

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-529013

(P2008-529013A)

(43) 公表日 平成20年7月31日(2008.7.31)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 21/45 (2006.01)	GO 1 N 21/45 A	2 G O 5 9
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 T	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 35 頁)

(21) 出願番号 特願2007-553367 (P2007-553367)
 (86) (22) 出願日 平成18年2月1日 (2006.2.1)
 (85) 翻訳文提出日 平成19年10月1日 (2007.10.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/003470
 (87) 国際公開番号 W02006/083911
 (87) 国際公開日 平成18年8月10日 (2006.8.10)
 (31) 優先権主張番号 60/649,070
 (32) 優先日 平成17年2月1日 (2005.2.1)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/755,177
 (32) 優先日 平成17年12月30日 (2005.12.30)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

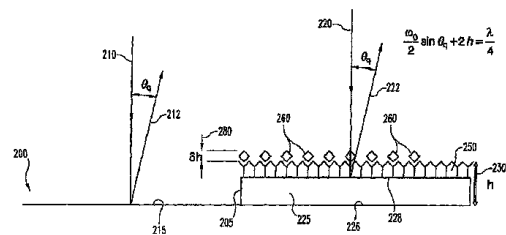
(71) 出願人 598063203
 パーデュー・リサーチ・ファウンデーション
 PURDUE RESEARCH FOUNDATION
 アメリカ合衆国・インディアナ州 479
 06・ウエスト・ラファイエット・セント
 アヴェニュー 3000
 (74) 代理人 110000176
 一色国際特許業務法人
 (72) 発明者 ノルト, デイヴィッド
 アメリカ合衆国・インディアナ州 479
 05・ラファイエット・アイゼンハウアー
 ロード 4155

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫アッセイの直交位相差干渉検出のための方法および装置

(57) 【要約】

サンプルにおける標的分析対象の有無を決定するための位相差直交干渉法。本方法は、サンプルに暴露された反射面を有する基板の少なくとも一部を探索するために、波長 およびウェスト w_0 を持つレーザービームを使用することを含む。反射面は、標的分析対象に対して特異的な認識分子の層を持つ少なくとも第1領域、および、標的分析対象に対して特異的な認識分子の層を含まない第2領域を含む。方法はさらに、第1領域および第2領域を探索しながら、探索ビームの反射回折信号の一对の直角位相角 q の一方における実質的に第1直交分のみについて、その時間依存性強度を、光検出器を用いて測定することをさらに含む。平面アレイにおいて標的分子の有無を位相差直交干渉計側によって検出するための装置は、探索ビームを発生するための光源を含む。本装置は、平面アレイを受容するためのプラットフォーム、および、探索ビームを、プラットフォームに対し実質的に面垂直となるように指向させる第1光学要素列を含む。本装置はさらに、第1面と第2面を持ち、焦点距離を有する対物レンズを含む。この対物レンズは、レンズの第1面に



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生物サンプルにおける標的分析対象の有無を検出する、標識無添加の、位相差直交干渉法であって、

生物サンプルに対して基板の反射面を暴露する工程であって、反射面は、受容体分子のコーティングから成る空間パターンを有し、かつ、各コーティングは特定の標識分析対象に対して特異的である工程と、

基板の少なくとも一部を走査しながら、受容体分子のコーティングから成る空間パターンに対しウェスト w_0 で入射する、波長 λ を持つ結像探査レーザービームから得られる反射信号の遠視野回折パターンの強度を測定するために、分割光検出器を使用する工程、

強度は、一对の直交角度と実質的に等しい、二つの観察角度の内の少なくとも一つについて、分割光検出器によってその強度を測定することによって、実質的に直交条件において、反射信号の一部について測定され、直交角度 q は、基板に対して直角な光線において下式、すなわち、

$$q = \sin^{-1}(\lambda / 2w_0)$$

によって定義されることを特徴とする、前記方法。

【請求項 2】

一对の直交角度の一方において分割光検出器の出力を反転する工程、および、該反転出力を、一对の直交角度の他方における分割光検出器の出力と加算する工程、をさらに含むことを特徴とする、請求項 1 の方法。

【請求項 3】

反射信号を、分割光検出器を用いて強度を測定する前に、対物レンズを通過させる工程、をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 の方法。

【請求項 4】

反射ビームの遠視野回折パターンの強度測定が、フーリエ面で実行されることを特徴とする、請求項 3 の方法。

【請求項 5】

基板がディスクであり、基板の走査が、該ディスクを回転することによって実行されることを特徴とする、請求項 1 の方法。

【請求項 6】

サンプルにおける標的分析対象の有無を決定するための直交干渉計測法であって、

サンプルに暴露される反射面を持つ基板の少なくとも一部を探査するための、波長 λ およびウェスト w_0 を有するレーザービームを用いる工程であって、反射面は、少なくとも、標的分析対象に対して特異的な認識分子の層を持つ第1領域、および、標的分析対象に対して特異的な認識分子の層を持たない第2領域を含む工程と、

第1領域および第2領域を探査しながら、探査ビームの反射回折信号の一对の直交角度 q の内、実質的に第1直交分のみについて、光検出器においてその時間依存性強度を測定する工程、

を含む前記方法。

【請求項 7】

時間依存性が、基板に対する、入射レーザービームの相対的動きによって生じることを特徴とする、請求項 6 の方法。

【請求項 8】

基板がディスクであり、入射レーザービームに対するディスクの相対的動きは、ディスクを回転させることによって生成されることを特徴とする、請求項 7 の方法。

【請求項 9】

レーザービームの反射回折信号が、分割光検出器形態によって測定され、一对の直交角度の一方に対応する反射信号の第1出力部分を反転する工程、および、反転された第1出力を、一对の直交角度の他方に対応する反射信号の第2出力と加算する工程、をさらに含む

10

20

30

40

50

ことを特徴とする、請求項 8 の方法。

【請求項 10】

基板がディスクであり、反射回折信号は、強度測定の前に、対物レンズを通過させられることを特徴とする、請求項 9 の方法。

【請求項 11】

探査ビームの反射回折信号を、強度測定の前に、 $\lambda/2$ 位相マスクを通過させる工程、をさらに含むことを特徴とする、請求項 7 の方法。

【請求項 12】

反射表面が実質的に平坦であり、かつ、直角角度が、基板に対して直角な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}(\lambda/2w_0)$$

によって定義されることを特徴とする、請求項 6 の方法。

【請求項 13】

基板がディスクであり、ディスクの反射面が複数の平地と複数の台地を含み、台地が高さ h を持ち、直角角度は、基板に対して直角な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}[\lambda/2 - 4h/w_0]$$

によって定義されることを特徴とする、請求項 6 の方法。

【請求項 14】

サンプルにおける標的分析対象の有無を決めるための、位相差直交干渉による段差検出法であって、

認識分子の空間パターンを有するディスクに対して入射する探査レーザービームから得られた反射光信号の、遠視野回折パターンの時間依存性強度を、分割光検出器形態を用いて測定する工程、および、

得られた光信号の、第1直交分と、対向する第2直交分からの寄与を加算する工程であって、寄与の加算には、第1直交分の寄与の反転を先行させる工程、を含む前記方法。

【請求項 15】

強度は、ディスクの反射面から反射された光信号について測定されることを特徴とする、請求項 14 の方法。

【請求項 16】

分割光検出器形態が、分割リング光検出器であることを特徴とする、請求項 15 の方法。

【請求項 17】

分割光検出器形態が、四分円光検出器であることを特徴とする、請求項 15 の方法。

【請求項 18】

分割光検出器形態は、第1および第2光検出器を含み、ディスクに入射する探査ビームは、波長 λ およびウェスト w_0 を有し、第1および第2光検出器は、実質的に一对の直角角度 θ_q において強度を測定し、直角角度は、ディスクに対して直角な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}(\lambda/2w_0)$$

によって定義されることを特徴とする、請求項 15 の方法。

【請求項 19】

時間依存性強度が、ディスクを回転させることによって測定されることを特徴とする、請求項 15 の方法。

【請求項 20】

ディスクは、約80Hzで回転することを特徴とする、請求項 19 の方法。

【請求項 21】

サンプルにおける標的分析対象の有無を決定するための、位相差直交干渉による段差検出法であって、

実質的に第1直交分のみから成る反射光信号の第1部分の時間依存性差分を、実質的に第

10

20

30

40

50

1 直角干渉角において測定する工程であって、反射光信号は、平面アレイにおける特異的抗体および非特異的抗体の交互反復領域を横切ってレーザービームをトレースすることから得られる工程、を含む前記方法。

【請求項 2 2】

平面アレイの交互反復領域を横切ってレーザービームをトレースすることから得られる、実質的に第2直交分のみから成る反射光信号の第2部分の時間依存性差分を、実質的に第2直交干渉角において測定する工程、をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 2 の方法。

【請求項 2 3】

反射光信号の第1部分の第1出力を反転する工程と、
該反転第1出力に対し、反射光信号の第2部分の第2出力を加算する工程、
をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 2 の方法。

【請求項 2 4】

サンプルにおける標的分析対象の有無を決定するための、スケールに依存しない、標識無添加の、直角位相差干渉による段差検出法であって、

ディスクを走査するために、入射ウェスト w_0 および波長 λ を有する結像レーザービームを用いる工程であって、ディスクは、標的分析対象に対して特異的な受容体分子を含む、空間的にパターン化された層を持ち、層は、実質的に急峻な層末端を持つ工程と、

分割光検出器形態を用いて実質的に急峻な層末端を走査することによって生じる、遠視野回折パターンにおける強度変化を検出する工程であって、分割光検出器形態は、ディスクに対して垂直な光線によって定義される、一对の直角干渉角度の内の、実質的に少なくとも一方において遠視野回折パターンの出力を与える工程、を含む前記方法。

【請求項 2 5】

サンプルにおける標的分析対象の有無を決定するための、直交干渉法であって、
反射光信号の実質的に第1直交分のみを受容するための光学要素列に軸揃えされた、第1光検出器の出力を測定する工程であって、第1直交分は、反射光信号を実質的に第1直交角において観察することから得られ、反射光信号は、平面アレイに入射する、波長 λ およびウェスト w_0 を有する探査レーザービームから得られ、平面アレイは、標的分析対象に対して特異的な1層の受容体分子によって定義される少なくとも一つの台地を持つ工程、を含み、

直交角度 q は、平面アレイに対して垂直な光線から下式、すなわち、

$$q = \sin^{-1}(\lambda / 2w_0)$$

によって定義されることを特徴とする、前記方法。

【請求項 2 6】

第2対向直交分のみを実質的に受容するための光学要素列に軸揃えされた、第2光検出器の出力を測定する工程であって、第2対向直交成分は、反射光信号を実質的に第2直交角において観察することから得られる工程、をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 5 の方法。

【請求項 2 7】

第1光検出器の出力を反転する工程と、
第1光検出器の反転出力を第2光検出器の出力と加算する工程、
をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 6 の方法。

【請求項 2 8】

光学要素列が対物レンズを含むことを特徴とする、請求項 2 6 の方法。

【請求項 2 9】

第1および第2光検出器は、反射光信号の遠視野回折パターンをフーリエ面において測定することを特徴とする、請求項 2 8 の方法。

【請求項 3 0】

10

20

30

40

50

生物サンプル中の標的分析対象の有無を干渉検出するためのキットであって、
波長 およびウェスト w_0 を有する結像レーザービームの光源であって、レーザービームを基板に対して入射させるように直接または間接に軸揃えされる光源と、

空間的にパターン化されたバイオ層を有する反射面を持つ基板であって、バイオ層は、受容体分子の複数のコーティングを含み、各コーティングは、特定の標的分析対象に結合するように構成される基板と、

遠視野回折パターンの強度を測定するための分割光検出器であって、一对の直角角度の内の少なくとも一方に実質的に等しい観察角度においてのみ強度を検出するように配置され、直角角度は、基板に対して垂直な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}(\lambda / 2w_0)$$

によって定義される分割光検出器、を含む、前記キット。

【請求項 3 1】

分割光検出器が、直角角度を除いては、遠視野回折パターンの部分をブロックするための開口を含むことを特徴とする、請求項 3 0 のキット。

【請求項 3 2】

反射面が、レーザーミラーとして働く、 $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ から成る、10層の誘電積層体を含むことを特徴とする、請求項 3 0 の装置。

【請求項 3 3】

分割光検出器が、四分円光検出器であり、反射面は、四分の一波誘電積層体を含むことを特徴とする、請求項 3 0 の装置。

【請求項 3 4】

平面アレイにおける標的分析対象の有無を検出する、位相差直交干渉検出のための装置であって、

探査ビームを発生するためのレーザー光源と、

平面アレイを受容するためのプラットフォームと、

プラットフォームに対し探査ビームを実質的に垂直に向けるための第1光学要素列と、

第1側面と第2側面、および焦点距離を有する対物レンズであって、レンズの第1面において、プラットフォームから、焦点距離にほぼ等しい第1距離だけ隔てられる対物レンズと、

探査ビームの反射から得られる信号における第1直交分および第2直交分を測定するための分割光検出器手段、

を含む前記装置。

【請求項 3 5】

平面アレイがディスクであり、装置が、プラットフォームに付着される、ディスクを回転するための回転器をさらに含むことを特徴とする、請求項 3 4 の装置。

【請求項 3 6】

測定用の分割光検出手段が、信号における第1直交分用として第1出力を、信号における第2直交分用として第2出力を生成するように配置される、直交光検出器であることを特徴とする、請求項 3 4 の装置。

【請求項 3 7】

第1出力および第2出力の内の一方に付着される反転回路、および、反転回路と、第1出力と第2出力の内の他方とに付着される加算回路、をさらに含むことを特徴とする、請求項 3 6 の装置。

【請求項 3 8】

測定用の分割光検出手段が、信号における第1直交分用として第1出力を生成するように配置される第1光検出器、および、信号における第2直交分用として第2出力を生成するように配置される第2直交光検出器、であることを特徴とする、請求項 3 4 の装置。

【請求項 3 9】

測定用の分割光検出手段が、信号における第1直交分用として第1出力、および信号における第2直交分用として第2出力を生成するように配置される、分割リング光検出器である

10

20

30

40

50

ことを特徴とする、請求項 3 5 の装置。

【請求項 4 0】

測定手段は、対物レンズの第2側面から、焦点距離にほぼ等しい第2距離だけ離れることを特徴とする、請求項 3 4 の装置。

【請求項 4 1】

サンプルにおける標的分析対象の有無を位相差直交干渉検出するためのシステムであって、該サンプルは、空間的にパターン化された認識分子の複数のコーティングを含む反射面を有するディスクに暴露され、該認識分子の少なくとも一つは、標的分析対象に対して特異的であり、

