

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4374464号  
(P4374464)

(45) 発行日 平成21年12月2日(2009.12.2)

(24) 登録日 平成21年9月18日(2009.9.18)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 27/30 (2006.01)	GO 1 N 27/30 B
GO 1 N 27/327 (2006.01)	GO 1 N 27/30 3 5 1
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 27/30 3 5 3 R
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 27/30 3 5 5
	GO 1 N 27/30 3 5 7
請求項の数 19 (全 14 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号 特願2006-510899 (P2006-510899)	(73) 特許権者 301021533 独立行政法人産業技術総合研究所 東京都千代田区霞が関1-3-1
(86) (22) 出願日 平成17年2月21日(2005.2.21)	
(86) 国際出願番号 PCT/JP2005/002699	(74) 代理人 100066005 弁理士 吉田 俊夫
(87) 国際公開番号 W02005/088288	(72) 発明者 後藤 正男 茨城県つくば市東1-1-1 独立行政法人産業技術総合研究所つくばセンター内
(87) 国際公開日 平成17年9月22日(2005.9.22)	
審査請求日 平成18年8月15日(2006.8.15)	(72) 発明者 小出 哲 茨城県つくば市東1-1-1 独立行政法人産業技術総合研究所つくばセンター内
(31) 優先権主張番号 特願2004-66984 (P2004-66984)	(72) 発明者 来栖 史代 茨城県つくば市東1-1-1 独立行政法人産業技術総合研究所つくばセンター内
(32) 優先日 平成16年3月10日(2004.3.10)	
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

カーボンナノチューブ、カーボンナノホーン、コクーン、カーボンナノコイル、フラーレンおよびこれらの誘導体の少なくとも一種0.1~10重量%、カーボンブラックおよびグラファイトの少なくとも一種30~60重量%、バインダー樹脂30~60重量%および有機溶剤からなるインクが電極として基板上に印刷されたバイオセンサ。

【請求項2】

さらに50重量%以下の金属粉または金属酸化物粉が添加されたインクが用いられた請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項3】

カーボンナノチューブとして、アーク放電法、化学的気相成長法またはレーザー蒸発法のいずれかの方法で製造されたものが用いられた請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項4】

カーボンナノチューブとして、多層または単層のカーボンナノチューブが用いられた請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項5】

カーボンブラックが、ファーネスブラック、サーマルブラック、チャンネルブラック、ケッチェンブラック、ガスブラック、オイルブラックおよびアセチレンブラックの少なくとも一種である請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項6】

バインダー樹脂が、熱可塑性樹脂、熱硬化性樹脂または光硬化性樹脂である請求項 1 または 2 記載のバイオセンサ。

【請求項 7】

金属粉または金属酸化物粉が、ニッケル、銅、銀、コバルト、酸化チタン、酸化亜鉛およびインジウムスズ酸化物 (ITO) の少なくとも一種である請求項 2 記載のバイオセンサ。

【請求項 8】

基板材料として、プラスチック、生分解性材料、紙、セラミックスまたはガラスが用いられた請求項 1 記載のバイオセンサ。

【請求項 9】

電極が、スクリーン印刷法により基板上に印刷された請求項 1 または 2 記載のバイオセンサ。

10

【請求項 10】

電極上および / または電極周辺の基板上に有機物質が配置された請求項 1 記載のバイオセンサ。

【請求項 11】

有機物質が、酵素、酵素のミュータント、抗体、核酸、プライマー、ペプチド核酸、核酸プローブ、アプタマー、微生物、オルガネラ、シャペロン、レセプター、細胞組織、メディエーター、挿入剤、補酵素、抗体標識物質、基質、界面活性剤、脂質、アルブミン、ナフィオン、チオール基導入試薬および共有結合試薬の少なくとも一種である請求項 10 記載のバイオセンサ。

20

【請求項 12】

有機物質が、グルコースオキシダーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、グルコースデヒドロゲナーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、アルコールオキシダーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、アルコールデヒドロゲナーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、ピルビン酸オキシダーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、フルクトシルアミンオキシダーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、コレステロールエステラーゼ、コレステロールオキシダーゼとフェリシアン化カリウムの混合物、ザルコシンオキシダーゼ、クレアチナーゼ、クレアチナーゼとフェリシアン化カリウムの混合物または酵素のミュータントとフェリシアン化カリウムの混合物である請求項 10 記載のバイオセンサ。

30

【請求項 13】

有機物質と電極または電極周辺の基板との結合法が、吸着法、共有結合法である請求項 10 記載のバイオセンサ。

【請求項 14】

電極間電圧を特定電圧に設定することにより、測定妨害物質の影響を避け、目的物質を選択的に測定できる請求項 1 記載のバイオセンサ。

【請求項 15】

電極が、あらかじめ電極端子が形成された基板の電極端子の一部上にスクリーン印刷で形成された請求項 1 または 2 記載のバイオセンサ。

【請求項 16】

電極端子の材料が、白金、パラジウム、銀、銅などの単体またはこれらが樹脂に分散されたものであり、蒸着、スパッタリング、スクリーン印刷または箔貼り付けの方法で基板上に形成された請求項 15 記載のバイオセンサ。

