

(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
2016年9月15日(15.09.2016)



(10) 国際公開番号

WO 2016/143705 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 27/28 (2006.01) G01N 27/414 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/056849
- (22) 国際出願日: 2016年3月4日(04.03.2016)
- (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 2015-045373 2015年3月7日(07.03.2015) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人名古屋大学 (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION NAGOYA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町1番 Aichi (JP).
- (72) 発明者: 中里 和郎 (NAKAZATO Kazuo); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町1番 国立大学法人名古屋大学内 Aichi (JP).
- (74) 代理人: 松本 征二 (MATSUMOTO Seiji); 〒1410031 東京都品川区西五反田1丁目11番1

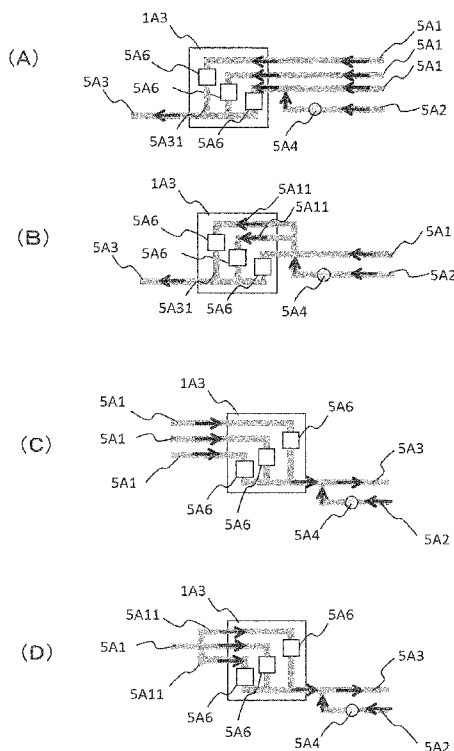
号 アイオス五反田駅前ビル1001号 Tokyo (JP).

- (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, 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, UZ, VC, VN, 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).

[続葉有]

(54) Title: REFERENCE ELECTRODE HOLDING MEMBER AND SUBSTANCE DETECTION DEVICE

(54) 発明の名称: 参照電極保持部材及び物質検出装置



(57) Abstract: Provided is a reference electrode holding member that is highly operable and that has conductive lines that are not easily contaminated. Also provided is a substance detection device. A reference electrode holding member that is used in a substance detection device that uses a reference electrode that determines an electrical reference for a solution to electrochemically detect substances in the solution. The reference electrode holding member includes at least a substrate, a reference electrode holding hole that is formed in the substrate, a reference electrode flow path, and a first flow path. A sensor-facing surface that faces an electrochemical sensor of the substance detection device is formed on the substrate. The reference electrode holding hole is formed in a section of the substrate that is not the sensor-facing surface and can hold a reference electrode that can be inserted therein. One end of the reference electrode flow path forms an opening in a section of the substrate that is not the sensor-facing surface, and another end is positioned inside the substrate. A tip of the reference electrode holding hole communicates with the reference electrode flow path at a point that is not at an end part of the reference electrode flow path. One end of the first flow path forms an opening in a section of the substrate that is not the sensor-facing surface, and another end forms an opening in the sensor-facing surface of the substrate. The first flow path and the other end of the reference electrode flow path communicate inside the substrate. As a result of said configuration, the reference electrode holding member is highly operable and the conductive lines thereof are not easily contaminated.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2016/143705 A1



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

操作性が高く、また導電線が汚染されにくい参照電極保持部材及び物質検出装置を提供する。溶液の電氣的基準を定める参照電極を用いて、溶液内の物質を電気化学的に検出する物質検出装置に用いる参照電極保持部材であって、前記参照電極保持部材は、基材、並びに、該基材に形成された参照電極保持孔、参照電極流路及び第 1 流路を少なくとも含み、前記基材には、前記物質検出装置の電気化学センサに面するセンサ対向面が形成され、前記参照電極保持孔は、前記基材の前記センサ対向面以外の部分に形成され、且つ参照電極を挿入・保持することができ、前記参照電極流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材内部に位置し、前記参照電極保持孔の先端は、前記参照電極流路の端部以外の箇所で前記参照電極流路と連通し、前記第 1 流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材のセンサ対向面で開口部を形成し、前記参照電極流路の他端と前記第 1 流路は、前記基材内で連通する、参照電極保持部材により、操作性が高く、また導電線が汚染されにくくなる。

