

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年8月5日(05.08.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/153119 A1

(51) 国際特許分類:

G01K 7/22 (2006.01) G01N 27/30 (2006.01)
G01N 27/04 (2006.01) G01N 27/327 (2006.01)
G01N 27/14 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2020/048216

(22) 国際出願日: 2020年12月23日(23.12.2020)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2020-012126 2020年1月29日(29.01.2020) JP

(71) 出願人: 三菱マテリアル株式会社 (MITSUBISHI MATERIALS CORPORATION) [JP/JP]; 〒1008117 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 鈴木 峻平 (SUZUKI Shunpei); 〒3110102 茨城県那珂市向山1002-14 三菱マテリアル株式会社 中央研究所内 Ibaraki (JP). 藤

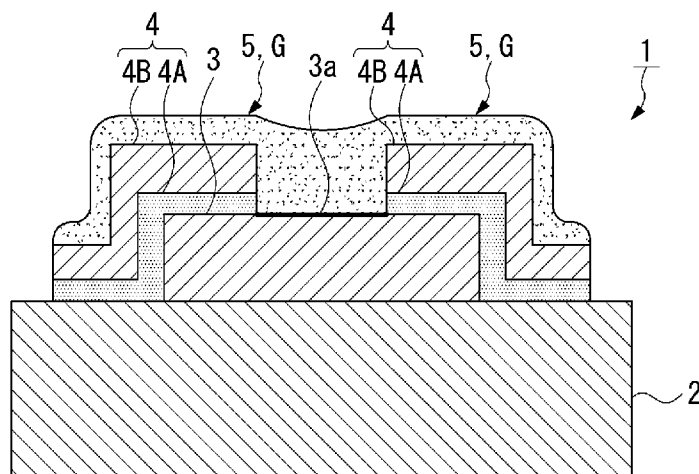
田 利晃 (FUJITA Toshiaki); 〒3110102 茨城県那珂市向山1002-14 三菱マテリアル株式会社 中央研究所内 Ibaraki (JP). 長友 義幸 (NAGATOMO Yoshiyuki); 〒3110102 茨城県那珂市向山1002-14 三菱マテリアル株式会社 中央研究所内 Ibaraki (JP).

(74) 代理人: 高岡 亮一 (TAKAOKA Ryoichi); 〒1710021 東京都豊島区西池袋5-4-7 池袋トーセイビル5階 高岡IP特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,

(54) Title: BIOSENSOR

(54) 発明の名称: バイオセンサ



(57) Abstract: Provided is a biosensor which is small-sized, has a small heat capacity, and can perform measurement with high sensitivity and high accuracy by immobilizing many enzymes. According to the present invention, a biosensor (1) provided with an enzyme (G) is provided with: a heat-sensitive part (3); a pair of counter electrodes (4) which are connected to the heat-sensitive part and formed facing each other; and enzymes immobilized on at least the heat-sensitive part, wherein the heat-sensitive part has a thin-film shape and the enzymes are immobilized on at least the surface of the heat-sensitive part. In particular, the heat-sensitive part is a thin-film thermistor formed of a thermistor material, the pair of counter electrodes are comb-type electrodes which have a plurality of comb-like parts on the heat-sensitive part and are disposed facing each other, and the enzymes are preferably immobilized on at least the heat-sensitive part between comb-like parts.

NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 小型で熱容量が小さく、多くの酵素を固定させて高感度・高精度な測定が可能なバイオセンサを提供する。本発明に係るバイオセンサは、酵素 (G) を備えたバイオセンサ (1) であって、感熱部 (3) と、感熱部に接続され互いに対向して形成された一对の対向電極 (4) と、少なくとも感熱部に固定された酵素とを備え、感熱部が薄膜状であり、酵素が少なくとも感熱部の表面に固定されている。特に、感熱部がサーミスタ材料で形成された薄膜サーミスタであり、一对の対向電極が、感熱部上で複数の櫛部を有して互いに対向配置された櫛形電極であり、酵素が、少なくとも櫛部の間の感熱部に固定されていることが好ましい。

明 細 書

発明の名称： バイオセンサ

技術分野

[0001] 本発明は、グルコース等を高精度に検出可能なバイオセンサに関する。

背景技術

[0002] 従来、バイオマーカーを反応熱でセンシングするバイオセンサが開発されている。例えば、特許文献1では、密閉容器であるカラム内に固定化生体素子（固定化酵素）を充填、固定化し、そこへ生体物質を導入し、酵素反応における発熱をサーミスタ等の温度センサで測定する機構を備えた酵素サーミスタ装置が記載されている。

また、特許文献2では、サーミスタに、酵素（グルコースに対する識別機能を有するグルコースオキシダーゼ（GOD））を直接固定化することで、装置の小型化や、構成を簡略化したバイオセンサが記載されている。

[0003] また、特許文献3では、一対の電極を有したサーミスタ等の薄膜温度センサ（感温部）と、電極に形成され酵素を含み選択的に生体物質試料の化学反応を促進させる接着層とを備えたカロリメトリックバイオセンサが記載されている。

さらに、特許文献4では、基板表面に一組の電極が相対峙され、電極上又は電極間にプローブで修飾された導電性微粒子の膜が形成されてなる電気抵抗型検出センサが記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開平2－65773号公報

特許文献2：特開平7－113773号公報

特許文献3：特開2015－200611号公報

特許文献4：国際公開第2005／045409号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 上記従来技術には、以下の課題が残されている。

すなわち、特許文献1に記載の技術では、反応系を高温に保つための恒温槽が必要になり、装置が大型になってしまうと共に、恒温のための機器構成や制御系も必要になり、高コストであった。また、酵素反応におけるエンタルピー変化は $1 \sim 100 \text{ kJ/mol}$ 程度であり、温度変化が非常に小さく、高精度の測定が困難であった。

また、特許文献2に記載の技術では、構成が簡略化され、温度変化も比較的大きくできるが、反応系の熱容量が大きく、十分な精度を確保することがやはり困難であった。

さらに、特許文献1～4に記載の技術よりも多くの酵素を固定することが要望されている。

[0006] 本発明は、前述の課題に鑑みてなされたもので、小型で熱容量が小さく、多くの酵素を固定させて高感度・高精度な測定が可能なバイオセンサを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明は、前記課題を解決するために以下の構成を採用した。すなわち、第1の発明に係るバイオセンサは、酵素を備えたバイオセンサであって、感熱部と、前記感熱部に接続され互いに対向して形成された一对の対向電極と、少なくとも前記感熱部に固定された前記酵素とを備え、前記感熱部が薄膜状であり、前記酵素が少なくとも前記感熱部の表面に固定されていることを特徴とする。

