

(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
2017 年 2 月 2 日(02.02.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/018049 A1

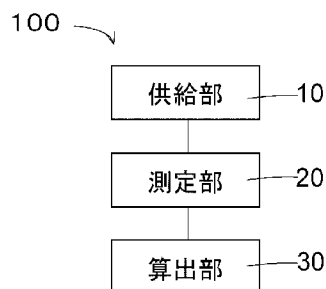
- (51) 国際特許分類:
G01N 33/53 (2006.01) *G01N 33/543* (2006.01)
G01N 21/41 (2006.01) *G01N 33/566* (2006.01)
G01N 29/02 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/066084
- (22) 国際出願日: 2016 年 5 月 31 日(31.05.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2015-150978 2015 年 7 月 30 日(30.07.2015) JP
- (71) 出願人: 京セラ株式会社(KYOCERA CORPORATION) [JP/JP]; 〒6128501 京都府京都市伏見区竹田鳥羽殿町 6 番地 Kyoto (JP).
- (72) 発明者: 岸本 恭介(KISHIMOTO, Kyosuke); 〒6128501 京都府京都市伏見区竹田鳥羽殿町 6 番地 京セラ株式会社内 Kyoto (JP). 栗岡 秀治(KURIOKA, Hideharu); 〒6128501 京都府京都市伏見区竹田鳥羽殿町 6 番地 京セラ株式会社内 Kyoto (JP). 福浦 篤臣(FUKUURA, Atsuomi); 〒6128501 京都府京都市伏見区竹田鳥羽殿町 6 番地 京セラ株式会社内 Kyoto (JP).
- (74) 代理人: 西教 圭一郎(SAIKYO, Keiichiro); 〒5410052 大阪府大阪市中央区安土町 1 丁目 8 番 1 5 号 野村不動産大阪ビル 9 階 西教特許事務所 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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: MEASUREMENT METHOD AND MEASUREMENT DEVICE

(54) 発明の名称: 測定方法、および測定装置

FIG. 1



- 10 Supply part
20 Measurement part
30 Calculation part

(57) Abstract: [Problem] To provide a measurement method and a measurement device that measure the relationship between a first object to be detected and a second object to be detected included in a specimen. [Solution] The present invention is a measurement method comprising a measurement step of measuring a first signal value based on a reaction between a first reactive material having a higher reactivity with the second object to be detected than the first object to be detected and the specimen and a second signal value based on a reaction between a second reactive material having a higher reactivity with the first object to be detected than the second object to be detected and the specimen. Also, the present invention is a measurement device comprising a measurement part that measures a first signal value based on a reaction between a first reactive material having a higher reactivity with the second object to be detected than the first object to be detected and the specimen and a second signal value based on a reaction between a second reactive material having a higher reactivity with the first object to be detected than the second object to be detected and the specimen.

(57) 要約:

[続葉有]



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

【課題】 試料中に含まれる、第 1 検出対象物と第 2 検出対象物との関係性を測定する測定方法および測定装置を提供する。【解決手段】 第 1 検出対象物よりも第 2 検出対象物に高い反応性を有する第 1 反応物質と試料との反応に基づく第 1 信号値と、第 2 検出対象物よりも第 1 検出対象物に高い反応性を有する第 2 反応物質と試料との反応に基づく第 2 信号値とを測定する測定工程を備える測定方法とする。また、第 1 検出対象物よりも第 2 検出対象物に高い反応性を有する第 1 反応物質と試料との反応に基づく第 1 信号値と、第 2 検出対象物よりも第 1 検出対象物に高い反応性を有する第 2 反応物質と試料との反応に基づく第 2 信号値とを測定する測定部を備える測定装置とする。

明 細 書

発明の名称： 測定方法、および測定装置

技術分野

[0001] 本発明は、試料中に含まれる、第1検出対象物と第2検出対象物との関係性を測定する方法および装置に関するものである。

背景技術

[0002] 試料中に含まれる物質には、試料のおかれた条件に応じてその濃度が変化するものが存在する。例えば、血液中の糖化ヘモグロビン（HbA1）、特に、HbA1cは、糖尿病患者においてその血中濃度が増加する物質として知られており、HbA1cの血中濃度は糖尿病の診断基準の1つとして用いられている。

[0003] これまでに、抗体を用いるELISA法によって試料中の物質濃度を測定する方法が知られている。例えば、HbA1c含有率を測定する方法（例えば、特許文献1および2）や、アプタマーを表面に結合させた検出素子を備えるバイオセンサを用いて、血液中のHbA1c濃度を測定する方法が知られている（例えば、特許文献3参照）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2010/067611号パンフレット

特許文献2：特公平07-020437号公報

特許文献3：特表2015-507199号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、上述のような従来技術では、試料中の物質を感度良く検出するには操作時間や費用がかかるとの問題があった。また、上述のような従来技術では、全血などの精製されていない試料中の物質の濃度を測定することができないので、物質の濃度を測定する前に試料の精製操作が必要である

との問題があった。

[0006] そのため、費用を抑え、簡便な操作で試料中の検出対象物を高い精度で測定することができる測定方法および測定装置が求められている。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明の実施形態に係る測定方法は、検出部材の表面に位置しており、第1検出対象物よりも第2検出対象物に高い反応性を有する第1反応物質と第2検出対象物よりも第1検出対象物に高い反応性を有する第2反応物質とを準備する準備工程と、第1検出対象物および第2検出対象物を含む試料を検出部材の表面に供給する供給工程と、供給工程の後、第1反応物質と前記試料との反応に基づく第1信号値と、第2反応物質と試料との反応に基づく第2信号値とを測定する測定工程と、第1信号値および第2信号値に基づいて、試料における第1検出対象物と第2検出対象物との関係性を算出する算出工程と、を備える測定方法である。

[0008] 本発明の実施形態に係る測定装置は、第1検出対象物および第2検出対象物を含む試料を、検出部材の表面に位置しており、第1検出対象物よりも第2検出対象物に高い反応性を有する第1反応物質と第2検出対象物よりも第1検出対象物に高い反応性を有する第2反応物質とに供給する供給部と、第1反応物質と試料との反応に基づく第1信号値と、第2反応物質と試料との反応に基づく第2信号値とを測定する測定部と、第1信号値および第2信号値に基づいて、試料における第1検出対象物と第2検出対象物との関係性を算出する算出部と、を備える測定装置である。

発明の効果

[0009] 本発明の実施形態に係る測定方法および測定装置によれば、上述のような構成を有することによって、従来法に比べて、簡便な操作で、費用を抑え、試料に含まれる第1検出対象物と第2検出対象物との関係性を高い精度で測定することが可能となる。例えば、糖尿病の診断基準となる総Hbに対するHbA1cの比率、血糖コントロールの指標となるアルブミンに対するグリコアルブミンの比率、および遺伝性異常ヘモグロビン（Hb）症のスクリー

ニングに用いられるヘモグロビンに対するヘモグロビンFの比率を、従来法に比べて、簡便な操作で、費用を抑え、高い精度で測定することが可能となる。

図面の簡単な説明

- [0010] [図1]本発明の実施形態に係る測定装置100の構成を示す図である。
[図2]本発明の実施形態に係るバイオセンサ装置200の斜視図である。
[図3]本発明の実施形態に係るバイオセンサ装置200の分解斜視図である。
[図4]本発明の実施形態に係る検出素子3の平面図である。
[図5]本発明の実施形態に係る測定方法に関する実験データを示す図である。
[図6]本発明の実施形態に係る測定方法に関する実験データを示す図である。

