

(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2016-126003  
(P2016-126003A)

(43) 公開日 平成28年7月11日(2016.7.11)

(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 G O 6 O

審査請求 未請求 請求項の数 13 O L (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2015-221337 (P2015-221337)  
(22) 出願日 平成27年11月11日 (2015.11.11)  
(31) 優先権主張番号 特願2014-263899 (P2014-263899)  
(32) 優先日 平成26年12月26日 (2014.12.26)  
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(71) 出願人 000003078  
株式会社東芝  
東京都港区芝浦一丁目1番1号  
(74) 代理人 110001737  
特許業務法人スズエ国際特許事務所  
(72) 発明者 本郷 禎人  
東京都港区芝浦一丁目1番1号 株式会社  
東芝内  
(72) 発明者 宮本 浩久  
東京都港区芝浦一丁目1番1号 株式会社  
東芝内  
Fターム(参考) 2G060 AA05 AD08 AF02 AF20 AG11  
HC10 KA09

(54) 【発明の名称】 検体検出方法および検体検出装置

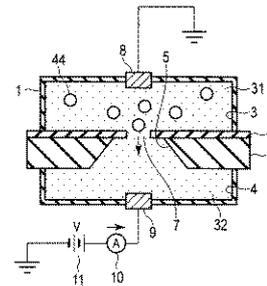
(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ウイルスや細菌等を高感度に検出する方法を提供する。

【解決手段】 測定カセット1と、測定カセットを隔壁で区画することにより形成された第1のチャンバ3および第2のチャンバ4と、隔壁2に開口され、第1、第2のチャンバ間を連通する貫通孔7と、第1のチャンバ側、第2のチャンバ側に位置する測定カセットにそれぞれ設けられる第1の電極8および第2の電極9とを具備する検体検出装置を用いて、測定対象物質を含む検体と、測定対象物質より寸法が小さい複数のタグ粒子、および各タグ粒子の表面に結合され、測定対象物質に特異的に結合する捕捉物質を含む試薬と、を第1のチャンバ内に導入し、第1、第2の電極間に電圧を印加し、第1のチャンバ内の、複数のタグ粒子が捕捉物質を介して表面に結合、被覆された測定対象物質を、貫通孔に通過するときの第1、第2の電極間に流れる電流の変化を観測し、検体中の測定対象物質の存在を検出する。

【選択図】 図1

図1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

測定カセットと、前記測定カセットを隔壁で区画することにより形成された第 1 のチャンバおよび第 2 のチャンバと、前記隔壁に設けられ、前記第 1 のチャンバおよび前記第 2 のチャンバを互いに接続する貫通孔と、前記第 1 のチャンバ側に位置する前記測定カセットに設けられ、少なくとも一部が前記第 1 のチャンバ内に位置する第 1 の電極と、前記第 2 のチャンバ側に位置する前記測定カセットに設けられ、少なくとも一部が前記第 2 のチャンバ内に位置する第 2 の電極と、を具備する検体検出装置を準備すること；

測定対象物質を含む検体および試薬を前記第 1 のチャンバ内に導入すること、前記試薬は前記検体中の前記測定対象物質より寸法が小さい複数のタグ粒子と、前記各タグ粒子の表面に結合され、前記測定対象物質の表面に特異的に結合する捕捉物質とを含む；

10

通電可能な液体を前記第 2 のチャンバに導入すること；

前記第 1 の電極と前記第 2 の電極の間に電圧を印加すること；

前記第 1 のチャンバ内の前記測定対象物質を、前記貫通孔に通過させること、前記測定対象物質の表面は前記複数のタグ粒子が前記捕捉物質を介して結合、被覆されている；および

前記第 1、第 2 の電極間に流れる電流の変化を観測し、前記検体中の前記測定対象物質の存在を検出すること；

を含む検体検出方法。

**【請求項 2】**

20

前記タグ粒子は、前記検体にその中の前記測定対象物質に比べて過剰に混合する請求項 1 記載の検体検出方法。

**【請求項 3】**

前記タグ粒子の個は、前記測定対象物質の数の  $10 \sim 10^6$  倍である請求項 2 記載の検体検出方法。

**【請求項 4】**

前記検体および前記試薬は、通電可能な液体と共に前記第 1 のチャンバに導入する請求項 1 記載の検体検出方法。

**【請求項 5】**

前記複数のタグ粒子は、前記測定対象物質の表面に前記捕捉物質を介して結合、被覆され、前記複数のタグ粒子で被覆された前記測定対象物質は前記複数のタグ粒子の被覆なしの前記測定対象物質の形状に対して相似的である請求項 1 記載の検体検出方法。

30

**【請求項 6】**

前記各タグ粒子の寸法は、前記測定対象物質の寸法の  $10 \sim 70\%$  である請求項 1 記載の検体検出方法。

**【請求項 7】**

前記試薬を構成する前記複数のタグ粒子は、互いに異なる寸法を有する 2 種類のタグ粒子を含む請求項 1 記載の検体検出方法。

**【請求項 8】**

前記各タグ粒子は、前記捕捉物質が当該タグ粒子の表面に局所的に結合される請求項 1 記載の検体検出方法。

40

**【請求項 9】**

前記タグ粒子は、ポリスチレン粒子またはナノサイズの金粒子である請求項 1 記載の検体検出方法。

**【請求項 10】**

本体；

前記本体内を隔壁で区画することにより形成された第 1、第 2 のチャンバであって、前記第 1 のチャンバは流路を有する；

前記隔壁に設けられ、前記第 1 のチャンバの前記流路および前記第 2 のチャンバを互いに接続する貫通孔；

50

前記流路の一端に位置する前記本体部分に設けられた検体入口；

前記流路の他端に位置する前記本体部分に設けられた出口；

前記流路内に設けられた第1のフィルタであって、当該第1のフィルタは前記貫通孔に対して前記検体入口から前記出口に向かう検体の流れの下流側に配置され、かつ前記検体中の測定対象物質より寸法が小さい複数のタグ粒子と前記各タグ粒子の表面に結合され、前記測定対象物質の表面と特異的に結合する捕捉物質とを含む試薬が予め保持される；

前記第1のチャンバ側に位置する前記本体部分に設けられ、少なくとも一部が前記第1のチャンバ内に位置する第1の電極；

前記第2のチャンバ側に位置する前記本体部分に設けられ、少なくとも一部が前記第2のチャンバ内に位置する第2の電極；および

前記第1のフィルタで前記検体中の前記測定対象物質が前記複数のタグ粒子と前記捕捉物質を介して結合したとき、当該測定対象物質を前記第1のフィルタから前記検体の流れの上流側の前記流路に脱離する脱離部；

を備える検体検出装置。

【請求項11】

前記第1のフィルタは、複数のナノピラーを備え、各ナノピラーは前記検体の流れ方向に沿って配置されている請求項10記載の検体検出装置。

【請求項12】

前記第1のフィルタは、ナノワイヤを備える請求項10記載の検体検出装置。

【請求項13】

前記第1のフィルタに対して前記検体の流れの上流側の前記流路に配置され、かつ前記検体中の夾雑物を除去するように構成される第2のフィルタをさらに備える請求項10記載の検体検出装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

実施形態は、検体中のウイルスや細菌等を検出するための検体検出方法および検体検出装置に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、エボラ出血熱やデング熱等、ウイルスが原因となる感染症が急激に世界に蔓延し、社会問題になっている。発症後の患者の適切な隔離等の対処は、パンデミックを防止するために非常に重要である。さらに踏み込んで、罹患しているが、発症していない患者を適切に見極め、患者からの発症したウイルスの拡散を未然に防ぐことも今後重要になる。

【0003】

現行のイムノクロマトグラフィ法による検出方法は、非常に安価な方法で、比較的短時間に結果が得られる有力な方法である。しかしながら、当該検出方法は例え測定対象物質であるウイルスに対応する抗体が開発されたとしても、十分な検出感度が得られない。また、発症前のウイルス量が少ない状態では、検出できない課題がある。

