(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
2007 年11 月8 日 (08.11.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/126151 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 33/543 (2006.01) *G01N 33/553* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/059550

(22) 国際出願日: 2007 年4 月27 日 (27.04.2007)

(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2006-126041 2006 年4 月28 日 (28.04.2006) JP
特願2006-274129 2006 年10 月5 日 (05.10.2006) JP
特願 2006-291482
2006 年10 月26 日 (26.10.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日立マクセル株式会社 (**HITACHI MAXELL, LTD.**) [JP/JP]; 〒5678567 大阪府茨木市丑寅１丁目１番８８号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 臼杵直樹 (**USUKI, Naoki**) [JP/JP]; 〒5678567 大阪府茨木市丑寅１丁目１番８８号日立マクセル株式会社内 Osaka (JP). 満永雅一 (**MITSUNAGA, Masakazu**) [JP/JP]; 〒5678567 大阪府茨木市丑寅１丁目１番８８号日立マクセル株式会社内 Osaka (JP). 河野研二 (**KOHNO, Kenji**) [JP/JP]; 〒5678567 大阪府茨木市丑寅１丁目１番８８号日立マクセル株式会社内 Osaka (JP). 神崎壽夫 (**KANZAKI, Hisao**) [JP/JP]; 〒5678567 大阪府茨木市丑寅１丁目１番８８号日立マクセル株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 田中光雄， 外 (**TANAKA, Mitsuo et al.**); 〒5400001 大阪府大阪市中央区城見１丁目３番７号ＩＭＰビル青山特許事務所 Osaka (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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) **Title:** FUNCTIONAL PARTICLE, AND METHOD FOR SEPARATION OF TARGET SUBSTANCE USING THE SAME

(54) 発明の名称: 機能性粒子およびそれを用いた標的物質の分離方法

(57) **Abstract:** Disclosed is a high-density particle to which a target substance can bind preferentially but any substance other than the target substance can bind hardly. The high-density particle has, immobilized on the surface thereof, a substance or a functional group through which the target substance can bind to the particle. The particle has a density ranging from 3.5 to 9.0 g/cm^3 and no through-pore. The particle has a specific surface area ranging from 0.0005 to 1.0 m^2/g.

(57) 要約: 本発明の粒子は、標的物質が優先的に結合でき、標的物質以外の物質の結合が抑えられた高密度粒子である。本発明の粒子は、標的物質を結合させることが可能な物質または官能基が粒子本体の表面に固定化されており、粒子の密度が３．５ｇ／ｃｍ^3～９．０ｇ／ｃｍ^{3}であり、また、粒子本体が貫通孔を有さないことを特徴とする。また、本発明の粒子は、その比表面積が０．０００５ｍ^2／ｇ～１．０ｍ^2／ｇとなっている点でも特徴を有する。

WO 2007/126151 A1

明　細　書

機能性粒子およびそれを用いた標的物質の分離方法

技術分野

本発明は、標的物質の分離、固定化、分析、抽出、精製、反応などに適した機能性粒子に関する。また、本発明は、かかる粒子を用いて標的物質を処理する方法にも関する。

背景技術

細胞、蛋白質、核酸または化学物質等の標的物質の定量、分離、精製および分析等の生化学用途に利用される機能材として、特定の標的物質と特異的に結合または反応する複合粒子が従来より知られている（特許文献１：特開平４－５０１９５６号公報）。かかる複合粒子は、磁性を帯びており、例えば非磁性のビーズ中に磁性体材料を含ませることによって形成される。標的物質の分離に際しては、まず、標的物質が含まれる試料中に複合粒子を供し、複合粒子の表面に標的物質を結合させる。次いで、磁場の印加により複合粒子を移動させて集合・凝集させ、その後、集合・凝集した複合粒子を回収することによって、複合粒子に結合した標的物質を回収している。このような磁場または磁気を用いた手法（以下では「磁気分離法」または単に「磁気分離」とも呼ぶ）は、遠心分離法、カラム分離法または電気泳動法などの手法に比べて、少量の試料に対しても実施でき、また、標的物質を変性させずに短時間で実施できる特徴を有している。しかしながら、用いる複合粒子の密度が１．０ｇ／ｃｍ^3～３．４ｇ／ｃｍ^{3}と小さいので、複合粒子を効率的に凝集させにくいものであった。このように複合粒子の密度が比較的小さい理由は、密度の低い樹脂やシリカを母材とし、その内部に磁性粉材料を分散させて複合粒子化しているからである。つまり、複合粒子の密度は磁性粉材料の量に依存することになるところ、磁化量から計算すると磁性粉材料の含率は高々２０重量%程度にすぎず、複合粒子の密度は母材の低い材料密度に近い値となっている。

一方、密度の大きいジルコニア粒子を使用している例が特許文献２（特開平９－５０３９８９号公報）に記載されているものの、特許文献２に記載されているジルコニア粒子は、三次元内部貫通ネットワーク（即ち、貫通孔）を持つ多孔質から成るものであり、標的物質の分離に際して非特異結合が生じやすい。即ち、標的物質以外の物質が粒子に結合しやすく、所望の標的物質を優先的に粒子に結合させて分離することが困難であるといえる。また、特許文献２に記載されているジルコニア粒子は、多孔質であるために、かかる粒子を、標的物質を含んだ試料に供する際に空気などの気体が粒子内に取り込まれてしまう。その結果、取り込んだ気体の浮力などが作用して試料中で粒子を移動・凝集させにくくなるといえ、標的物質の分離にとっては好ましくない（即ち、標的物質の分離に要する時間が長くなってしまう）。

発明の開示

本発明は、上記事情に鑑みて為されたものである。つまり、本発明の課題は、粒子の移動・凝集の点および非特異結合の点で標的物質の分離に好ましい粒子を提供することである。また、かかる粒子を用いて標的物質を分離する方法または標的物質が固定化された粒子を得る方法を提供することも本発明の課題であり、更には、本発明の粒子を用いた標的物質の分析、抽出、精製または反応を行う方法を提供することも本発明の課題である。

上記課題を解決するため、本発明は、　標的物質が結合できる粒子であって、

「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」が粒子本体の表面に固定化されており、

粒子の密度が３．５ｇ／ｃｍ^3～９．０ｇ／ｃｍ^{3}であり、また

粒子本体が貫通孔を有さないことを特徴とする粒子を提供する。

本発明の粒子は、その表面に、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」が固定化されている。換言すれば、「標的物質と結合する物質または官能基」が固定化されている。従って、標的物質と粒子とを共存させると、標的物質が粒子に結合することができるので、標的物質の分離、精製または抽出などの種々の用途に対して本発明の粒子を用いることができるだけでなく、更にはテ

ーラーメード医療技術の用途に対しても本発明の粒子を用いることができる。ここで、「標的物質」とは、分離のみならず、抽出、定量、精製または分析などの種々の対象になり得る物質を実質的に意味しており、粒子に直接的または間接的に結合できるものであれば、いずれの種類の物質であってもかまわない。具体的な標的物質として、例えば、核酸、蛋白質（例えばアビジンおよびビオチン化ＨＲＰなども含む）、糖、脂質、ペプチド、細胞、真菌、細菌、酵母、ウィルス、糖脂質、糖蛋白質、錯体、無機物、ベクター、低分子化合物、高分子化合物、抗体または抗原等を挙げることができる。本発明の粒子は、このように種々の標的物質の分離、精製、抽出もしくは分析に用いることができる点で、種々の機能を奏するものといえる。従って、本発明の粒子は「機能性粒子」と呼ぶことができる。

本発明の粒子は、密度が３．５ｇ／ｃｍ^3～９．０ｇ／ｃｍ^{3}であり、標的物質の分離に一般的に用いられる粒子よりも密度（または比重）が大きいという特徴を有している。また、本発明の粒子は、粒子本体に貫通孔が形成されておらず、多孔質の形態でないという特徴も有している。このため、一般的に、粒子の比表面積が０．０００５ｍ^2／ｇ～１．０ｍ^2／ｇと比較的小さくなっている。

尚、本明細書において、「粒子本体が貫通孔を有さない」とは、粒子本体が実質的に中実であり、粒子が内部貫通ネットワーク構造を有さないことを意味している。即ち、本明細書にいう「粒子本体が貫通孔を有さない」とは、「粒子本体または粒子本体コア部が中実である」、「粒子表面が凹凸状になっていても、凹部が粒子内部にまで存在しない」、及び「一般的な多孔質粒子と比べた場合、かさ密度がより大きいこと」と同義である。

本発明では、上述の粒子を用いた標的物質の分離方法も提供される。かかる分離方法は、上述したような本発明の粒子を用いて、試料中から標的物質を分離する方法であり、以下に示す工程を含んで成る：

（ｉ）標的物質を含んで成る試料と本発明の粒子とを接触させ、粒子と標的物質とを結合させる工程；

（ｉｉ）試料を静置に付して、試料中で粒子を自然沈降させる工程；および

（ｉｉｉ）試料中で沈殿した粒子を回収することによって、標的物質を試料から

分離する工程。

本発明の方法は、標的物質が結合した粒子を自然沈降によって集合・凝集させるという特徴を有している。即ち、本発明の方法は、粒子の移動・凝集に磁場または磁気を用いておらず、粒子の自然沈降のみで標的物質を分離する特徴を有している。このように、粒子の自然沈降のみで標的物質を分離できるのは、粒子の自然沈降速度が従来よりも速くなっているからである。

本発明の粒子は、密度が３．５ｇ／ｃｍ^3～９．０ｇ／ｃｍ^{3}と大きいだけでなく、貫通孔を有しておらず、比表面積が０．０００５ｍ^2／ｇ～１．０ｍ^2／ｇと比較的小さくなっているので、遠心分離法および磁気分離法を用いなくても、粒子の自然沈降による移動速度だけで十分な分離速度が得られる効果を有している。換言すれば、本発明の粒子は、密度のみならず比表面積の点でも自然沈降に好ましい粒子となっている。「比表面積」に関して説明すると、比表面積が大きい多孔質粒子の場合には、粒子内部に間隙部が多いので、標的物質を含んだ試料に粒子を供する際に空気などの気体が粒子内部に取り込まれた状態となり、結果的に、取り込んだ気体の浮力などが作用して沈降速度が遅くなり得るが、本発明の粒子は、貫通孔を有しておらず、比表面積が０．０００５ｍ^2／ｇ～１．０ｍ^2／ｇと実質的に非多孔質であるために、そのような不利な気体の影響を排除することができる。

本明細書において「自然沈降」とは、重力の作用を受けて粒子が液体中を沈降することを指している。また、本明細書において「分離」とは、核酸、蛋白質、糖、脂質、ペプチド、細胞、真菌、細菌、酵母、ウィルス、糖脂質、糖蛋白質、錯体、無機物、ベクター、低分子化合物、高分子化合物、抗体または抗原等の標的物質を含んだ試料（例えば、ヒト又は動物の尿、血液、血清、血漿、精液、唾液、汗、涙、腹水、羊水等の体液；ヒト又は動物の臓器、毛髪、皮膚、爪、骨、筋肉又は神経組織等の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；便懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；培養細胞又は培養組織の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；ウィルスの懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；菌体の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；土壌懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；植物の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；食品・加工食品懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；排

水等）から標的物質を分離することを指しており、より具体的には、試料中に含まれる標的物質を粒子に結合させた後、標的物質が結合した粒子を移動させることによって標的物質を試料から選別することを実質的に意味している。そして、「分離速度」とは、標的物質が結合した粒子が試料中を移動する速度を実質的に指しており、自然沈降に対して用いる場合では粒子の沈降速度を実質的に意味している。分離速度が大きい場合では、試料から標的物質を分離するのに要する時間が短くて済むことになる。なお、本発明の粒子が磁性を有する場合には、磁場の印加によって、分離速度を付加的に大きくできることを理解されよう。

本発明の粒子は、自然沈降させるだけでも十分な分離速度を得ることができるので、本発明の粒子を用いると、複雑な機構を用いずに標的物質の分離、固定化、分析、抽出、精製または反応などを行うことができる。換言すれば、本発明の粒子を用いると、標的物質の分離、固定化、分析、抽出、精製または反応を行う簡易なシステムが得られることになる。尚、本発明の粒子は、そのようなシステムの小型化またはチップ化にとっても有効である。

ここで、本発明の粒子は、密度が大きいだけでなく、比表面積が０．０００５m^2／ｇ～１．０m^2／ｇと比較的小さく、実質的に非多孔質とみなすことができるので、標的物質以外の物質が粒子に結合する非特異結合を抑えることができる。換言すれば、粒子の非多孔質に起因して、標的物質以外の物質が吸収・吸着され得る粒子細孔または粒子表面が少なく又は実質的に存在せず、標的物質以外の物質が粒子に結合することを抑制することができる。

このように、本発明の粒子は、非特異結合を抑えることができるので、簡易な操作だけで、効率よく標的物質の精製や分離を実施することができる。

尚、本発明の粒子の本体表面にはポリマーが被着していてもよい。この場合、その被着しているポリマー（以下では「被着ポリマー」ともいう）の表面に「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」を固定化させることができる。これによって、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」を粒子本体に共有結合させることが困難な場合であっても、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」を粒子表面に固定化できる。また、粒子本体表面に固定化された「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」が、

種々の使用条件下の用途において粒子本体表面から分離してしまうことが懸念される用途では、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」を被着ポリマーに固定化させることによって粒子本体からの分離を防止することができる。また、被着させるポリマーとして、各種分子または金属イオン等が透過しにくいポリマーを選択すると、粒子本体表面または粒子内部からの金属イオン（即ち、粒子の構成成分たる金属のイオン）の溶出を抑えることができ、粒子の種々の用途において金属イオン等に起因した不要な反応を抑えることもできる。

本発明の分離方法で用いる粒子は、上述したように、密度が大きいだけでなく、本発明の粒子の比表面積が０．０００５m^2／ｇ～１．０m^2／ｇと比較的小さく実質的に非多孔質とみなすことができる粒子である。その結果、標的物質を含んだ試料に粒子を供する際に空気などの気体が粒子内部に取り込まれた状態となることが抑制され、自然沈降させるだけでも十分な分離速度を得ることができる。更に、本発明の分離方法で用いる粒子は、上述したように、「標的物質以外の物質が粒子に結合する非特異結合」を抑えることができる粒子である。従って、本発明の分離方法では、試料中に標的物質以外の物質が含まれていても、標的物質を優先的に粒子に結合させることができ、標的物質を効率よく分離することができる。

