

(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9月28日(28.09.2017)



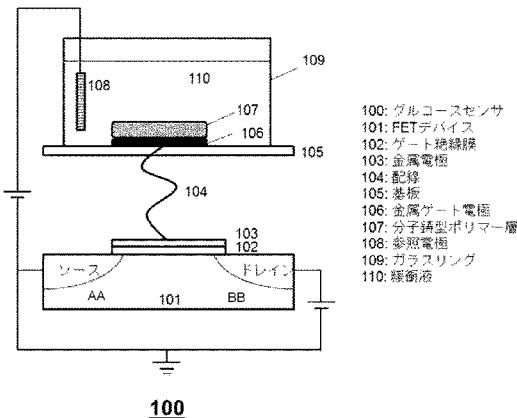
(10) 国際公開番号  
WO 2017/163715 A1

- (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/JP2017/006306
- (22) 国際出願日: 2017年2月21日(21.02.2017)
- (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 2016-061362 2016年3月25日(25.03.2016) JP
- (71) 出願人: 株式会社PROVIGATE (PROVIGATE INC.) [JP/JP]; 〒1130033 東京都文京区本郷7-3-1 Tokyo (JP). 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: 加治佐 平 (KAJISA, Taira); 〒1130033 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP). 関水康伸 (SEKIMIZU, Koshin); 〒1130033 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP). 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).
- (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ACT i 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, DJ, 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, KH, KN, KP, KR, KW, 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: HIGH-SENSITIVITY BIOSENSOR AND METHOD FOR PRODUCING SAME

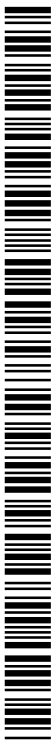
(54) 発明の名称: 高感度バイオセンサおよびその製造方法



- AA Source
- BB Drain
- 100 Glucose sensor
- 101 FET device
- 102 Gate insulation film
- 103 Metal electrode
- 104 Wiring line
- 105 Substrate
- 106 Metal gate electrode
- 107 Molecule template polymer layer
- 108 Reference electrode
- 109 Glass ring
- 110 Buffer solution

(57) Abstract: [Problem] To provide a biosensor having high detection sensitivity and detection specificity. [Solution] Provided is a biosensor provided with an identification substance capable of binding to a substance to be detected and an electrode capable of charging charges of the identification substance, wherein the change in the density of charges in the electrode which are generated as the result of the binding of the substance to be detected to the identification substance is detected by the biosensor. The biosensor is characterized in that a polymer layer having, formed thereon, a molecule template having a structure complementary to the molecular structure of the substance to be detected is formed on the whole area or a portion of the surface of the electrode, the polymer layer contains the identification substance, and the polymer layer is an ultrathin layer.

(57) 要約: 【課題】 高い検出感度と検出特異性を有するバイオセンサを提供する。【解決手段】 検出対象物質と結合することができる識別物質と、前記識別物質の電荷を帯電する電極とを備え、前記検出対象物質が前記識別物質に結合することにより生じる前記電極の電荷密度の変化を検出するバイオセンサにおいて、前記電極の表面の全部又は一部には、検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鋳型が形成されたポリマー層が形成されており、前記ポリマー層には前記識別物質を含み、前記ポリマー層は超薄膜層であることを特徴とする、バイオセンサを提供する。



WO 2017/163715 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：高感度バイオセンサおよびその製造方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、被験試料中の検出対象物質を検出するための、バイオセンサに関する。

### 背景技術

[0002] 近年、様々なバイオセンサが研究・開発され、医療、創薬、臨床検査等の分野で利用されている。バイオセンサは、生物の持つ優れた分子識別力を利用して外界の情報（例えば、化学的要素）を何らかの物理的な信号として認識するもので、様々な原理や測定対象がある。より詳細には、バイオセンサは、化学物質を測定対象とする化学センサの一種であり、測定対象物質のみを認識する分子識別素子と、認識したという情報を電気的な信号等の物理的な信号に変換する信号変換素子とで構成される。一般には、分子識別素子には、酵素、抗体、DNA、細胞、微生物等の生体分子や生体分子を捉える化合物を用いるため、これらのセンサはバイオセンサと呼ばれる。

[0003] また、信号変換素子としては、電極、サーミスタ、水晶振動子、表面プラズモン共鳴、半導体素子等の通常の電子機器や化学センサが使用されるが、最近では電界効果トランジスタ（FET: Field Effect Transistor）を用いたバイオセンサの研究が盛んになってきている。FETを用いたバイオセンサでは、分子識別素子が測定対象となる化学物質を認識すると、熱、質量、電荷等の物理的变化や対象物質の分解、物質の生成等の化学的变化が起こり、この変化を信号変換素子であるFETで電気信号に変換して対象物質を測定する。FETを用いたバイオセンサは、（1）イオンや分子固有の電荷を電気的に検出できる、（2）測定までの手間や時間がかからない、（3）リアルタイム測定が可能である、（4）非標識、非侵襲での電気的計測が可能である、（5）半導体の微細加工技術により小型化、集積化が可能である、等の特徴を有する。

[0004] これまでに、非侵襲的に採取した微量の体液試料を使用可能であり、且つ、微量の試料を用いた場合や試料中の測定対象物質の濃度が低い場合であっても対象物質を高精度に測定可能な、高感度のバイオセンサが提案されている（例えば特許文献1）。

### 先行技術文献

### 特許文献

[0005] 特許文献1：WO2014/178237

### 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0006] 上記特許文献1に記載のバイオセンサは、体液中に含まれる微量の測定対象物質を測定可能とした点において画期的な発明であった。しかし、体液中には測定対象物質以外の様々な物質が含まれているため、このようなバイオセンサを実用化するにあたっては、測定対象物質に対する検出感度を高めるのみならず、測定対象物質以外の誤検出を防ぐ（すなわち、検出特異性を高める）必要があった。

### 課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、バイオセンサのゲート電極上に分子鑄型ポリマー（Molecular Imprinted Polymer：MIP）の層を積層することにより、検出対象物質以外の実質的に全ての物質がゲート電極と相互作用することを防ぐことが可能となることを見出した。本明細書において、分子鑄型ポリマーとは、所定の作成方法によって、当該ポリマー表面やポリマー中において、検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する“分子鑄型”が形成されたものをいい、当該分子鑄型には、当該検出対象物質のみが組み込まれることができる。

[0008] さらに、本発明者らは、分子鑄型ポリマーをゲート電極に適用したバイオセンサの実用化に向けてさらに研究を重ねた。すると、本発明者らは、簡易的な方法により作製した分子鑄型ポリマーをゲート電極に適用したバイオセ

ンサは、確かに従来技術と比較して検出対象物質に対する特異性は向上するものの、分子鑄型ポリマー層の厚みにより、検出対象物質に対する検出感度と検出の安定性がやや低下するという新たな技術的課題に遭遇した。

[0009] ここで、本発明者らは、主に高分子化学の分野において用いられるポリマーの制御技術を本技術分野に応用することにより、ゲート電極に適用される分子鑄型ポリマー層の膜厚を制御することに成功し、これにより、分子鑄型ポリマー層を超薄膜層とすることを可能とした。超薄膜の分子鑄型ポリマー層を有するゲート電極は、検出対象物質に対する検出特異性のみならず、極めて高い検出感度も兼ね備える（本願の実施例の結果も参照のこと）。

[0010] さらに、驚くべきことに、本発明では、ゲート電極に適用される分子鑄型ポリマー層を超薄膜層としたことにより、装置の通電からゲート電極表面の電位が安定化するまでの時間（すなわち、測定装置のスイッチをオンにしてから、装置が測定開始可能な状態になるまでの時間）が大幅に短縮され、また、測定開始から測定終了までの時間も大幅に短縮された（本願の実施例の結果も参照のこと）。

[0011] すなわち、本発明のバイオセンサは、検出対象物質に対する高い検出感度と検出特異性を兼ね備え、さらに実用性にも優れた装置である。

[0012] すなわち本発明は、一実施形態において、検出対象物質と結合することができる識別物質と、前記識別物質の電荷を帯電する電極とを備え、前記検出対象物質が前記識別物質に結合することにより生じる前記電極の電荷密度の変化を検出するバイオセンサにおいて、前記電極の表面の全部又は一部には、検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成されたポリマー層が形成されており、前記ポリマー層には前記識別物質を含み、前記ポリマー層は超薄膜層であることを特徴とする、バイオセンサに関する。

[0013] また、本発明の一実施形態においては、前記超薄膜層は、厚さが1  $\mu\text{m}$ 以下の薄膜層であることを特徴とする。

[0014] また、本発明の一実施形態においては、前記ポリマー層が、

(a) : 1または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識

別物質、を含むモノマー溶液を前記電極の表面の全部又は一部において重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層であるポリマー層を形成させるステップ、および、

(b) : 前記ステップ (a) の後、前記ポリマー層から前記検出対象物質を除去することにより、前記ポリマー層に前記検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型を形成させるステップ、を含む方法によって形成されることを特徴とする。

[0015] また、本発明の一実施形態においては、前記モノマー溶液の重合が、リビングラジカル重合、または、電解重合であることを特徴とする。

[0016] また、本発明の一実施形態においては、前記リビングラジカル重合は、原子移動ラジカル重合 (A T R P)、可逆的付加-開裂連鎖移動重合 (R A F T)、または、ニトロキシドを介した重合 (N M P) であることを特徴とする。

[0017] また、本発明の一実施形態においては、前記リビングラジカル重合は、原子移動ラジカル重合 (A T R P) であり、前記ステップ (a) に先立って、重合開始分子が電極の表面の全部又は一部にあらかじめ結合されていることを特徴とする。

[0018] また、本発明の一実施形態においては、前記ステップ (a) が、1または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識別物質、を含むモノマー溶液を、スピンコートを用いて電極の表面の全部又は一部に適用し、適用されたモノマー溶液を重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層のポリマー層を形成させるステップ、であることを特徴とする。

[0019] また、本発明の一実施形態においては、前記電極が、金電極、銀電極、銅電極、または、白金電極であることを特徴とする。

[0020] また、本発明の一実施形態においては、前記モノマー溶液が、アクリルアミド誘導体、メタクリルアミド誘導体、アクリレート誘導体、メタクリレート誘導体、アクリロニトリル、2-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、

N-ビニル-2-ピロリドンおよび酢酸ビニルからなる群から選択される少なくとも1種類のモノマーを含むことを特徴とする。

[0021] また、本発明の一実施形態においては、前記電極が、電界効果トランジスタのゲート絶縁膜に電氣的に接続されていることを特徴とする。

[0022] また、本発明の一実施形態においては、前記電極は、前記電界効果トランジスタから離れて配置されており、前記電極は、前記ゲート絶縁膜上に設けられた別の金属電極と配線を介して、前記ゲート絶縁膜に電氣的に接続されていることを特徴とする。

[0023] また、本発明の一実施形態においては、前記電極が、前記ゲート絶縁膜上に直接に載置されることにより、前記ゲート絶縁膜に電氣的に接続されていることを特徴とする。

[0024] また、本発明の一実施形態においては、前記検出対象物質が生体由来の物質、環境中の物質、または、食品中の物質であることを特徴とする。

[0025] また、本発明の一実施形態においては、前記生体由来の物質が、体液由来の物質であることを特徴とする。

[0026] また、本発明の一実施形態においては、前記体液が、血液、リンパ液、組織液、体腔液、消化液、汗、涙、鼻汁、唾液、尿、精液、膣液、羊水、および、乳汁からなる群から選択されることを特徴とする。

