(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017 年 10 月 5 日(05.10.2017)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2017/170230 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 27/72 (2006.01) *G01N 33/543* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2017/012027

(22) 国際出願日: 2017 年 3 月 24 日(24.03.2017)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2016-063490 2016 年 3 月 28 日(28.03.2016) JP
特願 2016-104468 2016 年 5 月 25 日(25.05.2016) JP

(71) 出願人: ＴＤＫ株式会社(TDK CORPORATION) [JP/JP]; 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目９番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 原谷 進(HARATANI Susumu); 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目９番１号 ＴＤＫ株式会社内 Tokyo (JP). 坪池 祥生(TSUBOIKE Sachio); 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目９番１号 ＴＤＫ株式会社内 Tokyo (JP). 北川 寿美子(KITAGAWA Sumiko); 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目９番１号 ＴＤＫ株式会社内 Tokyo (JP). 菊川 隆(KIKUKAWA Takashi); 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目９番１号 ＴＤＫ株式会社内 Tokyo (JP). 柚賀 春希(YUGA Haruki); 〒1080023 東京都港区芝浦三丁目９番１号 ＴＤＫ株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 棚井 澄雄, 外(TANAI Sumio et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号 Tokyo (JP).

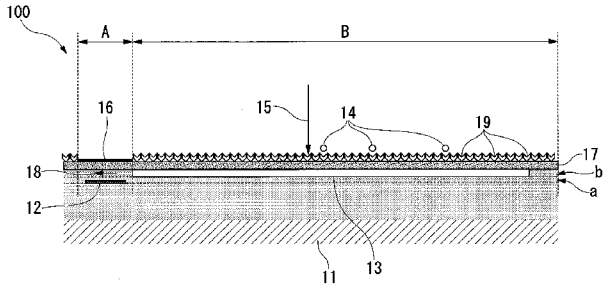
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, 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, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨー

[続葉有]

(54) **Title**: BIOSENSOR AND BIOCHIP

(54) 発明の名称 : バイオセンサ及びバイオチップ



(57) **Abstract**: This biosensor is equipped with: a substrate having a surface on which a first region and a second region positioned adjacent to the first region are formed; a magnetoresistance effect element which is positioned in the first region, and for which the resistance value detected according to the inputted magnetic field changes; a soft magnetic thin film positioned in the second region; a protective film that is positioned in both the first and second regions, covers the surface of the soft magnetic thin film, and has an affinity substance thereon that is positioned in the uppermost section of the second region and recognizes biomolecules on the outermost surface only in the second region; and an MR cover film that is not substantially provided with the affinity substance, and is positioned on the protective film above the magnetoresistance effect element in at least the uppermost section of the first region. Therein, the soft magnetic thin film is configured so as to transmit a layering in-plane direction component of a stray magnetic field of a magnetic bead which accumulates on the soft magnetic thin film to the magnetoresistance effect element. Furthermore, the protective film and the MR cover film are configured from different materials.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2017/170230 A1

ロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

バイオセンサが、第１の領域、及び第１の領域に隣接して配設される第２の領域が形成される面を有する基板と、第１の領域上に配置され、入力される磁界に応じて検出される抵抗値が変化する磁気抵抗効果素子と、第２の領域上に配置された軟磁性体薄膜と、第１の領域上及び第２の領域上の両方に配置され、軟磁性体薄膜の表面を覆うと共に、第２の領域上において最上部に配置され、第２の領域上においてのみ外表面に前記生体分子を認識する親和性物質を有する保護膜と、少なくとも第１の領域上において最上部に配置され、磁気抵抗効果素子の上方の、保護膜上に配置され、親和性物質を実質的に備えないＭＲカバー膜と、を備え、軟磁性体薄膜は、前記軟磁性体薄膜上に集積される磁気ビーズの浮遊磁界の積層面内方向成分を前記磁気抵抗効果素子へ伝達するように構成され、保護膜及びＭＲカバー膜は互いに異なる材料から構成されている。

明　細　書

発明の名称 ： バイオセンサ及びバイオチップ

技術分野

[0001] 本発明は、バイオセンサ及びバイオチップに関する。

本願は、２０１６年３月２８日に、日本に出願された特願２０１６－０６３４９０号、及び２０１６年５月２５日に、日本に出願された特願２０１６－１０４４６８号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 磁気センサとしては、巨大磁気抵抗効果（ＧＭＲ）素子や磁気トンネル接合（ＴＭＲ）素子や異方性磁気抵抗効果（ＡＭＲ）等の磁気抵抗効果素子を用いることが多い（例えば、特許文献１参照。）。磁気抵抗効果素子は、入力される磁界に応じて出力される抵抗値が変化する素子であり、この出力される抵抗値に基づいて、検出された磁界の変化を計測することができる。

[0003] 図５及び図６は、従来のバイオセンサ５００を説明する図である。図５に示すように、バイオセンサ５００は、基板１０１と、磁気抵抗効果素子１０２と、保護膜１０７と、標的とする生体分子を捕捉する生体分子捕捉層１０９とを、この順に備えている。試料中の生体分子が、生体分子捕捉層１０９に捕捉され、前記生体分子に親和性を有する磁気ビーズが、前記生体分子を介して生体分子捕捉層１０９上に捕捉された後に、磁界を横向きに印加すると（印加磁界１０５）、磁気ビーズ１０４から浮遊磁界１１１が発生し、浮遊磁界１１１が磁気抵抗効果素子１０２に入力される。

[0004] 図６は、従来のバイオセンサ５００に用いられる、従来の磁気抵抗素子１０２の詳細を示した図である。図６に示すように、磁気抵抗効果素子１０２は、三本一組のミアンダ構造を有している。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：日本国特表２００５－５１３４７５号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 図５に示すように、従来のバイオセンサ５００では、外部磁界の印加方向が磁気抵抗効果素子１０２の感磁方向と一致しているため、磁気ビーズ１０４からの浮遊磁界１１１を増やすために外部磁界として印加磁界１０５を強めると、磁気抵抗効果素子の感磁層の磁化が飽和してしまい、必要な出力が得られなくなってしまう問題点があった。

[0007] 図６に示すように、ミアンダ構造では、磁気ビーズ１０４が磁気抵抗効果素子１０２上に配置される場合と、磁気抵抗効果素子１０２間に配置される場合とがある。係る配置の違いにより、即ち、磁気抵抗効果素子１０２と磁気ビーズ１０４との相対位置により出力が変動するため、磁気ビーズの数量又は濃度の測定値にバラツキが生じて、十分な精度が得られない問題点があった。

[0008] 本発明者らは上記問題点を解決すべく、試料中に含まれている生体分子の分子数を算出でき、試料中の生体分子の定量性を高精度かつ高感度に確保できるバイオセンサを開発した。

[0009] 図７は、本発明者らが開発したバイオセンサにおけるＰ、Ｑ、Ｒ、Ｓ地点でのＧＭＲ出力の計測値から磁気ビーズの位置によるＧＭＲ出力をシミュレーションした結果を示すグラフ及び磁気ビーズの位置であるＰ、Ｑ、Ｒ、Ｓ地点を表すバイオセンサの断面図である。図７に示すバイオセンサの断面図において、符号１０はバイオセンサであり、符号２は磁気抵抗効果素子であり、符号３は軟磁性体薄膜であり、符号４は磁気ビーズである。

図７に示すように、本発明者らが開発したバイオセンサ上での磁気ビーズの位置によって、ＧＭＲ出力が変動することが課題であった。

[0010] 本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであって、ＧＭＲ出力の変動が抑制され、高精度かつ高感度に試料中の生体分子を検出するバイオセンサを提供する。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究した結果、磁気抵抗効果素子の上方に、カバー膜を配置することにより、ＧＭＲ出力の変動を抑制できることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0012] すなわち、本発明は、以下の態様を含む。

本発明の第１態様に係るバイオセンサは、試料中の生体分子を検出するためのバイオセンサであって、第１の領域、及び前記第１の領域に隣接して配設される第２の領域が形成される面を有する基板と、前記第１の領域上に配置され、入力される磁界に応じて検出される抵抗値が変化する磁気抵抗効果素子と、

前記第２の領域上に配置された軟磁性体薄膜と、前記第１の領域上及び前記第２の領域上の両方に配置され、前記軟磁性体薄膜の表面を覆うと共に、前記第２の領域上において最上部に配置され、前記第２の領域上においてのみ外表面に前記生体分子を認識する親和性物質を有する保護膜と、少なくとも前記第１の領域上において最上部に配置され、前記磁気抵抗効果素子の上方の、前記保護膜上に配置され、前記親和性物質を実質的に備えないＭＲカバー膜と、を備え、前記軟磁性体薄膜は、前記軟磁性体薄膜上に集積される磁気ビーズの浮遊磁界の積層面内方向成分を前記磁気抵抗効果素子へ伝達するように構成され、前記保護膜及び前記ＭＲカバー膜は互いに異なる材料から構成されている。

[0013] 上記態様に係るバイオセンサは、前記ＭＲカバー膜の外表面に前記生体分子の非特異的吸着を抑制する物質をさらに備えてもよい。

前記保護膜を構成する材料が貴金属であり、前記ＭＲカバー膜を構成する材料が酸化物であってもよい。

前記保護膜を構成する材料が酸化物であり、前記ＭＲカバー膜を構成する材料が貴金属であってもよい。

前記貴金属が、金、銀、白金、ロジウム、ルテニウム及びパラジウムのうちからなる群から選ばれる少なくとも１種であってもよい。

前記酸化物が、アルミナ、シリカ、酸化チタン、酸化ジルコニウム、酸化イ

ンジウム、酸化タルタル、酸化亜鉛、酸化ガリウム及び酸化スズからなる群から選ばれる少なくとも１種であってもよい。

[0014] 前記非特異的吸着を抑制する物質がチオール基、イソチオシアネート基及びジスルフィド基からなる群から選ばれる少なくとも１つを有してもよい。

前記非特異的吸着を抑制する物質がアルコキシシラン基及びホスホン酸基のうち少なくともいずれかを有してもよい。

[0015] 前記保護膜が複数の膜からなってもよい。

前記ＭＲカバー膜が、前記保護膜を構成する複数の膜のうちの最上部の膜以外の膜上の、前記第１の領域及び第２の領域のいずれにも配置されていてもよい。

前記ＭＲカバー膜が、前記保護膜を構成する複数の膜のうちの最上部の膜以外の膜上の、前記第１の領域にのみ配置されていてもよい。

[0016] 本発明の第２態様に係るバイオチップは、上記第１態様に係るバイオセンサを備える。

発明の効果

[0017] 本発明の上記態様によれば、ＧＭＲ出力の変動が抑制され、高精度かつ高感度に試料中の生体分子を検出することができる。

図面の簡単な説明

[0018] [図1]本発明の第１実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。

[図2]本発明の第２実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。

[図3]本発明の第３実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。

[図4]本発明の第４実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。

[図5]従来の磁気検出型バイオセンサの断面図である。

[図6]従来の磁気検出型バイオセンサの斜視図である。

[図7]バイオセンサにおけるＰ、Ｑ、Ｒ、Ｓ地点でのＧＭＲ出力の計測値から磁気ビーズの位置によるＧＭＲ出力をシミュレーションした結果を示すグラフ及び磁気ビーズの位置であるＰ、Ｑ、Ｒ、Ｓ地点を表すバイオセンサの断面図である。

発明を実施するための形態

[0019] ◇バイオセンサ

本発明の一実施形態に係るバイオセンサは、基板と、磁気抵抗効果素子と、保護膜と、ＭＲカバー膜と、を備える。

前記基板は、第１の領域、及び前記第１の領域に隣接して配設される第２の領域が形成される面を有する。

前記磁気抵抗効果素子は、前記第１の領域上に配置され、入力される磁界に応じて検出される抵抗値が変化するように構成されている。

前記軟磁性体薄膜は、前記第２の領域上に配置され、前記軟磁性体薄膜上に集積される磁気ビーズの浮遊磁界の積層面内方向成分を前記磁気抵抗効果素子へ伝達するように構成されている。