図面の簡単な説明

図１は、本発明の方法の工程を模式的に示した図である。

図２は、実施例１の原料粒子である非多孔質のイットリウム添加ジルコニア粒子p_1の写真である。

図３は、実施例１の原料粒子である非多孔質のイットリウム添加ジルコニア粒子p_1の表面拡大写真である。

図４は、比較例６の原料粒子である多孔質シリカ粒子r_6の写真である。

図５は、比較例６の原料粒子である多孔質シリカ粒子r_6の表面拡大写真である。

尚、図面中、参照番号は次の要素を意味する：

１…本発明の粒子、２…標的物質、３…標的物質以外の物質、４…試料。

発明を実施するための最良の形態

以下では、まず、本発明の粒子を詳細に説明し、その後、本発明の分離方法を説明する。

本発明の粒子は、標的物質の分離に好適な密度を有している。即ち、ヒト又は動物の尿、血液、血清、血漿、精液、唾液、汗、涙、腹水、羊水等の体液；ヒト又は動物の臓器、毛髪、皮膚、爪、骨、筋肉又は神経組織等の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；便懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；培養細胞又は培養組織の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；ウィルスの懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；菌体の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；土壌懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；植物の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；食品・加工食品懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；排水等の試料に粒子を分散させた際に粒子の沈降速度が比較的大きくなるような密度を粒子は有している。粒子の密度が３．５ｇ／ｃｍ^{3}よりも小さくなると、自然沈降のみによる粒子の移動速度が実用上好ましくない一方、粒子の密度が９．０ｇ／ｃｍ^{3}よりも大きくなると、標的物質を結合させる際に行う攪拌にとって好ましくない。従って、本発明の粒子の密度は、３．５ｇ／ｃｍ^3～９．０ｇ／ｃｍ^{3}であり、より好ましくは５．０ｇ／ｃｍ^3～８．０ｇ／ｃｍ^{3}であり、更に好ましくは、５．５ｇ／ｃｍ^3～７．０ｇ／ｃｍ^{3}である。ここで、本明細書にいう「密度」とは、物質自身が占める体積だけを密度算定用の体積とする真密度を意味しており、製真密度測定装置ウルトラピクノメーター１０００（ユアサアイオニクス社製）を使用することによって求めることができる。

本発明の粒子の好ましい比表面積は、０．０００５ｍ^2／ｇ～１．０ｍ^2／ｇであり、より好ましくは０．００５ｍ^2／ｇ～０．５ｍ^2／ｇであり、更に好ましくは０．０１ｍ^2／ｇ～０．２ｍ^2／ｇであり、例えば、０．０１ｍ^2／ｇ～０．０５ｍ^2／ｇである。従って、本発明の粒子は、実質的に非多孔質とみなすことができ、標的物質以外の物質が粒子に結合する可能性（即ち、「非特異結合の可能性」）が抑えられている。これは、標的物質の分離精度が向上することを意味している。また、本発明の粒子は、実質的に非多孔質であり、貫通孔（即ち、内

部貫通ネットワーク構造）などを有していないので、標的物質を含んだ試料に粒子を供する際に空気などの気体が粒子内部に取り込まれることが抑制され、自然沈降させるだけでも十分な分離速度を得ることができる。

なお、本明細書にいう「比表面積」は、比表面積細孔分布測定装置ＳＡ３１００（コールター社製）を使用することによって求めた比表面積である。

本発明の粒子は、上述したように、自然沈降させるだけでも十分な分離速度を得ることができるものである。つまり、標的物質を含んだ試料中において粒子の自然沈降速度は速くなっている。

粒子本体の材質は、本発明の粒子が、上述のような密度および比表面積を有することになるのであれば、特に限定されるものではない。好ましくは、粒子本体は、金属または金属酸化物から形成されており、例えば、ジルコニア（酸化ジルコニウム、イットリウム添加酸化ジルコニウム）、酸化鉄、アルミナ、ニッケル、コバルト、鉄、銅およびアルミニウムから成る群から選択される少なくとも１種以上の材料から形成されている。

本発明の粒子は、磁性を帯びていることも有効である。（以下、磁性を帯びている本発明の粒子を「磁性粒子」とも呼ぶ）。なぜなら、粒子の自然沈降に対して磁気分離操作を補助的に行うことができるからである。その結果、粒子をより速く移動させることができ、標的物質（より具体的には「粒子に結合した標的物質」）をより短時間で分離することが可能となる。また、磁気で粒子を特定の部分に集めたり固定することにより、ピペッティングやデカンテーションを容易に行うことができる。

尚、粒子本体の表面に被着ポリマーを設ける場合では、被着ポリマーに磁性を付与することは通常難しいため、粒子本体に磁性を帯びたものを使用することが好ましい。

磁性粒子の本体の材質は、粒子が磁性を帯びることになる限り、特に限定されるものではない。例えば、磁性粒子の本体は、遷移金属および鉄を含んで成るガーネット構造の酸化物、フェライト、マグネタイトならびにγ－酸化鉄から成る群から選択される少なくとも１種以上の鉄酸化物から形成されることが好ましい。あるいは、磁性粒子の本体が、ニッケル、コバルト、鉄およびそれらの金属を含

んで成る合金から成る群から選択される少なくとも１種以上の金属材料を含んで成るものであってもよい。ここで「遷移金属および鉄を含んで成るガーネット構造の酸化物」とは、一般的にＹＩＧと呼称されるもので、例えば、$Y_3Fe_5O_{12}$の組成式で表される化合物やこの化合物のＹの一部をビスマスで置換した$Bi_xY_{3-x}Fe_5O_{12}$（０＜Ｘ＜３）を挙げることができる。

別法にて、磁性粒子は、磁性を帯びていない粒子を磁性物質で被覆することによって形成してもよく、あるいは、磁性を帯びていない粒子に磁性物質を単に被着させることによって形成してもよい。磁性物質の被覆および被着に際しては、無電解めっき法、電気めっき法、スパッタリング法、真空蒸着法、イオンプレーティング法または化学蒸着法などを用いることができる。なお、ここでいう「磁性を帯びていない粒子」とは、例えば、ジルコニア（酸化ジルコニウム、イットリウム添加酸化ジルコニウム）またはアルミナ等から成る密度の高い粒子が挙げられる。また、高密度の磁性物質の比率を高くする場合には、より密度の低い、アルミニウム、シリカ、樹脂等から成る粒子も使用できる。被覆または被着に用いる「磁性物質」としては、上述の磁性を有する粒子の材質と同様、フェライト、マグネタイト、γ－酸化鉄、または、遷移金属および鉄を含んで成るガーネット構造の酸化物などの鉄酸化物を挙げることができるだけでなく、ニッケル、コバルト、鉄、または、それらの金属を含んで成る合金も挙げることができる。

磁性物質を被覆または被着させることによって磁性粒子を得る場合、粒子表面に形成される磁性物質被膜の量が少なすぎると、粒子の磁化の値が小さくなり、磁気分離に際して好ましくない。従って、磁性物質被膜の体積が、粒子（磁性物質被膜を含んだ粒子）の体積に対して５％以上であることが好ましい。磁性物質被膜の厚さは、粒子（磁性物質被膜を含んだ粒子）の直径に対して１．７％以上の厚さとなることが好ましい。ちなみに、磁性物質被膜を「磁性を帯びていない粒子」に供する態様のみならず、「磁性を帯びていない粒子」の内部に磁性物質を含ませる態様も考えられる。

磁性粒子の磁気特性としては、例えば「飽和磁化」および「保磁力」がある。一般に、飽和磁化の値が大きいほど磁界に対する粒子の応答性が向上する。ここで、本発明のような密度が比較的大きい粒子に対して磁性をもたすには、磁性を

帯びていない粒子の表面もしくは内部に磁性物質を供する必要がある。ここで、磁性物質は磁性を帯びていない粒子よりも密度が小さいために、供する磁性物質の量を制限することによって、必要な密度を維持しなければならない。また、粒子本体に非磁性のポリマーを被着させる場合には、磁性物質のみから粒子が成る場合よりも大きい飽和磁化を得ることは現実的に困難である。以上より、８５Ａ・m^2／ｋｇよりも大きい飽和磁化を得ることは実際には困難といえる。その一方で、飽和磁化が０．５Ａ・m^2／ｋｇよりも小さいと磁界に対する粒子の応答性が必要以上に低下するために好ましくない。従って、本発明の粒子の飽和磁化量は、好ましくは０．５Ａ・m^2／ｋｇ～８５Ａ・m^2／ｋｇ（０．５ｅｍｕ／ｇ～８５ｅｍｕ／ｇ）であり、より好ましくは３Ａ・m^2／ｋｇ～１０Ａ・m^2／ｋｇ（３ｅｍｕ／ｇ～１０ｅｍｕ／ｇ）であり、例えば４Ａ・m^2／ｋｇ～７Ａ・m^2／ｋｇ（４ｅｍｕ／ｇ～７ｅｍｕ／ｇ）である。また、一般に、保磁力の値が大きくなると、粒子は凝集し易くなる。しかしながら、保磁力の値が大きすぎると凝集作用が強くなりすぎ、粒子が分散しなくなるので、標的物質を結合させる点で好ましくない。そのため、保磁力は、好ましくは、０ｋＡ／ｍ～２３ＫＡ／ｍ（０～３００エルステッド）であり、より好ましくは０ｋＡ／ｍ～１５．９５ｋＡ／ｍ（０～２００エルステッド）であり、更に好ましくは０ｋＡ／ｍ～７．９７ｋＡ／ｍ（０～１００エルステッド）である。

本明細書でいう「飽和磁化」および「保磁力」の値は、振動試料型磁力計（東英工業製、型式ＶＳＭ－５）を用いて測定される値である。具体的には、「飽和磁化」の値は、７９７ｋＡ／ｍ（１０キロエルステッド）の磁界を印加した際の磁化量から求められる値である。「保磁力」の値は、７９７ｋＡ／ｍの磁界を印加した後、磁界をゼロに戻し、更に、磁界を逆方向に徐々に増加させた場合において、磁化量がゼロになる印加磁界の値である。

本発明の粒子の形状は特に制限はなく、例えば、球形状、楕円体形状、粒形状、板形状、針形状または多面体形状（例えば立方体形状）等であってよい。但し、標的物質との結合に際して粒子間のばらつきを小さくするために、粒子形状は規則的な形状が望ましく、特に球形状が好ましい。また、磁性を帯びていない粒子本体に磁性物質被膜を設ける場合には、「磁性を帯びていない粒子本体」が球形

状または楕円体形状を有していることが好ましい。

本発明の粒子の平均サイズ（即ち「平均粒子サイズ」）は１μｍ～１ｍｍであることが好ましい。平均粒子サイズが１μｍよりも小さいと、標的物質の分離に際して粒子の自然沈降による移動速度を十分に大きくすることが難しくなる一方、平均粒子サイズが１ｍｍよりも大きいと、標的物質との結合が生じる前に粒子が沈降してしまい、標的物質を十分に分離できなくなる可能性があるからである。より好ましくは５μｍ～５００μｍの平均粒子サイズであり、更に好ましくは１０μｍ～１００μｍの平均粒子サイズである。ここでいう「粒子サイズ」とは、粒子のあらゆる方向における長さ（粒子本体にポリマーを被着させる場合には、被着しているポリマーの厚さをも含めた粒子の長さ）のうち最大となる長さを実質的に意味しており、「平均粒子サイズ」（即ち、「粒子の平均サイズ」）とは、粒子の電子顕微鏡写真または光学顕微鏡写真に基づいて例えば３００個の粒子のサイズを測定し、その数平均として算出した粒子サイズを実質的に意味している。尚、純金属から成る粒子はサイズが小さくなると、急激な酸化が生じやすく、場合によっては粒子が発火する危険性があるが、本発明のような比較的大きい粒子サイズでは、急激な酸化が生じにくく、粒子が発火する危険性は低減されている。

本発明の粒子の本体表面に固定化されている「標的物質を結合させることが可能な物質」（以下では「標的物質が結合可能な物質」ともいう）は、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンおよびニュートラアビジンから成る群から選択される少なくとも１種以上の物質であることが好ましい。また、本発明の粒子の本体表面に固定化されている「標的物質を結合させることが可能な官能基」（以下では「標的物質が結合可能な官能基」ともいう）は、カルボキシル基、水酸基、エポキシ基、トシル基、スクシンイミド基、マレイミド基、チオール基、チオエーテル基およびジスルフィド基などの硫化物官能基、アルデヒド基、アジド基、ヒドラジド基、一級アミノ基、二級アミノ基、三級アミノ基、イミドエステル基、カルボジイミド基、イソシアネート基、ヨードアセチル基、カルボキシル基のハロゲン置換体、ならびに、二重結合から成る群から選択される少なくとも１種以上の官能基であることが好ましい。なお、「標的物質が結合可能な官能基」は、上述した官能基の誘導体であってもかまわない。

本明細書において「固定化」とは、一般的に、粒子本体の表面付近に「標的物質が結合可能な物質」または「標的物質が結合可能な官能基」が存在している態様を実質的に意味しており、必ずしも「標的物質が結合可能な物質」または「標的物質が結合可能な官能基」が粒子本体の表面に直接取り付けられている態様のみを意味するものではない。また、「固定化」とは、粒子表面の少なくとも一部に「標的物質が結合可能な物質または官能基」が固定化されている態様を実質的に意味しており、「標的物質が結合可能な物質または官能基」が必ずしも粒子表面全体にわたって固定化されていなくてもよい。但し、好ましい態様では、粒子本体が「標的物質が結合可能な物質または官能基」に内包されるように、「標的物質が結合可能な物質または官能基」が粒子表面全体にわたって存在している。なお、本明細書において「標的物質が結合」という用語は、粒子に対して標的物質が「吸着」または「吸収」される態様を包含しているのみならず、標的物質と粒子との間に働く種々の「親和力」に起因して標的物質が粒子に結合される態様をも包含している。

本発明の粒子本体には「標的物質が結合可能な物質」または「標的物質が結合可能な官能基」が固定化されているので、かかる物質または官能基を介して標的物質を粒子に結合させることができる。

「標的物質が結合可能な物質」を粒子本体に固定化させる手法は、特に制限されるものではなく、「標的物質が結合可能な物質」を粒子本体に結合または付着させることができるものであれば、いずれの手法を用いてもよい。「標的物質が結合可能な物質」を粒子本体に直接的に結合または付着させることに限らず、必要に応じて、珪素含有物質（例えばシロキサン、シランカップリング剤およびケイ酸ナトリウムなど）、または、標的物質が結合もしくは付着可能な官能基を有する樹脂等の他の物質を予め粒子本体に付着または導入したり、あるいは、粒子本体の表面に貴金属被着処理を施した上で標的物質が結合もしくは付着可能な官能基を有する含硫黄化合物等の他の物質を予め粒子本体に付着または導入したりすることによって、「標的物質が結合可能な物質」を粒子に固定化させ易くしてもよい。尚、珪素含有物質を用いた場合では、粒子本体の表面には「標的物質が結合可能な物質」が固定化されていると共に、かかる珪素含有物質が存在するこ

とになる。

「標的物質が結合可能な物質」を粒子本体に固定化させる手法の一例を説明すると、例えば、粒子本体の表面にエポキシ基やアミノ基を有するシランカップリング剤を反応させることによって、「標的物質が結合可能な物質」を粒子に固定化させることができる。

同様に、「標的物質が結合可能な官能基」を粒子本体に固定化させる手法は、特に制限されるものではなく、「標的物質が結合可能な官能基」を粒子に結合または付着させることができるものであれば、いずれの手法を用いてもよい。例えば、必要に応じて、「標的物質が結合可能な官能基」を化学的に処理して別の官能基に変換し、反応性や吸着性等を変更してもよい。「標的物質が結合可能な物質」と同様に、「標的物質が結合可能な官能基」を粒子本体に直接的に結合または付着させるだけでなく、必要に応じて、珪素含有物質（例えばシロキサン、シランカップリング剤およびケイ酸ナトリウムなど）、標的物質が結合もしくは付着可能な官能基を有する樹脂等の他の物質を予め粒子本体に付着または導入したり、あるいは、粒子本体の表面に貴金属被着処理を施した上で標的物質が結合もしくは付着可能な官能基を有する含硫黄化合物等の他の物質を予め粒子本体に付着または導入したりすることによって、「標的物質が結合可能な官能基」を粒子本体に固定化させ易くしてもよい。例えば、珪素含有物質を用いた場合では、粒子本体の表面には「標的物質が結合可能な官能基」が固定化されていると共に、かかる珪素含有物質が存在することになる。

