

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

**特表2017-501713**

**(P2017-501713A)**

(43) 公表日 **平成29年1月19日(2017.1.19)**

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 11/02 (2006.01)</b>	C 1 2 N 11/02	4 B 0 3 3
<b>A 6 1 B 5/1468 (2006.01)</b>	A 6 1 B 5/14 3 3 0	4 C 0 3 8

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2016-541567 (P2016-541567)	(71) 出願人	516035068
(86) (22) 出願日	平成26年12月18日 (2014.12.18)		ヴェリリー ライフ サイエンス エル
(85) 翻訳文提出日	平成28年8月17日 (2016.8.17)		エルシー
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/071170		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
(87) 国際公開番号	W02015/100131		043 マウンテン ビュー アンフィシ
(87) 国際公開日	平成27年7月2日 (2015.7.2)		アター パークウェイ 1600
(31) 優先権主張番号	14/138,379	(74) 代理人	100079108
(32) 優先日	平成25年12月23日 (2013.12.23)		弁理士 稲葉 良幸
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100126480
			弁理士 佐藤 睦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 エチレンオキシド耐性 ( i m m u n i t y ) を有する分析物センサ

(57) 【要約】

エチレンオキシドを使用した滅菌に耐えることができる分析物センサが提供される。分析物センサは、求核基を有する1つ以上の高分子膜を備え得る。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

求核基を有する高分子膜と、  
前記高分子膜内に埋め込まれた分析物感知成分と、を備え、  
前記求核基は、エチレンオキシドと化学反応することができる、  
分析物センサ。

## 【請求項 2】

前記分析物感知成分は、グルコースオキシダーゼである、請求項 1 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 3】

前記高分子膜は、1つ以上の電極と接触している、請求項 1 に記載の分析物センサ。

10

## 【請求項 4】

前記求核基はヘテロ原子を含む、請求項 1 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 5】

前記求核基はアルコールである、請求項 1 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 6】

前記求核基はピリジニル基である、請求項 1 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 7】

前記求核基は負に帯電している、請求項 1 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 8】

前記求核基はカルボン酸塩である、請求項 7 に記載の分析物センサ。

20

## 【請求項 9】

前記求核基はスルホン酸塩である、請求項 7 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 10】

前記高分子膜は、ビニルピリジン由来のユニットを含む、請求項 1 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 11】

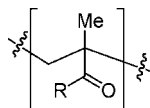
前記高分子膜は、求核基を有する(メタ)アクリレート由来のユニットを含む、請求項 1 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 12】

前記(メタ)アクリレート由来のユニットは、式(II)の構造を有し、

30

## 【化 1】



(II)

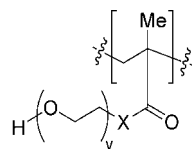
ここで、Rは、1つ以上の求核基を有する親水基である、請求項 11 に記載の分析物センサ。

## 【請求項 13】

前記(メタ)アクリレート由来のユニットは、式(IIa)の構造を有し、

40

## 【化 2】



(IIa)

ここで、Xは、-O-、-NR'-、または-S-であり、

yは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり、

50

ここで、R' は、水素または - C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキルである、  
請求項 11 に記載の分析物センサ。

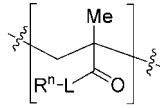
【請求項 14】

前記(メタ)アクリレート由来のユニットは、2-ヒドロキシエチルメタクリレート由来である、請求項 13 に記載の分析物センサ。

【請求項 15】

前記(メタ)アクリレート由来のユニットは、式(III)の構造を有し、

【化 3】



(III)

10

ここで、L は、結合、C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> アルキル、- Y - C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> アルキル、または親水基であり、

R<sup>n</sup> は、負に帯電した基であり、

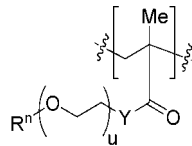
ここで、Y は、- O -、- NR' -、または - S - であり、R' は、水素または - C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキルである、

請求項 11 に記載の分析物センサ。

【請求項 16】

前記(メタ)アクリレート由来のユニットは、式(IIIa)の構造を有し、

【化 4】



(IIIa)

20

Y は、- O -、- NR' -、または - S - であり、

R<sup>n</sup> は、負に帯電した基であり、

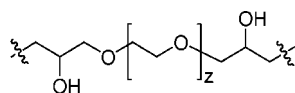
u は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 であり

ここで、R' は、水素または - C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキルである、  
請求項 15 に記載の分析物センサ。

【請求項 17】

前記高分子膜は、式(IV)の架橋を有し、

【化 5】



(IV)

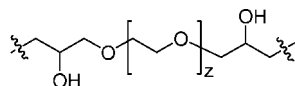
40

ここで、z は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である、  
請求項 1 に記載の分析物センサ。

【請求項 18】

前記高分子膜は、式(IV)の架橋を有し、

【化 6】



(IV)

50

ここで、zは、約5～約20の平均値である、  
請求項1に記載の分析物センサ。

【請求項19】

分析物センサを滅菌するための方法であって、  
前記分析物センサをエチレンオキシドに接触させることを含み、  
前記分析物センサは、  
求核基を有する高分子膜と、  
前記高分子膜内に埋め込まれた分析物感知成分と、を備える、  
方法。

10

【請求項20】

1つ以上の求核基を有する高分子膜と、  
前記高分子膜内に埋め込まれた分析物感知成分と、を備え、  
前記求核基の少なくとも一部分は、エチレンオキシドと化学反応している、  
分析物センサ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[関連出願の相互参照]

20

[0001] 本出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、2013年12月23日に出願の米国特許出願第14/138,379号の優先権を主張する。