【0004】

一方、遺伝子検査を行えば、最低でも検出感度不足に伴う不検出の課題は解決し得る。しかしながら、遺伝子検査は検出装置および試薬が高価であり、その上、長い検査時間を必要とする。

【0005】

前記問題を解決する方法としてナノポア（微細孔）を用いてウイルスを識別する方法が知られて。この方法は、周りにウイルスを特異的に認識、結合する抗体で修飾した、ウイルスよりも大きな粒子に設定した標識粒子を使用する。ウイルスの量が少ない感染初期でも、標識粒子とウイルスとは標識粒子 - ウイルス - 標識粒子の順に結合した複合粒子を形成する。複合粒子が微細孔を通過した時にイオン電流波形を観測すると、電流低下信号波形がダブルピーク形状になるため、ウイルスを特異的に認識できる。その結果、ウイルス

10

20

30

40

50

を1個ずつ検出することが可能になり、高感度検出が実現できる。

【0006】

しかしながら、ダブルピーク波形の観測を可能にするには、複合粒子が微細孔を標識粒子 - ウィルス - 標識粒子の順に通過することが必要である。すなわち、複合粒子の通過姿勢が制約されるため、検出効率が低下する。従って、短時間で簡便に、しかも高感度で高効率に、ウィルスや細菌を検出できる方法等が要望されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】特開2014-173936号公報

10

【特許文献2】特表2011-501806号公報

【特許文献3】特開2014-35229号公報

【特許文献4】米国特許出願公開第2007/0202495号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

実施形態は、検体中のウィルスや細菌等の測定対象物質の存在を簡便に、短時間で、かつ高感度に検出することが可能な検体検出方法および検体検出装置を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

20

前記課題を解決するために、実施形態によると、

測定カセットと、前記測定カセットを隔壁で区画することにより形成された第1のチャンバおよび第2のチャンバと、前記隔壁に設けられ、前記第1のチャンバおよび前記第2のチャンバを互いに接続する貫通孔と、前記第1のチャンバ側に位置する前記測定カセットに設けられ、少なくとも一部が前記第1のチャンバ内に位置する第1の電極と、前記第2のチャンバ側に位置する前記測定カセットに設けられ、少なくとも一部が前記第2のチャンバ内に位置する第2の電極と、を具備する検体検出装置を準備すること；

測定対象物質を含む検体および試薬を前記第1のチャンバ内に導入すること、前記試薬は前記検体中の前記測定対象物質より寸法が小さい複数のタグ粒子と、前記各タグ粒子の表面に結合され、前記測定対象物質の表面に特異的に結合する捕捉物質とを含む；

30

通電可能な液体を前記第2のチャンバに導入すること；

前記第1の電極と前記第2の電極の間に電圧を印加すること；

前記第1のチャンバ内の前記測定対象物質を、前記貫通孔に通過させること、前記測定対象物質の表面は前記複数のタグ粒子が前記捕捉物質を介して結合、被覆されている；および

前記第1、第2の電極間に流れる電流の変化を観測し、前記検体中の前記測定対象物質の存在を検出すること；

を含む検体検出方法が提供される。

【0010】

別の実施形態によると、

40

本体；

前記本体を隔壁で区画することにより形成された第1、第2のチャンバであって、前記第1のチャンバは流路を有する；

前記隔壁に設けられ、前記第1のチャンバの前記流路および前記第2のチャンバを互いに接続する貫通孔；

前記流路の一端に位置する前記本体部分に設けられた検体入口；

前記流路の他端に位置する前記本体部分に設けられた出口；

前記流路内に設けられた第1のフィルタであって、当該第1のフィルタは前記貫通孔に対して前記検体入口から前記出口に向かう検体の流れの下流側に配置され、かつ前記検体中の測定対象物質より寸法が小さい複数のタグ粒子と前記各タグ粒子の表面に結合され、

50

前記測定対象物質の表面と特異的に結合する捕捉物質とを含む試薬が予め保持される：

前記第 1 のチャンバ側に位置する前記本体部分に設けられ、少なくとも一部が前記第 1 のチャンバ内に位置する第 1 の電極；

前記第 2 のチャンバ側に位置する前記本体部分に設けられ、少なくとも一部が前記第 2 のチャンバ内に位置する第 2 の電極；および

前記第 1 のフィルタで前記検体中の前記測定対象物質が前記複数のタグ粒子と前記捕捉物質を介して結合したとき、当該測定対象物質を前記第 1 のフィルタから前記検体の流れの上流側の前記流路に脱離する脱離部；

を備える検体検出装置が提供される。

【図面の簡単な説明】

10

【0011】

【図 1】第 1 の実施形態に係る検体検出方法に用いる検体検出装置の概略構成を示す図である。

【図 2】粒子寸法によって電流信号が異なることを示す図である。

【図 3】第 1 の実施形態に用いる試薬の例を示す図である。

【図 4】第 1 の実施形態で検出される電流信号を示す図である。

【図 5】第 2 の実施形態に用いる試薬の例を示す図である。

【図 6】第 2 の実施形態で検出される電流信号を示す図である。

【図 7】第 3 の実施形態に係る検体検出装置の概略構成を示す平面図である。

20

【図 8】図 7 の VIII - VIII 線に沿う断面図である。

【図 9】比較例 1 における信号強度の頻度分布を示す図である。

【図 10】実施例 1 における信号強度の頻度分布を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

以下、実施形態に係る検体検出方法を、図 1 に示す検体検出装置を参照して説明する。

【0013】

(第 1 の実施形態)

(検体検出装置の構成)

図 1 は、第 1 の実施形態に係る検体検出方法に用いる検体検出装置の概略構成を示す断面図である。

30

【0014】

検体検出装置は、液体が充填可能な測定カセット 1 を備えている。測定カセット 1 は、絶縁性の隔壁 2 により上下に区画されている。第 1 のチャンバ 3 は、測定カセット 1 内側の隔壁 2 上方に形成されている。第 2 のチャンバ 4 は、測定カセット 1 内側の隔壁 2 の下方に形成されている。支持板 6 は、隔壁 2 の下面に設けられ、当該隔壁 2 を支持している。円錐台形状の穴 5 は、支持板 6 の中央部に穿設している。微細な貫通孔 7 は、支持板 6 の穴 5 に対応する隔壁 2 部分に穿設されている。それ故、第 1、第 2 のチャンバ 3、4 は当該貫通孔 7 および穴 5 で相互の接続されている。微細な貫通孔 7 の径は、支持板 6 の穴 5 に比べて十分に小さい。

【0015】

40

例えば、第 1 の電極 8 は第 1 のチャンバ 3 が位置する測定カセット 1 の上部壁部に設けられ、第 1 の電極 8 の少なくとも一部は第 1 のチャンバ 3 内に位置する。第 1 の電極 8 は、例えば隔壁 2 の貫通孔 7 の直上に配置されている。第 2 の電極 9 は、第 2 のチャンバ 4 が位置する測定カセット 1 の下部壁部に設けられ、第 2 の電極 9 の少なくとも一部は第 2 のチャンバ 4 内に位置する。第 2 の電極 9 は、例えば隔壁 2 の貫通孔 7 の直下に位置している。第 1 の電極 8 は、接地されている。計測回路 10 および電源 11 は、第 2 の電極 9 にこの順序で接続されている。

【0016】

前記測定カセット 1 は、全体が電気的および化学的に不活性な材質によって構成されている。択一的に、測定カセット 1 は第 1 のチャンバ 3 の内部、第 2 のチャンバ 4 の内部、

50

第1の電極8との接触部分、第2の電極9との接触部分を電気的および化学的に不活性な材質によって構成してもよい。測定カセットは、例えばPEEK、ポリカーボネート、アクリル樹脂のような樹脂、ガラス、サファイア、セラミック、ゴム、エラストマーなどにより作られる。