[0027] また、本発明の他の実施形態は、バイオセンサにおいて使用される電極であって、前記バイオセンサは、検出対象物質が識別物質に結合することにより生じる前記電極の電荷密度の変化を検出するバイオセンサであり、前記電極は、前記検出対象物質と結合することができる前記識別物質の電荷を帯電する電極であり、前記電極の表面の全部又は一部には、検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成されたポリマー層が形成されており、前記ポリマー層には前記識別物質を含み、前記ポリマー層は超薄膜層であることを特徴とする、電極に関する。

[0028] また、本発明の他の実施態様は、バイオセンサにおいて使用するための電極の製造方法であって、前記バイオセンサは、検出対象物質が識別物質に結

合することにより生じる前記電極の電荷密度の変化を検出するバイオセンサであり、前記電極は、前記検出対象物質と結合することができる前記識別物質の電荷を帯電する電極であり、

前記方法は、

(a) : 1 または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識別物質、を含むモノマー溶液を、前記電極の表面の全部または一部において重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層であるポリマー層を形成させるステップ、および、

(b) : 前記ステップ (a) の後、前記ポリマー層から前記検出対象物質を除去することにより、前記ポリマー層に前記検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型を形成させるステップ、を含むことを特徴とする、方法に関する。

[0029] また、本発明の一実施態様においては、前記リビングラジカル重合は、原子移動ラジカル重合 (A T R P) であり、前記ステップ (a) に先立って、重合開始分子を電極の表面の全部又は一部にあらかじめ結合させる工程を含むことを特徴とする。

[0030] また、本発明の一実施態様においては、前記ステップ (a) が、1 または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識別物質、を含むモノマー溶液を、スピンコートを用いて前記電極の表面の全部または一部に適用し、適用されたモノマー溶液を重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層のポリマー層を形成させるステップ、であることを特徴とする。

[0031] なお、上記に挙げた本発明の一または複数の特徴を任意に組み合わせた発明も本発明の範囲に含まれる。

### 図面の簡単な説明

[0032] [図1] 図 1 は、本発明の一実施形態であるグルコースセンサの概略的な構成を示す模式図である。

[図2] 図 2 は、製造例 1 の方法で作製したポリマー層の膜厚を原子間力顕微鏡

で測定した結果を示す。

[図3]図3は、製造例1または比較製造例1の装置において、通電開始からゲート表面電位の安定化までの時間を比較したグラフである。

[図4]図4は、製造例1または比較製造例1の装置において、グルコース溶液を添加した際のゲート表面電位の変化を示す。

[図5]図5は、製造例2または製造例3の装置において、低濃度のグルコースの検出を比較したグラフである。

[図6]図6は、製造例4および製造例5の装置において、低濃度のグルコースの検出を比較したグラフである。

[図7]図7は、製造例4および製造例5の装置における、各濃度グルコース添加時のゲート表面電位変化量を示したグラフである。

[図8]図8は、製造例6の装置において、低濃度のドーパミンの検出を比較したグラフである。

[図9]図9は、製造例6の装置における、各濃度ドーパミン添加時のゲート表面電位変化量を示したグラフである。

### 発明を実施するための形態

[0033] 本発明のバイオセンサは、検出対象物質と、当該検出対象物質に特異的あるいは選択的に結合することができる識別物質との結合により生じる電気的な変化を、電極の電荷密度の変化として検出するという基本的な原理に基づく（詳細は後述する）。本発明における「検出対象物質」は、当該物質に対応する分子鑄型ポリマーを製造可能なものであれば限定されず、当業者が技術常識に基づいて様々な物質を検出対象とすることができる。

[0034] 本発明のバイオセンサを用いれば、様々な被験試料中の微量な物質の検出に利用可能であり、例えば、本発明のバイオセンサを用いて、生体由来の物質、環境中の物質、または、食品中の物質を検出することができる。特に、本発明は、被験試料中の検出対象物質の濃度が極めて薄くても検出可能であるため、例えば体液（血液、リンパ液、組織液、体腔液、消化液、汗、涙、鼻汁、唾液、尿、精液、膿液、羊水、乳汁など）中の物質の検出に好適に利

用することができる。体液中の物質の例示としては、例えば、体液成分（例えば、アルカリフォスファターゼ、AST、ALT、乳酸脱水素酵素、ロイシンアミノペプチダーゼ、 $\gamma$ -GTP、クレアチンキナーゼ、コリンエステラーゼ、ビリルビン、胆汁酸、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、HDLコレステロール、LDLコレステロール、中性脂肪、グルコース、アミラーゼ、リパーゼ、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン、マグネシウム、亜鉛、鉄、フェリチン、C反応性蛋白、 $\beta$ 2-マイクログロブリン、ヘモグロビンA1C、グリコアルブミン、アンモニア、各種ホルモン、各種神経伝達物質（例えば、ドーパミン、アドレナリン、ノルアドレナリン、セロトニン、メラトニン、ヒスタミン等のモノアミン類；アスパラギン酸、グルタミン酸、 $\gamma$ -アミノ酪酸、グリシン、タウリン等のアミノ酸；アセチルコリン；神経ペプチド類）等の一般的な血液生化学検査の検査項目となる成分）、疾患関連バイオマーカー（例えば、腫瘍マーカー、自己免疫疾患マーカー、中枢神経疾患マーカー、心疾患バイオマーカー、等）、病原体（例えば、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、等）およびその関連因子、事前に投与された薬剤の薬剤分子、が挙げられる。

[0035] 本発明における「検出対象物質と結合することができる識別物質」は、検出対象物質に応じて当業者が適宜選択することができ、当該識別物質は、検出対象物質に特異的に結合することができる物質であってよく、検出対象物質に選択的に結合することができる物質であってもよい。

[0036] 本発明における「検出対象物質と結合することができる識別物質」の例示としては、例えば、特異的または選択的な相互作用が生じることが知られている物質のペア（例えば、グルコースとフェニルボロン酸、乳酸とフェニルボロン酸、ヒスタミンとカルボキシル基モノマー、尿酸とカルボキシル基モノマー、クレアチニンとカルボキシル基モノマー、シアル酸とフェニルボロン酸&アミノ基モノマー、ドーパミンとフェニルボロン酸&アミノ基モノマー、  
ビオチンとストレプトアビジン）のいずれか片方、特定の分子と特異的に結

合するアプタマー（例えば、核酸アプタマー、ペプチドアプタマー）、受容体ーリガンド（またはアゴニスト）の組み合わせのいずれか片方、検出対象物質に特異的に結合する抗体（例えば、検出対象物質に特異的に結合するモノクローナル抗体）またはその抗原結合断片、検出対象物質に特異的に結合する核酸（例えば、目的とする核酸に相補的な配列を有する核酸）を挙げることができる。

[0037] 本発明において、ポリマー層に検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型を形成させる方法は限定されず、分子鑄型ポリマーの形成方法として当業者に知られた様々な方法を用いることができる。具体的には、検出対象物質を含むモノマー溶液を重合させ、ポリマーとした後、当該ポリマーから検出対象物質を除去することによって、分子鑄型ポリマーを作製することができる。

[0038] 本発明において、分子鑄型ポリマーを作製するためのモノマー溶液は、1種類または2種類以上のモノマーを含む。モノマー溶液に含まれるモノマーの例としては、例えば、アクリルアミド誘導体（アクリルアミド、ジメチルアクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、N-メチロールアクリルアミド、アクリロイルモルホリン等）、メタクリルアミド誘導体（メタクリルアミド、ジメチルメタクリルアミド、N-イソプロピルメタクリルアミド、N-メチロールメタクリルアミド、メタクリロイルモルホリン等）、アクリレート誘導体（ヒドロキシエチルアクリレート、ヒドロキシプロピルアクリレート、ジメチルアミノエチルアクリレート、ジメチルアミノプロピルアクリレート等）、メタクリレート誘導体（ヒドロキシエチルメタクリレート、ヒドロキシプロピルメタクリレート、ジメチルアミノエチルメタクリレート、ジメチルアミノプロピルメタクリレート等）、アクリロニトリル、2-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、N-ビニルピロリドン、または、酢酸ビニルからなる群から選択される1または複数のモノマーが挙げられる。

[0039] 本発明において、検出対象物質を含むポリマーから検出対象物質を除去す

る方法は限定されず、検出対象物質の種類、用いたモノマーの種類に応じて当業者が適宜選択することができる。検出対象物質－識別物質－除去方法の組み合わせの限定されない例示としては、以下を挙げることができる。

- ・ グルコース－フェニルボロン酸－塩酸／メタノール
- ・ 乳酸－フェニルボロン酸－塩酸／メタノール
- ・ ヒスタミン－カルボキシル基モノマー－酢酸／メタノール／アセトニトリル
- ・ 尿酸－カルボキシル基モノマー－酢酸／メタノール／アセトニトリル
- ・ クレアチニン－カルボキシル基モノマー－酢酸／メタノール／アセトニトリル
- ・ シアル酸－フェニルボロン酸&アミノ基モノマー－塩酸／メタノール
- ・ ドーパミン－フェニルボロン酸&アミノ基モノマー－塩酸／メタノール

[0040] 本発明のバイオセンサにおいては、電極表面位に適用される分子鑄型ポリマー層が超薄膜層であることを特徴とする。ポリマー層の厚みを制御する方法は限定されず、高分子化学分野において公知の様々な方法を用い得る。例えば、ポリマー層の厚みを制御する方法として、化学的な方法を用いてポリマー層の厚みを制御する方法や、物理的な方法を用いて薄いポリマー層を作製する方法を用いることができる。

[0041] 本発明に用いることができる、ポリマー層の厚みの化学的な制御方法としては、例えばリビングラジカル重合や電解重合を用いることができる。特に、リビングラジカル重合では、重合時間でポリマー層の厚みを制御することができるため、ナノオーダーの厚さの均一なポリマー層の作製に好適に用いることができる。

[0042] リビングラジカル重合法としては、ニトロキドを介した重合 (Nitroxide-mediated Polymerization (NMP) ; 例えば特開昭60-89452号公報)、原子移動ラジカル重合 (Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) ; 例えば特表平10-509475号公報)、可逆的付加-開裂連

鎖移動重合 (Reversible Addition / Fragmentation Chain Transfer Polymerization (RAFT) ; 例えば国際公開第98 / 01478号パンフレット) が知られている。本発明においては、検出対象物質の性質や必要な検出手順に応じて、これらのいずれかの重合方法のうち適切なものを選択して用いることができる。

[0043] また、重合速度の改善、操作の簡便性などを目的として還元剤を添加し、ATRP系中に生成した2価銅を連続的に活性な1価銅に還元するActivator ReGenerated by Electron Transfer (ARGET) ATRP法が報告されている (例えば、Angew Chem, Int Ed, 45 (27), 4482 (2006))。この方法では、厳密な真空状態を必要とせずにポリマー層の厚さを制御できるため、本発明においても好適に用いることができる。

[0044] 重合は、無溶媒で行うこともできるし、各種の溶媒中で行うこともできる。好ましい溶媒としては、アニソール、トルエン、エチルベンゼン、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等を挙げることができる。

[0045] 重合溶媒の使用量は特に限定されないが、モノマー100質量部に対して0~2000質量部の範囲内が好ましく、10~1000質量部の範囲内がより好ましい。これら各範囲の上限値は、重合速度低下の抑制、重合制御の点で意義がある。

[0046] 重合開始分子は、一般的にリビングラジカル重合の重合開始分子として知られている基を有する化合物が好適に使用できる。例えば、ハロゲン化アルキル有機物、有機過酸化物、アゾ系化合物、無機過酸化物、レドックス型重合開始剤等を用いることができる。

[0047] 重合には触媒を使用することが好ましい。触媒の種類は、一般的に知られている各種のものの中から、重合法に応じて適宜選択することができる。例えば、重合法としてATRPを用いる場合は、Cu(0)、Cu<sup>+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、F

