

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-12056
(P2019-12056A)

(43) 公開日 平成31年1月24日(2019.1.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 27/327 (2006.01)	GO 1 N 27/327 3 5 7	2 GO 4 5
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 F	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 U	
GO 1 N 33/553 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 5 A	
GO 1 N 27/416 (2006.01)	GO 1 N 33/553	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-69967 (P2018-69967)
 (22) 出願日 平成30年3月30日 (2018. 3. 30)
 (31) 優先権主張番号 特願2017-129440 (P2017-129440)
 (32) 優先日 平成29年6月30日 (2017. 6. 30)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

(71) 出願人 000003067
 T D K 株式会社
 東京都港区芝浦三丁目9番1号
 (74) 代理人 100106909
 弁理士 棚井 澄雄
 (74) 代理人 100163496
 弁理士 荒 則彦
 (74) 代理人 100188558
 弁理士 飯田 雅人
 (74) 代理人 100169694
 弁理士 荻野 彰広
 (72) 発明者 坂本 健
 東京都港区芝浦三丁目9番1号 T D K 株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分析キットおよび分析方法

(57) 【要約】

【課題】操作が簡便で、被検物質を高い選択性で、かつ高感度で分析することができる分析キットを提供する。

【解決手段】作用電極と、参照電極と、対極と、を有し、前記作用電極が導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であり、前記作用電極の表面に一次抗体が固定されているセンサ、及び、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体を含む液を備える分析キット。

【選択図】 図 1

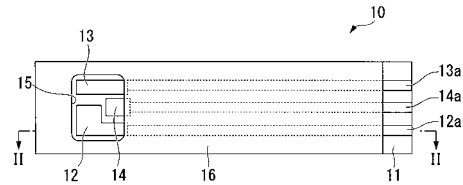


図 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

作用電極と、参照電極と、対極と、を有し、前記作用電極が導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であり、前記作用電極の表面に一次抗体が固定されているセンサ、及び、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体を含む液を備えることを特徴とする分析キット。

【請求項 2】

前記酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識が、酵素、金属錯体および金属ナノ粒子からなる群より選ばれる少なくとも一つであることを特徴とする請求項 1 に記載の分析キット。

10

【請求項 3】

前記酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識は金属ナノ粒子であって、前記金属ナノ粒子が硫黄を含有することを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の分析キット。

【請求項 4】

前記参照電極が、銀 - 塩化銀電極であることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の分析キット。

【請求項 5】

前記対極が、カーボン電極、貴金属電極、導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であることを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の分析キット。

20

【請求項 6】

被検物質溶液に含まれる被検物質を分析するための分析方法であって、

作用電極と、参照電極と、対極と、を備え、前記作用電極が導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であって、前記作用電極の表面に前記被検物質と結合する一次抗体が固定されているセンサの前記作用電極と、前記被検物質溶液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体と前記被検物質溶液の被検物質とを結合させる第 1 結合工程と、

前記作用電極を洗浄して前記作用電極に付着している前記被検物質溶液を除去する第 1 洗浄工程と、

30

前記作用電極と、表面に前記被検物質と結合する二次抗体に酸化還元が可能な標識が固定されている二次抗体を含む液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体に結合した前記被検物質と二次抗体とを結合させることによって、前記被検物質と酸化還元が可能な標識とを接続させる第 2 結合工程と、

前記作用電極を洗浄して、前記被検物質と結合せず前記酸化還元が可能な標識が固定されている二次抗体を含む液を除去する第 2 洗浄工程と、

前記作用電極と前記対極との間に電圧を印加して、前記酸化還元が可能な標識を酸化させ、その電流量を計測する電流量計測工程と、

前記電流量から酸化還元が可能な標識量を求め、前記酸化還元が可能な標識量から被検物質量を算出する算出工程と、

40

を含むことを特徴とする分析方法。

【請求項 7】

被検物質溶液に含まれる被検物質を分析するための分析方法であって、

作用電極と、参照電極と、対極と、を備え、前記作用電極が導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であって、前記作用電極の表面に前記被検物質と結合する一次抗体が固定されているセンサの前記作用電極と、前記被検物質溶液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体と前記被検物質溶液の被検物質とを結合させる第 1 結合工程と、

前記作用電極を洗浄して前記作用電極に付着している前記被検物質溶液を除去する第 1 洗浄工程と、

50

前記作用電極と、表面に前記被検物質と結合する二次抗体に酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体を含む液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体に結合した前記被検物質と前記二次抗体とを結合させることによって、前記被検物質と前記酸化還元反応を促進する標識とを接続させる第2結合工程と、

前記作用電極を洗浄して、前記被検物質と結合せず前記酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体を含む液を除去する第2洗浄工程と、

前記作用電極と前記対極との間に、酸化還元可能な物質を存在させ、次いで前記作用電極と前記対極との間に電圧を印加して、前記酸化還元が可能な標識が、前記別の酸化還元可能な物質を酸化または還元させるために要した電流量を計測する電流量計測工程と、

前記電流量から酸化還元反応を促進する標識量を求め、前記酸化還元反応を促進する標識量から被検物質量を算出する算出工程と、

を含むことを特徴とする分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗原抗体反応を利用して被検物質を分析するための分析キット及び分析方法に関する。

【背景技術】

【0002】

生体物質の検出は、医療、ヘルスケア、環境などの分野において行われている。そして、複数の生体物質から測定対象の生体物質を、選択的に高感度かつ簡便な操作性で定量することができる分析方法の開発が望まれている。

【0003】

液体中の微量な生体物質を選択的に高感度で測定することができる方法の1つとして、免疫測定法が知られている。免疫測定法とは、測定対象の生体物質（抗原、ハプテン等）と、その抗原と結合する物質（抗体）との反応（抗原抗体反応）を利用して、抗原を定量する方法である。

【0004】

抗原を定量する方法としては、サンドイッチ法が知られている。サンドイッチ法とは、一次抗体が固定された固体と、二次抗体が固定された標識とで、抗原を挟む（サンドイッチする）方法である。すなわち、サンドイッチ法は、抗原を一次抗体で補足し、その補足した抗原と二次抗体とを結合させ、その抗原と結合した二次抗体に固定されている標識を定量する方法である。標識を定量する方法として、標識として金属粒子を用い、その金属粒子の量を、電気化学的手法を用いて定量する方法が知られている。なお、抗原および抗体は電気伝導性を有しないため、抗原および抗体に結合した標識（金属粒子）を、直接的に電気化学的手法を用いて定量することは困難である。

