

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6818898号
(P6818898)

(45) 発行日 令和3年1月27日 (2021.1.27)

(24) 登録日 令和3年1月5日 (2021.1.5)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 27/30 (2006.01)	GO 1 N 27/30 B
GO 1 N 27/416 (2006.01)	GO 1 N 27/416 3 5 3
A 6 1 B 5/1473 (2006.01)	A 6 1 B 5/1473

請求項の数 9 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2019-540317 (P2019-540317)	(73) 特許権者	514233369
(86) (22) 出願日	平成30年1月30日 (2018.1.30)		エレメント シックス テクノロジーズ
(65) 公表番号	特表2020-514727 (P2020-514727A)		リミテッド
(43) 公表日	令和2年5月21日 (2020.5.21)		イギリス オーエックス 1 1
(86) 国際出願番号	PCT/EP2018/052252		ール オックスフォードシャー ディドコ
(87) 国際公開番号	W02018/141738		ット ハーウェル オックスフォード フ
(87) 国際公開日	平成30年8月9日 (2018.8.9)		ァーミ アベニュー グローバル イノヴ
審査請求日	令和1年7月25日 (2019.7.25)		ェイション センター
(31) 優先権主張番号	1701529.8	(74) 代理人	100094569
(32) 優先日	平成29年1月31日 (2017.1.31)		弁理士 田中 伸一郎
(33) 優先権主張国・地域又は機関	英国 (GB)	(74) 代理人	100103610
			弁理士 ▲吉▼田 和彦
		(74) 代理人	100109070
			弁理士 須田 洋之

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ダイヤモンドベース電気化学センサー

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

電気化学センサーであって、
 ホウ素ドーブダイヤモンド材料で形成されるホウ素ドーブダイヤモンド電極；
 前記ホウ素ドーブダイヤモンド電極の感知表面に配置された非ダイヤモンド炭素サイトの
 配列；

第 1 酸化還元ピークを溶存酸素に関連する第 1 電位で、第 2 酸化還元ピークを pH によ
 り変化する第 2 電位で生成するための前記非ダイヤモンド炭素サイトに結合した電気化学
 的に活性な非ダイヤモンド炭素表面基であって、第 1 及び第 2 酸化還元ピークは重なり合
 わないように分離している電気化学的に活性な非ダイヤモンド炭素表面基；

前記ホウ素ドーブダイヤモンド電極を少なくとも前記第 1 酸化還元ピークを生成する電
 位範囲にわたってスキャンするように構成された電気コントローラー；及び

電気化学測定値を前記第 1 酸化還元ピークの位置及び強度の一方又は両方に基づいて与
 えるように構成されたプロセッサー、を含むセンサー。

【請求項 2】

前記プロセッサーが溶存酸素濃度測定値を第 1 酸化還元ピークの強度に基づいて与える
ように構成された、請求項 1 項に記載の電気化学センサー。

【請求項 3】

電気コントローラーが、前記ホウ素ドーブダイヤモンド電極を第 1 及び第 2 酸化還元ピ
 ークの両方を生成する電位範囲にわたってスキャンするように構成され、及び

10

20

前記プロセッサが第1及び第2酸化還元ピークの間電位差に基づいてpH測定値を与えるように構成され、溶存酸素に関連する第1の酸化還元ピークが内部参照として機能し、pHが標準参照電極を必要とすることなく決定される、請求項1又は2に記載の電気化学センサー。

【請求項4】

更にホウ素ドーパダイヤモンド電極に取り付けられた温度センサーを含む、請求項1から3のいずれか1項に記載の電気化学センサー。

【請求項5】

前記ホウ素ドーパダイヤモンド電極が医療デバイスに取り付けられた、請求項1から4のいずれか1項に記載の電気化学センサー。

10

【請求項6】

前記医療デバイスが侵襲的デバイスであって、その全体又は一部が、ヒト又は動物の体内に開口部または体表のいずれかを通じて侵入し、前記ホウ素ドーパダイヤモンド電極が、使用に際しインビボ電気化学測定値を取得するよう前記ホウ素ドーパダイヤモンド電極が体内に位置付けられるよう、前記侵襲的デバイスに取り付けられる、請求項5に記載の電気化学センサー。

【請求項7】

前記侵襲的デバイスが、前記電気コントローラーに接続され、計数器及び疑似参照電極のいずれかとして機能する金属部分を含む、請求項6に記載の電気化学センサー。

【請求項8】

20

ヒト又は動物の身体からの流体の特徴を測定するための、請求項1から7のいずれか1項に記載の電気化学センサーの使用。

【請求項9】

前記特徴が、pH、酸素濃度、及び温度のいずれかより選択される、請求項8に記載の電気化学センサーの使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、ダイヤモンドベース電気化学センサーに関する。特定の実施形態は、そのような電気化学センサーを含む医療機器に関する。別の実施形態は、様々な産業用及び環境用電気化学センシングの用途に用いることができる。本発明のセンサーはpH及び/又は溶存酸素濃度、場合によっては温度測定と組合せての測定が求められるところで特に有用である。

30

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

既存技術において、ダイヤモンドベースセンサーを溶液の電気化学的性質を測定するために提供することは、既に提案されている。ダイヤモンドはホウ素をドーパして半導体又は電極として用いるための金属のような導電材料を形成することが可能である。導電性のダイヤモンドはまた、堅く、不活性で、非常に広い電位窓を有し、それを電気化学セル、特に苛酷な化学的、物理的、及び/又は熱的環境であって、他のタイプの電気化学センサー(例えば、金属ベースのセンサー)を分解するような環境又は生体適合性が求められる医療用途のための感知電極として用いるのに非常に望ましい材料としている。

40

WO2013/135783は、最適化された電気化学センシング用途のホウ素ドーパダイヤモンド(BDD)材料であって、高いホウ素含有量及び低いsp²炭素含有量を有し、広い溶媒窓、高い可逆性、及び低い静電容量を有するホウ素ドーパダイヤモンド電極を形成するために用いることができるものを開示している。WO2013/135783は、所望の導電性の程度に達するよう高濃度のホウ素をダイヤモンド格子に合成中に導入することがまた、著しい量のsp²炭素(非ダイヤモンド炭素又はNDCとしても参照される)がダイヤモンド材料

