

(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
2025年6月5日(05.06.2025)



(10) 国際公開番号

WO 2025/115397 A1

(51) 国際特許分類:

G01N 33/543 (2006.01) G01N 27/38 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01) G01N 27/327 (2006.01)

[JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関
1丁目3番1号 (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/035491

(22) 国際出願日: 2024年10月3日(03.10.2024)

(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:

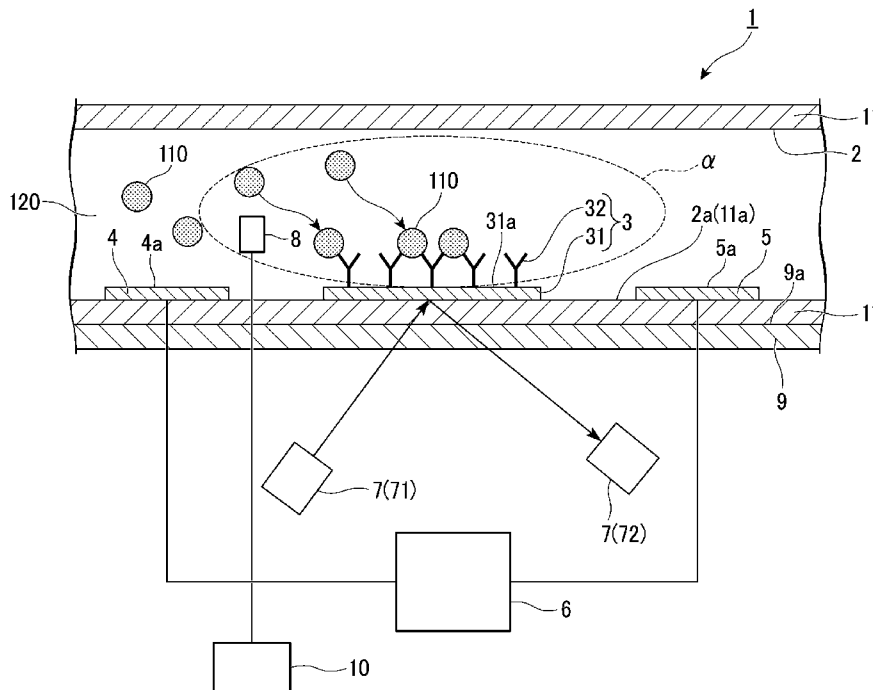
特願 2023-201854 2023年11月29日(29.11.2023) JP

(71) 出願人: 国立研究開発法人産業技術総合研究所(NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY)

(72) 発明者: 岩崎 渉(IWASAKI Wataru); 〒3058560 茨城県つくば市梅園1-1-1 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 (JP). 芦葉 裕樹(ASHIBA Hiroki); 〒3058560 茨城県つくば市梅園1-1-1 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 (JP). 平間 宏忠(HIRAMA Hirotada); 〒3058560 茨城県つくば市梅園1-1-1 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 (JP). 千賀 由佳子(SENKA Yukako); 〒3058560 茨城県つくば市梅園1-1-1 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 (JP). 渡邊 真宏(WATANABE Masahiro); 〒3058560

(54) Title: BIOSENSOR AND METHOD FOR REGENERATING RECOGNITION MOLECULE

(54) 発明の名称: バイオセンサ、認識分子の再生方法



(57) Abstract: This biosensor (1) comprises: a flow path (2) through which a sample solution (120) containing biomarkers (110) flows; a sensor unit (3) that is disposed in the flow path (2) and has recognition molecules (32); a first electrode (4) and a second electrode (5) that are disposed so as to be separated from each other in the flow path (2); a current application means (6) for applying a current to the first electrode (4) and the second electrode (5); and a detection means (7) for detecting the biomarkers (110) captured by the recognition molecules (32).

[続葉有]

茨城県つくば市梅園 1 - 1 - 1 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 (JP).

(74) 代理人: 西澤 和純, 外(NISHIZAWA Kazuyoshi et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, 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:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: バイオマーカー (1 1 0) を含む試料溶液 (1 2 0) を流す流路 (2) と、流路 (2) 内に配置され、認識分子 (3 2) を有するセンサ部 (3) と、流路 (2) 内にて、互いに離間して配置された第 1 電極 (4) および第 2 電極 (5) と、第 1 電極 (4) と第 2 電極 (5) に電流を印加する電流印加手段 (6) と、認識分子 (3 2) が捕捉したバイオマーカー (1 1 0) を検出する検出手段 (7) と、を備える、バイオセンサ (1)。

明 細 書

発明の名称： バイオセンサ、認識分子の再生方法

技術分野

[0001] 本発明は、バイオセンサ、およびバイオセンサにおける認識分子の再生方法に関する。

本願は、2023年11月29日に、日本に出願された特願2023-201854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] 高度予防医療を実現するためのウェアラブル端末として、バイオセンサを内蔵したスマートウォッチ等の開発が進められている。バイオセンサとは、特定のバイオマーカーと特異的に結合する認識分子（抗体、酵素、アプタマー等）を用いたセンサのことである。バイオセンサは、血液中等の特定のタンパク質を、バイオマーカーと認識分子の分子間相互作用を用いて検出するものである。バイオセンサでは、基板に第1の認識分子を予め固定化する。その後、バイオマーカーを含む液体等の検体を流して、第1の認識分子でバイオマーカーを捕捉する。さらに、標識となる物質を修飾した第2の認識分子をバイオマーカーに結合させて、第1の認識分子と第2の認識分子でバイオマーカーを挟み込む。この状態で、第2の認識分子（標識）の吸光度、蛍光強度、質量変化、標識物質（酵素）と基質の反応生成物の吸光度や酸化還元電流等を測定することにより、検体中の特定のバイオマーカーを定量する。

