

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02016/063858

発行日 平成29年8月10日 (2017. 8. 10)

(43) 国際公開日 平成28年4月28日 (2016. 4. 28)

| (51) Int. Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|-------------------------|--------------|-------------|
| GO 1 N 27/00 (2006. 01) | GO 1 N 27/00 | Z 2 GO 6 0 |
| GO 1 N 27/02 (2006. 01) | GO 1 N 27/02 | E |

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 28 頁)

| | |
|---|--|
| 出願番号 特願2016-555224 (P2016-555224) | (71) 出願人 504139662 国立大学法人名古屋大学 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番 |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP2015/079532 | |
| (22) 国際出願日 平成27年10月20日 (2015. 10. 20) | |
| (31) 優先権主張番号 特願2014-214090 (P2014-214090) | (71) 出願人 504176911 国立大学法人大阪大学 大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号 |
| (32) 優先日 平成26年10月20日 (2014. 10. 20) | |
| (33) 優先権主張国 日本国 (JP) | |
| (31) 優先権主張番号 特願2015-78223 (P2015-78223) | (74) 代理人 100167689 弁理士 松本 征二 |
| (32) 優先日 平成27年4月7日 (2015. 4. 7) | |
| (33) 優先権主張国 日本国 (JP) | (72) 発明者 馬場 嘉信 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番 国立大 学法人名古屋大学内 |
| | (72) 発明者 加地 範匡 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番 国立大 学法人名古屋大学内 |

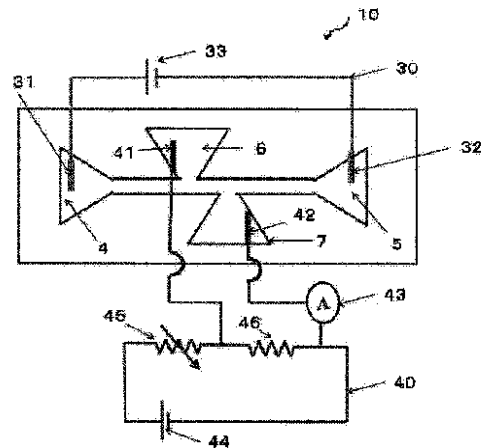
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 電気測定装置

(57) 【要約】

定常電流の変化のみではなく過渡電流の発生も読み取ること、高感度検出ができるように設計した電気測定用チップ、及び該電気測定用チップを含む電気測定装置を提供する。

基板、該基板上に形成したサンプル移動流路及びサンプル測定流路を含み、前記サンプル測定流路は、前記サンプル移動流路に接続する第 1 測定流路、及び前記第 1 測定流路とは反対側から前記サンプル移動流路に接続する第 2 測定流路を含む、電気測定用チップ。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

基板、該基板上に形成したサンプル移動流路及びサンプル測定流路を含み、前記サンプル測定流路は、前記サンプル移動流路に接続する第 1 測定流路、及び前記第 1 測定流路とは反対側から前記サンプル移動流路に接続する第 2 測定流路を含む、電気測定用チップ。

【請求項 2】

前記第 1 測定流路及び前記第 2 測定流路の幅が、前記サンプル移動流路と接続している部分の長さより、前記サンプル移動流路から離れるにしたがって長くなる請求項 1 に記載の電気測定用チップ。

【請求項 3】

前記第 1 測定流路及び前記第 2 測定流路が、前記サンプル移動流路を挟んで非対称の位置に形成されている請求項 1 又は 2 に記載の電気測定用チップ。

【請求項 4】

前記サンプル移動流路に狭窄部が少なくとも 1 以上形成されている請求項 1 ~ 3 の何れか一項に記載の電気測定用チップ。

【請求項 5】

前記サンプル移動流路の一端に形成されたサンプル投入流路、前記サンプル移動流路の他端に形成されたサンプル回収流路を含む、請求項 1 ~ 4 の何れか一項に記載の電気測定用チップ。

【請求項 6】

前記第 1 測定流路及び前記第 2 測定流路に換え、第 1 測定電極及び第 2 測定電極が形成されている請求項 1 ~ 5 の何れか一項に記載の電気測定用チップ。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 5 の何れか一項に記載の電気測定用チップ、サンプルがサンプル移動流路を移動できるようにするための駆動回路、第 1 測定流路及び第 2 測定流路に電圧を印加し、サンプルがサンプル移動回路を移動する際の電流の変化を測定する測定回路、を含む電気測定装置。

【請求項 8】

請求項 6 に記載の電気測定用チップ、サンプルがサンプル移動流路を移動できるようにするための駆動回路、第 1 測定電極及び第 2 測定電極に電圧を印加し、サンプルがサンプル移動回路を移動する際の電流の変化を測定する測定回路、を含む電気測定装置。

【請求項 9】

前記測定回路が、前記駆動回路と前記測定回路の抵抗を釣り合った状態にするための可変抵抗を含み、

前記測定回路が、釣り合った状態からの電流の差分を測定する請求項 7 又は 8 に記載の電気測定装置。

【請求項 10】

前記測定回路が、過渡電流及び定常電流の変化を測定する請求項 7 ~ 9 の何れか一項に記載の電気測定装置。

【請求項 11】

蛍光顕微鏡を更に含む請求項 7 ~ 10 の何れか一項に記載の電気測定装置。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、電気測定用チップ、及び電気測定装置に関し、特に、細胞、菌、ウイルス、DNA 等のサンプルがマイクロ流路を流れる際に、定常電流の変化のみではなく過渡電流

10

20

30

40

50

の発生も読み取ることで、高感度検出ができるように設計した電気測定用チップ、及び該電気測定用チップを含む電気測定装置に関する。

【背景技術】

【0002】

溶液中に含まれる細胞、菌、花粉、PM_{2.5}等のサンプルの大きさ、個数等を正確に測定することは、健康な生活を送る上で大切な情報であり、近年、ますます測定精度の向上が望まれている。また、生物化学の分野では、DNA断片をそのまま分析する分析チップの開発が望まれている。

【0003】

図1は、サンプルの大きさや個数等の測定方法の従来技術を示しており、シリコン等の基板上に形成した細孔（マイクロポア）にサンプルを通過させ、細孔に印加した電圧によって細孔の内部を流れる定常電流が変化する様子から細胞の大きさ、硬さを解析している（非特許文献1参照）。図1に示す従来の測定方法は、細孔の体積が小さい程感度が向上することが知られている。細孔の体積を減らすためには直径を小さくするとともに基板を薄くする必要があり、そのため、測定の際には図1に示すように基板は縦置きにして使用されている。

10

【0004】

また、細孔を通過するサンプルの状態をより詳しく測定するため、マイクロ流路を形成した基板を横置きにすることで細孔部分を蛍光顕微鏡で観察できるようにし、定常電流の測定に加え細孔の周りの事象を直接観察する方法も知られている（非特許文献2参照）。図2は、非特許文献2のFig. 1を示している。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Waseem A. et al., Lab on a Chip, Vol. 12, pp. 2345 - 2352 (2012)

【非特許文献2】Naoya Y. et al., "Tracking single-particle dynamics via combined optical and electrical sensing", SCIENTIFIC REPORTS, Vol. 3, pp. 1 - 7 (2013)

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、図1に示す方法では、得られる情報が定常電流の変化の信号のみであり、細孔を通過したサンプルの判別は電流値の強弱などから推察するに留まる。そのため、複数のサンプルが細孔に流れ込む場合や、測定するサンプルが生体分子等の形状が球体以外又は変化し易い場合などは、詳細な解析が難しいという問題がある（問題1）。

【0007】

また、非特許文献1に記載されている方法は、サンプルを駆動させるための駆動回路と、細孔をサンプルが通過する際の電流変化を測定する測定回路が同じになっている。一般的に、印加電圧を大きくすることで測定感度を上げることができるが、駆動回路と測定回路が同じ場合、印加電圧を大きくすると測定回路の電流計に負荷がかかり過ぎ、高感度検出ができないという問題がある（問題2）。

40

【0008】

更に、サンプルが細孔を通過する時間は、サンプルの表面電荷、変形能等に影響されるため、特に生体分子解析においては非常に重要な情報である。しかしながら、従来法の感度では、細孔内の定常電流の緩やかな変化を読みとることしか出来ず、印加電圧によって加速されたサンプルが短い細孔を通過する時間を読み取るには誤差が大きかった。加えて、核酸等の細長い形状の生体分子を測定する場合、生体分子を伸長状態で細孔に導入する必要はあるが、そのためには、生体分子を伸長状態にするためのガイド流路が必要となる

50

。しかしながら、ガイド流路を設けることは細孔部分の体積を増加することになり、感度の低下が避けられないという問題がある（問題3）。

【0009】

一方、図2に示すように、基板を横置きにして蛍光顕微鏡で観察することで、上記（問題1）を解決することができる。しかしながら、非特許文献2に記載されている方法は、ポンプの圧力により液体中に分散したサンプルが基板上に形成された細孔を通過するように設計されている。ポンプの圧力で液体中に分散したサンプルを流す場合、測定感度を上げる為に細孔のサイズを小さくすればするほど、液体が細孔を流れにくくなる。勿論、ポンプの圧力を大きくすることで液体を流すこともできるが、圧力を大きくし過ぎると、細孔部分が破損する恐れがある。また、非特許文献2に記載されているポンプの圧力でサンプルを流す方法では、核酸やタンパク質を流すことはできないという問題がある。更に、非特許文献2に記載されている方法も、非特許文献1に記載されている方法と同様に、感度を上げる為には細孔の体積を小さくする必要があり、上記（問題3）を解決することができないという問題がある。

10

【0010】

本発明は、上記従来の問題を解決するためになされた発明であり、鋭意研究を行ったところ、

(1) サンプルを流すことができるサンプル移動流路を形成し、該サンプル移動流路に接続する第1測定流路及び前記第1測定流路とは反対側から前記サンプル移動流路に接続する第2測定流路を形成することで、サンプルの駆動回路と測定回路を別回路として設計できること、

20

(2) サンプルの駆動回路と測定回路を別回路とすることで、駆動回路の電圧を高く設定することで検出感度を高めることができ、従来はノイズに埋もれていた過渡電流を測定できること、

(3) 測定回路に可変抵抗を組み込むと、より高感度検出が可能となり過渡電流をより精度良く測定できること、

(4) 過渡電流を読み取ることで、サンプル移動流路へのサンプルの入出タイミングを正確に測定することができ、その結果、サンプルの通過速度を計算することでサンプルの表面電荷及び変形能を測定できること、

(5) 過渡電流とは別に、第1測定流路及び第2測定流路間の定常電流の変化を測定できることから、従来細孔と異なりサンプル移動流路を長く設計することができ、サンプル移動流路内でサンプルの伸長状態を作り出して核酸やタンパク質等の生体分子を測定できること、を新たに見出した。

30

【0011】

すなわち、本発明の目的は、定常電流の変化のみではなく過渡電流の発生も読み取ることで、高感度検出ができるように設計した電気測定用チップ、及び該電気測定用チップを含む電気測定装置を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明は、以下に示す、電気測定用チップ、及び該電気測定用チップを含む電気測定装置に関する。