【0005】

特許文献1には、コロイド金属粒子で標識した少なくとも1つの試薬と、少なくとも1つの電極、そしてまた、該コロイド金属粒子を化学的に溶解するための試薬を含む診断キットが開示されている。この特許文献1に開示されている診断キットでは、標識であるコロイド金属粒子を化学的に溶解し、次いでその金属の溶液を電極に移して還元して、還元した金属を電極に堆積させた後、その電極の表面に堆積した金属を電氣的に再溶解させ、その再溶解後に現れるボルタンメトリーピークを解析することによって、その金属の量を測定する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特表2004-512496号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

20

30

40

50

【0007】

標識として金属粒子を用い、その金属粒子の量を、電気化学的手法を用いて定量する方法は、感度や精度の観点では有用な方法である。しかしながら、特許文献1に記載されているコロイド金属粒子の定量方法では、コロイド金属粒子を一旦化学的に溶解させる工程が必要となるなど、操作が煩雑で、分析結果が得られるまでに時間がかかるため、医療現場での臨床検査においてはその導入は困難である。

【0008】

本発明は、上記の課題に鑑みてなされたものであり、その目的は、操作が簡便で、被検物質を高い選択性で、かつ高感度で分析することができる分析キットおよび分析方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、作用電極として、一次抗体が固定された導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極を用いたセンサと、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体とを用い、抗原（被検物質）を一次抗体と結合させて作用電極に固定した後、抗原と二次抗体を結合させ、その抗原と結合した二次抗体が固定された標識を作用電極に密着あるいは接近させて、その作用電極に密着あるいは接近した標識を電気化学的手法により酸化もしくは還元またはその酸化還元反応を促進する触媒機能の発露により、標識を化学的に溶解させずに定量することが可能となることを見出した。そして、その標識を電気化学的手法により酸化もしくは還元またはその酸化還元反応を促進する触媒機能の発露させたときに発生する電流量と、抗原の量とが高い相関性を有し、その電流量から抗原の量を求めることが可能となることを確認して、本発明を完成させるに至った。

すなわち、本発明は、上記課題を解決するため、以下の手段を提供する。

【0010】

(1) 第1の態様にかかる分析キットは、作用電極と、参照電極と、対極と、を有し、前記作用電極が導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であり、前記作用電極の表面に一次抗体が固定されているセンサ、及び、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体を含む液を備えることを特徴とする。

(2) 上記態様にかかる分析キットにおいて、前記酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識が、酵素、金属錯体および金属ナノ粒子からなる群より選ばれる少なくとも一つであってもよい。

(3) 上記態様にかかる分析キットにおいて、前記酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識は、金属ナノ粒子であって、前記金属ナノ粒子が、硫黄を含有していてもよい。

(4) 上記態様にかかる分析キットにおいて、前記参照電極が、銀 - 塩化銀電極であってもよい。

(5) 上記態様にかかる分析キットにおいて、前記対極が、カーボン電極、貴金属電極、導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であってもよい。

【0011】

(6) 第2の態様にかかる分析方法は、被検物質溶液に含まれる被検物質を分析するための分析方法であって、作用電極と、参照電極と、対極と、を備え、前記作用電極が導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であって、前記作用電極の表面に前記被検物質と結合する一次抗体が固定されているセンサの前記作用電極と、前記被検物質溶液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体と前記被検物質溶液の被検物質とを結合させる第1結合工程と、前記作用電極を洗浄して前記作用電極に付着している前記被検物質溶液を除去する第1洗浄工程と、前記作用電極と、表面に前記被検物質と結合する二次抗体に酸化還元が可能な標識が固定されている二次抗体を含む液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体に結合した前記被検物質と二次抗体とを結合させることによって、前記被検物質と酸化還元が可能な標識とを接続させる第2結合工程と、前記作用電極

10

20

30

40

50

を洗浄して、前記被検物質と結合せず前記酸化還元が可能な標識が固定されている二次抗体を含む液を除去する第2洗浄工程と、前記作用電極と前記対極との間に電圧を印加して、前記酸化還元が可能な標識を酸化させ、その電流量を計測する電流量計測工程と、前記電流量から酸化還元が可能な標識量を求め、前記酸化還元が可能な標識量から被検物質量を算出する算出工程と、を含むことを特徴とする。

【0012】

(7)第3の態様にかかる分析方法は、被検物質溶液に含まれる被検物質を分析するための分析方法であって、作用電極と、参照電極と、対極と、を備え、前記作用電極が導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極であって、前記作用電極の表面に前記被検物質と結合する一次抗体が固定されているセンサの前記作用電極と、前記被検物質溶液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体と前記被検物質溶液の被検物質とを結合させる第1結合工程と、前記作用電極を洗浄して前記作用電極に付着している前記被検物質溶液を除去する第1洗浄工程と、前記作用電極と、表面に前記被検物質と結合する二次抗体に酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体を含む液とを接触させて、前記作用電極の前記一次抗体に結合した前記被検物質と前記二次抗体とを結合させることによって、前記被検物質と前記酸化還元反応を促進する標識とを接続させる第2結合工程と、前記作用電極を洗浄して、前記被検物質と結合せず前記酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体を含む液を除去する第2洗浄工程と、前記作用電極と前記対極との間に、酸化還元可能な物質を存在させ、次いで前記作用電極と前記対極との間に電圧を印加して、前記酸化還元が可能な標識が、前記別の酸化還元可能な物質を酸化または還元させるために要した電流量を計測する電流量計測工程と、前記電流量から酸化還元反応を促進する標識量を求め、前記酸化還元反応を促進する標識量から被検物質量を算出する算出工程と、を含むことを特徴とする。

10

20

【発明の効果】

【0013】

本発明によれば、操作が簡便で、被検物質を高い選択性で、かつ高感度で分析することができる分析キットおよび分析方法を提供することが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】本発明の一実施形態にかかる分析キットで用いるセンサの平面図である。

30

【図2】図1のII-II線断面図である。

【図3】本発明の一実施形態にかかる分析方法を説明するフロー図である。

【図4】本発明の一実施形態にかかる分析方法を説明する概念図である。

【図5】実施例1で使用した各抗原分析用試料の抗原濃度と、抗原の標識であるコバルトナノ粒子をイオン化させるために要した電流量とをプロットしたグラフである。

【図6】実施例2で使用した各抗原分析用試料の抗原濃度と、抗原の標識であるコバルトナノ粒子をイオン化させるために要した電流量とをプロットしたグラフである。

【図7】実施例3で使用した各抗原分析用試料の抗原濃度と、抗原の標識である金ナノ粒子をイオン化させるために要した電流量とをプロットしたグラフである。

【図8】実施例4で使用した各抗原分析用試料の抗原濃度と、二次抗体に固定した標識酵素HRPが過酸化水素を分解するために要した電流をメディエータ液中のフェロシアン化イオンが増幅した電流量とをプロットしたグラフである。

