

(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
2011年6月3日(03.06.2011)



(10) 国際公開番号
WO 2011/065398 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/27 (2006.01) G01N 33/569 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/070980
- (22) 国際出願日: 2010年11月25日(25.11.2010)
- (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 2009-272107 2009年11月30日(30.11.2009) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人東京工業大学 (TOKYO INSTITUTE OF TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2-1-2 Tokyo (JP). SCIVAX 株式会社 (SCIVAX CORPORATION) [JP/JP]; 〒2130012 神奈川県川崎市高津区坂戸 3丁目2番1号 かながわサイエンスパーク東棟 502 Kanagawa (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 遠藤達郎 (ENDO Tatsuro) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜

市緑区長津田町 4 2 5 9 国立大学法人東京工業大学内 Kanagawa (JP). 田中覚 (TANAKA Satoru) [JP/JP]; 〒2130012 神奈川県川崎市高津区坂戸 3丁目2番1号 かながわサイエンスパーク東棟 502 SCIVAX 株式会社内 Kanagawa (JP). 奥田徳路 (OKUDA Norimichi) [JP/JP]; 〒2130012 神奈川県川崎市高津区坂戸 3丁目2番1号 かながわサイエンスパーク東棟 502 SCIVAX 株式会社内 Kanagawa (JP).

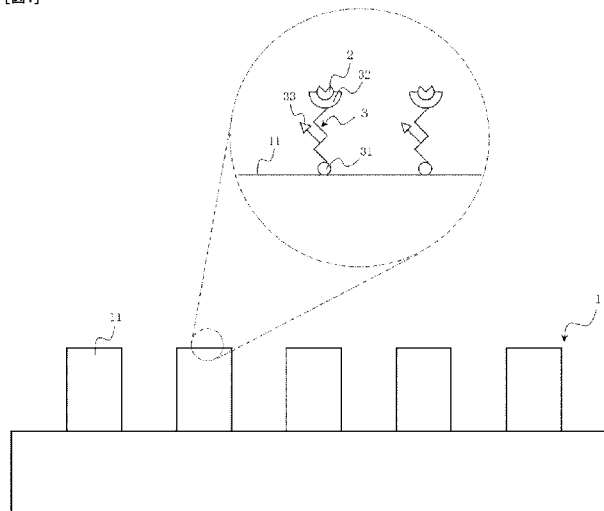
- (74) 代理人: 奥田律次 (OKUDA Noritsugu); 〒3020110 茨城県守谷市百合ヶ丘 1-2-3 54-4 30 Ibaraki (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, 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.

[続葉有]

(54) Title: OPTICAL SENSOR AND MANUFACTURING METHOD THEREFOR

(54) 発明の名称: 光学式センサー及びその製造方法

[図1]



(57) Abstract: Disclosed is an optical sensor that has a simple detection method and is inexpensive to manufacture, extremely sensitive, and highly reliable. Also disclosed is a method for manufacturing said optical sensor. The disclosed optical sensor, which specifically detects prescribed detection targets, is characterized by the provision of: a base layer (1) that has a bumpy structure (11), which functions as a photonic crystal, in which a prescribed shape is arranged periodically; recognition elements (2) that bind with the detection target; and intermediary means (3) that are formed on the surface of the bumpy structure (11) and have recognition-element-binding factors (32) that bind with the recognition elements (2).

(57) 要約: 製造コストが低く検出方法が容易で、非常に高感度かつ信頼性の高い光学式センサー及びその製造方法を提供する。所定の被検出物を特異的に検出するための光学式センサーであって、所定の形状が周期配列されフォトニック結晶として機能する凹凸構造 11 を有する基層 1 と、被検出物と結合する認識素子 2 と、認識素子 2 と結合する認識素子結合因子 32 を有し、凹凸構造 11 の表面に形成される媒介手段 3 と、を具備することを特徴とする光学式センサー。

WO 2011/065398 A1



(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, 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 (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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

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： 光学式センサー及びその製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、高感度で操作が容易な光学式センサー及びその製造方法に関する。

背景技術

[0002] 従来酵素や抗体、DNAなどといった生体分子の高い認識能を利用した被検出物の検出および定量には、PCR (Polymerase chain reaction) 法や電気泳動法、電気化学的測定手法、ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) 法が主に用いられている。

[0003] 電気化学的測定手法は、被検出物を特異的に認識する生体分子を認識素子として電極表面に固定化し、認識素子へ被検出物が結合した際に生じる電気化学的なシグナル変化を検出するか、または酵素などの標識物質によるシグナル増幅を検出し、定量を行うものである。

[0004] また、ELISA法は、生体分子と被検出物との結合後にあらかじめ標識した酵素による酵素反応や蛍光分子による被検出物の濃度に依存した発色もしくは蛍光を検出する手法である。

[0005] しかしながら、電気化学的手法あるいはELISA法では、被検出物あるいは認識素子として用いる生体分子へ酵素や蛍光物質、金属化合物などの標識剤を必要とする。この標識作業は、従来高い認識能を有する生体分子の認識能を阻害すると同時に、標識作業を必要とするため、感度の低下および操作の煩雑化を招いている。また、高感度に被検出物を検出・定量する際に高額かつ大型の測定装置を必要とする。

[0006] また、簡便な測定手法として注目されているイムノクロマト法もあるが、この場合でも金コロイドやポリスチレン粒子等の修飾が必要である。

[0007] このような背景から、生体分子へ酵素や蛍光分子などを標識することなく（非標識）、被検出物の検出および定量が行える測定手法が望まれてきた。

- [0008] そこで、非標識での被検出物の検出および定量が可能な共鳴角のシフトを検出する表面プラズモン共鳴(Surface plasmon resonance : SPR)法や振動数変化を検出する水晶振動子(Quartz crystal microbalance : QCM)法、また、共振周波数変化を検出するカンチレバーによる非標識に被検出物の検出・定量手法が開発されている。
- [0009] しかしながら、SPR法の場合、共鳴角シフトを検出するために大型の光学系を構築する必要があるとともに、一連の操作が煩雑である。そのためオンサイトでの被検出物のモニタリングに適さない。また、QCM法では、簡便に測定は可能ではあるが、ノイズが大きく、高感度測定には適さない。そしてカンチレバー法ではデバイス作製が非常に困難という点とともに、簡易測定には適さないという問題がある。
- [0010] また、上記測定法とは別に、金や銀、白金などのナノメートルオーダーでの貴金属微粒子に発現する非線形光学現象である局在表面プラズモン共鳴(LSPR)を利用した測定法(例えば、特許文献1参照)や、粒子を三次元的に配列したフォトリソニック結晶としての機能を有するセンサーを用いた測定方法もある(例えば、特許文献2参照)。
- [0011] しかしながら、これらの方法では、被検出物質を高感度に検出するために、微粒子を均一かつ密に配列させる必要があるが、密に配列することは非常に難しく再現性も低いため、感度や信頼性の点で未だ問題がある。
- [0012] また、従来のセンサーは各センサー同士の再現性が低いため、同一のセンサーを用いて、試料を接触させる前後の光学特性の違いを比較することはできても、試料に含まれる被検出物の濃度等を変化させた際の光学特性の変化を複数のセンサーを用いて データベース化し利用するということは困難であるという問題もあった。
- [0013] また、センサーの歩留まりやスループットが低く、コストがかかるという問題もあった。
- [0014] 更に、生体より採取された血液、血清、血漿のほか、唾液、涙液、皮膚滲出液など多種の夾雑物が混在する体液中より被検出物質を特異的に検出・定

量するには、非特異的吸着の影響が大きく、微量の被検出物質の検出・定量が困難であった。

先行技術文献

特許文献

[0015] 特許文献1：特許公開2006-250668号公報

[0016] 特許文献2：特許公開2007-271609号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0017] そこで本発明では、製造コストが低く検出方法が容易で、非常に高感度かつ信頼性の高い光学式センサー及びその製造方法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

[0018] 本発明の光学式センサーは、所定の被検出物を特異的に検出するための光学式センサーであって、所定の形状が周期配列されフォトニック結晶として機能する凹凸構造を有する基層と、前記被検出物と結合する認識素子と、前記認識素子と結合する認識素子結合因子を有し、前記凹凸構造の表面に形成される媒介手段と、を具備することを特徴とする。

[0019] この場合、前記媒介手段は、前記被検出物以外の夾雑物との結合又は吸着を防止する夾雑物非特異的吸着除去因子を有する方が好ましく、例えば、ポリエチレングリコールを用いることができる。また、前記媒介手段は、前記基層と結合する基層結合因子を有する方が好ましく、例えば、前記基層を構成する材料が環状オレフィン系樹脂の場合、前記基層結合因子としてシラノール基を用いることができる。また、前記認識素子結合因子としては、N-ヒドロキシスクシンイミド基を用いることができる。また、本発明の光学式センサーをインフルエンザウィルスの検出に用いる場合には、前記認識素子として抗インフルエンザ抗体を用いることができる。また、インスリンの検出に用いる場合には、前記認識素子として抗インスリン抗体を用いることが

できる。

[0020] また、本発明の光学式センサー製造方法としては、所定の被検出物を検出するための光学式センサーの製造方法であって、所定の形状が周期配列されフォトニック結晶として機能する凹凸構造を有する基層を形成する基層形成工程と、前記認識素子と結合する認識素子結合因子を有する媒介手段を、前記凹凸構造の表面に形成する媒介手段形成工程と、前記媒介手段の認識素子結合因子に前記被検出物と結合する認識素子を結合させる認識素子結合工程と、を具備することを特徴とする。

[0021] この場合、前記媒介手段は、前記被検出物以外の夾雑物との結合を防止する夾雑物非特異的吸着除去因子を有する方が好ましい。また、前記媒介手段は、前記基層を構成する材料と結合する基層結合因子を有する方が好ましい。

