

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公表特許公報** (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 533692

(P2003 - 533692A)

(43)公表日 平成15年11月11日(2003.11.11)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
G 0 1 N 21/27		G 0 1 N 21/27	C 2 G 0 5 9
C 1 2 N 15/09		C 1 2 Q 1/04	4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/04		1/68	Z 4 B 0 6 3
1/68		G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53			M

審査請求 未請求 予備審査請求 (全 88数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 584856(P2001 - 584856)

(86)(22)出願日 平成13年1月19日(2001.1.19)

(85)翻訳文提出日 平成14年11月6日(2002.11.6)

(86)国際出願番号 PCT/EP01/00605

(87)国際公開番号 W001/088511

(87)国際公開日 平成13年11月22日(2001.11.22)

(31)優先権主張番号 888/00

(32)優先日 平成12年5月6日(2000.5.6)

(33)優先権主張国 スイス(CH)

(31)優先権主張番号 2095/00

(32)優先日 平成12年10月26日(2000.10.26)

(33)優先権主張国 スイス(CH)

(71)出願人 ツェプトゼンス アクチエンゲゼルシャフト

Z E P T O S E N S A G

スイス国 4108 ヴィッテルスヴィル ベンケンシュトラッセ 254

(72)発明者 パウラク, ミヒャエル

ドイツ国、79725 ローフェンブルク、アンデルスバッハシュトラッセ 5

(72)発明者 エーラート, マルクス

スイス国、ツェーハー - 4312 マグデン、イム・ブリューエル 6

(74)代理人 弁理士 津国 肇 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 多重分析対象物測定及びその使用のための格子導波路構造

(57)【要約】

本発明は、積層光学導波路の導波層 (a) に、前記層 (a) 中で変調される格子構造 (c) を介して励起光を導入するための又は層 (a) 中を誘導される光を抽出するための共振条件の局所分解変化の測定を可能にする格子光学導波路構造の変更可能な実施態様に関する。本発明のシステムは、一以上の分析対象物と同時に結合し、それらを測定するための固定化された種々の生物学的又は生化学的又は合成認識要素をそれぞれ有する、その上に製造された計測区域の配列を含む。前記励起光が計測区域の配列全体に同時に照射され、光を層 (a) に導入するための共振条件の満足度が前記計測区域中で同時に計測される。本発明はまた、少なくとも一つの励起光源と、少なくとも一つの局所分解検出器と、場合によっては、本発明の格子光学導波路構造に対する励起光の入射角を変えるための位置決め要素とを含む光学系に関する。本発明はさらに、対応する計測方法及びその使用に関する。驚くことに、本発明の方法は、高い局所解像度及び感度を有する画像検出法として十分に適することがわかった。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記プラットフォーム上に含む格子導波路構造であって、

第一の光学的に透明な層(a)を、層(a)よりも小さい屈折率の第二の光学的に透明な層(b)の上に有し、

励起光を計測区域(d)に向けて内結合するための、又は計測区域の領域で層(a)中を誘導される光を外結合するための一以上の格子構造(c)を有し、

前記一以上の格子構造(c)上に横方向に分けられた少なくとも一以上の計測区域(d)を有し、

前記計測区域と接触するサンプル中の一以上の分析対象物の定性及び/又は定量測定のための、前記計測区域に固定化された等しい又は異なる生物学的又は生化学的又は合成認識要素(e)を有する積層光学導波路を含み、

前記励起光が計測区域の前記配列に同時に照射され、光を前記二以上の計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度が同時に計測され、一つの計測区域から一以上の隣接計測区域まで層(a)中を誘導される励起光のクロストークが、格子構造(c)によって前記励起光を再び外結合することによって防止される格子導波路構造。

【請求項2】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含む格子導波路構造であって、

第一の光学的に透明な層(a)を、層(a)よりも小さい屈折率の第二の光学的に透明な層(b)の上に有し、

励起光を計測区域(d)に向けて内結合するための、又は計測区域の領域で層(a)中を誘導される光を外結合するための一以上の格子構造(c)を有し、

前記一以上の格子構造(c)上に横方向に分けられた少なくとも一以上の計測区域(d)を有し、

前記計測区域と接触するサンプル中の一以上の分析対象物の定性及び/又は定量測定のための、前記計測区域に固定化された等しい又は異なる生物学的又は生化学的又は合成認識要素(e)を有する積層光学導波路を含み、

共通の格子構造(c)上の計測区域の密度が1平方センチメートルあたり少なくとも10個であり、前記励起光が計測区域の前記配列に同時に照射され、光を前記二以上の計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度が同時に計測され、一つの計測区域から一以上の隣接計測区域まで層(a)中を誘導される励起光のクロストークが、格子構造(c)によって前記励起光を再び外結合することによって防止される格子導波路構造。

【請求項3】 連続的に変調される格子構造(c)が本質的に前記格子導波路構造の全区域に延びる、請求項1~2のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項4】 光を層(a)に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度が200 μm よりも高い、請求項1~3のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項5】 光を層(a)に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度が20 μm よりも高い、請求項1~4のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項6】 光を層(a)に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度を、格子構造(c)のより大きな変調深さの選択によって改善することができる、又は前記格子構造のより小さい変調深さの選択によって低くすることができる、請求項1~5のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項7】 光を層(a)に内結合するための共振条件を満たすための共振角の半値幅を、格子構造(c)の変調深さの減少によって減らすことができる、又は前記格子構造の変調深さの増大によって増すことができる、請求項1~6のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項8】 計測区域の外で、単色励起光の内結合又は外結合のための共振角が、少なくとも4 mm^2 の区域内(区域境界の方向が格子構造(c)の線に対して平行又は非平行である)で0.1°(平均値からの偏差として)以下しか変化しない、請求項1~7のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項9】 光を計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度が、(1)反射光(すなわち、両部分の和)に対して本質的に平行に外結合される励起光の強さ、又は(2)透過励起光の強さ、又は(3)格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さ、又は光成分(1)~(3)のいずれかの組み合わせから測定される、請求項1~8のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項10】 (1)反射光の強さと、それに対して本質的に平行に外結合される励起光の強さとの和、又は(2)格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さ、又は(3)前記光の強さ(1)及び(2)の組み合わせが、光を前記局所計測区域の領域で層(a)に内結合するための共振条件を局所的に満たすことにより、最大値を示す、請求項1~9のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項11】 透過励起光の強さが、光を前記局所計測区域の領域で層(a)に内結合するための共振条件を局所的に満たすことにより、最小値を示す、請求項1~10のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項12】 層(a)よりも小さい屈折率を有する厚さが5nm~1000nm、好ましくは10nm~1000nmのさらなる光学的に透明な層(b)が、層(a)と層(b)との間に層(a)と接触して設けられている、請求項1~11のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項13】 生物学的又は生化学的又は合成認識要素の固定化のための、厚さが好ましくは200nm未満、より好ましくは20nm未満の付着促進層(f)が光学的に透明な層(a)に被着され、付着促進層が、好ましくは、シラン、エポキシド、官能化された帯電又は極性ポリマー及び「自己組織化官能化単分子層」を含む群の化学化合物を含む、請求項1~12のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項14】 横方向に分けられた計測区域(d)が、好ましくは、インクジェットスポッティング、機械的スポッティング、マイクロコンタクトプリント、生物学的又は生化学的又は合成認識要素を平行又は交差マイクロチャネルに供給し、圧力差又は電気もしくは電磁ポテンシャルを印加して計測区域と流体接

触させることを含む方法の群の方法を使用して、生物学的又は生化学的又は合成認識要素を前記格子導波路構造に横方向に選択的に被着させることによって生成される、請求項1～13のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項15】 生物学的又は生化学的又は合成認識要素として、核酸(DNA、RNA、オリゴヌクレオチド)及び核酸類似体(たとえばPNA)、抗体、アプタマー、膜結合し単離された受容体、それらのリガンド、抗体に対する抗原、「ヒスチジンタグ成分」、分子インプリントをホストするための化学合成によって生成されたキャビティなどを含む群の成分が被着されているか、全細胞又は細胞断片が生物学的又は生化学的又は合成認識要素として被着されている、請求項14記載の格子導波路構造。

【請求項16】 好ましくは、たとえばアルブミン、特にウシ血清アルブミンもしくはヒト血清アルブミン、断片化された天然もしくは合成DNA、たとえば分析されるポリヌクレオチドとでハイブリダイズしないニシンもしくはサケの精液、又は帯電していないが親水性のポリマー、たとえばポリエチレングリコールもしくはデキストランを含む群の、分析対象物に対して「化学的に中性」の化合物が、横方向に分けられた計測区域(d)の間に被着されている、請求項14～15のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項17】 1,000,000個までの計測区域が二次元配設で設けられ、一つの計測区域が $0.001\text{mm}^2 \sim 6\text{mm}^2$ の面積を有する、請求項1～16のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項18】 多数の計測区域が、共通の格子構造(c)上に、1平方センチメートルあたり10個より多い密度、好ましくは100個より多い密度、もっとも好ましくは1000個より多い密度の密度で設けられている、請求項1～17のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項19】 そのフットプリントの外寸が、約 $8\text{cm} \times 12\text{cm}$ の標準マイクロタイタプレート(96又は384又は1536ウェル)のフットプリントに似ている、請求項1～18のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項20】 格子構造(c)が、共通の周期の回折格子又は多回折格子である、請求項1～19のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項21】 一以上の格子構造(c)が、光学的に透明な層(a)に内結合される励起光の伝播方向に対して本質的に垂直に、横方向に変化する周期性を有する、請求項1～7又は10～19のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項22】 第二の光学的に透明な層(b)の材料が、石英、ガラス又はたとえばポリカーボネート、ポリイミドもしくはポリメチルメタクリレートを含む群の透明な熱可塑性プラスチックを含む、請求項1～21のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項23】 第一の光学的に透明な層(a)の屈折率が1.8よりも大きい、請求項1～22のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項24】 第一の光学的に透明な層(a)が、 TiO_2 、 ZnO 、 Nb_2O_5 、 Ta_2O_5 、 HfO_2 又は ZrO_2 、特に好ましくは TiO_2 、 Nb_2O_5 又は Ta_2O_5 を含む群の材料を含む、請求項1～23のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項25】 第一の光学的に透明な層(a)の厚さとその屈折率との積が、層(a)に内結合される励起光の励起波長の $1/10 \sim 1$ 、好ましくは $1/3 \sim 2/3$ である、請求項1～24のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項26】 格子(c)が $200\text{nm} \sim 1000\text{nm}$ の周期を有し、格子(c)の変調深さが $3\text{nm} \sim 100\text{nm}$ 、好ましくは $5\text{nm} \sim 30\text{nm}$ である、請求項1～25のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項27】 第一の光学的に透明な層(a)の厚さに対する変調深さの比が 0.2 以下である、請求項25記載の格子導波路構造。

【請求項28】 格子構造(c)が、矩形、三角形又は半円形の断面のレリーフ格子、又は本質的に平面的な光学的に透明な層(a)で屈折率の周期的な変調を有する位相格子もしくは容積格子である、請求項1～27のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項29】 光学系における調節の簡素化のための及び/又は分析系の一部としてのサンプル区画への接続のための光学的又は機械的に認識可能な印がその上に設けられている、請求項1～28のいずれか記載の格子導波路構造。

【請求項30】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導さ

れる光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域 (d) の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

請求項 1 ~ 29 のいずれか記載の格子導波路構造と、

照射励起光に関して格子導波路構造の反対側に位置する透過励起光の測定のための、及び / 又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び / 又は格子構造 (c) によって内結合されたのち層 (a) 中を誘導される励起光の散乱光の測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、

を含む光学系。

【請求項 31】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域 (d) の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

請求項 1 ~ 29 のいずれか記載の格子導波路構造と、

透過励起光の画像を生成するための、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置する少なくとも一つの拡散反射及び / 又は拡散透過映写スクリーンと、

前記映写スクリーンから透過励起光の画像を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器と、

を含む光学系。

【請求項 32】 前記映写スクリーンから透過励起光の画像を収集するための前記少なくとも一つの局所分解検出器が、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側に位置する、請求項 31 記載の光学系。

【請求項 33】 前記映写スクリーンから透過励起光の画像を収集するための前記少なくとも一つの局所分解検出器が、透過励起光の側に、すなわち、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置し、それにより、前記映写

スクリーンが少なくとも部分的に透過性である、請求項31記載の光学系。

【請求項34】 計測区域を超えない区域が、層(a)に内結合される励起光の伝播方向に対して本質的に垂直に局所的に変化する周期性を有する各格子構造(c)に設けられ、かつ、格子導波路構造の非構造化区域が、層(a)に内結合され、かつ、層(a)中を誘導される励起光の伝播方向に設けられ、かつ、場合によっては、さらなる格子構造(c)が、層(a)中を誘導される励起光のさらなる伝播方向に設けられ、それが、前記誘導される励起光を局所分解検出器に向けて外結合するために使用される、請求項21記載の格子導波路構造を有する光学系。

【請求項35】 格子構造(c)上の計測区域における分子の吸着又は脱着による集団包括範囲の変化が、前記格子構造(c)によって励起光を層(a)に内結合するための共振条件を満たす局所位置を格子線に対して本質的に平行にシフトさせる、請求項34記載の光学系。

【請求項36】 請求項21記載の少なくとも二つの格子構造(c)の次元配設が励起光で同時に照射される、請求項34～35のいずれか記載の光学系。

【請求項37】 励起光が本質的に平行に照射され、本質的に単色である、請求項34～36のいずれか記載の光学系。

【請求項38】 層(a)中を誘導されるTE₀又はTM₀モードの励起のために励起光が直線偏光状態で照射される、請求項37記載の光学系。

【請求項39】 請求項21記載の少なくとも四つの格子構造(c)の次元配設が励起光で同時に照射される、請求項37～38のいずれか記載の光学系。

【請求項40】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造と、

格子導波路構造に対する励起光の入射角を変化させるための位置決め要素と、照射励起光に関して格子導波路構造の反対側に位置する透過励起光の測定のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、を含む光学系。

【請求項41】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造と、

格子導波路構造に対する励起光の入射角を変化させるための位置決め要素と、透過励起光の画像を生成するための、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置する拡散反射及び/又は拡散透過映写スクリーンと、

前記映写スクリーンから透過励起光の画像を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器と、

を含む光学系。

【請求項42】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

一定のスペクトル範囲で同調可能な少なくとも一つの励起光源と、

請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造と、

照射励起光に関して格子導波路構造の同じ側に位置する透過励起光の測定のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の

測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、
を含む光学系。

【請求項43】 前記少なくとも一つの同調可能な光源が、少なくとも5nmのスペクトル範囲で同調可能である、請求項42記載の光学系。

【請求項44】 励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

一定のスペクトル範囲で多色である少なくとも一つの励起光源と、

請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造と、

照射励起光に関して格子導波路構造の同じ側に位置する透過励起光の測定のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、
を含む光学系。

【請求項45】 前記少なくとも一つの多色発光源が、少なくとも5nmの発光帯域幅を有する、請求項44記載の光学系。

【請求項46】 前記一定のスペクトル範囲中の高スペクトル解像度のスペクトル選択的光学部品が、格子導波路構造と少なくとも一つの局所分解検出器との間の光路中に位置する、請求項44～45のいずれか記載の光学系。

【請求項47】 前記スペクトル選択的部品が、前記一定のスペクトル範囲内の種々の波長で格子導波路構造から発せられる計測光の強さ分布のスペクトル選択的な局所的に分解された二次元表現の生成に適している、請求項46記載の光学系。

【請求項48】 励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を前記多色光源から計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の同時の又は順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の又は順次の収集、及び / 又は

格子導波路構造 (c) によって内結合されたのち層 (a) 中を誘導される励起光の散乱光の同時の又は順次の収集、

により、スペクトル選択的検出によって、前記一定のスペクトル範囲内で、少なくとも一つの局所分解検出器を使用して、好ましくは格子導波路構造に対する一定の入射角での励起光の照射の下で実施される、請求項 44 ~ 47 のいずれか記載の光学系。

【請求項 49】 励起光が本質的に平行に照射される、請求項 40 ~ 48 のいずれか記載の光学系。

【請求項 50】 照射励起光が本質的に単色である、請求項 40 ~ 43 のいずれか記載の光学系。

【請求項 51】 層 (a) 中を誘導される TE_0 又は TM_0 モードの励起のために励起光が直線偏光状態で照射される、請求項 40 ~ 50 のいずれか記載の光学系。

【請求項 52】 励起光を層 (a) に内結合するための又は導波路 (層 (a)) 中を計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の順次の収集、及び / 又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集、及び / 又は

格子導波路構造 (c) によって内結合されたのち層 (a) 中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって、格子導波路構造に照射される励起光の入射角の変化によって実施される、請求項 40 ~ 51 のいずれか記載の光学系。

【請求項 53】 励起光を層 (a) に内結合するための又は導波路 (層 (a)) 中を計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって、同調可能な光源の発光波長の変化により、好ましくは励起光を一定の入射角で格子導波路構造に照射することによって実施される、請求項42~51のいずれか記載の光学系。

【請求項54】 少なくとも一つの光源からの励起光が、拡大光学部品によって可能な限り均一に本質的に明るい光束に拡大され、一以上の計測区域に照射される、請求項30~53のいずれか記載の光学系。

【請求項55】 照射される励起光束が、少なくとも一つの寸法で、少なくとも2mm、好ましくは少なくとも10mmの直径を有する、請求項54記載の光学系。

【請求項56】 少なくとも一つの光源からの励起光が、一つの回折光学要素又は光源が多数ある場合には多数の回折光学要素、好ましくはDammann格子又は屈折光学要素、好ましくはマイクロレンズ配列により、可能な限り均一な強さの個々の光線の複数に多重化され、個々の光線が、互いに対して本質的に平行に、横方向に分けられた計測区域に投射される、請求項30~52記載の光学系。

【請求項57】 少なくとも一つの光源好ましくは単色の光源からの励起光が、ビーム成形光学部品により、(光路の光軸に対して垂直な面で)スリット型断面を有し、主軸が格子線に対して平行に向いて、可能な限り均一な強さの光束に拡大され、光束の個々の光線が、格子導波路構造の面に対して平行な投射面で互いに対して本質的に平行であり、前記光束が、格子導波路構造の面に対して垂直な面で一定の収束角又は発散角で収束又は発散する、請求項30~39記載の光学系。

