

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7569847号
(P7569847)

(45)発行日 令和6年10月18日(2024.10.18)

(24)登録日 令和6年10月9日(2024.10.9)

(51)国際特許分類

FI

G 0 1 N 27/416(2006.01)

G 0 1 N 27/416 3 3 6 G

G 0 1 N 33/543(2006.01)

G 0 1 N 33/543 5 2 1

請求項の数 20 (全30頁)

(21)出願番号	特願2022-517703(P2022-517703)	(73)特許権者	000003296
(86)(22)出願日	令和3年4月23日(2021.4.23)		デンカ株式会社
(86)国際出願番号	PCT/JP2021/016421		東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
(87)国際公開番号	WO2021/220956	(74)代理人	100110928
(87)国際公開日	令和3年11月4日(2021.11.4)		弁理士 速水 進治
審査請求日	令和5年5月25日(2023.5.25)	(72)発明者	秋山 雄斗
(31)優先権主張番号	特願2020-79367(P2020-79367)		東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
(32)優先日	令和2年4月28日(2020.4.28)		デンカ株式会社内
(33)優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)	(72)発明者	青山 周平
			東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
			デンカ株式会社内
		審査官	大瀧 真理

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 検出装置及び検出方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

樹脂で形成された基板上に設けられ、液体試料を一端側から他端側へ輸送する流路と、
前記流路の他端側に設けられた、抗体を固相した固相部と、
電極部が設けられ前記液体試料の前記抗体に対する反応を検出する検出部と、
前記流路に一体に形成された複数の凸部を有する微細凹凸構造と、
を有し、
前記微細凹凸構造は、
前記複数の凸部が相対的に粗に設けられた第1の凹凸部と、
前記複数の凸部が相対的に密に設けられた第2の凹凸部と、
を有し、

前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部は、前記固相部よりも前記流路の一端側に設けられており、
前記液体試料を前記流路に導入する導入部を更に有し、
前記液体試料は複数種類の溶液からなり、
前記導入部は、前記複数種類の溶液に応じて複数箇所に設けられており、
前記流路中において、前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部のそれぞれに液滴を滴下する開口が設けられている、検出装置。

【請求項2】

液体試料中の被検出物質を検出する検出装置であって、

前記液体試料を一端側から他端側へ輸送する流路と、
前記流路の他端側に設けられた、抗体を固相した固相部と、
前記液体試料の前記抗体に対する反応を検出する検出部と、
前記流路に一体に形成された複数の凸部を有する微細凹凸構造と、
を有し、

前記微細凹凸構造は、

前記複数の凸部が相対的に粗に設けられた第 1 の凹凸部と、

前記複数の凸部が相対的に密に設けられた第 2 の凹凸部と、

を有し、

前記第 1 の凹凸部と前記第 2 の凹凸部は、前記固相部よりも前記流路の一端側に設けられており、

前記液体試料を前記流路に導入する導入部を更に有し、

前記液体試料は複数種類の溶液からなり、

前記導入部は、前記複数種類の溶液に応じて複数箇所に設けられており、

前記流路中において、前記第 1 の凹凸部と前記第 2 の凹凸部のそれぞれに液滴を滴下する開口が設けられている、検出装置。

【請求項 3】

前記検出部は前記固相部より前記流路の他端側に設けられる、請求項 1 または 2 に記載の検出装置。

【請求項 4】

前記第 1 の凹凸部は、前記第 2 の凹凸部よりも前記流路の一端側に設けられている、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 5】

前記第 1 の凹凸部と前記第 2 の凹凸部との境界に前記凸部が設けられていない緩衝領域を有する、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 6】

前記第 1 の凹凸部と前記第 2 の凹凸部との境界に、段差または傾斜が設けられており、前記段差または前記傾斜の前記第 1 の凹凸部側の領域が前記第 2 の凹凸部側の領域より高い、請求項 1 から 5 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 7】

前記第 1 の凹凸部と前記第 2 の凹凸部との境界に、凹部が設けられた凹部領域を有する、請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 8】

前記凸部が菱形格子状に設けられている領域を有する、請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 9】

前記凸部が正格子状に設けられている領域を有する、請求項 1 から 8 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 10】

前記第 1 の凹凸部と、前記第 2 の凹凸部とが隣接する場合に、前記第 1 の凹凸部における前記凸部間のピッチ（ P_1 ）と、前記第 2 の凹凸部における前記凸部間のピッチ（ P_2 ）との比（ P_1 / P_2 ）は 1.1 以上 5 以下である、請求項 1 から 9 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 11】

前記凸部は錐体として設けられている、請求項 1 から 10 までのいずれか 1 項に記載の検出装置。

【請求項 12】

前記電極部は、前記微細凹凸構造の凸部に形成されており、電極部の粗さ曲線の最大山高さ R_p が $0.005 \mu\text{m}$ 以上 $10 \mu\text{m}$ 以下であり、かつ、粗さ曲線要素の平均長さ R_Sm が $0.01 \mu\text{m}$ 以上 $15 \mu\text{m}$ 以下である、請求項 1 から 11 までのいずれか 1 項に記載

10

20

30

40

50

の検出装置。

【請求項 13】

前記電極部は、前記微細凹凸構造の凸部に導体の物質がスパッタリング、真空蒸着、レーザーアブレーション及びCVDの少なくとも1種によって形成された導体膜層を有する、請求項1から12までのいずれか1項に記載の検出装置。

【請求項 14】

前記電極部は、前記微細凹凸構造の凸部に導体の粒子を含むペーストの印刷層を有する、請求項1から12までのいずれか1項に記載の検出装置。

【請求項 15】

前記電極部は、作用極と、前記作用極と離間した対極とを有し、
前記作用極は、流路方向に対して、前記対極と同じ位置または前記対極より上流側に設けられている、請求項1から14までのいずれか1項に記載の検出装置。

【請求項 16】

前記対極は、前記流路の幅方向の全体に亘って設けられている、請求項15に記載の検出装置。

【請求項 17】

前記作用極は、前記流路の幅方向の全体に亘って設けられている、請求項15または16に記載の検出装置。

【請求項 18】

前記作用極は、くし形電極として構成されている、請求項15から17までのいずれか1項に記載の検出装置。

【請求項 19】

前記電極部は、更に参照極を有する、請求項15から18までのいずれか1項に記載の検出装置。

【請求項 20】

請求項1から19までのいずれか1項に記載の検出装置を用いて液体試料の抗体に対する反応を検出する検出方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、液体試料中の被検出物質を検出する検出装置及び検出方法に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、抗原抗体反応などを用いることで、感染症への罹患や妊娠を検査したり、血糖値などを測定したりする、Point of Care Test (POCT) 試薬が注目を集めている。POCT試薬を用いた検査・測定では、短時間での結果の判別が可能である。また、POCT試薬の使用方法は簡便であり、POCT試薬は安価である。POCT試薬は、これらの特徴を有するため、症状が軽度である段階での診察や定期診察などに多く使用されている。また今後増加することが予想される在宅医療においてもPOCT試薬は重要な診察ツールとなる。

【0003】

POCT試薬の一種である検査キットを用いた検査または診断では、血液などの液体試料を検査キットに導入し、液体試料に含まれる特定の被検出物質を検出する。液体試料から特定の被検出物質を検出する方法として、イムノクロマトグラフィー法がよく用いられている。イムノクロマトグラフィー法では、検査キットが備える膜担体上に液体試料を滴下して、液体試料が膜担体上を移動する過程で、液体試料中の被検出物質が標識物質と結合する。さらに被検出物質が、検査キット中に固定された物質（以下、検出物質という）と特異的・選択的に結合する。その結果検査キットに生じた色や重量の変化などを検出する。検出物質は、試薬 (reagent) と言い換えてもよい。

【0004】

液体試料を移動させるための膜担体としては、ニトロセルロース膜がよく用いられている（下記特許文献1参照。）。ニトロセルロース膜は、直径が数 μm 程度の微細な孔を多数有しており、その孔の中を液体試料が毛細管力によって移動する。

【0005】

しかしニトロセルロース膜は天然物由来であり、膜における孔径や孔同士のつながり方が一様ではないため、膜における液体試料の流速が膜によって異なる。流速に差異が生じると、被検出物質の検出にかかる時間も変化してしまう。その結果、被検出物質が標識物質または試薬と結合する前に、被検出物質が検出されない、という誤った判断がなされてしまう可能性がある。

【0006】

上記の課題を解決するため、液体試料の微細流路を人工的に作製する手法が考案されている（下記特許文献2、3参照。）。この手法を用いることで、均一な構造を有する膜担体を作製することができる。その結果、被検出物質が標識物質または試薬と結合する前に、被検出物質が検出されない、という誤った判断がなされる可能性を低減することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【文献】特開2014-062820号公報

【文献】特許第4597664号

【文献】特表2012-524894号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

ところで、イムノクロマトグラフィー法では、検査キットが備える膜担体上に液体試料を滴下して、液体試料が膜担体上を移動する過程で、液体試料中の被検出物質が標識物質と結合する。さらに被検出物質が、検査キット中に固定された検出物質と特異的・選択的に結合する。その結果検査キットに生じた色や重量の変化などを検出する。被検出物質を検出する手法として、着色ラテックス粒子、蛍光粒子、または金属コロイド粒子などの標識物質と結合した被検出物質が、検知ゾーンに固定された試薬と結合することによって生じる検知ゾーンの色変化を、吸光度測定器などの光学測定機器によって検知する方法（色変化検出手法）がよく知られている。また、バイオマーカーの濃度を電気化学的活性な物質濃度に変換して検出する手法（電気化学イムノクロマトグラフィー法）もある。

【0009】

電気化学イムノクロマトグラフィー法では、反応液や洗浄液、二次反応液などの複数種類の溶液を展開する必要がある、これは使用時の手間が増大し、検出時間が長くなってしまいう課題があり、電気化学イムノクロマトグラフィー法を用いた検査キットの普及への障害となっていた。すなわち、電気化学イムノクロマトグラフィー法を用いた検査キットにおいて、短時間での結果の判別が可能であり、使用方法が簡便であり、安価である、というP O C T試薬（検査キット）が求められていた。なお、色変化検出手法を用いた場合でも、複数種類の溶液を展開する必要がある手法では、同様の課題があった。

【0010】

本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであり、イムノクロマトグラフィー法を用いた検査キットにおいて、反応液や洗浄液、二次反応液などの複数種類の溶液を展開する場合に、使用時の手間を省き、検出時間を短縮させることが可能な技術を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明の検査装置（「検査キット」ともいう）は、樹脂で形成された基板上に設けられ、液体試料を一端側から他端側へ輸送する流路と、

10

20

30

40

50

前記流路の他端側に設けられた、抗体を固相した固相部と、
電極部が設けられ前記液体試料の前記抗体に対する反応を検出する検出部と、
前記流路に一体に形成された複数の凸部を有する微細凹凸構造と、
を有し、
前記微細凹凸構造は、
前記複数の凸部が相対的に粗に設けられた第1の凹凸部と、
前記複数の凸部が相対的に密に設けられた第2の凹凸部と、
を有し、
前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部は、前記固相部よりも前記流路の一端側に設けられている。

10

本発明の検査装置は、液体試料中の被検出物質を検出する検出装置であって、
前記液体試料を一端側から他端側へ輸送する流路と、
前記流路の他端側に設けられた、抗体を固相した固相部と、
前記液体試料の前記抗体に対する反応を検出する検出部と、
前記流路に一体に形成された複数の凸部を有する微細凹凸構造と、
を有し、
前記微細凹凸構造は、
前記複数の凸部が相対的に粗に設けられた第1の凹凸部と、
前記複数の凸部が相対的に密に設けられた第2の凹凸部と、
を有し、
前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部は、前記固相部よりも前記流路の一端側に設けられている。