発明を実施するための形態

[0011] <測定方法>

(第1実施形態)

本発明の第1実施形態に係る測定方法は、検出部材の表面に位置しており、第1検出対象物よりも第2検出対象物に高い反応性を有する第1反応物質と第2検出対象物よりも第1検出対象物に高い反応性を有する第2反応物質とを準備する準備工程と、第1検出対象物および第2検出対象物を含む試料を検出部材の表面に供給する供給工程と、供給工程の後、第1反応物質と試料との反応に基づく第1信号値と、第2反応物質と試料との反応に基づく第2信号値とを測定する測定工程と、第1信号値および第2信号値に基づいて、試料における第1検出対象物と第2検出対象物との関係性を算出する算出工程と、を備える。

[0012] 以下、本実施形態の測定方法について順に説明を行なう。

本実施形態の準備工程は、検出部材の表面に位置しており、第1検出対象物よりも第2検出対象物に高い反応性を有する第1反応物質と、第2検出対象物よりも第1検出対象物に高い反応性を有する第2反応物質とを準備するものである。

[0013] 本明細書において、「検出部材」とは、例えば、その表面に、表面弾性波

素子、QCM (Quartz Crystal Microbalance)、SPR (Surface Plasmon Resonance)、およびFET (Field Effect Transistor) などの信号値を出力する検出素子を含むものであり、これらに限定されない。

[0014] 本明細書において、「第1検出対象物」は、試料中に含まれる物質であれば特に限定されるものではないが、タンパク性物質であってもよく、好ましくは、疾患関連タンパク性物質である。タンパク性物質とは、アミノ酸を有する有機化合物であれば特に限定されるものではなく、タンパク質、ポリペプチド、およびペプチド、ならびにそれらの糖化体などの修飾体であってもよい。疾患関連タンパク性物質とは、疾患に関連し得るタンパク性物質であれば特に限定されるものではないが、例えば、ヘモグロビンF (HbF)、HbA1c、およびグリコアルブミンなどが挙げられる。

[0015] 本明細書において、「第2検出対象物」は、試料中に含まれる物質であれば特に限定されるものではないが、タンパク性物質であってもよく、好ましくは、疾患関連タンパク性物質である。タンパク性物質とは、アミノ酸を有する有機化合物であれば特に限定されるものではなく、タンパク質、ポリペプチド、およびペプチド、ならびにそれらの糖化体などの修飾体であってもよい。疾患関連タンパク性物質としては、疾患に関連し得るタンパク性物質であれば特に限定されるものではないが、例えば、ヘモグロビン (Hb)、HbA0、およびアルブミンなどが挙げられる。また、第2検出対象物に変異体が存在する場合、第2検出対象物は、第2検出対象物の全変異体の合計であってもよい。

[0016] 第1検出対象物および第2検出対象物は、目的に応じて選択されればよく、例えば、糖尿病の診断を目的とする場合、第1検出対象物は、HbA1cであり、第2検出対象物は、HbA0である。例えば、血糖コントロールの指標を取得することを目的とする場合、第1検出対象物は、グリコアルブミンであり、第2検出対象物は、アルブミンである。例えば、遺伝性異常Hb症のスクリーニングを目的とする場合、第1検出対象物は、ヘモグロビンF

であり、第2検出対象物は、ヘモグロビンである。

[0017] 本明細書において、「関係性」は、第1検出対象物と第2検出対象物との間の相関関係であればよく、特に限定されるものではないが、例えば、比率、糖化率、および変異率などであってもよい。

[0018] 本明細書において、「反応」は、第1反応物質または第2反応物質が、第1検出対象物および第2検出対象物を含む試料に影響を与えた結果、検出部材の表面状態を変化させる反応であればよく、特に限定されるものではないが、例えば、結合反応、酵素反応、および還元反応などであってもよい。

[0019] 本明細書において、「反応性」は、第1検出対象物または第2検出対象物に対して第1反応物質または第2反応物質が影響を与える度合であり、例えば、親和性、活性、および結合性などであってもよい。

[0020] 以下、第1検出対象物がHbA1cであり、第2検出対象物がHbA0である場合を例として本発明の一実施形態を説明する。ただし、以下の例は、本発明の一実施形態に過ぎず、本発明の範囲は、以下の実施形態に限定されない。

[0021] HbA0よりもHbA1cに高い親和性を有する第1反応物質に由来する第1信号値は、試料中に含まれる総Hbに対するHbA1c比率が一定の場合、横軸を総Hb濃度の対数で表した場合には、総Hb濃度が低い時点では信号値の上昇は緩やかであるが、総Hb濃度が所定の濃度をを超えて上昇すれば、急激に上昇する。なお、横軸を線形で表すと、総Hb濃度が低い時点ほど信号が急激に上昇し緩やかに収束していく傾向になる。これに対して、HbA1cよりもHbA0に高い親和性を有する第2反応物質に由来する第2信号値は、試料中に含まれる総Hbに対するHbA1c比率が一定の場合、横軸を総Hb濃度の対数とした場合には、第1信号値に比べて総Hb濃度が低い時点から信号値が上昇するが、第1信号値よりも低い総Hb濃度で信号値が飽和しプラトーに達する。

[0022] このように、試料中に含まれる総Hbに対するHbA1c比率が一定の場合において、第1信号値と第2信号値とは試料中の総Hb濃度が上昇すると

共に異なる変化を示す。総Hb濃度と総Hbに対するHbA1c比率とに基づいて第1信号値および第2信号値の関係をグラフ化すれば、総Hb濃度に対するHbA1c比率と第1信号値と第2信号値とは一定の関係を示すので、この関係に基づいて検量線を作成することが可能である。

[0023] また、第1反応物質に由来する第1信号値と第2反応物質に由来する第2信号値とを同時に測定し、予め作成された検量線に基づいて、試料中の総Hbに対するHbA1c比率を算出することが可能となる。つまり、本実施形態における測定方法によれば、試料中の総Hbに対するHbA1c比率を簡便な操作で算出することができる。

[0024] 一実施形態において、第1反応物質は、HbA0よりもHbA1cに対して5～30倍程度高い親和性を有し、第2反応物質は、HbA1cよりもHbA0に対して100倍以上高い親和性を有する。なお、第1反応物質と第2反応物質とは、いずれか一方が、HbA0およびHbA1cの両方に親和性を有すればよい。例えば、第1反応物質が、HbA0およびHbA1cの両方に上記のように異なる親和性を有しており、第2反応物質は、HbA0のみに親和性を有していてもよい。なお、第1反応物質が、HbA0およびHbA1cの一方とのみ親和性を有し、第2反応物質が他方とのみ親和性を有していてもよい。

[0025] 本明細書において「第1反応物質」および「第2反応物質」はそれぞれ、たとえば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、核酸、およびボロン酸などの化合物からなる群から選択されてもよい。第1反応物質および第2反応物質は、例えば、抗体、アプタマーおよびペプチドなどを含むリガンドであってもよい。また、抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体などであってもよく、アプタマーは、RNAアプタマー、DNAアプタマーなどであってもよい。第1反応物質と第2反応物質とは、同じものであっても違っていてもよく、例えば、両物質ともアプタマーであってもよく、一方が抗体で他方がアプタマーであってもよい。また、第1検出対象物および第2検出対象物が、HbA1cなどの糖化されている物質である場合には、第1反

