

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02019/188902

発行日 令和3年7月8日 (2021. 7. 8)

(43) 国際公開日 令和1年10月3日 (2019. 10. 3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 27/02 (2006.01)	GO 1 N 27/02 E	2 G O 4 5
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 E	2 G O 6 0

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁)

出願番号 特願2020-510032 (P2020-510032)	(71) 出願人 516089522 株式会社 PROVIGATE 東京都文京区本郷7-3-1
(21) 国際出願番号 PCT/JP2019/012359	
(22) 国際出願日 平成31年3月25日 (2019. 3. 25)	
(31) 優先権主張番号 特願2018-66633 (P2018-66633)	(74) 代理人 100174252 弁理士 赤津 豪
(32) 優先日 平成30年3月30日 (2018. 3. 30)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国 (JP)	(72) 発明者 加治佐 平 東京都文京区本郷7丁目3番1号 株式会社 PROVIGATE 内
	(72) 発明者 柳本 吉之 東京都文京区本郷7丁目3番1号 株式会社 PROVIGATE 内
	Fターム(参考) 2G045 CB03 CB07 CB11 CB12 CB14 CB15 CB30 FA34 JA07
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

(57) 【要約】

溶液に含まれる測定対象物質を検出するバイオセンサであって、測定対象物質を検出するセンシング基板と、センシング基板表面上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖とを備えるバイオセンサが提供される。

【選択図】 図1

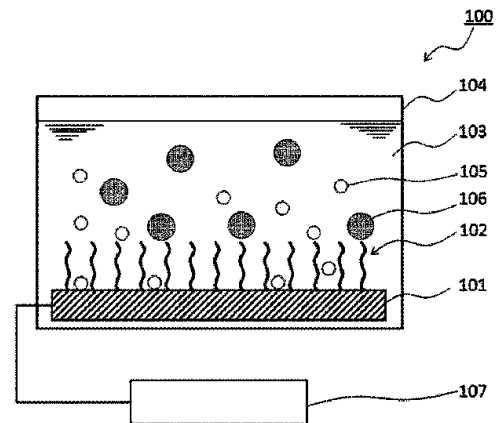


FIG. 1

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、  
前記測定対象物質を電氣的に検出するセンシング電極と、  
前記センシング電極表面上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と  
を備えるバイオセンサ。

**【請求項 2】**

前記分子鎖は親水性ポリマーを含む、請求項 1 に記載のバイオセンサ。

**【請求項 3】**

前記センシング電極に接続され、電極の電氣的状態を検出する電気測定回路を更に備え  
る、請求項 1 又は 2 に記載のバイオセンサ。 10

**【請求項 4】**

溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、  
前記測定対象物質を電氣的に検出するセンシング電極と、  
前記センシング電極表面上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と、  
参照電極と、  
前記電極に接続された表面電位測定器と、  
を備えるバイオセンサ。

**【請求項 5】**

溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、 20  
前記測定対象物質と結合するように構成されたセンシング電極の対と、  
前記センシング電極上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と、  
前記センシング電極対間に電圧を印加する交流電源と、  
前記センシング電極対間に接続されたインピーダンス測定器と、  
を備えるバイオセンサ。

**【請求項 6】**

コントロール電極の対と、  
前記コントロール電極対間に電圧を印加する交流電源と、  
前記コントロール電極対間に接続されたコントロール用インピーダンス測定器と、  
を更に備える、 30  
請求項 5 に記載のバイオセンサ。

**【請求項 7】**

前記センシング用インピーダンス測定器と前記コントロール用インピーダンス測定器は  
同一のインピーダンス測定器である、請求項 6 に記載のバイオセンサ。

**【請求項 8】**

溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、  
前記測定対象物質を検出するセンシング作用電極と、  
前記作用電極の表面に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と、  
対電極と、  
参照電極と、 40  
前記センシング作用電極と、前記対電極と、前記参照電極に接続されたインピーダンス  
測定器と、  
を備えるバイオセンサ。

**【請求項 9】**

コントロール作用電極を更に備える、請求項 8 に記載のセンサ。

**【請求項 10】**

溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、  
センシング基板と、  
前記センシング基板表面上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と  
を備えるバイオセンサ。 50

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本開示は、バイオセンサに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

近年、様々なバイオセンサが研究・開発され、医療、創薬、臨床検査等の分野で利用されている。バイオセンサは、生物の持つ優れた分子識別力を利用して外界の情報（例えば、化学的要素）を何らかの物理的な信号として認識するもので、様々な原理や測定対象がある。より詳細には、バイオセンサは、化学物質を測定対象とする化学センサの一種であり、測定対象物質を認識する分子識別素子と、認識したという情報を電気的な信号等の物理的な信号に変換する信号変換素子とで構成される。一般には、分子識別素子には、酵素、抗体、DNA、細胞、微生物等の生体分子や生体分子を捉える化合物を用いるため、これらのセンサはバイオセンサと呼ばれる。

## 【0003】

体液などの生体由来の液体を初めとする試料には、マーカーとする化学物質以外にも種々の物質が含有されており、これが測定ノイズや偽信号となり、測定精度に影響を及ぼしている。生体由来の測定対象以外にも、同様に溶液内に存在する物質が測定精度を下げ、あるいは測定精度の向上を阻害することが知られている。

## 【発明の概要】

## 【0004】

本開示の一実施形態によれば、溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、測定対象物質を検出するセンシング基板と、センシング基板表面上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖とを備えるセンサが提供される。

## 【0005】

「溶液」は、体液であってもよい。溶液は、メディエータを含んでいてもよい。

## 【0006】

「体液」は、リンパ液であってもよく、組織間液、細胞間液、間質液組などの織液であってもよく、体腔液、漿膜腔液、胸水、腹水、心嚢液、脳脊髄液（髄液）、関節液（滑液）、眼房水（房水）であってもよい。体液は、唾液、胃液、胆汁、膵液、腸液などの消化液であってもよく、汗、涙、鼻水、尿、精液、腔液、羊水、乳汁であってもよい。溶液は、測定対象物質を含む、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）やN-トリス（ヒドロキシメチル）メチル-2-アミノエタンスルホン酸緩衝液（TES）などの生理緩衝液であってもよい。溶液は測定対象物質が含まれていれば特に限定されるものではない。

## 【0007】

「測定対象物質」は、測定の目的となる分子、イオンなどの物質又は被測定物質をいう。「非測定対象物質」は、測定対象物質以外の物質であり、測定の目的とする物質以外の物質をいう。「溶液」は、測定対象物質を含んでいてもよい。測定対象物質を測定しない場合、例えば較正時や洗浄時などは測定対象物質を含んでいなくてもよい。測定対象物質は、無機分子であってもよく、有機分子であってもよく、生体分子であってもよく、それらの結合した分子であってもよい。測定対象物質は、一種類であっても複数種類であってもよい。例えば、溶液は涙であって、測定対象物質は涙に含まれるグリコアルブミンであってもよい。あるいは、測定対象物質は、血液又は血清中のグルコース、アルブミン、グリコアルブミン、尿酸、グリコヘモグロビン、間質液中のグルコース、涙のグルコース、アルブミン、尿のアルブミン、グルコースなどであってもよい。測定対象物質は核酸であってもよい。

## 【0008】

「センサ」はバイオセンサであってもよく、生体分子センサでもよい。センサはタンバ

ク質センサであってもよく、アルブミンセンサであってもよい。センサは、電気化学センサでもよい。電気化学センサは、ポテンシオメトリックセンサ、アンペロメトリックセンサ、インピーダンスセンサであってもよい。センサは、プラズモンセンサであっても光センサであってもよい。センサは、測定対象物質の存在を検出してもよく、測定対象物質の濃度などのパラメータを測定、推定、確定してもよく、測定対象物質の濃度などのパラメータの時間変化を計測してもよい。

【0009】

「電極」では、測定物質が近接、接触、吸着、結合などすることにより電気的狀態が変化する。あるいは電極は、測定対象物質が近接すること等による電気的狀態の変化又は電気的变化が生じるように構成されている。

10

【0010】

ある実施形態では、電極の電気的狀態の変化は、測定対象物質が電極表面と結合し、その際に発生する電子の授受による電荷又は電位の変化であってもよい。例えば、システインサイト、チオール基又はSH基を有するタンパク質などに生体分子が、電極の原子（例えば金原子）と結合した際に生じる電荷が検出されてもよい。例えば、測定対象物質である、チオール（SH）基を有するタンパク質が、電極である金の表面に吸着し、Au-S結合が生じる。