【背景技術】

【0002】

[0002] 本章に記載される内容は、特段の記載がない限り、本出願の請求の範囲に対する従来技術ではなく、本章に含まれることにより従来技術と認められるものではない。

【0003】

[0003] 生理学的パラメータを連続的または半連続的に監視することは、現代医学の多くの分野で応用されている。一体化された電子コンポーネントと共に酵素を採用する電気化学式分析物センサを使用すると、液体試料内の分析物を定量化することができる。医療デバイスは、使用中に、患者が感染症および他の有害な細菌に曝されることを防止するために、滅菌される。典型的な滅菌技術は、電子コンポーネントまたは酵素のいずれかを損傷させることになるため、一部の分析物に対して使用することができない。

30

【発明の概要】

【0004】

[0004] 一態様において、エチレンオキシドを使用した滅菌に耐え得る分析物センサが開示される。分析物センサは、求核基を有する1つ以上の高分子膜を備え得る。求核基は、エチレンオキシドと化学反応をするのに十分な求核性を有する基であり得る。これは、酸素、硫黄、窒素等のヘテロ原子であり、アルコール、チオール、アミン等の官能基の一部を成し得る。いくつかの態様において、求核基は、ビニルピリジン由来の高分子サブユニット内の窒素原子である。他の態様では、求核基は、2-ヒドロキシエチルアクリレートまたは2-ヒドロキシエチルメタクリレート等の(メタ)アクリレート由来の高分子サブユニット内の酸素原子である。いくつかの態様において、求核基は、カルボン酸塩またはスルホン酸塩等の高分子サブユニット内の負に帯電した基である。また、本明細書に記載される分析物センサのエチレンオキシド滅菌方法も開示される。

40

【0005】

[0005] これらの態様、ならびに、他の態様、効果、および代替物は、以下の詳細な説明を読み、必要に応じて添付の図面を参照することにより、当業者に明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

50

## 【 0 0 0 6 】

[0006]

【図1】図1は、エチレンオキシド（E t O）を用いて、37 で6時間、750 mg / Lの濃度で滅菌したグルコースセンサ（グループ1）と、滅菌していないグルコースセンサ（グループ2）とによって生成された電流を比較するグラフである。

【発明を実施するための形態】

## 【 0 0 0 7 】

[0007] 以下の詳細な説明において、添付の図面を参照して、開示されるシステムおよび方法の多様な特徴および機能が説明される。図面において、同様の符号は、文脈上特段の記載がない限り、通常、同様のコンポーネントを特定する。本明細書内に記載される例示的な方法およびシステムの実施形態は、限定を意図したものではない。開示される方法およびシステムの特定の態様は、多種多様な構成で配置および組み合わせることができ、それらの全てが本明細書内で意図されていることが容易に理解されよう。

10

## 【 0 0 0 8 】

[0008] 一態様において、エチレンオキシド（E t O）による滅菌後に機能を維持することができる分析物センサが提供される。分析物センサは、

求核基を有する高分子膜と、

高分子膜内に埋め込まれた分析物感知成分と、を備え、

求核基は、エチレンオキシドと化学反応することができる。

## 【 0 0 0 9 】

20

[0009] いくつかの実施形態において、分析物センサは、求核基を有する2つ以上の高分子膜を備える。

## 【 0 0 1 0 】

[0010] また、エチレンオキシドを使用して分析物センサを滅菌する方法も提供される。一態様において、分析物エチレンオキシドを滅菌するための方法は、

分析物センサをエチレンオキシドに接触させることを含み、

分析物センサは、

求核基を有する高分子膜と、

高分子膜内に埋め込まれた分析物感知成分と、を備える。

## 【 0 0 1 1 】

30

[0011] いくつかの実施形態において、求核基は、エチレンオキシドと化学反応するのに十分な求核性を有する。好適な求核剤は、1つ以上のヘテロ原子を有する官能基を含む。好適なヘテロ原子は、酸素、窒素、または硫黄原子を含み、それぞれ、アルコール、アミン、またはチオール等の官能基の一部であり得る。

## 【 0 0 1 2 】

[0012] 別の態様では、分析物センサが開示される。分析物センサは、

1つ以上の求核基を有する高分子膜と、

高分子膜内に埋め込まれる分析物感知成分と、を備え、

求核基の少なくとも一部分がエチレンオキシドと反応している。

## 【 0 0 1 3 】

40

[0013] 医療デバイスは、使用中に感染および/または有害な細菌に曝される可能性を低下させるために、滅菌されることが多い。医療デバイスを滅菌するために利用可能な方法としては、例えば、電子ビーム放射、エチレンオキシド（E t O）および高温オートクレーブを含む多くの標準的な滅菌方法がある。しかし、分析物感知成分および一体化された電子コンポーネントを有するデバイスに対しては、大半の滅菌技術を使用することができない。例えば、電子ビーム滅菌は、ICチップコンポーネントを損傷させる恐れがあり、オートクレーブは、分析物感知成分および電子機器を損傷させる恐れがある。E t O滅菌は、電子コンポーネントを損傷させないが、特定の分析物感知成分（例えば、酵素）に対して適合性がない。しかし、本明細書で開示されるように、分析物感知成分は、エチレンオキシドによってアルキル化され得る複数の求核基を有する高分子材料内に埋め込まれ

50

得る。これらの求核基は、その後、滅菌プロセス中にデバイスに侵入するエチレンオキシド分子に対するインターセプタとして作用し得るため、分析物感知成分を、エチレンオキシドによるアルキル化から保護して、デバイスにおける分析物感知成分の機能を維持することができる。

