

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 6 部門第 1 区分

【発行日】平成24年12月27日 (2012.12.27)

【公開番号】特開2012-211924(P2012-211924A)

【公開日】平成24年11月1日 (2012.11.1)

【年通号数】公開・登録公報2012-045

【出願番号】特願2012-162831(P2012-162831)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 33/569 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/543 5 9 3

G 0 1 N 33/569

C 1 2 Q 1/02

【手続補正書】

【提出日】平成24年11月14日 (2012.11.14)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

両面に電極が形成された圧電振動子を用い、その圧電振動子の一面側の電極に形成した抗体層に、抗原抗体反応により前記抗体層に吸着する抗原を有する検出対象である微生物が混入している可能性がある試料液を供給する工程と、

前記抗体層に液体培地を供給する工程と、

この圧電振動子を発振回路により発振させ、圧電振動子の発振周波数を測定する工程と、を含み、

前記液体培地内で増殖する微生物が前記抗体層に吸着することによる質量増加に伴う前記発振周波数の経時的な低下の有無またはその低下度合いに基づいて微生物の有無及び微生物の増殖速度の少なくとも一方を求めることを特徴とする微生物の検出方法。

【請求項 2】

前記圧電振動子は、両面に電極を形成して構成された微生物検出用の第 1 の振動領域と、弾性的な境界層を介して前記第 1 の振動領域とは異なる領域に設けられ、前記圧電振動子の両面に電極を形成して構成された参照用の第 2 の振動領域とを備え、前記抗体層は前記第 1 の振動領域の一面側の電極に形成され、前記第 2 の振動領域のいずれの電極にも抗体層が形成されていないことを特徴とする請求項 1 記載の微生物の検出方法。

【請求項 3】

前記発振回路は、発振周波数の測定値を表示する表示部に接続され、前記発振周波数の測定値を時系列データとして前記表示部に表示する工程を含むことを特徴とする請求項 1 または 2 記載の微生物の検出方法。

【請求項 4】

前記発振周波数を測定する工程は、温度調節部を備えた恒温の培養容器内に圧電振動子を入れた状態で行われることを特徴とする請求項 1 ないし 3 のいずれか一項に記載の微生物の検出方法。

【請求項 5】

前記微生物は菌体であることを特徴とする請求項 1 ないし 4 のいずれか一項に記載の微生物の検出方法。

【請求項 6】

両面に電極が形成された圧電振動子を用い、その圧電振動子の一面側の電極に形成した抗体層に検出対象である微生物を吸着させ、当該圧電振動子から得られた発振周波数の経時変化に基づいて微生物の有無及び微生物の増殖速度の少なくとも一方を求めることにより検出対象物を検出する検出装置であって、

試料液が供給される培養空間を備え、この培養空間に前記抗体層が形成された面を向けて圧電振動子を保持するための培養容器と、

この培養容器に、抗原抗体反応により前記抗体層に吸着する抗原を有する検出対象である微生物が混入している可能性がある試料液を供給する試料液供給部と、

前記培養容器に液体培地を供給する培地供給部と、

前記圧電振動子を発振させるための発振回路と、を備え、

前記試料液供給部から前記培養容器に試料液が供給された後、前記培地供給部から当該培養容器に供給された液体培地内で微生物が増殖し、前記抗体層に吸着することによる質量増加に伴う前記発振周波数の経時的な低下の有無またはその低下度合いに基づいて微生物の有無及び微生物の増殖速度の少なくとも一方を求めることを特徴とする検出装置。

【請求項 7】

前記培養空間内を恒温に保つための温度調節部と、

前記試料供給部と培地供給部との間で、前記培養容器の接続先を切り替える供給液切替部と、を備え、

前記供給液切替部により、前記培養容器の接続先を試料液供給部として、当該培養容器に試料液を供給するステップと、次いで、この培養容器の接続先を培地供給部に切り替え液体培地を供給して前記試料液を液体培地で置換するステップと、その後、液体培地の供給を停止した静置状態下にて、前記温度調節部により、検出対象である微生物が増殖可能な温度に培養容器内の温度を保って、前記発振周波数の経時的な低下の有無またはその低下度合いを測定するステップと、を実行することを特徴とする請求項 6 記載の検出装置。