【0011】

別の実施形態では、電荷を有する生体分子が電極近傍に接近した際に生じる反対電荷が検出されてもよい。

20

【0012】

更に別の実施形態では、溶液が測定対象物質以外のメディエータを含み、このメディエータが電極で酸化還元反応を起こす際の電荷が検出されてもよい。この電荷の時間計測又は時間変化を電流として検出してもよい。たとえば、測定対象物質が電極に吸着、結合などすることにより、電極の有効面積が減少する。電極では、測定対象物質の電極表面に近接などした量に応じた電流が流れる。メディエータは、金属錯体であってもよく、遷移金属錯体であってもよい。メディエータは、二価又は三価の鉄（Fe）イオン（ $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ ）、クロム（Cr）イオン（ $Cr^{3+}$ 、 $Cr^{4+}$ など）、コバルト（Co）イオン（ $Cr^{2+}$ 、 $Cr^{3+}$ など）、ニッケル（ $Ni^{2+}$ 、 $Ni^{3+}$ など）イオン、パラジウム（Pd）イオン（ $Pd^{2+}$ 、 $Pd^{4+}$ など）であってもよい。

30

【0013】

ある実施形態では、電極は、電気伝導性を有する物質を含んでいてもよい。例えば、電極は、金属、金、銀、白金、銅、パラジウムなどの貴金属又は金属の合金を含んで形成されてもよい。電極は、導電性金属酸化物（ITO、IGZOなど）を含んでいてもよく、グラフェンなどのカーボン素材を含んでいてもよい。

【0014】

「センシング基板」は、センシング部であってもよく、基板であってもよい。センシング基板は、電極であってもよく、センシング電極であってもよい。測定対象物質の存在や非測定対象物質の影響は電気的に検出されてもよく、他の手法で検出されてもよい。

【0015】

別の実施形態では、センシング基板は、電気伝導性を有する電極でなくてもよい。一般に電極と呼ばれない材質を用いて電気的手法で測定を行ってもよい。センシング基板は、半導体や非導電性（非電気伝導性）物質で構成されていてもよく、これらを含んで構成されてもよい。例えば、センシング基板は、絶縁性の金属酸化物（ $Ta_2O_5$ 、 $SiO_2$ など）を含んでいてもよい。絶縁性のセンシング基板は、例えばインピーダンス測定に用いることができる。

40

【0016】

センシングは、電気的である以外にも、プラズモンや光を用いて行ってもよく、これらの複数を組み合わせて用いて行ってもよい。例えば、センシング基板に例えば裏面から光を照射し、屈折率の変化を検出してもよい。屈折率は、センシング基板上に吸着等した測

50

定対象物質によって変化する。

【0017】

「分子鎖」は、無機分子鎖であってもよく、有機分子鎖であってもよい。一例として、無機分子鎖は、ポリジメチルシロキ酸の架橋により形成された分子鎖であってもよい。

【0018】

分子鎖は、少なくとも部分的に親水性を有していてもよく、少なくとも溶液に向かう一端又はその近傍が親水性を有していてもよい。分子鎖が親水性を有する場合、特に分子鎖の端部又はその近傍が親水性を有している場合、電荷を有するタンパク質は、親水性を有する部位により弾かれ、センシング基板や電極に近接しにくくなる。

【0019】

分子鎖は、親水性ポリマーであってもよい。親水性モノマーを重合させて親水性ポリマーを作成してもよい。分子鎖は、重合開始分子と親水性ポリマーとが結合した分子鎖であってもよい。親水性ポリマーは、例示的に、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine、MPC)、ヒドロキシエチルメタクリレート、エチレングリコールメタクリレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC-Na)、ヒドロキシエチルセルロース(HEC)などのセルロース誘導体；アルギン酸、ヒアルロン酸、アガロース、デンプン、デキストラン、プルラン等の多糖類及びその誘導体；カルボキシビニルポリマー、ポリエチレンオキサイド、ポリ(メタ)アクリルアミド、ポリ(メタ)アクリル酸等のホモポリマー、当該ホモポリマーと多糖類等との共重合体、及び当該ホモポリマーを構成するモノマーと他のモノマーとの共重合体；コラーゲン、ゼラチン等のタンパク質及びその誘導体；ヘパリン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、デキストラン硫酸、ケラタン硫酸、ヘパラン硫酸等のグリコサミノグリカン、キチン、キトサン等の多糖類やムコ多糖類を挙げることができる。

【0020】

有機分子鎖は、ラジカル重合法、リビングラジカル重合法などの手法を用いて形成されてもよい。ある実施形態では、有機分子鎖は、原子移動ラジカル重合法(Atom Transfer Radical Polymerization, ATRP)を用いて形成されてもよい。ある実施形態では、まず金属電極面上に有機ハロゲン化合物を重合開始剤として形成し、これにATRPにより所望の長さの親水性分子鎖を形成してもよい。

【0021】

この有機ハロゲン化合物は、一端に金、銀、白金、銅などの金属と比較的強固な結合を形成するチオール基やジスルフィド基を有する分子またはチオール誘導体やジスルフィド誘導体であって、他端に臭素(Br)などのハロゲン原子を有する分子であってもよい。例えば、チオール基は金表面でS-Au結合を形成し、分子鎖は金表面に立つことができる。有機ハロゲン化合物の分子鎖の長さは、炭素数で規定される。その炭素数は、調節されてもよい。例えば炭素数は、6個、11個、10個、11個、16個などであってもよい。炭素数が短すぎると、電極表面上に形成する際に、分子鎖が互いに相互作用がなくなり、適切な密度での形成が難しくなる可能性がある。炭素数が長すぎると、分子鎖が密になりすぎる可能性がある。電極が導電性金属酸化物(ITO, IGZOなど)、グラフェンなどのカーボン素材、絶縁性の金属酸化物(Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, SiO<sub>2</sub>など)の場合は、一端にハロゲン原子を有するシランカップリング剤を用いてもよい。

【0022】

本開示では、分子鎖は、溶液に接触する電極表面を完全又は最密に覆うのではなく、溶液に接触する電極表面その一部を覆う。分子鎖は、電極表面上に部分的に配置されてもよい。別の言い方をすれば、分子鎖は、溶液と接触する電極表面に配置可能な最大密度(最密)より小さい密度で配置される。さらに別の言い方をすれば、分子鎖は、溶液に接触する電極表面において、最密未満の密度で又は非最密に電極表面を覆うように、当該電極表面に配置される。分子鎖の電極表面上の密度は、測定対象物質が電極表面に到達すること

10

20

30

40

50

を実質的に許し、非測定対象物質が電極表面に到達することを実質的に阻害する密度であることが好ましい。電極表面への測定対象の到達頻度は、電極表面に分子鎖が配置されていない場合に比べて、分子鎖が配置された場合には小さくともよい。分子鎖は、すべての種類の非測定対象物質を阻害することができなくともよい。例えば、分子鎖は、一つ又は二つ以上の種類の非測定対象物質を実質的に阻害することができる。

【0023】

分子鎖間のスペースは、それ以下又は未満のサイズを有する物質又は所望の測定対象物質が電極表面に近づくことを許容しつつ、それ以上又はそれより大きいサイズの物質又は非測定対象物質が電極表面に近づくことをブロック又は阻害することができる。

【0024】

分子鎖の密度は、重合開始分子の濃度、溶媒の種類、電極の表面状態や作成条件（例えば、金電極作成のスパッタ法（スパッタ蒸着）の条件）、溶液への電極の含侵の条件、例えば含侵時間、温度などにより制御することができる。

【0025】

例えばAu-S結合の分子鎖の密度は、電極に電圧を掛け、分子鎖がはがれていくときにAu-Sから放出される電荷又はその電荷の時間変位である電流を、サイクリックボルタムメトリーを用いて測定することができる。あるいは、分子鎖の密度は、原子間力顕微鏡法（Atomic Force Microscopy, AFM）、走査型トンネル顕微鏡（Scanning Tunneling Microscopy, STM）などで特定することができる。分子鎖の密度の測定法は、これらに限らず他の方法を用いてもよい。

【0026】

密度以外にも、分子鎖の長さ、種類、親水性、電荷などの性質により、測定対象物質と非測定対象物質のフィルタリング特性や選択性を調節することができる。

【0027】

「阻害」は、非測定対象物質の電極表面への到達を完全に阻止してもよく、その一部を阻止してもよい。「阻害」とは、非測定対象物質の電極への接触、結合など近接を抑制し、または電極表面への到達確率を減少させることを意味する。あるいは「阻害」は、目的となる測定対象物質の検出や定量が十分に遂行できる程度に、又は対象物質を十分に選択的に検出などできる程度に、非測定対象物質の影響を回避又は低減することを意味してもよい。