20

本発明の検出方法は、上記の検出装置を用いて液体試料の抗体に対する反応を検出する。

【発明の効果】

【0012】

本発明によれば、イムノクロマトグラフィー法を用いた検査キットにおいて、反応液や洗浄液、二次反応液などの複数種類の溶液を展開する場合に、使用時の手間を省き、検出時間を短縮させることが可能な技術を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0013】

30

【図1】第1の実施形態の検査キットの上面図である。

【図2】第1の実施形態の膜担体の上面図である。

【図3】第1の実施形態の微細構造及び凸部を示す図である。

【図4】第1の実施形態の凸部の斜視図である。

【図5】第1の実施形態の微細構造の各領域の境界を拡大して示す図である。

【図6】第1の実施形態の検査キットを用いた検査手法の例を示すチャート図である。

【図7】第2の実施形態の膜担体の上面図である。

【図8】第2の実施形態の微細構造の各領域の境界を拡大して示す図である。

【図9】第2の実施形態の微細構造における溶液の逆流防止構造の例を示した図である。

【図10】実施例1の試験片の写真を示す図である。

40

【図11】実施例1の試験開始から30、140、310秒後画像の試験片を示す図である。

【図12】実施例1の経過時間と測定ポイントのRGB成分割合のプロットをしたグラフを示す図である。

【図13】実施例1の図12のデータを解析した結果から各溶液の混合割合を計算した結果を示すグラフを示す図である。

【図14】比較例2のインプリントシートの代わりにニトロセルロースを用いた条件での各溶液の混合割合を計算した結果を示すグラフを示す図である。

【図15】実施例2の試験片の構成を示す図である。

【図16】実施例2の試験結果のグラフを示す図である。

50

【図 17】実施例 2 の A B 部－B G 部蛍光強度のグラフを示す図である。
【図 18】実施例 2 の蛍光写真の例である。
【図 19】第 1 の実施形態の二電極方式の電極部の配置例を示す図である。
【図 20】第 1 の実施形態の三電極方式の電極部の配置例を示す図である。
【図 21】実施例 3 の試験片の構成を示す図である。
【図 22】実施例 3 の試験結果のグラフを示す図である。
【図 23】実施例 4 の溶液滴下タイミングを示したチャート図である。
【図 24】実施例 4 の試験結果のグラフを示す図である。
【発明を実施するための形態】

【0014】

<<第 1 の実施形態>>

以下では、本発明の実施形態について説明する。

<検査キットの概要>

図 1 は、本実施形態に係る検査キット 18 の平面図である。図 2 は、膜担体 3 を模式的に示した平面図を示す。図 3 は、膜担体 3 の微細構造（「微細凹凸構造」ともいう）及びそれを構成する凸部 8 を示す。図 4 は凸部 8 の斜視図（SEM 像）を示す。

【0015】

検査キット 18 は、液体試料中の被検出物質を検出する機能を有する。

詳細は後述するが、検査キット 18 は、P O C T 試薬の一種である。血液などの液体試料を検査キット 18 に導入し、液体試料に含まれる特定の被検出物質を検出する。液体試料から特定の被検出物質を検出する方法として、イムノクロマトグラフィー法が適用される。

本実施形態では、バイオマーカーの濃度を電気化学的活性な物質濃度に変換して検出する電気化学イムノクロマトグラフィー法を用いた構成の検査キット 18 について説明する。

【0016】

上述のように、電気化学イムノクロマトグラフィー法では、反応液や洗浄液、二次反応液などの複数種類の溶液（液体試料）を展開する必要があり、一般には、使用時の手間が増大し、検出時間が長くなってしまう。本実施形態では、膜担体 3 の流路 2 を複数のエリア（ここでは、第 1 ～第 3 微細構造領域 31 ～33 の 3 エリア）に分割し、エリア毎に溶液の流速が異なるように制御した。流速を異なるようにするための構造として、膜担体 3 に形成される微細構造、すなわち溶液を輸送する速度を決める毛細管作用を起こす構造をエリア毎に設定した。

以下詳細に説明する。

【0017】

<検査キット 18 の詳細>

図 1 に示すように、検査キット 18 は、膜担体 3 と、膜担体 3 を収容する筐体 18 a と、を備える。本図では、図示で左側の上流から右側の下流へ向く方向を溶液の進行方向 d（「流路方向」ともいう）として説明する。

【0018】

膜担体 3 の表面には、図示で左側から順に、洗浄液が滴下される洗浄液ゾーン 3 x と、液体試料が滴下される液滴ゾーン 3 z と、液体試料中の被検出物質を検出するための検知ゾーン 3 y とを有する。なお、ここでは図示しないが、膜担体 3 より下流側（図示では右側）に、余分な溶液を吸収する吸収パッドが設けられる。

【0019】

洗浄液ゾーン 3 x は、筐体 18 a の第一開口部 18 b において露出している。液滴ゾーン 3 z は、筐体 18 a の第三開口部 18 d において露出している。検知ゾーン 3 y は、筐体 18 a の第二開口部 18 c において露出している。なお、洗浄液を液滴ゾーン 3 z で滴下してもよく、その場合は、第一開口部 18 b を省いてもよい。溶液が複数種類である場合、それら溶液に応じて導入口（開口）が設けられる。すなわち、どのような溶液を、どのようなタイミングで、どのような速度で移動させるかに応じて、導入口が設けられる。

ある導入口において、複数の溶液が滴下されてもよいし、そのタイミングは同じでも異なってもよい。

【0020】

検知ゾーン3yに、電気化学的検出手法による検出のために、電極部20が設けられる。電極部20は、例えば進行方向dの上流側の作用極25と下流側の対極26からなる二電極（二電極方式）である。なお、電極部20は後述するように、参照極27を有する三電極方式であってもよい。電極部20には、計測装置21が接続される。計測装置21は、一般的な計測装置でもよいし、スマートホン等のモバイル端末に所定のアプリケーションが導入された装置として構成されてもよい。

【0021】

<膜担体3の詳細>

図2に示すように、膜担体3には、液体試料を輸送する少なくとも一つの流路2が設けられている。図3に示すように、流路2の底面には、微細構造7が設けられている。本実施形態では、膜担体3の表面全体にわたり、微細構造7が設けられており、膜担体3の表面全体が、液体試料の流路2として機能する。

【0022】

図3(a)は微細構造7の上面図であり、図3(b)は微細構造を構成する凸部8の斜視図である。微細構造7は、凸部8の総体である。つまり、膜担体3は、液体試料の流路2の底面に相当する平坦部9と、平坦部9から突出する複数の凸部8と、を備える。

毛細管作用により、複数の凸部8の間の空間が、液体試料を膜担体3の表面に沿って輸送する流路2として機能する。換言すれば、毛細管作用により、微細構造7における空隙が、液体試料を膜担体3の表面に沿って輸送する流路2として機能する。複数の凸部8は、格子状配置（例えば菱形格子状配置や正格子状配置）のように規則的に、または並進対称的に、膜担体3の表面上に規則的に整列して並んで形成される。

【0023】

凸部8は、例えば、錐体を呈し、ここでは、図3(b)や図4に示すように、凸部8は円錐形状である。そのほかに、角錐であってもよいし、錐体の上部が切り取られた形状（截頭錐体）であってもよい。いずれにしても、凸部8によって構成される微細構造7が毛細管作用を発生させ、液体試料を輸送できればよい。

【0024】

微細構造7は、毛細管作用を生じさせる。微細構造7の毛細管作用により、液体試料は、微細構造7を介して、図示左側の洗浄液ゾーン3xまたは液滴ゾーン3zから検知ゾーン3yへ向かって（図2の進行方向dに沿って）、輸送される。

【0025】

本実施形態では、図2に示すように、膜担体3は、左側から第1微細構造領域31（第1の凹凸部）と、第2微細構造領域32（第2の凹凸部）と、第3微細構造領域33（第3の凹凸部）との3つのエリアに分かれている。第1微細構造領域31と、第2微細構造領域32と、第3微細構造領域33では、微細構造7が異なっており、その結果、エリア毎に溶液を輸送する速度が異なる。

【0026】

溶液を輸送する速度は、平行平板間での流れを説明するPoiseuilleの式から理解される。例えば、毛細管現象を生じさせる微細構造7、例えば複数の凸部8が配置された構造における、凸部8間の距離5が狭いほど、溶液の輸送速度が大きくなる。すなわち、微細構造（図3に示す凸部8の配置）の粗密を適当に設定することで、エリア毎の速度を制御できる。

【0027】

図5に微細構造7を上面からみた図を示す。図5(a)は第1微細構造領域31と第2微細構造領域32の境界（第1境界41）の領域を示す。図5(b)は第2微細構造領域32と第3微細構造領域33との境界（第2境界42）の領域を示す。全ての領域で、凸部8は同じ形状・大きさとして設けられている。図5では、凸部8は円錐であり、底面の

10

20

30

40

50

径が $30\text{ }\mu\text{m}$ 、高さが $30\text{ }\mu\text{m}$ である。図示のように、凸部8の配置（粗密の程度）は、図左側の第1微細構造領域31が最も粗に、右側の第3微細構造領域33が最も密になっている。すなわち、第1微細構造領域31の凸部8間の距離5が最も広く、第3微細構造領域33の凸部8間の距離5が最も狭い。図示の例では、第1微細構造領域31の凸部8間の距離5は $25\text{ }\mu\text{m}$ であり、第2微細構造領域32の凸部8間の距離5は $15\text{ }\mu\text{m}$ であり、第3微細構造領域33の凸部8間の距離は $2\text{ }\mu\text{m}$ である。

【0028】

液体試料中の被検出物質が検知ゾーン3yに達すると、検知ゾーン3yに設けられた電極部20（作用極25、対極26）により計測装置21で電流値として検知される。すなわち、電極部20の作用極25と対極26との間に電位差を与えておき、計測装置21で酸化電流を測定する。なお、色変化検出手法を用いる場合には、検知ゾーン3yの色の変化により、被検出物質を検出する。

【0029】

<膜担体3の材料>

微細構造7（複数の凸部8）を含む膜担体3は、例えば熱可塑性プラスチックからなる。すなわち、熱可塑性プラスチックからなる膜状の基材を熱インプリントによって加工することにより、微細構造7を有する膜担体3を作製することができる。膜担体3を構成する熱可塑性プラスチックは、例えば、ポリエステル系樹脂、ポリオレフィン系樹脂、ポリスチレン系樹脂、ポリカーボネート系樹脂、フッ素系樹脂、及びアクリル系樹脂からなる群より選ばれる少なくとも一種であってよい。具体的な熱可塑性プラスチックは、例えば、ポリエチレンテレフタレート（PET）、シクロオレフィンポリマー（COP）、ポリプロピレン（PP）、ポリスチレン（PS）、ポリカーボネート（PC）、ポリフッ化ビニリデン（PVDF）、及びポリメタクリル酸メチル（PMMA）からなる少なくとも一種であってよい。

【0030】

上記の熱可塑性プラスチックのガラス転移点 T_g または融点 T_m は、 $80\sim 180^\circ\text{C}$ であってよい。ガラス転移点 T_g より 20°C 高い温度での熱可塑性プラスチックの貯蔵弾性率は、 1.0 Pa 以上 $1.0\times 10^7\text{ Pa}$ 以下であってよい。融点 T_m より 20°C 高い温度での熱可塑性プラスチックの貯蔵弾性率は、 1.0 Pa 以上 $1.0\times 10^7\text{ Pa}$ 以下であってよい。