【0017】

隔壁2は、ガラス、サファイア、セラミック、樹脂、ゴム、エラストマー、 $SiO_2$ 、 $Si_3N_4$ 、 $Al_2O_3$ などのような電気的および化学的に不活性で、かつ絶縁性の材質により形成することができる。

【0018】

隔壁2の貫通孔7の開口寸法（例えば径）は、後述するように複数のタグ粒子が捕捉物質を介して表面に結合、被覆された測定対象物質の寸法の10倍以下であることが好ましい。貫通孔7の長さ（隔壁の厚さに相当）は、前記複数のタグ粒子で表面が被覆された測定対象物質の寸法（例えば直径）と同等またはその寸法（例えば直径）より僅かに大きい寸法であることが好ましい。

【0019】

（検体単独の検出方法および検出信号）

図1の検体検出装置を用いて、検体中の測定対象物質の大きさおよび形状を測定する方法を、以下に説明する。

【0020】

まず、第2のチャンバ4内に通電可能な液体32を充填する。このとき、第2の電極9は第2のチャンバ4内に充填される通電可能な液体に部分的に浸漬される。

【0021】

次いで、第1のチャンバ3内に通電可能な液体31および測定対象物質を含む検体を導入する。このとき、第1、第2のチャンバ3、4間は、隔壁2の微細な貫通孔7および支持板6の穴5を通して液絡が取れる。また、第1の電極8は第1のチャンバ3内に充填される通電可能な液体に部分的に浸漬される。この状態で、第1の電極8と第2の電極9との間に電圧を印加することにより、電流は隔壁2の微細な貫通孔7に供給される。第1のチャンバ3内の通電可能な液体中の測定対象物質は、電場により微細な貫通孔7を通過し、第2のチャンバ4内の通電可能な液体に移動する。

【0022】

図2は、測定対象物質が微細な貫通孔7を通過するときに計測回路10で計測された電流値を模式的に示す。図2に示すように電流値は、測定対象物質40の大きさに依存して変化する。具体的には、電流変化ピークは測定対象物質40が小さい場合、ピークAに示すように小さくなる。電流変化ピークは、測定対象物質40が大きくなるに伴ってピークB、Cに示すように大きくなる。但し、測定対象物質40は大きさが同等で、性状が異なるが場合、電流値の変化だけから測定対象物質を識別することが大変困難である。

【0023】

第1、第2のチャンバ3、4内に充填される通電可能な液体31、32は、例えばKCl水溶液やNaCl水溶液のような電解質溶液、Tris Ethylene diamine tetra acetic acid (TEA)緩衝液や、PBS (Phosphate Buffered Saline)緩衝溶液、Tris-Buffered Saline (TBS)緩衝溶液、N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-ethanesulphonic acid (HEPES)緩衝溶液などの緩衝溶液を用いることができる。

【0024】

（検体に試薬を添加したときの検出信号）

第1の実施形態において、検体中に存在する可能性のある測定対象物質（例えばバイオ分子）が1種類である場合を例にして説明する。図3の(a)に示すように、試薬は捕捉物質42とタグ粒子43とを含む。捕捉物質42は、タグ粒子43の表面に結合され、測定対象物質の表面に特異的に結合する。タグ粒子43は、測定対象物質に比べて小さい寸法（例えば直径）を有する。この試薬を検体と混合する。測定対象物質41が検体内に存在する場合、図3の(b)に示すように複数のタグ粒子43が測定対象物質41の表面に

10

20

30

40

50

捕捉物質 4 2 を介して結合し、被覆する。これによって、複合粒子 4 4 が得られる。

【 0 0 2 5 】

次いで、図 1 に示すように検体と試薬の混合溶液 3 1 を第 1 のチャンバ 3 内に導入、充填する。また、第 2 のチャンバ 4 内にも通電可能な液体 3 2 を充填する。なお、検体は測定対象物質が含まれている通電可能な液体である。検体が通電可能な液体ではない場合、または検体だけでは第 1 のチャンバ 3 内に十分に液体が供給されない場合、検体と試薬の混合物を通電可能な液体に溶解して第 1 のチャンバ 3 内に導入すればよい。

【 0 0 2 6 】

このように第 1 のチャンバ 3 に検体と試薬の混合溶液 3 1 を導入した後、第 1 の電極 8 と第 2 の電極 9 との間に電圧を印加し、隔壁 2 の微細な貫通孔 7 に電流を流す。測定対象物質 4 1 の表面にタグ粒子 4 3 が捕捉物質 4 2 を介して結合、被覆した複合粒子 4 4 等の粒子は、第 1 のチャンバ 3 から微細な貫通孔 7 を通過し、第 2 のチャンバ 4 内の通電可能な液体 3 2 に移動する。このとき、計測回路 1 0 で計測された電流値がパルス的に変化する。

10

【 0 0 2 7 】

電流値の検出信号は、図 4 に示すように通過する粒子の寸法や形状に応じて変化する。具体的に、図 4 に示すように検出信号 A は測定対象物質 4 1 単独の場合に現われる。検出信号 B は、測定対象物質とは別個の粒子 4 1 ' 単独の場合に現われる。測定対象物質 4 1 の寸法は、測定対象物質とは別個の粒子 4 1 ' の寸法と同じである場合、測定対象物質 4 1 の電流値の変化量は検出信号 A、B によって示されるように同じである。従って、測定対象物質 4 1 は別個の粒子 4 1 ' から識別することはできない。なお、捕捉物質 4 2 が表面に結合されたタグ粒子 4 3 は図 4 に示す検出信号 C として現われる。検出信号 C の電流値の変化量は、タグ粒子 4 3 の寸法が測定対象物質 4 1 のそれより小さいので、非常に僅かである。

20

【 0 0 2 8 】

図 4 に示す検出信号 D は、複合粒子 4 4 の場合に得られる。複合粒子 4 4 は、測定対象物質 4 1 の表面に当該測定対象物質 4 1 に比べて寸法（例えば直径）の小さい複数のタグ粒子 4 3 が捕捉物質 4 2 を介して結合、被覆されたものである。図 4 に示す検出信号 D の電流値の変化量は、測定対象物質 4 1 単独の場合（図 4 に示す検出信号 A）に比較して大きくなる。

30

【 0 0 2 9 】

従って、測定対象物質 4 1 および当該測定対象物質と寸法が同じで、別個の粒子 4 1 ' が検体中に存在していても、測定対象物質 4 1 は捕捉物質 4 2 を介して複数のタグ粒子 4 3 が結合、被覆されているため、別個の粒子 4 1 ' に比べて大きな粒子寸法になる。それ故、計測回路 1 0 より検出信号（検出信号 D）に基づいて、測定対象物質 4 1 のみを判別し、検体中の測定対象物質 4 1 の存在を検出することが可能になる。

【 0 0 3 0 】

また、計測回路 1 0 で計測された電流値の変化量を一定時間に亘ってモニタし、図 4 に示す検出信号 D の数をカウントすることによって、検体中の測定対象物質の濃度を測定することも可能になる。

40

【 0 0 3 1 】

前記捕捉物質 4 2 は、例えば抗体、ペプチド、アプタマーまたは炭化水素鎖を用いることができる。

【 0 0 3 2 】

タグ粒子 4 3 は、形状が球状であることが好ましい。タグ粒子は、例えば負に帯電した球状のポリスチレン微粒子またはナノサイズの金粒子を用いることができる。

【 0 0 3 3 】

タグ粒子は、測定対象物質の表面に捕捉物質を介して結合し、その表面を被覆するため、タグ粒子の寸法（例えば直径）は測定対象物質のそれよりも小さい。測定対象物質の寸法（例えば直径）を 1 0 0 % と規定すると、タグ粒子の寸法は 1 0 % 以上 7 0 % 以下、よ

50

り好ましくは20%以上70%以下である。このようにタグ粒子の寸法を測定対象物質の寸法の10%以上70%以下することにより、複数のタグ粒子は測定対象物質の表面に結合、被覆する。それ故、寸法が適切に増大された構造物（例えば複合粒子）を得ることができる。特に、各タグ粒子の寸法は前記10%以上70%以下の範囲内で、下限側を選択する、つまり、より微細なタグ粒子を選択することが好ましい。これによって、単独のタグ粒子を検出したときの電流値の検出信号のピーク高さを小さく抑えることが可能になる。その結果、検出時のノイズ発生を抑制できる。