【0028】

測定対象物質のすべてが分子鎖に阻止されずに電極に到達してもよく、その一部が電極に到達してもよい。例えば、涙液中のアルブミンを測定する場合に、アルブミンを含む涙液中のタンパク質の多くが、分子鎖の影響を受けると考えられる。分子鎖により弾かれ、金属表面に到達できないアルブミン分子鎖が存在し得る。

【0029】

ある実施形態によれば、センサは、電極又はセンシング電極に接続され、測定対象物質による電極における電気的状態の変化を検出する電気回路（測定回路、測定器、検出器）を更に備えていてもよい。別の実施形態では、センサは、電気回路に電気的に接続されるように構成されていてもよい。センサは、電気回路を含む別ユニットに対して互いに取り外し可能に構成されてもよい。センサは、センサチップであってもよい。

【0030】

電気回路は、電位測定回路であってもよい。電位測定回路はポテンショスタットを含んでいてもよい。電位測定回路は、電界効果トランジスタ（FET）を含んでいてもよい。電極はFETのゲートに接続され、電極での電位によりトランジスタのソースドレイン間の電流を制御することができる。別の実施形態では、電気回路は、電流測定回路であってもよく、インピーダンス測定器であってもよく、アンペロメトリー測定器であってもよい。

【0031】

10

20

30

40

50

例えば、溶液中に含有させたメディエータを用いてインピーダンス測定する場合には、メディエータは、電極に接触すると酸化還元反応により、電荷を作用電極に渡す。これが電流として電流測定回路によって検出又は測定される。測定対象物質が、作用電極上に到達し吸着または結合すると、電極の実質面積が減少する、すなわちメディエータが到達できる電極の表面積が減少する。したがって一般的に、時間とともに電極に到達した非測定対象物質の量は増加し、電極の実質面積が減少し、メディエータによる電流値（ $I$ ）が低下していく。この電流値の降下の傾き（ $dI/dt$ ）やある所定時刻までの電流値（ $I$ ）の降下量（ $\Delta I$ ）などから、溶液内の測定対象物質の濃度を求めることができる。あるいはまた、電極表面に近接した測定対象物質は、電気二重層などを変化させ、界面の容量成分に変化をもたらす。すなわち、界面での等価回路のインピーダンスが変化する。したがって、交流の位相差を測定することにより、電極近傍にある測定対象物質の量、あるいは溶液中の測定対象物質の濃度を換算により求めることができ、あるいは推定、特定することができる。

10

#### 【0032】

本開示により、潜在的に又は一例として、比較的低濃度の測定対象物質を非測定対象物質の存在下でも検出又は測定することが可能になる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0033】

【図1】本開示の第一の実施形態に係るセンサの構成を示す模式図である。

【図2】本開示の第二の実施形態に係るセンサの構成を示す模式図である。

【図3】本開示の第三の実施形態に係るセンサの構成を示す模式図である。

【図4】本開示の第四の実施形態に係るセンサの構成を示す模式図である。

【図5】本開示の第五の実施形態に係るセンサの構成を示す模式図である。

【図6】本開示の第六の実施形態に係るセンサの構成を示す模式図である。

【図7】分子鎖の形成の一例を示す概念図である。

【図8】疑似涙液中のタンパク質の測定結果を示すグラフである。

【図9】疑似涙液中のタンパク質の測定結果を示すグラフである。

【図10】アルブミンの濃度と表面電位変化量の相関関係を示すグラフである。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0034】

##### < 第一の実施形態 >

図1は、本開示の一実施形態（第一の実施形態）に係るバイオセンサ100の構成を示す模式図である。図1に示すバイオセンサ100は、電極101と、電極101上に非最密に配置された分子鎖102を有する。バイオセンサ100は、溶液103を収容する容器104を有している。電極101と分子鎖102は、容器104内に配置されている。溶液103は測定対象物質105と非測定対象物質106とを含んでいる。分子鎖102の存在により、非測定対象物質106は電極101表面に到達又は接近しにくくなる。測定対象物質105は、実質的に電極101の表面に到達することができる。

#### 【0035】

分子鎖102の存在により、分子鎖102がなければ電極101表面に到達しえた量より少ない量の測定対象物質105が、電極101表面に到達してもよい。すなわち、分子鎖102の影響により、電極101表面上に到達することができない測定対象物質105があってもよい。測定対象物質105の一部が電極101表面上に到達してもよい。非測定対象物質106は、分子鎖102により実質的に電極101表面への到達が阻害される。非測定対象物質106の一部が、電極101表面に到達してもよい。

40

#### 【0036】

図1に示すセンサは、電極101に電氣的に接続された電気回路又は電気測定回路107を更に備え、電極101の電氣的状態を検出する。電極101の電気状態は、測定対象物質105が近接、接触などすることにより変化する。電気回路107はその電氣的変化を検出することができる。

50

## 【 0 0 3 7 】

## &lt; 第二の実施形態 &gt;

図 2 は、本開示の一つの実施形態（第二の実施形態）に係るバイオセンサ 2 0 0 の構成を示す模式図である。図 2 に示すバイオセンサ 2 0 0 は、電極 2 0 1 と、電極 2 0 1 上に配置された分子鎖 2 0 2 を有する。バイオセンサ 2 0 0 は、溶液 2 0 3 を収容する容器 2 0 4 を有している。電極 2 0 1 と分子鎖 2 0 2 は、容器 2 0 4 内に配置されている。溶液 2 0 3 は測定対象物質 2 0 5 と非測定対象物質 2 0 6 とを含んでいる。図 2 に示すセンサ 2 0 0 は、更に電極に接続された表面電位測定器 2 0 7 と、参照電極 2 1 1 とを備えている。図 2 に示す表面電位測定器 2 0 7 は、一段目のオペアンプ、ローパスフィルタ及び二段目のオペアンプを有して構成されている。表面電位測定器 2 0 7 は、さらに A / D コンバータを含んでいてもよく、A / D コンバータに接続されていてもよい（図示せず）。図 2 に示すセンサ 2 0 0 は更に、参照電極 2 1 1 を備えている。参照電極 2 1 1 は、容器 2 0 3 に配置され溶液 2 0 3 と接触するように構成されている。図 2 に示す参照電極 2 1 1 は、参照電圧を提供する電源 2 1 2 に接続されている。

10

## 【 0 0 3 8 】

## &lt; 第三の実施形態 &gt;

図 3 は、本開示の一つの実施形態（第三の実施形態）に係るバイオセンサ 3 0 0 の構成を示す模式図である。バイオセンサ 3 0 0 は、容器 3 0 4 内に、作用電極 3 0 1 と参照電極 3 1 1 と対電極 3 2 1 とを備えている。作用電極 3 0 1 の溶液 3 0 3 と接触する表面には、分子鎖 3 0 2 が設けられ、溶液 3 0 3 に含まれる非測定対象物質 3 0 6 が作用極 3 0 1 に接近することを阻害し、選択的に測定対象物質 3 0 5 が電極に接近できるように構成されている。作用電極 3 0 1 は、電流測定回路 3 7 3 に接続されている。

20

## 【 0 0 3 9 】

図 3 に示す参照電極 3 1 1 と対電極 3 2 1 とは、オペアンプ 3 7 1 に接続されている。より詳細には、参照電極 3 1 1 はオペアンプ 3 7 1 の反転入力（- I N）に接続され、対電極 3 2 1 はオペアンプ 3 7 1 の出力（O U T）に接続されている。オペアンプ 3 7 1 の非反転入力（+ I N）には交流電源 3 7 2 に接続されている。

## 【 0 0 4 0 】

図 3 の構成はいわゆる三電極法の測定システムであるといってもよい。電源 3 7 2 より電圧を印加すると、オペアンプ 3 7 1 の出力から、対極 3 2 1、溶液 3 0 3、参照極 3 1 1 を経て、再びオペアンプ 3 7 1 の反転入力（- I N）に戻ってくるフィードバックループが形成される。このフィードバックループの働きで、参照極 3 2 1 から対極 3 2 1 に伝わる電圧が電源 3 7 2 により与えられる基準電圧と等しくなるように対極 3 2 1 に印可される電圧が制御される。オペアンプ 3 7 1 はフィードバック回路の 1 つの構成要素であるが、別の実施形態では、同様の機能を有する他の回路部品を用いてもよい。