発明の効果

[0022] 本発明の光学式センサーは、基層と認識素子との間に認識素子と結合する認識素子結合因子を有する媒介手段を設けるので、基層を構成する材料の選択が認識素子に左右されることがなく、所定の形状が周期配列されフォトニック結晶として機能する凹凸構造を形成し易い材料を考慮して選択することができるので、精密な凹凸構造を再現性良く製造することができる。また、同様の理由から、歩留まりやスループットが高く、低コストで製造することができる。

[0023] また、媒介手段に、被検出物以外の夾雑物との結合又は吸着を防止する夾雑物非特異的吸着除去因子を設ければ、夾雑物による影響を防止して、検出感度をより向上させることができる。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]本発明の光学式センサーの構成を示す模式図である。

[図2]本発明の光学式センサーの基層の製造方法を説明する図である。

[図3]本発明の光学式センサーの光学特性を示す図である。

[図4]本発明の光学式センサーの凹凸構造を原子間力顕微鏡で観察した図であ

る。

[図5]本発明の光学式センサーにおけるインフルエンザウィルス溶液の濃度と抗原抗体反応前後の反射強度変化量との関係を示す図である。

[図6]本発明の光学式センサーに形成された媒介手段の濃度と夾雑物の付着との関係を示す写真である。

[図7]本発明の光学式センサーに形成された媒介手段の濃度と唾液の付着との関係を示す図である。

[図8]本発明の光学式センサーに形成された媒介手段の濃度と血清の付着との関係を示す図である。

[図9]本発明の光学式センサーにおけるインスリンの濃度と抗原抗体反応前後の反射強度との関係を示す図である。

発明を実施するための形態

[0025] 本発明の光学式センサーは、図1に示すように、所定の被検出物を検出するためのもので、所定の形状が二次元的に周期配列されフォトニック結晶として機能する凹凸構造11を有する基層1と、被検出物と結合する認識素子2と、認識素子2と結合する認識素子結合因子32を有し、凹凸構造11の表面に形成される媒介手段3と、で主に構成される。

[0026] なお、被検出物とは、化学物質や生体物質等を意味する。具体的には、抗原、抗体、レセプター、リガンド、レクチン、糖鎖化合物、RNA、DNA、PNA、ハプテン等が挙げられる。被検出物の機能から分類すると、ホルモン、イムノグロブリン、凝固因子、酵素、薬剤等が含まれる。物質名では、血清アルブミン、マクログロブリン、フェリチン、 α -フェトプロテイン、CEA、前立腺特異抗原(PSA)、B型肝炎ウイルス表面抗原(HBsAg)、HIV-1P24などが挙げられる。

[0027] 凹凸構造11は、フォトニック結晶として機能するものであればどのようなものでも良いが、例えば、所定の直径を有する孔や円柱を所定の間隔で二次元的に正確に周期配列した構造を用いることができる。また、凹凸構造11の間隔は、反射される光のピーク波長が可視領域となるように形成するのが好

ましい。具体的には、50～500 nmの直径を有する孔又は柱を50～1000 nmのピッチで二次元的に周期配列したものを用いることができる。なお、3次的に周期配列させたものでも構わない。

[0028] また、基層1の材料としては、フォトニック結晶を形成できるものであればどのようなものでも良いが、好ましくは、大面積で均一な凹凸構造11を再現性良く形成できるインプリント技術（熱インプリント、光インプリント等）を適用可能な材料が良い。例えば、環状オレフィン開環重合／水素添加体（COP）や環状オレフィン共重合体（COC）等の環状オレフィン系樹脂、アクリル樹脂、ポリカーボネート、ビニルエーテル樹脂、パーフルオロアルコキシアリカン（PFA）やポリテトラフルオロエチレン（PTFE）等のフッ素樹脂、ポリスチレン、ポリイミド系樹脂、ポリエステル系樹脂等の熱可塑性樹脂を用いることができる。

[0029] また、エポキシド含有化合物類、（メタ）アクリル酸エステル化合物類、ビニルエーテル化合物類、ビスアリルナジイミド化合物類のようにビニル基・アリル基等の不飽和炭化水素基含有化合物類、等の重合反応性基含有化合物類の重合反応（熱硬化、または光硬化）によって製造される樹脂を用いることもできる。熱的に重合するために重合反応性基含有化合物類を単独で使用することも可能であるし、熱硬化性を向上させるために熱反応性の開始剤を添加して使用することも可能である。更に光反応性の開始剤を添加して光照射により重合反応を進行させて凹凸構造11を形成してもよい。熱反応性のラジカル開始剤としては有機過酸化物、アゾ化合物が好適に使用でき、光反応性のラジカル開始剤としてはアセトフェノン誘導体、ベンゾフェノン誘導体、ベンゾインエーテル誘導体、キサントン誘導体等が好適に使用できる。また、反応性モノマーは無溶剤で使用しても良いし、溶媒に溶解して塗布後に脱溶媒して使用しても良い。樹脂を塗布するための基板としては、目的のセンサー感度を損なわないものであれば任意に選択でき、環状オレフィン系樹脂、アクリル系樹脂やPETのような透明プラスチック基板、石英基板、サファイア基板等、透明基板が特に好ましい。

- [0030] なお、パターンの寸法安定性の観点から、樹脂の吸水率は3%以下である方が好ましい。
- [0031] また、熱インプリント用の樹脂としては、空气中、昇温速度5°C/minでの示差走査熱量計測定において、酸化に伴う発熱ピークの発熱開始温度（酸化開始温度）が、当該樹脂のガラス転移温度+35°C以上である方が好ましい。これは、熱インプリントによる微細加工において、樹脂劣化により発生する樹脂表面のパーティクル状物を防止できるので、凹凸構造11の転写不良や離型不良等を大幅に低減できるからである。
- [0032] 認識素子2は、被検出物を特異的に結合できるものであればどのようなものでも良い。例えば、抗原に対しては抗体、抗体に対しては抗原、ハプテンに対しては抗ハプテン抗体、抗ハプテン抗体に対してはハプテン、DNAに対してはハイブリダイズすることができるDNA又はPNA、ビオチンに対してはアビジンあるいはストレプトアビジン、アビジンあるいはストレプトアビジンに対してはビオチンあるいはビオチン化タンパク、ホルモン受容体（例えばインスリン受容体）に対してはホルモン（例えばインスリン）、ホルモン（例えばインスリン）に対してはホルモン受容体（例えばインスリン受容体）、レクチンに対しては対応する糖鎖、糖鎖に対しては対応するレクチンなどが挙げられる。また、認識素子2は、特異的結合能を有するそれらのフラグメントあるいはサブユニットなどをも含む。さらに、細胞自体を認識素子2として選択可能であり、この場合の被検出物は、該細胞のある一部（受容体等）を特異的に認識するものでよい。
- [0033] 媒介手段3は、凹凸構造11の表面に形成され、凹凸構造11に認識素子2を確実に結合させるためのものであり、媒介手段3を構成する材料には、認識素子結合因子32が含まれている。このように媒介手段3を設けることにより、基層1の凹凸構造11を精密に形成できる材料を認識素子2の結合を考慮することなく選択することができ、認識素子2は媒介手段3を介して凹凸構造11上に均一かつ確実に配置することができる。
- [0034] 認識素子結合因子32は、認識素子2と結合できるものであればどのような

ものでも良く、認識素子2のアミノ基やカルボキシル基、チオール基を有する分子あるいは導入した分子（例えば、抗体などのタンパク質）と結合するN-ヒドロキシスクシンイミド基（NHS基）、アルデヒド基、カルボキシル基、マレイミド基等を用いることができる。例えば、アミノ基の場合、カルボキシル基、N-ヒドロキシスクシンイミド基（NHS基）、アルデヒド基を用いることができ、チオール基の場合、マレイミド基を用いることができる。

[0035] また、媒介手段3は、被検出物以外の夾雑物との結合を防止する夾雑物非特異的吸着除去因子33を有する方が好ましい。夾雑物非特異的吸着除去因子33としては、被検出物以外の夾雑物との結合を防止することができるものであればどのようなものでも良いが、例えば、非特異的吸着除去能を有するポリビニルアルコール（PVA）、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリスコリン（MPC）ポリマー、ポリエチレングリコール（PEG）が該当する。

[0036] また、媒介手段3は、基層1に被覆することによって形成することもできるが、媒介手段3に基層1を構成する材料と結合する基層結合因子31を設ければ、媒介手段3を基層1に直接形成することもできる。基層結合因子31としては、基層1を構成する材料と結合できるものであればどのようなものでも良く、例えば、基層1の材料が環状オレフィン系樹脂の場合には、シラノール基を用いることができる。

[0037] 光学式センサーをこのように形成することにより、凹凸構造11に光を照射すると、フォトニック結晶の機能によって凹凸構造11に応じた特定の波長の光が反射される。また、凹凸構造11に所定の被検出物が吸着し、凹凸構造11に微妙な変化があると、それに応じて反射光の波長や強度が変化する。この変化によって、所定の被検出物を検出することが可能となる。

[0038] 次に、本発明の光学式センサーの製造方法について説明する。本発明の光学式センサーの製造方法は、所定の形状が周期配列されフォトニック結晶として機能する凹凸構造11を有する基層1を形成する基層形成工程と、認識素子2と結合する認識素子結合因子32を有する媒介手段3を凹凸構造11の表面に形成する媒介手段形成工程と、媒介手段3の認識素子結合因子32に被検出

