

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4849552号  
(P4849552)

(45) 発行日 平成24年1月11日(2012.1.11)

(24) 登録日 平成23年10月28日(2011.10.28)

(51) Int.Cl.

F 1

GO 1 N 33/50 (2006.01)  
GO 1 N 21/78 (2006.01)GO 1 N 33/50  
GO 1 N 21/78B  
C

請求項の数 6 (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2007-6366 (P2007-6366)  
 (22) 出願日 平成19年1月15日 (2007.1.15)  
 (65) 公開番号 特開2008-170399 (P2008-170399A)  
 (43) 公開日 平成20年7月24日 (2008.7.24)  
 審査請求日 平成21年2月27日 (2009.2.27)

(73) 特許権者 301021533  
 独立行政法人産業技術総合研究所  
 東京都千代田区霞が関1-3-1  
 (72) 発明者 福田 伸子  
 茨城県つくば市東1-1-1 独立行政法  
 人産業技術総合研究所つくばセンター内  
 (72) 発明者 牛島 洋史  
 茨城県つくば市東1-1-1 独立行政法  
 人産業技術総合研究所つくばセンター内

審査官 草川 貴史

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蛍光誘導体物質の固体基板表面への固定化方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

検体中の特定物質と縮合反応して検出波長の蛍光を有する物質を形成する蛍光誘導体化物質を、固体基板表面と接続分子との化学結合を介して接続分子との化学結合(但し、疎水的相互作用による結合を除く)により、固定化することを特徴とする蛍光体誘導体化物質の固体基板表面への固定化方法。

## 【請求項 2】

前記接続分子は、固体基板表面と化学結合が可能であり且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができる、あるいは前記固体基板表面と化学結合が可能であり且つ他の接続分子と化学結合ができる、あるいは他の接続分子と化学結合が可能であり且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができる、あるいは、他の接続分子と化学結合が可能であり且つ別の接続分子と化学結合ができるることを特徴とする請求項1に記載の固定化方法。

10

## 【請求項 3】

前記特定物質は、カテコールアミン類、又はヒドロキシンドール類であって、酸化剤あるいは酸素の存在下で前記蛍光誘導体化物質と化学結合することを特徴とする請求項1又は2に記載の固定化方法。

## 【請求項 4】

前記蛍光誘導体化物質は、ベンジルアミン誘導体、フェニルグリシノニトリル誘導体、又はジフェニルエチレンジアミン誘導体のいずれかであり、酸化剤あるいは酸素の存在下で前記特定物質と化学結合して蛍光体を形成することを特徴とする請求項1~3のいずれ

20

かに記載の固定化方法。

【請求項 5】

前記固体基板は、ガラス又はプラスチック又は金属又は金属酸化物又は珪素を主成分として形成されていることを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の固定化方法。

【請求項 6】

前記特定物質が固体基板表面上に固定化された前記蛍光誘導体化物質と化学結合する前は検出波長において蛍光性を示さず、化学結合後に蛍光性を示すことを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の固定化方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、蛍光誘導体物質の固定基板表面への固定化方法に関し、特に、特定物質の検出用バイオチップとして有用な固体基板を得るための、蛍光誘導体物質の固定化方法に関する。

【背景技術】

【0002】

生体内で分泌される物質のうち、カテコールアミン類やヒドロキシンドールアミン類などの、その構造中に芳香環又は環状炭化水素と1級又は2級アミンを有する化学物質（生理活性アミン）の検出は、検体を蛍光誘導体化物質などで蛍光誘導化した後に液体クロマトグラフィーや電気泳動などで分離し、蛍光によって物質を特定することにより行われている（非特許文献 1 ~ 3、特許文献 1 等参照）。

20

しかしながら、従来のこれらの方法は、蛍光誘導体化物質と検体中の特定物質との反応を行った後、液体クロマトグラフィーや電気泳動を用いるため、検出に時間が掛かるばかりでなく、一度に測定できる数に限りがあるという課題がある。

【0003】

また、蛋白質等の特定物質を検出する方法としては、その検出すべき特定物質と特異的に結合する物質、例えば抗原、抗体等を、固体基板表面に直接又は間接に固定化することがおこなわれている。（特許文献 2 ~ 4 参照）。

しかしながら、これらの方法では、特定物質を検出するには、別途、検体を蛍光物質で標識する等の工程を必要とするものであり、センサーを用いて直ちに検出することはできないという問題がある。

30

【0004】

一方、特許文献 5 には、特定の蛍光物質を、多孔性フィルタ内に分散、固定化させて、蛍光発生層とすることが記載されている。しかし、該技術は、光励起により発する蛍光が、存在する酸素の濃度に応じてその強度を減ずる「蛍光消失現象」を利用した酸素濃度測定用素子に関するものである。

【非特許文献 1】 "Fluorescent products of the reaction for the determination of catecholamines with 1,2-diphenylethylenediamine", H. Nohta et al., Anal. Chem. 1992, 267, 137-139.

