(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2 月15 日 (15.02.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/018187 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 5/02 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2006/315614

(22) 国際出願日: 2006 年8 月7 日 (07.08.2006)

(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2005-228921 2005 年8 月5 日 (05.08.2005) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 協和メデックス株式会社 (KYOWA MEDEX CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1046004 東京都中央区晴海一丁目８番１０号 Tokyo (JP). シチズン時計株式会社 (CITIZEN WATCH CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1888511 東京都西東京市田無町六丁目１番１２号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 角田 春樹 (TSUNODA, Haruki) [JP/JP]; 〒4110932 静岡県駿東郡長泉町南一色字上山地６００番１ 協和メデックス株式会社 協和メデックス研究所内 Shizuoka (JP). 富田 聡仁 (TOMITA, Akihito) [JP/JP]; 〒4110932 静岡県駿東郡長泉町南一色字上山地６００番１ 協和メデックス株式会社 協和メデックス研究所内 Shizuoka (JP). 野崎 孝明 (NOZAKI, Takaaki) [JP/JP]; 〒1888511 東京都東京都西東京市田無町六丁目１番１２号 シチズン時計株式会社内 Tokyo (JP).

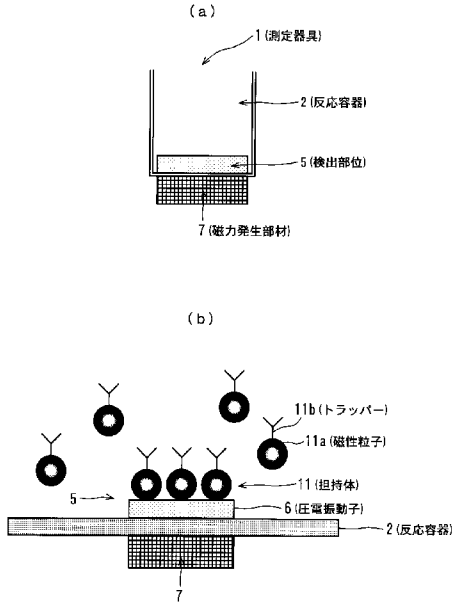
(74) 代理人: 小泉 雅裕, 外(KOIZUMI, Masahiro et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門一丁目５番６号 朝陽ビル２階 Tokyo (JP).

(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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,

[続葉有]

(54) Title: MEASUREMENT INSTRUMENT, MEASUREMENT KIT USING THE SAME, MEASUREMENT METHOD, MEASUREMENT DEVICE, AND PIEZOELECTRIC OSCILLATOR REPRODUCING METHOD

(54) 発明の名称: 測定器具及びこれを用いた測定用キット、測定方法、測定装置並びに圧電振動子の再生方法



1 (MEASUREMENT INSTRUMENT)
2 (REACTION VESSEL)
5 (DETECTION PORTION)
7 (MAGNETIC FORCE GENERATION MATERIAL)
11b (TRAPPER)
11a (MAGNETIC PARTICLE
11 (CARRIER)
6 (PIEZOELECTRIC OSCILLATOR)
2 (REACTION VESSEL)

(57) **Abstract:** When a piezoelectric oscillator is arranged at a detection portion of a reaction vessel, a piezoelectric oscillator sensor film can be easily generated and the sensor can easily be reproduced, thereby enabling re-use. A measurement instrument (1) includes a reaction vessel (2) capable of supplying a measurement object (10) in a sample. The reaction vessel (2) includes a piezoelectric oscillator (6) arranged at a detection portion (5) capable of detecting a measurement object (10); a magnetic force generation material (7) capable of selectively and reversibly forming a magnetic field in the piezoelectric oscillator (6); and a carrier (11) formed by magnetic particles (11a) and a trapper (11b) capable of specifically binding the measurement object (10) or formed by the magnetic particles (11a) and an object (11c) similar to the measurement object and magnetically carried on the surface of the piezoelectric oscillator (6) when a magnetic field is applied to the piezoelectric oscillator (6). There are also provided a measurement kit using the measurement instrument (1), a measuring method and device for measuring the concentration of a measurement object, and a piezoelectric oscillator reproducing method.

(57) 要約: 反応容器の検出部位に圧電振動子を配設した態様において、圧電振動子センサー膜を容易に生成でき、しかも、当該センサーを容易に再生することにより再利用を可能とする。 試料中の測定対象物１０が供給可能な反応容器２を含む測定器具１であって、反応容器２には、測定対象物１０が検出可能な検出部位５に設けられる圧電振動子６と、この圧電振動子６に磁場を選択的かつ可逆的に形成し得る磁力発生部材７と、磁性粒子１１ａ及び測定対象物１０に特異的に結合するトラッパー１１ｂ、又は、磁性粒子１１ａ及び測定対象物類似物１１ｃからなり、圧電振動子６に磁場を作用させたときに圧電振動子６表面に磁気的に担持される担持体１１とを具備させる。また、この測定器具１を用いた測定用キット、測定対象物の濃度を測定する測定方法、装置並びに圧電振動子の再生方法をも対象とする。

WO 2007/018187 A1

DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, 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, 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。

明 細 書

測定器具及びこれを用いた測定用キット、測定方法、測定装置並びに圧電振動子の再生方法

技術分野

[0001] 本発明は、生体、食品、土壌等の分析対象試料に含有される測定対象物を測定するための測定器具に係り、特に、反応容器の検出部位に圧電振動子を有し、この圧電振動子表面部で測定対象物との反応を行わせる態様に有効な測定器具及びこれを用いた測定用キット、測定方法、測定装置並びに圧電振動子の再生方法に関する。

背景技術

[0002] 従来、水晶振動子等の圧電振動子を用いる定量分析および定性分析が知られており、例えば水晶振動子の電極表面に目的物質等を担持させる方法としては、SAM(Self Assembled Monolayer)法等が用いられている(例えば、非特許文献1を参照)。

また、水晶振動子上へ目的物質を担持した後に、水晶振動子センサーを再利用する方法が知られている。例えば水晶振動子表面に目的物質を結合した後にセンサー膜の再生を行う方法としては、例えばピランハ溶液(濃硫酸:30%過酸化水素=3:1)を用いて化学的に目的物質を遊離する方法(例えば、非特許文献1を参照)や、水晶振動子上に吸着した煙粒子(吸着分子)を熱風源を用いて離脱させることにより水晶振動子センサーを再利用する方法(例えば、特許文献1を参照)や、水晶振動子センサー中の水晶基板の構造を平坦構造とすることでこの面の洗浄を容易にし、水晶振動子センサーを再利用する方法(例えば、特許文献2を参照)が知られている。

[0003] しかしながら、SAM法は、例えば水晶振動子の電極表面に所定の目的物質からなるセンサー膜を生成する工程が非常に煩雑で時間を要するという技術的課題を有していた。一方、水晶振動子センサーには、高価な金電極を使用するため、金電極の再利用が望まれている。従来の水晶振動子センサーの再利用法は、いずれも水晶振動子の電極表面に生成されたセンサー膜を化学的処理又は熱風源による熱振動

を与えて離脱させる等、離脱処理が煩雑であることから、簡便な水晶振動子センサーの再利用法の出現が望まれている。

特に、

近年、検査方法の迅速化、多様化または環境分野、食品分野の検査の流れから、被検者の近傍での試料の採取から測定結果の出力を行うポイント オブ ケア テスティング(POCT)が盛んになってきており、POCTに対応可能な簡便で高感度な測定器具及びこれを用いた測定方法並びに測定装置の開発が望まれている。

[0004] 非特許文献1:「バイオケミストリー(Biochemistry)」アメリカ化学会, 1998年, 第37巻, 5666－5672頁

特許文献1:特開2000－275157号公報

特許文献2:特開2000－283905号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、以上の技術的課題を解決するためになされたものであって、反応容器の検出部位に圧電振動子を配設した態様において、圧電振動子センサー膜を容易に生成でき、しかも、当該センサーを容易に再生することにより再利用が可能となる測定器具及びこれを用いた測定用キット、測定方法並びに測定装置を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0006] すなわち、本発明は以下の(1)～(29)に関する。

(1) 測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体、あるいは、測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体を用いて試料中の測定対象物を測定するための測定器具であって、試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器と、この圧電振動子に磁場を作用させるための磁力発生部材とを備え、担持体が、磁力発生部材の磁力により圧電振動子上に磁気的に担持されるものであることを特徴とする測定器具。

[0007] (2) 前記(1)記載の測定器具において、磁力発生部材は、圧電振動子に作用させた磁場を解除する手段を兼ね備えていることを特徴とする測定器具。

(3) 前記(1)又は(2)記載の測定器具において、反応容器は、測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー、又は、該バインダー若しくは測定対象物類似物と不溶性小胞体とが結合してなる標識体が供給可能なバインダー又は標識体供給部位を有することを特徴とする測定器具。

(4) 前記(1)又は(2)記載の測定器具において、反応容器は、測定対象物及び担持体が流路に沿って移動可能なフローセル型であり、該フローセル型反応容器の流路に試料添加部位及び検出部位が設けられていることを特徴とする測定器具。

[0008] (5) 前記(3)記載の測定器具において、反応容器は、測定対象物、担持体及び標識体が流路に沿って移動可能なフローセル型であり、該フローセル型反応容器の流路に試料添加部位、検出部位及びバインダー又は標識体供給部位が設けられていることを特徴とする測定器具。

(6) 前記(5)記載の測定器具において、バインダー又は標識体供給部位はフローセル型反応容器の流路のうち試料添加部位の下流側に設けられることを特徴とする測定器具。

(7) 前記(5)記載の測定器具において、試料添加部位は、バインダー又は標識体供給部位を兼ねることを特徴とする測定器具。

(8) 前記(4)乃至(7)のいずれかに記載の測定器具において、検出部位の下流側には吸収部位を備えことを特徴とする測定器具。

[0009] (9) 前記(1)乃至(8)のいずれかに記載の測定器具において、複数種の担持体が用いられることを特徴とする測定器具。

(10) 前記(1)乃至(9)のいずれかに記載の測定器具において、複数の圧電振動子が検出部位に具備されていることを特徴とする測定器具。

(11) 前記(10)記載の測定器具において、各圧電振動子に対し、磁力発生部材がそれぞれ具備されていることを特徴とする測定器具。

(12) 前記(1)乃至(11)いずれかに記載の測定器具において、圧電振動子が水晶振動子であることを特徴とする測定器具。

(13) 前記(4)乃至(12)のいずれかに記載の測定器具において、フローセル型反応容器は複数の流路を備えることを特徴とする測定器具。

（14） 前記（5）乃至（13）のいずれかに記載の測定器具において、バインダー又は標識体供給部位に予めバインダー又は標識体が移動可能に保持されることを特徴とする測定器具。

（15） 前記（1）乃至（14）のいずれかに記載の測定器具において、担持体が圧電振動子表面に予め磁気的に担持されていることを特徴とする測定器具。

[0010] （16） 前記（1）乃至（13）のいずれかに記載の測定器具と担持体とを含有することを特徴とする測定用キット。

（17） 前記（1）乃至（13）のいずれかに記載の測定器具と担持体とバインダー若しくは標識体とを含有することを特徴とする測定用キット。

[0011] （18） 試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器、及び、測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体を用いて試料中の測定対象物を測定する方法であって、反応容器中で、試料中の測定対象物と担持体とを反応させ、担持体－測定対象物を含む複合体を生成させる試料反応工程、担持体の磁性粒子に磁力を作用させ、磁性粒子を磁気的に圧電振動子上に担持する担持体担持工程、圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、この振動数測定工程で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定工程を備えたことを特徴とする測定方法。

[0012] （19） 前記（18）記載の測定方法であって、さらに、反応容器中で、試料と測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー又は該バインダーと不溶性小胞体とが結合してなる標識体とを反応させ、担持体－測定対象物－バインダーを含む複合体、担持体－測定対象物－標識体を含む複合体を生成させる工程を含むことを特徴とする測定方法。

[0013] （20） 試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器、及び、測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体を用いて試料中の測定対象物を測定する方法であって、反応容器中で、試料中の測定対象物及び測定対象物類似物と不溶性小胞体とが結合して

なる標識体を担持体に反応させ、担持体－標識体を含む複合体を生成させる試料反応工程、担持体の磁性粒子に磁力を作用させ、磁性粒子を磁気的に圧電振動子上に担持する担持体担持工程、圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、この振動数測定工程で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定工程を備えたことを特徴とする測定方法。

[0014] (21) 試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器、測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体、及び、測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー又は該バインダーと不溶性小胞体とが結合してなる標識体を用いて試料中の測定対象物を測定する方法であって、反応容器中で、試料中の測定対象物及び測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体と測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー又は該バインダーと不溶性小胞体とを反応させ、担持体－バインダー又は担持体－標識体を含む複合体を生成させる試料反応工程、担持体の磁性粒子に磁力を作用させ、磁性粒子を磁気的に圧電振動子上に担持する担持体担持工程、圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、この振動数測定工程で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定工程を備えたことを特徴とする測定方法。

[0015] (22) 前記(18)乃至(21)のいずれかに記載の測定方法において、圧電振動子上に担持された該複合体の洗浄を行う洗浄工程を含むことを特徴とする測定方法。

(23) 前記(18)乃至(22)のいずれかに記載の測定方法において、試料反応工程の前に、担持体担持工程を行うことを特徴とする測定方法。

(24) 前記(18)乃至(23)のいずれかに記載の測定方法において、反応容器は、測定対象物及び担持体が流路に沿って移動可能なフローセル型であり、該フローセル型反応容器の流路に該試料添加部位及び該検出部位が設けられていることを特徴とする測定方法。

(25) 前記(24)記載の測定方法において、バインダー又は標識体が流路に保持さ

れており、試料添加部位に試料を添加することにより、試料反応工程を開始することを特徴とする測定方法。

[0016] (26) 前記(1)乃至(17)のいずれかに記載の測定器具と、この測定器具の検出部位の圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定手段とを含むことを特徴とする測定装置。

(27) 前記(1)乃至(17)のいずれかに記載の測定器具と、この測定器具の検出部位の圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定手段と、この振動数測定手段で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定手段とを含むことを特徴とする測定装置。

(28) 測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体、あるいは、測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体と、圧電振動子とを用いる試料中の測定対象物の測定における圧電振動子の再生方法であって、磁力発生手段により圧電振動子上に担持された担持体と測定対象物とからなる複合体を測定した後に、磁場解除手段により担持体を解離させることを特徴とする圧電振動子の再生方法。

(29) 前記(28)記載の再生方法において、圧電振動子が水晶振動子であることを特徴とする再生方法。

発明の効果

[0017] 本発明に係る測定器具によれば、測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体、あるいは、測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体を用いて試料中の測定対象物を測定するための測定器具であって、試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器と、この圧電振動子に磁場を選択的に作用させるための磁力発生部材とを備え、磁力発生部材の磁力により圧電振動子上に前記担持体を磁気的に担持させるようにしたので、磁力発生部材による磁場を作用若しくは作用解除することにより、圧電振動子上にセンサー膜として機能する担持体を簡単に生成できると共に、除去することが可能である。このため、検出部位に圧電振動子を具備した測定器具におい

て、圧電振動子センサー膜を容易に生成でき、しかも、当該センサーを容易に再生することにより測定器具の再利用が可能となる。

また、本発明に係る測定器具及び担持体、更にはバインダー若しくは標識体をも含めて測定用キットとすれば、測定対象物の測定を極めて簡単に行うことができる。

更に、この種の測定器具を用いた測定方法及びその装置によれば、圧電振動子センサー膜の生成、当該センサーの再生が容易な測定器具を用いることで、試料中の多数項目の測定対象物につき迅速且つ精度良く測定することができる。

更にまた、本発明に係る圧電振動子の再生方法によれば、圧電振動子センサーを容易に再生することができる。

図面の簡単な説明

[0018] [図1](a)は本発明に係る測定器具の基本的構成を示す平面説明図、(b)はその検出部位を示す説明図である。

[図2](a)～(c)は図1の測定器具による測定原理を示す説明図である。

[図3]図1の測定器具の反応終了後の状態を示す説明図である。

[図4](a)(b)は本発明に係る測定器具の他の態様及びその測定原理を示す説明図である。

[図5]図1の測定器具による別の態様での測定の測定原理を示す説明図である。

[図6](a)はフローセル型反応容器を含む測定器具に本発明を適用した態様を示す説明図、(b)は(a)中M方向から見た矢視図である。

[図7](a)はフローセル型反応容器を含む測定器具に本発明を適用したより好ましい態様を示す説明図、(b)は(a)中M方向から見た矢視図である。

[図8](a)は本発明に係る測定器具を用いた測定方法を示す説明図、(b)はその測定方法を具現化する測定装置を示す説明図である。

[図9]本発明が適用された測定装置の実施の形態1を示す説明図である。

[図10]実施の形態1で用いられる測定器具の平面模式図である。

[図11]実施の形態1で用いられる水晶振動子の等価回路を示す説明図である。

[図12](a)は実施の形態1で用いられるセンサー基板を示す平面説明図、(b)は(a)中M方向から見た矢視図である。

[図13](a)は実施の形態1で用いられる水晶振動子を示す平面説明図、(b)は(a)中M－M線断面説明図である。

[図14]本発明が適用された測定装置の実施の形態2を示す説明図である。

[図15]実施の形態2で用いられる測定器具の平面模式図である。

[図16]実施の形態2で用いられる水晶発振回路を示す説明図である。

[図17]本発明が適用された測定装置の実施の形態3を示す説明図である。

[図18]実施の形態3で用いられる水晶発振回路を示す説明図である。

[図19]実施の形態3で用いられる水晶発振回路の変形形態を示す説明図である。

[図20](a)は本発明が適用された測定装置の実施の形態4で用いられる測定器具を示す平面模式図、(b)は(a)中M方向から見た矢視図である。

[図21](a)(b)は実施の形態4に係る測定器具の動作例を示す説明図である。

[図22](a)は実施の形態4に係る測定器具の変形形態を示す平面模式図、(b)は(a)中M方向から見た矢視図である。

符号の説明

[0019]

1	測定器具
2	反応容器(フローセル型反応容器)
3	流路
4	試料添加部位
5	検出部位
6	圧電振動子
7	磁力発生部材
8	バインダー／標識体供給部位
9	吸収部位
10	測定対象物
11	担持体
11a	磁性粒子
11b	トラッパー
11c	測定対象物類似物