熱可塑性プラスチックのガラス転移または融解が 80°C 未満の温度で起こり、さらにガラス転移点または融点よりも 20°C 高い温度での熱可塑性プラスチックの貯蔵弾性率が $1.0\times 10^7\text{ Pa}$ 以下である場合、熱可塑性プラスチックを、室温で固体として使用するのは実用上困難であり、熱インプリントによって膜担体を作製し難くなる。

熱可塑性プラスチックのガラス転移または融解が 180°C より高い温度で起こる場合、熱インプリント時の成型温度が高くなり、膜担体の生産性が低下する。つまり、熱インプリント時に熱可塑性プラスチックを柔らかくするために要する温度が 180°C より高い場合、膜担体の生産性が低下する。

ガラス転移点または融点よりも 20°C 高い温度での熱可塑性プラスチックの貯蔵弾性率が $1.0\times 10^7\text{ Pa}$ 以下である場合、微細構造を作製する際に必要な成型圧力を小さく抑えることができ、比較的温和な条件で作製できるため生産効率が向上する。

【0031】

錐体（ここでは円錐）の凸部8は、モールドを用いた熱インプリントによって形成することができる。モールドを用いて錐体を形成する場合、モールドを用いて溝状の流路（ラインandスペース構造）を形成する場合に比べて、モールドの作製時に金属部材の表面から削り出す金属の体積が大幅に低減され、モールドの加工費が低減する。対照的に、ラインandスペース構造を形成するためのモールドの作製では、多量の金属を金属部材から削り取らなくてはならない。

【0032】

また錐体の上部は、錐体の底面に比べて細い。したがって、モールドを用いて錐体を形

10

20

30

40

50

成する場合、錐体と同じ底面を有する柱体をモールドで形成する場合に比べて、モールドの作製時に金属部材の表面から削り出す金属の体積が大幅に低減され、モールドの加工費が低減する。

【0033】

さらに錐体が規則的に整列した微細構造の空隙率は、ライン and スペース構造の空隙率よりも大きい。また、錐体が規則的に整列した微細構造の空隙率は、錐体と同じ底面を有する複数の柱体が規則的に整列した構造よりも空隙率が大きい。そのため、錐体が規則的に整列した微細構造によれば、液体試料の流量を増加させることが可能であり、被検出物質の検出に有利となる。

【0034】

＜膜担体3の形状・寸法＞

上述のように錐体（凸部8）の底面10の形状は自由に選択することができ、図3（b）や図4に示すように円錐であってもよいし、角錐（四角錐や六角錐等）であってもよい。モールドの加工の容易さ、及び加工費用の抑制のためには、錐体（凸部8）の底面10は、円形、または多角形（例えば、正方形、ひし形、長方形、三角形、若しくは六角形など）であることが望ましい。

【0035】

凸部8の底面10の径4は、例えば10～1000 μm である。凸部8の底面10の径4が10 μm よりも小さい場合、モールドの微細加工費が高くなり、また面積の大きい膜担体3の表面に無数の微細構造7を均一に作製し難い。したがって、小さ過ぎる微細構造7は、実用に向かない。また微細構造7の底面10の径4が10 μm よりも小さい場合、液体試料を移動させるのに必要な毛細管力が弱まる傾向がある。微細構造7の底面10の径4が1000 μm よりも大きい場合、モールドの作製時に金属部材から削り出す金属の体積が大きくなり、モールド及び膜担体3の作製費用が高くなってしまふ。また微細構造7の底面10の径4が1000 μm よりも大きい場合、膜担体3における流路2の面積も大きくしなければならず、検査キット18が巨大化して、検査キット18自体の輸送に不利となる。凸部8（微細構造7）が円錐である場合、凸部8の底面10の径4は、円錐の底面10（円）の直径4であってよい。

【0036】

凸部8の高さ6は、例えば10～500 μm である。凸部8の高さ6が10 μm よりも低い場合、液体試料を移動させるのに必要な毛細管力が弱まる傾向がある。凸部8の高さ6が500 μm よりも高い場合、熱インプリントの際に熱可塑性プラスチックを金型の凹部（微細構造7の凸部8の形状に対応する窪み）へ完全に充填し難い。

【0037】

膜担体3の全体の形状は、特に限定されないが、例えば、四角形等の多角形、円形、または楕円形であってよい。膜担体3が四角形である場合、膜担体3の縦幅L1は、例えば、2～100mmであってよく、膜担体3の横幅L2は、例えば、3～100mmであってよい。また、第1～第3微細構造領域31～33の横幅L21～L23は、それぞれ例えば1～50mmであってよい。微細構造7（すなわち凸部8）の高さ6を除く膜担体3の厚みは、例えば、0.1～10mmであってよい。

【0038】

凸部8のアスペクト比 L_v/L_h は、1/10以上2/1以下であってよい。アスペクト比 L_v/L_h が1/10よりも小さい場合、液体試料と流路2との接触面積が小さく、毛細管力が減少するため、液体試料を移動させ難い傾向がある。アスペクト比 L_v/L_h が2/1よりも大きい場合、熱インプリントによる膜担体3の生産性が低下してしまう。本実施形態のように、凸部8が錐体（より具体的には円錐）である場合、凸部8の水平方向における長さLhは、凸部8の底面10の直径4であってよい。また、凸部8の垂直方向における長さLvは、膜担体3の平坦部9からの凸部8の高さ6であってよい。

【0039】

凸部8の底面の径4（D1）と、凸部8同士の最近接中心間距離（D2）との比 $D2/$

10

20

30

40

50

D 1 は、1 より大きく 5 以下であってよい。比 $D 2 / D 1$ は 1 以下でありえない。比 $D 2 / D 1$ が 5 より大きい場合、液体試料と流路 2 との接触面積が減少し、毛細管力が減少し、液体試料を移動させ難い傾向がある。本実施形態のように凸部 8 が円錐である場合、凸部 8 の底面 10 の径 4 (D 1) は、円錐の底面の直径であってよく、最近接中心間距離 D 2 は、隣り合う一対の凸部 8 (円錐) の頂点間の距離であってよい。凸部 8 の底面 10 の径 4 (D 1) は、上述した凸部 8 の水平方向における長さ L h と一致してもよい。したがって、アスペクト比 $L v / L h$ は、 $L v / D 1$ と表されてもよい。

【0040】

また、微細凹凸構造の凸部 8 間のピッチ (頂点間の距離) は、隣接するゾーン間で比較した場合、相対的に粗に構成された微細凹凸構造のゾーンのピッチ P 1 と、相対的に密に構成された微細凹凸構造のゾーンのピッチ P 2 との比 ($P 1 / P 2$) は 1. 1 以上 5 以下である。ここでは、第 1 微細構造領域 3 1 の凸部 8 間のピッチを P 1 1 と、第 2 微細構造領域 3 2 の凸部 8 間のピッチを P 2 1 と、第 3 微細構造領域 3 3 の凸部 8 間のピッチを P 2 3 とした場合、比 ($P 1 1 / P 2 1$) は 1. 1 以上 5 以下であり、また、比 ($P 2 1 / P 2 3$) は 1. 1 以上 5 以下である。比 ($P 1 / P 2$) は、溶液をどのような速度で移動させたいかに応じて設定される。なお、比 ($P 1 / P 2$) の下限については、小さい場合、ゾーン間の速度差が無くなってしまい、微細凹凸構造の粗密の程度に差を設ける意義が低下してしまう。このような観点から、比 ($P 1 / P 2$) は、好ましくは 1. 2 以上であり、より好ましくは 1. 3 以上である。上限については、大きくなりすぎると、ゾーン間の溶液の移動速度の差が大きくなりすぎて、検査キット 1 8 全体での速度の調整が難しくなる。このような観点から、好ましくは 4 以下であり、より好ましくは 3 以下である。

【0041】

<電極部の配置>

図 19 及び図 20 を参照して、電極部 20 の配置例を説明する。

図 19 (a) ~ 図 19 (c) は電極部 20 が二電極方式である場合の作用極 25 と対極 26 の配置例を示している。作用極 25 と対極 26 とは離間して設けられている。ここでは、作用極 25 は、進行方向 d に対して、対極 26 と同じ位置または対極 26 より上流側に設けられている。作用極 25 は、例えば、くし形電極として構成されてもよい。

【0042】

図 19 (a) に示す配置例では、作用極 25 は、流路 2 の幅方向の全体に亘って設けられている。対極 26 は、作用極 25 より下流側に所定距離離れた領域において、流路 2 の幅方向の全体に亘って設けられている。なお、作用極 25 及び対極 26 は、上面視で矩形形状であるが、この形状に限らず、楕円や半円など各種の形状とすることができる。また、作用極 25、対極 26 は、流路 2 の幅方向を塞ぐように設けられているが、これに限らず、図 1 や図 2 に示すように、幅方向に対して一部領域のみに設けられてもよい。なお、作用極 25 や対極 26 の両方またはいずれか一方の幅を短くしてもよい。

【0043】

図 19 (b) に示す配置例では、対極 26 が上面視で上流側が凹状となった「コ」字状に設けられている。さらに、作用極 25 が、対極 26 の凹状となっている領域に矩形に設けられている。作用極 25 の最も上流側の位置と、対極 26 の上流側の位置が同じ位置となっている。

【0044】

図 19 (c) に示す配置例では、それぞれ矩形形状の作用極 25 と対極 26 が幅方向に対称に設けられている。

【0045】

図 20 (a) ~ 図 12 (f) は電極部 20 が三電極方式である場合の作用極 25、対極 26 及び参照極 27 の配置例を示している。

【0046】

図 20 (a) に示す配置例では、上流側から下流側に向かって、作用極 25、参照極 27、対極 26 が並んで、かつ流路 2 の幅方向の全体に亘って設けられている。図 19 (a)

）で示した配置において、作用極 25 と対極 26 の間に参照極 27 を配置した構成ともいえる。

【0047】

図 20 (b) に示す配置例では、図 20 (a) に示した配置において、参照極 27 の幅を短くして流路 2 の幅方向の中央に矩形として設けた構成である。

【0048】

図 20 (c) に示す配置例では、図示で流路 2 の左側に上流側から作用極 25、対極 26 が設けられ、流路 2 の右側に参照極 27 が設けられている。参照極 27 は、作用極 25 の上流側の位置から対極 26 の下流側の位置まで進行方向 d に細長く設けられている。

【0049】

図 20 (d) に示す配置例では、作用極 25 と対極 26 とが、図 19 (b) で示した配置と同様となっており、さらに、作用極 25 より図示左側上流位置に参照極 27 が設けられている。

【0050】

図 20 (e) に示す配置例では、図 19 (b) で示した配置の対極 26 の凹状の右側端部が下流側に短くなっており、短くなった領域に参照極 27 が設けられている。

【0051】

図 20 (f) に示す配置例では、対極 26 が流路 2 の幅方向の全体に亘って設けられている。さらに、流路 2 の左側に作用極 25 が、右側に参照極 27 が左右対称に設けられている。

<電極部の構成>

電極部 20 (二電極方式の場合は作用極 25 と対極 26、三電極の場合はさらに参照極 27) は、微細構造 7 の凸部 8 に導体の物質が設けられて形成されてもよい。導体の物質としては、特に限定はしないが、例えば、金や銀、白金、パラジウム、カーボン、グラフェン、カーボンナノチューブ (CNT) 及びそれらの複合材などが挙げられる。参照極 27 として、特に限定しないが、例えば Ag / AgCl 電極が挙げられる。