ディスクを受容するためのプラットフォームと、

ディスクを回転するための回転器と、

波長 λ の結像レーザービームのための光源であって、レーザーが、ディスクに対し、ウェスト w_0 をもって入射させるように直接または間接に軸揃えされる光源と、

空間的にパターン化された認識分子の複数のコーティングを横切ってレーザービームをトレースするための手段と、

実質的に、一对の遠視野回折パターンの直交干渉角度 q において強度を測定するための分割光検出器であって、遠視野回折パターンは、レーザービームを平面アレイの上を横切ってトレースすることから得られ、直交干渉角度 q は下式、すなわち、

$$q = \sin^{-1}(\lambda / 2w_0)$$

によって定義される分割光検出器、

を含む、前記システム。

【請求項 4 2】

プラットフォーム上のディスクと強度を測定するための分割光検出手段との間に配置される対物レンズをさらに含むことを特徴とする、請求項 4 1 のシステム。

【請求項 4 3】

強度を測定するための分割光検出手段が、一对の直交干渉角度 q の内の一方向における強度に対応する第1出力、および、一对の直交干渉角度 q の他方向における強度に対応する第2出力、を有することを特徴とする、請求項 4 1 のシステム。

【請求項 4 4】

第1出力および第2出力の内の一方向に付着される反転回路、および、反転回路と、第1出力および第2出力の内の方々に付着される加算回路、をさらに含むことを特徴とする、請求項 4 3 のシステム。

【請求項 4 5】

測定用分割光検出手段が、四分円光検出器であることを特徴とする、請求項 4 3 のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は一般に、サンプルにおける特定の生物物質の存在を検出するための装置に関し、さらに詳細には、ディスク上の標的受容体に結合する、生物学的病原体および/または対象分子の存在を検出するためのレーザーコンパクトディスクシステムであって、該検出を、病原体および/または分析対象によってディスクから反射される探査ビームの光学特性の変化を感受することによって行うシステム、に関する。

【背景技術】

【0002】

多くの化学的、生物学的、医学的、および診断学的用途において、サンプル中の特定の分子構造の存在を検出することが望まれる。多くの分子構造、例えば、細胞、ウイルス、細菌、トキシン、ペプチド、DNA断片、および抗体は、特定の受容体によって認識される。ガン細胞における遺伝子発現パターンを検出するための生化学的技法、例えば、遺伝子チップ、免疫学的チップ、およびDNAアレイを含む技法は、これらの分子構造と受容

10

20

30

40

50

体との相互作用を利用する。[例えば、下記の論文の記述を参照されたい。Sanders, G. H.W. and A. Manz, 「ゲノムおよびプロテオーム分析用チップ仕様マイクロシステム(“Chip-based microsystems for genomic and proteomic analysis”）」、Trends in Anal. Chem., 2000, Vol. 19(6), p.364-378; Wang, J., 「DNAバイオセンサーから遺伝子チップまで(“From DNA biosensor to gene chips”）」、Nucl. Acids Res., 2000, Vol. 28(16), p.3011-3016; Hagman, M., 「チップの上で免疫学を実施する(“Doing immunology on a chip”）」、Science, 2000, Vol. 290, p.82-83; Marx, J., 「DNAアレイは、ガンをその多くの形状において明らかにする(“DNA Arrays reveal cancer in its many forms”）」、Science, 2000, Vol. 289, p.1670-1672]。これらの技法は主に、所望の受容体(標的物質または試験対象の分子構造と相互作用を持つもの)を含むように調製された静止チップを採用する。受容体の面積はごく小さくすることが可能なので、複数の分析対象を試験するチップを生産することが可能である。理想的には、完全アッセイを実現するために、数千もの結合受容体が提供される。この受容体が生物サンプルに暴露されると、ほんの僅かなものだけが特定のタンパクまたは病原体に結合する場合がある。理想的には、このような受容体部位ができるだけ短時間に特定される。

10

【0003】

複数の分子構造をスクリーニングするための、そのような一つの技法が、単純に抗体マイクロアレイを含む所謂免疫学的コンパクトディスクである。[例えば、下記の論文の記述を参照されたい。Ekins, R., F. Chu, and E. Biggart, 「二重蛍光標識抗体による、微小スポット複数分析対象比率計測免疫アッセイ法の開発(“Development of microspot multi-analyte ratiometric immunoassay using dual fluorescent-labeled antibodies”）」、Anal. Chim. Acta, 1989, Vol. 227, p.73-96; Ekins, R. and F.W. Chu, 「複数分析対象微小スポット免疫アッセイ - 未来の微小分析用「コンパクトディスク」(“Multianalyte microspot immunoassay - Microanalytical “compact Disk” of the future”）」、Clin. Chem., 1991, Vol. 37(11), p.1955-1967; Ekins, R., 「リガンドアッセイ: 電気泳動から小型化マイクロアレイまで(“Ligand assays: from electrophoresis to miniaturized microarrays”）」、Clin. Chem., 1998, Vol. 44(9), p. 2015-2030]。マイクロアレイにおいて試験対象の分子構造の存在を感受するのに通例の蛍光検出が用いられている。免疫学的アッセイに対処する他の方法では、導波管と格子結合器を含む、従来型のマッハツェンダー干渉計が用いられる。[例えば、下記の論文の記述を参照されたい。Gao, H., et al., 「平坦な光学的導波管における光不働化免疫反応物質による免疫感受法(“Immunosensing with photo-immobilized immunoreagents on planar optical wave guides”）」、Biosensors and Bioelectronics, 1995, Vol. 10, p.317-328; Maisenholder, B., et al., 「集積的光学感受応用のためのGaAs / AlGaAsによる屈折計プラットフォーム(“A GaAs/AlGaAs-based refractometer platform for integrated optical sensing applications”）」、Sensors and Actuators B, 1997, Vol. 38-39, p.324-329; Kunz, R. E., 「化学的および生化学的感受のための小型集積光学モジュール(“Miniature integrated optical modules for chemical and biochemical sensing”）」、Sensors and Actuators B, 1997, Vol. 38-39, p.13-28; Duebendorfer, J. and R.E. Kunz, 「小型集積光学センサー用の参照パッド(“Reference pads for miniature integrated optical sensors”）」、Sensors and Actuators B, 1997, Vol. 38-39, p.116-121; Brecht, A. and G. Gauglitz, 「化学的または生化学的応用に用いられる光学トランスジューサーにおける最近の進歩(“recent developments in optical transducers for chemical or biochemical applications”）」、Sensors and Actuators B, 1997, Vol. 38-39, p.1-7]。干渉計による光学バイオセンサーには、干渉計感受性という内在的利点を持つが、多くの場合、要素当たり大きな表面積、相互作用に必要な長い距離、または、複雑な共鳴構造、という特徴を持つ。干渉計による光学バイオセンサーはまた、熱および機械的作用による位相ドリフトに過敏となる場合がある。

20

30

40

【0004】

前述の技術は、化学的、生物学的、医学的、および診断学的実施運用業界においてアッ

50

セイ情報を造り出し、読み取るためには有用であることが判明しているとはいうものの、既存の平面アレイ技術に対し、性能が著明に改善された平面アレイの改良型製造および読み取り技術を開発することは望ましい。

【発明の開示】

【0005】

本発明の一つの局面では、生物サンプルにおける標的分析対象の有無を検出する、標識無添加の直交位相差干渉法がある。本方法は、基板の反射面を生物サンプルに暴露することを含む。反射面は、受容体分子のコーティングから成る空間パターンを有する。各コーティングは、ある特定の標的分析対象に対して特異的である。本方法はさらに、反射信号の遠視野回折パターンの強度を測定するために分割光検出器を使用することを含む。反射信号は、受容体分子コーティングの空間パターンに対しウェスト w_0 をもって入射する、波長 λ を持つ、結像探査レーザービームから得られる。反射信号はまた、基板の少なくとも一部を走査することからも得られる。本方法はさらに、二つの観察角度の内の少なくとも一つについて、その強度を分割光検出器によって測定することによって、実質的に直交条件において、反射信号の少なくとも一部の強度を測定することを含む。この二つの観察角度は、一对の直交角度と実質的に等しい。直交角度 q は、基板に対して直角な光線において下式、すなわち、

$$q = \sin^{-1}(\lambda/2w_0)$$

によって定義される。

【0006】

本発明の一局面における一つの改変では、反射ビームの遠視野回折パターンの強度測定は、フーリエ面で実行される。

【0007】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本方法はさらに、一对の直交角度の一方において分割光検出器の出力を反転すること、および、該反転出力を、一对の直交角度の他方における分割光検出器の出力と加算すること、を含む。

【0008】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本方法はさらに、反射信号を、分割光検出器を用いて強度を測定する前に、対物レンズを通過させることを含む。

【0009】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、基板はディスクであり、基板の走査は、該ディスクを回転することによって実行される。

【0010】

本発明のもう一つの局面では、サンプルにおける標的分析対象の有無を決めるための、直交干渉法がある。本方法は、基板の少なくとも一部を探索するための、波長 λ およびウェスト w_0 を有するレーザービームを用いることを含む。基板の一部は、サンプルに暴露される反射面を持つ。反射面は、標的分析対象に対して特異的な認識分子の層を持つ第1領域、および、標的分析対象に対して特異的な認識分子の層を持たない第2領域を含む。本方法はさらに、第1領域および第2領域を探索しながら、探索ビームの反射回折信号の一对の直交角度 q の内、実質的に第1直交分のみについて、その時間依存性強度を光検出器において測定することを含む。

【0011】

本発明の一局面における一つの改変では、時間依存性は、基板に対する、入射レーザービームの相対的動きによって生じる。

【0012】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、基板はディスクであり、入射レーザービームに対するディスクの相対的動きは、ディスクを回転させることによって生成される。

【0013】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、レーザービームの反射回折信号は、分割光検出器形態によって測定される。本方法はさらに、一对の直交角度の一方に対応する反

10

20

30

40

50

射信号の第1出力部分を反転することを含む。反転された第1出力は、一对の直角角度の他方に対応する反射信号の第2出力に加算される。

【0014】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、基板はディスクであり、反射信号は、強度測定の前に、対物レンズを通過させられる。

【0015】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本方法はさらに、探査ビームの反射回折信号を、強度測定の前に、 $\lambda/2$ 位相マスクを通過させることを含む。

【0016】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、反射表面は実質的に平坦である。直角角度は、基板に対して直角な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}(\lambda/2w_0)$$

によって定義される。

【0017】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、基板はディスクであり、ディスクの反射面は、複数の平地と複数の台地を含む。台地は高さ h を持つ。直角角度は、基板に対して直角な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}[\lambda/2 - 4h)/w_0]$$

によって定義される。

【0018】

本発明の別の局面では、サンプルにおける標的分析対象の有無を決めるための、直角位相差干渉計による段差検出法がある。本方法は、認識分子の空間パターンを有するディスクに対して入射する探査レーザービームから得られた反射光信号の、遠視野回折パターンの時間依存性強度を、分割光検出器形態を用いて測定することを含む。本方法はさらに、得られた光信号の、第1直交分と、対向する第2直交分からの寄与を加算することを含む。該寄与の加算には、第1直交分の寄与の反転が先行する。

【0019】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、強度は、ディスクの反射面から反射された光信号について測定される。

【0020】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、分割光検出器形態は、分割リング光検出器である。

【0021】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、分割光検出器形態は、四分円光検出器である。

【0022】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、分割光検出器形態は、第1および第2光検出器を含む。ディスクに入射する探査ビームは、波長 λ およびウェスト w_0 を有する。第1および第2光検出器は、実質的に一对の直角角度 θ_q において強度を測定する。直角角度は、基板に対して直角な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}(\lambda/2w_0)$$

によって定義される。

【0023】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、時間依存性強度は、ディスクを回転させることによって測定される。

【0024】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、ディスクは、約80Hzで回転する。

【0025】

本発明の別の局面では、サンプルにおける標的分析対象の有無を決めるための、直角位相差干渉による段差検出法がある。本方法は、実質的に第1直交分のみから成る反射光信

10

20

30

40

50

号の第1部分の時間依存性差分を、実質的に第1直角干渉角において測定することを含む。反射光信号は、平面アレイにおける特異的抗体および非特異的抗体の交互反復領域を横切ってレーザービームをトレースするから得られる。

【0026】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本方法はさらに、平面アレイの交互反復領域を横切ってレーザービームをトレースすることから得られる、実質的に第2直交分のみから成る反射光信号の第2部分の時間依存性差分を、実質的に第2直交干渉角において測定することを含む。

【0027】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本方法はさらに、反射光信号の第1部分の第1出力を反転することを含む。本方法はさらに、該反転第1出力に対し、反射光信号の第2部分の第2出力を加算することを含む。

10

【0028】

本発明の別の局面では、サンプルにおける標的分析対象の有無を決めるための、スケールに依存しない、標識無添加の直角位相差干渉による段差検出法がある。本方法は、ディスクを走査するために、入射ウェスト w_0 および波長 λ を有する結像レーザービームを用いることを含む。ディスクは、標的分析対象に対して特異的な受容体分子を含む、空間的にパターン化された層を持つ。層は、実質的に急峻な層末端を持つ。本方法はさらに、分割光検出器形態を用いて実質的に急峻な層末端を走査することによって、遠視野回折パターンにおける強度変化を検出することを含む。分割光検出器形態は、ディスクに対して垂直な光線によって定義される、一对の直角干渉角度の内の、実質的に少なくとも一方において遠視野回折パターンの出力を与える。

20

【0029】

本発明の別の局面では、サンプルにおける標的分析対象の有無を決めるための、直角位相差干渉法がある。本方法は、反射光信号の実質的に第1直交分のみを受容するための光学要素列に軸揃えされた、第1光検出器の出力を測定することを含む。実質的な第1直交分のみは、反射光信号を実質的に第1直交角において観察することから得られる。反射光信号は、平面アレイに入射する、波長 λ およびウェスト w_0 を有する探査レーザービームから得られる。平面アレイは、標的分析対象に対して特異的な1層の受容体分子によって定義される少なくとも一つの台地を持つ。直交角度 q は、平面アレイに対して垂直な光線から下式、すなわち、

30

$$q = \sin^{-1}(\lambda / 2w_0)$$

によって定義される。

【0030】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本方法はさらに、反射光信号を実質的に第2直交角において観察することから得られる、第2対向直交分のみを実質的に受容するための光学要素列に軸揃えされた、第2光検出器の出力を測定することを含む。

【0031】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、第1および第2光検出器は、反射光信号の遠視野回折パターンをフーリエ面において測定する。