[0003] バイオセンサを内蔵したウェアラブル端末で検出するバイオマーカーとしては、例えば、生活習慣病マーカーが挙げられる。癌の存在を示唆する腫瘍マーカーとしては、例えば、CEA、AFP（ α -フェトプロテイン）等が挙げられる。心疾患を示唆するバイオマーカーとしては、例えば、酸化LDL、C反応性プロテイン（CRP）等が挙げられる。認知症を示唆するバイオマーカーとしては、例えば、アミロイド β 等が挙げられる。

[0004] 現在、超高齢社会となった日本では、対処療法的医療体制が限界となっている。そこで、健康長寿社会の構築、生活習慣病の予防、対処療法的医療からの脱却が望まれている。このような課題を解決する手段としては、日常的に使用者（装着者）の健康管理を行うことができる、バイオセンサを内蔵したウェアラブル端末が有効であると考えられる。

[0005] 代表的なバイオセンサとしては、例えば、E L I S A（抗原抗体反応を利用して微量生体物質を定量する方法）を用いたセンサ、妊娠検査薬等のイムノクロマトグラフィーを用いたセンサ、表面プラズモン共鳴法（S P R）を用いたセンサ（例えば、非特許文献1参照）、酵素、アプタマーを用いたセンサ等が挙げられる。

先行技術文献

非特許文献

[0006] 非特許文献1: M a z h e r - I q b a l M o h a m m e d, M a r c P . Y D e s m u l l i e z, “L a b - o n - a - c h i p b a s e d i m m u n o s e n s o r p r i n c i p l e s a n d t e c h n o l o g i e s f o r t h e d e t e c t i o n o f c a r d i a c b i o m a r k e r s : a r e v i e w”, L a b o n a c h i p 2 0 1 1, 1 1, 5 6 9 - 5 9 5.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 従来のバイオセンサは、基本的に使い捨てであり、連続して使用することができない。なぜならば、バイオマーカーを検出した後に、認識分子からバイオマーカーを解離させて、バイオセンサを再生するためには、送液ポンプやバルブを用いて、バイオセンサ内に、再生液（酸やアルカリ等）を送液する必要があった。このようなバイオマーカーを解離させる方法は、バイオセンサの複雑化や大型化を助長すると共に、試薬の消耗（交換の必要性）を生じていた。すなわち、従来の再生方法は、バイオセンサの小型化を阻害して

いた。

[0008] 本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであって、繰り返し、かつ連続的に使用することができ、さらに小型化できるバイオセンサ、およびバイオセンサにおける認識分子の再生方法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

[0009] 本発明は、以下の態様を有する。

[1] バイオマーカーを含む試料溶液を流す流路と、
前記流路内に配置され、認識分子を有するセンサ部と、
前記流路内にて、互いに離間して配置された第1電極および第2電極と、
前記第1電極と前記第2電極に電流を印加する電流印加手段と、
前記認識分子が捕捉したバイオマーカーを検出する検出手段と、を備える、
バイオセンサ。

[2] 前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液のpHを検出するpH検出部を備える、[1]に記載のバイオセンサ。

[3] [1] または [2] に記載のバイオセンサにおける認識分子の再生方法であって、

前記電流印加手段により、前記第1電極と前記第2電極に電流を印加し、
前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液のpHを制御する、認識分子の再生方法。

[4] 前記認識分子として抗体を用いる、[3]に記載の認識分子の再生方法。

[5] 前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液のpHを1以上3.5以下に制御する、[3]または[4]に記載の認識分子の再生方法。

[6] 前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液のpHを10以上に制御する、[3]または[4]に記載の認識分子の再生方法。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、繰り返し、かつ連続的に使用することができ、さらに小型化できるバイオセンサ、およびバイオセンサにおける認識分子の再生方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]本発明の一実施形態に係るバイオセンサの概略構成を示し、バイオセンサの高さ方向に沿う断面を示す模式図である。

[図2]実施例において、印加電流と試料溶液のpHとの関係を示す図である。

発明を実施するための形態

[0012] 本発明のバイオセンサ、およびバイオセンサにおける認識分子の再生方法の実施の形態について説明する。

なお、本実施の形態は、発明の趣旨をより良く理解させるために具体的に説明するものであり、特に指定のない限り、本発明を限定するものではない。

[0013] [バイオセンサ]

図1は、本発明の一実施形態に係るバイオセンサの概略構成を示し、バイオセンサの高さ方向に沿う断面を示す模式図である。

図1に示すように、本実施形態のバイオセンサ1は、流路2と、センサ部3と、第1電極4と、第2電極5と、電流印加手段6と、検出手段7と、を備える。本実施形態のバイオセンサ1は、pH検出部8を備えていてもよい。センサ部3は、基材31と、基材31の表面31aに固定された認識分子32と、を有する。なお、センサ部3は、流路2の内面2aに固定された認識分子32のみから構成されていてもよい。