[0008] すなわち、このバイオセンサでは、感熱部が薄膜状であり、酵素が少なくとも感熱部の表面に固定されているので、比表面積が大きく、小さい熱容量で大量の酵素を直接感熱部上に配置することができる。

[0009] 第2の発明に係るバイオセンサは、第1の発明において、前記感熱部がサーミスタ材料で形成された薄膜サーミスタであり、一对の前記対向電極が、前記感熱部上で複数の櫛部を有して互いに対向配置された櫛形電極であり、

前記酵素が、少なくとも前記櫛部の間の感熱部に固定されていることを特徴とする。

すなわち、このバイオセンサでは、酵素が、少なくとも櫛部の間の感熱部に固定されているので、複数の櫛部によって櫛部間に凹部が形成されることでアンカー効果が生じて酵素の密着性が向上すると共に薄膜状の感熱部の直上に多くの酵素が残り易くなり、酵素固定量をより増やすことができる。さらに、櫛部を交互に等間隔に並べることで、全体に均一に酵素を配置することが可能になる。また、感熱部を薄膜サーミスタとすることで、感熱部における熱容量を十分に低減することができ、微小な発熱でも十分な温度変化を生じさせて測定することができる。

[0010] 第3の発明に係るバイオセンサは、第1及び第2の発明において、前記感熱部が、AⅠを含有したAⅠ含有窒化物のサーミスタ材料で形成されていることを特徴とする。

すなわち、このバイオセンサでは、感熱部が、AⅠを含有したAⅠ含有窒化物のサーミスタ材料で形成されているので、薄膜でも高B定数のサーミスタ特性により高感度・高精度な測定が可能になる。

[0011] 第4の発明に係るバイオセンサは、第1から第3の発明のいずれかにおいて、前記感熱部の前記表面の組成が、酸素原子を含む無機物であることを特徴とする。

すなわち、このバイオセンサでは、感熱部の表面の組成が、酸素原子を含む無機物であるので、親水性が高い酸素原子を含む無機物に酵素が結合し易くなり、酵素の密着性が向上する。

[0012] 第5の発明に係るバイオセンサは、第4の発明において、前記感熱部が、AⅠを含有したAⅠ含有窒化物のサーミスタ材料で形成され、前記感熱部の前記表面に、前記AⅠ含有窒化物が酸化したAⅠ含有酸化窒化膜が形成され、前記AⅠ含有酸化窒化膜が、前記AⅠ含有窒化物よりも高い親水性を有していることを特徴とする。

すなわち、このバイオセンサでは、AⅠ含有酸化窒化膜が、AⅠ含有窒化

物よりも高い親水性を有しているので、親水性が高いA l 含有酸化窒化物の表面に、親水性部位を有する酵素が結合し易くなり、活性の高い固定化酵素が増え、酵素反応における発熱量を増加させることが可能になる。また、サーミスタ材料の表面を酸化させるだけで、親水性の高いA l 含有酸化窒化膜を容易に形成することができる。

[0013] 第6の発明に係るバイオセンサは、第5の発明において、前記A l 含有酸化窒化膜の材料が、M-A l-N-O（但し、MはT i, F e, C o, M n, C u, N i, Z r, N b, M o, H f, T a, W, Z n, V及びC rの少なくとも1種を示す。）を含むことを特徴とする。

すなわち、このバイオセンサでは、A l 含有酸化窒化膜の材料が、M-A l-N-O（但し、MはT i, F e, C o, M n, C u, N i, Z r, N b, M o, H f, T a, W, Z n, V及びC rの少なくとも1種を示す。）を含むので、良好なB定数を有する上記M-A l-N-Oで表面を構成することで、酵素反応による発熱量をより高精度に測定することが可能になる。

[0014] 第7の発明に係るバイオセンサは、第1から第6の発明のいずれかにおいて、前記感熱部が、絶縁性フィルム上に設けられていることを特徴とする。

すなわち、このバイオセンサでは、感熱部が、絶縁性フィルム上に設けられているので、柔軟で薄いフィルムを基板とすることで、さらに熱容量を低減することができると共に、曲面などにも絶縁性フィルムを曲げて容易に実装することが可能になる。

[0015] 第8の発明に係るバイオセンサは、第1から第7の発明のいずれかにおいて、前記対向電極の表面が、A u又はA uを含有する金属で形成されていることを特徴とする。

すなわち、このバイオセンサでは、対向電極の表面が、A u又はA uを含有する金属で形成されているので、化学修飾が容易になり、対向電極上にも活性の高い固定化酵素を固定することができる。

発明の効果

[0016] 本発明によれば、以下の効果を奏する。

すなわち、本発明に係るバイオセンサによれば、感熱部が薄膜状であり、酵素が少なくとも感熱部の表面に固定されているので、比表面積が大きく、小さい熱容量で大量の酵素を直接感熱部上に配置することができる。

したがって、本発明のバイオセンサでは、多くの酵素を固定することが可能になり、小型化が可能であると共に、グルコース等の微量の生体物質について高精度な測定が可能になり、血糖自己測定器、中性脂肪測定器、尿検査機器等に好適である。

図面の簡単な説明

[0017] [図1]本発明に係るバイオセンサの実施形態を示す概略的な断面図（図3のA－A線断面図）である。

[図2]本実施形態のバイオセンサにおいて、要部の模式的な断面図である。

[図3]本実施形態のバイオセンサを示す平面図である。

[図4]本発明に係るバイオセンサの実施例1（a）及び実施例2（b）において、感熱部表面で測定した水の接触角を示す写真である。

[図5]本発明に係るバイオセンサの実施例1（a）及び実施例3（b）において、感熱部及び対向電極上に固定した酵素を示す拡大写真である。

発明を実施するための形態

[0018] 以下、本発明に係るバイオセンサにおける実施形態を、図1から図3を参照しながら説明する。なお、以下の説明に用いる図面の一部では、各部を認識可能又は認識容易な大きさとするために必要に応じて縮尺を適宜変更している。