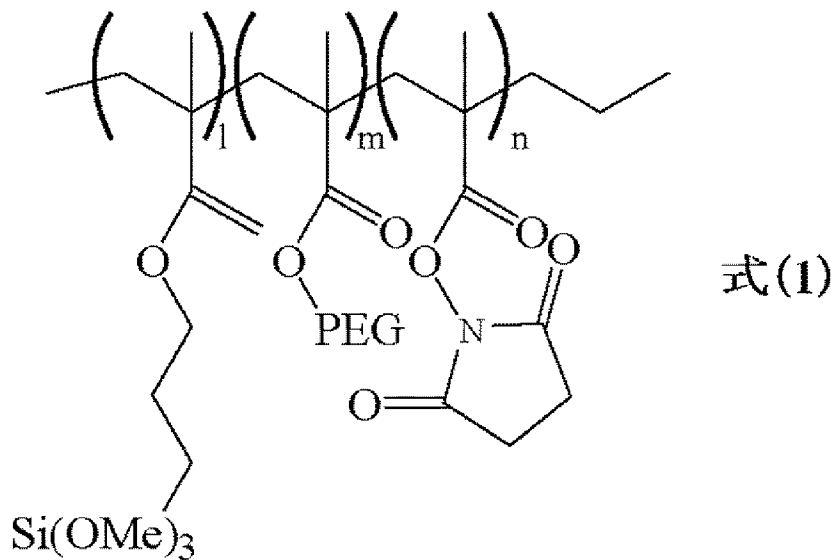
物と結合する認識素子2を結合させる認識素子結合工程と、で主に構成される。

[0039] 基層形成工程において、基層1となる材料に凹凸構造11を形成する方法としては、フォトリソグラフィ結晶として機能するものを形成できればどのようなものでも良いが、所定の直径を有する孔や円柱を所定の間隔で二次元的に正確に周期配列させることができる点で、熱インプリントや光インプリント等のインプリント技術を用いるのが好ましい。具体的には、まず、ニッケル等の金属やセラミックス、ガラス状カーボン等の炭素素材、シリコンなどから形成された型10を、熱可塑性樹脂9のガラス転移温度以上に加熱し、これを当該熱可塑性樹脂からなるフィルム又は基板に押圧する(図2(a))。次に、当該熱可塑性樹脂をガラス転移温度以下に冷却した後、離型する。これにより、型10に形成されたパターン10a(凹凸構造11の反転パターン)が転写される(図2(b))。

[0040] 媒介手段形成工程では、まず、認識素子2と結合する認識素子結合因子32を有する材料を用意する。この際、当該材料は、被検出物以外の夾雑物との結合を防止する夾雑物非特異的吸着除去因子33や、基層1を構成する材料と結合する基層結合因子31を有する方が好ましい。このような材料の合成方法としては、公知の方法を適宜用いれば良く、例えば、基層1表面に結合するシラノール基、生体認識素子と結合するNHS基、非特異的吸着除去能を有するポリエチレングリコール(PEG)が含まれる下記式(1)で表されるコポリマーをラジカル重合にて重合すれば良い。

[0041]

[化1]



[0042] 次に、用意した材料を基層 1 の凹凸構造 11 の表面に形成する。形成方法は、凹凸構造 11 のフォトニック結晶としての機能を損なわない範囲で種々の一般的な方法を用いることができる。例えば、当該材料を基層 1 上に被覆したり、当該材料が基層結合因子 31 を有する場合には、化学結合により結合させることができる。

[0043] 媒介手段形成工程の具体例としては、例えば、ポリエチレングリコールメタクリレート [Poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate : PEGMA] を 1.425 g (3 mmol)、メタクリル酸 3- (トリメトキシシリル) プロピル [3-(Trimethoxysilyl) propyl methacrylate : TMSMA] を 0.744 g (3 mmol)、N-アクリロイルオキシスクシンイミド [N-Acryloxysuccinimide : NAS] を 0.507 g (3 mmol)、2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル [2, 2'-azobisisobutyronitrile : AIBN] を 16.5 mg (0.1 mmol) 用意し、これらをテトラヒドロフラン (THF) にてガラス容器中に溶解させた後、70°C にて一昼夜静置させることで重合を行う。次に、テトラヒドロフラン (THF) を気化させ、残留したコポリマーを、ジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて 200 mg/ml の濃度に調製した後、超純水を用いて 100 μ g/ml ~ 10 mg/ml、好ましくは 1 mg/ml に希釈する。この溶液中に基層を 30 分間室温にて浸漬した後乾燥し、当該基層を 120°C にて 5 分間焼成すれば良い。

[0044] 認識素子結合工程では、媒介手段3の認識素子結合因子32に認識素子2を結合させることができればどのような方法を用いても良いが、例えば、媒介手段3が形成された凹凸構造11表面に認識素子を含む溶液を滴下し乾燥すれば良い。この場合、余剰の認識素子2や認識素子結合因子32は除去する方が好ましい。

[0045] 次に、本発明の光学式センサーの使用方法（検出方法）について下記に説明する。

（１）まず、被検出物等が吸着されていない状態の光学式センサーに光を照射し、反射光の光学特性、特に、反射光のピーク波長や強度に関する情報を取得する。光源としてはどのようなものでも良いが、例えば、タングステン・ハロゲン光源や発光ダイオード、LED、重水素ランプ、有機EL、レーザー等を用いれば良い。また、反射光を検出する光検出手段には、例えば、マルチチャンネル分光器やCCDイメージセンサー、CMOSセンサー等を用いることができる。また、取得した情報の処理には、コンピュータ等の情報処理手段を用いれば良い。

（２）次に、被検出物が含まれ得る試料を本発明の光学式センサーの凹凸構造11上に接触させた後、同様に反射光の光学特性に関する情報を取得する。

（３）最後に、光学式センサーから反射される光の光学特性と、凹凸構造11に試料を接触させた後の光学式センサーから反射される光の光学特性とを比較することにより、溶液中に含まれる被検出物の有無や量を検出する。

[0046] なお、予め試料に含まれる被検出物の濃度等を変化させた際の反射光の光学特性を光学式センサーで検出してデータベース化し、このデータと凹凸構造11に試料を接触させた後の光学式センサーから反射される光の光学特性とを比較することにより、溶液中に含まれる被検出物の有無や量を検出しても良い。この場合、（１）の操作は不要になる。

[0047] また、光学式センサーに光を照射し、透過光の光学特性に関する情報を利用しても良い。この場合、下記のように使用すれば良い。

（１）まず、被検出物等が吸着されていない状態の光学式センサーに光を照

射し、透過光の光学特性、特に、透過光のピーク波長や強度に関する情報を取得する。

(2) 次に、被検出物が含まれ得る試料を本発明の光学式センサーの凹凸構造11上に接触させた後、同様に透過光の光学特性に関する情報を取得する。

(3) 最後に、光学式センサーを透過した光の光学特性と、凹凸構造11に試料を接触させた後の光学式センサーを透過した光の光学特性とを比較することにより、溶液中に含まれる被検出物の有無や量を検出する。

[0048] なお、この場合にも、予め試料に含まれる被検出物の濃度等を変化させた際の透過光の光学特性を光学式センサーで検出して データベース化し、このデータと凹凸構造11に試料を接触させた後の光学式センサーを透過する光の光学特性とを比較することにより、溶液中に含まれる被検出物の有無や量を検出しても良い。この場合、(1)の操作は不要になる。

実施例 1

[0049] 次に本発明の実施例を説明するが、本発明は当該実施例に限定されるものではない。

[0050] まず、実施例に用いた本発明の光学式センサーの製造方法について説明する。

[0051] 最初に、熱インプリント技術を用いて、ピラー状パターンが形成されたニッケル金型からガラス転移温度 (T_g) が163°Cの環状オレフィン系樹脂フィルム (日本ゼオン社製、商品名: ゼオノアフィルムZF-16: 厚み100 μ m) に当該パターンを転写し、直径約250nm、深さ150nmの孔がピッチ500nmで複数配置された凹凸構造を有する基層を作製した (基層形成工程)。

[0052] 熱インプリントは次の方法で行った。まず、前記樹脂フィルムに対し、予め205°Cに加熱したニッケル金型を圧力2 MPaで180秒間押圧する。次に、ニッケル金型と樹脂フィルムを100°Cまで冷却した後、この樹脂フィルムからニッケル金型を離型し、孔状の凹凸構造を形成する。なお、熱インプリントには、SCIVAX社のインプリント装置 (VX) を使用した。

[0053] 次に、重合し所定濃度に調製したコポリマー溶液中に、UV/03処理によって

表面に水酸基(OH基)を導入した基層を浸漬した。

- [0054] コポリマーの重合は、基層表面に結合するシラノール基、生体認識素子と結合するNHS基、非特異的吸着除去能を有するポリエチレングリコール(PEG)が含まれるコポリマーをラジカル重合によって行った。詳細には、ポリエチレングリコールメタクリレート [Poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate: PEGMA] を1.425 g (3 mmol)、メタクリル酸3-(トリメトキシシリル)プロピル [3-(Trimethoxysilyl) propyl methacrylate: TM SMA] を0.744 g (3 mmol)、N-アクリロイルオキシスクシンイミド [N-Acryloxysuccinimide: NAS] を0.507 g (3 mmol)、2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル [2, 2'-azobisisobutyronitrile: AIBN] を16.5 mg (0.1 mmol) 用意し、これらをテトラヒドロフラン(THF)にてガラス容器中に溶解させた後、70℃にて一昼夜静置させることで重合を行った。
- [0055] 重合後はテトラヒドロフラン(THF)を気化させ、残留したコポリマーを、ジメチルスルホキシド(DMSO)を用いて200mg/mlの濃度に調製した後、超純水を用いて1 mg/mlに希釈した。
- [0056] この溶液中に5 × 5 mmに裁断した基層を30分間室温にて浸漬した。浸漬した基層は乾燥し、120℃にて5分間焼成処理を施すことで、コポリマーの凹凸構造表面への被覆を行った(媒介手段形成工程)。
- [0057] 次に、この基層に1 μg/mlの抗体溶液を滴下し、35℃にて乾燥させた。抗体(認識素子)としては、抗インフルエンザ抗体(anti-influenza A antibody (H1N1 haemagglutinin)、製造会社: Biogenesis inc.)を用いた(認識素子結合工程)。
- [0058] 乾燥後、100mMホウ酸緩衝液(pH8.5)中へ室温下にて30分浸漬させ、余剰の認識素子の除去および未反応のNHS基を加水分解させた。
- [0059] 加水分解後、ブロアにて乾燥し、本発明の光学式センサーAを作製した。
- [0060] 次に、インフルエンザ抗原に対する光学式センサーの光学特性の変化について調べた。本実験では、インフルエンザ抗原の検出・定量実験のため、20 mMリン酸緩衝液にて異なる濃度(1 pg/ml、10 pg/ml、100 pg/ml、1 ng/ml、