40

【請求項 17】

電極の面積規定が、熱硬化性または光硬化性のレジストをスクリーン印刷で形成することにより行われる請求項 15 記載のバイオセンサ。

【請求項 18】

2 つまたは 3 つの異なるセンサを同一基板上に形成した請求項 1 または 10 記載のバイオセンサであって、センサが 2 つの場合は、グルコースセンサとクレアチンセンサ、グルコースセンサとケトン体センサであり、3 つの場合は、グルコースセンサとクレアチンセ

50

ンサとケトン体センサであるバイオセンサ。

【請求項 19】

電流測定のためバイオセンサをとりつける測定器本体が、データをパソコン、携帯電話に有線または無線で送信できる機能を有する請求項 1 または 2 記載のバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、バイオセンサに関する。さらに詳しくは、触媒活性が高く、測定妨害物質に対する選択性にすぐれたセンサなどとして好適に用いられるバイオセンサに関する。

【背景技術】

【0002】

カーボンナノチューブは、電気化学的特性として、触媒活性が他の電極材料より高いことが挙げられ、これを電極として用いた場合、同一電位において、酸化電流、還元電流が大きく感度向上につながることや、測定妨害物質に対する選択性があるといった特徴がある。

【非特許文献 1】Nature, 354, 56 (1991)

【0003】

このような(バイオ)センサとしては、例えばミネラルオイルにカーボンナノチューブや酵素を配合し、他の電極の先端につけるといったものがあるが、これはあくまで実験的な製法すぎず、生産性、経済性、利便性に問題があった。

【非特許文献 2】Bioelectrochem. Bioenerg. 41, 121 (1996)

【非特許文献 3】Electroanalysis 14, 1609 (2002)

【非特許文献 4】J. Am. Chem. Soc. 125, 2408 (2003)

【非特許文献 5】Ana. Chem. 75, 2075 (2003)

【非特許文献 6】Electrochem. Commun. 5, 689 (2003)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明の目的は、触媒活性の高いカーボンナノチューブなどのナノカーボン材料を用いて、測定妨害物質に対する選択性にすぐれるとともに、生産性、経済性、利便性にもすぐれたバイオセンサなどとして好適に用いられるセンサを提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0005】

かかる本発明の目的は、カーボンナノチューブ、カーボンナノホーン、コクーン、カーボンナノコイル、フラーレンおよびこれらの誘導体の少なくとも一種0.1~10重量%、カーボンブラックおよびグラファイトの少なくとも一種30~60重量%、バインダー樹脂30~60重量%、有機溶剤および好ましくはさらに金属粉が添加されたインクが電極として基板上に印刷されたバイオセンサによって達成される。

【発明の効果】

【0006】

カーボンナノチューブ、カーボンナノホーン、コクーン、カーボンナノコイル、フラーレン、これらの誘導体またはこれらの混合物とカーボンと樹脂などで構成された電極を基板上に印刷することにより、従来法に比べ、生産性、経済性、利便性に優れたバイオセンサが提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0007】

電極の基板上への印刷に用いられるインクは、カーボンナノチューブ、カーボンナノホーン、コクーン、カーボンナノコイル、フラーレン、これらの誘導体またはこれらの混合物、カーボンブラックおよびグラファイトの少なくとも一種が用いられるカーボン、バインダー樹脂および有機溶剤を混合することにより調製することができる。

10

20

30

40

50

## 【0008】

カーボンナノチューブ、カーボンナノホーン、コクーン、カーボンナノコイル、フラーレンなどのいわゆるナノカーボンは、グラファイトやダイヤモンドなどと同様に炭素の同素体である。この内、カーボンナノチューブはアーク放電法、化学的気相成長法またはレーザー蒸発法などにより製造されたものが用いられ、構造的には多層または単層のいずれのものも用いられる。

## 【0009】

このようなナノカーボンは、電極形成成分中0.1~10重量%、好ましくは1~7重量%の割合で用いられる。ナノカーボンがこれより少ない割合で用いられると、ナノカーボンに起因する特性である優れた選択性等が発現しないことがあり、一方これより多い割合で用いられると、インク製作の段階で凝集を起こしやすくなり、電極製作が困難となるようになる。

10

## 【0010】

カーボンとしては、カーボンブラックおよびグラファイトの少なくとも一種が用いられる。カーボンブラックとしては、製法別ではファーネスブラック、サーマルブラック、チャンネルブラック、ケッチェンブラックなどが、また原料別ではガスブラック、オイルブラック、アセチレンブラックなどの少なくとも一種が用いられ、好ましくはファーネスブラック、サーマルブラック、ケッチェンブラック、アセチレンブラックが用いられる。

## 【0011】

このようなカーボンは、電極形成成分中30~60重量%、好ましくは40~50重量%の割合で用いられる。カーボンがこれより少ない割合で用いられると、電極は導電性を発揮することができない場合があり、一方これより多い割合で用いられると、電極がもろく、基板との密着性が低くなる。カーボンは、さらにカーボンブラックとグラファイトで構成させることもできるが、その配合比は重量比で、カーボンブラックはグラファイトに対して約0.2~2倍の重量比で用いられることが好ましい。また、カーボンは、ナノカーボンに対して約3~600倍の重量比で用いられることが好ましい。