40

【0032】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本方法はさらに、第1光検出器の出力を反転し、第1光検出器の反転出力を第2光検出器の出力に加算することを含む。

【0033】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、光学要素列は対物レンズを含む。

【0034】

本発明のさらに別の局面では、生物サンプル中の標的分析対象の有無を干渉検出するためのキットがある。本キットは、波長 λ およびウェスト w_0 を有する結像レーザービームの光源を含む。光源は、レーザービームを基板に対して入射させるように直接または間接に軸揃えされる。基板は、空間的にパターン化されたバイオ層を有する反射面を持つ。バイ

50

オ層は、受容体分子の、複数のコーティングを含む。各コーティングは、特定の標的分析対象に結合するように構成される。本キットはさらに、遠視野回折パターンの強度を測定するための分割光検出器を含む。分割光検出器は、一对の直角角度の内の少なくとも一方に実質的に等しい観察角度においてのみ強度を検出するように配置される。直角角度は、基板に対して垂直な光線から下式、すなわち、

$$\theta_q = \sin^{-1}(\lambda / 2w_0)$$

によって定義される。

【0035】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、分割光検出器は、直角角度を除いては、遠視野回折パターンの部分をブロックするための開口を含む。

10

【0036】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、反射面は、レーザーミラーとして働く、 $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ から成る、10層の誘電積層体を含む。

【0037】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、分割光検出器は、四分円光検出器であり、反射面は、四分の一誘電積層体を含む。

【0038】

本発明のさらに別の局面では、平面アレイにおける標的分析対象の有無を検出する、位相差直交干渉検出のための装置がある。本装置は、探査ビームを発生するためのレーザー光源を含む。本装置はまた、平面アレイを受容するためのプラットフォームを含む。本装置はさらに、プラットフォームに対し探査ビームを実質的に垂直に向けるための第1光学要素列を含む。本装置はまた、第1側面と第2側面、および焦点距離を有する対物レンズを含む。対物レンズは、レンズの第1面において、プラットフォームから、焦点距離にほぼ等しい第1距離だけ隔てられる。本装置はさらに、探査ビームの反射によって得られる第1直交分および第2直交分を測定するための分割光検出器手段を含む。

20

【0039】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、平面アレイはディスクである。本装置はさらに、プラットフォームに付着される、ディスクを回転するための回転器を含む。

【0040】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、測定用の分割光検出手段は、信号における第1直交分用として第1出力を、信号における第2直交分用として第2出力を生成するように配置される、直交光検出器である。

30

【0041】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本装置はさらに、第1出力および第2出力の内の一方に付着される反転回路、および、反転回路と、第1出力と第2出力の内の他方とに付着される加算回路、を含む。

【0042】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、測定用の分割光検出手段は、信号における第1直交分用として第1出力を生成するように配置される第1光検出器、および、信号における第2直交分用として第2出力を生成するように配置される第2直交光検出器、である。

40

【0043】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、測定用の分割光検出手段は、信号における第1直交分用として第1出力、および信号における第2直交分用として第2出力を生成するように配置される、分割リング光検出器である。

【0044】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、測定手段は、対物レンズの第2側面から、焦点距離にほぼ等しい第2距離だけ隔てられる。

【0045】

本発明のさらに別の局面では、サンプルにおける標的分析対象の有無を直交位相差検出

50

するためのシステムがあり、該サンプルは、空間的にパターン化された認識分子の複数のコーティングを含む反射面を有するディスクに暴露され、該認識分子の少なくとも一つは、標的分析対象に対して特異的である。本装置は、ディスクを受容するためのプラットフォーム、およびディスクを回転するための回転器を含む。本装置はまた、波長の結像レーザービームのための光源を含む。光源は、レーザーが、ディスクに対し、ウェスト w_0 をもって入射させるように直接または間接に軸揃えされる。本装置はさらに、空間的にパターン化された認識分子の複数のコーティングを横切って、レーザービームをトレースするための手段を含む。本装置はまた、実質的に、一对の遠視野回折パターンの直交干涉角度 q において強度を測定するための分割光検出器を含む。遠視野回折パターンは、レーザービームを平面アレイの上を横切ってトレースすることによって得られる。直交干涉角度 q は下式、すなわち、

$$q = \sin^{-1}(\lambda/2w_0)$$

によって定義される。

【0046】

本発明の一局面における一つの改変では、本システムはさらに、プラットフォーム上のディスクと、強度を測定するための分割光検出手段との間に配置される対物レンズを含む。

【0047】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、強度を測定するための分割光検出手段は、一对の直交干涉角度 q の内的一方における強度に対応する第1出力、および、一对の直交干涉角度 q の他方における強度に対応する第2出力を有する。

【0048】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、本システムはさらに、第1出力および第2出力の内的一方に付着される反転回路、および、反転回路と、第1出力および第2出力の内の方々に付着される加算回路、を含む。

【0049】

本発明の一局面におけるもう一つの改変では、測定用分割光検出手段は、四分円光検出器である。

【0050】

〔関連出願〕

本出願は、2005年2月1日出願、名称「回転ディスク干涉計測および免疫学的アッセイのための直角位相差(“Phase-Contrast Quadrature For Spinning Disk Interferometry And Immunological Assay”)」なる米国特許仮出願第60/649,070号に対する優先権を主張する。本出願はまた、2005年12月30日出願、名称「位相差バイオCD:サブピコグラム検出レベルで行われる高速免疫アッセイ(“Phase-Contrast BioCD: High-Speed Immunoassays at Sub-Picogram Detection Levels”)」なる米国特許仮出願第60/755,177号に対する優先権も主張する。

【0051】

本出願は、2003年12月3日出願の米国特許出願第10/726,772号の外に、米国特許第6,685,885号となった、その親出願にも関連する。本出願はまた、名称「レーザー走査干涉計アッセイ(“Laser Scanning Interferometric Assays”)」なる米国特許仮出願第60/649,071号、[および、本出願と同じ日に出願され、本仮出願に対する優先権を主張する、名称「レーザー走査干涉計による表面計測(“Laser Scanning Interferometric Surface Metrology”)」なる米国特許出願第??/???,???]、名称「多重化レーザー走査干涉計測バイオチップおよびバイオディスク(“Multiplexed Laser-Scanning Interferometric Biochips and Biodisks”)」なる米国特許仮出願第60/649,043号、[および、本出願と同じ日に出願され、本仮出願に対する優先権を主張する、名称「多重化生物学分析器平面アレイ装置および方法(“Multiplexed Biological Analyzer Planar Array Apparatus and Methods”)」なる米国特許出願第??/???,???]、および、名称「分子認識のために搬送波側波帯光学アッセイを実行するための方法(“Method for Conducting Carrier-Wave Side-Band Opti

10

20

30

40

50

cal Assays for Molecular Recognition”）」なる米国特許仮出願第60/648,724号、[および、本出願と同じ日に出願され、本仮出願に対する優先権を主張する、名称「差動符号化生物学分析器平面アレイ装置および方法(“Differentially Encoded Biological Analyzer Planar Array Apparatus and Methods”)]なる米国特許出願第??/???,???)にも関連する。なお、上記3通の米国特許仮出願は全て2005年2月1日に出願された。

【発明を実施するための最良の形態】

【0052】

背景技術セクションに記載したものとは別の新たな対処法が、現在開発中であり、または既に開発されたものもある。ある別の対処法は、生物学的CD走査用のCDプレイヤーを含む、生物学的、光学的コンパクトディスク(「バイオ光学CD」または「バイオCD」)を利用する。このシステムは、生物サンプルにおける特定分析対象の存在を感受するのに、干渉計検出技術の利用を可能とする。後述するように、このようなバイオCDデバイスは、実質的に直交条件で動作する干渉計検出システムと共に使用されるのが好ましい。

10

【0053】

プロテオミクス [E.F. Petricoin, K.C. Zoon, E.C. Kohn, J.C. Barrett, and L. A. Lotta, 「臨床プロテオミクス：実験室の約束をベッドサイドの現実に移し変える(“Clinical proteomics: Translating benchside promise into bedside reality”)]、Nature Reviews Drug Discovery, vol. 1, pp.683-695, 2002を参照]、およびタンパク同士の相互作用ネットワークの増大する複雑性[P. Bork, L.J. Jensen, C. von Mering, A.K. Ramanani, I. Lee, and E.M. Marmotte, 「タンパク相互作用ネットワーク、酵母からヒトまで(“Protein interaction network from yeast to human”)]、Current Opinion In Structural Biology, vol. 14, pp. 292-299, 2004; S.-H. Yook, Z.N. Oltvai, and A.-L. Barabasi, 「タンパク相互作用ネットワークの機能的および位相幾何学的解明(“Functional and topological characterization of protein interaction networks”)]、Proteomics, vol. 4, pp. 828-942, 2004を参照]は、多数の分析対象分子の認識について高速な試験を可能とするバイオチップに対する需要を生み出している。重要な例は、発現試験用タンパクマイクロアレイである[P.F. Predki, 「機能的タンパクマイクロアレイ：発見の機熟す(“Functional protein microarrays: ripe for discovery”)]、Current Opinion In Chemical Biology, vol. 8, pp.8-13, 2004; B. Schweitzer, P. Predki, and M. Snyder, 「全プロテオームスケールでタンパク相互作用の特徴を解明するマイクロアレイ(“Microarrays to characterize protein interactions on a whole-proteome scale”)]、Proteomics, vol. 3, pp.2190-2199, 2003を参照]、および、診断医学用の抗体チップである[S.R. Lal, R.I. Christopherson, and C.G. dos Remedios, 「抗体アレイ：発生したばかりであるが急激に成長する技術(“Antibody arrays: an embryonic but rapidly growing technology”)]、Drug Discovery Today, vol. 7, pp. S143-S149, 2002; Y .P. Ding, L.Y. Chen, W. Zhang, H.J. Cao, S.M. Ni, M.F. Zhou, H. Liang, Z.C. Ling, Y.Y. Geng, and S.Q. Wang, 「マイクロアレイによる血清中の複数抗体の同時検出に関する研究(“Studies on simultaneously detecting multiple antibodies in the serum using microarray”)]、Progress in Biochemistry and Biophysics, vol. 29, pp. 640-644, 2002; W. Kusnezow and J.D. Hoheisel, 「抗体マイクロアレイ：有望点と問題点(“Antibody Microarrays: Promises and Problems”)]、Biotechniques, vol. 33, pp. S14-S23, 2002を参照]。干渉計測法は、通例の蛍光検出よりも高いフォトンフラックスを生ずるという利点を持つので、より短い検出時間および/または高い信号対雑音比を可能とする。

20

30

40

【0054】

本発明人達の1名以上が、高速で動作し、かつ、自己参照的である高感度回転ディスク干渉計として生物学的コンパクトディスクを導入した[M.M. Varma, H.D. Inerowicz, F.E. Regnier, and D.D. Nolte, 「回転ディスク微小干渉計側による高速無標識検出(“High-speed label free detection by spinning-disk micro-interferometry”)]、Biosensors & Bioelectronics, vol. 19, pp. 1371-1376, 2004を参照]。機械的に回転するディ

50

スクにおいて安定な干渉計測を実施するには自己参照法が好ましい。光路長に対して高感度とするために、信号ビームと参照ビームの間の相対的位相を実質的に直角 ($\pi/2$ 位相差) に、できれば機械的振動または動きに無関係に、ロックする。本発明人達の1名以上が、以前に、バイオCDについて2クラスの直交干渉計検出を定義した。微小回折クラス (「MD-クラス」 [M.M. Varma, D.D. Nolte, H.D. Inerowicz, and F.E. Regnier, 「抗原抗体認識に関する、回転ディスク自己参照干渉計測 (“Spinning-disk self-referencing interferometry of antigen-antibody recognition”)」、Optics Letters, vol. 29, pp. 950-952, 2004を参照、また、Nolte等に交付された米国特許第6,685,885号も参照]、および、適応的光学クラス (「AO-クラス」) [2003年12月3日出願、名称「適応的干渉計測による複数分析対象高速バイオセンサー (“Adaptive Interferometric Multi-Analyte High-Speed Biosensor”)」なる米国特許出願第10/726,772号を参照、なお、この特許文書の全体を引用することにより本明細書に含める]である。

10

【0055】

MD-クラスバイオCDは、ディスクの上に製造される微小構造を用いて直角位相にロックされる。この微小構造は、結像レーザービームを、固定された相対的位相を添えて遠視野に回折する。一つの実施態様では、 $\pi/8$ の高さを持つ、好ましくは1枚のディスクに対し1024個の金スポークが、反射面に蒸着され、かつ、バイオ分子は、金スポークか、平地のいずれかに不動化される。位相差は、局所の微小構造の高低差によって設定されるので、それは、機械的動きまたは振動に影響されない。不動化バイオ分子は、遠視野の振幅変調に変換されると、相対的位相を変える。

20

【0056】

AOクラスは、自己適応的非直線性光学ミキシングによって、好ましくは光屈折性量子ウェルにおいて直角位相に固定される [D.D. Nolte, 「半絶縁性半導体ヘテロ構造：光電子特性および用途 (“Semi-insulating semiconductor heterostructures: Optoelectronic properties and applications”)」、J. Appl. Phys., vol. 85, pp.6259, 1999; D.D. Nolte and M.R. Melloch, 「光屈折性量子ウェルおよび薄層 (“Photorefractive Quantum Wells and Thin Films,”)、Photorefractive Effects and Materials、D.D. Nolte, Ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995参照」。直角位相は、信号と参照の間の位相を適応的に追跡する [D.D. Nolte, T. Cubel, L.J. Pyrak-Nolte, and M.R. Melloch, 「光屈折性量子ウェルによる適応的ビーム結合および干渉計測 (“Adaptive Beam Combining and Interferometry using Photorefractive Quantum Wells”)」、J. Opt. Soc. Am. B, vol. 18, pp.192-205, 2001を参照]。一つの実施態様では、パターン化タンパク構造は、光屈折性量子ウェル (PRQW) デバイスに送られ、2波ミキシングによって参照局所発振ビームと混合される探査ビームの光学位相を変調する。この2波ミキシングは、kHzよりも高い補償率で直交条件を維持するために機械的攪乱を自己補償する。回転ディスクに対してタンパク構造によってもたらされる位相変調は、補償率よりも高い周波数を持ち、光検出器によって読み取られる。

30

【0057】

これらのバイオCD直交クラスは、近視野および遠視野間の複雑性に関してバランスを図る。MDクラスのバイオCDは、ディスクの上により複雑な微小構造を要求するよう見えるが、一方、AOクラスのディスクは、非直線性光学ミキシングのためにホログラフィーフィルムを要求する。本発明は、位相差画像法と近似する新規直交クラスを導入する。このため、本発明の各種実施態様は、本明細書では、しばしば「位相差クラス (「PCクラス」)」と呼ばれる。