【非特許文献 2】 "Aromatic glycinonitriles and methylamines as pre-column fluorescence derivatization reagents for catecholamines", H. Nohta et al., Anal. Chim. Acta 1997, 344, 233-240.

40

【非特許文献 3】 "Simultaneous determination of urinary catecholamines and 5-hydroxyindoleamines by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection", M. Yamaguchi et al., Analyst 1998, 123, 307-311.

【特許文献 1】特開平 5 - 223813 号公報

【特許文献 2】特開 2005 - 241389 号公報

【特許文献 3】特開 2001 - 247580 号公報

【特許文献 4】国際公開第 2002 / 012891 号パンフレット

【特許文献 5】特開 2001 - 194304 号公報公報

50

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

本発明は、以上のような事情に鑑みてなされたものであって、その上に検体を流すだけで、蛍光物質による標識処理を必要とせずに高速度で、高精度に特定物質を検出しうる固体基板を提供することを目的とするものである。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

発明者らは、上記目的を達成すべく、鋭意研究を重ねた結果、検出波長では蛍光を発しないが、検体中の特定物質との縮合反応により検出波長の蛍光を有する物質を形成する蛍光誘導体化物質を、固体基板表面に化学的に固定化することにより、特定物質を検出対象とするバイオケミカルチップの作成が容易となり、検出システムの簡素化を行うことができることを見いだした。すなわち、蛍光誘導体化物質が化学的に固定化された固体基板表面には、検出すべき検体と該蛍光誘導体化物質との縮合反応により、蛍光を発する物質が形成され、その蛍光を検出することで、検体中の特定物質を高速かつ高精度で検出することが可能となるという知見を得た。

10

## 【0007】

本発明は、これらの知見に基づいて完成に至ったものであり、以下のとおりのものである。

(1) 検体中の特定物質と縮合反応して検出波長の蛍光を有する物質を形成する蛍光誘導体化物質を、固体基板表面と接続分子との化学結合を介して接続分子との化学結合(但し、疎水的相互作用による結合を除く)により、固定化することを特徴とする蛍光体誘導体化物質の固体基板表面への固定化方法。

20

(2) 前記接続分子は、固体基板表面と化学結合が可能であり且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができる、あるいは前記固体基板表面と化学結合が可能であり且つ他の接続分子と化学結合ができる、あるいは他の接続分子と化学結合が可能であり且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができる、あるいは、他の接続分子と化学結合が可能であり且つ別の接続分子と化学結合ができる特徴とする上記(1)の固定化方法。

(3) 前記特定物質は、カテコールアミン類、又はヒドロキシンドール類であって、酸化剤あるいは酸素の存在下で前記蛍光誘導体化物質と化学結合することを特徴とする上記(1)又は(2)の固定化方法。

30

(4) 前記蛍光誘導体化物質は、ベンジルアミン誘導体、フェニルグリシノニトリル誘導体、又はジフェニルエチレンジアミン誘導体のいずれかであり、酸化剤あるいは酸素の存在下で前記特定物質と化学結合して蛍光体を形成することを特徴とする上記(1)～(3)のいずれかの固定化方法。

(5) 前記固体基板は、ガラス又はプラスチック又は金属又は金属酸化物又は珪素を主成分として形成されていることを特徴とする上記(1)～(4)のいずれかに記載の固定化方法。

(6) 前記特定物質が固体基板表面上に固定化された前記蛍光誘導体化物質と化学結合する前は検出波長において蛍光性を示さず、化学結合後に蛍光性を示すことを特徴とする上記(1)～(5)のいずれかに記載の固定化方法。

40

## 【発明の効果】

## 【0008】

従来の蛍光検出法では、検出前処理と液体クロマトグラフィーや電気泳動などの検出時間を合わせて、20～60分を要するが、本発明の方法に得られた固体基板を用いることにより、その表面に検体を流すだけで5分以内に蛍光検出が可能となる。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0009】