10ng/ml、100ng/ml、1 μ g/ml) に希釈したインフルエンザ抗原を光学式センサー上へ滴下した後室温下にて30分放置し、反応後は100mMホウ酸緩衝液にて洗浄操作を行った。

[0061] この光学式センサーの反応前後の光学特性変化を観察することでインフルエンザの検出・定量実験を行った。その結果を図3に示す。図3より、濃度が大きくなるにつれて反射強度が減少しており、1 pg/ml という小さな濃度に対しても反射強度が変化することがわかる。

[0062] また、コポリマー（媒介手段）を修飾する前の基層 {図4 (a)} と、インフルエンザ抗原滴下後の光学式センサーA表面 {図4 (b)} の形態を原子間力顕微鏡を用いて観察した。インフルエンザ抗原滴下後の光学式センサーA表面には、約200 nmの粒状物質が観察された。この粒状物質は他の部位においても同様の形状、サイズにて観察された。これはサイズや形状から、インフルエンザウィルスであると考えられる。

[0063] 以上より、本発明の光学式センサーは、インフルエンザウィルスの検出・定量を高感度を実現することができた。

実施例 2

[0064] 実施例1と同様の方法で作製した光学式センサーAを用いて、唾液中のインフルエンザウィルスの検出実験を下記の方法で行った。

まず、空腹時に綿球を6個、口に含み唾液を採取する。これを細孔径0.2 μ mのシリンジフィルターにてろ過し、使用時まで冷凍保存した。

[0065] 次に、採取した唾液にて1 pg/ml、10pg/ml、100pg/ml、1 ng/ml、10ng/ml、100ng/mlに希釈したインフルエンザウィルス溶液を光学式センサーAの表面へ滴下し、室温下にて30分静置した。

[0066] 反応後100mMホウ酸緩衝液にて洗浄後に乾燥させ、光学特性を評価した。インフルエンザウィルス溶液の濃度と抗原抗体反応前後の反射強度変化量との関係を図5に示す。

[0067] 図より、1 ng/ml という小さな濃度に対しても反射強度が変化することがわかる。

実施例 3

- [0068] 夾雑物非特異的吸着除去因子の非特異的吸着除去能を評価するため、下記の実験を行った。
- [0069] まず、環状オレフィン系樹脂フィルム（日本ゼオン社製、商品名：ゼオノアフィルムZF-16：厚み $100\mu\text{m}$ ）に夾雑物非特異的吸着除去因子を有する種々の濃度の媒介手段を被覆する。
- [0070] 媒介手段の重合は、実施例 1 と同様、基層表面に結合するシラノール基、生体認識素子と結合する NHS 基、非特異的吸着除去能を有するポリエチレングリコール（PEG）が含まれるコポリマーをラジカル重合によって行った。詳細には、ポリエチレングリコールメタクリレート [Poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate : PEGMA] を 1.425 g （ 3 mmol ）、メタクリル酸 3-（トリメトキシシリル）プロピル [3-(Trimethoxysilyl) propyl methacrylate : TMSMA] を 0.744 g （ 3 mmol ）、N-アクリロイルオキシスクシンイミド [N-Acryloxysuccinimide : NAS] を 0.507 g （ 3 mmol ）、2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル [2, 2'-azobisisobutyronitrile : AIBN] を 16.5 mg （ 0.1 mmol ）用意し、これらをテトラヒドロフラン(THF)にてガラス容器中に溶解させた後、 70°C にて一昼夜静置させることで重合を行った。
- [0071] 重合後はテトラヒドロフラン（THF）を気化させ、残留したコポリマーを、ジメチルスルホキシド(DMSO)を用いて 200 mg/ml の濃度に調製した後、超純水を用いて 1 mg/ml 、 $100\mu\text{g/ml}$ 、 $10\mu\text{g/ml}$ 、 $1\mu\text{g/ml}$ 、に希釈した。
- [0072] 次に、これらの溶液中に、UV/O3処理によって表面に水酸基(OH基)を導入した上記環状オレフィン系樹脂フィルムを30分間室温にて浸漬した。浸漬した基層は乾燥し、 120°C にて5分間焼成処理を施すことで、凹凸構造表面へコポリマーを被覆した。
- [0073] 次に、これらのフィルム上及びコポリマーを被覆していないフィルム上に $1\mu\text{g/ml}$ のウシ血清アルブミン（BSA）溶液（製造会社：和光純薬工業株式会社）を滴下し、 37°C にて乾燥させて、コポリマーの NHS 基（認識素子結合因子）にウシ血清アルブミン（BSA）を固定化した。固定化後は 100 mM の

ホウ酸緩衝液(pH 8.5)にて余剰のBSA除去を行った。

[0074] 次に、夾雑物として西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)溶液(製造会社:オリエンタル酵母)を滴下し、30分静置後に洗浄操作にて西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)を除去した。

[0075] このフィルムに西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)があると発色する3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)を滴下して、0min(滴下直後)、1min、2min、5min、10min後の発色をそれぞれ観察した。その結果を図6に示す。

[0076] 図6より、コポリマーを被覆していないフィルムはかなり発色が観察されたが、コポリマー濃度が大きくなるにつれて発色が弱くなり、濃度が1mg/mlのコポリマーを被覆したフィルム上では、発色は観察されなかった。すなわち、夾雑物としての西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)は、夾雑物非特異的吸着除去因子としてのポリエチレングリコール(PEG)が多く存在する程、フィルムへの吸着が阻害され、濃度が1mg/mlのコポリマーを被覆したフィルム上では、ほとんど吸着しないことがわかる。

実施例 4

[0077] 夾雑物非特異的吸着除去因子の非特異的吸着除去能を評価するため、更に、下記の実験を行った。

[0078] まず、環状オレフィン系樹脂フィルム(日本ゼオン社製、商品名:ゼオノアフィルムZF-16:厚み100 μ m)に夾雑物非特異的吸着除去因子を有する種々の濃度の媒介手段を被覆する。

[0079] 媒介手段の重合は、実施例1と同様、基層表面に結合するシラノール基、生体認識素子と結合するNHS基、非特異的吸着除去能を有するポリエチレングリコール(PEG)が含まれるコポリマーをラジカル重合によって行った。詳細には、ポリエチレングリコールメタクリレート [Poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate: PEGMA] を1.425 g (3 mmol)、メタクリル酸3-(トリメトキシシリル)プロピル [3-(Trimethoxysilyl) propyl methacrylate: TMSMA] を0.744 g (3 mmol)、N-アクリロイルオキシスクシ

ンイミド [N-Acryloxysuccinimide : NAS] を0.507 g (3 mmol)、2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル [2, 2'-azobisisobutyronitrile : AIBN] を16.5 mg (0.1 mmol) 用意し、これらをテトラヒドロフラン(THF)にてガラス容器中に溶解させた後、70℃にて一昼夜静置させることで重合を行った。

[0080] 重合後はテトラヒドロフラン (THF) を気化させ、残留したコポリマーを、ジメチルスルホキシド(DMSO)を用いて200mg/mlの濃度に調製した後、超純水を用いて100mg/ml、10mg/ml、1 mg/ml、100 μ g/ml、10 μ g/ml、1 μ g/ml、に希釈した。

[0081] 次に、これらの溶液中に、UV/O3処理によって表面に水酸基(OH基)を導入した上記環状オレフィン系樹脂フィルムを30分間室温にて浸漬した。浸漬した基層は乾燥し、120℃にて5分間焼成処理を施すことで、フィルム表面へコポリマーを被覆した。

[0082] 当該フィルム上に夾雑物として唾液又は血清を吸着させ、その吸着前後における各フィルム表面の算術平均粗さ (R_a 値) をAFMにて測定し比較した。夾雑物としては、唾液及び血清を用いた。コポリマーの濃度と各フィルム表面の算術平均粗さ (R_a 値) の結果を図7、図8に示す。なお、唾液は、空腹時の被験者口腔内へ綿球を入れ、綿球に含浸させた唾液をシリンジにて採取し、口径0.2 μ mのフィルターろ過により調製した。また、唾液のフィルム表面への吸着は、調製した当該唾液を各フィルム上に滴下し、30分静置後に洗浄操作により余分な唾液を除去することにより行った。また、血清の吸着は、和光純薬工業株式会社より購入したヒト血清を各フィルム上に滴下し、30分静置後に洗浄操作により余分な血清を除去することにより行った。

[0083] 図7より、夾雑物が唾液の場合には、コポリマー濃度が1 mg/ml ~ 10 mg/mlの場合に、フィルムへの吸着前後の算術平均粗さが小さいことがわかる。また、図8より、夾雑物が血清の場合には、コポリマー濃度が100 μ g/ml ~ 10 mg/mlの場合に、フィルムへの吸着前後の算術平均粗さが小さいことがわかる。したがって、それぞれ上記範囲で、コポリマーがフィルム表面に均一かつ単分子で修飾されており、各夾雑物がフィルム表面に吸着し難い状

態になっていると考えられる。一方、この範囲よりコポリマーの濃度が低い場合には、コポリマーがフィルム表面に均一かつ単分子で修飾されないため、ポリマーが修飾されていない個所（隙間）に夾雑物が吸着してしまい、表面粗さが大きくなったものと考えられる。また、この範囲よりコポリマーの濃度が高い場合には、フィルム表面にコポリマーが多層に修飾されることとなり、当該コポリマー層に夾雑物を取り込まれやすくなったため、表面粗さが大きくなったものと考えられる。