応物質および第2反応物質は、ボロン酸化合物などであってもよい。

[0026] 本実施形態の供給工程は、HbA0およびHbA1cを含む試料を検出部材の表面に供給するものである。これによって、検出部材の表面に固定された第1反応物質とHbA0および／またはHbA1cとの反応、ならびに検出部材の表面に固定された第2反応物質とHbA0および／またはHbA1cとの反応が生じる。ここで、固定とは、検出部材の表面に化学結合あるいは共有結合を行なうことによって固定化されている場合、および、単なる物理的な力によって付着している場合を含む。

[0027] 本実施形態の測定工程は、供給工程の後、第1反応物質と試料との反応に基づく第1信号値と、第2反応物質と試料との反応に基づく第2信号値とを測定するものである。

[0028] 本実施形態において、検出部材は表面弾性波素子を有し、第1反応物質と試料との反応に基づく第1信号値、および第2反応物質と試料との反応に基づく第2信号値として、表面弾性波素子の位相特性の値を用いてもよい。

[0029] 本実施形態の算出工程は、第1信号値および第2信号値に基づいて、試料における総Hbに対するHbA1cの比率を算出するものである。

[0030] 本実施形態の算出工程は、予め作成された検量線と第1信号値および第2信号値とに基づいて、総Hbに対するHbA1cの比率を算出するものであってもよい。

[0031] 本明細書において「検量線」とは、上述のような所望の関係性を算出するために必要なものであればよい。例えば、総Hbに対するHbA1cの比率を算出する場合には、総Hb濃度と総Hbに対するHbA1cの比率とが予め定められた複数の標準試料を用いて測定された、第1反応物質と標準試料との反応に基づく第1標準信号値と、第2反応物質と標準試料との反応に基づく第2標準信号値とを用いて作成されるものであってもよい。

[0032] 本明細書において、「試料」とは、例えば、全血などの血液試料であってもよく、血液試料を緩衝液などによって希釈したものであってもよい。なお、血液試料以外の試料であってもよい。

[0033] また、変形例として、供給工程と測定工程との間に、洗浄液を検出部材の表面に供給する洗浄工程を実施することも可能である。洗浄工程を実施することによって、試料中に含まれる総Hbに含まれない物質からなる夾雑物を検出部材の表面から除くことができるので、夾雑物の影響を洗浄工程以降の工程から除くことができ、測定工程で測定される第1信号値および第2信号値の正確性を向上することができる。

[0034] 本明細書において、「洗浄液」とは、例えば、緩衝液などであってもよい。緩衝液は、例えば、リン酸緩衝液などを含み、これらに限定されず緩衝液として公知のものを適宜用いればよい。

[0035] 第1実施形態の一実施例として、検出部材として表面弾性波素子を有し、第1反応物質としてHbA0よりもHbA1cに高い親和性を有する第1RNAアプタマーを用い、第2反応物質としてHbA1cよりもHbA0に高い親和性を有する第2RNAアプタマーを用い、試料として血液試料を用いた例を以下に示す。

[0036] すなわち、第1実施形態の一実施例は、以下のような各工程を有する測定方法であってもよい。検出部材の表面に固定されており、HbA0よりもHbA1cに高い親和性を有する第1RNAアプタマーと、HbA1cよりもHbA0に高い親和性を有する第2RNAアプタマーとを準備する準備工程と、HbA0およびHbA1cを含む血液試料を前記検出部材の表面に供給する供給工程と、供給工程の後、第1RNAアプタマーとHbA0およびHbA1cとの結合に基づく第1信号値と、第2RNAアプタマーとHbA0およびHbA1cとの結合に基づく第2信号値とを測定する測定工程と、前記第1信号値および前記第2信号値に基づいて、前記血液試料における総Hbに対するHbA1cの比率を算出する算出工程と、を備える測定方法であってもよい。

[0037] <測定装置>

(第2実施形態)

図1は、本発明の第2実施形態である測定装置100の機能的構成を示す

ブロック図である。本発明の第1実施形態に係る測定方法は、測定装置100で実行される。

[0038] 以下、第1検出対象物がHbA1cであり、第2検出対象物がHbA0である場合を例として本発明の一実施形態を説明する。ただし、以下の例は、本発明の一実施形態に過ぎず、本発明の範囲は、以下の例に限定されない。

[0039] 測定装置100は、HbA0およびHbA1cを含む試料を、検出部材の表面に固定されており、HbA0よりもHbA1cに高い親和性を有する第1反応物質と、HbA1cよりもHbA0に高い親和性を有する第2反応物質とに供給する供給部と、第1反応物質と試料との反応に基づく第1信号値と、第2反応物質と試料との反応に基づく第2信号値とを測定する測定部と、第1信号値および第2信号値に基づいて、試料における総Hbに対するHbA1cの比率を算出する算出部と、を備える。

[0040] 供給部10は、第1反応物質および第2反応物質が固定された検出部材と、この検出部材に試料を供給するための供給路、試料を供給路内に流すポンプを含むが、構成は限定されない。

[0041] 測定部20は、検出部材に信号を入力し、検出部材から出力される信号に基づいて予め定める信号値を取得する素子を含む装置などであってもよいが、構成は限定されない。

[0042] 算出部30は、測定部20で測定された第1信号値と第2信号値とから総Hbに対するHbA1cの比率を得る演算素子を含む演算装置などであってもよいが、構成は限定されない。

[0043] 次に測定装置100に用いられるバイオセンサ装置の一例を示す。バイオセンサ装置は、供給部、測定部、算出部を構成する。

[0044] 図2は、バイオセンサ装置200の斜視図であり、図3は、バイオセンサ装置200の分解斜視図であり、図4は、検出素子3の平面図である。

[0045] バイオセンサ装置200は、基板1、流路構成体2および検出素子3からなる。流路構成体2は、図2に示すように検出素子3および支持部材4を介して基板1の上に配置されている。流路構成体2は、長手方向の一方の端部

側に液体状の試料の入口である流入口14を有し、流入口14と連通する流路が内部に形成されている。基板1は平板状であり、例えば、樹脂基板、セラミックス基板などであり、表層または内層に配線導体などを設けている。

[0046] 基板1の上面の一方の端部側には検出素子3が実装されている。検出素子3の両側には、検出素子3に電氣的に接続された端子6が設けられている。端子6には、装置、演算装置などが接続される。

[0047] 検出素子3は、表面弾性波素子であり、圧電基板7、第1IDT (Inter Digital Transducer) 電極8、第2IDT電極9および検出部13からなる。圧電基板7は、タンタル酸リチウムなどの圧電性を有する単結晶の基板からなる。第1IDT電極8は、一对の櫛歯電極を有する。各櫛歯電極は互いに対向する2本のバスバーおよび各バスバーから他のバスバー側へ延びる複数の電極指を有する。一对の櫛歯電極は、複数の電極指が互いに噛み合うように配置されている。第2IDT電極9も第1IDT電極8と同様に構成されている。第1IDT電極8および第2IDT電極9は、トランスバーサル型のIDT電極を構成している。

[0048] 第1IDT電極8は、所定の弾性表面波を発生させるためのものであり、第2IDT電極9は、第1IDT電極8で発生した弾性表面波を受信するためのものである。第1IDT電極8および第2IDT電極9は、例えばアルミニウム、アルミニウムと銅との合金などからなる。

[0049] 検出部13は、第1IDT電極8と第2IDT電極9との間に設けられている。検出部13は、例えばクロムおよびクロム上に成膜された金の2層構造となっている。検出部13の金属膜の表面には、HbA0およびHbA1cと反応する第1反応物質または第2反応物質が固定されている。試料が検出部に供給されると、試料中のHbA0およびHbA1cが第1反応物質または第2反応物質と反応する。