40

【0013】

(1) 基板、該基板上に形成したサンプル移動流路及びサンプル測定流路を含み、前記サンプル測定流路は、前記サンプル移動流路に接続する第1測定流路、及び前記第1測定流路とは反対側から前記サンプル移動流路に接続する第2測定流路を含む、電気測定用チップ。

(2) 前記第1測定流路及び前記第2測定流路の幅が、前記サンプル移動流路と接続している部分の長さより、前記サンプル移動流路から離れるにしたがって長くなる上記(1)に記載の電気測定用チップ。

(3) 前記第1測定流路及び前記第2測定流路が、前記サンプル移動流路を挟んで非対称

50

の位置に形成されている上記(1)又は(2)に記載の電気測定用チップ。

(4)前記サンプル移動流路に狭窄部が少なくとも1以上形成されている上記(1)~(3)の何れかーに記載の電気測定用チップ。

(5)前記サンプル移動流路の一端に形成されたサンプル投入流路、前記サンプル移動流路の他端に形成されたサンプル回収流路を含む、上記(1)~(4)の何れかーに記載の電気測定用チップ。

(6)前記第1測定流路及び前記第2測定流路に換え、第1測定電極及び第2測定電極が形成されている上記(1)~(5)の何れかーに記載の電気測定用チップ。

(7)上記(1)~(5)の何れかーに記載の電気測定用チップ、

サンプルがサンプル移動流路を移動できるようにするための駆動回路、

第1測定流路及び第2測定流路に電圧を印加し、サンプルがサンプル移動回路を移動する際の電流の変化を測定する測定回路、
を含む電気測定装置。

(8)上記(6)に記載の電気測定用チップ、

サンプルがサンプル移動流路を移動できるようにするための駆動回路、

第1測定電極及び第2測定電極に電圧を印加し、サンプルがサンプル移動回路を移動する際の電流の変化を測定する測定回路、
を含む電気測定装置。

(9)前記測定回路が、前記駆動回路と前記測定回路の抵抗を釣り合った状態にするための可変抵抗を含み、

前記測定回路が、釣り合った状態からの電流の差分を測定する上記(7)又は(8)に記載の電気測定装置。

(10)前記測定回路が、過渡電流及び定常電流の変化を測定する上記(7)~(9)の何れかーに記載の電気測定装置。

(11)蛍光顕微鏡を更に含む上記(7)~(10)の何れかーに記載の電気測定装置。

【発明の効果】

【0014】

本発明の電気測定用チップは、サンプルを流すことができるサンプル移動流路を形成し、該サンプル移動流路に接続する第1測定流路及び前記第1測定流路とは反対側から前記サンプル移動流路に接続する第2測定流路を形成している。

そのため、本発明の電気測定用チップを用いた電気測定装置は、サンプルの駆動回路と測定回路を別回路として設計できるので、駆動回路の電圧を高く設定し、検出感度を高めることができるので過渡電流も正確に読み取ることができる。更に、測定回路に可変抵抗を組み込むと、駆動回路と測定回路が釣り合った状態からの差分を読み取ることができるので、検出感度をより高めることができる。

そして、本発明の電気測定装置は、過渡電流を読み取ることでサンプル移動流路へのサンプルの入出タイミングを正確に測定でき、通過速度からサンプルの表面電荷及び変形能を測定することが可能となる。また、過渡電流とは別に、第1測定流路及び第2測定流路間の定常電流の変化を測定できることから、従来の細孔と異なりサンプル移動流路を長く設計することができ、サンプル移動流路内で核酸やタンパク質等の生体分子の伸長状態を作り出して測定することが可能となる。

更に、本発明の電気測定チップは横置きで使用できることから、蛍光顕微鏡観察と組み合わせることで、より正確な分析をすることができる。

また、サンプル移動流路に狭窄部を設けることで、同種の細胞であっても変形能が異なる細胞を測定することができる。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】図1は、サンプルの大きさや個数等の測定方法の従来技術を示している。

【図2】図2は、非特許文献2のFig. 1を示している。

【図3】図3は、本発明の電気測定用チップ1の概略を説明する図である。

10

20

30

40

50

- 【図 4】図 4 は、本発明の電気測定用チップ 1 の他の実施形態を示している。
- 【図 5】図 5 は、第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 に代え、第 1 電極及び第 2 電極で形成した電気測定用チップ 1 の概略を説明する図である。
- 【図 6】図 6 は、本発明の電気測定用チップ 1 の他の実施形態を示している。
- 【図 7】図 7 は、図 4 の A - A' 断面図で、電気測定用チップ 1 の製造工程の一例を示している。
- 【図 8】図 8 は、本発明の電気測定用チップ 1 の他の製造工程を示す図である。
- 【図 9】図 9 は、本発明の電気測定用チップ 1 を用いた電気測定装置 10 の概略を示す図である。
- 【図 10】図 10 は、本発明の電気測定装置 10 を用いてサンプルを測定する際の、電気測定チップ 1 上のサンプルの位置と測定できる電流値の関係を説明する図である。 10
- 【図 11】図 11 は、電気測定用チップ 1 の他の実施形態を示す図である。
- 【図 12】図 12 は、図面代用写真で、図 12 (1) は、実施例 1 で作製した電気測定用チップ 1 の写真、図 12 (2) は、第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 付近の拡大写真である。
- 【図 13】図 13 は、図面代用写真で、図 13 (1) は、実施例 2 で作製した電気測定用チップ 1 の第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 付近の拡大写真、図 13 (2) は、実施例 3 で作製した電気測定用チップ 1 の第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 付近の拡大写真である。
- 【図 14】図 14 (1) は、実施例 4 における測定時間と測定された定常電流値の関係を 20
示すグラフ、図 14 (2) は、実施例 5 における測定時間と測定された定常電流値の関係を
示すグラフ、図 14 (3) は、実施例 6 における測定時間と測定された定常電流値の
関係を示すグラフである。
- 【図 15】図 15 は、実施例 3 の電気測定用チップ 1 を用いた場合、ピークを 2 つ測定した理由を説明する図である。
- 【図 16】図 16 は、サンプル移動流路 3 を流れるサンプルの位置の連続写真、及びサンプルが流れる際の定常電流値の変化 (シグナル強度) と蛍光強度の変化を示す写真及びグラフである。
- 【図 17】図 17 は、実施例 8 で測定した定常電流値の変化 (シグナル強度) を示すグラフ 30
である。
- 【図 18】図 18 は、実施例 8 で測定した結果に基づき作製したサンプルの体積と定常電流値の変化 (シグナル強度) を示すグラフである。
- 【図 19】図 19 は、駆動回路の電圧とサンプルがサンプル移動流路を通過する時間の関係を 40
示す図である。
- 【図 20】図 20 (1) は、図面代用写真で、実施例 12 で作製した電気測定用チップ 1 のサンプル移動流路付近の拡大写真、図 20 (2) は実施例 12 で作製した電気測定用チップ 1 のサンプル移動流路付近の寸法を説明するための図である。図 20 (3) は、定常電流値のヒストグラムで、各定常電流値においてカウントされた細胞数の分布を示すグラフである。
- 【図 21】図 21 (1) は、図面代用写真で、サンプル移動流路 3 の狭窄部 34 付近の 40
拡大写真である。図 21 (2) は、サンプル移動流路 3 と狭窄部 34 の長さ及び幅を説明するための図である。
- 【図 22】図 22 (1) は、図 21 に示すチップの左から右側に He L a 細胞を流した時の各幅の流路に入った時間 (i n) と出た時間 (o u t)、及び定常電流値の変化を示すグラフである。図 22 (2) は、He L a 細胞を逆方向に流した時の各幅の流路に入った時間 (i n) と出た時間 (o u t)、及び定常電流値を示すグラフである。
- 【図 23】図 23 (1) は、図面代用写真で、実施例 14 で作製した電気測定用チップ 1 のサンプル移動流路 3 の狭窄部 34 付近の拡大写真である。図 23 (2) は、実施例 14 の定常電流値と通過時間の関係を示すグラフである。
- 【発明を実施するための形態】 50

【0016】

以下に、本発明の電気測定用チップ、及び電気測定装置について詳しく説明する。まず、本発明において、「定常電流」とは測定回路に定常的に流れているイオン電流を意味する。また、「過渡電流」とは、測定回路に瞬間的に流れるイオン電流を意味する。

【0017】

図3は、本発明の電気測定用チップ1の概略を説明する図である。図3に示す電気測定用チップ1は、基板2、基板2上に形成されたサンプル移動流路3、サンプル移動流路3の一端に接続するサンプル投入流路4、サンプル移動流路3の他端に接続するサンプル回収流路5、サンプル移動流路3に接続する第1測定流路6、及び第1測定流路6とは反対側からサンプル移動流路3に接続する第2測定流路7を含んでいる（以下、基板上に形成した流路を纏める場合は、単に「流路」と記載することがある。）。第1測定流路6及び第2測定流路7でサンプル測定流路を形成する。

10

【0018】

サンプル移動流路3の幅及び深さは、サンプルのサイズより大きければ特に制限は無いが、測定感度を上げる為には、サンプルのサイズより大き過ぎないように適宜調整することが好ましい。例えば、空気中のPM_{2.5}の直径は約2.5 μ mであるので、サンプル移動流路3の幅及び深さは、3 μ m程度の大きさであればよい。また、スギ花粉の直径は約20~40 μ m、ヒノキ花粉の直径は28 μ m~45 μ m程度とされているので、幅及び深さは約50 μ m程度であればよい。勿論、上記の数値は目安であって、サンプルがさらに大きな場合は、幅及び深さを100 μ m、150 μ m、200 μ m等、サンプルのサイズに応じて大きくしてもよい。幅及び深さの下限値は、現在の微細加工技術では約4nmが限界であるが、技術の進歩により、更に小さくしてもよい。

20

【0019】

サンプル投入流路4及びサンプル回収流路5は、サンプル駆動回路の電極を投入できる大きさであって、サンプルを含む液体（以下、サンプルを含む液体を「サンプル液」と記載することがある。）を投入及び回収できれば大きさ及び形状に特に制限は無いが、深さはサンプル移動流路3と同じにすることが望ましい。なお、サンプル移動回路3にサンプルが効率よく流入できるようにするため、サンプル投入流路4及びサンプル回収流路5は、サンプル移動回路3に向かって幅が狭くなるテーパ状にしてもよい。

【0020】

第1測定流路6及び第2測定流路7は、後述するサンプル測定回路の電極を夫々に投入して測定回路を構成し、定常電流の変化及び過渡電流を測定（以下、定常電流の変化及び過渡電流を測定することを「電流の変化を測定」と記載することがある。）するために用いられる。第1測定流路6及び第2測定流路7の大きさ及び形状は、サンプル測定回路の電極を投入できる大きさであれば特に制限は無いが、測定感度を高くするためには、抵抗を少なくすることが好ましい。サンプル液で満たされた流路の抵抗値は、サンプル液の抵抗率と流路の長さの積を、流路の断面積で割った値となる。したがって、流路の幅を大きくするほど面積が大きくなり、抵抗を少なくすることができる。そのため、第1測定流路6及び前記第2測定流路7の幅は、サンプル移動流路3と接続している部分の長さLより、サンプル移動流路3から離れるにしたがって長くなることが好ましい。第1測定流路6及び第2測定流路7の形状は同じであっても異なってもよいが、第1測定流路6及び第2測定流路7の形状が異なると、測定して得られるシグナルも非対称となる。そのため、測定したシグナルから物の形状等、より精度の高い測定をする場合は、第1測定流路6及び第2測定流路7を同じ形状にすることが好ましい。

