(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
2015 年 12 月 30 日(30.12.2015)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2015/198668 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 27/414 (2006.01) *G01N 27/416* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2015/058903

(22) 国際出願日: 2015 年 3 月 24 日(24.03.2015)

(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 2014-127845 2014 年 6 月 23 日(23.06.2014) JP

(71) 出願人: 国立大学法人東京大学(THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 坂田 利弥(SAKATA Toshiya); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 加治佐 平(KAJISA Taira); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 宮澤 雄弥(MIYAZAWA Yuya); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目３番１号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 南条 雅裕, 外(NANJO Masahiro et al.); 〒1070052 東京都港区赤坂９－７－２－１４１６ 東京ＡＣＴｉ国際特許事務所 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, 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, 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.

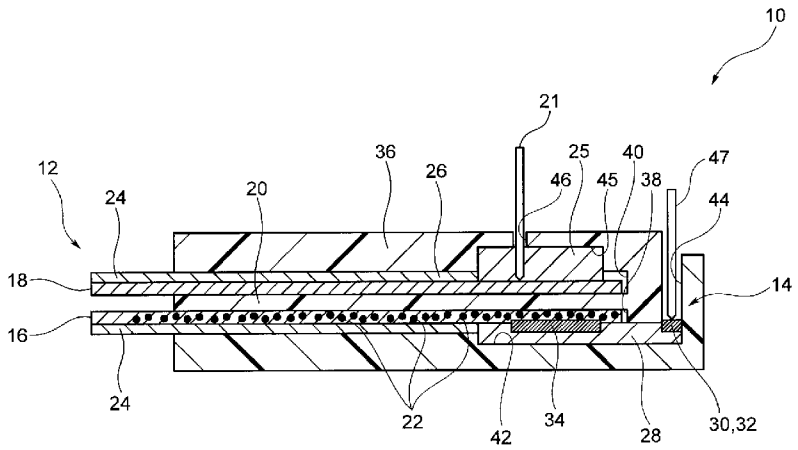
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, 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**: SAMPLING UNIT AND BIOSENSOR

(54) 発明の名称 : 採取部及びバイオセンサ

[図1]



(57) **Abstract**: The present invention is characterized by having a first reception unit (16) and a second reception unit (18) that are for receiving sample liquid and are disposed so as to be separate from each other and in that the first reception unit (16) includes an identification substance (22) that binds to a substance to be detected and separates the substance to be detected within the sample liquid from a substance not subject to detection and the second reception unit (18) is connected to a reference electrode (21) via a salt bridge part (25).

(57) 要約: 試料液を受容し、分離して配置された第１受容部（１６）及び第２受容部（１８）を有し、前記第１受容部（１６）が、検出対象物質と結合する識別物質（２２）を含むと共に、前記試料液中の検出対象物質を非検出対象物質と分離し、前記第２受容部（１８）が、塩橋部（２５）を介して参照電極（２１）に接続されることを特徴とする。

WO 2015/198668 A1

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

明　細　書

発明の名称 ： 採取部及びバイオセンサ

技術分野

[0001] 本発明は、採取部及びバイオセンサに関するものである。

背景技術

[0002] 近年、バイオセンサとしては、生きている細胞を非侵襲で解析に利用できる技術が開示されている（例えば、特許文献１）。特許文献１には、負電荷の物理的特性の変化を検出する検出表面が、シアル酸試料（細胞そのもの又は細胞由来の糖鎖）と結合するフェニルボロン酸基で被覆された構造を有するバイオセンサが開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開２０１０－１０７４９６号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] しかしながら、上記特許文献１に記載されたバイオセンサでは、細胞等に対する侵襲がないものの、細胞を採取する際の人体に対し侵襲がないとはいえない。すなわち、より人体への負担を軽減することができるバイオセンサ、例えば、涙、汗、唾液などに基づき検出対象物を検出することができるバイオセンサが望まれる。因みに涙などには、検出対象物質としてのグルコースのほかに、アルブミン等のタンパク質が含まれており、当該タンパク質がノイズとなって測定感度を低下させてしまう、という懸念がある。

[0005] そこで本発明は、非侵襲的に人体から採取した試料に基づき解析することができる採取部及びバイオセンサを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明に係る採取部は、試料液を受容し、分離して配置された第１受容部及び第２受容部を有し、前記第１受容部が、検出対象物質と結合する識別物

質を含むと共に、前記試料液中の検出対象物質を非検出対象物質と分離し、前記第２受容部が、塩橋部を介して参照電極に接続されることを特徴とする。

[0007] 本発明に係るバイオセンサは、前記採取部と、前記第１受容部とゲート電極が電気的に接続された電界効果トランジスタとを備えたことを特徴とする。

発明の効果

[0008] 本発明によれば、非検出対象物質が第１受容部に含まれる識別物質と結合するのを抑制することにより、測定感度を向上することができるので、非侵襲的に人体から採取した試料液に基づき検出対象物質の濃度をより確実に測定することができる。

[0009] また、第１受容部と、第２受容部とが分離して配置され、採取された試料液が混ざらないように形成したことにより、塩橋部を介して涙液と参照電極とを電気的に接続することができるので、小型化することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]第１実施形態に係るバイオセンサの構成を模式的に示す縦断面図である。

[図2]第１実施形態に係るバイオセンサの電気的特性を測定した結果を示すグラフである。

[図3]第２実施形態に係るバイオセンサの構成を模式的に示す部分上面図である。

[図4]第２実施形態に係るバイオセンサの構成を模式的に示す断面図であり、図４Ａは図３におけるＡ－Ａ線断面図、図４Ｂは図３におけるＢ－Ｂ線断面図である。

発明を実施するための形態

[0011] 以下、図面を参照して本発明の実施形態について詳細に説明する。

[0012] ［第１実施形態］

（全体構成）

図１に示すバイオセンサ１０は、採取部１２と、電界効果トランジスタ（ＦＥＴ：Field Effect Transistor）１４とを備える。バイオセンサ１０は、採取部１２において試料液中に含まれる検出対象物質としてのグルコースを識別し、識別された情報をＦＥＴ１４において電気的な信号に変換することにより、試料液中のグルコース量を検出する。ここで試料液とは、非侵襲的に採取した試料液、すなわち血液以外の生体液として、汗、涙、唾液を挙げることができる。これら試料液には、グルコースのほか、非検出対象物質としてのアルブミン等のタンパク質が含まれている。

[0013] 採取部１２は、分離して配置された２つの受容部、すなわち第１受容部１６と、第２受容部１８とを有する。第１受容部１６と第２受容部１８は、先端から基端へ試料液を移動させ得るように形成されており、分離部２０によって分離されている。分離部２０によって、先端から基端へ移動する試料液が混ざるのを抑制することができる。

[0014] 第１受容部１６は、先端から基端へ試料液を移動させながら、試料液中のグルコースをタンパク質から分離する。本実施形態の場合、第１受容部１６は、矩形状に切断されたろ紙で形成されている。