40

【発明を実施するための形態】

【0015】

以下、本実施形態について、図面を用いてその構成を説明する。以下の説明で用いる図面は、特徴をわかりやすくするために便宜上特徴となる部分を拡大して示している場合があり、各構成要素の寸法比率などは実際と同じであるとは限らない。また、以下の説明において例示される材料、寸法等は一例であって、本発明はそれらに限定されるものではない。

【0016】

50

[分析キット]

本実施形態の分析キットは、被検物質溶液に含まれる被検物質を、抗原抗体反応を利用して分析するための分析キットである。被検物質は、例えば、生体材料であり、特にタンパク質やメタポロームである。

本実施形態の分析キットは、センサと二次抗体を含む液を備える。センサは、被検物質溶液に含まれる被検物質を補足する一次抗体が固定されていて、二次抗体は、補足した被検物質を定量するための標識が固定されている。

【 0 0 1 7 】

(センサ)

本発明の一実施形態にかかる分析キットで用いるセンサを図 1 と図 2 を参照して説明する。図 1 は、センサの一実施形態を示す平面図である。図 2 は、図 1 の II - II 線断面図である。

10

図 1 に示すセンサ 1 0 は、第 1 基板 1 1 と、第 1 基板 1 1 の表面 (図 2 において上面) において一方の端部近傍に設けられた作用電極 1 2、対極 1 3 及び参照電極 1 4 と、作用電極 1 2、対極 1 3 及び参照電極 1 4 にそれぞれ接続されるとともに第 1 基板 1 1 の他方の端部まで延在するように第 1 基板 1 1 上に形成されたリード線 1 2 a、1 3 a 及び 1 4 a と、第 1 基板 1 1 に接着された、作用電極 1 2、対極 1 3 及び参照電極 1 4 が露出するような窓 1 5 が形成されている第 2 基板 1 6 とから構成される。第 2 基板 1 6 は、リード線 1 2 a、1 3 a 及び 1 4 a のうち第 1 基板 1 1 の他方の端部近傍以外の部分を覆っている。

20

【 0 0 1 8 】

作用電極 1 2 は、導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極 (D L C 電極) である。導電性ダイヤモンド電極としては、ホウ素をドーブしたホウ素ドーブダイヤモンド電極を用いることができる。導電性ダイヤモンド電極は、 sp^3 結合を有するダイヤモンド構造を有する結晶質炭素電極である。導電性 D L C 電極は、主として炭素及び水素から構成され、 sp^3 結合および sp^2 結合が混在する非晶質炭素電極である。導電性 D L C 電極としては、窒素、リン、ヒ素、アンチモン及びビスマスからなる群から選ばれる少なくとも一種の元素をドーブした n 型半導体の D L C 電極と、ホウ素、ガリウム及びインジウムからなる群から選ばれる元素をドーブした p 型半導体の D L C 電極のいずれも用いることができる。

30

【 0 0 1 9 】

sp^3 結合の炭素を主体とする導電性ダイヤモンド電極および D L C 電極は、電気化学反応によって酸化または還元される化学物質が吸着する過程が極めて少ない。このため、例えば水に起因する水素や水酸化物やそれらのイオンによる電極への吸着を経る内圏酸化還元反応が極めて起こりにくい。その結果、残余電流と言われるノイズ電流が極端に小さくなるので、検出対象である被検物質の電気化学的反応を高 S N 比で検出することが可能である。

【 0 0 2 0 】

作用電極 1 2 は、表面 (図 2 において上側の面) に、一次抗体が固定されている。一次抗体は、測定対象の被検物質 (抗原) に合わせて適宜、選択して使用する。一次抗体としては、測定対象の被検物質に対して高い親和性を有し、抗原と結合するものであれば特に制限なく使用することができる。

40

【 0 0 2 1 】

対極 1 3 は、電気化学計測用のセンサにおいて通常用いられる電極用の導電性材料から構成される。対極 1 3 としては、例えば、カーボン電極、白金電極及び金電極などの貴金属電極、作用電極 1 2 と同じ導電性ダイヤモンド電極または導電性 D L C 電極を用いることができる。

【 0 0 2 2 】

参照電極 1 4 としては、例えば、銀 - 塩化銀電極または水銀 - 塩化水銀電極を用いることができる。参照電極 1 4 は、好ましくは銀 - 塩化銀電極である。

50

【0023】

第1基板11は、作用電極12、対極13及び参照電極14を支持する支持体である。第1基板11は、電気化学センサとしての使用に耐え得る物理的強度を有していればよい。

作用電極12がn型半導体のDLC電極であるときは、第1基板11はn型結晶性シリコン基板であることが好ましい。また、作用電極12がp型半導体のDLC電極であるときは、第1基板11はp型結晶性シリコン基板であることが好ましい。これにより、第1基板11と作用電極12との間に、ショットキー障壁などの界面抵抗が生じにくくなる。

【0024】

第2基板16は、第1基板11と同様の基板が用いられる。第1基板11と第2基板16は接着剤17によって接着されている。

10

【0025】

(二次抗体を含む液)

二次抗体を含む液は、溶媒と溶媒に分散された酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識が固定されている二次抗体とからなる。本実施形態において、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識は、電子を放出することで酸化が可能であるか、電子を受容することで還元が可能であるか、どちらかあるいは両方が可能か、他の酸化還元物質の酸化還元を促進する酵素や触媒であり、かつ二次抗体に固定されている化学物質を意味する。二次抗体と酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識とを固定化させる方法としては、特に制限はなく、物理吸着、化学吸着、水素結合、イオン結合、共有結合等を用いることができる。酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識は、酵素、金属錯体および金属ナノ粒子からなる群より選ばれる少なくとも一つであることが好ましい。

20

【0026】

本実施形態で標識として用いる酵素としては、例えば、西洋ワサビペルオキシターゼ、アルカリフォスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコースアミラーゼが挙げられる。グルコースデヒドロゲナーゼ(GDH)としては、ピロロキノリンキノン(PQQ)を補酵素とするもの(PQQ-GDH)、フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)を補酵素とするもの(FAD-GDH)、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)あるいはニコチンアデニンジヌクレオチドリノ酸(NADP)を補酵素とするもの(NAD(P)-GDH)の3種類に大きく大別される。GDHは、グルコース以外のマルトースやガラクトースを基質としないアスペルギルス・オリゼのFAD-GDH、アスペルギルス・オリゼの野生型FAD-GDH及びその改変体などが好ましい。また、補酵素として、フラビンアデニンジヌクレオチド、ピロロキノリンキノン等を追加しても良い。また、メディエータとしてフェリシアン化イオン、フェロセン、ルテニウム化合物、ヘキサクロロイリジウム(IV)酸イオン、ビス(2,2'-ビピリジン)ジクロロルテニウム、ビス(2,2'-ビピリジン)ジクロロオスミウム、ヨウ素等を追加しても良い。