【請求項58】 励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を計測区域の領域でスリット型断面の照射領域内で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の同時の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって実施され、計測区域における共振条件の局所変化が、

前記計測区域からの反射光に対して本質的に平行に発せられる光の強さの最大値のシフト及び

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さの最大値のシフト及び

前記計測区域の領域で透過する光の強さの最小値のシフト

によってモニタされ(いずれの場合にも、前記計測区域における共振条件を満たす条件で)、

前記強さの最大値及び強さの最小値のシフトが、格子線に対して垂直な面であり、格子導波路構造の面に対して平行な面で起こる、請求項57記載の光学系。

【請求項59】 等しい又は異なる発光波長を有する二以上のコヒーレント光源が励起光源として使用される、請求項30~58のいずれか記載の光学系。

【請求項60】 二以上のコヒーレント光源の励起光が、異なる周期性の格子構造を重畳したのものとして設けられる格子構造(c)に異なる方向から同時に又は順次に照射される、請求項59記載の光学系。

【請求項61】 たとえばCCDカメラ、CCDチップ、フォトダイオードアレイ、アバランシェダイオードアレイ、マルチチャネルプレート及びマルチチャネル光電子増倍管を含む群の横方向分解検出器が信号検出に使用される、請求項30~60のいずれか記載の光学系。

【請求項62】 透過光束を形成するためのレンズもしくはレンズ系、光束を偏向させるための場合によってはさらに形成するための平面もしくは湾曲ミラー、光束を偏向させるための場合によってはスペクトル分離するためのプリズム、光束の部分スペクトル選択的に偏向させるためのダイクロイックミラー、透

過光の強さを調整するためのニュートラルフィルタ、光束の部分をスペクトル選択的に透過させるための光学フィルタもしくはモノクロメータ、又は励起もしくはルミネセンス光の別個の偏光方向を選択するための偏光選択要素、を含む群の光学部品が、一以上の励起光源と請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造との間、及び/又は前記格子導波路構造と一以上の検出器との間、に位置する、請求項30～61のいずれか記載の光学系。

【請求項63】 励起光が1 fsec～10 minの間隔のパルスで投射され、計測区域からの発光が時間分解的に計測される、請求項30～62のいずれか記載の光学系。

【請求項64】 励起光の投射と一以上の計測区域からの発光の検出とが、一以上の計測区域で順次に実施される、請求項30～63のいずれか記載の光学系。

【請求項65】 ミラー、偏向プリズム及びダイクロイックミラーを含む群の可動光学部品を使用して励起及び検出が順次に実施される、請求項64記載の光学系。

【請求項66】 格子導波路構造が、順次の励起及び検出の過程の間で動かされる、請求項64～65のいずれか記載の光学系。

【請求項67】 励起光を導波路に内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を、格子導波路構造上の一以上の計測区域上の少なくとも一つサンプル中の一以上の分析対象物を測定するための、前記プラットフォーム上の少なくとも二以上の計測区域(d)の配列によって局所分解測定するための光学系であって、

請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造と、

請求項30～66のいずれか記載の光学系と、

一以上のサンプルを格子導波路構造上の計測区域と接触させるための供給手段と、

を有する光学系。

【請求項68】 前記系が、格子導波路構造に向けて開口して、一以上の計測区域又はセグメントに組み合わされた計測区域の区域に少なくともあり、それ

それが好ましくは0.1nl~100 μ lの容積を有する一以上のサンプル区画をさらに含む、請求項67記載の光学系。

【請求項69】 サンプル区画が、光学的に透明な層(a)とは反対側で、サンプルの供給又は出口のための入口及び/又は出口を除いて閉じられ、サンプル及び場合によってはさらなる試薬の供給又は出口が系を通して閉鎖流で実施され、共通の入口及び出口を有するいくつかの計測区域又はセグメントへの液体供給の場合、これらの開口が好ましくは行ごと又は列ごとに指定される、請求項68記載の光学系。

【請求項70】 一以上の分析対象物の測定のための検定の間湿潤され、計測区域と接触させられる試薬のための区画が設けられている、請求項67~69のいずれかの光学系。

【請求項71】 導波路に励起光を内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の測定により、請求項34~70のいずれか記載の光学系中の請求項1~29のいずれか記載の格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定する方法であって、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を格子導波路構造上に含み、少なくとも一つの励起光源からの励起光を、前記計測区域が上に位置する格子導波路構造(c)に照射し、かつ、光を前記計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度を、透過励起光の収集のための及び/又は励起光の放射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の収集のための、少なくとも一つの局所分解検出器の信号から測定する方法。

【請求項72】 請求項21記載の格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定する方法であって、層(a)に内結合される励起光の伝播方向に対して本質的に垂直に局所的に変化する周期性を有する各格子構造(c)上に一以下の計測区域が設けられ、層(a)に内結合され層(a)中を誘導され

る励起光のさらなる伝播方向に格子導波路構造の非構造化領域が設けられ、場合によっては、層(a)中を誘導される励起光のなおさらなる伝播方向にさらなる格子構造(c)が設けられ、この最後の格子構造を使用して、前記誘導される励起光を局所分解検出器に向けて再び外結合する方法。

【請求項73】 格子構造(c)上の計測区域における分子の吸着又は脱着による、特に集団包括範囲の局所有効屈折率の変化が、前記格子構造(c)によって励起光を層(a)に内結合するための共振条件を満たす局所位置を格子線に対して本質的に平行にシフトさせる、請求項72記載の方法。

【請求項74】 請求項21記載の少なくとも二つの格子構造(c)の二次元配設を励起光で同時に照射する、請求項72～73のいずれか記載の方法。

【請求項75】 励起光が本質的に平行に照射され、本質的に単色である、請求項72～74のいずれか記載の方法。

【請求項76】 層(a)中を誘導されるTE₀又はTM₀モードの励起のために励起光を直線偏光状態で照射する、請求項75記載の方法。

【請求項77】 請求項21記載の少なくとも四つの格子構造(c)の二次元配設を励起光で同時に照射する、請求項75～76のいずれか記載の方法。

【請求項78】 導波路に励起光を内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の測定により、請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定する方法であって、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含み、少なくとも一つの励起光源からの励起光を、前記計測区域が上に位置する格子導波路構造(c)に照射し、光を前記計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度を、透過励起光の画像を生成するための、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置する拡散反射及び/又は拡散透過映写スクリーンを場合によっては使用することによって透過励起光を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器の信号から、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光を収集するための少なくとも一つ

の局所分解検出器の信号から、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器の信号から測定し、格子導波路構造に対する励起光の入射角を位置決め要素によって変化させて、局所屈折率に依存して、格子導波路構造(c)上で照射される種々の計測区域の領域で前記共振条件を種々の角度で満たす方法。

【請求項79】 励起光が本質的に平行に照射され、本質的に単色である、請求項78記載の方法。

【請求項80】 層(a)中を誘導されるTE₀又はTM₀モードの励起のために励起光を直線偏光状態で照射する、請求項79記載の方法。

【請求項81】 計測区域の領域で、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって、格子導波路構造に照射される励起光の入射角の変化によって実施する、請求項78~80のいずれか記載の方法。

【請求項82】 横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を格子導波路構造上に含み、導波路に励起光を格子導波路構造によって内結合するための又は導波路(層(a))中を誘導される光を外結合するための共振条件が、

前記計測区域の一以上で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、前記計測区域の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び/又は、計測区域の

領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小の信号を生じさせるような方法、あるいは、

計測区域の間で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、計測区域の間の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び/又は、計測区域の間の領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小の信号を生じさせるような方法で、格子導波路構造に対する励起光の入射角を調節する、請求項71記載の方法。

【請求項83】 格子導波路構造に対する励起光の調節された入射角を変化させることなく、種々の計測区域の領域中及び計測区域の間の領域中の有効屈折率の局所差を、透過励起光のための、及び/又は励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の収集のための、一以上の局所分解検出器の強さの局所差から測定する、請求項82記載の方法。

【請求項84】 少なくとも一定のスペクトル範囲で同調可能な光源から励起光を層(a)に内結合するための、又は導波路(層(a))中を計測区域の領域で誘導される光を外結合するための、共振条件の変化の局所分解測定を、透過励起光の順次の収集によって、及び/又は励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集によって、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集によって、各配置で一以上の局所分解検出器を使用し、前記少なくとも一つの同調可能な光源の発光波長を変えることにより、好ましくは格子導波路構造に対して一定の励起光入射角で実施する、請求項71記載の方法。

【請求項85】 横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を格子導波路構造上に含み、導波路に励起光を格子導波路構造によって内結

合するための又は導波路（層（a））中を誘導される光を外結合するための共振条件が、

前記計測区域の一以上で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び／又は格子導波路構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の、前記計測区域の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び／又は、計測区域の領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小の信号を生じさせるような方法、あるいは、

計測区域の間で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び／又は格子導波路構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の、計測区域の間の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び／又は、計測区域の間の領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小限の信号を生じさせるような方法で、少なくとも一つの同調可能な光源の発光波長を、好ましくは格子導波路構造に対するこの励起光の一定の入射角で調節する、請求項71記載の方法。

【請求項86】 計測区域の領域で少なくとも一定のスペクトル範囲で同調可能な多色光源から励起光を層（a）に内結合するための又は導波路（層（a））中を誘導される光の外結合のための共振条件の変化の局所分解測定を、透過励起光の収集によって、及び／又は励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集によって、及び／又は格子導波路構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の収集によって、各配置で一以上の局所分解検出器を使用し、励起光を好ましくは一定の入射角で格子導波路構造に照射して実施し、かつ、前記励起光の一定の波長に関して励起光を内結合する共振条件、又は導波路中を誘導されるこの波長の励起光を外結合する共振条件を満たすことにより、この波長の最大信号画分を、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光

に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、前記計測区域の領域からの収集のための、局所分解検出器からの信号の一部として測定し、及び/又は、この波長の最小信号画分を、計測区域の領域からの透過励起光の収集のための局所分解検出器からの信号の一部として測定する、請求項71記載の方法。

【請求項87】 前記一定のスペクトル範囲中の高スペクトル解像度のスペクトル選択的光学部品が、格子導波路構造と少なくとも一つの局所分解検出器との間の光路中に位置する、請求項86記載の方法。

【請求項88】 前記スペクトル選択的部品を使用して、前記一定のスペクトル範囲内の種々の波長で格子導波路構造から発せられる計測光の強さ分布のスペクトル選択的な局所的に分解された二次元表示を形成することができる、請求項87記載の方法。

【請求項89】 励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を前記多色光源から計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の同時の又は順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の又は順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の又は順次の収集、

により、スペクトル選択性検出によって、前記一定のスペクトル範囲内で、少なくとも一つの局所分解検出器を使用して、好ましくは格子導波路構造に対する一定の入射角での励起光の照射の下で実施する、請求項44~47のいずれか記載の方法。

【請求項90】 励起光を本質的に平行に照射する、請求項86~89のいずれか記載の方法。

【請求項91】 少なくとも一つの光源からの励起光を、一つの回折光学要素又は光源が多数ある場合には多数の回折光学要素、好ましくはDammann格子又

は屈折光学要素、好ましくはマイクロレンズ配列により、可能な限り均一な強さの個々の光線の複수에多重化し、個々の光線を、互いに対して本質的に平行に、横方向に分けられた計測区域に投射する、請求項71～90のいずれか記載の方法。

【請求項92】 少なくとも一つの光線、好ましくは単色の光源からの励起光を、ビーム形成光学部品により、（光路の光軸に対して垂直な面で）スリット型断面を有し、主軸が格子線に対して平行に向いて、可能な限り均一な強さの光束に拡大し、光束の個々の光線が、格子導波路構造の面に対して平行な投射面で互いに対して本質的に平行であり、前記光束が、格子導波路構造の面に対して垂直な面で一定の収束角又は発散角で収束又は発散する、請求項71記載の方法。

【請求項93】 前記光束の発散角又は収束角が、格子導波路構造の面に対して垂直な面で 5° 未満である、請求項92記載の方法。

【請求項94】 計測区域の領域で、スリット型断面の照射領域内で、励起光を層（a）に内結合するための又は導波路（層（a））中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の同時の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の収集、及び/又は

格子導波路構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の同時の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって実施し、計測区域における共振条件の局所変化を、

前記計測区域からの反射光に対して本質的に平行に出る光の強さの最大値のシフト及び

格子導波路構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の強さの最大値のシフト及び

前記計測区域の領域で透過する光の強さの最小値のシフト
によってモニタし（いずれの場合にも、前記計測区域における共振条件を満たす条件で）、前記強さの最大値及び強さの最小値のシフトが、格子線に対して垂直

な面であり、格子導波路構造の面に対して平行な面で起こる、請求項92～93のいずれか記載の方法。

【請求項95】 請求項34～70のいずれか記載の光学系中で、請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造上で横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記格子導波路構造上に含み、導波路に励起光を内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の測定により、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定する方法であって、

計測区域の領域で、スリット型断面の照射領域内で、前記共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の同時の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって常に同時に実施し、計測区域における共振条件の局所変化を、

前記計測区域からの反射光に対して本質的に平行に発せられる光の強さの最大値のシフト及び

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さの最大値のシフト及び

前記計測区域の領域で透過する光の強さの最小値のシフト

によってモニタし(いずれの場合にも、前記計測区域における共振条件を満たす条件で)、前記強さの最大値及び強さの最小値のシフトが、格子線に対して垂直な面であり、格子導波路構造の面に対して平行な面で起こり、

順次計測工程の間に格子導波路構造を格子線方向に対して垂直及び/又は平行に動かして、計測区域が上に設けられた格子導波路構造の全面における前記共振条件を順次に局所分解測定して、全計測区域からの計測信号を収集し、記憶し、

その記憶した信号から、格子導波路構造全体における前記共振条件の満足度の二次元表現を生成することができる方法。

【請求項96】 光を層(a)に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度を、格子構造(c)のより大きな変調深さの選択によって改善することもできるし、前記格子構造のより小さな変調深さの選択によって減らすこともできる、請求項78～95のいずれか記載の方法。

【請求項97】 光を層(a)に内結合するための共振条件を満たすための共振角の半値幅を、格子構造(c)の変調深さの減少によって減少させて、集団包括範囲の局所変化の結果として、共振条件の満足度の横方向分解測定の感度を増すこともできるし、前記格子構造の変調深さの増大によって増大させて、集団包括範囲の局所変化の結果として、共振条件の満足度の横方向分解測定の感度を減らすこともできる、請求項78～96のいずれか記載の方法。

【請求項98】 集団包括範囲及び/又は有効屈折率の差を計測区域内でも分解することができる、請求項78～97のいずれか記載の方法。

【請求項99】 等しい又は異なる発光波長の二以上のコヒーレント光源を励起光源として使用する、請求項71～98のいずれか記載の方法。

【請求項100】 測定される分析対象物分子との結合又は解離によって集団包括範囲の変化を増すため、金属コロイド(たとえば金コロイド)、プラスチック粒子もしくはビーズ又は単分散粒度分布を示す他の微粒子を含む群から選択することができる集団標識を、分析対象物分子又はその結合相手の一方に多段検定で結合させる、請求項71～99のいずれか記載の方法。

【請求項101】 測定される分析対象物分子との結合又は解離によって有効屈折率の変化を増すため、「吸収標識」を分析対象物分子又はその結合相手の一方に多段検定で結合させ、「吸収標識」が、格子導波路構造の近場で有効屈折率の変化を生じさせる適当な波長の吸収バンドを有し、吸収が屈折率の虚数部分である、請求項71～100のいずれか記載の方法。

【請求項102】 励起光を請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造の層(a)に内結合するための、又は前記層(a)中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定に加えて、層(a)中を誘導される励

起光の減衰フィールドで励起される一以上のルミネセンスを測定する、請求項71～101のいずれか記載の方法。

【請求項103】 一以上の計測区域における、分析対象物としてのリガンドの、受容体としての固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識要素への結合を有効屈折率の局所変化から測定し、前記リガンド受容体系の機能応答を、前記計測区域から発するルミネセンスの変化から測定する、請求項102記載の方法。

【請求項104】 一以上の計測区域における、受容体としての固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識要素の密度を、前記計測区域の領域における、励起光を格子導波路構造の層(a)に内結合するための、又は前記層(a)中を誘導される光を外結合するための共振条件と、環境における、すなわち前記計測区域の外の対応する共振条件との差から測定し、かつ、前記認識要素に対する分析対象物としてのリガンドの結合を、前記計測区域から発するルミネセンスの変化から測定する、請求項102記載の方法。

【請求項105】 (第一の)等方向に発されたルミネセンス、又は(第二の)光学的に透明な層(a)に内結合され、かつ、格子構造(c)によって外結合されるルミネセンス、又は両部分(第一及び第二)、を含むルミネセンスを同時に計測する、請求項102～104のいずれか記載の方法。

【請求項106】 前記ルミネセンスの生成のため、励起されることができかつ、300nm～1100nmの波長で発光する発光染料又は発光ナノ粒子をルミネセンス標識として使用する、請求項102～105のいずれか記載の方法。

【請求項107】 集団標識及び/又は蛍光標識を、分析対象物に結合するか、競合検定では、分析対象物類似体に結合するか、多工程検定では、固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識要素の結合相手の一つ又は生物学的又は生化学的又は合成認識要素に結合する、請求項100～106のいずれか記載の方法。

【請求項108】 励起波長におけるルミネセンスの一以上の測定及び/又は光信号の測定を偏光選択的に実施し、好ましくは、一以上のルミネセンスを励起光の偏光とは異なる偏光で計測する、請求項102～107のいずれか記載の

方法。

【請求項109】 抗体もしくは抗原、受容体もしくはリガンド、キレート化剤もしくは「ヒスチジンタグ成分」、オリゴヌクレオチド、DNAもしくはRNAストランド、DNAもしくはRNA類似体、酵素、酵素補因子もしくは阻害薬、レクチン及び炭水化物を含む群の一以上の分析対象物を同時又は順次に定量又は定性測定するための、請求項71～108のいずれか記載の方法。