[0015] 第１受容部１６は、基端側において、ＦＥＴ１４に電気的に接続されている。第１受容部１６は、識別物質２２を含む。識別物質２２は、試料液に含まれるグルコースと結合する機能を有する。識別物質２２は、フェニルボロン酸を用いることができるほか、例えば、その誘導体（例えば、ビニル基を有するフェニルボロン酸等）、グルコース結合タンパク質（ＧＢＰ）及びその誘導体等を用いることができる。例えばフェニルボロン酸は、グルコースと結合すると負電荷を生じる。

[0016] 本実施形態の場合、識別物質２２は担体（図示しない）に担持されている。担体は、導電性粒子、非導電性粒子を用いることができる。導電性粒子は、金属粒子、例えばＡｕ，Ｐｔ，Ａｇ，Ｃｕ等の粒子や、非金属粒子、例えば酸化インジウムスズ(ＩＴＯ：Indium Tin Oxide)、導電性ポリマー等の粒子を用いることができる。また、非導電性粒子は、例えばSiO_2等の粒子を

用いることができる。例えば、識別物質２２としてのフェニルボロン酸にチオール基（－ＳＨ）やジスルフィド基（－Ｓ－Ｓ－）を導入し、チオールやジスルフィドの誘導体とすることにより、Ａｕ粒子の表面にフェニルボロン酸を担持することができる。

[0017] 第１受容部１６は、弾性部２４が形成されていてもよい。本図の場合、弾性部２４は、第２受容部１８と面している表面と反対の表面に形成されている。また弾性部２４は、第１受容部１６の基端側には形成されていない。弾性部２４は、生体適合性を有する材料、例えばハイドロゲルで形成することができる。ハイドロゲルは、親水性高分子鎖間が架橋されて多量の水を保持し、吸水性に優れるゲル状材料であり、例えば、アガロース、シリコーン、ポリヒドロキシエチルメタクリレート（Ｐｏｌｙ－ＨＥＭＡ、ポリメタクリル酸２－ヒドロキシエチルとも称する。）、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）、ポリビニルアルコール（ＰＶＡ）等が挙げられる。Ｐｏｌｙ－ＨＥＭＡは、ヒドロキシエチルメタクリレート（ＨＥＭＡ）のホモポリマーであってもよく、他のモノマー（例えば、２，３－ジヒドロキシプロピルメタクリレート、グリセロールメタクリレート（ＧＭＡ）等）とのコポリマーであってもよい。なお、Ｐｏｌｙ－ＨＥＭＡは、コポリマーとした方がより含水率が高くなる傾向にある。また、ＰＶＰとしては、Ｎ－ビニル－２－ピロリドン（ＮＶＰ）のホモポリマーであってもよく、ＮＶＰを主成分として、ＨＥＭＡ、メチルメタクリレート（ＭＭＡ）等と架橋剤を加えて重合したコポリマーであってもよい。

[0018] 第２受容部１８は、特に限定されないが、例えば紙を用いることができる。紙は、植物繊維その他の繊維を膠着させて製造される。植物繊維は、セルロース、ヘミセルロースから構成される。セルロースは、多数有する水酸基同士が水素結合により結合する性質を有しており、これにより紙を構成する植物繊維同士がくっつき合う。また、その他の繊維としては、鉱物、金属、合成樹脂等を繊維状にしたもの等が挙げられる。

[0019] 第２受容部１８は、基端側において、塩橋部２５を介して参照電極２１に

接続されている。塩橋部２５は、例えば、塩化カリウム水溶液を寒天等によって固めることにより形成される。第２受容部１８を移動してきた試料液と参照電極２１は、塩橋部２５によって、直接接触せずに、電気的に接続される。

[0020] 第２受容部１８は、第１受容部１６と同様に、弾性部２４が形成されていてもよい。本図の場合、弾性部２４は、第１受容部１６と面している表面と反対の表面に形成されている。弾性部２４は、塩橋部２５が設けられている第２受容部１８の基端側には形成されていない。

[0021] ＦＥＴ１４は、半導体基板２８の表面に形成されたソース（図示せず）に電気的に接続されたソース電極部３０及びドレイン（図示せず）に電気的に接続されたドレイン電極部３２と、半導体基板２８、ソース電極部３０及びドレイン電極部３２上に形成されたゲート絶縁膜（図示しない）とを備える。ＦＥＴ１４は、ｎ－ＭＯＳ、ｐ－ＭＯＳのいずれも使用することができる。ゲート絶縁膜上には、ゲート電極３４が形成されている。ゲート電極３４は、Ａｕ、Ａｇ、Ｃｕ等で形成することができる。ソース電極部３０とドレイン電極部３２は、図示しないが電源及び計測器に電気的に接続される。

[0022] 半導体基板２８は、Ｓｉ、Ｇａ、Ａｓ、ＩＴＯ、ＩＧＺＯ、ＩＺＯ等で形成してもよいし、有機半導体、炭素半導体（例えば、カーボンナノチューブ、グラフェン半導体、ダイヤモンド半導体等）等を用いてもよい。ゲート絶縁膜は、SiO_2、Si_3N_4（SiN_x）、Ta_2O_5、Al_2O_3等の酸化物又は窒化物で形成することができる。

[0023] 本実施形態の場合、バイオセンサ１０は、採取部１２及びＦＥＴ１４を保持する本体３６を備える。本体３６は、ポリエチレンテレフタラート（ＰＥＴ：polyethylene terephthalate）、ポリテトラフルオロエチレン(ＰＴＦＥ：polytetrafluoroethylene）等の合成樹脂で形成された立方体の部材であり、第１受容部設置部３８、第２受容部設置部４０、ＦＥＴ設置部４２、分離部２０、プローブ挿入穴４４、参照電極挿入穴４６を有する。

[0024] 本体３６は、長手方向の一端から他端へ延びる穴が、厚さ方向の一面の上

下に２個形成されている。下側の穴が第１受容部設置部３８であり、上側の穴が第２受容部設置部４０である。第１受容部設置部３８と第２受容部設置部４０の間には、分離部２０が形成されている。

[0025] 第１受容部設置部３８の他端側には、ＦＥＴ設置部４２が形成されている。ＦＥＴ設置部４２には、本体３６の長手方向の他端側表面に繋がるプローブ挿入穴４４が形成されている。プローブ挿入穴４４は、本図の紙面に対し、垂直方向に２個、並んで設けられている。

[0026] 第２受容部設置部４０の他端側には、塩橋設置部４５が形成されている。塩橋設置部４５には、本体３６の長手方向の他端側表面に繋がる参照電極挿入穴４６が形成されている。

[0027] ＦＥＴ設置部４２には、ソース電極部３０とドレイン電極部３２をプローブ挿入穴４４にそれぞれ合わせた状態で、ＦＥＴ１４が設置されている。ＦＥＴ１４は、ゲート電極３４が第１受容部設置部３８との接続部分に配置される。第１受容部１６は、弾性部２４を下側にした状態で第１受容部設置部３８に設置される。また第１受容部１６は、先端が本体３６の一端から突出しており、基端側の表面がＦＥＴ１４のゲート電極３４に接触している。プローブ挿入穴４４には、それぞれプローブ電極４７が挿入される。プローブ電極４７は、先端がそれぞれソース電極部３０とドレイン電極部３２に接触しており、それぞれソース及びドレインと電気的に接続される。