20

## 【0012】

バインダー樹脂としては、熱可塑性樹脂、熱硬化性樹脂、光硬化性樹脂などが用いられ、例えばナフィオン、ポリカーボネート、ポリアクリロニトリル、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリブテン、ポリエーテル、ポリエステル、ポリスチレン、ポリ-p-キシレン、ポリ酢酸ビニル、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリビニルエーテル、ポリビニルケトン、ポリアミド、ブタジエン系樹脂、フッ素系樹脂などの熱可塑性エラストマーを含む熱可塑性樹脂、ポリウレタン系樹脂、尿素樹脂、メラミン樹脂、フタル酸樹脂、フェノール樹脂、フラン樹脂、アニリン樹脂、不飽和ポリエステル樹脂、キシレン・ホルムアルデヒド樹脂、エポキシ樹脂などの熱硬化性樹脂、エポキシアクリレート系、アクリルエポキシカチオン重合系、感光性ポリイミドなどの光硬化性樹脂の少なくとも一種、好ましくは上記各種ビニル樹脂、フェノール樹脂、ナフィオン、ポリアミド、ポリエチレン、ポリプロピレン、フタル酸樹脂、エポキシ樹脂などが用いられる。

30

## 【0013】

このようなバインダー樹脂は、電極形成成分中30~60重量%、好ましくは40~50重量%の割合で用いられる。樹脂がこれより少ない割合で用いられると、電極がもろくなり、また基板との密着性が低くなるようになり、一方これより多い割合で用いられると、導電性を有しなくなる。

40

## 【0014】

以上の必須成分に加えて、導電性を改善すべくさらに金属粉または金属酸化物粉を加えることができる。金属粉または金属酸化物粉としては、一般に粒径が約0.01~0.5 $\mu\text{m}$ 、好ましくは約0.02~0.3 $\mu\text{m}$ 程度のニッケル、銅、銀、コバルト、酸化チタン、酸化亜鉛、インジウムスズ酸化物(ITO)などの粉末が用いられる。これらの金属粉または金属酸化物粉は、導電性を改善するばかりでなく、ニッケル、銅、銀、コバルトなどは核酸、タンパク

50

質、アミノ酸、アルコールなどに対して反応するので、この添加により、核酸、タンパク質、アミノ酸、アルコールセンサへの応用が可能となる。

【0015】

このような金属粉または金属酸化物粉は、電極形成成分中50重量%以下、好ましくは5~20重量%の割合で用いられる。金属粉または金属酸化物粉がこれより多い割合で用いられると、電極がもろく、基板との密着性が低くなるようになる。

【0016】

以上の各成分を溶解する溶剤としては、イソホロン、ブチルカルピトール、ブチルカルピトールアセテート、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、シクロヘキサノン、メチルシクロヘキサノン、ニトロプロパン、ミネラルスピリット、ベンゼン、キシレン、トルエン、ソルベントナフサ、ナフテン系溶剤、メタノール、エタノール、ブタノール、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸ブチル、酢酸オクチル、酢酸ベンジル、酢酸シクロヘキシル、テレピン油、ジメチルエーテル、エチレン-またはジエチレン-グリコールモノ-またはジ-エチルエーテル、エチレン-またはジエチレン-グリコールモノ-またはジ-メチルエーテル、エチレン-またはジエチレン-グリコールモノ-またはジ-ブチルエーテル、ジオキサン、ジメチレンクロライド、トリクロロエチレンまたは水などの少なくとも一種が用いられる。

【0017】

これらの溶剤は、インク中30~60重量%、好ましくは40~50重量%の割合で用いられる。溶剤がこれより少ない割合で用いられると、粘度が高く印刷しにくくなり、一方これより多い割合で用いられると、印刷の精度が悪くなるようになる。

【0018】

以上の各成分の混合に際しては、一般の混合機、例えば攪拌翼を有する混合機などが用いられ、インクの粘度が高いときには3本ロールなどが、またインクの粘度が低いときにはボールミルなどを使用することができる。各成分の配合順序は任意である。

【0019】

得られたインクは、ろ過された後ポリエチレンテレフタレートなどのプラスチック、ポリ乳酸などの生分解性材料、紙、セラミックス、ガラスなどの基板上にスクリーン印刷され、その後100~200のオープン中で加熱され、溶剤を揮発させて電極を形成する。

【0020】

電極は、バインダーである樹脂中にナノカーボンとカーボンとが分散していることにより、ナノカーボンの特性である導電性などが発現する。ナノカーボンの特性の発現は、ナノカーボン同志の接触、ナノカーボンとカーボンとの接触、カーボン同志の接触、トンネル効果などにより得られる。

【0021】

また、電極はあらかじめ電極端子が形成された基板の電極端子の一方の端部上に印刷して形成することも可能である。この場合、電極端子の材料を選ぶことにより、電流を取り出す端子部分の抵抗を制御できる利点がある。材料としては、白金、パラジウム、銀、銅などの単体またはこれらが樹脂などに分散されたものであり、これらは蒸着、スパッタリング、スクリーン印刷、箔貼り付けなどの方法で基板上に形成できる。