【請求項110】 試験するサンプルが、天然の体液、たとえば血液、血清、血漿、リンパ液もしくは尿又は卵黄又は光学的に濁った液体又は表面水又は土壌又は植物抽出物又はバイオもしくはプロセスブロスであるか、生物学的組織部分から採取されるものである、請求項71～109のいずれか記載の方法。

【請求項111】 薬学的研究、コンビナトリアルケミストリー、臨床及び臨床前開発におけるスクリーニング法での化学的、生化学的又は生物学的分析対象物の測定のための、アフィニティースクリーニング及び研究における運動パラメータのリアルタイム結合研究及び測定のための、特にDNA及びRNA分析学のための分析対象物の定性及び定量測定のための、毒性発生研究及び発現プロフィールの決定ならびに医薬品研究開発、ヒト及び動物の診断、農薬製品研究開発における抗体、抗原、病原体又はバクテリアの決定のための、症候性及び前症候性植物診断、医薬品開発及び治療薬選択における患者層別化、食品及び環境分析学における病原体、有害薬剤及び細菌、特にサルモネラ、プリオン及びバクテリアの決定のための定性及び/又は定量分析のための、請求項1～29のいずれか記載の格子導波路構造及び/又は請求項30～70のいずれか記載の光学系及び/又は請求項71～110のいずれか記載の方法の使用。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

本発明は、積層光学導波路の導波層(a)に、前記層(a)中で変調される格子構造(c)によって励起光を内結合するための又は層(a)中を誘導される光を外結合するための共振条件の局所解像変化を測定することを可能にする格子導波路構造の可変性実施態様に関する。本発明のシステムは、一以上の分析対象物と同時に結合し、それらを測定するための固定化された種々の生物学的又は生化学的又は合成認識要素を有する格子導波路構造上に生成された計測区域の配列を含み、前記励起光が計測区域の配列全体に同時に照射され、光を前記計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度が同時に計測される。本発明はまた、少なくとも一つの励起光源と、少なくとも一つの局所分解検出器と、場合によっては、本発明の格子導波路構造に対する励起光の入射角を変えるための位置決め要素とを含む光学系に関する。本発明はさらに、対応する計測方法及びその使用に関する。驚くことに、本発明の方法は、高い局所解像度及び感度を有する画像検出方法として十分に適することがわかった。

【0002】

物理的パラメータ、好ましくは平面である分析される計測面上のその分布の「局所解像」測定として、前記計測区域に関する、x及びy座標の関数としての明確な値を、対応する計測に基づくこのパラメータに帰属させることができることが理解されなければならない。それに関して、せいぜい達成しうる局所解像度は、たとえば、検出系の解像度によって制限される。

【0003】

多くの分析対象物の測定のためには、現在、種々の分析対象物の測定をそのようなプレートの別個のサンプル区画又は「ウェル」の中で実施するような方法が広く適用されている。もっとも普及しているものは、約8cm×12cmのフットプリント上に8×12個のウェルを配設した、個々のウェルを充填するのに約100マイクロリットルの量が必要であるプレートである。しかし、多くの用途にとって、できるだけ少量のサンプルの塗布により、単一のサンプル区画でいくつかの分析対象物を測定することが望まれるであろう。

【0004】

米国特許第5,747,274号では、少なくとも3種の梗塞マーカのいくつかの測定によって心筋梗塞を早期認識するための計測構造及び方法が記載されている。これらのマーカの測定は、個々のサンプル区画中で又は共通のサンプル区画中で実施することができ、後者の場合の開示によると、単一の(共通の)サンプル区画が連続流路として設けられ、この一つの境界がたとえば膜によって形成され、この膜に、3種の異なるマーカに対する抗体が固定化される。しかし、このタイプのいくつかのサンプル区画に又は流路を共通の支持体上に配設するという示唆はない。さらに、計測区域のサイズに関して幾何学的情報がない。

【0005】

特許出願WO84/01031及び米国特許第5,807,755号、第5,837,551号及び第5,432,099号には、連続流が存在しない状態で、利用可能な分析対象物分子のわずか一部分と結合することにより、インキュベーション時間だけに依存し、サンプルの絶対量には本質的に依存しない分析対象物の濃度測定を実施するため、分析対象物に特異的な認識要素を、部分的に1mm²を有意に下回る面積の小さな点の形態で、固体支持体に固定化することが提案されている。関連する応用例に記載された計測構造は、従来のマイクロタイタプレートにおける蛍光法に基づく。それに関して、蛍光標識された3種までの異なる抗体が共通のマイクロタイタプレートウェルで計測される構造が記載されている。これらの特許開示で概説された理論的評価によると、点のサイズの最小化が望ましいであろう。しかし、限界として、バックグラウンド信号から区別される最小信号高さが考えられた。

【0006】

近年、より低い検出限界を達成するため、分析対象物の測定が、光学導波路中に誘導される光に関連する減衰フィールドとの相互作用に基づき、分析対象物分子の特異的認識及び結合のための生化学的又は生物学的認識要素が導波路の表面に固定化されている計測構造が数多く開発された。

【0007】

光波が、光学的により希薄な媒体、すなわちより低い屈折率の媒体によって包

囲まれた光学導波路中に結合すると、その光波は、導波層の界面における全反射によって誘導される。この構造では、電磁エネルギーの一部がより屈折率の低い媒体に浸透する。この一部がエバネッセント（減衰）フィールドと呼ばれる。減衰フィールドの強さは、導波層そのものの厚さと、導波層の屈折率とそれを包囲する媒体の屈折率との比と、に非常に大きく依存する。薄い導波路、すなわち、誘導される光の波長と同じ又はそれよりも小さい層厚さの場合、誘導される光の別個のモードを区別することができる。このような方法の利点として、分析対象物との相互作用は、隣接媒体中への減衰フィールドの浸透深さ（約100ナノメートル程度である）に限られ、バルク媒体の深さからの干渉信号をおおむね避けることができる。最初に提案されたこのタイプの計測構造は、厚さ約100マイクロメートルから数ミリメートルまでの高多重モードで自立性の単層導波路、たとえば透明なプラスチック又はガラスの繊維又はプレートに基づくものであった。

【0008】

WO94/27137には、種々の分析対象物の測定のための種々の認識要素を有する「パッチ」が自立性光学基材導波路（単層導波路）に固定化され、励起光が遠位面で内結合され（「前面」又は「遠位端」結合）、光活性化性架橋剤を使用して横方向選択的固定化が実施される計測構造が開示されている。この開示によると、いくつかのパッチを共通の平行流路又はサンプル区画に行方向に配設することができ、平行な流路又はサンプル区画は、導波路中を誘導される光の損失を避けるため、センサとして使用される導波路上の範囲の全長にわたって延びる。しかし、比較的小さな寸法のサンプル区画、すなわち1cm²を有意に下回るベース区域への多数のパッチの二次元集積の示唆はない。WO97/35203に開示された同様な構造では、種々の分析対象物の測定のための種々の認識要素が、サンプルのためのならびに低分析対象物濃度のための及び場合によってはさらに高分析対象物濃度の較正溶液のための別個の平行な流路又はサンプル区画に固定化されている構造の実施態様がいくつか記載されている。ここでもまた、供給されるサンプルのための共通の区画で種々の認識要素の高密度集積を達成する方法の示唆は与えられていない。さらには、高多重モードで自立性の単層導波路

の感度は、非常に低い検出限界の達成を要する多様な用途には十分でない。

【0009】

感度を改善すると同時に大量生産で製造しやすくするために、平面薄膜導波路が提案されている。もっとも簡単なケースでは、平面薄膜導波路は、支持材料（支持体）、導波層、スーパストレート（及び分析するサンプル）の三層系からなり、導波層が最高の屈折率を有している。さらなる中間層が平面導波路の動作をさらに改善することができる。

【0010】

励起光を平面導波路に内結合する方法がいくつか公知である。もっとも初期に使用された方法は、エアギャップによる反射を減らすため、一般には液体がプリズムと導波路との間に導入される、前面結合又はプリズム結合に基づくものであった。これら二つの方法は、主に、比較的大きな層厚さの導波路、すなわち、特に自立性の導波路及び2よりも有意に小さい屈折率の導波路に適している。しかし、励起光を高い屈折率の非常に薄い導波層に内結合するためには、結合格子の使用がはるかに洗練された方法である。

【0011】

積層光学導波路中を誘導される光波の減衰フィールドにおける分析対象物測定の方法は区別することができる。たとえば、適用される計測原理に基づく、一方には蛍光又はより一般的なルミネセンス法と、他方には屈折法と、に区別することができる。これに関して、表面プラズモン共振の発生のために投射される励起光の共振角が計測量として読まれるならば、より低い屈折率の誘電層上の薄い金属層中に表面プラズモン共振を発生させる方法を屈折法の群に含めることができる。また、表面プラズモン共振は、ルミネセンス計測で、ルミネセンスの増幅又は信号・バックグラウンド比の改善に使用することができる。表面プラズモン共振の発生ならびにルミネセンス計測及び導波構造との組み合わせの条件は、文献、たとえば米国特許第5,478,755号、第5,841,143号、第5,006,716号及び第4,649,280号に記載されている。

【0012】

本出願では、「ルミネセンス」とは、光学的又は光学的以外の励起、たとえば

電氣的又は化学的又は生化学的又は熱的な励起ののちの、紫外線から赤外線までの範囲の光子の自発的放出をいう。たとえば、ケミルミネセンス、バイオルミネセンス、エレクトロルミネセンス、特に蛍光及びリン光が「ルミネセンス」に含まれる。

【0013】

屈折計測法の場合、導波路への分子吸着又は導波路からの分子脱着から生じる有効屈折率の変化を分析対象物検出に使用する。この有効屈折率の変化は、格子カプラセンサの場合、格子カプラセンサへの光の内結合の結合角又は格子カプラセンサからの光の外結合の結合角の変化から測定され、干渉計センサの場合、干渉計の感知ブランチ中を誘導される計測光と参照ブランチ中を誘導される計測光との位相差から測定される。

【0014】

誘導波の内結合及び / 又は外結合のために一以上の結合格子を使用する現在の技術水準（一以上の結合格子による）は、たとえば、K. Tiefenthaler, W. Lukosz, "Sensitivity of grating couplers as integrated-optical chemical sensors", J. Opt. Soc. Am. B6, 209(1989); W. Lukosz, Ph. M. Nellen, Ch. Stamm, P. Weiss, "Output Grating Couplers on Planar Waveguides as Integrated, Optical Chemical Sensors", Sensors and Actuators B1, 585(1990)及びT. Tamir, S. T. Peng, "Analysis and Design of Grating Couplers", Appl. Phys. 14, 235-254(1977)に記載されている。

【0015】

米国特許第5,738,825号には、ウェルが中に延びるマイクロタイタプレートと、ベースプレートとしての薄膜導波路とを有し、後者が、透明な自立性支持体上の薄い導波膜からなる構造が記載されている。測定される分析対象物分子の吸着又は脱着によって生じる有効屈折率の変化を観察される結合角の変化から測定するため、励起光を内結合及び外結合するための回折格子が、マイクロタイタプレートのウェル及びベースプレートとしての薄膜導波路によって形成される開口したサンプル区画と接触して設けられる。しかし、サンプル区画中の格子構造に固定化された種々の認識要素に結合することによって一つのサンプル区画

内で多数の分析対象物を測定することは意図されておらず、例に記された導波路及び格子パラメータによって実現することは困難であろう。その結果、この構造によって達成することができる、互いに独立して測定される種々の分析対象物の測定のための種々の認識要素をもつ種々の計測区域の密度は、多くの用途（たとえば、少量、すなわち $< 100 \mu\text{l}$ のサンプルでの多数の異なる核酸配列の測定など）で不十分である。

【0016】

米国特許第5,991,480号には、結合条件が変化すると、その導波層中で変調される格子構造をもつセンサプラットフォームと励起光線との間の角度は変化しないが、格子導波構造における光の内結合の位置が格子線に対して本質的に平行に変化するもう一つのタイプの格子結合センサが提案されている。たとえば、この効果は、いわゆる「チャープ格子」を使用することによって達成される。「チャープ格子」は、格子線に対して本質的に平行な、格子周期の連続的変化を特徴とする。この構造は、特に、機械的位置決め要素が要らないため、計測構造（光源及び局所分解検出器を含む）を小型化する大きな潜在性の利点を有している。しかし、それに関して、光の内結合及び外結合のための「チャープ格子」をもつ別個の領域の寸法を、数平方ミリメートル未満の寸法に減らすことは困難である。

【0017】

格子導波路構造に関して、これまで分析計測法の用途をほとんど又は全く見いだしていないさらなる現象が公知である。特に、パラメータ（たとえば、格子周期及び格子深さ、光学導波路の光学的に透明な層（ a ）の厚さ及びその屈折率ならびに隣接媒体の屈折率）の適切な選択により、透過光のほぼ完全な消滅と反射光の方向に発せられる光のほぼ100%までの増加とを認めることができる。透過光の消滅と異常な「反射」（放射則に従う正反射部分と、格子構造によって外結合される光との和）の同時出現との物理的条件は、たとえば、D. Rosenblatt et al., "Resonant Grating Waveguide Structures", IEEE Journal of Quantum Electronics, Vol. 33(1997)2038-2059に記載され、説明されている。しかし、これらすべての研究では、透過光及び反射光のうち、格子構造の遠場で利用可能

である部分を物理モデルによって記載し、説明しているだけである。電磁場強度分布又は構造の表面における強さの分布に関する示唆はまったくなく、特に、共振条件で照射される結合格子上の区域内の透過又は「反射」の変化に関する示唆はない。

【0018】

前記屈折法は、マーカ分子としていわゆる分子標識を使用せずに適用することができることを特徴とする。しかし、結合格子への分子吸着又は結合格子からの分子脱着から生じる結合条件及び結合角の測定に基づく分析対象物測定に格子カプラーを使用する前記屈折計測法のいずれにも、結合格子に照射される光束内での局所分解検出に関する示唆はない。したがって、小さな区域で多数の分析対象物を測定する場合、これらの方法は、適切ではなかったか、ほとんど適切ではなかった。

【0019】

したがって、無標識分析対象物検出の利点を適用することを可能にする方法及び高密度配列上での少量のサンプル中の多数の分析対象物の測定の必要がある。

【0020】

本発明の目的は、上記に定義した測定のために高密度配列を使用する無標識分析対象物検出のための格子導波路構造、光学系及び計測方法を提供することである。

【0021】

本発明の本質では、液体サンプル中の一つ又は多数の分析対象物の認識のため、空間的に分けられた計測区域(d)が、その上に固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識要素によって占有される区域によって画定される。これらの区域は、いかなる形状、たとえば点、円、矩形、三角形、楕円又は線の形を有することもできる。それに関して、空間的に分けられた計測区域(d)は、生物学的又は生化学的又は合成認識要素を格子導波路構造に空間選択的に被着させることによって生成することができる。分析対象物又は固定化された認識要素との結合を求めて分析対象物と競合する分析対象物類似体又は多工程検定におけるさらなる結合相手が認識要素と接触すると、これらの分子は、固定化された認識要素

によって占有された区域によって画定される、格子導波路構造の表面上の計測区域だけで選択的に結合する。

【0022】

驚くことに今、本発明の格子導波路構造(GWS)、たとえば、導波層中で変調され、GWSの全面にかけて延びる格子構造を使用すると、特に、光を層(a)に内結合するための共振条件又はそれに近い条件での大面積照射(すなわち、たとえば5mmのビーム直径で)により、光の内結合のための共振条件の満足度の差、すなわち、生物学的認識要素、たとえばオリゴヌクレオチドによる、生成された計測区域として設けられる格子構造の集団包括範囲の局所差を、高い局所解像度(50µm以下)及び大きなコントラスト、すなわち集団包括範囲の差又は変化を測定するための高い感度で測定することができることがわかった。それに関して、局所解像度及びコントラストは、驚くことに、本発明の方法が、画像処理法として、展開面の集団包括範囲(数平方ミリメートルから数平方センチメートルまでの程度)の同時位相特性決定に十分適するほど良好である。たとえば、格子導波路構造に対する励起光の入射角を合間に変化させながら順次にカメラ画像(たとえば透過及び「反射」の)を撮影して異なる局所的集団包括範囲を決定して、局所的集団包括範囲に依存する種々の角度で透過の最小値又は「反射」の最大値を測定する。集団包括範囲の局所的に分解された分布は、これらの連続画像から数値的方法によって決定することができる。局所分解なしで結合条件の変化に基づく従来の分析対象物測定方法と比較すると、本発明による新規な方法は多数の利点を提供する。これらの利点は、たとえば、連続画像を一秒の何分のいくつかの間隔で、ミリ秒単位の露出時間で撮影できることによる、はるかに高い方法の速度である。さらには、先に述べた従来法に関するように、別個の計測区域の順次局所計測の合間に格子導波路構造を常に新たな計測位置に移動させなければならない場合の位置決めの再現精度の問題が解消される。もう一つの利点として、新規な方法はまた、研究される表面の種々の集団包括範囲の測定のために短い反復時間で入射角の走査を繰り返すことにより、GWS上の共通のサンプル区画内の多数の計測区域に対して同時運動計測を実施することを可能にする。

【0023】

本発明の第一の主題は、励起光を導波路に内結合するための、又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記プラットフォーム上に含む格子導波路構造であって、

第一の光学的に透明な層(a)を、層(a)よりも小さい屈折率の第二の光学的に透明な層(b)の上に有し、

励起光を計測区域(d)に向けて内結合するための、又は計測区域の領域で層(a)中を誘導される光を外結合するための一以上の格子構造(c)を有し、

前記一以上の格子構造(c)上に横方向に分けられた少なくとも一以上の計測区域(d)を有し、

前記計測区域と接触するサンプル中の一以上の分析対象物の定性及び/又は定量測定のための、前記計測区域に固定化された等しい又は異なる生物学的又は生化学的又は合成認識要素(e)を有する積層光学導波路を含み、

前記励起光が計測区域の前記配列に同時に照射され、光を前記二以上の計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度が同時に計測され、一つの計測区域から一以上の隣接計測区域まで層(a)中を誘導される励起光のクロストークが、格子構造(c)によって前記励起光を再び外結合することによって防止される格子導波路構造である。