[0028] 塩橋設置部４５には、塩橋部２５が充填されている。第２受容部１８は、弾性部２４を上側にした状態で第２受容部設置部４０に設置される。また第２受容部１８は、先端が本体３６の一端から突出しており、基端側の表面が塩橋部２５に接触している。参照電極挿入穴４６には、参照電極２１が挿入される。参照電極２１は、先端が塩橋部２５に差し込まれており、塩橋部２５と電気的に接続される。参照電極２１は、ＦＥＴ１４における基準電位となる。

[0029] （作用及び効果）

上記のように構成されたバイオセンサ１０において、まず、採取部１２で

試料液を採取する。例えば、採取部１２の先端を直接下瞼の内側に接触させることにより、試料液としての涙液を採取する。本実施形態の場合、第１受容部１６及び第２受容部１８は、先端側に弾性部２４が設けられていることにより、眼球やその周囲の皮膚を傷つけずに、涙液を採取することができる。

[0030] 採取された涙液は、第１受容部１６及び第２受容部１８を先端から基端へ向かって浸透していく。本実施形態の場合、第１受容部１６は、ろ紙で形成されていることにより、涙液中のグルコースがタンパク質より速く浸透する。第１受容部１６においてグルコースは識別物質２２と結合する。これにより識別物質２２は負電荷を生じる。一方、第２受容部１８では、涙液が、基端側へ浸透し塩橋部２５に到達することにより、涙液が塩橋部２５を介して参照電極２１と電気的に接続される。

[0031] 前記負電荷は、第１受容部１６の基端側のゲート電極３４表面に帯電する。これにより、ゲート電極３４上の電荷密度が変化する。この電荷密度の変化を、涙液の参照電極２１の電位を基準にして、ソースからドレインへ流れるドレイン電流の変化として計測することができる。実際には、ゲート電極３４上の電荷密度の変化を、ゲート電圧の変化として計測する。

[0032] 本実施形態の場合、第１受容部１６は、ろ紙で形成されていることにより、涙液中のグルコースが、タンパク質より速く浸透し、第１受容部１６の基端側へタンパク質より速く到達する。これによりバイオセンサ１０は、タンパク質が第１受容部１６に含まれる識別物質２２と結合したり、ゲート電極３４表面に付着したりすることを抑制できるので、ゲート電極３４に不要な負電荷が帯電することを抑制することができる。したがってバイオセンサ１０は、より測定感度を向上することができるので、非侵襲的に人体から採取した試料液に基づきグルコース量をより確実に測定することができる。

[0033] またバイオセンサ１０は、第１受容部１６と、第２受容部１８とが、基端側において分離部２０によって分離され、先端から浸透してきた試料液が基端側で混ざらないように形成されており、さらに第２受容部１８の基端側に

塩橋部２５が設けられている。これによりバイオセンサ１０は、塩橋部２５を介して涙液と電気的に接続された参照電極２１を基準として、第１受容部１６の他端側に接続されたゲート電極３４上の電荷密度の変化を計測することができる。

[0034] 実際に上記実施形態に係るバイオセンサ１０を作製し、採取部１２を下瞼の内側に接触させたときのＦＥＴ１４の出力電圧を測定した。

[0035] 第１受容部１６として紙（ＡＤＶＡＮＴＥＣ製、製品名：定性濾紙Ｎｏ．１３１）を用いた。識別物質２２としてフェニルボロン酸、担体として金粒子（粒径：１５ｎｍ）を用い、フェニルボロン酸を担持した金粒子を含む溶液（濃度：１ｎＭ）に紙を浸漬して第１受容部１６を作製した。

[0036] 第２受容部１８として紙（ＡＤＶＡＮＴＥＣ製、製品名：定性濾紙Ｎｏ．１３１）を用いた。塩橋部２５は、塩化カリウム（濃度：３．３Ｍ）を含むアガロースゲル（Agarose gel）を用いた。参照電極２１にはＰｔ電極を用いた。

[0037] 分離部２０は、ＰＴＦＥで形成した厚さ３００μｍの板状部材を用いた。ＦＥＴ１４のゲート電極３４にはＡｕ電極を用いた。

[0038] このように作製したバイオセンサ１０の採取部１２をヒトの眼球に１０秒間接触させ、ゲート電極３４上の電荷密度の変化を、ドレイン－ソース間電圧の変化として計測した。その結果を図２に示す。本図は、縦軸が出力電圧（Ｖ）、横軸が時間（秒）を示す。本図より、採取部１２を眼に接触させるとほぼ同時に、出力電圧が変化したことが確認できた。このことから、バイオセンサ１０は、第１受容部１６において採取部１２で採取された涙液中のグルコースが識別物質２２と結合し、これにより生じたゲート電極３４上の電荷密度の変化を計測できることが確認できた。

[0039] （変形例）

本発明は上記実施形態に限定されるものではなく、本発明の趣旨の範囲内で適宜変更することが可能である。

[0040] 例えば、上記実施形態の場合、第１受容部１６は、ろ紙で形成した場合に

ついて説明したが、本発明はこれに限らず、流路を有する合成樹脂や有機ポリマーの不織布等の構造体で形成してもよい。

[0041] 上記実施形態の場合、識別物質２２は担体に担持されている場合について説明したが、本発明はこれに限らず、識別物質２２と、阻害物質とを含む自己組織化単分子膜（Self-Assembled Monolayers：ＳＡＭｓ）で形成してもよい。阻害物質は、非検出対象物質であるアルブミン等のタンパク質が、フェニルボロン酸と結合したり、ゲート電極３４に到達したりすることを抑制する。ＳＡＭｓとは、通常、固体と液体の界面又は固体と気体の界面で、有機分子同士が自発的に集合して、自発的に単分子膜を形作っていく有機薄膜をいう。この場合、阻害物質は、高分子化合物で形成される。高分子化合物は、分子鎖が識別物質２２より長いオリゴエチレングリコールを用いることができるほか、例えばポリエチレングリコールなども用いることができる。

[0042] また第１受容部１６は、識別物質２２と阻害物質と結合した共重合体を用いてもよい。この場合、阻害物質は、親水性ポリマーで形成することができる。親水性ポリマーとは親水性の官能基（水酸基、カルボキシル基）を有するポリマーであり、ハイドロゲル、紙、高吸水性ポリマー（ＳＡＰ：Superabsorbent Polymer）等である。