本発明における固体基板は、ケミカルバイオセンサに求められる機械的強度を確保するための支持体としての役割を果たす。

50

基板の形状は、とくに限定されるものではないが、カード状又はディスク状に形成されているのが好ましい。

固体基板を形成するための材料は、蛍光検出型ケミカルバイオセンサの支持体として機能することができれば、とくに限定されるものではなく、例えば、ガラス、石英、セラミックス、プラスチックス、金属、金属酸化物又は珪素を主成分とするものなどによって形成することができる。プラスチックスとしては、ポリカーボネート樹脂、オレフィン樹脂、アクリル樹脂、エポキシ樹脂、ポリスチレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ポリプロピレン樹脂、シリコン樹脂、フッ素系樹脂、A B S樹脂、ウレタン樹脂、フェノール樹脂、ポリメチルメタクリレート樹脂、ポリイソブチルメタクリレート樹脂、ポリイミド樹脂などが挙げられる。

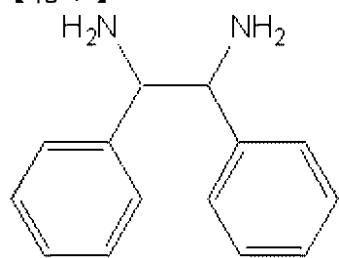
10

【0010】

本発明において用いられる蛍光誘導体化物質とは、それ自体は検出波長で蛍光を発しないが、検体中の特定物質と縮合反応して、検出波長で蛍光を有する物質を形成するものである。このような蛍光誘導体化物質は、前述の従来の液体クロマトグラフィーや電気泳動を用いたカテコールアミン等の検出において既によく知られているものが用いられるが、特に、ベンジルアミン誘導体、フェニルグリシノニトリル誘導体、又はジフェニルエチレンジアミン誘導体のような、酸化剤あるいは酸素の存在下で特定物質と化学結合して蛍光体を形成するものが好ましく用いられる。以下にその例を示す。

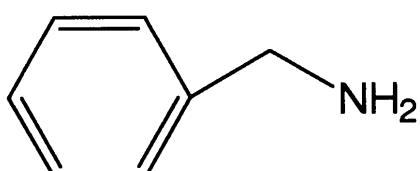
【0011】

【化1】



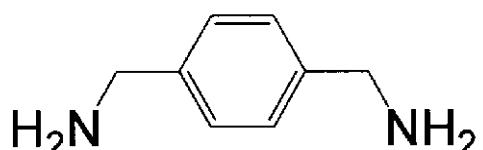
20

【化2】



30

【化3】

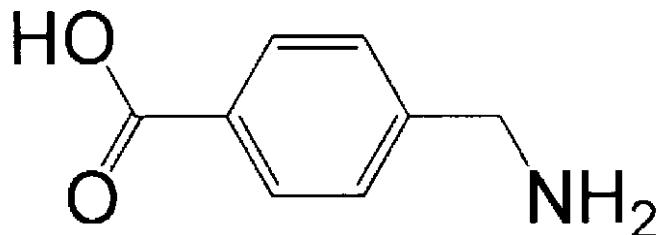


40

p-キシリレンジアミン

XDA

【化4】



## 4-アミノメチル安息香酸

10

【0012】

本発明においては、前記蛍光誘導体化物質を、直接的な固体基板表面への化学結合、あるいは、固体基板表面と接続分子との化学結合を介して、接続分子との化学結合により固定化される。

本発明において用いられる接続分子は、(I) 固体基板表面と化学結合が可能であり且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができるもの、あるいは(II) 前記固体基板表面と化学結合が可能であり且つ他の接続分子と化学結合ができるもの、あるいは(III) 他の接続分子と化学結合が可能であり且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができるもの、あるいは、(IV) 他の接続分子と化学結合が可能であり且つ別の接続分子と化学結合ができるもの、から選ばれる。