$e^+$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Ru^{2+}$ 、 $Ru^{3+}$ 等の金属を含む金属触媒を使用できる。分子量や分子量分布の高度な制御を達成する為には、特に $Cu^+$ を含む1価の銅化合物あるいは0価の銅が好ましい。その具体例としては、 $Cu(0)$ 、 $CuCl$ 、 $CuBr$ 、 $Cu_2O$ 等が挙げられる。

[0048] また、上述した金属触媒には、通常は有機配位子が使用される。金属への配位原子としては、例えば、窒素原子、酸素原子、リン原子、硫黄原子等が挙げられる。中でも、窒素原子、リン原子が好ましい。有機配位子の具体例としては、2, 2'-ビピリジンおよびその誘導体、1, 10-フェナントロリンおよびその誘導体、テトラメチルエチレンジアミン、ペンタメチルジエチレントリアミン、トリス(ジメチルアミノエチル)アミン(Me<sub>6</sub>TREN)、トリフェニルホスフィン、トリブチルホスフィン等が挙げられる。

[0049] 本発明に用いることができる、ポリマー層の厚みの物理的な制御方法の例としては、スピコートを用いた方法が挙げられる。具体的には、対象とする面にモノマー溶液を適用し、スピコート装置を用いて高速回転させることにより不要なモノマー溶液を除去し、その後重合させることによって、ナノオーダーの厚さのポリマー層を作製することができる。また、この方法によるポリマー層の厚さは、スピコート装置の回転速度によって調節することができる。

[0050] 検出感度を高める観点から、本発明のバイオセンサにおいて用いる分子鋳型ポリマー層の厚さは1  $\mu m$ 以下であることが好ましい。本発明のバイオセンサにおいて用いる分子鋳型ポリマー層の厚さの好ましい上限および下限は検出対象物質によって異なるが、例えば、上限を1  $\mu m$ 、500 nm、400 nm、300 nm、200 nm、100 nmまたは50 nm、下限を1 nm、3 nm、5 nm、8 nm、10 nm、15 nm、20 nmまたは30 nmとしてもよい。例えば、ポリマー層の厚さは1 nm~1  $\mu m$ であってよく、好ましくは3 nm~500 nmであってよく、さらに好ましくは5 nm~100 nmであってよく、最も好ましくは5 nm~50 nmであってよい。なお、当然のことながら、本発明のバイオセンサにおいて用いる分子鋳型ポ

リマー層の厚さは、その全ての領域において厳密に均一な厚さである必要はなく、平均して上記範囲内の厚さであればよい。

[0051] 本発明において、分子鑄型ポリマー層の厚さの測定方法は特に限定されず、当技術分野において公知の任意の方法を用いて測定することができる。例えば、市販のエリプソメータや原子間力顕微鏡（AFM）を用いて分子鑄型ポリマー層の厚さを測定することができる。

[0052] [バイオセンサの構成]

図1に、本発明の一実施形態に係るバイオセンサの一例を示し、その構成について説明する。図1は、本発明の一実施形態であるグルコースセンサ100の概略的な構成を示す模式図である。なお、以下の説明では、検出対象物質をグルコースとし、検出素子としていわゆる拡張ゲート（Extended gate）型のFETを使用した場合を例に挙げて説明するが、本発明に係るバイオセンサは、このような例に限定されるものではない。例えば、ゲート電極が絶縁膜上に直接に載置される通常のFETを用いてもよい。

[0053] また、本発明に係るバイオセンサは、検出素子としてFETを用いるものに限定されない。本発明の本質的な特徴は、超薄膜の分子鑄型ポリマー層を備える電極部分において被験試料中の検出対象物質の存在を電気的な信号として検出することであり、例えば当該電極を信号増幅器（例えば、真空管、トランジスタ、オペアンプ、マグアンプ、等）に接続することによっても、バイオセンサとして使用することができる。

[0054] 図1に示すように、グルコースセンサ100は、検出素子としてFETデバイス101を用いて検出対象物質（グルコース）を検出するためのバイオセンサであって、分子識別部材（図1において、金属ゲート電極106と分子鑄型ポリマー層107とまとめて「分子識別部材」と呼ぶこととする）と、検出素子101とを主に備える。金属電極106は基板105上にスパッタされており、分子鑄型ポリマー層107は金属電極106上に設けられている。また、金属電極106は、絶縁膜102上の金属電極103と配線104を介して電氣的に接続されている。分子識別部材は、絶縁膜102を介

してFETデバイスに接続され、FETにおけるゲート電極としての役割も有している。ここで、分子鋳型ポリマー層107は、フェニルボロン酸を含んでおり、その表面および内部において、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鋳型が形成されている。

[0055] また、基板105上には、分子識別部材を囲うようにガラスリング109が固定されており、ガラスリング109内には緩衝液110が満たされている。

[0056] なお、図1に示すように、必要に応じて参照電極108を設けてもよい。参照電極108は、緩衝液110中に設けられ、FETデバイス101のソース電極及びドレイン電極とともに閉回路を形成する。参照電極108はFETにおける電圧測定の基準電位となる電極であり、アースされることもある。実用上は、FETにおける電圧測定の際に必要となるが、他の公知の方法により代替可能であれば参照電極108を設けなくてもよい。

[0057] FETデバイス101の半導体基板は、例えば、p型半導体であり、その一部（例えば2箇所）が局所的にドーピングされて形成されたn型半導体部分にソース電極及びドレイン電極が設けられる。すなわち、グルコースセンサ100で使用されるFETは、所謂nチャネル型MOSFET（Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor）である。なお、本発明に係るバイオセンサで使用するFETは、上記のnチャネル型MOSFET（n-MOS）に限られず、pチャネル型MOSFET（p-MOS）、nチャネル接合型FET、pチャネル接合型FETであってもよい。

[0058] また、半導体基板の素材としては、特に制限されるものではないが、Si、GaAs、透明酸化物半導体（例えば、ITO、IGZO、IZO）、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、公知の半導体を適宜選択して用いることができる。なお、半導体基板の素材として炭素半導体を用いると、Siを使用した場合よりもグルコースセンサ100の測定感度をより高くすることができる。

る（被験試料中の検出対象物質濃度が低くても高精度に測定することができる）。

[0059] 次に、図1に示した本発明の一実施形態に係るグルコースセンサ100の測定原理について説明する。緩衝液110に被験試料が添加されると、被験試料中のグルコース分子のみが、分子鑄型ポリマー層107の表面および内部に形成された分子鑄型に組み込まれる。分子鑄型ポリマー層107には、グルコースに特異的に反応するフェニルボロン酸が含まれているため、分子鑄型ポリマー層107に入り込んだグルコースは、当該フェニルボロン酸に反応する。分子鑄型ポリマー層107中のフェニルボロン酸と、グルコースとの反応によって、分子識別部材における電荷密度とキャパシタンスの少なくともいずれか一方が変化し、これをFETが電位の変化として検出することで、検出対象物質の存在あるいは濃度を測定することができる。

[0060] また、グルコースセンサ100においては、検出素子として、上述したように拡張ゲート型のFETを使用している。拡張ゲート型のFETを用いたグルコースセンサ100では、分子識別部材がFET本体（ソース電極およびドレイン電極が設けられた半導体基板を含むFETデバイス101）から分離しており、分子識別部材をFETデバイス101から着脱自在に接続することができる。

[0061] すなわち、分子識別部材とFETデバイスとを別々に準備して、組み合わせることが可能である。本願明細書に開示されているとおり、分子識別部材は様々な検出対象物質を特異的に検出するように改変可能であるため、例えば、様々な検出対象物質に対応した分子識別部材を、検出装置本体（FETデバイス）に着脱可能なチップとして構成することにより、1台の検出装置で多様な因子の検出が可能となる。

[0062] 本明細書において用いられる用語は、特に定義されたものを除き、特定の実施態様を説明するために用いられるのであり、発明を限定する意図ではない。

[0063] また、本明細書において用いられる「含む」との用語は、文脈上明らかに

異なる理解をすべき場合を除き、記述された事項（部材、ステップ、要素、数字など）が存在することを意図するものであり、それ以外の事項（部材、ステップ、要素、数字など）が存在することを排除しない。

[0064] 異なる定義が無い限り、ここに用いられるすべての用語（技術用語及び科学用語を含む。）は、本発明が属する技術の当業者によって広く理解されるのと同じ意味を有する。ここに用いられる用語は、異なる定義が明示されていない限り、本明細書及び関連技術分野における意味と整合的な意味を有するものとして解釈されるべきであり、理想化され、又は、過度に形式的な意味において解釈されるべきではない。

[0065] 以下において、本発明を、実施例を参照してより詳細に説明する。しかしながら、本発明はいろいろな態様により具現化することができ、ここに記載される実施例に限定されるものとして解釈されてはならない。

## 実施例

[0066] （グルコースセンサの作製）

本実施例において用いた、本発明の一実施形態であるグルコースセンサは、以下に説明するように作成した。

[0067] 本実施例および比較例では、検出素子としてジャンクションFET（東芝社製、2SK246Y）またはMOSFET（NXP社製、2N7002）を用いた。対象物の電荷を検出するための電極としては、ガラス基板にスパッタした金電極を用い、金電極上に、後述する方法にて、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成された、超薄膜のポリマー層を作製した。前記金電極は、前記ジャンクションFETに直接接触している金属電極から、配線を介して電氣的に接続させることにより、拡張型のゲート電極（拡張ゲート電極）とした。前記ポリマー層は、その成分に、グルコースに特異的に結合する物質（フェニルボロン酸）を含み、ポリマー層に形成された分子鑄型にグルコースが嵌ると、当該グルコースはポリマー層中のフェニルボロン酸と結合する。本発明の一実施形態であるグルコースセンサは、当該結合により生じる電極の電荷密度の変化を検出することにより、対象

物中のグルコースの存在を判定する。

本実施例においては、便宜上、前記ポリマー層とゲート電極を含めて「分子識別部材」と呼ぶ。

[0068] 次に、本実施例では溶液中での測定を行うため、上述のようにして得られた分子識別部

材上に、外径20mm、内径18mm、高さ10mmのガラスリングもしくは外形12mm、内径10mm、高さ10mmのガラスリングを、エポキシ樹脂を用いて固定した。

[0069] 以下の実施例および比較例では、本発明の方法によって作製した超薄膜分子鑄型ポリマー層を備えるグルコースセンサと、従来法によって作製されたポリマー層を備えるグルコースセンサについて、通電開始後のゲート表面電位の安定化速度、検出速度、および、検出感度を比較した。

[0070] (製造例1：ATRP法による超薄膜分子鑄型ポリマー層の作製)

1mMビス[2-(2-ブロモイソブチリロキシ)ウンデシル]ジスルフィド/エタノール溶液に、金電極がスパッタされたガラス基板を浸漬させることで、金電極上に重合開始分子を結合させた。

次に、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、ビニルフェニルボロン酸0.02gと、N,N'-メチレンビスアクリルアミド0.02gと、グルコース0.009gを6.7%(wt/wt)アクリル酸ナトリウム(pH6.8)で全量1gに調整した後、1gのジメチルホルムアミドを加え、完全に溶解した後、10mM臭化銅(II)および20mM2',2'-ビピリジル水溶液を100μl加え、次に200mMアスコルビン酸50μlを加えた。

この溶液中に、重合開始分子が結合された金電極を備えるガラス基板を浸漬させ、真空下、40℃にて24時間重合反応させることで金電極上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ゲート電極を0.1M塩酸/メタノール溶液に一晩浸漬させ、モノマー成分およびグルコースを除去することで

、金ゲート電極上に、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成された、超薄膜のポリマー層を作製した。

作製されたポリマー層の厚さを目視にて測定したところ、およそ300 nmと判断された。

[0071] (比較製造例1：従来法による分子鑄型ポリマー層の作製)

