en la trayectoria 44 de flujo.

La tapa 40 de trayectoria de flujo es un elemento de resina formado por un material transparente a la luz (luz dispersada por plasmón β y fluorescencia γ) emitida a partir del campo de reacción de la película 30 de metal. El material de la tapa 40 de trayectoria de flujo no está particularmente limitado siempre que sea transparente a la luz. Una porción de la tapa 40 de trayectoria de flujo puede estar formada por un material opaco siempre que sea capaz de guiar la luz a la unidad 120 de recepción de luz. La tapa 40 de trayectoria de flujo está unida a la película 30 de metal o al prisma 20 mediante unión con una cinta adhesiva de doble cara o un adhesivo, soldadura por láser, soldadura por ultrasonidos, engarce usando un elemento de pinza o similares.

El tipo de líquido que fluye a través de la trayectoria 44 de flujo no está particularmente limitado. Los tipos a modo de ejemplo del líquido incluyen una muestra que contiene una sustancia objetivo de detección, un líquido de marcaje fluorescente que contiene una sustancia fluorescente y una disolución tampón. Los tipos de la muestra y la sustancia objetivo de detección no están particularmente limitados. Los ejemplos de muestras incluyen líquidos corporales tales como sangre, suero, plasma, orina, orificios nasales, saliva y semen, y diluyentes de los mismos. Los ejemplos de la sustancia objetivo de detección incluyen ácidos nucleicos (ADN, ARN o similares), proteínas (polipéptidos, oligopéptidos o similares), aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos y moléculas modificadas de los mismos.

El primer orificio 41 pasante de la tapa 40 de trayectoria de flujo incluye la porción 45 de abertura. La porción 45 de abertura proporciona comunicación entre el interior y el exterior de la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración de la lámina 50 elástica descrita a continuación.

La lámina 50 elástica es un elemento en forma de lámina que tiene ductilidad y elasticidad y configurado para cubrir la porción 45 de abertura y que incluye una porción 51 de penetración que proporciona comunicación entre el interior y el exterior de la trayectoria 44 de flujo. En un caso en el que la lámina 50 elástica no tiene ductilidad y la resistencia al rasgado es pequeña, la lámina 50 elástica se rasgará cuando la boquilla 160 (descrita a continuación) se inserte para cerrar la porción 51 de penetración, haciendo que sea difícil mantener la presión dentro de la trayectoria 44 de flujo. La lámina 50 elástica está dispuesta sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo para cubrir la porción 45 de abertura de la tapa 40 de trayectoria de flujo. En este momento, la porción 51 de penetración está dispuesta en una posición correspondiente a la porción 45 de abertura de la tapa 40 de trayectoria de flujo.

La porción 51 de penetración está configurada para proporcionar comunicación entre el interior y el exterior de la trayectoria 44 de flujo. Cuando se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está a una altura (denominada a continuación en el presente documento altura de administración de líquido) a la que se realiza la administración de líquido al suministrar el líquido en la trayectoria 44 de flujo, la boquilla 160 toca (entra en contacto con) la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración. El contacto de la boquilla 160 con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración hace posible sellar el interior de la trayectoria 44 de flujo en el lado del primer orificio 41 pasante al administrar líquido. La forma y el tamaño de la porción 51 de penetración no están particularmente limitados siempre que puedan lograr la función anteriormente descrita y pueden diseñarse de manera apropiada según la forma y el tamaño de la boquilla 160. La forma de la porción 51 de penetración es un orificio y una muesca. La forma del orificio y la muesca no está particularmente limitada siempre que pueda lograr la función anteriormente descrita. En la presente realización, tal como se ilustra en la figura 2A, la porción 51 de penetración es un orificio circular. Las figuras 3A y 3B son vistas en planta que ilustran configuraciones de láminas 50' y 50'' elásticas en un chip de detección según una modificación de la presente realización. Tal como se ilustra en la figura 3A, una porción 51' de penetración de la lámina 50' elástica es un orificio rectangular. Además, tal como se ilustra en la figura 3B, la porción 51'' de penetración de la lámina 50'' elástica es una muesca en forma de cruz.

Desde el punto de vista de potenciar la adhesión entre la boquilla 160 y la lámina 50 elástica, la longitud máxima de la abertura del orificio o la longitud máxima de la muesca es menor que un diámetro externo de la boquilla 160 en una porción que va a entrar en contacto con la lámina 50 elástica cuando se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido. Dicho de otro modo, la longitud máxima de la abertura del orificio o la longitud máxima de la muesca es menor que el diámetro externo de la boquilla 160 en una posición desde el extremo de la boquilla 160 en una dirección longitudinal de la boquilla 160 correspondiente a una profundidad desde la superficie inferior de la trayectoria 44 de flujo hasta la lámina 50 elástica. Además, la longitud máxima de la abertura del orificio o la longitud máxima de la muesca es más preferiblemente 1/2 o menos del diámetro externo de la boquilla 160 en una porción que entra en contacto con la lámina 50 elástica cuando se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo para cerrar la porción 51 de penetración, es decir, cuando se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido. Además, la longitud máxima de la abertura del orificio, la longitud mínima de la abertura del orificio, la longitud máxima de la muesca y la longitud mínima de la muesca no están particularmente limitadas, y pueden establecerse de manera apropiada según el tamaño de la boquilla 160. La longitud máxima de la abertura del orificio y la longitud máxima de la muesca son cada una de 1,5 mm, por ejemplo. Además, la longitud mínima de la abertura del orificio y la longitud mínima de la muesca son cada una de 0,1 mm, por ejemplo.

El material de la lámina 50 elástica no está particularmente limitado siempre que tenga elasticidad hasta el punto de que puede ponerse la boquilla 160 en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración. Los ejemplos del material de la lámina 50 elástica incluyen polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno lineal de baja densidad (LLDPE), polietileno de densidad media (MDPE), nailon, polipropileno no estirado (CPP), copolímero de etileno-alcohol vinílico (EVOH), silicona, poliuretano, poli(alcohol vinílico) (PVA) y poli(cloruro de vinilo) (PVC). Desde el punto de vista de potenciar la adhesión entre la boquilla 160 y la lámina 50 elástica, la constante elástica de tracción de la lámina 50 elástica es preferiblemente de 0,05 GPa a 2 GPa. Además, el alargamiento por tracción a la rotura de la lámina 50 elástica (para el método de medición, véase el ejemplo 3 descrito a continuación) es preferiblemente del 200% al 2000%. Además, la resistencia al rasgado de la lámina 50 elástica (para el método de medición, véase el

ejemplo 4 que va a describirse a continuación) es preferiblemente de 80 mN a 3000 mN. El grosor de la lámina 50 elástica no está particularmente limitado siempre que se logre la elasticidad deseada y puede establecerse de manera apropiada según el material de la lámina 50 elástica. Por ejemplo, el grosor de la lámina 50 elástica es de 10 μm a 500 μm . La forma y tamaño exteriores de la lámina 50 elástica no están particularmente limitados siempre que la porción 51 de penetración pueda lograr la función anteriormente descrita y no dificulte la trayectoria óptica de luz tal como luz de excitación α y fluorescencia γ .

La lámina 60 cubre la abertura del orificio 42 pasante de agitación. Un orificio 61 de aire está formado en la lámina 60. Esto permite que el líquido barrido a la trayectoria 44 de flujo desde la boquilla 160 de administración de líquido fluya a través de la trayectoria 44 de flujo. El material de la lámina 60 no está particularmente limitado. Los ejemplos del material de la lámina 60 incluyen polipropileno (PP), copolímero de etileno-alcohol vinílico (EVOH), silicona, polietileno (PE), poli(tereftalato de etileno) (PET), poli(cloruro de vinilo) (PVC) y poli(alcohol vinílico) (PVA).

Es preferible que la lámina 50 elástica se una a la periferia de la porción 45 de abertura mediante la lámina 70 adhesiva. Esto hace posible fijar la lámina 50 elástica sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo más firmemente. Es preferible que la lámina 70 adhesiva tenga un segundo orificio 71 pasante en una posición correspondiente a la porción 51 de penetración. En este momento, la longitud mínima de la abertura del segundo orificio 71 pasante es preferiblemente mayor que el diámetro externo de la boquilla 160 en una porción correspondiente al segundo orificio 71 pasante cuando se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo para cerrar la porción 51 de penetración cuando se suministra un líquido en la trayectoria 44 de flujo, es decir, cuando se inserta la boquilla 160 para cerrar la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido. Esto hace posible fijar la lámina 50 elástica más firmemente sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo en las inmediaciones de la porción 51 de penetración sin provocar que la boquilla 160 esté en contacto con la lámina 70 adhesiva. Además, desde el punto de vista de fijar firmemente la lámina 50 elástica sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo, es preferible que la lámina 70 adhesiva esté dispuesta para rodear la porción 45 de abertura, y tenga una anchura de al menos 1 mm en un sentido alejándose de la porción 45 de abertura.

El ángulo de resonancia (y el ángulo de potenciación en las inmediaciones inmediatas del mismo) está determinado de manera aproximada por el diseño del chip 10 de detección. Los elementos de diseño son un índice de refracción del prisma 20, un índice de refracción de la película 30 de metal, un grosor de la película 30 de metal, el coeficiente de extinción de la película 30 de metal, la longitud de onda de la luz de excitación α o similares. Aunque el ángulo de resonancia y el ángulo de potenciación se desplazan por la sustancia objetivo de detección capturada sobre la película 30 de metal, la cantidad está por debajo de algunos grados.

Tal como se ilustra en la figura 1, la luz de excitación α guiada al prisma 20 incide sobre la superficie 21 incidente en el prisma 20. La luz de excitación α incidente en el prisma 20 incide y se refleja sobre una superficie de contacto (superficie 22 de formación de película) entre el prisma 20 y la película 30 de metal formando un ángulo de reflexión total (ángulo que genera resonancia de plasmón superficial). La luz reflejada a partir de la superficie de contacto se emite al exterior del prisma 20 en la superficie 23 de emisión (no ilustrada). Además, la incidencia de la luz de excitación α sobre la superficie de contacto formando un ángulo que genera resonancia de plasmón superficial provoca que la luz dispersada por plasmón β y la fluorescencia γ se emitan en un sentido hacia la unidad 120 de recepción de luz desde el campo de reacción.

(Método para fabricar un chip de detección)

A continuación, se describirá un ejemplo de un método de fabricación del chip 10 de detección según la presente realización. El método de fabricación del chip 10 de detección no está limitado a este ejemplo.

El chip 10 de detección según la presente realización puede fabricarse realizando las etapas de: 1) preparar cada uno del prisma 20, la tapa 40 de trayectoria de flujo, la lámina 50 elástica y la lámina 60; 2) formar la película 30 de metal y el campo de reacción sobre el prisma 20; y 3) fijar el prisma 20 sobre el cual están formados la película 30 de metal y el campo de reacción, la tapa 40 de trayectoria de flujo, la lámina 50 elástica y la lámina 60 en este orden. A continuación se describirán etapas individuales.

En primer lugar, se preparan cada uno del prisma 20, la tapa 40 de trayectoria de flujo, la lámina 50 elástica y la lámina 60. Por ejemplo, el prisma 20 y la tapa 40 de trayectoria de flujo pueden prepararse moldeando una resina para dar formas deseadas mediante un método de moldeo por inyección, o pueden usar productos prefabricados. Además, por ejemplo, la lámina 50 elástica y la lámina 60 pueden usar productos prefabricados cortados en una forma deseada.