【0024】

本発明による格子導波路構造は、励起光束を光学層(a)の計測区域の領域に内結合するための共振条件の満足度に基づき、格子構造(c)上の多数の計測区域の集団包括範囲を同時に測定することを可能にする。

【0025】

本発明の特別な主題は、励起光を導波路に内結合するための、又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含む格子導波路構造であって、

第一の光学的に透明な層(a)を、層(a)よりも小さい屈折率の第二の光学的に透明な層(b)の上に有し、

励起光を計測区域 (d) に向けて内結合するための、又は計測区域の領域で層 (a) 中を誘導される光を外結合するための一以上の格子構造 (c) を有し、

前記一以上の格子構造 (c) 上に横方向に分けられた少なくとも一以上の計測区域 (d) を有し、

前記計測区域と接触するサンプル中の一以上の分析対象物の定性及び / 又は定量測定のための、前記計測区域に固定化された等しい又は異なる生物学的又は生化学的又は合成認識要素 (e) を有する積層光学導波路を含み、

共通の格子構造 (c) 上の計測区域の密度が1平方センチメートルあたり少なくとも10個であり、前記励起光が計測区域の前記配列に同時に照射され、光を前記二以上の計測区域に向けて層 (a) に内結合するための共振条件の満足度が同時に計測され、一つの計測区域から一以上の隣接計測区域まで層 (a) 中を誘導される励起光のクロストークが、格子構造 (c) によって前記励起光を再び外結合することによって防止される格子導波路構造である。

【0026】

連続的に変調される格子構造 (c) が本質的に前記格子導波路構造の全区域に延びることが好ましい。

【0027】

光を層 (a) に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度が200 μm よりも高いことを特徴とするような、本発明の格子導波路構造の実施態様が好ましい。特に好ましいものは、光を層 (a) に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度が20 μm よりも高い実施態様である。

【0028】

光の内結合のための共振条件の対応する変化による横方向 (局所) 解像度の変化又は集団包括範囲の変化の測定の感度に重要なパラメータは、格子深さである。本発明の格子導波路構造により、格子構造 (c) のより大きな変調深さの選択によって光を層 (a) に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度を改善すること、又は前記格子構造のより小さい変調深さの選択によって横方向解像度を低くすることが可能である。同様な方法で、格子構造 (c)

の変調深さの減少により、光を層(a)に内結合するための共振条件を満たすための共振角の半値幅を減らす、又は前記格子構造の変調深さの増大により、その半値幅を増すことが可能である。

【0029】

本発明による格子導波路構造の表面の有効屈折率の変化の測定のための横方向解像度又は感度はまた、横断方向に磁氣的に偏光されるモード(TM)と横断方向に電氣的に偏光されるモード(TE)との間の選択によって本質的に実施することができる。小さな層厚さ(たとえば100nm~400nm)のせいで照射励起光の基本モード(TE₀又はTM₀、以下を参照)だけしか支持することができない屈折性の高い(たとえば屈折率>2)導波層(a)の場合、TMモードは、格子導波路構造の構造化領域(たとえば、5nm~60nmの格子深さを有する)の中で、対応するTEモード(すなわち、同じオーダのTEモード)よりも低い減衰、すなわち、より大きな伝播長を示す。これは、同様な格子深さの条件下で、横方向(局所的)解像度がTMモードを使用する場合よりも低いことを意味する。反対に、格子構造(c)によって格子導波路構造の同様な格子パラメータ(格子周期及び深さ)及び層パラメータ(屈折率及び層厚さ)で励起光を導波層(a)に内結合するための条件を満たすための共振曲線のシャープネスは、TEモードの場合よりもTMモードの場合のほうが有意に顕著である。これは、共振条件の満足度を測定するための信号強さの解像度、すなわち感度がTMモードの場合により高いことを意味する。その結果、TMモードの適用又はTEモードの適用の選択は、実際の調査作業に依存して実施しなければならない。

【0030】

本発明による格子導波路構造によって前記共振条件の変化を高い感度及び高い横方向(局所)解像度で測定するためには、計測区域の外で安定な共振条件、特に唯一の結合角を設定するため、共振条件の変化の測定の感度を実施する、指定された物理パラメータ、たとえば導波層の屈折率及び厚さならびに格子導波路構造そのもののパラメータとしての格子周期及び格子深さが、調査される配列の区域に対応する区域内でできるだけ少ししか変化しないことが望ましい。通常、同時に調査される計測区域の配列は、少なくとも2mm×2mmの大きさを有する。し

たがって、計測区域の外で、単色励起光の内結合又は外結合のための共振角が、少なくとも 4 mm^2 の区域内（区域境界の方向が格子構造（c）の線に対して平行又は非平行である）で 0.1° （平均値からの偏差として）以下しか変化しないならば、それは有利である。当然、そのような結合角の顕著な均一性をより大きな区域でも達成することができるならば、それは有利である。したがって、結合角が、少なくとも $10\text{ mm} \times 10\text{ mm}$ の区域内（区域境界の方向が格子構造（c）の線に対して平行又は非平行である）で 0.1° （平均値からの偏差として）以下しか変化しないことが好ましい。結合角が、少なくとも $50\text{ mm} \times 50\text{ mm}$ の区域内（区域境界の方向が格子構造（c）の線に対して平行又は非平行である）で 0.1° （平均値からの偏差として）以下しか変化しないならば、それは特に好ましい。

【0031】

外部条件の多数の巨視的变化が前記共振条件を実施する。光学的に透明な層（a）及び（b）の屈折率ならびに格子導波路構造と接触するサンプルの屈折率は温度の関数として変化する。したがって、本発明による格子導波路構造の温度は、適切な手段によって一定に維持されるか、制御される方法で変更又は調節することができる。

【0032】

光を内結合するための共振条件の満足度は、本発明の格子導波路構造により、種々の方法で測定することができる。本発明の一つの主題は、光を計測区域に向けて層（a）に内結合するための共振条件の満足度が、反射光（すなわち、两部分の和）に対して本質的に平行に外結合される励起光の強さから測定される格子導波路構造の実施態様である。

【0033】

もう一つの実施態様に特徴的であることは、光を計測区域に向けて層（a）に内結合するための共振条件の満足度が透過励起光の強さから測定されることである。

【0034】

さらに別の実施態様に特徴的であることは、光を計測区域に向けて層（a）に

内結合するための共振条件の満足度が、格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さから測定されることである。

【0035】

また、本発明による格子導波路構造に特徴的であることは、反射光の強さと、それに対して本質的に平行に外結合される励起光の強さとの和が、光を前記局所計測区域の領域で層(a)に内結合するための共振条件を局所的に満たすことにより、最大を示すことである。それに関して、外結合される励起光と、一つの同じ計測区域から反射される励起光とを実際には区別することはできない。理由は、両方の光は同じ場所から発して同じ方向に伝播するからである。

【0036】

同時に、透過励起光の強さは、光を前記局所計測区域の領域で層(a)に内結合するための共振条件を局所的に満たすことにより、最小を示す。さらには、格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さは、光を前記局所計測区域の領域で層(a)に内結合するための共振条件を局所的に満たすことにより、最大を示す。

【0037】

光学的導波層(a)中を誘導されるモードの伝播損失の量は、下にある支持層の表面粗さ及びこの支持層に含まれるかもしれないクロモフォアの吸収(これはさらに、層(a)中を誘導されるモードの減衰フィールドのこの支持層への浸透により、この支持層で不要なルミネセンスを励起する危険を伴う)によって多大な程度まで決まる。さらには、光学的に透明な層(a)及び(b)の熱膨張率の違いによって熱応力が発生することがある。たとえば透明な熱可塑性プラスチックからなる化学的な感受性で光学的に透明な層(b)の場合、層(b)を攻撃するかもしれない溶媒の、光学的に透明な層(a)の微小孔への浸透を防ぐことが望ましい。

【0038】

したがって、層(a)よりも低い屈折率を有し、層(a)と接触しており、厚さ5nm~10000nm、好ましくは10nm~1000nmのさらなる光学的に透明な層(b)が光学的に透明な層(a)と層(b)との間に位置するならば、そ

れは有利である。中間層の目的は、層(a)の下の表面粗さの軽減又は層(a)中を誘導される光の減衰フィールドの、下に位置する一以上の層への浸透の軽減又は下に位置する一以上の層への層(a)の付着の改善又は光学センサプラットフォーム内で熱的に誘発される応力の軽減又は層(a)の微小孔を下に位置する層に対してシールすることによる、下に位置する層からの光学的に透明な層(a)の化学的隔離である。

【0039】

本発明の格子導波路構造の格子構造(c)は、均一な周期の回折格子又は多回折格子であることができる。また、格子構造(c)は、光学的に透明な層(a)に内結合される励起光の伝播方向に関して垂直又は平行に、横方向に変化する周期性を有することが可能である。

【0040】

第二の光学的に透明な層(b)の材料は、石英、ガラス又はたとえばポリカーボネート、ポリイミドもしくはポリメチルメタクリレートを含む群の透明な熱可塑性プラスチックを含むことが好ましい。

【0041】

また、第一の光学的に透明な層(a)の屈折率が1.8よりも大きいことが好ましい。多様な材料が光学的に透明な層(a)に適している。一般論を限定することなく、第一の光学的に透明な層(a)は、 TiO_2 、 ZnO 、 Nb_2O_5 、 Ta_2O_5 、 HfO_2 又は ZrO_2 、特に好ましくは TiO_2 、 Nb_2O_5 又は Ta_2O_5 を含む群の材料を含むことが好ましい。

【0042】

光学的に透明な導波層(a)の屈折率の他にも、その厚さが、より低い屈折率の隣接層との界面でできるだけ強い減衰フィールドを発生させるための第二の重要なパラメータである。層厚さが少なくとも一つの励起波長モードを誘導するのに十分である限り、導波層(a)の厚さの減少とともに減衰フィールドの強さが増す。それに関して、モードを誘導するための最小「カットオフ」層厚さはこのモードの波長に依存する。「カットオフ」層厚さは、短めの波長の光の場合よりも長めの波長の光の場合の方が大きい。しかし、「カットオフ」層厚さに近づく

につれ、望まれない伝播損失もまた強く増大し、それにより、好ましい層厚さの選択の下限をさらに限定する。

【0043】

好ましいものは、所与の励起波長で一つから三つのモードだけを誘導することができる光学的に透明な層(a)の層厚さである。特に好ましいものは、この所与の励起波長で単モード導波路を生じさせる層厚さである。誘導される光の別個のモードの特性は横断方向モードだけに関することが理解される。

【0044】

これらの要件の結果として、第一の光学的に透明な層(a)の厚さとその屈折率との積が、層(a)に内結合される励起光の励起波長の $1/10 \sim 1$ 、好ましくは $1/3 \sim 2/3$ であることが好ましい。

【0045】

光学的に透明な導波層(a)及び隣接層の屈折率が所与であると、上記共振条件にしたがって励起光を内結合するための共振角は、内結合される回折次数、励起波長及び格子周期に依存する。一次の回折次数の内結合は、内結合効率を増すのに有利である。内結合効率の量のためには、回折次数の数の他に、格子深さが重要である。原則として、結合効率は、格子深さが増すとともに増大する。しかし、外結合の過程が内結合に対して完全に逆であるため、外結合効率が同時に増し、その結果、格子構造(c)又はそれに隣接して位置する計測区域(d)におけるルミネセンスの励起に最適な条件が得られる。この最適な条件は、計測区域及び投射される励起光束の形状に依存する。これらの境界条件に基づき、格子(c)が $200\text{ nm} \sim 1000\text{ nm}$ の周期を有し、 $3\text{ nm} \sim 100\text{ nm}$ 、好ましくは $10\text{ nm} \sim 30\text{ nm}$ の変調深さを有するならば、それは有利である。

【0046】

さらには、第一の光学的に透明な層(a)の厚さに対する変調深さの比は 0.2 以下であることが好ましい。

【0047】

すでに述べたパラメータの他に、「棒対溝比」が、内結合及び外結合の効率に影響する。たとえば矩形の格子の場合、「棒対溝比」は、格子棒の幅と格子溝の

幅との比をいう（誘導光の伝播方向に関して平行な寸法）。好ましくは、格子は0.5～2の「棒対溝比」を有する。

【0048】

それに関して、格子構造（c）は、矩形、三角形又は半円形の断面のレリーフ格子であることもできるし、本質的に平面的な光学的に透明な層（a）で屈折率の周期的な変調を有する位相格子又は容積格子であることもできる。

【0049】

また、光学系における調節の簡素化のための及び/又は分析系の一部としてのサンプル区画への接続のための光学的又は機械的に認識可能な印が格子導波路構造上に設けられるならば、それは有利であることができる。

【0050】

本発明による格子導波路構造は、一以上の供給サンプル中の一以上の分析対象物の高感度検出のための生化学的分析学における応用に特に適している。以下の好ましい態様の群は、主にこの応用分野を意図したものである。これらの応用の場合、測定する分析対象物の認識及び結合のための生物学的又は生化学的又は合成認識要素が格子導波路構造上に固定化される。固定化は、おそらくは構造全体に及び大きな区域で実施することもできるし、別個のいわゆる計測区域で実施することもできる。

【0051】

本発明の本質では、液体サンプル中の一つ又は多数の分析対象物の認識のため、空間的に分けられた計測区域（d）が、その上に固定化された生物学的又は生化学的領域又は合成認識要素によって占有される区域によって画定される。これらの区域は、いかなる形状、たとえば点、円、矩形、三角形、楕円又は線の形を有することもできる。100000個までの計測区域を本発明の格子導波路構造上に二次元配設で設けることができ、一つの計測区域が0.001mm²～6mm²の面積を占有することができる。通常、共通の格子導波路構造上の計測区域の密度は、1平方センチメートルあたり計測区域10個より多い密度、好ましくは100個より多い密度、特に好ましくは1000個より多い密度であることができる。

【0052】

また、そのフットプリントの外寸は、約8 cm×12 cmの標準マイクロタイプレート(96又は384又は1536ウェル)のフットプリントに似ていることが好ましい。

【0053】

生物学的又は生化学的又は合成認識要素を光学的に透明な層(a)に被着させる方法は数多くある。たとえば、被着は、物理的吸着又は静電氣的相互作用によって実施することができる。その場合、一般に、認識要素の向きは統計的性質である。さらには、分析対象物を含有するサンプルと、分析過程で加えられる試薬とが異なる組成を有するならば、固定化された認識要素の一部が洗い落とされる危険がある。したがって、生物学的又は生化学的又は合成認識要素の固定化のために付着促進層(f)が光学的に透明な層(a)に被着されるならば、それは有利であることができる。この付着促進層もまた、透明であるべきである。特に、付着促進層の厚さは、導波層(a)を出てその上に位置する媒体に入る減衰フィールドの浸透深さを超えるべきではない。したがって、付着促進層(a)は、200 nm未満、好ましくは20 nm未満の厚さを有するべきである。付着促進層は、たとえば、シラン、エポキシド、官能化された帯電又は極性ポリマー及び「自己組織化官能化単分子層」を含む群の化合物を含むことができる。

【0054】

生物学的又は生化学的又は合成認識要素を被着させるためには、インクジェットスポットティング、機械的スポットティング、マイクロコンタクトプリント、生物学的又は生化学的又は合成認識要素を平行又は交差マイクロチャンネルに供給し、圧力差又は電気もしくは電磁ポテンシャルを印加して計測区域と流体接触させることを含む方法の群の一以上の方法を適用することができる。

【0055】

核酸(たとえばDNA、RNA、オリゴヌクレオチド)及び核酸類似体(たとえばPNA)、抗体、アプタマー、膜結合し単離された受容体、それらのリガンド、抗体に対する抗原、「ヒスチジンタグ成分」、分子インプリントをホストするための、化学合成によって生成されたキャビティなどを含む群の成分を生物学

的又は生化学的又は合成認識要素として被着させることができる。

【0056】

最後に挙げたタイプの認識要素は、「分子インプリンティング」として文献に記載されている方法によって製造されるキャビティをいう。この手法では、大部分は有機溶液中の分析対象物又は分析対象物類似体をポリマー構造中に封入する。すると、これが「インプリント」と呼ばれる。そして、適切な試薬の添加により、分析対象物又はその類似体をポリマー構造から溶解させ、ポリマー構造中に空のキャビティを残す。そして、この空のキャビティを、分析対象物測定のための方法で、高い立体選択性をもつ結合サイトとして使用することができる。

【0057】

また、全細胞又は細胞断片を生物学的又は生化学的又は合成認識要素として被着させることもできる。

【0058】

多くの場合、いわゆる非特異的結合によって生じる信号、すなわち、分析対象物又は分析対象物測定に加えられる他の成分（たとえば、疎水性吸着又は静電的相互作用により、固定化される生物学的又は生化学的又は合成認識要素が設けられている区域で結合するだけでなく、格子導波路構造の、これらの認識要素によって占有されない区域でも結合する）の結合によって生じる信号による分析方法の検出の限界がある。したがって、非特異的結合又は吸着を最小限にするため、分析対象物に対して「化学的に中性」である化合物が横方向に分けられた計測区域（d）の間に被着されるならば、それは有利である。「化学的に中性」の化合物としては、分析対象物又は分析対象物の類似体又は多工程検定におけるさらなる結合相手の認識及び結合のための特異的結合サイトを有さず、その存在のため、分析対象物又はその類似体又はさらなる結合相手が格子導波路構造の表面にアクセスすることを阻止するような化合物がそう呼ばれる。

【0059】

たとえば、アルブミン、特にウシ血清アルブミンもしくはヒト血清アルブミン、分析されるポリヌクレオチドとでハイブリダイズしない、断片化された天然もしくは合成DNA、たとえばニシンもしくはサケ精液又は帯電していないが親水

性のポリマー、たとえばポリエチレングリコールもしくはデキストランを含む群の化合物を「化学的に中性」の化合物として被着させることができる。

【0060】

それに関して、特に、ポリヌクレオチドハイブリダイゼーション検定で非特異的ハイブリダイゼーションの低減のために適用される前述の化合物（たとえばニンシン又はサケ精液）の選択は、分析されるポリヌクレオチドにとって「異質」であり、分析されるポリヌクレオチド配列との相互作用が知られていないDNAの経験的好適さによって決定される。