#### 【0034】

測定対象物質とタグ粒子の具体的な寸法関係は、測定対象物質の寸法（例えば直径）が100nm程度である場合、タグ粒子は20～50nmの寸法（例えば直径）であることが好ましい。さらに、測定対象物質の寸法（例えば直径）が50nm程度である場合には、タグ粒子は、10～30nmの寸法（例えば直径）であることが好ましい。

10

#### 【0035】

検体に試薬を混合する場合、試薬中のタグ粒子の量は検体中の測定対象物質の量に比べて過剰であることが好ましい。具体的には、タグ粒子の個数は測定対象物質のその10～10<sup>6</sup>倍であることが好ましい。タグ粒子の個数をこの比にすることによって、測定対象物質とのタグ粒子の衝突、接触の確率が増大する。従って、複数のタグ粒子は測定対象物質表面にそれらの間に捕捉物質を介して速やかに結合、被覆できる。その結果、隣接する測定対象物質がタグ粒子を挟んで結合する前に、各測定対象物質の表面を複数のタグ粒子で覆うことが可能になる。それ故、2つ以上の測定対象物質がタグ粒子を挟んで相互に結合するのを防ぎ、ダンベル構造等になるのを回避できる。換言すれば、個々の測定対象物質の表面に複数のタグ粒子が結合、被覆した独立した微細粒子を前述した検体測定装置で検出することが可能になる。前述したように第1、第2の電極間に電圧を印加して貫通孔に通電させ、当該貫通孔を通過する粒子による電流値の変化を計測する。当該計測において、タグ粒子の個数を測定対象物質の個数に対して増大すると、捕捉物質が結合したタグ粒子に起因する、単位時間あたりの電流値の検出信号の出現率が増大する。当該電流値の検出信号ピークを低くしてノイズ発生を抑制するために、前述したようにタグ粒子の寸法（直径）を測定対象物質寸法の10%以上70%以下の範囲内で、下限側に選択することが好ましい。

20

#### 【0036】

複数のタグ粒子を測定対象物質の表面に捕捉物質を介して結合し、被覆する形態において、複数のタグ粒子で被覆された測定対象物質は複数のタグ粒子の被覆なしの測定対象物質の形状に対して相似的であることが好ましい。

30

#### 【0037】

捕捉物質は、タグ粒子に局在するように結合することが好ましい。つまり、捕捉物質はタグ粒子に局所的に結合することが好ましい。このような形態において、タグ粒子は捕捉物質を介して測定対象物質に結合する際、タグ粒子は測定対象物質に対して結合異方性を示す。例えば、球体または略球体の形状を有するタグ粒子を想定したとき、タグ粒子の曲率表面の30～50%に対応する部位は捕捉物質と結合する材料で形成し、タグ粒子の残り（50～70%）の曲率表面に対応する部位は捕捉物質と結合しない材料で形成する。これによって、測定対象物質に対して結合異方性を有するタグ粒子を製造することができる。

40

#### 【0038】

このような結合異方性を有するタグ粒子を用いれば、測定対象物質に捕捉物質を介して複数のタグ粒子を結合、被覆したとき、タグ粒子が測定対象物質と結合する面を除く表面（全体の50～70%を示す表面）には捕捉物質が結合していない。このため、タグ粒子は専ら1つの測定対象物質に捕捉物質を介して結合し、別の測定対象物質と捕捉物質を介して結合する表面を持たない。その結果、1つのタグ粒子が2つ以上の測定対象物質に結合して、ダンベル構造等を形成するのを回避できる。換言すれば、個々の測定対象物質の表面に複数のタグ粒子が結合、被覆した構造を持つ独立した複合粒子を得ることが可能になる。それ故、独立した複合粒子を対象にして前述した検体測定装置で検出することが可

50

能になる。

【0039】

以上説明したように第1の実施形態によれば、測定対象物質を含む検体は複数のタグ粒子および各タグ粒子の表面に結合され、測定対象物質に特異的に結合する捕捉物質を含む試薬と共に、第1のチャンバ内に導入される。使用されるタグ粒子寸法（例えば直径）は、測定対象物質のそれよりも小さい。また、通電可能な液体を第2のチャンバに導入する。この状態で、第1のチャンバ内の混合溶液に浸漬される第1の電極と第2のチャンバ内の通電可能な液体に浸漬される第2の電極との間に電圧を印加することによって、電流は隔壁の貫通孔に供給される。特定の粒子が微細な貫通孔7を通過し、計測回路で計測された電流値のパルス的な変化を観測する。これによって、検体中のウイルスや細菌等の測定対象物質の存在を簡便、短時間で、かつ高感度に検出することが可能になる。

10

【0040】

すなわち、もし各タグ粒子を測定対象物質の寸法（例えば直径）以上の大きさにすると、次のような問題を生じる。a) タグ粒子が大きいため、測定対象物質との接触確率が低下して測定対象物質とタグ粒子との必要反応時間が増大する虞がある。b) 測定対象物質とタグ粒子との結合状態は、2つの測定対象物質が捕捉物質 - タグ粒子 - 捕捉物質と結合し、それ故、測定対象物質 - タグ粒子 - 測定対象物質のダンベル構造を持つ複合粒子を形成し、検出ピークがダブルピークになる。その結果、検出には電流波形を識別する必要がある。c) 電流波形を識別するには、ダンベル構造を持つ複合粒子が貫通孔内をそれらの結合方向に通過させる必要があり、通過姿勢が制約される。d) タグ粒子が大きいため、タグ粒子を測定対象物質に捕捉物質を介して結合する際に、立体障害を起こし、結合効率が低下する虞がある。e) 検体中の測定対象物質の濃度が高い場合、理想的なダンベル構造にならず、ブドウ房状になって、測定対象物質が貫通孔を通過する時、電流波形の検出自体が困難になる。

20

【0041】

第1の実施形態のように測定対象物質よりも小さい寸法（例えば直径）を有するタグ粒子を用いることによって、次のような有益性を達成できる。

【0042】

1) 測定対象物質よりも小さい寸法（例えば直径）を有するタグ粒子は、測定対象物質の寸法以上の大きなタグ粒子に比べて溶液中でのブラウン運動が活発になる。その結果、測定対象物質に対するタグ粒子の衝突、接触確率が上昇してそれらの間の結合効率を增大できる。

30

【0043】

2) タグ粒子と測定対象物質とが捕捉物質を介して結合する際、立体障害が小さくなるため、それらの間の結合効率を増大できる。

【0044】

3) 検出にあたって、電流波形ではなく、単純な信号強度で判断できる。

【0045】

4) 測定対象物質よりも小さい寸法を有するタグ粒子が測定対象物質表面に結合することによって、結合したタグ粒子による立体対称性が保持されるため、微細な貫通孔を通過する姿勢に制約がなくなる。それ故、単純な電流信号強度の比較だけで検体中の測定対象物質を判別、検出できるため、検出効率を向上できる。

40

【0046】

従って、検体中のウイルスや細菌等の測定対象物質の存在を簡便、短時間で、かつ高感度に検出することが可能な検体検出方法を提供できる。

【0047】

（第2の実施形態）

第2の実施形態では、検体内に存在している可能性がある測定対象物質（例えばバイオ分子）が2種類である例を説明する。なお、検体検出にあたっては前述した図1に示す検体検出装置を使用する。