前記保護膜は、前記第１の領域上及び前記第２の領域上の両方に配置され、前記軟磁性体薄膜の表面を覆うと共に、前記第２の領域上において最上部に配置され、前記第２の領域上においてのみ外表面に前記生体分子を認識する親和性物質を有する。

前記ＭＲカバー膜は、少なくとも前記第１の領域上において最上部に配置され、前記磁気抵抗効果素子の上方の、前記保護膜上に配置され、前記親和性物質を実質的に備えない。

前記保護膜及び前記ＭＲカバー膜は互いに異なる材料から構成されている。

[0020] なお、本明細書において、「バイオセンサ」とは、酵素、抗原、抗体、核酸（ＤＮＡ，ＲＮＡ等に限らず、例えば、ＬＮＡ等の人工核酸も含む。）等の生体材料（天然由来であってもよく、化学合成したものであってもよい。）を感知するセンサを意味する。

また、「ＭＲカバー膜」とは、磁気抵抗効果素子（Ｍａｇｎｅｔｏ　Ｒｅｓ

ｉｓｔｉｖｅ　ｅｆｆｅｃｔ　Ｄｅｖｉｃｅ）を保護するための膜を意味する。

[0021] 本実施形態のバイオセンサは、親和性物質を実質的に備えないＭＲカバー膜を備えることにより、ＧＭＲ出力の変動が抑制され、高精度かつ高感度に試料中の生体分子を検出することができる。

[0022] 本明細書において、「親和性物質を実質的に備えない」とは、親和性物質を全く含まない、又は、例えば、ＭＲカバー膜上に非特異的に親和性物質が吸着した場合において、生体分子を捕捉することができない程度の量しか備えていない状態を意味する。

[0023] ◎バイオセンサの構造

本実施形態のバイオセンサを構造の違いごとに、以下、図面を参照しながら説明する。なお、以下の説明で用いる図は、本発明の特徴を分かり易くするために、便宜上、要部となる部分を拡大して示している場合があり、各構成要素の寸法比率等が実際と同じであるとは限らない。

[0024] ＜第１実施形態＞

図１は、本発明の第１実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。

以下にて記述する、第１の領域、第２の領域、第１の平面、第２の平面、第３の平面、第４の平面は仮想的な領域又は平面で、領域又は平面上の部材の位置関係を定義するために便宜的に導入される。なお、以下に示す実施形態のバイオセンサ上において、第１の領域及び第２の領域は、交互に繰り返し存在しており、図１に示すバイオセンサ１００においては複数存在する第１の領域及び第２の領域のうちの一つを抜き出して示している。

[0025] 本実施形態のバイオセンサ１００は、試料中の生体分子を検出する。

基板１１は、その表面に第１の領域Ａ及び第２の領域Ｂを有する。磁気抵抗効果素子１２は、第１の領域Ａ上に配置され、入力される磁界に応じて検出される抵抗値が変化する。磁性体薄膜１３は、第２の領域Ｂ上に配置される。保護膜１７は、第１の領域Ａ上及び第２の領域Ｂ上の両方に配置され、

軟磁性体薄膜１３の表面を覆う。また、保護膜１７は、親和性物質（第１の親和性物質）１９を有する。親和性物質１９は、第２の領域Ｂ上においてのみ外表面に生体分子を認識する。ＭＲカバー膜１６は、少なくとも第１の領域Ａ上において最上部に配置され、磁気抵抗効果素子１２の上方の、保護膜１７上に配置され、親和性物質１９を実質的に備えない。

これにより、生体分子又は磁気ビーズ１４のＭＲカバー層への吸着を抑制することができ、ＧＭＲ出力の変動が抑制され、高精度かつ高感度に試料中の生体分子を検出することができる。

[0026] さらに、本実施形態において、磁気ビーズ１４は、前記第１の親和性物質１９の前記生体分子認識部位とは異なる部位を認識する第２の親和性物質（図示せず）を備える。磁気ビーズ１４は、前記保護膜１７上に、第１の親和性物質－生体分子－第２の親和性物質複合体を介して集積し、軟磁性体薄膜１３と交差する方向に磁界（印加磁界１５）を印加したときに、検出磁界１８（漏れ磁界）が磁気抵抗効果素子１２に入力される。

[0027] 図１に示すように、基板１１の主面から離間して位置し、基板１１の主面と略平行な第一の平面ａには、磁気抵抗効果素子１２が配置される。また、第１の平面ａよりも基板１１の主面から離間して位置する第２の平面ｂには、軟磁性体薄膜１３が配置される。すなわち、本実施形態においては、基板１１に対向する磁気抵抗効果素子２の主面と、基板１に対向する軟磁性体薄膜１３の主面とが、基板１１に対する法線方向において異なる位置に配置されている。

[0028] 軟磁性体薄膜１３の表面は、保護膜１７で覆われており、保護膜１７の外表面は、検出対象の生体分子を捕捉する第１の親和性物質１９を備えている。磁気ビーズ１４も生体分子を捕捉する第２の親和性物質（図示せず）を備えている。第１の親和性物質１９と第２の親和性物質は、互いに生体分子中の異なる部位を認識する。即ち、第１の親和性物質－生体分子－第２の親和性物質複合体の形成を可能とする。

さらに、第１の平面及び第２の平面よりも基板１の主面から離間して位置

する図示略の第三の平面には、図示略の電極端子が配置される。電極端子は、図示略の内部配線を経由して磁気抵抗効果素子１２と接続される。

[0029] ＜第２実施形態＞

図２は、本発明の第２実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。なお、図２以降の図において、既に説明済みの図に示すものと同じ構成要素には、その説明済みの図の場合と同じ符号を付し、その詳細な説明は省略する。

[0030] バイオセンサ２００は、保護膜が複数の膜からなる点以外は、図１に示すバイオセンサ１００と同じものである。すなわち、バイオセンサ２００においては、基板１１の一方の表面に第２の保護膜２０が積層される。また、第２の保護膜２０内の第１の平面aに磁気抵抗効果素子１２が配置され、第２の保護膜２０内の第２の平面ｂに軟磁性体薄膜１３が配置される。また、軟磁性体薄膜１３の表面である第３の平面ｃ上に第２の保護膜２０が積層される。また、第２の保護膜２０の表面に第１の領域Ａ上及び第２の領域Ｂ上の両方に保護膜１７が積層される。さらに、第１の領域Ａ上における保護膜１７の表面にＭＲカバー膜１６が積層される。また、第２の領域Ｂ上における保護膜１７は、その表面に親和性物質１９を備える。換言すると、軟磁性体薄膜１３上に第１の領域Ａ上及び第２の領域Ｂ上の両方に、第２の保護膜２０と保護膜１７とがこの順で積層されている。

[0031] バイオセンサ２００において、ＭＲカバー膜は親和性物質１９を実質的に備えず、ＭＲカバー膜１６と保護膜１７及び第２の保護膜２０とは、異なる材料から構成されている。

[0032] 図２に示すバイオセンサ２００は、図１に示すバイオセンサ１００と同様の原理に基づき、試料中の生体分子の検出に使用される。

[0033] ＜第３実施形態＞

図３は、本発明の第３実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。

バイオセンサ３００は、ＭＲカバー層が第１の領域Ａ上及び第２の領域Ｂ

上の両方に配置されている点以外は、図２に示すバイオセンサ２００と同じものである。すなわち、バイオセンサ３００においては、基板１１の一方の表面に第２の保護膜２０が積層される。また、第２の保護膜２０内の第１の平面aに磁気抵抗効果素子１２が配置される。また、第２の保護膜２０内の第２の平面ｂに軟磁性体薄膜１３が配置される。また、軟磁性体薄膜１３の表面である第３の平面ｃ上に第２の保護膜２０が積層される。また、第２の保護膜２０の表面に第１の領域Ａ上及び第２の領域Ｂ上の両方にＭＲカバー膜１６が積層される。また、第２の領域Ｂ上におけるＭＲカバー膜１６の表面に保護膜１７が積層される。また、第２の領域Ｂ上における保護膜１７は、その表面に親和性物質１９を備える。換言すると、第２の領域Ｂにおいて、ＭＲカバー膜１６は、第２の保護膜２０と保護膜１７とにはさまれた状態で配置されている。

[0034] バイオセンサ３００において、ＭＲカバー膜は親和性物質１９を実質的に備えず、ＭＲカバー膜１６と保護膜１７及び第２の保護膜２０とは、異なる材料から構成されている。

[0035] 図３に示すバイオセンサ３００は、図１に示すバイオセンサ１００と同様の原理に基づき、試料中の生体分子の検出に使用される。

[0036] ＜第４実施形態＞

図４は、本発明の第４実施形態に係るバイオセンサを模式的に示す断面図である。

バイオセンサ４００は、ＭＲカバー膜１６が第１の領域Ａ上において最上部に配置されており、保護膜１７が第２の領域Ｂ上において最上部に配置されている点以外は、図２に示すバイオセンサ２００と同じものである。すなわち、バイオセンサ４００においては、基板１１の一方の表面に第２の保護膜２０が積層される。また、第２の保護膜２０内の第１の平面aに磁気抵抗効果素子１２が配置される。また、第２の保護膜２０内の第２の平面ｂに軟磁性体薄膜１３が配置される。また、軟磁性体薄膜１３の表面である第３の平面ｃ上に第２の保護膜２０が積層される。また、第１の領域Ａ上において第

２の保護膜２０の表面にＭＲカバー膜１６が積層される。また、第２の領域Ｂ上において第２の保護膜２０の表面に保護膜１７が積層される。また、第２の領域Ｂ上における保護膜１７は、その表面に親和性物質１９を備える。換言すると、第１の領域Ａにおける最上部にＭＲカバー膜１６が配置され、第２の領域における最上部に保護膜１７が配置されている。

[0037] バイオセンサ４００において、ＭＲカバー膜１６は親和性物質１９を実質的に備えず、ＭＲカバー膜１６と保護膜１７及び第２の保護膜２０とは、異なる材料から構成されている。

[0038] 図４に示すバイオセンサ４００は、図１に示すバイオセンサ１００と同様の原理に基づき、試料中の生体分子の検出に使用される。

[0039] 本実施形態に係るバイオセンサは、図１～４に示すものに限定されず、その効果を損なわない範囲内において、図１～４に示すものの一部の構成が変更又は削除されたものや、これまでに説明したものにさらに他の構成が追加されたものであってもよい。

[0040] ◎バイオセンサの各構成

以下、本実施形態に係るバイオセンサの各構成について、詳細に説明する。

[0041] ○基板

基板の材料としては、例えば、シリコンやＡＩＴｉＣ（アルティック）などの半導体や導電体、又はアルミナやガラス等の絶縁体から構成されるものが挙げられ、その形態は特に問われるものではない。

基板の厚さは、特に限定はないが、例えば４００μｍ以上２０００μｍ以下であればよい。基板の厚さがこのような範囲であることで、適度な強度を有し、薄型化及び軽量化されたバイオセンサを得ることができる。

ここで、「基板の厚さ」とは、基板全体の厚さを意味し、例えば、複数層からなる基板の厚さとは、基板を構成するすべての層の合計の厚さを意味する。

[0042] ○磁気抵抗効果素子

磁気抵抗効果素子は、磁界の影響を受けて電気抵抗が変わる現象を利用する素子であれば特に制限はない。磁気抵抗効果素子は、積層面内の一定方向に固着された磁化方向を有する磁化固定層と、外部磁界に応じて磁化方向が変化する磁化自由層と、を備えたタイプの素子であることが好ましい。また、磁気抵抗効果素子において、磁化固定層の磁化固定方向は、前記軟磁性体薄膜の端面から入力される磁界である漏れ磁界と、略平行又は略反平行であり、かつ、前記磁気抵抗効果素子の膜面方向であることが好ましい。

本実施形態において、略平行又は略反平行とは、凡そ平行又は反平行であればよく、０．１°以上１０°以下の範囲でずれていてもよい。

さらに、磁気抵抗効果素子は、磁化固定層と、非磁性体の導体又は絶縁体からなる中間層と、磁化自由層と、を含み、磁化固定層と磁化自由層とで中間層を挟む積層体を有していることがより好ましい。

