

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年5月18日(18.05.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/082089 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/64 (2006.01) G01N 21/41 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/082202
- (22) 国際出願日: 2016年10月31日(31.10.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2015-223059 2015年11月13日(13.11.2015) JP
- (71) 出願人: コニカミノルタ株式会社(KONICA MINOLTA, INC.) [JP/JP]; 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 山内 伸浩(YAMAUCHI, Nobuhiro). 京極 悠一(KYOGOKU, Yuichi).
- (74) 代理人: 鷲田 公一(WASHIDA, Kimihito); 〒1600023 東京都新宿区西新宿1-2-3-7 新宿ファーストウェスト8階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,

BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

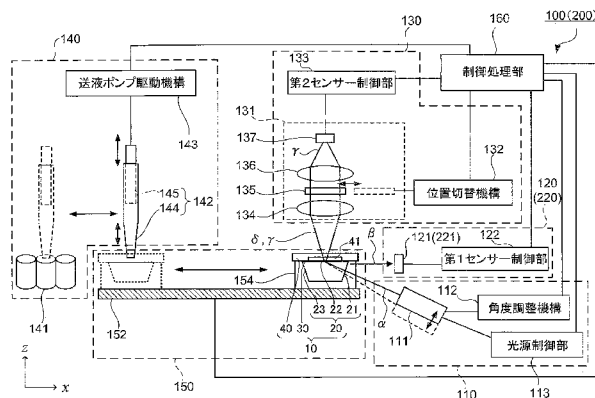
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: METHOD FOR SURFACE PLASMON RESONANCE FLUORESCENCE ANALYSIS AND DEVICE FOR SURFACE PLASMON RESONANCE FLUORESCENCE ANALYSIS

(54) 発明の名称: 表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置



- 112 Angle adjustment mechanism
- 113 Light source control unit
- 122 First sensor control unit
- 132 Position switching mechanism
- 133 Second sensor control unit
- 143 Delivery pump drive mechanism
- 160 Control processing unit

(57) Abstract: The present invention includes a prism having a light incidence surface and a film formation surface, a metal film disposed on the film formation surface, and a trapping body secured to the metal film. Excitation light is irradiated from an excitation light irradiation part onto an analysis chip installed in a chip holder, and excitation light reflected by the analysis chip is detected. The information outputted by the excitation light irradiation part is acquired.

(57) 要約: 入射面および成膜面を有するプリズムと、成膜面上に配置された金属膜と、金属膜上に固定化された捕捉体とを含み、チップホルダーに設置された分析チップに励起光照射部から励起光を照射するとともに、分析チップで反射された励起光を検出して、励起光照射部の出力情報を取得する。

WO 2017/082089 A1

明 細 書

発明の名称：

表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置

技術分野

[0001] 本発明は、表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance : S P R) を利用して試料液中に含まれる被検出物質を検出する表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置に関する。

背景技術

[0002] タンパク質やDNAなどの生体物質を検出する測定において、微量の被検出物質を高感度かつ定量的に検出できれば、即時に患者の状態を把握し治療を行うことが可能となる。このため、微量の被検出物質に起因する微弱な光を、高感度かつ定量的に検出する分析方法および分析装置が求められている。被検出物質を高感度で検出する1つの方法としては、表面プラズモン共鳴蛍光分析法 (表面プラズモン励起増強蛍光分光法 (Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy) : S P F S) が知られている (例えば、特許文献1参照)。

[0003] S P F Sでは、金属膜が所定の面上に配置されたプリズムを用いる。そして、プリズムを介して、表面プラズモン共鳴が生じる角度で励起光照射部から励起光を金属膜に照射すると、金属膜表面上に局在場光 (増強された電場) を発生させることができる。この局在場光により、金属膜上に捕捉された被検出物質を標識する蛍光物質が励起されるため、蛍光物質から放出された蛍光を検出することで、被検出物質の存在またはその量を検出することができる。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2012/172987号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0005] 一般的に、SPFSでは、励起光照射部のパワー低下による誤検出を防ぐ観点から、SPFS装置に受光センサーを設け、励起光を測定することで、励起光照射部が正常か否かを確認している。受光センサー（例えば、フォトダイオード（PD））と、ハイパワー（例えば、 $1\text{ mW}/\text{mm}^2$ 以上）な励起光の光源とが使用される場合、光源のパワーが高すぎると、検出される励起光の光量が多すぎて受光センサーが飽和してしまうことがある。このように、受光センサーが飽和してしまうと、受光センサーの出力の直線性が失われ、正確な測定ができない。これにより、励起光照射部が正常か否かを正確に判断することができなくなってしまうことがある。そこで、受光センサーの飽和を防ぐ観点から、減光（ND）フィルターや光拡散板などの光量調整手段も受光センサーと組み合わせて使用されている。
- [0006] しかしながら、上記の光量調整手段は、経時的な劣化や使用環境における埃などの影響を受けてしまう。このため、当該影響を除去して、正確な測定を行うには、光量調整手段の交換や清掃などの定期的なメンテナンスが必要となるという問題がある。
- [0007] 本発明の目的は、ハイパワーな光源を使用した場合に、光量調整手段を別途設けなくても、励起光照射部が正常か否かを正確に判断できる表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置を提供することである。

課題を解決するための手段

- [0008] 上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析方法は、被検出物質を標識する蛍光物質が、表面プラズモン共鳴に基づく局在場光により励起されて発した蛍光を検出して、前記被検出物質の存在またはその量を検出する表面プラズモン共鳴蛍光分析方法であって、入射面および成膜面を有するプリズムと、前記成膜面上に配置された金属膜と、前記金属膜上に固定化された捕捉体とを含み、チップホルダーに設置された分析チップに励起光照射部から励起光を照射するとともに、前記分析チ

ップで反射された励起光を検出して、前記励起光照射部の出力情報を取得する工程を含む。

[0009] また、上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析装置は、被検出物質を標識する蛍光物質が、表面プラズモン共鳴に基づく局在場光により励起されて発した蛍光を検出して、前記被検出物質の存在またはその量を検出する表面プラズモン共鳴蛍光分析装置であって、入射面および成膜面を有するプリズムと、前記成膜面上に配置された金属膜と、前記金属膜上に固定化された捕捉体とを含む分析チップを着脱可能に保持するためのチップホルダーと、前記チップホルダーに保持された前記分析チップに励起光を照射する励起光照射部と、前記分析チップで反射された励起光を検出する励起光検出部と、前記捕捉体に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出された蛍光を検出する蛍光検出部と、前記励起光検出部の検出結果に基づいて、前記励起光照射部の出力情報を取得する処理部と、を有する。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、ハイパワーな光源を使用した場合に、光量調整手段を別途設けなくても、励起光照射部が正常か否かを正確に判断できるため、励起光照射部の異常による誤検出を防止することができる。また、光量調整用部品の交換や清掃などのメンテナンスに要する手間とコストを抑えることができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、本発明の実施の形態1、2に係るSPFS装置の構成を模式的に示す図である。

[図2]図2は、本発明の実施の形態1に係るSPFS装置の第1の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[図3]図3は、図2に示される位置調整工程（工程S120）内の工程を示すフローチャートである。

[図4]図4A～Cは、分析チップの位置情報と励起光照射ユニットの出力情報

とを取得する工程（工程 S 1 2 0 1）を説明するための模式図である。

[図5]図 5 A、B は、第 1 受光センサーによる反射光の検出結果の例を示すグラフである。

[図6]図 6 A、B は、分析チップの位置情報と励起光照射ユニットの出力情報とを取得する工程（工程 S 1 2 0 1）の変形例を説明するための模式図である。

[図7]図 7 は、分析チップの別の例を示す断面図である。

[図8]図 8 A、B は、分析チップを測定位置に配置する工程（工程 S 1 2 0 4）を説明するための模式図である。

[図9]図 9 A、B は、分析チップを測定位置に配置する工程（工程 S 1 2 0 4）を説明するための模式図である。

[図10]図 1 0 は、本発明の実施の形態 1 に係る S P F S 装置の第 2 の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[図11]図 1 1 A は、図 1 0 に示される位置調整工程（工程 S 2 2 0）内の工程を示すフローチャートであり、図 1 1 B は、図 1 0 に示される算出および補正工程（工程 S 2 5 5）内の工程を示すフローチャートである。

[図12]図 1 2 は、本発明の実施の形態 2 に係る S P F S 装置の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[図13]図 1 3 は、図 1 2 に示される位置および出力調整工程（工程 S 3 2 0）内の工程を示すフローチャートである。

[図14]図 1 4 は、4 つの受光面を有する P D を使用した場合において、励起光照射ユニットの出力情報を取得する工程（工程 S 3 2 0 1）を説明するための模式図である。

[図15]図 1 5 は、励起光照射ユニットのパワーに関する情報を取得するための他の方法を説明するためのグラフである。

[図16]図 1 6 A、B は、励起光の入射角と反射率との関係を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の実施の形態について、図面を参照して詳細に説明する。

[0013] [実施の形態1]

実施の形態1では、励起光照射ユニット（励起光照射部）の出力情報として、励起光照射ユニットのパワーに関する情報を取得することができる表面プラズモン共鳴蛍光分析装置（SPFS装置）について説明する。

[0014] 図1は、本発明の実施の形態1に係るSPFS装置100の構成を示す模式図である。図1に示されるように、SPFS装置100は、励起光照射ユニット（励起光照射部）110、励起光検出ユニット（励起光検出部）120、蛍光検出ユニット（蛍光検出部）130、送液ユニット140、搬送ユニット150および制御処理部（処理部）160を有する。SPFS装置100は、搬送ユニット150のチップホルダー154に分析チップ10を装着した状態で使用される。そこで、分析チップ10について先に説明し、その後SPFS装置100の各構成要素について説明する。

[0015] （検出チップの構成）

分析チップ10は、入射面21、成膜面22および出射面23を有するプリズム20と、成膜面22上に形成された金属膜30と、成膜面22または金属膜30上に配置された流路蓋40とを有する。通常、分析チップ10は、分析のたびに交換される。分析チップ10は、好ましくは各片の長さが数mm～数cmの構造物であるが、「チップ」の範疇に含まれない、より小型の構造物またはより大型の構造物であってもよい。

[0016] プリズム20は、励起光 α に対して透明な誘電体からなる。プリズム20は、入射面21、成膜面22および出射面23を有する。入射面21は、励起光照射ユニット110からの励起光 α 大部分をプリズム20の内部に入射させ、励起光照射ユニット110からの励起光 α の一部を反射させる。励起光照射ユニット110からの励起光 α のうち、入射面21で反射される励起光 α （以下、「反射光 β 」ともいう）の光量の割合（反射率）は、プリズム20の屈折率と、プリズム20の周囲の気体の屈折率と、入射面21に対する励起光 α の入射角とに応じて決まる（後述の参考実験参照）。通常プリズ

ム20の周囲は空気であるため、反射率は、プリズム20の材料と、励起光 α の入射角とが同じであればほぼ一定となる。たとえば、プリズム20の材料が屈折率1.4~1.6の樹脂である場合、反射率は4.2%程度である。成膜面22上には、金属膜30が配置されている。プリズム20の内部に入射した励起光 α は、金属膜30の裏面で反射する。より具体的には、励起光 α は、プリズム20と金属膜30との界面（成膜面22）で反射する。出射面23は、金属膜30で反射した励起光 α をプリズム20の外部に出射させる。

[0017] プリズム20の形状は、特に限定されない。本実施の形態では、プリズム20の形状は、台形を底面とする柱体である。台形の一方の底辺に対応する面が成膜面22であり、一方の脚に対応する面が入射面21であり、他方の脚に対応する面が出射面23である。底面となる台形は、等脚台形であることが好ましい。これにより、入射面21と出射面23とが対称になり、励起光 α のS波成分がプリズム20内に滞留しにくくなる。

[0018] 入射面21は、励起光 α が励起光照射ユニット110に戻らないように形成される。励起光 α の光源がレーザーダイオード（以下「LD」ともいう）である場合、励起光 α がLDに戻ると、LDの励起状態が乱れてしまい、励起光 α の波長や出力が変動してしまう。そこで、理想的な増強角を中心とする走査範囲において、励起光 α が入射面21に垂直に入射しないように、入射面21の角度が設定される。ここで「増強角」とは、金属膜30に対する励起光 α の入射角を走査した場合に、分析チップ10の上方に放出される励起光 α と同一波長の散乱光（以下「プラズモン散乱光」という） δ の光量が最大となる時の入射角を意味する。本実施の形態では、入射面21と成膜面22との角度および成膜面22と出射面23との角度は、いずれも約80°である。

[0019] なお、分析チップ10の設計により、増強角（およびその極近傍にある共鳴角）が概ね決まる。設計要素は、プリズム20の屈折率、金属膜30の屈折率、金属膜30の膜厚、金属膜30の消衰係数、励起光 α の波長などであ

る。金属膜30上に固定化された被検出物質によって増強角および共鳴角がシフトするが、その量は数度未満である。ここで「共鳴角」とは、金属膜30に対する励起光 α の入射角を走査した場合に、成膜面22で反射され、出射面23から出射される反射光（不図示）の光量が最小となるときの、入射角を意味する。

[0020] プリズム20は、複屈折特性を少なからず有する。プリズム20の材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。プリズム20を構成する樹脂の例には、ポリメタクリル酸メチル（PMMA）、ポリカーボネート（PC）、およびシクロオレフィン系ポリマーが含まれる。プリズム20の材料は、好ましくは、屈折率が1.4～1.6であり、かつ複屈折が小さい樹脂である。

[0021] 金属膜30は、プリズム20の成膜面22上に配置されている。これにより、成膜面22に全反射条件で入射した励起光 α の光子と、金属膜30中の自由電子との間で相互作用（表面プラズモン共鳴）が生じ、金属膜30の表面上に局在場光を生じさせることができる。

[0022] 金属膜30の材料は、表面プラズモン共鳴を生じさせうる金属であれば特に限定されない。金属膜30の材料の例には、金、銀、銅、アルミニウムおよびこれらの合金が含まれる。本実施の形態では、金属膜30は、金薄膜である。金属膜30の形成方法は、特に限定されない。金属膜30の形成方法の例には、スパッタリング、蒸着、メッキが含まれる。金属膜30の厚みは、特に限定されないが、30～70nmの範囲内が好ましい。

[0023] また、図1では図示しないが、金属膜30のプリズム20と対向しない面（金属膜30の表面）には、被検出物質を捕捉するための捕捉体が固定化されている。捕捉体を固定化することで、被検出物質を選択的に検出することが可能となる。本実施の形態では、金属膜30上の所定の領域（反応場）に、捕捉体が均一に固定化されている。捕捉体の種類は、被検出物質を捕捉することができれば特に限定されない。本実施の形態では、捕捉体は、被検出物質に特異的に結合可能な抗体またはその断片である。反応場では、捕捉体および被検出物質の結合（1次反応）や、被検出物質の蛍光標識（2次反応

) などの反応が行われる。

[0024] 流路蓋40は、金属膜30上に配置されている。金属膜30がプリズム20の成膜面22の一部にのみ形成されている場合は、流路蓋40は、成膜面22上に配置されていてもよい。流路蓋40の裏面には、流路溝が形成されており、流路蓋40は、金属膜30（およびプリズム20）と共に、液体が流れる流路41を形成する。金属膜30に固定化されている捕捉体は、流路41内に露出している。流路41の両端は、流路蓋40の上面に形成された不図示の注入口および排出口とそれぞれ接続されている。流路41内へ液体が注入されると、液体は捕捉体に接触する。

[0025] 流路蓋40は、金属膜30上から放出される光（蛍光 γ およびプラズモン散乱光 δ ）に対して透明な材料からなることが好ましい。流路蓋40の材料の例には、樹脂が含まれる。これらの光に対して透明であれば、流路蓋40の他の部分は、不透明な材料で形成されていてもよい。流路蓋40は、例えば、両面テープや接着剤などによる接着や、レーザー溶着、超音波溶着、クランプ部材を用いた圧着などにより金属膜30またはプリズム20に接合されている。