【0014】

[0014] いくつかの実施形態において、分析物センサは、酵素ベースのバイオセンサである。これらのデバイスは、分析物濃度依存生化学反応信号を、光信号または電気信号等の測定可能な物理信号へと変換することができる。分析物センサは、臨床、環境、農業、およびバイオテクノロジーの用途において、分析物の検出に使用され得る。人体の体液の臨床的評価において測定可能な分析物には、例えば、グルコース、乳酸、コレステロール、ビリルビン、タンパク質、脂質、および電解質が含まれる。血液、涙膜、または組織液等の生体液中の分析物を検出することは、多くの病気の診断および監視において重要であり得る。

10

【0015】

[0015] いくつかの実施形態において、分析物センサは、眼球装着デバイス、歯装着デバイス、または皮膚装着デバイス等の身体装着デバイスのコンポーネントであり得る。眼球装着デバイスは、この眼球装着デバイスを着用しているユーザの涙膜（本明細書において「涙膜」という用語は、「涙」および「涙液」と同義で使用される）内から検出される1つ以上の分析物に基づいて健康関連情報を監視するように構成され得る。例えば、眼球装着デバイスは、1つ以上の分析物（例えば、グルコース）を検出するように構成されたセンサを備えたコンタクトレンズの形態を取り得る。眼球装着デバイスは、また、他の多様な種類の健康関連情報を監視するようにも構成され得る。

20

【0016】

[0016] いくつかの実施形態において、身体装着デバイスには、歯装着デバイスが含まれ得る。歯装着デバイスは、眼球装着デバイスの形態またはそれと類似の形態を取ることができ、歯装着デバイスを着用しているユーザの体液（例えば、唾液）内の少なくとも1つの分析物を検出するように構成され得る。

【0017】

[0017] いくつかの実施形態において、身体装着デバイスには、皮膚装着デバイスが含まれ得る。皮膚装着デバイスは、眼球装着デバイスの形態またはそれと類似の形態を取ることができ、皮膚装着デバイスを着用しているユーザの体液（例えば、汗、血液等）内の少なくとも1つの分析物を検出するように構成され得る。

30

【0018】

[0018] 分析物センサは、本明細書に記載される高分子膜の1つ以上に埋め込まれた（つまり、囲まれた）分析物感知成分を有し得る。分析物センサの分析物感知成分は、特定の分析物の生理学的レベルを監視するように選択され得る。例えば、グルコース、乳酸、コレステロール、ならびに、多様なタンパク質および脂質は、例えば涙膜を含む体液内に見られ、連続的または半連続的な監視の恩恵を受け得る病状の指標になり得る。

【0019】

[0019] 分析物感知成分は、1つ以上の分析物を監視するように選択される酵素であり得る。例えば、生理学的なコレステロールレベルは、コレステロールオキシダーゼにより監視でき、乳酸レベルは乳酸オキシダーゼにより監視でき、グルコースレベルはグルコースオキシダーゼまたはグルコースデヒドロゲナーゼ（GDH）により監視できる。

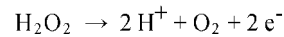
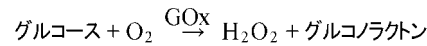
40

【0020】

[0020] いくつかの実施形態において、分析物感知成分は、分析物との化学反応を経て検出可能な反応生成物を生成する酵素であり得る。例えば、グルコースオキシダーゼ（「GOx」）を含むコポリマーは、グルコースとの反応に触媒作用を及ぼして過酸化水素（ $H_2O_2$ ）を生成するべく作用電極の周りに位置付けられ得る。以下に示すように、過酸化水素は、その後、作用電極で酸化され、電子を作用電極に放出することができ、それにより、電流が生成される。

50

## 【化 1】



## 【 0 0 2 1 】

[0021] 還元反応または酸化反応のいずれかによって生成された電流は、反応速度に略比例し得る。さらに、反応速度は、分析物分子が電気化学センサ電極に到達して、直接的に、または試薬を用いた触媒作用により、還元反応または酸化反応を促す速度に応じて変わり得る。分析物分子が試料採取領域から電気化学センサ電極に拡散する速度が、追加の分析物分子が周囲の領域から試料採取領域に拡散する速度と略同じである静止状態では、反応速度は、分析物分子の濃度に略比例し得る。したがって、電流は、分析物濃度の指標を提供することができる。

10

## 【 0 0 2 2 】

[0022] 他の実施形態において、分析物感知成分は、グルコースデヒドロゲナーゼ (GDH) である。特定の例では、GDHを使用する場合、フラビンアデニンジヌクレオチド (FAD)、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD)、フラビンモノヌクレオチド、ピロロキノリンキノン (PQQ)、またはコエンザイム等の補因子を追加してもよい。

20

## 【 0 0 2 3 】

[0023] 本明細書に記載される分析物センサは、1つ以上の導電性電極を備えることができ、これらの電極間を電流が流れ得る。用途に応じて、電極は、様々な目的で構成され得る。例えば、センサは、作用電極、参照電極、および対向電極を備え得る。また、参照電極が対向電極として作用する二電極システムも可能である。作用電極は、ポテンショスタット等の回路を介して参照電極に接続され得る。

## 【 0 0 2 4 】

[0024] 電極は、任意の種類の導電性材料から形成することができ、そのような材料をパターンングするために使用される任意のプロセス、例えば、堆積またはフォトリソグラフィ等によってパターンングされ得る。導電性材料は、例えば、金、プラチナ、パラジウム、チタン、炭素、銅、銀/塩化銀、不活性材料から形成される導体、金属、またはこれら材料の任意の組み合わせであり得る。他の材料もまた想定され得る。