ヒドロキシエチルメタクリレート (HEMA) 0.2 gと、N-3-(ジメチルアミノ)プロピルメタクリルアミド0.1 gと、ビニルフェニルボロン酸0.02 gと、N, N'-メチレンビスアクリルアミド0.02 gと、グルコース0.009 gを6.7% (wt/wt) アクリル酸ナトリウム (pH 6.8) で全量1 gに調整、溶解した後、重合開始剤としてペルオキシニ硫酸カリウム (50 mg/ml、和光純薬工業社製) を10  $\mu$  l、テトラメチレンジアミン (東京化成社製) 2  $\mu$  l加え、モノマー溶液とした。

次に、拡張型ゲート電極の金ゲート電極上にモノマー溶液を10  $\mu$  l加え、PETフィルムで覆い、窒素雰囲気下、室温にて12時間重合反応させることで、金電極上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ゲート電極を0.1 M塩酸/メタノール溶液に一晩浸漬させることでモノマー成分およびグルコースを除去することで、金ゲート電極上に、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成された、ポリマー層を作製した。

作製されたポリマー層の厚さを測定したところ、およそ2  $\mu$  mであった。

[0072] (製造例2：ATRP法による超薄膜分子鑄型ポリマー層の作成)

1 mMビス [2-(2-ブロモイソブチリロキシ)ウンデシル]ジスルフィド/エタノール溶液に、金電極がスパッタされたガラス基板を浸漬させることで、金電極上に重合開始分子結合させた。

次に、N-3-(ジメチルアミノ)プロピルメタクリルアミド0.1 gと、エチレングリコールジメタクリレート0.4 gと、ビニルフェニルボロン酸0.4 gと、グルコース0.2 gを超純水で全量2 gに調整後、ジメチルホルムアミドを2 g加え、溶解させ、窒素を通すことで脱気を行った。その後、10 mM臭化銅 (II) および60 mMトリス [2-(ジメチルアミノ

) エチル] アミンを400  $\mu$ l 加え、次に200 mMアスコルビン酸50  $\mu$ l を加えた。

この溶液中に、重合開始分子が結合された金電極を備えるガラス基板を浸漬させ、真空下、40℃にて18時間重合反応させることで金電極上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ゲート電極を0.1 M塩酸/メタノール溶液に一晩浸漬させ、モノマー成分およびグルコースを除去することで、金ゲート電極上に、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成された、超薄膜のポリマー層を作製した。

作製されたポリマー層の厚さを目視にて測定したところ、およそ200 nmと判断された。

[0073] (製造例3：ATRP法による超薄膜分子鑄型ポリマー層の作成)

1 mMビス [2 - (2 - ブロモイソブチリロキシ) ウンデシル] ジスルフィド/エタノール溶液に電極を浸漬させることで重合開始分子を金基板上に作製した。次にN - 3 - (ジメチルアミノ) プロピルメタクリルアミド0.4 gと、N, N' - メチレンビスアクリルアミド0.04 gと、ビニルフェニルボロン酸0.4 gと、グルコース0.2 gを超純水で全量2 gに調整後、ジメチルホルムアミドを2 g加え、溶解させ、窒素を通すことで脱気を行った。その後、10 mM臭化銅 (I) および60 mMトリス [2 - (ジメチルアミノ) エチル] アミンを400  $\mu$ l 加え、次に200 mMアスコルビン酸50  $\mu$ l を加えた。この溶液中に重合開始分子が導入された金基板を浸漬し、真空下、40℃にて18時間重合反応させることで金電極上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ゲート電極を0.1 M塩酸/メタノール溶液に一晩浸漬させ、モノマー成分およびグルコースを除去することで、金ゲート電極上に、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成された、ポリマー層を作製した。

作製されたポリマー層の厚さを目視にて測定したところ、およそ200 nmと判断された。

[0074] 製造例1～3、比較製造例1に記載の方法によって製造されたバイオセン

サは、いずれもグルコースを選択的に検出した（データ図示せず）。

[0075] （原子間力顕微鏡（AFM）を用いたポリマー層の膜厚測定）

製造例1、2および3で得られたポリマー層の厚さを正確に測定するため、原子間力顕微鏡（AFM）を用いた膜厚測定を行った。製造例1、2および3で得られたポリマー層を付与した金基板に対してナイフで傷をつけ、ポリマー層と金基板表面の段差を、大気中で、原子間力顕微鏡（AFM）を用いて測定した。結果を図2に示す。

[0076] 図2は、製造例1のポリマー層と金基板のAFM画像および断面プロファイルである。図5に示すように、（a）で示される部分がポリマー層を除去し露出した金基板部分であり（b）が形成したポリマー層を示している。断面プロファイルからポリマー層と金基板の段差は平均30nm程度であった。製造例2、3で得られたポリマー層についても同様に測定した結果、ポリマー層の厚さは平均30nm程度であった。

[0077] 実施例1

実施例1においては、製造例1に記載の方法で作製した超薄膜分子鑄型ポリマー層を備えるグルコースセンサと、比較製造例1に記載の方法で作製した分子鑄型ポリマー層を備えるグルコースセンサを用いて実験を行った。

[0078] （通電開始後のゲート表面電位の安定化時間の評価）

まずは、上記グルコースセンサのゲート部分に100mMリン酸ナトリウム緩衝液（pH9.0）1500 $\mu$ l加え、金ゲート電極とジャンクションFETを接続し、FETリアルタイム計測装置（オプトジェネシス社製）にてゲート電圧0V、ソースドレイン電流700 $\mu$ Aを一定として、通電を開始してからのゲート表面電位が安定するまでの時間を測定した。

通電開始からのゲート表面電位の安定化までの時間についての結果を図3に示す。図3は、製造例1または比較製造例1の装置において、通電開始からゲート表面電位の安定化までの時間を比較したグラフである。図3の縦軸は、分子識別部材の表面電位の変化（V）を示し、横軸は、計測時間（秒）を示している。

図3に示すように、実施例1に示したゲート表面電位は数秒～数十秒で一定の値に安定することが分かった。一方で比較例1に示したデバイスにおいてはゲート表面電位が安定するまでに1000秒から1500秒要することが分かった。

[0079] すなわち、超薄膜の分子鑄型ポリマー層を備える本発明のバイオセンサは、従来法によって作製された分子鑄型ポリマー層を備えるバイオセンサと比較して、通電からゲート表面電位が安定化するまでの時間（すなわち、測定装置のスイッチをオンにしてから、装置が測定開始可能な状態になるまでの時間）が極めて短く、実用性に優れた装置であることが示された。

[0080] (検出速度の評価結果)

次に、各グルコースセンサにおいて、リン酸ナトリウム緩衝液に、濃度100mMのグルコース溶液を15 $\mu$ l加え、ゲート電極表面電位の変化を観察した。

図4は、製造例1または比較製造例1の装置において、グルコース溶液を添加した際のゲート表面電位の変化を示す。

図4に示すように、製造例1の方法で作製した超薄膜分子鑄型ポリマー層を含むグルコースセンサにおいては、ゲート表面電位の変化が200秒までに完了し、その後は安定した。一方、比較製造例1の方法で作製した分子鑄型ポリマー層を含むグルコースセンサにおいては、600秒経過してもゲート表面電位が変化し続けた。

[0081] すなわち、超薄膜の分子鑄型ポリマー層を備える本発明のバイオセンサは、従来法によって作製された分子鑄型ポリマー層を備えるバイオセンサと比較して、測定開始から測定完了までの時間が極めて短く、この点からも、実用性に優れた装置であることが示された。

[0082] 実施例2

実施例2においては、製造例2に記載の方法で作製した超薄膜分子鑄型ポリマー層を備えるグルコースセンサと、製造例3に記載の方法で作製した超薄膜分子鑄型ポリマー層を備えるグルコースセンサを用いて実験を行った。

製造例2および製造例3は、製造例1の分子鑄型ポリマー層と、ポリマー層の作製に用いたモノマーの組成が異なる。

[0083] (低濃度グルコースの検出)

上記グルコースセンサのゲート部分に100mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH9.0)500 $\mu$ l加え、金ゲート電極とジャンクションFETを接続し、FETリアルタイム計測装置(オプトジェネシス社製)にてゲート電圧0V、ソースドレイン電流700 $\mu$ Aを一定として、ゲート表面電位が安定化するまで静置した。ゲート表面電位が安定化した後、リン酸ナトリウム緩衝液に、各濃度のグルコース溶液を添加した。

[0084] 低濃度グルコースを添加した時の応答結果を図5に示す。図5に示すように、製造例2および製造例3に記載の方法で作製された超薄膜分子鑄型ポリマー層を備えるグルコースセンサでは、最も低い濃度である10 $\mu$ Mにおいてもゲート表面電位変化が観察された。

[0085] すなわち、超薄膜の分子鑄型ポリマー層を備える本発明のバイオセンサは、従来法によって作製された分子鑄型ポリマー層を備えるバイオセンサと比較して、測定対象物の測定感度が極めて高いことが示された。

[0086] なお、各体液中のグルコース濃度は、血液では2.8mM~28mM程度、汗では140 $\mu$ M~220 $\mu$ M程度、尿では6.7mM以上、唾液50 $\mu$ M~500 $\mu$ M程度であることが知られている。すなわち、本発明を用いることにより、これらの体液に含まれる微量の物質(例えばグルコース)を検出可能であることが示された。

[0087] (製造例4: ATRP法による超薄膜分子鑄型ポリマー層の作製)

1mMビス[2-(2-ブロモイソブチリロキシ)ウンデシル]ジスルフィド/エタノール溶液に、金電極がスパッタされたガラス基板を浸漬させることで、金電極上に重合開始分子を結合させた。

次に、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、ビニルフェニルボロン酸0.02gと、N,N'-メチレンビスアクリルアミド0.02

gと、グルコース0.009gを6.7% (wt/wt) アクリル酸ナトリウム (pH 6.8) で全量1gに調整した後、1gのジメチルホルムアミドを加え、完全に溶解した後、10mM臭化銅 (I) および20mM 2', 2' ビピリジル水溶液を100 $\mu$ l加え、次に200mMアスコルビン酸50 $\mu$ lを加えた。

この溶液中に、重合開始分子が結合された金電極を備えるガラス基板を溶液に対して下向きに浸漬させ、真空下、40 $^{\circ}$ Cにて6時間重合反応させることで金電極上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ゲート電極を0.1M塩酸/メタノール溶液に一晩浸漬させ、モノマー成分およびグルコースを除去することで、金ゲート電極上に、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鋳型が形成された、超薄膜のポリマー層を作製した。

作製されたポリマー層の厚みを、エリプソメータを用いて測定したところ、およそ10nmであった。

[0088] (製造例5: ATRP法による超薄膜分子鋳型ポリマー層の作成)

1mMビス [2-(2-ブロモイソブチリロキシ) ウンデシル] ジスルフィド/エタノール溶液に、金電極がスパッタされたガラス基板を浸漬させることで、金電極上に重合開始分子結合させた。

次に、N-3-(ジメチルアミノ) プロピルメタクリルアミド0.1gと、エチレングリコールジメタクリレート0.4gと、ビニルフェニルボロン酸0.4gと、グルコース0.2gを超純水で全量2gに調整後、ジメチルホルムアミドを2g加え、溶解させ、窒素を通すことで脱気を行った。その後、10mM臭化銅 (I) および60mM トリス [2-(ジメチルアミノ) エチル] アミンを400 $\mu$ l加え、次に200mMアスコルビン酸50 $\mu$ lを加えた。

この溶液中に、重合開始分子が結合された金電極を備えるガラス基板を浸漬させ、真空下、40 $^{\circ}$ Cにて6時間重合反応させることで金電極上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ゲート電極を0.1M塩酸/メタノール溶液に一晩浸漬させ、モノマー成分およびグルコースを除去することで、