30

40

【0021】

なお、図3では、第1測定流路6及び第2測定流路7を略台形状にすることで、第1測定流路6及び第2測定流路7の幅をLより長くしているが、第1測定流路6及び第2測定流路7の幅がサンプル移動流路3から離れるにしたがって長くなれば形状に特に限定は無い。例えば、図4は、本発明の電気測定用チップ1の他の実施形態を示しており、図4に示すように、半円形状とすることで、サンプル移動流路3から離れるにしたがって長くす

50

るようにしてもよい。

【 0 0 2 2 】

第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 の深さは、サンプル移動流路 3 の深さと同じにすればよい。また、長さ L は、短い程感度が良くなることから、微細加工技術で作製可能な程度まで短くすればよい。一方、長さ L が長すぎると、サンプルがサンプル移動流路 3 から第 1 測定流路 6 又は第 2 測定流路 7 に流れ込む恐れがあるので、長さ L はサンプル移動流路 3 の幅より短い方が好ましく、測定対象サンプルのサイズより短くすることがより好ましい。

【 0 0 2 3 】

図 5 は、第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 に代え、第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 を形成した電気測定用チップ 1 の概略を説明する図である。第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 を形成する場合は、第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 を形成する必要は無く、サンプル移動流路 3 が形成された基板 2 上に、導電性の材料をサンプル移動流路 3 に接する位置まで塗布すればよい。電気測定用チップ 1 の使用時にはガラス板等で蓋をすることから、サンプル移動流路 3 の中はサンプル液で満たされる。そのため、基板 2 上に第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 を形成してもサンプル液に導通できる。

【 0 0 2 4 】

第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 の材料としては、アルミニウム、銅、白金、金、銀、チタン等の公知の導電性金属を用いればよい。また、第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 は基板 2 上をマスクして前記材料を蒸着することで作製すればよい。第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 を形成して電極を挿入する形態と比較して、第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 を形成する場合は抵抗を少なくできる。そのため、サンプル移動流路 3 に印加する電圧を低くすることができる。サンプル移動流路 3 と電極との接続部分の長さは第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 と同様にすればよい。また、相対する第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 の形状は同じにすることが望ましい。上記のとおり第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 の場合は抵抗を少なくできることから、図 3 及び図 4 に示すようにサンプル移動流路 3 から離れるにしたがって第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 の幅を長くしてもよいが、長方形等、同じ幅であってもよい。

【 0 0 2 5 】

ところで、がん細胞の転移は、細胞の変形能が重要な役割を果たしていることが知られている。また、寿命や血中のコレステロールにより赤血球の変形能が低下すること、分化前の幹細胞は変形しやすいことが知られている。図 6 は、本発明の電気測定用チップ 1 の他の実施形態を示しており、サンプル移動流路 3 に狭窄部 3 4 を形成している。サンプルが狭窄部 3 4 を通過する際に、サンプルの変形能が異なると、狭窄部 3 4 を通過する際の細胞の変形具合が異なる。そのため、同種のサンプルであっても、通過時間や波形を調べることで、サンプルの変形能を測定することができる。図 3 ~ 5 に示す電気測定用チップ 1 においても、サンプルの変形能が高ければ、サンプル移動流路 3 を変形しながら流れる為、サンプルの通過時間や波形を調べることで変形能を測定することはできるが、図 6 に示す電気測定用チップ 1 の方が、サンプルの変形能をより詳しく測定できる。狭窄部 3 4 の幅は、測定対象サンプルの変形能を測定することから、少なくとも測定対象サンプルより小さくすることが好ましく、測定対象サンプルの大きさの 50% ~ 90% とすることが好ましく、60% ~ 80% 程度とすることがより好ましい。また、狭窄部 3 4 の深さは特に制限はなく、サンプル移動流路 3 と同様とすればよい。なお、狭窄部 3 4 は、幅及び / 又は深さをサンプルより小さくすればよいので、例えば、幅はサンプル移動流路 3 と同じにして、深さを測定対象サンプルの大きさの 50% ~ 90%、より好ましくは 60% ~ 80% 程度としてもよい。或いは、幅及び深さの両方を、測定対象サンプルの大きさの 50% ~ 90%、より好ましくは 60% ~ 80% 程度としてもよい。

【 0 0 2 6 】

なお、図 6 に示す電気測定用チップ 1 は狭窄部 3 4 を一か所形成した例を示しているが、狭窄部 3 4 は 2 か所以上形成してもよい。また、狭窄部 3 4 を 2 か所以上形成する場合

10

20

30

40

50

は、各々の狭窄部 3 4 の幅は同じであっても異なってもよい。また、図 6 に示す電気測定用チップ 1 は第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 を設けているが、図 5 に示す第 1 測定電極 6 1 及び第 2 測定電極 7 1 としてもよい。

【0027】

電気測定用チップ 1 は、微細加工技術を用いて製造することができる。図 7 は、図 4 の A - A ' 断面図で、電気測定チップ 1 の製造工程の一例を示している。

- (1) 基板 2 の上に、エッチング可能な材料 8 を化学蒸着で塗布する。
- (2) ポジ型フォトレジスト 9 をスピコートで塗布する。
- (3) 流路を形成する個所に光が照射するように、フォトマスクを用いて露光・現像処理し、流路を形成する部分のポジ型フォトレジスト 9 を除去する。なお、図 3、図 5 及び図 6 に示す電気測定用チップ 1 を作製する際には、フォトマスクの形状を変えればよい。
- (4) 流路を形成する個所の材料 8 をエッチングし、流路を形成する。
- (5) ポジ型フォトレジスト 9 を除去する。

10

【0028】

基板 2 は、半導体製造技術の分野で一般的に用いられている材料であれば特に制限はない。基板 2 の材料としては、例えば、Si、Ge、Se、Te、GaAs、GaP、GaN、InSb、InP 等が挙げられる。

【0029】

ポジ型フォトレジスト 9 としては、TSMR V50、PMER 等、半導体製造分野で一般的に使用されているものであれば特に制限はない。また、ポジ型に代え、ネガティブ型フォトレジストを用いてもよく、SU-8、KMPR 等、半導体製造分野で一般的に使用されているものであれば特に制限はない。フォトレジストの除去液は、ジメチルホルムアミドとアセトン等、半導体分野で一般的な除去液であれば特に制限はない。

20

【0030】

基板 2 の上に堆積し、流路及び流路以外を形成する材料 8 としては、絶縁性の材料であれば特に制限は無く、例えば、SiO₂、Si₃N₄、BPSG、SiON 等が挙げられる。なお、図 7 に示す製造工程は、エッチング可能な材料 8 を用いて流路を形成しているが、材料 8 として、上記のポジ型フォトレジストやネガティブ型フォトレジスト等の感光性樹脂を用いてもよい。感光性樹脂を用いる場合は、基板 2 上に感光性樹脂を塗布し、流路を形成できる形状のフォトマスクを用い、露光・現像により、感光性樹脂で流路を形成すればよい。

30

【0031】

図 8 は、本発明の電気測定用チップ 1 の他の製造工程を示す図である。図 7 に示す製造工程は、エッチングにより流路を形成しているが、図 8 に示す製造工程では、鋳型を転写することで電気測定用チップ 1 を作製できる。

- (1) フォトマスクの形状を変えることで、転写後に流路を形成する凸部 8 を基板 2 上に形成し、鋳型を作製する。
- (2) 鋳型を、転写用の材料 2 1 に転写する。
- (3) 鋳型を剥離することで、流路が形成された電気測定用チップ 1 を作製する。

40

【0032】

鋳型を転写する材料 2 1 としては、ポリジメチルシロキサン (PDMS)、ポリメチルメタクリレート (PMMA)、ポリカーボネート (PC)、硬質ポリエチレン製のプラスチック等の絶縁性材料が挙げられる。なお、転写して作製した電気測定用チップ 1 は、取扱いの利便性を向上するため、ガラス、プラスチック等の補助基板に貼り付けてもよい。

【0033】

図 7 及び図 8 に示す製造工程で作製した電気測定用チップ 1 を用いて測定する際に、蛍光顕微鏡で観察する場合には、基板 2、材料 8、鋳型を転写する材料 2 1、補助基板は、光透過性材料で形成することが望ましい。

【0034】

50

また、電気測定用チップ 1 は、サンプル液が流れやすくするために親水化処理をしてもよい。親水化処理方法としては、プラズマ処理、界面活性剤処理、PVP（ポリビニルピロリドン）処理、光触媒等が挙げられ、例えば、電気測定用チップ 1 の流路が形成されている面を 10～30 秒間プラズマ処理することで、表面に水酸基を導入することができる。

【0035】

図 9 は、本発明の電気測定用チップ 1 を用いた電気測定装置 10 の概略を示す図である。電気測定装置 10 は、電気測定用チップ 1 に加え、駆動回路 30、及び測定回路 40 を含んでいる。

【0036】

駆動回路 30 は、サンプル投入流路 4 に挿入する第 1 電極 31 及びサンプル回収流路 5 に挿入する第 2 電極 32、電圧印加手段 33 を含んでいる。第 1 電極 31 及び第 2 電極 32 は、電気を通す材料であれば特に制限は無く、例えば、アルミニウム、銅、白金、金、銀、チタン等の公知の導電性金属を用いればよい。なお、図 9 に示す例では、第 1 電極 31 をサンプル投入流路 4 に、第 2 電極をサンプル回収流路 5 に挿入しているが、第 1 電極 31 及び第 2 電極 32 は、サンプル投入流路 4 及びサンプル回収流路 5 に形成し、電線で繋いでもよい。電圧印加手段 33 は、駆動回路 30 に電圧を印加してサンプルを移動できれば特に制限は無いが、電池ボックス等、ノイズを出しにくいものが好ましい。

【0037】

なお、図 9 に示す実施形態では、電気測定用チップ 1 のサンプル投入流路 4 及びサンプル回収流路 5 に電極 31 及び 32 を投入してサンプルを移動させているが、サンプルが移動できれば他の実施形態であってもよい。例えば、サンプル回収流路 5 の一部に孔をあけ、シリコンチューブの一端をサンプル回収流路 5 に接続し他端をシリジポンプ等の吸引器に接続することで、駆動回路 30 に加え、吸引力によりサンプルを移動させてもよい。細胞等の大きなサンプルを用いる場合に有用である。また、サンプル投入流路 4 及びサンプル回収流路 5 を設けなくてもよい。その場合、サンプル移動流路 3 の両端に孔を形成し、駆動回路 30 の第 1 電極 31 及び第 2 電極 32 もサンプル移動回路 3 に挿入すればよい。更に、必要に応じて、サンプル移動流路 3 の一端の孔には上記と同様の吸引器を設け、他端の孔にはシリコンチューブの一端を接続し、当該シリコンチューブの他端をサンプル液容器に接続することで、駆動回路 30 に加え、吸引力によりサンプルを移動してもよい。