30

## 【 0 0 2 5 】

[0025] エチレンオキシド (EtO) は、2個の炭素を持つエチレンユニットと、酸素原子とから成るひずみの大きい、化学反応性の高い環状エーテル分子である。ひずみの大きい三原子環は、求核試薬と反応して、開環反応を起こす。エチレンオキシドの滅菌作用は、タンパク質上の求核基および微生物の核酸のアルキル化により実現される。結果として、エチレンオキシドは、ウィルス、バクテリア、真菌、細菌芽胞を消滅させ得る。

## 【 0 0 2 6 】

[0026] EtO滅菌は、多くの方法によって実行され、密閉した容器またはチャンバ (つまり、滅菌器) 内で実行され得る。本技術において公知の方法には、例えば、ガス拡散滅菌、マイクロドーズ滅菌、または可撓性チャンバ滅菌 (flexible chamber sterilization) が含まれる。一部の方法では、エチレンオキシドは、ガスとして導入される一方、他の方法では、エチレンオキシドは、液体または溶液として導入される。滅菌は、小規模 (つまり、一度に1つのセンサ)、大規模 (つまり、一度にパレットまたは台車に載せられたセンサ)、またはそれらの規模間の任意の規模で実行され得る。

40

## 【 0 0 2 7 】

[0027] 滅菌は、約 20 ~ 約 70 の間で実行され得る。いくつかの実施形態において、この温度は、約 30 ~ 約 60 であってよく、または約 40 ~ 約 50 であってよい。特定の実施形態では、滅菌温度は約 37 である。

## 【 0 0 2 8 】

50

【0028】 滅菌器内のエチレンオキシドの濃度は、約 200 mg/L ~ 約 1,000 mg/L であり得る。いくつかの実施形態において、濃度は、約 200 mg/L ~ 約 500 mg/L であってよく、または約 500 mg/L ~ 約 1,000 mg/L であってよい。特定の実施形態において、エチレンオキシド濃度は約 750 mg/L である。

【0029】

【0029】 エチレンオキシドは、水と化学的に反応するため、滅菌器内のエチレンオキシドの濃度は、滅菌器内の湿度に応じて調節され得る。いくつかの実施形態において、滅菌は、約 20% ~ 約 80% の湿度を有する雰囲気内で実行される。滅菌が約 80% を超える湿度、または約 20% 未満の湿度を有する雰囲気内で実行されると、滅菌に使用されるエチレンオキシドの濃度は、エチレンオキシドの水に対する反応性を考慮して調節することが必要になり得る。例えば、滅菌が 80% よりも高い湿度で行われる場合、より高濃度のエチレンオキシドが使用され得る。滅菌が 20% 未満の湿度で行われる場合、より低濃度のエチレンオキシドが使用され得る。

10

【0030】

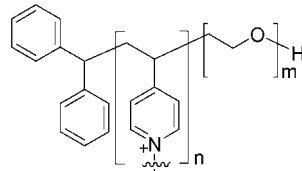
【0030】 いくつかの実施形態において、求核基は、ポリ(ビニルピリジン)等のビニルピリジン由来の高分子サブユニット内の窒素原子であり得る。求核基は、ポリ(エチレングリコール)(PEG)およびポリ(ビニルピリジン)(PVP)の架橋結合された親水性コポリマー内に存在し得る。PEGおよびPVPのコポリマーは、PEGおよびPVPそれぞれの1つ以上のブロックを有するブロックコポリマー、例えば、PEGおよびPVPのジブロックコポリマーであり得る。

20

【0031】

【0031】 いくつかの実施形態において、求核基を有する高分子膜は、下記の式(I)の架橋結合された親水性ジブロックコポリマーであり得る。

【化2】



(I)

30

ここで、 $n$ および $m$ は、それぞれ独立して、それぞれが約 500 ~ 約 10,000 の数平均分子量 ( $M_n$ ) を有するポリ(ビニルピリジン)ブロックおよびポリ(エチレングリコール)ブロックを提供するように選択される。他の実施形態では、 $n$ は、約 5 ~ 約 100 の平均値であり、 $m$ は約 5 ~ 約 250 の平均値である。説明を簡単にするために、感知膜のポリ(ビニルピリジン)のピリジン窒素が本明細書に記載される架橋に共有結合される(つまり架橋結合される)ように描写される。当業者は、実用上、全てのピリジン窒素が架橋結合されるとは限らず、架橋結合されないピリジン窒素原子がエチレンオキシドとの化学反応において求核剤として作用し得ることを認識するであろう。同様に、PEGブロックの末端ヒドロキシ基は求核剤になり得る。架橋は、分子量の算出には考慮されない。

40

【0032】

【0032】 特定の実施形態において、 $n$ は、ポリ(ビニルピリジン)ブロックの  $M_n$  が表 1 の範囲に入るように選択され、 $m$ は、ポリ(エチレングリコール)ブロックの  $M_n$  が表 2 の範囲に入るように選択される。例えば、感知膜の架橋結合された親水性ジブロックコポリマーは、約 5,000 ~ 約 6,000 の  $M_n$  を有するポリ(ビニルピリジン)ブロックと、約 8,000 ~ 約 9,000 の  $M_n$  を有するポリ(エチレングリコール)ブロックとを有し得る。

。

## 【表 1】

表1:ポリ(ビニルピリジン)ブロックの $M_n$ の範囲  
(値は概算値)

低	高
500	1,000
1,000	2,000
2,000	3,000
3,000	4,000
4,000	5,000
5,000	6,000
7,000	8,000
8,000	9,000
9,000	10,000

10

## 【表 2】

表2:ポリ(エチレングリコール)ブロックの $M_n$ の範囲  
(値は概算値)