【0022】

センサとしては、作用極と対極の2極またはこれに参照極を加えた3極の電極のものが用いられ、好ましくはセンサを小型化する観点からは2極のものが、また測定精度の信頼性を高める観点からは、銀塩化銀などの参照極を加えた3極のものが用いられる。さらにこれらをバイオセンサとして用いる場合には、これらの電極に加えて、酵素などの有機物質層が形成されたものが用いられる。なお、電極の大きさ、配置は特に限定されない。電極の面積規定は、熱硬化性または光硬化性のレジストをスクリーン印刷で形成するのが好ましい。

【0023】

また、2つのセンサを同一基板上に形成することもできる。例えば、グルコースセンサ

10

20

30

40

50

とクレアチニンセンサ、グルコースセンサとケトン体センサ、さらに3つのセンサを同一基板上に形成することもできる。例えば、グルコースセンサとクレアチニンセンサとケトン体センサなどである。

【0024】

本発明のセンサを用いた測定法としては、酸化電流もしくは還元電流を測定するポテンシャルステップクロノアンペロメトリーまたはクーロメトリー、サイクリックボルタンメトリー法などが用いられる。測定方式としては、デスポーザブル(使い捨て)方式が望ましいが、他にFIA(Flow Injection Analysis)方式やバッチ方式でもよい。

【0025】

測定に際しては、電極間電圧を特定の電圧に設定することにより、測定妨害物質の影響を避け、目的物質を選択的に測定することができる。例えば、血液中、尿中の糖(グルコース)を測定する場合には、電極に電圧をかけて測定するが、電圧により過酸化水素だけでなく、アスコルビン酸、尿酸、アセトアミノフェンなども電極反応してしまうが、カーボンナノチューブを配合した電極は電圧を選択することにより(ここでは特定電圧という)、過酸化水素にのみ電極反応し、これらの夾雑物質にそれほど電極反応しない状態を設定でき、選択性にすぐれた(バイオ)センサを形成できる。このような特定電圧は、測定物質によって異なる。

【0026】

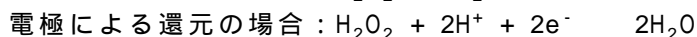
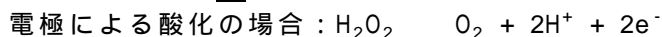
ここで、電極のみから構成されるセンサを用いた場合には、過酸化水素、NADH、尿酸、ドーパミンなどの神経伝達物質、モノアミン、アルコール、金属イオン、遺伝子損傷マーカーである8-ヒドロキシデオキシグアノシンなどの核酸(特許文献1参照)、たんぱく質(特許文献2参照)、脂質、炭水化物またはそれらの誘導体などを検出できる。

【特許文献1】特開2001-258597号公報

【特許文献2】USP 5653864

【0027】

例えば、過酸化水素は、次式の電極反応に従って酸化または還元された電流を測定することにより、その濃度が電気化学的に測定可能となる。



【0028】

また、電極と共に酵素などの有機物質層から構成されるセンサを用いた場合には、グルコース、エタノール、乳酸、ピルビン酸、コレステロール、クレアチニン、ヘモグロビンエーワンシー、ケトン体(β-ヒドロキシ酪酸、β-OHD)などの検出が可能となる。

【0029】

ここで有機物質としては、測定物質に対応した酵素、酵素のミュータント、抗体、核酸、プライマー、ペプチド核酸、核酸プローブ、アプタマー、微生物、オルガネラ、シャペロン、レセプター、細胞組織、クラウンエーテル、フェリシアン化カリウムなどのメディエーター、挿入剤、補酵素、抗体標識物質、基質、界面活性剤、脂質、アルブミン、ナフィオン、チオールなどの官能基導入試薬および共有結合試薬の少なくとも一種が用いられる。例えば、特許文献3に示されるようにDNAチップを作成する場合、核酸プローブやアクリジンオレンジなどのインターカラー(挿入剤)、トリス(フェナントロリン)コバルト錯体などのメタロインターカラーなどを用いることができる。

【特許文献3】特開平5-199898号公報

【0030】

有機物質層は、有機物質を水溶液または有機溶剤溶液としてデスペンサーなどにより滴下する方法や有機物質を有機溶剤溶液としてスクリーン印刷法により印刷する方法により、電極上および/または電極周辺の基板上または電極と基板に接触するように形成される。形成された有機物質層は、形成後に乾燥処理を行うことが好ましい。

【0031】

酵素としては、オキシダーゼ、デヒドロゲナーゼなどの酵素、例えばグルコースオキシ

10

20

30

40

50

ダーゼ、乳酸オキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、ザルコシンオキシダーゼ、フルクトシルアミンオキシダーゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ、ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼが挙げられ、この他にコレステロールエステラーゼ、クレアチナーゼ、クレアチナーゼ、DNAポリメラーゼ、さらにこれら酵素のミュータントなどが用いられる。

【0032】

特許文献4～6に示される如く、酵素センサでは、検体の測定対象によって分子識別素子としての酵素の種類を変えることが必要である。例えば、測定対象がグルコースの場合にはグルコースオキシターゼまたはグルコースデヒドロゲナーゼが、測定対象がエタノールの場合にはアルコールオキシターゼまたはアルコールデヒドロゲナーゼが、測定対象が乳酸の場合には乳酸オキシターゼが、測定対象が総コレステロールなどの場合にはコレステロールエステラーゼとコレステロールオキシダーゼの混合物などが用いられる。