40

【0058】

PCクラスの各種実施態様を説明する前に、本発明の干渉計検出システム (単数又は複数) において意図される直交の意味をさらに説明する。ある特異的応用では、直交とは、共通の光学的「モード」が、位相において約 $N\pi/2$ (N は奇数) 異なる、少なくとも二つの「散乱」モードに分割される場合に干渉計システムに起こると限定的に考えることが可能である。しかしながら、本発明 (および、以前に言及した発行済み特許および/または、

50

Nolte等の係属中出願)で用いる場合、干渉計システムは、少なくとも一つのモードが標的分子と「相互作用」を持ち、他のモードの内の少なくとも一つが相互作用を持たず、これらのモードが、位相において、約 $N^* / 2$ (N は奇数)異なる時、直角位相にあるとする。この直角位相の定義は、「他のモード(単数又は複数)」が別の分子と相互作用を持つ、干渉計システムにも適用が可能である。この干渉計システムは、位相差が $\pi/2$ (または、 $N^* / 2$ で、 N は奇数)、プラス・マイナス約20%である場合、実質的に直交条件にあると見なされる。

【0059】

さらに、PC-クラスの各種実施態様を記述する前に、本発明の直交干渉計検出における「末端」または「末端検出」の意図される意味をさらに説明する。下記の一つ以上の実施態様の説明の様々な部分が、光を回折する末端に言及するであろう。当業者であれば、本明細書に開示される全ての実施態様において、光を回折する段差、または末端についての記述は、実際には、光回折が、全光学的波面に渡って積分されるという事実を指すことが理解されるであろう。厳密に言うと、光を回折するのは単に末端だけではない。遠視野に回折され、検出されるのは、ビーム全体について積分される不連続性、つまり段差である。異なる高さを持つ段差の不連続性は、波の左と右に異なる条件を課す。回折として検出されるのは、この積分された差異であり、単に段差または末端ではない。さらに、本出願に関して言えば、「末端」または「末端検出」という用語は、一般に、本出願に開示される差動検出技術を網羅することが意図される。すなわち、表面高の傾斜、つまり導関数を検出する直交干渉計検出である。信号は、 $dh(x)/dx$ に比例する。この用語の比較的一般的な用法は、不連続段差の特殊な場合にのみ、何か「末端検出」過程となることを示すと思われるが、本明細書で用いる用語は、このパラグラフに記述されたように、段差を横切る「傾斜検出」も含むように、より広く定義されることが意図される。

【0060】

本発明は一般に、回転ディスク免疫アッセイ(バイオCD)の、改良された製造および読み取りに関する。一つの実施態様では、ディスクのために、直交位相差干渉計測条件が実現されることが好ましい。システムは、最大100%の光検出効率を持つのが好ましい。システムはまた、レーザー強度ドリフトの自動補償を有することが好ましい。

【0061】

本発明の各種実施態様は一般に、信号波と参照波の間の直交条件を用いて、材料における空間的光学位相変動を、時間依存性強度に変換するための方法に関する。その際、直交条件は、指標変動からの回折によって定められる。光学位相変動は、基板材料に対する、内因性の屈折率変動であってもよく、または、基板に加えられた材料、例えば、不動化タンパクまたは核酸から生じるものであってもよい。位相変動を検出するために、位相マスクか、振幅マスクか、または位相および振幅の両マスクから構成される、フーリエフィルタリングが用いられる。マスクは、フーリエ平面または斜面の中心に置かれる。この信号は、全体または一部が、検出口を持つ光検出器によって、または、対向直交分からの寄与を合計する分割検出器構成によって検出される。時間依存性は、材料に対する探査レーザースポットの、またはその逆の、相対的動きによって生ずる。

【0062】

後述するように、本発明の一つ以上の実施態様は、1個以上のレンズを用いる光学的要素列を含む。レンズを用いる光学システムにはどんなものでも、特別面が定義される。そのようなものとして、対物面(対象物が安置される面)、レンズ面(レンズが安置される面)、および、結像面(結像が安置する面)、および検出面(光が検出される面)が挙げられる。複数のレンズがある場合、複数の結像面が生じることがある。対物面が、レンズ面から1焦点距離離れる特殊な光学システムでは、フーリエ面は、レンズから、対物面と反対側に1焦点距離の場所に定義される。開口およびマスクは、フーリエ面、または結像面、またはレンズ面(レンズの直前または直後)、または検出面に置かれてもよい。これらの開口およびマスクは、透過光の量(振幅マスク)、または光の位相(位相マスク)を調節することが可能である。異なる面におけるマスクの目的は、検出器において最強の構

10

20

30

40

50

成的干渉、従って、信号を創出することである。単一の検出器、または検出器アレイによって検出される強度を調節するための、可能なマスクパターンおよび位置の選択については、多様に変動する一組のパラメータが、本発明の範囲内にあるものとして考えられる。このようにして、マスクと場所を適切に選択することによって信号は最適化され、最大化される。

【0063】

二つの直角角度において反射光信号の、少なくとも一つの、恐らくは両方の（対向）直角条件の反射光信号（遠視野回折パターンを含むが、それに限定されない）の強度を測定するためには、多種多様な分割検出器構成およびその他の手段が可能であることが理解されなければならない。測定のための、このような分割検出器構成または手段は、本発明の範囲内にあるものと見なされる。一つの実施態様では、分割検出器構成は、分割リング光検出器であってもよい。下記にさらに詳述するように、一つの実施態様では、分割光検出器が、反転および加算回路と組み合わせて用いられる。別態様として、それぞれが、対向直交分の信号を受容するように配置された、二つの、別々の光検出器が用いられる。本明細書に記載される上記およびその他の改変種では、強度を測定するための手段は、開口、各種位相および/または振幅マスク、および当業者には既知のその他の成分を含む、それよりも大きな光学要素列の一部であってもよいことが理解されなければならない。もう一つの可能な改変は、単一の光検出器を用いる。その際、信号は、光検出器の少なくとも一部を遮蔽する、開口および/またはナイフエッジに遭遇し、そのため、光検出器は、実質的に単一直交分しか含まない信号を受容する。分割検出器構成はまた、直交光検出器であつてもよい。当業者には既知の他の改変種も本発明の範囲内にあるものと見なされる。例えば、分割検出器または直交検出器は、多数の検出器要素を有する、極めて大きく成長することが可能な検出器アレイの、具体例に過ぎないことに注意しなければならない。

10

20

【0064】

本発明の少なくともいくつかの実施態様では、光学システムにおける位相マスクの役割は、差動電子出力を持つ分割光検出器によって置換される。このような実施態様の導入は、近視野および遠視野の両方において少なくとも部分的に有利と考えられる。近視野では（MDクラスに比べて）、ディスクの微細構造化が要求されないことが好ましい。遠視野では（AOクラスに比べて）、より複雑ではない検出が使用されることが好ましい。対処法はやはり、自己参照的（機械的運動に対して少なくともある程度の安定性を与える）であることが好ましい。さらに、本発明の各種実施態様は、段差回折によって、例えば、ディスクにおける不動化タンパクパターンを空間的に変動させることによって、直角位相にロックされる。

30

【0065】

以下図1-4を参照しながら、段差回折直角位相に関連する、本発明の一つ以上の実施態様の局面のいくつかを説明する。図1は、段差回折および直角角度を利用する、本発明の少なくともいくつかの実施態様の一局面を示す。

【0066】

図1を参照すると、本発明の一つの実施態様において、基板200は複数の平地215および台地225を含み、平地215と台地225との境界部には末端205を有することが好ましい。光線210は平地215に入射し、光線220は台地225に入射する。台地225は、底面226と頂上面228の間の厚みの外に、1層の受容体分子250の付け加えられた厚みを含む、台地225によって定義される高さ h （図1の参照番号230）を持つ。高さの微分 h は、標的分子260の付け加えられた厚みによって引き起こされたものである（標的分析対象/分子は、タンパクを含むが、ただしそれに限定されない）。他の実施態様、例えば、受容体分子250が、反射基板200の平地215、または、反射基板200の台地225に直接結合されるのではなく、ある中間層に結合される実施態様は、本発明の範囲内にあると見なされることを理解しなければならない。

40

【0067】

図1に示すように、末端205は光を回折し、段差の一侧に入射する光線210と、段差の他

50

側に入射する光線220の間に直交条件を確立する。例えば、高さ230（下記の方程式では高さ h と呼ばれる）において不動化されるタンパクまたは他の標的分析対象において、直交角度 q は、波長 λ およびビーム幅 w_0 を持つ入射レーザービームに対し、下式：

$$0.5 * w_0 * \sin q + 2h = \lambda / 4$$

によって与えられる。従って、下式の通りである。

$$q = \arcsin[(\lambda / 2 - 4h) / w_0]$$

【0068】

直交角度 q において、台地からの反射光222と、平地からの反射光212は、 $\lambda / 2$ の、すなわち直角位相の相対的位相差を持つ。遠視野では、直交角度 q における強度は2分の1に等しい。直交角度 q における強度は、台地225上の標的分子260（タンパク、またはその他の生物分子を含むが、ただしこれらに限定されない）の存在に対し直線的感受性を持つ。当業者であれば、別の等価的記述としては、光学相における不連続変化によって、反射ビームが検出器において側方に転位させられる、または角度変位を受けるといふ言い方がされることが理解されよう。

10

【0069】

図2を参照すると、「台地」は、受容体層350そのものによって設定される高さ h （図2の参照番号330）を持つことが可能である（言い換えれば、高さ h は、バイオ層または受容体分子350の厚みと同じぐらい小さくなる）ことを理解すべきである。本発明のこの実施態様では、基板300は、複数の平地315および台地325を含み、平地315と台地325との境界部には末端305を有することが好ましい。光線310は平地315に入射し、光線320は台地325に入射する。台地325は、1層の受容体分子350の厚みによって定義される高さ h （図2の参照番号330）を持つ。高さの微分 dh は、受容体分子350に結合することが好ましい標的分子360の付け加えられた厚みによって引き起こされたものである（標的分析対象 / 分子の例としては、タンパクが挙げられるが、ただしこれに限定されない）。

20

【0070】

図2に示すように、末端305は光を回折し、末端の一侧に入射する光線310と、末端の他側に入射する光線320の間に直交条件を確立する。例えば、高さ330（下記の方程式では高さ h と呼ばれる）において不動化されるタンパクまたは他の標的分析対象において、直交角度 q は、波長 λ およびビーム幅 w_0 を持つ入射レーザービームに対し、下式：

$$0.5 * w_0 * \sin q = \lambda / 4$$

によって与えられる。従って、下式の通りである。

$$q = \arcsin[(\lambda / 2 * w_0)]$$

この場合も、図2に示すように、直交角度 q において生物分子に対し直線的感受性がある。

30

【0071】

もしもタンパクがスポークパターンとして、または四角形アレイ要素としてプリントされていて、プリントされたタンパクが、有限の幅を持つレーザースポットを通り抜けて走査した場合、直交条件が、レーザースポットのサイズにのみ依存し、タンパク受容体層の厚みとは実質的に無関係な、明瞭な角度において出現する。図3Aおよび3Bを参照すると、回折遠視野に直交角度を定める、段差（または傾斜）検出位相差検出の局面が描かれる。一般的に言うと、段差が有限なビームサイズで照らされると、タンパクおよび裸の基板（または、隣接タンパク）からの散乱波の一部が、部分波の間に $\lambda / 2$ 位相差があると、 q によって設定される直交角度において同相直交分となる。

40

【0072】

図3Aは、強度 I_0 、波長 λ 、および幅 w_0 を持つ有限ビーム440が、反射性基板400の上にプリントされたタンパク450（プリントされたタンパクのパターンであることが好ましい）の末端405を照らしているところを示す。基板400（回転ディスクであることが好ましい）の動きは矢印475によって示される。反射光線412および422は、ビームの各半分の中点からトレースされる。ある特定の角度、直交角度 q において、両光線は、相対的に $\lambda / 2$ 位相転位を持つ。直交角度 q は、下式の通りである。

50

$$\theta_q = \arcsin [\lambda / (2 * w_0)]$$

【 0 0 7 3 】

図 3 B を参照すると、反射光線が直交条件になる二つの角度が存在することが理解される。一つは $+\theta_q$ であり、一つは $-\theta_q$ である。図 3 B は、強度 I_0 、波長 λ 、および幅 w_0 を持つ有限ビーム 540 が、反射基板 500 の上にプリントされたタンパク 550 (好ましくは、プリントされたタンパクパターンの一部) の末端 505 を照らしているところを示す。図 3 B の基底部は、ビームウェストの幅 w_0 を横切る、強度の (ガウス) 低下を示す。基板 500 (好ましくは回転ディスク) の動きは、矢印 575 によって示される。反射光線 512 および 522 は、ビームの各半分の中点からトレースされ、 $+\theta_q$ 直交角度をトレースする。その際、該反射光線同士は、相対的 $\lambda/2$ 位相転移および直交干渉を持つ。反射光線 513 および 523 は、ビームの各半分の中点からトレースされ、 $-\theta_q$ 直交角度をトレースする。その際、該反射光線同士は、相対的 $-\lambda/2$ 位相転移および直交干渉を持つ。

10

【 0 0 7 4 】

ここで図 4 を参照するが、類似の要素は、以前に使用されたものと同じ参照番号によって標識されることを理解しなければならない。遠視野における強度変化が図 4 の上段にプロットされており、ビームの一方の半分では増加を、他方の半分では減少を示す。前述したように、タンパクの回折段差は、遠視野において二重の直交角度を持つ。一方は、強度において正の変化をもたらす、他方は負の変化をもたらす。検出時、一方または他方が検出されるのが好ましい。あるいは、両方を検出し、両方を加算する前に、一方の位相を反転する。従って、全視野を検出した場合、一方の直交信号を反転しなかったら、これら二つの直交分は互いに打ち消し合うことになる。しかしながら、遠視野の半分が、例えば、ナイフエッジによって収集されたならば、可能な信号の半分が抽出される。さらに、分割検出器形態が、反転器および加算回路と共に用いられるならば、図 5 A および 5 B に関連して後述されるように、完全信号が得られる。