また、本実施形態のバイオセンサ1は、流路2を支持する基板9を備えていてもよい。

[0014] 流路2は、バイオマーカー110を含む試料溶液120を流す流路である。

[0015] 第1電極4および第2電極5は、流路2内にて、互いに離間して配置されている。第1電極4および第2電極5は、例えば、図1に示すように、流路

2内において、試料溶液120の流れる方向（流路2の長さ方向）に沿って、センサ部3を挟むように配置されている。また、第1電極4および第2電極5は、流路2内において、試料溶液120の流れる方向と垂直方向（流路2の内周方向）に沿って、センサ部3を挟むように配置されていてもよい。また、センサ部3の基材31が、第1電極4であってもよい。

第1電極4と第2電極5が、センサ部3を挟むように配置されている場合と、センサ部3の基材31が第1電極4である場合も、バイオセンサ1による、認識分子32の再生能力にはほとんど差異がない。

[0016] 電流印加手段6は、第1電極4と第2電極5に接続され、これら2つの電極に第1電極4を陽極として電流を印加して、第1電極4の表面4aで試料溶液120内の塩素イオンや水酸化物イオンを酸化し、塩素や酸素を発生させ、第1電極4の表面4a近傍に高濃度の水素イオン（ H^+ ）領域を生成するか、または第1電極4を陰極として電流を印加して、第1電極4の表面4aで試料溶液120内の水素イオンを還元し、水素を発生させ、第1電極4の表面4a近傍に高濃度の水酸化物イオン（ OH^- ）領域を生成させる。

[0017] 検出手段7は、認識分子32が捕捉したバイオマーカー110を検出する。

[0018] pH検出部8は、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを検出する。pH検出部8は、読取部10に接続されている。

前記第1電極4およびその周辺を含む領域 α は、バイオセンサの高さ方向に沿う断面において、第1電極4の、試料溶液120の流れる方向の下流側の端から、10センチメートル以内であってよく、7センチメートル以内であってよく、5センチメートル以内であってよい。

[0019] [流路]

流路2は、バイオマーカー110を含む試料溶液120を流すことができれば特に限定されないが、例えば、ハイドロゲルモールドイング法や、フォトリソグラフィー、ソフトリソグラフィー、切削加工、接合等の微細加工法

、または、これらの微細加工法を組み合わせた方法によって、流路基材 1 1 に形成されたマイクロ流路であることが好ましい。マイクロ流路は、内径（最大径）がナノメートルからミリメートルのオーダーの流路である。流路 2 がマイクロ流路であることにより、バイオセンサ 1 によりバイオマーカー 1 1 0 を高感度に検出することができる。また、後述する再生方法により、認識分子 3 2 に結合したバイオマーカー 1 1 0 を容易に解離させることができる。

流路基材 1 1 としては、例えば、シリコンゴム、シリコンゴム以外の種々の樹脂、ガラス等が挙げられる。

[0020] [第 1 電極]

第 1 電極 4 としては、試料溶液 1 2 0、および水素イオン、水酸化物イオン等のイオンによって劣化しないものであり、場合によって、その表面 4 a に認識分子 3 2 を固定化することができるものであれば、特に限定されない。第 1 電極 4 としては、例えば、金、白金等の金属からなる金属電極、炭素系電極等が挙げられる。炭素系電極としては、例えば、カーボンインクを印刷した電極、グラッシーカーボン電極、ボロンドープダイヤモンド電極等が挙げられる。

[0021] [第 2 電極]

第 2 電極 5 としては、試料溶液 1 2 0、および水素イオン、水酸化物イオン等のイオンによって劣化しないものであれば、特に限定されない。第 2 電極 5 としては、例えば、金、白金等の金属からなる金属電極、炭素系電極等が挙げられる。炭素系電極としては、例えば、カーボンインクを印刷した電極、グラッシーカーボン電極、ボロンドープダイヤモンド電極等が挙げられる。

[0022] [電流印加手段]

電流印加手段 6 は、第 1 電極 4 と第 2 電極 5 に電流を印加することができるものであれば、特に限定されない。電流印加手段 6 としては、電流発生源として機能すれば特に限定されず、例えば、電流発生器、電圧電流発生器等

が挙げられる。

[0023] [基材]

基材 3 1 としては、その表面 3 1 a に認識分子 3 2 を固定化することができると共に、試料溶液 1 2 0、および水素イオン、水酸化物イオン等のイオンによって劣化しないものであれば、特に限定されない。基材 3 1 としては、例えば、金、白金等の金属からなる金属膜、炭素膜等が挙げられる。

[0024] [認識分子]

認識分子 3 2 は、試料溶液 1 2 0 に含まれるバイオマーカー 1 1 0 を捕捉することができるものであれば、特に限定されないが、例えば、抗体、酵素、アプタマー等が挙げられる。

[0025] [検出手段]

検出手段 7 は、検出器として機能すれば特に限定されず、バイオセンサ 1 の用途、すなわち、バイオセンサ 1 によって検出するバイオマーカー 1 1 0 の種類に応じたものが用いられる。バイオマーカー 1 1 0 を検出するには、認識分子 3 2（第 1 の認識分子）によって捕捉されたバイオマーカー 1 1 0 に、標識となる物質が修飾された第 2 の認識分子を結合させる方法や、標識となる物質が修飾された第 2 の認識分子を用いない方法が用いられる。