【0038】

測定回路 40 は、第 1 測定流路 6 に挿入する第 3 電極 41 及び第 2 測定流路 7 に挿入する第 4 電極 42、電流計 43 を少なくとも含んでおり、第 3 電極 41 及び第 4 電極 42 からの電流を電流計 43 で測定すればよい。また、駆動回路 30 と測定回路 40 の電圧を釣り合わせた状態にし、釣り合った状態からの電流の差分を検出することでより高感度検出を行う場合は、測定回路 40 に電圧印加手段 44、可変抵抗 45、抵抗 46、更に、必要に応じて増幅手段を含ませることで、電流の差分のみを測定できるようにしてもよい。

【0039】

第 3 電極 41 及び第 4 電極 42 は、第 1 電極 31 及び第 2 電極 32 と同様の材料で作製すればよく、また、第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 に形成して電線で繋いでもよい。電圧印加手段 44 は、電圧印加手段 33 と同様に、電池ボックス等を用いればよい。電流計 43 も一般的に使用されている電流計を用いればよい。増幅手段も、一般的に使用されているアンプを用いればよい。第 1 測定電極 61 及び第 2 測定電極 71 を形成する場合は第 3 電極 41 及び第 4 電極 42 は不要で、第 1 測定電極 61 及び第 2 測定電極 71 と電流計 43 を電線で接続すればよい。

【0040】

本発明では、可変抵抗 45 及び抵抗 46 を用いることで、サンプル移動流路 3 中の第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 に挟まれている部分の電位差と、抵抗 46 の電位差を釣り合わせた状態にし、サンプルがサンプル移動流路 3 に入った際の過渡電流の発生及び定常電

10

20

30

40

50

流の変化を、釣り合った状態からのズレとして測定することができるので、検出感度を高めることができる。本発明に使用できる可変抵抗 4 5 及び抵抗 4 6 は、市販されているものを用いればよい。

【0041】

図 10 は、本発明の電気測定装置 10 を用いてサンプルを測定する際の、電気測定チップ 1 上のサンプルの位置と測定できる電流値の関係を説明する図である。まず、測定の前に、PBS、リン酸バッファー、TBE バッファー等の緩衝液を毛管現象で流路に導入し、次いで、サンプル液をサンプル投入流路 4 に投入する。次に、駆動回路 30 に電圧を印加すると、サンプルが、サンプル回収流路 5 に向けて移動する。サンプル投入流路 4 とサンプル移動流路 3 の境界付近（図 10 中の a の位置）にサンプルが移動すると、測定回路 40 は先ず過渡電流を測定する。次に、サンプルが、a の位置からサンプル移動流路 3 と第 1 測定流路 6 の接続部分（図 10 中の b の位置）の付近に移動するまで、定常電流の変化を読み取る。そして、サンプルが、b の位置からサンプル移動流路 3 と第 2 測定流路 7 の接続部分（図 10 中の c の位置）から出るまでの間は、より大きな定常電流の変化を測定する。そして、サンプルが、c の位置からサンプル移動流路 3 とサンプル回収流路 5 の境界付近（図 10 中の d の位置）に移動するまで、定常電流の変化を読み取り、そして、サンプルがサンプル回収回路 5 に出る際に、測定回路 40 は過渡電流を測定する。

10

【0042】

図 10 に示すように、本発明の電気測定チップ 1 を用いてサンプルを測定すると、サンプルがサンプル移動流路 3 に入る時と出る時の過渡電流を測定することで、サンプルがサンプル移動流路 3 を移動（図 10 中の a ~ d）する時間を正確に測定することができる。したがって、サンプルの表面電荷や変形能を測定することができる。なお、サンプル移動流路 3 に狭窄部 3 4 を設けた場合の波形は、後述する実施例において説明する。

20

【0043】

また、サンプルの粒径、形状は、サンプルが、第 1 測定流路 6 とサンプル移動流路 3 の接続部分から第 2 測定流路 7 とサンプル移動流路 3 の接続部分までの間（図 10 中の b ~ c）の定常電流の変化の大きさで測定することができる。したがって、サンプル移動流路 3 の長さに比較して、サンプルの定常電流の変化を測定する長さが短いことから、測定感度を維持することができる。更に、第 1 測定流路 6 と第 2 測定流路 7 の間以外のサンプル移動流路 3 はガイド流路として利用することができることから、測定感度を維持したまま、DNA 等の細長い分子を伸長状態で測定することが可能となる。

30

【0044】

上記のとおり、本発明の電気測定装置 10 は、サンプルがサンプル移動流路 3 を通過する間の定常電流の変化を測定し、特に、サンプルが第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 の間を移動している時の定常電流のより大きな変化を測定している。したがって、第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 は、サンプル移動流路 3 の両端部に近い非対称となる位置に形成してもよいが、その場合、後述する実施例で示すとおりピーク時の波形は線状となることから第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 を形成する位置のズレを小さくすることが好ましい。なお、本発明において、位置の「ズレ」とは、第 1 測定流路 6 とサンプル移動流路 3 の接続部分の中間点と第 2 測定流路 7 とサンプル移動流路 3 の接続部分の中間点（図 10 中の ）を意味する。一方、後述する実施例で示すとおり、サンプル移動流路 3 を挟んだ対称となる位置に第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 を形成しても定常電流を測定することはできるが、定常電流の波形が割れることから、上記のとおり、非対称となる位置に形成することが好ましく、位置のズレを、第 1 測定流路 6 とサンプル移動流路 3 の接続部分の長さの半分 + 第 2 測定流路 7 とサンプル移動流路 3 の接続部分の長さの半分 + サンプルの大きさ、とすることがより好ましい

40

【0045】

図 11 は、電気測定用チップ 1 の他の実施形態を示す図である。図 3 ~ 図 6 に示す電気測定用チップ 1 のサンプル投入流路 4 及びサンプル回収流路 5 は単一の流路となっているが、図 11 に示すよう、サンプル投入流路 4 及びサンプル回収流路 5 を、複数の流路とし

50

て形成してもよい。サンプル投入流路 4 を複数の流路とすることで、例えば、異なるサンプルを夫々の流路に入れ、駆動回路の第 1 電極 3 1 及び第 2 電極 3 2 も夫々の流路に入れ、電圧を印加する電極を切り替えることで、異なるサンプルを連続分析して、サンプル回収流路に回収することができる。

【 0 0 4 6 】

なお、複数の流路は、サンプル投入流路 4 又はサンプル回収流路 5 の一方のみに形成してもよい。サンプル投入流路 4 のみを複数の流路とした場合は、異なるサンプル液を連続的に分析することができる。

【 0 0 4 7 】

また、サンプル液中に表面電荷が異なるサンプルが含まれる場合、サンプル移動流路 3 を流れるサンプルの移動速度が異なる。したがって、サンプル回収流路 5 のみを複数の流路を形成し、夫々の流路に挿入する電極を切り替えることで、サンプル液中の異なるサンプルを分離・回収することができ、更に別の分析に用いることができる。

10

【 0 0 4 8 】

以下に実施例を掲げ、本発明を具体的に説明するが、この実施例は単に本発明の説明のため、その具体的な態様の参考のために提供されているものである。これらの例示は本発明の特定の具体的な態様を説明するためのものであるが、本願で開示する発明の範囲を限定したり、あるいは制限することを表すものではない。

【実施例】

【 0 0 4 9 】

20

〔電気測定用チップ 1 の作製〕

< 実施例 1 >

以下の手順により、電気測定用チップ 1 を作製した。

(1) 厚さ 6 0 0 μm のシリコン基板 2 (フェローテックシリコン社製 直径 7 6 mm) を準備した。

(2) ネガ型フォトレジスト SU - 8 3 0 0 5 (MICRO CHEM 社製) をスピンドラにより塗布した。

(3) フォトリソグラフィにより、流路を形成する個所に光が照射するように、フォトマスクを用いて露光した。露光後は、SU - 8 developer (MICRO CHEM 社製) を用いてレジストを現像した。現像後は、超純水を用いてリンスし、スピンドラ

30

で水分を飛ばし乾燥させ、鋳型を作製した。

(4) 作製した鋳型に、ポリジメチルシロキサン (東レ社製、SILPOT 1 8 4) を流し込み、硬化させた。

(5) 硬化した PDMS を鋳型から取り外し、次いで、市販のカバーガラス (厚み : 0 . 1 7 mm) を PDMS に密着させて電気測定用チップ 1 を作製した。

【 0 0 5 0 】

図 1 2 (1) は、実施例 1 で作製した電気測定用チップ 1 の写真で、図 1 2 (2) は、第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 付近の拡大写真である。サンプル移動流路 3 の長さは 1 5 0 μm 、幅は 4 μm 、深さは 7 . 5 μm であった。第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 の深さは 7 . 5 μm 、サンプル移動流路 3 との接続部分の長さは 1 0 . 5 μm で、サンプル移動流路と第 1 測定流路の角度は約 4 5 ° であった。また、サンプル移動流路 3 を挟んだ第 1 測定流路 6 と第 2 測定流路 7 の位置のズレは、4 0 μm であった。サンプル投入流路 4 及びサンプル回収流路 5 の深さは 7 . 5 μm であった。

40

【 0 0 5 1 】

< 実施例 2 >

実施例 1 のフォトマスクの形状を換え、第 1 測定流路 6 と第 2 測定流路 7 の位置のズレを 5 μm とした以外は、実施例 1 と同様の手順で電気測定用チップ 1 を作製した。図 1 3 (1) は、実施例 2 で作製した電気測定用チップ 1 の第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 付近の拡大写真である。

【 0 0 5 2 】

50

< 実施例 3 >

実施例 1 のフォトマスクの形状を換え、サンプル移動流路 3 を挟んで対称の位置に第 1 測定流路 6 と第 2 測定流路 7 を形成した以外は、実施例 1 と同様の手順で電気測定用チップ 1 を作製した。図 1 3 (2) は、実施例 3 で作製した電気測定用チップ 1 の第 1 測定流路 6 及び第 2 測定流路 7 付近の拡大写真である。

【 0 0 5 3 】

〔電気測定装置 1 0 の作製〕

< 実施例 4 >

(1) 駆動回路 3 0 の作製

第 1 電極 3 1 及び第 2 電極 3 2 は、電線 (オヤイデ電気社製 F T V S - 4 0 8) の皮を剥いで金属部分を露出させて作製した。電圧印加手段 3 3 は、電池ボックス (誠南工業社製) を用いた。

10

(2) 測定回路 4 0 の作製

第 3 電極 4 1 及び第 4 電極 4 2 は、電線 (オヤイデ電気社製 F T V S - 4 0 8) の皮を剥いで金属部分を露出させて作製した。増幅手段は、F E M T O 社製 Variable Gain Low Noise Current Amplifier を用いた。電圧印加手段 4 4 は、電池ボックス (誠南工業社製) を用いた。可変抵抗 4 5 は、B I T e c h n o l o g i e s 社製精密ポテンションメーターを用いた。電流計 4 3 は、増幅手段で増幅したシグナルを U S B - D A Q (N a t i o n a l I n s t r u m e n t s 社製) を用いて P C 用の電気信号に変換し、L a b V i e w (N a t i o n a l I n s t r u m e n t s 社製) を用いて作成したソフトウェアで読み取った。抵抗 4 6 は、金属皮膜抵抗 (1 k Ω パナソニック製) を用いた。