30

【0027】

本実施形態で標識として用いる金属錯体としては、鉄錯体、銅錯体、イリジウム錯体、ルテニウム錯体、およびオスミウム錯体、例えば、フェリシアン化イオン、フェロセン、ヘキサクロロイリジウム(IV)酸イオン、ビス(2,2'-ビピリジン)ジクロロルテニウム、ルテノセン、ビス(2,2'-ビピリジン)ジクロロルテニウム、ビス(2,2'-ビピリジン)ジクロロルテニウム、ビス(2,2'-ビピリジン)ジクロロオスミウムなどが挙げられる。

40

【0028】

本実施形態で標識として用いる金属ナノ粒子は、金、白金、銀、銅、ロジウム、パラジウム、鉄、コバルトおよびニッケルからなる群より選ばれる少なくとも一種の金属を含むことが好ましい。金属は一種を単独で使用してもよいし、二種以上を組合せた合金として

50

使用してもよい。特に、金ナノ粒子、銀ナノ粒子であることが好ましい。これらの金属ナノ粒子は、一種を単独で使用してもよいし、二種以上を組合せて使用してもよい。

【0029】

金属ナノ粒子は、平均粒子径が1nm以上100nm以下の範囲にあることが好ましく、10nm以上50nm以下の範囲にあることがさらに好ましい。金属ナノ粒子を含む液は、金属ナノ粒子の分散液であることが好ましい。

【0030】

金属ナノ粒子は、硫黄を含有していてもよい。硫黄は金属ナノ粒子の表面に付着してもよいし、金属原子間に挿入されていてもよい。硫黄は、金属ナノ粒子の酸化を抑制する効果ある。金属ナノ粒子の硫黄の含有量は、0.001質量%以上0.5質量%以下の範囲にあることが好ましい。

10

【0031】

二次抗体は、測定対象の被検物質(抗原)に合せて適宜、選択して使用する。二次抗体としては、測定対象の被検物質に対して高い親和性を有し、抗原と結合するものであれば特に制限なく使用することができる。

【0032】

溶媒としては、水系溶媒、有機系溶媒およびこれらの混合液を用いることができる。水系溶媒の例としては、水、緩衝液を挙げることができる。緩衝液としては、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を用いることができる。有機系溶媒の例としては、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノールなどの1価アルコール、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトンなどのケトンを挙げることができる。

20

【0033】

二次抗体を含む液は、さらに、増粘剤、界面活性剤、分散剤、酸化防止剤などを含有していてもよい。

【0034】

[分析方法]

次に、本実施形態の分析方法を、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識として、磁性を有する磁性金属ナノ粒子を用いた場合を例にとり、図3と図4を参照して説明する。

図3は、本発明の一実施形態にかかる分析方法を説明するフロー図である。図4は、本発明の一実施形態にかかる分析方法を説明する概念図である。

30

本実施形態の分析方法は、図3に示すように、第1結合工程S01、第1洗浄工程S02、第2結合工程S03、第2洗浄工程S04、磁場印加工程S05、電流量計測工程S06、算出工程S07を含む。

【0035】

(第1結合工程S01)

第1結合工程S01では、上述のセンサ10の作用電極12と、被検物質溶液とを接触させる。図4(a)に示すように、作用電極12の表面には、測定対象物である被検物質と選択的に結合可能な一次抗体31が固定されている。このため、第1結合工程S01では、図4(b)に示すように、測定対象となる被検物質32のみが一次抗体31に補足される。

40

【0036】

(第1洗浄工程S02)

第1洗浄工程S02では、作用電極12を洗浄して作用電極12に付着している被検物質溶液を除去する。洗浄液としては、水系溶媒、有機系溶媒を用いることができる。

【0037】

(第2結合工程S03)

第2結合工程S03では、作用電極12と、前述の磁性金属ナノ粒子の分散液とを接触させる。図4(c)に示すように、磁性金属ナノ粒子33の表面には、測定対象物である被検物質32と選択的に結合可能な二次抗体34が固定されている。このため、第2結合

50

工程 S 0 3 により、図 4 (c) に示すように、被検物質 3 2 と二次抗体 3 4 が結合し、被検物質 3 2 に標識となる磁性金属ナノ粒子 3 3 が接続される。

【 0 0 3 8 】

(第 2 洗浄工程 S 0 4)

第 2 洗浄工程 S 0 4 では、作用電極 1 2 を洗浄して作用電極 1 2 に付着している磁性金属ナノ粒子の分散液を除去する。この第 2 洗浄工程 S 0 4 により、被検物質 3 2 に接続されていない磁性金属ナノ粒子 3 3 が除去される。洗浄液としては、水系溶媒、有機系溶媒を用いることができる。

【 0 0 3 9 】

(磁場印加工程 S 0 5)

磁場印加工程 S 0 5 では、被検物質 3 2 と接続された磁性金属ナノ粒子 3 3 に溶媒の存在下で磁場を印加する。磁場は、作用電極 1 2 の背面側から磁性金属ナノ粒子 3 3 を引き付ける方向に印加することが好ましい。磁場は、例えば、図 4 (d) に示すように、作用電極 1 2 の背面 (図 4 (d) において下面) の側に磁石 3 5 を配置することによって印加することができる。磁石 3 5 としては、永久磁石または電磁石を用いることができる。この磁場印加工程 S 0 5 により、被検物質 3 2 と接続された磁性金属ナノ粒子 3 3 が作用電極 1 2 に接触する。

10

【 0 0 4 0 】

溶媒は、印加された磁場によって、磁性金属ナノ粒子 3 3 を作用電極 1 2 に接触するように移動させることができるものであれば、特に制限はないが、次の電流量計測工程 S 0 6 で使用できる導電性溶媒を用いることが好ましい。

20

【 0 0 4 1 】

(電流量計測工程 S 0 6)

電流量計測工程 S 0 6 では、作用電極 1 2 と対極 1 3 との間に電圧を印加して、磁性金属ナノ粒子 3 3 を導電性溶媒の存在下でイオン化 (酸化) させ、磁性金属ナノ粒子 3 3 の全量がイオン化するまでの電流量を計測する。例えば、磁性金属ナノ粒子 3 3 がコバルトナノ粒子である場合、図 4 (d) に示すように、作用電極 1 2 と対極 1 3 との間に電圧を印加することによって、コバルトナノ粒子が 2 価のイオンとして溶解するときの電流量を計測する。具体的には、センサ 1 0 のリード線 1 2 a、1 3 a、1 4 a をポテンシオスタットに接続し、ボルタンメトリー法を用いて、作用電極 1 2 と対極 1 3 との間に電圧を印加しながら、作用電極 1 2 と対極 1 3 との間に流れる電流量を測定する。