[0043] ハイドロゲルは、親水性高分子鎖間が架橋されて多量の水を保持し、吸水性に優れるゲル状材料であり、例えば、ポリヒドロキシエチルメタクリレート（Ｐｏｌｙ－ＨＥＭＡ、ポリメタクリル酸２－ヒドロキシエチルとも称する。）、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）、ポリビニルアルコール（ＰＶＡ）等が挙げられる。Ｐｏｌｙ－ＨＥＭＡは、ヒドロキシエチルメタクリレート（ＨＥＭＡ）のホモポリマーであってもよく、他のモノマー（例えば、２，３－ジヒドロキシプロピルメタクリレート、グリセロールメタクリレート（ＧＭＡ）等）とのコポリマーであってもよい。なお、Ｐｏｌｙ－ＨＥＭＡは、コポリマーとした方がより含水率が高くなる傾向にある。また、ＰＶＰとしては、Ｎ－ビニル－２－ピロリドン（ＮＶＰ）のホモポリマーであってもよく、ＮＶＰを主成分として、ＨＥＭＡ、メチルメタクリレート（ＭＭＡ

）等と架橋剤を加えて重合したコポリマーであってもよい。

[0044] 紙は、植物繊維その他の繊維を膠着させて製造される。植物繊維は、セルロース、ヘミセルロースから構成される。セルロースは、多数有する水酸基同士が水素結合により結合する性質を有しており、これにより紙を構成する植物繊維同士がくっつき合う。また、その他の繊維としては、鉱物、金属、合成樹脂等を繊維状にしたもの等が挙げられるが、識別物質２２をより強固に固定するという観点から、植物繊維（セルロース）で形成された紙が好ましい。

[0045] ＳＡＰは、自重の数百倍から数千倍までの水を吸収及び保持することができる高分子である。ＳＡＰとしては、アクリル酸の重合体を用いることができる。アクリル酸の重合体は、カルボキシル基を多数有するため、親水性が高く、さらに細目構造に架橋させ、ナトリウム塩の形とすると高い吸水性を持つゲルとなる。

[0046] その他の親水性ポリマーとしては、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）、カルボキシメチルセルロースナトリウム（ＣＭＣ－Ｎａ）、ヒドロキシエチルセルロース（ＨＥＣ）などのセルロース誘導体；アルギン酸、ヒアルロン酸、アガロース、デンプン、デキストラン、プルラン等の多糖類及びその誘導体；カルボキシビニルポリマー、ポリエチレンオキサイド、ポリ（メタ）アクリルアミド、ポリ（メタ）アクリル酸等のホモポリマー、当該ホモポリマーと多糖類等との共重合体、及び当該ホモポリマーを構成するモノマーと他のモノマーとの共重合体；コラーゲン、ゼラチン等のタンパク質及びその誘導体；ヘパリン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、デキストラン硫酸、ケラタン硫酸、ヘパラン硫酸等のグリコサミノグリカン、キチン、キトサン等の多糖類やムコ多糖類を挙げることができる。

[0047] さらには、１－ビニル－２－ピロリジノン、プロペノン酸２－メチルエステル、モノメタクリロイルオキシエチルフタレート、アンモニウムスルファトエチルメタクリレート、Ｎ－ビニルピロリドン、Ｎ，Ｎ－ジメチルアクリ

ルアミド、２－（メタクリロイルオキシエチル）－２－（トリメチルアンモニオエチル）ホスフェート等の親水性ポリマーを用いてもよい。

[0048] 上記例示した親水性ポリマーは、単独で用いてもよく、２種類以上を併用してもよい。

[0049] 重合開始剤としては、公知のラジカル重合促進剤を適時選択して用いることができる。好ましくは水溶性または水分散性を有し、系全体に均一に含まれるものが好ましく用いられる。具体的には、重合開始剤として、水溶性の過酸化物、例えばペルオキソ二硫酸カリウムやペルオキソ二硫酸アンモニウム、水溶性のアゾ化合物、例えばＶＡ－０４４、Ｖ－５０、Ｖ－５０１（いずれも和光純薬工業株式会社製）の他、Fe^{2+}と過酸化水素との混合物等を用いることができる。

[0050] 架橋剤としては、Ｎ，Ｎ’－メチレンビスアクリルアミド、エチレングリコールジメタクリレート、メタクリル酸ビニル等を用いることができる。

[0051] 上記実施形態においては、第１受容部１６は、先端側から基端側にわたって識別物質２２を含む構造としたが、これに限定されない。グルコースと結合する識別物質２２は、第１受容部１６の基端側に含まれ、第１受容部１６の先端側には、グルコース以外の物質（例えばアルブミンなどのタンパク質）が優先的に付着する物質、具体的にはチオール基に結合しやすい物質、金粒子、白金粒子が含まれる構造としてもよい。このような構造とすることで、測定感度を高めることができるので好ましい。

[0052] また、上記実施形態の場合、分離部２０は、本体３６に一体に形成されている場合について説明したが、本発明はこれに限らず、本体３６と独立して分離可能に形成してもよい。

[0053] 上記実施形態の場合、本体３６は、採取部１２とＦＥＴ１４とを保持する一体構成である場合について説明したが、本発明はこれに限らず、採取部１２を保持する第１本体３６と、ＦＥＴ１４を保持する第２本体３６とで構成してもよい。これによりバイオセンサは、採取部のみを交換することができる。

[0054] 上記実施形態の場合、検出対象物質がグルコースである場合について説明したが、本発明はこれに限らない。例えば、本発明は、検出対象物質としてナトリウムイオンやカリウムイオンに適用してもよい。この場合、識別物質は、クラウンエーテルを用いることができる。

[0055] 上記実施形態の場合、参照電極２１が塩橋部２５に差し込まれている場合について説明したが、本発明はこれに限らず、塩橋部２５上に直接薄膜を成膜して参照電極を形成してもよい。

[0056] 上記実施形態の場合、第２受容部１８は紙で形成した場合について説明したが、本発明はこれに限らず、ハイドロゲルで形成してもよい。この場合、第２受容部１８は、弾性部２４をさらに設ける必要はない。

[0057] ［第２実施形態］

（全体構成）

図３に部分上面図を示すバイオセンサ５０は、矩形状の基板５４上に分離して形成された測定電極６０及び参照電極６２を備えている。測定電極６０と参照電極６２とは、基板５４の長辺に沿って形成され、各電極の基端６０ｂ、６２ｂは、基板５４の端部に達している。測定電極６０は先端に第１受容部５６が設けられ、参照電極６２は先端に第２受容部５８が設けられている。第１受容部５６及び第２受容部５８は分離して配置されており、第１，第２受容部５６，５８は、後述するように採取部５２を構成している。第１実施形態の場合と同様、バイオセンサ５０は、採取部５２において試料液中に含まれる検出対象物質としてのグルコースを識別し、識別された情報を図示しないＦＥＴにおいて電気的な信号に変換することにより、試料液中のグルコース量を検出する。

[0058] 基板５４としては、例えば、ガラスを用いることができる。測定電極６０は、例えば金電極により形成することができる。測定電極６０の基端６０ｂ側は、図示しないＦＥＴに電気的に接続されている。本実施形態においては、測定電極６０の基端６０ｂ側を、ＦＥＴのゲート電極として用いることとする。測定電極６０は先端に第１受容部５６を有するので、バイオセンサ５