[0019] 本実施形態のバイオセンサ1は、測定対象となる特定の基質成分に対して選択的に反応する酵素を備えたバイオセンサであって、図1から図3に示すように、絶縁性フィルム2と、絶縁性フィルム2上に設けられた感熱部3と、感熱部3に接続され互いに対向して形成された一对の対向電極4と、少なくとも感熱部3に固定された酵素Gとを備えている。

上記感熱部3は薄膜状であり、酵素Gが少なくとも感熱部3の表面に固定されている。

[0020] すなわち、感熱部3はサーミスタ材料で形成された薄膜サーミスタである。

上記一对の対向電極4は、感熱部3上で複数の櫛部4aを有して互いに対向配置された櫛形電極である。

上記酵素Gは、少なくとも櫛部4aの間の感熱部3に固定されている。

[0021] 感熱部3は、Alを含有したAl含有窒化物のサーミスタ材料で形成されている。

また、感熱部3の表面の組成は、酸素原子を含む無機物である。

すなわち、感熱部3は、Alを含有したAl含有窒化物のサーミスタ材料で形成され、感熱部3の表面に、Al含有窒化物が酸化したAl含有酸化窒化膜3aが形成されている。

上記Al含有酸化窒化膜3aは、Al含有窒化物よりも高い親水性を有している。

[0022] 上記Al含有酸化窒化膜3aの材料は、M-Al-N-O（但し、MはTi, Fe, Co, Mn, Cu, Ni, Zr, Nb, Mo, Hf, Ta, W, Zn, V及びCrの少なくとも1種を示す。）を含んでいる。

すなわち、Al含有酸化窒化物であるAl含有酸化窒化膜3aの材料は、上記サーミスタ材料を酸化させたM-Al-N-O（但し、MはTi, Fe, Co, Mn, Cu, Ni, Zr, Nb, Mo, Hf, Ta, W, Zn, V及びCrの少なくとも1種を示す。）を含んだものである。なお、この材料は、Al含有酸化窒化膜3aの主な材料であることが好ましい。

[0023] 例えば、上記サーミスタ材料のAl含有窒化物は、特開2013-179161号公報に記載されているように、一般式： $Ti_x Al_y N_z$ （ $0.70 \leq y / (x + y) \leq 0.95$ 、 $0.4 \leq z \leq 0.5$ 、 $x + y + z = 1$ ）で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるものが採用可能である。

その他、特開2015-65408号公報に記載されているように、一般式： $M_x Al_y N_z$ （但し、MはFe, Co, Mn, Cu及びNiの少なくとも

1種を示す。 $0.70 \leq y / (x + y) \leq 0.98$ 、 $0.4 \leq z \leq 0.5$ 、 $x + y + z = 1$) で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、また特開2016-136609号公報に記載されているように、一般式： $M_x A_l_y N_z$ (但し、MはZr, Nb, Mo, Hf, Ta及びWの少なくとも1種を示す。 $0.65 \leq y / (x + y) \leq 0.98$ 、 $0.35 \leq z \leq 0.5$ 、 $x + y + z = 1$) で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、また特開2016-143807号公報に記載されているように、一般式： $Zn_x A_l_y N_z$ ($0.70 \leq y / (x + y) \leq 0.98$ 、 $0.4 \leq z \leq 0.5$ 、 $x + y + z = 1$) で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、また特開2014-236204号公報に記載されているように、一般式： $V_x A_l_y N_z$ ($0.70 \leq y / (x + y) \leq 0.98$ 、 $0.4 \leq z \leq 0.5$ 、 $x + y + z = 1$) で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、また特開2014-123646号公報に記載されているように、一般式： $Cr_x A_l_y N_z$ ($0.70 \leq y / (x + y) \leq 0.95$ 、 $0.4 \leq z \leq 0.5$ 、 $x + y + z = 1$) で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるものが採用可能である。

[0024] また、Al含有酸化窒化膜3aは、特開2013-179162号公報に記載されているように、一般式： $Ti_x Al_y (N_{1-w}O_w)_z$ ($0.70 \leq y / (x + y) \leq 0.95$ 、 $0.45 \leq z \leq 0.55$ 、 $0 < w \leq 0.35$ 、 $x + y + z = 1$) で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるものが採用可能である。

その他、特開2015-65409号公報に記載されているように、一般式： $M_x A_l_y (N_{1-w}O_w)_z$ (但し、MはFe, Co, Mn, Cu及びNiの少なくとも1種を示す。 $0.70 \leq y / (x + y) \leq 0.98$ 、 $0.45 \leq z \leq 0.55$ 、 $0 < w \leq 0.35$ 、 $x + y + z = 1$) で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、ま

た特開2016-136610号公報に記載されているように、一般式： $M_x Al_y (N_{1-u}O_u)_z$ （但し、MはZr, Nb, Mo, Hf, Ta及びWの少なくとも1種を示す。 $0.65 \leq y/(x+y) \leq 0.98$ 、 $0.40 \leq z \leq 0.55$ 、 $0 < u \leq 0.35$ 、 $x+y+z=1$ ）で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、また特開2016-143808号公報に記載されているように、一般式： $Zn_x Al_y (N_{1-w}O_w)_z$ （ $0.70 \leq y/(x+y) \leq 0.98$ 、 $0.45 \leq z \leq 0.55$ 、 $0 < w \leq 0.35$ 、 $x+y+z=1$ ）で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、また特開2014-236205号公報に記載されているように、一般式： $V_x Al_y (N_{1-w}O_w)_z$ （ $0.70 \leq y/(x+y) \leq 0.98$ 、 $0.45 \leq z \leq 0.55$ 、 $0 < w \leq 0.35$ 、 $x+y+z=1$ ）で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるもの、また特開2014-123647号公報に記載されているように、一般式： $Cr_x Al_y (N_{1-w}O_w)_z$ （ $0.70 \leq y/(x+y) \leq 0.95$ 、 $0.45 \leq z \leq 0.55$ 、 $0 < w \leq 0.35$ 、 $x+y+z=1$ ）で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相であるものが作用可能である。

[0025] 本実施形態の感熱部3が、例えばTi-Al-Nのサーミスタ材料で矩形状に形成されている場合、上述したように、感熱部3は、一般式： $Ti_x Al_y N_z$ （ $0.70 \leq y/(x+y) \leq 0.95$ 、 $0.4 \leq z \leq 0.5$ 、 $x+y+z=1$ ）で示される金属窒化物からなり、その結晶構造が、六方晶系のウルツ鉱型の単相である。この感熱部3は、膜厚方向にc軸配向度が高い膜である。