【0052】

凸部 8 の導体の物質は、例えば、スパッタリング、真空蒸着、レーザアブレーション及び CVD (chemical vapor deposition) の少なくとも 1 種を用いて形成された導体膜や、導体の粒子を含むペースト (インク) をインクジェット印刷やスクリーン印刷等の手法により形成した印刷層とすることができる。作用極 25 は、抗体固定化のために、チオールなどで表面修飾されてもよい。

【0053】

この場合、電極部 20 の粗さ曲線の最大山高さ Rp が $0.005\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $10\text{ }\mu\text{m}$ 以下であり、かつ、粗さ曲線要素の平均長さ RSm が $0.01\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $15\text{ }\mu\text{m}$ 以下である。このような表面粗さとすることで、良好な毛細管力を発生させることができ、また電極部 20 の表面積が増大するため得られるシグナル量を増大させることができる。なお、これら表面粗さは、図 4 に示したような SEM 画像を解析することで算出することができる。

【0054】

<検査キット 18 の製造方法>

検査キット 18 の製造方法は次の工程によって得られる。

工程 1…熱インプリント工程

複数の凹部が形成された金型 (モールド) の表面を、熱可塑性プラスチックからなる膜状の基材に当てて、且つ基材を加熱することにより、凹部の形状に対応する微細構造 (複数の凸部 8) と 19 とを有する膜担体 3 を作製する工程を備える。

検査キット 18 の製造方法は、試薬または標識物質を、微細構造 7 がある膜担体 3 の表面のうち検知ゾーン 3y へ、より具体的には第 3 微細構造領域 33 の固相部 50 に固定する工程をさらに備える。

熱インプリント工程で用いるモールドの微細加工法は、例えば、エッチング、フォトリソグラフィ、機械切削、またはレーザー加工等であってよい。加工サイズや加工範囲に

10

20

30

40

50

適した微細加工法を選択することができる。

【0055】

熱インプリントを行う前に、モールドの離型処理を行うことが望ましい。離型処理では、例えば、モールド表面に単分子膜を作製し、表面エネルギーを小さくすればよい。その結果、熱インプリント後に、熱可塑性プラスチックからなる膜担体3をモールド1の表面から剥離し易くなる。

【0056】

熱インプリントの方式は、平板プレス式及びロール式のいずれであってもよい。平板プレス式では、平行に対面する上下のステージの間で、モールドを、熱可塑性プラスチックからなる基材と重ねて、これらをステージ間に挟む。そして、ステージを介して、モールド及び基材を加熱し、且つ加圧する。このような平板プレス式は、成型の精度が良い点において優れている。ロール式は、加熱したロール式モールドを用い、ロール同士の挟み圧によって成型を行う方式である。ロール式は、生産性に優れている。

【0057】

熱インプリントを行う際の成型温度、成型圧力、転写時間等の条件は、微細加工のサイズ、微細構造（凸部8）の形状、加工範囲の大きさなどに応じて、選択すればよい。例えば、平板プレス式の場合、成型温度は、ガラス転移点 T_g よりも20～50℃高い温度、または融点 T_m よりも20～50℃高い温度であってよい。成型圧力は、1～10MPaであってよい。転写時間（モールド及び基材を加圧しながら保持する時間）は、3～10分であってよい。以上の諸条件下での熱インプリントにより、モールドの微細構造を基材の表面へ正確に転写し易くなる。

【0058】

膜担体3を構成する熱可塑性プラスチックの種類、及び試薬（検出物質）の種類によっては、試薬（検出物質）を膜担体3の固相部50に固定し難いことがある。この場合、予め検知ゾーン3yのみに適当な表面処理を施すことにより、試薬（検出物質）を膜担体3の検知ゾーン3y（すなわち固相部50）に固定し易くなる。

【0059】

検知ゾーン3yの表面処理手法は、何ら限定されるものではなく、例えば、各種プラズマ処理、UV処理、UV／オゾン処理、または、3-Aminopropyltriethoxysilane若しくはGlutaraldehydeによる表面修飾など種々の手法であってよい。

【0060】

検知ゾーン3yに固定される試薬（検出物質）は、例えば、抗体であってよい。例えば図2では、第3微細構造領域33の固相部50に抗体が固定される。固相部50は、電極部20より溶液の進行方向dの上流側に設けられる。

【0061】

抗体は、被検出物質との抗原抗体反応を起こす物質である。抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。被検出物質は、何ら限定されるものではなく、各種病原体、各種臨床マーカー等、抗体との抗原抗体反応を起こすことが可能な如何なる物質であってもよい。具体例な被検出物質は、例えば、インフルエンザウイルス、ノロウイルス、アデノウイルス、RSウイルス、HAV、HBs、HIV等のウイルス抗原であってよい。被検出物質は、MRSA、A群溶連菌、B群溶連菌、レジオネラ属菌等の細菌抗原、細菌等が産生する毒素であってもよい。被検出物質は、マイコプラズマ、クラミジア・トラコマティス、ヒト絨毛性ゴナドトロピン等のホルモンであってもよい。被検出物質は、C反応性タンパク質、ミオグロビン、心筋トロポニン、各種腫瘍マーカー、農薬、及び環境ホルモン等であってもよい。特に、インフルエンザウイルス、ノロウイルス、C反応性タンパク質、ミオグロビン、及び心筋トロポニンのような被検出物質の検出と、これらに起因する病気の治療措置に急を要する場合、本実施形態に係る検査キット18の有用性が特に大きい。なお、被検出物質は、単独で免疫反応を誘起できる抗原であってもよい。被検出物質は、単独では免疫反応を誘起できないが、抗体と抗原抗体反応に

10

20

30

40

50

より抗体に結合することが可能なハプテンであってもよい。

【0062】

＜検査キット18による検査方法＞

図6に示すチャート図及び上述の図1～図5を参照して検査キット18による検査方法を説明する。図6では、微細構造30の第3微細構造領域33に着目して示している。

【0063】

S1：デバイス準備工程

まず、検査キット18及び使用する溶液（反応液、洗浄液、二次反応液）を準備する。上述のように、第3微細構造領域33の固相部50には抗体51が固定されている。

【0064】

S2：反応液展開工程

液滴ゾーン3zから第2微細構造領域32に反応液が滴下されると、微細構造7の毛細管作用により第3微細構造領域33に移動する。

反応液中の検出対象91及び検出対象（標識体）92が抗体51と反応して固定される。余分な反応液は吸水パッドに吸収されるが、一部の検出対象91a及び検出対象（標識体）92aは固定されず第3微細構造領域33上に残留する。

【0065】

S3：洗浄液展開工程

つづいて、洗浄液ゾーン3xから洗浄液93を滴下して、固相部50に固定されず第3微細構造領域33に残留している検出対象91a及び検出対象（標識体）92aを洗浄する。検出対象（標識体）92aは、アルカリホスファターゼ（ALP）標識体を有している。

【0066】

S4：二次反応液展開工程

洗浄後、第2微細構造領域32に滴下された二次反応液（例えばp-アミノフェニルリン酸94）が、微細構造7の毛細管作用により第3微細構造領域33に移動する。p-アミノフェニルリン酸94は、抗体51に固定された検出対象（標識体）92と反応して電気的に活性な物質（ここではp-アミノフェノール95）を生成する。この物質は、抗体51に固定された検出対象（標識体）92の量（濃度）と相関（比例）する。したがって、電極部20で測定する酸化電流の値で、測定対象の濃度を正確かつ安定的に測定することができる。

【0067】

以上、本実施形態によると、イムノクロマトグラフィー法を適用した検査キット18において、膜担体3の微細構造7の流路2において溶液を移動させる速度（毛細管作用による速度）が異なる複数の領域に設定することができる。その結果、反応液や洗浄液、二次反応液など複数種類の溶液を展開する必要がある場合でも、それら溶液を展開するタイミングを使用態様に合わせて調整することができる。したがって、本来であれば必要とされたタイミング調整等の手間を省くことができ、安定して適切な検査を実施できる。具体的には、所定の治具等を用いて、各溶液が展開されるタイミングを考慮した異なる複数の場所に同時に滴下できる。すなわち一回の操作のみで各溶液を展開できる。

【0068】

＜＜第2の実施形態＞＞

図7及び図8を参照して、本実施形態の検査キットについて説明する。第1の実施形態と異なる点は、膜担体103の構造にあり、おもに異なる点について説明し、同じ構成・機能については説明を適宜省略する。

【0069】

図7は膜担体103を模式的に示した平面図である。図8に各隣接領域同士の境界を拡大した画像を示す。図8（a）は第1微細構造領域131と第2微細構造領域132との第1境界141の画像である。

【0070】

10

20

30

40

50

図示のように、膜担体103は、所定の縦幅L10及び横幅L20の長方形形状を呈している。膜担体103は、左側から第1微細構造領域131（横幅L201）と、第2微細構造領域132（横幅L202）と、第3微細構造領域133（横幅L203）と、第4微細構造領域134（横幅L204）とを備える。これら領域は、第1の実施形態と同様に、微細構造における凸部の粗密が異なっており、その結果、毛細管作用による速度が異なる。

【0071】

具体的には、第1微細構造領域131が最も粗であり（領域A11）、次に第3微細構造領域133が2番目に粗であり（領域A13）、第2微細構造領域132が3番目に粗であり（領域A12）、そして第4微細構造領域134が最も密（領域A14）に設定されている。また、第4微細構造領域134に固相部150が設けられている。

10

【0072】

また、第2微細構造領域132と第3微細構造領域133との第2境界142には、所定幅L31の緩衝領域が設けられている。緩衝領域には微細構造（すなわち凸部）が設けられていない。同様に、第3微細構造領域133と第4微細構造領域134との第3境界143にも所定幅L32の緩衝領域が設けられている。このような緩衝領域を設けることで、領域毎の溶液の輸送量の違いを吸収し逆流等が発生することを防止することができる。例えば、第2微細構造領域132と第3微細構造領域133では、下流側の第3微細構造領域133の微細構造が粗で有る。したがって、第2微細構造領域132のほうが溶液の移動速度が大きい。その結果、第2境界142において緩衝領域が無いと、展開される溶液の量によっては逆流が生じかねない。しかし、本実施形態のように、毛細管力が生じない緩衝領域を設けることで、溶液の移動速度や展開される量による逆流発生を防止できる。

20

【0073】

<<第3の実施形態>>

本実施形態では、溶液の逆流防止構造について6例説明する。なお、ここでは、上述した膜担体3、103に相当する構成の一部領域の断面図を抜き出して説明するが、他の領域についても適用できる。

【0074】

図9（a）に示す膜担体203では、第1微細構造領域231と第2微細構造領域232との境界に、第2微細構造領域232側が低くなるように段差部241が設けられている。

30

【0075】

図9（b）に示す膜担体303では、第1微細構造領域331と第2微細構造領域332との境界に、下流方向に低くなる傾斜部341が設けられている。傾斜部341は、凸部がない緩衝領域でもよいし、凸部を有する微細凹凸構造でもよい。

【0076】

図9（c）に示す膜担体403では、第1微細構造領域431と第2微細構造領域432との境界に、上流方向に低くなる傾斜部441が設けられている。傾斜部441と第2微細構造領域432との境界は段差部442となっている。