なお、中間層が非磁性体の導体の場合、磁気抵抗効果素子は、一般にＧＭＲ（巨大磁気抵抗効果素子）と呼ばれ、絶縁体の場合、ＴＭＲ（トンネル型磁気抵抗効果素子）と呼ばれる。磁気抵抗効果素子の抵抗は、磁化固定層の磁化方向と磁化自由層の平均の磁化方向の角度に応じて変化する。一般に、磁化固定層の磁化方向を感磁方向と定義する。

[0043] 磁化自由層は、例えば、ＮｉＦｅ等の軟磁性膜から構成される。中間層は、例えば、Ｃｕなどの導電体膜、又は、アルミナ－酸化マグネシウム等の絶縁体膜から構成される。

磁化固定層は、反強磁性膜と磁化固定膜からなり、磁化固定膜が中間層と接する。反強磁性膜は、例えばＩｒＭｎやＰｔＭｎなどの反強磁性Ｍｎ合金などから構成される。磁化固定膜は、例えば、ＣｏＦｅやＮｉＦｅなどの強磁性体から構成されるか、或いは、Ｒｕの薄膜層をＣｏＦｅ等で挟む構成をとってもよい。

[0044] ○軟磁性体薄膜

軟磁性体薄膜は、以下の２つの機能を有する。

（１）積層面の略法線方向に印加された磁界（印加磁界）の方向を変え、軟

磁性体薄膜の積層面端部に漏れ磁界（検出磁界）として、磁気抵抗効果素子の感磁方向の磁界成分を生成する機能、

（２）軟磁性体薄膜上に集積される磁気ビーズの浮遊磁界の積層面内方向成分を磁気抵抗効果素子へ伝達する機能。

軟磁性体薄膜は、軟磁性体薄膜に印加される磁界の印加方向から見て、磁気抵抗効果素子２の磁化固定方向に沿って同一直線上に配置されていることが好ましい。軟磁性体薄膜の基板の主面の法線方向への投影面は、磁気抵抗効果素子の基板の主面の法線方向への投影面と近接している。また、一部重なっていてもよい。軟磁性体薄膜は例えば、パーマロイなどが好ましい。

軟磁性体薄膜の大きさとしては、捕捉する磁気ビーズの数や大きさによって適宜選択されるが、０．１μｍ以上１０００μｍ以下四方が好ましく、０．５μｍ以上５００μｍ以下四方がより好ましく、５０μｍ以上２００μｍ以下四方が特に好ましい。

軟磁性体薄膜の厚みとしては、０．０１μｍ以上１００μｍ以下が好ましく、０．１μｍ以上５０μｍ以下がより好ましく、０．５μｍ以上５μｍ以下が特に好ましい。

[0045] ○磁気ビーズ

磁気ビーズは、磁性を帯びている粒子であれば特に限定されず、例えば酸化鉄粒子が挙げられる。磁気ビーズの直径としては、保護膜の面積との兼ね合いによるが、例えば、０．０１μｍ以上１００μｍ以下が好ましく、０．０５μｍ以上５０μｍ以下がより好ましく、０．１μｍ以上５μｍ以下が特に好ましい。

磁性ビーズは、生体分子と特異的に結合する第二の親和性物質を備え、第二の親和性物質を介して生体分子を捕捉する。磁性ビーズは、第二の親和性物質がコーティング処理等により付加されたものであってもよく、第二の親和性物質自体からなるものであってもよい。

磁気ビーズの表面は、捕捉する生体分子に応じて、ポリマーやシリカマトリックスでコーティング処理されることが好ましい。生体分子としてリガン

ドを捕捉したい場合には、磁気ビーズの表面は親水性であることが好ましく、生体分子として抗体を捕捉したい場合には、磁気ビーズの表面は疎水性であることが好ましい。

[0046] ○保護膜

保護膜は、軟磁性体薄膜を保護可能であるものであれば特に限定されない。保護膜の材料は、例えばアルミナ、シリカ、酸化チタン、酸化ジルコニウム、酸化インジウム、酸化タルタル、酸化亜鉛、酸化ガリウム、酸化スズ等の酸化物；金、銀、白金、ロジウム、ルテニウム、パラジウム等の貴金属；窒化アルミ、窒化シリコン等の無機物や、ポリイミド等の有機物が挙げられる。

[0047] 保護膜は１層（単層）からなるものでもよいし、２層以上の複数層からなるものでもよい。また、保護膜が複数層からなる場合、これら複数層は、互いに同一でも異なっていてもよく、これら複数層の組み合わせは特に限定されない。

[0048] 保護膜の厚さは、１ｎｍ以上１０００ｎｍ以下であることが好ましく、１ｎｍ以上１００ｎｍ以下であることがより好ましく、１ｎｍ以上１５ｎｍ以下であることが特に好ましい。

ここで、「保護膜の厚さ」とは、保護膜全体の厚さを意味し、例えば、複数層からなる保護膜の厚さとは、保護膜を構成するすべての層の合計の厚さを意味する。

[0049] 保護膜の外表面は、試料中の生体分子と接触する表面である。この外表面は、検出対象の生体分子と特異的に結合する第１の親和性物質を備えている。また、磁気ビーズも生体分子と特異的に結合する第２の親和性物質を備えている。

これら親和性物質を備えることにより、検出対象の生体分子が試料中（検体中）に存在する場合にのみ、生体分子が保護膜の外表面に第１の親和性物質を介して固定される。次いで、磁気ビーズが第２の親和性物質を介して生体分子と結合することにより、磁気ビーズが保護膜表面に固定される。

[0050] 検出対象の生体分子としては、例えば、ＤＮＡ、ｍＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、人工核酸（例えば、ＬＮＡ（Ｌｏｃｋｅｄ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ）、ＢＮＡ（Ｂｒｉｄｇｅｄ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ））等の核酸（天然由来であってもよく、化学合成したものであってもよい。）；リガンド、サイトカイン、ホルモン等のペプチド；受容体、酵素、抗原、抗体等のタンパク質；細胞、ウイルス、細菌、真菌等が挙げられる。

検出対象の生体分子を含む試料としては、血液、血清、血漿、尿、パフィーコート、唾液、精液、胸部滲出液、脳脊髄液、涙液、痰、粘液、リンパ液、腹水、胸水、羊水、膀胱洗浄液、気管支肺胞洗浄液、細胞抽出液、細胞培養上清等が挙げられる。

また、検出対象の生体分子としては、検出対象となる生体分子に別の生体分子を複合体化させたもの、又は、検出対象となる生体分子を別の生体分子に変換したものであってもよい。例えば、ＲＮＡに対して、ビオチンを末端に有するＤＮＡをハイブリダイゼーションにより複合体化させたもの（以下、「ＲＮＡ－ＤＮＡ－ビオチン複合体」と称する場合がある。）等が挙げられる。複合体化によりＲＮＡにビオチンが付加されたことにより、ストレプトアビジンと特異的に結合することが可能となる。よって、例えば、ＲＮＡ－ＤＮＡ－ビオチン複合体に含まれるＲＮＡ、又はＤＮＡがハイブリダイズしていない核酸部分に対し、ハイブリダイズし得るＲＮＡ、又はＤＮＡを第１の親和性物質として用いることで、本実施形態のバイオセンサ上に捕捉し、さらに、ストレプトアビジンを第２の親和性物質して用いることにより、前記ＲＮＡ－ＤＮＡ－ビオチン複合体を特異的に検出することができる。

[0051] 生体分子と特異的に結合する第１の親和性物質及び第２の親和性物質としては、検出対象の生体分子が核酸の場合には、この核酸に相補的な核酸が挙げられる。検出対象の生体分子が抗原の場合には、抗原に親和性を有する抗体が挙げられる。検出対象の生体分子が１次抗体の場合には、この１次抗体に親和性を有する抗原、２次抗体が挙げられる。検出対象の生体分子が細胞、ウイルス、細菌、真菌等の場合には、これらの表面に提示されている抗原

を認識する抗体が挙げられる。

検出対象の生体分子が、血液中に存在するｍｉＲＮＡの場合、第１の親和性物質としては、例えばこのｍｉＲＮＡの５’端１０塩基に相補的な第一の核酸が挙げられ、第２の親和性物質としては、このｍｉＲＮＡの３’端１０塩基に相補的な第２の核酸が挙げられる。

検出対象の生体分子が、血液中に存在する抗原タンパク質の場合、第１の親和性物質としては、例えばこの抗原タンパク質を認識する第１の抗体が挙げられ、第２の親和性物質としては、この抗原タンパク質を認識し、第１の抗体とはエピトープが異なる第２の抗体が挙げられる。

[0052] 第１の親和性物質が抗体である場合、該抗体は、例えば、マウス等のげっ歯類の動物に標識ペプチドを抗原として免疫することによって作製することができる。また、例えば、ファージライブラリーのスクリーニングにより作製することができる。抗体は、抗体断片でもよく、該抗体断片としては、Ｆｖ、Ｆａｂ、ｓｃＦｖ等が挙げられる。

[0053] 上述の説明では保護膜表面に固定された生体分子に磁気ビーズが結合する例を挙げたが、本実施形態では、これに限定されず、予め磁気ビーズに検出対象の生体分子を結合させておき、これを試料として保護膜表面に接触させてもよい。

軟磁性体薄膜を覆う保護膜表面への磁気ビーズの固定方法は、従来の又は今後開発されるべきあらゆる技術が適用可能であり、磁気ビーズを測定することで間接的に検出対象の生体分子の存在を検出できるように構成されるものであれば、いかなる手法であっても構わない。

[0054] ＜＜保護膜における親和性物質の固定化方法＞＞

保護膜表面における親和性物質の固定化方法としては、例えば、最上部に配置された保護膜の構成材料が貴金属である場合、親和性物質由来の、若しくは親和性物質に導入された、チオール基、イソチオシアネート基又はジスルフィド基と貴金属表面とがチオレート結合を形成し、親和性物質を固定化することができる。

[0055] また、最上部に配置された保護膜の構成材料が酸化物である場合、親和性物質に結合可能な官能基を有するシランカップリング剤又はホスホン酸誘導体を介して、親和性物質を固定化することができる。

前記官能基としては、親和性物質と共有結合又は非共有結合が可能な基であれば特に限定されず、例えば、化学的に活性な（つまり第１の親和性物質との反応性が高くなるように活性化された）基、受容体基、リガンド基等が挙げられる。親和性物質は、官能基と共有結合又は非共有結合が可能となるように修飾されていてもよい。

[0056] 具体的な例としては、活性化されたカルボキシル誘導基、カルボキシル基、アルデヒド基、エポキシ基、ビニルスルホン基、ビオチニル基、チオール基、アミノ基、イソシアネート基、イソチオシアネート基、ヒドロキシル基、アクリレート基、マレイミド基、ヒドラジド基、アミノオキシ基、アジド基、アミド基、スルホネート基、アビジン、ストレプトアビジン、金属キレート等が挙げられ、これらに限定されない。これらの中でも、一般的に親和性物質のうち多くがアミノ基を有するため、該アミノ基との反応性の点から、アルデヒド基、活性化されたカルボキシル誘導基、エポキシ基、ビニルスルホン基が好ましく、また結合定数が高いビオチニル基も好ましい。特に、第１の親和性物質がアミノ基を有し、該アミノ基を介して結合させる場合には、アミノ基との反応性と保存安定性のバランスから、活性化されたカルボキシル誘導基が好ましい。一方で、第１の親和性物質がアルデヒド基を有し、該アルデヒド基を介して結合させる場合には、反応性が高いため、アミノオキシ基又はヒドラジド基が好ましい。

[0057] 前記ホスホン酸誘導体としては、例えば、アルキルホスホン酸、アルケニルホスホン酸、フェニルホスホン酸等を挙げられる。前記ホスホン酸誘導体として、より具体的には、ビニルホスホン酸（$CH_2=CH-PO_3H_2$）、プロペン－１－ホスホン酸（$CH_3-CH=CH-PO_3H_2$）、プロペン－２－ホスホン酸（$CH_2=CH(CH_3)-PO_3H_2$）等が挙げられ、これらに上記官能基が導入されたものであればよい。前記官能基を有するホスホン酸誘