[0026] この感熱部3は、例えば窒素含有雰囲気中の反応性スパッタ法にて成膜される。その時のスパッタ条件は、例えば、組成比Al/(Al+Ti)比=0.85のTi-Al合金スパッタリングターゲットを用い、到達真空度： 4×10^{-5} Pa、スパッタガス圧：0.2 Pa、ターゲット投入電力（出力

）：200Wで、Arガス+窒素ガスの混合ガス雰囲気下において窒素ガス分圧：30%とする。

[0027] 上記絶縁性フィルム2は、帯状に延在し、感熱部3は、絶縁性フィルム2の一端側に配されている。

上記絶縁性フィルム2は、例えば厚さ7.5～125 μ mのポリイミド樹脂シートで形成されている。なお、絶縁性フィルム2としては、他にPET：ポリエチレンテレフタレート、PEN：ポリエチレンナフタレート等でも作製できる。

[0028] また、本実施形態のバイオセンサ1は、一对の対向電極4に一端が接続されて絶縁性フィルム2の表面にパターン形成された一对のパターン配線4bを備えている。

一对の上記パターン配線4bは、絶縁性フィルム2に沿って延在し、他端にパッド部4cを有している。

上記パッド部4cは、リード線等を接続するために、延在しているパターン配線4bの主部よりも幅広に形成された端子部である。

[0029] 上記対向電極4の表面は、Au又はAuを含有する金属で形成されている。

すなわち、上記対向電極4及びパターン配線4bは、例えば膜厚5～100nmのCr又はNiCrの接合層4Aと、該接合層4A上にAuで膜厚50～1000nm形成された電極層4Bとを有している。

上記Al含有酸化窒化膜3aは、膜厚が3～10nmである。なお、Al含有酸化窒化膜3aの膜厚が3nmより薄いと、十分な酵素が固定化されないと共に、10nmよりも厚くなるまで感熱部3のサーミスタ材料を加熱して酸化させると、酵素が感熱部3内部や電極界面まで拡散し、感熱部3のサーミスタ特性に劣化が生じるおそれがある。

[0030] 本実施形態のバイオセンサ1を、上記基質成分としてグルコースを検出するグルコースセンサとして用いる場合、上記酵素Gとして、例えばグルコースオキシダーゼ（GOD）が採用可能である。

このグルコースオキシダーゼ（酵素G）は、リン酸緩衝溶液（pH＝7）にグルコースオキシダーゼを溶解させ、 $12\text{ U } \mu\text{L}^{-1}$ の溶液を作成し、この溶液を、感熱部3及び対向電極4上に滴下することで、感熱部3及び対向電極4に固定する。このとき、感熱部3の表面が、Ti—Al—Nであるサーミスタ材料よりも親水化され濡れ性が向上したTi—Al—N—OのAl含有酸化窒化膜3aであるため、酵素Gは、小さい接触角で感熱部3の表面に密着して固定される。

[0031] 酵素Gのグルコースオキシダーゼは、以下のような酵素反応を示す。

（グルコースオキシダーゼ）



この感応仮定で生じた熱による感熱部3の抵抗値変化を検出することで、グルコース濃度を測定することができる。

[0032] このように本実施形態のバイオセンサ1では、感熱部3が薄膜状であり、酵素Gが少なくとも感熱部3の表面に固定されているので、比表面積が大きく、小さい熱容量で大量の酵素Gを直接感熱部3上に配置することができる。

また、酵素Gが、少なくとも櫛部4aの間の感熱部3に固定されているので、複数の櫛部4aによって櫛部4a間に凹部が形成されることでアンカー効果が生じて酵素Gの密着性が向上すると共に薄膜状の感熱部3の直上に多くの酵素Gが残り易くなり、酵素固定量をより増やすことができる。

[0033] さらに、櫛部4aを交互に等間隔に並べることで、全体に均一に酵素を配置することが可能になる。また、感熱部3を薄膜サーミスタとすることで、感熱部3における熱容量を十分に低減することができ、微小な発熱でも十分な温度変化を生じさせて測定することができる。

また、感熱部3が、Alを含有したAl含有窒化物のサーミスタ材料で形成されているので、薄膜でも高B定数のサーミスタ特性により高感度・高精度な測定が可能になる。

[0034] また、感熱部 3 の表面の組成が、酸素原子を含む無機物であるので、親水性が高い酸素原子を含む無機物に酵素 G が結合し易くなり、酵素 G の密着性が向上する。

特に、A l 含有酸化窒化膜 3 a が、A l 含有窒化物よりも高い親水性を有しているので、親水性が高い A l 含有酸化窒化物の表面に、親水性部位を有する酵素 G が結合し易くなり、活性の高い固定化酵素が増え、酵素反応における発熱量を増加させることが可能になる。また、サーミスタ材料の表面を酸化させるだけで、親水性の高い A l 含有酸化窒化膜 3 a を容易に形成することができる。なお、酸化の方法は、酸素含有雰囲気酸化で加熱してもよく、自然酸化でもよい。

[0035] また、A l 含有酸化窒化膜 3 a の材料が、M-A l-N-O（但し、Mは T i, F e, C o, M n, C u, N i, Z r, N b, M o, H f, T a, W, Z n, V 及び C r の少なくとも 1 種を示す。）を含むので、良好な B 定数を有する上記 M-A l-N-O で表面を構成することで、酵素反応による発熱量をより高精度に測定することが可能になる。

また、感熱部 3 が、絶縁性フィルム 2 上に設けられているので、柔軟で薄いフィルムを基板とすることで、さらに熱容量を低減することができると共に、曲面などにも絶縁性フィルム 2 を曲げて容易に実装することが可能になる。

さらに、対向電極 4 の表面が、A u 又は A u を含有する金属で形成されているので、化学修飾が容易になり、対向電極上にも活性の高い固定化酵素を固定することができる。

実施例

[0036] 上記実施形態のバイオセンサを実施例 1 として作製し、この実施例 1 でグルコース濃度を測定した結果を以下に示す。

本発明の実施例 1 は、長さ 50 μ m のポリイミドの絶縁性フィルム上に上記 T i-A l-N の薄膜サーミスタを膜厚 100 nm でスパッタリング法により成膜し、エッチングにより約 2 mm $\times$ 1.8 mm の長方形にパターンン