【請求項 8】

圧電振動子は、両面に電極を形成して構成されると共に、その一面側の電極に前記抗体層が形成された微生物検出用の第 1 の振動領域と、弾性的な境界層を介して前記第 1 の振動領域とは異なる領域に設けられ、前記圧電振動子の両面に電極を形成して構成されると共に、これら両面の電極のいずれにも抗体層が形成されていない参照用の第 2 の振動領域とを備え、

前記第 1 の振動領域を発振させる第 1 の発振回路と、前記第 2 の発振領域を発振させる第 2 の発振回路と、を備えたことを特徴とする請求項 6 または 7 記載の検出装置。

【請求項 9】

前記微生物は菌体であることを特徴とする請求項 6 ないし 8 のいずれか一項に記載の検出装置。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0007】

本発明は、両面に電極が形成された圧電振動子を用い、その圧電振動子の一面側の電極

に形成した抗体層に、抗原抗体反応により前記抗体層に吸着する抗原を有する検出対象である微生物が混入している可能性がある試料液を供給する工程と、

前記抗体層に液体培地を供給する工程と、

この圧電振動子を発振回路により発振させ、圧電振動子の発振周波数を測定する工程と、を含み、

前記液体培地内で増殖する微生物が前記抗体層に吸着することによる質量増加に伴う前記発振周波数の経時的な低下の有無またはその低下度合いに基づいて微生物の有無及び微生物の増殖速度の少なくとも一方を求めることを特徴とする微生物の検出方法である。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

また、前記検出方法の具体例を挙げておく。

(a) 前記圧電振動子は、両面に電極を形成して構成された微生物検出用の第1の振動領域と、弾性的な境界層を介して前記第1の振動領域とは異なる領域に設けられ、前記圧電振動子の両面に電極を形成して構成された参照用の第2の振動領域とを備え、前記抗体層は前記第1の振動領域の一面側の電極に形成され、前記第2の振動領域のいずれの電極にも抗体層が形成されていない。

(b) 前記発振回路は、発振周波数の測定値を表示する表示部に接続され、前記発振周波数の測定値を時系列データとして前記表示部に表示する工程を含む。

(c) 前記発振周波数を測定する工程は、温度調節部を備えた恒温の培養容器内に圧電振動子を入れた状態で行われることを特徴とする場合。

(d) 微生物は菌体である。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

さらに他の発明は、両面に電極が形成された圧電振動子を用い、その圧電振動子の一面側の電極に形成した抗体層に検出対象である微生物を吸着させ、当該圧電振動子から得られた発振周波数の経時変化に基づいて微生物の有無及び微生物の増殖速度の少なくとも一方を求めることにより検出対象物を検出する検出装置であって、

試料液が供給される培養空間を備え、この培養空間に前記抗体層が形成された面を向けて圧電振動子を保持するための培養容器と、

この培養容器に、抗原抗体反応により前記抗体層に吸着する抗原を有する検出対象である微生物が混入している可能性がある試料液を供給する試料液供給部と、

前記培養容器に液体培地を供給する培地供給部と、

前記圧電振動子を発振させるための発振回路と、を備え、

前記試料液供給部から前記培養容器に試料液が供給された後、前記培地供給部から当該培養容器に供給された液体培地内で微生物が増殖し、前記抗体層に吸着することによる質量増加に伴う前記発振周波数の経時的な低下の有無またはその低下度合いに基づいて微生物の有無及び微生物の増殖速度の少なくとも一方を求めることを特徴とする検出装置である。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

前記検出装置の具体例を挙げておく。

(e) 前記培養空間内を恒温に保つための温度調節部と、前記試料供給部と培地供給部との間で、前記培養容器の接続先を切り替える供給液切替部と、を備え、前記供給液切替部により、前記培養容器の接続先を試料液供給部として、当該培養容器に試料液を供給するステップと、次いで、この培養容器の接続先を培地供給部に切り替え液体培地を供給して前記試料液を液体培地で置換するステップと、その後、液体培地の供給を停止した静置状態下にて、前記温度調節部により、検出対象である微生物が増殖可能な温度に培養容器内の温度を保って、前記発振周波数の経時的な低下の有無またはその低下度合いを測定するステップと、を実行すること。