０におけるＦＥＴのゲート電極は、第１受容部５６と接続されることになる。

[0059] 採取部５２においては、第１受容部５６及び第２受容部５８が分離して配置されている。分離して配置された第１受容部５６及び第２受容部５８は、多孔質弾性層７０により覆われている。多孔質弾性層７０は、生体適合性を有する材料、例えばハイドロゲルを多孔質化した多孔質ゲルで形成することができる。ハイドロゲルとしては、第１実施形態で挙げたようなポリヒドロキシエチルメタクリレート等が挙げられる。

[0060] 図４Ａに示すように、第１受容部５６は、測定電極６０の先端６０ａの表面に、ＭＩＰ（分子鋳型ポリマー：Molecular Imprinted Polymer）ゲル層６６を設けたものである。ＭＩＰゲル層６６は、識別物質を含むゲル層であり、ゲル層はハイドロゲルにより形成される。識別物質としては、第１実施形態の場合と同様、試料液に含まれるグルコースと結合する機能を有する化合物を用いることができる。またハイドロゲルとしては、第１実施形態で挙げたようなポリヒドロキシエチルメタクリレート等が挙げられる。

[0061] 第１受容部５６は、ＭＩＰゲル層６６において、多孔質弾性層７０を浸透してきた試料液中のグルコースをタンパク質から分離する。

[0062] 図示する第１受容部５６においては、測定電極６０の先端６０ａとＭＩＰゲル層６６との間にブロッキング層６４が設けられている。ブロッキング層６４は阻害物質を含む。阻害物質は、タンパク質除去作用を有するものであり、例えばアルブミンの単分子膜を用いることができる。第１実施形態において説明したように、阻害物質は、非検出対象物質であるタンパク質が、ゲート電極に到達することを抑制する。

[0063] 第２受容部５８は、図４Ｂに示すように、導体部６２ａが塩橋部６８で覆われた構成である。本実施形態においては、導体部６２ａと参照電極６２とは一体に形成されており、参照電極６２の先端が導体部６２ａとして用いられる。第２受容部５８は、塩橋部６８を介して参照電極６２に接続されている。参照電極６２は、例えば金電極を銀／塩化銀で覆って形成することがで

きる。ここでの金電極としては、測定電極６０と同様のものを用いることができる。塩橋部６８は、多孔質弾性層７０より水を通しにくいゲル層であることが好ましい。塩橋部６８は、第１実施形態と同様、塩化カリウム水溶液を寒天等によって固めることにより形成される。試料液が多孔質弾性層７０を浸透して第２受容部５８に達した場合、試料液と参照電極６２の先端である導体部６２ａは、第１実施形態の場合と同様、塩橋部６８によって、直接接触せずに電気的に接続されることとなる。参照電極６２の基端６２ｂは、図示しないが計測器に接続される。

[0064] 図示しないＦＥＴは、基本的には第１実施形態の場合と同様の構成である。上述したとおり、本実施形態においては、第１受容部５６に接続している測定電極６０の基端６０ｂ側をＦＥＴのゲート電極として用いる。第２受容部５８に接続している参照電極６２は、ＦＥＴにおける基準電位となる。

[0065] （作用及び効果）

上記のように構成されたバイオセンサ５０において、まず、採取部５２で試料液を採取する。例えば、多孔質弾性層７０の表面を直接下瞼に接触させることにより、試料液としての涙液を採取する。本実施形態の場合、採取部５２においては第１受容部５６及び第２受容部５８を覆う多孔質弾性層７０が設けられていることにより、眼球やその周囲の皮膚を傷つけずに、涙液を採取することができる。

[0066] 採取された涙液は、第１受容部５６及び第２受容部５８に向かって、多孔質弾性層７０内部を浸透していく。本実施形態の場合、多孔質弾性層７０は多孔質ゲルで形成されていることにより、涙液中のグルコースがタンパク質より速く浸透して、第１受容部５６に到達する。第１受容部５６においては、ＭＩＰゲル層６６中でグルコースは識別物質と結合する。これにより識別物質は負電荷を生じる。非検出対象物質であるタンパク質は、ブロッキング層６４でブロックされる。一方、第２受容部５８では、涙液が塩橋部６８を介して参照電極６２と電気的に接続される。

[0067] 第１受容部５６においては、識別物質はＭＩＰゲル層６６中に含まれてい

る。涙液中のグルコースは、ＭＩＰゲル層６６中において分子鋳型に取り込まれるので、グルコースをより確実に認識できるという効果も得られる。

[0068] なお、アルブミンの単分子膜からなるブロッキング層６４は、平坦な表面を有する緻密な構造ではない。アルブミンの単分子膜は、表面が入り組んだ構造を有し、内部には隙間も存在している。非検出対象物質であるタンパク質は、この入り組んだ構造に捉えられる。また、単分子膜の隙間には、ＭＩＰゲル層６６を形成するゲルが入り込んで、ＭＩＰゲル層６６は部分的に測定電極６０の先端６０ａと接続されることとなる。ＭＩＰゲル層６６で生じた負電荷は、こうしたゲルを経由して測定電極６０の先端６０ａに到達することができる。

[0069] 第１実施形態の場合と同様、第２実施形態においても、前記負電荷は、ゲート電極の表面に帯電する。第２実施形態においては、前記負電荷は、第１受容部５６から測定電極６０を経由して、測定電極６０の基端６０ｂ側であるゲート電極表面に帯電するというものである。これにより、ゲート電極の電荷密度が変化する。この電荷密度の変化を、涙液の参照電極６２の電位を基準にして、ソースからドレインへ流れるドレイン電流の変化として計測することができる。実際には、ゲート電極上の電荷密度の変化を、ゲート電圧の変化として計測する。

[0070] 本実施形態の場合、多孔質弾性層７０は、多孔質ゲルで形成されていることにより、涙液中のグルコースがタンパク質より速く浸透して、第１受容部５６に到達する。第１受容部５６においては、涙液は、識別物質を含むＭＩＰゲル層６６を経由して、阻害物質を含むブロッキング層６４に浸透する。上述したとおりＭＩＰゲル層６６においては、涙液中のグルコースが識別物質と結合することによって、識別物質は負電荷を生じる。ブロッキング層６４中の阻害物質によって、非検出対象物質であるタンパク質が、ゲート電極に到達することは抑制される。

[0071] バイオセンサ５０は、タンパク質がゲート電極表面に付着することを抑制できるので、ゲート電極に不要な負電荷が帯電することを抑制することがで

きる。したがって、バイオセンサ５０は、より測定感度を向上することができるので、非侵襲的に人体から採取した試料液に基づきグルコース量をより確実に測定することが可能である。

[0072] またバイオセンサ５０は、第１受容部５６と第２受容部５８とが分離して配置され、第１，第２受容部５６，５８を覆って、多孔質ゲルからなる多孔質弾性層７０が設けられている。多孔質弾性層７０が存在することにより、涙液は高速で浸透して、第１受容部５６及び第２受容部５８に迅速に達することができる。

[0073] 第１受容部５６と第２受容部５８とが分離して配置されていることにより、第１実施形態の場合と同様、涙液と電気的に接続された参照電極６２を基準として、測定電極６０の他端６０ｂ側であるゲート電極上の電荷密度の変化を計測することができる。