グすることで、感熱部3を形成した。

[0037] 一对の対向電極4は、感熱部3上に膜厚20nmのCrの接合層4Aと膜厚200nmのAuの電極層4Bとを成膜し、エッチングにより楕形にして形成した。

この後、大気中で150℃に加熱し、感熱部3の露出している表面に3nmのAl含有酸化窒化膜3aを形成させた。

酵素Gは、上述した製法で固定を行った。

このように製作した本発明の実施例1のバイオセンサを用いて、希薄なグルコース溶液（5mol/l）を測定した。

[0038] なお、グルコース溶液とリン酸緩衝溶液（PBS：基準溶液）との温度を25℃に保ち、交互にバイオセンサを浸して抵抗値を確認した。

この抵抗値測定では、本実施例1のバイオセンサのパッド部4cにコネクタを接続し、データロガーを用いて抵抗値を連続的に記録した。

[0039] また、25℃のリン酸緩衝溶液に浸した際の抵抗値を基準とし、グルコース溶液は、このグルコース溶液に浸した際の抵抗値変化が1%以上であれば、検出可能なグルコース濃度とした。

なお、実施例2として、感熱部3の表面を酸化させず、上記薄膜サーミスタの感熱部3上に直接、酵素Gを滴下したものも作製し、同様に測定を行った。

[0040] なお、本発明の実施例1及び実施例2は、抵抗値が315.3kΩであり、B定数が2680Kであった。

上記測定の結果、本発明の実施例1では、1%以上の良好な抵抗値変化が得られたのに対し、実施例2では、感熱部3表面が疎水性であるため、実施例1に比べて酵素Gが十分に固定されず、発熱量が不足して本発明の実施例1よりも抵抗値変化が小さかった。

[0041] 次に、上記実施例1において、図4の（a）に示すように、Ti-Al-Nである感熱部3の表面のAl含有酸化窒化膜3a（Ti-Al-N-O）上に水を滴下し、その水の接触角を測定した。また、上記実施例2において

、図4の(b)に示すように、Ti-AI-Nである感熱部3の表面にも同様に水を滴下し、その水の接触角を測定した。

これら測定の結果、上記実施例2では、水の接触角が 86.5° であったのに対し、本発明の実施例1では、水の接触角が 68.2° と小さくなっており、AI含有酸化窒化膜3aが無い実施例2に比べ、AI含有酸化窒化膜3aが有る本実施例1では、表面が親水化されて濡れ性が向上していることが分かる。

なお、図4におけるAI-Ti-NはTi-AI-Nと同じ物質を示している。また、同様にAI-Ti-O-Nの記載もTi-AI-N-Oと同じ物質を示している。

[0042] 次に、本発明の実施例1において、橢形電極である一对の対向電極4及び感熱部3(AI含有酸化窒化膜3a)の上に酵素Gを滴下し、酵素Gを固定した際の拡大写真を図5の(a)に示す。なお、実施例3として、対向電極を橢形電極とせず、単に一对の長方形型にして対向させた対向電極及び感熱部3(AI含有酸化窒化膜3a)の上に滴下し、酵素Gを固定した際の拡大写真を図5の(b)に示す。

[0043] これらの写真から分かるように、本発明の実施例1では、橢部4aの間に露出している感熱部3(AI含有酸化窒化膜3a)の表面に酵素Gが多く固定されて黒く写っているが、実施例3では、酵素Gの滴下時に感熱部3(AI含有酸化窒化膜3a)の表面で凝集が起こり、酵素Gの固定化される領域が局在化する。そのため、感熱部3に固定されている酵素Gが実施例1よりも少なくなる。このように、橢形電極である対向電極を備えた実施例1の方が、多くの酵素Gを感熱部3の表面に固定していることがわかる。

[0044] なお、本発明の技術範囲は上記実施形態に限定されるものではなく、本発明の趣旨を逸脱しない範囲において種々の変更を加えることが可能である。

例えば、上記実施形態では、AI含有窒化物である感熱部の表面を酸化させてAI含有酸化窒化膜を形成しているが、感熱部自体をサーミスタ特性を有するAI含有酸化窒化物で形成しても構わない。例えば、サーミスタ特性

を有する $Ti-M-N-O$ で感熱部を形成した場合、表面も Al 含有酸化窒化物である $Ti-M-N-O$ であり、表面を酸化しなくても高い親水性を有している。

符号の説明

[0045] 1, … バイオセンサ、2 … 絶縁性フィルム、3 … 感熱部、3 a … Al 含有酸化窒化膜、4 … 対向電極、G … 酵素

請求の範囲

- [請求項1] 酵素を備えたバイオセンサであって、
感熱部と、
前記感熱部に接続され互いに対向して形成された一対の対向電極と、
、
少なくとも前記感熱部に固定された前記酵素とを備え、
前記感熱部が薄膜状であり、前記酵素が少なくとも前記感熱部の表面に固定されていることを特徴とするバイオセンサ。
- [請求項2] 請求項1に記載のバイオセンサにおいて、
前記感熱部がサーミスタ材料で形成された薄膜サーミスタであり、
一対の前記対向電極が、前記感熱部上で複数の櫛部を有して互いに対向配置された櫛形電極であり、
前記酵素が、少なくとも前記櫛部の間の前記感熱部に固定されていることを特徴とするバイオセンサ。
- [請求項3] 請求項1に記載のバイオセンサにおいて、
前記感熱部が、A I を含有したA I 含有窒化物のサーミスタ材料で形成されていることを特徴とするバイオセンサ。
- [請求項4] 請求項1に記載のバイオセンサにおいて、
前記感熱部の前記表面の組成が、酸素原子を含む無機物であることを特徴とするバイオセンサ。
- [請求項5] 請求項4に記載のバイオセンサにおいて、
前記感熱部が、A I を含有したA I 含有窒化物のサーミスタ材料で形成され、
前記感熱部の前記表面に、前記A I 含有窒化物が酸化したA I 含有酸化窒化膜が形成され、
前記A I 含有酸化窒化膜が、前記A I 含有窒化物よりも高い親水性を有していることを特徴とするバイオセンサ。
- [請求項6] 請求項5に記載のバイオセンサにおいて、

前記 A l 含有酸化窒化膜の材料が、M－A l－N－O（但し、Mは T i, F e, C o, M n, C u, N i, Z r, N b, M o, H f, T a, W, Z n, V 及び C r の少なくとも 1 種を示す。）を含むことを特徴とするバイオセンサ。