実施例 5

[0084] 次に本発明の別の実施例を説明する。まず、実施例に用いた本発明の光学式センサーの製造方法について説明する。

[0085] 最初に、熱インプリント技術を用いて、ホール状パターンが形成されたニッケル金型からガラス転移温度（ T_g ）が 163°C の環状オレフィン系樹脂フィルム（日本ゼオン社製、商品名：ゼオノアフィルムZF-16：厚み $100\mu\text{m}$ ）に当該パターンを転写し、直径約 230nm 、高さ 200nm のピラーがピッチ 460nm で複数規則配置された凹凸構造を有する基層を作製した（基層形成工程）。

[0086] 熱インプリントは次の方法で行った。まず、前記樹脂フィルムに対し、予め 170°C に加熱したニッケル金型を圧力 2MPa で 300 秒間押圧する。次に、ニッケル金型と樹脂フィルムを 150°C まで冷却した後、この樹脂フィルムからニッケル金型を離型し、ピラー状の凹凸構造を形成する。なお、熱インプリントには、SCIVAX社のインプリント装置（X-300）を使用した。

[0087] 次に、重合し所定濃度に調製したコポリマー溶液中に、UV/03処理によって表面に水酸基（OH基）を導入した基層を浸漬した。

[0088] コポリマーの重合は、基層表面に結合するシラノール基、生体認識素子と結合するNHS基、非特異的吸着除去能を有するポリエチレングリコール（PEG）が含まれるコポリマーをラジカル重合によって行った。詳細には、ポリエチレングリコールメタクリレート [Poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate : PEGMA] を 1.425g （ 3mmol ）、メタクリル酸3-（トリメトキシシリル）プロピル [3-(Trimethoxysilyl) propyl methacrylate : TM

SMA] を0.744 g (3 mmol)、N-アクリロイルオキシスクシンイミド [N-Acryloxysuccinimide : NAS] を0.507 g (3 mmol)、2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル [2, 2'-azobisisobutyronitrile : AIBN] を16.5 mg (0.1 mmol) 用意し、これらをテトラヒドロフラン(THF)にてガラス容器中に溶解させた後、70°Cにて一昼夜静置させることで重合を行った。

[0089] 重合後はテトラヒドロフラン(THF)を気化させ、残留したコポリマーを、ジメチルスルホキシド(DMSO)を用いて200mg/mlの濃度に調製した後、超純水を用いて1 mg/mlに希釈した。

[0090] この溶液中に5 × 5 mmに裁断した基層を30分間室温にて浸漬した。浸漬した基層は乾燥し、120°Cにて5分間焼成処理を施すことで、コポリマーの凹凸構造表面への被覆を行った(媒介手段形成工程)。

[0091] 次に、この基層に1 μg/mlの抗体溶液を滴下し、室温にて乾燥させた。抗体(認識素子)としては、抗インスリン抗体(製造会社: AbD Serotec社、製品番号: 5329-3806)を用いた(認識素子結合工程)。

[0092] 乾燥後、100mMホウ酸緩衝液(pH8.5)中へ室温下にて30分浸漬させ、余剰の認識素子の除去および未反応のNHS基を加水分解させた。

[0093] 加水分解後、ブロアにて乾燥し、本発明の光学式センサーBを作製した。なお、乾燥後は測定に使用するまで4°Cで冷蔵保存した。

[0094] 次に、インスリン抗原に対する光学式センサーBの光学特性の変化について調べた。本実験では、インスリン抗原の検出・定量実験のため、20mMリン酸緩衝液(pH7.4)にて異なる濃度(500nM、1 μU/ml、2 μU/ml、5 μU/ml、10 μU/ml、20 μU/ml、50 μU/ml、100 μU/ml、200 μU/ml)に希釈したインスリン抗原(製造会社: LINCO RESEARCH INC、製品番号: 8014)を光学式センサーB上へ滴下した後室温下にて30分静置し、反応後は100mMホウ酸緩衝液(pH8.5)にて洗浄操作を行った。

[0095] この光学式センサーBの反応前後の光学特性変化を観察することでインスリンの検出・定量実験を行った。その結果を図8に示す。図8より、濃度が大きくなるにつれて反射強度が減少しており、2 μU/mlという小さな濃度に

対しても反射強度が変化することがわかる。血中のインスリン濃度の正常値は空腹時に5～15 μ U/mlであり、本発明の光学式センサーBは、インスリンの検出・定量を高感度を実現することができる。

符号の説明

- [0096]
- 1 基層
 - 2 認識素子
 - 3 媒介手段
 - 9 熱可塑性樹脂
 - 10 型
 - 10a パターン
 - 11 凹凸構造
 - 31 基層結合因子
 - 32 認識素子結合因子
 - 33 夾雑物非特異的吸着除去因子

請求の範囲

- [請求項1] 所定の被検出物を特異的に検出するための光学式センサーであって、
- 、
- 所定の形状が周期配列されフォトリソニック結晶として機能する凹凸構造を有する基層と、
- 前記被検出物と結合する認識素子と、
- 前記認識素子と結合する認識素子結合因子を有し、前記凹凸構造の表面に形成される媒介手段と、
- を具備することを特徴とする光学式センサー。
- [請求項2] 前記媒介手段は、前記被検出物以外の夾雑物との結合又は吸着を防止する夾雑物非特異的吸着除去因子を有することを特徴とする請求項1記載の光学式センサー。
- [請求項3] 前記媒介手段は、前記基層と結合する基層結合因子を有することを特徴とする請求項1又は2記載の光学式センサー。
- [請求項4] 前記夾雑物非特異的吸着除去因子はポリエチレングリコールであることを特徴とする請求項2記載の光学式センサー。
- [請求項5] 前記基層を構成する材料は環状オレフィン系樹脂であり、前記基層結合因子がシラノール基であることを特徴とする請求項3記載の光学式センサー。
- [請求項6] 前記認識素子結合因子はN-ヒドロキシスクシンイミド基であることを特徴とする請求項1ないし5のいずれかに記載の光学式センサー。
- 。
- [請求項7] 前記認識素子は抗インフルエンザ抗体又は抗インスリン抗体であることを特徴とする請求項1ないし6のいずれかに記載の光学式センサー。
- 。
- [請求項8] 所定の被検出物を検出するための光学式センサーの製造方法であって、
- 所定の形状が周期配列されフォトリソニック結晶として機能する凹凸構

造を有する基層を形成する基層形成工程と、

前記認識素子と結合する認識素子結合因子を有する媒介手段を、前記凹凸構造の表面に形成する媒介手段形成工程と、

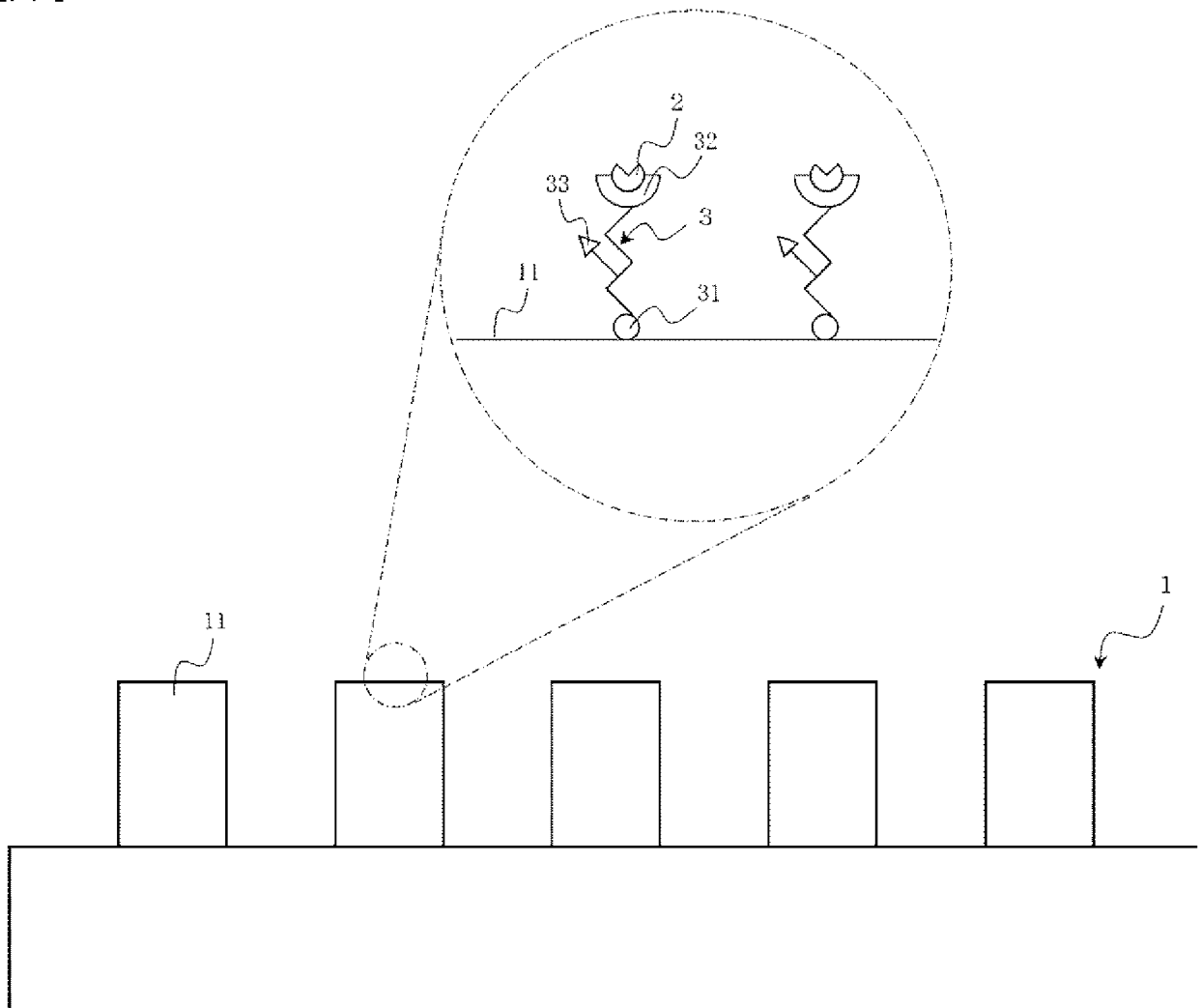
前記媒介手段の認識素子結合因子に前記被検出物と結合する認識素子を結合させる認識素子結合工程と、