12 バインダー

13a 不溶性小胞体

13b バインダー

13c 測定対象物類似物

13 標識体

15 振動数測定手段

16 濃度決定手段

発明を実施するための最良の形態

[0020] ＜本発明の実施の形態の概要説明＞

すなわち、本発明に係る測定器具の代表的態様は、図1(a)(b)に示すように、測定対象物10(図2(a)参照)又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパー11bと磁性粒子11aとが結合してなる担持体11を用いて試料中の測定対象物10を測定するための測定器具であって、試料中の測定対象物10(図2(a)参照)が供給可能な反応容器2を含み、この反応容器2には、測定対象物10が検出可能な検出部位5に設けられる圧電振動子6と、この圧電振動子6に磁場を選択的かつ可逆的に作用させる磁力発生部材7と、圧電振動子6に磁場を作用させたときに圧電振動子6表面に磁気的に担持される担持体11とを具備させることを特徴とする。

[0021] また、本発明に係る測定器具の他の代表的態様は、図4(a)(b)に示すように、測定対象物類似物11cと磁性粒子11aとが結合してなる担持体11を用いて試料中の測定対象物10を測定するための測定器具であって、試料中の測定対象物10が供給可能な反応容器2を含み、この反応容器2には、測定対象物10が検出可能な検出部位5に設けられる圧電振動子6と、この圧電振動子6に磁場を選択的かつ可逆的に作用させる磁力発生部材7と、圧電振動子6に磁場を作用させたときに圧電振動子6表面に磁気的に担持される担持体11とを具備させることを特徴とする。

ここで、前者と後者との差異は、前者の担持体11が磁性粒子11aとトラッパー11bであるのに対し、後者の担持体11が磁性粒子11aと測定対象物類似物11cとである点である。

また、いずれの態様においても、トラッパー11b又は測定対象物類似物11cが単独

で直接圧電振動子6表面に担持されることはなく、これらは磁性粒子11aと結合してなる担持体11の形で圧電振動子6表面に担持されるものである。

更に、磁力発生部材7としては、圧電振動子6に作用させる磁場を解除する手段を兼ね備えるものが好ましい。

[0022] このような技術的手段において、反応容器2の代表的態様としては通常試料が添加される試料添加部位4を有するものが挙げられる(図6(a)(b)参照)。

また、反応容器2の代表的態様としては、通常測定対象物10に特異的に結合するバインダー12又はバインター13b若しくは測定対象物類似物13cが不溶性小胞体13aに結合した標識体13が供給可能なバインダー／標識体供給部位8を有するものが挙げられる(図2(b)(c), 図5, 図7(a)(b)参照)。

更に、本発明の測定器具1は反応容器2を含むものであればよく、フローセル型反応容器は勿論であるが、これに限られるものではなく、ウェルプレート型反応容器をも含む。

[0023] また、フローセル型反応容器2においては、図7(a)(b)に示すように、バインダー／標識体供給部位8はバインダー12又は標識体13(図2(b)(c)参照)を供給可能な部位であれば適宜選定して差し支えない。

例えばフローセル型反応容器2の流路3中に予めバインダー12又は標識体13が移動可能に保持されるようにすれば、流路3の一部にバインダー12又は標識体13を保持しておき、添加された試料と共に移動させることができる。

また、バインダー／標識体供給部位8のレイアウトとしては、図7(a)(b)に示すように、フローセル型反応容器2の流路3のうち試料添加部位4の下流側に設けてもよいし、あるいは、図6(a)(b)に示すように、試料添加部位4を兼ねるようにしてもよい。

[0024] 更に、測定器具1の好ましい態様としては、図6(a)(b)又は図7(a)(b)に示すように、フローセル型反応容器2の流路3のうち検出部位5の下流側には吸収部位9を備えることが好ましい。

また、圧電振動子6としては代表的には水晶振動子が挙げられる。

更に、磁力発生部材7としては、磁力を発生する部材を広く含むが、代表的には永久磁石、電磁石等の磁石が用いられる。

[0025] ＜要素説明＞

次に、本実施の形態で用いられる各要素の概念について説明する。

試料

本実施の形態において使用できる試料には特に制限はないが、例えば全血、血漿、血清、髄液、唾液、羊水、尿、汗、膵液、涙等の生体試料が挙げられる。また、これらの試料あるいは、便、食品、土壌由来のものに水性媒体を添加して希釈したり、濃縮したり、抽出したものも試料として使用することができる。

[0026] 水性媒体

水性媒体としては、前述の試料や標識体を溶解するものであれば特に制限はないが、例えば脱イオン水、蒸留水、緩衝液等が挙げられるが、緩衝液が好ましい。緩衝液に用いる緩衝剤は緩衝能を有するものならば特に限定されないが、pH1～11の例えば乳酸緩衝剤、クエン酸緩衝剤、酢酸緩衝剤、コハク酸緩衝剤、フタル酸緩衝剤、リン酸緩衝剤、トリエタノールアミン緩衝剤、ジエタノールアミン緩衝剤、リジン緩衝剤、バルビツール緩衝剤、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン緩衝剤、イミダゾール緩衝剤、リンゴ酸緩衝剤、シュウ酸緩衝剤、グリシン緩衝剤、ホウ酸緩衝剤、炭酸緩衝剤、グリシン緩衝剤、グッド緩衝剤等が挙げられる。グッド緩衝剤としては、例えば2－モルホリノエタンスルホン酸(MES)、ビス(2－ヒドロキシエチル)イミノトリス(ヒドロキシメチル)メタン(Bis－Tris)、N－(2－アセトアミド)イミノ二酢酸(ADA)、ピペラジン－N, N'－ビス(2－エタンスルホン酸)(PIPES)、N－(2－アセトアミド)－2－アミノエタンスルホン酸(ACES)、3－モルホリノ－2－ヒドロキシプロパンスルホン酸(MOPSO)、N, N－ビス(2－ヒドロキシエチル)－2－アミノエタンスルホン酸(BES)、3－モルホリノプロパンスルホン酸(MOPS)、N－[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]－2－アミノエタンスルホン酸(TES)、2－[4－(2－ヒドロキシエチル)－1－ピペラジニル]エタンスルホン酸(HEPES)、3－[N, N－ビス(2－ヒドロキシエチル)アミノ]－2－ヒドロキシプロパンスルホン酸(DIPSO)、N－[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]－2－ヒドロキシ－3－アミノプロパンスルホン酸(TAPSO)、ピペラジン－N, N'－ビス(2－ヒドロキシプロパンスルホン酸)(POPSO)、3－[4－(2－ヒドロキシエチル)－1－ピペラジニル]－2－ヒドロキシプロパンスルホン酸(HEPPSO)、3－[4－(2

－ヒドロキシエチル）－１－ピペラジニル]プロパンスルホン酸[（H）EPPS]、Ｎ－[トリス（ヒドロキシメチル）メチル]グリシン（Tricine）、Ｎ，Ｎ－ビス（２－ヒドロキシエチル）グリシン（Bicine）、Ｎ－トリス（ヒドロキシメチル）メチル－３－アミノプロパンスルホン酸（TAPS）、Ｎ－シクロヘキシル－２－アミノエタンスルホン酸（CHES）、Ｎ－シクロヘキシル－３－アミノ－２－ヒドロキシプロパンスルホン酸（CAPSO）、Ｎ－シクロヘキシル－３－アミノプロパンスルホン酸（CAPS）等が挙げられる。緩衝液の濃度は測定に適した濃度であれば特に制限はされないが、０．００１～２．０mol／Ｌが好ましく、０．００５～１．０mol／Ｌがより好ましく、０．０１～０．１mol／Ｌが特に好ましい。

また、食品や土壌については、これらを前処理したものも試料として使用することができる。ここで、食品や土壌の前処理とは、例えば食品や土壌中の成分の適当な溶媒による抽出、化学的修飾等が挙げられる。溶媒としては例えば、前述の水性媒体、アセトリトリル、ヘキサン、メタノール、エタノール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン等の有機溶媒等が挙げられる。

化学的修飾としては例えば、食品や土壌中の成分の化学試薬による構造変換等が挙げられる。

[0027] 測定対象物

本実施の形態における測定対象物としては、特定の物質と結合するものであれば特に制限はなく、例えば抗原抗体反応を用いて測定される成分、酵素反応を用いて測定される成分、その他の特異的反応により測定される成分等が挙げられるが、抗原抗体反応を用いて測定される成分が好ましい。

抗原抗体反応により測定される成分としては例えば、IgG、IgM、IgA、IgE、アポ蛋白AI、アポ蛋白AII、アポ蛋白B、アポ蛋白E、リウマチファクター、Ｄ－ダイマー、酸化LDL、糖化LDL、グリコアルブミン、アディポネクチン、T3、T4、薬剤（抗テンカン剤等）、Ｃ－反応性蛋白（CRP）、サイトカイン類、α－フェトプロテイン（AFP）、癌胎児性抗原（CEA）、CA19－9、CA－125、PIVKA－II（Protein induced by vitamin K absence-II）、副甲状腺ホルモン（PTH）、ヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、インスリン、Ｃ－ペプタイド、エストロゲン、抗GAD抗体、ペプシノーゲン、インフルエンザA型抗原、インフルエンザB型抗原、コロナウイルス抗

原、HBV抗原、抗HBV抗体、HCV抗原、抗HCV抗体、HTLV－I抗原、抗HTLV－I抗体、HIV抗体、結核抗体、マイコプラズマ抗体、ヘモグロビンA1c、心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）、脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）、トロポニンT、トロポニンI、クレアチニンキナーゼ－MB（CK－MB）、ミオグロビン、H－FABP（ヒト心臓由来脂肪酸結合蛋白）、DON、NIV、T2等のカビ毒類、ビスフェノールA、ノニルフェノール、フタル酸ジブチル、ポリ塩素化ビフェニル（PCB）類、ダイオキシン類、p，p’－ジクロロジフェニルトリクロロエタン、トリブチルスズ等の内分泌撹乱物質類、大腸菌等の菌類、卵、乳、小麦、そば、落花生等の食物アレルギー物質やコナヒョウダニやトヤヒョウダニ等のダニ類等のアレルギー物質、抗アレルギー物質抗体等が挙げられる。

酵素反応を用いて測定される生体成分としては例えば、グルコース、1，5－アンヒドログルシトール、ヘモグロビンA1c、グリコアルブミン、フコース、尿素、尿酸、アンモニア、クレアチニン、総コレステロール、遊離コレステロール、高密度リポタンパク中のコレステロール（HDL－C）、低密度リポタンパク中のコレステロール（LDL－C）、超低密度リポタンパク中のコレステロール（VLDL－C）、レムナント様リポタンパク中のコレステロール（RLP－C）、トリグリセライド、リン脂質、総蛋白、アルブミン、グロブリン、ビリルビン、胆汁酸、シアル酸、乳酸、ピルビン酸、遊離脂肪酸、セルロプラスミン、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、クレアチンホスホキナーゼ（CPK）、ホスホキナーゼ（PK）、アミラーゼ、リパーゼ、コリンエステラーゼ、γ－グルタミルトランスペプチダーゼ、ロイシンアミノペプチダーゼ、L－乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）、アルドラーゼ、アルカリフォスファターゼ、酸フォスファターゼ、N－アセチルグルコサミニダーゼ、グアナーゼ、モノアミンオキシダーゼ等が挙げられる。

その他の特異的結合により測定される成分としては、核酸、レクチン等を用いる方法があげられ、例えばras等のガン遺伝子、p53等のガン抑制遺伝子等をコードするDNAまたはRNA、ペプチド核酸、アプタマー、糖蛋白質等が挙げられる。

[0028] 測定対象物類似物

測定対象物類似物としては、バインダー又はトラッパーに対して、試料中の測定対

象物と競合的に反応するものであれば特に制限はなく例えば、測定対象物それ自体、バインダーまたはトラッパーに対するエピトープを含有する物質等が挙げられる。

[0029] 反応容器

反応容器2の代表的態様としてはフローセル型がある。

ここでいうフローセル型反応容器2とは試料が流れる流路3を有するものを広く含むものであり、イムノクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、マイクロ化学システム等に適用されている。イムノクロマトグラフィーにおいては、試料添加部位に添加された試料溶液は、毛細現象によりメンブレン中を移動し、検出部位で測定される。液体クロマトグラフィーにおいては、ポンプにより液体が流れるフローセル中に設置された試料添加部位に測定対象物を含んだ試料を注入し、検出部位で測定される。マイクロ化学システムは、ガラスやプラスチック等の基板上に微細加工技術を利用して微小な流路を加工し、半導体集積回路のように化学装置を集積化した分析化学センサーであるが、基板上に設置された試料添加部位に試料を添加すると、流路中を移動し、流路の末端に設置された検出部位にて測定される。

また、フローセル型反応容器2の材質としては、プラスチック、シリカ、セラミックス、ガラス、金属、グラファイト、樹脂、多孔質メンブレン等が挙げられる。

尚、反応容器としてはウェルプレートなどの固定セル型を始め適宜選定して差し支えない。

[0030] 流路

フローセル型反応容器2に設置される流路3としては、試料と共に測定対象物、バインダー、標識体が保持され、吸着せずに流れ、少なくとも試料添加部位4と検出部位5とを形成可能としたものであればよく、材質としてはプラスチック、シリカ、セラミックス、ガラス、金属、グラファイト、多孔質メンブレン等が好ましい。多孔質メンブレンの材質としては例えばガラス繊維、セルロース、ナイロン(登録商標)、架橋デキストラン、各種のクロマトグラフィー用紙、ニトロセルロースなどが挙げられ、ニトロセルロースが好ましい。また、流路径としては、好ましくは1nm～10cm、より好ましくは100nm～1cm、特に好ましくは1μm～2mmである。

また、フローセル型反応容器2の流路3としては少なくとも一つあればよいが、測定

範囲を拡大するという観点からすれば、複数ラインの流路3を備え、各ラインの流路3に試料添加部位4と検出部位5とを少なくとも設けるようにしてもよい。

[0031] 試料添加部位

試料添加部位4は試料をフローセル型反応容器2に添加するための部位であり、試料添加部位4の材質としては例えばガラス繊維、セルロース、ナイロン、架橋デキストラン、各種のクロマトグラフィー用紙、ニトロセルロース等が挙げられ、ニトロセルロースが好ましい。

バインダー／標識体供給部位

このバインダー／標識体供給部位8はバインダー又は標識体を供給する部位であり、試料添加部位4をバインダー／標識体供給部位8と兼用し、試料添加部位4と同一箇所からバインダー／標識体を供給することもできるし、試料添加部位4と異なる箇所から供給することもできる。この場合、バインダー／標識体供給部位8からバインダー／標識体を添加することもできるが、部材中にバインダー／標識体を保持するようにしてもよい。

バインダー／標識体供給部位8の材質としては試料添加部位4と同一又は異なってよく、例えばガラス繊維、セルロース、ナイロン、架橋デキストラン、各種のクロマトグラフィー用紙、ニトロセルロース等が挙げられる。

[0032] バインダー

本実施の形態におけるバインダー12は、流路3中に移動可能な状態で存在し、磁性粒子と結合することができ、かつ、測定対象物に特異的に結合するものであれば特に制限はないが、例えば、抗体と該抗原に特異的に結合する抗体やアプタマー、糖類と該糖類に対するレクチン、DNAと該DNAに相補的なDNA等が挙げられ、それぞれ一方のものが使用できる。

[0033] 標識体

標識体13とは、測定対象物類似物又はバインダー13b及び不溶性小胞体13aとから構成され、圧電振動子6上に生成した担持体11を含有する複合体の量に依存した情報を発信するものであれば特に制限はないが、標識体13により圧電振動子6の振動数変化が増加するものが好ましい。標識体13における測定対象物認識部位と

担持体11における測定対象物認識部位とは同じであってもよいが、異なっていることが好ましい。

[0034] 不溶性小胞体

前述の測定対象物類似物又はバインダー13bと結合する不溶性小胞体13aとしては、圧電振動子6上に生成した複合体を振動数の変化量として検出できるものであれば特に制限はないが、質量が大きく、圧電振動子6の振動数の変化を増加できるものが好ましい。質量の大きい不溶性小胞体としては例えば、金属コロイド、ラテックス等が挙げられ、金属コロイドとしては例えば金コロイド、銀コロイド等が挙げられる。また、反応容器としてフローセル型反応容器を使用する場合には、不溶性小胞体として磁性粒子も用いることができる。不溶性小胞体の粒子径としては、0.1～10000nmが好ましく、1～1000nmがより好ましく、5～500nmが特に好ましい。使用する不溶性小胞体の濃度としては、0．001％～10％が好ましく、0．01％～5％がより好ましく、0．1％～1％が特に好ましい。また、不溶性小胞体として、不溶性小胞体表面に牛血清アルブミン等の親水性蛋白質や、ポリエチレングリコール（PEG）やポリビニルピロリドン（PVA）等の高分子化合物をコーティングしてあるものも使用できる。

[0035] 不溶性小胞体にバインダー又は測定対象物類似物を結合する方法

不溶性小胞体とバインダー又は測定対象物類似物とは、物理的に結合してもよいが、化学的に結合してもよい。物理的結合としては、例えば物理吸着等の非共有結合が挙げられる。化学的な結合としては、例えば共有結合が挙げられる。非共有結合としては、例えば静電的結合、水素結合、疎水結合、配位結合等が挙げられる。不溶性小胞体とバインダーとを共有結合により結合させて標識体を調製する方法としては、例えば2価性のグルタルアルデヒド等の架橋剤を用いて、架橋剤を介して不溶性小胞体とバインダーを結合させる方法が挙げられる。

[0036] 検出部位

検出部位5としては、センサーである圧電振動子6を有するものであれば特に制限はなく、圧電振動子6として水晶振動子が好ましい。

－圧電振動子（水晶振動子）－

この圧電振動子6は、圧電効果を有する結晶からなるものであれば特に制限はなく

、結晶としては、例えば水晶、ロッシェル塩、電子石などの結晶、タンタル酸リチウム（$LiTaO_2$）、ニオブ酸リチウム（$LiNbO_3$）などの酸化物単結晶や、酸化亜鉛（ZnO）等が挙げられ、水晶が好ましい。

[0037] 担持体

担持体11は磁性粒子11aとトラッパー11b若しくは測定対象物類似物11cとからなり、磁力によって圧電振動子6上に担持されるものであれば特に制限はないが、トラッパー11bと磁性粒子11aとからなる担持体11を用いる場合には、担持体11を構成するトラッパー11bの測定対象物認識部位と、バインダー又は標識体の測定対象物認識部位とは同じであってもよいが、異なっていることが好ましい。