第 2 の認識分子を用いる方法では、検出手段 7 としては、その第 2 の認識分子に応じた検出方法を行うことができるものが用いられる。検出手段 7 としては、例えば、第 2 の認識分子（標識）が発する蛍光を測定する装置、第 2 の認識分子（標識）と基質の反応により生成する物質の吸光度を測定する装置、第 2 の認識分子（標識）と基質の反応により生成する物質の酸化還元電流を測定する装置等が挙げられる。

第 2 の認識分子を用いない方法、すなわち、認識分子 3 2 へのバイオマーカー 1 1 0 の結合量を直接測定する方法としては、例えば、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、電気化学インピーダンス測定法、表面弾性波測定法等が挙げられる。図 1 では、表面プラズモン共鳴法によって、認識分子 3 2 へのバイオマーカー 1 1 0 の結合量を直接測定する場合を

例示する。この場合、検出手段 7 は、センサ部 3 に白色光を照射する光源 7 1 と、表面プラズモン共鳴により減衰する光の波長が、バイオマーカー 1 1 0 と認識分子 3 2 の結合により変化する量を検出する検出器 7 2 とを有する。

[0026] [pH 検出部]

pH 検出部 8 としては、例えば、pH メータ等が挙げられる。pH 検出部 8 を備えることにより、試料溶液 1 2 0 の pH を検出するために pH 指示薬を用いる必要がない。また、pH 検出部 8 を備えることにより、即時に試料溶液 1 2 0 の pH を検出することができ、電流印加手段 6 による第 1 電極 4 と第 2 電極 5 への電流の印加を調節して、試料溶液 1 2 0 の pH の制御をより容易に行うことができる。

[0027] [基板]

基板 9 は、その一方の面 9 a に流路基材 1 1 を設けることができるものであれば、特に限定されないが、例えば、ガラス基板、樹脂基板等が挙げられる。センサ部 3 が、流路 2 の内面 2 a (流路基材 1 1 の内面 1 1 a) に固定された認識分子 3 2 のみから構成される場合、流路基材 1 1 としては、その内面 1 1 a に認識分子 3 2 を固定化することができると共に、試料溶液 1 2 0、および水素イオン、水酸化物イオン等のイオンによって劣化しないものであれば、特に限定されない。

[0028] [バイオマーカー]

バイオマーカー 1 1 0 としては、特に限定されないが、例えば、CEA、AFP (α -フェトプロテイン) 等の癌の存在を示唆する腫瘍マーカー、酸化 LDL、C 反応性プロテイン (CRP) 等の心疾患を示唆するバイオマーカー、アミロイド β 等の認知症を示唆するバイオマーカー等が挙げられる。

[0029] [試料溶液]

試料溶液 1 2 0 は、バイオマーカー 1 1 0 を含む溶液である。試料溶液 1 2 0 としては、具体的には、血液、間質液、汗、唾液等の体液やリン酸緩衝生理食塩水、トリス緩衝生理食塩水等の生理食塩水等が挙げられる。

[0030] [バイオセンサの使用手法]

本実施形態のバイオセンサ1の使用手法を説明する。

[0031] 流路2内にバイオマーカー110を含む試料溶液120を流す。流路2内に試料溶液120を流すと、センサ部3の認識分子32に、試料溶液120に含まれるバイオマーカー110が捕捉される。

次いで、検出手段7により、バイオマーカー110を定性または定量する。具体的には、光源71から白色光をセンサ部3に照射し、表面プラズモン共鳴により減衰する光の波長が、バイオマーカー110と認識分子32の結合により変化する量を検出器72で検出し、バイオマーカー110を定性または定量する。

バイオマーカー110の検出が終了した後、電流印加手段6により、第1電極4を陽極、第2電極5を陰極として電流を印加し、第1電極4の表面4a近傍に高濃度の水素イオン(H^+)領域が生成する。これにより、流路2内において、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHが7未満(酸性)になる。また、流路2内を流れる試料溶液120の流れにより、第1電極4の表面4a近傍の水素イオン(H^+)が認識分子32方向に流される。その結果、酸性の試料溶液120によって、認識分子32に捕捉されたバイオマーカー110が解離して、認識分子32はバイオマーカー110が結合されていない状態に再生される。これにより、再び、認識分子32に、試料溶液120に含まれるバイオマーカー110を捕捉することが可能となる。

[0032] 本実施形態のバイオセンサ1によれば、電流印加手段6により、第1電極4を陽極、第2電極5を陰極として電流を印加し、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを7未満とすることができる。その結果、酸性の試料溶液120によって、認識分子32に捕捉されたバイオマーカー110を解離して、認識分子32をバイオマーカー110が結合されていない状態に再生することができる。また、本実施形態のバイオセンサ1によれば、電流印加手段6により、第1電極4を陰極、第2電極5

を陽極として電流を印加し、流路2内において、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを7超とすることができる。その結果、アルカリ性の試料溶液120によって、認識分子32に捕捉されたバイオマーカー110を解離して、認識分子32をバイオマーカー110が結合されていない状態に再生することができる。また、従来のように、認識分子32を再生するために、送液ポンプやバルブを用いて、認識分子32が配置された流路2内に、酸やアルカリ等の再生液を送液する必要がないため、認識分子32の再生を簡便に行うことができる。従って、バイオセンサ1を使い捨てにすることなく、繰り返し、かつ連続的に使用することができる。また、大規模な設備を用いることなく、認識分子32の再生を行うことができるため、バイオセンサ1を小型化することができる。