30

## 【 0 0 4 1 】

図 3 に示す溶液 3 0 3 は、鉄イオン（ $F e^{2+}$  又は  $F e^{3+}$ ）などのメディエータ 3 0 8 を含んでいる。メディエータ 3 0 8 が作用電極 3 0 1 に接触すると酸化還元反応により、電荷を作用電極 3 0 1 に渡す。これが電流として電流測定回路 3 7 3 によって検出又は測定される。測定対象物質 3 0 5 が、作用電極 3 0 1 上に到達し吸着または結合すると、作用電極 3 0 1 の実質面積が減少する、すなわちメディエータ 3 0 8 が到達できる作用電極 3 0 1 の表面積が減少する。したがって一般的に、時間とともに作用電極 3 0 1 に到達した非測定対象物質 3 0 6 の量は増加し、作用電極 3 0 1 の実質面積が減少し、メディエータ 3 0 8 による電流値（ $I$ ）が低下していく。この電流値の低下の傾き（ $d I / d t$ ）やある所定時刻までの電流値（ $I$ ）の低下量（ $\Delta I$ ）などから、溶液 3 0 3 内の測定対象物質 3 0 5 の濃度を推定又は特定することができる。あるいはまた、電極 3 0 1 表面に近接した測定対象物質 3 0 5 は、電気二重層などを変化させ、界面の容量成分に変化をもたらす。すなわち、界面での等価回路のインピーダンスが変化する。したがって、電流値と交流の位相差を測定することにより、電極 3 0 1 近傍にある測定対象物質 3 0 5 の量、あるいは溶液 3 0 3 中の測定対象物質 3 0 5 の濃度を換算により求めることができる。上記

40

50

の測定メカニズムの説明は例示であって、他のメカニズムや測定原理を用いてもよい。

【0042】

図3に示すシステムでは交流電圧の印加によるインピーダンス測定を行うが、他の実施形態では、交流電源372に変えて直流電源を配置して、アンペロメトリー測定を行ってもよい。

【0043】

分子鎖302が配置された電極301に対して、分子鎖を配置することなく同様の電極をコントロール電極としてさらに備えてもよい。分子鎖を介した電極からの信号と、分子鎖のない電極からの信号（電流値、電位値など）とを比較しあるいはその差分を取ることにより、溶液中の非対象測定物質や分子鎖により阻害できない低分子物質やイオンなどの影響によるノイズを除去又は低減することができる。例えば、涙に含まれるアルブミンを対象として測定する場合に、涙にはアスコルビン酸や尿酸など低分子を、分子鎖が配置された電極が感知しうる。これらの非測定対象物質による信号がノイズの原因となり得る。分子鎖のない電極からの信号との差分により、これらのノイズを減少し目的とする測定の感度や効率を向上することができる。

【0044】

< 第四の実施形態 >

図4は、本開示の一つの実施形態（第四の実施形態）に係るバイオセンサ400の構成を示す模式図である。バイオセンサ400は、容器404内に、センシング作用電極401、コントロール作用電極431、参照電極411及び対電極421を備えている。センシング作用電極401の溶液403と接触する表面には、分子鎖402が設けられ、非測定対象物質406が作用極401に接近することを阻害するように構成されている。センシング作用電極401とコントロール作用電極431は、それぞれ電流測定回路473、474に接続されている。これは、図3に示す第三の実施形態と同様に三電極法の構成であるが、本実施形態に係るセンサ400は、分子鎖402を備えるセンシング作用電極401に加え、分子鎖を有しない作用電極すなわち作用電極431を備えている。電流測定回路473、474からの測定値の差分をとることができる。差分はアナログで行ってもよく、デジタルで行ってもよい。

【0045】

図4に示す参照電極411と対電極421とは、オペアンプ471に接続されている。より詳細には、参照電極411はオペアンプ471の反転入力（-IN）に接続され、対電極421はオペアンプ471の出力（OUT）に接続されている。オペアンプ471の非反転入力（+IN）には電圧電源472に接続されている。このフィードバック回路の構成と機能は、第三の実施形態と同様である。

【0046】

図4では交流電圧印加によるインピーダンス測定を行うが、他の実施形態では、交流電源472に変えて直流電源を配置して、アンペロメトリー測定を行うこともできる（図示せず）。

【0047】

< 第五の実施形態 >

図5は、本開示の一つの実施形態（第五の実施形態）に係るバイオセンサ500の構成を示す模式図である。溶液503は、測定対象物質504、非測定対象物質505、メディアータ508を含んでいる。図5に示すバイオセンサ500は、対になった二つの電極（センシング電極）501、511を備えている。容器504内に配置された第1電極501と第2電極511とは、それぞれの電極表面上に第1分子鎖502と第2分子鎖512が配置されている。第1電極501と第2電極511とは、インピーダンス測定器（測定回路）507に接続されている。例えば、交流電界を印加した際の、電流値と電流の位相差から測定対象物質505の溶液503中の濃度を求めることができる。第1分子鎖と第2分子鎖は、非測定対象物質506が、それぞれ電極501、511に結合することを阻害するように構成されている。ある実施形態では、第1電極501と第2電極502

10

20

30

40

50

とは複数対設けられてもよい。

【0048】

図5に示す溶液503は、鉄イオン( $Fe^{2+}$ 又は $Fe^{3+}$ )などのメディエータ508を含んでいる。メディエータ508が電極501, 511に接触すると、酸化還元反応により電荷を電極501, 511に渡す。これが電流として電流測定回路507によって検出又は測定される。測定対象物質505が、電極501, 511上に到達し吸着または結合すると、電極501, 511の実質面積が減少するとともに、電気二重層などを変化させ、界面の容量成分に変化をもたらす。すなわち、界面での等価回路のインピーダンスが変化する。したがって、電流値と交流の位相差を測定することにより、電極501近傍にある測定対象物質505の量、あるいは溶液503中の測定対象物質505の濃度を換算により求めることができる。上記の測定メカニズムの説明は例示であって、他のメカニズムや測定原理を用いてもよい。

10

【0049】

図5のように互いに関連して作動する二電極システムは、測定中の測定パラメータのドリフト、測定毎のばらつき、電極の配置の仕方などの影響を低減することができる。さらには、比較的容易にかつコンパクトに製造することが可能である。

【0050】

<第六の実施形態>

分子鎖が配置された電極に対して、分子鎖を配置することなく同様の電極をコントロール電極としてさらに備えてもよい。分子鎖を介した電極からの信号と、分子鎖のない電極からの信号とを比較しあるいはその差分を取ることにより、溶液中の非対象測定物質などの影響によるノイズを除去し又はノイズを低減することができる。例えば、涙に含まれるアルブミンを対象として測定する場合に、涙にはアスコルビン酸や尿酸など低分子を、分子鎖が配置された電極が感知しうる。これらの非測定対象物質による信号がノイズの原因となり得る。

20

【0051】

図6は、本開示の一つの実施形態(第六の実施形態)に係るバイオセンサ600の構成を示す模式図である。溶液603は、測定対象物質604、非測定対象物質605、メディエータ608を含んでいる。図5に示す第五の実施形態の構成に、分子鎖のない電極が追加されている。すなわち、図6に示すバイオセンサ600において、容器604内に配置されたセンシング電極対、第1センシング電極601と第2センシング電極611とは、それぞれの電極表面上に非最密に配置された第1分子鎖602と第2分子鎖612を有している。第1センシング電極601と第2電極611とは、インピーダンス測定器(測定回路)671に接続されている。図6のバイオセンサ600はさらに、分子鎖を有していないコントロール電極対、第1コントロール電極621と第2コントロール電極631とを有している。第1コントロール電極621と第2コントロール電極631とは、インピーダンス測定器(測定回路)672に接続されている。センシング用のインピーダンス測定器671とコントロール用のインピーダンス測定器672とを併せて、電気測定回路670と呼んでもよい。

30

【0052】

ある実施形態では、インピーダンス測定器は、交流電圧源と電流測定回路とを有し、電力測定回路は、第1電極と第2電極との間を流れる電流を測定してもよい。交流電源と電流測定回路とは、直列に配置されていてもよい。別の実施形態では、インピーダンス測定器は、交流電流源と電圧測定回路とを有していてもよい。図6では、センシング用のインピーダンス測定器671とコントロール用のインピーダンス測定器672とは別個のインピーダンス測定器として設けられている。しかし、ある実施形態では、一つのインピーダンス測定器(図示せず)を設け、これをスイッチを介してコントロール電極対とセンシング電極対とに、交互または選択的に接続されるように構成されてもよい。これにより、センサ又は電気測定システムを小型化することができる。