を具備することを特徴とする光学式センサーの製造方法。

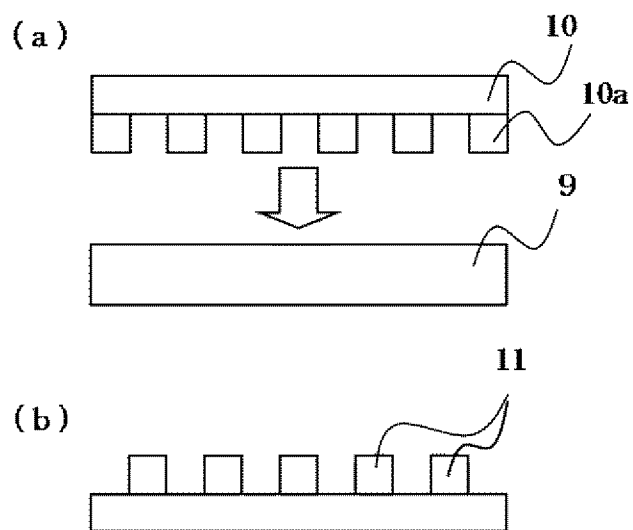
[請求項9] 前記媒介手段は、前記被検出物以外の夾雑物との結合を防止する夾雑物非特異的吸着除去因子を有することを特徴とする請求項8記載の光学式センサーの製造方法。

[請求項10] 前記媒介手段は、前記基層を構成する材料と結合する基層結合因子を有することを特徴とする請求項8又は9記載の光学式センサーの製造方法。

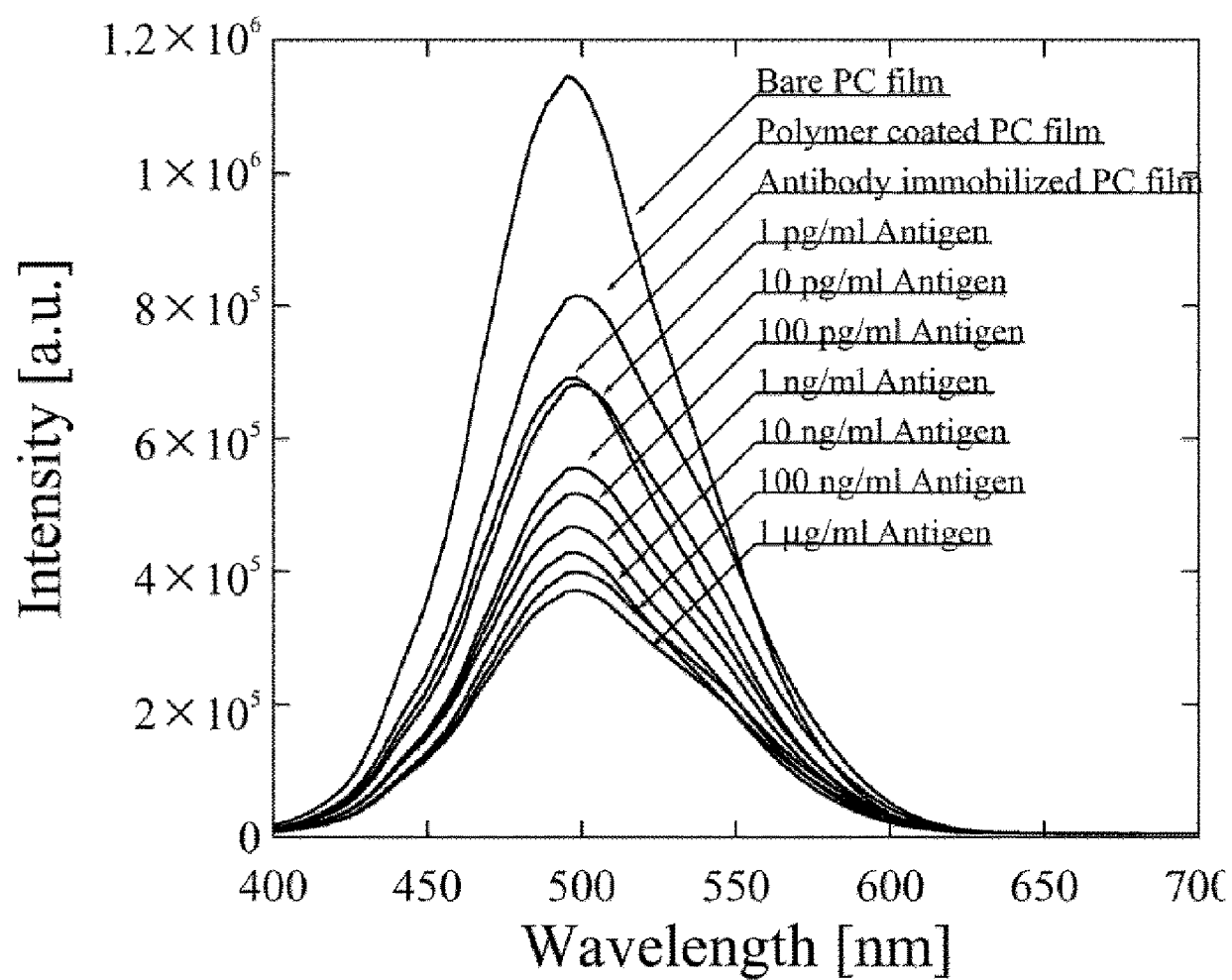
[図1]



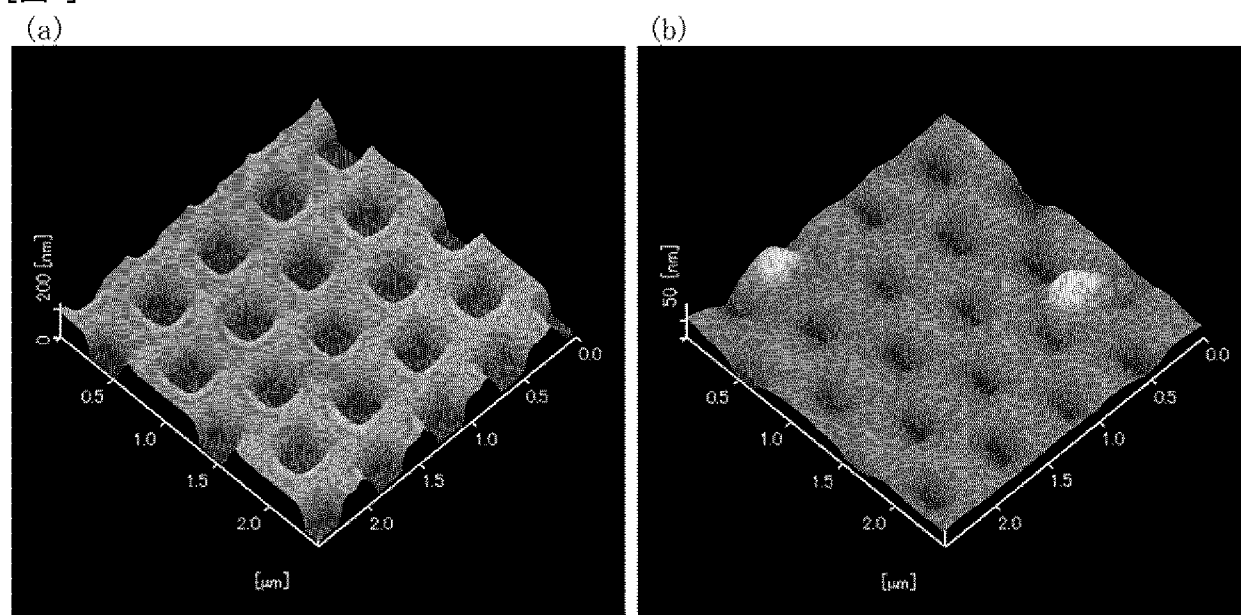
[図2]