以下では、「標的物質が結合可能な官能基」を粒子に固定化する手法の一例として、シロキサンを用いた手法を説明する。

《シロキサンを用いた官能基の固定化》

この手法は、1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（以下では「ＴＭＣＴＳ」と略称する）で粒子本体の表面を予め被覆する手法である。かかる手法は、ＴＭＣＴＳ膜が粒子本体の表面に一層だけ形成された時点で、反応を終了する特徴を有している。

（前処理工程）

まず、有機溶剤中に前駆体粒子を分散させることによって得られる分散液にＴ

ＭＣＴＳを加える。この際、粒子表面にＴＭＣＴＳが１層形成されるのに充分な量のＴＭＣＴＳを加える。次いで、分散液をエバポレートして分散液から溶媒を除去し、真空デシケーター中で粒子を加熱乾燥させ、その後、１５０℃の恒温槽中にて加熱する。用いる有機溶剤は、エバポレータで蒸発しやすい沸点の低いものであれば、いずれの種類の有機溶剤でもよく、例えば、トルエン、ヘキサンまたはベンゼン等を挙げることができる。なお、真空デシケーター内部が加熱乾燥に付されると、化学蒸着法（ＣＶＤ法）と同じ効果がもたらされるので、加熱温度はＴＭＣＴＳが蒸発し、かつ分解等起きない範囲にすることが必要となる。具体的には３０～８０℃程度の加熱温度が好ましい。最後に行う恒温槽中での加熱工程は、粒子表面に付いたＴＭＣＴＳ同士の反応を進める過程である。温度が高くなりすぎると、ＴＭＣＴＳの分解が生じやすくなると共に、長時間実施すると、引き続いて行う官能基の固定化工程で必要とされる反応点がなくなってしまうので、１００～２００℃の加熱温度および２時間以内の反応時間が好ましい。なお、粒子が疎水性となることから、粒子表面にＴＭＣＴＳ膜が形成されたことを確認できる。

（官能基の固定化工程）

上述の前処理工程に引き続いて、官能基の固定化工程を実施する。固定化する官能基を含んだ化合物は、その末端に二重結合が存在することが必要であるが、それ以外は特に制限はない。例えば、用いる化合物において官能基と二重結合部位との間がどのような構造であってもよい。なお、官能基は一つとは限らず、複数であってもかまわない。また、複数の異なる種類の官能基を固定化してもかまわない。

例えばエポキシ基またはカルボキシル基等の官能基を固定化する反応過程では、ＴＭＣＴＳに含まれるＳｉ－Ｈの部分と、エポキシ基またはカルボキシル基等の官能基を含む化合物の二重結合部とが相互に反応して官能基が粒子表面に導入されることになる。具体的な操作としては、前処理工程で得られた粒子を溶媒中に分散させ、加温状態で、反応触媒と固定化すべき官能基を持つ化合物とを添加し、数時間反応させる。用いる溶媒は、固定化すべき官能基を持つ化合物が溶解できると共に、６０℃以上に加温でも安定した反応速度が得られるものであれば、い

ずれの種類の溶媒であってもよく、例えば、水、エチレングリコールなどが挙げられる。同様に、反応触媒も上述の反応を促進させるものであれば、いずれの種類の触媒を用いてもよく、例えば、塩化白金酸などを用いることができる。

次に、以下では、「ポリマーが粒子本体に被着している粒子」の態様について説明する。

ある好適な態様では、ポリマーが粒子本体の表面の一部に被着しており、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」が粒子本体またはポリマーの表面に固定化されている。また、別の態様では、ポリマーが粒子本体の表面全体を被覆しており、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」がポリマーの表面に固定化されている。ポリマーが粒子本体の表面全体を被覆している場合、粒子の有する形態に基づいて、本発明の粒子を「内包粒子」または「コアーシェル構造の粒子」と呼ぶこともできる。

粒子本体表面に被着しているポリマーは、「標的物質が結合可能な物質」または「標的物質が結合可能な官能基」の固定化に寄与するものが好ましく、「標的物質が結合可能な物質」または「標的物質が結合可能な官能基」の種類、粒子の使用条件、その他必要な特性等により、任意に選択することができる。代表的な被着ポリマーを例示すれば、ポリスチレンまたはその誘導体、ポリ（メタ）アクリル酸、ポリ（メタ）アクリル酸エステル、ポリビニルエーテル、ポリウレタン、ポリアミド、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリアリルアミンおよびポリエチレンイミンから成る群から選択される少なくとも１種以上の合成高分子化合物を挙げることができる。なお、このような合成高分子化合物に限定されず、これらの変性物または共重合体であってもかまわない。更には、ヒドロキシアルキルセルロース、カルボキシアルキルセルロースもしくはアルギン酸ナトリウム等の半合成高分子化合物、または、キトサン、キチン、デンプン、ゼラチンもしくはアラビアゴム等の天然高分子化合物等のポリマーであってもかまわない。尚、「標的物質が結合可能な物質」または「標的物質が結合可能な官能基」が結合または付着できる官能基が予め導入されているポリマーであってもよい。

粒子表面または粒子内部からの金属イオン（即ち、粒子本体を構成している金属のイオン）の溶出を抑えることを主たる目的とする場合には、粒子本体を構成

する各種分子または金属イオン等が透過しにくい被着ポリマーを選択すればよく、例えば、水系で粒子を使用する場合には、水が透過しにくいポリスチレン、ポリメタクリル酸アルキル、ポリビニルエーテルまたはポリ酢酸ビニルなどのポリマーを選択すればよい。

本明細書において「被着」とは、粒子表面の少なくとも一部にポリマーが付着または存在している態様を実質的に意味しており、ポリマーが必ずしも粒子本体の表面全体に付着または存在してなくてもよい。但し、好ましい態様では、粒子本体がポリマー被膜に内包されるように、粒子本体の表面全体がポリマーで被覆されている。粒子本体の表面全体がポリマーで被覆されていると、ポリマー表面に固定化すべき「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」をより多くすることができる点で好ましいだけでなく、粒子本体の構成材料に起因する金属イオン（即ち、粒子本体を構成する金属のイオン）等の溶出をより抑えることが可能となる点で好ましい。

ポリマーを粒子本体に被着させる手法は、特に制限されるものではなく、ポリマーを粒子本体表面に付着することができるものであれば、いずれの手法を用いてもよい。例えば、以下の手法を挙げることができる。

（１）前駆体粒子の表面から重合を開始する手法

（２）前駆体粒子の存在下で重合を行い、重合物を粒子表面に析出させる手法

（３）モノマーエマルジョン中に前駆体粒子を内包して重合を行う手法

（４）予め重合して得ておいたポリマーの溶液に前駆体粒子を混合させ、粒子表面にポリマーを析出させる手法

上記手法をより具体的に説明すると、（１）の手法では、前駆体粒子の表面に開始剤や連鎖移動剤を結合または吸着させて、粒子表面からポリマーを伸張させることによって、前駆体粒子の表面にポリマーを被着させる。（２）の手法では、重合反応の進行とともに析出するモノマーを用いて前駆体粒子の存在下で重合を行うことによって、前駆体粒子の表面にポリマーを被着させる。ポリマーと粒子とが引き合うように各々の電荷を選択したり、粒子表面に重合性二重結合を固定しておく等によって被着をより効率的に行うことができる。（３）の手法では、モノマーエマルジョンを形成し得るモノマーと溶剤との組合せを選択し、それに

より得られるモノマーエマルジョン中に前駆体粒子を内包させて重合することによって、粒子表面にポリマーを被着させる。この場合、前駆体粒子がモノマーエマルジョン中に優先的に存在するように、モノマーに馴染みをよくする表面処理や界面活性剤等を用いるとよい。また、（４）の手法では、ポリマー溶液中に前駆体粒子を混入し、貧溶剤を加えたり、ｐＨを変化させたり、塩を多量に加えたりすることによってポリマーの溶解性を低下させて析出させることによって、前駆体粒子の表面にポリマーを被着させる。この場合も電荷の選択や重合性二重結合の固定等の手法は有効である。また、前駆体粒子を電荷の異なるポリマー溶液に交互に浸して、粒子表面に積層を形成してもよい。

尚、上述のような手法では、マイクロカプセル化手法、エマルジョン重合等の種々の方法が従来公知であり、それらを用いて実施することができる。

ポリマーの被着処理に先立って、前駆体粒子の表面に特定の処理を施してもよい。例えば、磁性化処理の他、金属もしくは無機物によるコート処理、界面活性剤の吸着処理、シランカップリング剤もしくはチタンカップリング剤等の反応性物質を用いた処理、シロキサン被覆処理およびシロキサン中のＳｉ－Ｈへの官能基導入処理（ヒドロシリル化反応）、酸処理もしくはアルカリ処理、溶剤洗浄処理、または、研磨処理等を施してもよい。これらの処理により、前駆体粒子の表面の汚れの除去、前駆体粒子の表面の電荷の制御、粒子表面への反応性官能基の導入が行われるので、ポリマーの被着効率が向上したり、被着ポリマーと粒子表面との密着性が向上したりする。尚、シロキサンまたはシランカップリング剤等の珪素含有物質を用いた場合では、本発明の粒子の本体表面には「標的物質が結合可能な物質または官能基」および被着ポリマーの他に、かかる珪素含有物質が存在すること（例えば、珪素化合物が粒子本体表面と被着ポリマー表面との間に介在し得ること）になることを理解されよう。開始剤および／または重合性二重結合を前駆体粒子の表面に予め結合または吸着させて重合を行うと、被着ポリマーの表面析出が生じやすくなるので、ポリマーの被着処理に有利となり得る。その他、非特異結合の低減、金属イオン等の溶出の抑制、密度の調整、色や蛍光等の付与等、別の特性を付与するための処理を施してもよい。

被着ポリマーには架橋処理を施してもよい。被着ポリマーが架橋されると、被

着ポリマーの耐久性、耐溶剤性または低膨潤性等の特性が向上し得る。架橋の方法は特に制限されないが、代表的な手法を分類すると、以下のようになる。

（1）a．前駆体粒子へのポリマー被着処理に際して架橋、b．被着処理後に架橋

（2）a．架橋剤を添加（室温や低温で進行する架橋も含む）、b．架橋性官能基をポリマー中に導入

（3）a．熱架橋、b．放射線架橋

上記手法（1）、（2）および（3）は種々に組み合わせることができることに留意されたい。例えば、（1）aかつ（2）aかつ（3）aの3つを組み合わせる例としては、前駆体粒子の表面から重合を開始したり重合物を前駆体粒子の表面に析出させたりしてポリマーを被着させる処理に際して2官能性のモノマーを含めて加熱処理を行う手法、または、モノマーエマルジョン中に前駆体粒子を内包して重合を行う処理に際して2官能性のモノマーを含めて加熱処理を行う手法を挙げることができる。また、（1）bかつ（2）aかつ（3）aの3つを組み合わせる例としては、カルボキシル基を有するポリマーの析出またはカルボキシル基を有するモノマーの重合によって前駆体粒子を被着させる系において、被着後に多官能性エポキシ架橋剤を添加し、熱を加えて架橋させる手法を挙げることができる。なお、同様の系においてカルボキシル基の代わりに水酸基、エポキシ架橋剤の代わりにイソシアネート架橋剤を用いて架橋させる手法も考えられる。（2）bに属する例としては、被着ポリマー中にエポキシ基、イソシアネート基または二重結合等を導入する手法が挙げられる。ここで、エポキシ基またはイソシアネート基の導入には（3）aを用いることができ、二重結合の導入には（3）bを用いることができる。

被着ポリマーが用いられる場合、本発明の粒子の本体表面および／または被着ポリマー表面に「標的物質が結合可能な物質」または「標的物質が結合可能な官能基」が固定化されていることを理解されよう。

粒子本体の表面に被着ポリマーを設ける態様において「標的物質が結合可能な官能基」を固定化させる手法は、特に制限されるものではなく、「標的物質が結合可能な官能基」を粒子本体に結合または付着させることができるものであれば、

いずれの手法を用いてもよい。更に、「標的物質が結合可能な官能基」の固定化は、ポリマーの被着処理前、被着処理中または被着処理後のいずれに行ってもよい。

粒子本体の表面に被着ポリマーを設ける態様において「標的物質が結合可能な官能基」を固定化させる手法としては、例えば、被着すべきポリマーの重合反応に際して、「標的物質が結合可能な官能基」を有するモノマーを重合または共重合させる方法がある。この場合、「標的物質が結合可能な官能基」を有するモノマーの例としては、（メタ）アクリル酸、（メタ）アクリル酸グリシジル、（メタ）アクリル酸ヒドロキシアルキル、（メタ）アクリル酸ジメチルアミノアルキル、（メタ）アクリル酸イソシアナートアルキル、ｐ－スチレンスルホン酸（塩）、ジメチロールプロパン酸、Ｎ－アルキルジエタノールアミン、（アミノエチルアミノ）エタノールまたはリジン等を挙げることができる。

粒子本体の表面に被着ポリマーを設ける態様において「標的物質に対する結合性がより高い官能基」を固定化したい場合には、上記手法で被着ポリマーに導入された官能基ａに対して反応性を有する他の官能基ｂと「標的物質に対する結合性がより高い官能基ｃ」との２つの官能基を有する化合物を、粒子に付加的に導入してもよい。この場合、官能基ａと官能基ｂとが結合することによって、「標的物質に対する結合性がより高い官能基ｃ」が固定化された粒子を得ることができる。また、被着ポリマー表面と「標的物質が結合可能な官能基」との間を離したい場合または粒子本体表面と「標的物質が結合可能な官能基」との間を離したい場合（即ち、「リンカー」を導入したい場合）にも同様に、導入された官能基ａに対して反応性を有する他の官能基ｂと「標的物質が結合可能な官能基」との２つの官能基を有する化合物を、官能基ａが導入された粒子に付加的に導入してもよい（この場合も同様に、官能基ａと官能基ｂとの結合を介して「標的物質が結合可能な官能基」が粒子に固定化される）。尚、このような化合物の導入を２回以上繰り返し行って、リンカーをより長くしてもよい。被着ポリマー表面と「標的物質が結合可能な官能基」との間がより離れると、又は、粒子本体表面と「標的物質が結合可能な官能基」との間がより離れると、「標的物質が結合可能な官能基」の自由度が高まって、その反応性が向上するだけでなく、標的物質の

自由度も高まって標的物質の機能が抑制されない等の有利な効果を期待できる。被着ポリマー主鎖から官能基までの原子数をリンカーの長さと定義すると、リンカーの長さは原子５個以上５０個以下で上記の効果が特に期待できる。ちなみに、リンカーの主鎖としては、生態関連物質等の非特異吸着性の低いもの（例えばポリエチレングリコール鎖）を用いることが特に好ましい。

粒子本体の表面に被着ポリマーを設ける態様において「標的物質が結合可能な物質」を固定化させる手法は、特に制限されるものではなく、「標的物質が結合可能な物質」を粒子に結合または付着させることができるものであれば、いずれの手法を用いてもよい。「標的物質が結合可能な物質」の固定化も、ポリマーの被着処理前、被着処理中または被着処理後のいずれに行ってもよい。