低	高
500	1,000
1,000	2,000
2,000	3,000
3,000	4,000
4,000	5,000
5,000	6,000
7,000	8,000
8,000	9,000
9,000	10,000

20

## 【0033】

[0033] いくつかの実施形態において、ビニルピリジンユニットの（ $n$ に対応する）平均値とエチレングリコールユニットの（ $m$ に対応する）平均値との比は、表3から選択され得る。例えば、ビニルピリジンユニットの平均値が約2,000である場合、エチレングリコールユニットの平均値はおよそ4,000であり、結果としてビニルピリジンユニットとエチレングリコールユニットとの比は、およそ1:2である。

30

## 【表 3】

表3:ビニルピリジンユニットとエチレングリコールユニットとの比  
(全ての値は概算値)

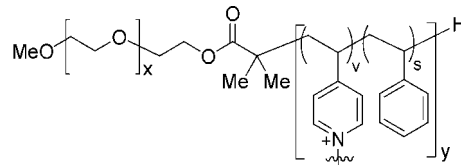
ビニルピリジン	エチレングリコール
1	1
1	2
1	3
1	4
1	5
2	3
3	4
1	10
1	20
1	50
1	100

40

## 【0034】

[0034] いくつかの実施形態において、求核基を有する高分子膜は下記式（I a）の架橋結合された親水性ジブロックコポリマーであり得る。

## 【化 3】



(Ia)

ここで、 $x$ 、 $y$ 、 $v$ 、および  $s$  は、ポリ(エチレングリコール)ブロックおよびビニルピリジン/スチレンコポリマーブロックが、それぞれ、約 1,000 ~ 約 100,000 の数平均分子量 ( $M_n$ ) を有するように選択される。他の実施形態では、 $x$  は約 25 ~ 約 250 の平均値であり、 $y$  は約 5 ~ 約 50 の平均値である。式 (I) と同様に、説明を簡単にするために、保護膜のポリ(ビニルピリジン)のピリジン窒素は、架橋に共有結合されているように描写される。しかし、当業者は、実用上、保護膜の全てのピリジン窒素が架橋結合されるとは限らず、架橋結合されないピリジン窒素原子がエチレンオキシドとの化学反応において求核剤として作用し得ることを認識するであろう。

10

## 【0035】

[0035] いくつかの実施形態において、求核基は、(メタ)アクリレート由来の高分子サブユニット内に含まれ得る。本明細書で使用される「(メタ)アクリレート」は、アクリレート、メタアクリレート、またはそれらの混合物を指す。(メタ)アクリレート由来のユニットは、架橋結合された親水性コポリマーの(メタ)アクリレート由来の主鎖の一部であってよく、各(メタ)アクリレート由来のユニットは、親水性側鎖を有する。親水性側鎖は、水溶性またはアルコール等の水混和溶媒であり得る。側鎖は、1つ以上のヘテロ原子(例えば、窒素、酸素、または硫黄原子)を有し得る。いくつかの実施形態において、親水性側鎖は、1つ以上のヒドロキシ基を有する。(メタ)アクリレート由来のユニットの親水性側鎖は、1つ以上のアルキレンオキシドユニットを含み得る。アルキレンオキシドユニットは、ポリ(エチレングリコール)、ポリ(プロピレングリコール)、ポリ(ブチレンオキシド)、またはそれらの混合物等のポリマーの形態であってよく、2つまたは3つの異なるアルキレンオキシドユニットの組み合わせを含むコポリマーであってもよい。いくつかの実施形態において、親水性側鎖のポリ(アルキレンオキシド)は、2つまたは3つの異なるポリ(アルキレンオキシド)ポリマーのブロックを含むブロックコポリマーである。特定の実施形態では、ポリ(アルキレンオキシド)は、ポリ(エチレングリコール)およびポリ(プロピレングリコール)のブロックコポリマーである。他の実施形態では、親水性側鎖および架橋は、共に、ポリ(エチレングリコール)を含む。

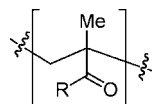
20

30

## 【0036】

[0036] いくつかの実施形態において、メタ(アクリレート)由来のユニットは、下記式 (II) の構造を有し得る。

## 【化 4】



(II)

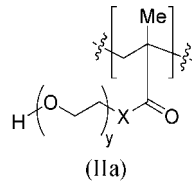
40

ここで、 $R$  は、1つ以上の求核基を有する親水基である。特定の実施形態において、親水基は、アルコール等の1つ以上のヒドロキシ基を含む。

## 【0037】

[0037] いくつかの実施形態において、(メタ)アクリレート由来のユニットは、下記式 (IIa) の構造を有し得る。

## 【化5】

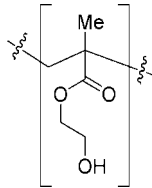


ここで、Xは、-O-、-NR'-、または-S-であり、yは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり、ここで、R'は、水素または-C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>アルキルである

## 【0038】

【0038】 いくつかの実施形態において、(メタ)アクリレート由来のユニットは、2-ヒドロキシエチルアクリレートまたは2-ヒドロキシエチルメタクリレート由来であり得る。特定の実施形態において、(メタ)アクリレート由来のユニットは、下記の構造を有する。

## 【化6】



## 【0039】

【0039】 いくつかの実施形態において、(メタ)アクリレート由来のユニットは、zが約2~約250の平均値である、式(IIa)の構造を有し得る。

## 【0040】

【0040】 いくつかの実施形態では、(メタ)アクリレート由来のユニットは、YおよびR<sup>2</sup>が上記の通りであり、xが、ポリ(エチレングリコール)が約100~約10,000の数平均分子量(M<sub>n</sub>)を有するようなものである、式(IIa)の構造を有し得る。特定の実施形態において、xは、ポリ(エチレングリコール)のM<sub>n</sub>が表4の範囲に入るように選択される。