金ゲート電極上に、グルコースの分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成された、超薄膜のポリマー層を作製した。

作製されたポリマー層の厚みを、エリプソメータを用いて測定したところ、およそ10nmであった。

[0089] 実施例3

製造例4および5は、製造例1～3と、ポリマー層の作製に用いたモノマー組成が異なる。

製造例4および5において作製した薄膜分子鑄型ポリマー層を備える金基板をFETと配線で接続し、実施例3において用いるグルコースセンサとした（センサの他の構成は実施例1、2と同様）。

[0090] まずは、上記グルコースセンサのゲート部分に100mMリン酸ナトリウム緩衝液（pH9.0）500 $\mu$ l加え、FETリアルタイム計測装置にてゲート電圧0V、ソースドレイン電流90 $\mu$ Aを一定として、通電を開始してからのゲート表面電位が安定した後、各濃度のグルコース溶液を添加した。

[0091] グルコースを各濃度添加した際のFETにおけるゲート表面電位変化についての結果を図6に示す。図6は、製造例4または5の装置において、経時的なゲート表面電位をプロットしたグラフである。図6の縦軸は、分子識別部材の表面電位の変化（mV）を示し、横軸は、計測時間（秒）を示している。

[0092] 図6に示すように、製造例4および5において作製した分子鑄型ポリマー層を備えるグルコースセンサは、20nMという極めて低濃度のグルコースに対しても応答を示すことが分かった。

[0093] 図7は、図6において各濃度のグルコースに応答したFETのゲート表面電位の変化量を濃度ごとにプロットし、ラングミュワーの吸着等温式に近似させたグラフである。図7に示すように、今回の実験における測定結果は、ナノモル／リットルオーダーにおいてバラツキや誤差が少なく近似されていた。すなわち、本発明のグルコースセンサは、極めて低濃度のグルコース

に対する定量性も有することが分かった。

[0094] すなわち、本発明のバイオセンサは、従来法によって作製された分子鑄型ポリマー層を備えるバイオセンサと比較して、涙や唾液中等の体液に含まれる極めて希薄なグルコースを検出するに十分な感度を有する、実用性に優れた装置であることが示された。

[0095] なお、製造例4および製造例5で得られたポリマー層の膜厚はエリプソメータ(M2000、ジェイ・エー・ウーラム社製)を用いて測定された。その結果、重合開始分子を金電極上に結合させたときの膜厚が1~1.5nmであり、ATRP法による分子鑄型ポリマー層の膜厚は8~25nmであった。

[0096] (製造例6：ATRP法による超薄膜分子鑄型ポリマー層の作成)

本製造例においては、ドーパミンを鑄型とした超薄膜分子鑄型ポリマー層を作製した例を示す。

[0097] 1mMビス[2-(2-ブロモイソブチリロキシ)ウンデシル]ジスルフィド/エタノール溶液に、金電極がスパッタされたガラス基板を浸漬させることで、金電極上に重合開始分子結合させた。

次に、N-3-(ジメチルアミノ)プロピルメタクリルアミド0.051gと、エチレングリコールジメタクリレート0.476gと、ビニルフェニルボロン酸0.044gと、ドーパミン0.057gを超純水1mlとジメチルホルムアミド2mlを加えて溶解させ、窒素を通すことで脱気を行った。その後、臭化銅(II)1.4mgおよびトリス[2-(ジメチルアミノ)エチル]アミン18mg、そしてアスコルビン酸11mgを加えた。

この溶液中に、重合開始分子が結合された金電極を備えるガラス基板を浸漬させ、真空下、室温にて18時間重合反応させることで金電極上にハイドロゲルを作製した。重合反応終了後、ゲート電極を0.1M塩酸/メタノール溶液に一晩浸漬させ、モノマー成分およびグルコースを除去することで、金ゲート電極上に、ドーパミンの分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成された、超薄膜のポリマー層を作製した。

[0098] 実施例 4

製造例 6 において作製した薄膜分子鑄型ポリマー層を備える金基板を F E T と配線で接続し、実施例 4 において用いるドーパミンセンサとした（センサの他の構成は実施例 1、2 と同様）。比較例として、上記製造例 6 におけるモノマー溶液からドーパミンを除いた、分子鑄型なしのポリマー層を金ゲート電極上に有するセンサを作製した。

[0099] まずは、上記のドーパミンセンサのゲート部分にリン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4）を 500  $\mu$ l 加え、金ゲート電極と M O S F E T を接続し、F E T リアルタイム計測装置にてゲート電圧 0 V、ソースドレイン電流 90  $\mu$ A を一定として、通電を開始してからのゲート表面電位が安定した後、各濃度のドーパミン溶液を添加した。

[0100] ドーパミンを各濃度添加した際の F E T におけるゲート表面電位変化についての結果を図 8 に示す。図 8 は、製造例 6 で作成した、ドーパミンを鑄型とする分子鑄型ポリマーを有するセンサと、分子鑄型なしのポリマー層を有するセンサ（比較例）における、経時的なゲート表面電位をプロットしたグラフである。図 8 の縦軸は、分子識別部材の表面電位の変化（mV）を示し、横軸は、計測時間（秒）を示している。

[0101] 図 8 に示すように、製造例 6 において作製した分子鑄型ポリマーを備えるドーパミンセンサは、10 nM という極めて低濃度のドーパミンに対しても応答を示すことが分かった。

[0102] 図 9 は、図 8 において各濃度のドーパミンに応答した F E T のゲート表面電位の変化量を濃度ごとにプロットしたグラフである。図 9 に示すように、ドーパミン添加濃度が上昇するにつれて、分子鑄型ポリマーを備えるセンサにおけるゲート表面電位変化量と、鑄型無しのゲルを備えるセンサにおけるゲート表面電位変化量に差が生じていることが明らかとなった。

[0103] すなわち、本発明のバイオセンサは、グルコース以外の生体分子も選択的にかつ高感度に検出することができる、実用性に優れた装置であることが示された。

## 符号の説明

- [0104] 100 : グルコースセンサ  
101 : FETデバイス  
102 : ゲート絶縁膜  
103 : 金属電極  
104 : 配線  
105 : 基板  
106 : 金属ゲート電極  
107 : 分子鑄型ポリマー層  
108 : 参照電極  
109 : ガラスリング  
110 : 緩衝液

## 請求の範囲

- [請求項1] 検出対象物質と結合することができる識別物質と、前記識別物質の電荷を帯電する電極とを備え、前記検出対象物質が前記識別物質に結合することにより生じる前記電極の電荷密度の変化を検出するバイオセンサにおいて、
- 前記電極の表面の全部又は一部には、検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成されたポリマー層が形成されており、
- 前記ポリマー層には前記識別物質を含み、
- 前記ポリマー層は超薄膜層であることを特徴とする、
- バイオセンサ。
- [請求項2] 請求項1に記載のバイオセンサであって、
- 前記超薄膜層は、厚さが1  $\mu\text{m}$ 以下の薄膜層であることを特徴とする、
- バイオセンサ。
- [請求項3] 請求項1または2に記載のバイオセンサであって、
- 前記ポリマー層は、
- (a) : 1または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識別物質、を含むモノマー溶液を前記電極の表面の全部又は一部において重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層であるポリマー層を形成させるステップ、および、
- (b) : 前記ステップ(a)の後、前記ポリマー層から前記検出対象物質を除去することにより、前記ポリマー層に前記検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型を形成させるステップ、を含む方法によって形成されることを特徴とする、
- バイオセンサ。
- [請求項4] 請求項3に記載のバイオセンサであって、
- 前記モノマー溶液の重合が、リビングラジカル重合、または、電解

重合であることを特徴とする、  
バイオセンサ。

[請求項5] 請求項4に記載のバイオセンサであって、  
前記リビングラジカル重合は、原子移動ラジカル重合（A T R P）、可逆的付加-開裂連鎖移動重合（R A F T）、または、ニトロキシドを介した重合（NMP）であることを特徴とする、  
バイオセンサ。

[請求項6] 請求項5に記載のバイオセンサであって、  
前記リビングラジカル重合は、原子移動ラジカル重合（A T R P）であり、  
前記ステップ（a）に先立って、重合開始分子が電極の表面の全部又は一部にあらかじめ結合されていることを特徴とする、  
バイオセンサ。

[請求項7] 請求項3に記載のバイオセンサであって、  
前記ステップ（a）が、1または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識別物質、を含むモノマー溶液を、スピコートを用いて電極の表面の全部又は一部に適用し、適用されたモノマー溶液を重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層のポリマー層を形成させるステップ、であることを特徴とする、  
バイオセンサ。

[請求項8] 請求項1～7のいずれか1項に記載のバイオセンサであって、  
前記電極が、金電極、銀電極、銅電極、または、白金電極であることを特徴とする、  
バイオセンサ。

[請求項9] 請求項3～8のいずれか1項に記載のバイオセンサであって、  
前記モノマー溶液が、アクリルアミド誘導体、メタクリルアミド誘導体、アクリレート誘導体、メタクリレート誘導体、アクリロニトリル、2-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、N-ビニル-2-ピ

ロリドンおよび酢酸ビニルからなる群から選択される少なくとも1種類のモノマーを含むことを特徴とする、

バイオセンサ。

[請求項10] 請求項1～9のいずれか1項に記載のバイオセンサであって、前記電極が、電界効果トランジスタのゲート絶縁膜に電氣的に接続されている

ことを特徴とするバイオセンサ。

[請求項11] 請求項10に記載のバイオセンサであって、前記電極は、前記電界効果トランジスタから離れて配置されており、

前記電極は、前記ゲート絶縁膜上に設けられた別の金属電極と配線を介して、前記ゲート絶縁膜に電氣的に接続されている

ことを特徴とするバイオセンサ。

[請求項12] 請求項10に記載のバイオセンサであって、

前記電極が、前記ゲート絶縁膜上に直接に載置されることにより、前記ゲート絶縁膜に電氣的に接続されている

ことを特徴とするバイオセンサ。

[請求項13] 請求項1～12のいずれか1項に記載のバイオセンサであって、

前記検出対象物質が生体由来の物質、環境中の物質、または、食品中の物質であることを特徴とする、

バイオセンサ。

[請求項14] 請求項13に記載のバイオセンサであって、

前記生体由来の物質が、体液由来の物質であることを特徴とする、バイオセンサ。

[請求項15] 請求項14に記載のバイオセンサであって、

前記体液が、血液、リンパ液、組織液、体腔液、消化液、汗、涙、鼻汁、唾液、尿、精液、膿液、羊水、および、乳汁からなる群から選択されることを特徴とする、

バイオセンサ。

[請求項16]