40

【0053】

50

## &lt; 製造例 &gt;

以下に、金電極表面上に親水性ポリマー分子鎖を有するセンサの製造方法の一例を説明する。

## 【0054】

まず、ガラス基板の上に、直径10mmの領域にスパッタ法で厚さ100nm（ナノメートル）の金薄膜を形成した。次に、この金電極表面上に重合開始分子をその一端で結合させた。次に、この重合開始分子の他端から、原子移動ラジカル重合（ATRP法）により親水性ポリマー分子鎖を形成した。以下各工程をより詳細に説明する。

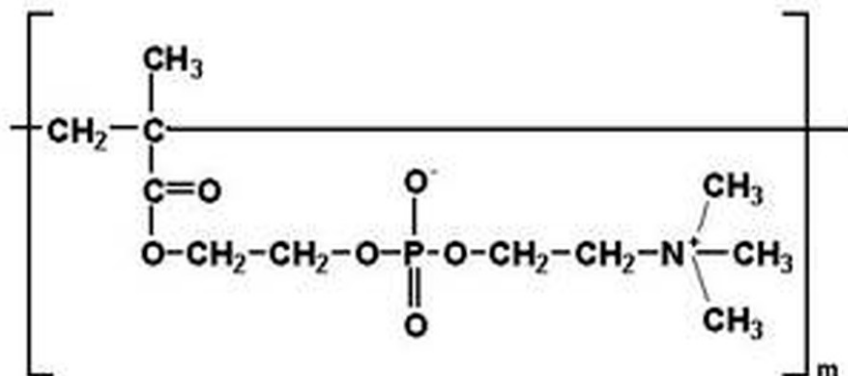
## 【0055】

重合開始分子の金電極上への形成は以下のとおりである。まず、金電極が形成されたガラス基板を、1mMビス〔2-（2-プロモイソブチリロキシ）ウンデシル〕ジスルフィド/エタノール溶液に浸漬させて、金電極上に重合開始分子を結合させた。これにより、図7Aに示すように、重合開始分子は一端で電極表面701の金原子とAu-S結合を形成して固定化し、他端である自由端に臭素（Br）を有する、炭素10原子程度の長さの重合開始分子鎖703を形成した。この分子鎖は疎水性である。上述のビス〔2-（2-プロモイソブチリロキシ）ウンデシル〕ジスルフィド/エタノール溶液（重合開始分子溶液）への浸漬時間により、分子鎖の密度を制御することができる。以下の実施例1及び実施例2では、室温で当該浸漬時間が2時間、48時間で作成されたセンサを用いた。その後、基板を重合開始分子溶液から取り出し、エタノールと純粋で洗浄した。

## 【0056】

親水性ポリマー分子鎖の形成は以下のとおりである。まず、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン（MPC）16mmolと、N-3-（ジメチルアミノ）プロピルメタクリルアミド4mmolをジメチルホルムアミド112mlと超純水48mlに溶解させた。その後、臭化銅（II）0.16mmolおよびトリス（2-ピリジルメチル）アミン0.8mmolを加えた。次に、アスコルビン酸0.8mmolを加えた溶液を準備した。この溶液（モノマー溶液）中に、重合開始分子が結合された金電極を備えるガラス基板を浸漬させた。

## 【化1】



## 【0057】

その後、モノマー溶液の周りの雰囲気真空に維持して、室温にて20時間重合反応させた。これにより、図7Aの臭素で重合が開始し、複数のMPCが連なる分子鎖702を形成した（図7B）。分子鎖702のMPCの部分（親水性部704）は親水性を有している。MPC部の長さは、重合反応の温度、時間、MPCモノマー濃度、溶媒で決まる。上記の製造方法では、約1000個のMPCが連なる親水性ポリマー704が形成された。

## 【0058】

したがって、分子鎖702は、固定端側の炭素鎖の部分703では疎水性だが、親水性ポリマー分子鎖ということができる。この親水性を有する部分が重合開始分子鎖703の先端にあることで、親水性の低いタンパク質ははじかれ、電極701に近づく確率が低下

する。

【0059】

続いて、親水性ポリマーが表面に形成された金薄膜を、配線を介して表面電位測定器であるポテンショスタットに電氣的に接続した。

【0060】

なお、比較例1に用いたセンサには、実施例1や実施例2に用いたセンサと同様に金電極を作成したが、分子鎖を形成しなかった。すなわち、比較例1に用いたセンサは、裸の金電極を有するセンサであり、重合開始分子溶液への浸漬時間がゼロのセンサともいえる。

【0061】

<実施例1および比較例1：アルブミン以外の涙液タンパク質の排除効果の測定例>

上記のように作成した親水性ポリマーを有する金電極の表面を、生体緩衝液(Phosphate-buffered saline, pH 7.4)に48時間浸した。続いて、涙液に含まれるタンパク質として、以下のタンパク質を溶液に、溶液内の濃度が以下に示す値となるように各濃縮液を投入した。投入は、以下の記載の順に行った。

リゾチーム	2.4 mg/mL
ラクトフェリン	1.8 mg/mL
グロブリン	0.5 mg/mL

これらの濃度は、涙液中での濃度に対応する。これらの測定対象物質の添加に伴う表面電位変化を、リアルタイム計測装置にて計測した。

【0062】

図8は、涙液タンパク質の添加に伴う、電極での表面電位の経時変化を示している。図8の縦軸は、金電極からの出力電力(mV)を示し、横軸は、計測時間(秒)を示している。点線(A)は、測定結果金電極表面に分子鎖がない場合(比較例1)の測定結果を示し、実線(B48)は、金電極表面に分子鎖を設けた場合(実施例1)の測定結果を示す。図8における両測定結果の表示は時間軸で各タンパク質の投入時間が揃い、縦軸で可読性が良くなるように調節されている。比較例1(点線A)では、リゾチーム、ラクトフェリン、グロブリンの添加で、それぞれ3mV、12mV、13mVの電位変化が観察された。これに対し、実施例1(実線B48)では、リゾチーム、ラクトフェリン、グロブリンの添加で、それぞれ1mV、5mV、7mVの電位変化が観察された。すなわち、実施例1でのリゾチーム、ラクトフェリン、グロブリンの電位変化は、比較例1の場合の2分の1から3分の1程度であった。実施例1では、分子鎖の存在により、これらのタンパク質が電極表面への到着を阻害していることが分かった。分子鎖の親水性がタンパク質を弾くように機能していると考えられる。

【0063】

<実施例2：疑似涙液中のアルブミンの検出及び定量>

本実施例では、金電極上の親水性ポリマー分子鎖を複数の密度で形成し、複数のタンパク質に対する選択性を評価した。すなわち、分子鎖の密度と、各タンパク質の金電極への到達による電位変化との関係を調べた。

【0064】

具体的な測定に至る手順を改めて説明する。まず、製造例1で説明したように、ガラス基板上に金電極を準備し、金電極上に親水性ポリマー分子鎖を作成した。ただし、本実施例では、重合開始分子の密度を、1mMビス[2-(2-プロモイソブチリロキシ)ウンデシル]ジスルフィド/エタノール溶液の浸漬時間により複数用意した。当該浸漬時間が長ければ長いほど、重合開始分子の密度は高くなる。本実施例では、当該浸漬時間が2時間、48時間である2種類の親水性ポリマー分子鎖のセンサ(それぞれセンサB02、センサB48)と、比較例1と同じ分子鎖のない金電極(センサA)とを準備した。

【0065】

次に、各電極表面を、生体緩衝液(Phosphate-buffered saline, pH 7.4)で満たした。続いて、各種タンパク質を、この溶液に添加していった

10

20

30

40

50

。測定に使用したタンパク質と投与後の溶液内の濃度は以下の通りである。溶液への添加は以下の記載の順に行った。

ラクトフェリン	1 . 8 m g / m L
グロブリン	0 . 5 m g / m L
ヒト血清アルブミン	0 . 1 m g / m L
ヒト血清アルブミン	1 . 1 m g / m L
ヒト血清アルブミン	2 . 9 m g / m L
ヒト血清アルブミン	6 . 8 m g / m L
ヒト血清アルブミン	1 6 . 1 m g / m L

そして、これらのタンパク質の溶液への添加に伴って生じる表面電位変化をリアルタイム計測装置にて計測した。

#### 【 0 0 6 6 】

図 9 は、上記各タンパク質を添加した際の表面電位の時間変化を示している。図 9 の縦軸は、出力電圧 ( m V ) を示し、横軸は、計測時間 ( 秒 ) を示している。図 8 における両測定結果の表示は時間軸で各タンパク質の投入時間が揃い、縦軸で可読性が良くなるように調節されている。