30

【 0 0 4 2 】

導電性溶媒としては、電解質溶液を用いることが好ましい。電解質溶液の電解質としては、塩化カリウム、塩化ナトリウム、塩化リチウムなどの塩化物を用いることができる。塩化物は、磁性金属ナノ粒子 3 3 をイオン化させる際に、磁性金属ナノ粒子 3 3 の表面に形成されている酸化物被膜 (不動態被膜) を破壊し、磁性金属を溶液に露呈させ、イオン化を進行しやすくする効果がある。電解質溶液の溶媒としては、水系溶媒を用いることができる。水系溶媒の例としては、水、緩衝液を挙げることができる。電解質溶液の塩化物イオン濃度は、0.05 モル / L 以上 1.0 モル / L 以下の範囲にあることが好ましい。

【 0 0 4 3 】

(算出工程 S 0 7)

算出工程 S 0 7 では、電流量から磁性金属ナノ粒子 3 3 の量 (標識量) を求め、磁性金属ナノ粒子 3 3 の量から被検物質量を算出する。電流量計測工程 S 0 6 で得られる電流量は、磁性金属ナノ粒子 3 3 の量 (すなわち、被検物質量) と相関する。従って、既知量の被検物質を含む試料を用いて検量線を作成することによって、被検物質溶液に含まれる被検物質を正確に定量することが可能となる。

40

【 0 0 4 4 】

以上、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識として、磁性金属ナノ粒子を用いた場合を例にとって本実施形態の分析方法を説明したが、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識として、酵素、金属錯体、磁性を有しない金属ナノ粒子を用

50

いる場合は、磁場印加工程 S 0 5 を行う必要はない。さらに、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識として、磁性金属ナノ粒子を用いた場合でも、磁場印加工程 S 0 5 を省略してもよい。本実施形態でセンサの作用電極として用いる導電性ダイヤモンド電極および導電性ダイヤモンド様炭素電極（DLC電極）は感度が高く、作用電極と標識との間に流れる微小な酸化還元電流を高 S N 比で検出することができる。このため、標識と作用電極とが密着していなくても標識量を高精度に測定することができる。

【 0 0 4 5 】

また、上記の分析方法では、電流量計測工程 S 0 6 において、磁性金属ナノ粒子 3 3 をイオン化（酸化）させることによって、標識量を算出しているが、これに限定されるものではない。

例えば、作用電極と対極との間に、酸化還元可能な物質を存在させ、次いで作用電極と対極との間に電圧を印加して、酸化還元反応を促進する標識が、酸化還元可能な物質を酸化または還元させるために要した電流量を計測することによって、標識量を算出してもよい。さらには、これにメディエータを用いてもよい。

酸化還元可能な物質として過酸化水素、メディエータとしてフェロシアン化イオンを用いる方法としては、次のようにすることができる。電圧印加下において、標識化合物である酵素 H R P の働きにより電解液中の過酸化水素が次式の分解が促進される。



上式の電子はメディエータ液中のフェロシアン化イオンがフェリシアン化イオンへの酸化によるものであり、電極から供給される。その際に生じる電流値を測定した。この電流値は、酵素 H R P が過酸化水素を分解するために要した電流量、つまり被検物質と接続した標識の量に比例した値となり、この電流値を測定することによって被検物質を定量的に測定することができる。

【 0 0 4 6 】

以上説明したように、本実施形態の分析キットによれば、センサ 1 0 の作用電極 1 2 として、導電性ダイヤモンド電極または導電性ダイヤモンド様炭素電極（DLC電極）を用いるので、磁性金属ナノ粒子の電気化学反応を高 S N 比で検出することが可能となる。また、センサ 1 0 の作用電極 1 2 は、一次抗体が固定されているので、被検物質溶液に含まれる被検物質を高い選択性で補足することができる。

また、本実施形態の分析キットによれば、二次抗体が固定されている磁性金属ナノ粒子の分散液を備えるので、標識として磁性金属ナノ粒子を用い、その磁性金属ナノ粒子の量を、電気化学的手法を用いて定量することによって、一次抗体で補足された被検物質を高い感度で分析することができる。

【 0 0 4 7 】

また、本実施形態の分析方法において、酸化還元が可能あるいは酸化還元反応を促進する標識として、磁性を有する磁性金属ナノ粒子を用いた場合は、被検物質と接続した磁性金属ナノ粒子に溶媒の存在下で磁場を印加して、磁性金属ナノ粒子を作用電極に接触させることによって、従来行われていた金属を化学的に溶解させる工程を実施せずに、電気化学的手法を用いて被検物質を定量することができる。従って、本発明の分析キットおよび分析方法によれば、操作が簡便で、被検物質を高い選択性で、かつ高感度で分析することが可能となる。

【 実施例 】

【 0 0 4 8 】

以下、具体的実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は、これら実施例に限定されない。

【 0 0 4 9 】

[実施例 1]

(1) 一次抗体付きセンサの作製

作用電極に導電性 DLC 膜、対極とリード線にカーボンペーストのスクリーン印刷により作成したカーボン膜、参照電極にペースト化した A g / A g C l のスクリーン印刷によ

10

20

30

40

50

り作成した Ag / AgCl 膜を用いたセンサチップを用意した。このセンサチップの作用電極（電極面積 $S = 0.0962 \text{ cm}^2$ ）に、一次抗体として未標識の抗ヤギ IgG を固定して、作用電極の表面に一次抗体が固定されている一次抗体付きセンサを作製した。

【0050】

(2) 二次抗体付きコバルトナノ粒子分散液

4.60 mM 硫酸コバルト(II) 四水和物、および 0.460 mM クエン酸三ナトリウム二水和物を、2 L の脱イオン水に溶解させた。8.80 mM 水素化ホウ素ナトリウムを混合物に添加し、10 分間反応させた。ネオジム磁石を用いて生成したコバルトナノ粒子を分離し、エタノールで数回洗浄した。洗浄後、コバルトナノ粒子を室温にて真空オーブンで一晩乾燥させた。乾燥したコバルトナノ粒子を 450 で水素と窒素の混合ガスの下で 1 時間熱処理を行った。得られたコバルトナノ粒子の平均粒子径は 18 nm であった。

10

【0051】

上記のコバルトナノ粒子と、オボアルブミン(OA、グレード III)と、抗ヤギ IgG と、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)と、ポリエチレングリコールソルビタンモノラウラート(Tween 20、非イオン系界面活性剤)を混合し、コバルトナノ粒子の表面に、抗ヤギ IgG (二次抗体)を固定した二次抗体付きコバルトナノ粒子分散液を作製した。二次抗体付きコバルトナノ粒子分散液のコバルトナノ粒子の濃度は 0.007 質量%とした。抗ヤギ IgG としては、Jackson ImmunoResearch Laboratories 社から市販されているポリクローナル抗体を使用した。