例えば、上述の「標的物質が結合可能な官能基」を導入する手法と同様な手法で、「標的物質が結合可能な物質」を粒子に固定化させることができる。一例を挙げると、「標的物質が結合可能な物質」と結合性を有する官能基を粒子本体表面または被着ポリマー表面に予め導入し、その官能基を介して「標的物質が結合可能な物質」を粒子に固定化することができる。また、被着ポリマーとして疎水性ポリマーを用い、「標的物質が結合可能な物質」として疎水性のものを用いると、水中においては疎水性の物質同士が吸着する所謂「疎水性相互作用」が生じることになるので、疎水性の「標的物質が結合可能な物質」を被着ポリマー表面に固定化させることができる。

次に、以下において、本発明の粒子と標的物質との結合態様について説明する。本発明の粒子と標的物質とを共存させると、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」と標的物質との間に働く吸着力または親和力によって、標的物質が粒子に結合することになる。以下分類して説明するため、「吸着」を「化学吸着」と同義とする。

「吸着力」に起因して、標的物質が粒子に結合する態様の一例としては、「標的物質」がアビジンであり、粒子本体がジルコニアから形成されており、「標的物質を結合させることができる物質または官能基」がエポキシ基である場合である。

「親和力」に関しては、標的物質との間に働く親和力の種類に基づいて、粒子

本体表面に固定化されている「標的物質を結合させることができる物質または官能基」を大きく次の５つに分類できる（尚、各分類において挙げる物質または官能基は、あくまでも例示にすぎず、その他の物質または官能基も考えられることに留意されたい）。尚、そのような親和力に起因する場合、「標的物質を結合させることができる物質または官能基」は、以下では「親和性を有する物質または官能基」と呼ぶ。

（１）標的物質との間に働く親和力が、静電相互作用、π－π相互作用、π－カチオン相互作用または双極子相互作用に起因する「親和性を有する物質または官能基」の例

シリカ、活性炭、スルホン酸基、カルボキシル基、ジエチルアミノエチル基、トリエチルアミノエチル基、フェニル基、アルギニン、セルロース、リジン、ポリリジン、ポリアミド、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）、クラウンエーテルもしくはπ電子を有する環状化合物、または、それらの官能基誘導体、酸素結合体もしくは蛍光プローブ結合体など

（２）標的物質との間に働く親和力が疎水相互作用に起因する「親和性を有する物質または官能基」の例

アルキル基、オクタデシル基、オクチル基、シアノプロピル基もしくはブチル基またはフェニル基、または、それらの官能基誘導体、酸素結合体もしくは蛍光プローブ結合体など

（３）標的物質との間に働く親和力が水素結合に起因する「親和性を有する物質または官能基」の例

ＤＮＡ、ＲＮＡ、Ｏｌｉｇｏ（ｄＴ）、キチン、キトサン、アミロース、セルロース、デキストリン、デキストラン、プルラン、多糖、リジン、ポリリジン、ポリアミド、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）もしくはβ-グルカン、または、それらの官能基誘導体、酸素結合体もしくは蛍光プローブ結合体など

（４）標的物質との間に働く親和力が配位結合に起因する「親和性を有する物質または官能基」の例

イミノジ酢酸、ニッケル、ニッケルイオン、ニッケル錯体、コバルト、コバルトイオン、コバルト錯体、銅、銅イオンもしくは銅錯体、または、それらの酸素結

合体もしくは蛍光プローブ結合体など

（５）標的物質との間に働く親和力が生化学的相互作用に起因する「親和性を有する物質または官能基」の例（生化学的相互作用：生体分子に関する相互作用を含むものであって、抗原・抗体反応、リガンド・レセプター結合、水素結合、配位結合、疎水相互作用、静電相互作用、π－π相互作用、π－カチオン相互作用、双極子相互作用およびファンデルワールス力などが単独または二種以上で連係して働く相互作用）

抗原、抗体、レセプター、リガンド、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンニュートラアビジン、シリカ、活性炭、ケイ酸マグネシウム、ハイドロキシアパタイト、アルブミン、アミロース、セルロース、レクチン、プロテインA、プロテインG、Sタンパク質、デキストリン、デキストラン、プルラン、多糖、カルモジュリン、ニッケル、ニッケルイオン、ニッケル錯体、コバルト、コバルトイオン、コバルト錯体、銅、銅イオン、銅錯体、ゼラチン、N-アセチルグルコサミン、イミノジ酢酸、アミノフェニルホウ酸、エチレンジアミン二酢酸、アミノベンズアミジン、アルギニン、リジン、ポリリジン、ポリアミド、ジエチルアミノエチル基、トリエチルアミノエチル基、ＥＣＴＥＯＬＡ-セルロース、フィブロネクチン、ビトロネクチン、アルギニン-グリシン-アスパラギン（ＲＧＤ）酸配列を含むペプチド、ラミニン、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）、コラーゲン、コンカナバリンA、アデノシン５’リン酸（ＡＴＰ）、ＡＤＰ、ＡＴＰ、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、アクリジン色素、アプロチニン、オボムコイド、トリプシンインヒビターやプロテアーゼインヒビター等のインヒビター類、ホスホリルエタノールアミン、フェニルアラニン、プロタミン、シバクロンブルー、プロシオンレッド、ヘパリン、グルタチオン、ＤＩＧ、ＤＩＧ抗体、ＤＮＡ、ＲＮＡ、Ｏｌｉｇｏ（ｄＴ）、キチン、キトサン、β-グルカン、リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、ヒアルロン酸、エラスチン、セリシンもしくはフィブロイン、または、それらの官能基誘導体、酸素結合体もしくは蛍光プローブ結合体など

上述の分類から分かるように、本明細書で用いる「親和性を有する」とは、標的物質と粒子に固定化される物質または官能基との間に、静電相互作用、π－π

相互作用、π－カチオン相互作用、双極子相互作用、疎水相互作用、生化学的相互作用、水素結合または配位結合などがもたらされることを実質的に意味している。粒子本体に固定化される物質または官能基の種類によっては、上述の親和性を２種以上兼ね備える場合があり、上述の分類で重複する物質または官能基が存在する場合がある点に留意されたい。また、上述の分類に必ずしも限定される必要はなく、標的物質に対して作用し、標的物質を粒子表面またはその近傍に存在させる機能を有するものであれば、いずれの物質または官能基を粒子に固定化させてもよい（一例を挙げるとすると、標的物質との相補的な形状に起因して親和性を有するものが考えられる）。

前駆体となる粒子の表面に「標的物質に対して親和性を有する物質または官能基」を固定化させる態様または方法は何ら制限されるものではない。例えば、高分子、無機化合物、低分子リンカーまたはカップリング剤等を介在させることによって、「標的物質に対して親和性を有する物質または官能基」を未固定の粒子表面に結合作用、吸着作用または吸収作用で固定化することができる。また、粒子の一般的な被覆法を用いることによっても「標的物質に対して親和性を有する物質または官能基」を未固定の粒子表面に固定化することができる。

「標的物質に対して親和性を有する物質」を粒子本体に固定化させる手法の一例を説明する。例えば、「標的物質に対して親和性を有する物質」として抗体を用いた場合、前述のシロキサンを用いた官能基の固定化の手法によって、シロキサンのＳｉ－Ｈの部分に二重結合とエポキシ基有する化合物（グリシジルメタクリレート）を反応させ、粒子表面にエポキシ基を固定化する。さらに、得られた粒子を水中で抗体と撹拌することによって、抗体を粒子に固定化できる。

また、「標的物質に対して親和性を有する官能基」を粒子表面に固定化する手法も、例えば、前述したようなシロキサンを用いた手法で行うことができる。

次に、以下において、本発明の粒子を用いた分離方法について詳細に説明する。かかる分離方法は、上述した本発明の粒子を用いて、試料中から標的物質を分離する又は標的物質を固定した粒子を得る方法である。本発明の分離方法は、

（ｉ）標的物質を含んで成る試料と本発明の粒子とを接触させ、粒子と標的物質とを結合させる工程、

（ｉｉ）試料を静置に付して、試料中で粒子を自然沈降させる工程、および

（ｉｉｉ）試料中で沈殿した粒子を回収することによって、標的物質を試料から分離する又は標的物質を固定した粒子を得る工程

を含んで成る。

工程（ｉ）では、標的物質を含んで成る試料と本発明の粒子とが接触し、粒子と標的物質とが相互に結合される（図１（ａ）参照）。例えば、標的物質を含んで成る試料に対して粒子を供給することによって、試料と粒子とを接触させる。結合が促進されるように、必要に応じて、攪拌処理を施してもよい。供される粒子は、一般的には、単一の粒子ではなく、上述したような平均サイズ１μｍ～１ｍｍの粒子が複数個存在する粉末形態の粒子として供給され得る。供される粉末形態の粒子の量は、試料の種類や分離用途などとの関係で決まってくるものであり、総括的に特定できるものではないが、例を挙げるとすると、一粒子から使用でき、分析、研究用途ではグラム単位まで（10^{-2}ｇ～10^{3}ｇ程度）となり、工業的に利用する場合はキログラム単位（１～10^{3}ｋｇ程度）からトン単位（１～１０ｔ程度）までとなり得る。

工程（ｉｉ）にて粒子の自然沈降がもたらされるように、標的物質を含んで成る試料は、例えば、ビーカー、メスシリンダー、試験管、マイクロチューブ、バイオチップ、化学チップ、μ-TASチップなどに仕込んだ状態で用いることが好ましい。

標的物質と粒子との間の結合は、それらの間に働く吸着力または親和力によって引き起こされる。より具体的には、粒子本体に固定化されている「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」と標的物質との間で吸着力または親和力が働くことによって、標的物質と粒子とが相互に結合する。尚、試料中に供する粉末形態の粒子の量によっては、標的物質の結合に寄与しない粒子も存在し得る（例えば粒子を過剰に供給した場合）。尚、本発明の方法で用いる粒子は、標的物質以外の物質が粒子に結合する非特異結合を抑えることができる粒子である。従って、試料中に標的物質以外の物質が含まれていても、標的物質を優先的に粒子に結合できる。

標的物質は、前述したように、例えば、核酸、蛋白質（例えばアビジンおよび

ビオチン化ＨＲＰなども含む）、糖、脂質、ペプチド、細胞、真菌、細菌、酵母、ウィルス、糖脂質、糖蛋白質、錯体、無機物、ベクター、低分子化合物、高分子化合物、抗体または抗原等である。また、試料は、前述したように、例えば、ヒト又は動物の尿、血液、血清、血漿、精液、唾液、汗、涙、腹水、羊水等の体液；ヒト又は動物の臓器、毛髪、皮膚、爪、骨、筋肉又は神経組織等の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；便懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；培養細胞又は培養組織の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；ウィルスの懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；菌体の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；土壌懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；植物の懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；食品・加工食品懸濁液、抽出液、溶解液又は破砕液；排水等である。

工程（ｉｉ）では、粒子が供された試料を静置に付して、試料中で本発明の粒子を自然沈降させる（図１（ｂ）参照）。本発明の方法で用いる粒子は、上述したような密度特性および比表面積特性を有するものであるため、比較的速い自然沈降速度が得られる。換言すれば、用いる粒子の密度が大きいだけでなく、粒子の比表面積が０．０００５m^2／ｇ～１．０m^2／ｇと比較的小さく実質的に非多孔質とみなすことができるので、標的物質を含んだ試料に粒子を供する際に空気などの気体が粒子内部に取り込まれた状態となることが抑制される（即ち、気体が粒子内部に存在し得ないので、気体に起因した浮力作用などの影響を排除することができる）。その結果、粒子を自然沈降させるだけでも十分な分離速度を得ることができる。

工程（ｉｉｉ）では、試料中で沈殿した本発明の粒子（図１（ｃ）参照）が回収されることによって、標的物質が試料から分離される又は標的物質が固定された粒子が得られる。例えば、自然沈降に起因して試料の下方領域または容器の底領域に粒子が沈殿するので、上澄みが試料の上方領域に形成される。従って、かかる上澄みをピペットなどで吸引除去することによって、試料中で沈殿した粒子を回収することができる。回収された粒子には、上述したように標的物質が結合しているので、粒子の回収によって標的物質が試料から分離されることになる。

このように本発明の方法では、試料中の標的物質を分離できたり、あるいは、標的物質が固定化された粒子を得ることができるので、それらを応用することに

よって、細胞、蛋白質、核酸または化学物質等の種々の標的物質の分析、抽出、精製および反応等が可能となる。より具体的に言うと、上述のような標的物質の分離、固定化を行う方法以外にも、標的物質の分析、抽出、精製または反応などを行う方法が可能となる。例えば、「標的物質の分析を行う方法」では、標的物質として「検出対象物質と結合可能な抗体」が固定された粒子をチップ内に装填した形態で、チップ内に検出対象物質を注入することにより、チップ内粒子に検出対象物質を固定し、さらに検出対象物質に結合する酵素、蛍光色素、磁性体などを結合させた抗体をマーカーとして検出対象物質量を吸光、化学発光、蛍光、または磁気などにより検出する。以上の方法により、検出対象物質を定量分析または定性分析することができる。また、検出対象物質が核酸である場合には、標的物質として「検出対象核酸と結合可能な核酸」が固定された粒子を装填した形態で、酵素または蛍光色素が固定された検出対象核酸をチップ内に注入することにより、チップ内粒子に検出対象核酸を固定し、検出対象核酸量を吸光、化学発光、蛍光、または磁気などにより検出することにより検出対象核酸を定量分析または定性分析することができる。この際、各反応段階においてチップ上に複数個ある反応槽のうち同一箇所で実施しても、別の箇所で実施してもかまわない。また、チップ上に複数個ある反応槽間の移動、もしくは各反応槽中での撹拌に重力を用いることが可能である。また、「標的物質の抽出を行う方法」または「標的物質を精製する方法」では、上述した本発明の方法の工程（ｉｉｉ）の分離のあとに、標的物質を粒子からはずし遊離させる物質を用いる、または必要な加熱、冷却などの処理を行うことにより、標的物質を抽出または精製することができる。更に、「標的物質の反応を行う方法」では、チップ内に標的物質と結合可能な物質が固定された粒子を装填した形態でチップ内に標的物質を注入することによりチップ内粒子に標的物質を固定し、チップ上に複数個ある反応槽の各所において混合、加熱、撹拌、紫外線照射などを行うことで、標的物質の反応を実施できる。この際、チップ上に複数個ある反応槽間の移動、もしくは各反応槽中での撹拌に重力を用いることが可能である。また、酵素や触媒を粒子に固定して、重力を利用して反応系に投入することも可能である。

以上、本発明の実施形態について説明してきたが、本発明はこれに限定されず、

種々の改変がなされ得ることを当業者は容易に理解されよう。

例えば、（１）標的物質の分離に際して粒子への非特異結合または非特異吸着を更に抑えるために、（２）粒子の親和性を制御するために、または（３）官能基を導入するための基材として用いるために、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリアクリル酸、ポリ（2-エチル-2-オキサゾリン）、ポリジメチルアクリルアミド、デキストラン、プルラン、アガロース、セファロース、アミロース、セロビオース、キチン、キトサン、多糖、正常血清、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン、脱脂粉乳およびこれらの官能基誘導体から成る群から選択される少なくとも１種以上の物質を粒子本体表面に付着させてもよい。付着方法としては、特に限定されるものではなく、粒子の一般的な被覆法を用いてよい。例えば、ポリエチレングリコールを用いた場合では、粒子本体の表面には「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」が固定化されていると共に、かかるポリエチレングリコールが存在することになる。