50

に導入されることを結果としてもたらしことについて記載している。高含有量の s p 2 炭素又は非ダイヤモンド炭素はバックグラウンド電流をもたらし、それは標的種、特に非常に低い標的種濃度レベルの電気化学センシングと干渉し得ることが記載されている。合成方法と製品材料が、最適化された電気化学センシング用途のホウ素ドーパダイヤモンド材料を提供するため記載されており、それは、高いホウ素含有量と低い s p 2 炭素含有量を有している。そのような材料は、広い溶媒窓、低いバックグラウンド電流、高いシグナル解像度、低い静電容量、及び外圈酸化還元種に対する高い可逆性を有する。

【 0 0 0 3 】

そのような材料が、溶液導電性のようなパラメーターの測定同様、特定の標的種の感知のために優れていることが示されているが、最適化されたダイヤモンド材料は、電気化学的に不活性であり、溶液中の特定の標的種についてシグナルを生成することができない。この観点から、ホウ素ドーパダイヤモンド電極の表面は、電極近くの溶液中の特定の種を感知するため官能化されてもよいことが知られている。例えば、ホウ素ドーパダイヤモンド電極は、WO2010/029277に記載のとおり、酸素のような標的種を感知するため金属ナノ粒子で官能化することができる。あるいは、WO2015/079257は、ホウ素ドーパダイヤモンド電気化学センサーであって、溶液中の遊離塩素を検出及び測定するために非ダイヤモンド炭素 (s p 2 炭素) で官能化されたものについて記載している。還元電流測定に基づく感知システムの中で、感知溶液中又は用いられる場合は支持電解質 / 緩衝液中の溶存酸素の存在による干渉の可能性があることが記載されている。WO2015/079257には、溶存酸素によるこの干渉を低減したいという望みがあることが教示されている。WO2015/079257は、ホウ素ドーパダイヤモンドはサンプル中の溶存酸素の存在に干渉されにくいことを記載している。WO2015/079257には更に、WO2010/029277に記載されたような金属ナノ粒子で官能化されたホウ素ドーパダイヤモンド電極を用いると、酸素からの応答が、検討中の感知装置において求められる塩素からの応答を圧倒することが記載されている。WO2015/079257は、 s p 2 で官能化されたホウ素ドーパダイヤモンド電極を用いる場合、塩素の測定は、そのような酸素の応答によって圧倒されないことを記載している。更に、WO2015/079257は、2つの異なる塩素種を測定する (H O C l 種のカソード測定及び O C l 種のアノード測定) ために構成されたセンサーについて記載している。2つの測定を行う目的は、p H 感応性を克服するためであり、それは観測しているサンプルの化学種分化の化学に固有のものであり、緩衝によって p H を意識的に固定することは、望ましくない上に、実行不可能であるか、部分的にしか効果がないことが指摘されている。要するに、WO2015/079257は、p H 及び溶存酸素を感知しない遊離塩素センサーの提供を模索している。

【 0 0 0 4 】

WO2016/083263はまた、 s p 2 官能化されたホウ素ドーパダイヤモンド電気化学センサーについて記載している。p H に依存しないように特に構成されたWO2015/079257に記載されたセンサーと異なり、WO2016/083263に記載されたセンサーは、p H を測定するように構成される。該電気化学センサーは、ホウ素ドーパダイヤモンド電極の感知表面上に配置された非ダイヤモンド炭素サイト配列を伴うホウ素ドーパダイヤモンド材料で形成されたホウ素ドーパダイヤモンド電極を含む。電気化学的に活性な非ダイヤモンド炭素表面基は、非ダイヤモンド炭素サイトと結合し、p H によって変化する電位を有する酸化還元ピークを生成する。電気化学センサーが、電気化学的に活性な表面基の酸化還元ピーク的位置に基づいて p H の測定値を与えるよう構成されたプロセッサとともに提供される。例えば、ホウ素ドーパダイヤモンド電極は、レーザーアブレーションによって処理され、そのような官能性を有する電気化学的に活性な表面基で官能化された非ダイヤモンド炭素サイトの配列を形成することができる。そのようなセンサーはまた、塩素種を測定することができることも記載されている。十分電気化学的に活性な表面基は、ホウ素ドーパダイヤモンド電極の感知表面で提供され、p H 感応酸化還元ピークを生成しながら、p H 感応酸化還元ピークが起こる位置で酸素が還元されないだけ十分に低い量の非ダイヤモンド炭素を提供することができることも記載されている。WO2016/083263は、p H 及び塩素種を測定することができる一方、溶存酸素を感知しないセンサーについて記載している。

要するに、既存技術は、金属ナノ粒子で官能化されたホウ素ドーパダイヤモンドセンサーを溶存酸素測定のために、又は非ダイヤモンド炭素 sp^2 官能化ホウ素ドーパダイヤモンドセンサーを塩素種又は pH を溶存酸素種からの干渉なしで測定するために用いることを教示している。

【発明の概要】

【0005】

(発明の概要)

上述とは対照的に、本発明は、非ダイヤモンド炭素 (sp^2) で官能化されたホウ素ドーパダイヤモンドセンサーであって、溶存酸素と関連する酸化還元ピークを測定するために構成されたものの提供に関する。該センサーは、非ダイヤモンド炭素サイトの配列を伴うホウ素ドーパダイヤモンド電極を用いており、W02016/083263に記載されているものと同じ又は類似のものである。しかしながら、該センサーは、溶存酸素酸化還元ピークを生成する電位範囲にわたってホウ素ドーパダイヤモンド電極をスキャンするよう構成された電気コントローラー及び溶存酸素酸化還元ピークの位置及び強度のいずれか一方又は両方に基づいた電気化学的測定値を与えるよう構成されたプロセッサーを有する。