40

【0077】

図9（d）に示す膜担体503では、第1微細構造領域531と第2微細構造領域532との境界に、凹部541が設けられている。

【0078】

図9（e）に示す膜担体603では、第1微細構造領域631と第3微細構造領域633とは水平に形成されるが、第2微細構造領域632が下流側ほど低くなる傾斜を有する。

【0079】

図9（f）に示す膜担体703では、第1微細構造領域731、第2微細構造領域732及び第3微細構造領域733の全てが、下流側ほど低くなる傾斜を有する。ここでは、全て同じ傾斜角の構成を示しているが、領域毎に異なる傾斜角であってもよい。

50

【0080】

上記図9(a)～(f)の構成を適宜組み合わせて所望の膜担体とすることができ、展開する溶液の種類や量に応じた最適な流路、溶液の移動速度を実現できる。

【0081】

以上、図面を参照して本発明の実施形態について述べたが、これらは本発明の例示であり、上記以外の様々な構成(変形例)を採用することもできる。例えば、流路2は樹脂で形成された基板上の膜担体3の微細構造(微細凹凸構造)として設けられたが、流路2の領域によって粗密の異なる微細構造(微細凹凸構造)を設けることができれば各種の構成・材料等を採用することができる。

【0082】

<実施形態のまとめ>

以上、本発明の特徴を簡単にまとめると次の通りである。

(1) 検査装置(検査キット)は、

樹脂で形成された基板上に設けられ、液体試料を一端側から他端側へ輸送する流路と、
前記流路の他端側に設けられた、抗体を固相した固相部と、
電極部が設けられ前記液体試料の前記抗体に対する反応を検出する検出部と、
前記流路に一体に形成された複数の凸部を有する微細凹凸構造と、

を有し、

前記微細凹凸構造は、

前記複数の凸部が相対的に粗に設けられた第1の凹凸部と、

前記複数の凸部が相対的に密に設けられた第2の凹凸部と、

を有し、

前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部は、前記固相部よりも前記流路の一端側に設けられている。

(2) 液体試料中の被検出物質を検出する検出装置であって、

前記液体試料を一端側から他端側へ輸送する流路と、
前記流路の他端側に設けられた、抗体を固相した固相部と、
前記液体試料の前記抗体に対する反応を検出する検出部と、
前記流路に一体に形成された複数の凸部を有する微細凹凸構造と、

を有し、

前記微細凹凸構造は、

前記複数の凸部が相対的に粗に設けられた第1の凹凸部と、

前記複数の凸部が相対的に密に設けられた第2の凹凸部と、

を有し、

前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部は、前記固相部よりも前記流路の一端側に設けられている。

(3) 前記検出部は前記固相部より前記流路の他端側に設けられてもよい。

(4) 前記第1の凹凸部は、前記第2の凹凸部よりも前記流路の一端側に設けられてもよい。

(5) 前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部との境界に前記凸部が設けられていない緩衝領域を有してもよい。

(6) 前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部との境界に、段差または傾斜が設けられており、

前記段差または前記傾斜の前記第1の凹凸部側の領域が前記第2の凹凸部側の領域より高くてもよい。

(7) 前記第1の凹凸部と前記第2の凹凸部との境界に、凹部が設けられた凹部領域を有してもよい。

(8) 前記凸部が菱形格子状に設けられている領域を有してもよい。

(9) 前記凸部が正格子状に設けられている領域を有してもよい。

(10) 前記第1の凹凸部と、前記第2の凹凸部とが隣接する場合に、前記第1の凹凸部

10

20

30

40

50

における前記凸部間のピッチ（ $P1$ ）と、前記第2の凹凸部における前記凸部間のピッチ（ $P2$ ）との比（ $P1/P2$ ）は1.1以上5以下であってもよい。

（11）前記凸部は錐体として設けられてもよい。

（12）前記液体試料を前記流路に導入する導入部を更に有し、

前記液体試料は複数種類の溶液からなり、

前記導入部は、前記複数種類の溶液に応じて複数箇所に設けられてもよい。

（13）前記電極部は前記微細凹凸構造の凸部に形成されており、電極部の粗さ曲線の最大山高さ R_p が $0.005\mu m$ 以上 $10\mu m$ 以下であり、かつ、粗さ曲線要素の平均長さ R_{Sm} が $0.01\mu m$ 以上 $15\mu m$ 以下であってもよい。

（14）前記電極部は、前記微細凹凸構造の凸部に導体の物質がスパッタリング、真空蒸着、レーザアブレーション及びCVDの少なくとも1種によって形成された導体膜層を有してもよい。

（15）前記電極部は、前記微細凹凸構造の凸部に導体の粒子を含むペーストの印刷層を有してもよい。

（16）前記電極部は、作用極と、前記作用極と離間した対極とを有し、

前記作用極は、流路方向に対して、前記対極と同じ位置または前記対極より上流側に設けられてもよい。

（17）前記対極は、前記流路の幅方向の全体に亘って設けられてもよい。

（18）前記作用極は、前記流路の幅方向の全体に亘って設けられてもよい。

（19）前記作用極は、くし形電極として構成されてもよい。

（20）前記電極部は、更に参照極を有してもよい。

（21）検出方法は、上述の検出装置を用いて液体試料の抗体に対する反応を検出する。

【実施例】

【0083】

以下、本発明を実施例（実施例1、2）を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。なお、以下の実施例では、膜担体において、微細構造を粗密の異なる複数の領域を有する構成としたときの溶液の流速制御の評価実験を行った。

【0084】

【実施例1】

本実施例では、膜担体に三色の水溶液を展開した際に溶液が入れ替わっていく様子の定量評価の実験について説明する。

【0085】

1. 実験

（1）微細構造の変化により溶液展開をコントロールする技術を確認するため、第1の実施形態の図2に示した構成の膜担体3について、第1微細構造領域31、第2微細構造領域32及び第3微細構造領域33の凸部8間距離がそれぞれ $25\mu m$ 、 $15\mu m$ 、 $2\mu m$ の3つの領域を連続させた流路2をポリカーボネート（帝人社製 PC-2151）に作製した。製作条件（熱インプリント工程）は次の通りである。

【0086】

<熱インプリント工程（微細構造の転写）>

下記の熱インプリント工程によって、モールド表面の微細構造を、熱可塑性プラスチックからなる膜状の基材の表面に転写した。熱インプリント工程では、SCIVAX社製のX-300を用いた。熱インプリント工程では、微細構造（複数の凹部）が形成された上記モールドの表面を、熱可塑性プラスチックからなる膜状の基材に当てて、モールド及び基材を加熱しながら加圧した。成型温度は $180^{\circ}C$ であった。印加圧力は $5.5MPa$ であった。転写時間は5分であった。微細構造の転写後、モールド及び基材へ圧力を印加した状態で、モールド及び基材を $140^{\circ}C$ まで冷却した。冷却後に圧力を除いた。以上の熱インプリント工程により、実施例1の膜担体を得た。この膜担体は、複数の円錐（微細構造）と平坦部とを含む表面を有していた。膜担体の表面にある凸部（円錐）の形状及びサ

10

20

30

40

50

イズは、モールドに形成された凹部（逆円錐）の形状及びサイズに一致していた。

【0087】

凸部8は、径4、高さ6がともに30μmの円錐構造である。

膜担体3の縦幅L1は5mm、第1～第3微細構造領域31～33の各横幅L21～L23はそれぞれ20mmである。

【0088】

(2) 第3微細構造領域33の領域の端部に5mmだけ重ねて、Navi-Fluで用いられている吸水パッドを貼り付けた。さらに、微細構造間距離が変化するポイント（図2の第1境界41、第2境界42に対応する位置）にNavi-Fluで用いられているコンジュゲートパッドを固定し試験片を作製した。図10に作成した試験片の写真を示す。

【0089】

(3) コンジュゲートパッドは、吸水パッドに近い順に「1」「2」「3」と番号を付け、それぞれのパッドに表1に示した組成の水溶液を滴下した。滴下液量は吸水パッドまでの距離や展開中に途中のコンジュゲートパッドにトラップされる量を考慮して定めた。なお、本実験のオペレーション及び結果検証を簡単にするため10秒ごとに「1」「2」「3」の順にパッドに滴下した。

【0090】

【表1】

表1：水溶液組成、滴下量

	食紅および濃度 [mg/mL]	Triton X-100濃度	滴下量 [μL]
滴下箇所1	食用色素 緑(共立食品製), 10	2%	20
滴下箇所2	食用色素 赤(共立食品製), 10		35
滴下箇所3	食用色素 青(共立食品製), 10		60

【0091】

(4) 各色の溶液が展開されていく様子を動画撮影し、滴下箇所1と吸水パッドとの中間点の色変化を画像解析した。

【0092】

2. 結果

撮影した動画を10秒ごとに画像化し、画像解析ソフト（ソフト名「Image J」）に取り込んだ。試験開始から30、140、310秒後の画像を図11に示す。図11(a)が30秒後の画像、図11(b)が140秒後の画像、図11(c)が310秒後の画像である。

【0093】

滴下箇所1と吸水パッドとの中間点に測定点を定め、その点のRGB表示データを記録した。次に式1に従ってRGB各色の成分割合を算出した。例として、赤(R)、緑(G)、青(B)の各水溶液の換算データを表2に示す。

$$(R \text{ or } G \text{ or } B \text{ の成分割合}) = (R \text{ or } G \text{ or } B \text{ 数値}) / (R \text{ 数値} + G \text{ 数値} + B \text{ 数値})$$

…式1

【0094】

【表2】

表2：RGB数値から成分割合への換算

	R数値	G数値	B数値		R成分割合	G成分割合	B成分割合
赤溶液	200	173	166	➡	37%	32%	31%
緑溶液	137	194	161		28%	39%	33%
青溶液	156	204	227		27%	35%	39%

【0095】

図 1 2 に、経過時間と測定ポイントの R G B 成分割合のプロットをしたグラフを示す。図 1 2 に示す結果から、時間経過に従って緑→赤→青と変化していく様子を数値化できることが確認できる。

【 0 0 9 6 】

さらに、検査結果と流れの様子を定量的に評価するために、混合割合を定量評価する方法として、次の式 2 を検討した。これは、各測定点の R G B 成分割合は、表 2 の単色の成分割合をどの程度ずつ混合すると実現できるかを求めたものである。実測値と計算値の誤差 ε を最小とするために表計算ソフト Excel のソルバー機能を用いた。

$$\varepsilon = |R_r x + G_r y + B_r z - r| + |R_g x + G_g y + B_g z - g| + |R_b x + G_b y + B_b z - b| \quad \cdots \text{式 2}$$

10

式 2 で表される ε を最小化するような x 、 y 、 z を求める。

【 0 0 9 7 】

ここで R_r 、 R_g 、 R_b はそれぞれ赤溶液の R、G、B 成分割合を示す。G、B はそれぞれ緑溶液、青溶液について同様の意味である。 r 、 g 、 b はそれぞれ測定ポイントの R、G、B 成分割合実測値である。 x 、 y 、 z はそれぞれ測定ポイントでの赤、緑、青溶液の混合割合であり、 $x+y+z=1$ となるよう制限した。

式 2 を用いて図 1 2 のデータを解析した結果、各溶液の混合割合を図 1 3 のようにあらわすことができた。

【 0 0 9 8 】

以上の結果から、画像解析によって溶液の混合割合の時間変化を定量的に評価した。すなわち、膜担体の各領域の微細構造の粗密状態（凸部の間隔）を適切に設定することで、膜担体の流路の溶液の移動速度を調整でき、複数の溶液を展開できることが確認できた。

20

【 0 0 9 9 】

インプリントシートの代わりにニトロセルロースを用いて同様の試験及び評価を実施した結果（比較例）を図 1 4 に示す。インプリントシートの場合は構造（凸部）が円錐状であるため直上から流路内の溶液を観察可能だが、ニトロセルロースは不織布状であり最表面の色変化しか観察できていない点に留意して結果を考察する。