20

(3) 実施例 1 で作製した電気測定用チップ 1 の、サンプル投入流路 4 に第 1 電極 3 1、サンプル回収流路 5 に第 2 電極 3 2、第 1 測定流路 6 に第 3 電極 4 1、第 2 測定流路 7 に第 4 電極 4 2 を挿入することで、本発明の電気測定装置 1 0 を作製した。

【 0 0 5 4 】

〔電気測定装置 1 0 を用いた測定〕

< 実施例 5 >

超純水にサンプルとして蛍光マイクロビーズ (P o l y s c i e n c e 社製 F l u o r e s b r i t e) を分散することで、サンプル液を作製した。次に、5 × T B E バッファを毛管現象により流路に導入し、作製したサンプル液 3 0 μ l をサンプル投入流路 4 に投入し、駆動回路 3 0 に 5 3 V の電圧を印加した。また、測定回路 4 0 には、1 8 V の電圧を印加した。可変抵抗 4 5 を操作し、駆動回路 3 0 及び測定回路 4 0 の見かけ上の抵抗を釣り合った状態にした。サンプルがサンプル移動流路 3 を流れた際の定常電流の変化と過渡電流の発生を計測した。図 1 4 (1) は、実施例 5 における測定時間と測定された定常電流値の関係を示すグラフである。

30

【 0 0 5 5 】

< 実施例 6 >

実施例 2 で作製した電気測定用チップ 1 を用いた以外は、実施例 5 と同様の手順で測定を行った。図 1 4 (2) は、実施例 6 における測定時間と測定された定常電流値の関係を示すグラフである。

40

【 0 0 5 6 】

< 実施例 7 >

実施例 3 で作製した電気測定用チップ 1 を用いた以外は、実施例 5 と同様の手順で測定を行った。図 1 4 (3) は、実施例 7 における測定時間と測定された定常電流値の関係を示すグラフである。

【 0 0 5 7 】

図 1 4 (1) ~ (3) に示すように、実施例 1 ~ 3 の何れの電気測定用チップ 1 を用いた場合でも、過渡電流の 2 つのピークが確認され、ピークの間隔はほぼ同じであった。実施例 1 ~ 3 は同じサンプルを使用していることから、表面電荷は同じである。したがって

50

、第1測定流路6及び第2測定流路7の位置関係によらず、サンプルの表面電荷に応じて、サンプルがサンプル移動流路3を移動する時間を正確に測定することができる。

【0058】

また、実施例1の電気測定用チップ1を用いた場合、図14(1)に示すように、定常電流値の変化量は一番大きかったが、ピーク時の波形は線状となった。これは、第1測定流路6及び第2測定流路7のズレが大きいことから、第1測定流路6及び第2測定流路7の間でサンプルが移動しても、体積変化が起こらず定常状態が続いたためと考えられる。

【0059】

一方、図14(2)に示すように、実施例2の電気測定用チップ1を用いた場合、実施例1の電気測定用チップ1と比較して、定常電流値の変化は少なくなるものの、定常電流値の波形は明確なピークを示した。

10

【0060】

更に、実施例3の電気測定用チップ1を用いた場合、図14(3)に示すようにピークを2つ測定した。これは、図15に示すように、

(1)第1測定流路6及び第2測定流路7が対称となる位置関係に配置されているため、実施例1及び実施例2の配置のチップより測定回路40の電流が流れやすい、

(2)第1測定流路6及び第2測定流路7の端にサンプルが流れて来た時に定常電流の変化を測定するが、上記のとおり、実施例3の電気測定用チップ1は電気が流れやすいため、サンプルがサンプル移動流路3との接続部分の中間に来た時に定常電流値がベース値に近い値に戻り、

20

(3)そして、接続部分からサンプルが流れ出る際に、定常電流値の変化を測定した、為と考えられる。

【0061】

以上の結果より、第1測定流路6及び第2測定流路7は、サンプル移動流路3を挟んで非対称の位置に形成することが好ましく、サンプルの大きさに応じてピーク値の値が線状にならない程度にズラして配置(第1測定流路6の端部と第2測定流路7の端部がサンプル移動流路3を挟んで重ならず、且つ離れすぎない位置)することが好ましい。

【0062】

〔電気測定装置10及び蛍光顕微鏡を用いた測定〕

<実施例8>

30

サンプルとして蛍光マイクロビーズ(Polyscience社製Fluoresbrite)を用い、電気測定用チップ1の第1測定流路6と第2測定流路7の間を観察できるように蛍光顕微鏡(Nikon社製TE300)を配置して蛍光強度を測定した以外は、実施例5と同様の手順で測定を行った。図16は、電気測定用チップ1の写真及び第1測定流路6～第2測定流路7の間を流れる蛍光マイクロビーズの写真、並びに、蛍光マイクロビーズが流れる際の定常電流値の変化(シグナル強度)と蛍光強度の変化を示すグラフ(グラフ中の線で囲った部分が、蛍光マイクロビーズが第1測定流路6～第2測定流路7の間を流れた際の測定結果)である。図16に示すように、本発明の電気測定装置10を用いることで、過渡電流及び定常電流値の変化を測定しつつ、蛍光顕微鏡で電気測定用チップ1のサンプル移動流路3を流れるサンプルを観察することができるので、電気測定用チップ1の測定部位で起こっている事象を正確に観察することができる。

40

【0063】

<実施例9>

サンプルとして、粒径が約3.1 μm 、2.08 μm 、1 μm の蛍光マイクロビーズ(Polyscience社製Fluoresbrite)を用いた以外は、実施例8と同様の手順で測定を行った。図17は実施例9で測定した定常電流値の変化(シグナル強度)を示すグラフである。従来の定常電流値の変化の測定のみでは、同じ大きさの物質が重なったものであるのか、又は、大きさの異なる物質であるのか判別が困難であったが、蛍光顕微鏡と併せて観察することで、サンプルを正確に判別できた。なお、蛍光顕微鏡は異なる色を判別できることから、例えば、グラム陰性菌と陽性菌を染色して蛍光顕微鏡で観

50

察しつつ、過渡電流及び定常電流値の変化を測定することで、大凡の種類の判別も可能となる。

【0064】

〔粒径と定常電流値の大きさの関係〕

<実施例10>

サンプルとして、粒径が約3.1 μm、2.08 μm、1.75 μm、1.1 μm、1 μm、0.75 μmの蛍光マイクロビーズ(Polyscience社製Fluoresbrite)を用いて実施例8と同様の手順で測定を行った。図18はサンプルの体積と定常電流値の変化(シグナル強度)を示すグラフである。図18に示すように、シグナル強度とサンプルの体積は相関関係があることが確認できた。

10

【0065】

〔印加電圧と、シグナル強度及び通過時間の関係〕

<実施例11>

実施例5において、駆動回路30の電圧を、53 V、32 V、12 Vの3種類に代えて測定した以外は実施例5と同様の手順で測定を行った。図19は、駆動回路の電圧とサンプルがサンプル移動流路を通過する時間の関係を示す図である。図19に示すように、駆動電圧30の電圧を大きくすることで、測定感度を上げることができる一方で、サンプルの表面電荷により、通過時間が短くなることが明らかとなった。また、12 Vの場合は、シグナル強度のバラツキは少なかったものの、通過時間のバラツキが大きかった。一方、駆動電圧を32 V以上にした場合、通過時間のバラツキはほとんどなかったが、シグナル強度のバラツキが見られた。これは、低電圧下では、電荷を持つサンプルへの駆動力が小さくなり、壁面から受ける摩擦力によってサンプルの移動速度に影響を与えたためと考えられる。

20

本発明においては、サンプル移動流路3の長さ、及び第1測定流路6及び第2測定流路7の間隔を任意に設定できる。したがって、駆動回路30の電圧を高くしても、定常電流の変化を読み取るのに必要で且つ最短となる時間となるようにサンプル移動流路3の長さ、及び第1測定流路6及び第2測定流路7を設定できることから、短時間で高感度検出を行うことができる。

【0066】

〔細胞を用いた際の粒径と定常電流値の大きさの関係〕

30

<実施例12>

上記実施例10では、形状が一定の蛍光マイクロビーズを用いたが、形状が変化する細胞を用いた場合のシグナル強度とサンプル体積の相関関係を調べた。

まず、実施例1のフォトマスクの形状を変えることで、サンプル移動流路3の幅が20 μm、第1測定流路6の端部と第2測定流路7の端部の距離が20 μmの電気測定用チップ1を作製した。図20(1)は、実施例12で作製した電気測定用チップ1のサンプル移動流路付近の拡大写真、図20(2)は実施例12で作製した電気測定用チップ1のサンプル移動流路付近の寸法を説明するための図である。その他のサイズは、実施例1と同様である。

そして、駆動回路30に加え、作製した電気測定用チップ1のPDMSのサンプル投入流路4及びサンプル回収流路5の一部に孔をあけ、シリコンチューブの一端をサンプル回収流路5の形成した孔に接続し他端をシリジポンプ(KD Scientific, KDS210)に接続した以外は、実施例4と同様の手順で電気測定装置10を作製した。

40

次に、サンプルとして、

- ・ HeLa細胞(ヒト子宮頸がん由来細胞) : 約15 μm(ATCC, CCL-2)
- ・ Jurkat細胞(ヒトT細胞)浮遊系 : 約10 μm(ATCC, TIB-152)

を用いた。なお、HeLa細胞は、HeLa用細胞培地であるMEM(Sigma aldrich, M4655)を用いて培養した。また、Jurkatは、Jurkat用細胞培地であるRPMI1640(gibco, 11875-093)を用いて培養した。

50

そして、蛍光マイクロビーズに変え上記の細胞を用い、駆動回路30に印加する電圧を3V、シリンジポンプでサンプル溶液を5~10 μ L/minで吸引した以外は、実施例10と同様の手順で実験を行った。

図20(3)は、定常電流値のヒストグラムで、各定常電流値においてカウントされた細胞数の分布を示すグラフである。図20(2)に示すように、細胞等の形状が変化し易いサンプルを用いた場合でも、定常電流値の強度とサンプルの体積には相関関係があることが確認できた。

【0067】

〔狭窄部34を有する電気測定用チップ1の作製〕

<実施例13>

実施例1のフォトマスクの形状を変えることで、狭窄部34を有する電気測定用チップ1を作製した。図21(1)は、実施例13で作製した電気測定用チップ1のサンプル移動流路3の狭窄部34付近の拡大写真である。また、図21(2)は、実施例13で作製した電気測定用チップ1のサンプル移動流路3と狭窄部34の長さ及び幅を示す図である。サンプル移動流路3の幅は25 μ mで、幅15 μ mの狭窄部及び幅10 μ mの狭窄部を、間隔を設けて形成した。幅15 μ mの狭窄部及び幅10 μ mの狭窄部、並びに両狭窄部の間のサンプル移動流路3の長さは30 μ mであった。また、幅15 μ mの狭窄部及びサンプル移動流路3は約45°の角度で接続し、接続部分の長さは約5 μ mであった。幅10 μ mの狭窄部及びサンプル移動流路3は約45°の角度で接続し、接続部分の長さは約7.5 μ mであった。