[0038] 磁性粒子

本実施の形態における磁性粒子は、フェライトやマグネタイト（磁鉄鉱、Fe_3SO_4）を主成分とし、質量が大きく磁石に効率良く反応するものが好ましい。磁性粒子の粒子径としては、1～100000nmが好ましく、10～10000nmがより好ましく、100～50000nmが特に好ましい。標識体として流路中に供給される磁性粒子の濃度としては、0．001％～10％が好ましく、0．01％～5％がより好ましく、0．1％～1％が特に好ましい。また、磁性粒子として、磁性粒子表面に牛血清アルブミン等の親水性蛋白質や、ポリエチレングリコール（PEG）やポリビニルピロリドン（PVA）等の高分子化合物をコーティングしてあるものも使用できる。

[0039] トラッパー

トラッパーは測定対象物に特異的に結合し、磁性粒子とともに水晶振動子25上に固定化されるものであれば特に制限はないが、例えば抗原と該抗原に特異的に結合する抗体やアプタマー、糖類と該糖類に対するレクチン、DNAと該DNAに相補的なDNA等が挙げられ、それぞれ一方のものが使用できる。

[0040] 磁性粒子にトラッパー又は測定対象物類似物を結合する方法

磁性粒子にトラッパー又は測定対象物類似物を結合する方法としては、物理的結合、化学的結合が挙げられる。物理的結合としては、例えば物理吸着等の非共有結合が挙げられる。化学的な結合としては、例えば共有結合が挙げられる。非共有結合としては、例えば静電的結合、水素結合、疎水結合、配位結合等が挙げられる。

共有結合により磁性粒子にトラッパー又は測定対象物類似物を結合する方法としては、例えば2価性のグルタルアルデヒド等の架橋剤を用いて、架橋剤を介して結合する方法が挙げられる。

[0041] 磁力発生部材

磁力発生部材7としては、圧電振動子6に作用させる磁場を解除する手段を兼ね備えることが好ましい。

ここで、磁力発生部材7としては、永久磁石、電磁石など特に制限はないが、必要に応じて、磁力を作用させたり、その作用を解除できるように可逆的に磁場を発生し得る態様が好ましい。例えば永久磁石であれば磁石を取り外し自在にするほか、圧電振動子6表面に対する磁石の位置を可変とすることで磁場作用域を可逆的に変化させるようにすればよく、電磁石であれば励磁コイルへの通電をオンオフするようにすればよい。

そして、この磁力発生部材7の配置としては、圧電振動子6に磁場を選択的かつ可逆的に形成し得る配置であれば特に制限はない。特に、反応容器2がフローセル型反応容器である場合には、磁力発生部材7は流路3中でも差し支えないが、試料の流れを損なわないという観点からすれば、フローセル型反応容器2の流路3外に設けることが好ましい。

[0042] 吸収部位

吸収部位9は、未反応の試料、標識体を吸収するためにフローセル型反応容器2に設けられる部位であり、試料添加部位4及び検出部位5の下流側に位置することが好ましい。

この吸収部位9は未反応成分(未反応の試料や標識体)を吸収可能な部位であればよく、検出部位5を通過した未反応成分を吸収処理することができ、その分、未反応成分による検出部位5への影響を低減することができる。

この吸収部位9としては、吸収性高分子化合物を使用することができる。この高分子化合物としては、例えばセルロース、グラスファイバー、コットン、ポリウレタン等が挙げられる。また、この吸収部位9はポンプなどによる強制排出手段を用いることもできる。

[0043] 洗浄液

洗浄液としては、圧電振動子6上で反応できなかった試料成分、標識体を洗い流せるものであれば特に制限はないが、水性媒体が好ましい。特に前述の水性媒体に界面活性剤を含有したものがより好ましい。緩衝液に用いる緩衝剤は緩衝能力を有するものであれば特に制限されない。界面活性剤は界面活性効果を有するものであれば特に制限されないが、例えば、陽イオン性界面活性剤、陰イオン性界面活性剤、両性界面活性剤、非イオン性界面活性剤等があげられ、非イオン性界面活性剤が好ましい。非イオン性界面活性剤としては、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート(Tween20)やポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル(TritonX-100)等が挙げられる。界面活性剤の濃度としては、特に制限はないが、0.001～20%が好ましく、0.01～10%がより好ましく、0.05～1%が特に好ましい。

[0044] フローセル型反応容器における温度制御

フローセル型反応容器2の反応液の温度を制御する方法としては、該フローセル型反応容器2の下面から全体を加温することで温度が制御できれば特に制限は無いが、例えばペルチェ素子を用いた温度制御が挙げられる。

[0045] ＜測定器具の動作原理＞

このような測定器具1のうち、担持体11が磁性粒子11aとトラッパー11bとである態様にあっては、図2(a)に示すように、磁力発生部材7による磁気的相互作用(磁力、あるいは磁気的な引力)により担持体11が圧電振動子6表面に担持される。このとき、試料中の測定対象物10と担持体11との反応において、測定対象物10が担持体11(具体的にはトラッパー11b)に結合し、トラッパー－測定対象物からなる複合体が生成される。

[0046] また、担持体11(磁性粒子11a＋トラッパー11b)と標識体13とで測定対象物10を挟むようなサンドイッチ反応の場合には、図2(b)(c)に示すように、圧電振動子6上に担持される担持体11は測定対象物10に結合し、それ自体、測定対象物10及びバインダー12又は標識体13が関与するサンドイッチ反応により、サンドイッチ型複合体(担持体－測定対象物－バインダー又は標識体)を生成する。

このとき、バインダー12又は標識体13における測定対象物認識部位と、担持体11(トラッパー11b)における測定対象物認識部位とは同じであってもよいが、異なって

いることが好ましい。

[0047] 更に、検出部位5での反応が終了した場合には、反応終了後、圧電振動子6上に生じた反応物を除去することが必要である。本例では、例えば図3に示すように、磁力発生部材7による磁場の作用を解除(磁場をなくす)すればよく、この場合、磁気的相互作用(磁力、あるいは磁気的な引力)が無くなり、担持体11が圧電振動子6表面から離脱するため、圧電振動子6上の反応物が遊離することになり、圧電振動子6表面を簡単にリセットすることが可能である。

[0048] また、図4(a)(b)のように、担持体11が磁性粒子11aと測定対象物類似物11cとである態様にあっては、圧電振動子6上に担持される担持体11が、バインダー12又は標識体13に対して測定対象物10と競合的に反応する。この場合、圧電振動子6上には測定対象物類似物－バインダー又は標識体からなる複合体が生成される。

本態様においては、測定対象物類似物11cは測定対象物10と競合的に反応するものであるから、測定対象物類似物11cとの間で反応が促進されれば、その分、試料中の測定対象物10が少ないことを意味し、その逆の反応傾向であれば、試料中の測定対象物10が多いことを意味する。このため、測定対象物類似物11cとの間の反応量を精度良く測定することにより、間接的に測定対象物10の測定感度を上げることが可能である。

更に、検出部位5での反応が終了した場合には、反応終了後、圧電振動子6上に生じた反応物を除去するために、図3と同様に、磁力発生部材7による磁場作用を解除するようにすればよい。

[0049] また、図5に示すように、圧電振動子6上に担持される担持体11(例えば磁性粒子11a＋トラッパー11b)が、標識体13(測定対象物類似物13cを具備)と測定対象物10とに対して競合的に反応する場合には、圧電振動子6上には、担持体－測定対象物又は測定対象物類似物からなる複合体が生成される。

[0050] ＜測定器具を用いた測定方法＞

次に、上述した測定器具1を用いて測定対象物10を測定する測定方法について説明する。

先ず、担持体11が磁性粒子11aとトラッパー11bとである態様の測定器具1を用い

て試料中の測定対象物10を測定する際には、図2(a)～(c)及び図3、並びに、図8(a)(b)に示すように、試料添加部位4及び圧電振動子6を備えた検出部位5を有する反応容器2、及び、測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパー11bと磁性粒子11aとが結合してなる担持体11を用いて試料中の測定対象物10を測定する方法であって、反応容器2中で、試料中の測定対象物10と担持体11とを反応させ、担持体－測定対象物を含む複合体を生成させる試料反応工程、担持体11の磁性粒子11aに磁力を作用させ、磁性粒子11aを磁気的に圧電振動子6上に担持する担持体担持工程、圧電振動子6上に担持された複合体の量を圧電振動子6の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、この振動数測定工程で測定した圧電振動子6の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物10の濃度を決定する濃度決定工程を備えたものであればよい。

特に、検出部位5での複合体の量を正確に把握するには、試料反応工程と振動数測定工程との間に検出部位5の洗浄工程を含み、検出部位5での不要成分を除去することが好ましい。

[0051] また、この種の測定器具を用いた別の測定方法としては、図5、図6及び図8(a)(b)に示すように、試料添加部位4及び圧電振動子6を備えた検出部位5を有する反応容器2、及び、測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパー11bと磁性粒子11aとが結合してなる担持体11を用いて試料中の測定対象物10を測定する方法であって、反応容器2中で、試料中の測定対象物10及び測定対象物類似物13cと不溶性小胞体13aとが結合してなる標識体13を担持体11に反応させ、担持体－標識体を含む複合体を生成させる試料反応工程、担持体11の磁性粒子11aに磁力を作用させ、磁性粒子11aを磁気的に圧電振動子6上に担持する担持体担持工程、圧電振動子6上に担持された複合体の量を圧電振動子6の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、この振動数測定工程で測定した圧電振動子6の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物10の濃度を決定する濃度決定工程を備えるようにすればよい。

[0052] また、担持体11が磁性粒子11aと測定対象物類似物11cとである態様の測定器具1を用いて試料中の測定対象物10を測定するには、図4及び図8(a)(b)に示すように

、試料添加部位4及び圧電振動子6を備えた検出部位5を有する反応容器2、測定対象物類似物11cと磁性粒子11aとが結合してなる担持体11、及び、測定対象物10若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー12又は該バインダー13bと不溶性小胞体13aとが結合してなる標識体13を用いて試料中の測定対象物10を測定する方法であって、反応容器2中で、試料中の測定対象物10及び測定対象物類似物11cと磁性粒子11aとが結合してなる担持体11と測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー12又は該バインダー13bと不溶性小胞体13aとを反応させ、担持体－バインダー又は担持体－標識体を含む複合体を生成させる試料反応工程、担持体11の磁性粒子11aに磁力を作用させ、磁性粒子11aを磁気的に圧電振動子6上に担持する担持体担持工程、圧電振動子6上に担持された複合体の量を圧電振動子6の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、この振動数測定工程で測定した圧電振動子6の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物10の濃度を決定する濃度決定工程を備えるようにすればよい。

尚、本態様においても、試料反応工程と振動数測定工程との間に検出部位5の洗浄工程を含むことが好ましい。

[0053] 更に、この種の測定方法のうち、バインダー／標識体供給部位8が試料添加部位4を兼ねる態様においては、供給工程は、試料とバインダー12若しくは標識体13とが試料添加部位4から同時又は前後して順に添加されるものであればよい。

また、この種の測定方法のうち、バインダー／標識体供給部位8がフローセル型反応容器2の流路3にバインダー12又は標識体13を予め移動可能に保持する態様においては、供給工程は、試料が試料添加部位4から添加され、バインダー／標識体供給部位8に予め保持されているバインダー12又は標識体13が試料と共に移動するものであればよい。

[0054] また、この種の測定方法において、複数項目を同時に測定する場合には、検出部位5のうち、任意の複数箇所に複数種の異なる担持体11を磁力発生部材7による磁場にて担持させ、複数項目の測定対象物を同時に測定可能とすればよい。

更に、検出部位5を任意に設定する場合には、検出部位5のうち任意の複数箇所

に対応して複数個の磁力発生部材7を設け、検出部位5を任意の箇所に設定するようにすればよい。本態様によれば、複数個の磁力発生部材7による磁場を夫々別個に作用させ、磁場作用域のみ検出部位5として機能させることが可能である。

[0055] また、このような測定方法を具現化する装置発明としては、図8(b)に示すように、試料と、測定対象物10に特異的に結合するバインダー12又はバインダー13b若しくは測定対象物類似物13cが不溶性小胞体13aに結合した標識体13とを検出部位5に供給する上述した測定器具1と、この測定器具1の検出部位5の圧電振動子6上に生成したトラッパー－測定対象物、又は、トラッパー－測定対象物－バインダー若しくはトラッパー－測定対象物－標識体からなる複合体、或いは、測定対象物類似物－バインダー若しくは測定対象物類似物－標識体からなる複合体の量を圧電振動子6の振動数の変化量として測定する振動数測定手段15と、この振動数測定手段15で測定した圧電振動子6の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物10の濃度を決定する濃度決定手段16とを備えたものが挙げられる。

このような測定装置においては、測定器具1と振動数測定手段15、濃度決定手段16とは別個に設けられてもよいし、測定器具1に、振動数測定手段15及び濃度決定手段16を組み込むことで一体的に設けるようにしてもよい。

[0056] 以下、添付図面に示す実施の形態に基づいて本発明をより詳細に説明する。

◎実施の形態1

図9は本発明が適用される測定装置の実施の形態1を示す説明図である。

同図において、測定装置は、試料中の測定対象物を測定するための測定器具20と、この測定器具20からのセンサー出力に基づいて解析処理する解析処理装置100とを備えている。

[0057] ＜測定器具の概要＞

本実施の形態において、測定器具20は、図9及び図10に示すように、試料中の測定対象物が流路22に沿って移動可能なフローセル型反応容器21を有している。このフローセル型反応容器21はQCM(Quartz Crystal Microbalanceの略)センサー23のセンサー基板24を容器底部とし、このセンサー基板24上に所定隙間の流路22が確保されるようにカバー30で密封したものである。

そして、フローセル型反応容器21のカバー30のうち流路22の上流側に位置する部位には液体流入用開口31が開設されると共に、流路22の下流側に位置する部位には液体流出用開口32が開設されている。

本実施の形態では、一方の液体流入用開口31にはチューブ33を介して試料容器34が接続されて試料添加部位Aとして機能し、他方の液体流出用開口32にはチューブ35を介してシリンジポンプ36が接続されて吸収部位Dとして機能するようになっている。尚、本実施の形態では、試料添加部位Aから標識体が試料と同時若しくは試料添加後に供給されるようになっている。

[0058] 更に、本実施の形態では、QCMセンサー23はセンサー基板24表面に水晶振動子25を実装したものであり、流路22のうちこの水晶振動子25の表面に対応した部位を検出部位Cとして機能するようにしたものである。

そして、センサー基板24の裏面のうち水晶振動子25が実装された位置に例えば永久磁石からなる磁石40が設置されている。この磁石40は取り外し自在になっており、磁石40を設置したときには、磁石40による磁場作用域に水晶振動子25の表面部が配置されるように位置調整されている。

そして、この水晶振動子25の表面には担持体11(磁性粒子11a+トラッパー11b又は測定対象物類似物11c)が前記磁石40による磁場にて担持されている(図1又は図4参照)。

更にまた、本実施の形態では、センサー基板24は、例えばペルチェ素子52で一定温度に保たれた例えばアルミニウム製の恒温ブロック51上に設置されていて、温度変化による水晶振動子25の共振周波数変化を防止するように配慮されている。

[0059] <解析処理装置の概要>

本実施の形態において、解析処理装置100は、水晶振動子25の共振特性を測定する振動数測定回路と、この振動数測定回路からの情報に基づいて試料中の測定対象物の濃度を演算する濃度演算回路とを備えていればよい。

本実施の形態では、振動数測定回路及び濃度演算回路としては、例えばネットワークアナライザー101を用いて水晶振動子25の共振特性を測定し、測定した共振特性のデータをパーソナルコンピューター(PC)102に取り込んで演算により水晶振動

子25の共振周波数を求め、さらに検量線を用いて共振周波数から濃度への計算を行う構成が挙げられる。

水晶振動子25の共振特性から共振周波数を求めるには、ネットワークアナライザー101等で水晶振動子25の共振周波数付近の共振特性(周波数－アドミッタンス特性)を測定し、後述する水晶振動子25の等価回路が示すアドミッタンス特性と一致するように等価回路の定数を最小二乗法等の数学的手段を用いて求めればよい。

水晶振動子25の等価回路は、図11に示すように、インダクタンスLxと容量Cxと損失抵抗Rxの直列共振回路と、電極容量等による並列容量Cpとの並列接続で表せる。この時、水晶振動子のアドミッタンスYは、式1および式2で求めることが出来る。

$Y=J\cdot\omega\cdot Cp+1/(J\cdot\omega\cdot Lx+1/(J\cdot\omega\cdot Cx)+Rx)$ (式1)

$\omega=2\cdot\pi\cdot fo$ (式2)

ここで、Jは複素数$(-1)^{1/2}$、ωは角周波数、foは共振周波数、πは円周率を表す。

水晶振動子の共振周波数foは、このようにして求めた等価回路定数Lx、Cxから式3を用いて計算することができる。

$fo=1/(2\cdot\pi\cdot(Lx\cdot Cx)^{1/2})$ (式3)

尚、パーソナルコンピューター102には濃度演算結果を表示する表示装置103が組み込まれていることが好ましい。

[0060] ＜QCMセンサーの詳細＞

－水晶振動子－

本実施の形態において、水晶振動子25は例えば厚み滑り振動モードを有するATカット水晶振動子で、特に基本共振周波数が5～50MHzで発振するものが好ましい。また、水晶振動子25としては本実施の形態のように1つでも差し支えないが、複数用いるようにしても差し支えない。

[0061] －センサー基板－

センサー基板24の構造としては適宜選定して差し支えないが、図12(a)(b)に一例を示す。

同図において、センサー基板24は例えばガラスエポキシ製の両面配線プリント基

板61を用い、上面には、水晶振動子25の電極65，66と接続をするための2つのランドパターン62と、水晶振動子25の振動部分がプリント基板61と接触しないようにするための台座用のコの字型パターン63とが配置されている。水晶振動子25は、電極接続用ランドパターン62の上に水晶振動子25の電極接続部が乗るように配置され、例えば導電性シリコーン樹脂で電気的な接続がなされている。さらに、水晶振動子25及びセンサー基板24間に試料溶液が染み込んで表電極65と裏電極65とがショートするのを防止するため、水晶振動子25の周囲は例えばシリコーン接着剤64で封止されている。電極接続用ランドパターン62からの配線67は、試料溶液によるショートを避ける為、スルーホールを通じてプリント基板61の下面に引き出され、接続端子68まで延びている。