尚、上述のような本発明は、次の態様を包含する：

第１の態様：標的物質が結合できる粒子であって、

「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」が粒子本体の表面に固定化されており、

粒子の密度が３．５ｇ／ｃｍ^3～９．０ｇ／ｃｍ^{3}であり、また

粒子本体が貫通孔を有さないことを特徴とする粒子。

第２の態様：上記第１の態様において、粒子の比表面積が０．０００５ｍ^2／ｇ～１．０ｍ^2／ｇであることを特徴とする粒子。

第３の態様：上記第１または２の態様において、粒子本体の表面の一部にポリマーが被着しており、

「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」が粒子本体またはポリマーの表面に固定化されていることを特徴とする粒子。

第４の態様：上記第３の態様において、ポリマーが粒子本体の表面全体を被覆しており、

「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」がポリマーの表面に固

定化されていることを特徴とする粒子。

第５の態様：上記第３または４の態様において、ポリマーが、ポリスチレン、ポリ（メタ）アクリル酸、ポリ（メタ）アクリル酸エステル、ポリビニルエーテル、ポリウレタン、ポリアミド、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリアリルアミンおよびポリエチレンイミンから成る群から選択される少なくとも１種以上のポリマーであることを特徴とする粒子。

第６の態様：上記第３～５の態様のいずれかにおいて、ポリマーが、架橋されていることを特徴とする粒子。

第７の態様：上記第１～６の態様のいずれかにおいて、粒子が非多孔質であることを特徴とする粒子。

第８の態様：上記第１～７の態様のいずれかにおいて、粒子本体が、ジルコニア（酸化ジルコニウム、イットリウム添加酸化ジルコニウム）、酸化鉄およびアルミナから成る群から選択される少なくとも１種以上の材料から形成されていることを特徴とする粒子。

第９の態様：上記第１～８の態様のいずれかにおいて、磁性を有することを特徴とする粒子。

第１０の態様：上記第９の態様において、飽和磁化が０．５～８５Ａ・m^2／ｋｇであることを特徴とする粒子。

第１１の態様：上記第１～１０の態様のいずれかにおいて、粒子の平均サイズが１μｍ～１ｍｍであることを特徴とする粒子。

第１２の態様：上記第１～１１の態様のいずれかにおいて、「標的物質を結合させることが可能な物質」が、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンおよびニュートラアビジンから成る群から選択される少なくとも１種以上の物質であることを特徴とする粒子。

第１３の態様：上記第１～１１の態様のいずれかにおいて、「標的物質を結合させることが可能な官能基」が、カルボキシル基、水酸基、エポキシ基、トシル基、スクシンイミド基、マレイミド基、チオール基、チオエーテル基、ジスルフィド基、アルデヒド基、アジド基、ヒドラジド基、一級アミノ基、二級アミノ基、三級アミノ基、イミドエステル基、カルボジイミド基、イソシアネート基、ヨー

ドアセチル基、カルボキシル基のハロゲン置換体、および、二重結合から成る群から選択される少なくとも１種以上の官能基であることを特徴とする粒子。

第１４の態様：上記第３～１３の態様のいずれかにおいて、粒子本体の表面および／またはポリマーの表面の少なくとも一部に珪素含有物質および／またはポリエチレングリコールが存在することを特徴とする粒子。

第１５の態様：上記第１～１４の態様のいずれかにおいて、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」と標的物質との間に働く吸着力または親和力によって、標的物質が粒子に結合できることを特徴とする粒子。

第１６の態様：上記第１５の態様において、「標的物質を結合させることが可能な物質または官能基」と標的物質との間に働く親和力が、静電相互作用、π－π相互作用、π－カチオン相互作用、双極子相互作用、疎水相互作用、水素結合、配位結合または生化学的相互作用に起因することを特徴とする粒子。

第１７の態様：上記第１～１６の態様のいずれかの粒子を用いて、試料中から標的物質を分離する又は標的物質を固定した粒子を得る方法であって、

（ｉ）標的物質を含んで成る試料と粒子とを接触させ、粒子と標的物質とを結合させる工程、

（ｉｉ）試料を静置に付して、試料中で粒子を自然沈降させる工程、および

（ｉｉｉ）試料中で沈殿した粒子を回収することによって、試料から標的物質を分離する又は標的物質を固定した粒子を得る工程

を含んで成る方法。

第１８の態様：上記第１７の態様の方法を利用して標的物質の分析、抽出、精製または反応を行う方法。

産業上の利用の可能性

本発明の粒子は、細胞、蛋白質、核酸または化学物質等の標的物質の定量、分離、精製および分析等に利用できる。例えば、本発明の粒子は、ＤＮＡ等の核酸を結合させることができ、結果的にＤＮＡの解析に用いることができるので、テーラーメード医療技術にも資するものである。

実施例

粒子の分離速度および非特異結合特性を確認するために、以下に示す実施例および比較例を実施した。

《粒子の調製》

実施例１～１６および比較例１～９では粒子を以下のように調製した。

（実施例１）

実施例１で調製した粒子は、水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_1である。まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_1を用意した。かかる粒子p_1は、粒径５０μｍ、比表面積０．０２m^2／ｇ、密度６ｇ／ｃm^3であった。１ｇの粒子p_1をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子p_1を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子p_1が疎水性に変化し、粒子p_1が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_1を得た。かかる粒子P_1は親水性であった。粒子P_1の比表面積は０．０２m^2／ｇであって、密度は６ｇ／ｃm^3、粒径は約５０μｍであった（粒子P_1の粒径とジルコニア粒子p_1の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例２）

実施例２で調製した粒子は、水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_2である。粒子P_2が磁性を有している点で実施例１の粒子P_1と異なっている。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_2を用意した。

かかる粒子p_2は、粒径５０μｍ、比表面積０．０２m^2／ｇ、密度６ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子p_2を水中に分散させ、得られる分散液に対してシランカップリング剤（信越化学工業製、ＫＢＭ－９０３）を添加することによって、粒子p_2の表面にシランカップリング剤を被着させた。次いで、シプレーファーイスト製Ｐｄ触媒Ｃａｔａｌｙｓｔ－６Ｆを加えて粒子p_2の表面にメッキ核を生成させた。得られた粒子を１．２Ｎ塩酸を用いて洗浄した後、奥野製薬製ニッケルメッキ液トップニコロンＬＰＨを用いて、粒子表面にて磁性ニッケルメッキ層を生成させ、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付した。これ以降は、実施例１と同様の処理を実施して、水酸基が固定化された粒子P_2を得た。つまり、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。その後、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_2を得た。かかる粒子P_2は親水性であった。粒子P_2の比表面積は０．０２m^2／ｇであって、密度は６ｇ／cm^3、粒径は約５０μｍであった（粒子P_2の粒径とジルコニア粒子p_2の粒径との差は測定誤差範囲内）。尚、この粒子P_2の飽和磁化量を測定したところ４．５Ａ・m^2／ｋｇであった。

（実施例３）

実施例３で調製した粒子は、水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_3である。実施例１とは粒子の調製方法が異なっている。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_3を用意した。かかる粒子p_3は、粒径５０μｍ、比表面積０．０２m^2／ｇ、密度６ｇ／cm^3であった。１０ｇの粒子p_3を純水２５ｇに分散させ、得られる分散液に対して、末端にエポキシ基を有する３－グリシドキシプロピルトリメトキシシラン３ｇを添加して４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。そして、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水

酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_3を得た。かかる粒子P_3は親水性であった。粒子P_3の比表面積は０．０２m^2／ｇであって、密度は６ｇ／ｃm^3、粒径は約５０μｍであった（粒子P_3の粒径とジルコニア粒子p_3の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例４）

実施例４で調製した粒子は、水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_4である。実施例１および３とは粒子の調製方法が異なっている。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_4を用意した。かかる粒子p_4は、粒径５０μｍ、比表面積０．０２m^2／ｇ、密度６ｇ／ｃm^3であった。１０ｇの粒子p_4を純水２５ｇに分散させ、得られる分散液に対してテトラエトキシシラン５ｇおよびアンモニア水５ｇを添加して４時間撹拌した。その後、末端にエポキシ基を有する３－グリシドキシプロピルトリメトキシシラン３ｇを分散液に添加して３時間撹拌を行った。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間撹拌した。その後、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_4を得た。かかる粒子P_4は親水性であった。粒子P_4の比表面積は０．０２m^2／ｇであって、密度は６ｇ／ｃm^3、粒径は約５０μｍであった（粒子P_4の粒径とジルコニア粒子p_4の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例５）

実施例５で調製した粒子は、アビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_5である。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_5を用意した。かかる粒子p_5は、粒径５０μｍ、比表面積０．０２m^2／ｇ、密度６ｇ／ｃm^3であった。１０ｇの粒子p_5を純水２５ｇに分散させ、得られる分散液を撹拌しながら、末端にエポキシ基を有する３－グリシドキシプロピルトリメトキシシラン３ｇを分散液に添加して更に４時間撹拌した。次いで、アセトンで粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、エポキシ基を有するイットリウム添加ジルコニア粒子を得た。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を供し、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子$Ｐ_5$を得た。得られた粒子$Ｐ_5$の比表面積は０．０２$ｍ^2$／ｇであって、密度は６ｇ／$ｃｍ^3$、粒径は約５０μｍであった（粒子$Ｐ_5$の粒径とジルコニア粒子$ｐ_5$の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例６）

実施例６で調製した粒子は、アビジンが固定化されたアルミナ粒子$Ｐ_6$である。実施例５とは原料粒子および調製方法が異なっている。

まず、大明化学工業製のアルミナ粒子$ｐ_6$を用意した。かかる粒子$ｐ_6$は、粒径２００μｍ、比表面積０．００８$ｍ^2$／ｇ、密度３．６ｇ／$ｃｍ^3$であった。１ｇの粒子$ｐ_6$をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子$ｐ_6$を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子$ｐ_6$が疎水性に変化し、粒子$ｐ_6$が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたアルミナ粒子を得た。かかる粒子は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、

粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたアルミナ粒子P_6を得た。得られた粒子P_6の比表面積は０．００８m^2／ｇであって、密度は３．６ｇ／cm^3、粒径は約２００μｍであった（粒子P_6の粒径とジルコニア粒子p_6の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例７）

実施例７で調製した粒子は、アビジンが固定化された銅粒子P_7である。実施例６とは原料粒子が異なっている。

まず、日立金属製の銅粒子p_7を用意した。かかる粒子p_7は、粒径５０μｍ、比表面積０．０１３m^2／ｇ、密度８．９ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子p_7をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子p_7を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子p_7が疎水性に変化し、粒子p_7が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間撹拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間撹拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化された銅粒子を得た。かかる粒子は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩撹拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化された銅粒子P_7を得た。得られた粒子P_7の比表面積は０．０１３m^2／ｇであって、密度は８．９ｇ／cm^3、粒径は約５０μｍであった（粒子P_7の粒径とジルコニア粒子p_7の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例８）

実施例８で調製した粒子は、アビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_8である。　実施例６および実施例７とは原料粒子が異なっている。原料粒子がイットリウム添加ジルコニアから成る点で実施例５と同じであるが、実施例８は、実施例５とは異なる物性値を有するイットリウム添加ジルコニアを用いている。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_8を用意した。かかる粒子p_8は、粒径３０μｍ、比表面積０．０３m^2／ｇ、密度６ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子p_8をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子p_8を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子p_8が疎水性に変化し、粒子p_8が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間撹拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間撹拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子を得た。かかる粒子は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩撹拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_8を得た。得られた粒子P_8の比表面積は０．０３m^2／ｇであって、密度は６ｇ／cm^3、粒径は約３０μｍであった（粒子P_8の粒径とジルコニア粒子p_8の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例９）

実施例９で調製した粒子は、アビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_9である。原料粒子がイットリウム添加ジルコニアから成る点で実施例５および８と同じであるが、実施例９は、実施例５および８とは異なる物性値を有するイットリウム添加ジルコニアを用いている。

まず、ネツレン（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_9を用意した。かかる粒子p_9は、粒径１５μｍ、比表面積０．０４m^2／ｇ、密度６ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子p_9をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子p_9を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子p_9が疎水性に変化し、粒子p_9が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_9を得た。かかる粒子は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_9を得た。得られた粒子P_9の比表面積は０．０４m^2／ｇであって、密度は６ｇ／cm^3、粒径は約１５μｍであった（粒子P_9の粒径とジルコニア粒子p_9の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例１０）

実施例１０で調製した粒子は、エポキシ基が固定化されたポリスチレン被着ジルコニア粒子P_{10}である。かかる粒子は、粒子本体の少なくとも一部にポリマーが被着していることを特徴としている。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_{10}を用意した。かかるジルコニア粒子p_{10}は、粒径３０μｍ、比表面積０．０３m^2／ｇ、密度６ｇ／ｃm^3であった。３ｇのジルコニア粒子p_{10}を水／アルコール混合溶液中に分散させ、メタクリロキシプロピルトリメトキシシラン０．１３ｇを加えて３５℃で約３０分撹拌した。その後、窒素のバブリングを３０分行い、ｐ－スチレンスルホン酸ナトリウム０．１ｇ、過硫酸カリウム０．１ｇ、スチレンモノマー９．４ｇ、グリシジルメタクリレート１．４ｇを加えて７０℃で８時間反応させた。反応終了後、未反応物や沈降の遅い粒子を水洗浄によって除去することによって、エポキシ基が固定化されたポリスチレン被着ジルコニア粒子P_{10}を得た。得られた粒子P_{10}の比表面積は０．０５m^2／ｇであって、密度は５．５ｇ／ｃm^3、粒径は約３０μｍであった（粒子P_{10}の粒径とジルコニア粒子p_{10}の粒径との差は測定誤差範囲内）。尚、得られた粒子P_{10}の比表面積が原料粒子p_{10}の比表面積よりも増えているが、これは、一部のポリマーが粒状に被着したことが原因の１つとして考えられる。

（実施例１１）

実施例１１で調製した粒子は、アビジンが固定化されたポリスチレン被着ジルコニア粒子P_{11}である。エポキシ基の代わりにアビジンが固定化されている点が実施例１０の粒子P_{10}と異なっている。

実施例１０で得られた「エポキシ基が固定化されたポリスチレン被着ジルコニア粒子P_{10}」２００ｍｇを、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液に供し、一晩撹拌した。その後、１０ｍＭＰＢ.S溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたポリスチレン被着ジルコニア粒子P_{11}を得た。得られた粒子P_{11}の比表面積は０．０５m^2／ｇであって、密度は５．５ｇ／ｃm^3、粒径は約３０μｍであった（粒子P_{11}の粒径とジルコニア粒子p_{10}の粒径との差は測定誤差範囲内）。尚、得られた粒子P_{11}の比表

面積が原料粒子p_{10}の比表面積よりも増えているが、これは、実施例１０と同様、一部のポリマーが粒状に被着したことが原因の１つとして考えられる。

（実施例１２）

実施例１２で調製した粒子は、エポキシ基が固定化された架橋ポリスチレン被着ジルコニア粒子P_{12}である。被着ポリマーのポリスチレンが架橋されている点が実施例１０の粒子P_{10}と異なっている。

実施例１０のスチレンモノマーの架橋剤としてジビニルベンゼン０．３ｇを用いた以外は実施例１０と同様な処理を行うことによって、「エポキシ基が固定化された架橋ポリスチレン被着ジルコニア粒子P_{12}」を得た。得られた粒子P_{12}の比表面積は０．０５m^2／ｇであって、密度は５．５ｇ／ｃm^3、粒径は約３０μｍであった（粒子P_{12}の粒径とジルコニア粒子p_{10}の粒径との差は測定誤差範囲内）。尚、得られた粒子P_{12}の比表面積が原料粒子p_{10}の比表面積よりも増えているが、これは、実施例１と同様、一部のポリマーが粒状に被着したことが原因の１つとして考えられる。