A continuación, se forman secuencialmente la película 30 de metal y el campo de reacción sobre el prisma 20. La película 30 de metal puede formarse sobre una porción o la superficie completa de la superficie 22 de formación de película del prisma 20. El método de formación de la película 30 de metal no está particularmente limitado y puede seleccionarse de manera apropiada de métodos conocidos. Los ejemplos del método de formación de la película 30 de metal incluyen pulverización, deposición en fase de vapor y revestimiento. A continuación, puede inmovilizarse el agente de captura directa o indirectamente sobre la película 30 de metal. Con este procedimiento, puede formarse el campo de reacción sobre el prisma 20.

El método de inmovilización del agente de captura no está particularmente limitado. Por ejemplo, puede formarse una monocapa autoensamblada (denominada a continuación en el presente documento "SAM") o una película de polímero en la que está unido un agente de captura sobre la película 30 de metal. Los ejemplos de SAM incluyen membranas formadas con tioles alifáticos sustituidos tales como $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{11}\text{-SH}$. Los ejemplos de materiales que constituyen la membrana de polímero incluyen polietilenglicol y polímeros de MPC. Alternativamente, puede inmovilizarse un polímero que tiene un grupo reactivo (o un grupo funcional que puede convertirse en un grupo reactivo) capaz de unirse al agente de captura sobre la película 30 de metal, y después puede unirse el agente de captura al polímero.

A continuación, se fijan el prisma 20, la tapa 40 de trayectoria de flujo y la lámina 50 elástica en este orden y, después, se fija la lámina 60 sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo para cerrar la abertura del orificio 42 pasante de agitación de la tapa 40 de trayectoria de flujo. El método de fijación de la tapa 40 de trayectoria de flujo sobre el prisma 20 y el método de fijación de la lámina 50 elástica y la lámina 60 sobre la tapa 40 de trayectoria de flujo no están particularmente limitados y pueden seleccionarse de manera apropiada de métodos conocidos. Por ejemplo, un método de fijación del prisma 20 y la tapa 40 de trayectoria de flujo, y un método de fijación de la tapa 40 de trayectoria de flujo con la lámina 50 elástica y la lámina 60, incluye unir con una cinta adhesiva de doble cara o un adhesivo, soldadura por láser y soldadura por ultrasonidos. En la presente realización, la tapa 40 de trayectoria de flujo y la lámina 50 elástica se fijan mediante la lámina 70 adhesiva. Además, el prisma 20 (película 30 de metal) y la tapa 40 de trayectoria de flujo, y la tapa 40 de trayectoria de flujo y la lámina 60, se adhieren mediante una cinta 80 adhesiva de doble cara.

(Configuración del aparato de SPFS)

A continuación, se describirán cada uno de los componentes del aparato 100 de SPFS. Tal como se ilustra en la figura 1, el aparato 100 de SPFS incluye la unidad 110 de emisión de luz (sección de emisión de luz), la unidad 120 de recepción de luz (detector de luz), la unidad 130 de administración de líquido (sección de administración de líquido), la unidad 140 de transporte y la sección 150 de control (sección de procesamiento).

La unidad 110 de emisión de luz emite la luz de excitación α (luz de láser monomodo) hacia la superficie 21 incidente del prisma 20 del chip 10 de detección soportado por el soporte 141 de chip. Más específicamente, una unidad 111 de fuente de luz emite la luz de excitación α a una región correspondiente al campo de reacción sobre la superficie trasera de la película 30 de metal formando un ángulo de reflexión total.

La unidad 110 de emisión de luz (sección de emisión de luz) incluye la unidad 111 de fuente de luz que emite la luz de excitación α , una sección 112 de ajuste de ángulo que ajusta el ángulo de incidencia de la luz de excitación α con respecto a la superficie de contacto (superficie 22 de formación de película) entre el prisma 20 y la película 30 de metal, y una sección 113 de control de fuente de luz que controla diversos dispositivos incluidos en la unidad 111 de fuente de luz.

La unidad 111 de fuente de luz emite la luz de excitación α . Por ejemplo, la unidad 111 de fuente de luz incluye una fuente de luz de la luz de excitación α , un sistema óptico de conformación de haz, un mecanismo de APC y un mecanismo de ajuste de temperatura (ninguno de los cuales se ilustra).

El tipo de la fuente de luz no está particularmente limitado. Los ejemplos de tipos de fuentes de luz incluyen diodos de láser (LD), diodos emisores de luz, lámparas de mercurio y otras fuentes de luz de láser. La longitud de onda de la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz está en el intervalo de 400 nm a 1000 nm, por ejemplo.

Cuando la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz no es un haz, la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz se convierte en un haz mediante una lente, un espejo, una hendidura o similares. Además, en un caso en el que la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz no es luz monocromática, la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz se convierte en luz monocromática mediante una red de difracción o similar. Además, cuando la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz no es luz linealmente polarizada, la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz se convierte en luz linealmente polarizada mediante un polarizador o similar.

El sistema óptico de conformación de haz incluye, por ejemplo, un colimador, un filtro de paso de banda, un filtro de polarización lineal, una placa de media onda, una hendidura, unos medios de aumento o similares. El sistema óptico de conformación de haz puede incluir la totalidad o una porción de los mismos.

El colimador colima la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz.

El filtro de paso de banda filtra la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz para obtener una luz de banda estrecha que tiene una única longitud de onda central. Esto se debe a que la luz de excitación α procedente de la fuente de luz tiene una ligera anchura de distribución de longitud de onda.

El filtro de polarización lineal filtra la luz de excitación α emitida a partir de la fuente de luz para obtener luz

completamente polarizada de manera lineal. La placa de media onda ajusta la dirección de polarización de la luz de excitación α para permitir que el componente de onda P incida sobre la película 30 de metal. La hendidura y los medios de aumento ajustan el diámetro de haz, la forma de contorno o similares, de la luz de excitación α .

5 El mecanismo de APC controla la fuente de luz para obtener una salida constante de la fuente de luz. Más específicamente, el mecanismo de APC detecta la cantidad de luz de la luz bifurcada a partir de la luz de excitación α usando un fotodiodo (no ilustrado) o similar. Después, el mecanismo de APC controla la energía de entrada mediante un circuito de regresión para controlar la salida de la fuente de luz para que sea constante.

10 El mecanismo de ajuste de temperatura es, por ejemplo, un calentador o un elemento de Peltier. La longitud de onda y la energía de la luz emitida a partir de la fuente de luz pueden variar dependiendo de la temperatura, en algunos casos. Por este motivo, la temperatura de la fuente de luz se mantiene a un nivel constante mediante el mecanismo de ajuste de temperatura para controlar la longitud de onda y la energía de la luz emitida a partir de la fuente de luz a un nivel constante.

15 La sección 112 de ajuste de ángulo ajusta el ángulo de incidencia de la luz de excitación α con respecto a la película 30 de metal, específicamente la superficie de contacto entre el prisma 20 y la película 30 de metal (superficie 22 de formación de película). Con el fin de aplicar la luz de excitación α a un ángulo de incidencia predeterminado hacia una posición predeterminada de la película 30 de metal (superficie 22 de formación de película), la sección 112 de ajuste de ángulo hace rotar el eje óptico de la luz de excitación α y el soporte 141 de chip uno con respecto al otro. En la presente realización, la sección 112 de ajuste de ángulo hace rotar la unidad 111 de fuente de luz alrededor de un eje ortogonal al eje óptico de la luz de excitación α (eje perpendicular a la superficie de lámina de la figura 1) como eje central sobre la película 30 de metal.

25 La sección 113 de control de fuente de luz controla diversos dispositivos incluidos en la unidad 111 de fuente de luz para ajustar la potencia de la luz de excitación α a partir de la unidad 111 de fuente de luz, el tiempo de emisión o similar. La sección 113 de control de fuente de luz incluye un ordenador o un microordenador conocido que incluye un aparato aritmético, un aparato de control, un aparato de almacenamiento, un aparato de entrada y un aparato de salida.

30 La unidad 120 de recepción de luz detecta luz (luz dispersada por plasmón β o fluorescencia γ) emitida a partir de la película 30 de metal. La unidad 120 de recepción de luz (detector de luz) está dispuesta para orientarse hacia una superficie de la película 30 de metal del chip 10 de detección soportado por el soporte 141 de chip, no estando la superficie orientada hacia el prisma 20. La unidad 120 de recepción de luz incluye: una primera lente 122, un filtro 123 óptico, una segunda lente 124 y un sensor 125 de recepción de luz dispuesto en la unidad 121 de sistema óptico de recepción de luz; un mecanismo 126 de conmutación de posición; y una sección 127 de control de sensor de recepción de luz. La unidad 120 de recepción de luz puede incluir además un grupo de lente de condensador, un tope de apertura, un filtro fluorescente o similares.

40 La primera lente 122 es, por ejemplo, una lente de condensador, y recoge luz emitida a partir de la película 30 de metal. La segunda lente 124 es, por ejemplo, una lente de obtención de imágenes, y enfoca la luz recogida por la primera lente 122 sobre la superficie de recepción de luz del sensor 125 de recepción de luz. La trayectoria óptica entre las dos lentes es sustancialmente paralela.

45 El filtro 123 óptico está dispuesto entre la primera lente 122 y la segunda lente 124. El filtro 123 óptico transmite únicamente el componente fluorescente de la luz incidente, y elimina el componente de luz de excitación (luz dispersada por plasmón β). Al eliminar el componente de luz de excitación usando el filtro 123 óptico, es posible detectar la fluorescencia γ con una alta relación S/N. Los tipos a modo de ejemplo del filtro 123 óptico incluyen un filtro de reflexión de luz de excitación, un filtro de punto de corte de longitud de onda corta y un filtro de paso de banda.

50 El sensor 125 de recepción de luz detecta luz dispersada por plasmón β y fluorescencia γ emitida a partir del chip 10 de detección. El tipo del sensor 125 de recepción de luz no está particularmente limitado siempre que pueda lograrse el objetivo anterior, sin embargo, es preferible usar un sensor que tiene una pequeña varianza en el valor de detección aunque aumente la cantidad de recepción de luz. Un ejemplo del sensor 125 de recepción de luz es un fotodiodo (PD).

55 El mecanismo 126 de conmutación de posición conmuta la posición del filtro 123 óptico a una posición en la trayectoria óptica o una posición fuera de la trayectoria óptica en la unidad 121 de sistema óptico de recepción de luz. Más específicamente, el filtro 123 óptico se dispone en la trayectoria óptica en la unidad 121 de sistema óptico de recepción de luz cuando se mide el valor de blanco óptico o el valor de fluorescencia. El filtro 123 óptico se dispone fuera de la trayectoria óptica cuando el sensor 125 de recepción de luz detecta la luz dispersada por plasmón β .

60 La sección 127 de control de sensor de recepción de luz detecta la sensibilidad del sensor 125 de recepción de luz, gestiona la sensibilidad del sensor 125 de recepción de luz mediante el valor de salida detectado, y controla la sensibilidad del sensor 125 de recepción de luz para obtener un valor de salida apropiado. La sección 127 de control de sensor de recepción de luz incluye un ordenador o un microordenador conocido que incluye un aparato aritmético, un aparato de control, un aparato de almacenamiento, un aparato de entrada y un aparato de salida.