## 【表4】

表4:(メタ)アクリレート由来のユニットにおけるポリ(エチレングリコール)のM<sub>n</sub>の範囲  
(値は概算値)

低	高
100	200
200	300
300	400
400	500
500	600
600	700
700	800
800	900
900	1,000
1,000	2,000
2,000	3,000
3,000	4,000
4,000	5,000
5,000	6,000
7,000	8,000
8,000	9,000
9,000	10,000

10

20

30

40

50

## 【0041】

[0041] 特定の実施形態において、分析物センサは、Yが-O-であり、R<sup>2</sup>がメチルであり、xが、ポリ(エチレングリコール)が約500の数平均分子量(M<sub>n</sub>)を有するようなものである、式(IIIa)の構造を有する(メタ)アクリレート由来のユニットを有する。

## 【0042】

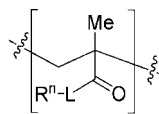
[0042] いくつかの実施形態において、求核基は、負に帯電し得る。負に帯電した基は、負電荷を有するヘテロ原子またはヘテロ原子を含む基であり得る。負に帯電した基は、マロン酸塩等のように2つ以上の負電荷を有し得る。負に帯電した基は、塩であってよく、第1族および第2族の金属ならびに第4級アミン等の有機カチオンを含み得る、1つ以上のカチオンを含み得る。

10

## 【0043】

[0043] いくつかの実施形態において、負に帯電した求核基は、1つ以上の高分子膜の(メタ)アクリレート由来のユニットに含まれ得て、下記式(III)の構造を有し得る。

## 【化7】



20

ここで、Lは結合、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル、-Y-C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル、または親水基であり、R<sup>n</sup>は、負に帯電した基であり、ここで、Yは、-O-、-NR'-、または-S-であり、R'は、水素または-C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>アルキルである。

## 【0044】

[0044] 親水基は、水溶性またはアルコール等の水混和性溶媒であってよく、1つ以上のヘテロ原子(例えば、窒素、酸素、または硫黄原子)を有し得る。いくつかの実施形態において、Lは、1つ以上のヒドロキシ基を有する。

## 【0045】

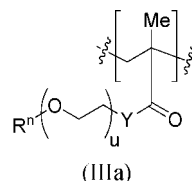
[0045] いくつかの実施形態において、Lは、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキル、または-O-C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキルであり、ここで、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキルは、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、ペンチレン、またはヘキシレンである。

30

## 【0046】

[0046] いくつかの実施形態において、負に帯電した基は、下記式(IIIa)の構造を有する(メタ)アクリレート由来のユニットに含まれ得る。

## 【化8】



40

ここで、YおよびR<sup>n</sup>は、上記の通りであり、uは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

## 【0047】

[0047] いくつかの実施形態において、メタクリレート由来のユニットは、YおよびR<sup>n</sup>が上記の通りであり、uが、ポリ(エチレングリコール)が約100~約10,000の数平均分子量(M<sub>n</sub>)を有するようなものである、式(IIIa)の構造を有し得る。特定の実施形態において、uは、ポリ(エチレングリコール)のM<sub>n</sub>が表5の範囲に入る

50

ように選択される。

【表 5】

表5:第4のメタクリレート由来のユニットにおけるポリ(エチレングリコール)のM<sub>n</sub>の範囲  
(値は概算値)

低	高
100	200
200	300
300	400
400	500
500	600
600	700
700	800
800	900
900	1,000
1,000	2,000
2,000	3,000
3,000	4,000
4,000	5,000
5,000	6,000
7,000	8,000
8,000	9,000
9,000	10,000

10

20

【0048】

[0048] 特定の実施形態において、分析物センサは、Yが-O-であり、R<sup>n</sup>がメチルであり、uが、ポリ(エチレングリコール)が約500の数平均分子量(M<sub>n</sub>)を有するようなものである、式(IIIA)の構造を有するメタクリレート由来のユニットを有する。

【0049】

[0049] いくつかの実施形態において、R<sup>n</sup>は、負電荷を有するヘテロ原子、またはヘテロ原子を含む基であり、R<sup>n</sup>は、マロン酸塩等の、2つ以上の負電荷を有する基であり得る。R<sup>n</sup>は、塩であってよく、第1族および第2族の金属ならびに第4級アミン等の有機カチオンを含み得る、1つ以上のカチオンを含み得る。R<sup>n</sup>は、-O<sup>-</sup>、-S<sup>-</sup>、-N(R')、-C(O)O<sup>-</sup>、-N(R')C(O)O<sup>-</sup>、-S(O)(R')、-S(O)O<sup>-</sup>、-S(O)<sub>2</sub>O<sup>-</sup>、-P(O)(OR')、-P(O)(R')、-P(O)(NR'<sub>2</sub>)O<sup>-</sup>、-P(O)(NR'<sub>2</sub>)(NR')、-P(O)(R')(NR')、-P(O)(OR')(NR')、-OP(O)(OR')O<sup>-</sup>、-OP(O)(R')O<sup>-</sup>、-OP(O)(NR'<sub>2</sub>)O<sup>-</sup>、-OP(O)(NR'<sub>2</sub>)(NR')、-OP(O)(R')(NR')、-OP(O)(OR')(NR')、-P(O)O<sub>2</sub><sup>2-</sup>、-P(O)(NR')<sub>2</sub><sup>2-</sup>、-OP(O)O<sub>2</sub><sup>2-</sup>、-OP(O)(NR')<sub>2</sub><sup>2-</sup>、またはそれらの塩から選ぶことができ、ここで、R'は、水素または-C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>アルキルである。いくつかの実施形態において、-L-R<sup>n</sup>は、プロピルスルホン酸カリウム等のアルキルスルホン酸塩である。他の実施形態では、Lは結合