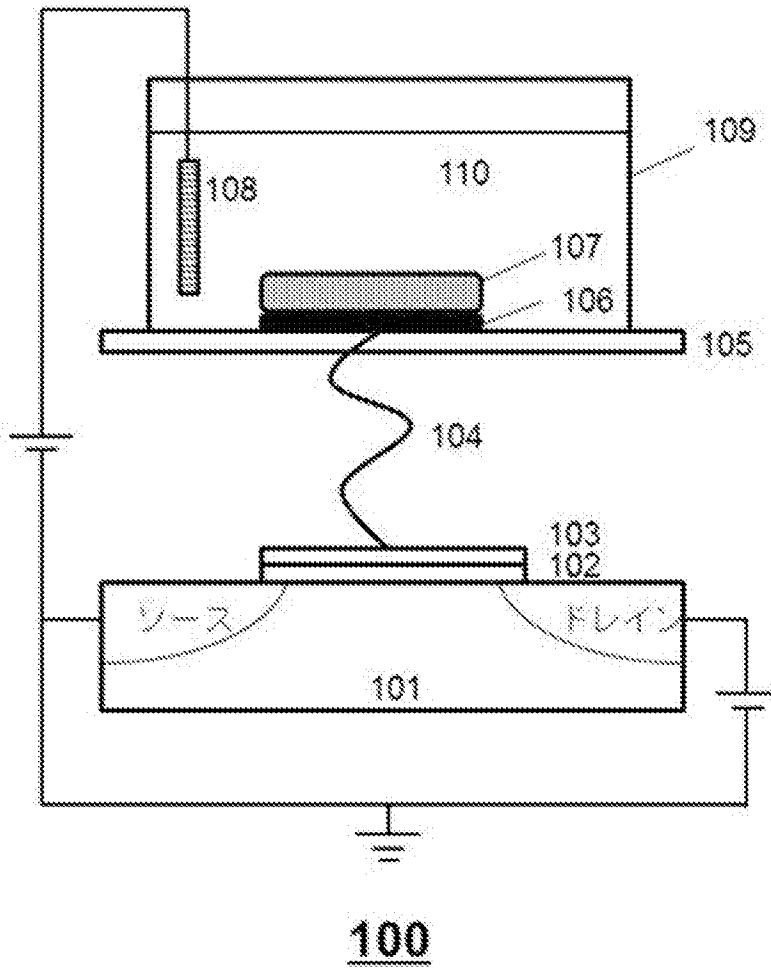
バイオセンサにおいて使用される電極であって、  
前記バイオセンサは、検出対象物質が識別物質に結合することにより生じる前記電極の電荷密度の変化を検出するバイオセンサであり、  
前記電極は、前記検出対象物質と結合することができる前記識別物質の電荷を帯電する電極であり、  
前記電極の表面の全部又は一部には、検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型が形成されたポリマー層が形成されており、  
前記ポリマー層には前記識別物質を含み、  
前記ポリマー層は超薄膜層であることを特徴とする、  
電極。

[請求項17]

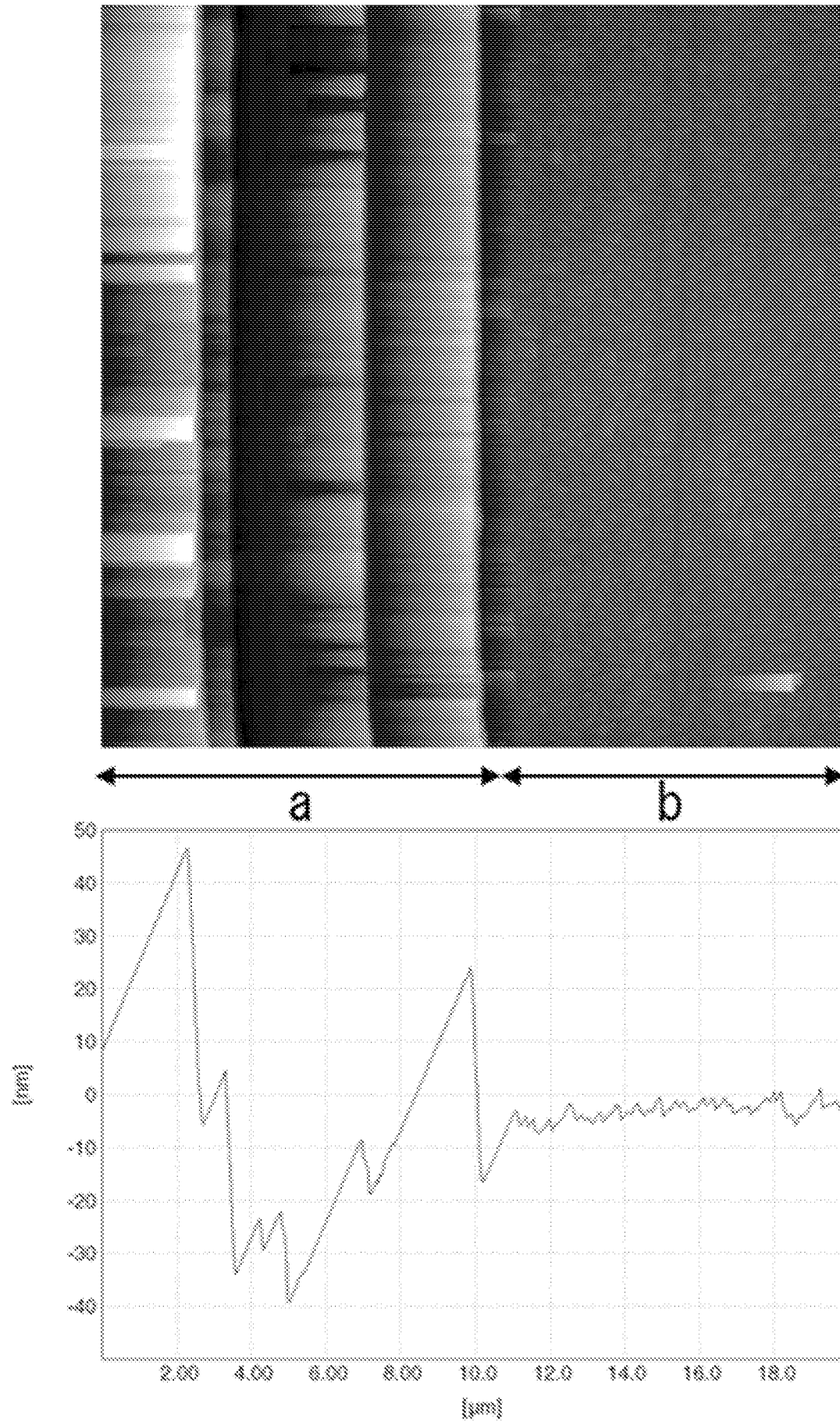
バイオセンサにおいて使用するための電極の製造方法であって、  
前記バイオセンサは、検出対象物質が識別物質に結合することにより生じる前記電極の電荷密度の変化を検出するバイオセンサであり、  
前記電極は、前記検出対象物質と結合することができる前記識別物質の電荷を帯電する電極であり、  
前記方法は、  
(a) : 1 または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識別物質、を含むモノマー溶液を、前記電極の表面の全部または一部において重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層であるポリマー層を形成させるステップ、および、  
(b) : 前記ステップ (a) の後、前記ポリマー層から前記検出対象物質を除去することにより、前記ポリマー層に前記検出対象物質の分子構造と相補的な構造を有する分子鑄型を形成させるステップ、を含むことを特徴とする、  
方法。

- [請求項18] 請求項17に記載の方法であって、  
前記超薄膜は、厚さが1  $\mu\text{m}$ 以下の薄膜であることを特徴とする、  
方法。
- [請求項19] 請求項17または18に記載の方法であって、  
前記ステップ(a)におけるモノマー溶液の重合が、リビングラジカル重合、または、電界重合であることを特徴とする、  
方法。
- [請求項20] 請求項19に記載の方法であって、  
前記リビングラジカル重合は、原子移動ラジカル重合(ATRP)、可逆的付加-開裂連鎖移動重合(RAFT)、または、ニトロキシドを介した重合(NMP)であることを特徴とする、  
方法。
- [請求項21] 請求項20に記載の方法であって、  
前記リビングラジカル重合は、原子移動ラジカル重合(ATRP)であり、  
前記ステップ(a)に先立って、重合開始分子を電極の表面の全部又は一部にあらかじめ結合させる工程を含むことを特徴とする、  
方法。
- [請求項22] 請求項17~21のいずれか1項に記載の方法であって、  
前記ステップ(a)が、1または複数種のモノマー、前記検出対象物質、および、前記識別物質、を含むモノマー溶液を、スピコートを用いて前記電極の表面の全部または一部に適用し、適用されたモノマー溶液を重合させることにより、前記電極の表面の全部または一部に超薄膜層のポリマー層を形成させるステップ、であることを特徴とする、  
方法。

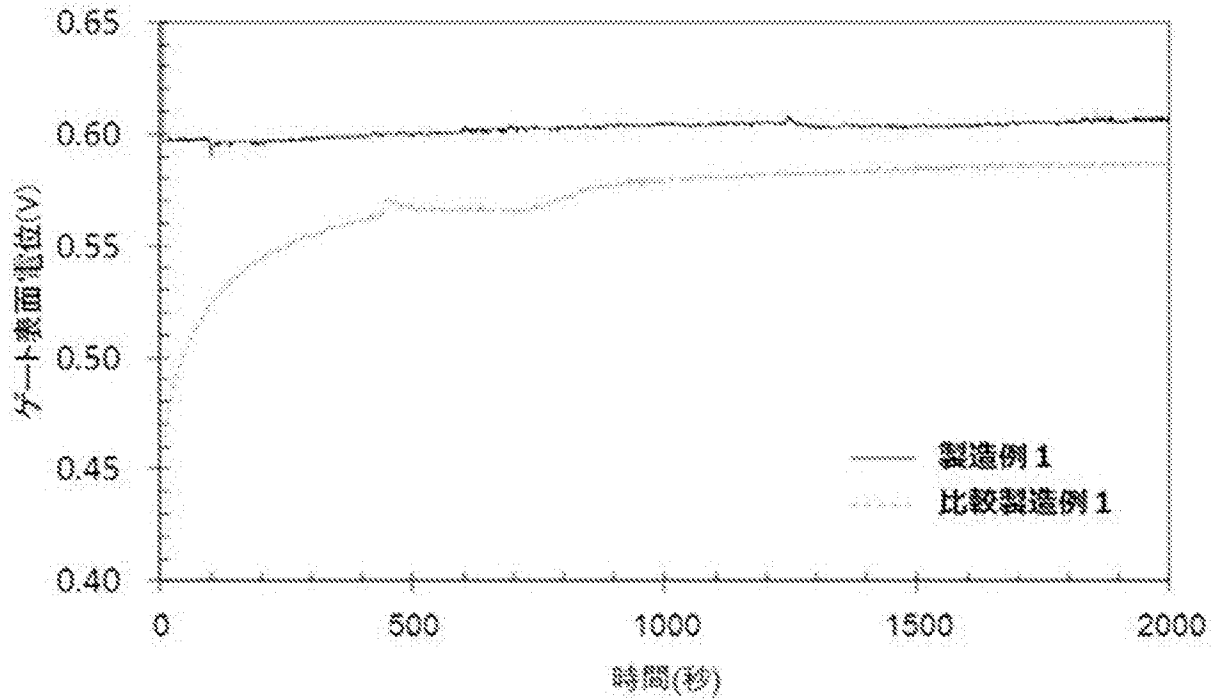
[図1]