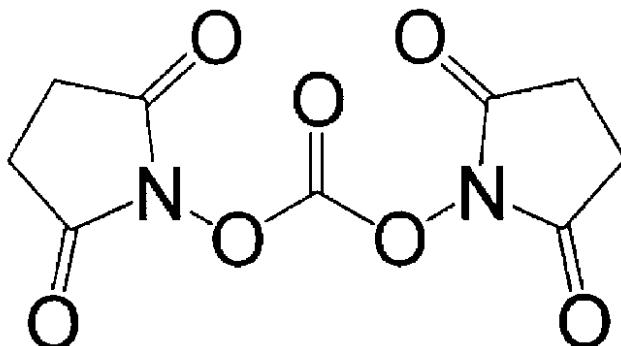
以下に、これらの例を記載する。

【0013】

(I) 固体基板表面と化学結合が可能であり、且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができるものの例

「ジ( N - スクシンイミジル ) カーボネート ( DSC ) 」

【化5】



ガラスなどの表面に化学結合し、且つ前記蛍光誘導体化物質であるベンジルアミン誘導体の上記(化3)で示されるp-キシリレンジアミン(p-XDA)と化学結合する。

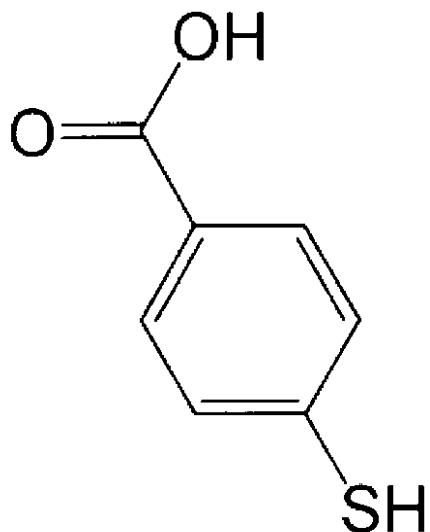
「4-メルカプト安息香酸」

20

30

40

【化6】



10

メルカプト基が化学反応によって金・銀などの表面に化学結合し、且つ他方末端のカルボキシル基が前記蛍光誘導体化物質であるベンジルアミン誘導体のpXDAのアミノ基と化学結合する。

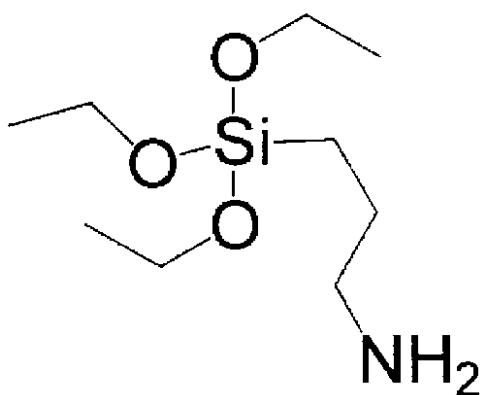
20

【0014】

(11) 前記固体基板表面と化学結合が可能であり且つ他の接続分子と化学結合ができるものの例

「3-アミノプロピルトリエトキシシラン(APS)」

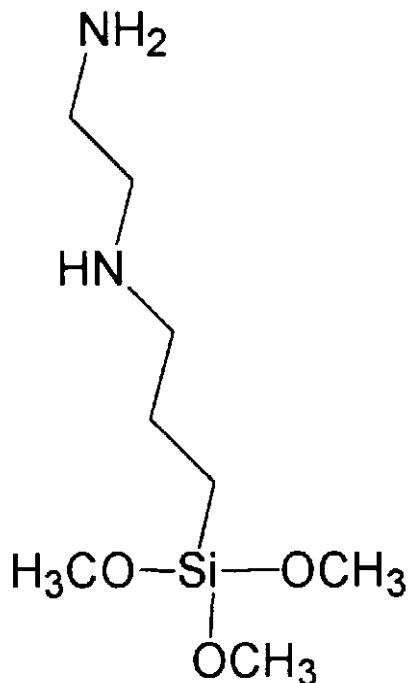
【化7】



30

「3-(2-aminoethylamino)propyltrimethoxysilane」

【化 8】



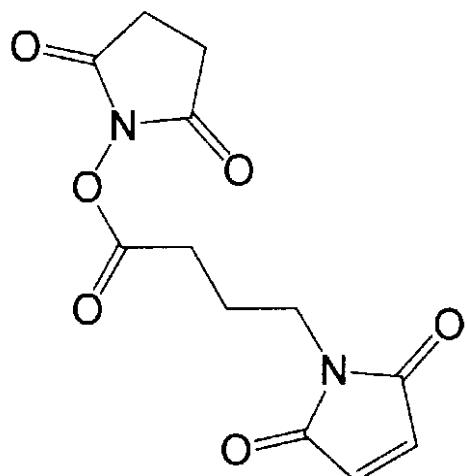
10

20

これらの(化7)及び(化8)は、一方の末端(アルコキシリル基)がガラス基板表面へ化学結合し、他方の末端(アミノ基)がカルボキシリル基、スクシンイミジル基あるいはイソチオシアネート基を有する他の接続分子と化学結合する。