[0033] [認識分子の再生方法]

本発明の一実施形態に係る認識分子の再生方法は、上述の本発明の一実施形態に係るバイオセンサにおける認識分子の再生方法である。

[0034] 「第1の再生方法」

本実施形態の認識分子の再生方法は、例えば、バイオセンサ1において、電流印加手段6により、第1電極4を陽極、第2電極5を陰極として、電流を印加し、第1電極4の表面4a近傍に高濃度の水素イオン領域を生成し、流路2内において、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを7未満に制御する。

[0035] 第1電極4と第2電極5に印加する電流は、特に限定されないが、例えば、 $30\mu\text{A}$ 以上 1mA 以下であることが好ましく、 $50\mu\text{A}$ 以上 $200\mu\text{A}$ 以下であることがより好ましい。電流が $30\mu\text{A}$ 未満では、塩素イオンや酸素イオンの反応量が少なく、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120に対してpHの操作が難しくなる。電流が 1mA を超えると、第1電極4近傍からのガス発生量が増えたり、pHが低くなり過ぎたりすることにより、認識分子32が損傷するリスクが高くなる。

[0036] 流路2内を流れる試料溶液120の流速は、特に限定されないが、例えば

、 $1\mu\text{l}/\text{min}$ 以上 $1\text{ml}/\text{min}$ 以下であることが好ましく、 $10\mu\text{l}/\text{min}$ 以上 $200\mu\text{l}/\text{min}$ 以下であることがより好ましい。

[0037] 流路2内において、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを1～3.5に制御することが好ましく、2～3に制御することがより好ましい。試料溶液120のpHを1～3.5に制御することにより、認識分子32からバイオマーカー110を解離することをより促進できる。

[0038] 試料溶液120は、pH指示薬を含んでいてもよい。pH指示薬としては、アルカリ性(pH14)から酸性(pH1)の範囲を指示することができるものであれば、特に限定されないが、例えば、チモールブルー、メチルレッド、フェノールフタレイン等が挙げられる。チモールブルーは、中性では黄色を示し、酸性では赤色に変色する。チモールブルーは、pHが3では黄色を示し、赤色に近い程、pHが小さく、酸性度が高いことを示す。試料溶液120がpH指示薬を含んでいれば、第1電極4と第2電極5への電流の印加によって、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを確認することができる。pH指示薬により、第1電極4と第2電極5への電流の印加を継続するか、または第1電極4と第2電極5への電流の印加を停止するかについて判断することができる。

[0039] また、バイオセンサ1は、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを検出するpHメータ等のpH検出部8を備えていてもよい。pH検出部8を備えていれば、第1電極4と第2電極5への電流の印加によって、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを確認することができる。pH検出部8により、第1電極4と第2電極5への電流の印加を継続するか、または第1電極4と第2電極5への電流の印加を停止するかについて即時に判断することができる。

[0040] 本実施形態の認識分子の再生方法によれば、第1電極4と第2電極5に電流を印加して、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを7未満に制御することにより、認識分子32に捕捉されたバ

バイオマーカー 110 を解離して、認識分子 32 をバイオマーカー 110 が結合されていない状態に再生することができる。また、従来のように、認識分子 32 を再生するために、送液ポンプやバルブを用いて、認識分子 32 が配置された流路 2 内に、酸やアルカリ等の再生液を送液する必要がないため、認識分子 32 の再生を簡便に行うことができる。従って、バイオセンサ 1 を繰り返し、かつ連続的に使用することができる。また、大規模な設備を用いることなく、認識分子 32 の再生を行うことができる。

[0041] 「第 2 の再生方法」

本実施形態の認識分子の再生方法は、例えば、バイオセンサ 1 において、電流印加手段 6 により、第 1 電極 4 を陽極、第 2 電極 5 を陰極として電流を印加し、第 1 電極 4 の表面 4 a 近傍に高濃度の水素イオン領域を生成し、流路 2 内において、第 1 電極 4 およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液 120 の pH を 7 未満に制御する。

本実施形態の認識分子の再生方法は、バイオセンサ 1 において、電流印加手段 6 により、第 1 電極 4 を陰極、第 2 電極 5 を陽極として電流を印加し、第 2 電極 5 の表面 5 a 近傍に高濃度の水酸化物イオン領域を生成し、流路 2 内において、第 1 電極 4 およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液 120 の pH を 7 超に制御する。

[0042] 第 1 電極 4 と第 2 電極 5 に印加する電流は、特に限定されないが、例えば、 $30\mu\text{A}$ 以上 1mA 以下であることが好ましく、 $50\mu\text{A}$ 以上 $200\mu\text{A}$ 以下であることがより好ましい。電流が $30\mu\text{A}$ 未満では、水素イオンの反応量が少なく、第 1 電極 4 およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液 120 に対して十分な pH の操作が難しくなる。電流が 1mA を超えると、第 1 電極 4 近傍からのガス発生量が増えたり、pH が高くなりすぎたりすることにより、認識分子 32 が損傷するリスクが高くなる。