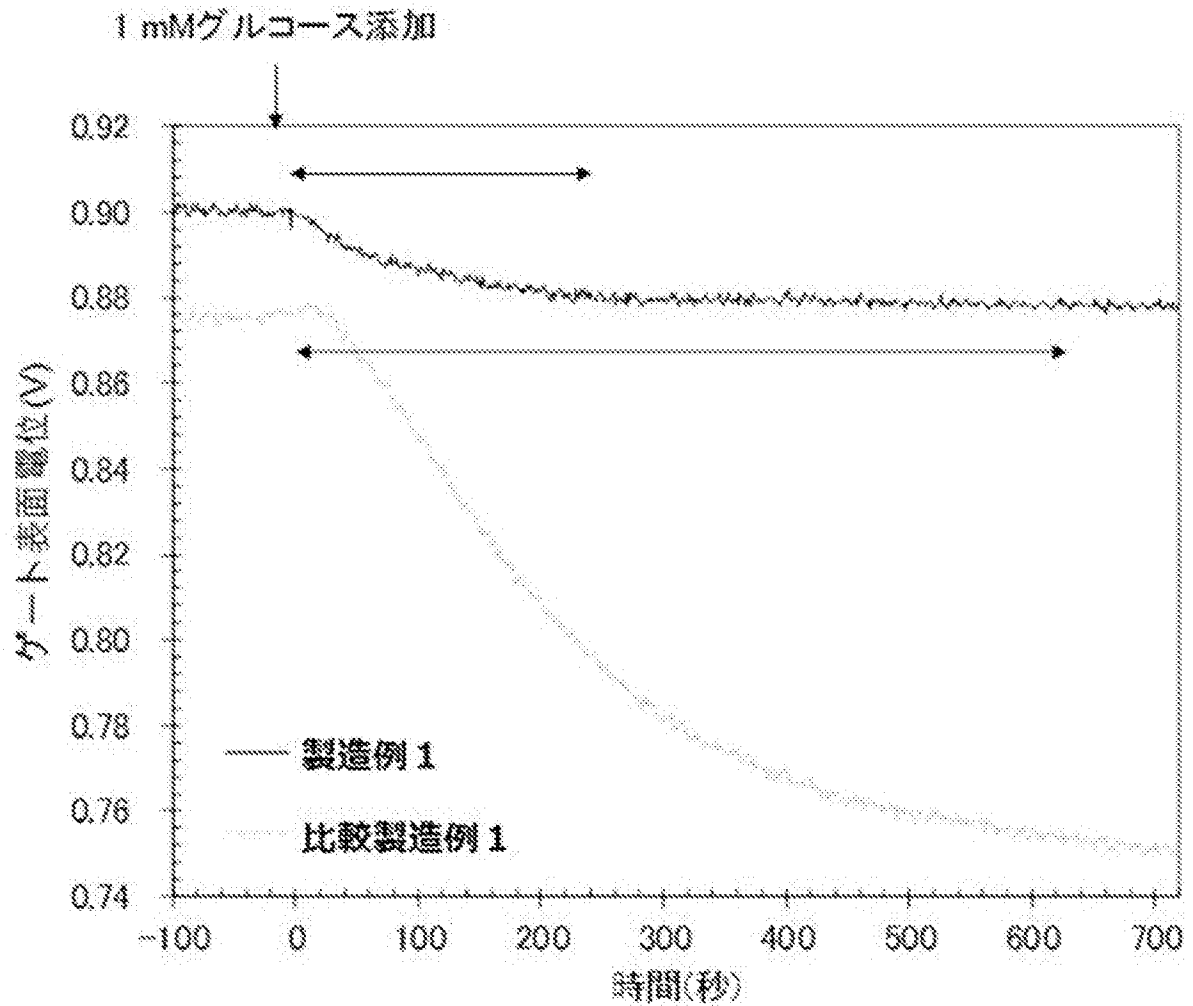
[図2]



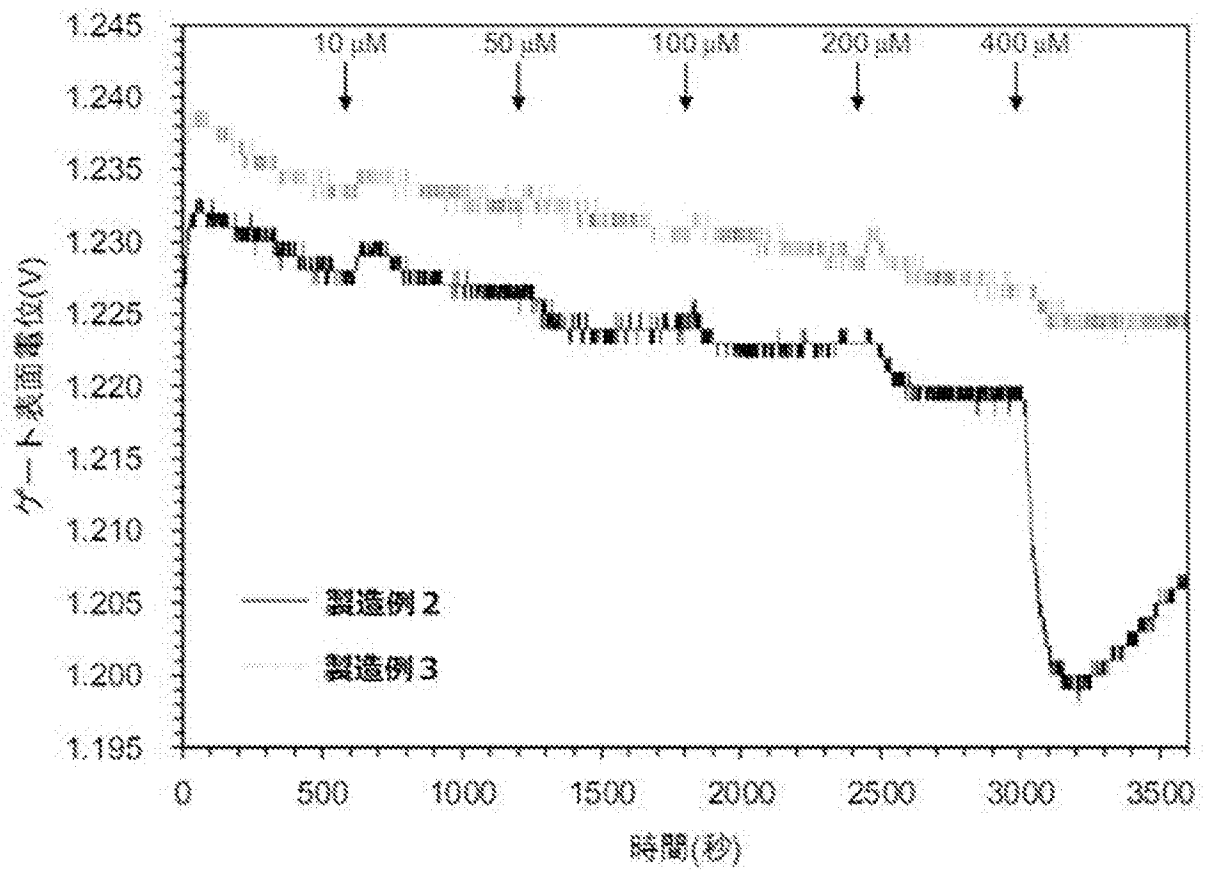
[図3]



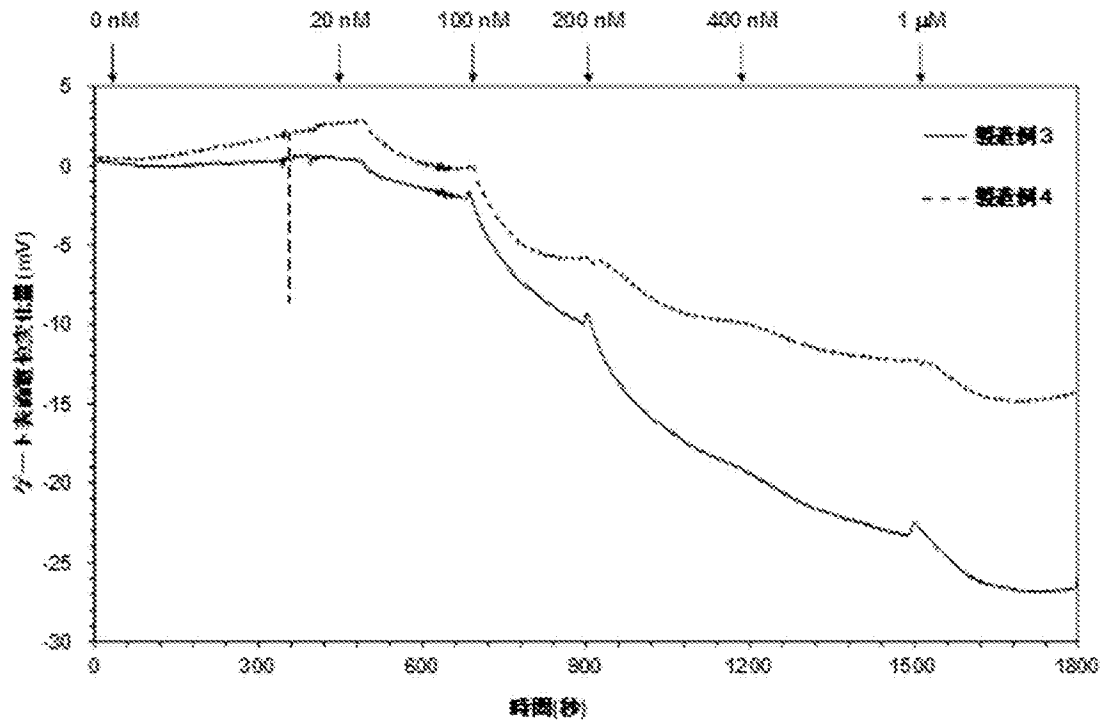
[図4]



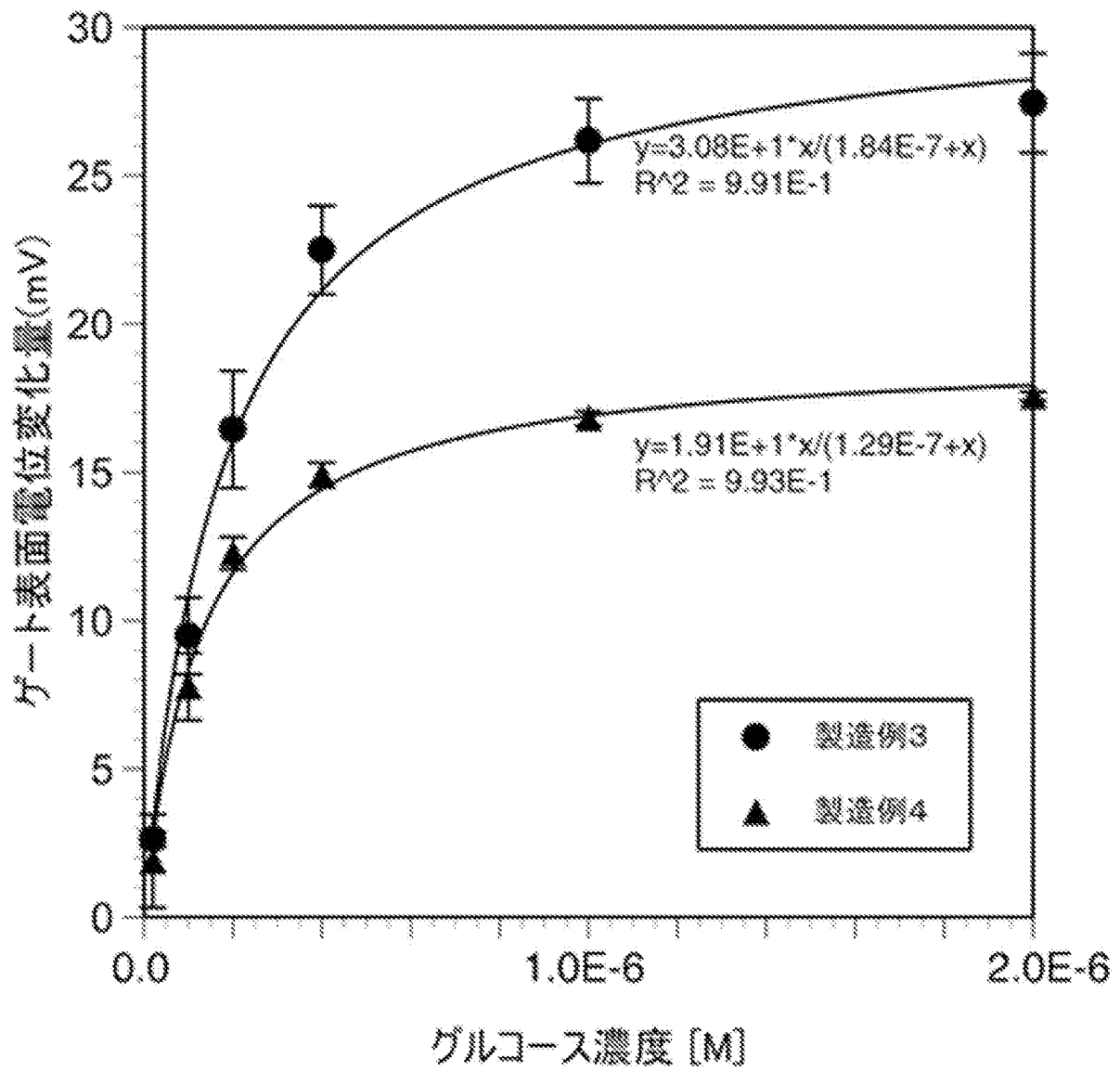
[図5]