50

## 【 0 0 4 8 】

図5の(a)に示すように、試薬は第1の測定対象物質の表面に特異的に結合する第1の捕捉物質42(例えば第1の抗体)と、当該捕捉物質42が結合され、第1の測定対象物質に比べて小さい寸法(例えば直径)を有する第1のタグ粒子43とを含む。また図5の(b)に示すように、試薬は第2の測定対象物質の表面に特異的に結合する第2の捕捉物質(例えば第2の抗体)52と、当該捕捉物質52が結合している第2のタグ粒子53とを含む。なお、第1、第2のタグ粒子43、53は寸法(例えば直径)が互いに異なる。例えば、第1のタグ粒子43は第2のタグ粒子53に比べて大きな径を有する。この試薬を検体に混合することにより、複数の第1のタグ粒子43は図5の(c)に示すように第1の捕捉物質42を介して第1の測定対象物質41の表面に結合してその表面を被覆する。また、図5の(d)に示すように、複数の第2のタグ粒子53は第2の捕捉物質52を介して第2の測定対象物質51の表面に結合してその表面を被覆する。

10

## 【 0 0 4 9 】

次いで、検体と試薬の混合溶液を第1のチャンバ3内に導入する。また、第2のチャンバ4内にも通電可能な液体を充填する。このように第1のチャンバ3に検体と試薬の混合溶液を導入した後、第1の電極8と第2の電極9との間に電圧を印加し、隔壁2の微細な貫通孔7に電流を流す。第1のチャンバ3内の第1のタグ粒子が第1の捕捉物質を介して第1の測定対象物質41の表面に結合、被覆した第1の複合粒子は、微細な貫通孔7を通過し、第2のチャンバ4内の通電可能な液体に移動する。また、第1のチャンバ3内の第2のタグ粒子が第2の捕捉物質を介して第2の測定対象物質の表面に結合、被覆した第2の複合粒子は、微細な貫通孔7を通過し、第2のチャンバ4内の通電可能な液体に移動する。これらの複合粒子がそれぞれ微細な貫通孔7を通過するとき、計測回路10で計測された電流値がパルス的に変化する。

20

## 【 0 0 5 0 】

電流値の検出信号は、図6に示すように通過する粒子の寸法に応じて変化する。具体的には、図6に示すように検出信号Aは第1の測定対象物質41単独の場合に現われる。検出信号Bは、第2の測定対象物質51単独の場合に現われる。第1の測定対象物質41と第2の測定対象物質51の寸法が同じである場合には、検出信号A、Bのように電流値の変化量が同じになる。従って、第1および第2の測定対象物質41および51は互いに識別できない。なお、第1の捕捉物質42が結合された第1のタグ粒子43およびは第2の捕捉物質52が結合された第2のタグ粒子53は、それぞれ図6に示す検出信号C、Dとして現われ、電流値の変化量が非常に僅かである。

30

## 【 0 0 5 1 】

第1の測定対象物質41に比べて寸法(例えば直径)の小さい複数の第1のタグ粒子43が第1の捕捉物質42を介して表面に結合され、複数の第1のタグ粒子43で表面が被覆された第1の測定対象物質41、すなわち前述した第1の複合粒子、の場合、図6に示す検出信号Eが現われる。他方、第2の測定対象物質51に比べて寸法(例えば直径)の小さい複数の第2のタグ粒子53が第2の捕捉物質52を介して表面に結合され、複数の第2のタグ粒子53で表面が被覆された第2の測定対象物質51、すなわち前述した第2の複合粒子、の場合、図6に示す検出信号Fが現われる。このとき、第1のタグ粒子43の寸法(例えば直径)は第2のタグ粒子53のそれに比べて大きい。それ故、複数の第1のタグ粒子43が第1の測定対象物質41の表面に結合、被覆された第1の複合粒子が貫通孔7に通過するときの電流値の変化量(図6の検出信号E)は、複数の第2のタグ粒子53が第2の測定対象物質51の表面に結合、被覆された第2の複合粒子における同様な電流値の変化量(図6に示す検出信号F)に比較して大きくなる。

40

## 【 0 0 5 2 】

第2の実施形態において、第1のタグ粒子43の寸法は第2のタグ粒子53のそれと異ならせる。これによって、第1の測定対象物質41が第1のタグ粒子43で結合された結合粒子の通過は、第2の測定対象物質51が第2のタグ粒子53で結合された結合粒子の通過から識別することができる。

50

## 【 0 0 5 3 】

従って、単独の第1の測定対象物質41の寸法が単独の第2の測定対象物質51のそれと本質的に同じで、かつそれらの電流信号が計測回路10で測定された検出信号から互いに本質的に同じであったとしても、第1の測定対象物質41が第1のタグ粒子43と結合した状態の電流信号を第2の測定対象物質51が第2のタグ粒子53とが結合した状態の電流信号から判別することが可能となる。その結果、検体内に存在する測定対象物質が第1の測定対象物質41であるのか、第2の測定対象物質51であるのかを、もしくは両方であるのか、又はいずれも存在しないのかを検出することが可能となる。

## 【 0 0 5 4 】

また、計測回路10で計測された電流値の変化量を一定時間に亘ってモニタし、図6に示す検出信号Eの数をカウントすることによって、検体中の第1の測定対象物質41の濃度を測定することも可能になる。同様に、図6に示す検出信号Fの数をカウントすることによって、検体中の第2の測定対象物質51の濃度を測定することも可能になる。

## 【 0 0 5 5 】

(第3の実施形態)

第3の実施形態に係る検体検出装置を図7および図8を参照して詳細に説明する。

## 【 0 0 5 6 】

図7は、第3の実施形態に係る検体検出装置の平面図である。図8は、図7のVIII-VI II線に沿う断面図である。例えば矩形形状の本体61は、矩形ブロック62を備えている。上溝64および下溝65は、矩形ブロック62に中央壁63を境にして設けられている。上蓋66は、ブロック62の上面に上溝64を覆うように設けられている。下蓋67は、ブロック62の下面に下溝65を覆うように設けられている。

## 【 0 0 5 7 】

中空状の第1のチャンバ68は、ブロック62の上溝64と上蓋66とで規定された空間に形成されている。中空状の第2のチャンバ69は、ブロック62の下溝65と下蓋67とで規定された空間に形成されている。

## 【 0 0 5 8 】

第1のチャンバ68は、左端側に位置する注入ポート70と、右端側に位置する流出ポート71と、両端が注入ポート70および流出ポート71に連通された流路72とから構成されている。流路72は、各ポート70, 71の幅より狭い幅を有する。検体入口73は、注入ポート70上の前記上蓋66に設けられている。検体出口74は、流出ポート71上の前記上蓋66に設けられている。平面形状が第1のチャンバ68と同形状の隔壁75は、第1のチャンバ68底部の中央壁63上に設けられている。微細な貫通孔76は、流出ポート71側の近くの流路72下の隔壁75部分に設けられている。貫通孔76に対向する中央壁63には、貫通孔76に比べて十分に大きな直径を有する穴77が開口されている。貫通孔76および穴77は、隔壁75および中央壁63にそれぞれ設けられているので、第1のチャンバ68の流路72は、第2のチャンバ69に貫通孔76および穴77を通して連絡される。

## 【 0 0 5 9 】

第1のフィルタ78は、貫通孔76に対して検体の注入口73から出口74に向かう検体の流れの下流側の第1のチャンバ68の流路72内に設けられている。検体の流れは、図7の矢印100で示される。第1のフィルタ78は、流路72内に0~1mmの距離で貫通孔76と近接して設けることが好ましい。第1のフィルタ78は、例えば複数のナノピラーを備えている。各ナノピラーは、流路72の長さ方向、換言すれば矢印100によって示される検体の流れ方向、に沿って設けられている。乾燥試薬は、複数のタグ粒子と各タグ粒子の表面に結合され、測定対象物質の表面に特異的に結合する捕捉物質とを含み、複数のナノピラー間に予め保持されている。各タグ粒子は、前記第1の実施形態で説明したように測定対象物質よりも小さい寸法(例えば直径)を有する。

## 【 0 0 6 0 】

第2のフィルタ79は、注入ポート70と貫通孔79の間の流路72に配置されている

。第2のフィルタ79は、検体が流路72を図7の矢印100に示す方向に流れるときに、検体中の夾雑物を吸着する役目をなす。

【0061】

通電可能な液体の導入口80は、第2のチャンバ69の左端側に位置する下蓋67に設けられている。通電可能な液体の排出口81は、第2のチャンバ69の右端側に位置する下蓋67に設けられている。