[0043] 流路 2 内を流れる試料溶液 120 の流速は、特に限定されないが、例えば、 $1\mu\text{l}/\text{min}$ 以上 $1\text{ml}/\text{min}$ 以下であることが好ましく、 $10\mu\text{l}/\text{min}$ 以上 $200\mu\text{l}/\text{min}$ 以下であることがより好ましい。

- [0044] 流路2内において、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを10以上に制御することが好ましく、10～12に制御することがより好ましく、11～12に制御することがさらに好ましい。試料溶液120のpHを10以上12に制御することにより、認識分子32からバイオマーカー110を解離することをより促進できる。
- [0045] 試料溶液120は、pH指示薬を含んでいてもよい。pH指示薬としては、アルカリ性（pH14）から酸性（pH1）の範囲を指示することができるものであれば、特に限定されないが、例えば、アリザリンイエロー、チモールブルー、メチルレッド、フェノールフタレイン等が挙げられる。アリザリンイエローは、中性では黄色を示し、アルカリ性では橙色に変色する。アリザリンイエローは、pHが10では黄色を示し、橙色に近い程、pHが大きく、アルカリ性度が高いことを示す。試料溶液120がpH指示薬を含んでいれば、第1電極4と第2電極5への電流の印加によって、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを確認することができる。pH指示薬により、第1電極4と第2電極5への電流の印加を継続するか、または第1電極4と第2電極5への電流の印加を停止するかについて判断することができる。
- [0046] 第2の再生方法においても、第2の再生方法と同様に、バイオセンサ1は、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを検出するpHメータ等のpH検出部8を備えていてもよい。
- [0047] 本実施形態の認識分子の再生方法によれば、第1電極4と第2電極5に電流を印加して、第1電極4およびその周辺を含む領域 α に存在する試料溶液120のpHを7超に制御することにより、認識分子32に捕捉されたバイオマーカー110を解離して、認識分子32をバイオマーカー110が結合されていない状態に再生することができる。また、従来のように、認識分子32を再生するために、送液ポンプやバルブを用いて、認識分子32が配置された流路2内に、酸やアルカリ等の再生液を送液する必要がないため、認識分子32の再生を簡便に行うことができる。従って、バイオセンサ1を繰

り返し、かつ連続的に使用することができる。また、大規模な設備を用いることなく、認識分子32の再生を行うことができる。

実施例

[0048] 以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0049] [実施例]

図1に示すバイオセンサを用いて、流路内に試料溶液を流動させながら、第1電極と第2電極に電流を印加し、試料溶液のpHの変化を測定した。試料溶液のpHの測定には、pH計を用いた。

試料溶液としては、0.9%塩化ナトリウム水溶液を用いた。

試料溶液の流量を、 $10\mu\text{l}/\text{min} \sim 20\mu\text{l}/\text{min}$ とした。

第1電極と第2電極に印加する電流を、 $50\mu\text{A} \sim 200\mu\text{A}$ とした。

結果を図2に示す。

図2に示す結果から、試料溶液のpHを認識分子の再生に有効な2～3に制御できることが確認された。

[0050] 以上、本発明の好ましい実施例を説明したが、本発明はこれら実施例に限定されることはない。本発明の趣旨を逸脱しない範囲で、構成の付加、省略、置換、およびその他の変更が可能である。本発明は前述した説明によって限定されることはなく、添付のクレームの範囲によってのみ限定される。

産業上の利用可能性

[0051] 本発明のバイオセンサは、繰り返し、かつ連続的に使用することができるため、バイオセンサを小型化することができ、バイオセンサを内蔵したウェアラブル端末を実現することができる。