30

40

【0050】

[0050] いくつかの実施形態において、分析物センサは、架橋結合されたタンパク質の膜を備え、求核基は、それらタンパク質の1つ以上の官能基であり得る。タンパク質は、生化学反応において実質的に反応性が低いため、分析物感知成分との干渉を制限することになるが、エチレンオキシドと化学反応をすることができる求核基を含み得る。タンパク質は、架橋を介して共有結合され、架橋ネットワークを形成し得る。架橋は、タンパク質間の共有結合を有し、分析物感知成分と、1つ以上のタンパク質、および/または別の分析物感知成分との間の共有結合を含み得る。高分子膜の1つ以上は、1つ以上のタンパク質を有し得る。いくつかの実施形態において、これらのタンパク質は同一または実質的に

50

同一であり、他の実施形態では、感知膜は2つ以上の異なる種類のタンパク質を有し得る。いくつかの実施形態において、タンパク質はウシ血清アルブミンである。

【0051】

[0051] いくつかの実施形態において、求核基は、高分子膜の1つ以上内にある1つ以上の架橋の官能基であり得る。架橋は、式(I)および(Ia)のピリジン窒素原子間、または架橋結合されたタンパク質を有する膜内のアミン基の窒素原子間に存在し得る。

【0052】

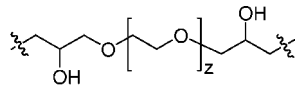
[0052] 架橋は、2つ以上のエポキシド基を含む架橋剤に由来し得る。エポキシドと、感知膜のコポリマーおよび/または保護膜のコポリマーの架橋可能な官能性との化学反応は、求電子性のエポキシド炭素原子において架橋可能な官能性の求核攻撃により進行し、2つ以上の第二級アルコール部分を含む架橋を提供することができる。例えば、ピリジン基等の窒素官能性を有するコポリマーは、エポキシド基を有する架橋剤と反応して、ヒドロキシアミン官能性を含む架橋を提供することができる。

10

【0053】

[0053] いくつかの実施形態において、架橋は、ポリ(エチレングリコール)(PEG)を含む。例えば、架橋は、下記式(IV)の構造を有し得る。

【化9】



(IV)

20

ここで、zは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

ここで、

【0054】

[0054] 特定の実施形態において、zは、約5～約250の平均値である。

【0055】

[0055] 他の実施形態において、zは、架橋のPEG部分の数平均分子量( $M_n$ )が約200～約10,000であるようなものである。例えば、zは、架橋のPEG部分の $M_n$ が表6の範囲に入るように選択され得る。

30

【表6】

表6:架橋のポリ(スチレン)(PEG)の $M_n$ の範囲  
(値は概算値)

低	高
100	500
500	1,000
1,000	2,000
2,000	3,000
3,000	4,000
4,000	5,000
5,000	6,000
6,000	7,000
7,000	8,000
8,000	9,000
9,000	10,000

40

【0056】

[0056] 好適な架橋は、例えば、ジグリシジルエーテル、N,N-ジグリシジル-4-グリシジルオキサニリン、およびジエチレングリコールジグリシジルエーテル由来である。

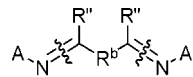
【0057】

[0057] いくつかの実施形態において、架橋は、タンパク質および/または分析物感知成分上のアミン基の窒素原子と架橋内の炭素原子との間の炭素・窒素二重結合により形成

50

され得る。いくつかの実施形態において、架橋は、ジカルボニル化合物由来であり得る。例えば、感知膜の架橋は、下記の式(V)の構造を有し得る。

【化10】



(V)

ここで、Aは、それぞれ独立して、タンパク質または分析物感知成分であり、R<sup>b</sup>は、C<sub>0</sub>~C<sub>4</sub>アルキルまたは親水基であり、R''は、それぞれ独立して、水素または-C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>アルキルであり、ここで、R<sup>b</sup>は、1つ以上の求核基を含む。R<sup>b</sup>は、水溶性またはアルコール等の水混和溶媒であってよく、1つ以上のヘテロ原子(例えば、窒素、酸素、または硫黄)を有し得る。いくつかの実施形態において、架橋は、1つ以上のヒドロキシ基を有する。例えば、R<sup>b</sup>は、式(IV)の構造を有し得る。式(V)からわかるように、架橋は、R<sup>b</sup>基に加え、2つの炭素を有する。したがって、本明細書において所定数の炭素原子(例えば、C<sub>4</sub>)を有すると記載される架橋は、炭素原子が2つ少ない(例えば、C<sub>2</sub>)R<sup>b</sup>基を有することになる。例えば、「C<sub>4</sub>アルキル架橋」は、C<sub>2</sub>アルキルであるR<sup>a</sup>基を有する。

10

【0058】

【0058】 いくつかの実施形態において、架橋は、1つ以上のアルキレンオキシドユニットを含む。アルキレンオキシドユニットは、ポリ(エチレングリコール)、ポリ(プロピレングリコール)、ポリ(ブチレンオキシド)、またはそれらの混合物等のポリマーの形態であってよく、2つまたは3つの異なるアルキレンオキシドユニットの組み合わせを含むコポリマーであってよい。いくつかの実施形態において、架橋のポリ(アルキレンオキシド)は、2つまたは3つの異なるポリ(アルキレンオキシド)ポリマーのブロックを含むブロックコポリマーである。特定の実施形態では、ポリ(アルキレンオキシド)は、ポリ(エチレングリコール)およびポリ(プロピレングリコール)のブロックコポリマーである。他の実施形態では、架橋および(メタ)アクリレート由来のユニットは、ポリ(エチレングリコール)を含む。