【 0 1 0 0 】

図 1 3（インプリントシートの実施例）と比較すると、試験時間が大きく異なることが分かる。これはインプリントシートとニトロセルロースの展開流速の違いが表れたものであり、迅速に展開溶液を入れ替えるという点については流速の大きなインプリントシートが有利であることが確認できた。ニトロセルロースの全長を調整することで試験時間の短縮を図ることができるが、その場合同時に滴下した溶液同士が混ざり合ってしまうリスクが高まってしまう。実際に全長と滴下液量を半分にした試験では溶液が混合した。構造を工夫することで短時間判定かつ溶液の混ざり合わないデバイスを作製できる可能性はあるが、流速の調整などが行えないため設計自由度が低い。その点、実施例 1 で示したようなインプリントシートで膜担体を構成した場合、流速の調整等の自由度が高い。

30

【 0 1 0 1 】

3. まとめ

実施例 1 によると、インプリントシートの膜担体の場合、微細構造や材質の調整で流速が制御可能であり、市場のニーズに対して柔軟に対応することができる。

40

【 0 1 0 2 】

〔実施例 2〕

1. 実験

（1）微細構造の変化により溶液展開をコントロールする技術を確認するため、第 2 の実施形態の図 7 に示した構成の膜担体 1 0 3 について、第 1 微細構造領域 1 3 1、第 2 微細構造領域 1 3 2、第 3 微細構造領域 1 3 3 及び第 4 微細構造領域 1 3 4 の凸部 8 の頂点間距離がそれぞれ 1 0 5 μm 、6 0 μm 、8 0 μm 、3 0 μm とした 4 つの領域を有する流路をポリカーボネート（帝人社製 PC-2151）に作製した。製作条件は実施例 1 と同じである。図 1 5（a）に流路を側面から見た模式図を、図 1 5（b）に実際に作成した試験

50

片の上面図（写真）を示す。

凸部 8 は、径 4、高さ 6 がともに $32\ \mu\text{m}$ の円錐構造である。

膜担体 103 の縦幅 $L1$ は 5 mm 、第 1 微細構造領域 131 の横幅 $L201 = 15\text{ mm}$ 、第 2 微細構造領域 132 の横幅 $L202 = 30\text{ mm}$ 、第 3 微細構造領域 133 の横幅 $L203 = 45\text{ mm}$ 、第 4 微細構造領域 134 の横幅 $L204 = 40\text{ mm}$ である。

側面視で、第 2 微細構造領域 132、第 3 微細構造領域 133 及び第 4 微細構造領域 134 は、傾斜角度 2.2° の傾斜を付けている。

第 1 境界 141 は、緩衝領域が無い第 1 微細構造領域 131 と第 2 微細構造領域 132 とが連続した境界である。

第 2 境界 142 は、緩衝領域（未加工領域）の幅 $L31 = 0.15\text{ mm}$ である。

第 3 境界 143 は、緩衝領域（未加工領域）の幅 $L32 = 0.20\text{ mm}$ である。

【0103】

（2）実験 1（RGB 画像解析）：

実験 1 では、実施例 1 と同様の実験・解析方法により、所定のポイントの色変化を RGB 成分から解析して、液体が入れ替わっていく様子を定量的に確認した。

具体的には、最下流（図示の第 4 微細構造領域 134 の右側端部）から 5 mm のポイントの色変化を RGB 成分から解析した。すなわち、各溶液の RGB 成分割合をもとに、展開中の溶液混合割合を評価した。図 16 に評価結果のグラフを示す。これは実施例 1 の図 13 に対応するものであり、時間の経過とともに、割合が大きい成分が、緑成分（G）、赤成分（R）、青成分（B）と変化していくことが確認できた。

【0104】

（3）実験 2（CRP 検出性能評価）：

本実験では、図 15（a）に示すように、溶液の展開工程として次のような、洗浄液 $10\ \mu\text{L}$ を第 4 微細構造領域 134 に滴下し、10 秒後に CRP 溶液 $10\ \mu\text{L}$ を第 3 微細構造領域 133 に滴下し、1 分後に蛍光標識液 $15\ \mu\text{L}$ を第 2 微細構造領域 132 に滴下し、最後に 2 分後に洗浄液 $30\ \mu\text{L}$ を第 1 微細構造領域 131 に滴下した。最後の溶液（洗浄液）を滴下して 10 分後に蛍光強度を測定した。

【0105】

使用した溶液は次の通りである。

洗浄液：2 wt% Triton X-100 入り PBS

CRP 溶液：洗浄液と CRP 溶液を所定の濃度で混合した溶液

蛍光標識液：洗浄液と蛍光標識抗 CRP 抗体溶液を抗体濃度 $30\ \mu\text{g}/\text{mL}$ となるように混合した溶液

【0106】

図 17 に CRP 濃度ごとの蛍光強度を示す。また、図 18 に蛍光強度を観察したときの画像を示す。図 18（a）は CRP 濃度が $0\text{ ng}/\text{mL}$ のときのもので、図 18（b）は CRP 濃度が $10\text{ ng}/\text{mL}$ のときのものである。図 17 及び図 18 で示す結果から、CRP 濃度が $1\text{ ng}/\text{mL}$ 以上の濃度で、CRP 濃度依存的な蛍光強度が得られた。このことから、上記のような複数の微細構造を有する膜担体を電気化学検出（電気化学イムノクロマト）に適用することで、所望の検出対象物質を電氣的に測定することができる。

【0107】

〔実施例 3〕

1. 実験

（1）試験片（膜担体 103）

実施例 3 では、試験系を実際の使用状態に近づける目的で、実施例 2 の実験 2 の試験条件を一部変更し、検体溶液にヒト血清を混合させた CRP 検出試験を実施した。

図 7 に対応する試験片（膜担体 103）の構造は、第 1 微細構造領域 131、第 2 微細構造領域 132、第 3 微細構造領域 133 及び第 4 微細構造領域 134 の凸部 8 の頂点間距離がそれぞれ $100\ \mu\text{m}$ 、 $60\ \mu\text{m}$ 、 $95\ \mu\text{m}$ 、 $30\ \mu\text{m}$ とした 4 つの領域を有する流路をポリカーボネート（帝人社製 PC-2151）に作製した。製作条件は実施例 1 及び実施

10

20

30

40

50

例 2 と同じである。

図 2 1 に試験片（流路）を側面から見た模式図を示す。試験片として、3 6 サンプル用意した。凸部 8 は、径 4、高さ 6 がともに $32\text{ }\mu\text{m}$ の円錐構造である。

膜担体 1 0 3 の縦幅 $L1$ は 5 mm 、第 1 微細構造領域 1 3 1 の横幅 $L201 = 36.95\text{ mm}$ 、第 2 微細構造領域 1 3 2 の横幅 $L202 = 5\text{ mm}$ 、第 3 微細構造領域 1 3 3 の横幅 $L203 = 40\text{ mm}$ 、第 4 微細構造領域 1 3 4 の横幅 $L204 = 40\text{ mm}$ である。

側面視で、第 2 微細構造領域 1 3 2、第 3 微細構造領域 1 3 3 及び第 4 微細構造領域 1 3 4 は、傾斜角度 2.1° の傾斜を付けている。

第 1 境界 1 4 1 は、緩衝領域が無い第 1 微細構造領域 1 3 1 と第 2 微細構造領域 1 3 2 とが連続した境界である。

第 2 境界 1 4 2 は、緩衝領域（未加工領域）の幅 $L31 = 0.15\text{ mm}$ である。

第 3 境界 1 4 3 は、緩衝領域（未加工領域）の幅 $L32 = 0.15\text{ mm}$ である。

【0108】

(2) 抗体固相

試験片の最下流端から 17.5 mm 位置に抗 C R P 抗体固相溶液を $1\text{ }\mu\text{L}$ 滴下し、 45°C 雰囲気中で 1 時間乾燥させることで抗 C R P 抗体を 25 ng 固相した。

【0109】

図 2 1 のように流路に 2.1° の傾斜を設け、異なる滴下箇所から C R P 溶液、蛍光標識抗 C R P 抗体溶液（展開溶液中、蛍光標識抗 C R P 抗体濃度 $45\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ ）、展開溶液（ $2\text{ wt}\%$ T r i t o n X - 1 0 0 入り P B S）の順に展開した。使用した C R P 溶液の組成は表 3 に示す。展開液量と溶液滴下の間隔は表 4 に示す。また各試験は $n = 3$ で実施した。

すべての溶液を展開してから 1 0 分後、吸水パッドとインプリントシート（膜担体 1 0 3）を切り離して溶液の逆流を防止してから、抗体固相部の蛍光強度を測定した。

【0110】

2. 結果

各試験の蛍光強度測定結果を図 2 2 に示す。ここに示した蛍光強度は、抗体固相部の蛍光強度からその周囲のバックグラウンド蛍光強度を差し引いた値である。なお図 2 2（a）では蛍光強度測定時の露光時間を 1 秒とし、図 2 2（b）では $1/6$ 秒とした。

血清の有無にかかわらず、同等の最小検出感度と 3 ケタ以上の測定レンジ（検出レンジ）を達成できた。

なお、血清の存在により蛍光強度が小さくなる傾向があった。これは、血清中のたんぱく質（ $\sim 80\text{ mg}/\text{mL}$ ）が、抗体と C R P との反応を阻害したと推測される。

【0111】

10

20

30

40

50

【表 3】

表3: CRP溶液組成					
血清混合	最終 CRP濃度	Buffer溶液	溶液中 Buffer溶液割合	Buffer溶液中 CRP濃度	溶液中 ヒト血清割合
なし	0	展開溶液 (2w/v% Triton X-100入りPBS)	100%	0	—
	1 ng/mL			1 ng/mL	
	10 ng/mL			10 ng/mL	
	100 ng/mL			100 ng/mL	
	1 μg/mL			1 μg/mL	
	10 μg/mL			10 μg/mL	
あり	0	4w/v% Triton X-100入り PBS	50%	0	50%
	1 ng/mL			2 ng/mL	
	10 ng/mL			20 ng/mL	
	100 ng/mL			200 ng/mL	
	1 μg/mL			2 μg/mL	
	10 μg/mL			20 μg/mL	

10

【表 4】

表4: 試験プロトコール				
1. CRP溶液	間隔	2. 蛍光標識抗CRP 抗体溶液	間隔	3. 展開溶液
第4微細構造領域 10 μL	6秒	第3微細構造領域 10 μL	10秒	第1微細構造領域 30 μL

20

【0 1 1 2】

[実施例 4]

実施例 4では、実施例 1 から 3 の結果を踏まえ、インプリントシート上での電気化学検出試験を実施した。なお、本実施例では、電気化学検出が適切に行えるかを確認する観点から、全ての溶液を第 4 微細構造領域 1 3 4 の同じ位置に滴下タイミングを変えて滴下した。

30

1. 実験

(1) 試験片 (膜担体 1 0 3)

実施例 3 で作成した試験片と同じ構造の膜担体 1 0 3 を用意した。膜担体 1 0 3 の縦幅 L 1 は 5 mm、第 1 微細構造領域 1 3 1 の横幅 L 2 0 1 = 3 6 . 9 5 mm、第 2 微細構造領域 1 3 2 の横幅 L 2 0 2 = 5 mm、第 3 微細構造領域 1 3 3 の横幅 L 2 0 3 = 4 0 mm、第 4 微細構造領域 1 3 4 の横幅 L 2 0 4 = 4 0 mmである。