[0026] 流路41を流れる液体の種類は、特に限定されない。液体の種類の中には、被検出物質を含む検体、蛍光物質を含む蛍光標識液、および緩衝液が含まれる。検体および被検出物質の種類は、特に限定されない。検体の例には、血液や血清、血漿、尿、鼻孔液、唾液、精液などの体液およびその希釈液が含まれる。被検出物質の例には、核酸（DNAやRNAなど）、タンパク質（ポリペプチドやオリゴペプチドなど）、アミノ酸、糖質、脂質およびこれらの修飾分子が含まれる。

[0027] 図1に示されるように、励起光 α の大部分は、入射面21からプリズム20内に入射する。このとき、励起光 α の一部は、入射面21で反射して反射光 β となる。プリズム20内に入射した励起光 α は、金属膜30に全反射角度（表面プラズモン共鳴が生じる角度）で入射する。このように金属膜30に対して励起光 α を表面プラズモン共鳴が生じる角度で照射することで、金

属膜30上に局在場光（一般に「エバネッセント光」または「近接場光」とも呼ばれる）を発生させることができる。この局在場光により、金属膜30上に存在する被検出物質を標識する蛍光物質が励起され、蛍光 γ が出射される。SPFS装置100は、蛍光物質から放出された蛍光 γ の光量（強度）を検出することで、被検出物質の存在または量を検出する。また、詳細については後述するが、SPFS装置100は、反射光 β の光量（強度）を検出することで、分析チップ10の位置情報と励起光照射ユニット110の出力情報とを取得することができる。

[0028] （SPFS装置の構成）

次に、SPFS装置100の各構成要素について説明する。前述のとおり、SPFS装置100は、励起光照射ユニット（励起光照射部）110、励起光検出ユニット（励起光検出部）120、蛍光検出ユニット130、送液ユニット140、搬送ユニット150および制御処理部（処理部）160を有する。

[0029] 励起光照射ユニット110は、チップホルダー154に保持された分析チップ10に励起光 α を照射する。蛍光 γ の検出時には、励起光照射ユニット110は、金属膜30に対する入射角が表面プラズモン共鳴を生じさせる角度となるように、金属膜30に対するP波のみを入射面21に向けて出射する。ここで「励起光」とは、蛍光物質を直接または間接的に励起させる光である。たとえば、励起光 α は、プリズム20を介して金属膜30に表面プラズモン共鳴が生じる角度で照射されたときに、蛍光物質を励起させる局在場光を金属膜30の表面上に生じさせる光である。本実施の形態に係るSPFS装置100では、励起光 α は、分析チップ10の位置決めと、励起光照射ユニット110の異常検出ともにも使用される。

[0030] 励起光照射ユニット110は、励起光 α をプリズム20に向けて出射するための構成と、金属膜30の裏面に対する励起光 α の入射角度を走査するための構成とを含む。本実施の形態では、励起光照射ユニット110は、光源ユニット111、角度調整機構112および光源制御部113を含む。

- [0031] 光源ユニット111は、コリメートされ、かつ波長および光量（強度）が一定の励起光 α を、金属膜30裏面における照射スポットの形状が略円形となるように出射する。光源ユニット111は、例えば、励起光 α の光源、ビーム整形光学系および温度調整機構（いずれも不図示）を含む。
- [0032] 光源の種類は、特に限定されないが、第2受光センサー137としてフォトダイオード（PD）などの高感度でない光検出器を使用する観点からは、ハイパワーの光源であることが好ましい。本実施の形態では、光源は、レーザーダイオード（LD）である。光源の他の例には、発光ダイオード、水銀灯、その他のレーザー光源が含まれる。光源から出射される光がビームでない場合は、光源から出射される光は、レンズや鏡、スリットなどによりビームに変換される。また、光源から出射される光が単色光でない場合は、光源から出射される光は、回折格子などにより単色光に変換される。さらに、光源から出射される光が直線偏光でない場合は、光源から出射される光は、偏光子などにより直線偏光の光に変換される。
- [0033] ビーム整形光学系は、例えば、コリメーターやバンドパスフィルター、直線偏光フィルター、半波長板、スリット、ズーム手段などを含む。ビーム整形光学系は、これらのすべてを含んでいてもよいし、一部を含んでいてもよい。
- [0034] コリメーターは、光源から出射された励起光 α をコリメートする。
- [0035] バンドパスフィルターは、光源から出射された励起光 α を中心波長のみの狭帯域光にする。光源からの励起光 α は、若干の波長分布幅を有しているためである。
- [0036] 直線偏光フィルターは、光源から出射された励起光 α を完全な直線偏光の光にする。半波長板は、金属膜30にP波成分が入射するように励起光 α の偏光方向を調整する。
- [0037] スリットおよびズーム手段は、金属膜30裏面における照射スポットの形状が所定サイズの円形となるように、励起光 α のビーム径や輪郭形状などを調整する。

- [0038] 温度調整機構は、例えば、ヒーターやペルチェ素子などである。光源の出射光の波長およびエネルギーは、温度によって変動することがある。このため、温度調整機構で光源の温度を一定に保つことにより、光源の出射光の波長およびエネルギーを一定に制御する。
- [0039] 角度調整機構 112 は、金属膜 30（プリズム 20 と金属膜 30 との界面（成膜面 22））への励起光 α の入射角を調整する。角度調整機構 112 は、プリズム 20 を介して金属膜 30 の所定の位置に向けて所定の入射角で励起光 α を照射するために、励起光 α の光軸とチップホルダー 154 とを相対的に回転させる。
- [0040] たとえば、角度調整機構 112 は、光源ユニット 111 を励起光 α の光軸と直交する軸（図 1 の紙面に対して垂直な軸）を中心として回動させる。このとき、入射角を走査しても金属膜 30 上での照射スポットの位置がほとんど変化しないように、回転軸の位置を設定する。回転中心の位置を、入射角の走査範囲の両端における 2 つの励起光 α の光軸の交点近傍（成膜面 22 上の照射位置と入射面 21 との間）に設定することで、照射位置のズレを極小化することができる。
- [0041] 前述のとおり、金属膜 30 に対する励起光 α の入射角のうち、プラズモン散乱光 δ の最大光量を得られる角度が増強角である。増強角またはその近傍の角度に励起光 α の入射角を設定することで、高強度の蛍光 γ を検出することが可能となる。なお、分析チップ 10 のプリズム 20 の材料および形状、金属膜 30 の膜厚、流路内の液体の屈折率などにより、励起光 α の基本的な入射条件が決まるが、流路内の蛍光物質の種類および量、プリズム 20 の形状誤差などにより、最適な入射条件はわずかに変動する。このため、測定ごとに最適な増強角を求めることが好ましい。本実施の形態では、金属膜 30 の法線（図 1 における z 軸方向の直線）に対する励起光 α の好適な出射角は、約 70° である。
- [0042] 光源制御部 113 は、光源ユニット 111 に含まれる各種機器を制御して、光源ユニット 111 の出射光（励起光 α ）の出力を制御する。光源制御部

113は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

[0043] 励起光検出ユニット120は、光学測定（例えば、増強角の検出や光学ブランク値の測定、蛍光 γ の検出など）を行う際の、分析チップ10の位置決めと励起光照射ユニット110の異常検出とのために、分析チップ10への励起光 α の照射によって生じた反射光 β を検出する。

[0044] 好ましくは、励起光検出ユニット120は、最初の光学測定を行う前に、分析チップ10の位置決めと、励起光照射ユニット110の異常検出とのために反射光 β を検出する。多くの場合、最初の光学測定は、増強角の検出であることから、増強角の検出の前に反射光 β を検出することが好ましい。増強角の検出を実施しない場合は、光学ブランク値の測定前に反射光 β を検出する。増強角の検出および光学ブランク値の測定の両方を実施しない場合は、蛍光 γ の検出前に反射光 β を検出する。

[0045] 励起光照射ユニット110の異常を検出するための反射光 β の検出と、分析チップ10の位置決めのための反射光 β の検出とは、同時に行われてもよいし、別々に行われてもよい。本実施の形態では、励起光照射ユニット110の異常を検出するための反射光 β の検出と、分析チップ10の位置決めのための反射光 β の検出とは、同時に行われる。

[0046] 励起光検出ユニット120は、第1受光センサー121および第1センサー制御部122を含む。

[0047] 第1受光センサー121は、励起光 α の反射光 β を検出する。第1受光センサー121の種類は、励起光 α の反射光 β を検出可能であれば特に限定されない。たとえば、第1受光センサー121は、フォトダイオード（PD）や位置検出素子（PSD）などである。第1受光センサー121の受光面の大きさは、励起光 α のビーム径よりも大きいことが好ましい。たとえば、励起光 α のビーム径が1～1.5mm程度の場合、第1受光センサー121の受光面の1辺の長さは3mm以上であることが好ましい。

[0048] 第1受光センサー121は、励起光 α の反射光 β が入射する位置に配置さ

れている。本実施の形態では、第1受光センサー121は、入射面21からの反射光 β が入射する位置に配置されている。好ましくは、第1受光センサー121は、蛍光 γ の検出時と同じかまたはそれに近い角度で出射された励起光 α の反射光 β が入射する位置に配置されている。励起光 α の照射位置（照射方向）は、入射角の変化によりわずかに変化するため、分析チップ10の位置決め時と蛍光 γ の検出時とで励起光 α の入射角を同じかまたはそれに近い角度にすることで、蛍光 γ の検出時の位置決め精度をより高くすることが可能となる。本実施の形態では、金属膜30の法線（図1におけるz軸方向の直線）に対する励起光 α の出射角が約 70° である場合、入射面21からの反射光 β は、搬送ステージの進行方向（図1におけるx軸方向）にほぼ水平に進む。したがって、第1受光センサー121は、この水平方向に進む反射光 β が入射する位置に配置されている（図4C参照）。

[0049] 第1センサー制御部122は、第1受光センサー121の出力値の検出や、検出した出力値による第1受光センサー121の感度の管理、適切な出力値を取得するための第1受光センサー121の感度の変更、などを制御する。第1センサー制御部122は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成されている。

[0050] 蛍光検出ユニット130は、金属膜30への励起光 α の照射によって生じた蛍光 γ を検出する。また、必要に応じて、蛍光検出ユニット130は、金属膜30への励起光 α の照射によって生じたプラズモン散乱光 δ も検出する。蛍光検出ユニット130は、例えば、受光ユニット131、位置切替機構132および第2センサー制御部133を含む。

[0051] 受光ユニット131は、分析チップ10の金属膜30の法線方向（図1におけるz軸方向）に配置される。受光ユニット131は、第1レンズ134、光学フィルター135、第2レンズ136および第2受光センサー137を含む。

[0052] 第1レンズ134は、例えば、集光レンズであり、金属膜30上から出射

される光を集光する。第2レンズ136は、例えば、結像レンズであり、第1レンズ134で集光された光を第2受光センサー137の受光面に結像させる。両レンズの間の光路は、略平行な光路になっている。

[0053] 光学フィルター135は、第1レンズ134および第2レンズ136の間に配置されている。光学フィルター135は、蛍光検出時には、光学フィルター135に入射する光のうち、蛍光成分のみを透過させ、励起光成分（プラズモン散乱光 δ ）を除去する。これにより、蛍光成分のみを第2受光センサー137に導き、高いS/N比で蛍光 γ を検出することができる。光学フィルター135の種類の中には、励起光反射フィルター、短波長カットフィルターおよびバンドパスフィルターが含まれる。光学フィルター135の例には、所定の光成分を反射する多層膜を含むフィルターと、所定の光成分を吸収する色ガラスフィルターとが含まれる。

[0054] 第2受光センサー137は、分析チップ10から放出される蛍光 γ およびプラズモン散乱光 δ を検出する。第2受光センサー137の例には、フォトダイオード（PD）、光電子増倍管（PMT）およびアバランシェフォトダイオード（APD）が含まれる。

[0055] 位置切替機構132は、光学フィルター135の位置を、受光ユニット131における光路上または光路外に切り替える。具体的には、第2受光センサー137が蛍光 γ を検出する時には、光学フィルター135を受光ユニット131の光路上に配置し、第2受光センサー137がプラズモン散乱光 δ を検出する時には、光学フィルター135を受光ユニット131の光路外に配置する。位置切替機構132は、例えば、回転駆動部と、回転運動を利用して光学フィルター135を水平方向に移動させる公知の機構（ターンテーブルやラックアンドピニオンなど）とによって構成される。

[0056] 第2センサー制御部133は、第2受光センサー137の出力値の検出や、検出した出力値による第2受光センサー137の感度の管理、適切な出力値を取得するための第2受光センサー137の感度の変更、などを制御する。第2センサー制御部133は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、

入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成されている。

- [0057] 送液ユニット140は、チップホルダー154に保持された分析チップ10の流路41内に、試料液や標識液、洗浄液などを供給する。送液ユニット140は、薬液チップ141、シリンジポンプ142および送液ポンプ駆動機構143を含む。
- [0058] 薬液チップ141は、試料液や標識液、洗浄液などの液体を収容する容器である。薬液チップ141としては、通常、複数の容器が液体の種類に応じて配置されるか、または複数の容器が一体化したチップが配置される。
- [0059] シリンジポンプ142は、シリンジ144と、シリンジ144内を往復動作可能なプランジャー145とによって構成される。プランジャー145の往復運動によって、液体の吸引および吐出が定量的に行われる。シリンジ144が交換可能であると、シリンジ144の洗浄が不要となる。このため、不純物の混入などを防止する観点から好ましい。シリンジ144が交換可能に構成されていない場合は、シリンジ144内を洗浄する構成をさらに付加することにより、シリンジ144を交換せずに使用することが可能となる。
- [0060] 送液ポンプ駆動機構143は、プランジャー145の駆動装置、およびシリンジポンプ142の移動装置を含む。
- [0061] シリンジポンプ142の駆動装置は、プランジャー145を往復運動させるための装置であり、例えば、ステッピングモーターを含む。ステッピングモーターを含む駆動装置は、シリンジポンプ142の送液量や送液速度を管理できるため、分析チップ10の残液量を管理する観点から好ましい。
- [0062] シリンジポンプ142の移動装置は、例えば、シリンジポンプ142を、シリンジ144の軸方向（例えば垂直方向）と、軸方向を横断する方向（例えば水平方向）との二方向に自在に動かす。シリンジポンプ142の移動装置は、例えば、ロボットアーム、2軸ステージまたは上下動自在なターンテーブルによって構成されている。
- [0063] シリンジ144と分析チップ10との相対的な高さを一定に調整し、分析

チップ10内での残液量を一定に管理する観点からは、送液ユニット140は、シリンジ144の先端の位置を検出する装置をさらに有することが好ましい。

[0064] 送液ユニット140は、薬液チップ141より各種液体を吸引し、分析チップ10の流路41内に供給する。このとき、プランジャー145を動かすことで、分析チップ10中の流路41内を液体が往復し、流路41内の液体が攪拌される。これにより、液体の濃度の均一化や、流路41内における反応（例えば抗原抗体反応）の促進などを実現することができる。このような操作を行う観点から、分析チップ10の注入口は多層フィルムで保護されており、かつシリンジ144がこの多層フィルムを貫通した時に注入口を密閉できるように、分析チップ10およびシリンジ144が構成されていることが好ましい。

[0065] 流路41内の液体は、再びシリンジポンプ142で吸引され、薬液チップ141などに排出される。これらの動作の繰り返しにより、各種液体による反応、洗浄などを実施し、流路41内の反応場に、蛍光物質で標識された被検出物質を配置することができる。

[0066] 搬送ユニット150は、分析チップ10を設置位置、測定位置または送液位置に搬送し、固定する。ここで「設置位置」とは、分析チップ10をSPFS装置100（より具体的には、チップホルダー154）に設置するための位置である。ここで「測定位置」とは、励起光照射ユニット110が分析チップ10に励起光 α を照射したときに発生する蛍光 γ を蛍光検出ユニット130が検出する位置である。また、「送液位置」とは、送液ユニット140が分析チップ10の流路41内に液体を供給するか、または分析チップ10の流路41内の液体を除去する位置である。