該測定は、二つの異なる方法で用いることができる。溶存酸素ピークの強度 (即ち、電流強度) の測定は、溶液中の溶存酸素濃度を決定するために用いることができる。あるいは、又は追加的に、溶存酸素ピークの電位の測定は、内部参照として用いることができ、 pH を標準参照電極を必要とせずに測定できる。特に、溶存酸素酸化還元ピークとホウ素ドーパダイヤモンド表面上の非ダイヤモンド炭素種の pH 感応酸化還元ピークの電位差は溶液の pH に比例することがわかった。更に、この電位差を用いることによって、 pH 測定は、電極の汚れ及び/又は溶液条件の変化によるピーク位置のシフトに依存しない。このように、標準参照電極の必要性は、否定される。また更に、このアプローチは、標準参照電極それ自体が時間とともに分解によってドリフトすることから有利である。本アプローチはまた、標準電極を用いることができない用途、例えば、インビボの医療用途又は長時間スケールの環境モニタリングにおいて欠かすことができないものである。

【0006】

したがって、本発明の第1の態様に従うと、以下を含む電気化学センサーが提供される：

ホウ素ドーパダイヤモンド材料で形成されたホウ素ドーパダイヤモンド電極；

ホウ素ドーパダイヤモンド電極の感知表面に配置された非ダイヤモンド炭素サイトの配列；

溶存酸素に関連した第1電位における第1酸化還元ピーク及び pH によって変化する第2電位における第2酸化還元ピークを生成し、第1及び第2酸化還元ピークは分離されていて、重なり合いが無い、非ダイヤモンド炭素サイトに結合した、電気化学的に活性な非ダイヤモンド炭素表面基；

ホウ素ドーパダイヤモンド電極を少なくとも前記第1酸化還元ピークを生成する電位範囲にわたってスキャンするよう構成された、電気コントローラー；及び

電気化学的測定値を前記第1酸化還元ピークの位置及び強度の一方又は両方に基づいて与えるよう構成されたプロセッサー。

【0007】

ある構成において、プロセッサーは、溶存酸素濃度の測定値が、第1酸化還元ピークの強度に基づいて与えられるよう構成される。加えて、あるいは代わりに、電気コントローラーは、ホウ素ドーパダイヤモンド電極を、第1及び第2酸化還元ピークの両方を生成する電位範囲にわたってスキャンするよう構成され、プロセッサーは、第1及び第2酸化還元ピークの間の電位差に基づいて pH の測定値を与えるよう構成され、第1酸化還元ピークは溶存酸素と関連し、 pH が標準参照電極を必要とすることなく決定されるよう内部参照として機能する。この観点から、 pH 酸化還元ピーク及び酸素酸化還元ピークの両方についてスキャンする場合、通常、 pH 酸化還元ピークが酸素酸化還元ピークよりも先にスキャンされる方向にスキャンすることに留意すべきである。このように、「第1」及び

「第2」という用語は酸化還元ピークとの関係において、時間的順序を示すことを意図するものではない。

溶存酸素の酸化還元ピークから離れた電位範囲をスキャンするように特に適応したW02015/079257及びW02016/083263とは異なり、本発明の実施形態は、酸素ピークを溶存酸素とpHの両方を測定するために用いる。温度センサーはまたホウ素ドープダイヤモンド電極に取り付けられてもよい（例えば、ホウ素ドープダイヤモンド電極の後方表面の熱電対）。ダイヤモンド材料の例外的な熱伝導性は、ホウ素ドープダイヤモンド電極と接触している流体の正確で敏感な温度測定を可能にする。

【0008】

本発明の更なる態様に従うと、本明細書に記載されている電気化学センサーは、ヒト又は動物の身体からの流体の特徴を測定するために用いられる。そのような特徴は、1以上の以下を含む：pH、酸素濃度、及び温度。

この観点から、溶存酸素、pH及び温度は医療処置で用いられる3つの基本的な測定であることに留意する。現在の血液ガス分析技術と異なり、本発明は、これら基本的医療診断のほぼ瞬時の測定及びリアルタイムモニタリングを可能とする。したがって、そのような医療用途のため、ホウ素ドープダイヤモンド電極を、例えば侵襲的なデバイスのような、全体又は一部がヒト又は動物の体内に主要な開口部又は体表のいずれかを通じて入りこむ医療機器（例えば、静脈内デバイス、針、外科用メス刃、カテーテル、またはこれらに類似のもの）の上に取り付けることができる。ホウ素ドープダイヤモンド電極は生体適合性であるので、侵襲的デバイスに、その使用に際しホウ素ドープダイヤモンド電極を体内に位置付け、インビボ電気化学的測定を行うように取り付けることができる。

【0009】

更に、本発明の実施形態は溶存酸素酸化還元ピークをpH測定のための内部参照として用い、標準参照電極を必要としないことから、侵襲的デバイスの別の部分を電気コントローラーに接続し、計数器又は疑似参照電極として機能することができる（例えば、デバイスの金属又はホウ素ドープダイヤモンド部分）。このことは、標準参照電極は生体適合性ではなく、ドリフトしたり汚れたりすることから、重要である。

前述の有利な特徴はまた幅広い範囲の産業用及び環境用電気化学センシング用途に適用可能であり、そこではpH、溶存酸素濃度及び温度のモニタリングが重要である。第2の態様に従うと、上述の第1の態様において記載されたように、ヒト又は動物の身体からの流体の特徴を測定するための電気化学センサーの使用が提供される。特徴の例は、任意の以下から選択されてもよい：pH、酸素濃度及び温度。

【0010】

（図面の簡単な説明）

本発明をより良く理解し、どのようにそれが実際に行われ得るかを示すため、本発明の実施形態がここに添付の図のみを参照しつつ例示という方法で記述される。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】図1は、レーザーパターニングを通じて製造されたsp²官能化ホウ素ドープダイヤモンド電極を示す。