[0050] 第1IDT電極8と第2IDT電極9と検出部13を1組とすると、検出素子3には、2組設けられている。例えば、一方の検出部13では、試料を測定し、他方の検出部13では、リファレンス値を測定することができる。

例えば、他方の検出部 13 は、第 1 反応物質および第 2 反応物質が反応しない。

[0051] このような弾性表面波を利用した検出素子 3 では、まず、第 1 I D T 電極 8 に外部から所定電圧の信号を印加する。第 1 I D T 電極 8 において、圧電基板 7 の表面が励振され、所定の周波数の弾性表面波が発生する。発生した弾性表面波の一部が検出部 13 に向かって伝搬し、検出部 13 を通過して第 2 I D T 電極 9 によって受信される。検出部 13 では、H b A O および H b A 1 c の量に応じて第 1 反応物質または第 2 反応物質が反応し、反応の分だけ検出部 13 の質量が増加する。質量の増加に伴い検出部 13 を通過する弾性表面波の位相が変化すると、変化に応じた電圧が第 2 I D T 電極 9 に生じる。第 1 I D T 電極 8 に印加された信号の位相と、第 2 I D T 電極 9 から出力される信号の位相との違いを位相変化として測定する。

[0052] 基板 1 の上面には、さらに支持部材 4 が搭載され、支持部材 4 は、流路構成体 2 を支持している。流路構成体 2 は、検出素子 3 の少なくとも一部を覆うようにして配置される。流路構成体 2 は、例えば、第 1 接着層 19、第 1 親水性シート 22、第 2 接着層 23 および第 2 親水性シート 24 から構成される。

[0053] 第 1 接着層 19 は、貫通孔 19 h を有する枠体であり、検出素子 3 の一部が貫通孔 19 h によって露出している。第 1 接着層 19 の上には第 1 親水性シート 22 が積層される。第 1 親水性シート 22 は、貫通孔 19 h と同様の貫通孔 22 h を有しており、貫通孔同士が連通するように第 1 接着層 19 と第 1 親水性シート 22 とが積層される。第 1 親水性シート 22 の上には第 2 接着層 23 が積層される。第 2 接着層 23 には、流路を構成する長手方向に延びる貫通孔 23 h を有する。貫通孔 23 h の一方端部は、貫通孔 22 h と重なる位置にまで延びている。第 2 接着層 23 の上には第 2 親水性シート 24 が積層される。第 2 親水性シート 24 の両端部寄りには、貫通孔からなる流入口 14 および排気口 18 が設けられている。流入口 14 および排気口 18 は、貫通孔 23 h と重なる位置に形成されている。

実施例

[0054] 以下、上述した実施形態に係る測定方法の実施例について説明する。

[0055] (実施例 1 検量線の作成)

分子間相互作用解析装置である *Biacore T200* (GE ヘルスケア製) を用いた。この装置は、4つのフローセル (Fc1~4) を有している。

[0056] 基板 (基体) として、*Series S Sensor Chip SA* (GE ヘルスケア製) を用いた。

[0057] 以下において、*Series S Sensor Chip SA* 上に、第1反応物質である RNA アプタマー A (配列番号 1) と第2反応物質である RNA アプタマー B (配列番号 2) とを固定化し、それぞれの RNA アプタマーと HbA0 および HbA1c との結合に基づく位相特性の値 (以下、信号値とも称する) を測定する手順を示す。

[0058] ここで、RNA アプタマー A および RNA アプタマー B は、アデニンおよびウラシルの 2' 位がフッ素基に置換されており、予めアニール処理 (85℃ 3 分間、-0.1℃/秒、25℃) したものをを用いた。RNA アプタマー A および RNA アプタマー B は、社外にて合成したものである。

[0059] RNA アプタマー A の HbA0 に対する解離定数 K_D は 160 nM であった。また、RNA アプタマー A は、HbA1c に対して全く結合しないか、または非常にわずかしき結合しなかった。つまり、RNA アプタマー A は、HbA1c よりも HbA0 に高い親和性を有する。

[0060] RNA アプタマー B の HbA0 に対する解離定数 K_D は 1000 nM であり、HbA1c に対する解離定数 K_D は 50 nM であった。つまり、RNA アプタマー B は、HbA0 よりも HbA1c に高い親和性を有する。

[0061] ランニング緩衝液として、HBS-P (GE ヘルスケア製) に $MgCl_2$ が 1 mM 含有されるように $MgCl_2$ を追加したもの (0.01M HEPES (pH7.4), 0.15M NaCl, 0.005% Surfactant P20, 1mM $MgCl_2$) を用いた (以下、HBS-P (+ $MgCl_2$) と記す。) 。

- [0062] また、検量線を作成するために、H b A 1 c 認証実用標準物質(JCCRM 423-9b/検査医学標準物質機構/凍結乾燥品)を変性させ、変性を停止後、カラムにより界面活性剤を除去し、脱塩カラムによって溶媒をH B S - P (+ M g C l ₂) に置換して得た溶液を標準試料として用いた。
- [0063] (1) 全てのフローセルF c 1 ~ 4 を、1 0 m M の N a O H を用いて流速 2 0 μ l / m i n で1 分間洗浄をした。
- [0064] (2) 上記(1) を4 回繰り返した。
- [0065] (3) フローセルF c 1 ~ 4 に、5' 末端にビオチンを有する5 μ M の T (配列番号3) を、流速5 μ l / m i n で6 分間流して固定化した。この際、希釈は、H B S - P (+ M g C l ₂) 溶液を用いて行なった。
- [0066] (4) フローセルF c 1 ~ 4 を、1 0 m M の N a O H を用いて流速 2 0 μ l / m i n で1 分間洗浄をした。
- [0067] (5) 上記(4) を4 回繰り返した。
- [0068] (6) フローセルF c 2 に、それぞれ0. 5 μ M の R N A アプタマーA を流速5 μ l / m i n で2 分間流して固定化し、その後1 分間の解離状態をモニターした。
- [0069] (7) 上記のフローセルF c 1 およびF c 2 に、F c 1、F c 2 の順番に、総H b 濃度が0. 0 1 μ M であり、総H b に対するH b A 1 c の比率が5. 5 6 % の標準試料を流速2 0 μ l / m i n で5 分間流し、その後2 分間の解離状態をモニターした。フローセルF c 1 は、フローセルF c 2 に対するリファレンス値を得るために用いた。
- [0070] (8) フローセルF c 1 およびF c 2 を、1 0 m M の N a O H を用いて流速2 0 μ l / m i n で1 分間洗浄をした。この作業により、R N A アプタマーA が外れて、S e r i e s S S e n s o r C h i p S A は上記(5) が完了した状態に戻る。
- [0071] (9) その後、上記(6) ~ (8) の操作を、総H b 濃度が0. 0 5 μ M、0. 1 μ M、0. 5 μ M、1 μ M、2 μ M、5 μ M、1 0 μ M の標準試

料について実施した。これらの標準試料における、総Hbに対するHbA1cの比率は5.56%とした。

[0072] (10) その後、上記(6)～(9)の操作を、フローセルFc3およびFc4について、RNAアプタマーBを用いて実施した。なお、フローセルFc4にRNAアプタマーBを固定化し、フローセルFc3はフローセルFc4に対するリファレンス値を得るために用いた。それ以外の操作については上述と同様である。結果を図5(a)に示す。