65

La unidad 130 de administración de líquido (sección de administración de líquido) suministra un líquido tal como una muestra, un líquido de marcaje fluorescente, un líquido de lavado o similares en la trayectoria 44 de flujo del chip 10 de detección soportado por el soporte 141 de chip, o elimina estos líquidos del interior la trayectoria 44 de flujo. La unidad 130 de administración de líquido incluye un chip 131 de líquido, un cuerpo 132 principal de bomba (bomba) y un mecanismo 134 de accionamiento de bomba de administración de líquido.

El chip 131 de líquido es un recipiente que almacena un líquido tal como una muestra, un líquido de marcaje fluorescente y un líquido de lavado. El chip 131 de líquido está generalmente dispuesto como una pluralidad de recipientes dispuestos según el tipo de líquido o como un chip que integra una pluralidad de recipientes.

El cuerpo 132 principal de bomba (bomba) incluye una bomba 1331 de émbolo y una boquilla 1332 de bomba. La bomba 1331 de émbolo incluye una jeringa y un émbolo (ninguno de los cuales está ilustrado). El émbolo realiza un movimiento de vaivén dentro de la jeringa. La administración (succión y dispensación) del líquido se realiza de manera cuantitativa mediante el movimiento de vaivén del émbolo. La boquilla 1332 de bomba sujeta de manera desprendible la boquilla 160.

El mecanismo 134 de accionamiento de bomba de administración de líquido incluye un aparato de accionamiento de émbolo y un aparato para mover la boquilla 160. El aparato de accionamiento de émbolo es un aparato para someter el émbolo a movimiento de vaivén e incluye un motor de paso a paso, por ejemplo. Desde el punto de vista de gestionar una cantidad de líquido residual del chip 10 de detección, es preferible usar el aparato de accionamiento que incluye el motor de paso a paso debido a su capacidad para gestionar la cantidad de administración de líquido y la velocidad de administración de líquido. El aparato para mover la boquilla 160 mueve la boquilla 160 en dos direcciones, es decir, una dirección axial (por ejemplo, la dirección vertical) de la boquilla 160 y una dirección que cruza la dirección axial (por ejemplo, la dirección horizontal). El aparato para mover la boquilla 160 incluye un brazo de robot, una plataforma biaxial o una placa giratoria verticalmente móvil, por ejemplo.

La unidad 130 de administración de líquido aspira diversos líquidos a partir del chip 131 de líquido y suministra el líquido aspirado en la trayectoria 44 de flujo del chip 10 de detección. El movimiento del émbolo hace que el líquido realice un movimiento de vaivén en la trayectoria 44 de flujo, para permitir agitar de manera apropiada el líquido en el orificio 42 pasante de agitación cubierto por la lámina 60. Esto hace posible fomentar la uniformidad de la distribución de concentración del líquido y la reacción (por ejemplo, la reacción primaria y la reacción secundaria) en la trayectoria 44 de flujo. El líquido en la trayectoria 44 de flujo se aspira de nuevo por la boquilla 160 de administración de líquido y después se descarga en el chip 131 de líquido o similar. Repitiendo cada uno de los procedimientos de funcionamiento, es posible realizar una reacción, lavado o similares, con diversos líquidos, y disponer la sustancia objetivo de detección marcada con una sustancia fluorescente en la trayectoria 44 de flujo.

Se describirá la función de la lámina 50 elástica para mantener la presión en la trayectoria 44 de flujo en el momento de administración de líquido. Las figuras 4A a 4C son vistas en sección esquemáticas parciales del chip 10 de detección según la presente realización para explicar la función de la lámina 50 elástica. La figura 4A ilustra un estado antes de insertar la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración. La figura 4B ilustra un estado en el que la boquilla 160 se inserta en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración para permitir que la lámina 50 elástica entre en contacto con la boquilla 160. La figura 4C ilustra un estado en el que la boquilla 160 se inserta hasta posicionarse a la altura de administración de líquido para cerrar la porción 51 de penetración.

La boquilla 160 según la presente realización tiene una superficie en sección decreciente cuyo diámetro externo aumenta alejándose del extremo de la boquilla (véase la figura 4A). Con esta configuración, a la mitad de la inserción de la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración, la lámina 50 elástica entre en contacto con la boquilla 160 en una posición predeterminada (véase la figura 4B). Entonces, a medida que se inserta la boquilla 160 más profundamente para cerrar la porción 51 de penetración, se presiona la lámina 50 elástica y se expande mediante la boquilla 160. En este momento, dado que la lámina 50 elástica intenta volver a su forma original mediante la fuerza de recuperación, se aprieta la boquilla 160 mediante la lámina 50 elástica (véase la figura 4C). Con esta configuración, cuando se inserta la boquilla 160 para cerrar la porción 51 de penetración, la lámina 50 elástica entra en contacto con la boquilla 160 para impedir la generación del hueco de la porción 45 de abertura, haciendo posible mantener la presión interna dentro de la trayectoria 44 de flujo, generada al administrar líquido. Esto da como resultado la supresión de fuga de aire a partir del hueco de la porción 45 de abertura cuando se extruye el líquido a partir de la boquilla 160, haciendo posible presionar el líquido para que fluya en la trayectoria 44 de flujo. Además, cuando se aspira el líquido desde el interior de la trayectoria 44 de flujo hasta la boquilla 160, no entrará aire a través del hueco de la porción 45 de abertura, permitiendo la succión del líquido dentro de la trayectoria 44 de flujo. De esta manera, el aparato 100 de SPFS según la presente realización puede realizar de manera apropiada la administración de líquido.

Desde el punto de vista de aumentar la fuerza de recuperación de la lámina 50 elástica para potenciar la adhesión entre la boquilla 160 y la lámina 50 elástica, el material de la lámina 50 elástica es preferiblemente un material que tiene una alta fuerza elástica. Además, el grosor de la lámina 50 elástica es preferiblemente grande. Además, es

preferible que el tamaño de la porción 51 de penetración (longitud máxima de la abertura del orificio o la longitud máxima de la muesca) sea pequeño. Sin embargo, es preferible ajustar de manera apropiada el material y grosor de la lámina 50 elástica y el tamaño de la porción 51 de penetración para evitar la aplicación de una carga excesiva sobre la boquilla 160 y el aparato 100 de SPFS.

5 La unidad 140 de transporte transporta y fija el chip 10 de detección en una posición de instalación, una posición de detección o una posición de administración de líquido. Obsérvese que la "posición de instalación" es una posición para instalar el chip 10 de detección en el aparato 100 de SPFS. La "posición de detección" es una posición en la que la
10 unidad 120 de recepción de luz detecta la fluorescencia γ generada cuando la unidad 110 de emisión de luz emite la luz de excitación α al chip 10 de detección. Además, la "posición de administración de líquido" es una posición en la que la unidad 130 de administración de líquido suministra un líquido en la trayectoria 44 de flujo del chip 10 de detección o elimina el líquido en la trayectoria 44 de flujo del chip 10 de detección.

15 La unidad 140 de transporte incluye el soporte 141 de chip y una plataforma 142 de transporte.

El soporte 141 de chip está fijado en la plataforma 142 de transporte y soporta de manera desprendible el chip 10 de detección. La forma del soporte 141 de chip es una forma que puede soportar el chip 10 de detección y no obstruye la trayectoria óptica de luz tal como la luz de excitación α , la fluorescencia γ y la luz reflejada.

20 La plataforma 142 de transporte mueve el soporte 141 de chip en un sentido y en su sentido opuesto. La plataforma 142 de transporte también está conformada para no obstruir la trayectoria óptica de luz tal como la luz de excitación α , la fluorescencia γ y la luz reflejada. La plataforma 142 de transporte se acciona por un motor de paso a paso, por ejemplo.

25 La sección 150 de control controla la sección 112 de ajuste de ángulo, la sección 113 de control de fuente de luz, el mecanismo 126 de conmutación de posición, la sección 127 de control de sensor de recepción de luz, el mecanismo 134 de accionamiento de bomba de administración de líquido y la plataforma 142 de transporte. Además, la sección 150 de control también funciona como sección de procesamiento para calcular un valor de señal que indica la presencia o cantidad de la sustancia objetivo de detección basándose en un resultado de detección del sensor 125 de
30 recepción de luz. La sección 150 de control incluye un ordenador o un microordenador conocido que incluye un aparato aritmético, un aparato de control, un aparato de almacenamiento, un aparato de entrada y un aparato de salida.

(Configuración de boquilla)

35 La boquilla 160 puede almacenar líquidos y se inserta en el chip 131 de líquido o la trayectoria 44 de flujo en el momento de la administración de líquido. La boquilla 160 está unida a la boquilla 1332 de bomba del aparato 100 de SPFS. El tamaño y la forma de la boquilla 160 no están particularmente limitados. Tal como se describió anteriormente, en el chip 10 de detección según la presente realización, la boquilla 160 se inserta en la trayectoria 44 de flujo para
40 cerrar la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido. La forma de la boquilla 160 puede ser una forma en sección decreciente en la que el diámetro externo aumenta alejándose del extremo de la boquilla. La forma de la boquilla 160 según la presente realización es una forma en sección decreciente en la que el diámetro externo de la boquilla 160 aumenta alejándose del extremo de la boquilla. Un ejemplo de la boquilla 160 es una punta de pipeta.

45 En un caso en el que la boquilla 160 es reemplazable, no hay necesidad de lavar la boquilla 160. Esto es preferible desde el punto de vista de impedir la contaminación de impurezas o similares. En un caso en el que la boquilla 160 no es reemplazable, todavía es posible usar el aparato sin remplazo de la boquilla 160 mediante una configuración adicional para lavar el interior de la boquilla 160 para el aparato 100 de SPFS.

50 (Configuración de kit de prueba)

El chip 10 de detección y la boquilla 160 pueden usarse como kit de prueba para detectar una sustancia objetivo de detección en una muestra. En este momento, tal como se describió anteriormente, la longitud máxima de la abertura del orificio o la longitud máxima de la muesca es menor que el diámetro externo de la boquilla 160 en una posición
55 desde el extremo de la boquilla 160 en una dirección longitudinal de la boquilla 160 correspondiente a una profundidad desde la superficie inferior de la trayectoria 44 de flujo hasta la lámina 50 elástica.

(Operación de detección del aparato de SPFS)

60 A continuación, se describirá la operación de detección (método de detección según la presente realización) del aparato 100 de SPFS. La figura 5 es un diagrama de flujo que ilustra un ejemplo del procedimiento de funcionamiento del aparato 100 de SPFS.

65 En primer lugar, se realiza la preparación para la detección (etapa S10). Específicamente, se prepara el chip 10 de detección y se instala el chip 10 de detección en el soporte 141 de chip dispuesto en una posición de instalación del aparato 100 de SPFS. En el caso en el que está presente un agente de humectación sobre la película 30 de metal del

chip 10 de detección, se lava la película 30 de metal para eliminar el agente de humectación para permitir que el agente de captura capture de manera apropiada la sustancia objetivo de detección. En este momento, la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y suministra una disolución tampón o similar en la trayectoria 44 de flujo para lavar el interior de la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración. Posteriormente, tras lavar el interior de la trayectoria 44 de flujo, la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido y retira la disolución tampón a partir de la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración.