更に、表電極65と裏電極66とは、図13(a)(b)に示すように、共に裏面でプリント基板61の電極接続用ランドパターン62に接続できるように接続部69aが設けられており、引き出し電極69で電気的に接続されている。表電極65は水晶振動子25の一左側面を経由して裏面の接続部69aへと引き出し電極69で引き回されている。

[0062] －フローセル型反応容器表面への水晶振動子の固定法－

本実施の形態では、センサー基板24がフローセル型反応容器21の一部を構成しているが、これに限られるものではなく、フローセル型反応容器21表面にセンサー基板24を固定するには、接着剤を用いた化学的な方法などで行うようにすればよい。使用する接着剤としては、電気的接続にはシリコーン導電性接着剤、エポキシ導電性接着剤、異方性導電フィルム（ACF）、異方性導電ペースト（ACP）等が、また防水と固定にはシリコーン接着剤、エポキシ接着剤等が使用される。

[0063] ＜水晶振動子上への担持体の担持離脱方法＞

水晶振動子上への担持体の担持方法

水晶振動子25上への担持体11の担持方法としては、図9に示すように、反応容器21の外部から磁石40による磁場をかけることで担持できれば特に制限は無い。

水晶振動子上からの担持体の離脱方法

水晶振動子25上に担持された担持体11の離脱方法としては、図9に示すように、反応容器21の外部から磁石40による磁場を解除して、水晶振動子25上から担持体

11を離脱できれば特に制限は無い。

[0064] ＜測定装置による測定方法＞

図9及び図10に示すように、測定器具20の試料添加部位Aから担持体（磁性粒子＋トラッパー又は測定対象物類似物）が含まれる溶液を添加すると共に、水晶振動子25表面に磁石40による磁場を作用させ、水晶振動子25上に担持体を担持させ、洗浄液による洗浄を行う。

しかる後、測定器具20の試料添加部位Aに試料とバインダー（又は標識体）とを添加し、試料中の測定対象物及びバインダー（又は標識体）が測定器具20のフローセル型反応容器21の流路22を移動し、試料及びバインダー（又は標識体）とを検出部位Cである水晶振動子25上の担持体に供給し、必要があれば前述の洗浄液で洗浄し、担持体と特異的に結合させて生じた複合体の量を水晶振動子25の振動数の変化量として検出し、解析処理装置100を介して測定対象物の試料中の濃度を測定する。

[0065] このような測定過程において、試料中の測定対象物と水晶振動子25上の担持体（例えばトラッパー）又は試料中の測定対象物と反応液中の標識体とが反応する条件としては、特異的反応を行うことが出来る条件であれば特に制限はないが、反応温度としては、通常0℃～100℃、好ましくは10～60℃、より好ましくは20～40℃で行われる。また、測定時間としては、通常10秒～10時間、好ましくは30秒～5時間、より好ましくは1分～1時間で行われる。

更に、検量線作製のための既知濃度の標準物質を用いた測定は、同一の測定器具20を用いて個別に繰り返し行ってもよいが、測定器具20を複数組み合わせて構成した装置を用いて、試料中の測定対象物の測定と既知濃度の標準物質の測定とを同時に行うことが好ましい。

[0066] このような測定過程では、水晶振動子25表面での反応の態様としては、図2，図4及び図5に示す状態が得られる。これらの反応により、測定対象物10が直接的又は間接的に測定される。

そして、反応が終了した後には、磁石40による磁場作用を解除すると共に、洗浄液を流すことにより、例えば図3に示すように、担持体11が水晶振動子25表面から離

脱することになり、これに伴って、水晶振動子25上の反応物が確実に除去される。

このため、本実施の形態にあっては、水晶振動子25表面がリセットされることになるため、この測定器具20を再利用することが可能である。

[0067] ◎実施の形態2

図14は本発明が適用された測定装置の実施の形態2を示す。

同図において、測定装置の基本的構成は実施の形態1と略同様に測定器具20と解析処理装置100とを備えているが、実施の形態1と異なり、POCT(ポイント オブ ケア テスティング)への対応を考慮して、小型で簡便な構成となるよう設計されている。尚、実施の形態1と同様な構成要素については実施の形態1と同様な符号を付してここではその詳細な説明を省略する。

本実施の形態において、装置全体は、測定器具20に解析処理装置100を組み込んだものであり、測定部S1と、測定結果解析処理部S2の二つの要素から構成されている。測定部S1は、QCMセンサー23(水晶振動子25を実装したセンサー基板24)、プラスチック製の上部カバー71及び下部カバー72、各種メンブレン81～83を備えている。

[0068] 上部カバー71は流路22部分がくり抜かれたものであって、センサー基板24の上に着脱自在に且つ水密な状態にて載置され、両者の間に出来る隙間を流路22として用いるようになっている。そして、本例では、図14及び図15に示すように、流路22部分が長く確保されており、流路22の一方の側には、試料添加部位Aとして機能する試料保持メンブレン81と、この試料保持メンブレン81に隣接して標識体保持部位(又はバインダー保持部位)Bとして機能する標識体(又はバインダー)保持メンブレン82が挟み込まれている。更に、上部カバー71の試料添加部位A付近には、ピペット等で試料溶液を添加するための開口部75が設けられており、本例では、この開口部75は補助的な試料容器としても機能する。また、流路22のもう一方の側には、検出部位Cの下流側に吸収用メンブレン83が挟み込まれており、吸収部位Dとして機能するようになっている。

[0069] ここで、標識体(バインダー)保持部位Bは、標識体(バインダー)を移動可能なようにフローセル型反応容器21の流路22に保持するための部位である。

本実施の形態において、標識体(バインダー)保持部位Bの標識体(バインダー)保持メンブレン82の材質としては、試料添加部位Aの試料保持メンブレン81の材質と同一または異なってよく、例えばガラス繊維、セルロース、ナイロン、架橋デキストラン、各種のクロマトグラフィー用紙、ニトロセルロース等が挙げられ、ニトロセルロースが好ましい。

また、吸収部位Dの吸収用メンブレン83としては、吸水性高分子化合物を使用することができる。高分子化合物としては例えば、セルロース、グラスファイバー、コットン、ポリウレタン等が挙げられる。

[0070] 更に、センサー基板24の下面の水晶振動子25が実装された位置には磁石40(例えば長方形フェライト磁石)が設置されており、この磁石40による磁場作用域に水晶振動子25の表面が配置されるようになっている。

更にまた、センサー基板24及び水晶振動子25の実装方法や、電極引き出し方法等は実施の形態1と略同様の方法が用いられている。センサー基板24は、上部カバー71と下部カバー72とに挟まれた状態で、接着あるいははめ込み式で組み立てられている。また、水晶振動子25は、上下カバー71, 72により密閉された空間に配置されるため、環境の温度変化や風などに対する影響を受け難い。

[0071] また、測定部S1と測定結果解析処理部S2とは、コネクター85により機械的に接続、取り外しが可能となっている。同時に、水晶振動子25からの配線もコネクター85を介して測定結果解析処理部S2へ接続されている。

本実施の形態において、測定結果解析処理部S2(100)は、実施の形態1と同様に、振動数測定回路及び濃度演算回路とを備えているが、振動数測定回路として、水晶振動子25を水晶発振回路111に接続して共振周波数近傍で発振させ、その発振周波数を周波数カウンター112で測定する構成が挙げられる。この構成の場合、濃度演算回路としてはパーソナルコンピューターやマイクロプロセッサーや論理演算回路などの制御装置113を用いることができる。

つまり、本実施の形態では、水晶振動子25の共振周波数の測定は、実施の形態1と異なり、水晶発振回路111を用いて水晶振動子25を発振させると、共振周波数よりわずかに高い周波数で発振するので、これを共振周波数と見なすことができる。そし

て、周波数カウンター112で前記発振出力を測定することで共振周波数を取得し、CPU等を利用した制御装置113において、検量線データを用いて共振周波数から測定対象物の濃度に変換し、結果を表示装置114に表示することが出来る。

[0072] 図16は水晶発振回路111の一例を示すもので、CMOSインバーターを用いたコルピッツ型水晶発振回路である。本例では、水晶振動子25の表電極及び裏電極からの配線はセンサー基板24の配線を介して水晶発振回路111に接続されている。水晶振動子25は入力コンデンサー221と出力コンデンサー222を介してグランドに接続してπ型帰還回路を形成し、CMOSインバーター224よりなる増幅回路の入力と出力間にこの帰還抵抗223を挿入することで信号を帰還させて発振させている。CMOSインバーター224は入出力間を数KΩから数MΩの帰還抵抗223で接続することで反転増幅器として用いている。

[0073] 本実施の形態に係る測定装置においては、実施の形態1に比べて、シリンジポンプ36やネットワークアナライザー等の大型の装置類が不要となり、POCT等に適した小型の測定装置を実現することが可能である。

[0074] ◎実施の形態3

実施の形態1，2に係る測定装置はQCMセンサー23として単一の水晶振動子を用いたモデルである。これらのモデルは、水晶振動子自体の周波数ドリフトが比較的少なく、複合体結合による周波数変化量に比較して無視できる程度であれば特に問題はない。

ここで周波数ドリフトとは、目的物質の特異的な結合に基づく周波数変化以外の周波数変動を意味し、例えば添加した試料溶液が水晶振動子に接触することで振動子自体、あるいは周囲の温度が変化し、それにともなって共振周波数が変化したり、試料溶液中に含まれる目的物質以外の成分がセンサー膜に結合して周波数変化を起こす場合などのような、意図しない周波数変動の事である。

実施の形態1，2において、もし、このような周波数ドリフトが存在すると、ドリフト成分が測定値に加算されるため、測定値に誤差を生じてしまう懸念がある。

このようなドリフト現象による測定誤差を減らすためには、リファレンス水晶振動子を用いる方法が考えられる。

リファレンス水晶振動子という名称に対し、目的物質を検出する水晶振動子をテスト水晶振動子と呼ぶことにする。

流路中の検出部位に、このリファレンス水晶振動子をテスト水晶振動子に併設し、それぞれの共振周波数の変化を測定して、テスト水晶振動子の周波数変化から、リファレンス水晶振動子の周波数変化を差し引くことでドリフト成分の影響を取り除き、測定誤差を少なくすることが可能である。

[0075] 次に、図を用いてリファレンス水晶振動子を用いたモデルについて説明する。

図17はリファレンス水晶振動子を用いた実施の形態3の構成を示す図である。

本実施の形態に係る測定装置は、基本的には実施の形態2にリファレンス水晶振動子を追加したもので、さらに追加したリファレンス水晶振動子の共振周波数を計測し、差を求めるように測定結果解析処理部S2(解析処理装置100)の測定回路120に改良を加えたものである。

従って、本実施の形態の説明においては、実施の形態2と異なる部分を中心に説明を行う。

本実施の形態においては、流路22中の検出部位Cに設けたテスト水晶振動子251に対し、試料溶液の流れの下流にリファレンス水晶振動子252が設置されている。

リファレンス水晶振動子252の実装方法は、テスト水晶振動子251と同様の方法を用いることができる。

リファレンス水晶振動子252からの配線は、センサー基板24の配線パターンに通じ、コネクター85を介して測定器具解析処理部S2の測定回路120に接続されている。

[0076] また、磁場を付与する磁石40は、リファレンス水晶振動子252とテスト水晶振動子251とに対し個別に設けているが、1個の磁石を用いて、それぞれの水晶振動子251，252の電極表面に磁界が集中するように磁石の形状や設置位置などを調整して用いてもよい。

リファレンス水晶振動子とテスト水晶振動子の位置関係は、試料溶液の流れに対して直列でも並列でもよく、直列の場合には上流下流のどちらでもよい。

但し、テスト水晶振動子251とリファレンス水晶振動子252とをなるべく近くに配置することで、両者が同じようにドリフトの影響を受けるようにした方がドリフトのキャンセ

ルがより完全になる点で好ましい。

[0077] 図18は測定回路120の構成を示す図である。

テスト水晶振動子251とリファレンス水晶振動子252とに対応してそれぞれ個別の水晶発振回路121，122と周波数カウンター123，124とに接続されており、両水晶振動子251，252の共振周波数を同時連続的に測定する構成となっている。

水晶発振回路121，122には実施の形態2で用いたコルピッツ型水晶発振回路を用いることができる。測定した両者の共振周波数は、制御装置125内で差を演算することでドリフト成分の差し引きが行われるよう構成されている。尚、符号126は制御装置125による演算結果を表示する表示装置である。

本構成では、両者の発振周波数を周波数カウンター123，124で求めた後に、差を演算しているが、論理回路を用いて2つの水晶発振回路121，122の出力から直接、差周波数を作りだし、差周波数をカウンターで計測する方法を用いてもよい。

[0078] 図19は、測定回路120の別の構成を示す図である。

この例は、リファレンス水晶振動子252とテスト水晶振動子251とを切替回路130で切替ながら1つの水晶発振回路131で交互に発振させて周波数を測定するものである。

切替回路130には、電磁リレーや、アナログスイッチ等の電子的なリレーを用いることができる。

切替は、制御装置133内で発生させた切替信号により行う。

切替のタイミングは、数0．1秒から数10秒の範囲が可能だが、切替時間が短いと周波数カウンター132の計測精度が悪くなり、逆に切替時間が長いと発振させていない側の共振周波数変化の様子がわからなくなるので通常1秒から数秒程度が適している。尚、符号134は制御装置133による演算結果を表示する表示装置である。

[0079] 本実施の形態での測定手順については、実施の形態2と全く同様である。

本実施の形態によれば、非特異吸着や温度変化などの他にも予期せぬ原因に基づくドリフトをキャンセルした測定が可能であるため、測定精度の向上が期待できる。

[0080] 実施の形態3では、テスト水晶振動子251とリファレンス水晶振動子252とに別個の水晶振動子を用いたが、例えば一つの水晶基板上に2組の電極を設けた2チャンネ

ル水晶振動子を用いることも出来る。

このように、2つの個別の水晶振動子を用いる代わりに2チャンネル水晶振動子を用いた場合の例で、2つの個別水晶振動子を用いる場合に比較してドリフト除去能力に優れているため、さらに高い精度と検出限界が必要な場合に適している。

1種類の測定対象物を2検体分添加したり、2種類の異なる測定対象物を1検体ずつ添加して、同時に測定することが可能である。

更に、ライン数を2以上に増やすことも容易に可能であり、多検体および多測定対象物の同時測定が可能となる。

更にまた、リファレンス型2チャンネル水晶振動子を2つ用いて、複数の目的物質を検出する構成も可能である。例えば第1のリファレンス型2チャンネル水晶振動子でA型インフルエンザウィルスを検出し、第2のリファレンス型2チャンネル水晶振動子でB型インフルエンザウィルスを検出することができる。

尚、2チャンネル水晶振動子の他に3チャンネル以上の水晶振動子についても適用可能である。

[0081] ◎実施の形態4

図20は実施の形態4に係る測定器具を示すものである。

同図において、本例はnライン型測定器具(例えばn＝3)の例で、複数ラインの各流路22(22$_1$～22$_n$)に対し試料添加部位Aを共通化すると共に、ライン1の流路22$_1$(22)の検出部位にはテスト水晶振動子25$_1$、ライン2の流路22$_2$(22)にはリファレンス水晶振動子25$_2$、ラインnの流路22$_n$(22)にはコントロール水晶振動子25$_n$を配置することで、精度と検出限界を高め、さらに測定中に磁性粒子が正常に流路中を流れたかどうかを検出し、測定自体の可否の判断を行うことが可能である。

ここで、コントロール水晶振動子25$_n$とは、複合体を形成していない磁性粒子を特異的に検出するセンサー膜が形成された水晶振動子であり、磁性粒子が流路中を流れたかどうかを検出し、測定自体が正常に完了したかどうか、つまり測定の可否を示す指標として用いることもできる。

また、本図に示された測定器具を用いれば、検出部位におけるn個の水晶振動子を全てテスト水晶振動子とすることにより、nの検体中の同一測定対象物の同時測定

や同一検体におけるnの測定対象物の同時測定が可能になる。

更に、複数ラインのうちの一つのラインをリファレンス水晶振動子25_2として使用して、異なる2種類の測定対象物もしくは1種類の測定対象物を2検体分同時に測定することも可能である。

また、ライン数を3以上に増やすことも容易に可能であり、多検体および多測定対象物の同時計測が可能となる。また、複数ラインのうちの1つをリファレンスラインとして用いることで、実施の形態3で説明したような方法で、ドリフト現象による誤差をキャンセルし、精度と検出限界を向上することが可能である。

[0082] また、本実施の形態において、何種類かの測定対象物を同時に測定する場合には、図20(a)に示すように、反応容器21の複数の箇所(P_1～P_n)に水晶振動子25(25_1～25_n)、複数の担持体(A_1～A_n)が磁石40(40_1～40_n)によって担持されている。

このとき、図20(b)に示すように、反応容器21の外部から磁石40による磁場を解放することにより、水晶振動子25表面から夫々の担持体(A_1～A_n)を別個独立に離脱させることができる。担持体(A_1～A_n)はそれぞれ異なっていてもよいが、2種類以上が同じものであってもよい。バインダー又は標識体もそれぞれが異なっていてもよいが、2種類以上が同じものであってもよい。

[0083] 尚、本実施の形態では、試料添加部位Aを共通化した態様が示されているが、これに限られるものではなく、図22に示すように、各流路毎に試料添加部位Aを設けるようにしてもよい。

この場合、例えばnライン型測定器具で、ライン1の流路22_1からn－1ラインの流路22_{n-1}の検出部位にはテスト水晶振動子25_1，25_2…25_{n-1}を配置する一方、ラインnの流路22_nにはリファレンス水晶振動子25_nを配置することで、例えば複数種類の測定対象物についてドリフト成分の影響を取り除き、測定誤差を少なくすることを可能にすることができる。

産業上の利用可能性

[0084] 本発明により、生体、食品、土壌等の分析対象試料に含有される測定対象物を測定するために有効な測定器具及びこれを用いた測定方法並びに測定装置を提供することができる。

請求の範囲

[1] 測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体、あるいは、測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体を用いて試料中の測定対象物を測定するための測定器具であって、