「N - スクシンイミジル - 4 - マレイミドブチラート」

【化 9】

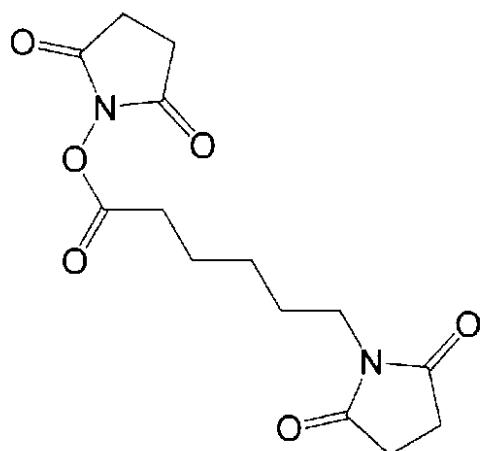


30

## 「N - スクシンイミジル - 6 - マレイミドヘキサノエート」

40

## 【化 10】



10

これらの(化9)及び(化10)は、一方の末端(スクシンイミジル基)がガラス基板表面へ化学結合し、他方の末端(マレイミド基)がメルカプト基を有する他の接続分子と化学結合する。

## 【0015】

(III)他の接続分子と化学結合が可能であり且つ前記蛍光誘導体化物質と化学結合ができるものの例

20

「1,4-フェニレンディイソチオシアネート(PDIC)」

## 【化11】



一方の末端(イソチオシアネート基)が他の接続分子のアミノ基と化学結合し、他方の末端(イソチオシアネート基)が蛍光誘導体化物質のベンジルアミン誘導体であるXDAのアミノ基と化学結合する。

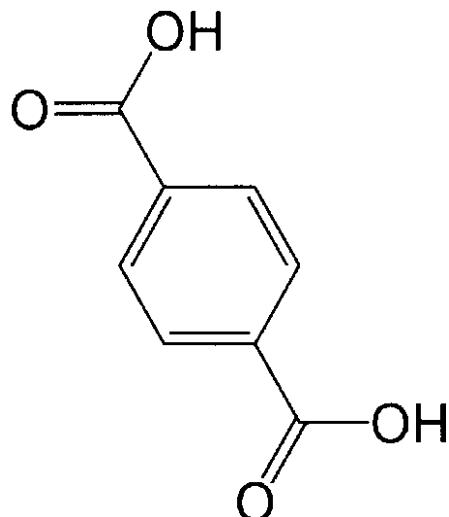
30

「上記(化6)で示される4-メルカプト安息香酸」

一方の末端(メルカプト基)が他の接続分子のマレイミド基と化学結合し、他方の末端(カルボキシル基)が蛍光誘導体化物質のベンジルアミン誘導体であるXDAのアミノ基と化学結合する。

「テレフタル酸」

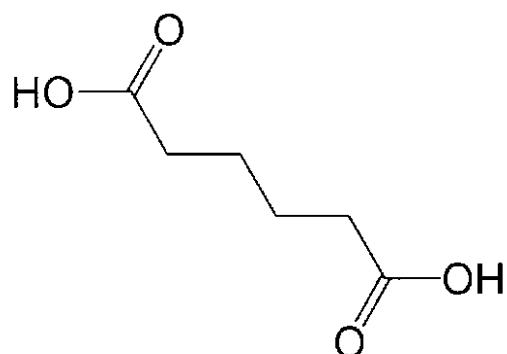
【化12】



10

「アジピン酸」

【化13】



20

これらの（化12）及び（化13）は、一方の末端（カルボキシリル基）が他の接続分子のアミノ基と化学結合し、他方の末端（カルボキシリル基）が蛍光誘導体化物質のベンジルアミン誘導体であるXDAのアミノ基と化学結合する。