【0062】

第1の電極82は、第1のチャンバ68側に位置する上蓋66に設けられている。第1の電極82の少なくとも一部は、矢印100によって示される検体の流れの下流側の第1のフィルタ72の側面に隣接する流路72内に位置されている。第2の電極83は、第2のチャンバ68側に位置する下蓋67に設けられている。第2の電極83の少なくとも一部は、第2のチャンバ68内、例えば貫通孔76直下の第2のチャンバ68内、に位置されている。計測回路84および直流電源85は第2の電極83にこの順序で接続されている。

10

【0063】

第3の電極86は、上蓋66の入口73を通して第1のチャンバ68の注入ポート70に挿入されている。第4の電極87は、上蓋66の出口74を通して第1のチャンバ68の流出ポート71に挿入されている。

【0064】

第1、第3、第4の電極82、86および87は、それぞれリード88、89および90を通して、およびオン-オフスイッチ(図示せず)を経由して直流電源(図示せず)に接続されている。直流電源への第1、第3、第4の電極82、86および87の接続は、次の工程で切り替えられる。この工程は、検体中の測定対象物質を第1のフィルタ78内の複数のタグ粒子に捕捉物質を介して特異的に結合し、測定対象物質をトラップする工程;第1のフィルタ78にトラップされ、複数のタグ粒子に捕捉物質を介して特異的に結合した測定対象物質を脱離する工程;および第1のフィルタ78から流路72に放出された、第1のチャンバ68内の複数のタグ粒子に捕捉物質を介して特異的に結合した測定対象物質を貫通孔76を通過して第2のチャンバ69内の通電可能な液体に移動させる工程;である。

20

【0065】

脱離部は、第1の電極82、第3の電極86および直流電圧を印加する直流電源(図示せず)により構成される。直流電源は、第1のフィルタ78を加熱しながら、第1の電極82と第3の電極86との間に直流電圧を印加するように構成される。脱離部は、測定対象物質を第1のフィルタ78から矢印100に示す検体の流れの上流側の流路72に脱離する。この測定対象物質は、複数のタグ粒子と捕捉物質を介して結合され、かつ後述するように第1のフィルタ78にトラップされている。

30

【0066】

次に、第3の実施形態に係る図7および図8に示す検体検出装置を用いて検体の検出方法を説明する。第3の実施形態では、検体中に存在する可能性のある測定対象物質(例えばバイオ分子)が1種類である場合を例にする。

40

【0067】

最初に、通電可能な液体を第2のチャンバ69内に導入口80を通して導入し、当該液体を第2のチャンバ69内に充填する。

【0068】

次いで、検体は入口70を通して第1のチャンバ68の注入ポート70に注入する。注入ポート70内の検体は、流路72を図7の矢印100に示す方向に流れる。検体は、流路72内に介在した第2のフィルタ79を通過し、ここで夾雑物が除去される。検体は、さらに流路72内に配置された第1のフィルタ78を通過して流出ポート71に流出する。

【0069】

50

検体が流路 7 2 を流れるときに、第 1、第 2 の電極 8 2 および 8 3 の間に直流電圧を印加し、電流を隔壁 7 5 の貫通孔 7 6 および中央壁 6 3 の穴 7 6 を通過して流す。例えば、検体中の測定対象物質は電場により貫通孔 7 6 およびその下の穴 7 7 を通過し、第 2 のチャンバ 6 9 内の通電可能な液体に移動する。このとき、計測回路 8 4 で計測された電流値はパルス的に変化する。

#### 【 0 0 7 0 】

電流値の検出信号は、前述した図 4 に示すように貫通孔 7 6 を通過する粒子の寸法や形状に応じて変化する。具体的には、図 4 に示すように検出信号 A は測定対象物質 4 1 単独の場合に現われる。検出信号 B は、測定対象物質とは別個の粒子 4 1 ' 単独の場合に現われる。測定対象物質 4 1 が測定対象物質と別個の粒子 4 1 ' と寸法が同じである場合、電流値の変化量は検出信号 A、B に示されるように測定対象物質と別個の粒子 4 1 のそれと同じである。従って、測定対象物質 4 1 は別個の粒子 4 1 ' と識別することはできない。捕捉物質 4 2 と結合されたタグ粒子 4 3 は、図 4 に示す検出信号 C として現われる。検出信号 C の電流値の変化量は、非常に僅かである。

10

#### 【 0 0 7 1 】

検体中の測定対象物質は、次の操作により識別できる。

#### 【 0 0 7 2 】

最初に、通電可能な液体を第 2 のチャンバ 6 9 内に導入口 8 0 を通して導入し、当該液体を第 2 のチャンバ 6 9 内に充填する。

#### 【 0 0 7 3 】

次いで、検体は入口 7 0 を通して第 1 のチャンバ 6 8 の注入ポート 7 0 に注入する。注入と同時にまたは注入直後に、第 3 の電極 8 6 および第 4 の電極 8 7 はリード 8 9 および 9 0 を通して図示しない直流電源に接続する。第 3、第 4 の電極 8 6 および 8 7 は、直流電源に第 3 の電極 8 6 が負電極、第 4 の電極 8 7 が正電極になるように接続する。その後、直流電圧を第 3、第 4 の電極 8 6 および 8 7 間に印加する。このとき、検体中の測定対象物質は一般的に負電荷に帯電しているため、第 3、第 4 の電極 8 6 および 8 7 間への直流電圧の印加による電気泳動は、注入ポート 7 0 から流路 7 2 に向かう矢印 1 0 0 に示す方向への測定対象物質の移動を促進する。注入ポート 7 0 内の検体は毛細管現象により流路 7 2 を流れ、流路 7 2 内に配置した第 2 のフィルタ 7 9 を通過する。これによって、夾雑物が除去される。検体は、さらに流路 7 2 から流路 7 2 内に配置した第 1 のフィルタ 7 8 を通過し、流出ポート 7 1 に流出する。検体が第 1 のフィルタ 7 8 を適切な速度で通過する間に、第 1 のフィルタ 7 8 には複数のタグ粒子と各タグ粒子の表面に結合され、測定対象物質に特異的に結合する捕捉物質とを含む乾燥試薬が保持されている。このため、タグ粒子が検体中の測定対象物質の表面に捕捉物質を介して結合し、被覆された複数の複合粒子は、第 1 のフィルタ 7 8 にトラップされる。このとき、測定対象物質のみがトラップされる。測定対象物質とは別個の粒子は第 1 のフィルタ 7 8 を通過して流出ポート 7 1 に移動し、出口 7 4 から流出して除去される。

20

30

#### 【 0 0 7 4 】

複数の複合粒子のトラップ後に、第 1 の電極 8 2 および第 3 の電極 8 6 はリード 8 8 , 8 9 を通して図示しない直流電源に、第 1 の電極 8 2 が負電極、第 3 の電極 8 6 が正電極になるように接続する。その後、直流電圧を第 1、第 3 の電極 8 2 および 8 6 の間に印加する。このとき、第 1 のフィルタ 7 8 内にトラップされた前記複数の複合粒子は一般的に負電荷である。また、第 1 のフィルタ 7 8 は第 1、第 3 の電極 8 2 および 8 6 の間に配置されている。それ故、第 1 のフィルタ 7 8 内において、図 7 の矢印 1 0 0 に示される検体の流れと逆方向の流れが電気泳動（第 1、第 3 の電極 8 2 および 8 6 の間への直流電圧の印加によってもたらされる）によって発生する。換言すれば、第 1 のフィルタ 7 8 内において、矢印 1 0 0 によって示される前記検体の流れの上流側に向かう流れは前記電気泳動によって発生する。この逆方向の流れにより、熱を第 1 のフィルタ 7 8 に加えたとき、第 1 のフィルタ 7 8 内にトラップされた複数の複合粒子は、矢印 1 0 0 によって示される検体の流れの上流側に向かって脱離、放出される。その結果、複合粒子は貫通孔 7 6 に近