#### 【 0 0 6 7 】

分子鎖のない金電極 ( センサ A ) では、ラクトフェリンの添加から一番高い濃度のヒト血清アルブミン ( H S A ) の添加まで表面電位を検出した。表面電位変化は、金電極と A u - S 結合が形成された際の電子の授受による電位変化を示していると考えられる。重合開始分子浸漬時間が 2 時間のセンサ ( センサ B 0 2 ) でも、ラクトフェリンの添加から一番高い濃度のヒト血清アルブミン ( H S A ) の添加まで、電極での表面電位変化が観測された。

#### 【 0 0 6 8 】

一方、重合開始分子浸漬時間が 4 8 時間のセンサ ( センサ B 4 8 ) では、ラクトフェリン、グロブリンの添加では、電極での実質的な電位変化は観測されず、H S A の添加による電極での表面電位変化が観測された。本実施例のような親水性ポリマー分子鎖を備えるバイオセンサは、金電極に結合する他のタンパク質の影響を低減しつつ、アルブミンと金の結合を表面電位変化として選択的に検出することが示された。すなわち実質的に、センサ B 4 8 は、ラクトフェリン、グロブリンを検出せず、アルブミンを検出していることが確認された。言い換えれば、センサ B 4 8 は、涙液中のタンパク質の中でも、ラクトフェリン、グロブリンなどと比して、アルブミンに対して選択的な検出感度を備えているともいえる。このようなセンサは、アルブミン以外の、ラクトフェリン、グロブリンなどの他のタンパク質 ( 非測定対象物質 ) を阻害し、選択的にアルブミン ( 測定対象物質 ) を検出することができる。このようなセンサは、一例として、涙液中のアルブミンセンサとして使用することができる。

#### 【 0 0 6 9 】

##### < アルブミンの定量 >

図 1 0 は、図 9 のように添加された各アルブミンの濃度と、それに対応して生じた表面電位シフト幅を、複数収集しプロットした図である。図 1 0 に示すように、アルブミンの濃度と、表面電位変化量との間には、実質的に 1 対 1 の相関関係があることが分かった。したがって、本実施例に示すようなセンサを用いて、アルブミン以外のタンパク質を含む疑似涙液中であっても、アルブミンの濃度を定量できることが示された。

#### 【 0 0 7 0 】

本開示は以下の実施形態を非限定的に含む：

A 1 . 溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、

前記測定対象物質を電気的に検出するセンシング電極と、

前記センシング電極表面上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖とを備えるセンサ。

A 1 b .

10

20

30

40

50

前記分子鎖は親水性ポリマーを含む、請求項 1 に記載のセンサ。

A 2 . 前記センシング電極に接続され、電極の電気的狀態を検出する電気測定回路を更に備える、請求項 A 1 又は A 1 b に記載のセンサ。

A 1 0 . 溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、  
センシング基板と、

前記センシング基板表面上に非最密に配置され、非測定対象物質の前記センシング基板表面への接近を阻害するように構成された分子鎖と  
を備えるセンサ。

A 1 1 . 前記センシング基板は、前記測定対象物質の近接による電気狀態の変化を反映するセンシング電極を含む、

請求項 A 1 0 に記載のセンサ。

A 1 c . 溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、  
センシング電極と、

前記センシング電極表面上に非最密に配置され、非測定対象物質の前記センシング電極表面への接近を阻害するように構成された分子鎖と  
を備えるセンサ。

B 1 . 溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、

前記測定対象物質を電気的に検出するセンシング電極と、

前記センシング電極表面上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と、  
参照電極と、

前記電極に接続された表面電位測定器と、

を備えるセンサ。

C 1 . 溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、

前記測定対象物質と結合するように構成されたセンシング電極の対と、

前記センシング電極上に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と、

前記センシング電極対間に電圧を印加する交流電源と、

前記センシング電極対間に接続されたセンシング用インピーダンス測定器と、

を備えるセンサ。

C 2 . コントロール電極の対と、

前記コントロール電極対間に電圧を印加する交流電源と、

前記コントロール電極対間に接続されたコントロール用インピーダンス測定器と、

を更に備える、

請求項 C 1 に記載のセンサ。

C 3 . 前記センシング用インピーダンス測定器と前記コントロール用インピーダンス測定器は同一のインピーダンス測定器である、請求項 C 2 に記載のセンサ。

D 1 . 溶液に含まれる測定対象物質を検出するセンサであって、

前記測定対象物質を検出するセンシング作用電極と、

前記作用電極の表面に非最密に配置され、非測定対象物質を阻害する分子鎖と、

対電極と、

参照電極と、

前記センシング作用電極と、前記対電極と、前記参照電極に接続されたインピーダンス測定器と、

を備えるセンサ。

D 2 . 前記インピーダンス測定器に接続されたコントロール作用電極を更に備える、請求項 D 1 に記載のセンサ。

#### 【 0 0 7 1 】

以上、本開示の幾つかの実施形態及び実施例について説明したが、これらの実施形態及び実施例は、本開示を例示的に説明するものである。例えば、上記各実施形態は本発明を分かりやすく説明するために詳細に説明したものであり、必要に応じて回路を追加してもよい。特許請求の範囲は、本開示の技術的思想から逸脱することのない範囲で、実施形態

10

20

30

40

50

に対する多数の変形形態を包括するものである。したがって、本明細書に開示された実施形態及び実施例は、例示のために示されたものであり、本開示の範囲を限定するものと考えべきではない。

【符号の説明】

【0072】

100, 200, 300, 400, 500, 600	バイオセンサ	
101, 201, 701	電極	
102, 202, 502, 602, 702	分子鎖	
103, 203, 303, 403, 503, 603	溶液	
104, 204, 304, 404, 504, 604	容器	10
105, 205	測定対象物質	
106, 206	非測定対象物質	
107	電気回路, 電気測定回路	
207	表面電位測定器	
211	参照電極	
301, 401	作用電極	
311, 411	参照電極	
321, 421	対電極	
401	作用電極	
373, 473, 474	電流測定回路	20
371, 471	オペアンプ	
372, 472	電圧電源	
401	センシング作用電極	
431	コントロール作用電極	
501	第1電極	
502	第1分子鎖	
507	インピーダンス測定器(測定回路)	
511	第2電極	
512	第2分子鎖	
601	第1センシング電極	30
611	第2センシング電極	
602	第1分子鎖	
612	第2分子鎖	
671	測定用インピーダンス測定器(測定回路)	
672	コントロール用インピーダンス測定器(測定回路)	
621	第1コントロール電極	
631	第2コントロール電極	
670	電気測定回路	
703	重合開始分子鎖	
704	親水性部	40