（実施例１３）

実施例１３で調製した粒子は、エポキシ基が固定化されたポリスチレン被着の磁性ジルコニア粒子P_{13}である。粒子P_{13}が磁性を有している点で実施例１０の粒子P_{10}と異なっている。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_{13}を用意した。かかる粒子p_{13}は、粒径３０μｍ、比表面積０．０３m^2／ｇ、密度６ｇ／ｃm^3であった。１ｇの粒子p_{13}を水中に分散させ、得られる分散液に対してシランカップリング剤（信越化学工業製、ＫＢＭ－９０３）を添加することによって、粒子p_{13}の表面にシランカップリング剤を被着させた。次いで、シプレーファーイスト製Ｐｄ触媒Ｃａｔａｌｙｓｔ－６Ｆを加えて粒子p_{13}の表面にメッキ核を生成させた。得られた粒子を１．２Ｎ塩酸を用いて洗浄した後、奥野製薬製ニッケルメッキ液トップニコロンＬＰＨを用いて、粒子表面にニッケルメッキ層を生成させ、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付した。これ以降は、実施例１０と同様の処理を実施して、「エポキシ基が固定化されたポリスチレン被着の磁性ジルコニア粒子P_{13}を得た。得られた粒子P_{13}の比表面積は０．０５m^2

／ｇであって、密度は６．５ｇ／ｃｍ^3、粒径は３２μｍであった。また、この粒子Ｐ$_{13}$の飽和磁化量を測定したところ６．５Ａ・ｍ^2／ｋｇであった。尚、得られた粒子Ｐ$_{13}$の比表面積が原料粒子ｐ$_{10}$の比表面積よりも増えているが、これは、実施例１０と同様、一部のポリマーが粒状に被着したことが原因の１つとして考えられる。

（実施例１４）

実施例１４で調製した粒子は、「抗ヒトＣＲＰモノクローナル抗体６４０４」が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子Ｐ$_{14}$である。まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子ｐ$_{14}$を用意した。かかる粒子ｐ$_{14}$は、粒径５０μｍ、比表面積０．０２ｍ^2／ｇ、密度６ｇ／ｃｍ^{3}であった。１ｇの粒子ｐ$_{14}$をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子ｐ$_{14}$を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子ｐ$_{14}$が疎水性に変化し、粒子ｐ$_{14}$が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、その粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子Ｐ$_{14}$’を得た。かかる粒子Ｐ$_{14}$’は親水性であった。

この粒子Ｐ$_{14}$’にトシルクロライドを加え攪拌した。得られた粒子を洗浄し、トシル基活性化ジルコニア粒子を得た。このトシル基活性化ジルコニア粒子に抗ヒトＣＲＰモノクローナル抗体６４０４（ＭｅｄｉｘＢｉｏｃｈｅｍｉｃａ製）を固定化した。尚、ＨＲＰ－Ｒａｂｂｉｔ－Ａｎｔｉ－Ｍｏｕｓｅ　ＩｇＧ2ａ２次抗体（ＺＹＭＥＤ社製）による発色から粒子表面に抗ヒトＣＲＰモノクロー

ナル抗体６４０４が固定化されていることを確認した。以上の操作によって得られた粒子P_{14}の比表面積は、０．０２m^2／ｇであって、密度は６ｇ／cm^3、粒径は５０μｍであった。

（実施例１５）

実施例１５で調製した粒子は、水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_{15}である。実施例１とは粒子の調製方法が異なっている。

まず、ニッカトー（株）製のイットリウム添加ジルコニア粒子p_{15}を用意した。かかる粒子p_{15}は、粒径５０μｍ、比表面積０．０２m^2／ｇ、密度６ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子p_{15}を水中に分散させ、得られる分散液に対して、ＫＢＥ－４０２（信越化学工業製）をエタノールに混合させた溶液を滴下した。これにアンモニア水を加え、室温で４時間撹拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_{15}を得た。かかる粒子P_{15}は親水性であった。粒子P_{15}の比表面積は０．０２m^2／ｇであって、密度は６ｇ／cm^3、粒径は約５０μｍであった（粒子P_{15}の粒径とジルコニア粒子p_{15}の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（実施例１６）

実施例１６で調製した粒子は、実施例１の粒子にアビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_{16}である。

実施例１で得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を供し、一晩攪拌した。その後、１０mMＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたイットリウム添加ジルコニア粒子P_{16}を得た。得られた粒子P_{16}の比表面積は０．０２m^2／ｇであって、密度は６ｇ／cm^3、粒径は約５０μｍであった。

ちなみに、上述の実施例には、エポキシ基を有したシランカップリング剤を用いた例が含まれているが、シランカップリング剤として、メルカプト基、二重結合を有する官能基などを有したものを用いてもよいことに留意されたい。

（比較例１）

比較例１で調製した粒子は、水酸基が固定化された架橋アクリル粒子R_1である。

まず、綜研化学（株）製の架橋アクリル粒子r_1を用意した。かかる粒子r_1は、粒径３０μｍ、比表面積０．０３３m^2／ｇ、密度１．１９ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子r_1をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を１ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。次いで、１５０℃の恒温槽中で粒子を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子r_1が疎水性に変化し、粒子が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、２０ｍｇの塩化白金酸および１ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン２０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。その後、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化された架橋アクリル粒子R_1を得た。かかる粒子R_1は親水性であった。粒子R_1の比表面積は０．０３３m^2／ｇであって、密度は１．１９ｇ／cm^3、粒径は約３０μｍであった（粒子R_1の粒径とジルコニア粒子r_1の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（比較例２）

比較例２で調製した粒子は、アビジンが固定化された多孔質ゼオライト粒子R_2である。

まず、東ソー（株）製のゼオライト粒子（ＨＳＺ－７００）r_2を用意した。かかる粒子r_2は、粒径１８μｍ、比表面積１７０m^2／ｇ、密度２．３ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子r_2をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を２ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、

真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。次いで、１５０℃の恒温槽中で粒子を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子r_2が疎水性に変化し、粒子が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、２０ｍｇの塩化白金酸および２ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。そして、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン２０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。その後、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化された多孔質ゼオライト粒子r_2を得た。かかる粒子r_2は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化された多孔質ゼオライト粒子R_2を得た。得られた粒子R_2の比表面積は１７０m^2／ｇであって、密度は２．３ｇ／cm^3、粒径は約１８μｍであった（粒子R_2の粒径とジルコニア粒子r_2の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（比較例３）

比較例３で調製した粒子は、アビジンが固定化されたシリカ粒子R_3である。比較例２とは原料粒子が異なっている。

まず、ニップンテクノクラスタ製のシリカ粒子r_3を用意した。かかる粒子r_3は、粒径３．０μｍ、比表面積１．２m^2／ｇ、密度１．９６ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子r_3をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子を１．５時間加熱した。かかる処理によって、シリカ粒子r_3が疎水性に変化し、シリカ粒子r_3が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆

されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたシリカ粒子シリカ粒子r_3を得た。かかる粒子r_3は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたシリカ粒子R_3を得た。得られた粒子R_3の比表面積は１．２m^2／ｇであって、密度は１．９６ｇ／cm^3、粒径は約３．０μｍであった（粒子R_3の粒径とジルコニア粒子r_3の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（比較例４）

比較例４で調製した粒子は、アビジンが固定化されたタングステン粒子R_4である。比較例２および３とは原料粒子が異なっている。

まず、日立金属製のタングステン粒子r_4を用意した。かかる粒子r_4は、粒径１００μｍ、比表面積０．００３m^2／ｇ、密度１９．１ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子r_4をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子r_4が疎水性に変化し、粒子r_4が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製

ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面に水酸基が固定化されたタングステン粒子r_4を得た。かかる粒子r_4は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたタングステン粒子R_4を得た。得られた粒子R_4の比表面積は０．００３m^2／ｇであって、密度は１９．１ｇ／cm^3、粒径は約１００μｍであった（粒子R_4の粒径とジルコニア粒子r_4の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（比較例５）

比較例５で調製した粒子は、アビジンが固定化された多孔質構造を持つジルコニア粒子R_5である。比較例２～４とは原料粒子が異なっている。

まず、ZirChrom社製多孔質ジルコニア粒子（ZirChrom-PHASE）r_5を用意した。かかる粒子r_5は、粒径２５μｍ、比表面積３０m^2／ｇ、密度６ｇ／cm^3であった。１ｇの粒子r_5をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子r_5が疎水性に変化し、粒子r_5が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に

付すことによって、表面に水酸基が固定化された多孔質ジルコニア粒子ｒ$_5$を得た。かかる粒子ｒ$_5$は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）２０ｍｌに溶解している水溶液を加え、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化された多孔質構造を持つジルコニア粒子Ｒ$_5$を得た。得られた粒子Ｒ$_5$の比表面積は３０ｍ^2／ｇであって、密度は６ｇ／ｃｍ^3、粒径は約２５μｍであった（粒子Ｒ$_5$の粒径とジルコニア粒子ｒ$_5$の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（比較例６）

比較例６で調製した粒子は、アビジンが固定化された多孔質シリカ粒子Ｒ$_6$である。比較例２～５とは原料粒子が異なっている。

まず、旭硝子エスアイテック製の多孔質シリカ粒子（サンスフェアL-１２１）ｒ$_6$を用意した。かかる粒子ｒ$_6$は、粒径１１．５μｍ、比表面積３３６ｍ^2／ｇ、密度２．０ｇ／ｃｍ^{3}であった。１ｇの粒子ｒ$_6$をトルエン中に分散させ、得られる分散液に対して1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサン（信越化学工業製、ＬＳ－８６００）を０．５ｇ加えた。分散液をエバポレートに付してトルエンを蒸発させた後で、真空デシケーター中で粒子を５０℃にて４時間放置した。その後、１５０℃の恒温槽中で粒子を１．５時間加熱した。かかる処理によって、粒子ｒ$_6$が疎水性に変化し、粒子ｒ$_6$が1,3,5,7-テトラメチルシクロテトラシロキサンで被覆されたことを確認した。

引き続いて、得られた粒子を水中に分散させて８０℃に加熱した。これにより得られた分散液に対して、１０ｍｇの塩化白金酸および０．５ｇの共栄社化学製ライトエステルを加えて、８０℃にて４時間攪拌した。次いで、粒子を水洗した後、粒子に対して１０ｗｔ％エタノールアミン１０ｍｌを供することによって得られる分散液を室温下で１２時間攪拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面にアビジンが固定化された多孔質シリカ粒子ｒ$_6$を得た。かかる粒子ｒ$_6$は親水性であった。

引き続いて、得られた粒子２００ｍｇに対して、１００ｍｇのアビジンが１０

mMPBS溶液（pH7．2）20mlに溶解している水溶液を加え、一晩撹拌した。その後、10mMPBS溶液（pH7．2）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化された多孔質シリカ粒子R_6を得た。得られた粒子R_6の比表面積は336m^2／gであって、密度は2．0g／cm^3、粒径は約11．5μmであった（粒子R_6の粒径とジルコニア粒子r_6の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（比較例7）

比較例7で調製した粒子は、エポキシ基が固定化された架橋アクリル粒子R_7である。比較例1とは固定化される官能基の点で異なっている。

まず、綜研化学（株）製の架橋アクリル粒子r_7を用意した。かかる粒子r_7は、粒径30μm、比表面積0．03m^2／g、密度1．19g／cm^3であった。10gの粒子r_7を純水25gに分散させ、得られる分散液に対して、末端にエポキシ基を有する3－グリシドキシプロピルトリメトキシシラン3gを添加して4時間撹拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面にエポキシ基が固定化された架橋アクリル粒子R_7を得た。得られた粒子R_7の比表面積は0．03m^2／gであって、密度は1．19／cm^3、粒径は約30μmであった（粒子R_7の粒径とアクリル粒子r_7の粒径との差は測定誤差範囲内）。尚、かかる粒子R_7は親水性であった。

（比較例8）

比較例8で調製した粒子は、アビジンが固定化された多孔質ゼオライト粒子R_8である。比較例2とは製造方法が異なっている。

まず、東ソー（株）製のゼオライト粒子（HSZ－700）r_8を用意した。かかる粒子r_8は、粒径18μm、比表面積170m^2／g、密度2．3g／cm^3であった。10gの粒子r_8を純水25gに分散させ、得られる分散液に対して、末端にエポキシ基を有する3－グリシドキシプロピルトリメトキシシラン3gを添加して4時間撹拌した。次いで、粒子を洗浄・濾過・乾燥に付すことによって、表面にエポキシ基が固定化された多孔質ゼオライト粒子r_8を得た。かかる粒子r_8は親水性であった。引き続いて、得られた粒子200mgに対して、100mgのアビジンが10mMPBS溶液（pH7．2）20mlに溶解して

いる水溶液を加え、一晩攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ溶液（ｐＨ７．２）および水で粒子を洗浄した後、粒子を真空乾燥に付すことによって、アビジンが固定化されたジルコニア粒子R_8を得た。得られた粒子R_8の比表面積は１７０m^2／ｇであって、密度は２．３ｇ／ｃm^3、粒径は約１８μｍであった（粒子R_8の粒径とアクリル粒子r_8の粒径との差は測定誤差範囲内）。

（比較例９）

比較例９で調製した粒子R_9は、「抗ヒトＣＲＰモノクローナル抗体６４０４」が固定化されたＤｙｎａｂｅａｄｓ Ｍ－２８０ Ｔｏｓｙｌａｃｔｉｖａｔｅｄ粒子である。

かかる粒子R_9は、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ Ｍ－２８０ Ｔｏｓｙｌａｃｔｉｖａｔｅｄ粒子（ダイナル製）に抗ヒトＣＲＰモノクローナル抗体６４０４（ＭｅｄｉｘＢｉｏｃｈｅｍｉｃａ製）を加え撹拌し、磁気分離で洗浄を行い、抗ヒトＣＲＰモノクローナル抗体６４０４（ＭｅｄｉｘＢｉｏｃｈｅｍｉｃａ製）を粒子表面に固定化することによって作製した。尚、ＨＲＰ－Ｒａｂｂｉｔ－Ａｎｔｉ－Ｍｏｕｓｅ ＩｇＧ２ａ ２次抗体による発色から粒子表面に抗ヒトＣＲＰモノクローナル抗体６４０４が固定化されていることを確認した。得られた粒子R_9の比表面積は、６m^2／ｇであって、密度は１．３ｇ／ｃm^3、粒径は２．８μｍであった。