試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器と、

この圧電振動子に磁場を作用させるための磁力発生部材とを備え、

担持体は、磁力発生部材の磁力により圧電振動子上に磁気的に担持されるものであることを特徴とする測定器具。

[2] 請求項1記載の測定器具において、

磁力発生部材は、圧電振動子に作用させた磁場を解除する手段を兼ね備えていることを特徴とする測定器具。

[3] 請求項1又は2記載の測定器具において、

反応容器は、測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー、又は、該バインダー若しくは測定対象物類似物と不溶性小胞体とが結合してなる標識体が供給可能なバインダー又は標識体供給部位を有することを特徴とする測定器具。

[4] 請求項1又は2記載の測定器具において、

反応容器は、測定対象物及び担持体が流路に沿って移動可能なフローセル型であり、該フローセル型反応容器の流路に試料添加部位及び検出部位が設けられていることを特徴とする測定器具。

[5] 請求項3記載の測定器具において、

反応容器は、測定対象物、担持体及び標識体が流路に沿って移動可能なフローセル型であり、該フローセル型反応容器の流路に試料添加部位、検出部位及びバインダー又は標識体供給部位が設けられていることを特徴とする測定器具。

[6] 請求項5記載の測定器具において、

バインダー又は標識体供給部位はフローセル型反応容器の流路のうち試料添加部位の下流側に設けられるものであることを特徴とする測定器具。

[7] 請求項5記載の測定器具において、

試料添加部位は、バインダー又は標識体供給部位を兼ねることを特徴とする測定器具。

[8] 請求項4乃至7のいずれかに記載の測定器具において、
検出部位の下流側には吸収部位を備えることを特徴とする測定器具。

[9] 請求項1乃至8のいずれかに記載の測定器具において、
複数種の担持体が用いられることを特徴とする測定器具。

[10] 請求項1乃至9のいずれかに記載の測定器具において、
複数の圧電振動子が検出部位に具備されていることを特徴とする測定器具。

[11] 請求項10記載の測定器具において、
各圧電振動子に対し、磁力発生部材がそれぞれ具備されていることを特徴とする測定器具。

[12] 請求項1乃至11のいずれかに記載の測定器具において、
圧電振動子が水晶振動子であることを特徴とする測定器具。

[13] 請求項4乃至12のいずれかに記載の測定器具において、
フローセル型反応容器は複数の流路を備えることを特徴とする測定器具。

[14] 請求項5乃至13のいずれかに記載の測定器具において、
バインダー又は標識体供給部位に予めバインダー又は標識体が移動可能に保持されることを特徴とする測定器具。

[15] 請求項1乃至14のいずれかに記載の測定器具において、
担持体が圧電振動子表面に予め磁気的に担持されていることを特徴とする測定器具。

[16] 請求項1乃至13のいずれかに記載の測定器具と担持体とを含有することを特徴とする測定用キット。

[17] 請求項1乃至13のいずれかに記載の測定器具と担持体とバインダー若しくは標識体とを含有することを特徴とする測定用キット。

[18] 試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器、及び、測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体を用いて試料中の測定対象物を測定する方法であって、

反応容器中で、試料中の測定対象物と担持体とを反応させ、担持体－測定対象物を含む複合体を生成させる試料反応工程、

担持体の磁性粒子に磁力を作用させ、磁性粒子を磁気的に圧電振動子上に担持する担持体担持工程、

圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、

この振動数測定工程で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定工程を備えたことを特徴とする測定方法。

[19] 請求項18記載の方法であって、

さらに、反応容器中で、試料と測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー又は該バインダーと不溶性小胞体とが結合してなる標識体とを反応させ、担持体－測定対象物－バインダーを含む複合体、担持体－測定対象物－標識体を含む複合体を生成させる工程を含むことを特徴とする測定方法。

[20] 試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器、及び、測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体を用いて試料中の測定対象物を測定する方法であって、

反応容器中で、試料中の測定対象物及び測定対象物類似物と不溶性小胞体とが結合してなる標識体を担持体に反応させ、担持体－標識体を含む複合体を生成させる試料反応工程、

担持体の磁性粒子に磁力を作用させ、磁性粒子を磁気的に圧電振動子上に担持する担持体担持工程、

圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、

この振動数測定工程で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定工程を備えたことを特徴とする測定方法。

[21] 試料添加部位及び圧電振動子を備えた検出部位を有する反応容器、測定対象物

類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体、及び、測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー又は該バインダーと不溶性小胞体とが結合してなる標識体を用いて試料中の測定対象物を測定する方法であって、

反応容器中で、試料中の測定対象物及び測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体と測定対象物若しくは測定対象物類似物に特異的に結合するバインダー又は該バインダーと不溶性小胞体とを反応させ、担持体－バインダー又は担持体－標識体を含む複合体を生成させる試料反応工程、

担持体の磁性粒子に磁力を作用させ、磁性粒子を磁気的に圧電振動子上に担持する担持体担持工程、

圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定工程、および、

この振動数測定工程で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定工程を備えたことを特徴とする測定方法。

[22] 請求項18乃至21のいずれかに記載の測定方法において、

圧電振動子上に担持された該複合体の洗浄を行う洗浄工程を含むことを特徴とする測定方法。

[23] 請求項18乃至22のいずれかに記載の測定方法において、

試料反応工程の前に、担持体担持工程を行うことを特徴とする測定方法。

[24] 請求項18乃至23のいずれかに記載の測定方法において、

反応容器は、測定対象物及び担持体が流路に沿って移動可能なフローセル型であり、該フローセル型反応容器の流路に該試料添加部位及び該検出部位が設けられていることを特徴とする測定方法。

[25] 請求項24記載の測定方法において、

バインダー又は標識体が流路に保持されており、試料添加部位に試料を添加することにより、試料反応工程を開始することを特徴とする測定方法。

[26] 請求項1乃至17のいずれかに記載の測定器具と、

この測定器具の検出部位の圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子

の振動数の変化量として測定する振動数測定手段とを含むことを特徴とする測定装置。

[27] 請求項1乃至17のいずれかに記載の測定器具と、

この測定器具の検出部位の圧電振動子上に担持された複合体の量を圧電振動子の振動数の変化量として測定する振動数測定手段と、

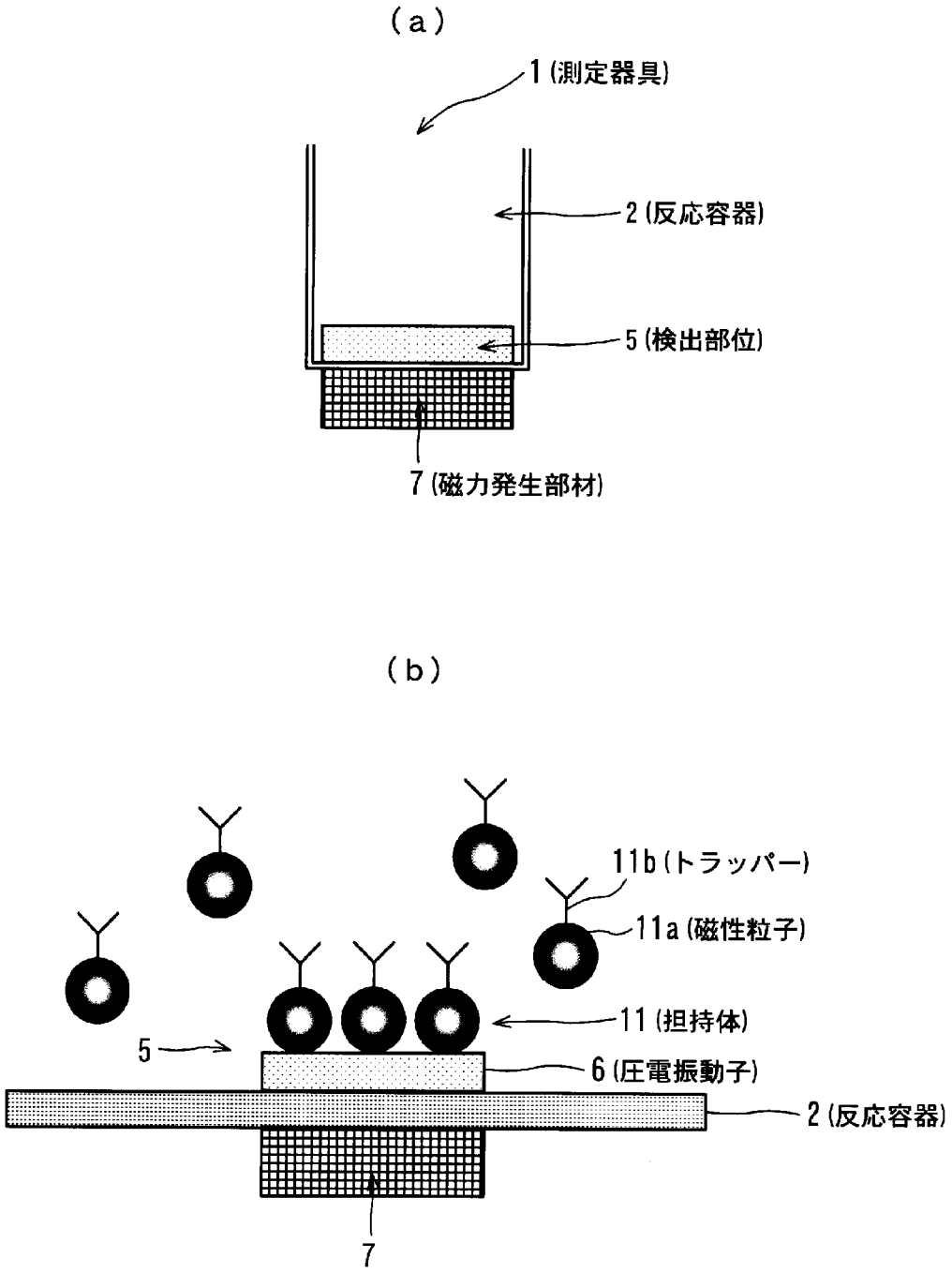
この振動数測定手段で測定した圧電振動子の振動数の変化量と予め作成した検量線とから試料中の測定対象物の濃度を決定する濃度決定手段とを含むことを特徴とする測定装置。

[28] 測定対象物又は測定対象物類似物に特異的に結合するトラッパーと磁性粒子とが結合してなる担持体、あるいは、測定対象物類似物と磁性粒子とが結合してなる担持体と、圧電振動子とを用いる試料中の測定対象物の測定における圧電振動子の再生方法であって、磁力発生手段により圧電振動子上に担持された担持体と測定対象物とからなる複合体を測定した後に、磁場解除手段により担持体を解離させることを特徴とする圧電振動子の再生方法。

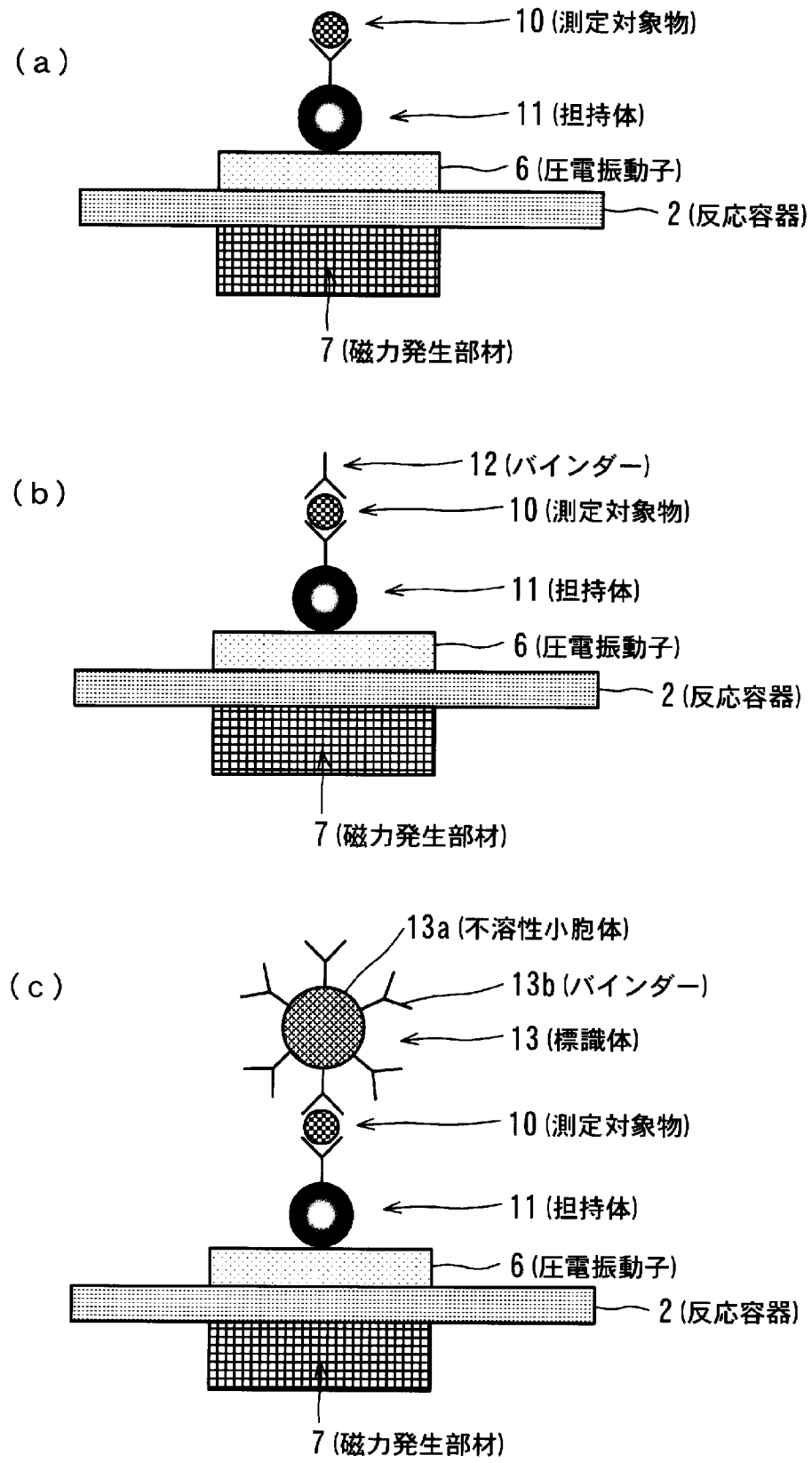
[29] 請求項28記載の再生方法において、

圧電振動子が水晶振動子であることを特徴とする再生方法。

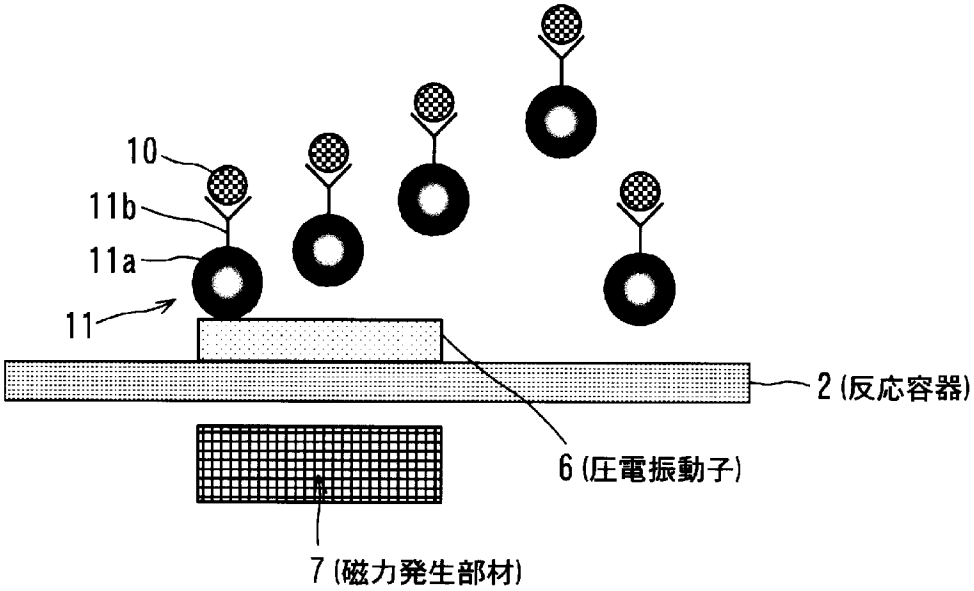
[図1]


(a)
1 (測定器具)
2 (反応容器)
5 (検出部位)
7 (磁力発生部材)
(b)
11b (トラッパー)
11a (磁性粒子)
11 (担持体)
5
6 (圧電振動子)
2 (反応容器)
7

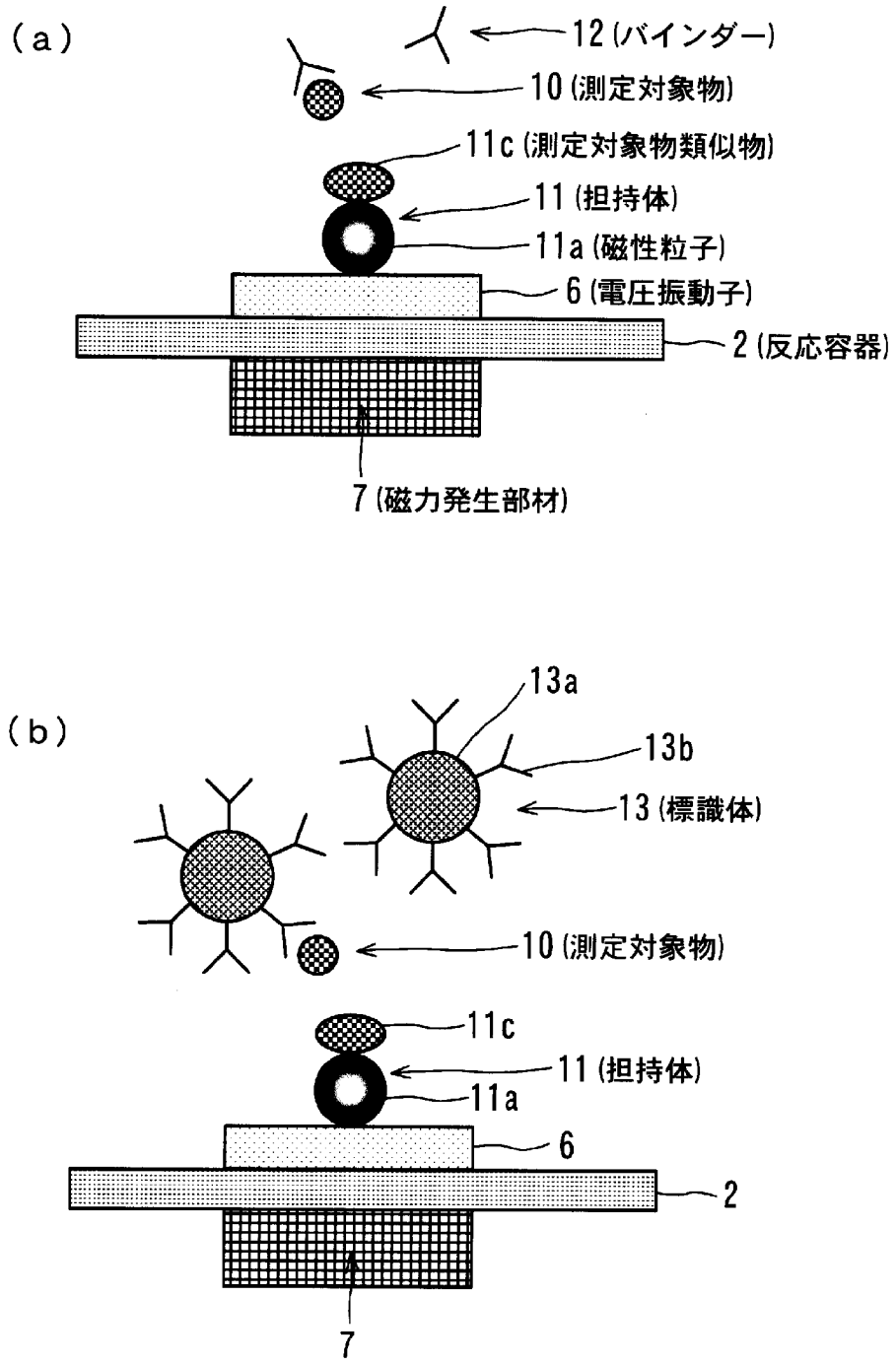
[図2]