【0061】

本発明のさらなる主題は、励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域（d）の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

本発明の格子導波路構造と、

照射励起光に関して格子導波路構造の反対側に位置する透過励起光の測定のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び/又は格子構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、を含む光学系である。

【0062】

特に、反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光を集めるための上記実施態様の場合、導波層（a）から反対側の光学的に透明な層（b）の面、すなわち照射励起光に関して格子導波路構造の反対側の面が反射防止コーティングを施されているならば、これは、測定される計測信号から独立して起こることができる、たとえばフレネル反射によって生じることができる混乱させる反射及び干渉現象を減らすことに役立つことができる。

【0063】

少なくとも一つの局所分解検出器を、収集される光の画分（透過励起光又は反射画分に対して平行に再び外結合される励起光）に依存して照射励起光に関して格子導波路構造の同じ又は反対側に配置することに対する前記境界条件は、光路中に適切に配置された映写スクリーンを使用することによって簡素化することができる。適切な映写スクリーンは、拡散反射性又は/及び拡散透過性であるべきである。スクリーン材料の選択に関して、その粒状度、特にその表面の粒状度が非常に重要である。大きすぎる粒状度は、コントラストの減少及びぼやけた輪郭の生成、すなわち、横方向（局所）解像度及び感度の減少に通じる。スクリーンの本体材料（たとえばテフロン（登録商標）ブロック）中の大きすぎる伝播長は、同様な不利な効果を有する。実際には、細かい粒状度の白い紙片が、照射励起光に関して格子導波路構造の反対側に配置されなければならない、十分に適した拡散反射性映写スクリーンと考えられる。この例では、少なくとも一つの局所分解検出器が、照射励起光に関して格子導波路構造の同じ側に配置される。拡散透過性映写スクリーンが使用されるとき、検出器は、格子導波路構造の両側に配置することができる。

【0064】

このような映写スクリーンはまた、好都合には、反射光に対して同じく本質的に平行に外結合される光の収集のために適用することもできる。そのような映写スクリーンを使用しないならば局所分解検出器はこの光画分の伝播方向に正確に配置しなければならないが（実際には、このような検出器の空間的寸法のせいで実現することは困難である）、このような映写スクリーンを使用することにより、位置決めに関するこれらの要件は解消される。

【0065】

照射励起光に関して格子導波路構造とは反対側で透過励起光を収集するために映写スクリーンを使用することにより、たとえば、層（a）中を誘導される光からの散乱光の収集の代替構造と比較する場合、本発明の格子導波路構造に光を内結合するための共振条件の満足度を測定するための特に良好なコントラストを達成することができる。この設計（映写スクリーンを使用する）により、たとえば、格子導波路構造の表面欠陥による、誘導される励起光の外結合によって生じる

散乱光の不利なコントラスト低下をほぼ完全に避けることができる。本質的に平行な励起光束を使用すると、この設計のさらなる利点として、感度及び/又は横方向(局所)解像度を有意に低下させることなく、格子導波路構造からの映写スクリーンの距離を広い範囲で変化させることができる。たとえば、サンプル区画の他方の反対側を形成する格子導波路構造の導波層(a)とは反対のサンプル区画の側面を映写スクリーンとして設けることもできる。

【0066】

したがって、本発明のさらなる主題は、励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

本発明の格子導波路構造と、

透過励起光の画像を生成するための、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置する少なくとも一つの拡散反射及び/又は拡散透過映写スクリーンと、

前記映写スクリーンからの透過励起光の画像を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器と、
を含む光学系である。

【0067】

一つの可能な実施態様に特徴的であることは、前記映写スクリーンからの透過励起光の画像を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器が、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側に位置するということである。

【0068】

もう一つの可能な変形として、前記映写スクリーンからの透過励起光の画像を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器が、透過励起光の側に、すなわち、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置し、それにより、前記映写スクリーンが少なくとも部分的に透過性である。

【0069】

特定の用途の場合、層(a)に内結合される励起光の伝播方向に関して本質的に垂直に局所的に変化する周期性を有する一以上の格子構造(c)を有する格子導波路構造を有する光学系の実施態様が好ましく、計測区域を超えない区域が、層(a)に内結合される励起光の伝播方向に関して本質的に垂直に局所的に変化する周期性を有する各格子構造(c)に設けられ、かつ、格子導波路構造の非構造化区域が、層(a)に内結合され、かつ、層(a)中を誘導される励起光の伝播方向に設けられ、かつ、場合によっては、さらなる格子構造(c)が、層(a)中を誘導される励起光のさらなる伝播方向に設けられ、それが、前記誘導される励起光を局所分解検出器に向けて外結合するために使用される。このような実施態様は、格子構造(c)上の計測区域における分子の吸着又は脱着により、集団包括範囲の変化、より一般的には局所有効屈折率の変化が、前記格子構造(c)によって励起光を層(a)に内結合するための共振条件を満たす局所位置を格子線に対して本質的に平行にシフトさせるような方法で設計することができる。それに関して、この段落に記載された特定の実施態様の少なくとも二つの格子構造(c)の一次元配設(層(a)に内結合される励起光の伝播方向に対して本質的に垂直に局所的に変化する周期性を有する)が励起光で同時に照射されるような本発明の光学系の実施態様が好ましい。さらには、励起光が本質的に平行に照射され、本質的に単色であることが好ましい。層(a)中を誘導されるTE₀又はTM₀モードの励起のために励起光が直線偏光状態で照射されるならば、それは特に有利である。好ましくは、多数のそのような格子構造、たとえば少なくとも四つのこのタイプの格子構造の二次元配設が常に同時に照射される。

【0070】

格子導波路構造の所与の層及び格子パラメータに関して、格子導波路構造に光を内結合するための又は格子導波路構造から光を外結合させるための共振条件を満たすための残る自由なパラメータを変化させるいくつかの可能性がある。単一モードの導波(TE₀又はTM₀)を可能にする十分に薄い導波層(a)の場合、一定の所与の波長ごとに、たとえば常に一つの十分に画定された角度(格子導波路構造の面に対して垂直な、格子線に対して平行な面に関する)があり、これに関して、関連する共振曲線のごく小さな幅(格子深さに強く依存する)で共振条

件が満たされる。したがって、照射励起光の入射角の変化が、共振条件の測定及び制御のための一つの可能なパラメータである。

【0071】

したがって、本発明のもう一つの主題は、励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

本発明の格子導波路構造と、

格子導波路構造に対する励起光の入射角を変化させるための位置決め要素と、

照射励起光に関して格子導波路構造の反対側に位置する透過励起光の測定のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、

を含む光学系である。

【0072】

すでに上記したように、収集される光の画分(透過励起光又は反射画分に対して本質的に平行に再び外結合される励起光)に依存して照射励起光に関して格子導波路構造の同じ側又は反対側に位置する少なくとも一つの局所分解検出器の配置に関する指定要件は、光路中に適切に配置される映写スクリーンを使用することによって簡素化することができる。

【0073】

したがって、本発明のさらなる主題は、励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

少なくとも一つの励起光源と、

本発明の格子導波路構造と、

格子導波路構造に対する励起光の入射角を変化させるための位置決め要素と、透過励起光の画像を生成するための、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置する拡散反射及び/又は拡散透過映写スクリーンと、前記映写スクリーンから透過励起光の画像を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器とを含む光学系である。

【0074】

機械的に動く部品はしばしば比較的高い程度の損耗を示すため、系において機械的に動く部品を避けて、できるだけ少ない保守管理しか要らないようにすることが望ましいことがしばしばある。加えて、高度に正確な機械的位置決めに要する時間は無視できない。所与の系パラメータのための代替解決方法として、共振条件を満たすための適切な角度に近く調節されることが好ましい、格子導波路構造に対する照射励起光の一定の所与の入射角により、照射励起波長を変化させることが可能である。

【0075】

好ましい実施態様は、励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系であって、

一定のスペクトル範囲で同調可能な少なくとも一つの励起光源と、
本発明の格子導波路構造と、

照射励起光に関して格子導波路構造の同じ側に位置する透過励起光の測定のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、
を含む光学系である。

【0076】

所与の格子導波路構造の場合、その特別なパラメータから依存して、結合角の

変化及び照射励起光の変化の十分に画定された等価物がある。たとえば150nm五酸化タンタル ($n = 633\text{nm}$ で2.15) をガラス ($n = 633\text{nm}$ で1.52、320nm周期の格子構造 (格子深さは通常10nm~20nm) 上に含む格子導波路構造の場合、 0.2° の結合角の変化が、内結合される横断方向に電氣的に偏光された光の場合で、内結合される波長の 0.2° の変化に相当することができる。このような構造の場合、完全なタンパク質単分子層の被着の結果として生じる結合角の変化は同じオーダーの大きさである。

【0077】

前記少なくとも一つの同調可能な光源が、少なくとも1nmのスペクトル範囲で同調可能であることが好ましい。

【0078】

前記少なくとも一つの同調可能な光源が、少なくとも5nmのスペクトル範囲で同調可能であるならば、特に有利である。

【0079】

前記少なくとも一つの同調可能な光源は、たとえばレーザダイオードであることができる。

【0080】

もう一つの可能な代替として、前記一定のスペクトル範囲で同調可能である単色光源の代わりに、一定のスペクトル範囲内で多色である、好ましくはこの範囲内で連続的なスペクトルを有する光源を使用することができる。片側で、そのような多色光源を光路中でスペクトル的に高分解性の光学部品と組み合わせ、それらをいっしょにして前記態様と同様に適用することにより、ほぼ単色の同調可能な励起光を再び発することが可能である。他方の側でも、前記スペクトル範囲の多色を同時に格子導波路構造に照射することが可能である。

【0081】

したがって、本発明のもう一つの主題は、励起光を導波路に内結合するための又は導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を局所分解測定するための、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域 (d) の配列を前記プラットフォーム上に含む光学系の実施態様であって、

一定のスペクトル範囲で多色である少なくとも一つの励起光源と、
本発明の格子導波路構造と、

照射励起光に関して格子導波路構造の同じ側に位置する透過励起光の測定のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の測定のための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の測定のための、少なくとも一つの局所分解検出器と、
を含む光学系の実施態様である。

【0082】

この場合もまた、前記少なくとも一つの多色光源が少なくとも一つの1nmの発光帯域幅を有することが好ましい。前記少なくとも一つの多色発光光源が、少なくとも5nmの発光帯域幅を有するならば、それは特に有利である。

【0083】

結果として、多色光源を有するこのような本発明の光学系に基づく計測方法のいくつかの可能な態様を以下さらに記載する。

【0084】

前記一定のスペクトル範囲中の高スペクトル解像度のスペクトル選択的光学部品が、格子導波路構造と少なくとも一つの局所分解検出器との間の光路中に位置することを特徴とするような本発明の光学系の実施態様が好ましい。それに関して、前記スペクトル選択的部品が、前記一定のスペクトル範囲内の異なる波長で格子導波路構造から発せられる計測光の強さ分布のスペクトル選択的な局所的に分解された二次元表現の生成に適しているならば、それは有利である。

【0085】

特に好ましいものは、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を多色光源から計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の同時の又は順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の又は順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の又は順次の収集、
により、スペクトル選択的検出によって、前記一定のスペクトル範囲内で、少なくとも一つの局所分解検出器を使用して、好ましくは格子導波路構造に対する一定の入射角での励起光の照射の下で実施されるような、多色光源を有する本発明の光学系の実施態様である。

【0086】

本発明の光学系の多くの実施態様の場合、励起光は本質的に平行に照射されることが好ましい。「本質的に平行な」光束とは、その収束又は散開が 1° 未満であることをいう。相応に、「本質的に直交する」又は「本質的に垂直」とは、対応する直交又は垂直な向きからの偏差が 1° 未満であることをいう。

【0087】

大部分の用途(多色光源に基づくものは除く)では、照射励起光が本質的に単色であることが好ましい。「本質的に単色」の励起光とは、そのスペクトル帯域幅が1nm未満であることをいう。

【0088】

さらには、励起光は、層(a)中を誘導される TE_0 又は TM_0 モードの励起のために直線偏光状態で照射されることが好ましい。

【0089】

本発明の主題は、特に、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集、
により、一以上の局所分解検出器によって、格子構造に照射される励起光の入射角の変化によって実施されるような光学系の実施態様である。

【0090】

たとえば、照射励起光に関する格子導波路の回転移動を実施するために位置決め要素によって入射角を変化させることができる他に、このような入射角の変化はまた、光路中で格子導波路構造から離れたところに位置する光機械的部品、たとえば可動ミラー又はプリズムを使用することによって実施することもできる。それに関して、角度又は局所位置の非常に小さな変化を実施するために、ピエゾアクチュエータによって駆動される部品が特に適している。

【0091】

特に、機械的に動く部品を避けるため、本発明の光学系のもう一つの実施態様に特徴的であることは、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって、同調可能な光源の発光波長の変化により、好ましくは励起光を一定の入射角で格子導波路構造に照射することによって実施されることである。

【0092】

上記した本発明の光学系の実施態様の場合、少なくとも一つの光源からの励起光を拡大光学部品によって可能な限り均一に本質的に明るい光束に拡大し、一以上の計測区域に照射することが好ましい。照射される励起光束が、少なくとも一つの寸法で、少なくとも2mm、好ましくは少なくとも10mmの直径を有するならば、それは有利である。

【0093】

もう一つの好ましい実施態様に特徴的であることは、少なくとも一つの光源からの励起光を、一つの回折光学要素又は光源が多数ある場合には多数の回折光学

要素、好ましくはDammann格子又は屈折光学要素、好ましくはマイクロレンズ配列により、可能な限り均一な強さの個々の光線の複数に多重化し、個々の光線を、互いに対して本質的に平行に、横方向に分けられた計測区域に投射することである。

【0094】

本発明の光学系のもう一つの実施態様に特徴的であることは、少なくとも一つの光源好ましくは単色の光源からの励起光が、ビーム成形光学部品により、(光路の光軸に対して垂直な面で)スリット型断面を有し、主軸が構成線に対して平行に向いて可能な限り均一な強さの光束に拡大され、光束の個々の光線が、格子導波路構造の面に対して平行な投射面で互いに対して本質的に平行であり、前記光束が、格子導波路構造の面に対して垂直な面で一定の収束角又は発散角で収束又は発散することである。

【0095】

それに関して、前記光束の収束角又は発散角が、格子導波路構造の面に対して垂直な(直交、垂直)面で 5° 未満の値を有することが好ましい。

【0096】

前記光束の前記収束角又は発散角が格子導波路構造の面に対して垂直な(直交、垂直な)面で 1° 未満の値を有するならば、特に好ましい。

【0097】

本発明のそのような光学系に特徴的であることは、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を計測区域の領域でスリット型断面の照射領域内で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定が、

透過励起光の同時の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって実施され、計測区域における共振条件の局所変化が、

前記計測区域からの反射光に対して本質的に平行に発せられる光の強さの最大値のシフト及び

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さの最大値のシフト及び

前記計測区域の領域で透過する光の強さの最小値のシフトによってモニタされ(いずれの場合にも、前記計測区域における共振条件を満たす条件で)、前記強さの最大値及び強さの最小値のシフトが、格子線に対して垂直な面であり、格子導波路構造の面に対して平行な面で起こることである。

【0098】

また、このような光学系に関しては、前記共振条件の変化、ひいては前記計測区域の領域における有効屈折率の変化の程度を前記強さの最大値及び強さの最小値の前記シフトの程度から測定することができることが特徴的である。

【0099】

特定の用途の場合、等しい又は異なる発光波長を有する二以上のコヒーレント光源を励起光源として使用することが好ましい。

【0100】

二以上の異なる励起波長を加えるような用途では、二以上のコヒーレント光源の励起光が、異なる周期性の格子構造を重畳したものとして設けられる格子構造(c)に異なる方向から同時に又は順次に照射されるような光学系の実施態様が好ましい。

【0101】

たとえばCCDカメラ、CCDチップ、フォトダイオードアレイ、アバランシェダイオードアレイ、マルチチャネルプレート及びマルチチャネル光電子増倍管を含む群の横方向分解検出器を信号検出に使用することが好ましい。

【0102】

本発明によると、光学系は、透過光束を形成するためのレンズもしくはレンズ系、光束を偏向させるための、場合によってはさらに形成するための平面もしくは湾曲ミラー、光束を偏向させるための、場合によってはスペクトル分離するためのプリズム、光束の部分をスペクトル選択的に偏向させるためのダイクロイッ

クミラー、透過光の強さを調整するためのニュートラルフィルタ、光束の部分をスペクトル選択的に透過させるための光学フィルタもしくはモノクロメータ、又は励起もしくはルミネセンス光の別個の偏光方向を選択するための偏光選択要素、を含む群の光学部品が、一以上の励起光源と本発明の格子導波路構造との間、及び/又は前記格子導波路構造と一以上の検出器との間、に位置することを特徴とするような実施態様を含む。

【0103】

励起光を1 fsec ~ 10 minの間隔のパルスで投射し、計測区域からの発光を時間分解的に計測することが可能である。このような実施態様はまた、特に、異なる計測区域中の認識要素に対する一以上の分析対象物の結合を局所分解的にリアルタイムで観察することを可能にする。時間分解的に収集される信号から、対応する結合速度を測定することができる。この機会は、たとえば、対応する固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識要素に対する種々のリガンドの親和力の比較を可能にする。それに関して、そのような固定化された認識要素の結合相手がこの文脈で「リガンド」と呼ばれる。

【0104】

励起光の投射と一以上の計測区域からの発光の検出とは、一以上の計測区域で順次に実施することが可能である。これは、特に、ミラー、偏向プリズム及びダイクロイックミラーを含む群の可動光学部品を使用して励起及び検出を順次に実施することによって実現することができる。

【0105】

また、本発明の一部は、本質的に焦点及び角度保存的なスキャナを使用して励起及び検出が順次に実施されるような光学系である。また、格子導波路構造を順次の励起及び検出の過程の間で動かすことが可能である。

【0106】

本発明のさらなる部分は、励起光を導波路に内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化を、格子導波路構造上の一以上の計測区域上の少なくとも一つのサンプル中の一以上の分析対象物を測定するための、前記プラットフォーム上の少なくとも二以上の計測区域(d)の配列