【0 1 1 3】

(2) 電極部 (作用極、対極)

S U S 板にポリイミドテープを貼った基板上にインプリントシートを貼り、電極部 2 0 として電極形状に加工したマスク越しに金を真空蒸着した。

40

電極形状は次の通りである。

作用電極・・・ 1 mm× 5 mm (流路幅)

対極・・・ 3 mm× 5 mm (流路幅)

電極間のギャップ・・・ 0 . 5 mm

電極位置・・・対極の下流端が、流路の最下流端から 1 5 . 5 mm位置

【0 1 1 4】

(3) 抗体固相

作用電極より 5 mm上流位置に、実施例 3 と同様に、抗 C R P 抗体固相溶液を 1 μ L滴

50

下し、45℃雰囲気中で1時間乾燥させることで抗CRP抗体を25ng固相した。

【0115】

(4) 測定装置

銀ペースト（ドータイトD-550）で電極部20（作用極、対極）と基板の導通をとり、基板を電気化学測定装置（Solartron製1252A）のワニ口クリップで挟んで測定した。作用極と対極との間に+50mVの電位をかけて溶液展開し、電流値を時間に対しプロットした（図24参照）。

【0116】

(5) 溶液滴下タイミング及び滴下溶液

図23は実施例4の溶液滴下タイミングを示したチャート図である。

まず、洗浄液10μLを滴下した（第1工程S11）。第1工程S11から2分後、CRP、ALP標識CRP混合溶液10μLを滴下した（第2工程S12）。さらに、第2工程S12から2分後、洗浄液（4%）10μLを滴下した（第3工程S13）。最後に、第3工程S13から3分後、p-アミノフェニルリン酸Na溶液10μLを滴下した（第4工程S14）。

【0117】

滴下した溶液は以下の通りである。

洗浄液…2wt% Triton X-100入りPBS

ALP標識CRP…市販のCRPを標識キット（同仁化学研究所製LK13）で標識

CRP、ALP標識CRP混合溶液…CRP及びALP標識CRPを所定の濃度になるように洗浄液に懸濁

洗浄液（4%）…4wt% Triton X-100入りPBS

p-アミノフェニルリン酸Na溶液…p-アミノフェニルリン酸Naを5mM濃度となるよう洗浄液に溶解

【0118】

2. 結果

図24に測定結果を示す。図24（a）はCRP、ALP標識CRP混合溶液のCRP濃度を0μg/mL、ALP-CRP濃度を1.25μg/mLとしたときの結果であり、図24（b）は上記混合溶液のCRP濃度を12.5μg/mL、ALP-CRP濃度を1.25μg/mLとしたときの結果である。図示のように、溶液の滴下タイミング及びCRP濃度を反映した電流値が検出された。

【0119】

この出願は、2020年4月28日に出願された日本出願特願2020-079367号を基礎とする優先権を主張し、その開示の全てをここに取り込む。

【符号の説明】

【0120】

2 流路

3、103、203、303、403、503、603、703 膜担体

3x 洗浄液ゾーン

3y 検知ゾーン

3z 液滴ゾーン

8 凸部

18 検査キット

18a 筐体

18b 第一開口部

18c 第二開口部

18d 第三開口部

20 電極部

21 計測装置

25 作用極

10

20

30

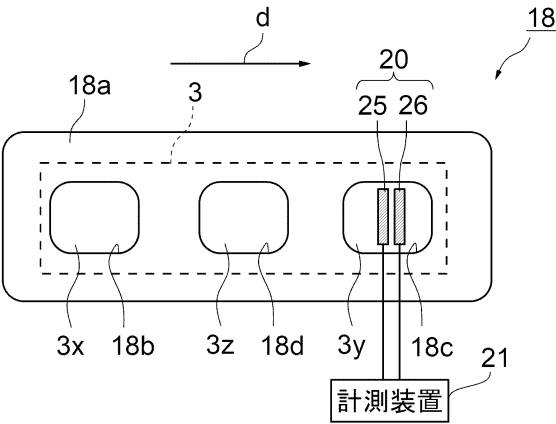
40

50

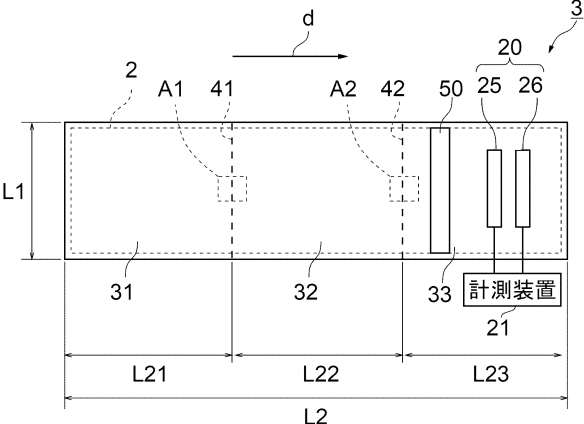
- 2 6 対極
- 2 7 参照極
- 3 1、1 3 1、2 3 1、3 3 1、4 3 1、5 3 1、6 3 1、7 3 1 第1微細構造領域
- 3 2、1 3 2、2 3 2、3 3 2、4 3 2、5 3 2、6 3 2、7 3 2 第2微細構造領域
- 3 3、1 3 3 第3微細構造領域
- 1 3 4 第4微細構造領域
- 4 1、1 4 1、2 4 1 第1境界
- 4 2、1 4 2 第2境界
- 1 4 3 第3境界
- 5 0、1 5 0 固相部
- 5 1 抗体
- 3 4 1、4 4 1 傾斜部
- 5 4 1 凹部