導体としては、例えば、２，５－ジカルボキシフェニルホスホン酸、３，５－ジカルボキシフェニルホスホン酸、２，５－ビスホスホノテレフタル酸等が挙げられる。

[0058] 前記官能基を有するシランカップリング剤としては、例えば、トリメトキシシリル安息香酸、γ－メタクリロキシプロピルトリメトキシシラン、ビニルトリアセトキシシラン、ビニルトリメトキシシラン、γ－イソシアナートプロピルトリエトキシシラン、γ－グリシドキシプロピルトリメトキシシラン、β－（３，４－エポキシシクロヘキシル）エチルトリメトキシシラン、トリス－（３－トリメトキシシリルプロピル）イソシアヌレート、メタクリロキシプロピルジメチルメトキシシラン、メタクリロキシプロピルジメチルエトキシシラン、メタクリロキシプロピルメチルジメトキシシラン、メタクリロキシプロピルメチルジエトキシシラン、メタクリロキシプロピルトリメトキシシラン、メタクリロキシプロピルトリエトキシシラン、３－メルカプトプロピルトリメトキシシラン、３－メルカプトプロピルトリエトキシシラン、３－メルカプトプロピルメチルジメトキシシラン、３－メルカプトプロピルメチルジエトキシシラン、３－メルカプトプロピルジメチルメトキシシラン、３－メルカプトプロピルジメチルエトキシシラン、メルカプトエチルトリエトキシシラン等が挙げられる。

[0059] より具体的な保護膜表面への親和性物質の固定化方法については、親和性物質の種類に応じて、公知の方法に従って当業者が決定できる。例えば、親和性物質を含有する溶液を、親和性物質と共有結合する官能基を備えたシランカップリング剤又はホスホン酸誘導体とともに保護膜に接触させる方法等が挙げられる。

例えば、保護膜を構成する材料が酸化物であり、カルボキシル基を有するシランカップリング剤を介して、アミノ基を有する親和性物質を固定化する場合には、保護膜表面が、第１の親和性物質及びシランカップリング剤をｐＨ７．０以上１０．０以下の一般的な緩衝液に混合した溶液に接触する状態で所定時間インキュベートすることにより、親和性物質が有するアミノ基と、

シランカップリング剤が有するカルボキシル基とを反応させてアミド結合を形成させ、さらにシランカップリング剤と保護膜表面とを反応させてエーテル結合を形成させることで、親和性物質を保護膜の外表面上に固定化することができる。該緩衝液としては、例えば、リン酸緩衝液、トリス緩衝液等が挙げられる。

[0060] ○ＭＲカバー膜

ＭＲカバー膜は、磁気抵抗効果素子を保護可能であるものであれば特に限定されない。ＭＲカバー膜の材料は、例えばアルミナ、シリカ、酸化チタン、酸化ジルコニウム、酸化インジウム、酸化タルタル、酸化亜鉛、酸化ガリウム、酸化スズ等の酸化物；金、銀、白金、ロジウム、ルテニウム、パラジウム等の貴金属等の無機物が挙げられる。

[0061] また、前記保護膜を構成する材料が貴金属である場合、ＭＲカバー膜を構成する材料が酸化物であることが好ましい。一方、前記保護膜を構成する材料が酸化物である場合、ＭＲカバー膜を構成する材料が貴金属であることが好ましい。

前記保護膜と前記ＭＲカバー膜とを構成する材料が異なり、さらに上記組み合わせであることにより、保護膜にのみ選択的に親和性物質が固定化される。また、ＭＲカバー層は親和性物質を実質的に備えず、ＭＲカバー膜への生体分子又は磁気ビーズの非特異的な吸着が抑制される。そのため、ＧＭＲ出力の変動が抑制され、高精度かつ高感度に試料中の生体分子を検出することができる。

[0062] ＭＲカバー膜は１層（単層）からなるものでもよいし、２層以上の複数層からなるものでもよい。ＭＲカバー層が複数層からなる場合、これら複数層は、互いに同一でも異なっていてもよく、これら複数層の組み合わせは特に限定されない。

[0063] ＭＲカバー膜の厚さは、１ｎｍ以上１０００ｎｍ以下であることが好ましく、１ｎｍ以上１００ｎｍ以下であることがより好ましく、１ｎｍ以上１５ｎｍ以下であることが特に好ましい。

ここで、「ＭＲカバー膜の厚さ」とは、ＭＲカバー膜全体の厚さを意味し、例えば、複数層からなるＭＲカバー膜の厚さとは、ＭＲカバー膜を構成するすべての層の合計の厚さを意味する。

[0064] さらに、ＭＲカバー膜は、外表面に生体分子の非特異的吸着を抑制する物質（非特異的吸着抑制物質）を備えることが好ましい。ＭＲカバー膜は、非特異的吸着抑制物質を備えることにより、生体分子又は磁気ビーズの非特異的な吸着をより効果的に抑制することができる。

[0065] 非特異的吸着抑制物質としては、末端にＭＲカバー膜への固定化基と、もう一方の末端、又は化合物中に生体親和性基とを有するものであれば、単量体であっても、重合体であってもよい。

[0066] 前記固定化基としては、ＭＲカバー膜を構成する材料が貴金属である場合は、例えば、チオール基、イソチオシアネート基、ジスルフィド基等が挙げられる。一方、前記固定化基としては、ＭＲカバー膜を構成する材料が酸化物である場合は、例えば、アルコシキシラン基、ホスホン酸基等が挙げられる。

[0067] 前記生体親和性基は、優れた非特異吸着抑制効果を有する。前記生体親和性基として、具体的には、ホスホリルコリン基、（ポリ）アルキレングリコール残基、スルホアルキルアミノ基等が挙げられる。本実施形態における非特異的吸着抑制物質としては、例えば、これらの生体親和性基を有する単量体を重合することで、生体親和性基を有する高分子化合物を製造し、用いてもよい。

[0068] 前記非特異的吸着抑制物質が単量体である場合、前記非特異的吸着抑制物質は分子自己組織化（ＭＳＡ：ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｓｅｌｆａｓｓｅｍｂｌｙ）し、単分子膜を形成するものである。

本明細書において、「分子自己組織化」とは、外的要因からの制御を受けずに、分子自身で自然に組織や構造を構築することを意味する。

本実施形態における非特異的吸着抑制物質は、ファンデルワールス結合等の弱い分子間結合を利用して、非特異的吸着抑制物質同士が整列し、結合し

て１つの単分子膜（自己組織化単分子層（ＳＡＭｓ：Ｓｅｌｆ－Ａｓｓｅｍｂｌｅｄ　Ｍｏｎｏｌａｙｅｒｓ））を形成するものである。

[0069] ホスホリルコリン基を有する単量体としては、例えば、２－メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン、６－メタクリロイルオキシヘキシルホスホリルコリン等の（メタ）アクリロイルオキシアルキルホスホリルコリン；２－メタクリロイルオキシエトキシエチルホスホリルコリン及び１０－メタクリロイルオキシエトキシノニルホスホリルコリン等の（メタ）アクリロイルオキシアルコキシアルキルホスホリルコリン；アリルホスホリルコリン、ブテニルホスホリルコリン、ヘキセニルホスホリルコリン、オクテニルホスホリルコリン、デセニルホスホリルコリン等のアルケニルホスホリルコリン等が挙げられる。本実施形態の非特異的吸着抑制物質としては、これらのホスホコリン基とは反対側の末端に前記固定化基を導入して用いればよい。

[0070] 本明細書において、「アルキレングリコール残基」とは、アルキレングリコール（ＨＯ－Ｒ－ＯＨ、ここでＲはアルキレン基）の片側末端又は両末端の水酸基が他の化合物と縮合反応した後に残る、アルキレンオキシ基（－Ｒ－Ｏ－、ここでＲはアルキレン基）を意味する。例えば、メチレングリコール（ＨＯ－CH_2－ＯＨ）の場合のアルキレングリコール残基はメチレンオキシ基（－CH_2－Ｏ－）であり、エチレングリコール（ＨＯ－CH_2CH_2－ＯＨ）の場合のアルキレングリコール残基はエチレンオキシ基（－CH_2CH_2－Ｏ－）である。また、「ポリアルキレングリコール残基」とは、アルキレンオキシ基が複数繰り替えされた構造を意味する。

[0071] アルキレングリコール残基を有する単量体としては、例えば、メトキシポリエチレングリコール（メタ）アクリレート、エトキシポリエチレングリコール（メタ）アクリレート、２－ヒドロキシエチル（メタ）アクリレート及びその水酸基の一置換エステル、２－ヒドロキシプロピル（メタ）アクリレート及びその水酸基の一置換エステル、２－ヒドロキシブチル（メタ）アクリレート及びその水酸基の一置換エステル、グリセロールモノ（メタ）アクリレート、ポリプロピレングリコールを側鎖とする（メタ）アクリレート、

２－メトキシエチル（メタ）アクリレート、２－エトキシエチル（メタ）アクリレート、メトキシジエチレングリコール（メタ）アクリレート、エトキシジエチレングリコール （メタ）アクリレート、エトキシポリエチレングリコール（メタ）アクリレート等が挙げられる。また、アルキレングリコール残基の平均繰り返し数が５以上９０以下であることが好ましい。

アルキレングリコール残基の平均繰り返し数が上記範囲であることにより、合成時に優れた操作性（ハンドリング）を有する。

本実施形態の非特異的吸着抑制物質としては、上記アルキレングリコール残基を有するモノマーのいずれかの末端に、前記固定化基を導入して用いればよい。

[0072] スルホアルキルアミノ基を有する単量体としては、例えば、Ｎ－メチル－Ｎ－（３－スルホプロピル）アクリルアミド、３－（Ｎ，Ｎ－ジメチルミリスチルアンモニオ）プロパンスルホン酸（３－（Ｎ，Ｎ－Ｄｉｍｅｔｈｙｌｍｙｒｉｓｔｙｌａｍｍｏｎｉｏ）ｐｒｏｐａｎｅｓｕｌｆｏｎａｔｅ、ＳＢ３－１４、ミリスチルスルホベタイン）等が挙げられる。本実施形態の非特異的吸着抑制物質としては、これらのスルホ基とは反対側の末端に前記固定化基を導入して用いればよい。

[0073] 前記生体親和性基を有する単量体に、前記固定化基を導入する方法としては、導入したい固定化の種類に応じて、公知の方法を用いて行えばよい。例えば、固定化基がチオール基である場合、前記生体親和性基を有する単量体のうち、固定化基を導入したい炭素に結合している水素のうち少なくとも一つをハロゲン原子（例えば、塩素、臭素、ヨウ素等）に置換し、次いでアルカリ存在下で硫化水素を反応させることにより、チオール基を導入することができる。

又は、上述の＜＜保護膜における親和性物質の固定化方法＞＞で例示されたシランカップリング剤又はホスホコリン誘導体に、公知の方法を用いて、前記生体親和性基を導入して用いてもよい。

[0074] 本実施形態の非特異的吸着抑制物質としてより具体的には、例えば、スル

ホベタインタイプのアルカンチオールである３－［（１１－Ｍｅｒｃａｐｔｏｕｎｄｅｃｙｌ）－Ｎ，Ｎ－ｄｉｍｅｔｈｙｌａｍｍｏｎｉｏ］　ｐｒｏｐａｎｅｓｕｌｆｏｎａｔｅ等が挙げられる。

[0075] ＜＜ＭＲカバー膜における非特異的吸着抑制物質の固定化方法＞＞

ＭＲカバー膜表面における非特異的吸着抑制物質の固定化方法としては、例えば、ＭＲカバー膜の構成材料が貴金属である場合、固定化基としてチオール基、イソチオシアネート基又はジスルフィド基を有する非特異的吸着抑制物質を用いればよく、該固定化基と貴金属表面とがチオレート結合を形成し、非特異的吸着抑制物質を固定化することができる。

[0076] また、ＭＲカバー膜の構成材料が酸化物である場合、固定化基としてアルコキシシラン基又はホスホン酸基を有する非特異的吸着抑制物質を用いればよく、該固定化基と酸化物表面とがエーテル結合を形成し、非特異的吸着抑制物質を固定化することができる。