20

【0052】

(3) 抗原分析用試料

抗原分析用試料として、下記に示すように抗原濃度がそれぞれ異なる No. 1 ~ No. 6 を用意した。下記の No. 1 ~ No. 6 は、0.1% の Tween 20 を含む PBS 緩衝液と、ヤギ IgG (抗原)とを抗原濃度が下記の濃度となるように混合することによって調製した。

No. 1 : 抗原濃度 = 0.001 ng / mL

No. 2 : 抗原濃度 = 0.01 ng / mL

No. 3 : 抗原濃度 = 0.1 ng / mL

No. 4 : 抗原濃度 = 1 ng / mL

No. 5 : 抗原濃度 = 10 ng / mL

No. 6 : 抗原濃度 = 100 ng / mL

30

【0053】

(4) 抗原の分析

(3) で用意した No. 1 ~ No. 6 の各抗原分析用試料について、35 μ L を正確に量り取り、これを上記(1)で作製した一次抗体付きセンサの作用電極の上に滴下した後、40 分間インキュベートした(第 1 結合工程)。

【0054】

次に、一次抗体付きセンサの作用電極を、洗浄液を用いて洗浄して、抗原分析用試料を洗い流した(第 1 洗浄工程)。洗浄液には、PBS を用いた。

【0055】

次に、上記(2)で調製した二次抗体付きコバルトナノ粒子分散液を 1 μ L 正確に量り取り、これを、一次抗体付きセンサの作用電極の上に滴下した後、3 時間インキュベートした(第 2 結合工程)。

40

【0056】

次に、一次抗体付きセンサの作用電極を、洗浄液を用いて洗浄して、二次抗体付きコバルトナノ粒子分散液を洗い流した(第 2 洗浄工程)。洗浄液には、PBS を用いた。

【0057】

次に、一次抗体付きセンサのリード線をポテンシオスタットに接続し、一次抗体付きセンサを、プラスチック製角型容器に、その一次抗体付きセンサの背面(作用電極側とは反対側の面)がプラスチック製角型容器の底面に接触するように収容した。次いで、プラス

50

チック製角型容器に、PBSに0.1モル/L塩化カリウムを溶解させた電解質溶液を注入し、一次抗体付きセンサを電解質溶液に浸漬させた。そしてプラスチック製角型容器の底部外側にネオジム磁石を密着配置して、一次抗体付きセンサの作用電極に、センサ背面側からコバルトナノ粒子を引き付ける方向に磁場を印加した（磁場印加工程）。

【0058】

次に、ポテンシオスタットを用いて、作用電極と対極との間に電圧を印加して、作用電極と対極との間に流れる電流量を計測した（電流量計測工程）。

【0059】

図5に、No.1～No.6の各抗原分析用試料の抗原濃度と、作用電極と対極との間に流れた電流量（すなわちコバルトナノ粒子をイオン化させるために要した電流量）とをプロットしたグラフを示す。図5のグラフから電流値と、抗原分析用試料の抗原濃度との間には相関関係があることが確認された。従って、既知量の抗原（被検物質）を含む試料を用いて検量線（電流値 - 抗原濃度曲線）を作成することによって、被検物質溶液に含まれる抗原（被検物質）を正確に定量することが可能となることが確認された。

10

【0060】

[実施例2]

磁場印加工程、すなわちプラスチック製角型容器の底部外側にネオジム磁石を密着配置して、一次抗体付きセンサの作用電極に、センサ背面側からコバルトナノ粒子を引き付ける方向に磁場を印加することを行わなかったこと以外は、実施例1と同様にして、各抗原分析用試料の抗原濃度と、抗原の標識であるコバルトナノ粒子をイオン化させるために要した電流量とをプロットしたグラフを作成した。その結果を、図6に示す。図6のグラフから、電流値と、抗原分析用試料の抗原濃度との間には相関関係があることが確認された。従って、磁場印加工程を行わなくても、既知量の抗原（被検物質）を含む試料を用いて検量線（電流値 - 抗原濃度曲線）を作成することによって、被検物質溶液に含まれる抗原（被検物質）を定量することが可能となることが確認された。

20

【0061】

[実施例3]

(1) 一次抗体付きセンサの作製

作用電極に導電性DL膜、対極とリード線にカーボンペーストのスクリーン印刷により作成したカーボン膜、参照電極にペースト化したAg/AgClのスクリーン印刷により作成したAg/AgCl膜を用いたセンサチップを用意した。このセンサチップの作用電極（電極面積 $S = 0.0962 \text{ cm}^2$ ）に、一次抗体として未標識の抗ヤギIgGを固定して、作用電極の表面に一次抗体が固定されている一次抗体付きセンサを作製した。

30

【0062】

(2) 二次抗体付き金ナノ粒子分散液

田中貴金属社製金コロイド溶液（粒径20nm）と、オボアルブミン（OA、グレードIII）と、抗ヤギIgGと、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）と、ポリエチレングリコールソルビタンモノラウレート（Tween20、非イオン系界面活性剤）を混合し、金ナノ粒子の表面に、抗ヤギIgG（二次抗体）を固定した二次抗体付き金ナノ粒子分散液を作製した。二次抗体付き金ナノ粒子分散液の金ナノ粒子の濃度は0.007質量%とした。抗ヤギIgGとしては、Jackson ImmunoResearch Laboratories社から市販されているポリクローナル抗体を使用した。

40

【0063】

(3) 抗原分析用試料

抗原分析用試料として、下記に示すように抗原濃度がそれぞれ異なるNo.1～No.6を用意した。下記のNo.1～No.6は、0.1%のTween20を含むPBS緩衝液と、ヤギIgG（抗原）とを抗原濃度が下記の濃度となるように混合することによって調製した。

No.1：抗原濃度 = 0.001 ng/mL

No.2：抗原濃度 = 0.01 ng/mL

50

No. 3 : 抗原濃度 = 0.1 ng / mL

No. 4 : 抗原濃度 = 1 ng / mL

No. 5 : 抗原濃度 = 10 ng / mL

No. 6 : 抗原濃度 = 100 ng / mL

【0064】

(4) 抗原の分析

(3) で用意した No. 1 ~ No. 6 の各抗原分析用試料について、35 μ L を正確に量り取り、これを上記(1) で作製した一次抗体付きセンサの作用電極の上に滴下した後、40 分間インキュベートした(第1結合工程)。

【0065】

次に、一次抗体付きセンサの作用電極を、洗浄液を用いて洗浄して、抗原分析用試料を洗い流した(第1洗浄工程)。洗浄液には、PBS を用いた。

【0066】

次に、上記(2) で調製した二次抗体付き金ナノ粒子分散液を1 μ L 正確に量り取り、これを、一次抗体付きセンサの作用電極の上に滴下した後、3 時間インキュベートした(第2結合工程)。