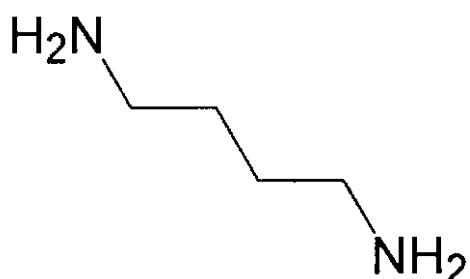
30

【0016】

（IV）他の接続分子と化学結合が可能であり且つ別の接続分子と化学結合ができるものの例

「1,4-ジアミノブタン」

【化14】



40

一方の末端（アミノ基）が他の接続分子のカルボキシリル基、イソチオシアネート基あるいはスクシンイミジル基と化学結合し、他方の末端（アミノ基）が別の接続分子のカルボキシリル基、イソチオシアネート基あるいはスクシンイミジル基と化学結合する。

「上記（化12）で示されるテレフタル酸」又は「上記（化13）で示されるアジピン

50

酸」

「上記(化11)で示されるP DIC」

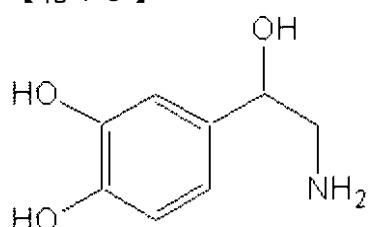
【0017】

本発明の蛍光誘導体化物質を固定化した固体基板を用いて検出しうる特定物質としては、上記蛍光誘導化物質との縮合反応により、検出波長で蛍光を有する物質を形成するものであればいずれのものでも用いることができ、具体的には、体内で分泌される物質であり、その構造中に芳香環又は環状炭化水素と1級又は2級アミンを有するものである。前述のとおり、こうした特徴を有する特定物質は既に知られているところであるが、特に、カテコールアミン類、又はヒドロキシンドール類のように、酸化剤あるいは酸素の存在下で前記蛍光誘導体化物質と化学結合するものが好ましく用いられる。以下にその例を示す。

10

【0018】

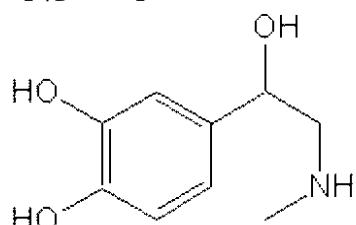
【化15】



Norepinephrine

20

【化16】



Epinephrine

30

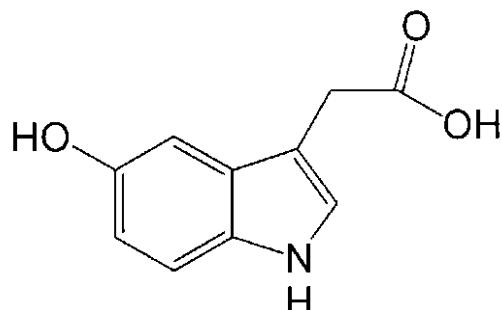
【化17】



Serotonin

【化18】

40



5 - ヒドロキシインドール - 3 - 酢酸

50

## 【0019】

次に、本発明の方法により得られた固体基板を用いた検出方法について説明する。

本発明の方法により得られた、蛍光誘導体化物質を固定化した固体基板上に、検体液を流し、該検体中の特定物質と前記蛍光誘導体化物質との縮合反応により検出波長の蛍光を有する物質を形成させ、その蛍光を検出することにより、検体中の特定物質の有無を検出することができる。

前記検体液は、検出すべき特定物質を充分に溶解しうる溶媒を用いて溶液とともに、緩衝液を用いてpHが8前後となるようにして調製される。こうして調製された検体液を前記固体基板上に流した後、しばらく静置して該検体中の特定物質と前記蛍光誘導体化物質との縮合反応を充分に行わせ、その後蒸留水でセンサー表面をリノスし、乾燥させる。

## 【0020】

本発明の方法により蛍光誘導体化物質が固定化された固体基板表面に励起光を照射して、該検体中の特定物質と前記蛍光誘導体化物質との縮合反応により形成された物質から発生される蛍光を検出する。

例えば、蛍光誘導体化物質としてベンジルアミン誘導体としてp-キシリレンジアミン(p-XDA)を用いてエピネフェリンを検出する場合には、励起光として375nmの光を照射し、470nm付近にピークを有する蛍光の有無を検出する。

## 【0021】

上記検出方法において、蛍光検出を行うために用いられる励起光は、前記固体基板上の前記蛍光誘導体化物質が固定化された面に照射されても、あるいはその側面に照射されてもよく、また、前記固体基板が励起光を透過する材質である場合には、その反対側の面に照射されても良い。