A continuación, se detecta luz que contiene luz que tiene la misma longitud de onda que la fluorescencia γ en un estado en el que no está presente sustancia fluorescente presente sobre la película 30 de metal y se mide el valor de blanco óptico (etapa S20). En este caso, el "valor de blanco óptico" significa la cantidad de luz de fondo emitida sobre el chip 10 de detección.

Específicamente, la sección 150 de control controla la plataforma 142 de transporte para mover el chip 10 de detección desde la posición de instalación hasta la posición de detección. Después de eso, la sección 150 de control controla la sección 113 de control de fuente de luz para emitir la luz de excitación α a una posición predeterminada de la película 30 de metal a partir de la unidad 111 de fuente de luz de la unidad 110 de emisión de luz. Al mismo tiempo, la sección 150 de control controla la sección 127 de control de sensor de recepción de luz para detectar la luz mediante el sensor 125 de recepción de luz. Con este procedimiento, se mide el valor de blanco óptico. Se transmite el valor de blanco óptico medido a, y se almacena en, la sección 150 de control (sección de procesamiento).

A continuación, se unen la sustancia objetivo de detección en la muestra y el agente de captura entre sí (reacción primaria; etapa S30). Específicamente, la sección 150 de control controla la plataforma 142 de transporte para mover el chip 10 de detección desde la posición de detección hasta la posición de administración de líquido. Después de eso, la sección 150 de control controla el mecanismo 134 de accionamiento de bomba de administración de líquido para aspirar la muestra en el chip 131 de líquido en la boquilla 160, y suministra la muestra aspirada en la trayectoria 44 de flujo. En este momento, la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y suministra la muestra en la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración. Después, la unidad 130 de administración de líquido somete la muestra a movimiento de vaivén en la trayectoria 44 de flujo repitiendo la succión y la dispensación. En la presente realización, la unidad 130 de administración de líquido administra mediante movimiento de vaivén líquido mediante una boquilla 160 insertada en la trayectoria 44 de flujo para cerrar la porción 51 de penetración. Con esta configuración, es posible hacer que al menos una porción de una sustancia objetivo de detección se una directa o indirectamente a la película 30 de metal en un caso en el que la sustancia objetivo de detección está presente en la muestra. Posteriormente, se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y la sección 150 de control controla el mecanismo 134 de accionamiento de bomba de administración de líquido para aspirar la muestra dentro de la trayectoria 44 de flujo en la boquilla 160 en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración, para retirar la muestra a partir de la trayectoria 44 de flujo. Además, el interior de la trayectoria 44 de flujo se lava con una disolución tampón o similar para eliminar sustancias no capturadas por el agente de captura. En este momento, la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y suministra la disolución tampón o similar en la trayectoria 44 de flujo para lavar el interior de la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración. Posteriormente, después de lavar el interior de la trayectoria 44 de flujo, la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y retira la disolución tampón a partir de la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración.

Posteriormente, se marca la sustancia objetivo de detección unida al agente de captura con una sustancia fluorescente (reacción secundaria; etapa S40). Específicamente, la sección 150 de control controla el mecanismo 134 de accionamiento de bomba de administración de líquido para aspirar el líquido de marcaje fluorescente en el chip 131 de líquido en la boquilla 160, e inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y suministra el líquido de marcaje fluorescente aspirado en la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración, para permitir que el líquido de marcaje fluorescente realice un movimiento de vaivén dentro de la trayectoria 44 de flujo. Esto permite marcar la sustancia objetivo de detección con una sustancia fluorescente. Un ejemplo del líquido de marcaje fluorescente es una disolución tampón que contiene un anticuerpo (anticuerpo secundario) marcado con una sustancia fluorescente. Posteriormente, se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta

que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y la sección 150 de control controla el mecanismo 134 de accionamiento de bomba de administración de líquido para aspirar la disolución de marcaje fluorescente dentro de la trayectoria 44 de flujo en la boquilla 160 en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración, para retirar el líquido de marcaje fluorescente a partir de la trayectoria 44 de flujo. Además, el interior de la trayectoria 44 de flujo se lava con una disolución tampón o similar para retirar sustancias fluorescentes libres o similares. En este momento, la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y suministra la disolución tampón o similar en la trayectoria 44 de flujo para lavar el interior de la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración. Posteriormente, después de lavar el interior de la trayectoria 44 de flujo, la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido, y retira la disolución tampón a partir de la trayectoria 44 de flujo en un estado en el que la boquilla 160 está en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración.

En las etapas S30 y S40, la longitud máxima de la abertura del orificio (porción 51 de penetración) es menor que el diámetro externo de la boquilla 160 en una porción que entra en contacto con la lámina 50 elástica cuando se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración hasta que el extremo de la boquilla 160 está posicionado a la altura de administración de líquido (es decir, cuando la unidad 130 de administración de líquido inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo a través de la porción 51 de penetración). Por ejemplo, la longitud máxima de la abertura del orificio (porción 51 de penetración) es preferiblemente $1/2$ o menos del diámetro externo de la boquilla 160 en una porción que entra en contacto con la lámina 50 elástica cuando se inserta la boquilla 160 en la trayectoria 44 de flujo para cerrar la porción 51 de penetración. De ese modo, la boquilla 160 y la lámina 50 elástica pueden ponerse en estrecho contacto entre sí con adhesión superior, haciendo posible realizar la administración de líquido de manera apropiada.

Posteriormente, se emite la luz de excitación α a la película 30 de metal en un estado en el que la sustancia objetivo de detección marcada con una sustancia fluorescente está directa o indirectamente unida sobre la película 30 de metal, para detectar la fluorescencia γ emitida a partir de la sustancia fluorescente que marca la sustancia objetivo de detección sobre la película 30 de metal para medir el valor de fluorescencia (etapa S50).

Específicamente, la sección 150 de control controla la plataforma 142 de transporte para mover el chip 10 de detección desde la posición de administración de líquido hasta la posición de detección. Después de eso, la sección 150 de control controla la sección 113 de control de fuente de luz para emitir la luz de excitación α hacia la película 30 de metal a partir de la unidad 111 de fuente de luz de la unidad 110 de emisión de luz. Al mismo tiempo, la sección 150 de control controla la sección 127 de control de sensor de recepción de luz para detectar la fluorescencia γ mediante el sensor 125 de recepción de luz. Con este procedimiento, se mide el valor de fluorescencia. Se transmite el valor de fluorescencia medido a la sección 150 de control (sección de procesamiento) y se registra.

Finalmente, se calcula un valor de señal que indica la presencia o cantidad de la sustancia objetivo de detección (etapa S60). El valor de fluorescencia incluye principalmente un componente fluorescente (valor de señal) derivado a partir de una sustancia fluorescente que marca una sustancia objetivo de detección y un valor de blanco óptico derivado a partir del ruido. Por consiguiente, restando el valor de blanco óptico obtenido en la etapa S20 a partir del valor de fluorescencia obtenido en la etapa S50, la sección 150 de control (sección de procesamiento) puede calcular un valor de señal correlacionado con la cantidad de la sustancia objetivo de detección. El valor de señal se convierte en la cantidad o concentración de la sustancia objetivo de detección mediante una curva de calibración preparada por adelantado.

Con el procedimiento anterior, es posible detectar la presencia o cantidad de la sustancia objetivo de detección en la muestra.

Tal como se describió anteriormente, el chip de detección convencional usa una lámina elástica que tiene una estructura de tres capas en la que una lámina de polímero, una lámina de aluminio y una lámina de polímero se laminan en este orden. La lámina elástica que tiene una estructura de tres capas se usa porque usar una lámina de polímero de una única capa en un chip de detección convencional tiene un problema de que, dado que la lámina de polímero tiene ductilidad, la lámina de polímero se estira incluso cuando se presiona una boquilla, conduciendo a un fallo en la rotura apropiada de la membrana. En cambio, el chip 10 de detección según la presente realización tiene una configuración en la que la lámina 50 elástica incluye la porción 51 de penetración y, por tanto, no hay ninguna necesidad de romper la lámina 50 elástica. Con esta configuración, incluso con la lámina 50 elástica de una única capa, es posible poner la boquilla 160 en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración y administrar de manera apropiada el líquido. Esto da como resultado permitir que el chip 10 de detección según la presente realización reduzca el coste del chip 10 de detección debido a la reducción del material de la lámina 50 elástica.

(Efectos)

Tal como se describió anteriormente, con la aplicación del chip 10 de detección según la presente realización, es posible realizar de manera apropiada la administración de líquido en un estado en el que la boquilla 160 se pone en contacto con la lámina 50 elástica para cerrar la porción 51 de penetración sin rasgar la lámina 50 elástica. En el chip 10 de detección según la presente realización, no hay necesidad de romper la lámina elástica, por lo tanto es posible reducir la rigidez requerida para la boquilla 160 de administración de líquido y el aparato de detección, y no hay necesidad de garantizar un espacio para la rotura, conduciendo a la miniaturización del chip 10 de detección. Además, es posible realizar de manera apropiada la administración de líquido con el método de detección y el aparato de detección según la presente realización, permitiendo la detección de la presencia o cantidad de la sustancia objetivo de detección con alta precisión. Además, con el uso de un kit de prueba según la presente realización, es posible detectar la presencia o cantidad de una sustancia objetivo de detección con alta precisión.

Ejemplos

A continuación en el presente documento, se describirá la presente invención en detalle con referencia a ejemplos, aunque la presente invención no se limita por estos ejemplos. En los siguientes ejemplos, el valor numérico de la presión representa una diferencia con respecto a la presión atmosférica. Por ejemplo, cuando se describe que la presión es de 30 [kPa] a 200 [kPa], teniendo en cuenta la presión atmosférica, la presión en la trayectoria de flujo es aproximadamente de 130 [kPa] a 300 [kPa].

[Ejemplo 1]

1. Preparación de kit de prueba (chip de detección y boquilla)

Se preparó un chip de detección en el que el primer orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo está cerrado con una lámina elástica que tiene un orificio de ϕ 0,5 mm o ϕ 1 mm como porción de penetración. Para comparación, también se preparó un chip de detección convencional en el que el primer orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo está cerrado con una lámina elástica sin un orificio. El chip de detección que tenía una lámina elástica con un orificio usó una lámina de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) que tenía un grosor de 60 μ m como lámina elástica. El chip de detección que tenía una lámina elástica sin un orificio usó un cuerpo laminado obtenido laminando una lámina de LLDPE que tenía un grosor de 50 μ m, una lámina de aluminio que tenía un grosor de 9 μ m y una lámina de LLDPE que tenía un grosor de 50 μ m en este orden como lámina elástica. Además, se preparó una boquilla que tenía un diámetro externo de 1 mm en el extremo. Cuando se inserta la boquilla en la trayectoria de flujo a través del orificio hasta que su extremo está posicionado a la altura de administración de líquido, el diámetro externo de la boquilla en la porción de contacto entre la lámina elástica y la boquilla es de 2,3 mm.