[0073] また、上記(1)～(10)の操作を、総Hbに対するHbA1cの比率が7.74%であり、総Hb濃度が0.01 μ M、0.05 μ M、0.1 μ M、0.5 μ M、1 μ M、2 μ M、5 μ M、10 μ Mの標準試料について実施した。その結果を図5(b)に示す。

[0074] また、上記(1)～(10)の操作を、総Hbに対するHbA1cの比率が10.48%であり、総Hb濃度が0.01 μ M、0.05 μ M、0.1 μ M、0.5 μ M、1 μ M、2 μ M、5 μ M、10 μ Mの標準試料について実施した。その結果を図5(c)に示す。

[0075] 図6(a)は、上述の図5(a)～図5(c)で用いた各標準試料について、総Hb濃度と、総Hbに対するHbA1cの比率との関係をプロットした図である。そして、図6(b)において、縦軸は図6(a)の各プロットにおけるRNAアプタマーBの信号値であり、横軸は図6(a)の各プロットにおけるRNAアプタマーAの信号値である。具体的には、点線は総Hbに対するHbA1cの比率が5.56%の標準試料について得られた結果を結んだものであり、破線は総Hbに対するHbA1cの比率が7.74%の標準試料について得られた結果を結んだものであり、実線は総Hbに対するHbA1cの比率が10.48%の標準試料について得られた結果を結んだものである。

なお、図6(a)に示される白丸、白三角、白菱形、および白四角は、それぞれ図6(b)に示される白丸、白三角、白菱形、および白四角に対応する。

[0076] 以上のようにして、図6（b）に示すように、検量線は、標準試料中における、総Hb濃度が1～10 μ Mであり、総Hbに対するHbA1cの比率が5.56～10.48%である範囲で作成された。

[0077] （実施例2 血液試料の測定）

実施例1における（1）～（7）の操作を、標準試料に代えて血液試料について実施し、アプタマーAおよびアプタマーBについての信号値を得た。得られた信号値と実施例1で作成された検量線とに基づいて、血液試料に含まれる総Hbに対するHbA1cの比率を算出した。

[0078] 具体的には、アプタマーAおよびアプタマーBについての信号値を、図6（b）に示すような検量線に示し、それを図6（a）に示す平面に射影することによって、血液試料に含まれる総Hbに対するHbA1cの比率を算出した。さらに、図6（a）におけるプロットを用いて、血液試料に含まれる総Hb濃度を算出することができた。

[0079] （実施例3 RNAアプタマーCおよびDを用いた実施例）

第1反応物質として、RNAアプタマーAに換えてRNAアプタマーC（配列番号4）を用い、第2反応物質として、RNAアプタマーBに換えてRNAアプタマーD（配列番号5）を用いた他は、特に言及しなければ、実施例1および2と同様に、検量線の作成、血液試料の測定を行った。

[0080] （1） 全てのフローセルFc1～4を、10mMのNaOHを用いて流速20 μ l/minで1分間洗浄をした。

[0081] （2） 上記（1）を合計4回繰り返した。

[0082] （3） フローセルFc2に5'末端にビオチンを有する1 μ MのRNAアプタマーCを、フローセルFc4に5'末端にビオチンを有する1 μ MのRNAアプタマーDを、それぞれ流速5 μ l/minで8分間流して固定化した。この際、アプタマーの希釈は、HBS-P（+MgCl₂）溶液を用いて行った。

[0083] （4） フローセルFc1～4を、10mMのNaOHを用いて流速20 μ l/minで1分間洗浄をした。

- [0084] (5) 上記(4)を合計4回繰り返した。
- [0085] (6) 上記のフローセルFc1およびFc2に、Fc1、Fc2の順番に、総Hb濃度が0.01 μ Mであり、総Hbに対するHbA1cの比率が5.61%の標準試料を流速20 μ l/minで5分間流し、その後2分間の解離状態をモニターした。フローセルFc1は、フローセルFc2に対するリファレンス値を得るために用いた。
- [0086] (7) フローセルFc1およびFc2を、10mMのNaOHを用いて流速20 μ l/minで1分間洗浄をした。この作業により、標準試料が外れて、Series S Sensor Chip SAは上記(5)が完了した状態に戻る。
- [0087] (8) その後、上記(6)～(7)の操作を、総Hb濃度が0.05 μ M、0.1 μ M、0.5 μ M、1 μ M、2 μ M、5 μ M、10 μ Mの標準試料について実施した。これらの標準物質における、総Hbに対するHbA1cの比率は5.61%とした。
- [0088] (9) 上記のフローセルFc3およびFc4に、Fc3、Fc4の順番に、総Hb濃度が0.01 μ Mであり、総Hbに対するHbA1cの比率が5.61%の標準試料を流速20 μ l/minで5分間流し、その後2分間の解離状態をモニターした。フローセルFc3は、フローセルFc4に対するリファレンス値を得るために用いた。
- [0089] (10) フローセルFc3およびFc4を、10mMのNaOHを用いて流速20 μ l/minで1分間洗浄をした。この作業により、標準試料が外れて、Series S Sensor Chip SAは上記(5)が完了した状態に戻る。
- [0090] (11) その後、上記(9)～(10)の操作を、総Hb濃度が0.05 μ M、0.1 μ M、0.5 μ M、1 μ M、2 μ M、5 μ M、10 μ Mの標準試料について実施した。これらの標準物質における、総Hbに対するHbA1cの比率は5.61%とした。
- [0091] 上記(6)～(11)の操作を、総Hbに対するHbA1cの比率が7.7

1%であり、総Hb濃度が0.01 μ M、0.05 μ M、0.1 μ M、0.5 μ M、1 μ M、2 μ M、5 μ M、10 μ Mの標準物質について実施した。

[0092] また、上記(6)～(11)の操作を、総Hbに対するHbA1cの比率が10.55%であり、総Hb濃度が0.01 μ M、0.05 μ M、0.1 μ M、0.5 μ M、1 μ M、2 μ M、5 μ M、10 μ Mの標準物質について実施した。

[0093] 検量線は、標準試料中における、総Hb濃度が1～10 μ Mであり、総Hbに対するHbA1cの比率が5.61～10.55%である範囲で作成された。

[0094] 実施例3における(1)～(7)の操作を、標準試料に代えて血液試料について実施し、RNAアプタマーCおよびRNAアプタマーDについての信号値を得た。得られた信号値と実施例3で作成された検量線とに基づいて、血液試料に含まれる総Hbに対するHbA1cの比率を算出した。その結果、血液試料に含まれる総Hb濃度を良好に算出することができた。

[0095] (実施例4：末端にアミノ基を有する例)

以下において、実装基板上に、5'末端に6量体のオリゴエチレングリコール(OEG)を介してアミノ基を有するRNAアプタマーCおよびDを固定化し、HbA1cを検出する手順を示す。

[0096] (1) 検出素子3を準備した。なお、固定化膜13aとしてAu(金)を用いる。

[0097] (2) 検出部13を含む領域をSH-303(関東化学製)で洗浄した。

[0098] 続く手順である下記(3)～(7)において、固定化膜Au上にRNAアプタマーCおよびDを固定化した。なお、検出素子3は複数の検出部13を有しており、RNAアプタマーCとRNAアプタマーDとを異なる検出部13に固定化した。

[0099] (3) Carboxy-EG6-Undecanethiol(同仁化学研究所製)を250 μ M、Hydroxy-EG3-Undecanethiol

h i o l（同仁化学研究所製）を750 μ Mの濃度で溶解させたエタノールに検出素子3を16時間浸漬した。

[0100] (4) 検出素子3をエタノールおよび超純水にてリンスし、窒素にて乾燥させた。

[0101] (5) 検出素子3を0.5% SDSを含む10 mM NaOH溶液に3分間浸漬させた。同様の操作を合計3回行った後、超純水にてリンスし、窒素にて乾燥させた。