【図2】図2は、本発明の実施形態に従ったsp²官能化ホウ素ドープダイヤモンド電極を含む電気化学センサーの基本的な構成要素を示す。

【図3】図3は、本発明のセンサーを用い、pHと酸素の両方の酸化還元ピークを示す、矩形波ボルタンメトリーの結果を示す。

【図4】図4は酸素酸化還元ピークをより詳細にpHを変化させて示す。

【図5】図5は、ヒツジの血液中で行われたpH測定についてpH酸化還元ピークをより詳細に示すものであり、血液マトリックス環境で良い再現性を示している。

【図6】図6は、酸素酸化還元ピーク（a）とpH酸化還元ピーク（b）についてのpHに対する電位の較正グラフを示す。

【図7】図7は、酸素酸化還元ピークとpH酸化還元ピークとの間の電位差のpHに対す

10

20

30

40

50

る校正グラフを示す。

【発明を実施するための形態】

【0012】

(詳細な説明)

血液及び組織中の pH、 O_2 及び温度における小さな生理学上の変化は、究極的には、細胞レベルでの外傷についての早期警告システムを提供する。路傍でこの情報に接することにより、情報に通じた臨床判断を行い、患者の健康を守ることができる。残念ながら、インビボ継続モニタリングは、電極がドリフトや生体適合性の問題を抱えているのと同様関係する基質の複雑性のため非常に難度が高い。ここで、ホウ素ドーブダイヤモンド (BDD) 電気化学センサーは、pH、 O_2 及び温度の、インビボであってもよい、リアルタイム同時検出のために記載される。これを達成するため、黒鉛化のプロセスを用いて BDD は pH と酸素の両方に敏感に反応する一方で、ダイヤモンドの高い熱伝導性が正確な温度測定のために有利に用いられる。更に、センサーの設計において、従来の参照電極の必要性を否定している。この観点から、インビボ電気化学的モニタリングの主な欠点は、ドリフトによるものであったところ、酸素固有の特徴を内部参照として用いることにより無視することが可能となる。該センサーはこのように本質的に生体適合的であり、全て炭素から作られている。センサパッケージ全体は、リアルタイムフィードバックを提供するために定電位操作を行うことができる小型回路と組み合わせて、皮下の血液及び組織にアクセスすることを可能とし、標準皮下注射針に統合することが可能である。この新しい技術は、路傍で (救急サービスを補助する) だけではなく、病院における日常の患者のモニタリングの一部としても、患者の処置を革命的に変えることが期待される。該センサーはまた、病気の診断及びモニタリング、脳活動モニタリング、薬の開発及び多くのその他の分野において幅広い用途を見つけることが期待される。例えば、腫瘍組織の周囲の細胞外ミクロ環境は酸性であり、しばしば温度が高いことが記録されているが、いまだ効果的にこれをインビボで評価する方法は現在存在しない。これは、BDD センサーを癌の診断及び効果的な腫瘍の除去に用いるための更なる機会を提供する。

【0013】

ポータブルホウ素ドーブダイヤモンドセンサーを、したがって、臨床使用のために提供し、pH、 O_2 及び温度の継続的モニタリングをすることが可能である。この基本的な情報の路傍での評価は、手術の必要性について知らせるためのリアルタイムな臨床的介入の機会を提供し、潜在的に生命の喪失を低減する。センサーの設計は、従来の参照電極に関連する問題が必要なくなり、継続測定が可能となるというものである。幅広い情報 (pH、 O_2 及び温度) のための最初のポータブルで継続的な電気化学センサーとして、それはまた科学者が、インビボの生理的及び病理学的シナリオについて新たに詳細な洞察を得て、効果的な疾患の治療を発達させる一助となることを可能とするであろう。

【0014】

完全に機能している、健康なヒトの体は、ホメオスタシスを維持しており、それは、 O_2 濃度及び温度同様厳格に管理された血液中の pH (7.35 から 7.45 の範囲) 及び組織中の pH (約 7.40) に反映されている。標準的な状態からの逸脱は、深刻な病と同様に生命を脅かしうるものであり、外傷を意味し、手足への酸素の喪失を含む。これらの理由から、定期的な動脈血ガスモニタリングは、重症患者にとって必要不可欠である。pH 及び O_2 を測定することの決定的重要性は、商業的な血液ガス測定装置 (BGA) が日常的に病院で用いられている事実反映されている。ここで血液サンプルは、典型的にはほぼ毎時、BGA での分析のため、患者から取り除かれる。残念ながら、生体外測定 (ex-situ) の間欠的な性質は、継続的に変化する環境について限定的な状況しか提供せず、短期的な傾向はしばしば見逃され、患者の健康に影響を与える。分析のオフライン的な性質はまた、不適切なサンプル貯蔵、白血球の O_2 消費による血液サンプル中の O_2 の低下及び結果を誤らせるサンプル中の気泡の存在を含む、多くの誤りが起こる機会を提供する。したがって研究は、患者の管理及び患者の安全の手助けを目的として、継続的なインビボモニタリングの開発に焦点をあててきた。この観点から、継続的 BGA システムが模索

されてきたが、残念なことに、1つのBGA装置は嵩高く、数千ポンドの費用が掛かる。電気化学は安価で単純でポータブルな代替手段を提供する。ガラスpH電極が成功裏に小型化される一方で、その脆弱性のため、この技術は静脈内測定には適していない。更に、古典的な参照電極は汚れてしまい、インピボで遭遇する複雑な生物学的基質においてドリフトし、長期モニタリングの問題となる。これらはまた、生体適合性の問題を抱えている。更に、この基本的な情報にベッドの傍に加え路傍でもアクセスすることができれば、臨床的評価及び適切な介入を行うことが可能であり、治療の有効性に劇的に影響することが知られている病院前処置により、潜在的に有害な事象を防ぐ。これは既存の技術ではできないことである。

【0015】

10

本発明のある実施形態は、初のポータブル電気化学センサーを提供し、それは、(a)ヒトの血液及び組織のpH、 O_2 含有量及び温度をリアルタイムで同時に評価することができ、(b)炭素のみから作られていることから完全に生体適合性があり、(c)生体適合的な内部参照を含有して、(d)インピボ測定のため皮下針に完全に統合することができる。