(f) 圧電振動子は、両面に電極を形成して構成されると共に、その一面側の電極に前記抗体層が形成された微生物検出用の第1の振動領域と、弾性的な境界層を介して前記第1の振動領域とは異なる領域に設けられ、前記圧電振動子の両面に電極を形成して構成されると共に、これら両面の電極のいずれにも抗体層が形成されていない参照用の第2の振動領域とを備え、前記第1の振動領域を発振させる第1の発振回路と、前記第2の発振領域を発振させる第2の発振回路と、を備える。

(g) 前記微生物は菌体である。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

本発明は、圧電振動子の電極上に形成した抗体層に微生物を吸着させ、この抗体層に液体培地を供給して微生物を培養し、菌体の増殖を共振周波数の変化として検出するようにしている。この結果、簡便に速やかに微生物の有無や増殖速度を検出することができる。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

そして前記雰囲気は気密に保たれ、培地層10上の試料液が蒸発して例えば当該雰囲気が飽和水蒸気雰囲気となる。一方パーソナルコンピュータ52には水晶振動子2の発振周波数の計測値が時系列で取り込まれ、その画面には当該時系列データが表示される。培養器7内は試料液の水分が蒸発して飽和となるまで水晶振動子2の電極上の試料液及び培地層10の合計質量が変化するが、飽和雰囲気が確立されると合計質量が安定する。そして図5に示すように培地層10に塗布された試料液中に変敗菌(検出対象物15)が存在すれば培地層の栄養分を取り込んで増殖するため、電極上の部分の質量が増殖開始時から増加し、発振周波数が小さくなっていく。このため発振周波数の時系列データを例えばパーソナルコンピュータ52の画面にグラフ化して表示するようにすれば、発振周波数の立ち上がり例えば目視で検出することにより変敗菌の存在が確認できる。

また発振周波数の低下の度合いを求めることにより変敗菌の増殖速度が得られる。この場合発振周波数と水晶振動子2の電極22の上に搭載されている搭載物の質量との関係を予め求めておけば、例えば所定の時間間隔毎の増殖速度を求めることができる。また培養器7に前記雰囲気に各々連通する送気管(送気路)、排気管(排気路)を接続し(図示せず)、排気管を開放した状態で送気管から気体例えば乾燥空気を供給して水晶振動子2上の水分をある程度除去する。次いで培養器7内の設定温度において例えば飽和水蒸気雰囲気よりも僅かに水蒸気が少ない空気を送り込み、送気管及び排気管に設けた各バルブを閉

じ、水晶振動子 2 上の水分が僅かに蒸発して前記雰囲気が飽和水蒸気になった後、発振周波数の計測を行うようにしてもよい。

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 3】

なお、培養温度の設定値については、菌体の生育温度の範囲内において水晶振動子の周波数の温度特性が最も安定となる温度とすることが好ましい。図 7 には A T カットの水晶振動子の周波数温度特性の一例を示す。この場合においては、生育温度範囲内において単位温度変化あたりの周波数変化量が最も小さい温度は、グラフの極値の時の温度である 4 5 であり、培養温度をこの温度に設定することが望ましい。試料液は、飲料水であればそのまま前記フィルタを通して作成できるが、食品中の変敗菌の有無を調べる場合には、公定法に基づく方法で変敗菌を培養するかまたは変敗菌を直接水に混ぜた後、前記フィルタを通すことにより試料液が作成される。

このような菌体の検出方法によれば、培地層 1 0 に試料液を滴下し、周波数が安定した後、例えば数十分後に発振周波数が低下し始めるので、短時間で菌体の有無を検出でき、従って食品や飲料水中に変敗菌が存在するか否かを速やかに検出することができる。また操作が簡単であり、測定精度も高い。

なお本発明において菌体とは、真菌及び細菌などを指す。