[0067] 搬送ユニット150は、搬送ステージ152およびチップホルダー154を含む。

[0068] 搬送ステージ152は、チップホルダー154を一方向（図1におけるx軸方向）およびその逆方向に移動させる。搬送ステージ152は、例えば、

ステッピングモーターなどで駆動される。

[0069] チップホルダー154は、搬送ステージ152に固定されており、分析チップ10を着脱可能に保持する。チップホルダー154の形状は、分析チップ10を保持することが可能であり、かつ励起光 α や反射光 β 、蛍光 γ などの光の光路を妨げない形状である。たとえば、チップホルダー154には、これらの光が通過するための開口が設けられている。

[0070] 制御処理部160は、角度調整機構112、光源制御部113、第1センサー制御部122、位置切替機構132、第2センサー制御部133、送液ポンプ駆動機構143および搬送ステージ152を制御する。また、制御処理部160は、励起光検出ユニット120の検出結果に基づいて、分析チップ10の位置情報と励起光照射ユニット110の出力情報とを取得する。そして、制御処理部160は、取得された位置情報に基づいて、チップホルダー154に保持された分析チップ10の位置を特定する。また、制御処理部160には、あらかじめ取得されている励起光照射ユニット110の基準となる出力情報が記憶されている。詳細については後述するが、制御処理部160は、取得された出力情報と、基準となる出力情報とを比較することで、励起光照射ユニット110が正常か否かを判断する。励起光照射ユニット110の出力情報は、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報、励起光 α の照射方向に関する情報またはこれら両方である。基準となる出力情報は、正常な状態にある励起光照射ユニット110の出力情報であり、例えば、初期状態における励起光照射ユニット110である。本実施の形態では、励起光照射ユニット110の出力情報は、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報である。また、本実施の形態では、基準となる出力情報は、初期状態における励起光照射ユニット110の出力情報である。制御処理部160は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成されている。

[0071] (SPFS装置の動作)

次に、SPFS装置100の動作（本実施の形態に係る表面プラズモン共

鳴蛍光分析方法（単に「分析方法」ともいう））について説明する。本実施の形態に係るSPFS装置100は、例えば、後述する2つの動作を行うことができる。

[0072] （第1の動作手順）

第1の動作では、SPFS装置100は、励起光照射ユニット110の出力情報として、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報を取得する。そして、励起光照射ユニット110のパワーに異常があると判断した場合には、SPFS装置100は、励起光照射ユニット110のパワーを調整する。

[0073] 図2は、SPFS装置100の第1の動作手順の一例を示すフローチャートである。図3は、図2に示される位置および出力調整工程（工程S120）内の工程を示すフローチャートである。第1の動作では、位置および出力調整工程（工程S120）内に異常検出工程（工程S1202）が含まれる。

[0074] まず、分析チップ10をSPFS装置100の設置位置に設置する（工程S100）。具体的には、SPFS装置100のチップホルダー154に分析チップ10を設置する。

[0075] 次に、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を送液位置に移動させる（工程S105）。

[0076] 次に、制御処理部160は、送液ユニット140を操作して、薬液チップ141内の試料液を分析チップ10の流路41内に導入する（工程S110）。流路41内では、抗原抗体反応（1次反応）によって、金属膜30上に被検出物質が捕捉される。この後、流路41内の試料液は除去され、流路41内は洗浄液で洗浄される。なお、分析チップ10の流路41内に保湿剤が存在する場合は、捕捉体が適切に被検出物質を捕捉できるように、試料液を導入する前に流路41内を洗浄して保湿剤を除去する。

[0077] 次に、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を測定位置の近くまで移動させる（工程S115）。

- [0078] 次いで、制御処理部160は、励起光照射ユニット110、励起光検出ユニット120および搬送ステージ152を操作して、分析チップ10の位置情報と励起光照射ユニット110の出力情報とを取得する。制御処理部160は、取得された位置情報に基づいて分析チップ10の位置を調整する。また、制御処理部160は、取得された出力情報に基づいて励起光照射ユニット110が正常か否かを判断する。そして、制御処理部160は、励起光照射ユニット110のパワーに異常があると判断した場合には、取得された出力情報に基づいて励起光照射ユニット110のパワーを調整する（工程S120）。
- [0079] 図3に示されるように、この工程では、まず、チップホルダー154に保持された分析チップ10に励起光 α を照射するとともに、分析チップ10の表面で反射された、励起光 α の反射光 β を検出して、分析チップ10の位置情報と励起光照射ユニット110の出力情報（パワーに関する情報）とを取得する（工程S1201）。
- [0080] 次いで、制御処理部160は、上記出力情報に基づいて、励起光照射ユニット110（より具体的には、光源ユニット111）のパワーが正常か否かを判断する（工程S1202）。制御処理部160には、励起光照射ユニット110の初期状態におけるパワーに関する情報が記憶されている。より具体的には、制御処理部160には、初期状態における励起光照射ユニット110から出射された励起光 α の分析チップ10の表面からの反射光 β の強度（以下、単に「初期値」ともいう）が記憶されている。制御処理部160は、工程S121で検出された反射光 β の検出値と、あらかじめ制御処理部160に記憶されている初期値とを比較することで、励起光照射ユニット110のパワーが正常か否かを判断する。たとえば、制御処理部160は、初期値と検出値との差が所定の基準値（閾値）を超えている場合には、励起光照射ユニット110のパワーが異常であると判断する。この基準値（閾値）は、分析に求められる精度に応じて、適宜設定されうる。
- [0081] 制御処理部160は、励起光照射ユニット110のパワーが低下している

(異常)と判断した場合には、励起光照射ユニット110の出力を所期のパワーに調整する(工程S1203)。制御処理部160は、励起光照射ユニット110のパワーが正常であると判断した場合には、その後の動作を継続する。

[0082] 次いで、制御処理部160は、分析チップ10の位置情報に基づいて、分析チップ10の位置を調整する(工程S1204)。詳細については後述するが、制御処理部160は、上記位置情報に基づいて、測定位置からの分析チップ10の位置ずれの程度を特定することができる。制御処理部160は、取得された位置情報に基づいて、搬送ステージ152を操作し、チップホルダー154を移動させて、分析チップ10を適切な測定位置に配置する。

[0083] 図4A、Bは、分析チップ10の位置情報と励起光照射ユニット110の出力情報とを取得する工程(S1201)を説明するための模式図である。まず、図4Aに示されるように、分析チップ10が光源ユニット111から離れた位置にある場合、光源ユニット111が励起光 α を出射すると、励起光 α は流路蓋40で反射して、下側(搬送ステージ152側)に向かう。したがって、励起光検出ユニット120の第1受光センサー121には、分析チップ10の表面からの反射光 β は入射しない。

[0084] この状態で分析チップ10を光源ユニット111に近づけていくと、光源ユニット111からの励起光 α は、プリズム20と流路蓋40との境界部(以下「エッジ部」という)に到達する。この場合、図4Bに示されるように、流路蓋40で反射した励起光 α (反射光 β)は第1受光センサー121に入射しないが、入射面21で反射した励起光 α (反射光 β)は第1受光センサー121に入射する。したがって、第1受光センサー121には、分析チップ10からの反射光 β の一部が入射する。

[0085] さらに分析チップ10を光源ユニット111に近づけていくと、光源ユニット111からの励起光 α は、すべてプリズム20の入射面21に到達する。したがって、図4Cに示されるように、第1受光センサー121には、分析チップ10の表面からの反射光 β のすべてが入射する。

[0086] 図5 A、Bは、第1受光センサー121による反射光 β の検出結果の例を示すグラフである。この例では、搬送ステージ152により分析チップ10を一方向（x軸方向）に100 μ mずつ移動させながら、第1受光センサー121により反射光 β の強度を測定した。励起光 α のビーム径は1～1.5mm程度である。図5 Aでは、検出結果のみを示しており、図5 Bでは、3本の近似直線も示している。

[0087] 図5 Aに示されるように、分析チップ10の移動距離が0～約1000 μ mの間は、第1受光センサー121には、分析チップ10の表面からの反射光 β は入射しない。これは、励起光 α が、流路蓋40で反射して、下側（搬送ステージ152側）に向かうためである（図4 A参照）。一方、分析チップ10の移動距離が約1000～約2000 μ mの間は、第1受光センサー121に入射する反射光 β の強度が徐々に増大する。これは、励起光 α の一部が、入射面21で反射して、第1受光センサー121に入射するためである（図4 B参照）。分析チップ10の移動距離が約2000 μ mを超えると、第1受光センサー121に入射する反射光 β の強度がほぼ一定かつ最大となる。これは、反射光 β のすべてが、第1受光センサー121に入射するためである（図4 C参照）。したがって、グラフ中の傾斜部（移動距離：約1000～約2000 μ m）が、エッジ部に対応する。なお、傾斜部の幅は、励起光 α のx軸方向のビーム径（1～1.5mm程度）に対応している。

[0088] 図5 Bでは、前半の水平部（移動距離：0～約1000 μ m）と、傾斜部（移動距離：約1000～約2000 μ m）と、後半の水平部（移動距離：約2000 μ m超）のそれぞれを直線近似している。グラフ中の点Aは、前半の水平部の近似直線と傾斜部の近似直線との交点である。点Bは、傾斜部の近似直線と後半の水平部の近似直線との交点である。点Cは、点Aと点Bとの中点である。点Aは、反射光 β の強度の最小値に対応する。点Bは、反射光 β の強度の最大値に対応する。点Cは、反射光 β の強度の中間値に対応する。

[0089] 図5 Bのグラフにおいて、分析チップ10の位置を特定するには、点A～

Cのいずれかを使用すればよい。点Aおよび点Bは、励起光 α のビームの縁がエッジ部に到達した地点を示している。したがって、励起光 α のビーム径を考慮すれば、エッジ部の位置を特定することができ、結果として分析チップ10の位置を特定することができる。一方、点Cは、励起光 α のビームの中心がエッジ部に到達した地点を示している。点Cを利用する場合は、励起光 α のビーム径を考慮することなく、エッジ部の位置を特定することができ、結果として分析チップ10の位置を特定することができる。したがって、励起光 α のビーム径の影響を抑制する観点からは、励起光 α の反射光 β の強度の中間値を用いて、分析チップ10の位置を特定することが好ましい。

[0090] また、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報を取得するためには、点Bを使用すればよい。点Bは、励起光照射ユニット110から出射された励起光 α の反射光 β の強度の最大値であり、照射光照射ユニット110から出射された励起光 α の出力値でもある。したがって、反射光 β の強度の最大値と初期値とを比較することで、励起光照射ユニット110（光源ユニット111）のパワーが低下しているか否かを判断することができる。

[0091] また、前述のとおり、分析チップ10に励起光 α を照射するとともに、分析チップ10の表面で反射された、励起光 α の反射光 β を検出することで、分析チップ10の位置を特定することができる。しかしながら、分析チップ10の位置を水平方向（x軸方向）だけでなく高さ方向（z軸方向）についても高精度に特定する観点からは、図4A～Cに示されるように、分析チップ10の互いに隣接する2つの面に励起光 α を照射することで、分析チップ10の位置を特定することが好ましい。この場合、搬送ステージ152によるチップホルダー154の移動方向に対して平行および垂直ではない方向に励起光 α を照射することが好ましい。なお、図6Aに示されるように、流路蓋40からの反射光 β が入射し、入射面21からの反射光 β が入射しない位置に第1受光センサー121を配置しても、図4A～Cに示される例と同様の効果を得られる（反射光 β の強度は、移動距離が短いときに高くなり、移動距離が長いときに低くなる）。

[0092] また、入射面 21 の位置が特に重要であることから、分析チップ 10 の互いに隣接する 2 つの面に励起光 α を照射する場合は、分析チップ 10 の入射面 21 と入射面 21 に隣接する面（本実施の形態では流路蓋 40 の裏面）とに励起光 α を照射することが好ましい。この場合、図 6 B に示されるように、プリズム 20 の入射面 21 とプリズム 20 の下面とに励起光 α を照射してもよい。しかしながら、図 6 B に示される例では、分析チップ 10 の位置を特定するときに（工程 S 1201）、分析チップ 10 が測定位置よりも光源ユニット 111 に近づいてしまう。したがって、分析チップ 10 を測定位置に移動させるときに（工程 S 1204）、搬送ステージ 152 によりチップホルダー 154 を逆方向に移動させなければならない。このように搬送ステージ 152 を 2 方向に動作させることは、搬送ステージ 152 を 1 方向にのみ動作させる場合に比べて、動作精度の低下に繋がるおそれがある。これに対し、図 4 A～C および図 6 A に示される例では、搬送ステージ 152 によりチップホルダー 154 を逆方向に移動させる必要はない。したがって、分析チップ 10 の位置を高精度に調整する観点からは、分析チップ 10 の位置情報を取得する工程（工程 S 1201）および分析チップを測定位置に移動させる工程（工程 S 1204）では、搬送ステージ 152 によりチップホルダー 154 を励起光 α の光源（光源ユニット 111）に近づく方向（ x 軸方向）にのみ移動させることが好ましい。

[0093] なお、上記「分析チップ 10 の互いに隣接する 2 つの面」には、実質的に隣接する 2 つの面が含まれる。たとえば、図 7 に示されるように、プリズム 20 と、プリズムの成膜面 22 上に配置された金属膜 30 と、金属膜 30 の上に配置されたスペーサー 42 と、スペーサー 42 の上に配置された流路蓋 40 とを有する分析チップ 10' を使用するとする。流路 41 の形状は、スペーサー 42 により形作られている。一方、流路蓋 40 は、透明の平板である。この場合、厳密には、プリズム 20 の入射面 21 と流路蓋 40 の下面との間にスペーサー 42 の側面が存在するため、入射面 21 と流路蓋 40 の下面とは隣接していない。しかしながら、励起光 α のビーム径（例えば 1～1.

5 mm) に比べてスペーサー 42 の厚みが非常に薄い (例えば $100\ \mu\text{m}$) 場合、入射面 21 と流路蓋 40 の下面とが実質的に隣接していると考えられる。したがって、この場合は、実質的に隣接する入射面 21 および流路蓋 40 の下面からの反射光 β を検出してエッジ部を検出する。接着剤や両面テープなどの接合部材や金属膜 30 などについても同様に無視することができる。

[0094] このように反射光 β を検出する際に無視できる部材 (例えばスペーサー 42) の厚さは、励起光 α のビーム径の $1/5$ 以下であり、好ましくは $1/10$ 以下である。たとえば、励起光 α が、励起光 α のビーム径の $1/5$ 以下または $1/10$ 以下の厚みのスペーサー 42 を含む領域に照射された場合、分析チップ 10' の表面からの反射光 β は、その大半 ($4/5$ 以上または $9/10$ 以上) が入射面 21 または流路蓋 40 の下面からの反射光 β であり、位置検出に利用されうる。したがって、スペーサー 42 の影響を受けることなく、分析チップ 10' の位置を特定することができる。このように、励起光 α のビーム径の $1/5$ 以下の厚みの部材 (スペーサー 42 や、接合部材、金属膜 30 など) は、反射光 β を検出する際に無視することができる。すなわち、分析チップ 10' の入射面 21 と流路蓋 40 の下面は実質的に隣接する 2 面として考えることができる。

[0095] 図 8 A、B は、分析チップ 10 を適切な測定位置に配置する工程 (工程 S1204) を説明するための模式図である。まず、図 8 A に示されるように、エッジ部の位置を特定したとする。この場合、エッジ部の位置と金属膜 30 裏面の励起光 α を照射すべき領域 (反応場の裏側の領域) との距離は決まっている。このため、図 8 B に示されるように、搬送ステージ 152 にチップホルダー 154 を所定の距離移動させることで、分析チップ 10 を適切な測定位置に配置することができる。

[0096] また、図 9 A、B に示されるように、分析チップ 10 が高さ方向 (z 軸方向) にずれて配置されていた場合 (例えば、分析チップ 10 とチップホルダー 154 との間にごみが挟まっていた場合) も、分析チップ 10 を適切な測

定位置に配置することができる。すなわち、図9Aに示されるように、エッジ部の位置を特定したとする。この場合、分析チップ10がz軸方向にずれていない場合（図中破線で示す）に比べて、x軸方向における分析チップ10の位置はずれている。しかしながら、この場合であっても、図9Bに示されるように、エッジ部の位置に基づいて、搬送ステージ152にチップホルダー154を所定の距離移動させることで、分析チップ10を適切な測定位置に配置することができる。