また、前記蛍光の検出は、透過光、反射光、迷光などの影響がもっとも少ないとから、該入射光に対して直角方向から行われることが好ましい。

さらに、本発明の方法により蛍光誘導体化物質がその表面に固定化された固体基板を用いた場合、検体中の前記特定物質と前記蛍光誘導体化物質との縮合反応により形成される物質の蛍光スペクトルから、検体中に存在する特定物質の種類を特定することができる。

## 【実施例】

## 【0022】

次に本発明を実施例に基づき更に詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

## (実施例1)

以下のようにして、合成石英基板表面に、蛍光誘導体化物質を固定化した。図1ないし図3は、その手順を模式的に示すものである。

水、エタノール等で洗浄した合成石英基板を真空乾燥後、オゾン照射処理をすることによって、表面を親水化し、次に、接続分子である3-アミノプロピルトリエトキシシラン(APS)(前記(化7))10mMを含むエタノール溶液中に、上記合成石英基板を50で15時間浸漬した。その後基板を取り出して、エタノールで基板表面をリノスし、乾燥後、100で1時間放置することによってAPSを合成石英基板表面に化学結合させた。(図1)。

## 【0023】

次に、該基板を、接続分子である1,4-フェニレンディソチオシアネート(PDIC)(前記(化11))50mMを含むトルエン溶液中に、50で2時間浸漬し、トルエンで表面をリノスし乾燥した(図2)。

さらに蛍光誘導体化物質ベンジルアミン誘導体であるp-キシリレンジアミン(XDA)(前記(化3))50mMを含む、50mMほう酸バッファー溶液(pH8.5)中に室温で2時間浸漬し、蛍光誘導体化物質ベンジルアミンの部位が末端に出るように化学結合させた(図3)。

## 【0024】

10

20

30

40

50

化学的に基板表面へ固定化された蛍光誘導体化基質ベンジルアミンがカテコールアミン類と結合し蛍光体を形成するかどうかを調べるため、カテコールアミン類の一一種であるエピネフェリン（前記（化15））500μMを含む、50mMほう酸バッファー溶液と50mMフェリシアン化鉄（III）カリウム溶液の混合溶液中に、表面にベンジルアミン部位が化学的に固定化された合成石英基板を50で5分間浸漬した。

#### 【0025】

これを用いて、375nmを励起光とした蛍光スペクトル測定を行ったところ、470nm付近に、センサー表面のベンジルアミンとエピネフェリンとの反応により生成された蛍光に起因する蛍光ピークが確認された。図4は、蛍光スペクトルを示す図である。図において、点線は、エピネフェリン反応前のスペクトル、実線はエピネフェリン反応後のスペクトルを、それぞれ表している。

この結果から、エピネフェリンは図5に模式的に示すように固体基板表面上に化学的に固定化されたベンジルアミン部位によって蛍光誘導体化されたものと推測できる。

#### 【0026】

##### （実施例2）

以下のようにして、合成石英基板表面に、蛍光誘導体化物質を固定化した。図6及び図7は、その手順を模式的に示すものである。

水、エタノール等で洗浄した合成石英基板を真空乾燥後、オゾン照射処理をすることによって、表面を親水化し、次に、接続分子であるジ（N-スクシンイミジル）カーボネート（DSC）（前記（化5）参照）5mMを含むアセトン溶液15mLを調製し、ここに1.25mLのトリエチルアミンを含むピリジン溶液15mLを混合した。この混合溶液中に親水化した合成石英基板を室温で15時間浸漬することによってDSCを合成石英基板表面に化学結合させた（図6）。

次に、エタノールで基板表面をリノンスし乾燥後、蛍光誘導体化物質ベンジルアミン誘導体であるXDA1mMを含む、1/15Mリン酸緩衝液（pH7.4）を30mL調製し、この中に室温で2時間浸漬し、ベンジルアミン部位が末端に出るように化学結合させた（図7）。

#### 【0027】

##### （実施例3）

以下のようにして、合成石英基板表面に、蛍光誘導体化物質を固定化した。図1及び図8は、その手順を模式的に示すものである。

水、エタノール等で洗浄した合成石英基板を真空乾燥後、オゾン照射処理をすることによって、表面を親水化し、次に、接続分子である3-アミノプロピルトリエトキシシラン（APS）10mMを含むエタノール溶液中に、合成石英基板を50で15時間浸漬した。取り出して、エタノールで基板表面をリノンスし乾燥後、100 1時間放置することによってAPSを合成石英基板表面に化学結合させた（図1）。