によって局所分解測定するための光学系であって、
本発明の格子導波路構造と、
本発明及び上記実施態様のいずれかの光学系と、
一以上のサンプルを格子導波路構造上の計測区域と接触させるための供給手段
と
を有する光学系である。

【0107】

以下、供給手段によって達成される光学系を分析系とも呼ぶ。

【0108】

分析系が、格子導波路構造に向けて開口して一以上の計測区域又はセグメント
に組み合わされた計測区域の区域に少なくともあり、それぞれが好ましくは0 .
1 nl ~ 100 µlの容積を有する一以上のサンプル区画をさらに含むことが好ま
しい。

【0109】

本発明の分析系の温度は、適切な手段によって一定に維持することもできるし
、制御される方法で変更し、調節することができることが好ましい。この温度制
御及び調整の好ましい可能性はまた、本発明及び上記実施態様のいずれかの格子
導波路構造の他に、前記サンプル区画、その供給手段ならびに場合によっては設
けられるサンプル及び/又は試薬のための貯蔵区画ならびに場合によっては本発
明の分析及び光学系で適用するための貯蔵位置を含む。

【0110】

本発明の分析系の可能な実施態様は、サンプル区画が、光学的に透明な層 (a
) とは反対側で、サンプルの供給又は出口のための入口及び/又は出口を除いて
閉じられ、サンプル及び場合によってはさらなる試薬の供給又は出口が系を通し
て閉鎖流で実施され、共通の入口及び出口を有するいくつかの計測区域又はセグ
メントへの液体供給の場合、これらの開口が好ましくは行ごと又は列ごとに指定
されることにある。

【0111】

もう一つの可能な実施態様に特徴的であることは、サンプル区画が、サンプル

又は他の試薬の場所指定供給又は除去のための開口を光学的に透明な層（a）とは反対の側に有するということである。

【0112】

本発明の分析系のさらなる態様では、一以上の分析対象物の測定ための検定の間に湿潤され、計測区域と接触させられる試薬のための区画が設けられるような方法で設計されている。

【0113】

本発明のさらなる主題は、導波路に励起光を内結合するための共振条件の変化の測定により、上記実施態様のいずれかの格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び／又は定量測定する方法であって、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域（d）の配列を前記プラットフォーム上に含み、少なくとも一つの励起光源からの励起光を、前記計測区域が上に位置する格子導波路構造（c）に照射し、かつ、光を前記計測区域に向けて層（a）に内結合するための共振条件の満足度を、照射励起光に関して格子導波路構造の反対側にある透過励起光の収集のための、及び／又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び／又は格子構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の収集のための、少なくとも一つの局所分解検出器の信号から測定する方法である。

【0114】

また、本発明の主題は、導波路に励起光を内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の測定により、本発明の光学系における上記実施態様のいずれかの格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び／又は定量測定する方法であって、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域（d）の配列を格子導波路構造上に含み、少なくとも一つの励起光源からの励起光を、前記計測区域が上に位置する格子導波路構造（c）に照射し、かつ、光を前記計測区域に向けて層（a）に内結合するための共振条件の満足度を

、透過励起光の収集のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集するための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の収集のための、少なくとも一つの局所分解検出器の信号から測定する方法である。

【0115】

本発明のさらなる主題は、光学的に透明な層(a)中に結合される励起光の伝播方向に対して本質的に垂直に横方向に変化する周期性を有する格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定する方法であって、層(a)に内結合される励起光の伝播方向に対して本質的に垂直に局所的に変化する周期性を有する各格子構造(c)上に一以下の計測区域が設けられ層(a)に内結合され、層(a)中を誘導される励起光のさらなる伝播方向に格子導波路構造の非構造化領域が設けられ、場合によっては、層(a)中を誘導される励起光のなおさらなる伝播方向にさらなる格子構造(c)が設けられ、この最後の格子構造を使用して、前記誘導される励起光を局所分解検出器に向けて再び外結合する方法である。

【0116】

このような方法に特徴的であることは、格子構造(c)上の計測区域における分子の吸着又は脱着による、特に集団包括範囲の局所有効屈折率の変化が、前記格子構造(c)によって励起光を層(a)に内結合するための共振条件を満たす局所位置を格子線に対して本質的に平行にシフトさせることである。このタイプの少なくとも二つの格子構造(c)の一次元配設が励起光で同時に照射されることが好ましい。好ましくは、励起光は本質的に平行に照射され、本質的に単色である。それに関して、層(a)中を誘導されるTE₀又はTM₀モードの励起のために励起光が直線偏光状態で照射されるならば、それは有利である。このタイプの少なくとも四つの格子構造(c)の二次元配設が励起光で同時に照射されることが特に好ましい。

【0117】

また、本発明の特別な主題は、導波路に励起光を内結合するための共振条件の変化の測定により、本発明の格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定する方法であって、横方向に分けられた少なくとも四以上の計測区域(d)の二次元配列を前記プラットフォーム上に含み、少なくとも一つの励起光源からの励起光を、前記計測区域が上に位置する格子導波路構造(c)に照射し、光を前記計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度を、照射励起光に関して格子導波路構造の反対側にある透過励起光の収集のための、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の収集のための、少なくとも一つの局所分解検出器の信号から測定し、格子導波路構造に対する励起光の入射角を位置決め要素によって変化させて、局所屈折率に依存して、格子導波路構造(c)上で照射される種々の計測区域の領域で前記共振条件を種々の角度で満たす方法である。

【0118】

好ましいものは、導波路に励起光を内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の測定により、上記実施態様のいずれかの格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定する方法であって、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を前記プラットフォーム上に含み、少なくとも一つの励起光源からの励起光を、前記計測区域が上に位置する格子導波路構造(c)に照射し、光を前記計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度を、透過励起光の画像を生成するための、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の反対側に位置する拡散反射及び/又は拡散透過映写スクリーンを場合によっては使用することによって透過励起光を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器の信号から、及び/又は励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光を収集するための少なくとも一つの局所分解検出

器の信号から、及び/又は格子構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光を収集するための少なくとも一つの局所分解検出器の信号から測定し、格子導波路構造に対する励起光の入射角を位置決め要素によって変化させて、局所屈折率に依存して、格子導波路構造(c)上で照射される種々の計測区域の領域で前記共振条件を種々の角度で満たす方法である。

【0119】

ここでもまた、励起光が本質的に平行に照射され、本質的に単色であることが好ましい。それに関して、層(a)中を誘導されるTE₀又はTM₀モードの励起のために励起光を直線偏光状態で照射するならば、それは特に有利である。

【0120】

本発明の方法のもう一つの好ましい実施態様に特徴的であることは、計測区域の領域で、励起光を層(a)に内結合するための共振条件の変化の局所分解測定を、

照射励起光に関して格子導波路構造の反対側にある透過励起光の順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって、格子導波路構造に照射される励起光の入射角の変化によって実施することである。

【0121】

本発明の方法のもう一つの好ましい実施態様に特徴的であることは、計測区域の領域で、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起

光の散乱光の順次の収集、
により、一以上の局所分解検出器によって、格子導波路構造に照射される励起光の入射角の変化によって実施することである。

【0122】

それに関して、透過励起光の画像を、照射励起光に関して格子導波路構造の反対側に位置する拡散反射性及び/又は拡散透過性の映写スクリーン上に生成し、この画像を少なくとも一つの局所解像検出器によって記録することが好ましい。

【0123】

この方法の特に好ましい実施態様に特徴的であることは、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を格子導波路構造上に含む導波路に励起光を格子導波路構造によって内結合するための又は導波路(層(a))中を誘導される光を外結合するための共振条件が、

前記計測区域の一以上で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、前記計測区域の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び/又は、計測区域の領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小の信号を生じさせるような方法、あるいは、

計測区域の間で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、計測区域の間の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び/又は、計測区域の間の領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小の信号を生じさせるような方法で、格子導波路構造に対する励起光の入射角を調節することである。

【0124】

それに関して、励起光で照射される格子導波路構造の領域で共振条件を満たす

ための差が結合角の共振曲線の半値幅よりも小さいならば、計測光の強さと共振条件の満足度との明確な関係（前記領域から記録した光の強さに関する）を導出することができる。その結果、たとえば格子導波路構造に対する入射角を変化させるか、照射波長を変化させることによる共振曲線の順次記録は不必要であり、一つの画像を記録することにより、共振条件の局所満足度、ひいては局所有効屈折率に関する情報を得ることができる。

【0125】

したがって、格子導波路構造に対する励起光の調節された入射角を変化させることなく、種々の計測領域の領域中及び計測領域の間の領域中の有効屈折率の局所差を、透過励起光のための、及び/又は励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の収集のための、一以上の局所分解検出器の強さの局所差から測定することが好ましい。

【0126】

本発明の方法のもう一つの好ましい実施態様に特徴的であることは、少なくとも一定のスペクトル範囲で同調可能な光源から励起光を層(a)に内結合するための、又は導波路(層(a))中を計測領域の領域で誘導される光を外結合するための、共振条件の変化の局所分解測定を、透過励起光の順次の収集、及び/又は励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の順次の収集によって、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の順次の収集によって、各配置で一以上の局所分解検出器を使用し、前記少なくとも一つの同調可能な光源の発光波長を変えることにより、好ましくは格子導波路構造に対して励起光の一定の入射角で実施することである。

【0127】

共振条件の局所差の測定のため、結合角を変化させる代わりに同調可能な光源の発光波長を変化させることは、機械的可動部品を避ける顕著な利点を有する。この方法はまた、低めのシステム費用でより高い解像度を得る潜在能力の有意な

利点を提供する。たとえば一般的な市販のレーザダイオードの場合、発光レーザ波長を、作動のために供給される電流によって非常に正確に制御することができる。たとえば、非常に正確に調節可能な励起波長の生成は、光機械的部品による角度の高分解角度調節及び計測によりもはるかに費用効果的であることができる。

【0128】

前記少なくとも一つの同調可能な光源は、少なくとも1 nmのスペクトル範囲で同調させることができることが好ましい。

【0129】

前記少なくとも一つの同調可能な光源を少なくとも5 nmのスペクトル範囲で同調させることができるならば、それは特に有利である。

【0130】

前記少なくとも一つの同調可能な光源は、たとえばレーザダイオードであることができる。

【0131】

方法のもう一つの好ましい実施態様に特徴的であることは、透過励起光の画像を、格子導波路構造に関して格子導波路構造の同じ側にある拡散反射性及び/又は拡散透過性の映写スクリーン上に生成し、この画像を少なくとも一つの局所解像検出によって収集することである。

【0132】

方法のもう一つの好ましい実施態様に特徴的であることは、横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域(d)の配列を格子導波路構造上に含み、導波路に励起光を格子導波路構造によって内結合するための又は導波路(層(a))中を誘導される光を外結合するための共振条件が、

前記計測区域の一以上で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、前記計測区域の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び/又は、計測区域の

領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小の信号を生じさせるような方法、あるいは、

計測区域の間で本質的に満たされて、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、計測区域の間の領域からの収集のための、局所分解検出器から本質的に最大の信号を生じさせる、及び/又は、計測区域の間の領域から透過励起光を収集するための局所分解検出器から本質的に最小の信号を生じさせるような方法で、少なくとも一つの同調可能な光源の発光波長を、好ましくは格子導波路構造に対するこの励起光の一定の入射角で調節することである。

【0133】

それに関して、励起光で照射される格子導波路構造の領域で共振条件を満たすための差が結合波長の共振曲線の半値幅よりも小さいならば(入射角は固定されているが、励起波長は可変性である場合の結合角ではなく)、同じく、計測光の強さと共振条件の満足度との明確な関係(前記領域から記録した光強さに関する)を導出することができる。その結果、たとえば照射波長を変化させることによる共振曲線の順次記録は不必要であり、一つの画像を記録することにより、共振条件の局所満足度、ひいては局所有効屈折率に関する情報を得ることができる。

【0134】

したがって、同調可能な光源の発光波長を変化させることなく、種々の計測区域の領域中及び計測区域の間の領域中の有効屈折率の局所差を、透過励起光及び/又は励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の収集のための一以上の局所分解検出器の強さの局所差から測定することが好ましい。

【0135】

上記した本発明の方法の実施態様の場合、励起光が本質的に平行に照射され、本質的に単色であることが好ましい。また、層(a)中を誘導されるTE₀又はTM₀モードの励起のために励起光を直線偏光状態で照射することが好ましい。

【0136】

本発明の方法のもう一つの実施態様に特徴的であることは、計測区域の領域で少なくとも一定のスペクトル範囲で同調可能な多色光源から励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を誘導される光の外結合のための共振条件の変化の局所分解測定を、透過励起光の収集によって、及び/又は励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集によって、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の収集によって、各配置で一以上の局所分解検出器を使用し、励起光を好ましくは一定の入射角で格子導波路構造に照射して実施し、かつ、前記励起光の一定の波長に関して励起光を内結合する共振条件、又は導波路中を誘導されるこの波長の励起光を外結合する共振条件を満たすことにより、この波長の最大信号画分を、励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のための、及び/又は格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の、前記計測区域の領域からの収集のための、局所分解検出器からの信号の一部として測定し、及び/又は、この波長の最小信号画分を、計測区域の領域からの透過励起光の収集のための、局所分解検出器からの信号の一部として測定することである。

【0137】

ここでもまた、前記少なくとも一つの多色光源は、少なくとも1nmの発光帯域幅を有することが好ましい。前記少なくとも一つの多色光源が少なくとも5nmの発光帯域幅を有するならば、特に有利である。

【0138】

前記一定のスペクトル範囲中の高スペクトル解像度のスペクトル選択的光学部品が、格子導波路構造と少なくとも一つの局所分解検出器との間の光路中に位置するような、多色光源を使用する本発明の方法の実施態様が好ましい。それに関して、前記スペクトル選択的部品が、前記一定のスペクトル範囲内の種々の波長で格子導波路構造から発せられる計測光の強さ分布のスペクトル選択的な局所的に分解された二次元表示の形成に適しているならば、それは有利である。

【0139】

この設計により、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を前記多色光源から計測区域の領域で誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の同時の又は順次の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の又は順次の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の又は順次の収集、

により、スペクトル選択性検出によって、前記一定のスペクトル範囲内で、少なくとも一つの局所分解検出器を使用して、好ましくは格子導波路構造に対する一定の入射角での励起光の照射の下で実施する本発明の実施態様が可能になる。

【0140】

上記の多色光源を使用する本発明の方法の実施態様の場合、励起光を本質的に平行に照射することが好ましい。

【0141】

本発明の方法の多様な実施態様の場合、少なくとも一つの光源からの励起光を拡大光学部品によって本質的に明るい光束に可能な限り均一に拡大し、一以上の計測区域に照射することが好ましい。それに関して、照射される励起光束が、少なくとも一つの寸法で、少なくとも2mm、好ましくは少なくとも10mmの直径を有することが好ましい。

【0142】

本発明の方法のもう一つの実施態様に特徴的であることは、少なくとも一つの光源からの励起光を、一つの回折光学要素又は光源が多数ある場合には多数の回折光学要素、好ましくはDammann格子又は屈折光学要素、好ましくはマイクロレンズ配列により、可能な限り均一な強さの個々の光線の複数に多重化し、個々の光線を、互いに対して本質的に平行に、横方向に分けられた計測区域に投射することである。

【0143】

横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域の配列を前記プラットフォーム(d)上に含む本発明の光学系において、励起光を導波路に内結合するための又は前記導波路中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の測定により、本発明及び上記実施態様のいずれかの格子導波路構造上の横方向に分けられた少なくとも二以上の計測区域上の一以上のサンプル中の一以上の分析対象物を定性及び/又は定量測定するための本発明の方法のもう一つの実施態様に特徴的であることは、少なくとも一つの好ましくは単色の光源からの励起光を、ビーム成形光学部品により、スリット型断面(光路の光軸に対して垂直な面で)を有し、主軸が格子線に対して平行に向く可能な限り均一な強さの光束に拡大し、光束の個々の光線が、格子導波路構造の面に対して平行な投射面で互いに対して本質的に平行であり、前記光束が、格子導波路構造の面に対して垂直な面で一定の収束角又は発散角で収束又は発散する。

【0144】

それに関して、前記光束の発散の収束角が、格子導波路構造の面に対して垂直な面で 5° 未満であることが好ましい。

【0145】

前記光束の発散の前記収束角が格子導波路構造の面に対して垂直な面で 1° 未満であるならば、特に好ましい。

【0146】

本発明のそのような光学系に特徴的であることは、計測区域の領域で、スリット型断面の照射領域内で、励起光を層(a)に内結合するための又は導波路(層(a))中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の同時の収集、及び/又は

励起光の照射の側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって実施し、計測区域における共振条件の

局所変化を、

前記計測区域からの反射光に対して本質的に平行に出る光の強さの最大値のシフト及び

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さの最大値のシフト及び

前記計測区域の領域で透過する光の強さの最小値のシフト
によってモニタし(いずれの場合にも、前記計測区域における共振条件を満たす条件で)、前記強さの最大値及び強さの最小値のシフトが、格子線に対して垂直な面であり、格子導波路構造の面に対して平行な面で起こることである。

【0147】

また、この方法に特徴的であることは、前記共振条件の変化、ひいては屈折率の変化の程度を前記計測区域の領域における強さの最小値及び最大値の前記シフトの程度から測定することができることである。

【0148】

本発明の方法はまた、計測区域の領域で、スリット型断面の照射領域内で、前記共振条件の変化の局所分解測定を、

透過励起光の同時の収集、及び/又は

励起光の照射側に関して格子導波路構造の同じ側にある反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の同時の収集、及び/又は

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の同時の収集、

により、一以上の局所分解検出器によって常に同時に実施し、計測区域における共振条件の局所変化を、

前記計測区域からの反射光に対して本質的に平行に発せられる光の強さの最大値のシフト及び

格子導波路構造(c)によって内結合されたのち層(a)中を誘導される励起光の散乱光の強さの最大値のシフト及び

前記計測区域の領域で透過する光の強さの最小値のシフト
によってモニタし(いずれの場合にも、前記計測区域における共振条件を満たす

条件で)、前記強さの最大値及び強さの最小値のシフトが、格子線に対して垂直な面であり、格子導波路構造の面に対して平行な面で起こり、

順次計測工程の間に格子導波路構造を格子線方向に対して垂直及び/又は平行に動かして、計測区域が上に設けられた格子導波路構造の全面における前記共振条件を順次に局所分解測定して、全計測区域からの計測信号を収集し、記憶し、その記憶した信号から、格子導波路構造全体における前記共振条件の満足度の二次元表示を形成することができる実施態様を含む。