[0097] SPFS装置100の動作手順の説明に戻る（図2参照）。次いで、制御処理部160は、励起光照射ユニット110および蛍光検出ユニット130を操作して、適切な測定位置に配置された分析チップ10に励起光 α を照射するとともに、励起光 α と同一波長のプラズモン散乱光 δ を検出して、増強角を検出する（工程S125）。具体的には、制御処理部160は、励起光照射ユニット110を操作して金属膜30に対する励起光 α の入射角を走査しつつ、蛍光検出ユニット130を操作してプラズモン散乱光 δ を検出する。このとき、制御処理部160は、位置切替機構132を操作して、光学フィルター135を受光ユニット131の光路外に配置する。そして、制御処理部160は、プラズモン散乱光 δ の光量が最大の時の励起光 α の入射角を増強角として決定する。

[0098] 次いで、制御処理部160は、励起光照射ユニット110および蛍光検出ユニット130を操作して、適切な測定位置に配置された分析チップ10に励起光 α を照射するとともに、第2受光センサー137の出力値（光学ブラック値）を記録する（工程S130）。このとき、制御処理部160は、角度調整機構112を操作して、励起光 α の入射角を増強角に設定する。また、制御処理部160は、位置切替機構132を制御して、光学フィルター135を受光ユニット131の光路内に配置する。

[0099] 次いで、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を送液位置に移動させる（工程S135）。

[0100] 次いで、制御処理部160は、送液ユニット140を操作して、蛍光物質

で標識された2次抗体を含む液体（標識液）を分析チップ10の流路41内に導入する（工程S140）。流路41内では、抗原抗体反応（2次反応）によって、金属膜30上に捕捉されている被検出物質が蛍光物質で標識される。この後、流路41内の標識液は除去され、流路内は洗浄液で洗浄される。

[0101] 次いで、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を工程S120で決定された適切な測定位置に移動させる（工程S145）。

[0102] 次いで、制御処理部160は、励起光照射ユニット110および蛍光検出ユニット130を操作して、適切な測定位置に配置された分析チップ10に励起光 α を照射するとともに、捕捉体に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出された蛍光 γ を検出する（工程S150）。

[0103] 最後に、制御処理部160は、蛍光 γ の検出値から光学ブランク値を引き、被検出物質の量に相関する蛍光強度を算出する（工程S155）。算出された蛍光強度は、必要に応じて、被検出物質の量や濃度などに換算される。

[0104] 以上の手順により、試料液中の被検出物質の存在またはその量を検出することができる。

[0105] （第2の動作手順）

第2の動作でも、SPFS装置100は、励起光照射ユニット110の出力情報として、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報を取得する。そして、第2の動作では、励起光照射ユニット110のパワーに異常があると判断した場合には、SPFS装置100は、励起光照射ユニット110のパワーの値に応じて蛍光 γ の検出値を補正する。

[0106] 図10は、SPFS装置100の第2の動作手順の一例を示すフローチャートである。図11Aは、図10に示される位置調整工程（S220）内の工程を示すフローチャートであり、図11Bは、図10に示される被検出物質の量に相関する蛍光強度の算出工程（S255）内の工程を示すフローチャートである。第2の動作手順では、被検出物質の量などの算出工程（工程

S 2 5 5) 内に異常検出工程 (工程 S 2 5 5 2) が含まれる。

- [0107] まず、分析チップ 1 0 を S P F S 装置 1 0 0 の設置位置に設置する (工程 S 2 0 0)。具体的には、S P F S 装置 1 0 0 のチップホルダー 1 5 4 に分析チップ 1 0 を設置する。
- [0108] 次に、制御処理部 1 6 0 は、搬送ステージ 1 5 2 を操作して、分析チップ 1 0 を送液位置に移動させる (工程 S 2 0 5)。
- [0109] 次に、制御処理部 1 6 0 は、送液ユニット 1 4 0 を操作して、薬液チップ 1 4 1 内の試料液を分析チップ 1 0 の流路 4 1 内に導入する (工程 S 2 1 0)。流路 4 1 内では、抗原抗体反応 (1 次反応) によって、金属膜 3 0 上に被検出物質が捕捉される。この後、流路 4 1 内の試料液は除去され、流路 4 1 内は洗浄液で洗浄される。なお、分析チップ 1 0 の流路 4 1 内に保湿剤が存在する場合は、捕捉体が適切に被検出物質を捕捉できるように、試料液を導入する前に流路 4 1 内を洗浄して保湿剤を除去する。
- [0110] 次に、制御処理部 1 6 0 は、搬送ステージ 1 5 2 を操作して、分析チップ 1 0 を測定位置の近くまで移動させる (工程 S 2 1 5)。
- [0111] 次に、制御処理部 1 6 0 は、励起光照射ユニット 1 1 0、励起光検出ユニット 1 2 0 および搬送ステージ 1 5 2 を操作して、分析チップ 1 0 の位置情報と励起光照射ユニット 1 1 0 の出力情報とを取得する。制御処理部 1 6 0 は、取得された位置情報に基づいて分析チップ 1 0 の位置を調整する (工程 S 2 2 0)。
- [0112] 図 1 1 A に示されるように、この工程では、まず、チップホルダー 1 5 4 に保持された分析チップ 1 0 に励起光 α を照射するとともに、分析チップ 1 0 の表面で反射された、励起光 α の反射光 β を検出して、分析チップ 1 0 の位置情報と励起光照射ユニット 1 1 0 の出力情報 (パワーに関する情報) とを取得する (工程 S 2 2 0 1)。このとき取得された出力情報は、制御処理部 1 6 0 に記録される。
- [0113] 制御処理部 1 6 0 は、分析チップ 1 0 の位置情報に基づいて、分析チップ 1 0 の位置を調整する (工程 S 2 2 0 2)。分析チップ 1 0 の位置情報と、

励起光照射ユニット 110 の出力情報とを取得する工程（工程 S 2 2 0 1）は、工程 S 1 2 0 1 と同様であり、取得された位置情報に基づいて分析チップ 10 を適切な測定位置に配置する工程（工程 S 2 2 0 2）は、工程 S 1 2 0 4 と同様であるため、それらの説明を省略する。

[0114] 次いで、制御処理部 160 は、工程 S 1 2 5 と同様にして増強角を検出する（工程 S 2 2 5）。

[0115] 次いで、制御処理部 160 は、工程 S 1 3 0 と同様にして、光学ブランク値を測定し、記録する（工程 S 2 3 0）。

[0116] 次いで、制御処理部 160 は、搬送ステージ 152 を操作して、分析チップ 10 を送液位置に移動させる（工程 S 2 3 5）。

[0117] 次いで、制御処理部 160 は、工程 S 1 4 0 と同様にして、金属膜 30 上に捕捉されている被検出物質を蛍光物質で標識する（工程 S 2 4 0）。

[0118] 次いで、制御処理部 160 は、搬送ステージ 152 を操作して、分析チップ 10 を工程 S 2 2 0 で決定された適切な測定位置に移動させる（工程 S 2 4 5）。

[0119] 次いで、制御処理部 160 は、工程 S 1 5 0 と同様にして、捕捉体に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出された蛍光 γ を検出する（工程 S 2 5 0）。

[0120] 最後に、制御処理部 160 は、被検出物質の量や濃度などを算出する（工程 S 2 5 5）。

[0121] 図 1 1 B に示されるように、まず、蛍光 γ の検出値から光学ブランク値を引き、被検出物質の量に相関する蛍光強度を算出する（工程 S 2 5 5 1）。

[0122] 次いで、制御処理部 160 は、工程 S 2 2 0 1 で取得された上記出力情報に基づいて、励起光照射ユニット 110 のパワーが正常か否かを判断する（工程 S 2 5 5 2）。制御処理部 160 には、工程 S 2 2 0 1 で検出された反射光 β の検出値と、反射光 β の初期値とが記憶されている。制御処理部 160 は、上記の検出値と初期値とを比較することで、励起光照射ユニット 110 のパワーが正常か否かを判断する。

[0123] 制御処理部160は、励起光照射ユニット110のパワーが低下している（異常である）と判断した場合には、工程S2551で算出された蛍光強度を補正する（工程S2553）。具体的には、制御処理部160は、反射光 β の検出値と初期値とに基づいて、励起光照射ユニット110のパワーがどの程度低下しているかを算出し、パワーの低下分を補うように設定された補正係数（例えば、励起光照射ユニット110のパワーが70%に低下している場合は、 $100/70$ ）を、工程S2551で算出された蛍光強度にかける。このようにして、制御処理部160は、算出された蛍光強度を補正する。補正された蛍光強度は、必要に応じて、被検出物質の量や濃度などに換算される。

[0124] 以上の手順により、試料液中の被検出物質の存在またはその量を検出することができる。

[0125] （効果）

以上のとおり、本実施の形態に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置（SPFS装置100）では、励起光 α の反射光 β を検出することで、励起光照射ユニット110の出力情報（パワーに関する情報）を取得することができる。分析チップ10の表面（本実施の形態では、入射面21）で反射する反射光 β は、励起光照射ユニット110からの励起光 α の数%程度であるため、第1受光センサー121が飽和することがない。したがって、本実施の形態に係る分析方法およびSPFS装置100では、光量調整手段を別途設けなくても、励起光照射ユニット110が正常か否かを正確に判断でき、励起光照射ユニット110の異常による誤検出を防止することができる。また、光量調整用部品の交換や清掃などのメンテナンスに要する手間とコストを抑えることができる。

[0126] さらに、分析チップ10は、分析のたびに交換され、励起光照射ユニット110からの励起光 α は、常に清浄な面で反射されるため、反射面の経時劣化や埃などによる影響がない。このような観点からも、励起光照射ユニット110が正常か否かを正確に判断できる。

[0127] [実施の形態2]

実施の形態2では、励起光照射ユニット（励起光照射部）の出力情報として、励起光照射ユニット110のパワーと励起光 α の照射方向とに関する情報を取得することができるSPFS装置について説明する。

[0128] 実施の形態2に係るSPFS装置200は、励起光検出ユニット220の第1受光センサー221の構成のみが、実施の形態1に係るSPFS装置100と異なる。このため、SPFS装置200の構成としては、第1受光センサー221についてのみ説明し、実施の形態1に係るSPFS装置100の構成要素と同一の構成要素については、同一の符号を付して、その説明を省略する。また、実施の形態2に係るSPFS装置200で使用される分析チップ10は、実施の形態1に係るSPFS装置100で使用されるものと同じであるため、その説明を省略する。

[0129] (SPFS装置の構成)

図1は、本発明の実施の形態2に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析装置（SPFS装置）100の構成を示す模式図である。図1に示されるように、SPFS装置100は、励起光照射ユニット（励起光照射部）110、励起光検出ユニット（励起光検出部）220、蛍光検出ユニット（蛍光検出部）130、送液ユニット140、搬送ユニット150および制御処理部（処理部）160を有する。

[0130] 励起光検出ユニット220は、第1受光センサー221および第1センサー制御部122を含む。

[0131] 第1受光センサー221は、反射光 β の光量および位置を検出する。たとえば、受光センサー221は、複数の受光面を有するフォトダイオード（PD）または位置検出素子（PSD）である。第1受光センサー221が複数の受光面を有するPDである場合、第1受光センサー221の受光面の数は、特に限定されないが、4つ以上であることが好ましい。本実施の形態では、第1受光センサー221は、4つの受光面を有するPDである。また、第1受光センサー221がPSDの場合、第1受光センサー221の受光面の

大きさは、励起光 α の照射位置を正確に検出する観点から、励起光 α のビーム径よりも大きく構成されている。たとえば、励起光 α のビーム径が1~1.5 mm程度の場合、第1受光センサー221の受光面の1辺の長さは3 mm以上であることが好ましい。

[0132] 第1受光センサー221は、励起光 α の反射光 β が入射する位置に配置されている。本実施の形態では、第1受光センサー221は、入射面21からの反射光 β が入射する位置に配置されている。好ましくは、第1受光センサー221は、蛍光 γ の検出時と同じかまたはそれに近い角度で出射された励起光 α の反射光 β が入射する位置に配置されている。励起光 α の照射位置（照射位置）は、入射角の変化によりわずかに変化するため、分析チップ10の位置決め時と蛍光 γ の検出時とで励起光 α の入射角を同じかまたはそれに近い角度にすることで、蛍光 γ の検出時の位置決め精度をより高くすることが可能となる。本実施の形態では、金属膜30の法線（図1におけるz軸方向の直線）に対する励起光 α の出射角が約70°である場合、入射面21からの反射光 β は、搬送ステージの進行方向（図1におけるx軸方向）にほぼ水平に進む。したがって、第1受光センサー221は、この水平方向に進む反射光 β が入射する位置に配置されている。

[0133] （SPFS装置の検出動作）

次に、SPFS装置200の検出動作（本実施の形態に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析方法）について説明する。本実施の形態では、SPFS装置200は、励起光照射ユニット110の出力情報として、励起光照射ユニット110のパワーと励起光 α の照射方向に関する情報とを取得する。そして、励起光照射ユニット110のパワーに異常があると判断した場合には、SPFS装置200は、励起光照射ユニット110のパワーを調整する。また、励起光照射ユニット110からの励起光 α の照射方向に異常があると判断した場合には、その後の動作を中止する。

[0134] 図12は、SPFS装置200の動作手順の一例を示すフローチャートである。図13は、図12に示される位置および出力調整工程（工程S320

)内の工程を示すフローチャートである。本実施の形態では、位置・出力調整工程(工程S320)内に異常検出工程(工程S3202および工程S3203)が含まれる。

[0135] まず、分析チップ10をSPFS装置200の設置位置に設置する(工程S300)。具体的には、SPFS装置200のチップホルダー154に分析チップ10を設置する。

[0136] 次に、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を送液位置に移動させる(工程S305)。

[0137] 次に、制御処理部160は、送液ユニット140を操作して、薬液チップ141内の試料液を分析チップ10の流路41内に導入する(工程S310)。流路41内では、抗原抗体反応(1次反応)によって、金属膜30上に被検出物質が捕捉される。この後、流路41内の試料液は除去され、流路41内は洗浄液で洗浄される。なお、分析チップ10の流路41内に保湿剤が存在する場合は、捕捉体が適切に被検出物質を捕捉できるように、試料液を導入する前に流路41内を洗浄して保湿剤を除去する。

[0138] 次に、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を測定位置の近くまで移動させる(工程S315)。

[0139] 次に、制御処理部160は、励起光照射ユニット110、励起光検出ユニット220および搬送ステージ152を操作して、分析チップ10の位置情報と励起光照射ユニット110の出力情報とを取得する。制御処理部160は、取得された位置情報に基づいて分析チップ10の位置を調整し、取得された出力情報に基づいて励起光照射ユニット110の出力を調整する(工程S320)。また、制御処理部160は、取得された出力情報に基づいて励起光照射ユニット110の励起光 α の照射方向が異常であると判断した場合には、その後の工程を中止する。

[0140] 制御処理部160は、取得された出力情報に基づいて、励起光照射ユニット110からの励起光 α の照射方向が正常か否かを判断する(工程S3202)。制御処理部160には、励起光照射ユニット110の初期状態におけ

る励起光 α の照射方向に関する情報が記憶されている。より具体的には、制御処理部160には、反射光 β の第1受光センサー221に対する照射位置（以下、単に「初期位置」ともいう）に関する情報が記憶されている。詳細については後述するが、制御処理部160は、工程S3201で検出された反射光 β の第1受光センサー221上の照射スポットの位置と、あらかじめ制御処理部160に記憶されている初期位置とを比較することで、励起光照射ユニット110からの励起光 α の照射方向が正常か否かを判断する。

[0141] 制御処理部160は、励起光 α の照射方向が正常であると判断した場合には、その後の動作を継続し、励起光 α の照射方向が所期の方向からずれている（異常）と判断した場合には、動作を終了する。

[0142] パワーの異常を検出する工程（工程S3203）と、励起光照射ユニット110のパワーを調整する工程（工程S3204）と、分析チップ10の位置情報に基づいて分析チップ10を適切な測定位置に配置する工程（工程S3205）とは、実施の形態1における工程S1202～S1204とそれぞれ同様であるため、その説明を省略する。