[請求項7]

請求項 1 に記載のバイオセンサにおいて、

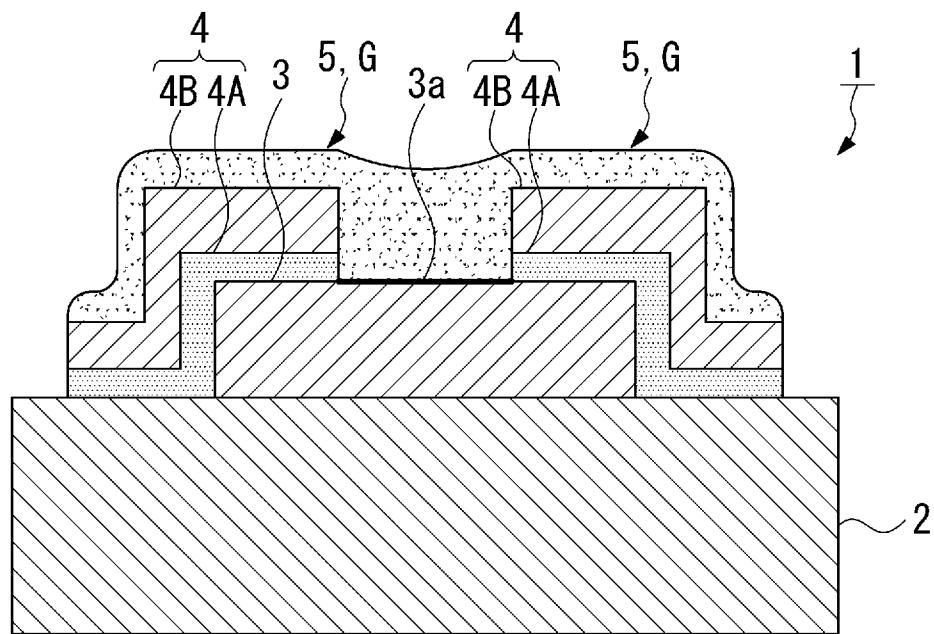
前記感熱部が、絶縁性フィルム上に設けられていることを特徴とするバイオセンサ。

[請求項8]

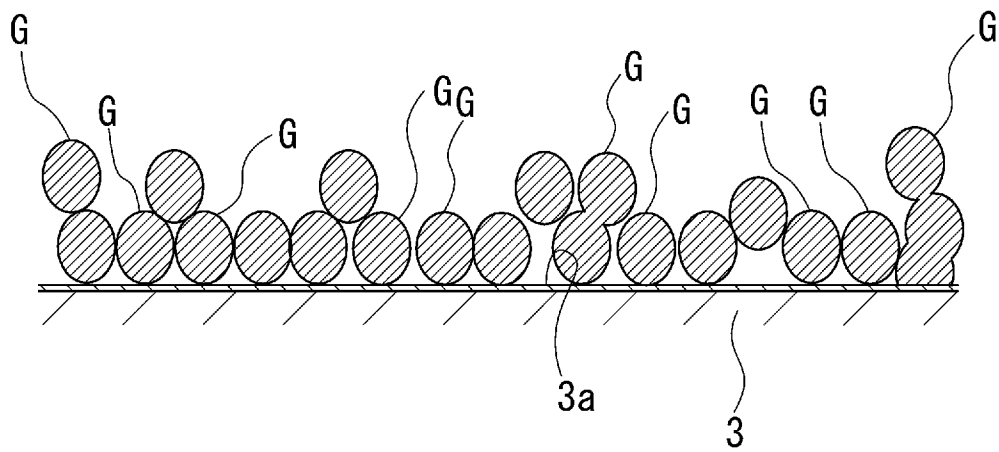
請求項 1 に記載のバイオセンサにおいて、

前記対向電極の表面が、A u 又は A u を含有する金属で形成されていることを特徴とするバイオセンサ。

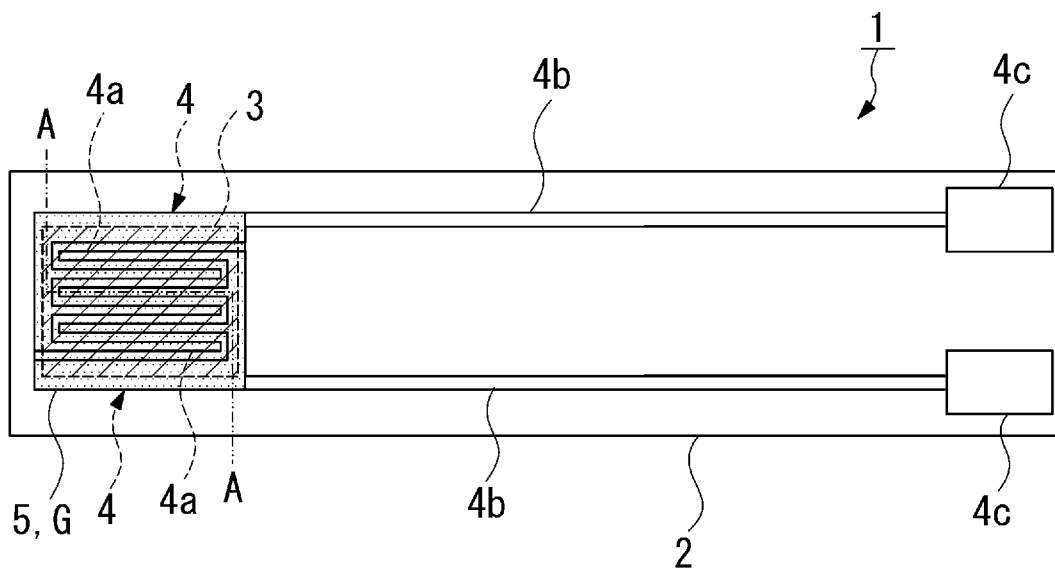
[図1]