以上の実施例１～１６および比較例１～９の種々の条件を表１に示す。

（表１）

	粒子本体	粒子			固定化されている物質または官能基	備考
	材質（用いた粒子）	粒径（μm）	比表面積（m^2/g）	密度 （g/cm^3）		
実施例1	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	水酸基	
実施例2	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	水酸基	磁性粒子
実施例3	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	水酸基	実施例1と製法が異なる
実施例4	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	水酸基	実施例1および実施例3と異なる製法
実施例5	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	アビジン	
実施例6	アルミナ	200	0. 008	3. 6	アビジン	
実施例7	鋼	50	0. 013	8. 9	アビジン	
実施例8	イットリウム添加ジルコニア	30	0. 03	6	アビジン	
実施例9	イットリウム添加ジルコニア	15	0. 04	6	アビジン	
実施例10	イットリウム添加ジルコニア	30	0. 05	5. 5	エポキシ基	ポリスチレン被着あり
実施例11	イットリウム添加ジルコニア	30	0. 05	5. 5	アビジン	ポリスチレン被着あり
実施例12	イットリウム添加ジルコニア	30	0. 05	5. 5	エポキシ基	架橋ポリスチレン被着あり
実施例13	イットリウム添加ジルコニア	32	0. 05	6. 5	エポキシ基	ポリスチレン被着あり、磁性粒子
実施例14	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	抗ヒトCRPモノクローナル抗体6404	
実施例15	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	水酸基	実施例1と製法が異なる
実施例16	イットリウム添加ジルコニア	50	0. 02	6	アビジン	
比較例1	架橋アクリル	30	0. 033	1. 19	水酸基	
比較例2	多孔質ゼオライト	18	170	2. 3	アビジン	
比較例3	シリカ	3. 0	1. 2	1. 96	アビジン	
比較例4	タングステン	100	0. 003	19. 1	アビジン	
比較例5	多孔質ジルコニア	25	30	6	アビジン	
比較例6	多孔質シリカ	11. 5	336	2. 0	アビジン	
比較例7	架橋アクリル	30	0. 03	1. 19	エポキシ基	
比較例8	多孔質ゼオライト	18	170	2. 3	アビジン	比較例2と異なる製法
比較例9	Dynabeads M−280 Tosylactivated 粒子	2. 8	6	1. 3	抗ヒトCRPモノクローナル抗体6404	

《粒子の分離速度の確認試験》

実施例および比較例で得られた粒子の分離速度を確認するために、以下のような試験を実施した。

まず、実施例および比較例で得られた粒子１ｇをそれぞれ試験管内の５ｍｌの水に分散させて静置させた。そして、静置後から透明な上澄みが得られるまでの時間（以下「分離時間」とも呼ぶ）を測定した。分離時間は、粒子の自然沈降による移動速度（即ち、自然沈降速度）から間接的に把握できる。また、同様な操作を試験管の底部近傍に磁石を配置した状態で行った。結果を表２に示す。

(表２)

	自然沈降のみ	自然沈降＋磁気手段
実施例1	20秒	20秒
実施例2	20秒	10秒
実施例3	20秒	20秒
実施例4	20秒	20秒
実施例5	20秒	20秒
実施例6	20秒	20秒
実施例7	20秒	20秒
実施例8	20秒	20秒
実施例9	25秒	25秒
実施例10	40秒	40秒
実施例11	40秒	40秒
実施例12	40秒	40秒
実施例13	40秒	10秒
実施例14	20秒	—
実施例15	20秒	20秒
実施例16	20秒	20秒
比較例1	100秒以上	100秒以上
比較例2	80秒以上	80秒以上
比較例3	90秒以上	90秒以上
比較例4	15秒	15秒
比較例5	40秒	40秒
比較例6	100秒以上	100秒以上
比較例7	100秒以上	100秒以上
比較例8	80秒以上	80秒以上
比較例9	—	60秒以上

表２の結果からは、以下の事項を把握することができる。

5

（ａ）密度の大きい実施例の粒子の自然沈降速度は、総じて比較例の粒子の自然

沈降速度よりも相当速い（比較例４の沈降速度に関しては、１９．１ｇ／ｃｍ^{3}と大きい密度に起因していることに留意されたい）。つまり、本発明の粒子の分離速度は比較例の粒子の分離速度よりも速く、本発明の粒子を用いると、標的物質を試料からより速く分離できる。

（ｂ）同程度の密度（１．９６～２．３ｇ／ｃｍ^3）の比較例２、３、６および８の間で自然沈降速度を比べると、比表面積が大きい比較例６の場合の自然沈降速度が最も遅くなっている。比較例６の原料粒子の多孔質粒子であるが、そのような比表面積が大きい多孔質粒子（即ち、内部貫通ネットワーク構造を持っている粒子）は、空隙部が多く、気体が粒子内部に存在し、沈降しにくくなったと推測される。つまり、比表面積が大きい多孔質粒子などでは分離速度が遅くなるといえる。本発明の粒子の比表面積は比較的小さいが、そのような小さい比表面積の点からも、本発明の粒子はより速く標的物質を試料から分離できるといえる。

（ｃ）また、実施例１と実施例２とを比べると、または、実施例１０と実施例１３とを比べると、磁性を有する粒子に対しては、自然沈降に加えて磁気分離操作を補助的に行うことよって、粒子の分離速度をより速くできる。

《原料粒子の表面状態の確認試験》

日立走査型電子顕微鏡（ＳＥＭ、型式Ｓ－４５００）を用いて、実施例１と比較例６で用いた原料粒子の表面状態を観察した。結果を図２～５に示す。図２および図３が実施例１で用いたイットリウム添加ジルコニア粒子p_1の電顕写真であり、図４および図５が比較例６で用いた多孔質シリカ粒子r_6の電顕写真である。図２～図５から明らかなように、実施例１の粒子は非多孔質粒子であり、粒子表面は凹凸がなく滑らかであるのに対し、比較例６の粒子は多孔質の粒子であり、表面の凹凸が大きくでこぼこしている。このことから、比表面積が格段に違うこと、即ち、本発明の粒子の比表面積がより小さいことを理解できよう。尚、図２および図３を参照すると、本発明の粒子では「粒子本体が貫通孔を有さない」ということが理解できるであろう。

《粒子の特異・非特異結合特性の確認試験》

実施例５および実施例１１で得られた粒子P_5および粒子P_{11}、P_{16}ならびに比較例２、４、５、６および８で得られた粒子R_2、粒子R_4、粒子R_5、粒子R_6および粒子R_8を用いて、粒子（P_5、P_{11}、P_{16}、R_2、R_4、R_5、R_6、R_8）の特異・非特異結合特性を確認した。標的物質としては、ＨＲＰおよびビオチン化ＨＲＰの２種類の物質を用いた（両者の酵素活性は略同等である）。粒子に固定化されているアビジンは、ビオチン化ＨＲＰと特異的に結合するが、ＨＲＰとは特異的に結合しない。つまり、ビオチン化ＨＲＰは粒子に特異的（優先的）に結合し、一方、ＨＲＰは、粒子の細孔領域などに吸着され得、粒子に対して非特異的に結合することになる。

粒子P_5および粒子P_{11}、P_{16}ならびに、粒子R_2、粒子R_4、粒子R_5、粒子R_6および粒子R_8に対してはそれぞれ同様の操作を行ったため、以下では、実施例５の粒子P_5に対する操作を中心に説明する。まず、１．５ｍｌチューブを２つ用意し、それぞれに適当量（発色量が０．０１～１．５になるような量）の粒子P_5を仕込んだ。一方のチューブには、濃度２０ｎｇ／ｍｌのビオチン化ＨＲＰを１００μｌ加え、もう一方のチューブには、濃度２０ｎｇ／ｍｌのＨＲＰを１００μｌ加えた後、ボルテックスミキサーで３０分間攪拌した。その後、１０ｍＭＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）４００μｌで、それぞれのチューブに仕込まれた粒子P_5を洗浄し遠心分離に付した。この洗浄および遠心分離を４回行った。ＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）を除去した後、粒子P_5が含まれるそれぞれのチューブに２００μｌのＴＭＢ（テトラメチルベンジジン）を加えて３０分間静置させることによって、粒子P_5を発色させた。次いで、１Ｎ硫酸を２００μｌ加えて、反応を停止させた。そして、ＴＥＣＡＮ社製プレートリーダーＩｎｆｉｎｉｔｅ２００で吸光度（４５０ｎｍ）を測定することによって、それぞれのチューブに仕込まれた粒子P_5の発色量を求めた。ビオチン化ＨＲＰが供された粒子P_5に対する発色量およびＨＲＰが供された粒子P_5に対する発色量は、それぞれ、粒子P_5に対して特異的に結合するビオチン化ＨＲＰの量および粒子P_5に対して非特異的に結合するＨＲＰの量に比例するものである。従って、非特異的に結

合するＨＲＰに対する発色量$I_{非特異}$に対する特異的に結合するビオチン化ＨＲＰの発色量$I_{特異}$の比（$I_{特異}$／$I_{非特異}$）が大きい場合では粒子の非特異結合特性がより少なく、逆に、かかる比（$I_{特異}$／$I_{非特異}$）が小さい場合では粒子の非特異結合特性がより大きいことになる。

同様の操作を、実施例１１の粒子P_{11}、実施例１６の粒子P_{16}、比較例２の粒子R_2、比較例４の粒子R_4、比較例５の粒子R_5、比較例６の粒子R_6および比較例８の粒子R_8に対しても行い、それぞれの粒子に対して特異的に結合するビオチン化ＨＲＰの発色量$I_{特異}$および非特異的に結合するＨＲＰの発色量$I_{非特異}$を求めた。

結果を表３に示す。表３の結果から分かるように、実施例５の粒子P_5、実施例１１の粒子P_{11}、および実施例１６の粒子P_{16}の方が比較例２の粒子R_2と比較例５の粒子R_5、比較例６の粒子R_6および比較例８の粒子R_8よりも$I_{特異}$／$I_{非特異}$の値が大きく非特異結合が抑えられていることが分かった。つまり、比表面積が小さく実質的に非多孔質の本発明の粒子では、標的物質以外の物質が結合する非特異結合を抑えることができることを理解できよう。尚、比較例４の粒子R_4では非多孔質であるため、非特異の発色量（$I_{非特異}$）が小さくなっているが、特異吸着の発色量（$I_{特異}$）も低くなっている。この理由は明らかではないが、原料粒子が関係しているものと考えられる（より具体的には、表面処理を行いアビジンなどを被着する際に、原料粒子の比重が大きすぎるために粒子がアビジンを破壊し、ビオチン化ＨＲＰが特異的に結合できなくなっているのではないかと推測される）。

（表３）

	粒子に特異的に結合しているビオチン化HRPに対する発色量 $I_{特異}$	粒子に非特異的に結合しているHRPに対する発色量 $I_{非特異}$	$I_{特異}/I_{非特異}$
実施例5の粒子P_5	0.11	0.03	3.5
実施例11の粒子P_{11}	0.14	0.035	4.0
実施例16の粒子P_{16}	0.13	0.033	3.9
比較例2の粒子R_2	0.13	0.065	2.0
比較例4の粒子R_4	0.05	0.03	1.5
比較例5の粒子R_5	0.10	0.061	1.6
比較例6の粒子R_6	0.095	0.068	1.4
比較例8の粒子R_8	0.099	0.065	1.5

《まとめ》

以上の「粒子の分離速度の確認試験」および「粒子の非特異結合特性の確認試験」から、本発明の粒子は、自然沈降による移動速度だけでも十分な分離速度を得ることができると共に、標的物質以外の物質が結合する非特異結合を抑えることができることが分かった。また、「原料粒子の表面状態の確認試験」からは、本発明の粒子が非多孔質粒子であり、「粒子本体が貫通孔を有さない」ことを確認することができた。

請 求 の 範 囲

1．標的物質が結合できる粒子であって、

前記標的物質を結合させることが可能な物質または官能基が粒子本体の表面に固定化されており、

前記粒子の密度が３．５ｇ／ｃｍ^3～９．０ｇ／ｃｍ^{3}であり、また

前記粒子本体が貫通孔を有さないことを特徴とする、粒子。

2．前記粒子の比表面積が０．０００５ｍ^2／ｇ～１．０ｍ^2／ｇであることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

3．前記粒子本体の表面の一部にポリマーが被着しており、

前記標的物質を結合させることが可能な物質または官能基が前記粒子本体または前記ポリマーの表面に固定化されていることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

4．前記ポリマーが、前記粒子本体の表面全体を被覆しており、

前記標的物質を結合させることが可能な物質または官能基が前記ポリマーの表面に固定化されていることを特徴とする、請求項３に記載の粒子。

5．前記ポリマーが、ポリスチレン、ポリ（メタ）アクリル酸、ポリ（メタ）アクリル酸エステル、ポリビニルエーテル、ポリウレタン、ポリアミド、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリアリルアミンおよびポリエチレンイミンから成る群から選択される少なくとも１種以上のポリマーであることを特徴とする、請求項３に記載の粒子。

6．前記ポリマーが、架橋されていることを特徴とする、請求項３に記載の粒子。

7．前記粒子が非多孔質であることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

8．前記粒子本体が、ジルコニア、イットリウム添加ジルコニア、酸化鉄およびアルミナから成る群から選択される少なくとも１種以上の材料から形成されていることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

9．前記粒子が磁性を有することを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

１０．飽和磁化が０．５～８５Ａ・ｍ^2／ｋｇであることを特徴とする、請求項９に記載の粒子。

１１．前記粒子の平均サイズが１μｍ～１ｍｍであることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

１２．前記標的物質を結合させることが可能な物質が、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンおよびニュートラアビジンから成る群から選択される少なくとも１種以上の物質であることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

１３．前記標的物質を結合させることが可能な官能基が、カルボキシル基、水酸基、エポキシ基、トシル基、スクシンイミド基、マレイミド基、チオール基、チオエーテル基、ジスルフィド基、アルデヒド基、アジド基、ヒドラジド基、一級アミノ基、二級アミノ基、三級アミノ基、イミドエステル基、カルボジイミド基、イソシアネート基、ヨードアセチル基、カルボキシル基のハロゲン置換体、および、二重結合から成る群から選択される少なくとも１種以上の官能基であることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

１４．前記粒子本体の表面および／または前記ポリマーの表面の少なくとも一部に珪素含有物質および／またはポリエチレングリコールが存在することを特徴とする、請求項３に記載の粒子。

１５．前記標的物質を結合させることが可能な物質または官能基と前記標的物質との間に働く吸着力または親和力によって、前記標的物質が前記粒子に結合できることを特徴とする、請求項１に記載の粒子。

１６．前記標的物質を結合させることが可能な物質または官能基と前記標的物質との間に働く前記親和力が、静電相互作用、π－π相互作用、π－カチオン相互作用、双極子相互作用、疎水相互作用、水素結合、配位結合または生化学的相互作用に起因することを特徴とする、請求項１５に記載の粒子。