[0102] (6) 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド水溶液、N-ヒドロキシスクシンイミド水溶液、および塩酸との混合液を検出部13を含む領域に滴下し、10分間放置した。

[0103] (7) 上記混合液を除去し、上記と同じ組成の混合液を検出部13を含む領域に滴下し、10分間放置した。

[0104] (8) 上記(7)を4回繰り返した。

[0105] (9) 10 mM酢酸ナトリウム水溶液(pH 5.0)で洗浄することにより、Carboxy-EG6-Undecanethiolの末端に位置するカルボキシル基を活性エステル化した。

[0106] (10) NaClを含む100 mMのHEPESバッファ(pH 7.4)液に、5'末端にアミノ基を有するRNAアプタマーCおよびDを個別に溶解させ、別個の検出部13を含む領域にそれぞれ滴下し、30分間放置した。

[0107] (11) 上記の溶液を除去し、上記と同じRNAアプタマーの溶液を検出部13を含む領域に滴下し、30分間放置した。

[0108] (12) 上記(11)を繰り返した後、検出部13を含む領域を10 mM酢酸ナトリウム水溶液(pH 5.0)と、1 mMのMgCl₂を含むHBS-P (GE Healthcare製)にて洗浄することにより、エステル化したカルボキシル基とRNAアプタマーCおよびDの5'末端にOEGを介して存在するアミノ基をアミド結合させた。参照電極を形成する際には、上記(10)、(11)の操作は行わなかった。

- [0109] (13) 検量線を作成するために、HbA1c 認証実用標準物質（検査医学標準物質機構製 JCCRM411-3）を変性させた。その後カラムにより界面活性剤を除去後、変性を停止させ、脱塩カラムによって溶媒を 1 mM の $MgCl_2$ を含む HBS-P に置換して得た溶液を標準試料として用いた。
- [0110] (14) 5 nM となるように、1 mM の $MgCl_2$ を含む HBS-P で希釈した標準試料（検体全量に占める HbA1c 比率は 5.10%）を、流路 15 を用いて検出素子 3 に導入し、30 分間反応させた際に生じる位相変化量を測定した。
- [0111] (15) 流路 15 を用いて 10 mM の NaOH を検出素子 3 に導入して 1 分間静置することにより、検出素子 3 を洗浄した。この作業により、RNA アプタマー C および D から標準試料が外れ、(12) が完了した状態に戻る。
- [0112] (16) 5 nM となるように、1 mM の $MgCl_2$ を含む HBS-P で希釈した標準試料（検体全量に占める HbA1c 比率は 11.98%）を、流路 15 を用いて検出素子 3 に導入し、30 分間反応させた際に生じる位相変化量を測定した。
- [0113] (17) 流路 15 を用いて 10 mM の NaOH を検出素子 3 に導入して 1 分間静置することにより、検出素子 3 を洗浄した。この作業により、RNA アプタマー C および D から標準試料が外れ、(12) が完了した状態に戻る。
- [0114] (18) (14) から (17) の操作を、50 nM、500 nM、5 μ M、50 μ M の標準試料を用いて実施した。
- [0115] これによれば、高い安定性を有するアミド結合を用いることで、RNA アプタマー C および D を高い安定性にて固定化することができた。
- [0116] 検量線は、標準試料中における、総 Hb 濃度が 1 ~ 10 μ M であり、総 Hb に対する HbA1c の比率が 5.10 ~ 11.98% である範囲で作成された。
- [0117] (14) から (17) の操作を、標準試料に代えて血液試料について実施

し、RNAアプタマーCおよびDについての信号値を得た。得られた信号値と実施例4で作成された検量線とに基づいて、血液試料に含まれる総Hbに対するHbA1cの比率を算出した。その結果、血液試料に含まれる総Hb濃度を良好に算出することができた。

[0118] 以上、本発明は、上述の各実施形態および変形例などに示した構成だけに限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲で改良や変更ができることは言うまでもない。

符号の説明

- [0119]
- 1 基板
 - 2 流路構成体
 - 3 検出素子
 - 4 支持部材
 - 6 端子
 - 7 圧電基板
 - 8 第1IDT電極
 - 9 第2IDT電極
 - 10 供給部
 - 13 検出部
 - 14 流入口
 - 20 測定部
 - 30 算出部
 - 100 測定装置
 - 200 バイオセンサ装置

請求の範囲

- [請求項1] 検出部材の表面に位置しており、第1検出対象物よりも第2検出対象物に高い反応性を有する第1反応物質と、第2検出対象物よりも第1検出対象物に高い反応性を有する第2反応物質とを準備する準備工程と、
- 前記第1検出対象物と前記第2検出対象物とを含む試料を前記検出部材の表面に供給する供給工程と、
- 供給工程の後、前記第1反応物質と前記試料との反応に基づく第1信号値と、前記第2反応物質と前記試料との反応に基づく第2信号値とを測定する測定工程と、
- 前記第1信号値および前記第2信号値に基づいて、前記試料における前記第1検出対象物と前記第2検出対象物との関係性を算出する算出工程と、を備える測定方法。
- [請求項2] 前記算出工程は、予め作成された検量線と、前記第1信号値および前記第2信号値とに基づいて、前記第1検出対象物と前記第2検出対象物との前記関係性を算出する、請求項1に記載の測定方法。
- [請求項3] 前記検量線は、前記総検出対象物の濃度と、前記第1検出対象物と前記第2検出対象物との関係性とが予め定められた複数の標準試料を用いて測定された、前記第1反応物質と前記標準試料との反応に基づく第1標準信号値と、前記第2反応物質と前記標準試料との反応に基づく第2標準信号値とを用いて作成される、請求項2に記載の測定方法。
- [請求項4] 前記第1反応物質および前記第2反応物質は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、核酸、およびボロン酸化合物からなる群から選択される、請求項1～3のいずれか1項に記載の測定方法。
- [請求項5] 前記第1反応物質および前記第2反応物質は、抗体あるいはアプタマーである、請求項1～4のいずれか1項に記載の測定方法。
- [請求項6] 前記第1反応物質および前記第2反応物質はいずれも、RNAアプ

タマーである、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

[請求項7]

前記検出部材は、表面弾性波素子を有し、

前記第 1 信号値および前記第 2 信号値は、前記表面弾性波素子の位相特性の値である、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

[請求項8]

前記第 1 信号値および前記第 2 信号値は、QCM、SPRおよびFETから選択された方法によって測定された値である、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

[請求項9]

前記試料は、血液試料である、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

[請求項10]

前記第 1 検出対象物および前記第 2 検出対象物は、タンパク性物質である、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

[請求項11]

前記タンパク性物質は、疾患関連タンパク性物質である、請求項 10 に記載の測定方法。

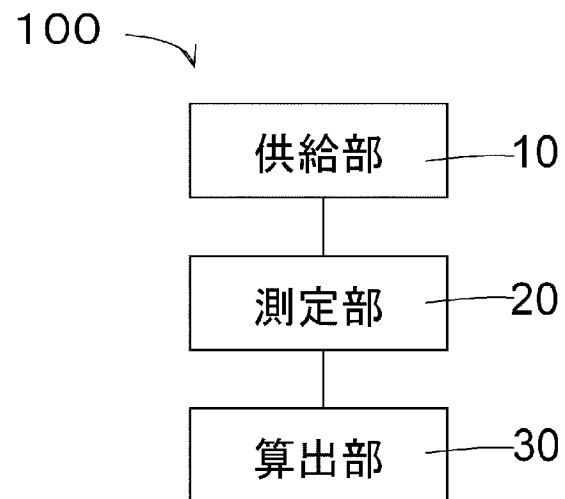
[請求項12]