20

【 0 0 7 5 】

図 5 A および 5 B を参照すると、プリントされたタンパクまたは他の標的分子の段差または傾斜検出のための光学的レイアウトの二つの実施態様が描かれる。類似の要素は、同じ参照番号によって標識されることを理解しなければならない。基板 600 は、回転軸 610 の周囲に回転する回転ディスクであることが好ましい。光学要素列の光学軸 650 は、例えば、何か特定の標的領域と軸揃えするために、基板 600 の回転軸 610 から放射方向内側または外側に移動可能とされる。この光学レイアウトでは、焦点距離 f を持つ対物レンズ 620 が利用されることが好ましく、該レンズは、基板 600 と光検出器 630 (図 5 A) または 730 (図 5 B) の間に挿入される。図示の実施態様では、対物レンズ 620 は、ディスク 600 から、該レンズの焦点距離に等しい距離 f だけ隔てられ、さらに、光検出器 630 (図 5 A) または 730 (図 5 B) から距離 f だけ隔てられる。図 5 A および 5 B の実施態様では、光検出器 630、730 は、それぞれ、635、735 によって示されるように分割される、分割光検出器であることが好ましい。分割光検出器形態については外にも様々な実施態様が、本発明の範囲内において考えることが可能であることを理解しなければならない。光検出器は、例えば、直交光検出器であってもよいし、あるいは、分割リング光検出器であってもよい。同様に、前述したように、本発明のいくつかの実施態様では、遠視野の半分だけが、ナイフエッジまたは他の類似の機構によって採取され、可能な信号の半分だけが抽出される (その半分は、実質的には 1 直交分のみである)。

30

40

【 0 0 7 6 】

図 5 A および 5 B に示されるように、光検出器 630、730 は、分割光検出器の二つの半分の間の差動信号を収集するために、中心をスプークの長軸と平行にフリー工面に置かれる。図示の実施態様では、分割光検出器 630、730 の一部 (実質的には一つの直交分に対応) からの信号は、光検出器の別の部分 (他の直交分に対応) と加算回路 660 を介して加算される前に、反転回路 640 に送られ、出力信号 680 を生成するのが好ましい。出力信号 680 は、遠視野強度の測定値であり、探査レーザービームが、基板 600 の上を走査する (例えば、基板 600 が回転する) に従って変動する。それとは別に、前述したように、できれば実

50

質的に1直交分に対応する、半分の信号だけを採取してもよい(ただし、比較的少量の両直交分の重複は、信号対雑音比に対して目立った悪影響をもたらすことなく認容することが可能である)。

【0077】

図6Aおよび6Bを参照すると、本発明の少なくともいくつかの実施態様の段差または傾斜検出の、スケールに依存しない性質が示される。末端は、内在的に長さスケールを持たない。従って、フォーリエ面では、末端開口も長さスケールを持たない。これは、ビームサイズ(変動する可能性がある)とフィルターサイズとを適合させる必要がないという利点を持つ。図6Aおよび6Bに示すように、レーザースポットのサイズ(810a、820a、830a)を減らすことは単に、フォーリエ面に置かれるのが好ましい分割光検出器形態850におけるスポットサイズを大きくする(810b、820b、830b)にすぎない。すなわち、レーザースポットのサイズを変えることは、分割検出器の形態における変化を必要としない。従って、システムは、スポーク幅がビーム直径よりも大きくある限り、スポットサイズまたはスポーク幅のスケールとは無関係である。

10

【0078】

図7Aおよび7Bを参照すると、本発明の一つ以上の実施態様に適用可能なさらに別の局面が描かれる。簡単に図7Aに示すように、搬送波無しの側方帯域検出を実行することが好ましい。レーザービーム1050は、特異的抗体1000および非特異的抗体1010の交互出現スポークの上を、矢印1075の示す方向にそってトレースする。スポーク1000、1010の末端におけるピーク高は、特異的結合および非特異的結合の間の差に単純に関連する。従って、基質に対する非特異的結合に関する「別の」測定値はない。図7Bを参照すると、非特異的結合の直接差分および時間トレースが描かれる。信号高は、特異的および非特異的結合の間の差のみに依存する。搬送周波数はなく、検出される強度変化は全て包絡線において得られる。詳細については、2005年2月1日出願、名称「分子認識のために搬送波側波帯光学アッセイを実行するための方法(“Method for Conducting Carrier-Wave Side-Band Optical Assays for Molecular Recognition”)」なる米国特許仮出願第60/648,724号を参照されたい。さらにまた、本出願と同じ日に出願され、本仮出願に対する優先権を主張する、名称「差動符号化生物学分析器平面アレイ装置および方法(“Differentially Encoded Biological Analyzer Planar Array Apparatus and Methods”)」なる米国特許出願第??/???,??を参照されたい。

20

30

【0079】

図8を参照すると、校正用ディスクにおけるスポークパターンのナイフエッジ検出に関する実験的表示から得られたデータが示される。本発明による一つの実施例では、ガラスディスクにおいて12nmの深さに腐刻された校正ディスクを用いて実験性能を表示した。全視野は、図8の最上段曲線において検出され、最適信号条件は、下から2番目の曲線の1/2パワーにおいて得られた。雑音基底が、ゼロ桁および、ガラスの示数変動から来る散乱光の間のヘテロダイン混合から生じる、この透過実験では、ゼロ桁ビームの抑圧は、雑音基底をさらに下げる。

【0080】

図9を参照すると、単一スポーク検出が示される。特に、ビーム940に対して極めて薄いスポークまたはスポット900の検出が示される。ビーム幅よりも小さなサイズを持つスポークまたはスポットでも、遠視野において直交条件を確立することが可能であることを理解しなければならない。図9に示される実施態様では、幅 a w - 前式において w はビーム940(図示のようにガウス分布を持つレーザービームであることが好ましい)の幅である - を持つ単一の小さなスポークまたはドットも検出が可能である。小さい台地も、広いスポーク同様、同じ分割検出形態を用いて検出することが可能である。しかしながら、図10に示すように、1/2対物マスクを、口径調節検出器と組み合わせて用いた場合、やや高い性能が可能である。上に説明したように、種々の光学面におけるマスクを選択することによって、検出器における構造的干渉を最大化することが可能である。ディスクにおける傾斜および末端を変換し、検出器における強度変調をもたらすには、1/2マスクは極

40

50

めて有用である。特別な場合、マスクは、分割検出器を無しで済ますことが可能であり、そのため遠視野において全強度が検出される。この方法は、検出器を単純化するが、光学システムの中にマスクの挿入を必要とする。

【0081】

本発明の、および/または、本発明と共に使用される生物学的コンパクトディスク（バイオCD）は、例えば、回転ディスクの表面に固定された、パターン化生体分子を検出するための、高感度検出プラットフォームである。本発明の各種実施態様により、光路長変化が最低ナノメートル以下のスケールで、高い再現性を持つ高速検出（スポット当たり10マイクロ秒）を可能とする回転ディスク干渉計測が得られる。前述したように、機械的に回転するディスクの上で安定な干渉計測を実行する際の一つの重要な局面は、自己参照法である。すなわち、機械的振動または相対運動と無関係に、信号ビームと参照ビームの位相を直角位相（ $\pi/2$ 位相差）にロックすることである。

10

【0082】

干渉計検出の位相差クラス（PCクラス）は、当業者には既知の様々なやり方で実行することが可能であることを理解しなければならない。本発明の一つの実施態様では、タンパクは、写真蝕刻を用いてディスクの上に1024スポークパターンとして不動化される（スポークの数が、他の設計パラメータと共に大きく変動されることは本発明の範囲内と見なされる）。プリントされたタンパクの段差が、結像レーザービームを回折し、これが、好ましくは、フーリエ面において分割検出器形態、例えば、分割光検出器、2個の別々の光検出器、直角位相光検出器、および、より一般的には、光検出器アレイを含む、ただしこれらに限定されない検出器によって検出される。分割検出器形態からの信号は差別化されていてもよい。これは、光学的位相差画像記録の場合と同様、電子世界においても有効である。

20

【0083】

下記にさらに詳述するように、高速で標識無添加のバイオセンシングにおけるPCクラスの潜在能力は、非特異的結合および低い抗体間の交差反応性を適切に拒絶する2分析対象免疫アッセイによって証明される。免疫アッセイをIgG免疫グロブリンに対して行い、1ピコグラム以下の結合した分析対象を検出した。ディスク当たり数百または数千の分析対象にまで規模が拡大可能であるという潜在能力を示すために、タンパク液の小滴についても実験を行った。

30

【0084】

空間的にパターン化されたバイオ層を支える反射面は、結像レーザービームを回折して、図4に示すような非対称遠視野強度パターンとする。図4は、基板500にm入射する、ウェスト w_0 を持つ、結像ガウスビーム540を示す。前述したように、直交条件は、下記の式(1)、すなわち、

$$\theta_0 = \sin^{-1}(\lambda/2w_0) \quad (1)$$

によって与えられる角度で観察した場合、裸の表面に入射する光線と、バイオ層530を貫通する光線との間に存在する。

40

【0085】

遠視野における強度の最大変化は、急峻なバイオ層の末端によって引き起こされ、この直交角度において観察される。反対符号の回折角度において反対符号を持つ、二つの直交干渉角度がある。タンパク信号を得るためには、反転および加算回路を含む分割検出器を、フーリエ面において使用することが好ましい（その例を図5Aおよび5Bに示す。他の分割検出器形態、例えば、直交位相差光検出器も本発明の範囲内にあるものと見なされる）。急峻末端の場合、信号は、タンパク層によってもたらされる位相転位に直線比例し、従ってタンパクの高さに直線比例する。

【0086】

50

パターン化されたバイオ層によって遠視野に惹起される変化は、下記の式(2)、すなわち、

$$\Delta E(\theta) = \int_{-\infty}^{\infty} K(\theta)(P(x,t)-1)E_{inc}(x)e^{ikx\sin\theta} dx \quad (2)$$

によって与えられる。上式において、 $K(\theta)$ はフレネル係数であり、 θ は検出角度であり、 $E_{inc}(x)$ は入射ビームの照射野であり、

$$P(x,t) = e^{i\phi(x-vt)}$$

は、屈折率 n および、速度 v で動く変動タンパク高 $h(x)$ を持つバイオ層に対する相

$$\phi(x,t) = \frac{4\pi}{\lambda}(n-1)h(x-vt)$$

を持つタンパクの位相関数である。我々の実験では、 $h(x)$ は、高さ8nmおよび屈折率1.33の、ほぼ矩形波である。式2の二乗係数から、別チャンネルにおいて分割光検出器によって検出される遠視野強度が得られる。得られた電子タンパク信号は、ビームプロフィールと、タンパク高分布 $dh(x)dx$ の第1導関数との重畳にほぼ比例する。従って、この技術は、傾斜検出技術である。タンパクパターンがさらに急峻な場合、より強力な信号が得られる。

【0087】

実験データを得るのに使用される装置および方法の詳細に続く実験的論議に関し、好ましい紹介を以下に論ずる。これらの詳細な単に例示的なものであって、同じものについて広範な変更内容が、本発明の範囲内において考慮される。位相差バイオCDは、100mm直径、1mm厚のホウケイ酸ガラスディスクから製造されるのが好ましい。ディスクは、好ましくは、633nmに中心波長を持つレーザーミラーとなる、10層の、 Ti_2O_5/SiO_2 から成る誘電積層体によって塗布されるのが好ましい。タンパクをディスク表面に不動化するためにはいくつかの異なるやり方がある。タンパクは、物理的吸着によって表面に不動化されてもよい。すなわち、1)シリカ表面のシラン化、2)高親和性不動化のためのビオチン-アビジン共有結合、または、3)ATPESエポキシド表面コーティングに対する共有結合、によってもよい。

【0088】

バイオCDディスクの反射面は、光の反射を強調し、表面電場の大きさを最大にするために、複数層から成る誘電媒体であることが好ましい。四分の一波積層体は、この条件を実現するために使用される、もっとも一般的な誘電構造の一つであるが、例えば、シリコン上の、酸化層も使用が可能である。

【0089】

シラン化は、シリカ表面のクロロオクタデシルシラン処理を用いる標準的プロトコルに従う。タンパクは、疎水性相互作用を通じて有機末端基と結合する。タンパクのパターン化は、ゲルスタンプ法によって実現するのが好ましい。

【0090】

高親和性ビオチン-アビジン法では、表面は、ビオチンに接合されるポリスクシニミドポリマーによって被われる。次に、写真腐刻が適用される。フォトレジストが、ポリスクシニミドポリマー・コーティングの上に回転され、例えば、1024-スプークフォトマスクを介して露光され、現像される。次に、ディスク表面は、アビジンに暴露され、アビジンは、露出領域のビオチンに付着する。次に、ビオチン抗体を加え、露出領域に結合するアビジンに付着させる。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 1 】

APTESエポキシドコーティングは、標準プロトコルに従う。写真腐刻を適用し、ディスクを、露出ディスク表面を腐刻する1%の水素化ホウ素ナトリウム液で処理する。フォトレジスト除去後、ディスクは、共有的にタンパクに結合するパターン化表面を持つ。表面に対する、物理的吸着と共有的結合の両方によって、スポークパターンに明確に定められた末端を持つタンパクパターンが得られる。パターンは、ディスクが回転すると探査レーザースポットを横切って掃引する。

【 0 0 9 2 】

一つの実施態様では、光学的検出システムは、635nm波長のダイオードレーザービームを、ディスクに対し、約20ミクロン直径として結像するために、焦点距離5cmの対物レンズを使用することが好ましい。反射および散乱光は、ビームスプリッターで分割され、対物レンズのフーリエ面に置かれた直交光検出器に向けられる。直交検出器は、3個の出力チャンネルを持つことが好ましい。すなわち、全体強度、上半分および下半分の間の差、および、左と右の間の差である。タンパクスポークの方向性に応じて、差分チャンネルの内の一つは、所望の位相信号を与える。他方の差分チャンネルは、軸揃えおよびディスク微動に関して診断を与え、一方、加算チャンネルは、均一タンパクプリントに対しては、小さいか無視できる、ディスクからのレイリーおよびその他の散乱損失に関連する振幅情報を与える。

【 0 0 9 3 】

ディスクは、安定な回転器 (Lincoln Laser, Inc.) によって80Hzの定常な周波数で回転され、タンパクスポークが結像レーザースポットを通過する際に、時間依存性位相および振幅信号を形成することが好ましい。図 1 1 は、高さ8nm幅100ミクロンのタンパクスポークを仮定したコンピュータシミュレーションと比較した場合の、写真腐刻FITC-接合アビジン (Sigma) およびビオチン接合抗ウサギIgG (Sigma) 二重タンパク層の測定された時間トレースを示す。図 1 2 は、3kHz帯域によって検出される電力スペクトラムを示す。誘電体積層体の複数の界面に渡って分布する表面粗度からの雑音は、検出器およびレーザーシステムの雑音基底よりも15dB高い。タンパクスポークのタンパク信号は、25dBの信号対雑音比を持つ。