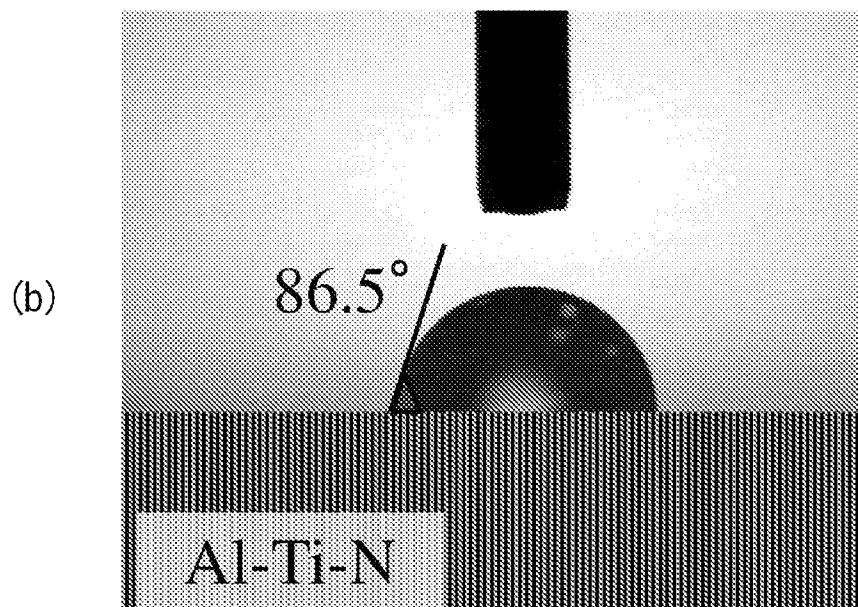
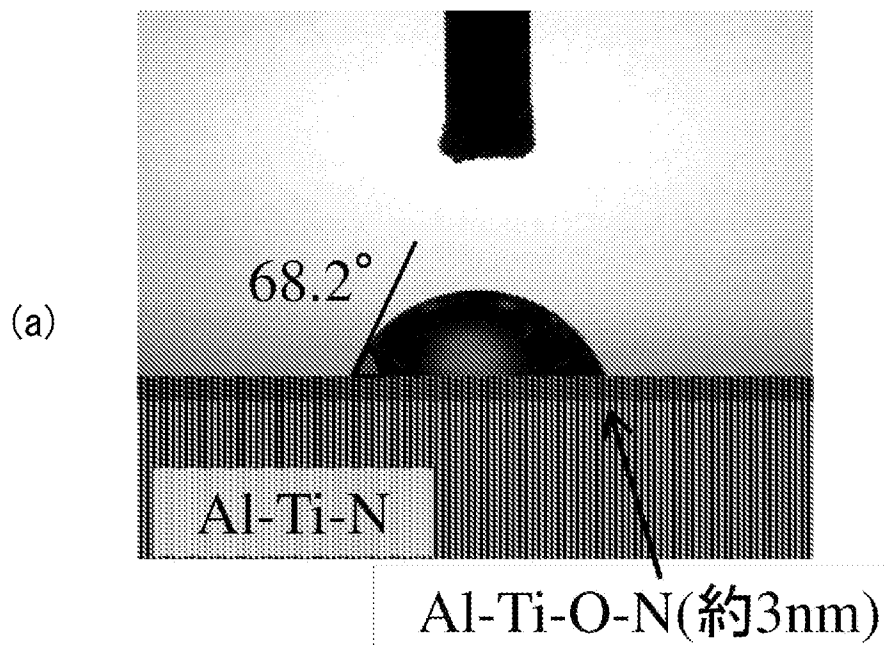
[図2]



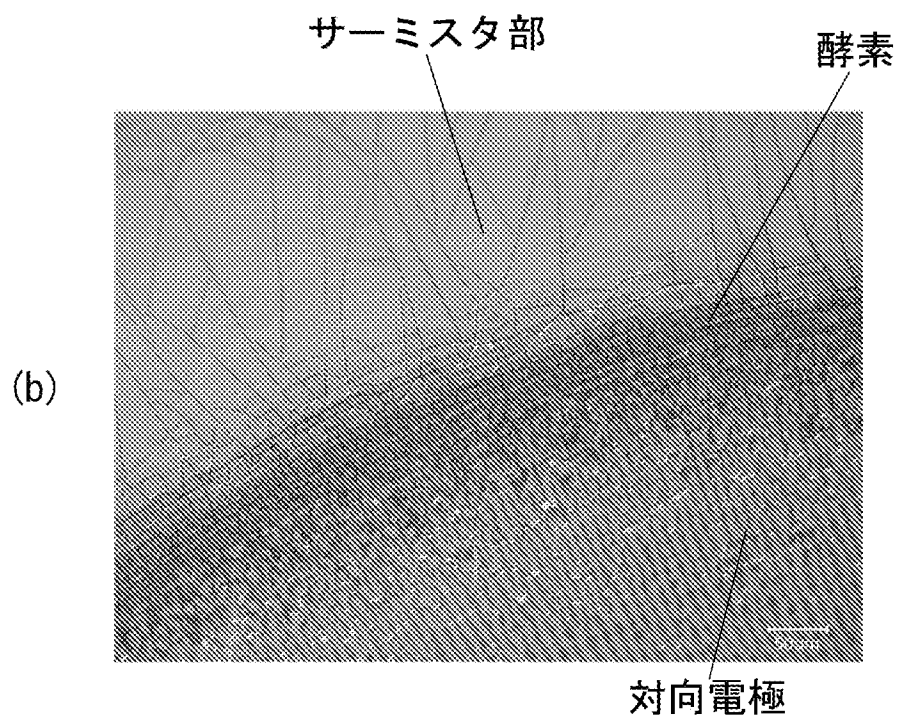
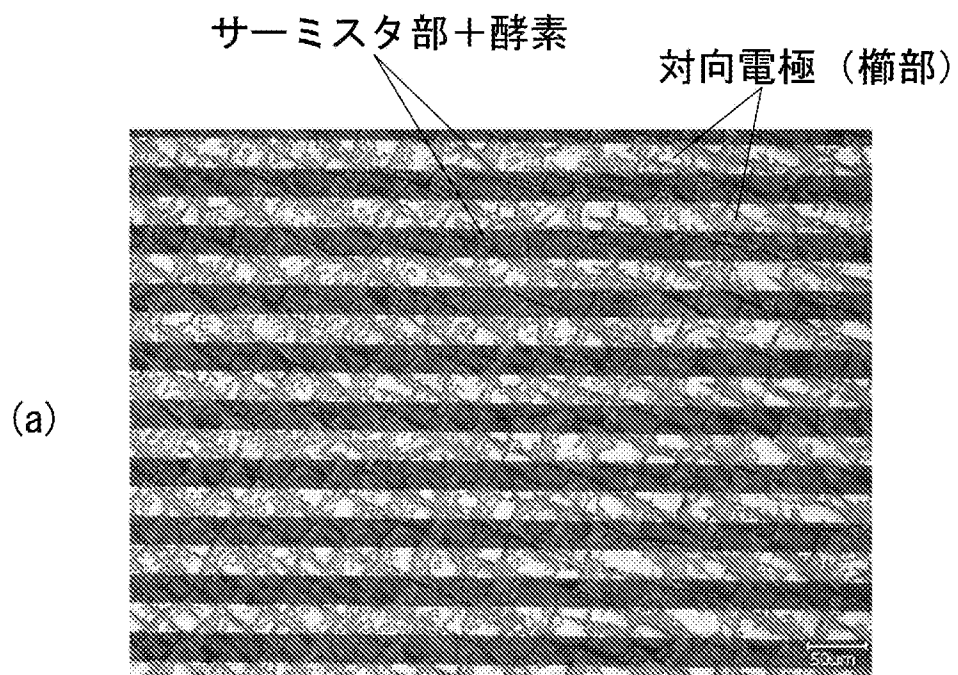
[図3]