[0143] 図14は、4つの受光面を有するPDを使用した場合において、励起光照射ユニット110の出力情報（パワーと励起光 α の照射方向とに関する情報）を取得する工程（工程S3201）を説明するための模式図である。図14において、梨地の部分は、第1受光センサー221の受光面221a～dに照射された励起光 α の照射スポットを示している。

[0144] 図14に示されるように、本実施の形態では、第1受光センサー221は、4つの受光面221a～dを有するPDである。各受光面221a～dに励起光 α が入射したときに、各受光面221a～dでは、照射された反射光 β の光量に応じた光電流 $I_a \sim d$ がそれぞれ発生する。各受光面221a～dから出力される光電流 $I_a \sim d$ の大きさを比較することで、受光面221a～dの面内方向における励起光 α の照射位置を特定することができる。制御処理部160は、反射光 β の第1受光センサー221への照射位置に基づいて、励起光 α の照射方向に関する情報を取得することができる。例えば、

($I_a + I_b$) : ($I_c + I_d$) の比から、図14中の上下方向における反射光 β の照射位置を特定し、($I_a + I_c$) : ($I_b + I_d$) の比から、図14中の左右方向における反射光 β の照射位置を特定することができる。本実施の形態では、制御処理部160には、上記初期位置として第1受光センサー221の各受光面221a~dから出力された光電流値 $I_{a\sim d}$ が記憶されており、工程S3201で測定された光電流値 $I_{a\sim d}$ と、あらかじめ記憶されている光電流値 $I_{a\sim d}$ とを比較することで、制御処理部160は、励起光 α の照射方向がずれているか否かを判断することができる。

[0145] また、本実施の形態では、制御処理部160は、各受光面221a~dから出力される光電流 $I_{a\sim d}$ の総和($I_a + I_b + I_c + I_d$)により、反射光 β の強度を測定でき、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報を取得することができる。制御処理部160は、工程S3201で測定された光電流 $I_{a\sim d}$ の総和($I_a + I_b + I_c + I_d$)と、あらかじめ記憶されている光電流 $I_{a\sim d}$ の総和($I_a + I_b + I_c + I_d$)とを比較することで、励起光照射ユニット110のパワーが低下しているか否かを判断することができる。

[0146] なお、励起光 α の照射方向の異常を検出する工程(工程S3202)と励起光照射ユニット110のパワーの異常を検出する工程(工程S3203)との順番は、これに限定されず、パワーの異常を検出する工程(工程S3203)を行った後に、励起光 α の照射方向の異常を検出する工程(工程S3202)を行ってもよい。

[0147] また、第1受光センサー221としてPDの代わりにPSDを使用した場合も、励起光照射ユニット110の出力情報(パワーと励起光 α の照射方向とに関する情報)を取得することができる。分割された複数の受光面を有するPDでは、隣接する受光面間の領域(励起光 β を受光しない領域)に入射した反射光 β が検出されないため、反射光 β のすべての光量を検出することはできない。これに対し、PSDの受光面は、連続した1つの面であるため、反射光 β のすべての光量を検出することができる。このように、より正確に反射光 β の光量を検出する観点からは、第1受光センサー221としてP

S Dを使用することがより好ましい。

[0148] 次いで、制御処理部160は、工程S125と同様にして増強角を検出する（工程S325）。

[0149] 次いで、制御処理部160は、工程S130と同様にして、光学ブランク値を測定し、記録する（工程S330）。

[0150] 次いで、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を送液位置に移動させる（工程S335）。

[0151] 次いで、制御処理部160は、工程S140と同様にして、金属膜30上に捕捉されている被検出物質を蛍光物質で標識する（工程S340）。

[0152] 次いで、制御処理部160は、搬送ステージ152を操作して、分析チップ10を工程S320で決定された適切な測定位置に移動させる（工程S345）。

[0153] 次いで、制御処理部160は、工程S150と同様にして、捕捉体に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出された蛍光 γ を検出する（工程S350）。

[0154] 最後に、制御処理部160は、蛍光 γ の検出値から光学ブランク値を引き、被検出物質の量に相関する蛍光強度を算出する（工程S355）。検出された蛍光強度は、必要に応じて、被検出物質の量や濃度などに換算される。

[0155] 以上の手順により、試料液中の被検出物質の存在またはその量を検出することができる。

[0156] （効果）

実施の形態2に係る分析方法およびSPFS装置では、実施の形態1の効果に加え、励起光照射ユニット110からの励起光 α の照射方向の異常についても検出することができる。

[0157] なお、上記実施の形態1、2に係る分析方法およびSPFS装置では、図5Bにおける点B（反射光 β の強度の最大値）に基づいて、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報を取得したが、本発明に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置は、これに限定

されない。図15は、励起光照射ユニットのパワーに関する情報を取得するための他の方法を説明するためのグラフである。たとえば、図5Bにおける点Bの代わりに、点A-C間の直線の傾き（分析チップ10の移動距離の変化量に対する反射光強度の変化量の比）に基づいて、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報を取得してもよい。この場合、制御処理部160には、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報として、点A-C間の直線の傾きが記憶される。図15において、黒丸（●）は、初期状態の励起光照射ユニット110を使用したときの第1受光センサーによる反射光の検出結果を示し、白丸（○）は、パワーが低下した状態の励起光照射ユニット110を使用したときの第1受光センサーによる反射光の検出結果を示している。ここでは、励起光照射ユニット110のパワーが初期状態におけるパワーの1/2に低下した場合の結果を示している。図15に示されるように、初期状態の励起光照射ユニット110を使用した場合と比較して、パワーが低下した状態の励起光照射ユニット110を使用した場合の反射光 β の最大値は、1/2になっている。これにともない、傾斜部（移動距離：約2320～約2380 μm ）の傾きも1/2になっている。このように、分析チップ10の移動距離の変化量に対する反射光強度の変化量の比によっても、励起光照射ユニット110のパワーに関する情報を取得することができる。

[0158] また、本発明に係る分析方法における各工程の順番は、上記実施の形態1、2に限定されない。

[0159] たとえば、分析チップ10の位置調整は、励起光照射ユニット110のパワーを調整する前に行ってもよいし、励起光照射ユニット110のパワーを調整した後に行ってもよいし、励起光照射ユニット110のパワーの調整と同時にしてもよい。

[0160] また、増強角の検出（工程S125、S225、S325）は、1次反応（工程S110、S210、S310）の前に行ってもよい。この場合、位置（位置および出力）調整（工程S120、S220、S320）も、1次

反応（工程S 1 1 0、S 2 1 0、S 3 1 0）の前に実施される。このようにすることで、図2、図10および図12に示されるフローチャートにおいて1次反応（工程S 1 2 0、S 2 2 0、S 3 2 0）と2次反応（工程S 1 4 0、S 2 4 0、S 3 4 0）の間に行っていた分析チップ10を送液位置に移動させる工程（工程S 1 3 5、S 2 3 5、S 3 3 5）を省略することができる。また、1次反応（工程S 1 2 0、S 2 2 0、S 3 2 0）を行う前の分析チップ10を送液位置に移動させる工程（工程S 1 0 5、S 2 0 5、S 3 0 5）における位置精度が高まり、1次反応（工程S 1 2 0、S 2 2 0、S 3 2 0）および2次反応（工程S 1 4 0、S 2 4 0、S 3 4 0）において、送液ユニット140のシリンジ144の先端を分析チップ10内により確実に挿入できるようになる。このため、ユーザーがチップホルダー154に分析チップ10を設置する工程（工程S 1 0 0、S 2 0 0、S 3 0 0）において要求される分析チップ10の位置精度が緩くなり、ユーザビリティが向上する。

[0161] また、上記の説明では、被検出物質と捕捉体とを反応させる工程（1次反応、工程S 1 1 0、S 2 1 0、S 3 1 0）の後に、被検出物質を蛍光物質で標識する工程（2次反応、工程S 1 4 0、S 2 4 0、S 3 4 0）を行った（2工程方式）。しかしながら、被検出物質を蛍光物質で標識するタイミングは、特に限定されない。たとえば、分析チップ10の流路内に試料液を導入する前に、試料液に標識液を添加して被検出物質を予め蛍光物質で標識しておいてもよい。また、分析チップ10の流路内に試料液と標識液を同時に注入してもよい。前者の場合は、分析チップ10の流路内に試料液を注入することで、蛍光物質で標識されている被検出物質が捕捉体により捕捉される。後者の場合は、被検出物質が蛍光物質で標識されるとともに、被検出物質が捕捉体により捕捉される。いずれの場合も、分析チップ10の流路内に試料液を導入することで、1次反応および2次反応の両方を完了することができる（1工程方式）。このように1工程方式を採用する場合は、抗原抗体反応の前に増強角の検出（工程S 1 2 5、S 2 2 5、S 3 2 5）が実施され、さ

らにその前に、位置（位置および出力）調整（工程S 1 2 0、S 2 2 0、S 3 2 0）が実施される。

[0162] さらに、上記実施の形態1、2では、出力情報とともに位置情報を得る場合について説明したが、本発明に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置は、これに限定されない。たとえば、本発明に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置は、出力情報のみを取得するために使用されてもよい。

[0163] [参考実験]

1. 励起光の入射角と反射率との関係

まず、プリズムに対する励起光の入射角と反射率との関係について計算を行った。プリズムの屈折率は、1.5に設定した。計算結果を図16A、Bに示す。

[0164] 図16A、Bは、励起光の入射角と反射率との関係を示すグラフである。図16Aは、励起光がプリズムの外部からプリズムの面に入射する場合の結果を示しており、図16Bは、励起光がプリズムの内部からプリズムの面に入射する場合の結果を示している。図16A、Bにおいて、実線は、p偏光の光を示しており、破線は、s偏光の光を示している。

[0165] 図16A、Bに示されるように、励起光の反射率は、プリズムに対する励起光の入射角が小さいときは、ほぼ一定であることがわかった。

[0166] 2. プリズムの屈折率と反射率との関係

次いで、プリズムの屈折率と励起光のp偏光の反射率との関係について計算を行った。本実施例では、金属膜への入射角が 71° となるように、入射面に対する励起光の入射角を 9° （0.158ラジアン）と設定した。プリズムの屈折率1.527を基準として、 ± 0.002 変化させた場合の励起光の反射率と、 ± 0.003 変化させた場合の励起光の反射率について計算を行った。計算の結果を表1に示す。屈折率の差は、1.527を基準としたときの屈折率の差である。また、反射率の変化率[%]は、プリズムの屈折率が1.527のときの反射率を基準としたときの変化率である。

[0167] [表1]

屈折率	屈折率の差	p 偏光反射率 [%]	反射率の変化率 [%]
1.527	0	4.2067	0
1.529	+0.002	4.2322	+0.61
1.525	-0.002	4.1813	-0.61
1.530	+0.003	4.2450	+0.91
1.524	-0.003	4.1686	-0.91

[0168] 表1に示されるように、プリズムの屈折率が1.527のとき、励起光のp偏光の反射率は、約4.2%であった。また、屈折率のばらつきが±0.002のとき、反射率の変化率は、±0.61%程度であり、屈折率のばらつきが±0.003のとき、反射率の変化率は、±0.91%程度であった。すなわち、屈折率のばらつきが±0.003程度であれば、反射率の変化率は1%以内となり、反射率はほぼ一定となることがわかる。

[0169] 以上より、励起光のプリズムに対する入射角が小さい場合には、プリズムの材料が同じであれば、励起光の反射率はほぼ一定となるため、励起光のプリズムからの反射光を検出することで、励起光照射ユニットのパワーに関する情報を取得して、パワーの異常を正確に検出することができることがわかる。

[0170] 本出願は、2015年11月13日出願の特願2015-223059に基づく優先権を主張する。当該出願明細書および図面に記載された内容は、すべて本願明細書に援用される。

産業上の利用可能性

[0171] 本発明に係る表面プラズモン共鳴蛍光分析方法および表面プラズモン共鳴蛍光分析装置は、被検出物質を高い信頼性で検出することができるため、例えば臨床検査などに有用である。

符号の説明

[0172] 10、10' 分析チップ

- 20 プリズム
- 21 入射面
- 22 成膜面
- 23 出射面
- 30 金属膜
- 40 流路蓋
- 41 流路
- 42 スペーサー
- 100、200 SPFS装置
- 110 励起光照射ユニット
- 111 光源ユニット
- 112 角度調整機構
- 113 光源制御部
- 120、220 励起光検出ユニット
- 121、221 第1受光センサー
- 221a～d 受光面
- 122 第1センサー制御部
- 130 蛍光検出ユニット
- 131 受光ユニット
- 132 位置切替機構
- 133 第2センサー制御部
- 134 第1レンズ
- 135 光学フィルター
- 136 第2レンズ
- 137 第2受光センサー
- 140 送液ユニット
- 141 薬液チップ
- 142 シリンジポンプ

- 1 4 3 送液ポンプ駆動機構
- 1 4 4 シリンジ
- 1 4 5 プランジャー
- 1 5 0 搬送ユニット
- 1 5 2 搬送ステージ
- 1 5 4 チップホルダー
- 1 6 0 制御処理部
- α 励起光
- β 励起光の反射光
- γ 蛍光
- δ プラズモン散乱光

請求の範囲

- [請求項1] 被検出物質を標識する蛍光物質が、表面プラズモン共鳴に基づく局在場光により励起されて発した蛍光を検出して、前記被検出物質の存在またはその量を検出する表面プラズモン共鳴蛍光分析方法であって、
- 入射面および成膜面を有するプリズムと、前記成膜面上に配置された金属膜と、前記金属膜上に固定化された捕捉体とを含み、チップホルダーに設置された分析チップに励起光照射部から励起光を照射するとともに、前記分析チップで反射された励起光を検出して、前記励起光照射部の出力情報を取得する工程を含む、表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。
- [請求項2] 搬送ステージに固定された前記チップホルダーに設置された前記分析チップに前記励起光照射部から励起光を照射するとともに、前記分析チップで反射された励起光を検出して、前記分析チップの位置情報を取得する工程をさらに含む、請求項1に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。
- [請求項3] 前記励起光照射部の出力情報を取得する工程と、前記分析チップの位置情報を取得する工程とは、同時に行われる、請求項2に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。
- [請求項4] 前記励起光照射部の出力情報を取得する工程および前記分析チップの位置情報を取得する工程では、前記分析チップの互いに隣接する2つの面に励起光を照射し、
- 前記2つの面で反射された励起光の強度に基づいて、前記分析チップの位置情報を取得し、
- 前記分析チップで反射された励起光の強度の最大値に基づいて、前記励起光照射部の出力情報を取得する、
- 請求項3に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。
- [請求項5] 前記励起光照射部の出力情報を取得する工程および前記分析チップ

の位置情報を取得する工程では、前記分析チップの前記入射面と前記入射面に隣接する面とに励起光を照射する、請求項4に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。

[請求項6] 前記励起光照射部の出力情報を取得する工程では、前記入射面からの反射光を検出する、請求項1～5のいずれか一項に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。

[請求項7] 前記励起光照射部の出力情報と、あらかじめ取得されている前記励起光照射部の基準となる出力情報とを比較して、前記励起光照射部が正常か否かを判断する工程をさらに含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。

[請求項8] 前記分析チップに前記励起光照射部から励起光を照射するとともに、前記捕捉体に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出された蛍光を検出する工程をさらに含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。

[請求項9] 前記位置情報に基づいて前記搬送ステージにより前記チップホルダーを移動させて、前記分析チップを測定位置に移動させる工程と、
前記測定位置に配置されている前記分析チップに前記励起光照射部から励起光を照射するとともに、前記捕捉体に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出された蛍光を検出する工程と、
をさらに含む、
請求項2～7のいずれか一項に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析方法。

[請求項10] 被検出物質を標識する蛍光物質が、表面プラズモン共鳴に基づく局在場光により励起されて発した蛍光を検出して、前記被検出物質の存在またはその量を検出する表面プラズモン共鳴蛍光分析装置であって、
入射面および成膜面を有するプリズムと、前記成膜面上に配置された金属膜と、前記金属膜上に固定化された捕捉体とを含む分析チップ

を着脱可能に保持するためのチップホルダーと、

前記チップホルダーに保持された前記分析チップに励起光を照射する励起光照射部と、

前記分析チップで反射された励起光を検出する励起光検出部と、

前記捕捉体に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出された蛍光を検出する蛍光検出部と、

前記励起光検出部の検出結果に基づいて、前記励起光照射部の出力情報を取得する処理部と、

を有する、表面プラズモン共鳴蛍光分析装置。

[請求項11]