(a)
10 (測定対象物)
11 (担持体)
6 (圧電振動子)
2 (反応容器)
7 (磁力発生部材)
(b)
12 (バインダー)
10 (測定対象物)
11 (担持体)
6 (圧電振動子)
2 (反応容器)
7 (磁力発生部材)
(c)
13a (不溶性小胞体)
13b (バインダー)
13 (標識体)
10 (測定対象物)
11 (担持体)
6 (圧電振動子)
2 (反応容器)
7 (磁力発生部材)

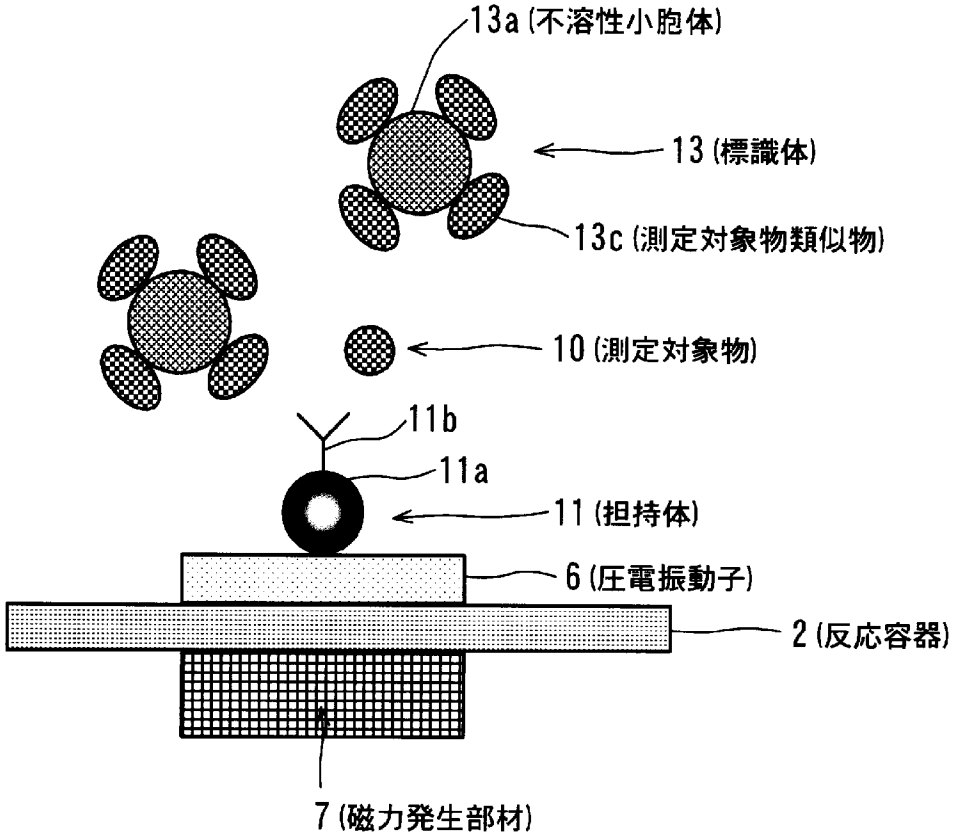
[図3]



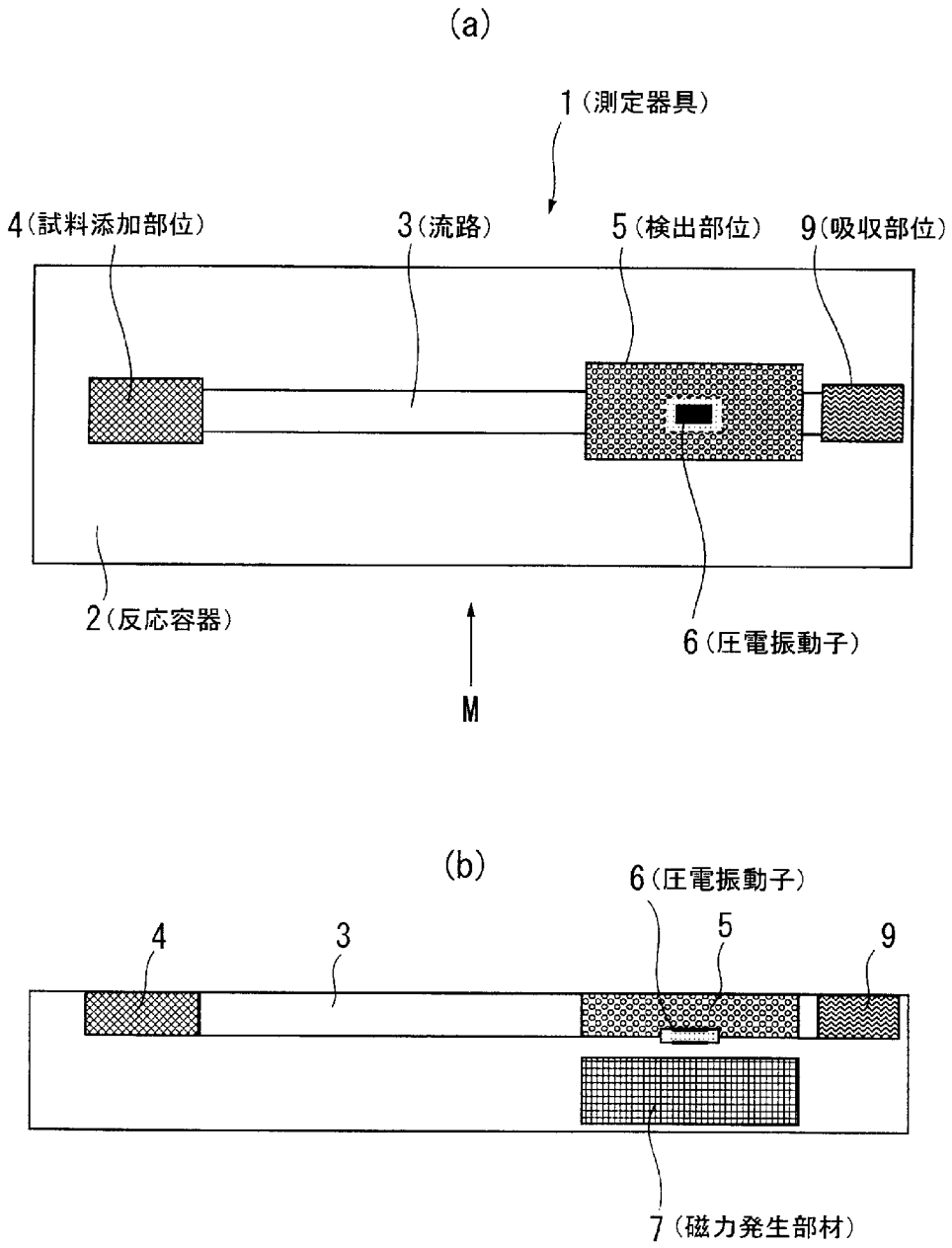
[図4]


(a)
12 (バインダー)
10 (測定対象物)
11c (測定対象物類似物)
11 (担持体)
11a (磁性粒子)
6 (電圧振動子)
2 (反応容器)
7 (磁力発生部材)
(b)
13a
13b
13 (標識体)
10 (測定対象物)
11c
11 (担持体)
11a
6
2
7

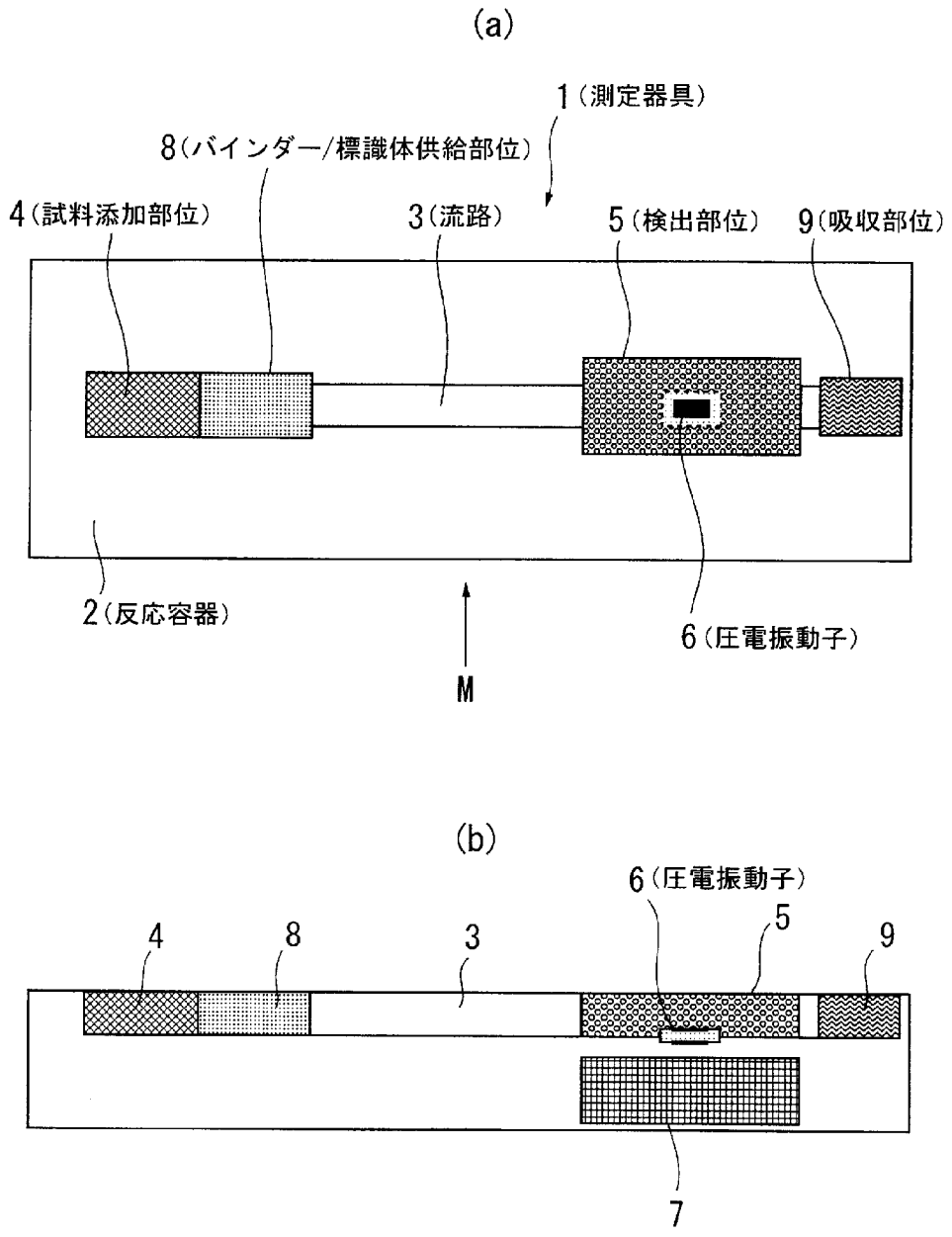
[図5]


13a (不溶性小胞体)
13 (標識体)
13c (測定対象物類似物)
10 (測定対象物)
11b
11a
11 (担持体)
6 (圧電振動子)
2 (反応容器)
7 (磁力発生部材)

[図6]

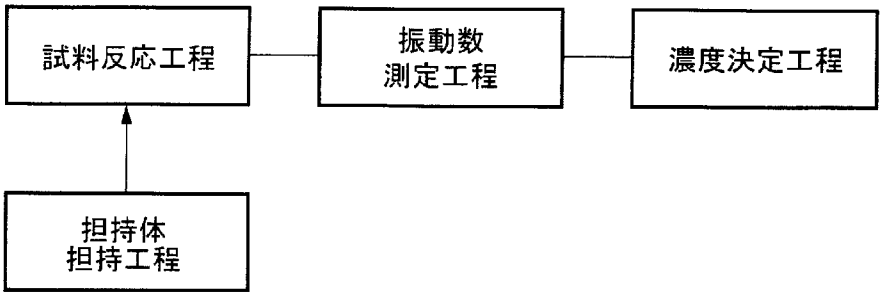

(a)
1（測定器具）
4（試料添加部位）
3（流路）
5（検出部位）
9（吸収部位）
2（反応容器）
6（圧電振動子）
M
(b)
6（圧電振動子）
4
3
5
9
7（磁力発生部材）

[図7]

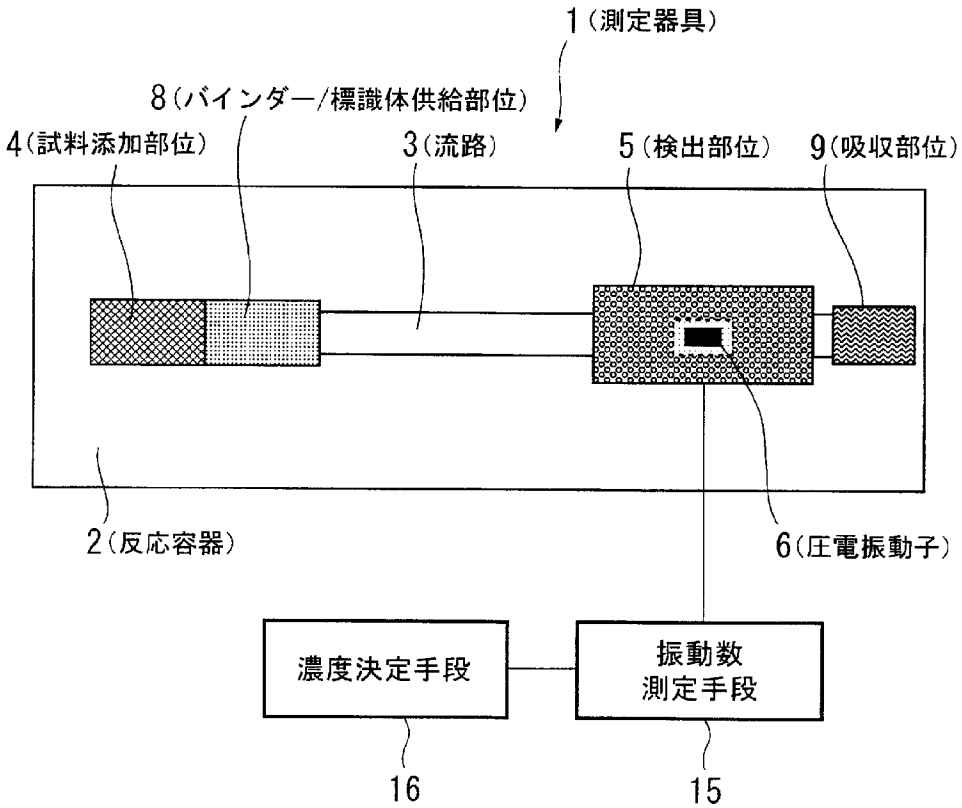

(a)
1（測定器具）
8（バインダー/標識体供給部位）
4（試料添加部位）
3（流路）
5（検出部位）
9（吸収部位）
2（反応容器）
6（圧電振動子）
M
(b)
6（圧電振動子）
5
4
8
3
9
7

[図8]

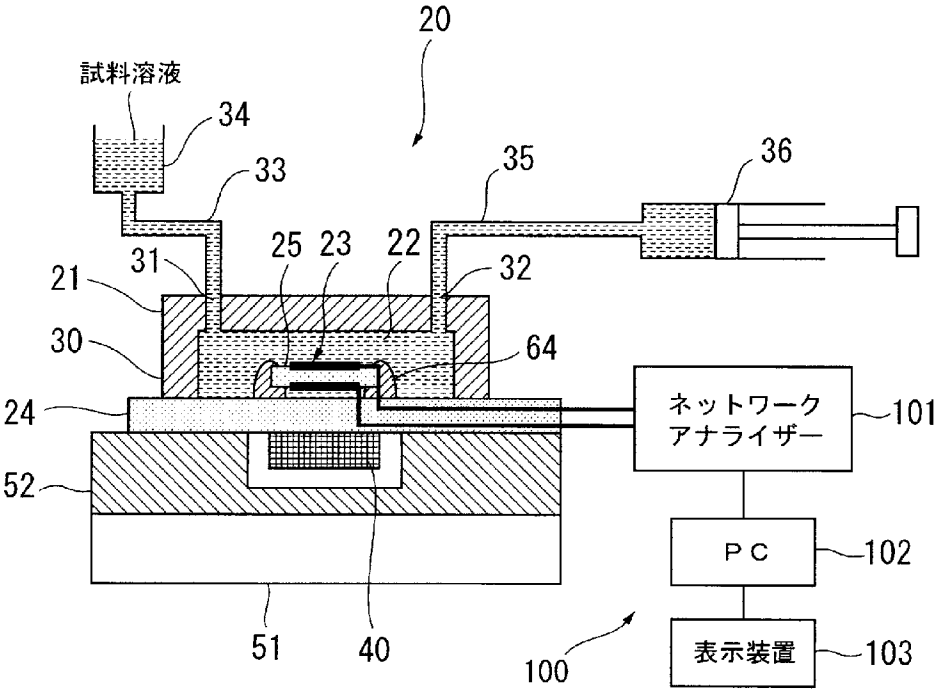
(a)