[0074] 実際に第２実施形態に係るバイオセンサ５０を作製し、採取部５２を眼球に接触させて動作を確認した。

[0075] ガラスからなる基板５４上に、２つの金電極をスパッタリング法により分離して形成し、一方の金電極を測定電極６０とした。他方の金電極は、銀／塩化銀で覆って参照電極６２とする。測定電極６０の先端６０ａは、紫外線オゾン処理を施した後、５ｇ／Ｌアルブミン溶液中に一晩浸漬させた。水で洗浄した後、乾燥させることによって、測定電極６０の先端６０ａにブロッキング層６４を形成した。

[0076] ブロッキング層６４上には、識別物質としてのビニルフェニルボロン酸（０．０１ｇ）を含有するモノマー溶液を原料として用いて、ＭＩＰゲル層６６を形成した。モノマー溶液の調製にあたっては、ヒドロキシエチルメタクリレート（ＨＥＭＡ）０．２ｇと、Ｎ－３－（ジメチルアミノ）プロピルメタクリルアミド０．１ｇと、Ｎ，Ｎ’－メチレンビスアクリルアミド０．０２ｇと、６．７重量％アクリル酸ナトリウム（ｐＨ７．３）３００μＬと、グルコース０．００９ｇと、ビニルフェニルボロン酸０．０１ｇとを混合した。ここに、１００ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ１０．０）を加え、

全量１ｇに調整して溶解した。さらに、重合開始剤として５０ｍｇ／ｍＬのペルオキソ二硫酸カリウム溶液（和光純薬工業社株式会社製）１０μＬ、テトラメチレンジアミン（東京化成社製）２μＬ加えて、ＭＩＰゲル層６６の原料となるモノマー溶液を調製した。

[0077] 得られたモノマー溶液１５μＬをブロッキング層６４の表面に滴下して、塗膜を形成した。この塗膜をＰＥＴフィルムで覆って、窒素雰囲気下、室温で１２時間重合させてハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ハイドロゲルを０．１M塩酸／メタノール溶液に一晩浸漬させた。これにより、残存モノマー成分及びグルコースを除去して、ＭＩＰゲル層６６を形成した。こうして、測定電極６０の先端６０ａの表面に、ブロッキング層６４及びＭＩＰゲル層６６を設けて第１受容部５６を作製した。

[0078] 参照電極６２となる金電極の上には、銀／塩化銀インク（ＢＡＳ社製、製品名：０１１４６４参照電極用塩化銀インク）を塗布し、空気中で２４時間乾燥させた。乾燥後、銀／塩化銀で覆われた測定電極６２の先端である導体部６２ａを、塩化カリウム（濃度：３．３M）を含むアガロースゲルで覆って塩橋部６８を形成し、第２受容部５８を得た。基板５４上には、第１受容部５６と第２受容部５８とが分離して配置されている。

[0079] 第１受容部５６及び第２受容部５８は、モノマー溶液を用いて、以下のようにして多孔質弾性層７０で覆った。ここでのモノマー溶液は、識別物質としてのビニルフェニルボロン酸を配合しない以外は、ＭＩＰゲル層の原料と同様にして調製した。モノマー溶液には、飽和水溶液以上となるように、塩化ナトリウム０．５ｇを加えて、多孔質弾性層７０の原料溶液を調製した。

[0080] 第１受容部５６及び第２受容部５８が離反して配置された基板５４の表面は、採取部５２以外の領域をハイドロゲルで保護し、基板５４の裏面及び側面も同様に保護した。採取部５２の領域のみが露出した基板５４を多孔質弾性層７０の原料溶液に浸漬し、窒素雰囲気下、室温で１２時間重合反応させて、基板５４上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、基板５４を超純水中に４時間浸漬して、残存モノマー成分及び塩化ナトリウム結晶を除去

した。こうして、ブロッキング層６４及びＭＩＰゲル層６６を有する第１受容部５６と、塩橋部６８を有する第２受容部５８とを多孔質弾性層７０で覆って、採取部５２を形成した。

[0081] 測定電極６０の他端６０ｂをＦＥＴのゲート電極として用いてバイオセンサ５０を作製した。得られたバイオセンサ５０の採取部５２をヒトの眼球に接触させて、第１実施形態の場合と同様にして、ゲート電極上に電荷密度の変化を計測した。その結果、バイオセンサ５０は、採取部５２で採取された涙液中のグルコースがＭＩＰゲル層６６中の識別物質と結合し、これにより生じたゲート電極上の電荷密度の変化を計測できることが確認できた。

[0082] （変形例）

本発明は上記実施形態に限定されるものではなく、本発明の趣旨の範囲内で適宜変更することが可能である。

[0083] 例えば、採取部５２における第１受容部５６と第２受容部５８との間の基板５４上には、分離部を配置してもよい。分離部は、測定電極６０と参照電極６２との間に亘って配置することもできる。分離部を設けることによって、意図しない物質が参照電極６２に達するのを確実に防止することができる。分離部は、例えば、ポリジメチルポリシロキサン（ＰＤＭＳ）、エポキシ等の疎水性の材料を用いて、加熱硬化といった手法により形成することができる。

[0084] 基板５４は、ガラスにより形成したが、これに限定されない。生体適合性のある柔軟な材料であれば、例えばＰＤＭＳ等を基板５４として用いることができる。

[0085] 第１受容部５６は、金電極により形成したが、これに限らず銀、銅、白金、パラジウム、水銀等で形成してもよい。また、第２受容部５８は、金電極を銀／塩化銀で覆う構成の他、例えば銀、銅からなる電極を銀／塩化銀で覆って形成することもできる。

[0086] 第１受容部５６の表面に設けられるＭＩＰゲル層６６の原料は、第１実施形態において説明したような、試料液に含まれるグルコースと結合する化合

物（識別物質）と、ハイドロゲルとを任意に組み合わせて、目的物質（グルコース）を配合して調製することができる。所望の分子鋳型が得られるように原料を処方し、一般的な手法を採用して、ＭＩＰゲル層６６を形成することができる。

[0087] なお、上述の実施形態においては、識別物質が含有されるゲル層は分子鋳型ポリマーを含むＭＩＰゲル層としたが、必ずしもこれに限定されない。場合によっては、分子鋳型ポリマーを含まないゲル層中に識別物質を含有させて、ブロッキング層６４の上に設けることにより第１受容部５６を構成することもできる。

[0088] ＭＩＰゲル層６６と第１受容部５６との間のブロッキング層６４は、非検出対象物質であるタンパク質をブロックできればよい。第１実施形態で挙げたようなポリエチレングリコール等の任意の阻害物質を用いて、ブロッキング層６４を形成することができる。

[0089] 第２受容部５８における塩橋部６８は、アガロースゲルに限定されるものではない。多孔質弾性層７０より硬質であって、しかも試料液が浸透できる層が得られれば、例えばＨＥＭＡを用いて塩橋部６８を形成することもできる。

[0090] 第２受容部５８における導体部６２ａは、参照電極６２と電気的に接続されていれば機能を果たすことができ、必ずしも参照電極６２と一体に形成されていなくてもよい。