[0077] より具体的なＭＲカバー膜表面への非特異的吸着抑制物質の固定化方法については、ＭＲカバー膜の構成材料によって、公知の方法に従って当業者が決定できる。例えば、非特異的吸着抑制物質を含有する溶液を、ＭＲカバー膜に接触させる方法等が挙げられる。

例えば、保護膜を構成する材料が酸化物であり、アルコキシシラン基を有する非特異的吸着抑制物質を固定化する場合には、ＭＲカバー膜表面が、非特異的吸着抑制物質をｐＨ７．０以上１０．０以下の一般的な緩衝液に混合した溶液に接触する状態で所定時間インキュベートすることにより、エーテル結合を介して、非特異的吸着抑制物質をＭＲカバー層表面に固定化することができる。該緩衝液としては、例えば、リン酸緩衝液、トリス緩衝液等が挙げられる。

[0078] ○その他構成

・電極端子

電極端子は、磁気抵抗効果素子及び軟磁性体薄膜と異なる平面である第４の平面に配置される。また、電極端子は、内部配線を経て磁気抵抗効果素子と

接続されており、磁気抵抗効果素子の抵抗変化を出力として外部に取り出すことができる。電極端子及び内部配線としては、例えばＡｕ、Ａｌ、Ａｇ、Ｃｕ等の導体金属やこれらの合金などが好ましい。

[0079] ・絶縁層

磁気抵抗効果素子と軟磁性体薄膜と電極端子とは、絶縁層で隔てられており、各部相互の電気的な短絡を防止できる。また、基板が導電性材料の場合、基板の主面には絶縁層が形成されており、基板を経由した電気的短絡を防止できる。絶縁層としては、例えばアルミナ、窒化アルミ、酸化シリコン、窒化シリコン等の無機物や、ポリイミド等の有機物が好ましい。

[0080] ・印加磁界及び検出磁界

生体分子を介して保護膜上に磁気ビーズが集積し、軟磁性体薄膜と交差する方向に磁界（印加磁界）を印加したときに、検出磁界（漏れ磁界）が磁気抵抗効果素子に入力される。印加磁界の方向としては、磁気抵抗効果素子の主面に対して垂直であることが好ましい。印加磁界としては、特に限定されないが、０．１ｍテスラ以上１００ｍテスラ以下が好ましく、１ｍテスラ以上１０ｍテスラ以下がより好ましい。

印加磁界が係る場合、漏れ磁界は、１ｎテスラ以上１０ｍテスラ以下が好ましく、１０μテスラ以上５ｍテスラ以下がより好ましく、５０μテスラ以上１ｍテスラ以下が特に好ましい。

[0081] 検出磁界（漏れ磁界）は、保護膜を介して磁気抵抗効果素子の主面上を占める磁気ビーズの割合によって影響を受ける。保護膜に集積する磁気ビーズの数が多いほど、検出される抵抗値が増加する。保護膜に集積する磁気ビーズの数と漏れ磁界を介して検出される抵抗値は、線形相関している。

そして、磁気ビーズが備える第二の親和性物質の力価（例えば、第二の親和性物質が捕捉する生体分子の分子数）をもとに、保護膜上に集積した生体分子全体の分子数を算出することができる。

すなわち、本実施形態のバイオセンサによれば、試料中に含まれている生体分子の分子数を算出できる。このように、本実施形態のバイオセンサにおい

ては、試料中の生体分子の定量性を高精度に確保できる。

また、本実施形態のバイオセンサは、高感度であり、数十ナノテスラまで検出可能である。具体的には、磁気ビーズ１５００個に対して１０個の増減を検出できる。すなわち約０．５％の変化を検出可能である。

さらに、本実施形態のバイオセンサは、磁気ビーズを用いるため、蛍光と比べて高感度で寿命も長い。従って、ＥＬＩＳＡ等の検出手段と比較して格段に優れている。

[0082] ◇バイオセンサの製造方法

本実施形態のバイオセンサは、上述の各構成を対応する位置関係となるように、公知の方法を用いて、順次積層することで製造できる。

[0083] また、保護膜における親和性物質の固定化方法については、上述の＜＜保護膜における親和性物質の固定化方法に＞＞に記載のとおりである。

[0084] また、ＭＲカバー膜における非特異的吸着抑制物質の固定化方法については、上述の＜＜ＭＲカバー膜における非特異的吸着抑制物質の固定化方法＞＞に記載のとおりである。

[0085] ◇バイオセンサの使用方法

◎生体分子の検出方法

本実施形態のバイオセンサは、例えば、以下に示す生体分子の検出方法に使用できる。

まず、生体分子を含有する試料を保護膜に接触させて、前記生体分子を前記第一の親和性物質を介して前記保護膜上に集積させる（工程１）。次いで、磁気ビーズを前記保護膜に接触させて、前記生体分子を介して前記保護膜上に集積させる（工程２）。次いで、軟磁性体薄膜と交差する方向に磁界を印加して、検出磁界を前記磁気抵抗効果素子に入力させ、抵抗値を検出する（工程３）。

各工程について詳細に説明する。

[0086] ［工程１］

工程１は、生体分子を含有する試料を保護膜に接触させて、生体分子を第

一の親和性物質を介して前記保護膜上に集積させる工程である。簡便である等の観点から、バイオセンサはマイクロ流体デバイス中で用いられることが好ましい。工程１において、まずマイクロ流路中に生体分子を含有する試料を流す。試料としては、検出対象の生体分子を含有するものであれば、特に限定されない。試料としては、例えば、本実施形態の生体分子の検出方法を疾患の診断に用いる場合には、疾患の発症が確認されている者、若しくは疾患の発症が疑われている者、又は疾患に対する治療を受けている患者等の被検者由来の試料等が挙げられる。試料として、より具体的には、上述の「〇保護膜」で例示されたものと同様のものが挙げられる。

例えば、血中循環腫瘍細胞の表面に存在する抗原、受容体等のペプチド・タンパク質を検出対象にする場合には、マイクロ流路中に試料をそのまま流してもよい。例えば、ｍｉＲＮＡは、がん、心血管疾患、神経変性疾患、精神疾患、慢性炎症性疾患などの発症と進行に関わることが報告されている。ｍｉＲＮＡをはじめとして、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、Ｔｏｔａｌ　ＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｒＲＮＡ等の核酸を検出対象とする場合には、前記生体試料から核酸を抽出することが好ましい。抽出方法は、核酸の種類に応じて定法から適宜選択される。

[0087] マイクロ流路中を流れる試料中の生体分子は、保護膜上の第一の親和性物質に捕捉され、保護膜上に集積する。第一の親和性物質としては、上述した通り、核酸、抗体等が挙げられる。生体分子は、ハイブリダイゼーション、抗原抗体反応等により、保護膜上で、第一の親和性物質と複合体を形成する。

[0088] 保護膜上に第一の親和性物質－生体分子複合体が形成された後、保護膜を、緩衝液等を用いて洗浄することが好ましい。洗浄により、保護膜上に非特異的に結合している夾雑物を除去することができ、生体分子の検出精度を向上させることができる。該緩衝液としては、例えば、リン酸緩衝液、トリス緩衝液等が挙げられる。

[0089] ［工程２］

工程２は、磁気ビーズを保護膜に接触させて、生体分子を介して前記保護膜上に集積させる工程である。上述した通り、磁気ビーズは、生体分子を捕捉する第二の親和性物質を備えている。例えば、マイクロ流路中を磁気ビーズが流れ、保護膜と接触した場合、保護膜上に形成されている第一の親和性物質－生体分子複合体中の生体分子と、第二の親和性物質を介して結合する。工程２により、保護膜上に第一の親和性物質－生体分子－第二の親和性物質複合体が形成される。すなわち、第二の親和性物質を備えた磁気ビーズが保護膜上に集積する。

[0090] 保護膜上に第一の親和性物質－生体分子－第二の親和性物質複合体が形成された後、工程１と同様に保護膜を、緩衝液等を用いて洗浄することが好ましい。洗浄により、保護膜上に非特異的に結合している磁気ビーズを除去することができ、生体分子の検出精度を向上させることができる。該緩衝液としては、［工程１］において例示されたものと同様のものが挙げられる。

[0091] ［工程３］

工程３は、軟磁性体薄膜と交差する方向に磁界を印加して、検出磁界を前記磁気抵抗効果素子に入力させ、抵抗値を検出する工程である。

検出磁界（漏れ磁界）は、保護膜を介して磁気抵抗効果素子の主面上を占める磁気ビーズの割合によって影響を受ける。保護膜に集積する磁気ビーズの数が多いほど、検出される抵抗値が増加する。

工程３により、保護膜上に集積した磁気ビーズの数を正確に定量することができる。そして、磁気ビーズが備える第二の親和性物質の力価（例えば、第二の親和性物質が捕捉する生体分子の分子数）をもとに、保護膜上に集積した生体分子全体の分子数を算出することができる。すなわち、本実施形態の検出方法によれば、試料中に含まれている生体分子の分子数を算出できる。そのため、試料中の生体分子の分子数と病状に正の相関がみられる場合には、試料中の生体分子の分子数を遂次算出することにより、病状の経過観察をすることができる。

このように、本実施形態の検出方法においては、試料中の生体分子の定量性

を確保できる。

[0092] 本実施形態のバイオセンサの他の使用例として、以下に示す生体分子の検出方法に使用してもよい。

まず、生体分子を含有する試料と磁気ビーズとを混合し、第二の親和性物質を介し磁気ビーズに生体分子を捕捉させる（工程４）。次いで、生体分子を捕捉した磁気ビーズを保護膜に接触させて、前記生体分子を介して、前記磁気ビーズを前記保護膜上に集積させる（工程５）。次いで、前記軟磁性体薄膜と交差する方向に磁界を印加して、検出磁界を前記磁気抵抗効果素子に入力させ、抵抗値を検出する（工程３）。

第一の親和性物質－生体分子－第二の親和性物質複合体を形成させる際に、生体分子－第二の親和性物質複合体を先に形成させること以外は、上述の［工程１］～［工程３］を備える生体分子の検出方法と同様であるため、説明を省略する。

[0093] ◎バイオチップ

本実施形態のバイオセンサは、バイオチップに応用することができる。

本実施形態のバイオチップは、保護膜上に備える第一の親和性物質が異なるバイオセンサを複数備えることにより、試料の有する性質を網羅的に解析することができる。

前記バイオチップとしては、例えば、がん診断用バイオチップ、がん腫別診断用バイオチップ、インフルエンザウイルス検出用バイオチップ等が挙げられる。

[0094] ○がん診断用バイオチップ

保護膜上に備える第一の親和性物質としては、がん遺伝子又はがん抑制遺伝子由来の核酸に相補的な核酸が挙げられる。がん遺伝子又はがん抑制遺伝子に、がん患者特有の変異が存在する場合には、係る変異を含む核酸に相補的な核酸が好ましい。

がん遺伝子としては、ｓｉｓ等の増殖因子をコードする遺伝子群；ｅｒｂＢ、ｆｍｓ、ｒｅｔ等のレセプター型チロシンキナーゼをコードする遺伝子

群；ｆｅｓ等の非レセプター型チロシンキナーゼをコードする遺伝子群；ｒａｓ等のＧＴＰ／ＧＤＰ結合タンパク質をコードする遺伝子群；ｓｒｃ、ｍｏｓ、ｒａｆ等のセリン／スレオニンキナーゼをコードする遺伝子群；ｍｙｃ、ｍｙｂ、ｆｏｓ、ｊｕｎ、ｅｒｂＡ等の核内タンパク質をコードする遺伝子群；ｃｒｋ等のシグナル伝達アダプター分子をコードする遺伝子群；Ｂｃｒ－Ａｂｌ等の融合遺伝子が挙げられる。

さらに、がん遺伝子として、Ｓｈｃ、Ｇｒｂ２、Ｓｏｓ、ＭＥＫ、Ｒｈｏ、Ｒａｃ遺伝子等のＲａｓ－ＭＡＰキナーゼ経路関連遺伝子；ＰＬＣγ、ＰＫＣ等のホスホリパーゼＣガンマ-プロテインキナーゼＣ経路関連遺伝子；ＰＩ３Ｋ、Ａｋｔ、Ｂａｄ等のＰＩ３Ｋ－Ａｋｔ経路関連遺伝子；ＪＡＫ、ＳＴＡＴ等のＪＡＫ－ＳＴＡＴ経路関連遺伝子；ＧＡＰ、ｐ１８０、ｐ６２等のＧＡＰ系経路関連遺伝子が挙げられる。