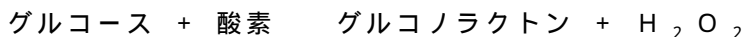
【特許文献4】USP 6071391

【特許文献5】USP 6156173

【特許文献6】USP 6503381

【0033】

例えば、下記式に示す如く、グルコースオキシダーゼ(GOD)が触媒する反応を用いてグルコースを測定する場合には、発生した過酸化水素を、電極のみから構成されるセンサを用いた場合と同様に、酸化または還元された電流を測定することにより、その濃度が電気化学的に測定可能となり、これにより間接的にグルコース濃度を測定することができる。

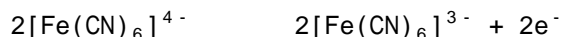


【0034】

このようなセンサにおいて、反応が溶存酸素濃度に律速され、低濃度の試料しか測定できない場合、検出範囲の拡大を目的として酵素とともに電子伝達体(メディエーター)が使用される。メディエーターにはフェリシアン化カリウム、フェロセン、フェロセン誘導体、ベンゾキノン、キノン誘導体、オスミウム錯体などが用いられる。

【0035】

例えば、グルコースを測定する場合、グルコースオキシダーゼやグルコースデヒドロゲナーゼなどの酵素のいずれかと、フェリシアン化カリウムを用いる。酵素により還元されたフェリシアンイオンは、以下の式のようにさらに電極によりフェロシアンイオンに酸化され、このときの電流値を測定することにより、間接的にグルコースを測定することができる。



【0036】

これらのセンサをとりつける測定器本体は、データをパーソナルコンピュータ、携帯電話などに有線または無線で送信できる機能を有することが好ましい。例えば、医療・健康関係のバイオセンサの場合、データをグラフ化して自己管理したり、また病院、かかりつけの医者に送信して、データをもとにした相談などができる利点がある。

【実施例】

【0037】

次に、実施例について本発明を説明する。

【0038】

実施例1

ノボラック型フェノール樹脂(CAS No.9003-35-4)28gおよびビニル樹脂(CAS No.70775-95-0)2gを、イソホロン9g、ブチルカルビトール13gおよびブチルカルビトールアセテート21gからなる溶剤にミキサーを用いて混合・攪拌し、得られた混合物に、ファーネスブラック9gおよびグラファイト18gを混合した。以上の混合物の固形分重量は57g、混合物全量は100gであった。さらに、この混合物に多層カーボンナノチューブ0.75gを混合して、印刷用インクを得た。得られた印刷用インクのインク性状は正常であり、インク中の溶剤は42

10

20

30

40

50

.7重量%、また電極形成成分中の樹脂分は52重量%、カーボンは46.7重量%およびナノカーボンは1.3重量%であった。

【0039】

このインクを、厚さ188 $\mu$ mのPET(ポリエチレンテレフタレート)シート上にスクリーン印刷し、150 で30分間乾燥し、電極を形成した。目視による電極性状は正常であった。この電極について、膜厚と抵抗を測定したところ、それぞれ12 $\mu$ m、40.7K であった。なお、抵抗の測定には、膜厚10 $\mu$ mで規格化したものが用いられ、幅1mm、長さ1mに印刷した塗膜の両端2点間の抵抗をテスターを用いて測定した。

【0040】

実施例2

実施例1において、多層カーボンナノチューブ量が3.75gに変更されて用いられた。得られた印刷用インクのインク性状は正常であり、インク中の溶剤は41.5重量%で、また電極形成成分中の樹脂分は49.4重量%、カーボンは44.4重量%およびナノカーボンは6.2重量%であった。

【0041】

このインクを用いて、実施例1と同様に電極を形成し、膜厚と抵抗を測定した。目視による電極性状は正常であり、また膜厚と抵抗はそれぞれ10 $\mu$ m、39.8K であった。

【0042】

比較例1

実施例1において、多層カーボンナノチューブ量が7.5gに変更されて用いられた。得られた印刷用インクのインク性状には凝集がみられ、インク中の溶剤は40重量%で、また電極形成成分中の樹脂分は46.5重量%、カーボンは41.9重量%およびナノカーボンは11.6重量%であった。

【0043】

このインクを用いて、実施例1と同様に電極を形成し、膜厚と抵抗を測定した。目視による電極性状は粗密混在であり、また膜厚と抵抗はそれぞれ17 $\mu$ m、98.7K であった。

【0044】

実施例3

実施例1において、多層カーボンナノチューブの代わりに、カーボンナノホーン0.75gが用いられた。得られた印刷用インクのインク性状は正常であり、インク中の溶剤は42.7重量%で、また電極形成成分中の樹脂分は52重量%、カーボンは46.7重量%およびナノカーボンは1.3重量%であった。

【0045】

このインクを用いて、実施例1と同様に電極を形成し、膜厚と抵抗を測定した。目視による電極性状は正常であり、また膜厚と抵抗はそれぞれ14 $\mu$ m、51.3K であった。