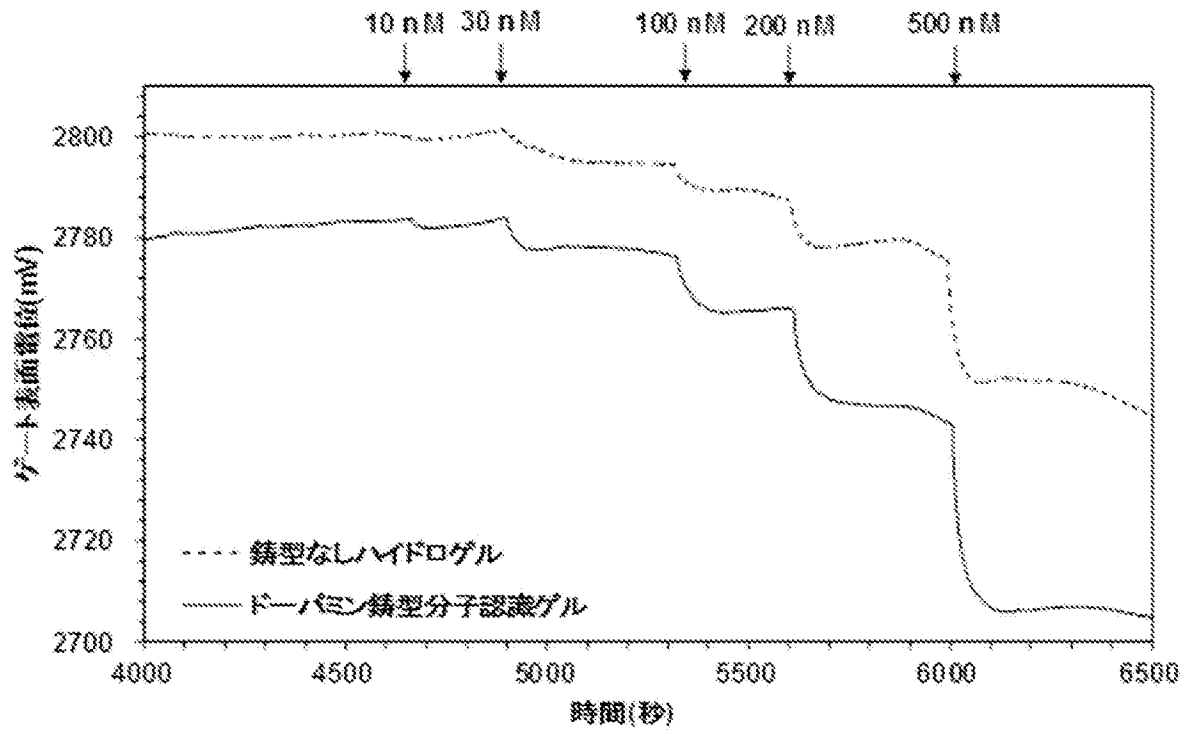
[図6]



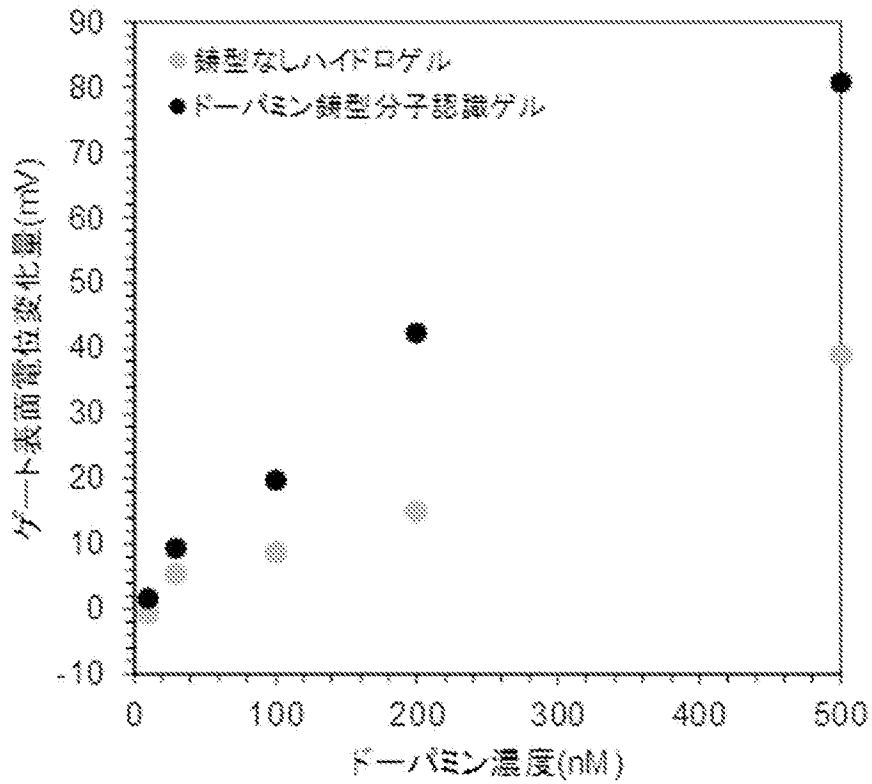
[図7]



[図8]



[図9]



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2017/006306

<p><b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>  <i>G01N27/414(2006.01) i, G01N27/416(2006.01) i</i></p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>											
<p><b>B. FIELDS SEARCHED</b></p> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  <i>G01N27/414, G01N27/416</i></p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  <i>Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017</i>  <i>Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017</i></p> <p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  <i>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)</i></p>											
<p><b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b></p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">Category*</th> <th style="width:70%;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="width:20%;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td align="center">Y</td> <td> <i>JP 2016-38384 A (The University of Tokyo),                      22 March 2016 (22.03.2016),                      claims; paragraphs [0028] to [0036], [0040],                      [0046] to [0049], [0056] to [0059]; fig. 1, 4                      &amp; US 2016/0169835 A1                      paragraphs [0023] to [0031], [0035], [0041] to                      [0044], [0052] to [0055]; fig. 1, 4                      &amp; WO 2015/020131 A1 &amp; EP 3032248 A1</i> </td> <td align="center">1-22</td> </tr> <tr> <td align="center">Y</td> <td> <i>JP 2012-242172 A (Canon Inc.),                      10 December 2012 (10.12.2012),                      paragraphs [0028] to [0032]                      &amp; US 2012/0293160 A1                      paragraphs [0035] to [0039]</i> </td> <td align="center">1-22</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	<i>JP 2016-38384 A (The University of Tokyo),                      22 March 2016 (22.03.2016),                      claims; paragraphs [0028] to [0036], [0040],                      [0046] to [0049], [0056] to [0059]; fig. 1, 4                      &amp; US 2016/0169835 A1                      paragraphs [0023] to [0031], [0035], [0041] to                      [0044], [0052] to [0055]; fig. 1, 4                      &amp; WO 2015/020131 A1 &amp; EP 3032248 A1</i>	1-22	Y	<i>JP 2012-242172 A (Canon Inc.),                      10 December 2012 (10.12.2012),                      paragraphs [0028] to [0032]                      &amp; US 2012/0293160 A1                      paragraphs [0035] to [0039]</i>	1-22
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.									
Y	<i>JP 2016-38384 A (The University of Tokyo),                      22 March 2016 (22.03.2016),                      claims; paragraphs [0028] to [0036], [0040],                      [0046] to [0049], [0056] to [0059]; fig. 1, 4                      &amp; US 2016/0169835 A1                      paragraphs [0023] to [0031], [0035], [0041] to                      [0044], [0052] to [0055]; fig. 1, 4                      &amp; WO 2015/020131 A1 &amp; EP 3032248 A1</i>	1-22									
Y	<i>JP 2012-242172 A (Canon Inc.),                      10 December 2012 (10.12.2012),                      paragraphs [0028] to [0032]                      &amp; US 2012/0293160 A1                      paragraphs [0035] to [0039]</i>	1-22									
<p><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.      <input type="checkbox"/> See patent family annex.</p>											
<p>* Special categories of cited documents:</p> <table style="width:100%;"> <tr> <td style="width:50%;"> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </td> <td style="width:50%;"> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p> </td> </tr> </table>			<p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p>							
<p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p>										
<p>Date of the actual completion of the international search                  15 May 2017 (15.05.17)</p>		<p>Date of mailing of the international search report                  23 May 2017 (23.05.17)</p>									
<p>Name and mailing address of the ISA/                  Japan Patent Office                  3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,                  Tokyo 100-8915, Japan</p>		<p>Authorized officer</p> <p>Telephone No.</p>									

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/006306

## 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 2013-512324 A (Cranfield University), 11 April 2013 (11.04.2013), claims; paragraphs [0020] to [0023] & US 2012/0270964 A1 claims; paragraphs [0056] to [0058]	4-6, 19-21
Y	JP 2012-246163 A (Canon Inc.), 13 December 2012 (13.12.2012), paragraphs [0022] to [0023], [0052] (Family: none)	4-6, 19-21
Y	JP 2007-313400 A (Sharp Corp.), 06 December 2007 (06.12.2007), claims (Family: none)	4-6, 19-21
Y	WO 2012/124800 A1 (Shibaura Institute of Technology), 20 September 2012 (20.09.2012), claims; paragraphs [0022] to [0023] & JP 5946139 B2	4-6, 19-21
Y	JP 63-21545 A (Toshiba Corp.), 29 January 1988 (29.01.1988), page 3, upper left column, lines 8 to 14 (Family: none)	7, 22

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. G01N27/414, G01N27/416		
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 1971-2017年 日本国実用新案登録公報 1996-2017年 日本国登録実用新案公報 1994-2017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
Y	JP 2016-38384 A (国立大学法人 東京大学) 2016.03.22, 特許請求の範囲、[0028]-[0036], [0040], [0046]-[0049], [0056]-[0059], 第1、4図 & US 2016/0169835 A1, [0023]-[0031], [0035], [0041]-[0044], [0052]-[0055], Fig. 1, Fig. 4 & WO 2015/020131 A1 & EP 3032248 A1	1-22
Y	JP 2012-242172 A (キヤノン株式会社) 2012.12.10, [0028]-[0032] & US 2012/0293160 A1, [0035]-[0039]	1-22
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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	15.05.2017	国際調査報告の発送日
		23.05.2017
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 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) 黒田 浩一 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2J 9218

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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 2013-512324 A (クランフィールド ユニヴァーシティー) 2013.04.11, 特許請求の範囲、[0020] - [0023] & US 2012/0270964 A1, CLAIMS, [0056]-[0058]	4-6, 19-21
Y	JP 2012-246163 A (キヤノン株式会社) 2012.12.13, [0022] - [0023], [0052] (ファミリーなし)	4-6, 19-21
Y	JP 2007-313400 A (シャープ株式会社) 2007.12.06, 特許請求の範 囲 (ファミリーなし)	4-6, 19-21
Y	WO 2012/124800 A1 (学校法人 芝浦工業大学) 2012.09.20, 特許請 求の範囲、[0022] - [0023] & JP 5946139 B2	4-6, 19-21
Y	JP 63-21545 A (株式会社東芝) 1988.01.29, 第3頁左上欄第8 - 1 4行 (ファミリーなし)	7, 22