次に、作製した電気測定用チップ1を用い、実施例12と同様の手順で電気測定装置10を作製した。

次に、サンプルとして実施例12に記載のHeLa細胞を用い、シリンジポンプで5 μ L/minの量で吸引した。

図22(1)は、図21に示すチップの左から右側(流路幅は、15 μ m 25 μ m 10 μ m)にHeLa細胞を流した時の各幅の流路に入った時間(in)と出た時間(out)、及び定常電流値の変化を示すグラフである。図22(2)は、HeLa細胞を逆方向(流路幅は、10 μ m 25 μ m 15 μ m)に流した時の各幅の流路に入った時間(in)と出た時間(out)、及び定常電流値を示すグラフである。上記のとおりHeLa細胞の大きさは約15 μ mである。図22(1)及び(2)から明らかのように、同じ長さの流路であっても、流路幅が狭くなるに従ってHeLa細胞が通過する時間が長くなった。特に、HeLa細胞が変形しないと通過できない幅である10 μ mの狭窄部を通過する時には、15 μ m及び25 μ mの幅の時より非常に長い時間を要した。以上の結果より、サンプル移動流路3に狭窄部34を形成することで、サンプルの変形能を測定することができた。

【0068】

<実施例14>

上記実施例13において、狭窄部34を設けることでサンプルの変形能を測定できたことから、本実施例では、変形能が異なる同種の細胞を準備し測定を行った。

まず、フォトマスクの形状を変えることで、幅が10 μ m、長さが40 μ mの狭窄部34を1つ有する電気測定用チップ1を作製した。図23(1)は、実施例14で作製した電気測定用チップ1のサンプル移動流路3の狭窄部34付近の拡大写真である。次に、作製した電気測定用チップ1を用いて、実施例13と同様の手順で電気測定装置を作製した。

次に、アクチンの重合を阻害することで細胞骨格を作ることを阻害する物質であるラトランクリンA(wako, 125-04363)を、上記実施例12のHeLa細胞に0.5 μ Mの濃度で作用させた。なお、ラトランクリンAをHeLa細胞に作用させると細胞骨格の形成が阻害されることから、ラトランクリンAを作用しないHeLa細胞と比較して、細胞は変形能が異なる。

そして、作製した電気測定装置を用い、ラトランクリンAを作用したHeLa細胞(L

10

20

30

40

50

a t A) 及びラトランクリン A を作用していない H e L a 細胞 (W i t h o u t L a t A) を、シリンジポンプを用いて $10 \mu\text{l} / \text{min}$ の量で吸引した以外は、実施例 1 2 と同様の手順で実験を行った。

図 2 3 (2) は、定常電流値と通過時間の関係を示すグラフである。図 2 3 (2) から明らかなように、同じ定常電流値、つまり、細胞の大きさが同じ場合、ラトランクリン A を作用していない H e L a 細胞 (W i t h o u t L a t A) の方が明らかに狭窄部を通過する時間が長かった。

以上の結果から、同種の細胞であっても、狭窄部を通過する時間を測定することで細胞の変形能の違いを測定することができた。がん化した細胞は正常細胞と比較して変形能が高くなることから、例えば、狭窄部を設けた電気測定用チップに同じ細胞集団の溶液を流すことで、細胞集団の中から、がん化した細胞を区別・選別する装置 (セルソーター) を作製することができる。

10

【産業上の利用可能性】

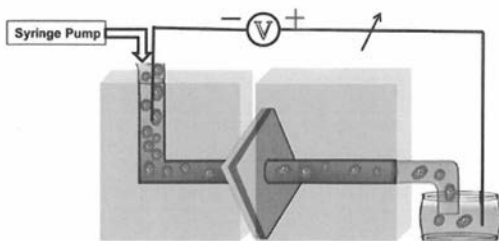
【0069】

本発明の電気測定用チップ 1 を用いることで、駆動回路と測定回路を別回路として設計できるので、駆動回路の電圧を高く設定し、検出感度を高めることができる。更に、過渡電流も正確に読み取ることができることから、サンプルの表面電荷を読み取ることができ、また、サンプル移動流路内でサンプルの伸長状態を作り出して核酸やタンパク質等の生体分子の測定が可能となる。

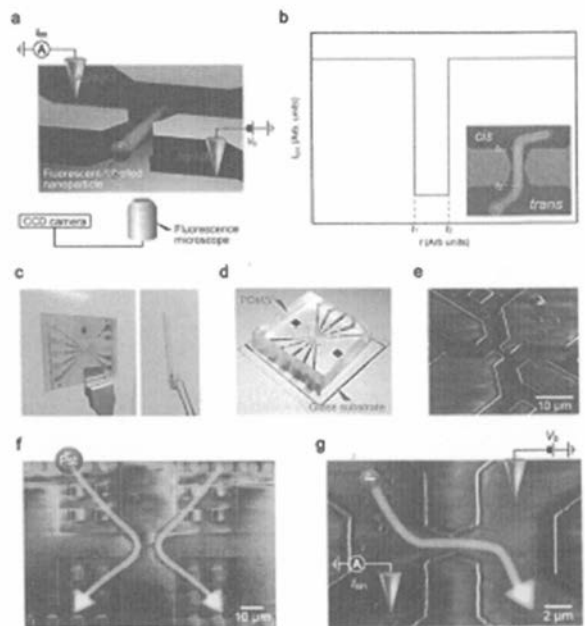
したがって、企業、研究機関等において、サンプルを正確に分析するための測定機器の開発に有用である。