【0016】

本明細書に記載のセンサーの有利な点は以下を含む：

1. ダイヤモンドは全体が炭素でできているため生体適合性があり、また、複雑な基質において他の電極材料に比較して汚れの低減を示す。
2. BDDは、pHと O_2 の両方を感じることができる本質的に安定なsp²炭素層を作るために、レーザーアブレーションを用いて官能化することができる。
3. ダイヤモンドの本質的に高い熱伝導率は、電極の裏側に位置付けられた熱電対を用いて、温度センサーを生物学的環境に曝すことなく、温度を正確に調査することができることを意味する。
4. 本技術の時間分解能は秒単位であり、例えば、医師が薬を投与し、当該薬の患者に対する効果をリアルタイムでみることを可能とする。
5. レーザーアブレーションパターンの設計を変えることにより、コントロールされていない大量輸送効果を除去し、pH及び O_2 の同時検出のためのsp²炭素含有量を最適化することを可能とする。

20

【0017】

30

BDDはその最も純粋な形態で、電気分析にとって極めて魅力的な幅広い性質、すなわち、非常に低いバックグラウンド電流、高い熱伝導性、幅広い溶媒窓、高い再現性をもたらす極めて安定な表面、生物汚れの低減、化学的攻撃に対する抵抗性、機械的安定性を提供する。これら全ての性質は、電気触媒的に不活性な表面をもたらす炭素構造のsp³結合性から生じる。しかしながら、多くの電気活性種は、ある形式の吸収を電子移動(ET)に先立って必要とし、これは、純粋なBDD表面上でそれらは溶媒窓の範囲内で非常にゆっくりとした電子移動(ET)速度を示すか、又は何の反応も示さないかのいずれかを意味する。電子移動速度を増加させるため、金属ナノ粒子がしばしば電極表面に位置付けられる。しかしながら、生体医療関連の仕事においては、潜在的に長期間にわたり、センサーを体内の流体と直接接触するように置くことが目的であるため、これは適当ではなく、また、古典的な電極材料がインピボモニタリングに用いられない理由でもある。対照的に、sp²炭素は、生体適合性であるが、sp³炭素よりも触媒的に活性であり、例えばC=O、COOH基等の導入により特に高密度の結合サイトがさらされた形態で導入された場合にそうである。体内で用いるため、1つのアプローチは、sp²炭素をBDD表面構造に組み込むことである。しかしながら、十分な電気触媒的活性が材料に課されるが、BDDの好ましい性質の全てを失うことのないようにこの管理性を行うことが重要である。また、製造ルートが、センサーとセンサーの間で再現可能であることが重要である。BDD成長プロセスの間に(気相における水素に対する炭素の濃度を変化させることによって)sp²炭素を導入することは、sp²炭素の配置がコントロールされず、平均sp²表面濃度が増加するだけであるので適切ではない。さらに、成長したBDDウェーハの

40

50

表面にわたって、s p 2 表面含有量は不均一に異なりがちである。更に、s p 2 のみの炭素材料（例えば、グラフェン、カーボンナノチューブ、グラッシーカーボン）をセンシングのために用いることはまた、その欠点を有することについて留意すべきである。

【 0 0 1 8 】

WO2013/135783に記載されているように、非常に高いグレードのB D Dがウェーハ—の形状で開発され、それは最小量のs p 2 炭素含有量を含み、そのため、s p 2 炭素が意図的に表面に添加される必要がある任意の作業にとって理想的な出発材料である。更に、s p 3 純B D Dのレーザーアブレーション（例えば、ナノ秒パルスレーザーを用いて）がs p 2 炭素サイトをダイヤモンド表面に導入することを見出した。B D Dはその表面から気相へとアブレートされる。しかしながら、全ての材料がガス状の生成物、例えばC O₂のようなものに転換されるわけではなく、レーザープリュームの外での冷却に伴いアブレートされた材料が、レーザーによって切断されたダイヤモンドの中のピットの壁の上に濃縮する。残された材料は例外的に安定であり、緩やかに結合した炭素を除去するための2 0 0 °Cでの強制的な熱酸処理の後でさえも残るが、重要なことに主としてs p 2 炭素からなる。該炭素は高度に酸化された形状であり、キノンのような部分（Q L M）を含み、それは直接材料の表面に統合される。モデル緩衝液中でこれらのQ L Mはプロトン共役電子移動を経て、明確に定義された、線形のネルンスト（1 単位のp Hあたり5 9 m Vのピーク電位シフト）応答を、室温条件下でp H 2 - 1 2 の範囲にわたって、電位範囲 - 0 . 4 V から 0 . 4 V にわたって示す。

【 0 0 1 9 】

図 1 は、p H 測定を行うためのWO2016/083263に記載のとおりレーザーパターニングによって製造されたs p 2 官能化ホウ素ドーパダイヤモンド電極を示す。そのような電極の官能性は、電極がよりs p 2 炭素電極（多くの大きなピット）又はより純B D D電極（より少ない小さなピット）のように機能することができるようにレーザーピットの幾何学的配置（直径及び深さ）及びレーザーピットのB D D電極の表面全体にわたっての分布を変えることによって変化することができる。s p 2 官能性の変化は表面の加工／アブレーションの間、レーザーのパワーをコントロールすることによって達成することができる。

例えば、レーザーピットサイズ及び／又はスペーシングは、酸素酸化還元ピークの位置をコントロールし、ひいては干渉を避けるため酸素及びp Hの酸化還元ピークの分離をコントロールするため変えることができる。更に、レーザーピットサイズ及び／又はスペーシングは、例えば血液流量に依存しない酸素酸化還元シグナルを提供するためにどれだけセンサー測定値がフロー条件のような測定環境に影響されるかをコントロールするように、変えることができる。更にまだ、レーザーピットサイズ及び／又はスペーシングは、他の用途のために最適化することができ、例えば、組織マトリックス中の種の輸送がゆっくりであり、したがって、センサー配置は、組織内への挿入用途におけるそのような輸送条件のために最適化することができる。