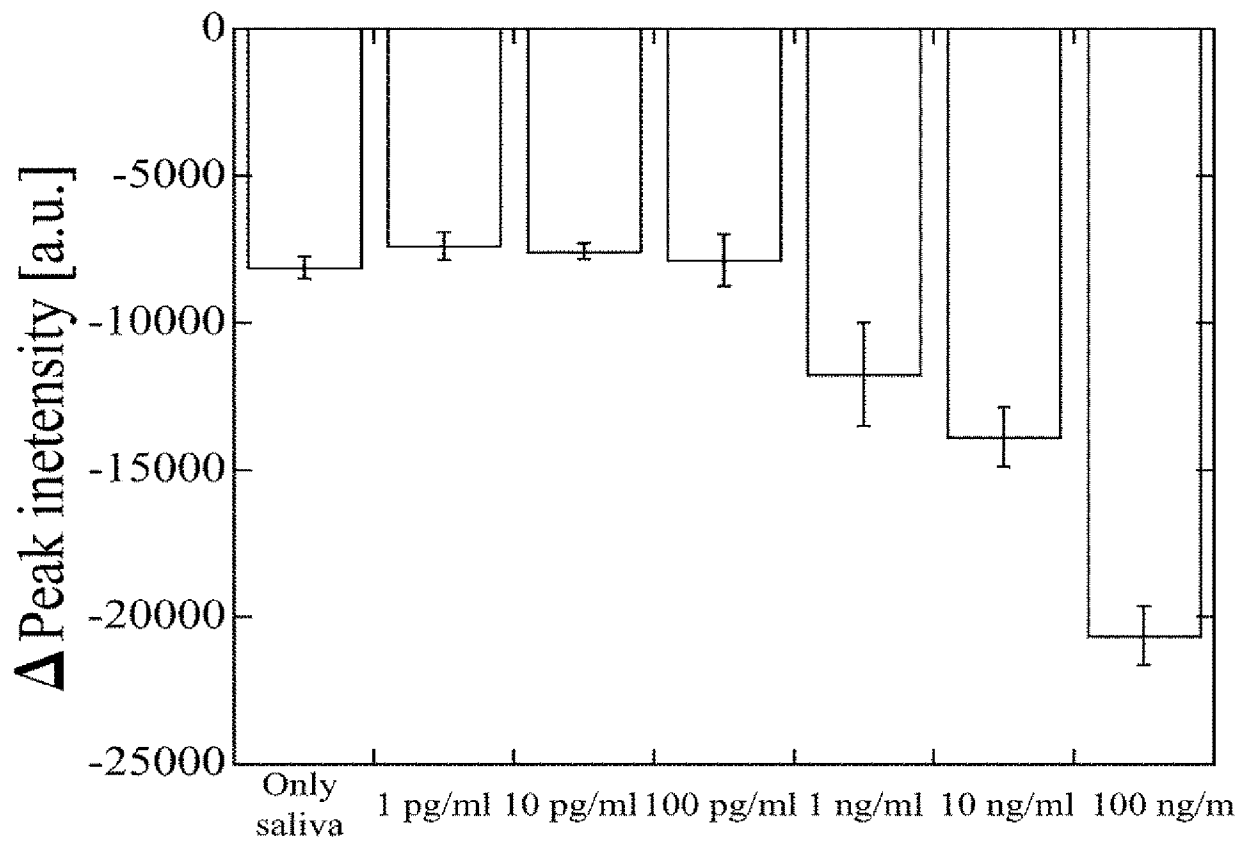
[図3]



[図4]



[図5]



[図6]