【0149】

本発明及び上記実施態様の方法に関して、光を層(a)に内結合するための共振条件の満足度を測定するための横方向解像度を、格子構造(c)のより大きな変調深さの選択によって増すこともできるし、前記格子構造のより小さな変調深さの選択によって減らすこともできることが特徴的である。

【0150】

また、本発明の方法に関して、光を層(a)に内結合するための共振条件を満たすための共振角の半値幅を、格子構造(c)の変調深さの減少によって減少させて、集団包括範囲の局所変化、より一般的には有効屈折率の局所変化の結果として、共振条件の満足度の横方向分解測定の感度を増すこともできるし、前記格子構造の変調深さの増大によって増大させて、集団包括範囲の局所変化、より一般的には有効屈折率の局所変化の結果として、共振条件の満足度の横方向分解測定の感度を減らすこともできる。

【0151】

感度の改善、すなわち結合角の共振曲線の半値幅の減少にとって、層(a)中を誘導される TM_0 モードの励起のために励起光が直線偏光状態で照射されるならば、特に有利であることができる。理由は、通常、 TM_0 モードの励起のための共振角は、導波層(a)の同様な格子深さ及び厚さでは、5~10の因数、すなわち、 TM_0 モードの励起のための半値幅よりもこの係数分だけ小さい対応する半値幅によってより鋭く画定されるからである。

【0152】

本発明の方法の好ましい実施態様に特徴的であることは、光を計測区域に向け

て層(a)に内結合するための共振条件の満足度を、反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の強さから(すなわち、両画分の合計から)測定することである。

【0153】

方法のもう一つの好ましい実施態様に特徴的であることは、光を計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の満足度を透過励起光の強さから測定することである。

【0154】

最後に記載した二つの実施態様の最初の方に関して特徴的であることは、光を計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の局所的満足度を、反射光の強さと、それに対して本質的に平行に再び外結合される光の強さ(この二つの光画分は前記計測区域から出る)との和の最大値から測定することである。

【0155】

最後に記載した二つの実施態様の第二の方に関して特徴的であることは、光を計測区域に向けて層(a)に内結合するための共振条件の局所的満足度を、この計測区域における透過励起光の強さの最小値から測定することである。理想的な場合には、透過励起光の強さは、ほぼゼロまで低下することができる。

【0156】

本発明の方法のいくつかの実施態様は、特に集団包括範囲の有効屈折率の差を計測区域内でも分解することができることを特徴とする。したがって、格子カプラに基づく画像処理法を使用すると、驚くことに、分析対象物測定のための蛍光検出に基づく現状で最高のスキャナの局所解像度と競合しうる局所(横方向)解像度を達成することができる。

【0157】

本発明の方法のもう一つの実施態様に関して、等しい又は異なる発光波長の二以上のコヒーレント光源を励起光源として使用することが好ましい。

【0158】

上述したように、本発明の方法の有意な利点は、標識(分析対象物又はその相手に結合されるマーカ分子)の適用が原則的に不要であるということである。し

かし、感度の改善のためには、測定される分析対象物分子との結合又は解離によって集団包括範囲の変化を増すため、金属コロイド（たとえば金コロイド）、プラスチック粒子もしくはビーズ又は単分散粒度分布を示す他の微粒子を含む群から選択することができる集団標識を、分析対象物分子又はその結合相手の一方に多段検定で結合させる、方法の変形が有利であることができる。

【0159】

本発明の方法はまた、測定される分析対象物分子との結合又は解離によって有効屈折率の変化を増すため、「吸収標識」を分析対象物分子又はその結合相手の一方に多段検定で結合させる実施態様を含む。「吸収標識」は、格子導波路構造の近場で有効屈折率の変化を生じさせる適当な波長の吸収バンドを有し、吸収は、屈折率の虚数部分である。屈折率に対する一定の波長における吸収の効果を波長の関数として計算する数学的／物理的方法は文献から公知である。

【0160】

本発明の方法のさらなる変形に特徴的であることは、励起光を本発明の格子導波路構造の層（a）に内結合するための又は前記層（a）中を誘導される光を外結合するための共振条件の変化の局所分解測定に加えて、層（a）中を誘導される励起光の減衰フィールドで励起される一以上のルミネセンスを測定することである。

【0161】

有効屈折率の局所（横方向）分解測定又は局所解像ルミネセンス計測の組み合わせ画像処理方法としてのこの進歩は、たとえば、一以上の計測区域における、分析対象物としてのリガンドの、受容体としての固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識要素への結合を有効屈折率の局所変化から測定し、前記リガンド受容体系の機能応答を、前記計測区域から出るルミネセンスの変化から測定することを可能にする。

【0162】

前記受容体リガンド系は、たとえば、膜貫通受容体タンパク質であることができ、このタンパク質に対し、供給されたサンプルに含まれる対応するリガンドが結合する。たとえば、この受容体リガンド系の機能応答は、pH又はノ及びイオ

ン濃度の局所変化を招くイオンチャネルの開放からなることができる。このような局所変化は、たとえば、pH依存性又は/及びイオン依存性のルミネセンス強さ及び/又はスペクトル発光を示す発光染料の使用によって起こすことができる。

【0163】

本発明のこの組み合わせ計測法はまた、たとえば、一以上の計測区域における、受容体としての固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識の密度を、前記計測区域の領域における、励起光を格子導波路構造の層(a)に内結合するための又は前記層(a)中を誘導される光を外結合するための共振条件と、環境における、すなわち前記計測区域の外の対応する共振条件との差から測定し、かつ、前記認識要素に対する分析対象物としてのリガンドの結合を、前記計測区域から発するルミネセンスの変化から測定することを可能にする。

【0164】

それに関して、(第一の)等方向に発されたルミネセンス、又は(第二の)光学的に透明な層(a)に内結合され、かつ、格子構造(c)によって外結合されるルミネセンス、又は両部分(第一及び第二)を含むルミネセンスを同時に計測することが可能である。

【0165】

また、前記ルミネセンスの生成のため、励起されることができ、かつ、300 nm ~ 1100 nmの波長で発光する発光染料又は発光ナノ粒子をルミネセンス標識として本発明の方法に使用することができる。

【0166】

ルミネセンス又は蛍光標識は、従来のルミネセンス又は蛍光染料であってもよいし、半導体に基づくいわゆる発光又は蛍光ナノ粒子であってもよい(W. C. W. Chan及びS. Nieの"Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection", Science 281(1998) 2016-2018)。

【0167】

集団標識及び/又はルミネセンス標識は、分析対象物に結合することもできるし、競合検定では、分析対象物類似体に結合することもできるし、多工程検定で

は、固定化された生物学的又は生化学的又は合成認識要素の結合相手の一つ又は生物学的又は生化学的又は合成認識要素に結合することもできる。

【0168】

さらには、励起波長におけるルミネセンスの一以上の測定及び/又は光信号の測定を偏光選択的に実施するならば、それは有利であることができ、好ましくは、一以上のルミネセンスを、励起光の偏光とは異なる偏光で計測する。

【0169】

本発明及び上記実施態様のいずれかの方法は、抗体もしくは抗原、受容体もしくはリガンド、キレート化剤もしくは「ヒスチジンタグ成分」、オリゴヌクレオチド、DNAもしくはRNAストランド、DNAもしくはRNA類似体、酵素、酵素補因子もしくは阻害薬、レクチン及び炭水化物を含む群の一以上の分析対象物の同時又は順次の定量又は定性測定を可能にする。

【0170】

試験するサンプルは、天然の体液、たとえば血液、血清、血漿、リンパ液もしくは尿又は卵黄であることができる。

【0171】

しかし、試験するサンプルはまた、光学的に濁った液体、表面水、土壌又は植物抽出物又はバイオもしくはプロセスブロスであることができる。

【0172】

試験するサンプルはまた、生物学的組織部分から採取することができる。

【0173】

本発明のさらなる主題は、薬学的研究、コンビナトリアルケミストリー、臨床及び臨床前開発におけるスクリーニング法での化学的、生化学的又は生物学的分析対象物の測定のための、アフィニティースクリーニング及び研究における運動パラメータのリアルタイム結合研究及び測定のための、特にDNA及びRNA分析学のための分析対象物の定性及び定量測定のための、毒性発生研究及び発現プロフィールの決定ならびに医薬品研究開発、ヒト及び動物の診断、農薬製品研究開発における抗体、抗原、病原体又はバクテリアの決定のための、症候性及び前症候性植物診断、医薬品開発及び治療薬選択における患者層別化、食品及び環境

分析学における病原体、有害薬剤及び細菌、特にサルモネラ、プリオン及びバクテリアの決定のための、本発明の格子導波路構造及び/又は本発明の光学系及び/又は本発明の分析系及び/又は本発明及び上記実施態様のいずれかの方法の使用である。

【0174】

以下の適用例によって本発明をより詳細に説明し、例示する。

【0175】

例1

a) 格子導波路構造

幅16mm×長さ48mm×厚さ0.7mmの外寸の格子導波路構造を使用した。基板の材質(光学的に透明な層(b))は、AF45ガラス(633nmでの屈折率 $n = 1.52$)からなるものであった。層(b)をホログラフィー照射したのち、格子線がセンサプラットフォームの指定幅に対して平行に向く状態でエッチングすることにより、周期360nm及び格子深さ 25 ± 5 nmの表面レリーフ格子の連続構造を基板中に生成しておいた。光学的に透明な層(b)上の光学的に透明な Ta_2O_5 の導波層(a)は、反応性磁場支持DCスパッタリング(DE4410258を参照)によって生成しておき、633nmで2.15の屈折率(層厚さ150nm)を有するものであった。633nmの励起光を、構造に対して垂直な線に関して約 $+3^\circ$ の角度で層(a)中に結合した(外結合した)。

【0176】

生化学的又は生物学的又は合成認識要素の固定化の準備として、格子導波路構造を清浄し、エポキシシラン(オルト-キシロール500ml中10ml(2%v/v)3-グリシジルオキシプロピルトリメトキシシラン及び1ml(2%v/v)N-エチルジイソプロピルアミン)によって液相中でシラン化した(70で7時間)。次に、市販のスポット(Genetic Microsystems 417 Arrayer)を使用して、18マーオリゴヌクレオチド(5'-CCGTAACCTCATGATT-3'-NH₂)(18*-NH₂)の溶液を16×8スポット(8行×16列)2列に被着した(スポットあたり50pl)。被着した溶液の濃度は 5×10^{-8} M 18*-NH₂であり、約1pg/mm²に対応する約60000Da/μm²の計測区

域として、生成されたスポット（直径約125 μm 、中心間距離370 μm ）の集団包括範囲を得た。

【0177】

b) 光学系

出力1.1mWのヘリウムネオンレーザー（Melles-Griot、05-LHP-901）を励起光源として使用した。内結合条件でのTE₀モードの励起のため、レーザーの偏光を格子導波路構造の格子線に対して平行に向けた。レーザービームをビーム拡大光学部品によって7倍に拡大し、直径5mmのダイアフラムに通して、拡大されたレーザービームの外側の弱めの画分を排除し、外部回折効果を排除した。そして、透過した光画分の計測中の検出器の飽和を回避するため、ニュートラルフィルタ（ND4.7）を使用してレーザー光を強力に減衰した。レーザー光を、減衰後の出力が20nWであった光学的に透明な層（b）の側（AF45ガラスからなる基板側）に向けた。

【0178】

格子導波路構造を手動調節式ゴニオメータに取り付けて、励起光の光軸に対して本質的に垂直な面で、センサプラットフォームに対する励起光の入射角の変更を可能にした。格子線は、格子導波路構造の面に入る励起光の投射に対して垂直な向きであった。

【0179】

Kodak CCDチップKAF 0401 E-1を備えたペルチェ冷却のCCDカメラ（Ultra Pixx 0401E、Astrocam、英国Cambridge）を局所分解検出器として使用した。励起光が光学的に透明な導波層（a）を通過した後の透過光の局所（横方向）分解測定のために、透過光がカメラの入口レンズに対して本質的に垂直に当たるようにカメラを調節した。

【0180】

c) 計測方法及び結果

計測工程は、さらなるサンプル区画又はさらに供給される試薬を使用することなく空気中で実施した。計測区域を有しない格子導波路構造の領域（計測区域ではない）における共振条件の満足を、透過光のほぼ完全な消滅によってモニタし

(図1 a)、同じ計測条件で、計測区域における共振条件の不満足を、そこで有意に増大した透過信号によってモニタした(図1 a及び二つの計測区域からの信号の線形断面を示す図1 b)。強いコントラスト及び高い局所(横方向)解像度は、図1 bから考えられる、最大集団包括範囲を計測区域の中心あたりに有する計測区域内の不均一な集団包括範囲(適用される被着方法に基づいて予測される)をこの計測方法によって分解することができるという観察結果と同様、非常に驚くものであった。同じく非常に驚くことは、 1 pg/mm^2 の集団包括範囲における差違(スポットの領域及び周辺領域の間)を優れたコントラストで区別する異常に高い感度であった。

【0181】

さらには、驚くことに、共振条件を満たすための結合角のマッチングを光透過の局所最小値によって観察することもできることがわかった(図2 a及び2 b: 図には、二つのスポットがそれらの距離「 $370 \mu\text{m}$ 」の表記によって示されている)。図2 aで認めることができる強い干渉回折効果から明らかであるように、光学系はこの計測のために全く最適化されていなかったため、この観察結果は驚くものであった(これらの干渉回折効果は、本発明による格子導波路構造の物理的效果によって生じるものでもないし、本発明による光学系によって生じるものでもなく、使用した設備の暫定的な特性による)。

【0182】

例2

a) 格子導波路構造

幅 16 mm ×長さ 48 mm ×厚さ 0.7 mm の外寸の格子導波路構造を使用した。基板の材料(光学的に透明な層(b))は、AF45ガラス(633 nm での屈折率 $n = 1.52$)からなるものであった。同じく、格子線がセンサプラットフォームの指定幅に対して平行に向く状態で、周期 360 nm 及び格子深さ 25 nm の表面レリーフ格子の連続構造を基板中に生成しておいた。光学的に透明な層(b)上に続いて被着させた光学的に透明な Ta_2O_5 の導波層(a)は、 532 nm で 2.137 の屈折率(層厚さ 150 nm)を有するものであった。 532 nm の励起光を、構造に対して垂直な線に関して約 $+14.3^\circ$ の角度で層(a)中に結合(外

結合)できた。

【0183】

生化学的又は生物学的又は合成認識要素の固定化の準備として、格子導波路構造を清浄した。次に、市販のスポット (GeSIM) を使用して、清浄した五酸化タンタル表面にNeutrAvidin (商標) の溶液を 3×3 スポット (3行 \times 3列) で被着した (スポットあたり500pl)。それに関して、被着した溶液の濃度は 1.7×10^{-8} M NeutrAvidin (商標) であり、約 4 ng/mm^2 の計測区域として、生成されたスポット (直径約 $430 \mu\text{m}$ 、中心間距離 1 mm) の集団包括範囲を得た。

【0184】

b) 光学系

出力 10 mW のダイオードポンプ式周波数二倍増 Nd Y a g レーザ (Laser 2000) を励起光源として使用した。内結合条件での TE_0 モードの励起のため、レーザの偏光を格子導波路構造の格子線に対して垂直に向けた。レーザビームをビーム拡大光学部品によって7倍に拡大し、幅 4 mm のスリットに通して、拡大したレーザビームの外寄りの弱めの画分を排除し、外部回折効果を排除した。レーザ光を光学的に透明な層 (b) の側 (AF 45 ガラスからなる基板側) に向けた。

【0185】

格子導波路構造を手動調節式ゴニオメータに取り付けて、格子線が格子導波路構造の面に入る励起光の投射に対して垂直に向くような方法で、センサプラットフォームに対する励起光の入射角の変更を可能にした。透過励起光の画像を生成するため、低い粒状度の非常に目の細かい白い紙1枚を、照射励起光に関して格子導波路構造の反対側に映写スクリーンとして取り付けた。透過励起光の光路がほぼ完全に平行であったため、映写スクリーンと、それに対して本質的に平行に向けられた格子導波路構造との距離は、有意なコントラストの損失又は輪郭のゆがみを起こすことなく、広い範囲で好都合に選択することができた。

【0186】

Kodak CCDチップKAF 0401 E-1を備えたペルチェ冷却のCCDカメラ (Ultra Pixx 0401E、Astrocam、英国Cambridge) を局所分解検出器として使用した。

前記映写スクリーン上の画像を記録することによる透過励起光の局所（横方向）分解測定のため、及び／又は格子構造（c）によって内結合されたのち層（a）中を誘導される励起光の散乱光の収集のため、及び／又は反射光に対して本質的に平行に再び外結合される光の収集のために、カメラを、励起光の照射方向に関して格子導波路構造の同じ側に取り付けた。

【0187】

c) 計測方法及び結果

計測工程は、さらなるサンプル区画又はさらに供給される試薬を使用することなく空気中で実施した。それに関して、計測区域における内結合と、格子構造の非被覆領域における内結合との間で、層（a）に内結合するための共振条件を満たすための結合角の 0.124° の差を測定した。

【0188】

前記映写スクリーン上の画像の記録及び照射励起光に関して格子導波路構造の同じ側へのカメラの配置による、透過励起光の局所（横方向）分解計測の計測方法の結果を図3に示す。

【0189】

ここでもまた、計測区域を有しない格子導波路構造の領域（計測区域ではない）における共振条件の満足を、透過光のほぼ完全な消滅によってモニタし（角度 14.3° 、図3及び図3Bの左側部分）、同じ計測条件で、計測区域における共振条件の不満足を、3倍に増大した透過信号によってモニタした（図3B及び図3Bの左側部分）。