【 0 0 2 0 】

更に、いくつかの用途においてセンサーを小型化することは重要であり、かつ現在のレーザーアブレーションのアプローチを用いて達成できるよりも小さなパターンサイズを用いることが必要であろう。この観点から、例えば、小型化されたs p 2 生成のための集束イオンビームミリング加工のような代替的な電極ミル加工技術を用いてもよい。

純粋なB D Dは電気触媒的に酸素還元反応（O R R）に不活性である。しかしながら、s p 2 を表面に組み込むとO R R可能なサイトを（動力学的に限定されるが）生成することが知られている。s p 2 炭素電極は、電気化学的に2 電子移動メカニズム、すなわち $O_2 + 2 H^+ + 2 e^- \rightarrow H_2O_2$ を通じて酸素を還元し、過酸化水素（H₂O₂）の生成が結果として得られることが知られている。したがって、O₂濃度の変化は、電流の大きさに反映される（クロノアンペロメトリー又はサイクリックボルタンメトリー又はそれらの変形のいずれかによって記録される）。電位軸上のE₀についてのO R R波の位置は、電子移動反応速度、k₀（O R Rは電子触媒のプロセスであるので、関心のある表面について）及びシステムにおける物質輸送の両方によって影響を受けるであろう。更に、O R Rは

また pH に依存する。sp2 官能化 BDD 電極を用いると ORR 応答位置が pH 応答位置に比べて有意にシフトし、同じセンサーを用いて両方の分析物を分析的に検出することが可能となることを見出した。インビボ調査における ORR について、センサーは変わり得る有意な血流に供されるので、センサーが再びフローレート非依存性であることが重要である。このことは、拡散フラックスが対流効果からのそれより高いグラファイト状のマイクロアレイを生成することによって可能となる。

【0021】

Ag / AgCl 参照電極又は飽和カロメル電極のような標準参照電極を用いることは、直接体内との接触のためには以下の理由から好ましくない：(i) サイズ及び脆弱性の問題、ガラス電極はヒトの体内に直接設置することができず、それらは典型的には大きすぎる；及び(ii) 例えば、AgCl でコートされた Ag デバイスをつくるため微細作成技術を用いて電極のサイズを小さくすることができたとしても、AgCl はヒトの血液又は組織とインビボで直接接触するには毒性のある材料であると考えられており、ドリフトに供されやすい。参照電極ドリフトは、サンプルの pH 及び酸素含有量の誤った測定値につながり、生物医学的な用途にとってそれは非常に有害となり得る。したがって、代替的なアプローチが必要となる。文献において採用されている一つのアプローチは、電気活性のある参照分子を、化学誘導体化アプローチを用いて電極の表面に配置し、(この分子と関心のある分析物の間の) 電位差シグナルを使用して、参照と関わる如何なるドリフト問題にも対処することである。残念ながら、このアプローチは、センサーの表面に移植されたいかなる適切な化学物質もインビボ調査には有毒な存在であると考えられがちであること及び/又は使用中にセンサー表面から分解してはがれがちであることから、ここで用いることはできない。対照的に、本発明のセンサーは、ORR と pH 応答の間の電位差シグナルを用いる。ORR 及び pH 応答は、pH の変化によって異なる mV / pH 単位シフトを示し、これによってサンプル pH 及び酸素濃度を、同じ導電ダイヤモンドセンサーを用いて決定することを許容する。

【0022】

図 2 は、本発明の実施形態に従う sp2 官能化ホウ素ドーブダイヤモンド電極を含む電気化学センサーの基本的な構成要素を示す。電気化学センサーは、ホウ素ドーブダイヤモンド材料で形成されたホウ素ドーブダイヤモンド電極 2 を含む。非ダイヤモンド炭素サイトの配列 4 は、ホウ素ドーブダイヤモンド電極の感知表面に配置される。電気化学的に活性な非ダイヤモンド炭素表面基は、非ダイヤモンド炭素サイトに結合し、第 1 の酸化還元ピークを、溶存酸素に関連する第 1 電位において生成し、第 2 の酸化還元ピークを pH によって変化する第 2 電位において生成し、第 1 と第 2 の酸化還元ピークは重なり合わないよう分離されている。電気コントローラー 6 はホウ素ドーブダイヤモンド電極を少なくとも前記第 1 の酸化還元ピークを生成する電位範囲にわたってスキャンするように構成される。プロセッサー 8 は、前記第 1 酸化還元ピークの位置及び強度の一方又は両方に基づく電気化学測定値を与えるように構成される。該プロセッサーは、第 1 酸化還元ピークの強度に基づき溶存酸素濃度測定値を与えるように構成されることが可能である。追加的にあるいは代替的に、電気コントローラーは、ホウ素ドーブダイヤモンド電極を第 1 及び第 2 の両方の酸化還元ピークを生成する電位範囲にわたってスキャンするように構成され、前記プロセッサーは、第 1 及び第 2 酸化還元ピークの間の電位差に基づいて pH 測定値を与えるように構成され、溶存酸素に関連する第 1 酸化還元ピークが内部参照として機能し、pH が標準参照電極を必要とせず決定される。図 2 で示される実施形態はまた、ホウ素ドーブダイヤモンド電極に取り付けられた温度センサー 10 及び計数 / 参照電極 12 を含む。計数 / 参照電極はセンサーが取り付けられるデバイスの構成要素によって形成されてよいことに留意すべきである。

【0023】

図 3 は、本発明のセンサーを用い、様々な pH 値において pH と酸素の両方の酸化還元ピークを示す矩形波ボルタンメトリーの結果を示す。sp2 官能化 BDD 電極は 2 つの互

10

20

30

40

50

いに干渉しない明確なピークを生成する。図4は、酸素酸化還元ピークをより詳細にpHの変化とともに示す。更に、図5は、ヒツジの血液で行われたpH測定についてpH酸化還元ピークをより詳細に示すものであり、血液マトリックス環境で良い再現性を示している。