前記チップホルダーを移動させる搬送ステージをさらに有し、

前記処理部は、

前記励起光検出部の検出結果に基づいて、前記チップホルダーに保持された前記分析チップの位置情報をさらに取得し、

前記位置情報に基づいて、前記搬送ステージにより前記チップホルダーを移動させて、前記分析チップを測定位置に移動させる、

請求項10に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析装置。

[請求項12]

前記励起光検出部は、複数の受光面を有するフォトダイオードであり、

前記励起光照射部の出力情報は、前記励起光照射部のパワーと前記励起光照射部の励起光の照射方向とに関する情報である、

請求項10または請求項11に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析装置。

[請求項13]

前記励起光検出部は、位置検出素子であり、

前記励起光照射部の出力情報は、前記励起光照射部のパワーと前記励起光照射部からの励起光の照射方向とに関する情報である、

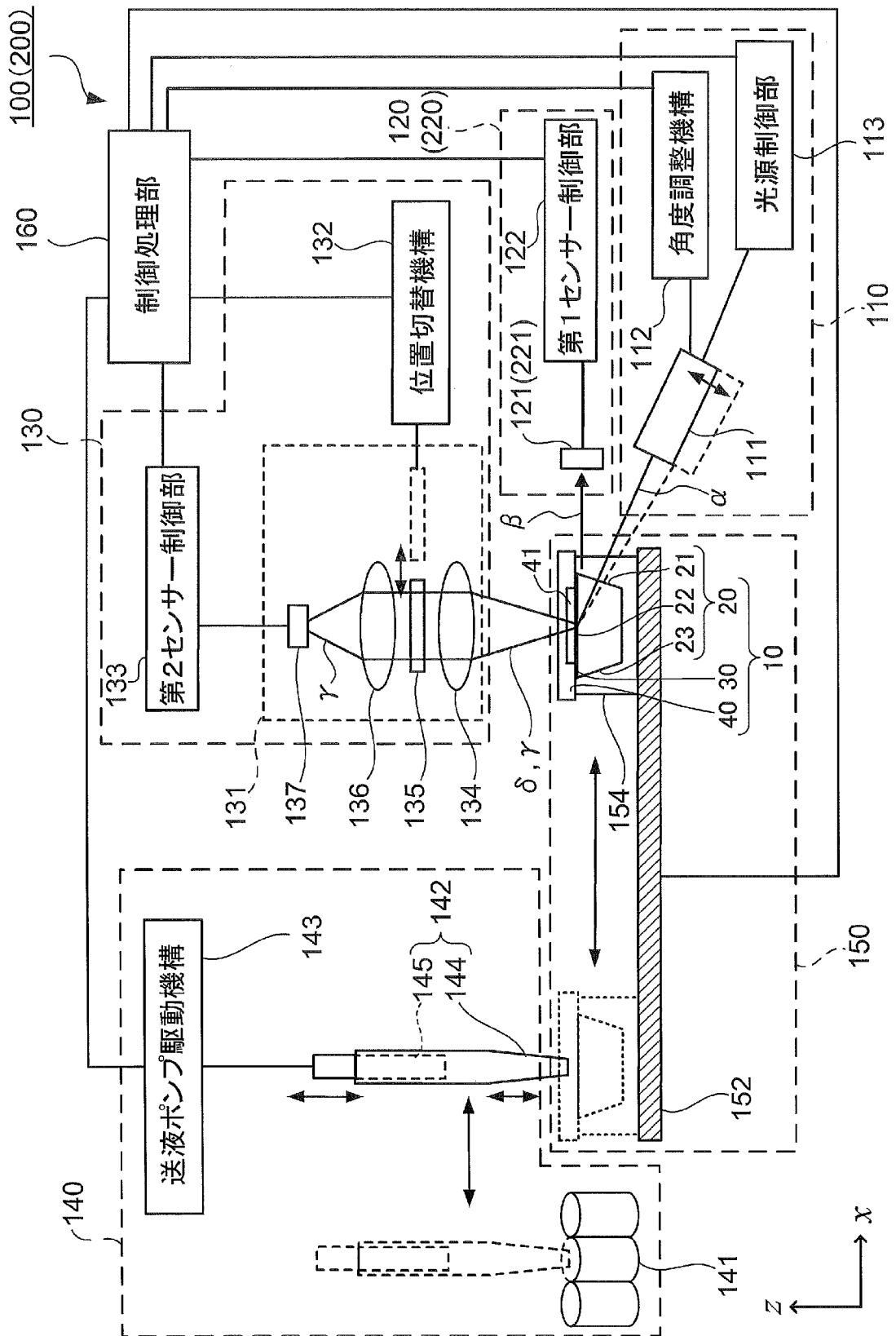
請求項10～12のいずれか一項に記載の表面プラズモン共鳴蛍光分析装置。

[請求項14]

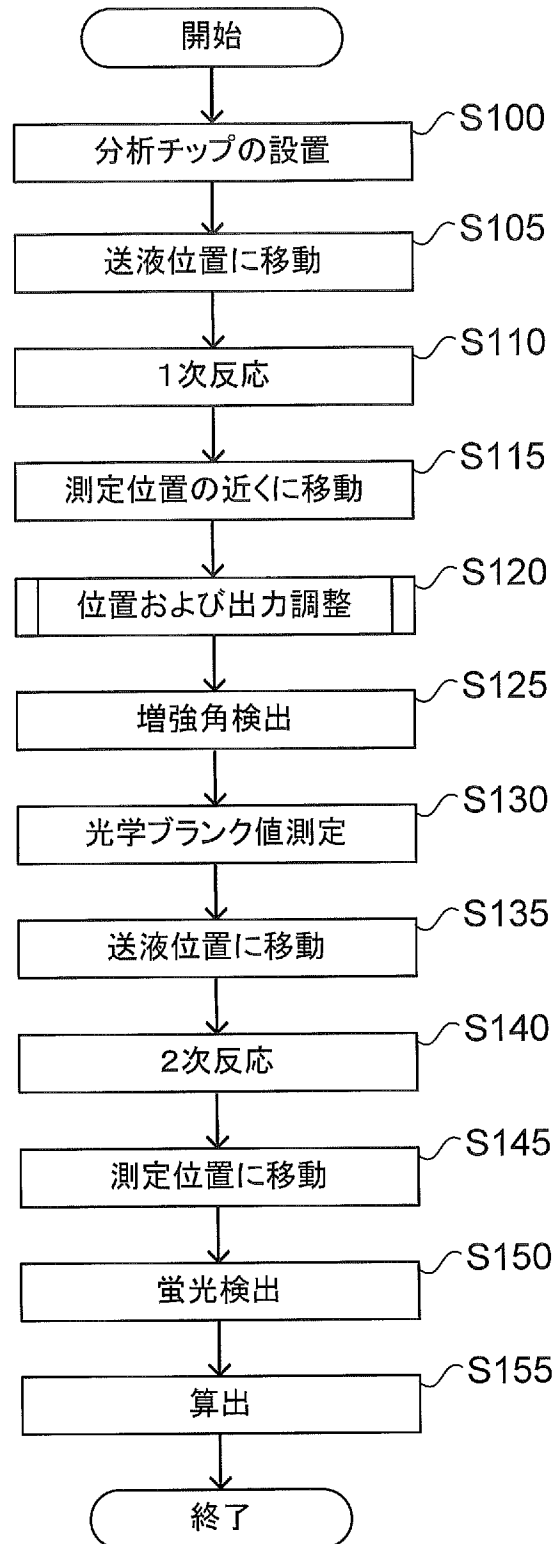
前記処理部は、

前記励起光照射部の基準となる出力情報を記憶しており、
前記励起光照射部の出力情報と前記励起光照射部の基準となる出力
情報とを比較して、前記励起光照射部が正常か否かを判断する、
請求項 10～13 のいずれか一項に記載の表面プラズモン共鳴蛍光
分析装置。

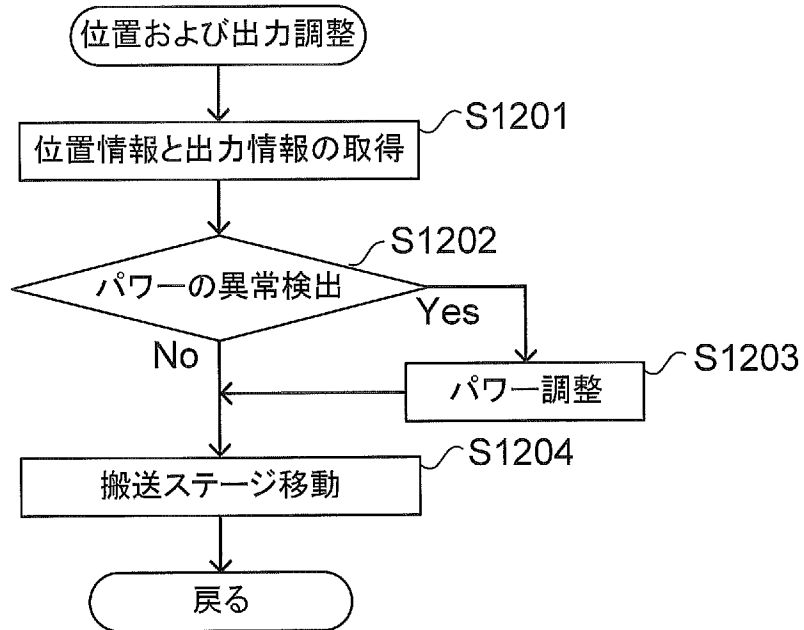
[図1]



[図2]



[図3]



[図4]

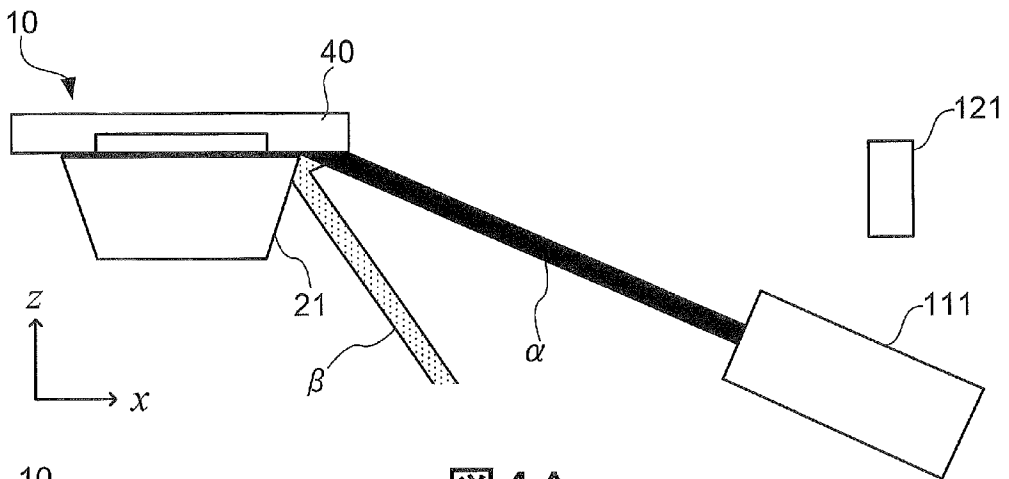


図4A

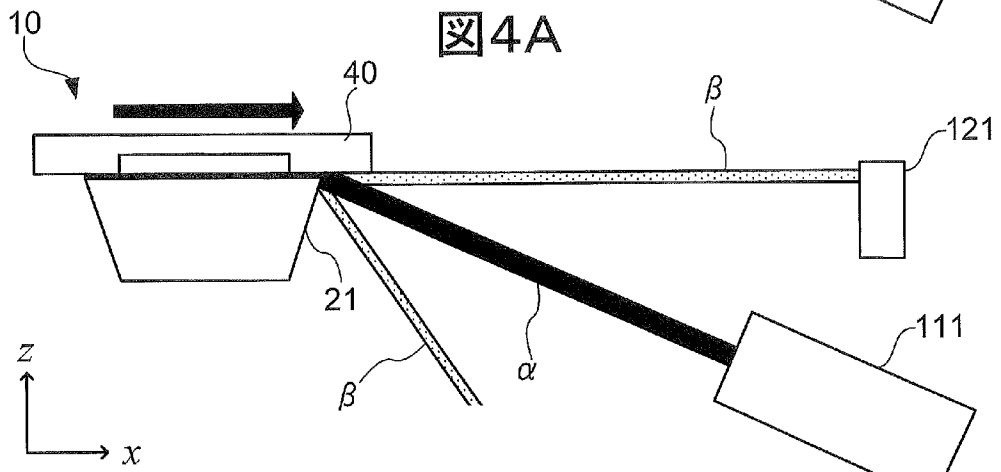


図4B

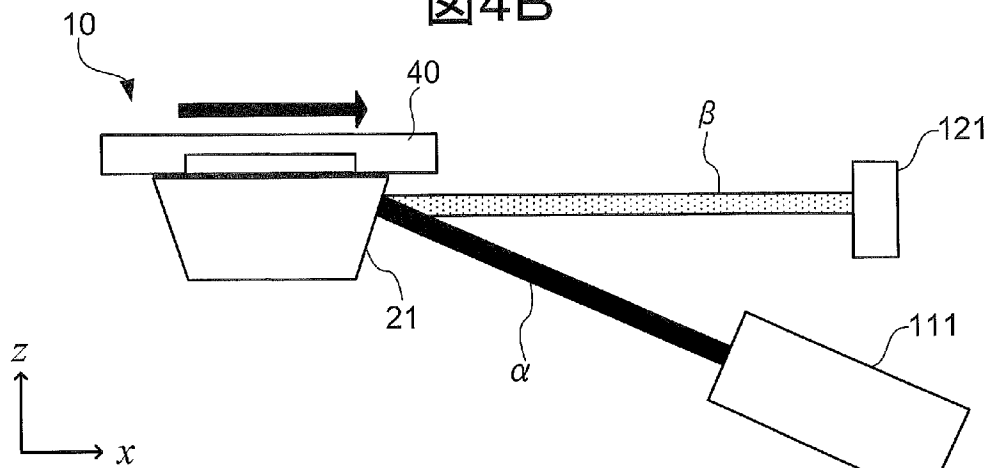


図4C

[図5]