試料反応工程
振動数
測定工程
濃度決定工程
担持体
担持工程

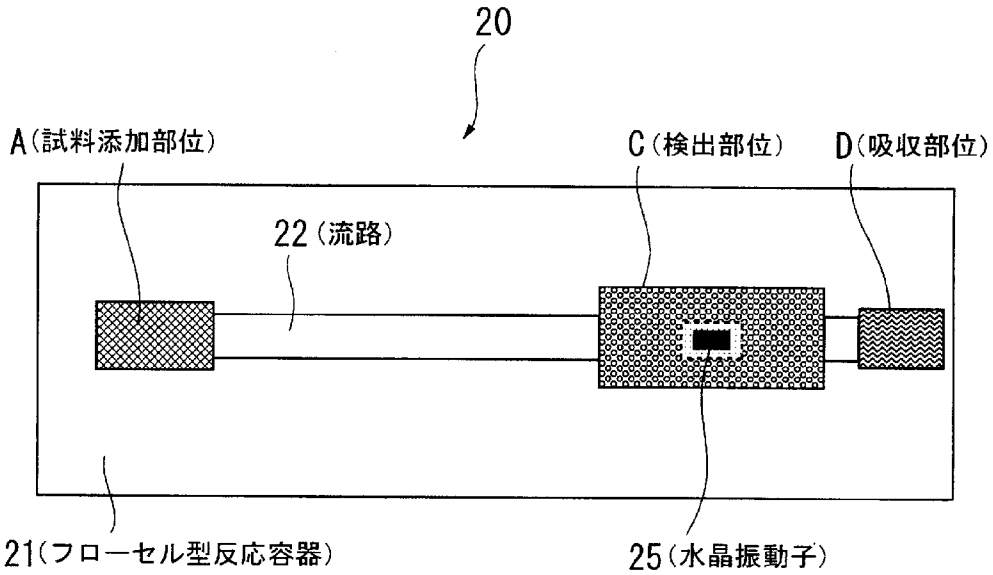
(b)


1（測定器具）
8（バインダー/標識体供給部位）
4（試料添加部位）
3（流路）
5（検出部位）
9（吸収部位）
2（反応容器）
6（圧電振動子）
濃度決定手段
振動数
測定手段
16
15

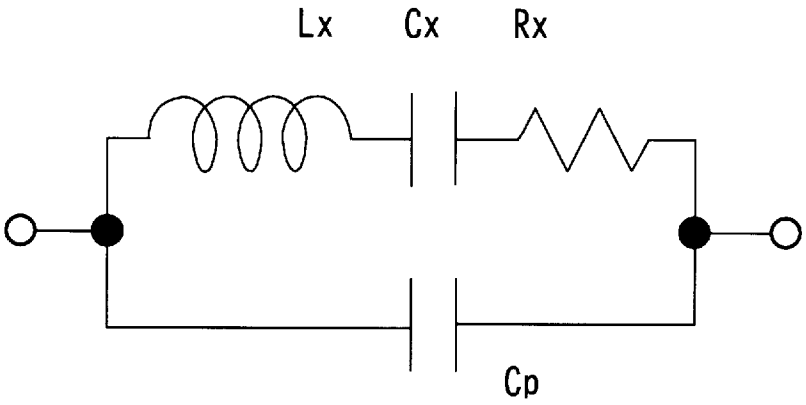
[図9]


20
試料溶液
34
33
35
36
31
25
23
22
32
21
30
64
24
ネットワーク
アナライザー
101
52
PC
102
51
40
100
表示装置
103

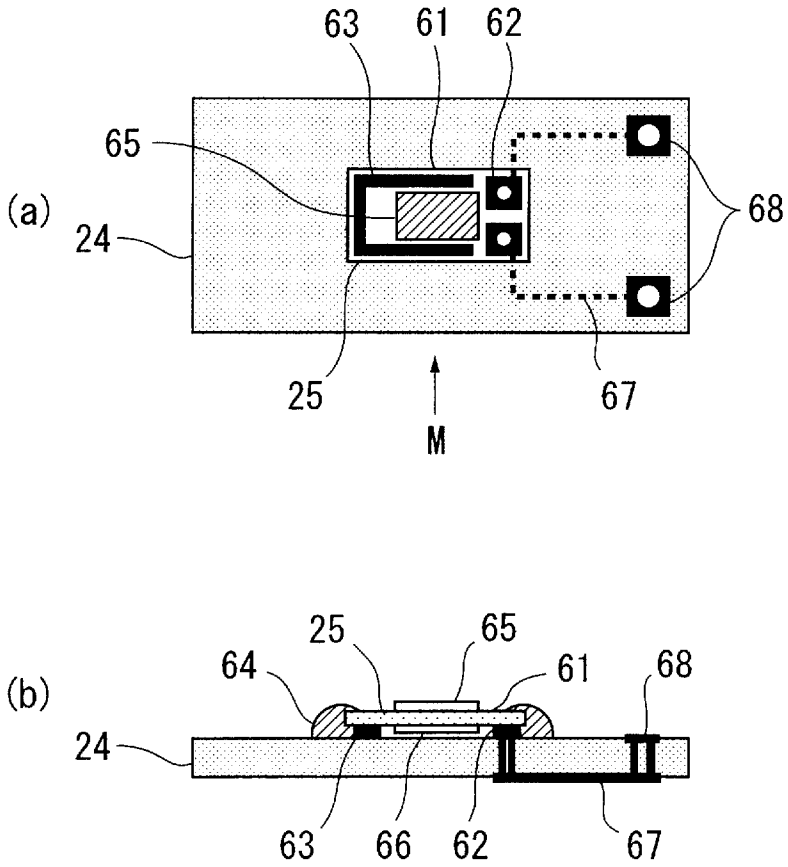
[図10]



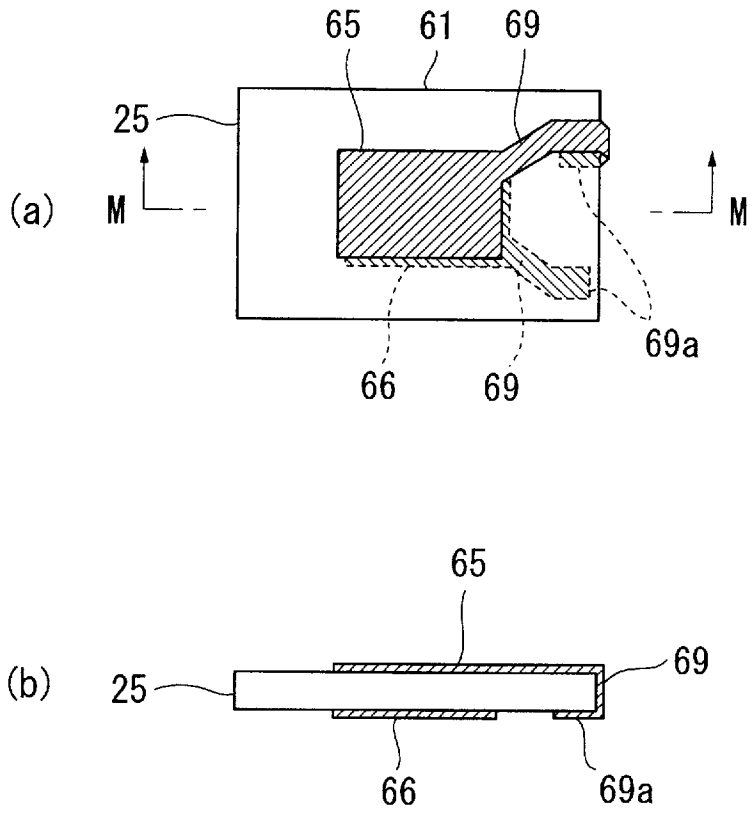
[図11]



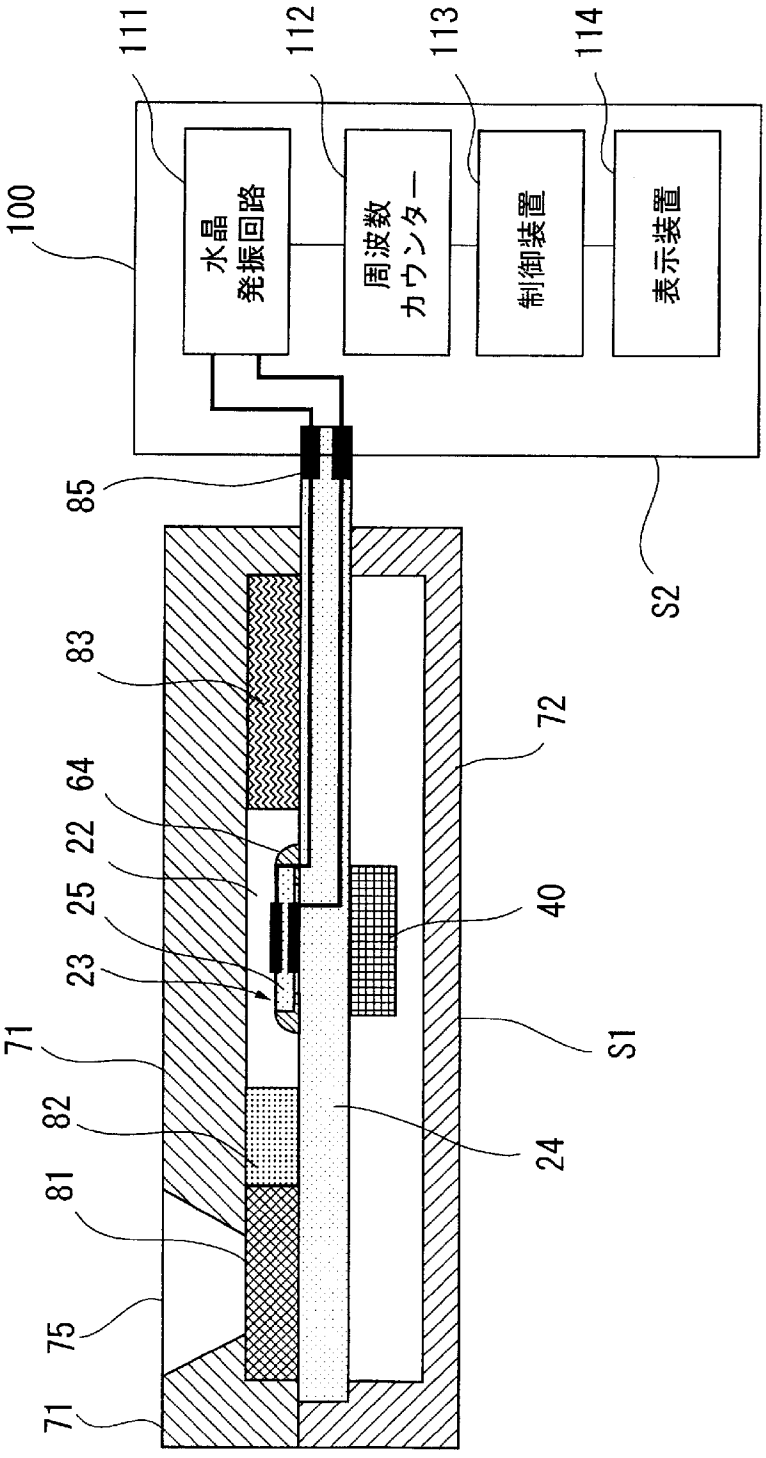
[図12]



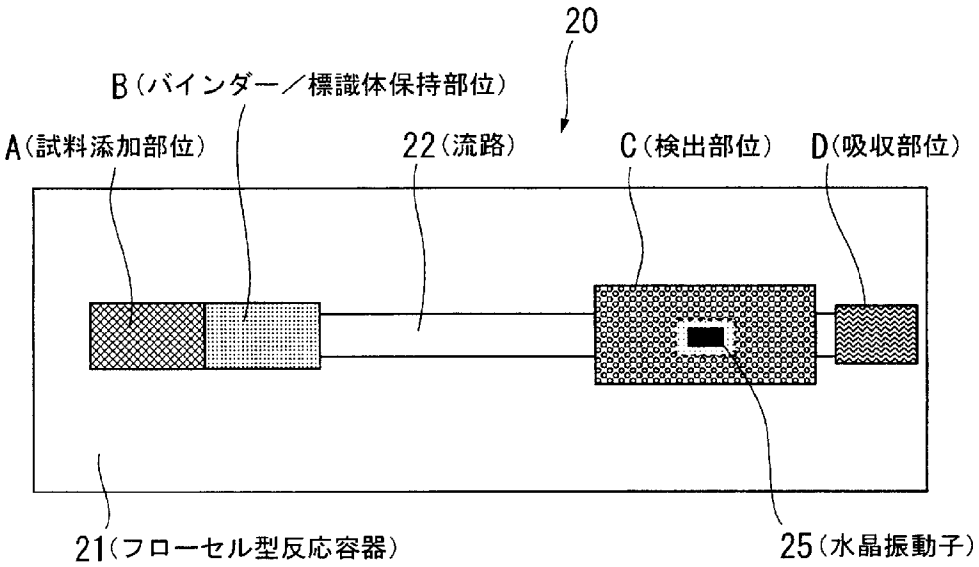
[図13]



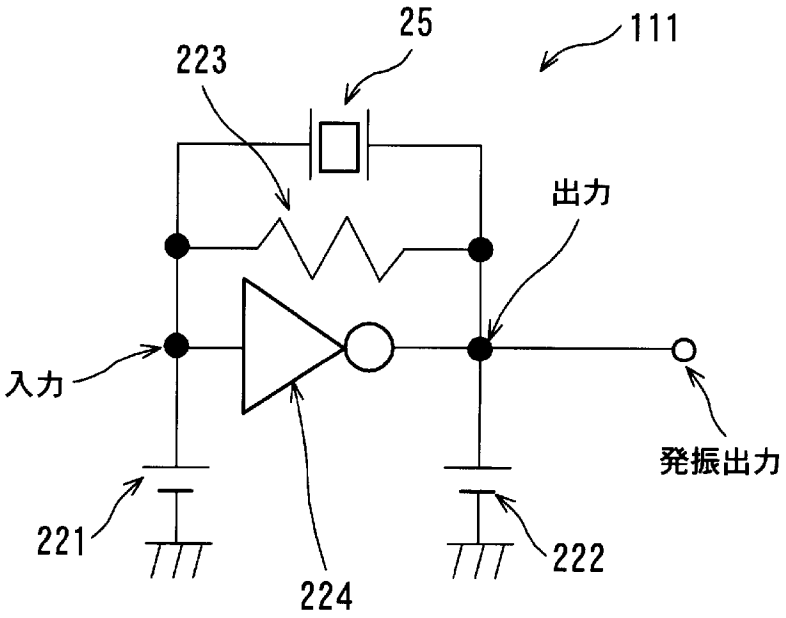
[図14]


100
111
112
113
114
水晶
発振回路
周波数
カウンター
制御装置
表示装置
85
S2
83
72
64
22
25
23
40
S1
71
82
24
81
75
71

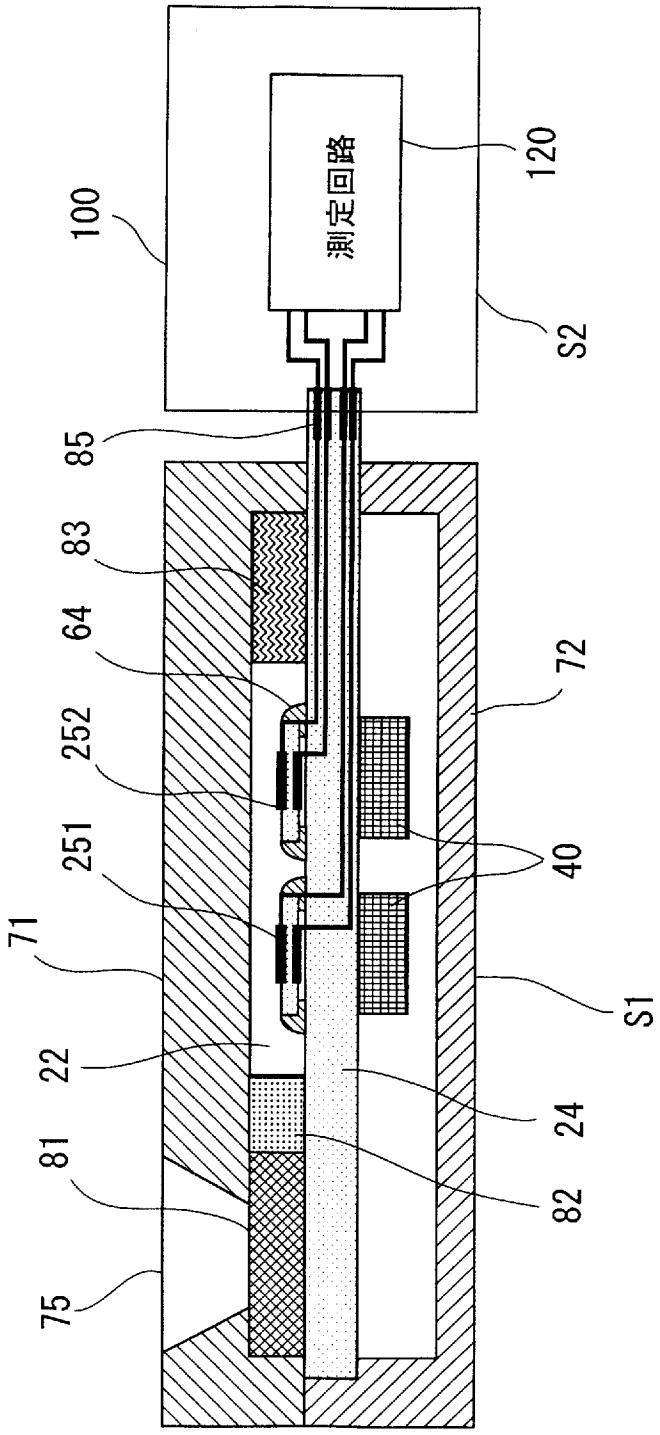
[図15]