【0046】

実施例4

実施例1において、多層カーボンナノチューブの代わりに、フラレンC<sub>60</sub>が0.54g用いられた。得られた印刷用インクのインク性状は正常であり、インク中の溶剤は42.8重量%で、また電極形成成分中の樹脂分は52.1重量%、カーボンは47重量%およびナノカーボンは0.9重量%であった。

【0047】

このインクを用いて、実施例1と同様に電極を形成し、膜厚と抵抗を測定した。目視による電極性状は正常であり、また膜厚と抵抗はそれぞれ19 $\mu$ m、72.2K であった。

【0048】

比較例1の結果に示されるように、カーボンナノチューブを7.5g(固形分中11.6重量%)配合したものはインクに一部凝集がみられ、電極性状も塗膜に粗密がみられ、均一ではなかった。一方、実施例1~4の結果に示されるように、0.1~10重量%、好ましくは1~7重量%のカーボンナノチューブ、カーボンナノホーンおよびフラレン(C<sub>60</sub>)を用いたものは、いずれもインク性状、電極性状ともに良好であった。

10

20

30

40

50



## 【0049】

## 実施例 5

実施例 1 において、多層カーボンナノチューブ量が1.7gに変更されて用いられた。得られた印刷用インクのインク性状は正常であり、インク中の溶剤は42.3重量%で、また電極形成成分中の樹脂分は51.1重量%、カーボンは46重量%およびナノカーボンは2.9重量%であった。

## 【0050】

このインクを用いて、実施例 1 と同様に電極を形成し、膜厚と抵抗を測定した。目視による電極性状は正常であり、また膜厚と抵抗はそれぞれ9  $\mu\text{m}$ 、924 であった。

## 【0051】

## 比較例 2

実施例 1 において、多層カーボンナノチューブが用いられなかった。得られた印刷用インクのインク性状は正常であり、インク中の溶剤は43重量%で、また電極形成成分中の樹脂分は52.6重量%およびカーボンは47.4重量%であった。

## 【0052】

このインクを用いて、実施例 1 と同様に電極を形成し、膜厚と抵抗を測定した。目視による電極性状は正常であり、また膜厚と抵抗はそれぞれ12  $\mu\text{m}$ 、1247 であった。

## 【0053】

実施例 5 および比較例 2 の結果に示されるように、カーボンナノチューブを配合していない塗膜に比べ、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは、抵抗値が26%低下し、導電性に改善がみられた。

## 【0054】

## 実施例 6

実施例 5 で用いられたインクを、厚さ188  $\mu\text{m}$ のPETシートにスクリーン印刷し、150 で30分間乾燥して2極の電極(作用極および対極)を形成したものをを用いて、これらの電極の過酸化水素に対する応答を測定した。測定は、pH7.4のリン酸緩衝液に溶解した50mM過酸化水素3  $\mu\text{l}$ を電極上に滴下し、20秒静置した後(静置電圧0V)、電極間には-1.2V~1.2Vの電圧を10秒間かけ、測定電圧印加後10秒後の24 における電流値を測定するというポテンシャルステップクロアンプメトリー法により行われた。

## 【0055】

測定に供した電極は、使い捨てタイプのものであり、以下の各実施例、比較例の電極も使い捨てタイプのものである。すなわち、データの一点一点をとるのに使用したセンサは、すべて異なったものである。

## 【0056】

## 比較例 3

実施例 6 において、実施例 5 で用いられたインクの代わりに、比較例 2 で用いられたインクが用いられた。

## 【0057】

実施例 6 ( ) および比較例 3 ( ) で得られた結果は、図 1 のグラフに示される。図 1 のグラフに示される如く、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは、カーボンナノチューブを配合していないものと比べて、-0.8Vから0.8Vの範囲で同一電圧での電流の発生の程度が高く、特に-0.4V以下、0.4V以上での過酸化水素に対する電極の触媒活性が高いことが示された。両端の電流の急速な立ち上がりは水の電気分解によるものと考えられる。

## 【0058】

## 参考例 1

実施例 6 において、pH7.4のリン酸緩衝液に溶解した50mM過酸化水素の代わりに、pH7.4のリン酸緩衝液が同量用いられた。

## 【0059】

## 参考例 2

10

20

30

40

50

比較例 3 において、pH7.4のリン酸緩衝液に溶解した50mM過酸化水素の代わりに、pH7.4のリン酸緩衝液が同量用いられた。

【 0 0 6 0 】

参考例 1 ( ) および 2 ( ) で得られた結果は、図 2 のグラフに示される。この図 2 のグラフの結果から、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは、カーボンナノチューブを配合していないものに比べて、広い電圧領域でベース電流が安定していて、電位窓が広いと言える。また、実施例 6 で得られた測定値より、参考例 1 で得られた測定値をマイナスした値 ( ) および比較例 3 で得られた測定値より、参考例 2 で得られた測定値をマイナスした値 ( ) は、図 3 のグラフに示される。図 3 に示された結果は、緩衝液によるベース電流の影響を除いて、過酸化水素に起因する電流を正確にみようとされたものである。図 3 のグラフに示される如く、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは、カーボンナノチューブを配合していないものに比べて、特に-0.4V以下、0.4V以上での過酸化水素に対する電極の触媒活性が高いことが示される。