【0190】

図3Cは、逆転した状況、すなわち、計測区域の領域で光を層（a）に内結合するための共振条件を満たして（ 14.424° の角度で、図3の左を参照）この角度で計測区域の領域で光の最小透過を生じさせ、残りの領域で共振条件を満たさず最大透過を生じさせる状況を示す。図3Cから、暗く写る計測区域の外部境界の内部及びそれに近い、円に近い輪郭の点線として認識可能である観察可能な同心の明るめの領域から、これらの条件（横断方向に磁氣的に偏光されたモードの励起）の下でも、局所（横方向）解像度がスポット直径よりも十分に低いこ

とが明らかである。スポット内の異なる明るさの領域は、局所的に吸着又は固定化されたタンパク質及び認識要素の量の幾何学的不均一さをモニタした。固定化された認識要素の配列の作成によるそのような不均一さの出現は、専門の文献から公知である。同じ波長及び同じセンサプラットフォームのための横断方向に磁氣的に偏光された励起光の代わりに横断方向に電氣的に偏光された励起光を使用すると（図示せず）、高い局所（横方向）解像力がさらに顕著に認められた。

【0191】

例3：計測区域の配列に対応する区域上の光の内結合又は外結合のための共振角度の均一さ

例1 aと同様な所与の層及び格子パラメータを有する格子導波路構造（その全面で変調される格子を有する）を使用した。x及びy方向（x：格子線に対して垂直、y：格子線に対して平行）における結合角の変化を、場合によってはそのような構造上に生成される計測区域の配列の典型的なベース区域に相当する5 mm × 5 mmの面で調査した。

【0192】

ヘリウムネオンレーザ（633 nm、ビーム直径0.8 mm）からの平行励起光束を、光を構造の層（a）に内結合するための共振角に近い角度で向けた。入射角を、共振角の前後約1°からの角度範囲で、小さな段階（たとえば0.02°の段間隔）で変化させた。それに関して、各段で、格子構造によって内結合されたのち層（a）中を誘導される光の散乱光の強さをレンズ系として収集し、集積する局所（横方向）非分解検出器としての光電子増倍管に合焦させた。特に、散乱光の望ましくない効果を避けるため、検出器に結像される格子導波路構造の区域の大きさを、中間画像の面に位置するダイアフラム（この例では、直径1 mmの丸い穴）によって制限できた。光を層（a）に内結合するための共振条件を満たすための最適な調節を最大値 I_r によってモニタした。さらには、 I_r の共振曲線から、対応する共振曲線の半値幅を結合角の関数として測定した。

【0193】

格子導波路構造の指定区域上の、それぞれ1 mm（計測間隔 = 1）の中心間隔で位置する25（5 × 5）の計測位置に関して上記計測法を実施した。定義し

た x / y ピッチ中の種々の計測位置に関して測定された共振角を表 1 にまとめる。共振角の平均値 (この例では 2.15°) からの偏差は、区域全体で 0.06° を超えなかった。

【0194】

【表 1】

計測位置 No.	x-方向 (間隔 $\Delta = 1 \text{ mm}$)				
	1	2	3	4	5
y-方向 ($\Delta = 1 \text{ mm}$)					
1	2.15	2.09	2.19	2.25	2.11
2	2.13	2.11	2.19	2.21	2.13
3	2.15	2.13	2.19	2.25	2.15
4	2.09	2.11	2.21	2.19	2.13
5	2.07	2.13	2.19	2.09	2.15

【0195】

表 1 : 格子導波路構造 (その上に位置する計測区域の生成のため) 上の $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ の平方区域における光の最適な内結合及び外結合のための共振角の可変性

【図面の簡単な説明】

【図 1 a】

計測区域を有しない格子導波路構造の領域 (計測区域ではない) における共振条件の満足を、透過光のほぼ完全な消滅によってモニタした図である。

【図 1 b】

二つの計測区域からの信号の線形断面を示す図である。

【図 2 a】

強い干渉回折効果を示す図である。

【図 2 b】

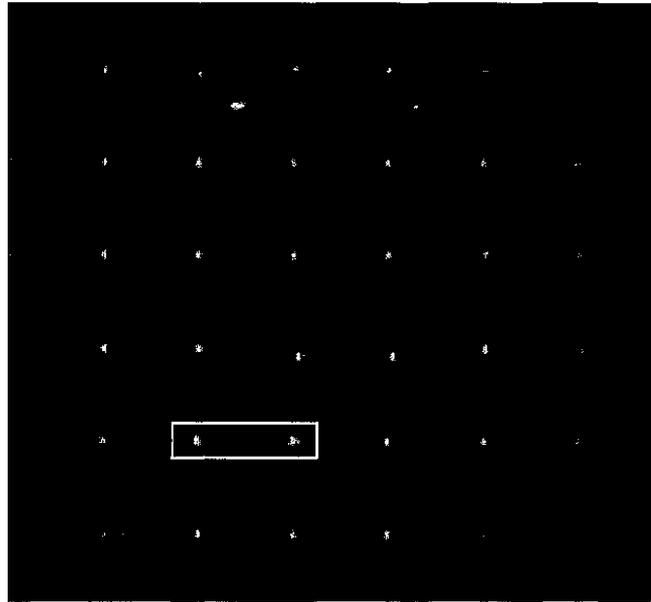
光透過の局所最小値を示す図である。

【図 3】

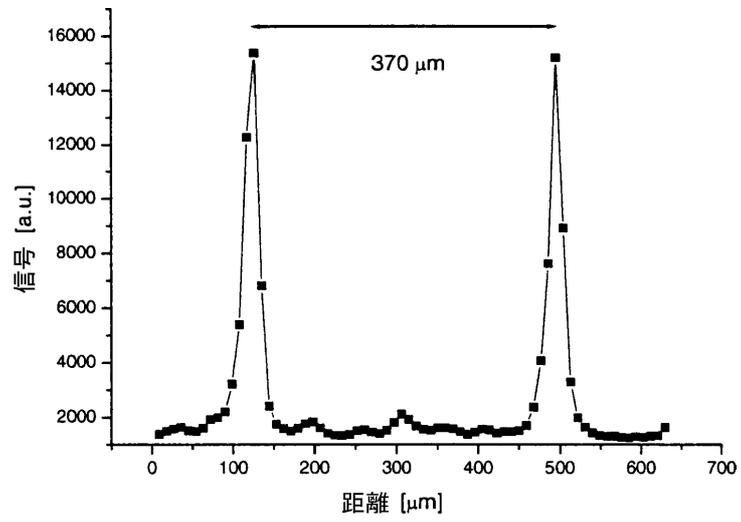
透過励起光の局所 (横方向) 分解計測の計測方法の結果を示す図である。

【図1 a】

Fig. 1a

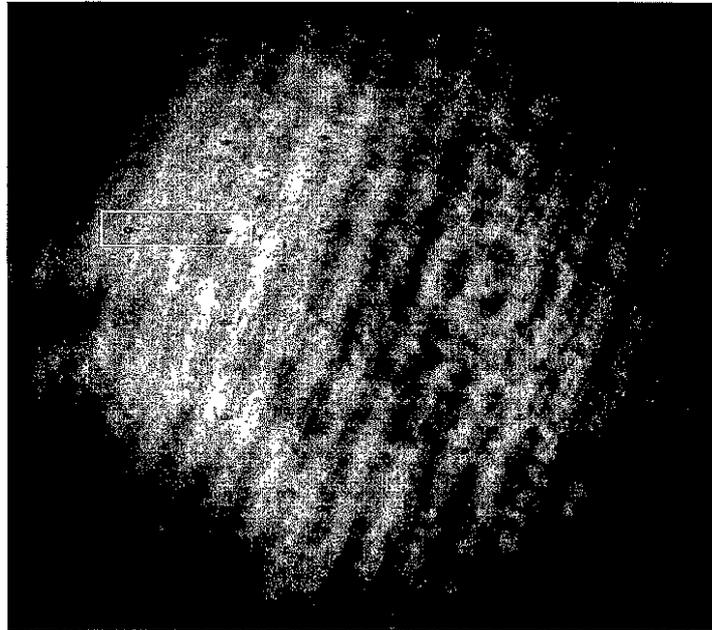


【図1 b】

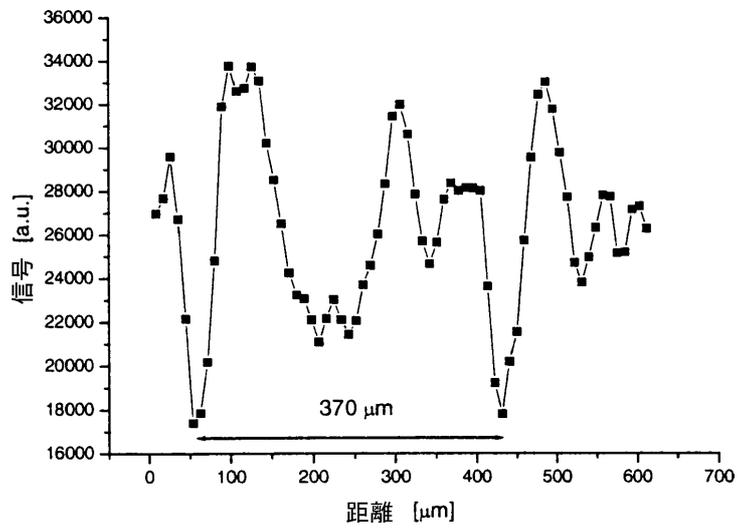


【図2a】

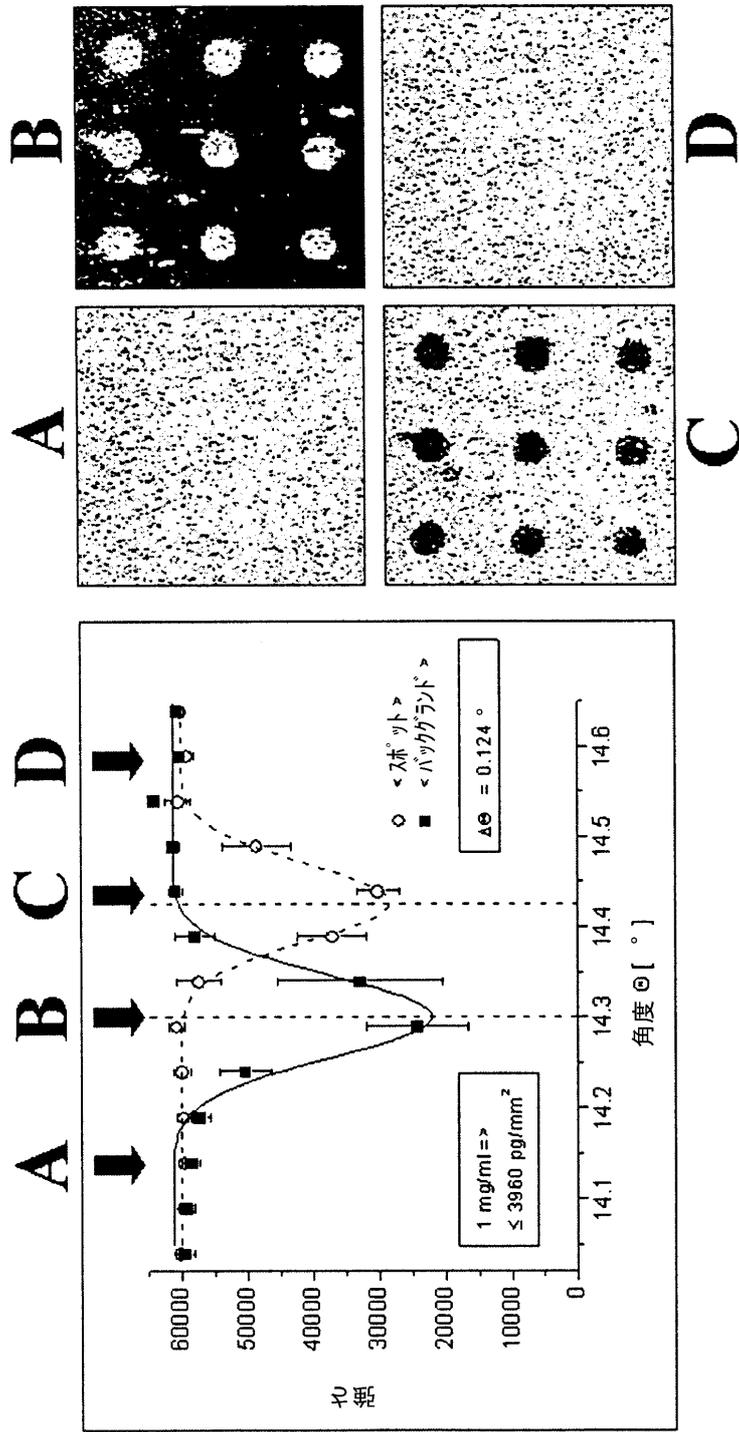
Fig. 2a



【図2b】



【図3】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Inter Application No PCT/EP 01/00605
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N21/77 G01N33/543		
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 7 G01N		
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 practical, search terms used) EPC-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 442 169 A (KUNZ RINO E) 15 August 1995 (1995-08-15) column 4, line 44 -column 8, line 62	1,2,30, 31, 40-42, 44,67, 71,72, 78,95, 111
A	WO 99 13320 A (TIEFENTHALER KURT ;ARTIFICIAL SENSING INSTR ASI A (CH)) 18 March 1999 (1999-03-18) page 9, line 6 -page 11, line 9 -/-	1,2,30, 31, 40-42, 44,67, 71,72, 78,95, 111
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document 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 26 April 2001		Date of mailing of the International search report 04/05/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer De Buyzer, H

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter	application No
PCT/EP 01/00605	

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 22799 A (CIBA GEIGY AG ; HELG ANDREAS (CH); OROSZLAN PETER (CH); BRUNO ALFRE) 28 May 1998 (1998-05-28) cited in the application claim 1	1
A	US 5 738 825 A (PFEFFERKORN ROLAND ET AL) 14 April 1998 (1998-04-14) cited in the application the whole document	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter
pication No
PCT/EP 01/00605

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5442169 A	15-08-1995	AT 145725 T	15-12-1996
		CA 2086338 A	27-10-1992
		WO 9219976 A	12-11-1992
		DE 59207589 D	09-01-1997
		EP 0538425 A	28-04-1993
WO 9913320 A	18-03-1999	EP 1012580 A	28-06-2000
WO 9822799 A	28-05-1998	EP 0843172 A	20-05-1998
		EP 0843173 A	20-05-1998
		AU 6291498 A	10-06-1998
		EP 0938656 A	01-09-1999
		US 6198869 B	06-03-2001
US 5738825 A	14-04-1998	DE 69420375 D	07-10-1999
		DE 69420375 T	18-05-2000
		EP 0660924 A	05-07-1995
		JP 8504955 T	28-05-1996
		WO 9503538 A	02-02-1995

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/566	
	33/566		
	37/00		1 0 1
//(C 1 2 Q 1/04		C 1 2 R 1:42	
C 1 2 R 1:42)		C 1 2 N 15/00	A

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

(72)発明者 ドゥフエネク, ゲルト
ドイツ国、79189 パート・クロツインゲン、エツマッテンヴェーク 34

(72)発明者 ポップ, マルティン
スイス国、ツェーハー - 4053 パーゼル、ブルンマッットシュトラッセ 5

Fターム(参考) 2G059 AA01 AA05 BB12 CC16 EE02
EE05 EE12 GG01 GG04 GG10
JJ02 JJ11 JJ17 JJ19 KK01
KK02 KK04 PP04
4B024 AA11 CA01 HA11
4B063 QA01 QA18 QQ06 QQ42 QQ52
QS39

专利名称(译)	用于测量多种分析物的光栅波导结构及其应用		
公开(公告)号	JP2003533692A	公开(公告)日	2003-11-11
申请号	JP2001584856	申请日	2001-01-19
[标]申请(专利权)人(译)	ZEPTOSENS		
申请(专利权)人(译)	Tsueputozensu股份公司		
[标]发明人	パウラクミヒヤエル エーラートマルクス ドゥフェネクゲルト ポップマルティン		
发明人	パウラク,ミヒヤエル エーラート,マルクス ドゥフェネク,ゲルト ポップ,マルティン		
IPC分类号	G01N33/53 C12N15/09 C12Q1/04 C12Q1/68 C12R1/42 G01N21/27 G01N21/77 G01N33/543 G01N33/566 G01N37/00		
CPC分类号	G01N21/7743 G01N33/54373		
FI分类号	G01N21/27.C C12Q1/04 C12Q1/68.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 G01N37/00.101 C12R1/42 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	2G059/AA01 2G059/AA05 2G059/BB12 2G059/CC16 2G059/EE02 2G059/EE05 2G059/EE12 2G059/GG01 2G059/GG04 2G059/GG10 2G059/JJ02 2G059/JJ11 2G059/JJ17 2G059/JJ19 2G059/KK01 2G059/KK02 2G059/KK04 2G059/PP04 4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/HA11 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ06 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QS39		
优先权	2000000888 2000-05-06 CH 2000002095 2000-10-26 CH		
其他公开文献	JP2003533692A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种层压光波导的波导层 (a)，用于将泵浦光引入在层 (a) 中调制的或在层 (a) 中进行引导的光栅结构 (c)。本发明涉及光栅光波导结构的可修改实施例，该光栅光波导结构允许测量共振条件的局部解析变化以提取发射的光。本发明的系统具有多种固定的生物或生化或合成识别元件，用于同时结合并测量分别在其上制造的一种或多种分析物。包含一系列测量区域。同时将激发光施加到整个测量区域阵列，并同时在测量区域中测量将光引入层 (a) 的共振条件的满足性。本发明还包括一种光学系统，该光学系统包括至少一个激发光源，至少一个局部分辨的检测器以及可选地用于改变激发光在本发明的光栅光波导结构上的入射角的定位元件。关于本发明还涉及相应的测量方法及其用途。令人惊讶地，已经发现本发明的方法非常适合作为具有高局部分辨率和灵敏度的图像检测方法。

計測位置 No.	x-方向 (間隔 Δ=1 mm)				
	1	2	3	4	5
y-方向 (Δ=1 mm)					
1	2.15	2.09	2.19	2.25	2.11
2	2.13	2.11	2.19	2.21	2.13
3	2.15	2.13	2.19	2.25	2.15
4	2.09	2.11	2.21	2.19	2.13
5	2.07	2.13	2.19	2.09	2.15