符号の説明

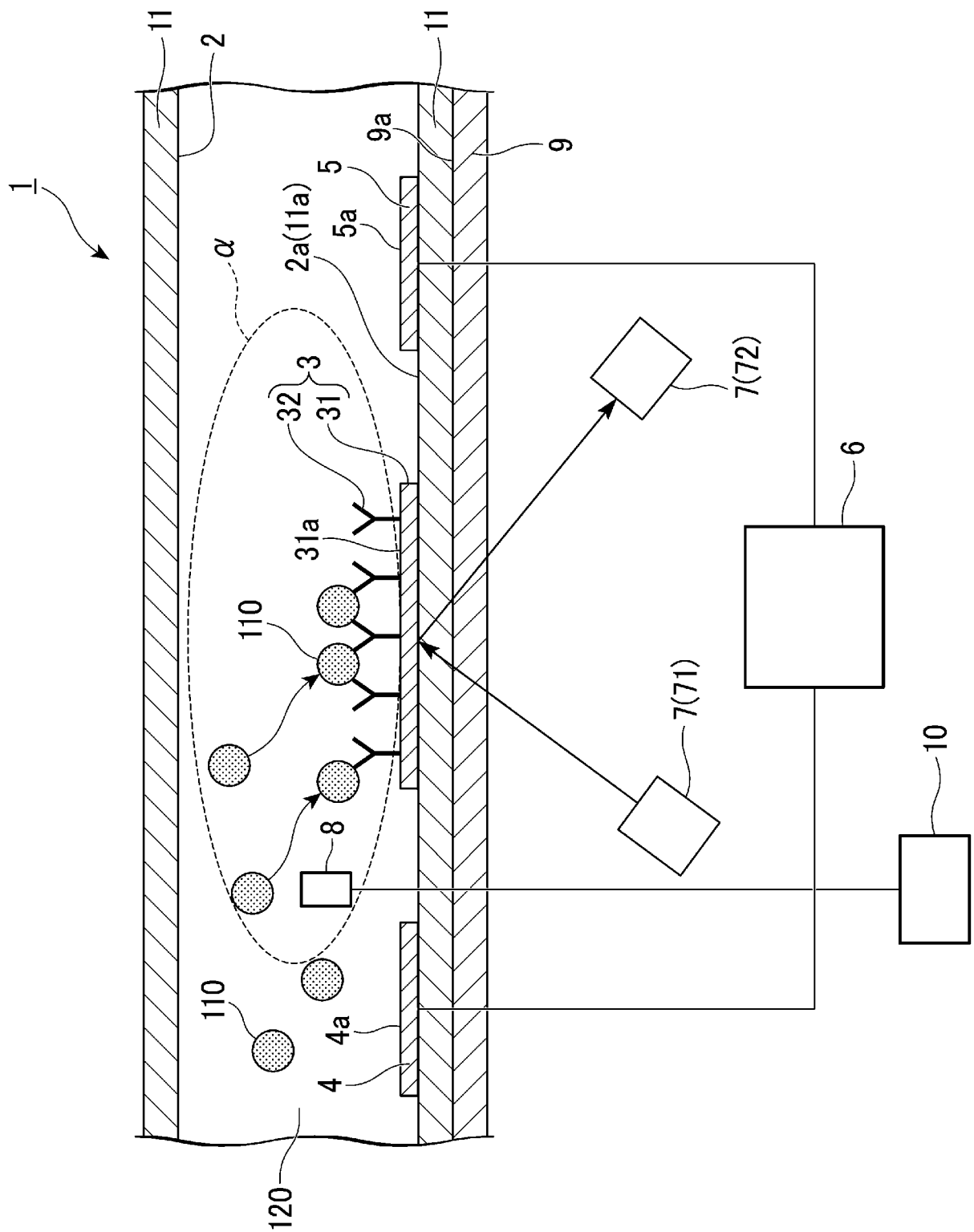
- [0052] 1 バイオセンサ
2 流路
3 センサ部
4 第1電極

- 5 第2電極
- 6 電流印加手段
- 7 検出手段
- 8 pH検出部
- 9 基板
- 10 読取部
- 11 流路基材
- 32 認識分子
- 110 バイオマーカー
- 120 試料溶液