10

【 0 0 6 1 】

実施例 7

実施例 5 で用いられたインクを、厚さ188 μmのPETシートにスクリーン印刷し、150 で30分間乾燥して2極の電極(作用極および対極)を形成したものをを用いて、これらの電極の過酸化水素センサとしての過酸化水素に対する応答を測定した。測定は、pH7.4のリン酸緩衝液に溶解した所定濃度の過酸化水素3 μlを電極上に滴下し、20秒静置した後(静置電圧0V)、電極間には0.6Vの電圧を10秒間かけ、測定電圧印加後10秒後の23 における電流値を測定するというポテンシャルステップクロアンペロメトリー法により行われた。

20

【 0 0 6 2 】

比較例 4

実施例 7 において、実施例 5 で用いられたインクの代わりに、比較例 2 で用いられたインクが用いられた。

【 0 0 6 3 】

実施例 7 ( ) および比較例 4 ( ) で得られた結果は、図 4 のグラフに示される。

【 0 0 6 4 】

実施例 8

実施例 7 において、測定電圧を-0.6Vに変更し、電流値の測定が行われた。

30

【 0 0 6 5 】

比較例 5

比較例 4 において、測定電圧を-0.6Vに変更し、電流値の測定が行われた。

【 0 0 6 6 】

実施例 8 ( ) および比較例 5 ( ) で得られた結果は、図 5 のグラフに示される。

【 0 0 6 7 】

実施例 7 ~ 8 および比較例 4 ~ 5 の結果より、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは、酸化電流、還元電流ともに30mM付近まで検量性を示したのに対して、カーボンナノチューブを配合していないものは、酸化電流、還元電流ともに検量性を示さないことが確認された。

40

【 0 0 6 8 】

実施例 9

実施例 5 で用いられたインクを、厚さ188 μmのPETシートにスクリーン印刷し、150 で30分間乾燥して形成した2極の電極(作用極および対極)上に、さらにグルコースオキシダーゼ(シグマ社製品G7016)1650ユニットおよび蒸留水0.25mlからなるドープ液を1.0 μl滴下し、室温で24時間乾燥することにより有機物質層を形成し、グルコースバイオセンサを作製した。

【 0 0 6 9 】

pH7.4の50mMリン酸緩衝液に溶解した所定濃度のグルコース3 μlを上記有機物質層上に滴下し、80秒静置した後(静置電圧0V)、測定電圧印加後10秒後の24 、測定電圧0.6Vにお

50

ける電流値を測定し、グルコースバイオセンサとしての特性を評価した。

【0070】

比較例6

実施例9において、実施例5で用いられたインクの代わりに、比較例2で用いられたインクが用いられた。

【0071】

実施例9( )および比較例6( )で得られた結果は、図6のグラフに示される。

【0072】

実施例10

実施例9において、測定電圧を-0.6Vに変更し、電流値の測定が行われた。

10

【0073】

比較例7

比較例6において、測定電圧を-0.6Vに変更し、電流値の測定が行われた。

【0074】

実施例10( )および比較例7( )で得られた結果は、図7のグラフに示される。

【0075】

実施例9～10および比較例6～7の結果より、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは、酸化電流、還元電流ともにグルコース濃度400mg/dl付近まで検量性を示したのに対して、カーボンナノチューブを配合していないものは、酸化電流、還元電流ともに検量性を示さないことが確認された。

20

【0076】

実施例11

実施例10において、グルコースの代わりに0.2mMアスコルビン酸を用いて電流値の測定を行ったところ、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは、-2.6nAであるのに対し、カーボンナノチューブを配合していないものは、-13.0nAであった。

【0077】

100mg/dlグルコースの出力は、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは-1.3nAであるのに対し、カーボンナノチューブを配合していないものは-3.0nAであった。選択性を、グルコース出力をアスコルビン酸出力で除したものと定義すると、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものは0.5であり、カーボンナノチューブを配合していないものは0.23である。このことから、カーボンナノチューブを2.9重量%配合したものの選択性は、カーボンナノチューブを配合していないものに比べ2倍近く良好であり、電圧を適宜選ぶことにより、選択性を改善できる可能性があることが示された。

30

【産業上の利用可能性】

【0078】

カーボンナノチューブ、カーボンナノホーン、コクーン、カーボンナノコイル、フラーレン、これらの誘導体またはこれらの混合物とカーボンと樹脂などが電極材料として用いられたセンサは、各種溶液中の成分濃度を電気化学的に測定するセンサ、例えばタンパク質の機能、構造解明に用いるプロテインチップ、脳の機能解明に用いる神経伝達物質センサ、環境管理のための水質検査などに用いられるセンサとして用いられる。あるいは、酵素などを利用して電気化学的に測定する家庭内自己診断用の血糖センサ、尿糖センサ、コレステロールセンサ、クレアチニンセンサ、ケトン体センサ、ヘモグロビンエーワンシーセンサ、エタノールセンサ、乳酸センサ、ピルビン酸センサ、DNAチップなどとして用いられる。