[0091] 第１受容部５６及び第２受容部５８を覆う多孔質弾性層７０には、例えばＨＥＭＡ等のハイドロゲルを用いることができる。ハイドロゲルの種類に応じた適切な塩を、飽和水溶液以上となるように配合して調製されたモノマー溶液が、多孔質弾性層７０の原料として用いられる。例えばハイドロゲルとしてＨＥＭＡを用いる場合には、塩としては塩化ナトリウムを用いればよい。

[0092] 第１実施形態の場合と同様、第２実施形態も、検出対象物質としてナトリウムイオンやカリウムイオンに適用することができる。この場合、識別物質

はクラウンエーテルを用い、ＭＩＰゲル層６６は、所望の検出対象物質に応じた処方で作製することができる。

符号の説明

[0093] １０　バイオセンサ

１２　採取部

１６　第１受容部

１８　第２受容部

２０　分離部

２１　参照電極

２２　識別物質

２４　弾性部

２５　塩橋部

５０　バイオセンサ

５２　採取部

５４　基板

５６　第１受容部

５８　第２受容部

６０　測定電極

６２　参照電極

６４　ブロッキング層

６６　ＭＩＰゲル層

６８　塩橋部

７０　多孔質弾性層

請求の範囲

[請求項1] 試料液を受容し、分離して配置された第１受容部及び第２受容部を有し、
前記第１受容部が、検出対象物質と結合する識別物質を含むと共に、前記試料液中の検出対象物質を非検出対象物質と分離し、
前記第２受容部が、塩橋部を介して参照電極に接続される
ことを特徴とする採取部。

[請求項2] 前記第１受容部及び前記第２受容部との間に分離部が配置され、前記塩橋部は、前記第２受容部の基端側に設けられていることを特徴とする請求項１記載の採取部。

[請求項3] 前記第１受容部及び前記第２受容部は、毛細管現象により前記試料液が先端から基端へ浸透することを特徴とする請求項２記載の採取部。

[請求項4] 前記第１受容部及び前記第２受容部は、先端側に弾性部を有することを特徴とする請求項２又は３記載の採取部。

[請求項5] 前記識別物質が、担体に担持されていることを特徴とする請求項２～４のいずれか１項記載の採取部。

[請求項6] 前記担体が、前記第１受容部の基端側に固定されていることを特徴とする請求項５記載の採取部。

[請求項7] 前記第１受容部及び前記第２受容部は、単一の基板上に配置され、
前記第１受容部は、前記基板上に形成された測定電極の先端に順に積層された阻害物質を含むブロッキング層と、前記ブロッキング層上の識別物質を含むゲル層とを備え、
前記第２受容部は、前記基板上に形成された参照電極の先端に設けられた塩橋部を有する
ことを特徴とする請求項１記載の採取部。

[請求項8] 前記第１受容部及び前記第２受容部は、多孔質弾性層で覆われていることを特徴とする請求項７記載の採取部。

[請求項9] 前記ゲル層は、分子鋳型ポリマーを含むことを特徴とする請求項７又

は８記載の採取部。

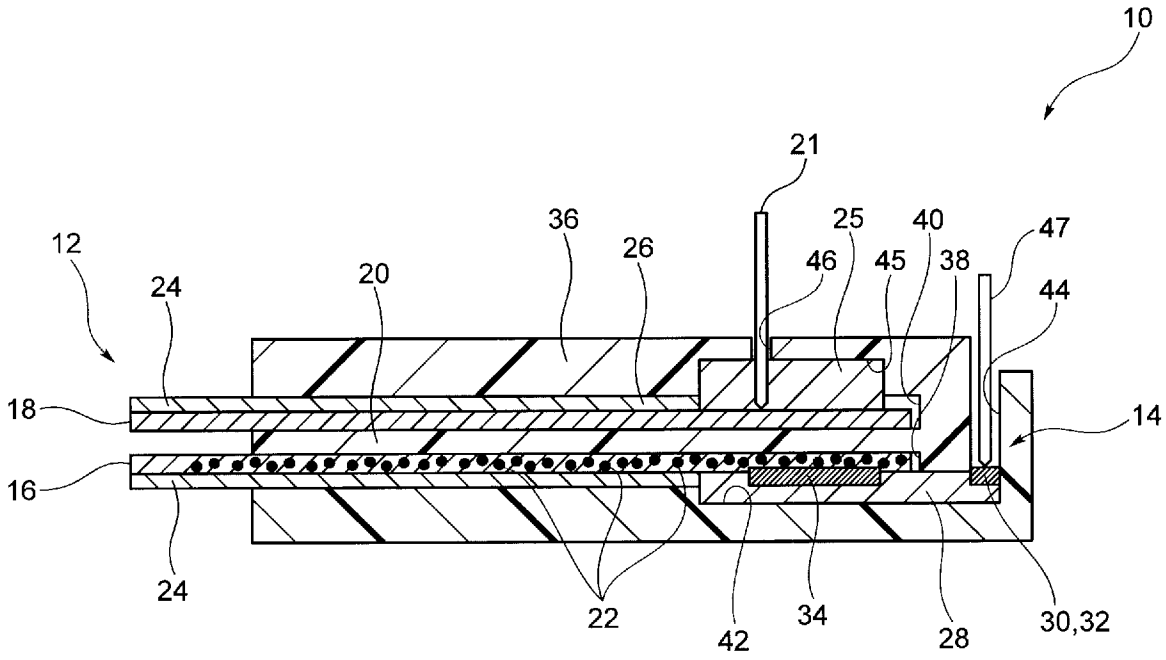
[請求項10] 前記識別物質が、フェニルボロン酸であることを特徴とする請求項１～９のいずれか１項記載の採取部。