コポリマー
濃度

0 min

1 min

2 min

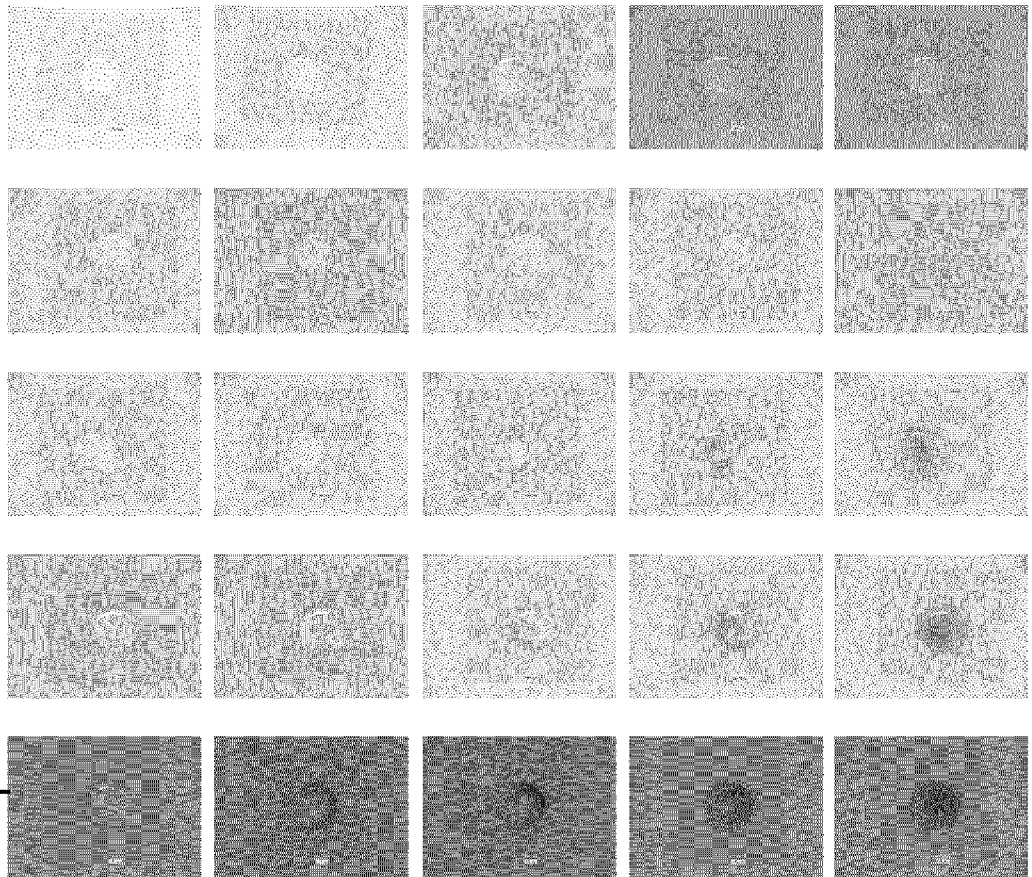
5 min

10 min

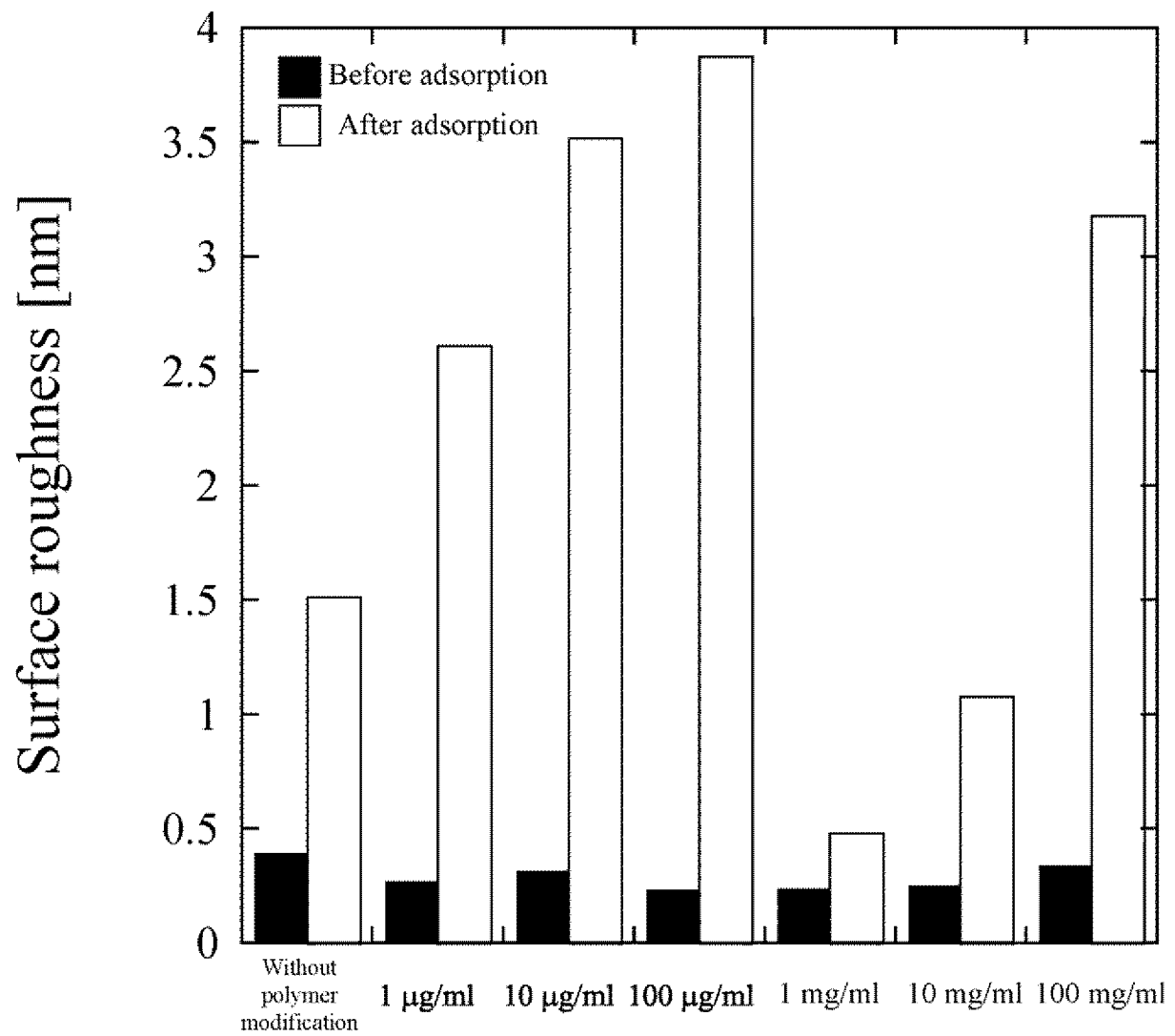
1 mg/ml

100
μg/ml10
μg/ml1
μg/ml

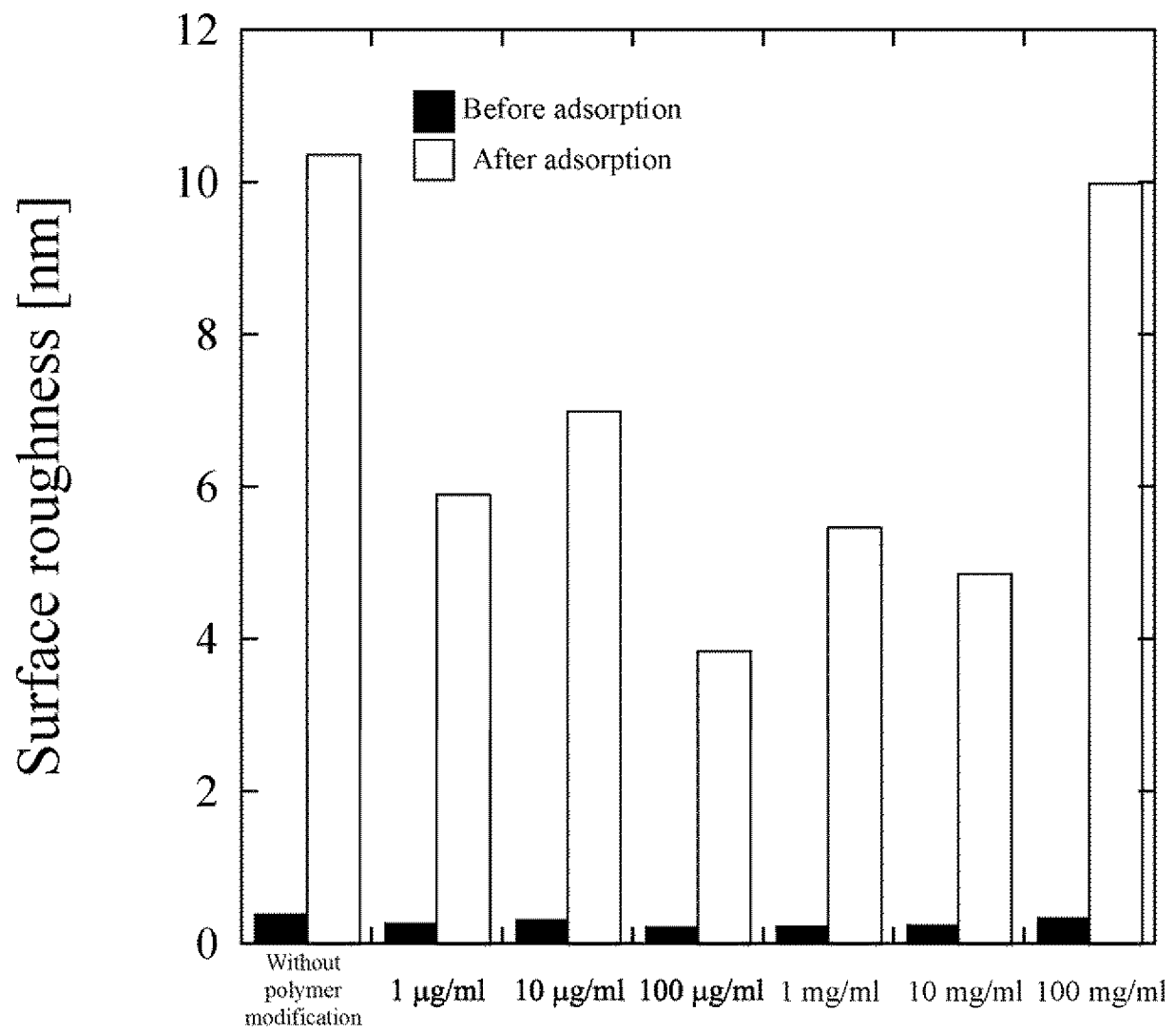
コポリマー
被覆なし



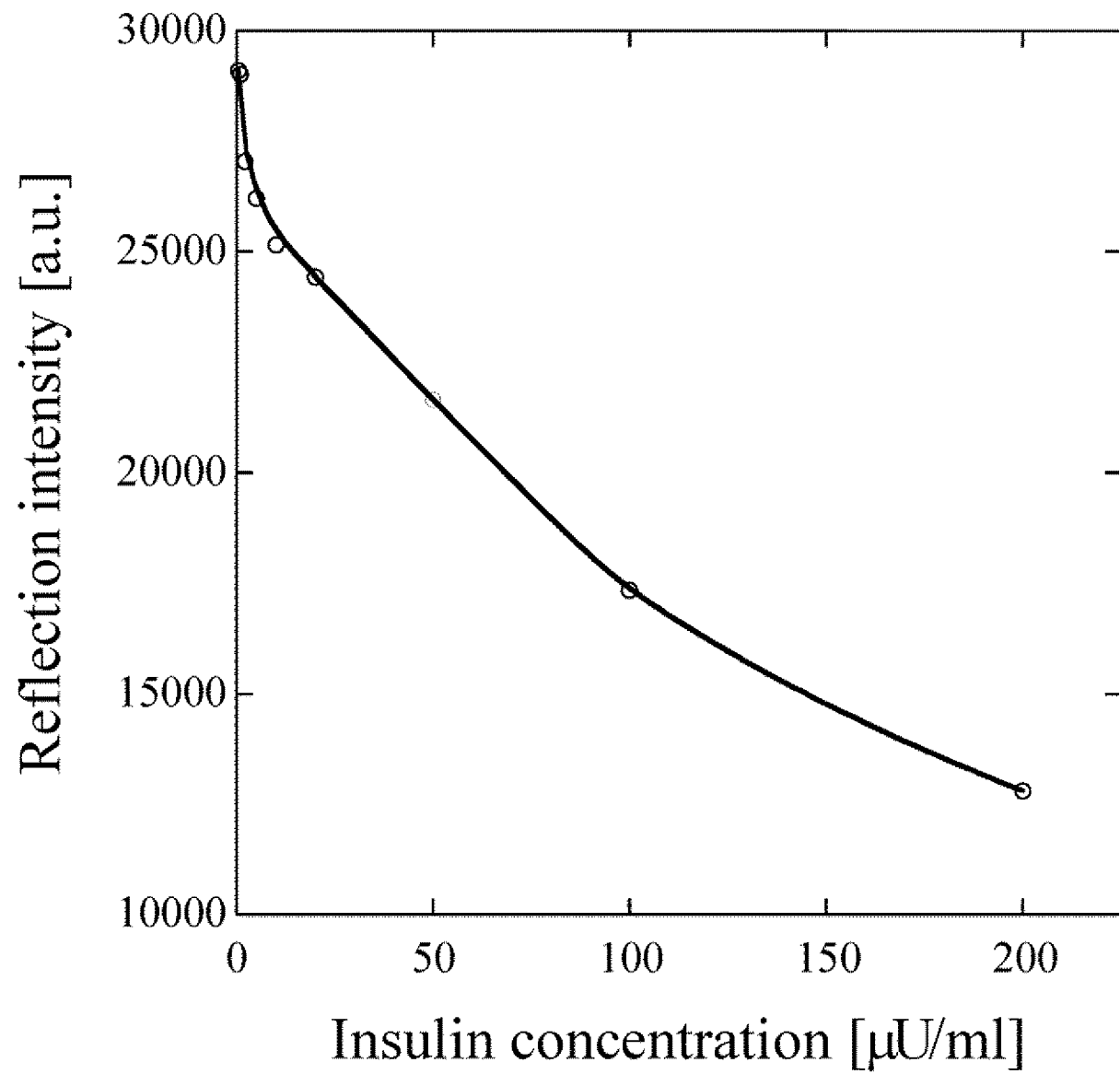
[図7]



[図8]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/070980

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/27(2006.01) i, G01N33/543(2006.01) i, G01N33/569(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)

G01N21/00-21/01, G01N21/17-21/61, G01N21/75-21/83, 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	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

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	JP 2007-271609 A (National University Corporation Hokkaido University, Sanyo Chemical Industries, Ltd.), 18 October 2007 (18.10.2007), paragraphs [0015], [0049] to [0052] (Family: none)	1, 6 2-5, 7-10
Y	JP 2009-229351 A (Sumitomo Bakelite Co., Ltd.), 08 October 2009 (08.10.2009), paragraphs [0010] to [0045] (Family: none)	2-5, 7-10

☒ 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
09 December, 2010 (09.12.10)

Date of mailing of the international search report
21 December, 2010 (21.12.10)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/070980

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 2005-180921 A (Japan Science and Technology Agency), 07 July 2005 (07.07.2005), paragraph [0010] & US 2005/0106570 A1 & EP 1496363 A1 & WO 2003/083478 A1 & CA 2480770 A & CN 1646912 A	2-5, 7-10
Y	JP 2005-49101 A (Omron Corp.), 24 February 2005 (24.02.2005), paragraphs [0057] to [0059]; fig. 15 & US 2005/0046758 A1 & CN 1576841 A	7
A	JP 2005-99007 A (Canon Inc.), 14 April 2005 (14.04.2005), paragraphs [0028] to [0041]; fig. 3 & US 2006/0188398 A1 & WO 2005/022129 A1	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N21/27(2006.01)i, G01N33/543(2006.01)i, G01N33/569(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. G01N21/00-21/01, G01N21/17-21/61, G01N21/75-21/83, 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	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 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 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
X Y	JP 2007-271609 A (国立大学法人北海道大学, 三洋化成工業株式会社) 2007.10.18, 段落 0015, 0049-0052 (ファミリーなし)	1, 6 2-5, 7-10
Y	JP 2009-229351 A (住友ベークライト株式会社) 2009.10.08, 段落 0010-0045 (ファミリーなし)	2-5, 7-10
Y	JP 2005-180921 A (独立行政法人科学技術振興機構) 2005.07.07, 段落 0010 & US 2005/0106570 A1 & EP 1496363 A1 & WO 2003/083478 A1 & CA 2480770 A & CN 1646912 A	2-5, 7-10

☒ 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

0 9 . 1 2 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

2 1 . 1 2 . 2 0 1 0

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)

西村 直史

2 W

4 7 4 5

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 9 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
Y	JP 2005-49101 A (オムロン株式会社) 2005. 02. 24, 段落 0057-0059, 図 15 & US 2005/0046758 A1 & CN 1576841 A	7
A	JP 2005-99007 A (キヤノン株式会社) 2005. 04. 14, 段落 0028-0041, 図 3 & US 2006/0188398 A1 & WO 2005/022129 A1	1-10