第 1 検出対象物と第 2 検出対象物とを含む試料を、検出部材の表面に位置しており、前記第 1 検出対象物よりも前記第 2 検出対象物に高い反応性を有する第 1 反応物質と、前記第 2 検出対象物よりも前記第 1 検出対象物に高い反応性を有する第 2 反応物質とに供給する供給部と、

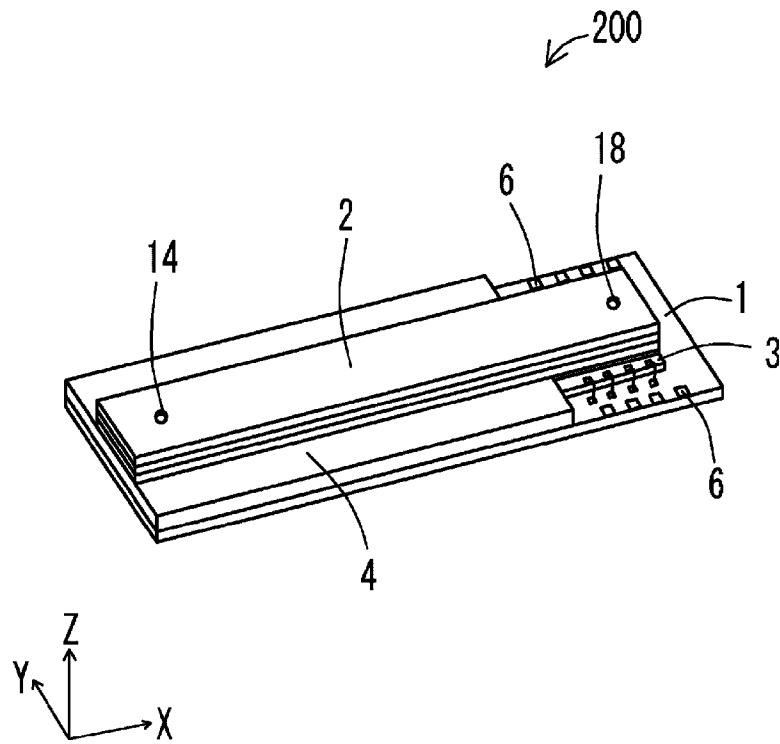
前記第 1 反応物質と前記試料との反応に基づく第 1 信号値と、前記第 2 反応物質と前記試料との反応に基づく第 2 信号値とを測定する測定部と、

前記第 1 信号値および前記第 2 信号値に基づいて、前記試料における前記第 1 検出対象物と前記第 2 検出対象物との関係性を算出する算出部と、を備える装置。

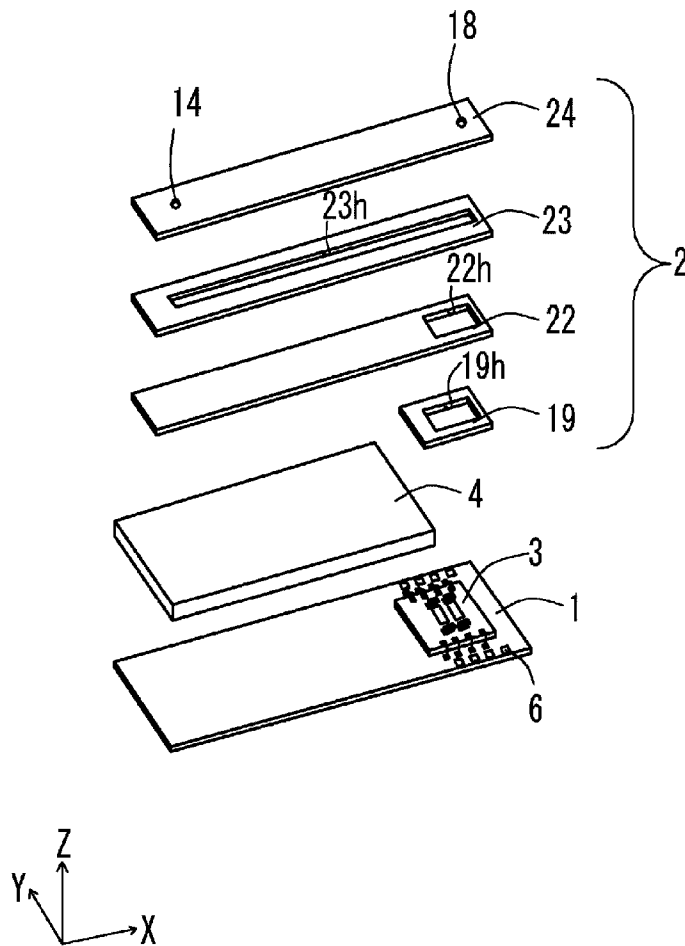
[図1]

FIG. 1

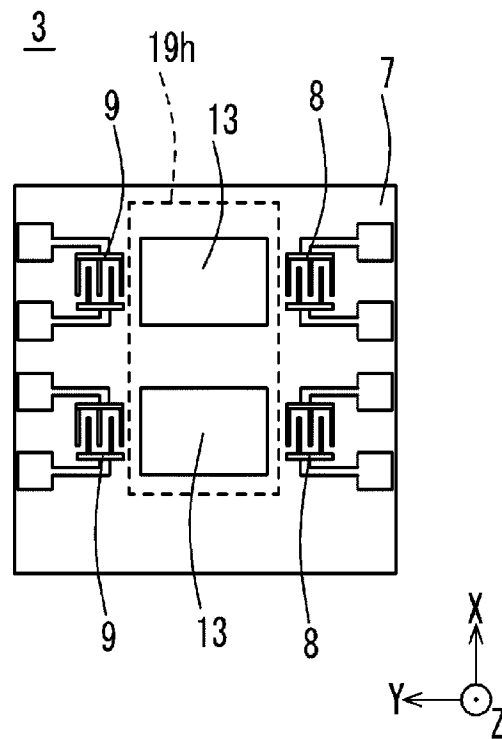
[図2]

FIG. 2

[図3]