20

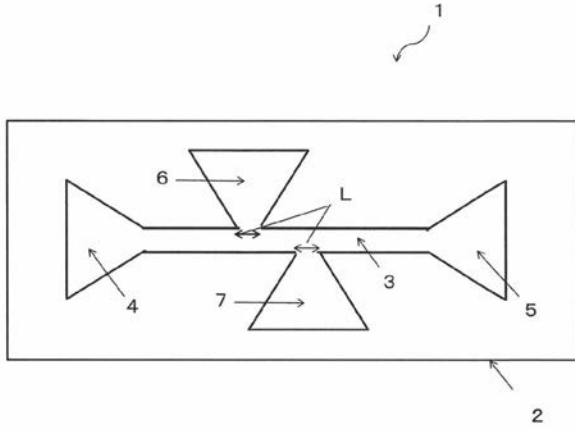
【図 1】



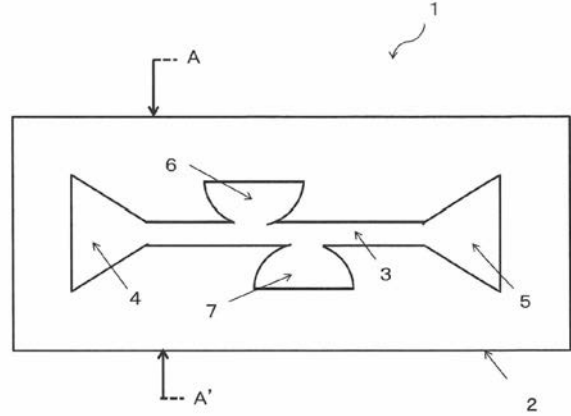
【図 2】



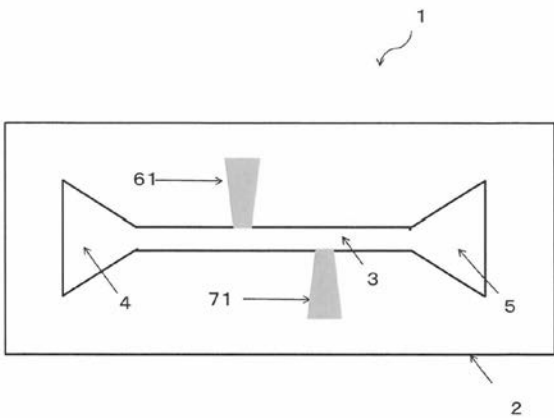
【 図 3 】



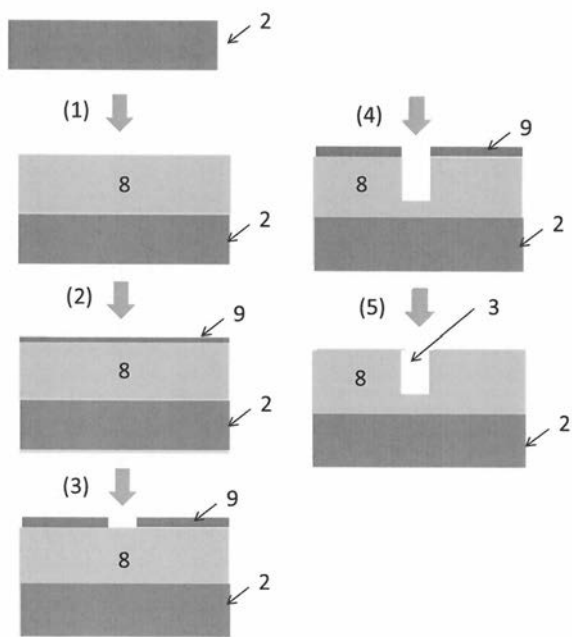
【 図 4 】



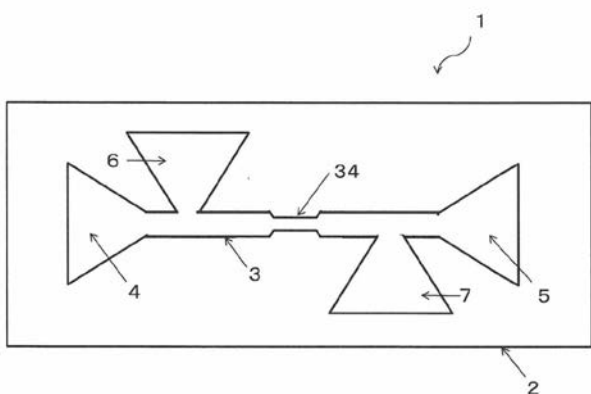
【 図 5 】



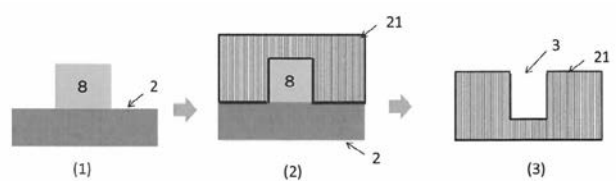
【 図 7 】



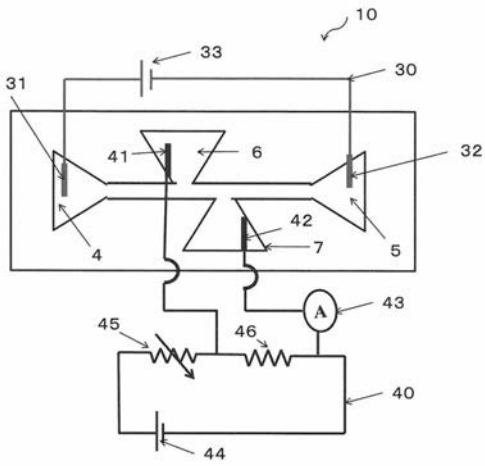
【 図 6 】



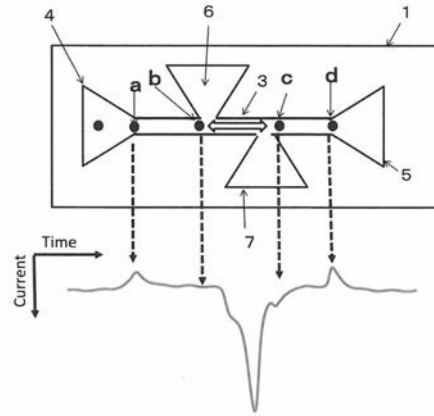
【 図 8 】



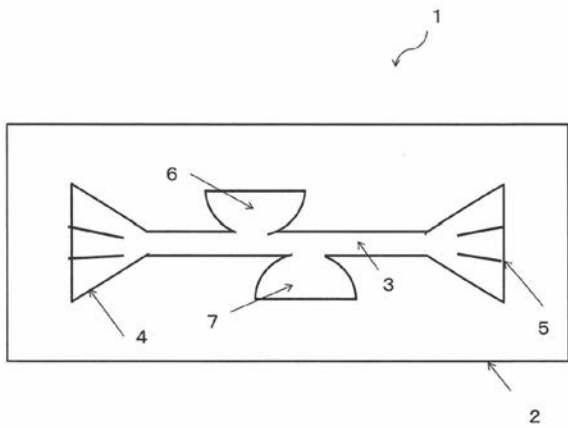
【 図 9 】



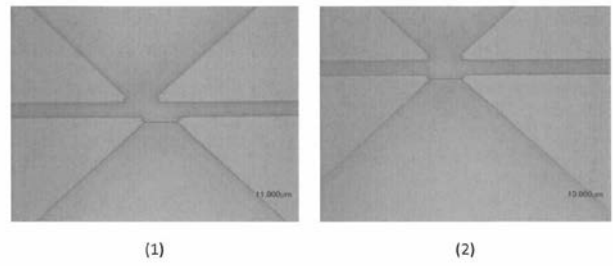
【 図 10 】



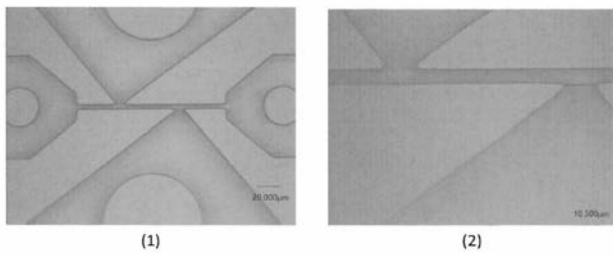
【 図 11 】



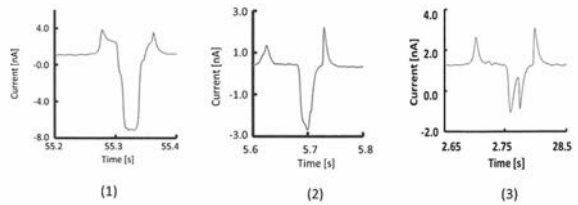
【 図 13 】



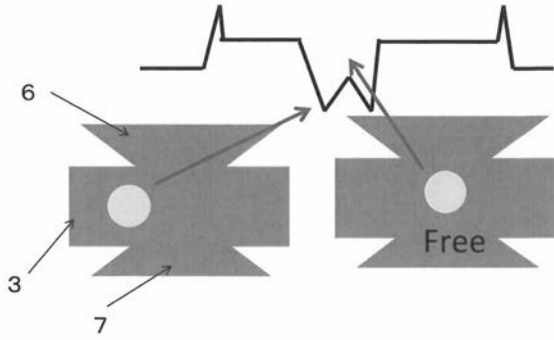
【 図 12 】



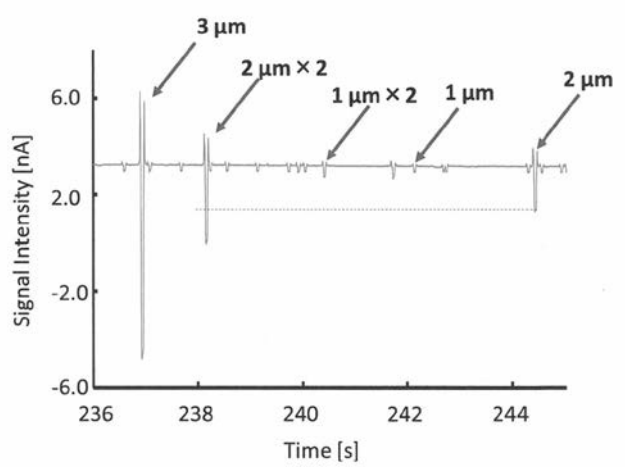
【 図 14 】



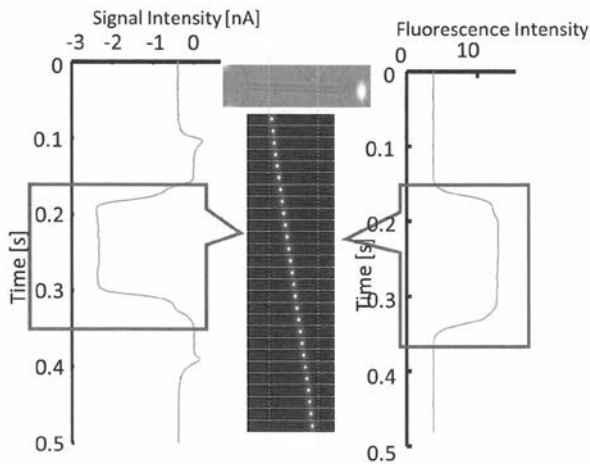
【 図 1 5 】



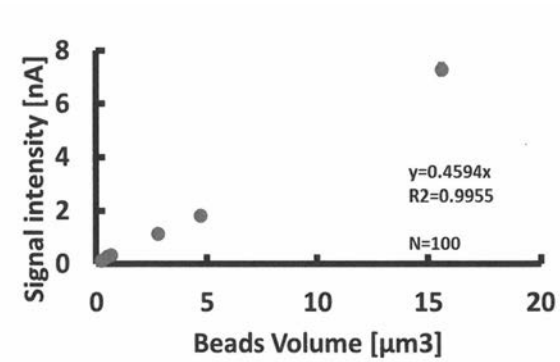
【 図 1 7 】



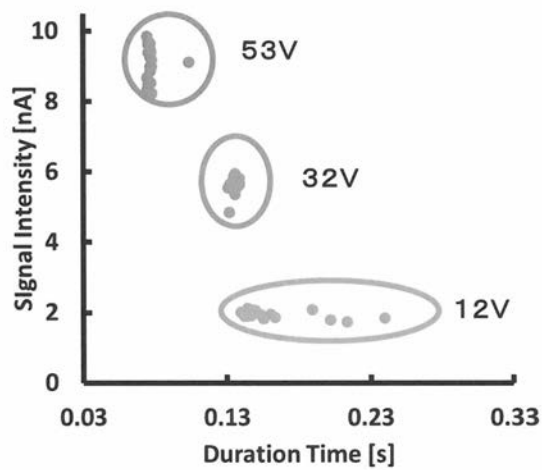
【 図 1 6 】



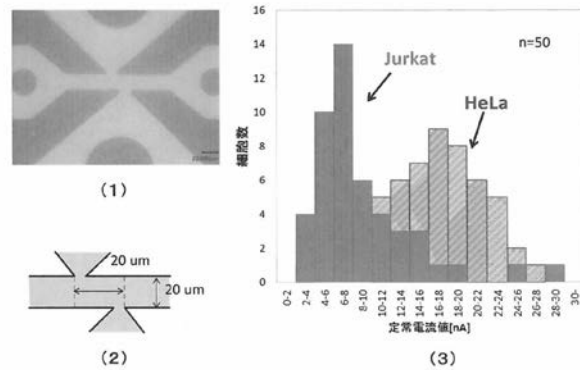
【 図 1 8 】



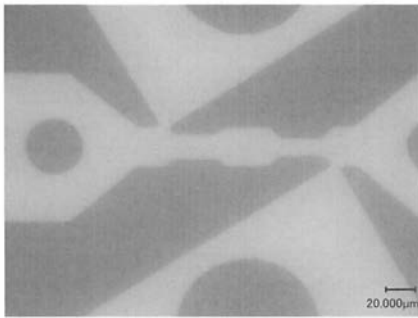
【 図 1 9 】



【 図 2 0 】

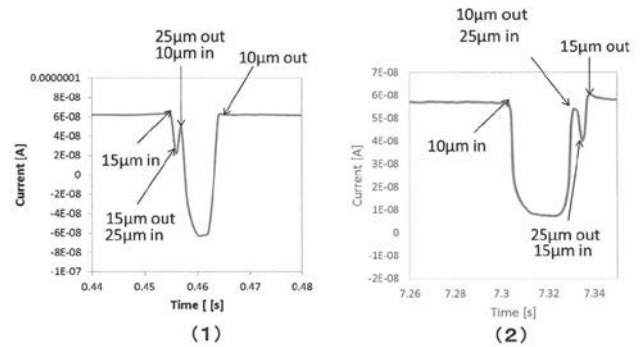


【図 2 1】



(1)

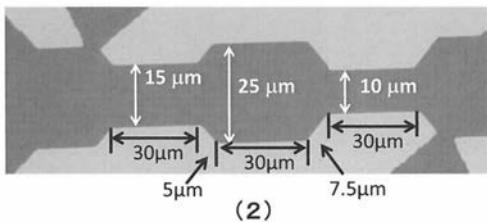
【図 2 2】



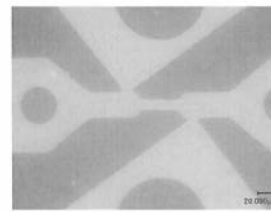
(1)

(2)

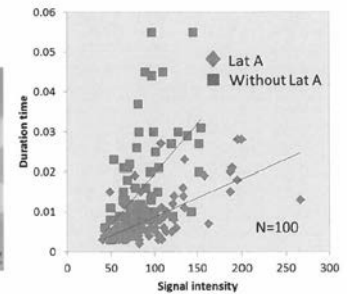
【図 2 3】



(2)



(1)



(2)

【手続補正書】

【提出日】平成28年4月20日(2016.4.20)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

基板、該基板上に形成したサンプル移動流路及びサンプル測定流路を含み、
前記サンプル測定流路は、前記サンプル移動流路に接続する第 1 測定流路、及び前記第 1 測定流路とは反対側から前記サンプル移動流路に接続する第 2 測定流路を含む、電気測定用チップ、