１７．請求項１に記載の粒子を用いて、試料中から標的物質を分離する又は標的物質を固定した粒子を得る方法であって、

（ｉ）標的物質を含んで成る試料と前記粒子とを接触させ、前記粒子と前記標的物質とを結合させる工程、

（ｉｉ）前記試料を静置に付して、前記試料中で前記粒子を自然沈降させる工程、および

（ｉｉｉ）前記試料中で沈殿した前記粒子を回収することによって、前記試料か

ら前記標的物質を分離する又は前記標的物質を固定した前記粒子を得る工程
を含んで成る方法。

１８．請求項２に記載の粒子を用いて、試料中から標的物質を分離する又は標的物質を固定した粒子を得る方法であって、

（ｉ）標的物質を含んで成る試料と前記粒子とを接触させ、前記粒子と前記標的物質とを結合させる工程、

（ｉｉ）前記試料を静置に付して、前記試料中で前記粒子を自然沈降させる工程、および

（ｉｉｉ）前記試料中で沈殿した前記粒子を回収することによって、前記試料から前記標的物質を分離する又は前記標的物質を固定した前記粒子を得る工程
を含んで成る方法。

１９．請求項３に記載の粒子を用いて、試料中から標的物質を分離する又は標的物質を固定した粒子を得る方法であって、

（ｉ）標的物質を含んで成る試料と前記粒子とを接触させ、前記粒子と前記標的物質とを結合させる工程、

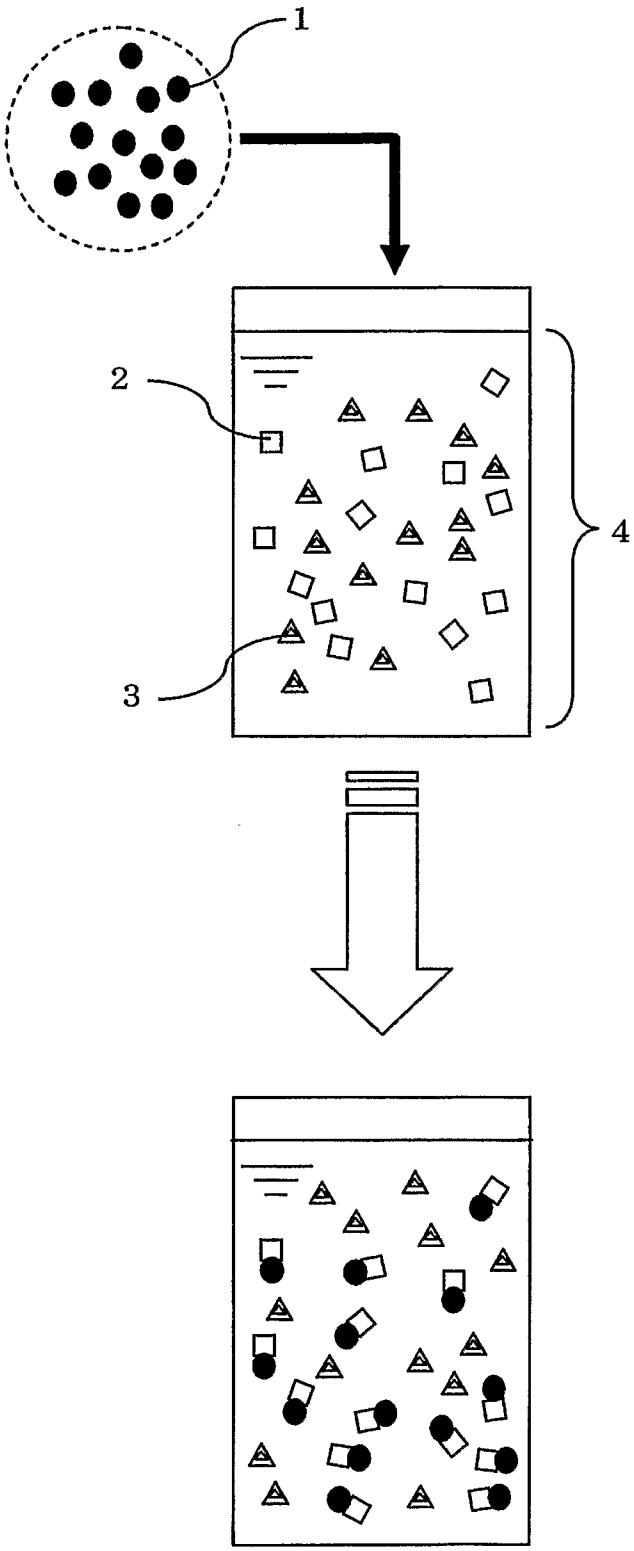
（ｉｉ）前記試料を静置に付して、前記試料中で前記粒子を自然沈降させる工程、および

（ｉｉｉ）前記試料中で沈殿した前記粒子を回収することによって、前記試料から前記標的物質を分離する又は前記標的物質を固定した前記粒子を得る工程
を含んで成る方法。

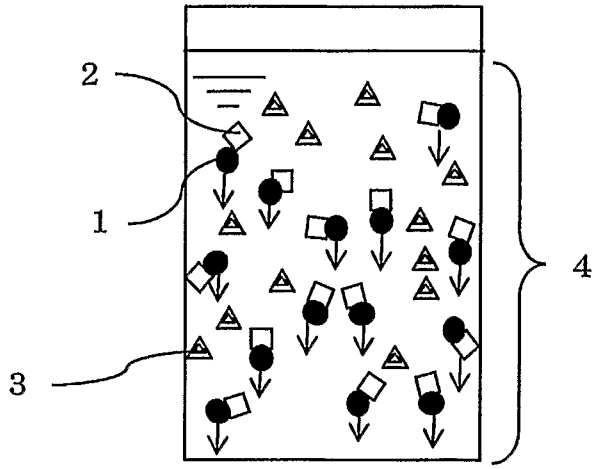
２０．請求項１７に記載の方法を利用して標的物質の分析、抽出、精製または反応を行う方法。

Fig. 1

(a)



(b)



(c)

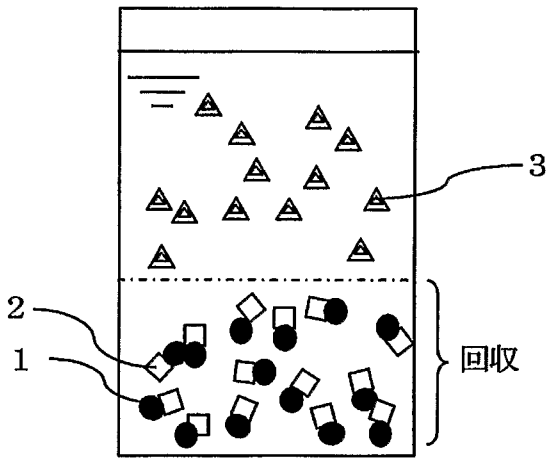


Fig. 2



Fig. 3

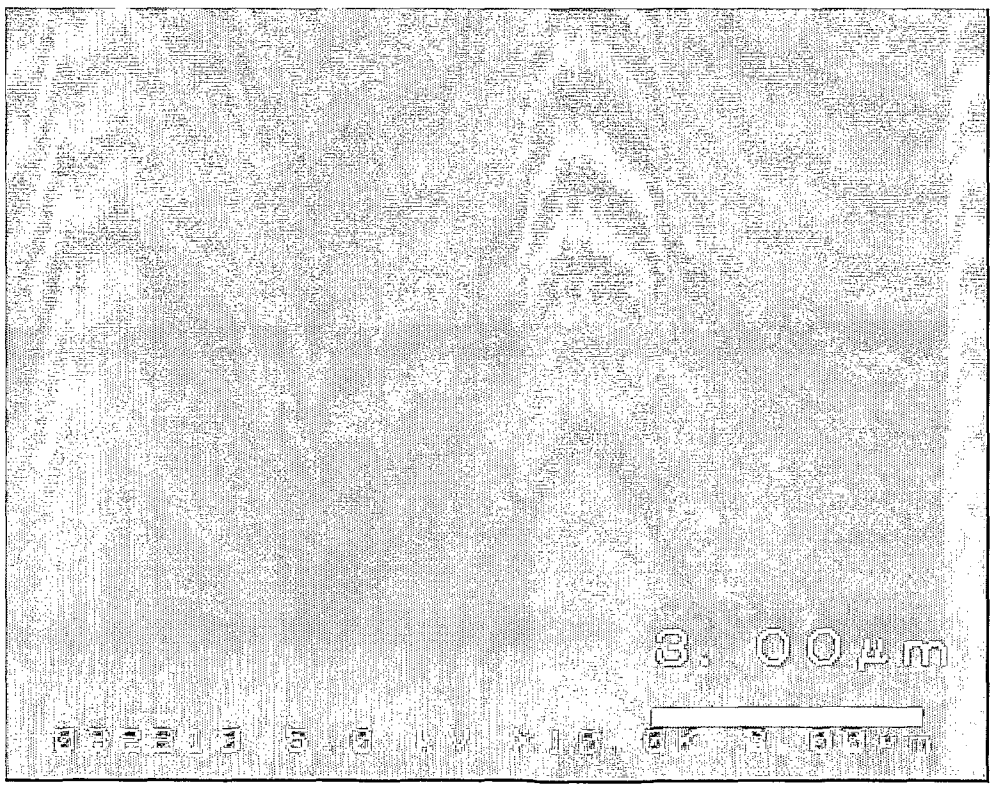


Fig. 4

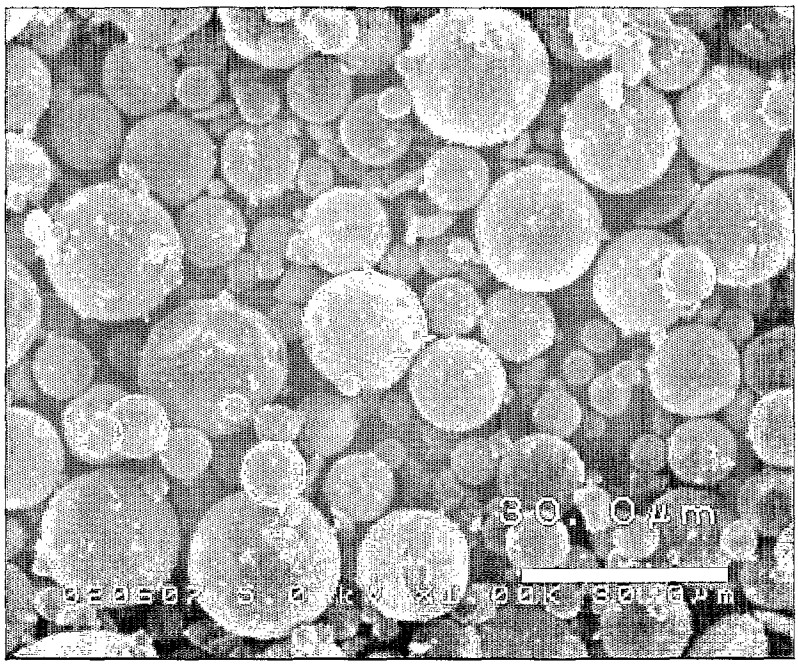
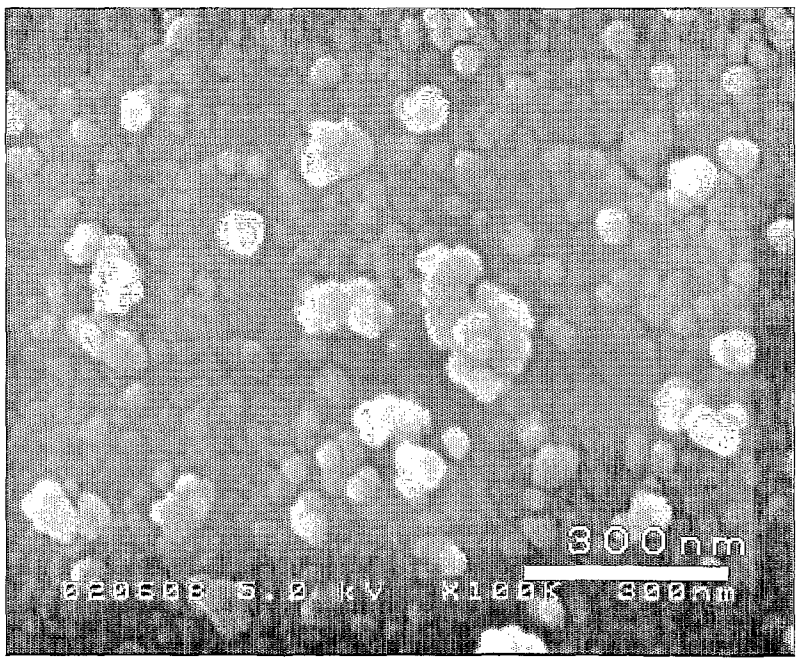


Fig. 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/059550

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N33/543(2006.01)i, *G01N33/553*(2006.01)i

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)
G01N33/53-33/579

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 1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007

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 6-130060 A (The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute), 13 May, 1994 (13.05.94), Par. No. [0004] (Family: none)	1-20
A	JP 2004-533530 A (BIO MERIEUX), 04 November, 2004 (04.11.04), & US 2004/115433 A1 & EP 1397429 A & WO 03/4559 A1	1-20
X	JP 5-26879 A (Tosoh Corp.), 02 February, 1993 (02.02.93), Par. No. [0046] (Family: none)	1-20

☒ 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
06 June, 2007 (06.06.07)	19 June, 2007 (19.06.07)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/059550

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 9-506244 A (Systemix, Inc.), 24 June, 1997 (24.06.97), Claim 15 & US 5409813 A & EP 728193 A & WO 95/9230 A1	1-20
A	JP 2004-528550 A (Aviva Biosciences Corp.), 16 September, 2004 (16.09.04), & US 2005/9002 A1 & EP 1381861 A & WO 02/75309 A1	1-20
A	JP 6-75071 B2 (Tokuyama Corp.), 21 September, 1994 (21.09.94), (Family: none)	1-20
A	JP 2554250 B2 (Baiya, Kopareishan), 13 November, 1996 (13.11.96), & US 5206159 A & EP 180384 A	1-20
A	JP 4-59587 B2 (Technicon Instruments Corp.), 22 September, 1992 (22.09.92), & GB 2014162 A & DE 2905154 A & FR 2417106 A	1-20
A	JP 5-180842 A (Nippon Paint Co., Ltd.), 23 July, 1993 (23.07.93), (Family: none)	1-20
A	JP 2005-3584 A (JSR Corp.), 06 January, 2005 (06.01.05), (Family: none)	1-20

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００７／０５９５５０

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N33/543(2006.01)i, G01N33/553(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N33/53-33/579

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	１９７１－２００７年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２００７年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２００７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	関連する請求の範囲の番号
X	JP ６－１３００６０ A（財団法人化学及血清療法研究所） １９９４．０５．１３ 【０００４】 （ファミリーなし）	１－２０
A	JP ２００４－５３３５３０ A（ベーイーオー・メリュー） ２００４．１１．０４ ＆ ＵＳ ２００４／１１５４３３ Ａ１ ＆ ＥＰ １３９７４２９ Ａ ＆ ＷＯ ０３／４５５９ Ａ１	１－２０

☑ 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
０６．０６．２００７	１９．０６．２００７

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）　２Ｊ　３３１２
三木　隆
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５２

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	関連する請求の範囲の番号
X	JP ５－２６８７９ A（東ソー株式会社）１９９３．０２．０２ 【００４６】 （ファミリーなし）	１－２０
X	JP ９－５０６２４４ A（システミックス、インコーポレイテッド） １９９７．０６．２４ 特許請求の範囲１５ ＆　ＵＳ　５４０９８１３　Ａ　＆　ＥＰ　７２８１９３　Ａ ＆　ＷＯ　９５／９２３０　Ａ１	１－２０
A	JP ２００４－５２８５５０ A （アビバ　バイオサイエンシーズ　コーポレイション） ２００４．０９．１６ ＆　ＵＳ　２００５／９００２　Ａ１ ＆　ＥＰ　１３８１８６１　Ａ ＆　ＷＯ　０２／７５３０９　Ａ１	１－２０
A	JP ６－７５０７１ B2（株式会社トクヤマ）１９９４．０９．２１ （ファミリーなし）	１－２０
A	JP ２５５４２５０ B2（バイヤー、コーパレイシャン） １９９６．１１．１３ ＆　ＵＳ　５２０６１５９　Ａ　＆　ＥＰ　１８０３８４　Ａ	１－２０
A	JP ４－５９５８７ B2 （テクニコン、インストルメンツ、コーポレーション） １９９２．０９．２２ ＆　ＧＢ　２０１４１６２　Ａ　＆　ＤＥ　２９０５１５４　Ａ ＆　ＦＲ　２４１７１０６　Ａ	１－２０
A	JP ５－１８０８４２ A（日本ペイント株式会社） １９９３．０７．２３ （ファミリーなし）	１－２０
A	JP ２００５－３５８４ A（ＪＳＲ株式会社）２００５．０１．０６ （ファミリーなし）	１－２０