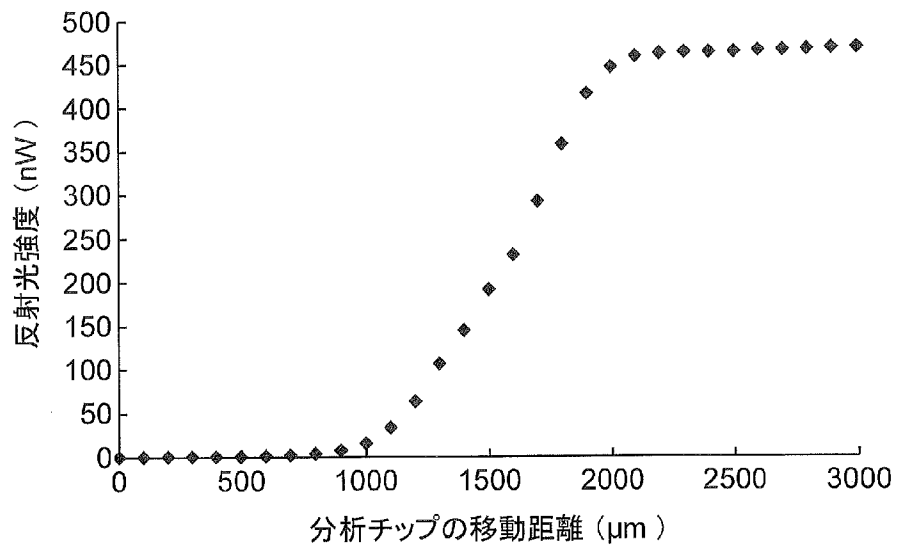


図5A

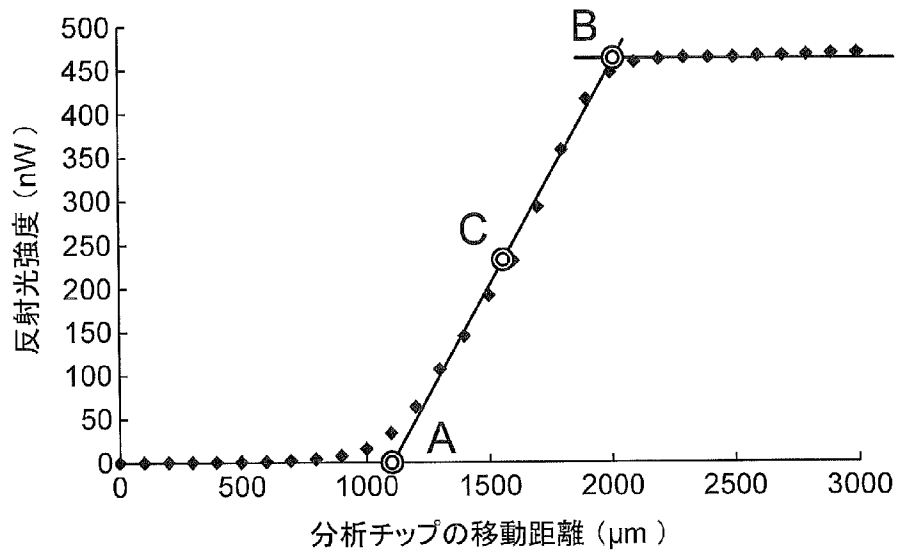
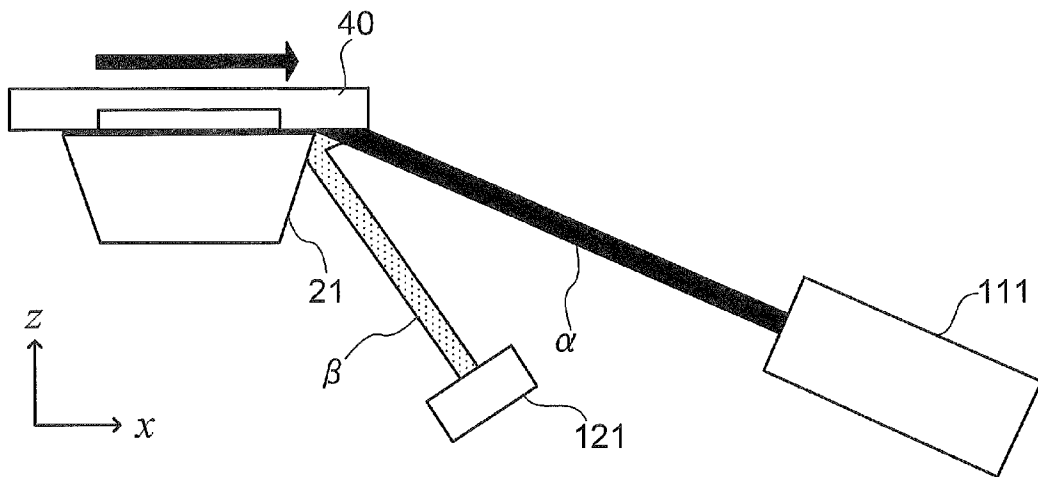
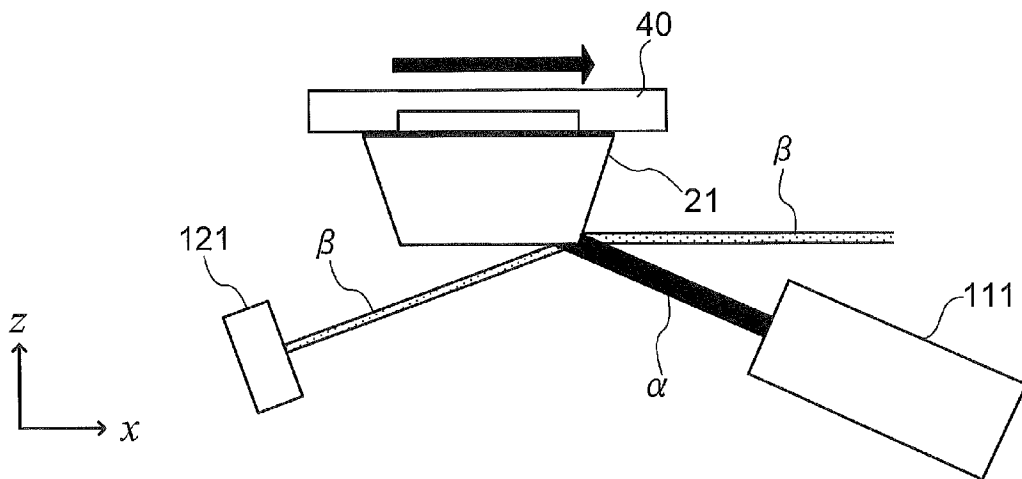


図5B

[図6]

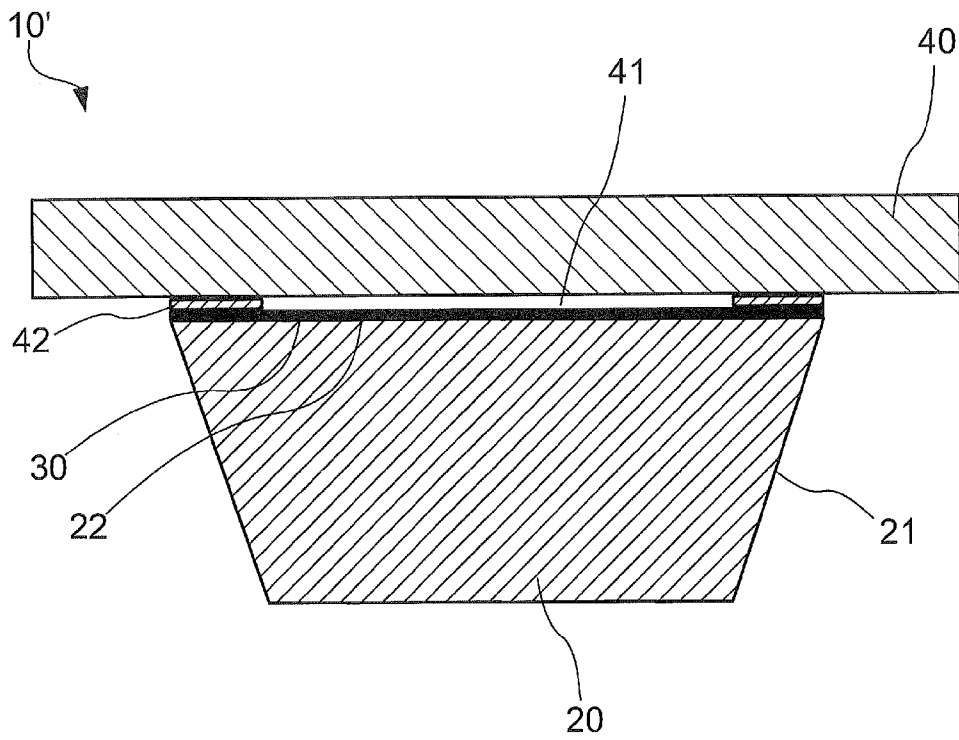


[図] 6A



[図] 6B

[図7]



[図8]

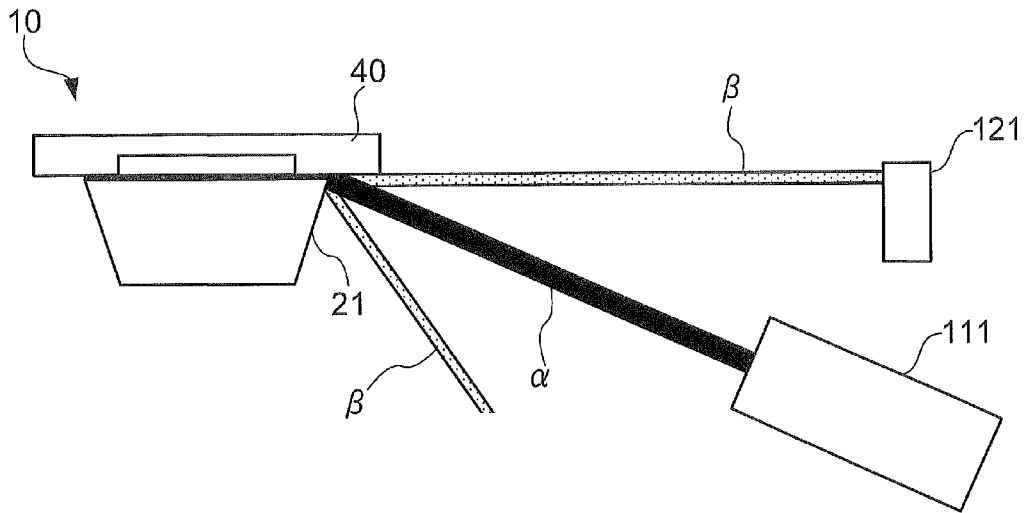


図8A

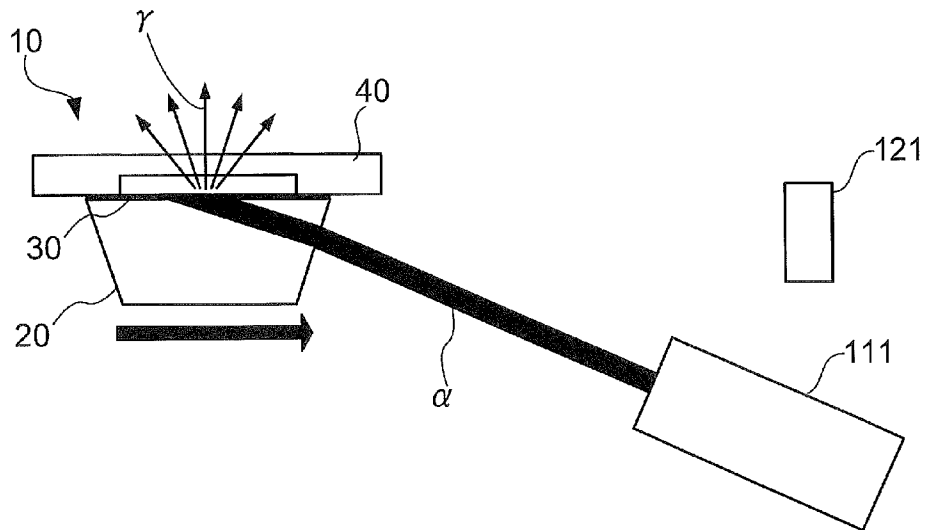


図8B

[図9]

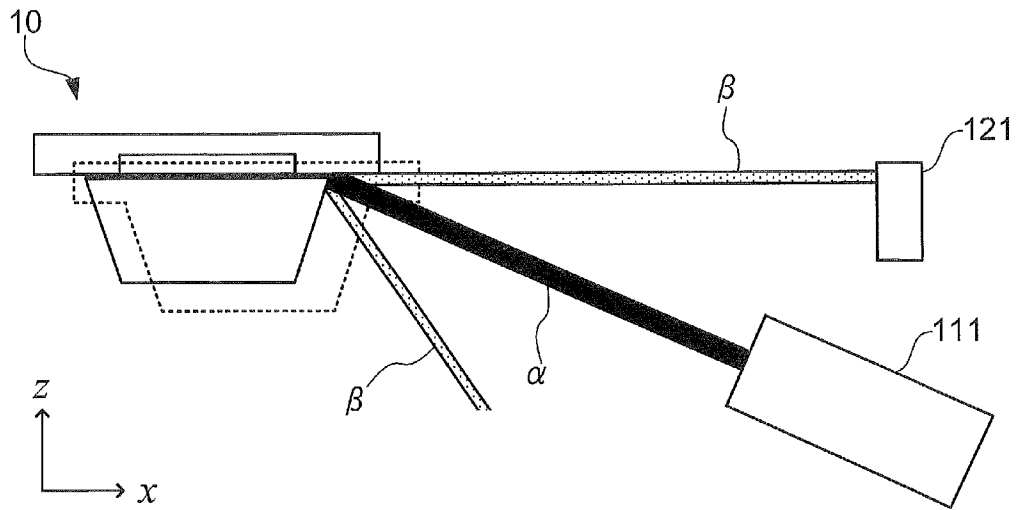


図9A

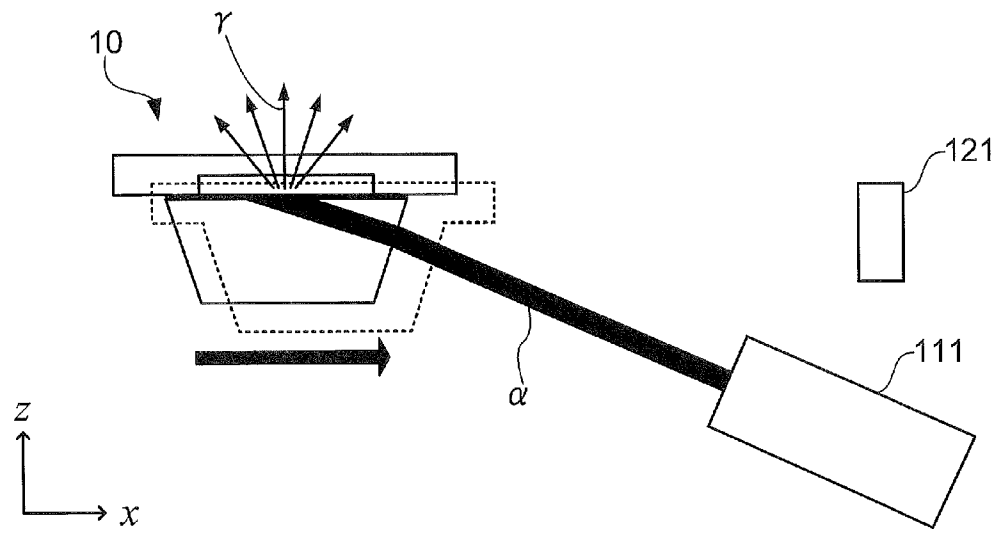
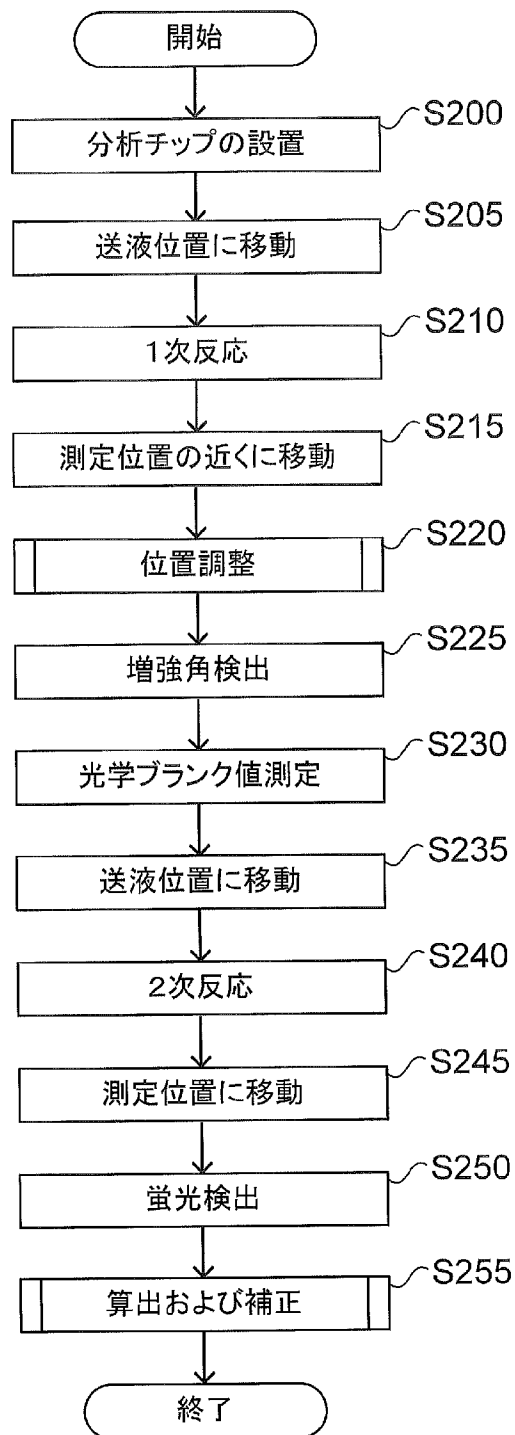