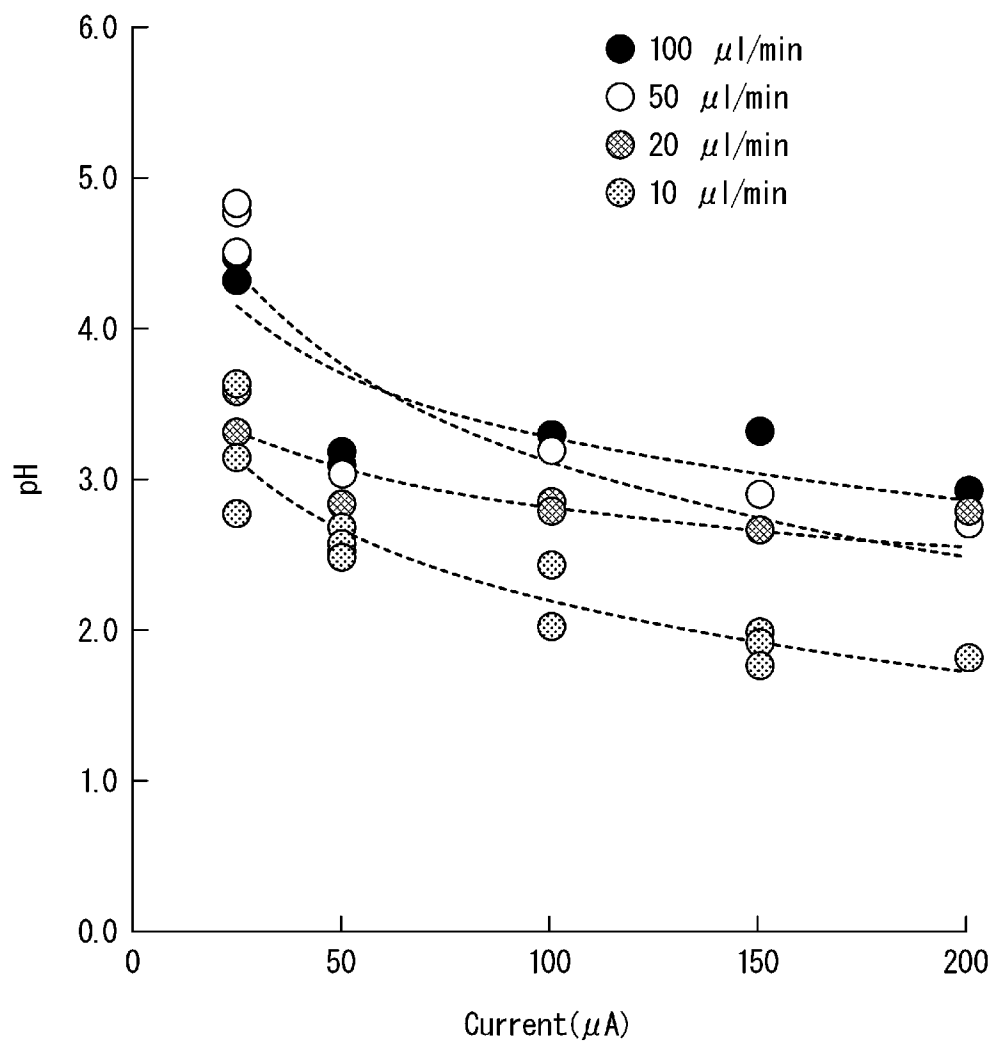
請求の範囲

- [請求項1] バイオマーカーを含む試料溶液を流す流路と、
前記流路内に配置され、認識分子を有するセンサ部と、
前記流路内にて、互いに離間して配置された第1電極および第2電極と、
前記第1電極と前記第2電極に電流を印加する電流印加手段と、
前記認識分子が捕捉したバイオマーカーを検出する検出手段と、を
備える、バイオセンサ。
- [請求項2] 前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液の
pHを検出するpH検出部を備える、請求項1に記載のバイオセンサ
。
- [請求項3] 請求項1または2に記載のバイオセンサにおける認識分子の再生方法であって、
前記電流印加手段により、前記第1電極と前記第2電極に電流を印加し、前記流路内において、前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液のpHを制御する、認識分子の再生方法。
- [請求項4] 前記認識分子として抗体を用いる、請求項3に記載の認識分子の再生方法。
- [請求項5] 前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液のpHを1以上3.5以下に制御する、請求項3に記載の認識分子の再生方法。
- [請求項6] 前記第1電極およびその周辺を含む領域に存在する前記試料溶液のpHを10以上に制御する、請求項3に記載の認識分子の再生方法。

[図1]



[図2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/035491

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/543(2006.01)i; **G01N 21/64**(2006.01)i; **G01N 27/38**(2006.01)i; **G01N 27/327**(2006.01)i
FI: G01N33/543 501Z; G01N27/327 357; G01N21/64 G; G01N21/64 F; G01N33/543 595; G01N27/38

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)

G01N33/543; G01N21/64; G01N27/38; G01N27/327

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2021-534930 A (KONINKLIJKE PHILIPS N.V.) 16 December 2021 (2021-12-16) abstract, claims, paragraphs [0009], [0018], [0019], [0044], [0046], [0083]-[0084], [0096], [0130]-[0131], fig. 1-2, etc.	1-6
Y		2-6
Y	US 2009/0205974 A1 (SIVAN, Uri) 20 August 2009 (2009-08-20) abstract, paragraphs [0019], [0043]-[0045]	2-6
A	JP 2023-518112 A (KONINKLIJKE PHILIPS N.V.) 27 April 2023 (2023-04-27) claims, abstract	1-6



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
“D” document cited by the applicant in the international application
“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

11 November 2024

Date of mailing of the international search report

26 November 2024

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/035491

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	2021-534930	A	16 December 2021	US	2021/0393173	A1	
				abstract, claims, fig. 1-2			
				WO	2020/099570	A1	
				EP	3653121	A1	
				CN	113038874	A	

US	2009/0205974	A1	20 August 2009	WO	2008/026214	A1	

JP	2023-518112	A	27 April 2023	US	2023/0194512	A1	
				abstract, claims			
				WO	2021/228688	A1	
				EP	3910335	A1	
				CN	115552246	A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

G01N 33/543(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i; G01N 27/38(2006.01)i; G01N 27/327(2006.01)i
FI: G01N33/543 501Z; G01N27/327 357; G01N21/64 G; G01N21/64 F; G01N33/543 595; G01N27/38

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））
G01N33/543; G01N21/64; G01N27/38; G01N27/327

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 - 2024年

日本国実用新案登録公報

1996 - 2024年

日本国登録実用新案公報

1994 - 2024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）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2021-534930 A（コーニンクレッカ フィリップス エヌ ヴェ）16.12.2021 (2021 - 12 - 16) 要約, 特許請求の範囲, [0009], [0018], [0019], [0044], [0046], [0083]-[0084], [0096], [0130]-[0131], 図1-2等	1-6
Y		2-6
Y	US 2009/0205974 A1（SIVAN Uri）20.08.2009（2009 - 08 - 20） abstract, [0019], [0043]-[0045]	2-6
A	JP 2023-518112 A（コーニンクレッカ フィリップス エヌ ヴェ）27.04.2023 (2023 - 04 - 27) 特許請求の範囲, 要約	1-6

☐ 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、一般的技术水準を示すもの

“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献

“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抵触するものではなく、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

11. 11. 2024

国際調査報告の発送日

26. 11. 2024

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

中村 直子 2J 4406

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/035491

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
JP	2021-534930	A	16.12.2021	US	2021/0393173	A1	
				abstract, claims, Fig. 1-2			
				WO	2020/099570	A1	
				EP	3653121	A1	
				CN	113038874	A	

US	2009/0205974	A1	20.08.2009	WO	2008/026214	A1	

JP	2023-518112	A	27.04.2023	US	2023/0194512	A1	
				abstract, claims			
				WO	2021/228688	A1	
				EP	3910335	A1	
				CN	115552246	A	