【 図 1 】

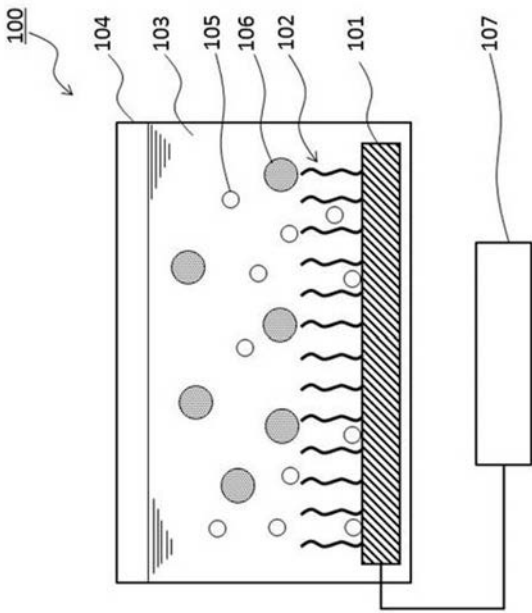


FIG. 1

【 図 2 】

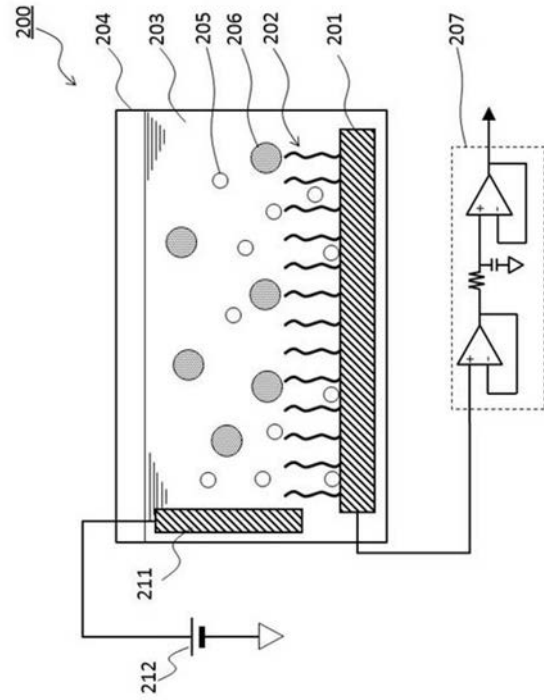


FIG. 2

【 図 3 】

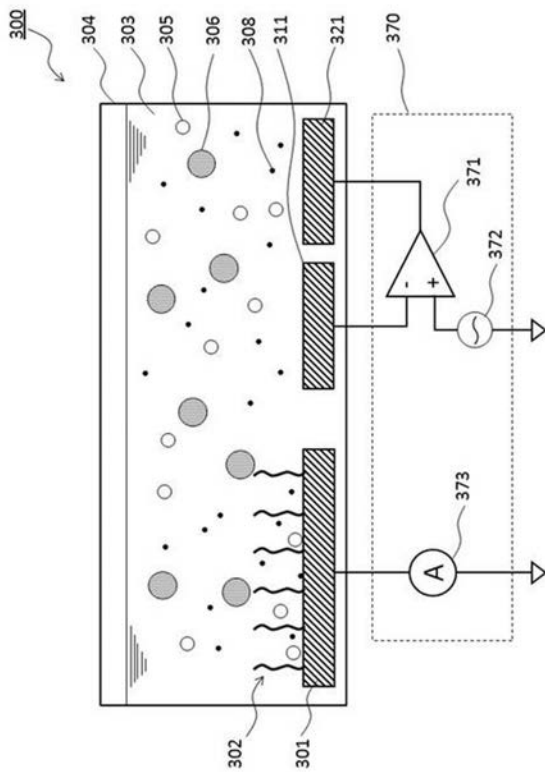


FIG. 3

【 図 4 】

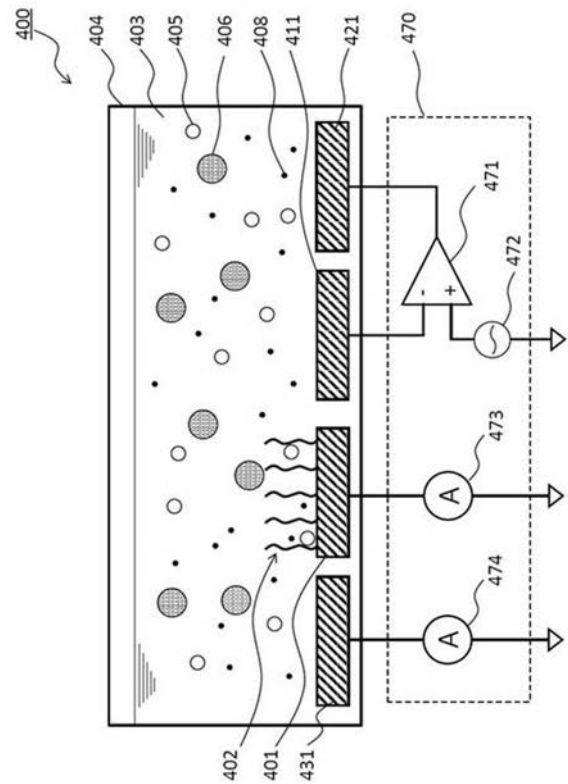


FIG. 4

【 図 5 】

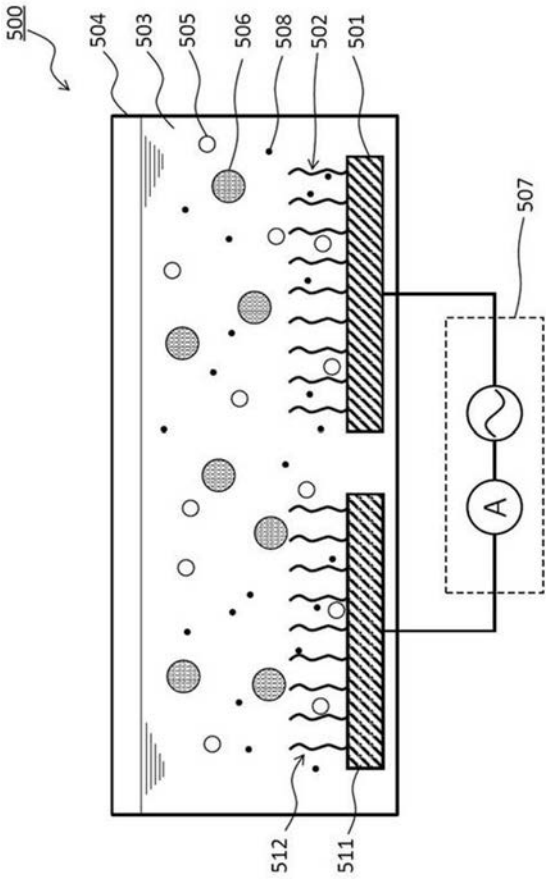


FIG. 5

【 図 6 】

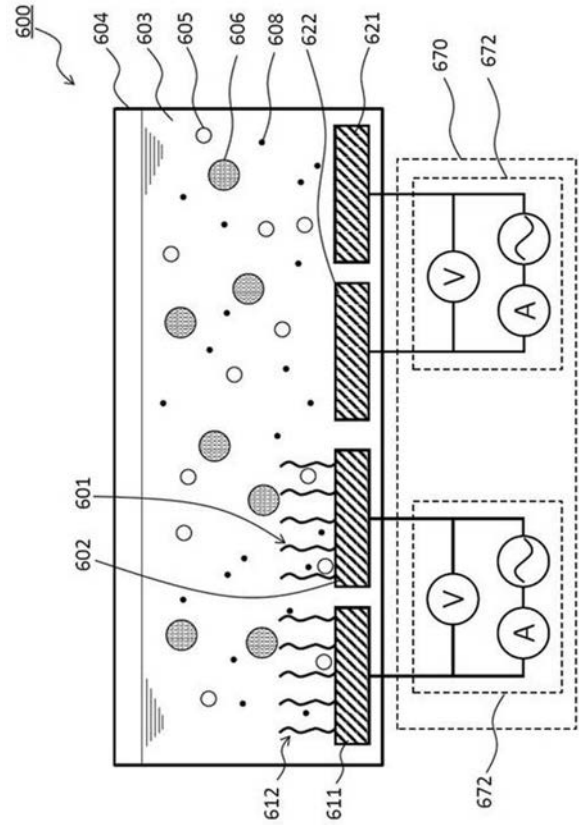


FIG. 6

【 図 7 】

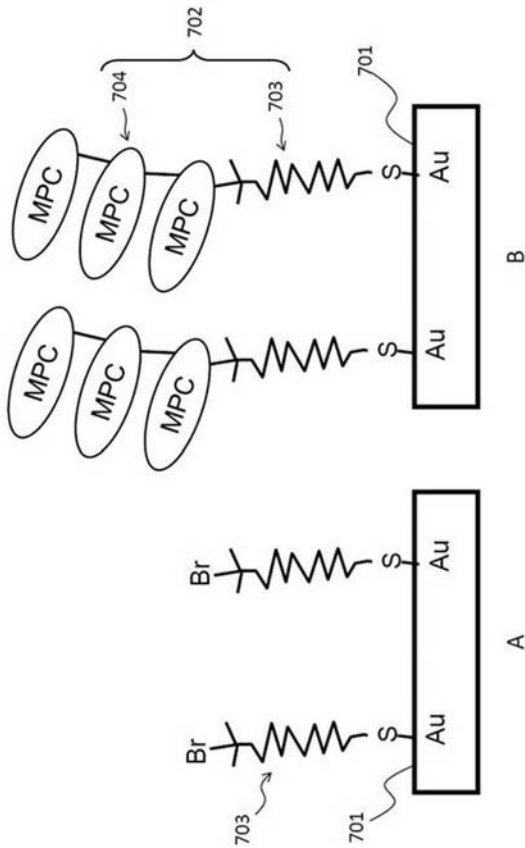


FIG. 7

【 図 8 】

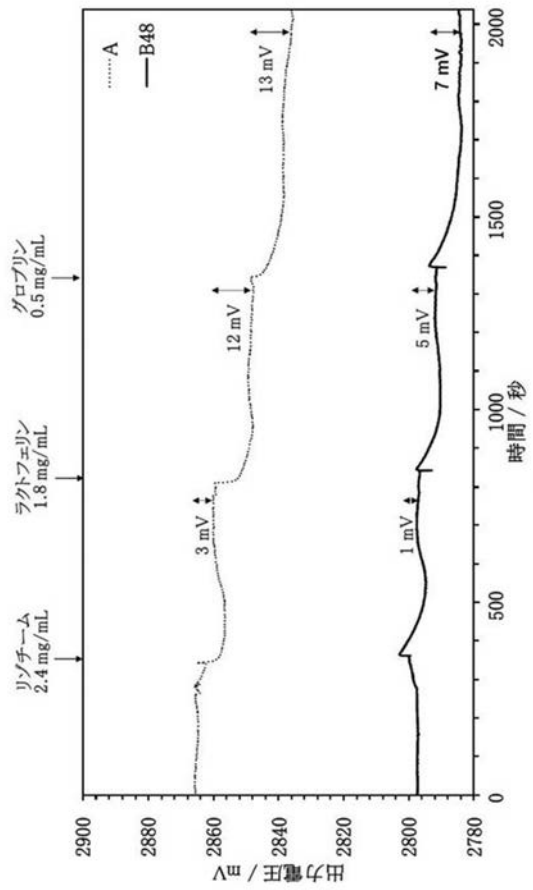


FIG. 8

【 図 9 】

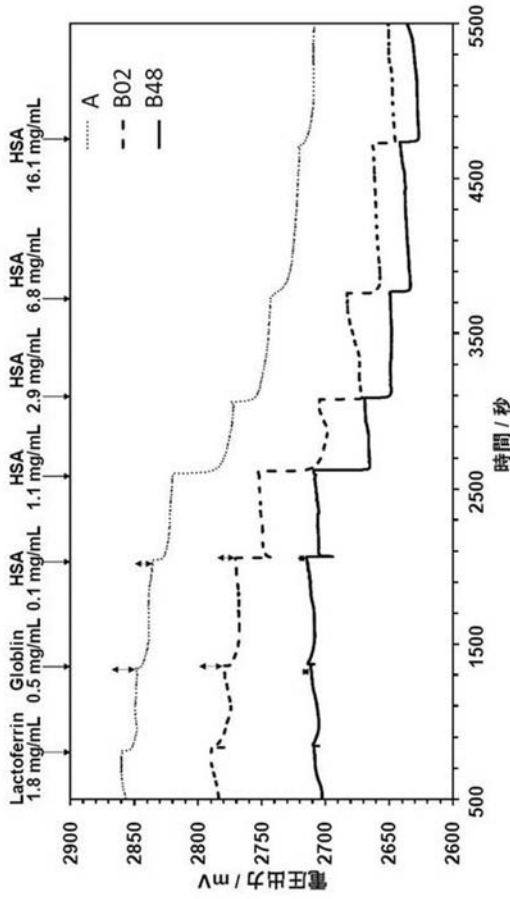


FIG. 9

【 図 10 】

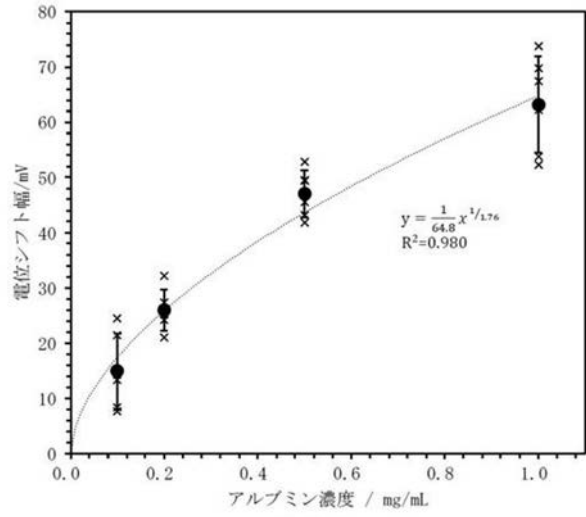


FIG. 10

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2019/012359
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl. G01N27/02 (2006.01) i, G01N33/483 (2006.01) i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. G01N27/00-27/49, G01N33/48-33/98  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2019 Registered utility model specifications of Japan 1996-2019 Published registered utility model applications of Japan 1994-2019  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus (JDreamIII)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2015-34730 A (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 19 February 2015, paragraphs [0014], [0022]-[0025], fig. 1, 2 & US 2016/0169835 A1, paragraphs [0026], [0034]-[0037], fig. 1, 2 & EP 3032248 A1 & CN 105474007 A	1-4, 10 5-9
Y	JP 2005-527799 A (INFINEON TECHNOLOGIES AG) 15 September 2005, paragraphs [0019], [0021], fig. 3A & US 2005/0100938 A1, paragraphs [0025], [0027], fig. 3A & WO 2003/078991 A1 & EP 1483573 A1 & DE 10211358 A	5-7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family 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 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 09.04.2019		Date of mailing of the international search report 07.05.2019
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer  Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/012359

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2008-134255 A (HITACHI, LTD.) 12 June 2008, paragraphs [0032], [0033], fig. 9-11 (Family: none)	6-7, 9
Y	JP 2012-202899 A (TOSHIBA CORPORATION) 22 October 2012, paragraphs [0057]-[0060], fig. 1, 2 (Family: none)	6-7, 9
Y	JP 2016-197107 A (MEDTRONIC MINIMED INC.) 24 November 2016, paragraphs [0038], [0041], [0042], [0050], [0070], fig. 2A & US 2013/0331674 A1, paragraphs [0104], [0107], [0108], [0116], [0136], fig. 2A & WO 2013/184416 A2 & EP 2858567 A1 & KR 10-2015-0020629 A & CN 104736057 A	8-9
A	JP 2016-38384 A (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 22 March 2016, entire text, all drawings & US 2016/0169835 A1 & WO 2015/020131 A1 & EP 3032248 A1 & CN 105474007 A	1-10