40

【図面の簡単な説明】

【0079】

【図1】本発明のバイオセンサの緩衝液に溶解した過酸化水素に対する電圧依存性を調べたグラフである

【図2】本発明のバイオセンサの緩衝液に対する電圧依存性を調べたグラフである

【図3】本発明のバイオセンサの過酸化水素に対する電圧依存性を調べたグラフである

50

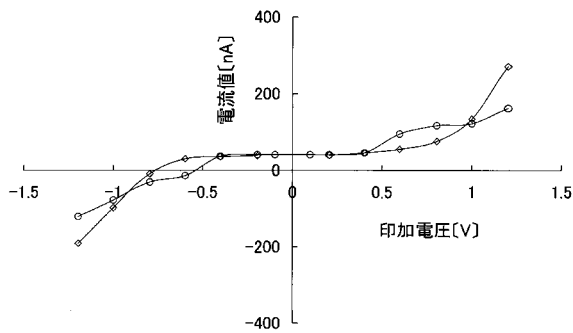
【図4】本発明のバイオセンサの0.6V電圧下における過酸化水素に対する応答性を調べたグラフである

【図5】本発明のバイオセンサの-0.6V電圧下における過酸化水素に対する応答性を調べたグラフである

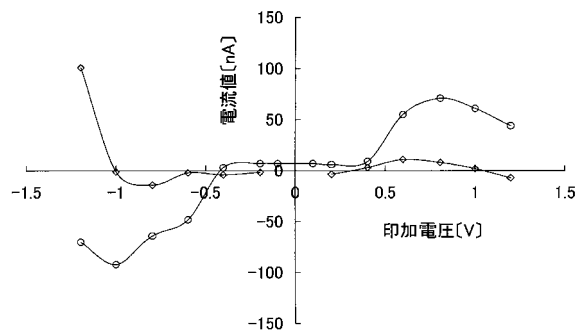
【図6】本発明のバイオセンサの0.6V電圧下におけるグルコースに対する応答性を調べたグラフである

【図7】本発明のバイオセンサの-0.6V電圧下におけるグルコースに対する応答性を調べたグラフである

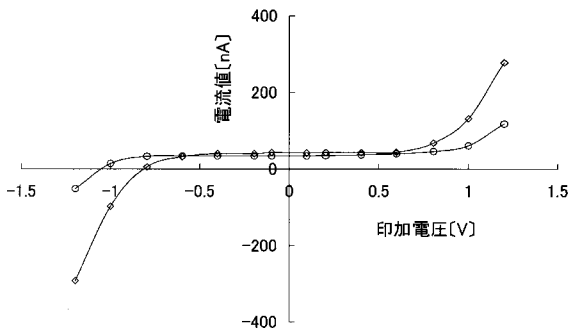
【図1】



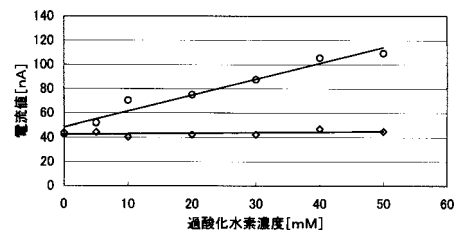
【図3】



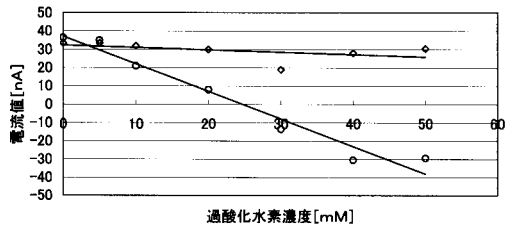
【図2】



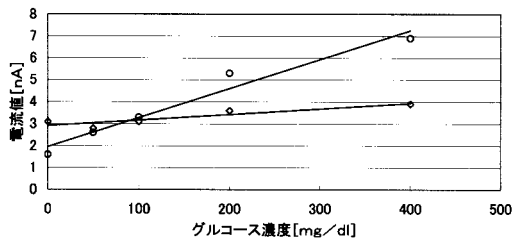
【図4】



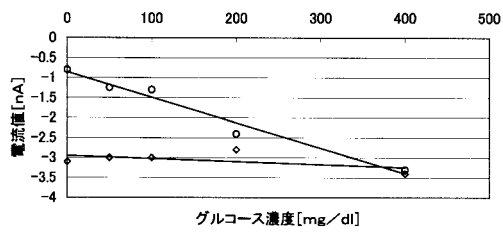
【図5】



【図6】



【図7】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
G 0 1 N 37/00 1 0 1  
G 0 1 N 37/00 1 0 2  
G 0 1 N 33/53 M

(72)発明者 中村 秀明  
茨城県つくば市東 1 - 1 - 1 独立行政法人産業技術総合研究所つくばセンター内

(72)発明者 軽部 征夫  
茨城県つくば市東 1 - 1 - 1 独立行政法人産業技術総合研究所つくばセンター内

審査官 黒田 浩一

(56)参考文献 特開平 1 1 - 1 4 0 3 4 2 ( J P , A )  
特開 2 0 0 3 - 3 3 2 7 1 4 ( J P , A )  
特開 2 0 0 0 - 2 7 5 2 0 8 ( J P , A )  
特開 2 0 0 4 - 3 6 2 8 7 5 ( J P , A )  
国際公開第 0 1 / 0 2 5 7 7 6 ( W O , A 1 )

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N 27/30  
G01N 27/327  
G01N 33/53  
G01N 37/00  
JSTPlus(JDreamII)