[0095] がん抑制遺伝子としては、ＲＢ、ｐ５３、ＷＴ１、ＮＦ１、ＡＰＣ、ＶＨＬ、ＮＦ２、ｐ１６、ｐ１９、ＢＲＣＡ１、ＢＲＣＡ２、ＰＴＥＮ、Ｅカドヘリン遺伝子等が挙げられる。

[0096] また、第一の親和性物質として上述した遺伝子の遺伝産物であるタンパク質を捕捉するもの、例えば、抗体（抗体断片も含む）、アプタマー、リガンド、受容体等であってもよい。

[0097] ○がんの種類別診断用バイオチップ

本実施形態のバイオチップにおいて、保護膜上に備える第一の親和性物質としては、１種類のがんから抽出される複数の核酸に相補的な核酸であってもよい。すなわち、本実施形態のバイオチップはがんの種類別診断用バイオチップであってもよい。

[0098] 対象となるガンとしては、特別な限定はなく、例えば、乳がん（例えば、浸潤性乳管がん、非浸潤性乳管がん、炎症性乳がん等）、前立腺がん（例えば、ホルモン依存性前立腺がん、ホルモン非依存性前立腺がん等）、膵がん（例えば、膵管がん等）、胃がん（例えば、乳頭腺がん、粘液性腺がん、腺扁平上皮がん等）、肺がん（例えば、非小細胞肺がん、小細胞肺がん、悪性

中皮腫等）、結腸がん（例えば、消化管間質腫瘍等）、直腸がん（例えば、消化管間質腫瘍等）、大腸がん（例えば、家族性大腸がん、遺伝性非ポリポーシス大腸がん、消化管間質腫瘍等）、小腸がん（例えば、非ホジキンリンパ腫、消化管間質腫瘍等）、食道がん、十二指腸がん、舌がん、咽頭がん（例えば、上咽頭がん、中咽頭がん、下咽頭がん等）、頭頸部がん、唾液腺がん、脳腫瘍（例えば、松果体星細胞腫瘍、毛様細胞性星細胞腫、びまん性星細胞腫、退形成性星細胞腫等）、神経鞘腫、肝臓がん（例えば、原発性肝がん、肝外胆管がん等）、腎臓がん（例えば、腎細胞がん、腎盂と尿管の移行上皮がん等）、胆嚢がん、胆管がん、膵臓がん、肝がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、卵巣がん（例、上皮性卵巣がん、性腺外胚細胞腫瘍、卵巣性胚細胞腫瘍、卵巣低悪性度腫瘍等）、膀胱がん、尿道がん、皮膚がん（例えば、眼内（眼）黒色腫、メルケル細胞がん等）、血管腫、悪性リンパ腫（例えば、細網肉腫、リンパ肉腫、ホジキン病等）、メラノーマ（悪性黒色腫）、甲状腺がん（例えば、甲状腺髄様がん等）、副甲状腺がん、鼻腔がん、副鼻腔がん、骨腫瘍（例えば、骨肉腫、ユーイング腫瘍、子宮肉腫、軟部組織肉腫等）、転移性髄芽腫、血管線維腫、隆起性皮膚線維肉腫、網膜肉腫、陰茎癌、精巣腫瘍、小児固形がん（例えば、ウィルムス腫瘍、小児腎腫瘍等）、カポジ肉腫、ＡＩＤＳに起因するカポジ肉腫、上顎洞腫瘍、線維性組織球腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、慢性骨髄増殖性疾患、白血病（例えば、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病等）等が挙げられ、これらに限定されない。

[0099] 上述したがん遺伝子及びがん抑制遺伝子をはじめとして、がんの種類によって特異的な遺伝子の発現／変異パターンが存在することが報告されている。そのため、がんの種類ごとの遺伝子発現プロファイル等に基づいて、本実施形態のバイオチップを作製することにより、診断の精度を高めることができる。

[0100] また、本実施形態のバイオチップを用いれば、抗がん剤の感受性／耐性の予測をすることができる。例えば、ＥＧＦＲ阻害剤であるゲフィニチブの場

合、被検サンプル中のＥＧＦＲがＬ８５８Ｒ変異又はＧ７１９Ｘ変異を有している場合には、ゲフィニチブ感受性を示すことが報告されている。

一方、被検サンプル中のＥＧＦＲがＴ７９０Ｍ変異及び／又はＤ７６１Ｙ変異を有している場合には、ゲフィニチブ耐性を示すことが報告されている。また、ゲフィニチブ耐性を示すこれらの変異は、病期が進むにつれて検出される頻度が高くなることが報告されている。本実施形態のバイオチップは、耐性変異を示すＥＧＲＦ遺伝子を容易に定量することができることから、本実施形態のバイオチップによれば、がんの進行度を調べることもできる。

[0101] ○インフルエンザウイルス検出バイオチップ

また、本実施形態のバイオチップにおいて、保護膜上に備える第一の親和性物質としては、インフルエンザウイルス由来の核酸に相補的な核酸、又はインフルエンザウイルスが特異的に結合する糖鎖であってもよい。すなわち、本実施形態のバイオチップはインフルエンザウイルス検出用バイオチップであってもよい。

[0102] 本実施形態のバイオチップとしては、例えば、Ａ型、Ｂ型、Ｃ型それぞれのゲノムにおいて、報告されている変異をはじめとするあらゆる変異部位を認識する核酸を保護膜上に固定したものが挙げられる。また、第一の親和性物質としては、Ａ型、Ｂ型、及びＣ型ウイルスのそれぞれを特異的に認識可能な抗体であってもよい。また、インフルエンザウイルスは、細胞に感染する際にシアル酸残基に結合することが知られており、ウイルスの種類によって、ウイルスが結合し得るシアル酸と糖との結合の様式が異なるため、第一の親和性物質としては、Ａ型、Ｂ型、及びＣ型ウイルスのそれぞれが結合するシアル酸含有糖鎖であってもよい。

なお、本明細書において、「「シアル酸（ｓｉａｌｉｃ　ａｃｉｄ）」とは、９炭糖であるノイラミン酸（ｎｅｕｒａｍｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）のアミノ基やヒドロキシ基が置換された物質の総称を意味し、例えば、５位がアセチル化されたＮ－アセチルノイラミン酸（Ｎｅｕ５Ａｃ）や、グリコール酸で修飾されたＮ－グライコリルノイラミン酸（Ｎｅｕ５Ｇｃ）が挙げられる

。

[0103] 本実施形態のバイオチップによれば、インフルエンザウイルスの感染を早期に発見することができる。

さらに、本実施形態のバイオチップを経時的に用いることにより、ウイルス感染後の病状の経過観察をすることができる。

産業上の利用可能性

[0104] 上述の実施形態によれば、ＧＭＲ出力の変動が抑制され、高精度かつ高感度に試料中の生体分子を検出することができる。また、本実施形態のバイオセンサをバイオチップとして利用することにより、簡便且つ迅速に診断することができ、例えば、がん診断、がんの種類別診断、がんの進行度診断、インフルエンザウイルスの検出、インフルエンザウイルスの種類の特定、インフルエンザの病状観察等に応用可能である。

符号の説明

[0105] １０，１００，２００，３００，４００，５００…バイオセンサ、１１，１０１…基板、２，１２，１０２…磁気抵抗効果素子、３，１３…軟磁性体薄膜、４，１４，１０４…磁気ビーズ、１５，１０５…印加磁界、１６…ＭＲカバー膜、１７，１０７…保護膜、１８…検出磁界、１９…親和性物質、１０９…生体分子捕捉層、２０…第２の保護膜、１１１…浮遊磁界、１１２…電極、Ａ…第１の領域、Ｂ…第２の領域、ａ…第１の平面、ｂ…第２の平面、ｃ…第３の平面

請求の範囲

[請求項1] 試料中の生体分子を検出するためのバイオセンサであって、

第１の領域、及び前記第１の領域に隣接して配設される第２の領域が形成される面を有する基板と、

前記第１の領域上に配置され、入力される磁界に応じて検出される抵抗値が変化する磁気抵抗効果素子と、

前記第２の領域上に配置された軟磁性体薄膜と、

前記第１の領域上及び前記第２の領域上の両方に配置され、前記軟磁性体薄膜の表面を覆うと共に、前記第２の領域上において最上部に配置され、前記第２の領域上においてのみ外表面に前記生体分子を認識する親和性物質を有する保護膜と、

少なくとも前記第１の領域上において最上部に配置され、前記磁気抵抗効果素子の上方の、前記保護膜上に配置され、前記親和性物質を実質的に備えないＭＲカバー膜と、を備え、

前記軟磁性体薄膜は、前記軟磁性体薄膜上に集積される磁気ビーズの浮遊磁界の積層面内方向成分を前記磁気抵抗効果素子へ伝達するように構成され、

前記保護膜及び前記ＭＲカバー膜は互いに異なる材料から構成されているバイオセンサ。

[請求項2] さらに、前記ＭＲカバー膜の外表面に前記生体分子の非特異的吸着を抑制する物質を備えた請求項１に記載のバイオセンサ。

[請求項3] 前記保護膜を構成する材料が貴金属であり、前記ＭＲカバー膜を構成する材料が酸化物である請求項１又は２に記載のバイオセンサ。

[請求項4] 前記保護膜を構成する材料が酸化物であり、前記ＭＲカバー膜を構成する材料が貴金属である請求項１又は２に記載のバイオセンサ。

[請求項5] 前記貴金属が、金、銀、白金、ロジウム、ルテニウム及びパラジウムのうちからなる群から選ばれる少なくとも１種である請求項３又は４に記載のバイオセンサ。

[請求項6] 前記酸化物が、アルミナ、シリカ、酸化チタン、酸化ジルコニウム、酸化インジウム、酸化タルタル、酸化亜鉛、酸化ガリウム及び酸化スズからなる群から選ばれる少なくとも１種である請求項３又は４に記載のバイオセンサ。

[請求項7] 前記非特異的吸着を抑制する物質がチオール基、イソチオシアネート基及びジスルフィド基からなる群から選ばれる少なくとも１つを有する請求項４～６のいずれか一項に記載のバイオセンサ。

[請求項8] 前記非特異的吸着を抑制する物質がアルコキシシラン基及びホスホン酸基のうち少なくともいずれかを有する請求項３、５、６のいずれか一項に記載のバイオセンサ。