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

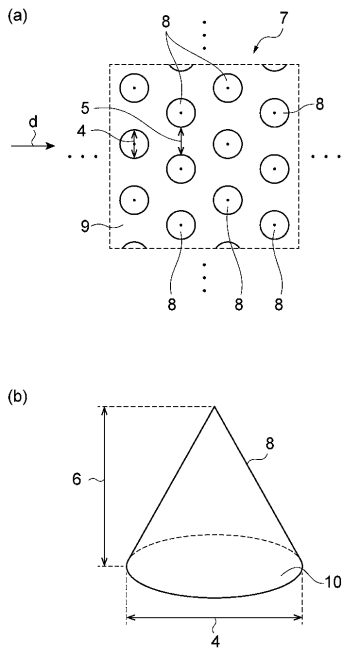
20

30

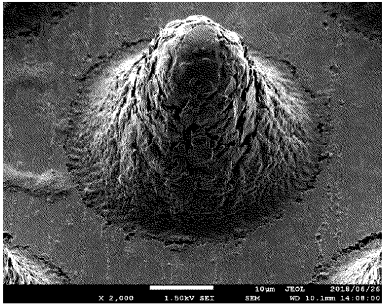
40

50

【図 3】



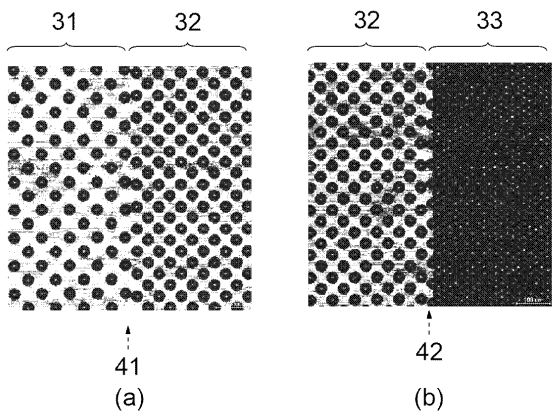
【図 4】



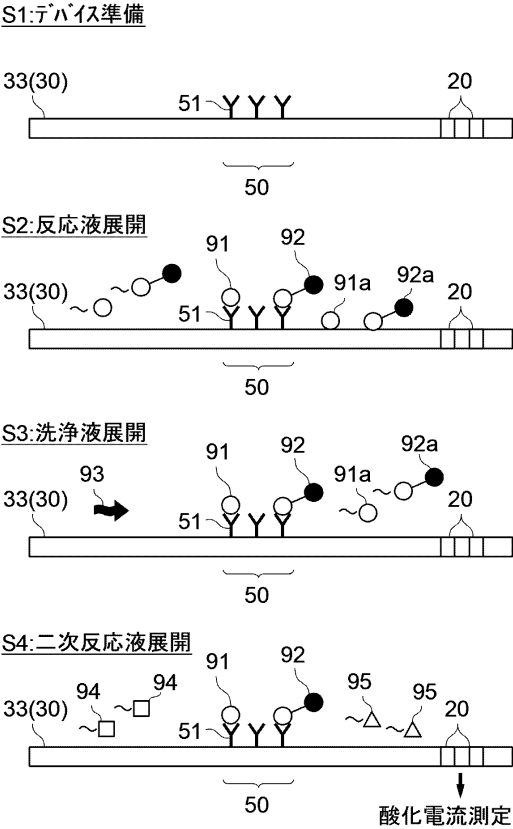
10

20

【図 5】



【図 6】

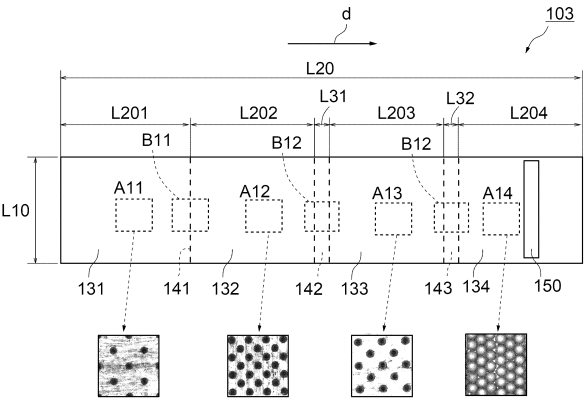


30

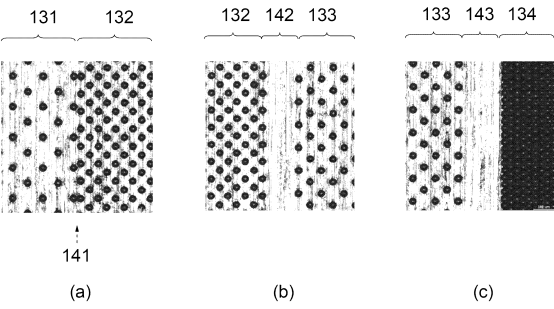
40

50

【図 7】

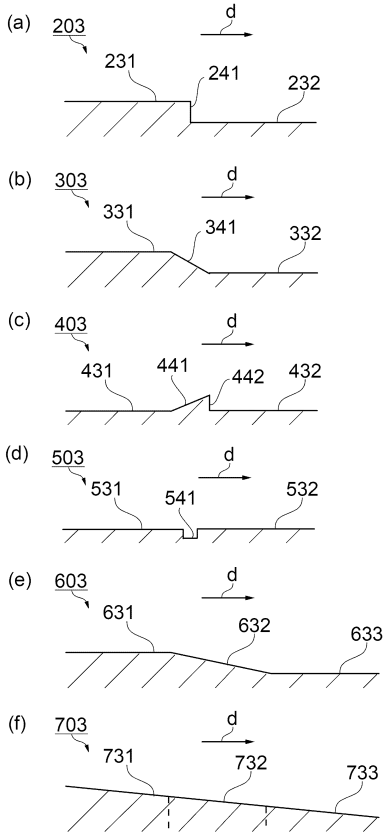


【図 8】

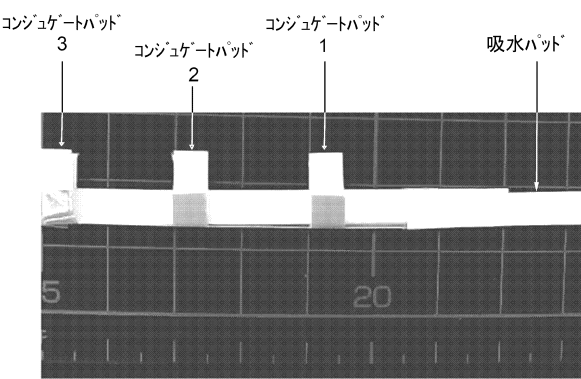


10

【図 9】



【図 10】



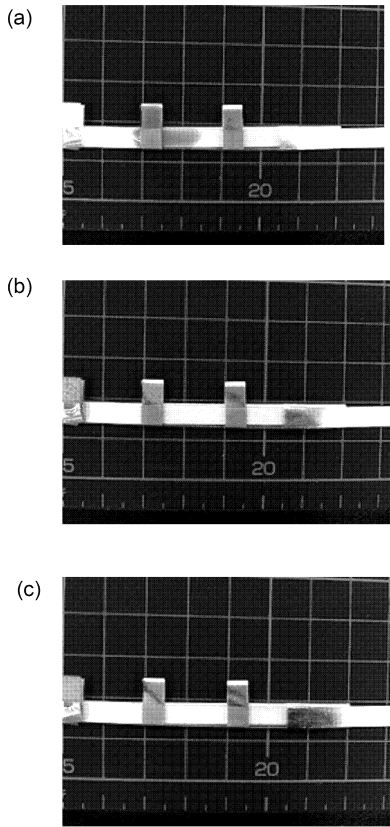
20

30

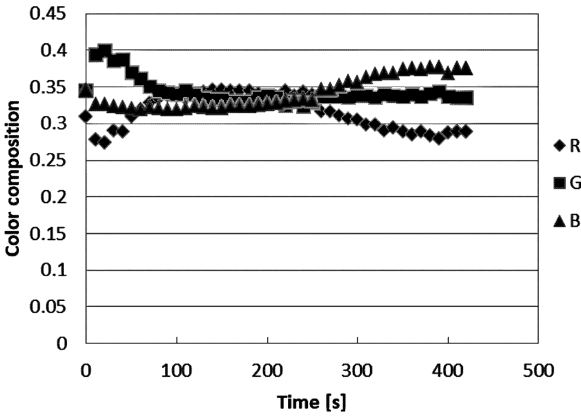
40

50

【図 1 1】



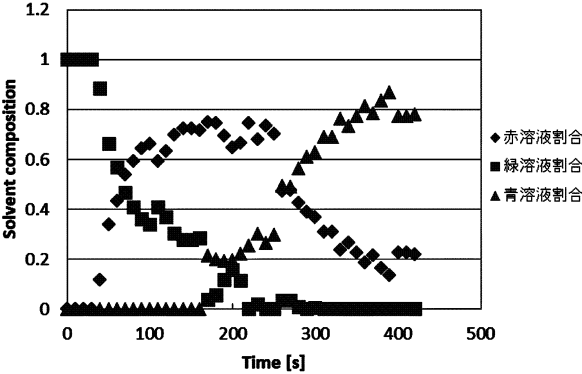
【図 1 2】



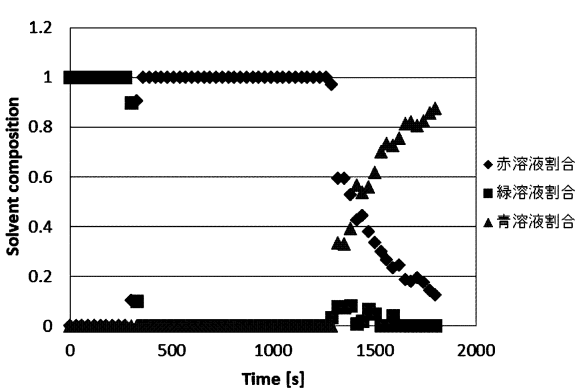
10

20

【図 1 3】



【図 1 4】

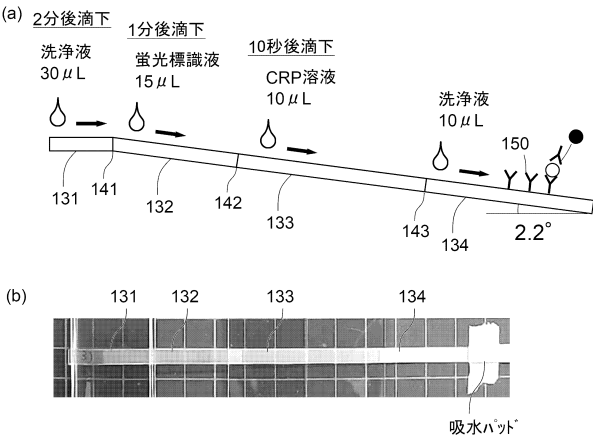


30

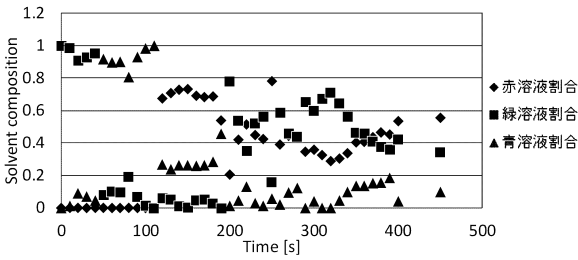
40

50

【図 15】

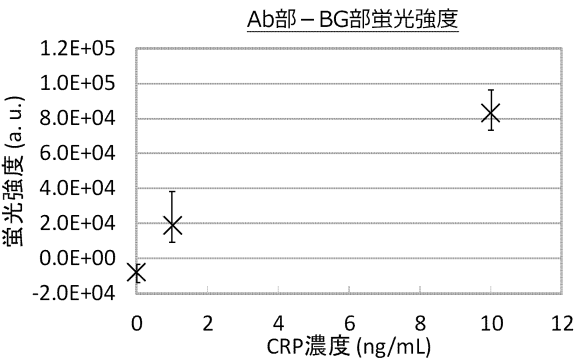


【図 16】

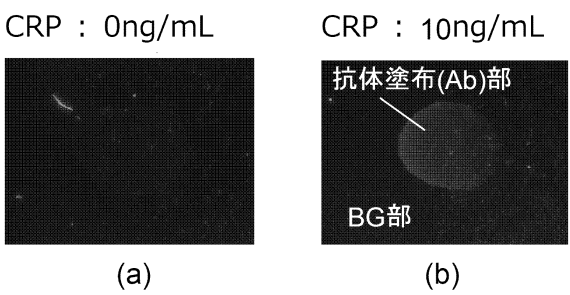


10

【図 17】



【図 18】



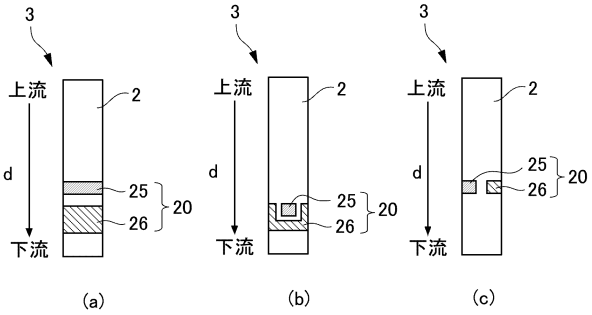
20

30

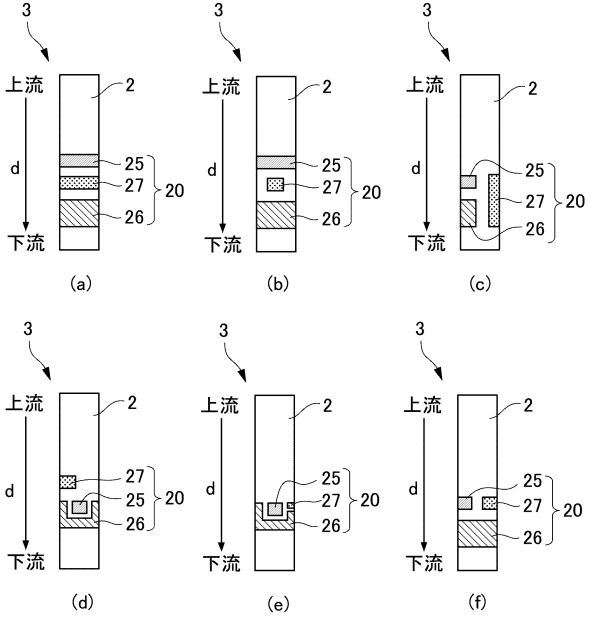
40

50

【図 19】

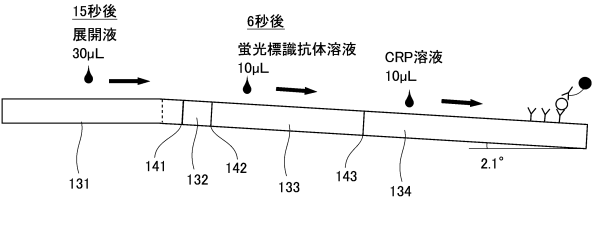


【図 20】

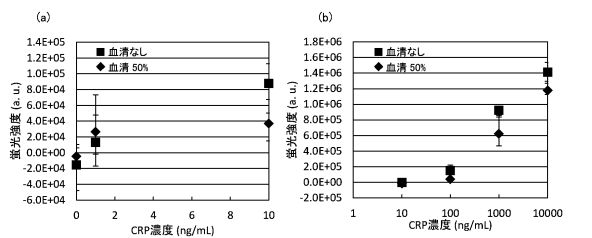


10

【図 21】



【図 22】



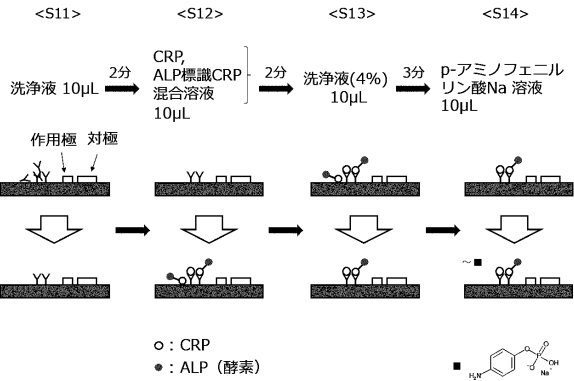
20

30

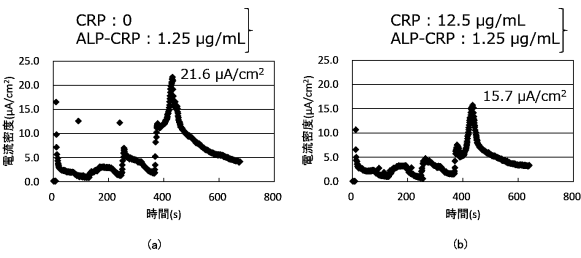
40

50

【図 2 3】



【図 2 4】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2009-204339 (JP, A)
特開2010-085333 (JP, A)
国際公開第2017/217406 (WO, A1)
国際公開第2019/117102 (WO, A1)
特表2005-532151 (JP, A)
国際公開第2009/031375 (WO, A1)
特開平09-269325 (JP, A)
特開2017-032416 (JP, A)
特開2008-096235 (JP, A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
G01N 27/416
G01N 33/543
G01N 37/00