【0067】

次に、一次抗体付きセンサの作用電極を、洗浄液を用いて洗浄して、二次抗体付き金ナノ粒子分散液を洗い流した(第2洗浄工程)。洗浄液には、PBS を用いた。

【0068】

次に、一次抗体付きセンサのリード線をポテンシオスタットに接続し、一次抗体付きセンサを、プラスチック製角型容器に、その一次抗体付きセンサの背面(作用電極側とは反対側の面)がプラスチック製角型容器の底面に接触するように収容した。次いで、プラスチック製角型容器に、PBS に0.1 モル/L 塩化カリウムを溶解させた電解質溶液を注入し、一次抗体付きセンサを電解質溶液に浸漬させた。

【0069】

次に、ポテンシオスタットを用いて、作用電極と対極との間に電圧を印加して、作用電極と対極との間に流れる電流量を計測した(電流量計測工程)。

【0070】

図7に、No. 1 ~ No. 6 の各抗原分析用試料の抗原濃度と、作用電極と対極との間に流れた電流量(すなわち金ナノ粒子をイオン化させるために要した電流量)とをプロットしたグラフを示す。図5のグラフから電流値と、抗原分析用試料の抗原濃度との間には相関関係があることが確認された。従って、既知量の抗原(被検物質)を含む試料を用いて検量線(電流値 - 抗原濃度曲線)を作成することによって、被検物質溶液に含まれる抗原(被検物質)を正確に定量することが可能となることが確認された。

【0071】

[実施例4]

(1) 一次抗体付きセンサの作製

ポリエチレンテレフタレート基板に対極とリード線をマスクでパターンニングした金蒸着膜、作用電極にSiウエハに成膜した導電性DL膜、参照電極にペースト化したAg / AgClのスクリーン印刷により作成したAg / AgCl膜を用いたセンサチップを用意した。このセンサチップの作用電極(電極面積 $S = 0.0962 \text{ cm}^2$)に、一次抗体として未標識のストレスマークバイオサイエンス社製抗8 - ヒドロキシデオキシグアノシン(抗8 - OHdG)抗体(SMC - 155D)を固定して、作用電極の表面に一次抗体が固定されている一次抗体付きセンサを作製した。

【0072】

(2) 酵素標識二次抗体液

酵素標識二次抗体には、ストレスマークバイオサイエンス社製西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)標識8 - ヒドロキシデオキシグアノシン(抗8 - OHdG)抗体(SMC - 155D - HRP)を用い、これをリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で10 μ g / mL

10

20

30

40

50

に希釈して酵素標識二次抗体液を調製した。

【0073】

(3) メディエータ液

メディエータには、フェロシアン化カリウムを用い、これをウシ血清アルブミン(BSA)と共にPBS緩衝液に溶解してメディエータ液を調製した。フェロシアン化カリウムの濃度は25 mg/mL、BSAの濃度は1質量%とした。

【0074】

(4) 抗原分析用試料

抗原分析用試料として、下記に示すように抗原濃度がそれぞれ異なるNo. 1~No. 6を用意した。下記のNo. 1~No. 6は、0.1%のTween 20を含むPBS緩衝液と、8-OHdG(抗原)とを抗原濃度が下記の濃度となるように混合することによって調製した。

No. 1: 抗原濃度 = 0.01 ng/mL

No. 2: 抗原濃度 = 0.1 ng/mL

No. 3: 抗原濃度 = 1 ng/mL

No. 4: 抗原濃度 = 10 ng/mL

No. 5: 抗原濃度 = 100 ng/mL

No. 6: 抗原濃度 = 1000 ng/mL

【0075】

(5) 抗原の分析

(4)で用意したNo. 1~No. 6の各抗原分析用試料について、35 µLを正確に量り取り、これを上記(1)で作製した一次抗体付きセンサの作用電極の上に滴下した後、40分間インキュベートした(第1結合工程)。

【0076】

次に、一次抗体付きセンサの作用電極を、洗浄液を用いて洗浄して、抗原分析用試料を洗い流した(第1洗浄工程)。洗浄液には、PBSを用いた。

【0077】

次に、上記(2)で調製した酵素標識二次抗体液を1 µL正確に量り取り、これを、一次抗体付きセンサの作用電極の上に滴下した後、3時間インキュベートした(第2結合工程)。

【0078】

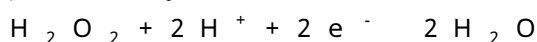
次に、一次抗体付きセンサの表面をPBSにて洗浄し、未反応の酵素標識二次抗体を除去した(第2洗浄工程)。次いで、上記(3)で調製したメディエータ液を1 µL滴下し、30分乾燥させた。

【0079】

その後、リード線をポテンシオスタットに接続し、プラスチック製角型容器に、PBSに0.1 mol/L過酸化水素を溶解させた電解質溶液を注入し、一次抗体付きセンサを電解質溶液に浸漬させた。

【0080】

次に、ポテンシオスタットを用いて、作用電極と対極との間に電圧を印加して、作用電極と対極との間に流れる電流量を計測した(電流量計測工程)。すなわち、電圧印加下において、標識化合物である酵素HRPの働きにより、電解液中の過酸化水素の次式による分解が促進される。



上記の反応式において、電子(e⁻)は、メディエータ液中のフェロシアン化イオンがフェリシアン化イオンへの酸化によるものであり、電極から供給される。その際に生じる電流値を測定した。この電流値は、酵素HRPが過酸化水素を分解するために要した電流量、つまり被検物質と接続した標識の量に比例した値となり、この電流値を測定することによって被検物質を定量的に測定することができる。

【0081】

10

20

30

40

50

図 8 に、No. 1 ~ No. 6 の各抗原分析用試料の抗原濃度と、作用電極と対極との間に流れた電流量（すなわち、二次抗体に固定した標識酵素 HRP が過酸化水素を分解するために要した電流をメディエータ液中のフェロシアン化イオンが増幅した電流量）とをプロットしたグラフを示す。図 8 のグラフから電流値と、抗原分析用試料の抗原濃度との間には相関関係があることが確認された。従って、既知量の抗原（被検物質）を含む試料を用いて検量線（電流値 - 抗原濃度曲線）を作成することによって、被検物質溶液に含まれる抗原（被検物質）を正確に定量することが確認された。

【符号の説明】

【0082】

10 ... センサ、11 ... 第1基板、12 ... 作用電極、13 ... 対極、14 ... 参照電極、12a、13a、14a ... リード線、15 ... 窓、16 ... 第2基板、17 ... 接着剤、31 ... 一次抗体、32 ... 被検物質、33 ... 磁性金属ナノ粒子、34 ... 二次抗体、35 ... 磁石