サンプルが前記サンプル移動流路を移動できるようにするための駆動回路、

前記第 1 測定流路及び前記第 2 測定流路に電圧を印加し、サンプルが前記サンプル移動回路を移動する際のイオン電流の変化を測定する測定回路、
を含み、

前記測定回路は更に可変抵抗及び抵抗を含み、前記サンプル移動流路中の前記第 1 測定流路及び前記第 2 測定流路に挟まれている部分の電位差と、抵抗の電位差を釣り合った状態にできる、

電気測定装置。

【請求項 2】

基板、該基板上に形成したサンプル移動流路及びサンプル測定流路を含み、

前記サンプル測定流路は、前記サンプル移動流路に接続する第 1 測定電極、及び前記第 1 測定電極とは反対側から前記サンプル移動流路に接続する第 2 測定電極を含む、電気測

定用チップ、

サンプルが前記サンプル移動流路を移動できるようにするための駆動回路、

前記第1測定電極及び前記第2測定電極に電圧を印加し、サンプルが前記サンプル移動流路を移動する際のイオン電流の変化を測定する測定回路、
を含み、

前記測定回路は更に可変抵抗及び抵抗を含み、前記サンプル移動流路中の前記第1測定電極及び前記第2測定電極に挟まれている部分の電位差と、抵抗の電位差を釣り合った状態にできる、
電気測定装置。

【請求項3】

前記測定回路が、過渡電流及び定常電流の変化を測定する請求項1又は2に記載の電気測定装置。

【請求項4】

蛍光顕微鏡を更に含む請求項1～3の何れか一項に記載の電気測定装置。

【請求項5】

前記第1測定流路及び前記第2測定流路の幅が、前記サンプル移動流路と接続している部分の長さより、前記サンプル移動流路から離れるにしたがって長くなる請求項1、3、4の何れか一項に記載の電気測定装置。

【請求項6】

前記第1測定電極及び前記第2測定電極の幅が、前記サンプル移動流路と接続している部分の長さより、前記サンプル移動流路から離れるにしたがって長くなる請求項2～4の何れか一項に記載の電気測定装置。

【請求項7】

前記第1測定流路及び前記第2測定流路が、前記サンプル移動流路を挟んで非対称の位置に形成されている請求項1、3～5の何れか一項に記載の電気測定装置。

【請求項8】

前記第1測定電極及び前記第2測定電極が、前記サンプル移動流路を挟んで非対称の位置に形成されている請求項2～4、6の何れか一項に記載の電気測定装置。

【請求項9】

前記サンプル移動流路に狭窄部が少なくとも1以上形成されている請求項1～8の何れか一項に記載の電気測定装置。

【請求項10】

前記サンプル移動流路の一端に形成されたサンプル投入流路、前記サンプル移動流路の他端に形成されたサンプル回収流路を含む、請求項1～9の何れか一項に記載の電気測定装置。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0001

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0001】

技術分野

[0001]

本発明は、電気測定用チップ、及び電気測定装置に関し、特に、細胞、菌、ウイルス、DNA等のサンプルがマイクロ流路を流れる際に、定常電流の変化のみではなく過渡電流の発生も読み取ること、高感度検出ができるように設計した電気測定用チップ、及び該電気測定用チップを含む電気測定装置に関する。

背景技術

[0002]

溶液中に含まれる細胞、菌、花粉、PM_{2.5}等のサンプルの大きさ、個数等を正確に

測定することは、健康な生活を送る上で大切な情報であり、近年、ますます測定精度の向上が望まれている。また、生物化学の分野では、DNA断片をそのまま分析する分析チップの開発が望まれている。

[0 0 0 3]

図1は、サンプルの大きさや個数等の測定方法の従来技術を示しており、シリコン等の基板の上に形成した細孔（マイクロポア）にサンプルを通過させ、細孔に印加した電圧によって細孔の内部を流れる定常電流が変化する様子から細胞の大きさ、硬さを解析している（非特許文献1参照）。図1に示す従来の測定方法は、細孔の体積が小さい程感度が向上することが知られている。細孔の体積を減らすためには直径を小さくするとともに基板を薄くする必要があり、そのため、測定の際には図1に示すように基板は縦置きにして使用されている。

[0 0 0 4]

また、細孔を通過するサンプルの状態をより詳しく測定するため、マイクロ流路を形成した基板を横置きにすることで細孔部分を蛍光顕微鏡で観察できるようにし、定常電流の測定に加え細孔の周りの事象を直接観察する方法も知られている（非特許文献2参照）。図2は、非特許文献2のFig. 1を示している。

先行技術文献

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. PCT/JP2015/079532 |
|---|---|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N27/00(2006.01)i, G01N15/14(2006.01)i, G01N21/64(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) G01N27/00-27/10, G01N27/14-27/24, G01N15/10-15/14, G01N37/00, B01L3/00 | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016 | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) | | |
| 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 2009-128057 A (Sekisui Chemical Co., Ltd.), 11 June 2009 (11.06.2009), paragraphs [0023] to [0030]; fig. 1 to 3 (Family: none) | 1-2, 4-10 1-11 |
| X Y | US 2011/0089328 A1 (DIAGNOSTIC CHIPS, LLC), 21 April 2011 (21.04.2011), paragraphs [0036] to [0047]; fig. 1, 2 & WO 2011/049718 A1 & EP 2491383 A | 1-6 1-11 |
| Y | JP 1-235833 A (Hitachi, Ltd.), 20 September 1989 (20.09.1989), page 2, lower left column, lines 4 to 17; fig. 1, 3 (Family: none) | 1-11 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 | "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 |
| "E" | earlier application or patent but published on or after the international filing date | "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 |
| "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) | "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 |
| "O" | document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | "&" document member of the same patent family |
| "P" | document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | |
| Date of the actual completion of the international search 12 January 2016 (12.01.16) | | Date of mailing of the international search report 19 January 2016 (19.01.16) |
| Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan | | Authorized officer Telephone No. |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/079532

| 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 2010-181399 A (Sony Corp.), 19 August 2010 (19.08.2010), paragraph [0147]; fig. 13 & US 2011/0269221 A1 paragraph [0144]; fig. 13 & WO 2010/079844 A1 & EP 2378283 A1 & KR 10-2011-0103990 A & CN 102282460 A | 1-11 |
| A | WO 2014/027580 A1 (Osaka University), 20 February 2014 (20.02.2014), & US 2015/0219593 A1 & EP 2887058 A1 & CA 2882001 A & KR 10-2015-0041146 A & CN 104583767 A | 1-11 |
| A | JP 2007-147602 A (Kyocera Corp.), 14 June 2007 (14.06.2007), & US 2007/0092399 A1 | 1-11 |
| A | JP 2003-510034 A (The Trustees of Princeton University), 18 March 2003 (18.03.2003), & US 2007/0238112 A1 & WO 2001/018246 A1 & EP 1208240 A | 1-11 |

| 国際調査報告 | | 国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 5 / 0 7 9 5 3 2 | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------|--------------|-------------------------------|--|---------------------------------------|--|---|--|--------------------------|------------------|-----------------------------|--|
| A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N27/00(2006.01)i, G01N15/14(2006.01)i, G01N21/64(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. G01N27/00-27/10, G01N27/14-27/24, G01N15/10-15/14, G01N37/00, B01L3/00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2016年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2016年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2016年</td> </tr> </table> | | | | 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 | 日本国公開実用新案公報 | 1971-2016年 | 日本国実用新案登録公報 | 1996-2016年 | 日本国登録実用新案公報 | 1994-2016年 | | | | |
| 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 | | | | | | | | | | | | | | |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2016年 | | | | | | | | | | | | | | |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2016年 | | | | | | | | | | | | | | |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2016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 | JP 2009-128057 A (積水化学工業株式会社) 2009.06.11, 段落 [0023] - [0030], 図 1-3 (ファミリーなし) | 1-2, 4-10 | | | | | | | | | | | | | |
| Y | | 1-11 | | | | | | | | | | | | | |
| X | US 2011/0089328 A1 (DIAGNOSTIC CHIPS, LLC) 2011.04.21, 段落 [0036] - [0047], 図 1, 2 | 1-6 | | | | | | | | | | | | | |
| Y | & WO 2011/049718 A1 & EP 2491383 A | 1-11 | | | | | | | | | | | | | |
| <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。 | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>の日の後に公表された文献</td> </tr> <tr> <td>「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</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「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</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「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)</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td>「&」同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</td> <td></td> </tr> </table> | | | | * 引用文献のカテゴリー | の日の後に公表された文献 | 「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 | 「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 | 「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 | 「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 | 「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) | 「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 | 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 | 「&」同一パテントファミリー文献 | 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 | |
| * 引用文献のカテゴリー | の日の後に公表された文献 | | | | | | | | | | | | | | |
| 「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 | 「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 | | | | | | | | | | | | | | |
| 「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 | 「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 | | | | | | | | | | | | | | |
| 「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) | 「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 | | | | | | | | | | | | | | |
| 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 | 「&」同一パテントファミリー文献 | | | | | | | | | | | | | | |
| 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 国際調査を完了した日 12.01.2016 | | 国際調査報告の発送日 19.01.2016 | | | | | | | | | | | | | |
| 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) 蔵田 真彦 | 2W 3602 電話番号 03-3581-1101 内線 3250 | | | | | | | | | | | | |

| 国際調査報告 | | 国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 5 / 0 7 9 5 3 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 1-235833 A (株式会社日立製作所) 1989.09.20, 第2頁左下欄第4行-同欄第17行, 第1, 3図 (ファミリーなし) | 1-11 |
| Y | JP 2010-181399 A (ソニー株式会社) 2010.08.19, 段落 [0147], 図 13 & US 2011/0269221 A1, 段落 [0144], 図 13 & WO 2010/079844 A1 & EP 2378283 A1 & KR 10-2011-0103990 A & CN 102282460 A | 1-11 |
| A | WO 2014/027580 A1 (国立大学法人大阪大学) 2014.02.20 & US 2015/0219593 A1 & EP 2887058 A1 & CA 2882001 A & KR 10-2015-0041146 A & CN 104583767 A | 1-11 |
| A | JP 2007-147602 A (京セラ株式会社) 2007.06.14 & US 2007/0092399 A1 | 1-11 |
| A | JP 2003-510034 A (ザ トラスティーズ オブ プリンストン ユニバーシティ) 2003.03.18 & US 2007/0238112 A1 & WO 2001/018246 A1 & EP 1208240 A | 1-11 |

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(出願人による申告)平成26年度、独立行政法人科学技術振興機構、革新的研究開発推進プログラム(IMPACT)事業「ナノ・マイクロポアを用いたINSECTシステムの開発」に係る委託業務、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

- (72)発明者 安井 隆雄
愛知県名古屋市千種区不老町1番 国立大学法人名古屋大学内
- (72)発明者 矢崎 啓寿
愛知県名古屋市千種区不老町1番 国立大学法人名古屋大学内
- (72)発明者 佐野 麻美子
愛知県名古屋市千種区不老町1番 国立大学法人名古屋大学内
- (72)発明者 川合 知二
大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内
- (72)発明者 柳田 剛
大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内

Fターム(参考) 2G060 AA05 AA15 AA16 AA19 AF02 AF07 AF20 AG04 AG11 AG15
HC11 KA09

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。