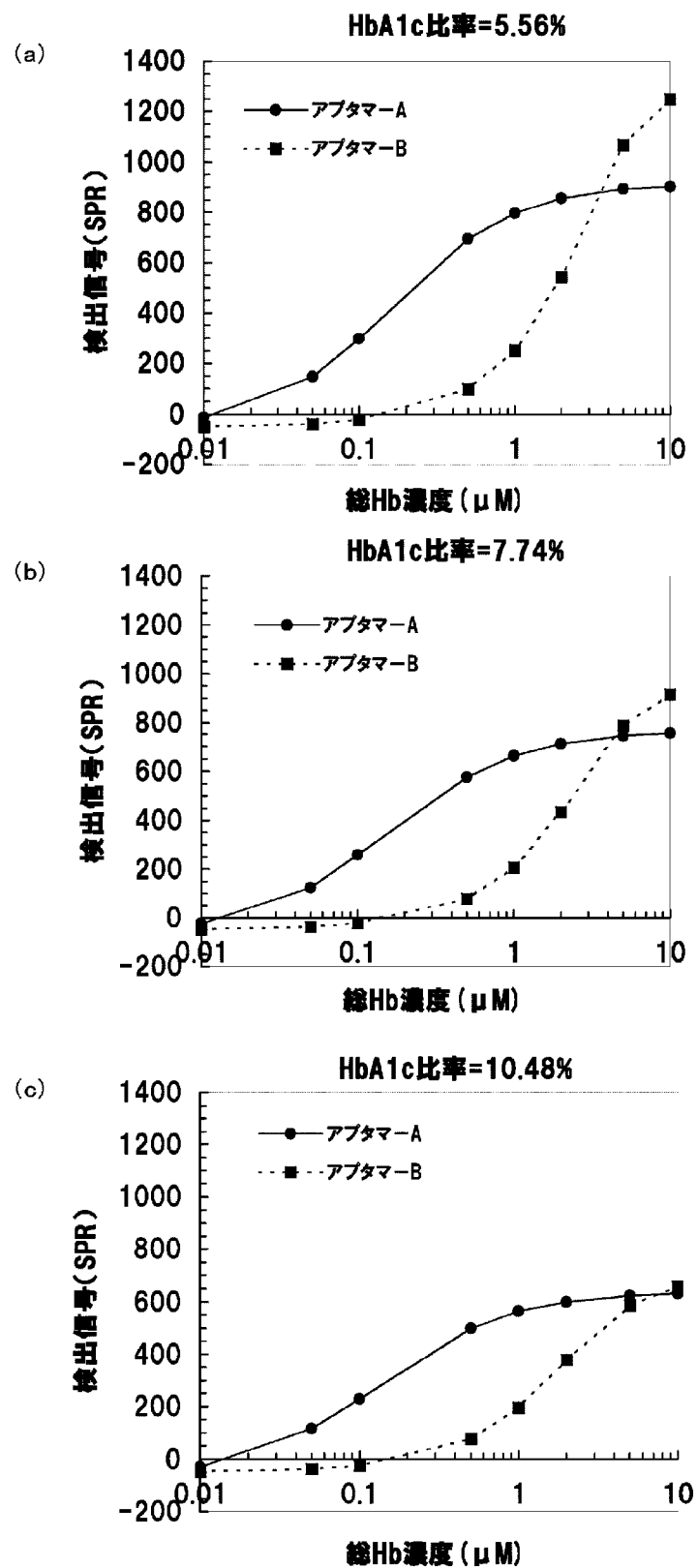
FIG. 3

[図4]

FIG. 4

[図5]

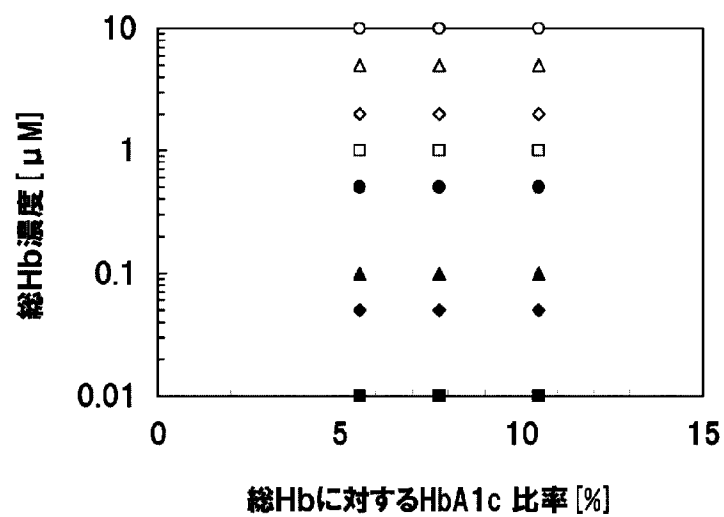
FIG. 5



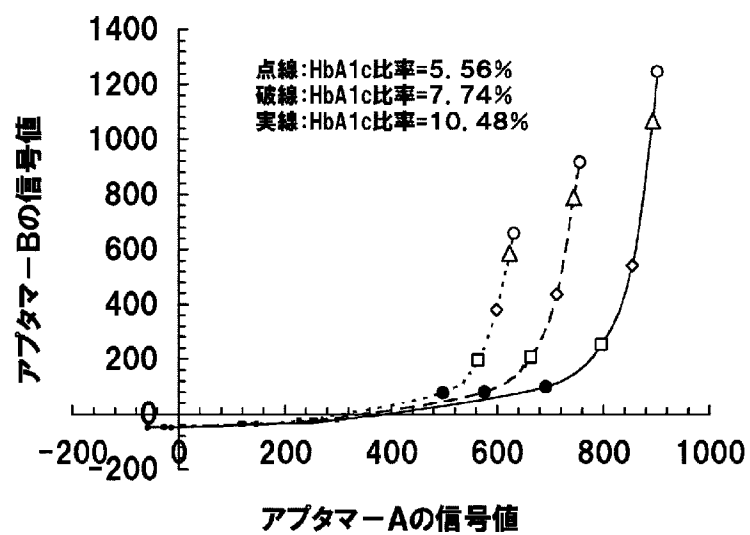
[図6]

FIG. 6

(a)



(b)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/066084

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/53(2006.01)i, G01N21/41(2006.01)i, G01N29/02(2006.01)i, G01N33/543(2006.01)i, G01N33/566(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, G01N21/41, G01N29/02, G01N33/543, G01N33/566

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	1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2016	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2016

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	JP 2005-140553 A (Fujikura Ltd.), 02 June 2005 (02.06.2005), paragraphs [0001], [0012] to [0048], [0057]; fig. 1 to 6 (Family: none)	1-2, 4-12/3
A	JP 2009-168803 A (Canon Inc.), 30 July 2009 (30.07.2009), & WO 2009/081801 A1 & US 2012/0003666 A1	1-12
A	JP 5579343 B1 (The Furukawa Electric Co., Ltd.), 27 August 2014 (27.08.2014), & WO 2014/084260 A1 & US 2015/0268239 A1 & EP 2927688 A1 & CN 104471398 A & KR 10-2015-0024413 A	1-12

☒ 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
17 August 2016 (17.08.16)

Date of mailing of the international search report
30 August 2016 (30.08.16)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/066084

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2015/099123 A1 (Kyocera Corp.), 02 July 2015 (02.07.2015), (Family: none)	1-12

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N33/53(2006.01)i, G01N21/41(2006.01)i, G01N29/02(2006.01)i, G01N33/543(2006.01)i,
G01N33/566(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 (I P C))

Int.Cl. G01N33/53, G01N21/41, G01N29/02, G01N33/543, G01N33/566

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 6 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 6 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 6 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)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X/A	JP 2005-140553 A (株式会社フジクラ) 2005.06.02, [0001], [0012]-[0048], [0057], [図 1-6] (ファミリーなし)	1-2, 4-12/3
A	JP 2009-168803 A (キヤノン株式会社) 2009.07.30, & WO 2009/081801 A1 & US 2012/0003666 A1	1-12
A	JP 5579343 B1 (古河電気工業株式会社) 2014.08.27, & WO 2014/084260 A1 & US 2015/0268239 A1 & EP 2927688 A1 & CN 104471398 A & KR 10-2015-0024413 A	1-12

☑ 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

1 7 . 0 8 . 2 0 1 6

国際調査報告の発送日

3 0 . 0 8 . 2 0 1 6

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

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)

西浦 昌哉

2 J

5 7 0 4

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

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 請求項の番号
A	WO 2015/099123 A1 (京セラ株式会社) 2015.07.02, (ファミリーなし)	1-12