[請求項11] 請求項１～１０のいずれか１項記載の採取部と、

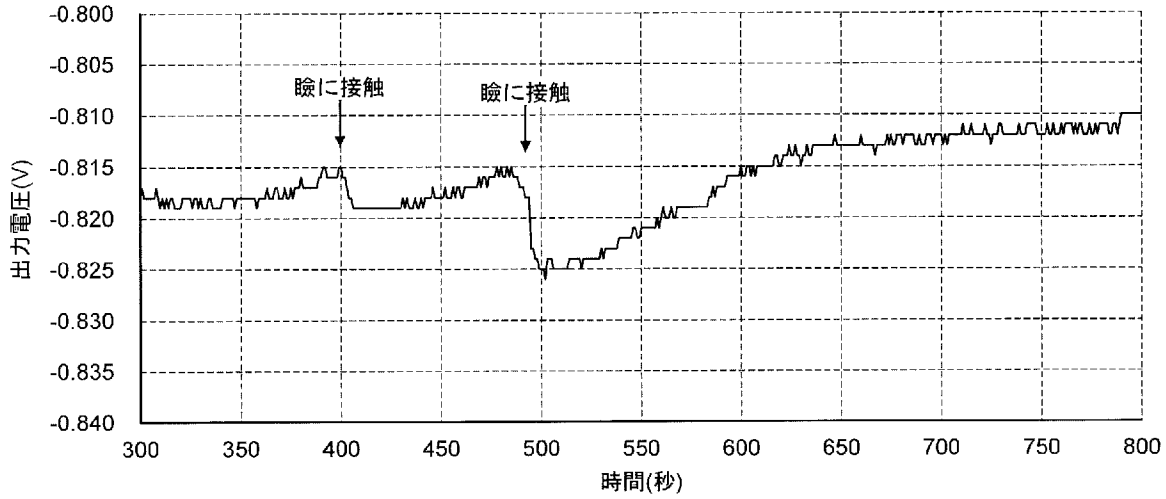
前記第１受容部とゲート電極が電気的に接続された電界効果トランジスタと

を備えたことを特徴とするバイオセンサ。

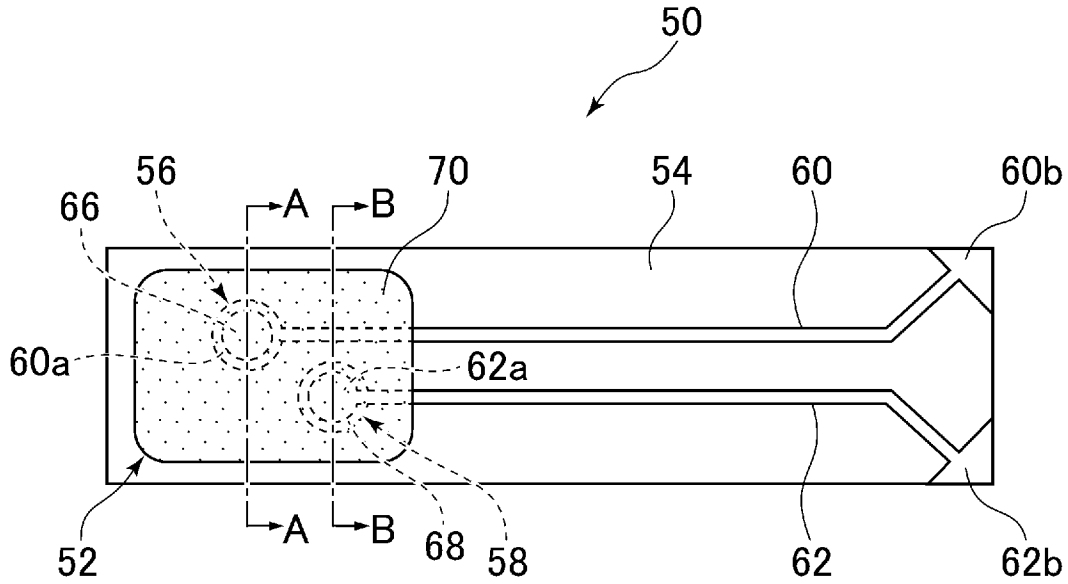
[図1]


10
21
12
36
26
25
40
47
24
20
46
45
38
44
18
14
16
24
22
42
34
28
30,32

[図2]


-0.800
-0.805
-0.810
-0.815
-0.820
-0.825
-0.830
-0.835
-0.840
出力電圧(V)
瞼に接触
瞼に接触
300
350
400
450
500
550
600
650
700
750
800
時間(秒)

[図3]


50
56
66
A
B
70
54
60
60b
60a
62a
52
A
B
68
58
62
62b

[図4]

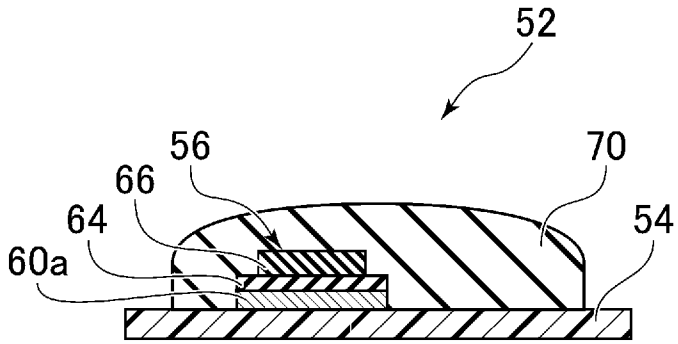

52
56
70
66
64
54
60a

図4A

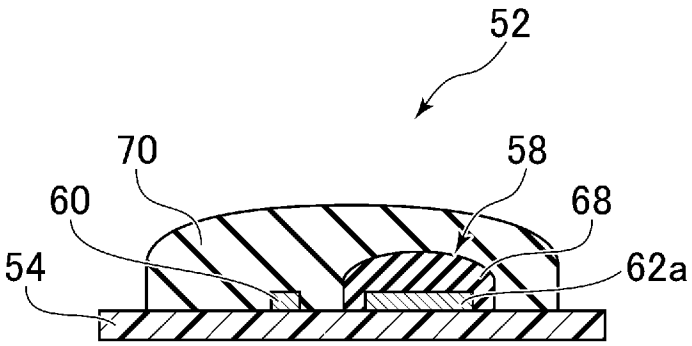

52
70
58
60
68
54
62a

図4B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/058903

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N27/414(2006.01)i, *G01N27/416*(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)
G01N27/26-27/49, G01N1/00-1/34, G01N33/48-33/98

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	1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2015	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2015

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.
A	JP 5447716 B1 (The University of Tokyo), 19 March 2014 (19.03.2014), entire text; all drawings & WO 2014/178237 A & TW 201441610 A	1-11
A	JP 63-148159 A (Horiba, Ltd.), 21 June 1988 (21.06.1988), entire text; all drawings & US 4872956 A & EP 271102 A2 & KR 10-1990-0005223 B1 & CN 87107352 A	1-11
A	JP 2004-184155 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 02 July 2004 (02.07.2004), entire text; all drawings (Family: none)	1-11

☒ 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
02 June 2015 (02.06.15)	16 June 2015 (16.06.15)

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/058903

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	JP 5599012 B1 (The University of Tokyo), 01 October 2014 (01.10.2014), claims; paragraphs [0012] to [0038]; fig. 1, 2 (Family: none)	1-6,10-11

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１５／０５８９０３

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N27/414(2006.01)i, G01N27/416(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.　G01N27/26-27/49, G01N1/00-1/34, G01N33/48-33/98

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	１９７１－２０１５年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１５年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１５年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	JP 5447716 B1 (国立大学法人　東京大学) 2014.03.19, 全文、全図 & WO 2014/178237 A & TW 201441610 A	1-11
A	JP 63-148159 A (株式会社　堀場製作所) 1988.06.21, 全文、全図 & US 4872956 A & EP 271102 A2 & KR 10-1990-0005223 B1 & CN 87107352 A	1-11
A	JP 2004-184155 A (松下電器産業株式会社) 2004.07.02, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-11

☑　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
０２．０６．２０１５	１６．０６．２０１５

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　９２１８
黒田　浩一
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	関連する請求項の番号
Ｐ，Ｘ	JP 5599012 B1（国立大学法人　東京大学）2014.10.01，特許請求の範囲、［００１２］－［００３８］、第１，２図（ファミリーなし）	1-6，10-11