2. Medición de la distancia de rotura o distancia de penetración y fuerza máxima aplicada a la boquilla

Se bajó la boquilla de administración de líquido hacia cada uno de los chips de detección con referencia a un estado en el que el extremo de la boquilla estaba a la misma altura que la superficie superior de la lámina elástica. Con el chip de detección que tenía una lámina elástica sin un orificio, se midió una distancia (también denominada a continuación en el presente documento "distancia de rotura") recorrida por la boquilla hasta que el extremo de la boquilla rompió la lámina elástica. Con el chip de detección que tenía una lámina elástica con un orificio, se midió una distancia (también denominada a continuación en el presente documento "distancia de penetración") recorrida por la boquilla hasta que el extremo de la boquilla pasó a través del orificio en la lámina elástica. Al mismo tiempo, se midió la fuerza máxima aplicada a la boquilla hasta que el extremo de la boquilla se insertó hasta la altura de administración de líquido.

Las figuras 6A y 6B son gráficos que ilustran una relación entre una distancia de inserción de la boquilla y la fuerza aplicada a la boquilla. La figura 6A ilustra un gráfico relacionado con un chip de detección que tiene una lámina elástica sin un orificio y la figura 6B ilustra un gráfico relacionado con un chip de detección que tiene una lámina elástica con un orificio. Cuando se baja la boquilla, se presiona la boquilla contra la lámina elástica. Durante este tiempo, la fuerza aplicada a la boquilla aumenta tal como se ilustra en las figuras 6A y 6B. A continuación, la boquilla rompe la lámina elástica con un chip de detección que tiene una lámina elástica sin un orificio, mientras que el extremo de la boquilla pasa a través del orificio con el chip de detección que tiene la lámina elástica con un orificio. En este momento, la fuerza aplicada a la boquilla disminuye repentinamente. Después se inserta la boquilla en el orificio (o el orificio formado por la rotura) hasta que su extremo está posicionado a la altura de administración de líquido. Mientras tanto, dado que la boquilla presiona y expande el orificio de la lámina elástica, la fuerza aplicada a la boquilla aumenta. Tal como se ilustra en la figura 6A, en el caso del chip de detección que tiene una lámina elástica sin orificios, la fuerza máxima aplicada a la boquilla hasta que el extremo de la boquilla se inserta hasta la altura de administración de líquido es la fuerza aplicada a la boquilla inmediatamente antes de la rotura (también denominada a continuación en el presente documento "fuerza de rotura"). Además, tal como se ilustra en la figura 6B, en el caso del chip de detección que tiene una lámina elástica sin un orificio, la fuerza máxima aplicada a la boquilla hasta que el extremo de la boquilla se inserta hasta la altura de administración de líquido es la fuerza aplicada a la boquilla cuando el extremo de la boquilla alcanza la altura de administración de líquido (también denominada a continuación en el presente documento "fuerza de inserción").

3. Resultados

5 La figura 7A es un gráfico que ilustra una relación entre el diámetro del orificio y la distancia de rotura o distancia de penetración. La figura 7B es un gráfico que ilustra una relación entre el diámetro del orificio y la fuerza de rotura o fuerza de inserción. En las figuras 7A y 7B, los círculos negros (●) indican resultados para el chip de detección que tiene una lámina elástica sin un orificio, los círculos blancos (○) indican resultados de un chip de detección que tiene una lámina elástica con un orificio de ϕ 0,5 mm de diámetro y los cuadrados blancos (□) indican los resultados de un chip de detección que tiene una lámina elástica con un orificio de ϕ 1,0 mm. En la figura 7A, el eje horizontal ilustra el diámetro [mm] del orificio, y el eje vertical ilustra la distancia de rotura o distancia de penetración [mm]. En la figura 7B, el eje horizontal ilustra el diámetro [mm] del orificio y el eje vertical ilustra la fuerza de rotura o fuerza de inserción [N].

15 Tal como se ilustra en la figura 7A, tanto la distancia de penetración como la fuerza de inserción se redujeron con el chip de detección que tiene una lámina elástica con un orificio en comparación con el resultado (distancia de rotura y fuerza de rotura) para un chip de detección que tiene una lámina elástica sin un orificio. Esto es porque existe una necesidad de romper la lámina elástica en el chip de detección que tiene una lámina elástica sin un orificio, mientras que no hay necesidad de romper la lámina elástica con un chip de detección que tiene una lámina elástica con un orificio.

20 Los resultados anteriores indican que el chip de detección según la presente realización disminuye la distancia de penetración y, por tanto, reduce la altura requerida para el chip de detección, haciendo posible miniaturizar el chip de detección. Además, el resultado indica la reducción de la fuerza de inserción, haciendo posible reducir la carga aplicada a la boquilla y al aparato de detección, y reducir la rigidez requerida para la boquilla y el aparato de detección.

25 [Ejemplo 2]

1. Preparación de kit de prueba (chip de detección y boquilla)

30 Se preparó un chip de detección en el que el primer orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo está cerrado con una lámina elástica que tiene un orificio de ϕ 0,5 mm, ϕ 1 mm, ϕ 1,5 mm o ϕ 2 mm, como porción de penetración. Para comparación, también se preparó un chip de detección convencional en el que el primer orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo está cerrado con una lámina elástica sin un orificio, igual que el chip usado en el ejemplo 1. El chip de detección que tenía una lámina elástica con un orificio usó una lámina de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) que tenía un grosor de 60 μ m como lámina elástica. Como boquilla, se preparó la misma boquilla que la usada en el ejemplo 1.

2. Evaluación de la capacidad de sellado del chip de detección

40 Con cada uno de los chips de detección, se cierra el segundo orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo y se controla el émbolo con el mecanismo de accionamiento de bomba de administración de líquido en un estado en el que se inserta la boquilla para cerrar el orificio hasta que el extremo de la boquilla está posicionado a la altura de administración de líquido, para comprimir el aire en la trayectoria de flujo para aumentar la presión que va a establecerse a una presión predeterminada de 30 [kPa] a 200 [kPa] dentro de la trayectoria de flujo. Se evaluó la capacidad de sellado de cada uno de los chips de detección mediante los siguientes criterios. Desde el punto de vista de resistir el uso práctico, se consideró que un caso de resistir una presión de al menos 50 kPa era aceptable.

○: satisfactorio para mantener la presión en la trayectoria de flujo

50 Δ : sustancialmente satisfactorio para mantener la presión en la trayectoria de flujo con un ligero nivel de fuga

La tabla 1 ilustra una relación entre el diámetro del orificio, la presión en la trayectoria de flujo y la capacidad de sellado de cada uno de los chips de detección.

55 [Tabla 1]

		DIÁMETRO DEL ORIFICIO, ϕ [mm]				
		0	0,5	1	1,5	2
PRESIÓN [kPa]	30	○	○	○	○	Δ
	50	○	○	○	Δ	Δ
	100	○	○	○	Δ	Δ
	200	○	○	Δ	Δ	Δ

Tal como se ilustra en la tabla 1, se encontró que cuanto menor era el diámetro del orificio, más podía mantenerse la presión dentro de la trayectoria de flujo. Esto es probablemente porque cuanto menor es el diámetro del orificio, mayor

se vuelve la adhesión entre la boquilla y la lámina elástica. Este resultado indica que, con el chip de detección según la presente invención, es posible mantener de manera suficiente la presión en la trayectoria de flujo siempre que el diámetro del orificio esté dentro de un intervalo predeterminado con respecto al diámetro externo de la boquilla, aunque se forme un orificio en la lámina elástica. Además, cuando se inserta la boquilla en la trayectoria de flujo a través del orificio hasta que su extremo está posicionado a la altura de administración de líquido, el diámetro externo de la boquilla en la porción que entra en contacto con la lámina elástica es de 2,3 mm. Esto indica que es preferible suministrar el líquido en un estado en el que se inserta la boquilla en la trayectoria de flujo a través del orificio de tal manera que la longitud máxima de la abertura del orificio pasa a ser de 1/2 o menos del diámetro externo de la boquilla en una porción que entra en contacto con la lámina elástica.

[Ejemplo 3]

1. Preparación de kit de prueba (chip de detección y boquilla)

Se preparó un chip de detección en el que el primer orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo está cerrado con una lámina elástica que tiene un orificio de ϕ 1,5 mm como porción de penetración. Como lámina elástica, se usó una lámina de PET (grosor de 38 μ m) que tenía un alargamiento por tracción a la rotura del 150%, una lámina de nailon (grosor de 50 μ m) que tenía un alargamiento por tracción a la rotura del 500%, una lámina de LLDPE (grosor de 80 μ m) que tenía un alargamiento por tracción a la rotura del 1000%, o una lámina de LLDPE (grosor de 100 μ m) que tenía un alargamiento por tracción a la rotura del 1700%. El alargamiento por tracción a la rotura se evaluó cortando una pieza de ensayo 5 mm \times 60 mm a partir de cada lámina elástica y llevando a cabo un ensayo de tracción intercalando porciones de 25 mm en ambos extremos de la pieza de ensayo en la longitudinal dirección con un elemento de agarre. Como boquilla, se preparó la misma boquilla que la usada en el ejemplo 1.

2. Evaluación de la capacidad de sellado del chip de detección

Con cada uno de los chips de detección, se cierra el segundo orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo, y se usa el mecanismo de accionamiento de bomba de administración de líquido para comprimir el aire en la trayectoria de flujo en un estado en el que se inserta la boquilla para cerrar el orificio hasta que el extremo de la boquilla está posicionado a la altura de administración de líquido, para establecer la presión en la trayectoria de flujo a 20 [kPa]. Se evaluó la capacidad de sellado de cada uno de los chips de detección mediante los siguientes criterios.

○: satisfactorio para mantener la presión en la trayectoria de flujo

×: sustancialmente satisfactorio para mantener la presión en la trayectoria de flujo con un ligero nivel de fuga

La tabla 2 ilustra una relación entre el diámetro del orificio, el alargamiento por tracción a la rotura de la lámina elástica y la capacidad de sellado de cada uno de los chips de detección.

[Tabla 2]

		ALARGAMIENTO POR TRACCIÓN A LA ROTURA			
		[%]			
		150	500	1000	1700
DIÁMETRO DEL ORIFICIO, ϕ [mm]	1,5	×	○	○	○

Tal como se ilustra en la tabla 2, se encontró que el chip de detección que tiene una lámina elástica con orificios que tienen un diámetro de 1,5 mm puede mantener la presión en la trayectoria de flujo cuando el alargamiento por tracción a la rotura es mayor. Esto es probablemente porque cuanto mayor es el alargamiento por tracción a la rotura de la lámina elástica, más puede estirarse la lámina elástica por la boquilla insertada para cerrar el orificio, y esto aumentó la porción de contacto estrecho entre la boquilla y la lámina elástica, para potenciar la adhesión entre la boquilla y la lámina elástica. A partir de este resultado, se encontró que la presión dentro de la trayectoria de flujo puede mantenerse de manera suficiente siempre que el alargamiento por tracción a la rotura de la lámina elástica esté dentro de un intervalo predeterminado. En cambio, en este ejemplo, cuando el alargamiento por tracción a la rotura era del 150%, se confirmaron ligeramente fugas dado que la lámina elástica y la boquilla no estaban en contacto estrecho entre sí.