20

【0059】

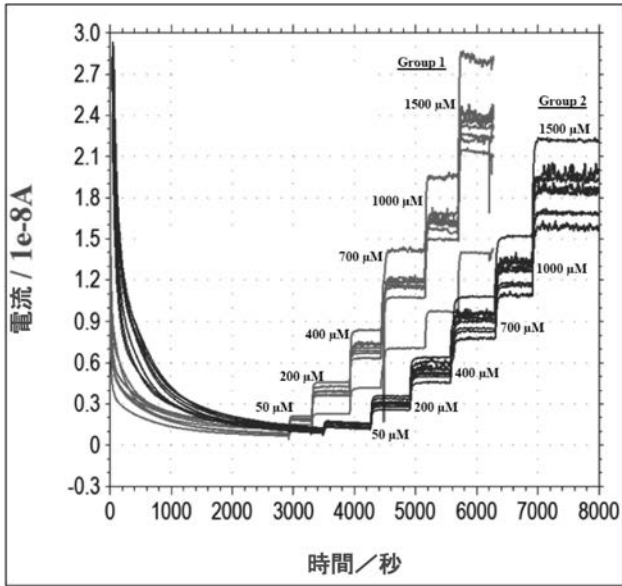
実施例1. 分析物センサの作製および滅菌

【0059】 PBS(400μL)中にグルコースオキシダーゼ(10mg、Type V II、Sigma社製)を加えた溶液を、HEMA(225μL)、PEGMA(175μL)、ジエチレングリコールジメタクリレート(4μL)、および2,2-ジメトキシ-2-フェニルアセトフェノン(2mg)と混合した。結果として得られた混合物を、プラチナ製電極上に堆積し、365nmのUV光で5分間硬化して、グルコースセンサを得た。所定数のセンサを同様の方法で作製した。一組のセンサ(グループ1)には、EtO滅菌(750mg/L、37で6時間)を行った。別の組のセンサ(グループ2)は、滅菌せずに、周囲条件下で保存した。グループ1およびグループ2を、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中のグルコース濃度を50μM~1500μmの範囲として、検査した。センサをPBSに浸漬し、グルコース濃度を10~15分毎に上昇させた。各センサの電極で生成される電流を、ポテンショスタットを使用して測定した(図1)。



30

40

【 図 1 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/US2014/071170</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>C12Q 1/26(2006.01)i, G01N 27/30(2006.01)i</b>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q 1/26; C12Q 1/00; G01N 27/26; A61B 5/1473; G01N 27/28; A61L 2/08; G01N 27/30		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: ethylene oxide, sterilization, analyte sensor, nucleophilic		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2012-0283537 A1 (PETISCE et al.) 08 November 2012 See abstract; claims 1-24; page 9; and figures 2-4.	1-20
A	US 2012-0328473 A1 (THOMAS et al.) 27 December 2012 See abstract; claim 1; and pages 11-12.	1-20
A	WO 2013-180633 A1 (GENERAL ELECTRIC COMPANY et al.) 05 December 2013 See the whole document.	1-20
A	US 2007-0111196 A1 (ALARCON et al.) 17 May 2007 See the whole document.	1-20
A	US 8506779 B2 (KAHN et al.) 13 August 2013 See the whole document.	1-20
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 13 March 2015 (13.03.2015)		Date of mailing of the international search report <b>13 March 2015 (13.03.2015)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. ++82 42 472 7140		Authorized officer KIM, Seung Beom  Telephone No. +82-42-481-3371

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2014/071170**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2012-0283537 A1	08/11/2012	CN 102712946 A	03/10/2012
		EP 2494063 A2	05/09/2012
		WO 2011-053715 A2	05/05/2011
		WO 2011-053715 A3	11/08/2011
US 2012-0328473 A1	27/12/2012	CA 2721214 A1	15/10/2009
		CN 102065908 A	18/05/2011
		EP 2262543 A4	02/11/2011
		US 2009-0257911 A1	15/10/2009
		US 2014-0348703 A1	27/11/2014
		US 8252229 B2	28/08/2012
		US 8802006 B2	12/08/2014
		WO 2009-126942 A2	15/10/2009
		WO 2009-126942 A3	30/12/2009
WO 2013-180633 A1	05/12/2013	CN 103446600 A	18/12/2013
US 2007-0111196 A1	17/05/2007	US 2009-0232700 A1	17/09/2009
		WO 2007-022485 A2	22/02/2007
		WO 2007-022485 A3	15/11/2007
US 8506779 B2	13/08/2013	CA 2687752 A1	18/12/2008
		CN 101765766 A	30/06/2010
		CN 101765766 B	19/03/2014
		EP 2171440 A1	07/04/2010
		JP 2010-529462 A	26/08/2010
		KR 10-2010-0036253 A	07/04/2010
		US 2008-302660 A1	11/12/2008
		US 2012-067724 A1	22/03/2012
		US 2014-001047 A1	02/01/2014
		US 8197650 B2	12/06/2012

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 リュウ, ゼンヒ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94043, マウンテン ビュー, アンフィシアター パークウェイ 1600, ヴェリリー ライフ サイエンシズ エルエルシー内

Fターム(参考) 4B033 NA24 NB15 NB33 NB66 NC16 ND16 NF04

4C038 KK10 KL09 KY02 KY11 KY13