[図4]



[図5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/048216

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. G01K7/22(2006.01)i, G01N27/04(2006.01)i, G01N27/14(2006.01)i, G01N27/30(2006.01)i, G01N27/327(2006.01)i

FI: G01N27/04Z, G01N27/30F, G01N27/30B, G01N27/327353Z, G01N27/14, G01K7/22A

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)

Int.Cl. G01N27/00-27/10, G01N27/14-27/24, G01N27/26-27/327, G01K7/22, G01N25/00-25/72

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021

Registered utility model specifications of Japan 1996-2021

Published registered utility model applications of Japan 1994-2021

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 61-083948 A (SHIMADZU CORPORATION) 28 April 1986 (1986-04-28), claims 1-2, pages 2-4, fig. 1	1, 4, 7 1-8
Y	JP 2018-036245 A (MITSUBISHI MATERIALS CORPORATION) 08 March 2018 (2018-03-08), claim 7, paragraphs [0017]-[0044], fig. 1-4	1-8
Y	JP 2019-129188 A (MITSUBISHI MATERIALS CORPORATION) 01 August 2019 (2019-08-01), paragraph [0016]	4-6
A	JP 2015-200611 A (TOHOKU GAKUIN) 12 November 2015 (2015-11-12), entire text	1-8
A	JP 8-233757 A (MITSUBISHI MATERIALS CORPORATION) 13 September 1996 (1996-09-13), entire text	1-8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

02 March 2021

Date of mailing of the international search report

16 March 2021

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/JP2020/048216

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2011-137767 A (NIPRO CORPORATION) 14 July 2011 (2011-07-14), entire text	1-8
A	JP 5-332847 A (TOTO LTD.) 17 December 1993 (1993-12-17) entire text	1-8
A	JP 2-501860 A (IGEN INC.) 21 June 1990 (1990-06-21), entire text	1-8
A	US 5017494 A (SEIKO INSTRUMENTS & ELECTRONICS LTD.) 21 May 1991 (1991-05-21), entire text	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2020/048216

JP 61-083948 A	28 April 1986	(Family: none)
JP 2018-036245 A	08 March 2018	(Family: none)
JP 2019-129188 A	01 August 2019	(Family: none)
JP 2015-200611 A	12 November 2015	(Family: none)
JP 8-233757 A	13 September 1996	(Family: none)
JP 2011-137767 A	14 July 2011	(Family: none)
JP 5-332847 A	17 December 1993	(Family: none)
JP 2-501860 A	21 June 1990	US 6846654 B1
US 5017494 A	21 May 1991	(Family: none)

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） G01K 7/22(2006.01)i; G01N 27/04(2006.01)i; G01N 27/14(2006.01)i; G01N 27/30(2006.01)i; G01N 27/327(2006.01)i FI: G01N27/04 Z; G01N27/30 F; G01N27/30 B; G01N27/327 353Z; G01N27/14; G01K7/22 A		
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）） G01N27/00-27/10; G01N27/14-27/24; G01N27/26-27/327; G01K7/22; G01N25/00-25/72		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2021年 日本国実用新案登録公報 1996-2021年 日本国登録実用新案公報 1994-2021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 61-083948 A（株式会社島津製作所）28.04.1986（1986-04-28） 請求項1-2, 頁2-4, 図1	1, 4, 7
Y		1-8
Y	JP 2018-036245 A（三菱マテリアル株式会社）08.03.2018（2018-03-08） 請求項7, 段落0017-0044, 図1-4	1-8
Y	JP 2019-129188 A（三菱マテリアル株式会社）01.08.2019（2019-08-01） 段落0016	4-6
A	JP 2015-200611 A（学校法人東北学院）12.11.2015（2015-11-12） 全文	1-8
A	JP 8-233757 A（三菱マテリアル株式会社）13.09.1996（1996-09-13） 全文	1-8
A	JP 2011-137767 A（ニプロ株式会社）14.07.2011（2011-07-14） 全文	1-8
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 02.03.2021		国際調査報告の発送日 16.03.2021
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 村田 顕一郎 2W 5711 電話番号 03-3581-1101 内線 3258

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
A	JP 5-332847 A (東陶機器株式会社) 17.12.1993 (1993 - 12 - 17) 全文	1-8
A	JP 2-501860 A (イゲン, インコーポレーテッド) 21.06.1990 (1990 - 06 - 21) 全文	1-8
A	US 5017494 A (SEIKO INSTRUMENTS & ELECTRONICS LTD.) 21.05.1991 (1991 - 05 - 21) 全文	1-8

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2020/048216

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	61-083948	A	28.04.1986	(ファミリーなし)	
JP	2018-036245	A	08.03.2018	(ファミリーなし)	
JP	2019-129188	A	01.08.2019	(ファミリーなし)	
JP	2015-200611	A	12.11.2015	(ファミリーなし)	
JP	8-233757	A	13.09.1996	(ファミリーなし)	
JP	2011-137767	A	14.07.2011	(ファミリーなし)	
JP	5-332847	A	17.12.1993	(ファミリーなし)	
JP	2-501860	A	21.06.1990	US 6846654 B1	
US	5017494	A	21.05.1991	(ファミリーなし)	