【 0 0 9 4 】

免疫アッセイとしてPC-クラスのバイオCDを実行する潜在能力を証明するために、我々は、二成分アッセイにおいて特異的抗原抗体反応を実施した。フルオレセン接合ウシ血清アルブミン (FBSA) を浸透させたパターン化ポリアクリアミドゲルを、誘電体塗布ガラスディスクと直接接触させて、FBSAをプリントした。この実験のために、表面を、クロロジメチルオクタデシルシランによって活性化した。ポリアクリルアミドゲルと表面の間の接触領域では、タンパクがゲルから拡散し、物理的吸着によって不動化される。印刷技術の品質は、フルオレセン画像記録および原子間力顕微鏡によって検査した。BSAは比較的不活性で、ディスク表面における普遍的な担体鑄型となり、次に、これに (BSA間のスポーク領域に)、活性または不活性タンパクまたは他のコントロール分子を充填させることが可能である。

【 0 0 9 5 】

次に、ディスクを特異的抗原分子で再充填する。BSAをプリントしたディスクを、4個の、90度四分円に分割した。四分円それぞれにおけるプリントされていない平地に、それぞれ、4種の異なる薬品を充填した。すなわち、1)リン酸バッファー、2)ウサギIgG、3)FBSA、および、4)ウマIgGである。再充填タンパク液の濃度は20 $\mu\text{g/ml}$ であった。次に、この調製済みディスクを、特異的認識分子に対するバンドにおいてインキュベートした。4個の四半分円を横断すると、3本の環状バンドは、合計12個の仮想「ウェル」を形成し、これは、多数のコントロールアッセイを持つ特異的アッセイの働きをする。内部バンドを抗ウマIgGとインキュベートし、外部バンドを抗ウサギIgGとインキュベートした。共に濃度は20 $\mu\text{g/ml}$ であった。中間バンドは、標的サンプルとはインキュベートせず、全てのバンドと同じ洗浄を受けたので、これは、アッセイの安定性の尺度を与えることになり、

10

20

30

40

50

陰性コントロールとして作動した。12ウェルの内、4ウェルは、休薬処置を測定するためのコントロールウェルとなり、4つはBSAに対する抗体の非特異的結合を測定するためのコントロールウェルとなり、2つは、抗体-抗原の交差反応性を調べ、2つは、特異的抗体-抗原結合を調べた。

【0096】

このアッセイの結果を図13および14に示す。抗体に対する暴露後の様々なセグメントにおける高さ変化の分布を図13に示す。二つの特異的アッセイは、互いに有意に異なる振る舞いをするが、陰性コントロール、抗体のFBSAに対する非特異的結合、および、抗ウマ抗体のウサギに対する、また、抗ウサギ抗体のウマに対する交差反応性(CR)の間には大きな差は無かった。これは、本実験には、著明な交差反応性または非特異的結合は無いことを示す。この二つの、特異的二成分アッセイ(抗ウサギがウサギに結合し、抗ウマがウマに結合する)は、60%および80%の反応を得た。標準偏差はそれぞれ20%と30%であった。図14は、本実験の受容体動作特性(ROC)曲線を示す。非特異的結合セグメントは、擬似陽性として使用される。曲線は、特異的結合と非特異的結合の間の明瞭な差を示し、交差反応性および非特異的結合の間にはほとんど差がない。p-値は分布から0.01未満であると計算された。

10

【0097】

光学的検出法の可変性を試験するために、本実験の前に、物理的表面吸着に基づいてゲルスタンププリンティングによってFBSAを用いてプリントしたディスクを外し、90度の全体回転を与えて再度取り付け、再び4回走査したところ、全ての値は、5%の標準誤差以内で繰り返された。ディスクを回転無しで再度装着した場合、標準誤差は2%未満に下がる。従って、光学的検出は、安定であり、好ましくは固定およびインキュベーション化学条件がより均一にされるならば、用量・反応の将来のテストにおいて十分小さい標準誤差の下に繰り返しが可能である。

20

【0098】

ディスク当たり数百または数千のアッセイにまで規模を拡大できる潜在能力を実証するために、タンパクのスポット液による実験を、ARTESエポキシドコーティングにおいて行った。写真腐刻後、ディスクを、脱イオン水に溶解した1%水素化ホウ素ナトリウムに12時間浸した。露出表面を、溶液にて腐刻したところ、極端に親水性になったためにタンパクを惹きつけなくなった。フォトレジスト除去後、ディスクの被覆部分は、強力にタンパクと結合するARTESコーティングを保持していた。ウマIgGおよびトリIgGの領域をディスク上にスポットした。領域のサイズは約10mmであった。次に、タンパクの領域を、同じサイズの抗ウマIgGのスポットとインキュベートした。異なる小滴におけるタンパク高変化の分布を図13に示す。特異的および非特異的結合の間の違いは、この図において明瞭に見て取ることができる。p-値は0.01未満と計算された。この実験における小滴のサイズは10mmであったが、インクジェットプリンターを用いれば、サイズは、簡単に1mmあるいはもっと小さく下げることが可能で、従って、ディスク当たり数千、またはそれ以上のアッセイを実行することは可能である。

30

【0099】

これまでにいくつかの実験データの結果を記載したので、それ以外の本発明のさらなる特質または予想される利点について、そのような特質を含むか含まないかはともかく、特選した実施態様に基づいて説明する。本発明は、一般に、回転ディスク上のタンパクから得られる位相変調を測定する、自己参照干渉計光学的バイオセンサーに関することが理解されよう。高速におけるパターンの光学的検出は、1/f雑音よりもはるかに低い雑音基底を生成する。ディスクの上の周期的タンパクパターンは、空間的搬送波を与えるが、これは、好適に脱変調されると、高い正確度をもって区別される、ゆっくりと変動するタンパク包絡線を生成する。

40

【0100】

本発明の一つの実施態様では、ディスクの、2回の連続的差動走査が、ディスクを全く取り外すことなく区別される。これは、直径20ミクロンの焦点スポット内部の5フェムト

50

グラムのタンパクに相当する、僅かに20pmの、二乗平均表面高測定誤差しか生じない。免疫アッセイの性能をウェルサイズの関数として予測する、単純な面積計測関係を下記に論ずる。下記にさらに論じるものは、差動位相差バイオCDの、下は0.2pg/mmにまで至る表面質量感度の実証である。このバイオCDの感度は、表面プラズモン共鳴センサーの感度に匹敵するが、好適に共鳴構造無しに達成されるので、製造および操作が比較的簡単である。

【0101】

上記二つのパラグラフを序論として、周波数脱変調されるとゆっくりと変動するタンパク包絡線を生成する、空間搬送波を与える空間的にパターン化されたタンパクと組み合わせた、差動位相差検出の使用に関しさらに詳細を以下に論じることにする。パターンを高速で光学的に検出することは、1/f雑音よりもはるかに低い雑音基底を生成する。ディスクの、2回の連続的差動走査が区別されるが、これは、直径20ミクロンの焦点スポット内部の5フェムトグラムのタンパクに相当する、僅かに20pmの、二乗平均表面高測定誤差しか生じない。サイズについて適当に尺度を合わせれば、0.2pg/mmの表面感度も好適に実現される。

10

【0102】

上記に関して、光学的走査システムは、前述したように差動位相差システムであることが好ましい。このようなシステムは、安定なモータ(Lincoln Laser)、635nmレーザー光源(Coherent)、および、ディスク面の動きに対して垂直なチャンネル間で出力信号が区別される、分割直交検出器を含むことが好ましい。従って、正味の信号は、ディスク面の高さの空間第1導関数に比例し、または、パターン化タンパクを担うディスクの場合、位相変調が表面密度に比例すると仮定すると、タンパク表面質量密度の導関数に比例する。

20

【0103】

本発明の一つの実施態様では、バイオCDディスクは、中心波長を635nmに持つ多層誘電体ミラーである。ディスクのSiO₂最上面は、シリカ表面に対しシランで付着されたピオチニル化ポリスクシニミドポリマーのコーティングの上に、アビジンでパターン化される。アビジンパターンは、ディスクの半径の関数として直線的に変化する空間周期性を持つ一連の台地を含む。典型的な周期は約150ミクロンである。ディスクは5000rpmで回転され、レーザーは、20ミクロン直径のスポットに結像される。検出頻度は通常50kHzであり、これは、レーザーおよび電子増幅器の1/f雑音から遠い。光学的性能は、ショット雑音限界の大きさの1.5桁以内である。多様な動作パラメータが、本発明の範囲内にあるものとして考えられることを理解しなければならない。前述の空間周期、ディスク回転速度、結像レーザースポットの直径、および検出頻度は単に例示にすぎない。

30

【0104】

図16を参照すると、ディスクの選択された部分における、タンパクのスポークの表面位置関係が示される。差動信号は、目には、影つきの3Dトポロジーのように見える。明るい信号は先導するタンパクの段差からのものであり、一方、暗い陰性信号は、対応する後続の段差からのものである。空間搬送周波数は脱変調されて、図17に示す、タンパクの包絡線関数が得られる。包絡線は、探査レーザービームの大きさに応じてゆっくりと変動する。前述のように、本発明の各種実施態様において、二つの連続走査の間の差が定量されることが好ましい。

40

【0105】

二つの連続走査の間において区別されたデータのヒストグラムを図18に示す。脱変調がないと、高さの分布の幅は75pmである。脱変調後、分布は僅かに20pmである。これは、結像したスポット面積当たりの、高さ測定の平均誤差である。これは、システムの機械的性能(走査間の再配置誤差)によって支配されるもので、レーザーの安定性によって制限されないし、また基本的限界でもない。この表面高の不確定性は、差動位相差バイオCDでは表面質量感度に転換される。

【0106】

下記の推論において設けた基本的尺度の仮定は、バイオCD表面高さ分布に関する2回の連続走査における測定誤差の、無相関的なランダム分布の仮定である。この条件からの逸

50

脱について簡単に触れておくが、この仮定は、バイオCDに見られる通常の条件と関連する。無相関でランダムな表面粗度の仮定から逸脱することは、異なる尺度設定を招き、従って、異なる、面積当たり質量値をもたらす。例えば、表面の微分測定値の誤差が空間的に相関するとすれば、 S_{mm} は、下記で導かれた値に比べて増すであろう（現在のシステムでは約10 pg/mm²の限界値を持つ、ただし、安定性を改善したシステムでは、この数字はもっと小さくなると考えられる）。

【0107】

図18から、2回の反復走査の間の表面高の不確定性は、焦点スポット当たり20pmと定められた。これは、20ミクロンの直径を持つ焦点スポット当たり、5フェムトグラムのタンパクに相当する。この測定値に関連する表面質量感度は、 $0.004 \text{ pg}/(0.02 \text{ mm})^2 = 10 \text{ pg}/\text{mm}^2$ となる。しかしながら、他の表面質量検出技術、例えば、表面プラスモン共鳴と比較するためには、この数字は、無相関でランダムな表面粗度の条件下における1mmの対応サイズに適正にスケールを合わせる必要があり、それは、測定値の標準誤差を、センサー面積の平方根だけ下げる。1mmのスケールにおける等価スケール表面高感度は、下記の式(3)によって与えられる。すなわち、

$$\Delta h_{mm} = \Delta h_{meas} \sqrt{\frac{w_{meas}^2}{1mm^2}} \quad (3)$$

上式において、 w_{meas} は、測定された高さの差 h_{meas} に関連するスポット直径である。 $h_{meas} = 20 \text{ pm}$ で、 $w_0 = 20 \text{ ミクロン}$ の場合、 $h_{mm} = 0.4 \text{ pm}$ が得られる。この表面高さの平均感度が、プロトンの半径よりも小さいことを注記するのは興味あることである。このタンパク高に関連する質量は、下記の式(4)によって与えられる。すなわち、

$$\Delta m_{mm} = \Delta h_{mm} \rho_m 1mm^2 \quad (4)$$

上式から、 $h_{mm} = 0.4 \text{ pm}$ の場合、 $m_{mm} = 0.4 \text{ pg}$ が得られる。

【0108】

表面質量感度に関する一般的な尺度を得るために、上記の式(3)と(4)を組み合わせると、下記の式(5)が得られる。すなわち、

$$\Delta m_A = \Delta h_{meas} \sqrt{\frac{w_{meas}^2}{A}} \rho_m A \quad (5)$$

上式から、感度が下記の式(6)のように求められる。すなわち、

$$S = \frac{\Delta m_A}{\sqrt{A}} = \rho_m \Delta h_{meas} w_{meas} \quad (6)$$

$$= 0.2 \text{ pg/mm}$$

これは、質量/長さの単位を持つ。

【0109】

面積Aの上にセンサーを分布させる単一アッセイでは、そのアッセイで検出が可能な、最小捕捉質量は下記の式(7)で与えられる。すなわち、

$$\Delta m_A = S\sqrt{A} \quad (7)$$

【 0 1 1 0 】

例として、アッセイ面積が 1mm^2 であるとする、検出質量は 0.2 pg である。このことから、我々は、適正に尺度設定された場合、 1 平方ミリにおける表面質量感度は、下記の式(8)によって与えられると結論する。すなわち、

$$S_{mm} = \frac{S}{\sqrt{1\text{mm}}} = 0.2\text{ pg/mm}^2 \quad (8)$$

10

この面積依存性感度は、SPRによって定められる最善値に匹敵する。この感度は、共鳴を要することなく獲得することが可能であり、従って、高感度を実現するのに共鳴に依存する他の干渉法または共鳴法よりも、はるかに安定で、製造も容易である。

【 0 1 1 1 】

上記の式(7)の平方根尺度設定は、比較的大きな面積において信号を平均化した結果である。これは、バイオCDにおける測定に対し強力な利点を与える。干渉計感度によって得られる焦点スポット当たりの感度は、単一の焦点スポットの数倍もある面積において信号を平均化することによって増大する。例えば、 20 ミクロン直径のスポットが 1mm^2 の面積に進入する時、 50 倍の係数が得られる。この平方根は、係数が 7 、つまり、ほぼ 1 桁の改善となる。