[Ejemplo 4]

1. Preparación de kit de prueba (chip de detección y boquilla)

Se preparó un chip de detección en el que el primer orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo está cerrado con una lámina elástica que tiene un orificio de ϕ 1 mm, ϕ 1,5 mm o ϕ 2,0 mm, como porción de penetración. Como lámina elástica, se usó una lámina de PET que tenía una resistencia al rasgado de 70 mN y un grosor de 38 μ m, una lámina de polipropileno no estirado que tenía una resistencia al rasgado de 200 mN y un grosor de 60 μ m, y una lámina de

LLDPE que tenía una resistencia al rasgado de 2000 mN y un grosor de 100 µm. La resistencia al rasgado de cada una de las láminas elásticas se evaluó cortando una pieza de ensayo de 2,3 cm × 5 cm a partir de cada una de las láminas elásticas y rasgando la pieza de ensayo en una dirección que pasaba a través del centro de la pieza de ensayo a lo largo de la dirección del eje menor. Como boquilla, se preparó la misma boquilla que la usada en el ejemplo 1.

5 2. Evaluación de la capacidad de sellado del chip de detección

10 Con cada uno de los chips de detección, se cierra el segundo orificio pasante de la tapa de trayectoria de flujo, y se usa el mecanismo de accionamiento de bomba de administración de líquido para controlar el émbolo para comprimir el aire en la trayectoria de flujo en un estado en el que se inserta la boquilla para cerrar el orificio hasta que el extremo de la boquilla está posicionado a la altura de administración de líquido, para establecer la presión en la trayectoria de flujo a 20 [kPa]. Se evaluó la capacidad de sellado de cada uno de los chips de detección mediante los siguientes criterios.

15 ○: satisfactorio para mantener la presión en la trayectoria de flujo

×: sustancialmente satisfactorio para mantener la presión en la trayectoria de flujo con un ligero nivel de fuga

20 La tabla 3 ilustra una relación entre el diámetro del orificio, la resistencia al rasgado de la lámina elástica y la capacidad de sellado de cada uno de los chips de detección.

[Tabla 3]

		RESISTENCIA AL RASGADO [mN]		
		70	200	2000
DIÁMETRO DEL ORIFICIO, φ [mm]	1,0	×	○	○
	1,5	×	○	○
	2,0	○	○	○

25 Tal como se ilustra en la tabla 3, se encontró que cuanto mayor era el diámetro del orificio, más satisfactoriamente podía mantenerse la presión dentro de la trayectoria de flujo aunque la resistencia al rasgado sea pequeña. Esto es porque la lámina elástica se presiona y se expande más cuando se inserta la boquilla cuando el diámetro del orificio es pequeño en comparación con el caso en el que el diámetro del orificio es grande y, por tanto, la carga de la boquilla insertada en la lámina elástica rasgó la lámina elástica cuando la resistencia al rasgado es pequeña. A partir de este resultado, se encontró que la presión dentro de la trayectoria de flujo puede mantenerse de manera suficiente siempre que la resistencia al rasgado de la lámina elástica esté dentro de un intervalo predeterminado aunque el diámetro del orificio sea grande. Según este ejemplo, se estima que es posible mantener una alta capacidad de sellado independientemente de la longitud del diámetro del orificio cuando la resistencia al rasgado de la lámina elástica es de 80 mN a 3000 mN. En cambio, en el presente ejemplo, cuando el diámetro del orificio era de 1,0 mm o 1,5 mm y la resistencia al rasgado era de 70 mN, la boquilla no estaba en contacto con la lámina elástica para cerrar el orificio, conduciendo a un ligero nivel de fuga.

40 Esta solicitud reivindica la prioridad basándose en la solicitud de patente japonesa n.º 2015-224213, presentada el 16 de noviembre de 2015. Todo el contenido descrito en la memoria descriptiva y los dibujos de la solicitud se incorpora en el presente documento como referencia.

Aplicabilidad industrial

45 Con el método de detección, el aparato de detección y el kit de prueba según la presente invención, es posible detectar una sustancia objetivo de detección con alta fiabilidad y, por tanto, son aplicables para examen clínico, por ejemplo.

Lista de signos de referencia

- 10 Chip de detección
- 50 20 Prisma
- 21 Superficie incidente
- 55 22 Superficie de formación de película
- 23 Superficie de emisión
- 60 30 Película de metal

ES 2 941 058 T3

	40	Tapa de trayectoria de flujo
	41	Primer orificio pasante
5	42	Orificio pasante de agitación
	43	Surco de trayectoria de flujo
	44	Trayectoria de flujo
10	45	Porción de abertura
	50, 50', 50"	Lámina elástica
15	51, 51', 51"	Porción de penetración
	60	Lámina
	61	Orificio de aire
20	70	Lámina adhesiva
	71	Segundo orificio pasante
25	80	Cinta adhesiva de doble cara
	100	Analizador de fluorescencia por resonancia de plasmón superficial (aparato de SPFS)
	110	Unidad de emisión de luz (sección de emisión de luz)
30	111	Unidad de fuente de luz
	112	Mecanismo de ajuste de ángulo
35	113	Sección de control de fuente de luz
	120	Unidad de recepción de luz (detector de luz)
	121	Unidad de sistema óptico de recepción de luz
40	122	Primer grupo de lente
	123	Filtro óptico
45	124	Segundo grupo de lente
	125	Sensor de recepción de luz
	126	Mecanismo de conmutación de posición
50	127	Sección de control de sensor de recepción de luz
	130	Unidad de administración de líquido (sección de administración de líquido)
55	131	Chip de líquido
	132	Cuerpo principal de bomba
	1331	Bomba de émbolo
60	1332	Boquilla de bomba
	134	Mecanismo de accionamiento de bomba de administración de líquido
65	140	Unidad de transporte

ES 2 941 058 T3

	141	Soporte de chip
	142	Plataforma de transporte
5	150	Sección de control (unidad de procesamiento)
	160	Boquilla
	α	Luz de excitación
10	β	Luz dispersada por plasmón
	γ	Fluorescencia

REIVINDICACIONES

1. Método de detección para detectar la presencia o cantidad de una sustancia objetivo de detección en una muestra, comprendiendo el método:
- 5 una etapa de suministrar un líquido a un chip de detección que incluye un alojamiento que tiene una porción (45) de abertura y que aloja de manera interna un líquido y que incluye una lámina (50, 50', 50'') elástica que cubre la porción (45) de abertura y que tiene una porción (51, 51', 51'') de penetración que proporciona comunicación entre el interior y el exterior del alojamiento, específicamente insertando una boquilla (160) de administración de líquido en el alojamiento a través de la porción (51, 51', 51'') de penetración y suministrando el líquido en el alojamiento en un estado en el que la boquilla (160) está en contacto con la lámina (50, 50', 50'') elástica para cerrar la porción (51, 51', 51'') de penetración,
- 10 en el que la porción (51, 51', 51'') de penetración es uno de un orificio y una muesca,
- 15 una de una longitud máxima de la abertura del orificio y una longitud máxima de la muesca es menor que un diámetro externo de la boquilla (160) en una porción que entra en contacto con la lámina (50, 50', 50'') elástica cuando se inserta la boquilla (160) para cerrar la porción (51, 51', 51'') de penetración cuando se suministra el líquido en el alojamiento,
- 20 en el que la lámina (50, 50', 50'') elástica está unida a una periferia de la porción (45) de abertura mediante una lámina (70) adhesiva, y
- 25 en el que la lámina (70) adhesiva incluye un orificio (41, 42, 71) pasante en una posición correspondiente a la porción (51, 51', 51'') de penetración, y
- 30 una longitud mínima de una abertura del orificio (41, 42, 71) pasante es mayor que el diámetro externo de la boquilla (160) en una posición correspondiente al orificio (41, 42, 71) pasante cuando se inserta la boquilla (160) en el alojamiento para cerrar la porción (51, 51', 51'') de penetración cuando se suministra el líquido en el alojamiento.
2. Método de detección según la reivindicación 1, en el que la lámina (50, 50', 50'') elástica tiene un grosor de 10 μm a 500 μm .
- 35 3. Método de detección según la reivindicación 1, en el que una de la longitud máxima de la abertura del orificio y la longitud máxima de la muesca es 1/2 o menos del diámetro externo de la boquilla (160) en una porción que entra en contacto con la lámina (50, 50', 50'') elástica cuando se inserta la boquilla (160) para cerrar la porción (51, 51', 51'') de penetración cuando se suministra el líquido en el alojamiento.
- 40 4. Método de detección según la reivindicación 1, en el que la lámina (70) adhesiva está dispuesta para rodear la porción (45) de abertura y tiene una anchura de al menos 1 mm en un sentido alejándose de la porción (45) de abertura.
- 45 5. Método de detección según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además una etapa de administrar mediante movimiento de vaivén un líquido en el alojamiento mediante la boquilla (160).
6. Método de detección según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende además una etapa de detectar fluorescencia (γ) emitida al emitir luz al chip de detección,
- 50 en el que el chip de detección incluye además un prisma (20) formado por un material dieléctrico y una película (30) de metal dispuesta sobre una superficie del prisma (20) y en la porción de alojamiento,
- 55 la etapa de suministrar un líquido incluye suministrar la muestra que contiene una sustancia objetivo de detección en el alojamiento para hacer que la sustancia objetivo de detección se una directa o indirectamente sobre la película (30) de metal, y
- 60 la etapa de detectar fluorescencia (γ) incluye detectar fluorescencia (γ) emitida a partir de una sustancia fluorescente sobre la película (30) de metal cuando se emite la luz a la película (30) de metal a partir del lado de prisma (20) para generar resonancia de plasmón superficial en un estado en el que la sustancia objetivo de detección marcada con la sustancia fluorescente está directa o indirectamente unida sobre la película (30) de metal.
7. Aparato de detección para detectar la presencia o cantidad de una sustancia objetivo de detección en una muestra, comprendiendo el aparato de detección:
- 65 un soporte (141) de chip que soporta un chip de detección que incluye un alojamiento que tiene una porción

(45) de abertura y que aloja de manera interna un líquido y que incluye una lámina (50, 50', 50'') elástica que cubre la porción (45) de abertura y que proporciona comunicación entre el interior y el exterior del alojamiento; y

5 una sección de administración de líquido que incluye una bomba a la que está unida una boquilla (160) de administración de líquido y que administra un líquido en el alojamiento del chip de detección soportado por el soporte (141) de chip,

10 en el que la sección de administración de líquido inserta la boquilla (160) en el alojamiento a través de la porción (51, 51', 51'') de penetración y suministra un líquido en el alojamiento en un estado en el que la boquilla (160) está en contacto con la lámina (50, 50', 50'') elástica para cerrar la porción (51, 51', 51'') de penetración,

15 la porción (51, 51', 51'') de penetración es uno de un orificio y una muesca,

una de una longitud máxima de la abertura del orificio y una longitud máxima de la muesca es menor que un diámetro externo de la boquilla (160) en una porción que entra en contacto con la lámina (50, 50', 50'') elástica cuando se inserta la boquilla (160) para cerrar la porción (51, 51', 51'') de penetración cuando la sección de administración de líquido suministra el líquido en el alojamiento,

20 en el que la lámina (50, 50', 50'') elástica está unida a una periferia de la porción (45) de abertura mediante una lámina (70) adhesiva, y

25 en el que la lámina (70) adhesiva incluye un orificio (41, 42, 71) pasante en una posición correspondiente a la porción (51, 51', 51'') de penetración, y

30 una longitud mínima de una abertura del orificio (41, 42, 71) pasante es mayor que el diámetro externo de la boquilla (160) en una posición correspondiente al orificio (41, 42, 71) pasante cuando se inserta la boquilla (160) en el alojamiento para cerrar la porción (51, 51', 51'') de penetración cuando se suministra el líquido en el alojamiento.