10

【図1】

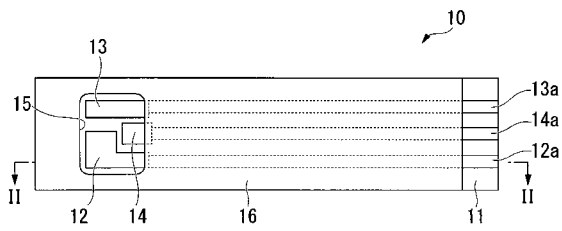


図1

【図2】

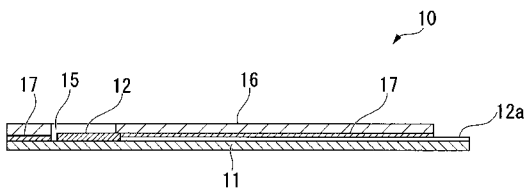


図2

【図3】

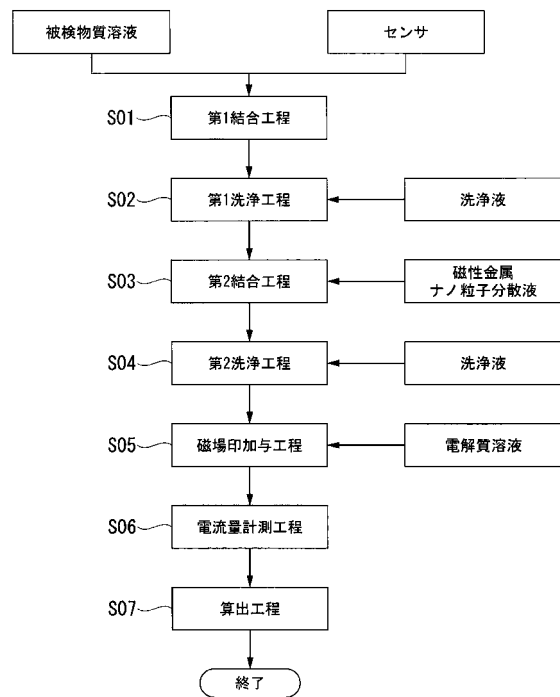


図3

【 図 4 】

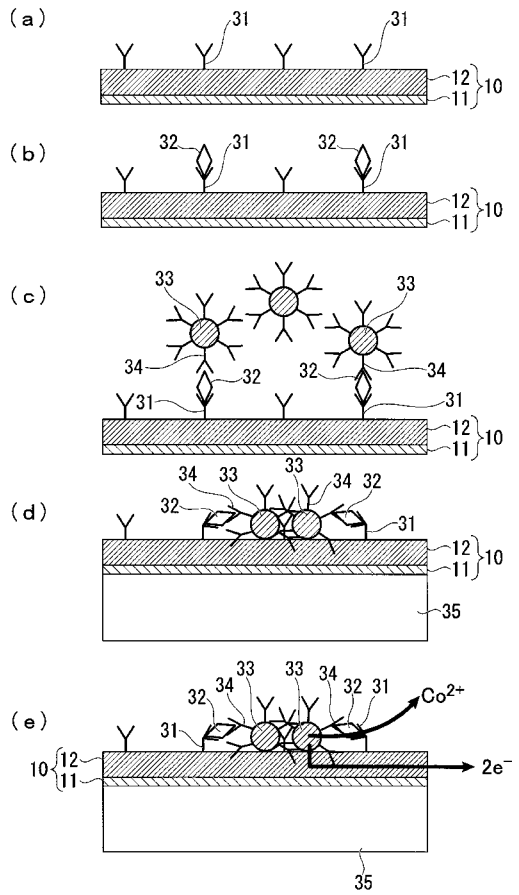


図4

【 図 5 】

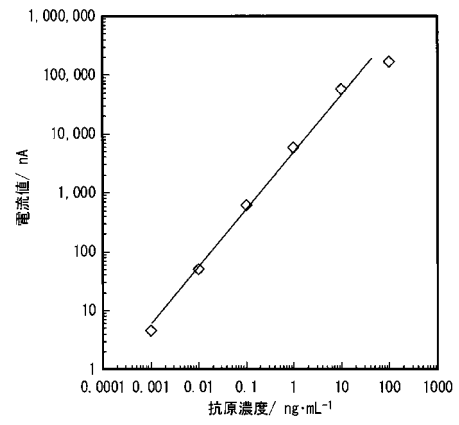


図5

【 図 6 】

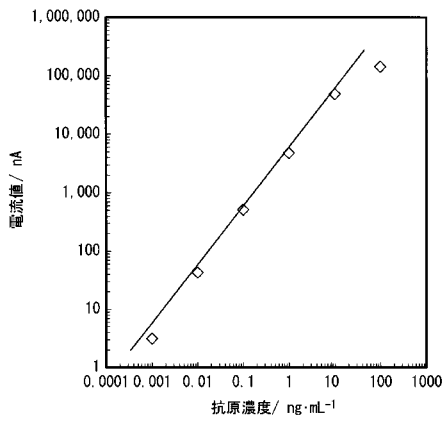


図6

【 図 7 】

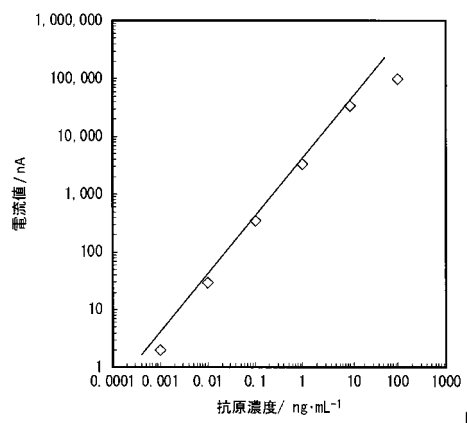


図7

【 図 8 】

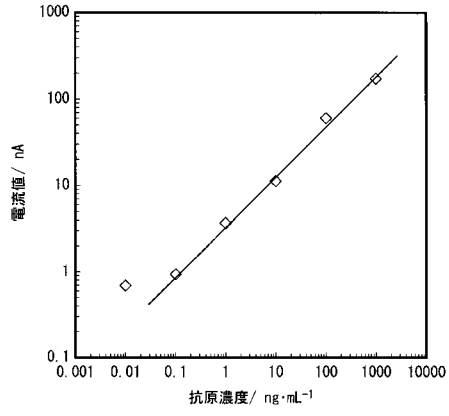


図 8

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
G 0 1 N 27/416 3 3 6 B

(72)発明者 崔 京九
東京都港区芝浦三丁目9番1号 TDK株式会社内
Fターム(参考) 2G045 AA25 FB05