20

【 0 1 1 2 】

PCクラスバイオCDの性能は、有用な妥協点を提示することによって、前述の、MDクラスおよびAOクラスの性能の間に来る。位相差信号は、MDクラスよりも有意に強く、不動化は、シリカ表面ではより均一である。一方、PC-クラスは、ディスク上のタンパクパターンの導関数 $h'(x)$ を検出するが、AO-クラスは、タンパクプロフィール $h(x)$ に対して直接反応する。AOクラス法も、その能動的な適応性のために比較的安定であるが、実行するのが比較的難しい。一例として、米国特許出願公報第2004/0166593A1に認められるAOクラス関連開示に関連して、光検出器444Aおよび444Bが描かれる。しかしながら、AOクラスでは、二つのビームが、別々の空間モードから生じるもので、それぞれ別々で分離する。この二つのビームはまた、極めて異なる情報を担う。「直接」ビームはほとんど振幅情報を担い、「回折」ビームは位相情報を担う。従って、米国特許出願公報第2004/0166593A1号の図21の光検出器444Aおよび444Bは、位相と情報を、それぞれ別々にするのではなく、組み合わせる。一方、PCクラスでは、非対称的に散乱される、単一生成空間モードしかないことが好ましい。この散乱光が、本発明の分割光検出形態において検出され、区別される場合、位相情報のみが回収される。振幅情報は、単に光全部を検出することによって得られる。

30

【 0 1 1 3 】

以上まとめると、ディスク製造が簡単で、検出が単純なPCクラスの利点により、この新規バイオCD直交クラスは、多様な、多数分析対象アッセイの推進において有望な地位を占める。PCクラスとは、好ましくは共鳴構造を持たない、回転ディスクの自由表面において面垂直的で、自己参照性の干渉計を持つクラスである。好ましくは、この干渉計要素は、レーザーの焦点スポットと同じぐらい小さな表面積を持ち、相互作用の長さは、僅かにバイオ層の厚みと同程度であり、かつ、構造体の製造を困難とする光学的共鳴体に全く依存しない。

40

【 0 1 1 4 】

前述の検出システムは、反射信号を利用するように構成されるバイオCDと共に使用される検出システム(単数又は複数)として記載され、図示されてきた。本発明はまた、透過

50

信号ビームを生成するように構成されるバイオCDと共に使用されるように構成される検出システムも含むことも、本発明の範囲内にあると見なされることを理解しなければならない。

【0115】

バイオCDおよび関連検出システムは、生物サンプルにおける血液タンパクの存在の検出に使用される場合について記載されてきたけれども、バイオCDおよび関連検出システムはまた、さらに別の用途、例えば、水またはその他の流体サンプルを含む環境サンプルの分析に利用されてもよいことを理解しなければならない。

【0116】

本システムは、各種改変および代替形態に対して受容的であって、その例示の実施態様が、図面の例を通じて示され、本明細書において詳細に説明されてきた。ただし、該システムを、開示される特定の形態に限定する意図は無く、むしろ逆に、付属の特許請求の範囲によって定義されるシステムの精神と範囲内に含まれる、全ての改変、等価物、および代替物を取り扱うことが意図されるということを理解しなければならない。

【図面の簡単な説明】

【0117】

【図1】図1は、台地と平地を持つ基板において、段差の一侧に入射する光線の、段差の他側に入射する光線に対する直交条件に関する、本発明の一局面を示す。

【図2】図2は、図1の実施態様と同様であるが、「台地」の高さが、バイオ層の厚みと同程度に小さい実施態様を示す。

【図3A】図3Aは、回折遠視野における段差検出を実現する直角位相を示す。

【図3B】図3Bは、タンパク段差に結像したレーザービーム、および、入射レーザービームウェストの強度分布の模式図である。二つの直交角度において、タンパク層によって引き起こされた位相転移(+ $\pi/2$ または- $\pi/2$)が、回折遠視野光強度において直角位相を定める。

【図4】図4は、回折タンパク段差が、遠視野において二重直角位相を有する、本発明の一局面を示す。

【図5】図5Aおよび5Bは、僅かな変動をもつプリントされたタンパクの段差検出を行うための、分割光検出器形態における光学レイアウトの実施態様を示す。

【図6】図6Aおよび6Bは、本発明の一つ以上の実施態様での段差検出の、スケールに依存しない性質を示す。

【図7】図7Aおよび7Bは、非特異的結合の直接差分、およびその結果得られる時間トレースを示す。

【図8】図8は、較正用ディスクにおけるスポークパターンのナイフエッジ検出に関する実験的表示から得られたデータを示す。

【図9】図9は、単一スポーク検出を示す。

【図10】図10は、分割検出器(点線曲線)および $\pi/2$ マスク(実線)の場合におけるビームサイズに対し極めて細かいスポークまたはスポットの検出を示す。

【図11】図11は、8nmのタンパクスポークのコンピュータシミュレーションと比較した場合の、タンパクスポークの測定された時間トレースを示す。

【図12】図12は、タンパク信号の測定されたパワースペクトラムを示す。

【図13】図13は、インキュベーション後、ディスクの異なるセグメントにおけるタンパク高の変化の分布を示す。

【図14】図14は、二成分アッセイの受容体動作特性を示す。

【図15】図15は、異なるタンパク小滴における、インキュベーション後のタンパク高の分布を示す。

【図16】図16は、バイオCDにおけるプリントされたアビジン台地の空間的トポロジーを示す。

【図17】図17は、図16のディスクの、空間周波数脱変調画像を示す。

【図18】図18は、ディスクを取り外さずに得られた、バイオCDにおけるアビジン微分

10

20

30

40

50

高のヒストグラムを示す。

【図 1】

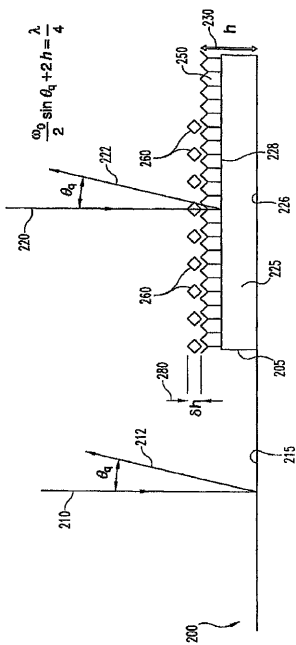


Fig. 1

【図 2】

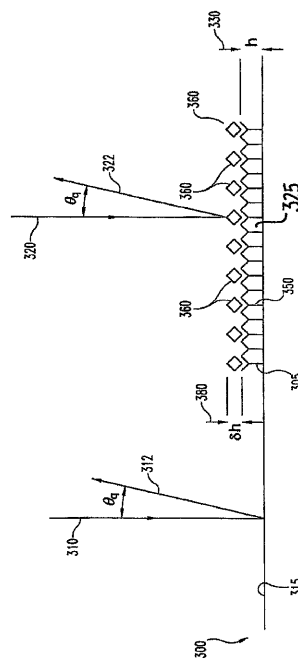


Fig. 2

【 図 3 A 】

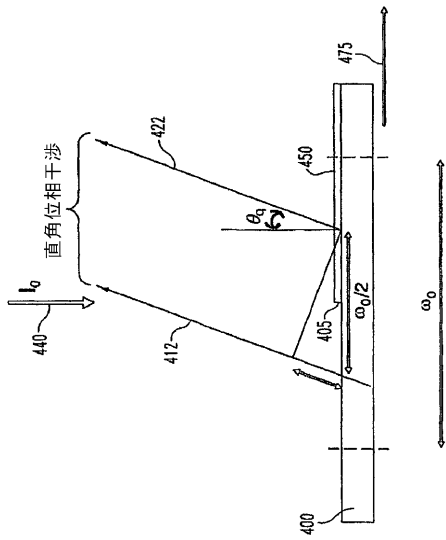


Fig. 3A

【 図 3 B 】

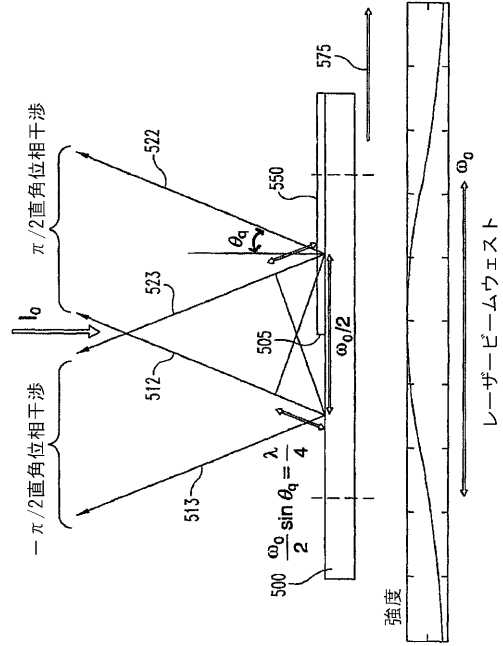


Fig. 3B

【 図 4 】

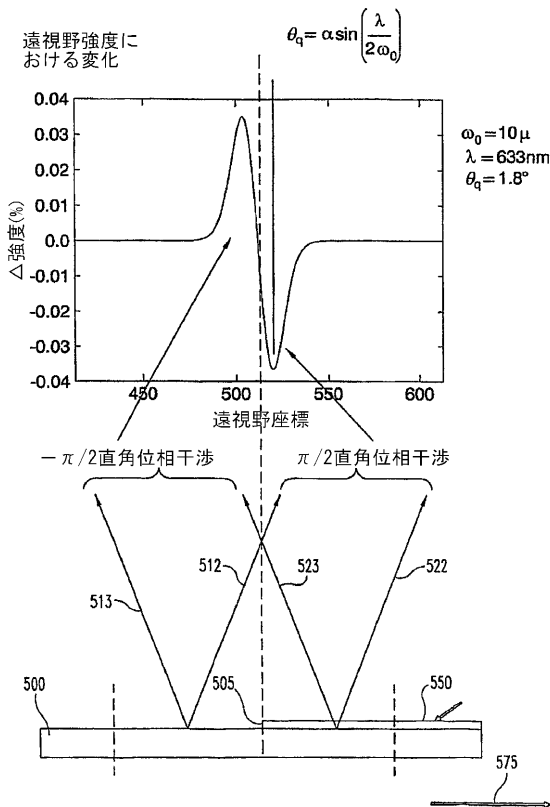


Fig. 4

【 図 5 A 】

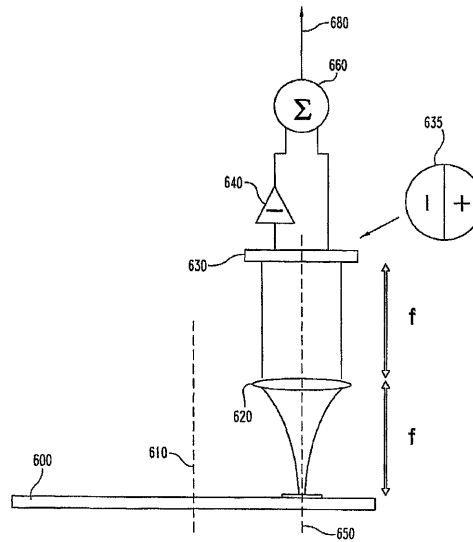


Fig. 5A

【 図 5 B 】

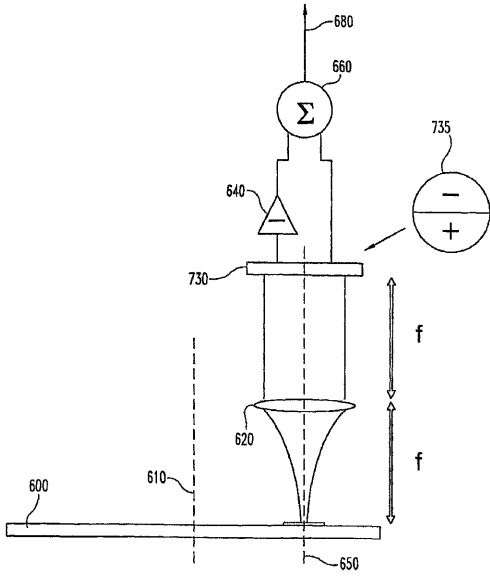


Fig. 5B

【 図 6 】

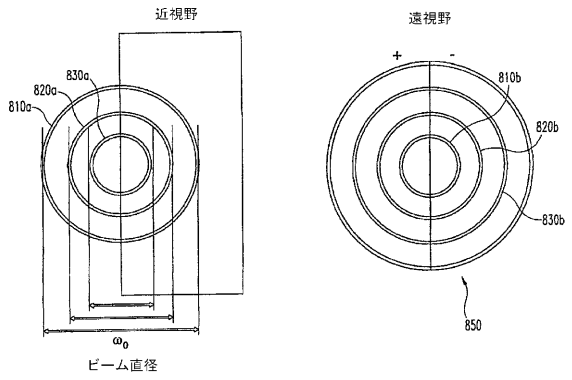


Fig. 6A

Fig. 6B

【 図 7 】

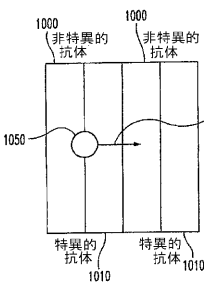


Fig. 7A

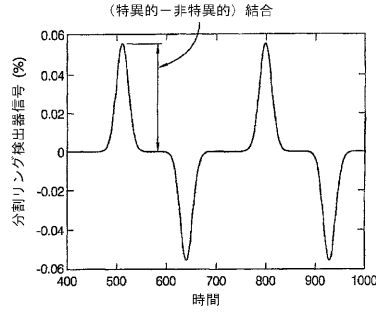


Fig. 7B

【 図 8 】

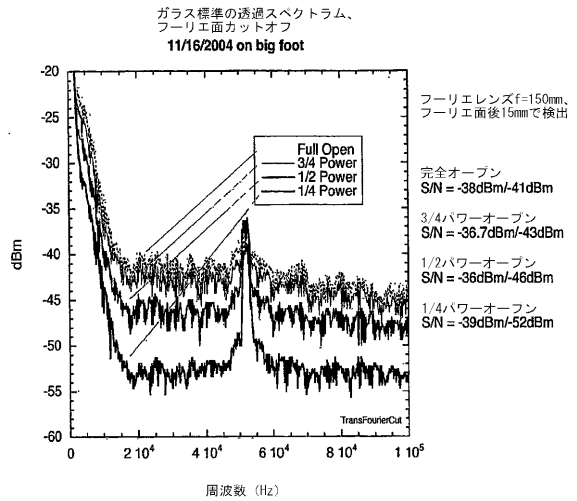
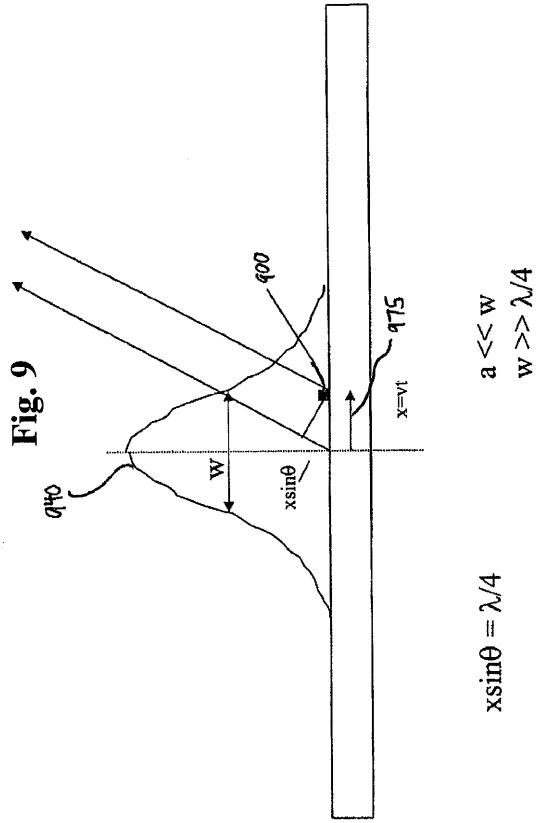