A	片山憲和 他, 高感度・微量涙糖センサの開発, 電気化学会大会講演要旨集, 23 February 2008, vol. 85th, 1B06, (KATAYAMA, Norikazu et al., Development of tear glucose sensors with high-sensitivity and capability of detecting a trace amount of samples), non-official translation (Abstracts of the Electrochemical Society of Japan Spring Meeting)	1-10

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 9 / 0 1 2 3 5 9									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N27/02(2006,01)i, G01N33/483(2006,01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N27/00-27/49, G01N33/48-33/98											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2019年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2019年	日本国実用新案登録公報	1996-2019年	日本国登録実用新案公報	1994-2019年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2019年										
日本国実用新案登録公報	1996-2019年										
日本国登録実用新案公報	1994-2019年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus (JDreamIII)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
X	JP 2015-34730 A (国立大学法人 東京大学) 2015.02.19, 段落	1-4, 10									
Y	[0014], [0022]-[0025], 図 1-2 & US 2016/0169835 A1, paragraphs[0026], [0034]-[0037], figures1-2 & EP 3032248 A1 & CN 105474007 A	5-9									
Y	JP 2005-527799 A (インフィネオン テクノロジーズ アクチエンゲゼルシャ フト) 2005.09.15, 段落[0019], [0021], 図 3A & US 2005/0100938 A1, paragraphs[0025], [0027], figure3A & WO 2003/078991 A1 & EP 1483573 A1 & DE 10211358 A	5-7									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの									
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 09.04.2019		国際調査報告の発送日 07.05.2019									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 田中 洋介	2W 3009								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3258									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 9 / 0 1 2 3 5 9
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2008-134255 A (株式会社日立製作所) 2008.06.12, 段落[0032]-[0033]、 図9-11 (ファミリーなし)	6-7, 9
Y	JP 2012-202899 A (株式会社東芝) 2012.10.22, 段落[0057]-[0060]、図1-2 (フ ァミリーなし)	6-7, 9
Y	JP 2016-197107 A (メドトロニック・ミニメッド・インコーポレーテッド) 2016.11.24, 段落[0038], [0041]-[0042], [0050], [0070]、図2A & US 2013/0331674 A1, paragraphs[0104], [0107]-[0108], [0116], [0136], figure2A & WO 2013/184416 A2 & EP 2858567 A1 & KR 10-2015-0020629 A & CN 104736057 A	8-9
A	JP 2016-38384 A (国立大学法人 東京大学) 2016.03.22, 全文、全図 & US 2016/0169835 A1 & WO 2015/020131 A1 & EP 3032248 A1 & CN 105474007 A	1-10
A	片山憲和 他, 高感度・微量涙糖センサの開発, 電気化学会大会講演要旨集, 2008.02.23, Vol.85th, 1B06	1-10

## フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

Fターム(参考) 2G060 AA07 AA15 AA19 AD06 AE20 AF03 AF06 AF15 AG15 HA02  
HE03 JA07 KA10

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。