8. Aparato de detección según la reivindicación 7, en el que la sección de administración de líquido administra líquido mediante movimiento de vaivén en el alojamiento mediante la boquilla (160).

35 9. Aparato de detección según la reivindicación 7 u 8, que comprende además:

una sección (110) de emisión de luz que emite luz al chip de detección soportado por el soporte (141) de chip; y

40 un detector (120) de luz que detecta fluorescencia (γ) emitida al emitir luz al chip de detección,

en el que el chip de detección incluye además un prisma (20) formado por un material dieléctrico y una película (30) de metal dispuesta sobre una superficie del prisma (20) y en la porción de alojamiento, y

45 el detector (120) de luz detecta fluorescencia (γ) emitida a partir de una sustancia fluorescente sobre la película (30) de metal cuando la sección (110) de emisión de luz emite luz a la película (30) de metal a partir del lado de prisma (20) para generar resonancia de plasmón superficial sobre la película (30) de metal en un estado en el que la sustancia objetivo de detección marcada con la sustancia fluorescente está directa o indirectamente unida sobre la película (30) de metal.

50 10. Kit de prueba que comprende:

55 un chip de detección que incluye un alojamiento que tiene una porción (45) de abertura y que aloja de manera interna un líquido y que incluye una lámina (50, 50', 50'') elástica que cubre la porción (45) de abertura y que tiene una porción (51, 51', 51'') de penetración que proporciona comunicación entre el interior y el exterior del alojamiento; y

60 una boquilla (160) de administración de líquido que va a insertarse en el alojamiento a través de la porción (51, 51', 51'') de penetración y que suministra un líquido al alojamiento,

en el que la porción (51, 51', 51'') de penetración es uno de un orificio o una muesca,

65 una de una longitud máxima de la abertura del orificio y una longitud máxima de la muesca es menor que un diámetro externo de la boquilla (160) en una posición desde un extremo de la boquilla (160) en una dirección longitudinal de la boquilla (160), correspondiente a una profundidad desde una superficie inferior del alojamiento hasta la lámina (50, 50', 50'') elástica,

en el que la lámina (50, 50', 50") elástica está unida a una periferia de la porción (45) de abertura mediante una lámina (70) adhesiva, y

5 en el que la lámina (70) adhesiva incluye un orificio (41, 42, 71) pasante en una posición correspondiente a la porción (51, 51', 51") de penetración, y

10 una longitud mínima de una abertura del orificio (41, 42, 71) pasante es mayor que el diámetro externo de la boquilla (160) en una posición correspondiente al orificio (41, 42, 71) pasante cuando se inserta la boquilla (160) en el alojamiento para cerrar la porción (51, 51', 51") de penetración cuando se suministra el líquido en el alojamiento.