Fig. 8

【 図 9 】



適応的光学系およびハイブリッド光学システム実験

【 図 10 】

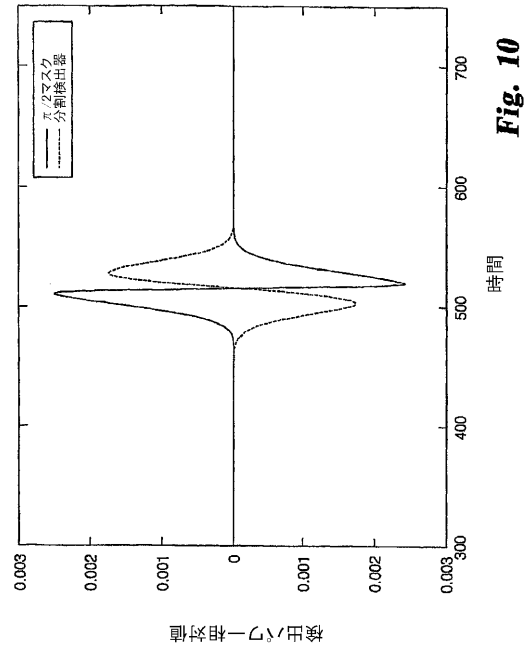


Fig. 10

【 図 11 】

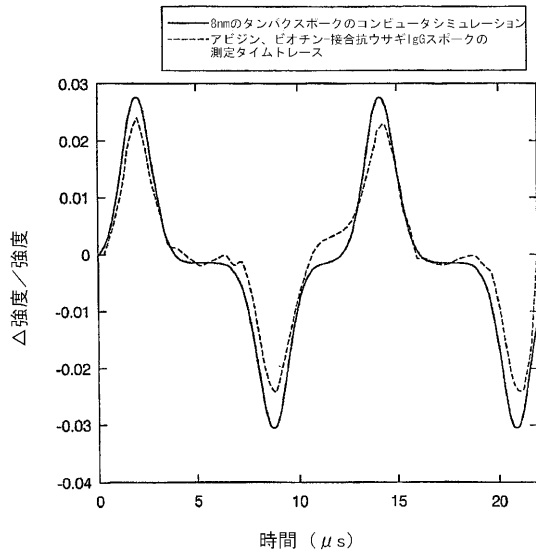


Fig. 11

【 図 12 】

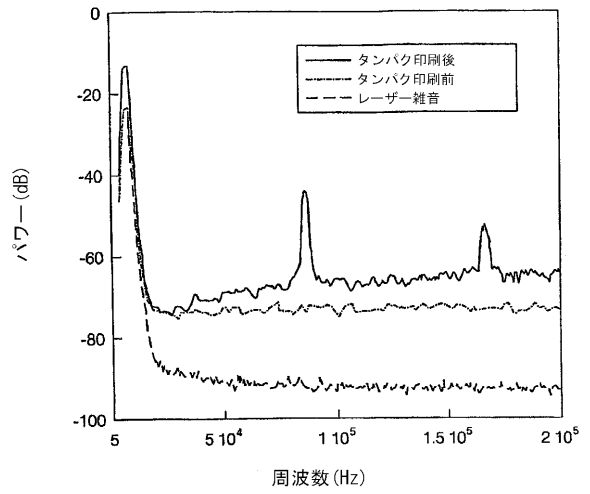


Fig. 12

【 図 1 3 】

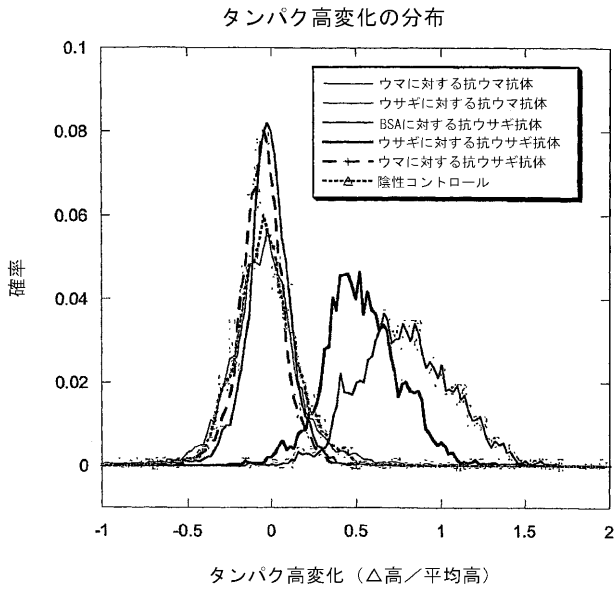


Fig. 13

【 図 1 4 】

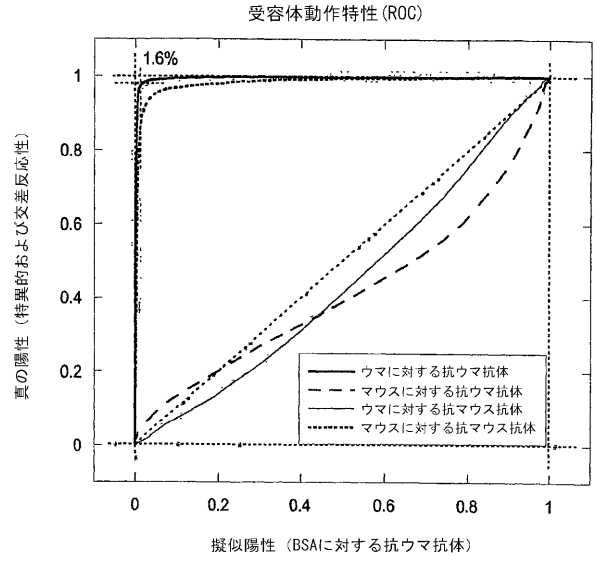


Fig. 14

【 図 1 5 】

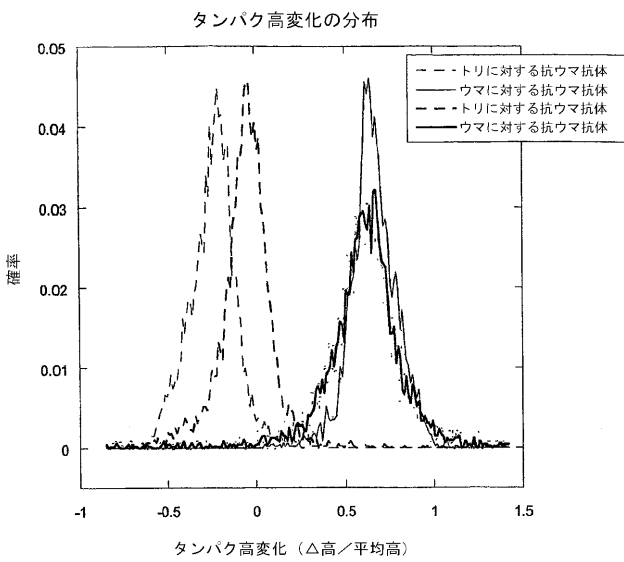


Fig. 15

【 図 1 6 】

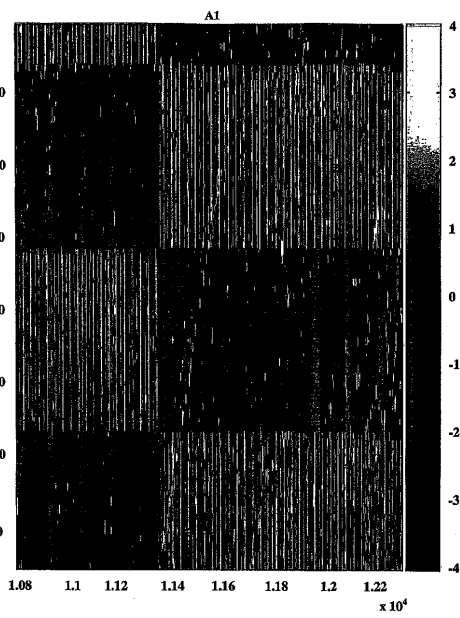


Fig. 16

【 図 1 7 】

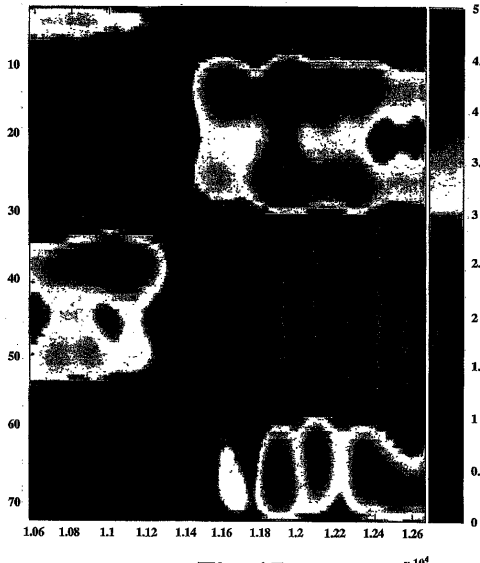


Fig. 17

【 図 1 8 】

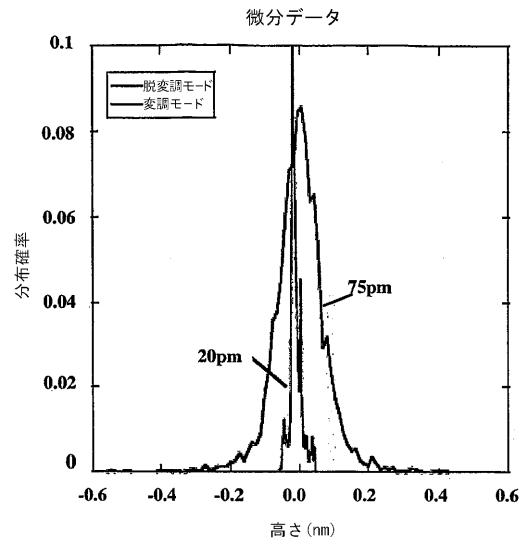


Fig. 18

【 国際調査報告 】

60700830021



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/03470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - G01N 21/45 (2007.01) USPC - 422/64 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) IPC(8) - G01N21; G01J9 (2007.01) USPC - 250/550; 422/64; 356/450-521; 435/7.1,7.2 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) USPTO EAST System (US, USPG-PUB, EPO, JPO, FPRS, DERWENT), GoogleScholar, DialogPro		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2003/0026735 A1 (NOLTE et al) 06 February 2003 (06.02.2003) entire document	6-8, 11, 21, 22, 24
A	US RE 33,581 E (NICOLI et al) 30 April 1991 (30.04.1991) entire document	1-5, 12, 25-33, 41-45
A	US 5,581,345 A (OKI et al) 03 December 1996 (03.12.1996) entire document	9, 10, 14-20, 23
A	US 4,741,620 (WICKRAMASINGHE) 03 May 1988 (03.05.1988) entire document	34-40
A	VARMA et al. High-speed label-free detection by spinning-disk micro-interferometry. Biosensors and Bioelectronics, 19 (2004) 1371-1376	1-45
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 April 2007		Date of mailing of the international search report 10 AUG 2007
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Blaine R. Copenhagen PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

21.12.2007

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ペン, レイレイ
 アメリカ合衆国・インディアナ州 47906・ウエスト ラファイエット・アーノルド ドライブ 222, アパートメント 1

(72)発明者 レニール, フレッド, イー.
 アメリカ合衆国・インディアナ州 47906・ウエスト ラファイエット・タッカホー レーン 1219

(72)発明者 チャオ, ミン
 アメリカ合衆国・インディアナ州 47906・ウエスト ラファイエット・ソルジャーズ ホーム ロード 2601 アパートメント 36

Fターム(参考) 2G059 AA05 BB12 CC16 EE02 EE09 GG01 KK01

【要約の続き】

において、プラットフォームから、焦点距離とほぼ等しい第1距離だけ離される。本装置はさらに、探査ビームの反射によって生じる信号における第1直交分および第2直交分を測定するための分割光検出手段を含む。

【選択図】図1

专利名称(译)	用于免疫测定的正交相位差干涉检测的方法和装置		
公开(公告)号	JP2008529013A	公开(公告)日	2008-07-31
申请号	JP2007553367	申请日	2006-02-01
[标]申请(专利权)人(译)	普渡研究基金会		
申请(专利权)人(译)	普渡大学研究基金会		
[标]发明人	ノルトデイヴィッド ペンレイレイ レニールフレッドイー チャオミン		
发明人	ノルト,デイヴィッド ペン,レイレイ レニール,フレッド,イー. チャオ,ミン		
IPC分类号	G01N21/45 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/54373 G01N21/45		
FI分类号	G01N21/45.A G01N33/53.T		
F-TERM分类号	2G059/AA05 2G059/BB12 2G059/CC16 2G059/EE02 2G059/EE09 2G059/GG01 2G059/KK01		
优先权	60/649070 2005-02-01 US 60/755177 2005-12-30 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

相位差正交干涉测量法用于确定样品中目标分析物的存在或不存在。该方法包括使用具有波长 λ 和西亚 / sub>的激光束来探测具有暴露于样品的反射表面的基板的至少一部分。反射表面，至少一个具有特定的识别分子与靶分析物的层的第一区域，和不包括针对靶分析物特异性识别分子的层的第二区域。该方法还包括在探测光束的反射衍射信号的一对正交角 θ_q 中的一个基本上仅搜索第一区域和第二区域的步骤，并进一步使用探测器。用于通过相位差正交干涉仪检测平面阵列中目标分子的存在或不存在的装置包括用于产生探测光束的光源。该装置包括用于接收平面阵列的平台和第一光学元件阵列，该第一光学元件阵列引导探测光束基本上垂直于平台垂直。该装置还包括物镜，该物镜具有第一表面和第二表面并具有焦距。物镜与平台分开第一距离，该第一距离近似等于透镜第一侧上的焦距。