40

50

接した流路 7 2 に集められ、高濃度化される。

【 0 0 7 5 】

第 3 の実施形態において、第 1、第 3 の電極 8 2 および 8 6 間への直流電圧の印加による電気泳動によって、第 1 のフィルタ 7 8 内にトラップされた、複数の複合粒子を脱離する間に、前述したように前記第 1 のフィルタ 7 8 を加熱して当該複合粒子の脱離を促進してもよい。

【 0 0 7 6 】

第 1 のフィルタ 7 8 内にトラップされた複数の複合粒子が検体の流れの上流側に向かって脱離、放出された後に、第 1 の電極 8 2 のリード 8 8 を図示しない直流電源から接地に接続するように切り替える。この状態で、D C 直流電源 8 5 から直流電圧を第 1、第 2 の電極 8 2 および 8 3 の間に印加し、隔壁 7 5 の貫通孔 7 6 に電流を供給する。直流電圧の印加によって複数の複合粒子は、第 1 のフィルタ 7 8 に対して検体の流れ方向の上流側で、第 1 のフィルタ 7 8 に所定の距離で近接する貫通孔 7 6 およびその下の穴 7 7 を通過し、第 2 のチャンバ 6 9 内の通電可能な液体に移動する。このとき、計測回路 8 4 で計測された電流値がパルス的に変化する。

【 0 0 7 7 】

この電流検出において、主に、前述した図 4 に示す検出信号 D は複数のタグ粒子が捕捉物質を介して測定対象物質の表面に結合され、被覆された複合粒子の場合に現われる。検出信号 D の電流値の変化量は、測定対象物質 4 1 単独の場合（図 4 に示す検出信号 A）に比較して大きくなる。

【 0 0 7 8 】

従って、検体中に測定対象物質と当該測定対象物質と寸法が同じで、別個の粒子が存在していても、複数のタグ粒子 4 3 が捕捉物質 4 2 を介して測定対象物質 4 1 の表面に結合され、被覆された複合粒子は測定対象物質 4 1 に比べて大きな粒子寸法を有する。このため、計測回路 8 4 からの検出信号に基づいて、測定対象物質 4 1 のみを判別し、検体中の測定対象物質 4 1 の存在を検出することが可能になる。

【 0 0 7 9 】

また、第 3 の実施形態に係る検体検出装置において、第 1 のチャンバ 6 8 は注入ポート 7 0 と、流出ポート 7 1 と、これらポート 7 0、7 1 を繋ぐ狭い幅の流路 7 2 とから構成されている。流路 7 2 は小さな容積を有する。それ故、少量の検体中の測定対象物質の存在を高い頻度で検出できる。

【 0 0 8 0 】

さらに、流路 7 2 に配置された第 1 のフィルタ 7 8 は試薬を予め保持している。第 1 のフィルタ 7 8 と隔壁 7 5 の貫通孔 7 6 と第 1 の電極 8 2 との位置関係を特定している。これらの構成によって、検体中の測定対象物質の表面に複数のタグ粒子が捕捉物質を介して効率的に結合、被覆された複合粒子を形成できる。さらに、当該複合粒子を第 1 のフィルタ 7 8 に対して検体の流れの上流側に位置する流路 7 2 に集めことができる。その結果、検体中の測定対象物質が低濃度で存在している場合でも、検体中の測定対象物質の存在を高い頻度で検出することが可能になる。

【 0 0 8 1 】

なお、第 3 の実施形態において、第 1 のフィルタは複数のナノピラーの代わりにナノワイヤを用いて構成してもよい。

【 0 0 8 2 】

脱離部は、第 1 の電極、第 3 の電極およびこれらの電極間に直流電圧を印加する直流電源により構成する場合に限定されない。すなわち、第 1 のフィルタ 7 8 にトラップされた、複数のタグ粒子が捕捉物質を介して表面に特異的に結合した測定対象物質（複合粒子）を脱離できれば、いかなる構造でもよい。例えば、脱離部は圧力を第 1 のフィルタに出口、流出ポートおよび流路を通し加え、前記複合粒子を第 1 のフィルタから脱離する構成にしてもよい。

【 0 0 8 3 】

以下、実施例を前述した図1の検体検出装置を用いて説明する。

【0084】

(比較例1)

モデル粒子として、測定対象物質であるウイルスを模擬したビオチンで表面修飾された直径 $1\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子と、タグ粒子を模擬したストレプトアビジン(捕捉物質)で表面修飾された直径 $0.22\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子を用意した。計測に用いた検体検出装置は、ポリカーボネート製の測定カセット1を備える。測定カセット1は、貫通孔7が開口された石英製の隔壁2により上下に区画され、上部側の測定カセット1内に第1のチャンバ3を、隔壁2の下部側の測定カセット1内に第2のチャンバ4を、それぞれ形成した。貫通孔7は、開口直径を $2\mu\text{m}$ 、長さ(隔壁2の厚さに相当)を $10\mu\text{m}$ とした。Ag/AgClから作られる第1の電極8は、測定カセット1の上壁部に設け、その一部を第1のチャンバ3内に位置させた。Ag/AgClから作られる第2の電極9は、測定カセット1の下壁部に設け、その一部を第2のチャンバ4内に位置させた。

10

【0085】

まず、検体検出装置の第2のチャンバ4にモデル粒子を含まないPBS緩衝溶液を充填した。測定対象物質であるウイルスを模擬したビオチンで表面修飾された直径 $1\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子を懸濁したPBS緩衝溶液を第1のチャンバ3内に充填した。つづいて、第1、第2のチャンバ3,4内のPBS緩衝溶液に浸漬されたAg/AgClの第1、第2の電極8,9間にバイアス電圧を印加し、電流をモニタした。

【0086】

前記モニタにおいて、バイアス $100\text{mV}$ の印加時にベース電流 $38\text{nA}$ が計測された。貫通孔7に粒子が通過することに伴うスパイク状の電流低下信号が現れる時間応答-電流変化の関係が得られた。

20

【0087】

時間応答-電流変化の関係に基づいてベース電流値からの電流低下量を信号強度として、その頻度分布を求めた。その結果を図9に示す。

【0088】

(実施例1)

測定対象物質であるウイルスを模擬したビオチンで表面修飾された直径 $1\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子とタグ粒子を模擬したストレプトアビジン(捕捉物質)で表面修飾された直径 $0.22\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子とを個数比で $1:70$ になるように混合した。すなわち、測定対象物質であるウイルスを模擬した直径 $1\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子に対してタグ粒子を模擬した直径 $0.22\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子を過剰に加えて混合した。混合後、1時間放置し、比較例1と同様な構成の検体検出装置の第2のチャンバ4にモデル粒子を含まないPBS緩衝溶液を充填した後、第1のチャンバ3内に前記混合物を懸濁したPBS緩衝溶液を充填した。第1、第2のチャンバ3,4内のPBS緩衝溶液に浸漬されたAg/AgClの第1、第2の電極8,9間にバイアス電圧を印加し、電流をモニタした。

30

【0089】

前記モニタにおいて、バイアス $100\text{mV}$ の印加時にベース電流 $38\text{nA}$ が計測された。貫通孔7に粒子が通過することに伴うスパイク状の電流低下信号が現れる時間応答-電流変化の関係が得られた。

40

【0090】

時間応答-電流変化の関係に基づいてベース電流値からの電流低下量を信号強度として、その頻度分布を求めた。その結果を図10に示す。

【0091】

ウイルスを模擬したビオチンで表面修飾された直径 $1\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子のみを測定する比較例1では、図9に示すように信号強度ピークが $270\text{pA}$ である。これに対し、ウイルスを模擬したビオチンで表面修飾された直径 $1\mu\text{m}$ のポリスチレン微粒子とタグ粒子を模擬したストレプトアビジン(捕捉物質)で表面修飾された直径 $0.22\mu\text{m}$ の