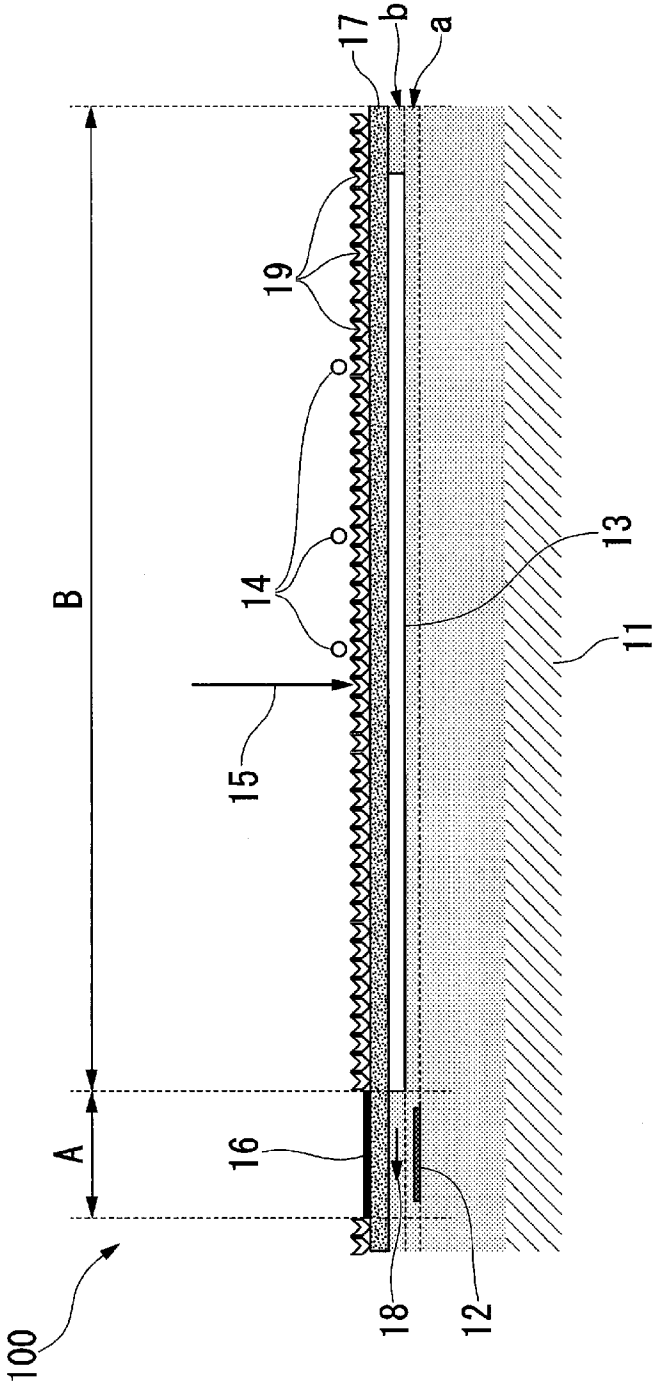
[請求項9] 前記保護膜が複数の膜からなる請求項１～８のいずれか一項に記載のバイオセンサ。

[請求項10] 前記ＭＲカバー膜が、前記保護膜を構成する複数の膜のうちの最上部の膜以外の膜上の、前記第１の領域及び第２の領域のいずれにも配置されている請求項９に記載のバイオセンサ。

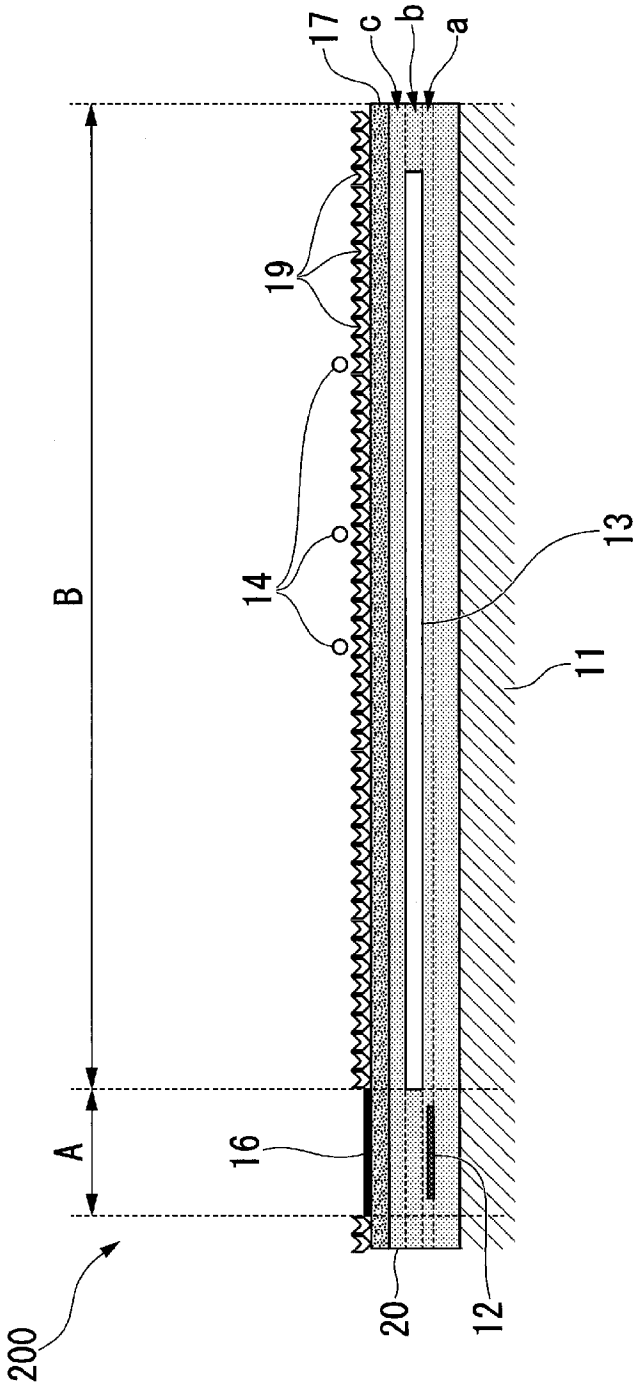
[請求項11] 前記ＭＲカバー膜が、前記保護膜を構成する複数の膜のうちの最上部の膜以外の膜上の、前記第１の領域にのみ配置されている請求項９に記載のバイオセンサ。

[請求項12] 請求項１～１１のいずれか一項に記載のバイオセンサを備えているバイオチップ。

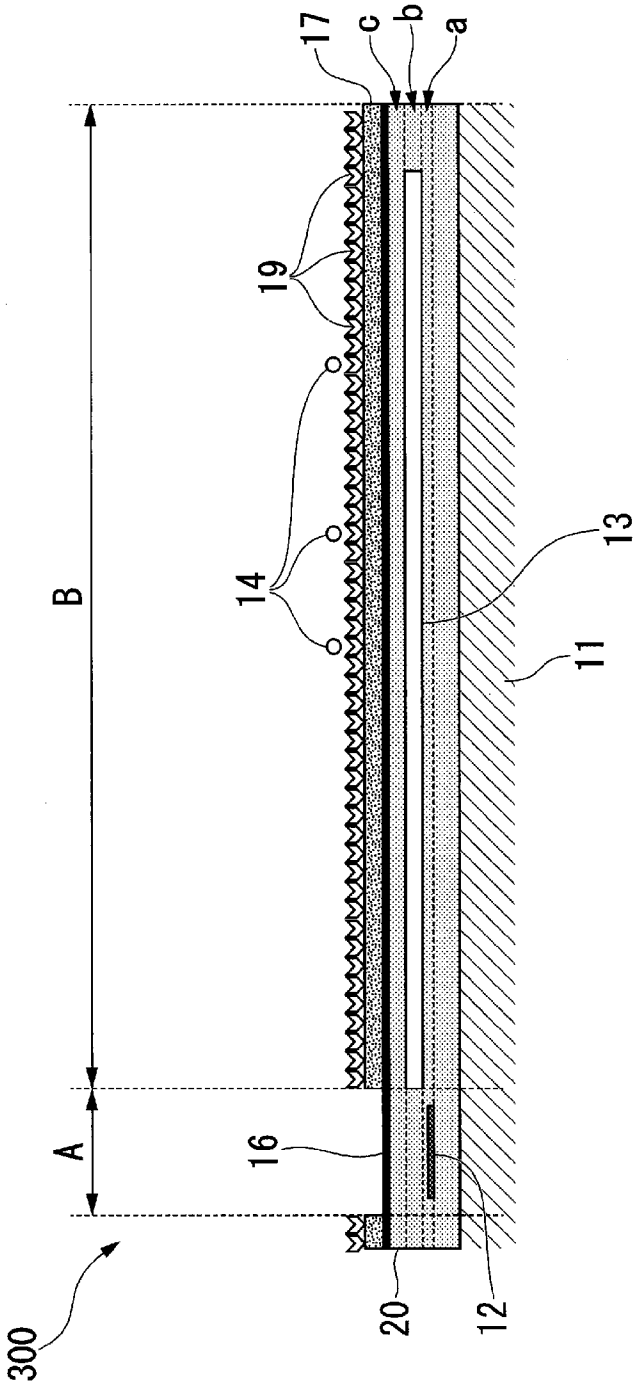
[図1]



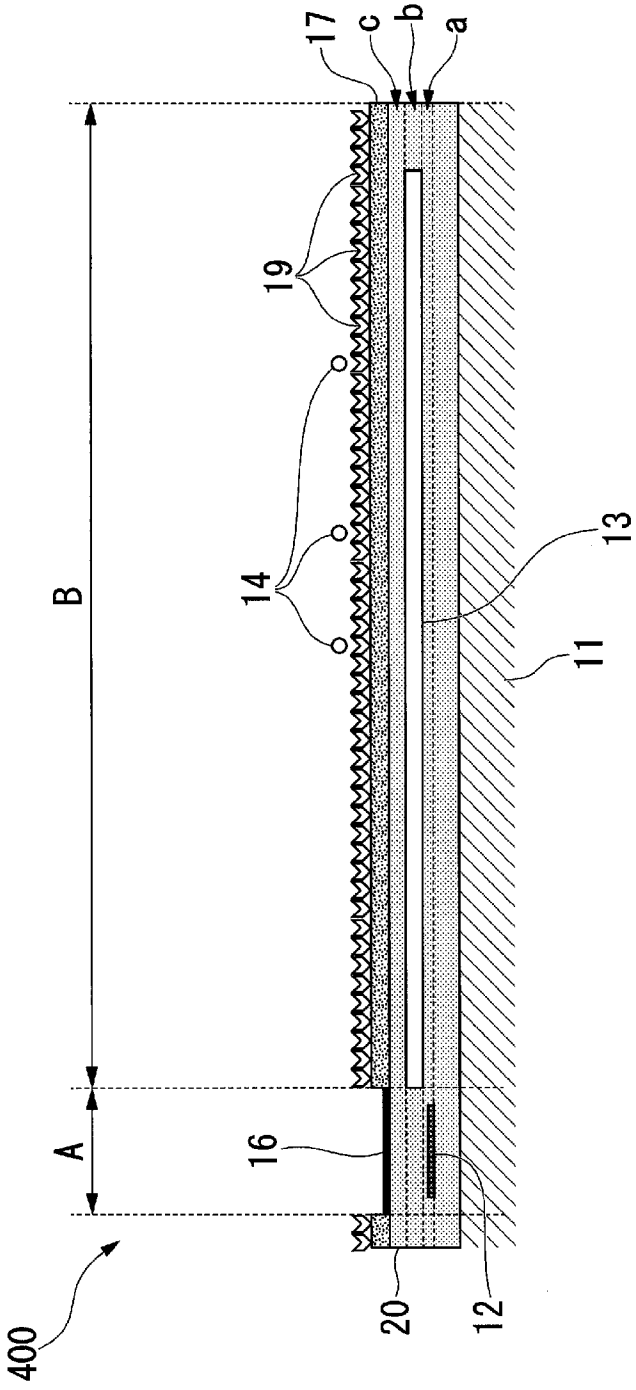
[図2]



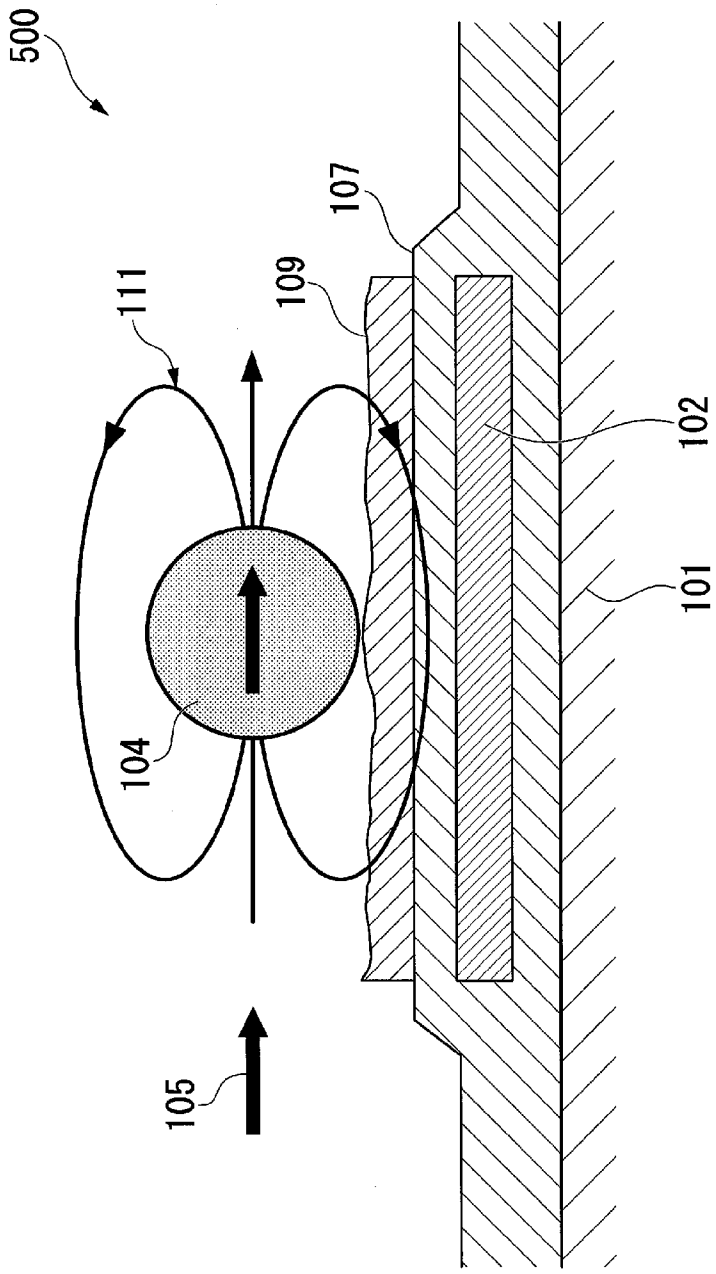
[図3]