図6は、酸素酸化還元ピーク(a)とpH酸化還元ピーク(b)についてのpHに対する電位の校正グラフを示す。校正は良い線形性を示す。更に、図7は、酸素酸化還元ピークとpH酸化還元ピークとの間の電位差のpHに対する校正グラフを示す。再び、校正は良い線形性を示す。更に、この電位差測定は電極ドリフト(例えば、参照電極ドリフト)より安定であり、標準参照電極を必要とすることなく測定することを可能とする。

【0024】

前述の通り、上述のpH及びO₂測定に加えて、ホウ素ドーパダイヤモンドは高い熱伝導性(700 W m⁻¹ K⁻¹)を有する。したがって、温度プローブをBDDセンサーデバイスの背面に(溶液と接触させずに)位置づけることで、特にBDDセンサーデバイスが薄い場合、サンプル溶液の正確な温度の測定値を与える。

別の重要な問題は、血液のような苛酷なマトリックス中での電極の長期安定性である。特定されない吸着事象がセンサーの性能を損なう。この観点から、電極の性能を損なうことなく、必要に応じて長期間、より極端な電位(> 1 V)をBDDに適用することが可能である。この結果、電極表面が洗浄され、特にこの用途のBDDにとって有利である。BDDセンサーはまた、医療デバイスに用いられる高温滅菌手続に完全に対応していることに留意すべきである。更に、BDDセンサーは、他のタイプのセンサーに比べて気体発生を抑制し、このことは、例えば医療用途において、重要となり得る。

【0025】

インビボ測定を直接組織内又は患者の血液供給のいずれかにおいて行うには、インビボ配置に適したパッケージングを設計する必要がある。インビボ調査のためには、参照/計数電極は、単純に生体適合性導電性ダイヤモンド(BDD)、センサーパッケージングの外側のケース又はそれが取り付けられるデバイスの一部であることができる。ある実施形態において、BDDセンサーは、針が計数電極として機能する標準皮下針に統合されることができる。あるいはセンサーはカテーテル、外科用メス、シリンジ体、透析機器またはその他の任意の医療デバイスに統合されてもよい。

センサー技術の恩恵を直接に享受するのは、本明細書に記載のとおり、その健康状態を、温度同様、その血液及び組織中のpH及びO₂含有量に基づいて直接測定できる、診断又は治療を必要とする患者であろう。例えば、ほんの数例を挙げると、救急隊員によって評価されている場合の外傷患者；がん患者の腫瘍評価：安定性を確実にするため集中治療中の患者の長期モニタリング、が挙げられる。各グループには、数多くの人に関わっており、大きな社会的経済的インパクトを有する。ポータブルでワイヤレスな化学センサーは、リアルタイム情報を提供し、即時の臨床的対応判断を行うことを可能とし、それにより効果的に疾患をコントロールし、入院(hospitality)及び致死性を低減し、患者のクオリティ・オブ・ライフを改善することができる。飲み込めるバージョンのセンサーはまた、消化管下方におけるpH及び/又は酸素濃度を記録するために提供されることができる。

【0026】

医薬品産業もまた本明細書に記載のとおりセンサー技術の恩恵を受けるであろう。アメリカ食品医薬品局(FDA)及び欧州医薬品庁(EMA)の両方ともが、ヒト組織から得られる薬品濃度のデータの価値及び重要性を強調し、医薬品開発中に及び新薬の申請のためにこの情報を得るための臨床マイクロダイアリシスの使用を支持している。該センサーは特に局所的に投与された薬品及び薬品の効果の生体適合性及び生物学的同等性の調査において有用である。センサーはまた分析ツールとして、適切な薬品候補を事前選定する際、コストがかかり長期にわたる臨床試験の前、又は医薬品投与の最適化において用いることができる。更にまた、該センサーは、医薬品の吸収、分布、代謝及び排泄の経時変化を示す薬物動態モデルを作り上げるために用いることができる。

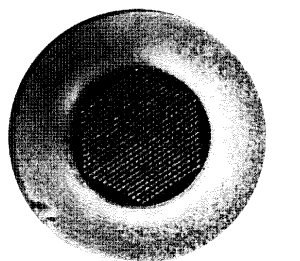
恩恵を受ける第3のグループは、医学、環境、薬学及び分子生物学同様その他の分野を含む幅広い範囲の研究分野における学術研究者である。本発明のセンサーは伝統的な実験室ベースのシステムに比較して小型化することができるので、より負荷が小さく、患者または希望者によって自由に持ち運ぶことが可能であり、高い時間分解能及び敏感な化学分析を提供する。

【0027】

本発明は特に実施形態を参照して示し、既述されているが、当業者には様々な変更が、形状及び詳細について、添付の特許請求の範囲に規定される発明のスコープから離れることなく為し得ることが理解されるであろう。例えば、上記記載の実施形態は医療用途に大きく焦点をあわせているが、本明細書に記載のセンサー技術の有利な特徴はまた、幅広い