図9B

[図10]



[図11]

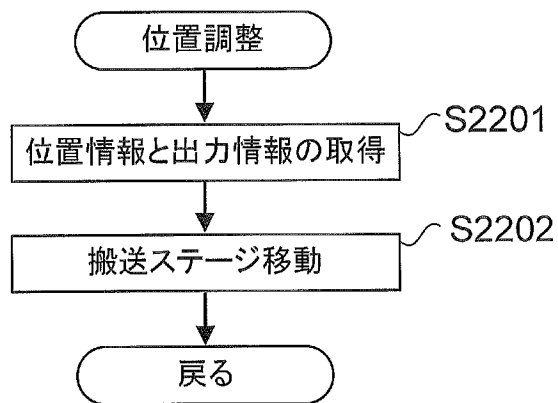


図11A

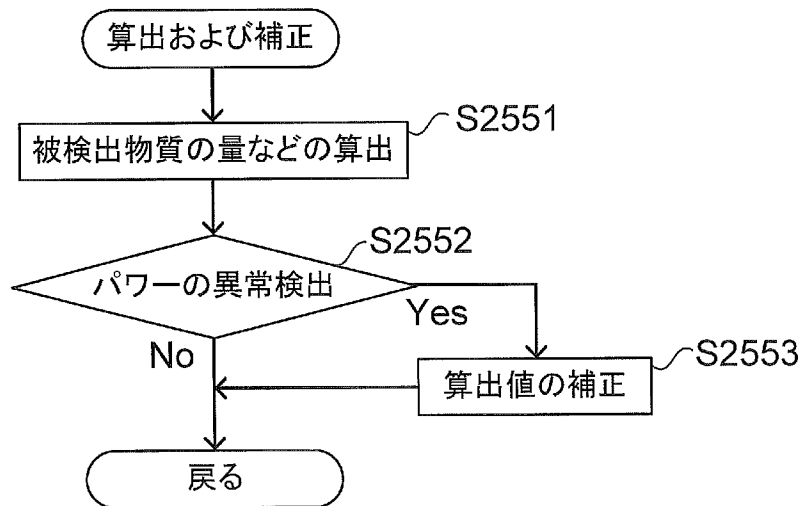
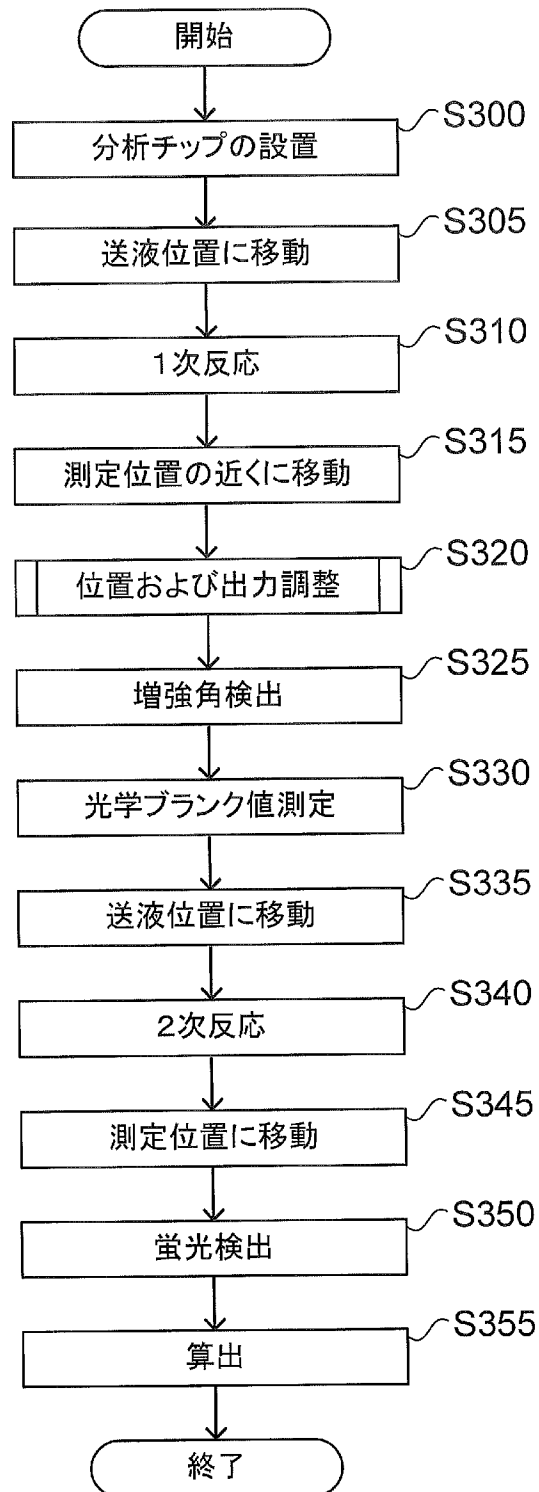
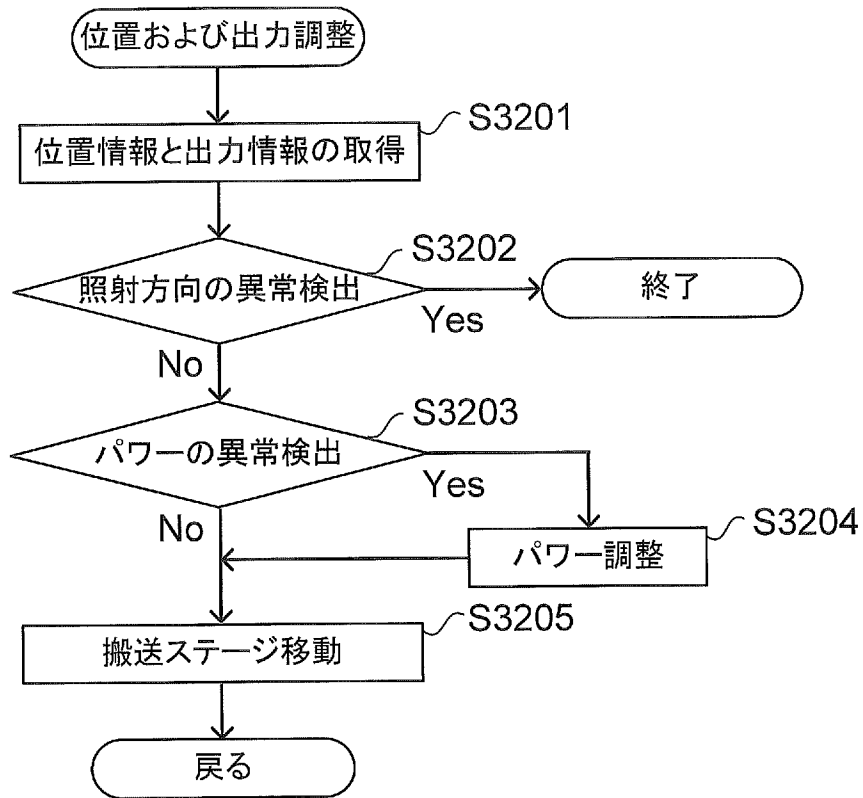


図11B

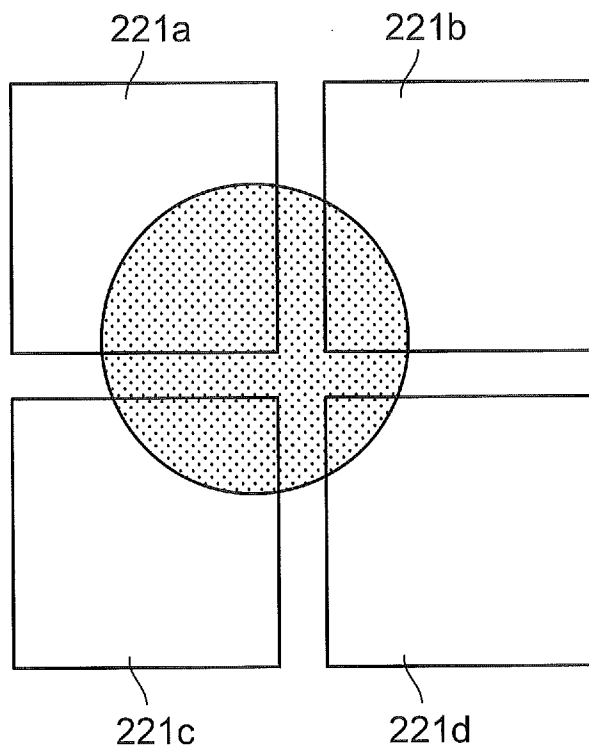
[図12]



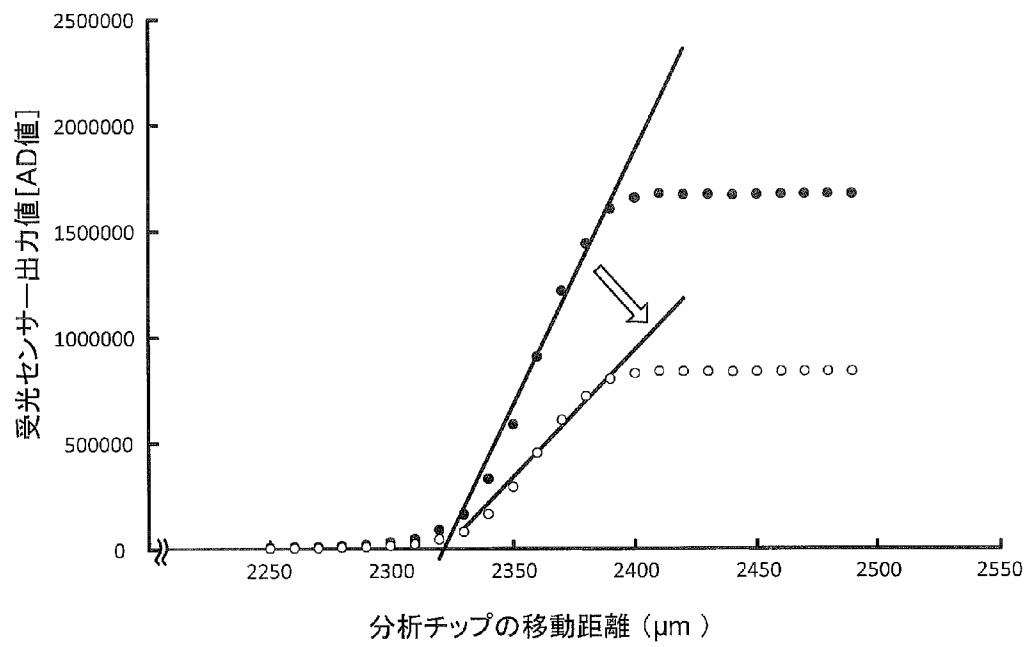
[図13]



[図14]



[図15]



[図16]

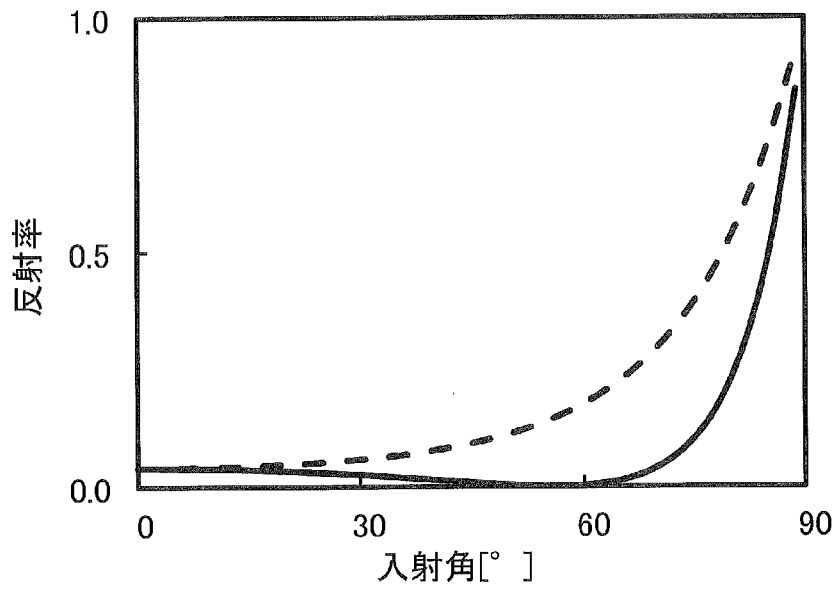


図16A

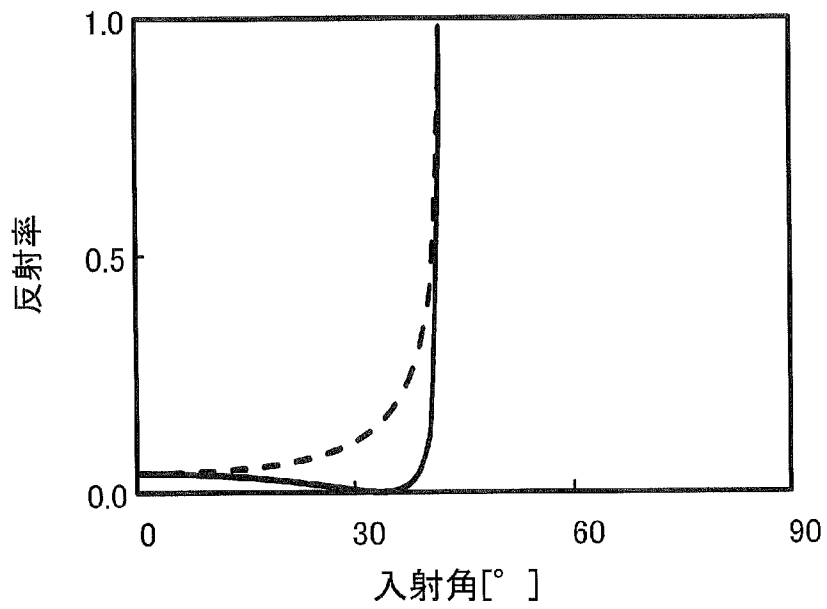


図16B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/082202

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N21/64(2006.01) i, G01N21/41(2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N21/64, G01N21/41

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2015/064704 A1 (Konica Minolta, Inc.), 07 May 2015 (07.05.2015), claims 1, 3, 8; paragraph [0041] & US 2016/0245746 A1 claims 1, 3, 8; paragraph [0054] & EP 3064929 A1	1-14
Y	JP 2002-45329 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 12 February 2002 (12.02.2002), paragraphs [0067] to [0070] & US 2002/0016620 A1 paragraphs [0077] to [0080]	1-14

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 18 January 2017 (18.01.17)	Date of mailing of the international search report 31 January 2017 (31.01.17)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/082202

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 02/17010 A1 (Fujitsu Ltd.), 28 February 2002 (28.02.2002), page 12, lines 16 to 29 & US 2002/0044324 A1 paragraphs [0101], [0102] & EP 1312975 A1	1-14
Y	JP 2001-215200 A (Malcom Co., Ltd.), 10 August 2001 (10.08.2001), paragraph [0003] (Family: none)	12,13

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N21/64(2006.01)i, G01N21/41(2006.01)i		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N21/64, G01N21/41		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2017年 日本国実用新案登録公報 1996-2017年 日本国登録実用新案公報 1994-2017年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	WO 2015/064704 A1 (コニカミノルタ株式会社) 2015.05.07, 請求項 1、3、8、[0041] & US 2016/0245746 A1, claim 1,3,8, [0054] & EP 3064929 A1	1-14
Y	JP 2002-45329 A (富士写真フイルム株式会社) 2002.02.12, [00 67] - [0070] & US 2002/0016620 A1, [0077]-[0080]	1-14
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 18.01.2017	国際調査報告の発送日 31.01.2017	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 吉田 将志 電話番号 03-3581-1101 内線 3258	2W 4636

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	WO 02/17010 A1 (富士通株式会社) 2002.02.28, 12頁16-29 行 & US 2002/0044324 A1, [0101][0102] & EP 1312975 A1	1-14
Y	JP 2001-215200 A (株式会社マルコム) 2001.08.10, [0003] (フ ァミリーなし)	12, 13