20
B（バインダー／標識体保持部位）
A（試料添加部位）
22（流路）
C（検出部位）
D（吸収部位）
21（フローセル型反応容器）
25（水晶振動子）

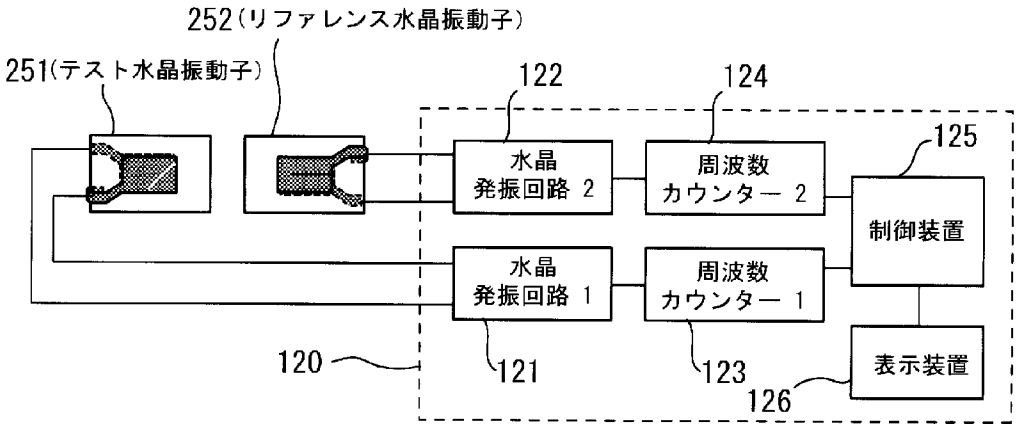
[図16]



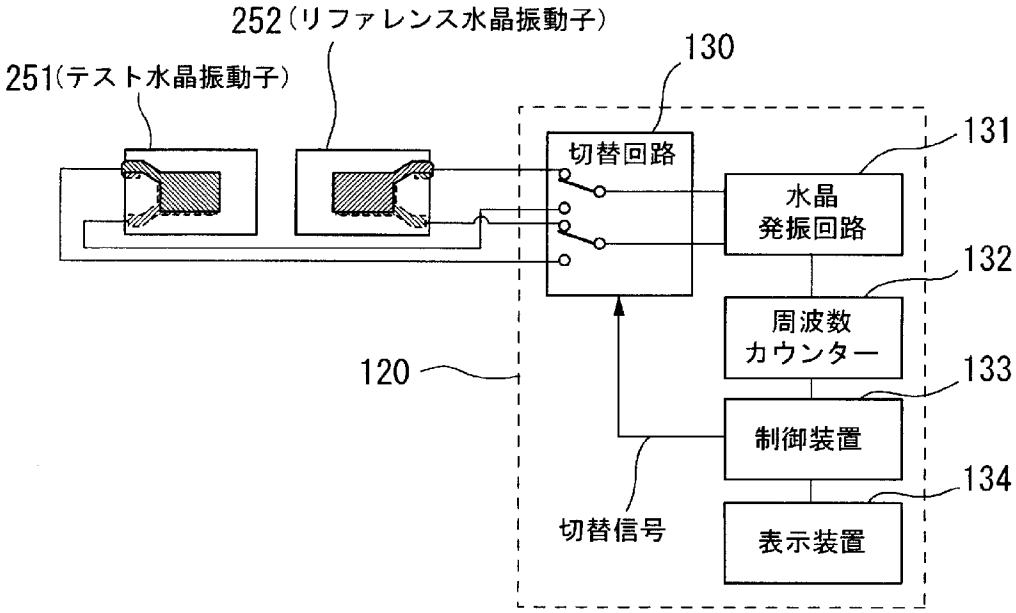
[図17]



[図18]

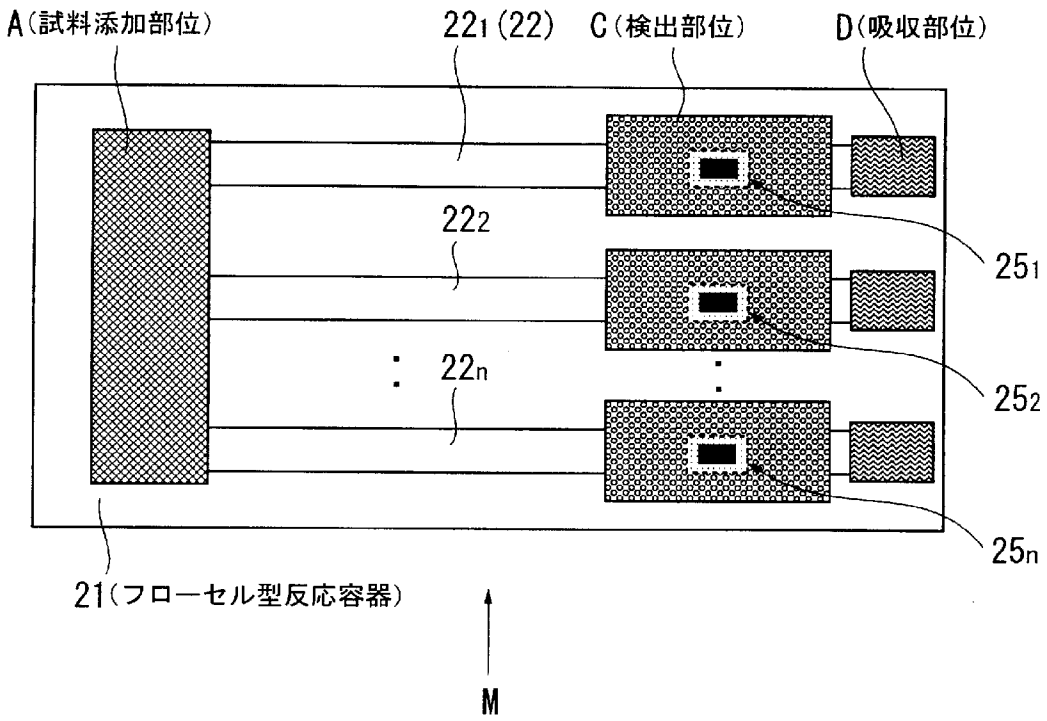

252(リファレンス水晶振動子)
251(テスト水晶振動子)
122
124
125
水晶
発振回路 2
周波数
カウンター 2
制御装置
水晶
発振回路 1
周波数
カウンター 1
120
121
123
表示装置
126

[図19]

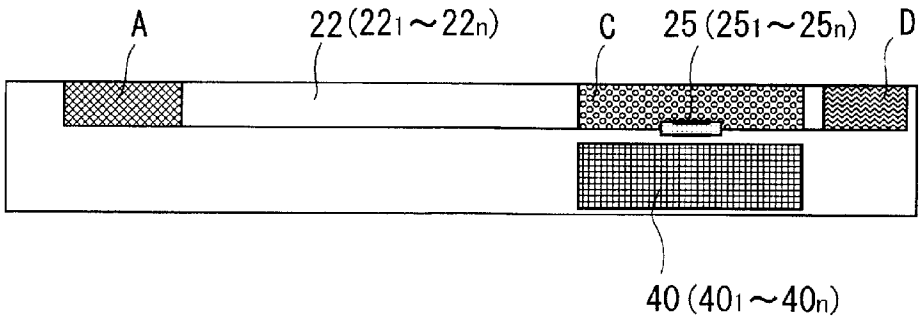

252(リファレンス水晶振動子)
251(テスト水晶振動子)
130
切替回路
131
水晶
発振回路
132
周波数
カウンター
120
133
制御装置
134
表示装置
切替信号

[図20]

(a)

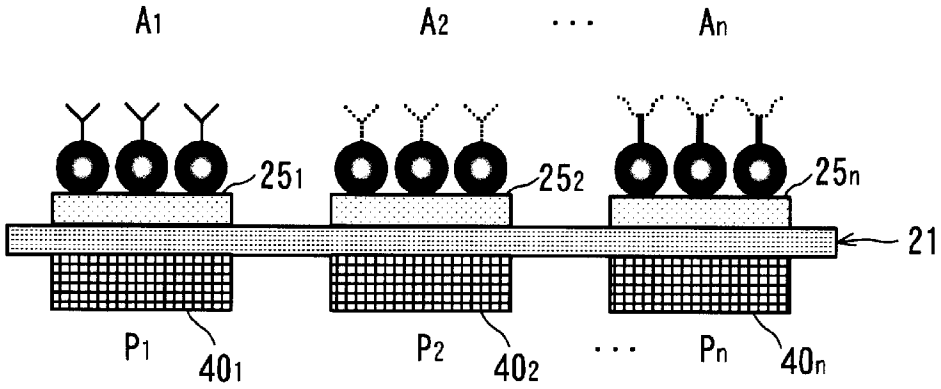

A(試料添加部位)
22₁(22)
C(検出部位)
D(吸収部位)
22₂
22n
25₁
25₂
25n
21(フローセル型反応容器)
M

(b)

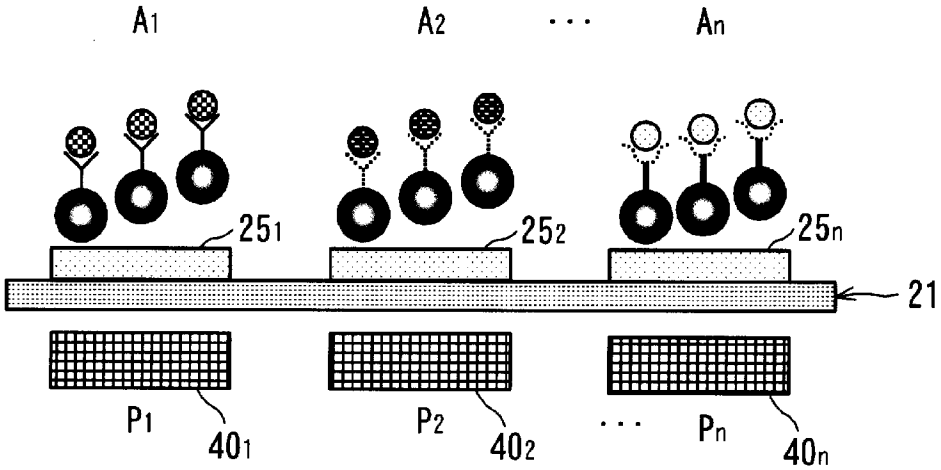

A
22(22₁～22n)
C
25(25₁～25n)
D
40(40₁～40n)

[図21]

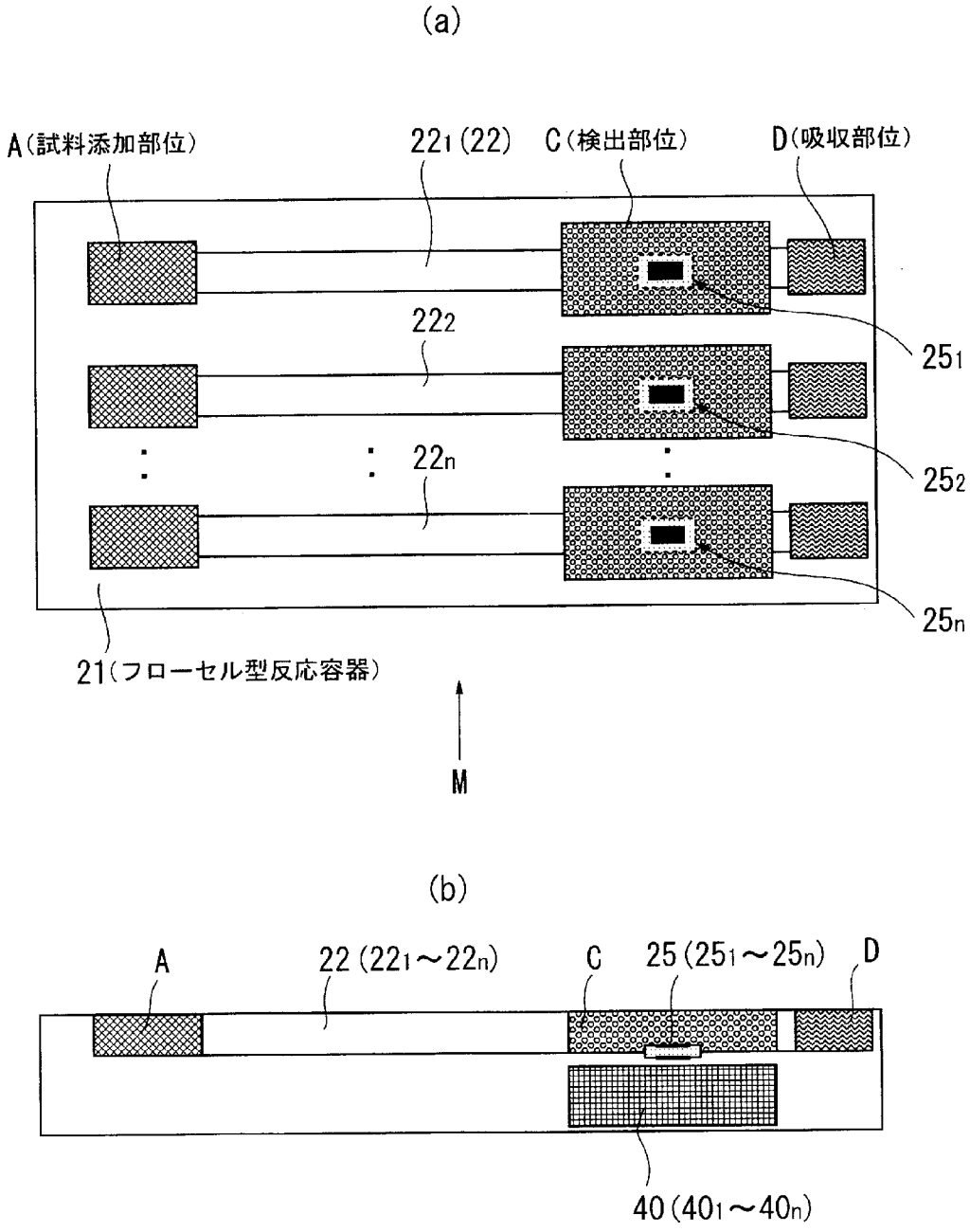
(a)


A1
A2
・・・
An
251
252
25n
21
P1
401
P2
402
・・・
Pn
40n

(b)


A1
A2
・・・
An
251
252
25n
21
P1
401
P2
402
・・・
Pn
40n

[図22]


(a)
A(試料添加部位)
22₁(22)
C(検出部位)
D(吸収部位)
22₂
22n
25₁
25₂
25n
21(フローセル型反応容器)
M
(b)
A
22(22₁～22n)
C
25(25₁～25n)
D
40(40₁～40n)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2006/315614

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N5/02(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)
G01N5/02

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 1996-2006
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006

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 Y	Jishan Li, et al. 'Piezoelectric immunosensor based on magnetic nanoparticles with simple immobilization procedures' Analytica Chimica Acta, Vol. 481, Issue 2, 2003.04.03, pp. 191-198	1-2,4,8,12, 15-16,18,20, 22-24,26-29 3,5-7,9-11, 13-14,17,19, 21,25
X	JP 64-35269 A (Gene-Trak Systems), 06 February, 1989 (06.02.89), & US 4847193 A & EP 295965 A2	1,12,15,18, 20,26-27
Y	JP 4-320967 A (NEC Corp.), 11 November, 1992 (11.11.92), (Family: none)	3,5-7,14,17, 19,21,25

☒ 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
31 October, 2006 (31.10.06)	28 November, 2006 (28.11.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2006/315614

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2000-283905 A (Noboru KOYAMA et al.), 13 October, 2000 (13.10.00), Par. No. [0027] (Family: none)	9-11
Y	JP 2003-307481 A (Canon Inc.), 31 October, 2003 (31.10.03), (Family: none)	13
A	WO 2005/31316 A1 (Dokuritsu Gyosei Hojin Sangyo Gijutsu Kenkyusho), 07 April, 2005 (07.04.05), (Family: none)	1-29
A	JP 7-225233 A (Kyowa Medex Co., Ltd.), 22 August, 1995 (22.08.95), (Family: none)	1-29
A	JP 6-88779 A (Terumo Corp.), 29 March, 1994 (29.03.94), & JP 6-245754 A & US 5552274 A & EP 587408 A1	1-29
A	JP 59-54943 A (Daido Steel Co., Ltd.), 29 March, 1984 (29.03.84), (Family: none)	1-29
P,A	JP 2005-274164 A (Citizen Watch Co., Ltd.), 06 October, 2005 (06.10.05), (Family: none)	1-29

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００６／３１５６１４

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N5/02(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.　G01N5/02

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	１９７１－２００６年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２００６年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２００６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	Jishan Li, et al.「Piezoelectric immunosensor based on magnetic nanoparticles with simple immobilization procedures」Analytica Chimica Acta, Vol. 481, Issue 2, 2003.04.03, pp. 191-198	1-2, 4, 8, 12, 15-16, 18, 20, 22-24, 26-29
Y		3, 5-7, 9-11, 13-14, 17, 19, 21, 25

☑　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
３１．１０．２００６	２８．１１．２００６

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　９３０２
秋田　将行
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 64-35269 A (ｼﾞｰｿｰﾄﾗｯｸ・ｼｽﾃﾑｽﾞ) 1989.02.06 & US 4847193 A & EP 295965 A2	1, 12, 15, 18, 20, 26-27
Y	JP 4-320967 A (日本電気株式会社) 1992.11.11, ﾌｧﾐﾘｰなし	3, 5-7, 14, 17, 19, 21, 25
Y	JP 2000-283905 A (小山昇　外１名) 2000.10.13, 【0027】, ﾌｧﾐﾘｰなし	9-11
Y	JP 2003-307481 A (ｷﾔﾉﾝ株式会社) 2003.10.31, ﾌｧﾐﾘｰなし	13
A	WO 2005/31316 A1 (独立行政法人産業技術研究所) 2005.04.07, ﾌｧﾐﾘｰなし	1-29
A	JP 7-225233 A (協和ﾒﾃﾞｯｸｽ株式会社) 1995.08.22, ﾌｧﾐﾘｰなし	1-29
A	JP 6-88779 A (ﾃﾙﾓ株式会社) 1994.03.29, & JP 6-245754 A & US 5552274 A & EP 587408 A1	1-29
A	JP 59-54943 A (大同特殊鋼株式会社) 1984.03.29, ﾌｧﾐﾘｰなし	1-29
PA	JP 2005-274164 A (ｼﾁｽﾞﾝ時計株式会社) 2005.10.06, ﾌｧﾐﾘｰなし	1-29