50

ポリスチレン微粒子との混合粒子を測定する実施例 1 では、図 10 に示すように信号強度ピークが  $360 \text{ pA}$  で、大きな信号強度側にシフトしていることが分かる。これは、ビオチンで表面修飾された直径  $1 \mu\text{m}$  のポリスチレン微粒子の表面に複数のストレプトアビジンで表面修飾された直径  $0.22 \mu\text{m}$  のポリスチレン微粒子が結合、被覆することにより、ビオチンで表面修飾された直径  $1 \mu\text{m}$  のポリスチレン微粒子単体に比べて寸法（直径）が増大するため、信号強度が増加したことを示している。

【符号の説明】

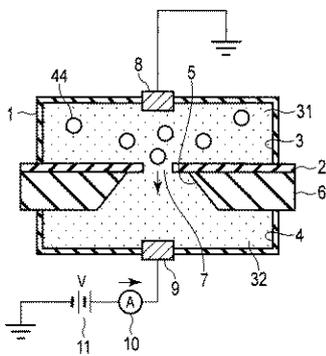
【0092】

1 ... 測定容器、2、75 ... 隔壁、3、68 ... 第1のチャンバ、4、69 ... 第2のチャンバ、5 ... 穴、6 ... 支持板、7、76 ... 貫通孔、8、82 ... 第1の電極、9、83 ... 第2の電極、10、84 ... 計測回路、11、85 ... 直流電源、31 ... 混合溶液、32 ... 通電可能な液体、41、51 ... 測定対象物質（バイオ分子）、42、52 ... 捕捉物質（抗体）、43、53 ... タグ粒子、61 ... 装置本体、62 ... 矩形ブロック、63 ... 中央壁、64 ... 上溝、65 ... 下溝、66 ... 上蓋、67 ... 下蓋、70 ... 注入ポート、71 ... 流出ポート、72 ... 流路、73 ... 注入口、74 ... 流出口、77 ... 穴、78 ... 第1のフィルタ、79 ... 第2のフィルタ、80 ... 導入口、81 ... 排出口、86 ... 第3の電極、87 ... 第4の電極、88、89、90 ... リード。

10

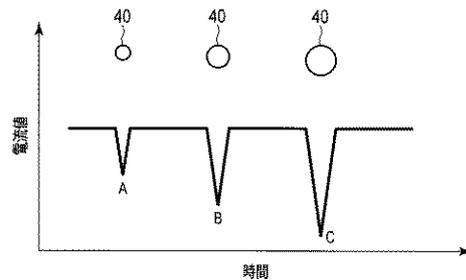
【図 1】

図 1



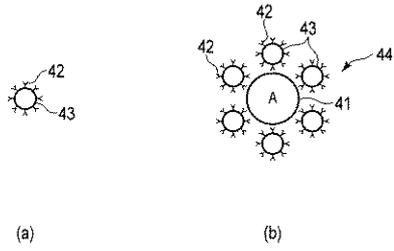
【図 2】

図 2



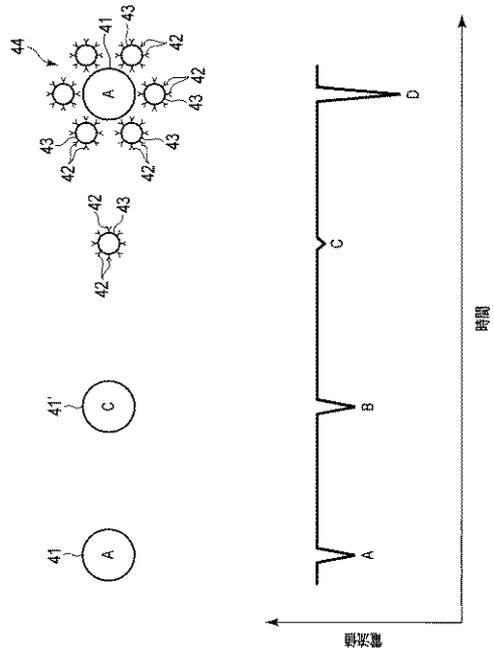
【 図 3 】

図 3



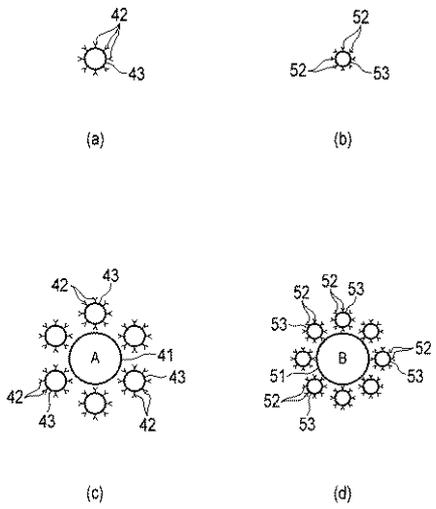
【 図 4 】

図 4



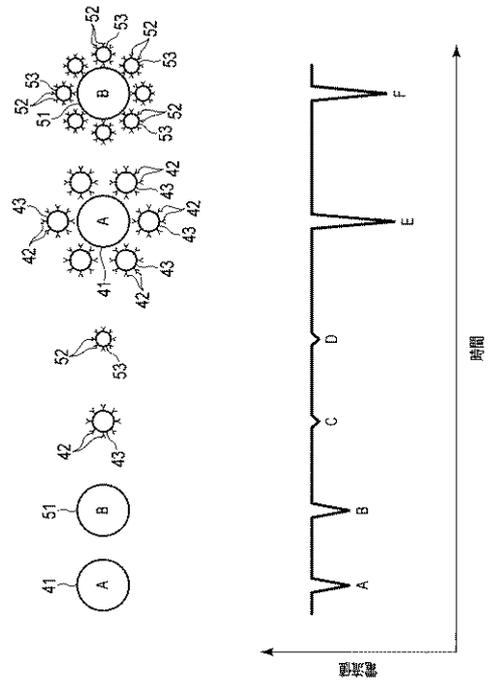
【 図 5 】

図 5



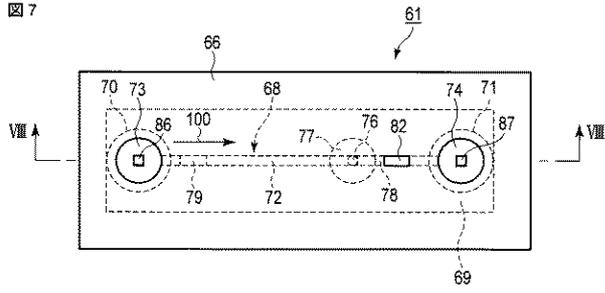
【 図 6 】

図 6



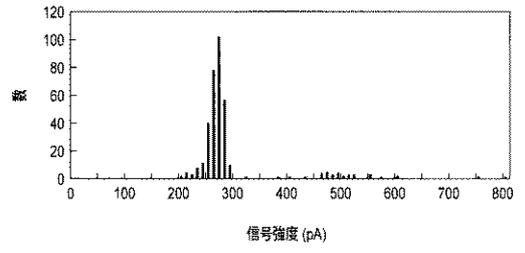
【 図 7 】

図 7



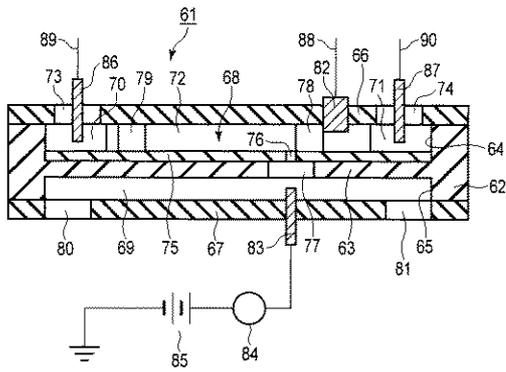
【 図 9 】

図 9



【 図 8 】

図 8



【 図 10 】

図 10