FIG. 1

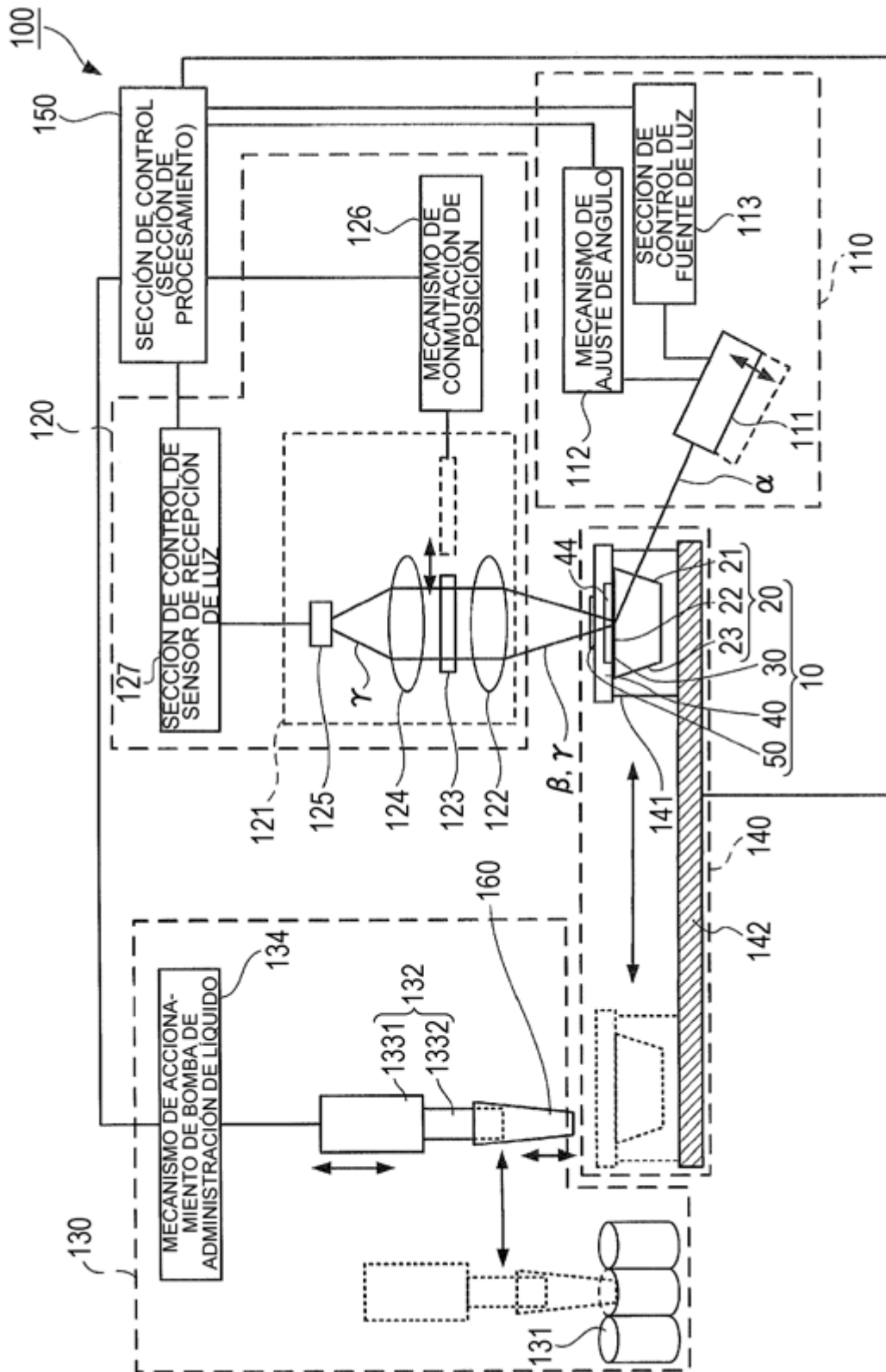


FIG. 2A

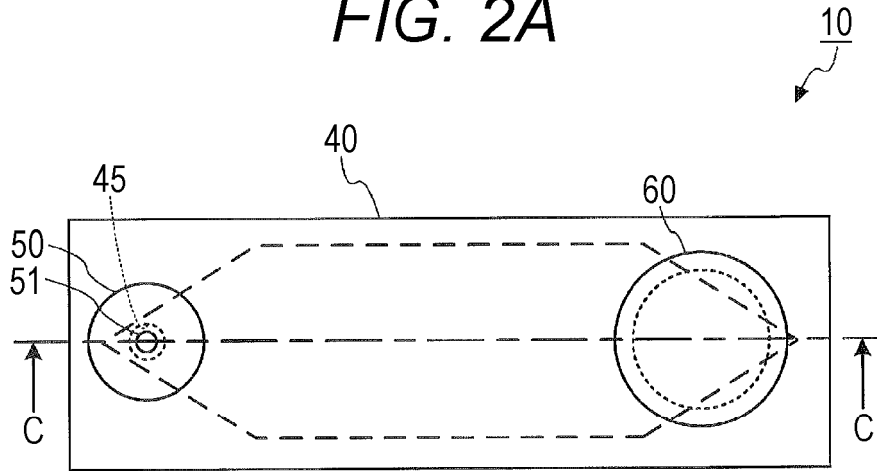


FIG. 2B

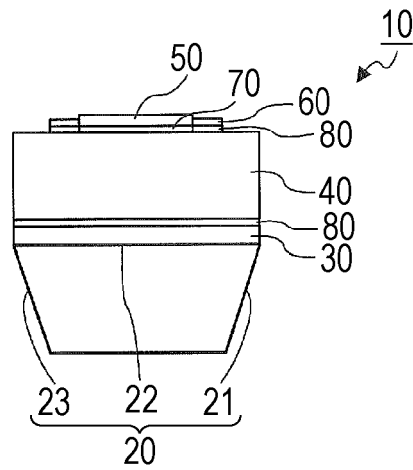


FIG. 2C

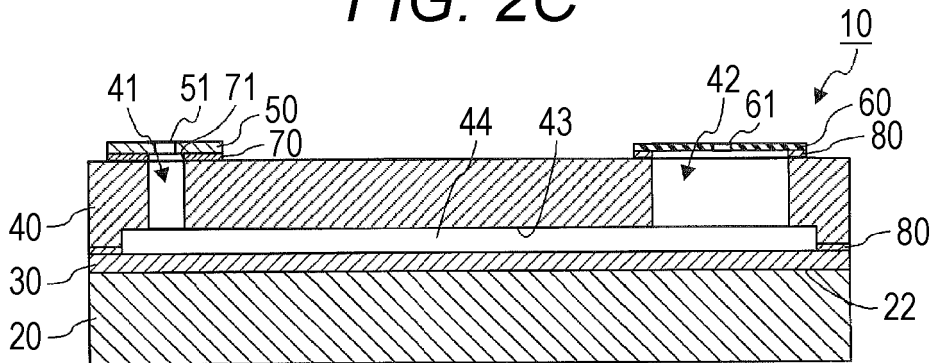


FIG. 3A

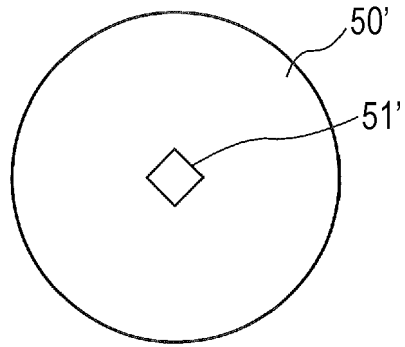


FIG. 3B

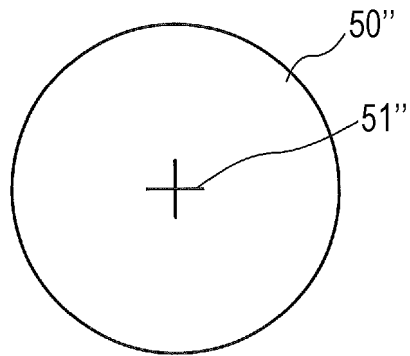


FIG. 4A

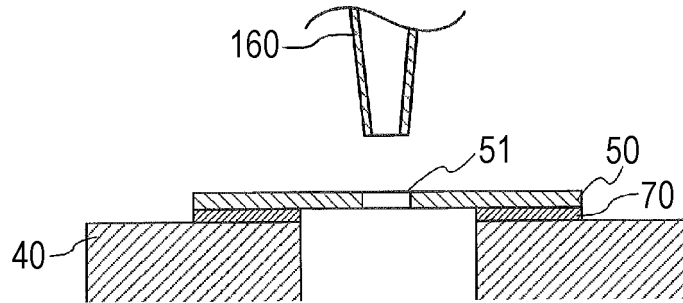


FIG. 4B

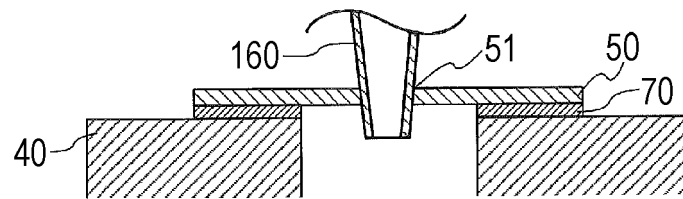


FIG. 4C

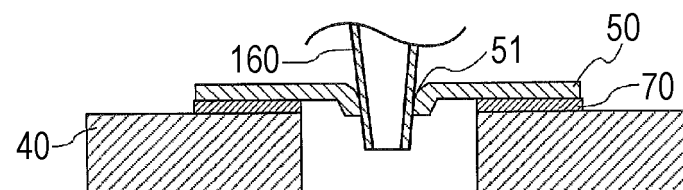


FIG. 5

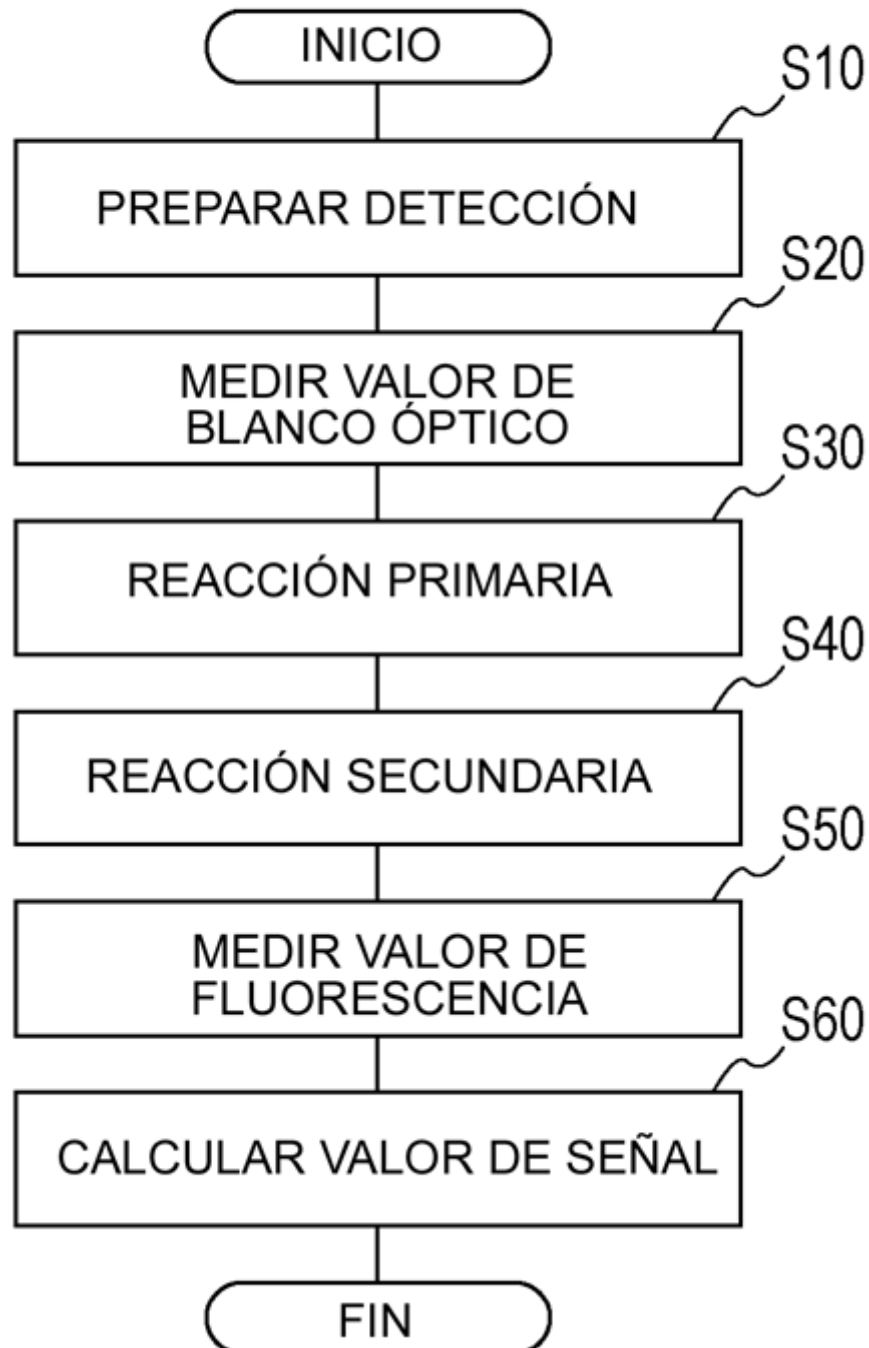


FIG. 6A

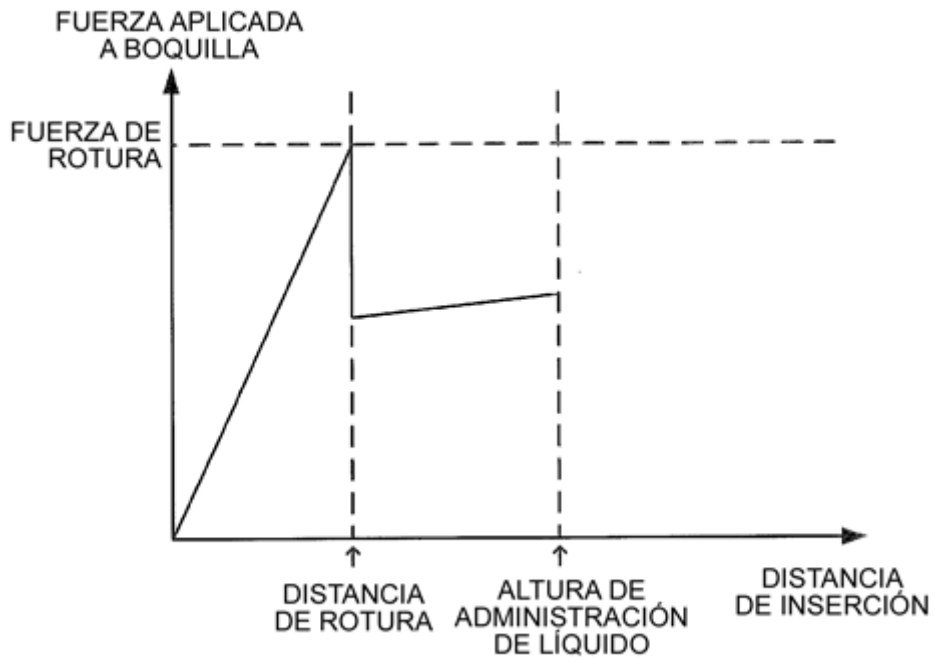


FIG. 6B

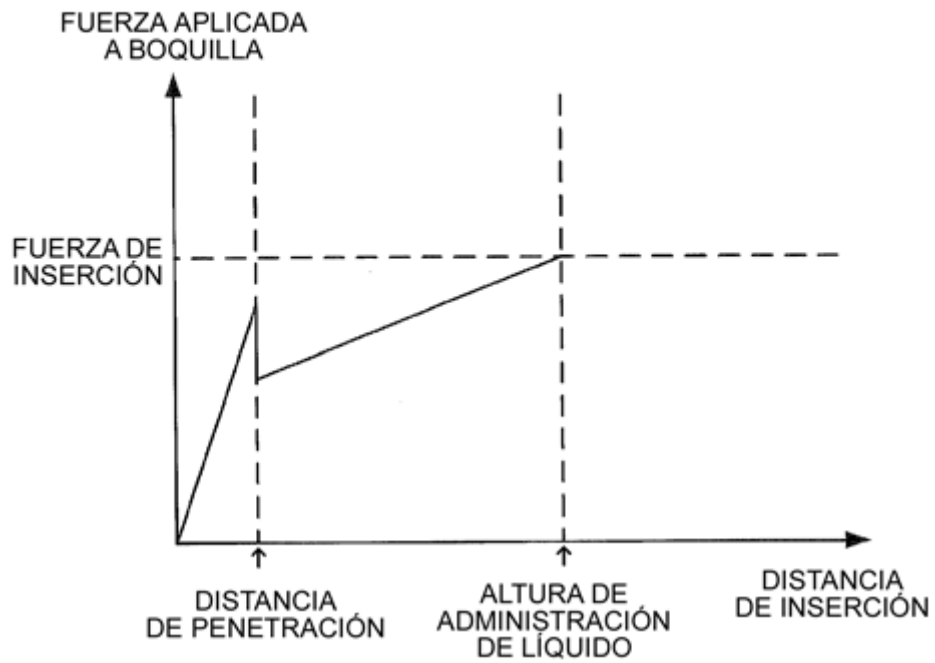


FIG. 7A

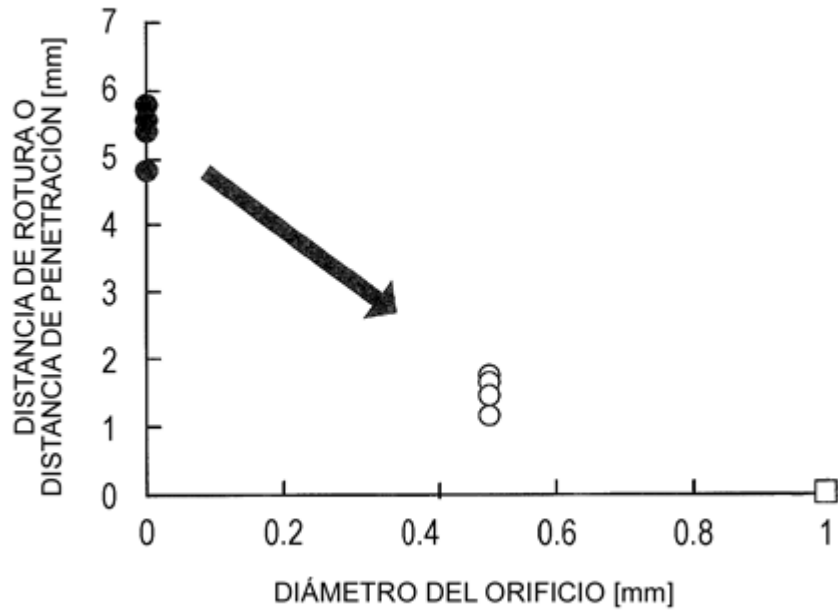


FIG. 7B