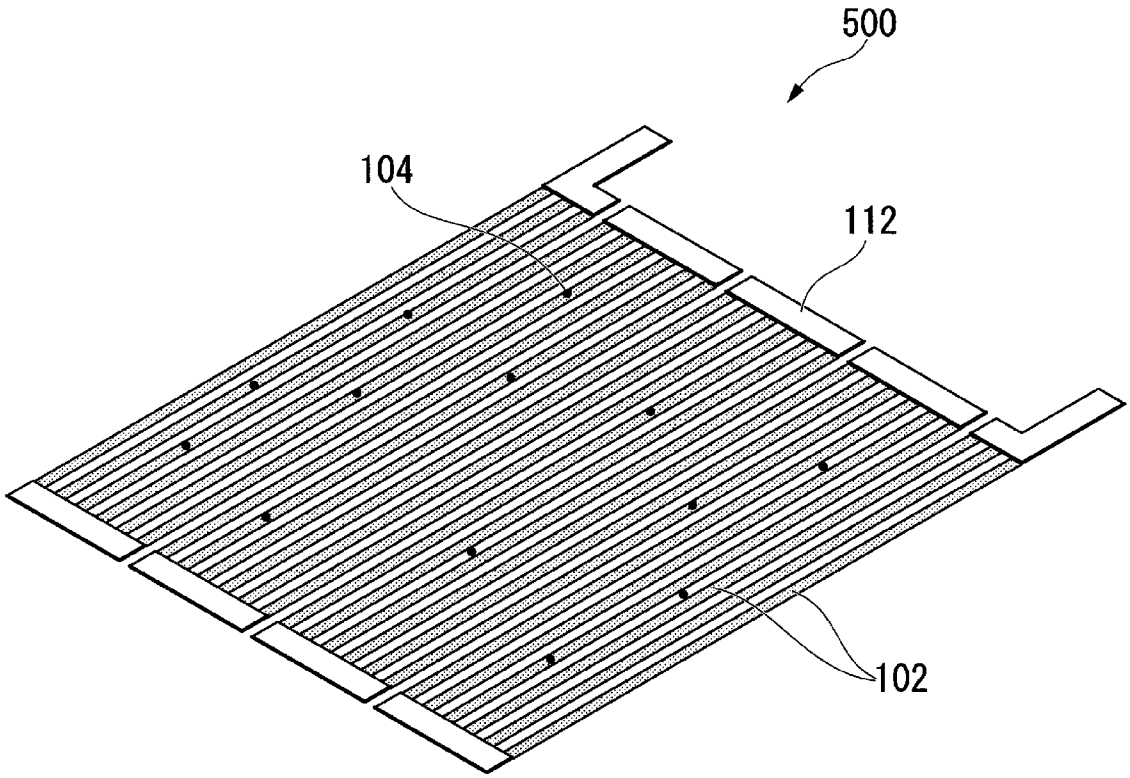
[図4]



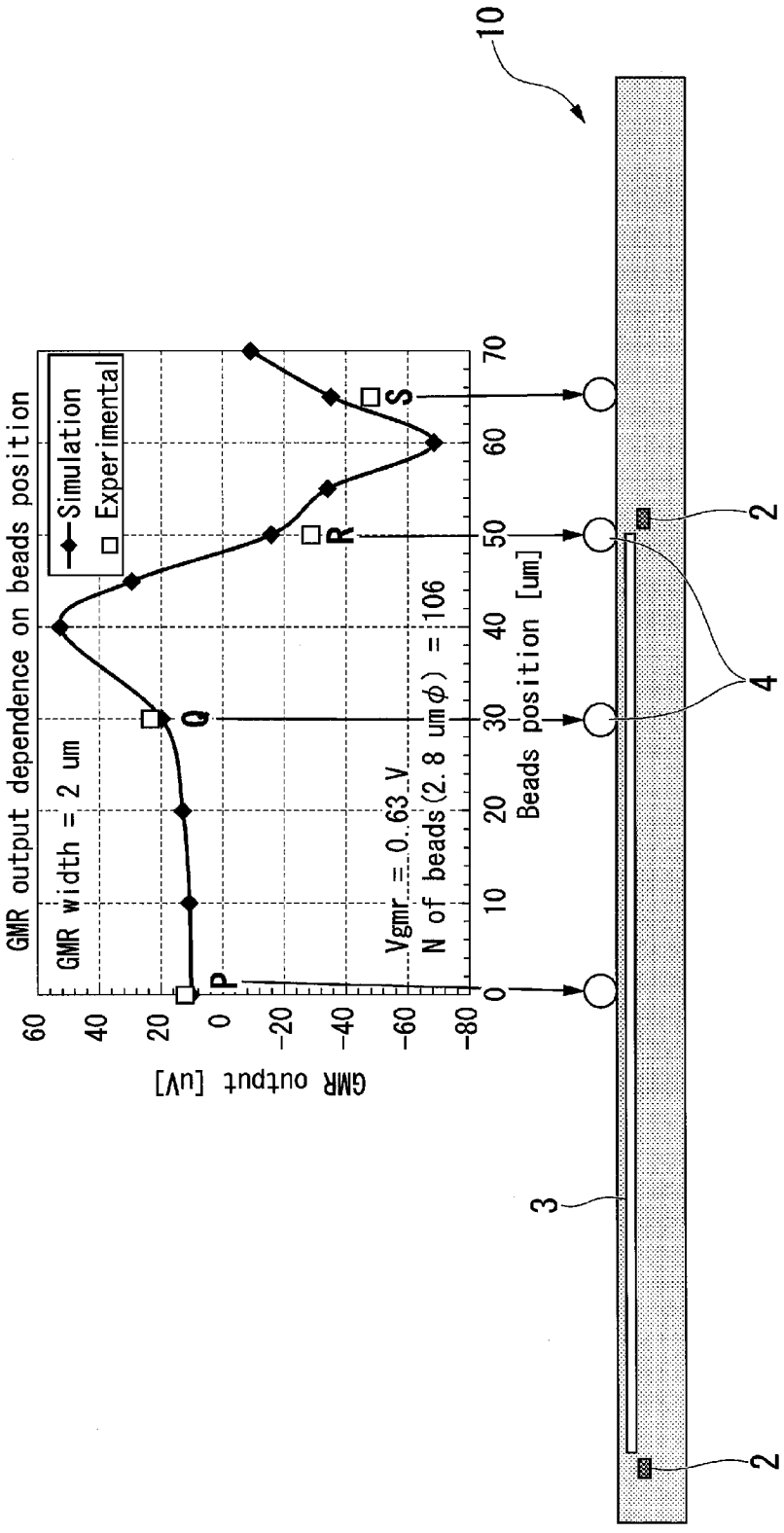
[図5]



[図6]



[図7]


GMR output dependence on beads position
GMR width = 2 um
Simulation
Experimental
Vgmr = 0.63 V
N of beads(2.8 umφ) = 106
GMR output [uV]
Beads position [um]
P
Q
R
S
10
2
2
3
4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2017/012027

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N27/72(2006.01)i, *G01N33/543*(2006.01)n

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)
G01N27/72-27/90, G01N33/543, G01R33/12-33/18

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

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2011/0156702 A1 (THE INDUSTRY & ACADEMIC COOPERATION IN CHUNGNAM NATIONAL UNIVERSITY (IAC)), 30 June 2011 (30.06.2011), paragraphs [0048] to [0070]; fig. 2 to 3, 6 & KR 10-2011-0077371 A	1-12
Y	JP 2005-513475 A (Koninklijke Philips Electronics N.V.), 12 May 2005 (12.05.2005), paragraphs [0047] to [0051]; fig. 5 & US 2005/0087000 A1 paragraphs [0066] to [0069]; fig. 5 & WO 2003/054523 A2 & DE 60211555 D & AT 326697 T & CN 1608206 A & KR 10-2004-0068968 A & AU 2002366904 A & TW 200411063 A	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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	Date of mailing of the international search report
25 May 2017 (25.05.17)	06 June 2017 (06.06.17)

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2017/012027

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 2008-151761 A (Canon Inc.), 03 July 2008 (03.07.2008), paragraphs [0051] to [0055], [0105] to [0107]; fig. 5 & US 2009/0000360 A1 paragraphs [0071] to [0076], [0150] to [0152]; fig. 5 & WO 2007/114512 A1	2-12
A	JP 2008-128677 A (Tokyo Institute of Technology), 05 June 2008 (05.06.2008), (Family: none)	1-12
A	JP 2009-2838 A (Canon Inc.), 08 January 2009 (08.01.2009), (Family: none)	1-12
A	US 2002/0060565 A1 (NVE CORP.), 23 May 2002 (23.05.2002), & WO 2001/027592 A1	1-12
A	US 2008/0014651 A1 (BANGERT), 17 January 2008 (17.01.2008), & DE 102006016334 A1	1-12

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１７／０１２０２７

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N27/72(2006.01)i, G01N33/543(2006.01)n

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.　G01N27/72-27/90, G01N33/543, G01R33/12-33/18

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１７年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１７年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１７年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580（JDreamIII）

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	US 2011/0156702 A1 (THE INDUSTRY & ACADEMIC COOPERATION IN CHUNGNAM NATIONAL UNIVERSITY (IAC)) 2011.06.30, 段落〔0048〕－〔0070〕, Fig.2-3,6 & KR 10-2011-0077371 A	1-12

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
２５．０５．２０１７	０６．０６．２０１７

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
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）　2W　３６０２
蔵田　真彦
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５８

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 2005-513475 A (コーニンクレッカ　フィリップス　エレクトロニクス　エヌ　ヴィ) 2005.05.12, 段落〔0047〕－〔0051〕, 図５ & US 2005/0087000 A1, 段落〔0066〕－〔0069〕, 図５ & WO 2003/054523 A2 & DE 60211555 D & AT 326697 T & CN 1608206 A & KR 10-2004-0068968 A & AU 2002366904 A & TW 200411063 A	1-12
Y	JP 2008-151761 A (キヤノン株式会社) 2008.07.03, 段落〔0051〕－〔0055〕, 〔0105〕－〔0107〕, 図５ & US 2009/0000360 A1, 段落〔0071〕－〔0076〕, 〔0150〕－〔0152〕, 図５ & WO 2007/114512 A1	2-12
A	JP 2008-128677 A (国立大学法人東京工業大学) 2008.06.05 (ファミリーなし)	1-12
A	JP 2009-2838 A (キヤノン株式会社) 2009.01.08 (ファミリーなし)	1-12
A	US 2002/0060565 A1 (NVE CORPORATION) 2002.05.23 & WO 2001/027592 A1	1-12
A	US 2008/0014651 A1 (BANGERT) 2008.01.17 & DE 102006016334 A1	1-12