10

【図1】



250 μm

Fig. 1

【図2】

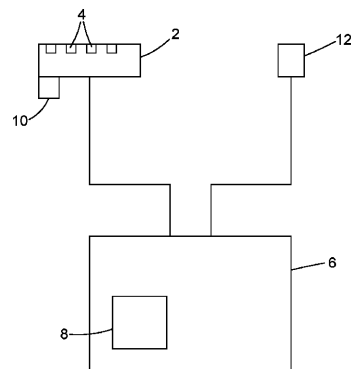


Fig. 2

【図 3】

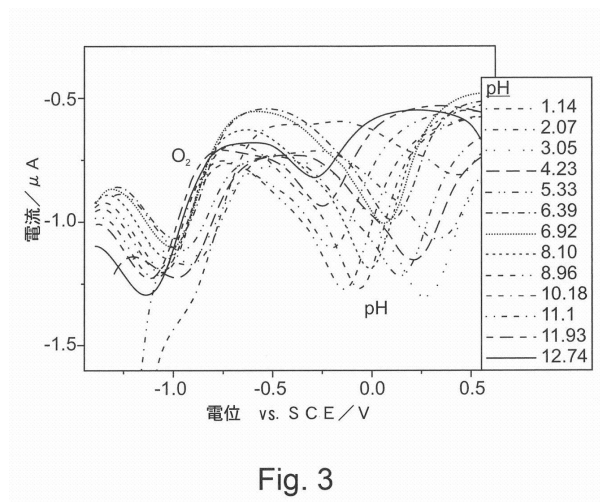


Fig. 3

【図 4】

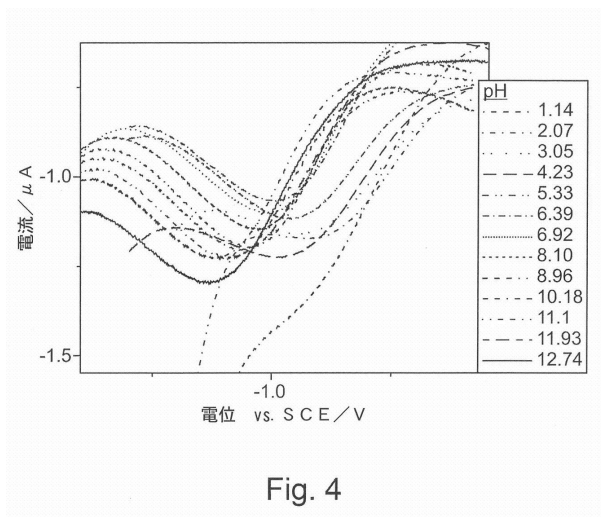


Fig. 4

【図 5】

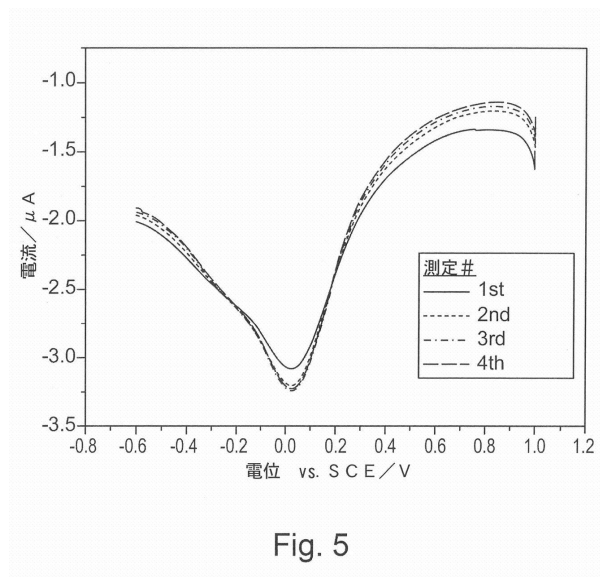


Fig. 5

【図 6 a】

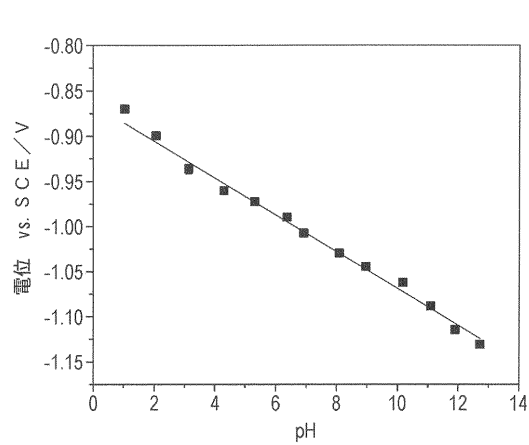


Fig. 6a

【図 6 b】

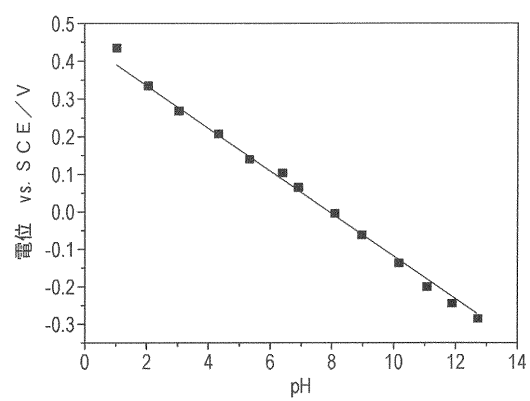


Fig. 6b

【図 7】

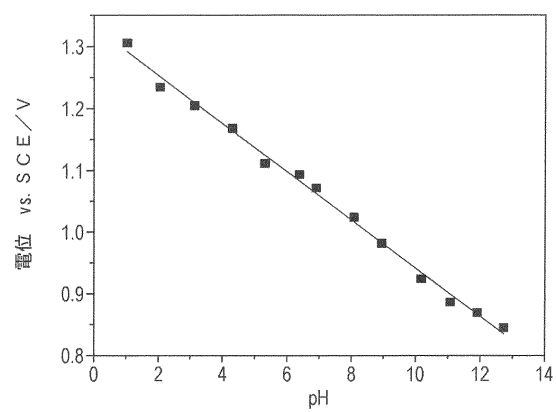


Fig. 7

フロントページの続き

- (74)代理人 100119013
弁理士 山崎 一夫
- (74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき
- (74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信
- (74)代理人 100212509
弁理士 太田 知子
- (72)発明者 マクファーソン ジュリー ヴィクトリア
イギリス シーヴィ4 7エイエル ウォリックシャー コヴェントリー ユニヴァーシティー
オブ ウォリック デパートメント オブ ケミストリー内
- (72)発明者 アイレス ソエ ジョアンナ
イギリス シーヴィ4 7エイエル ウォリックシャー コヴェントリー ユニヴァーシティー
オブ ウォリック デパートメント オブ ケミストリー内
- (72)発明者 ニュートン マーク エドワード
イギリス シーヴィ4 7エイエル ウォリックシャー ウォリック ユニヴァーシティー オブ
ウォリック デパートメント オブ ケミストリー内

審査官 黒田 浩一

- (56)参考文献 特開2015-039544(JP,A)
特開2011-152324(JP,A)
特表2016-538555(JP,A)
特表2013-525758(JP,A)
特表2007-501389(JP,A)
国際公開第2016/083263(WO,A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 27/00-27/49
A61B 5/145-5/1495