次に、4-アミノメチル安息香酸（前記（化4））500μMを含むリン酸緩衝液（pH7.4）10mLと500μMの1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩（EDC）を含むリン酸緩衝液（pH7.4）10mLを混合した溶液を調製し、APSが表面に結合した基板を室温で1時間浸漬することによって末端にベンジルアミン部位を化学的に固定化させた（図8）。

#### 【産業上の利用可能性】

#### 【0028】

本発明の方法により、固体基板表面に蛍光誘導体化物質の化学的な固定化を行うことにより、特定物質、特に、ストレス等負荷により分泌される神経伝達物質のカテコールアミン類を主な対象とした蛍光検出用バイオケミカルチップとして用いることができるため、予防医療、環境等の分野においての活用が期待でき、また、ユビキタス医療（誰でもいつでもどこでも享受できる医療）に用いられるデバイスへの応用も期待できる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0029】

10

20

30

40

50

【図1】親水処理された合成石英基板表面に、3-アミノプロピルトリエトキシシラン(APS)を結合させた様子を模式的に示す図。

【図2】表面がアミノ基で活性になった基板に、チオ尿素結合を介して1,4-フェニレン-ジイソチオシアネート(PDIC)を結合させた様子を模式的に示す図。

【図3】チオ尿素結合を介してp-キシリレンジアミン(p-XDA)を結合させることにより、末端にベンジルアミンが存在する合成石英基板表面が作製された様子を模式的に示す図。

【図4】ベンジルアミンとエピネフェリンとの反応により生成された蛍光体の蛍光スペクトルを示す図。

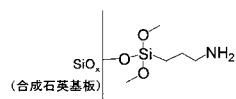
【図5】合成石英基板上に、ベンジルアミンとエピネフェリンとの反応により生成された蛍光体を模式的に示す図。

【図6】親水処理された合成石英基板表面に、ジ( N -スクシンイミジル)カーボネート(DSC)を結合させた様子を模式的に示す図。

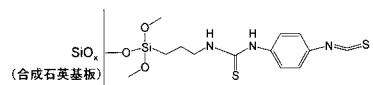
【図7】p-キシリレンジアミン(p-XDA)を結合させることにより、末端にベンジルアミンが存在する合成石英基板表面が作製された様子を模式的に示す図。

【図8】末端にベンジルアミンが存在する合成石英基板表面が作製された様子を模式的に示す図

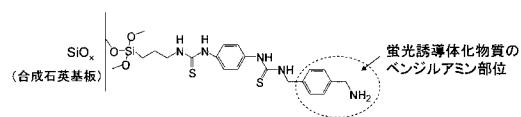
( 1 )



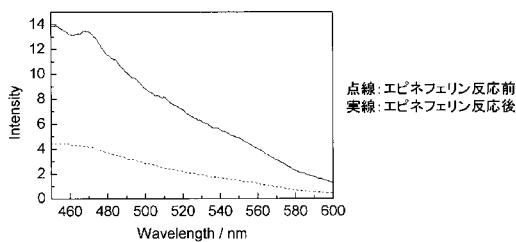
【 図 2 】



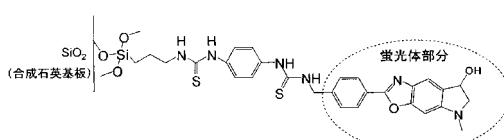
〔 四 3 〕



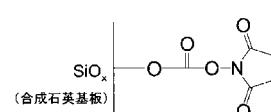
【 図 4 】



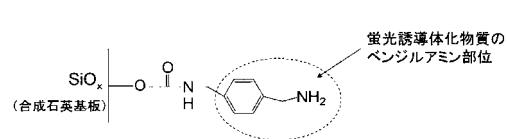
〔 四 5 〕



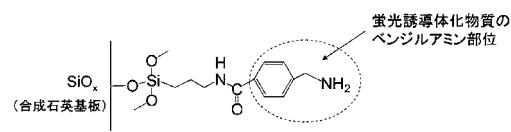
【 図 6 】



【図 7】



【図8】



---

フロントページの続き

(56)参考文献 特開平10-002862(JP, A)  
特開平06-258311(JP, A)  
特開平01-265158(JP, A)  
特開平05-223813(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)