明 細 書

発明の名称：参照電極保持部材及び物質検出装置

技術分野

[0001] 本発明は、溶液の電氣的基準を定める参照電極を用いて、溶液と接した電気化学センサ（半導体集積回路センサ）により電気化学的に溶液内の物質を検出する物質検出装置及び該物質検出装置を構成する参照電極保持部材に関する。特に、検出される物質の一例として、DNA、タンパク質、細胞、バクテリア、ウィルス、グルコース等の生体分子、生体物質等を電位、電流、インピーダンスの変化として電気化学的に検出する物質検出装置及び該物質検出装置を構成する参照電極保持部材に関する。

背景技術

[0002] 特定の生体分子や生体物質等を検出する物質検出装置は、検出用分子と反応させることにより検出することが多い。例えば、分子が、特定の分子とのみ結合したり、特定の分子とのみ化学反応をおこすことを利用する。この場合、検出精度を向上するために抗体や酵素を介在させることが有効である。また、検出用分子との結合や化学反応を電気信号に変換するには、電位、電流、インピーダンスの変化を検出する電気化学計測法を用いることが多い（下記特許文献1～5参照）。

[0003] その他の従来技術として、例えば、下記非特許文献1では、分子の結合の有無を電荷量の変化として電界効果型トランジスタのゲートを用いて検出する方法が記載されている。下記非特許文献2では、酵素反応を用いて、特定の分子の濃度を酸化体と還元体の濃度比に転写し、酸化還元電位として電界効果型トランジスタのゲートを用いて検出する方法が記載されている。下記非特許文献3では、酵素反応を用いて、特定の分子の濃度を酸化還元電流として検出する方法が記載されている。下記非特許文献4では、特定のウィルスを電極上に設けた抗体により捕獲し、インピーダンスの変化として検出する方法が記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：米国特許第8, 129, 978号明細書

特許文献2：特開2015-210233号公報

特許文献3：特開2012-47536号公報

特許文献4：特開2010-256140号公報

非特許文献

[0005] 非特許文献1：P. Bergveld, "Thirty years of ISFETOLOGY: What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years," *Sensor and Actuators B* 88 (2003) pp. 1-20

非特許文献2：Y. Ishige, M. Shimoda, and M. Kamahori, "Extended-gate FET-based enzyme sensor with ferrocenyl-alkanethiol modified gold sensing electrode", *Biosens. Bioelectron.* 24 (2009) pp. 1096-1102

非特許文献3：H. Tanaka, P. Fiorini, S. Peeters, B. Majeed, T. Sterken, M. O. de Beeck, M. Hayashi, H. Yaku, and I. Yamashita, "Sub-micro-liter Electrochemical Single-Nucleotide-Polymorphism Detector for Lab-on-a-Chip System", *Japanese Journal of Applied Physics* 51 (2012) 04DL02

非特許文献4：Y. Ishige, Y. Goto, I. Yanagi, T. Ishida, N. Itabashi, and M. Kamahori, "F

easibility Study on Direct Counting of Viruses and Bacteria by Using Microelectrode Array”, Electroanalysis 4 (1) (2012) pp. 131–139

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 上記電気化学的検出法では、電位、電流、インピーダンスの変化を計測するが、溶液の電位の基準点を定める参照電極が必要である。図1は従来の参照電極の原理を示す図である。同図において、1A1は従来の参照電極、1A2は溶液、1A3は電子回路（半導体基板）、1A4は電位関係を確立するための電圧源、V1は溶液の基準電位、V2は電子回路の基準電位（通常、グランド電位）である。図1に示す参照電極1A1は、電位、電流、インピーダンスを検出する半導体基板1A3と溶液1A2との間の適正な電位の関係を確立するもので、化学反応系と隔離されていなければならない。参照電極で化学反応が起きてしまうと、本来の生体分子の検出信号を打ち消してしまうためである。従来の参照電極は、図2に示すように、飽和液2A3を満たしたガラス管2A2に導電線2A1を埋め込む構造になっている。その場合、飽和液2A3としてKClやNaCl溶液等が用いられ、また、導電線2A1としてAg/AgCl線等が用いられる。ガラス管は飽和まで高濃度にした飽和液で満たされ、ガラス管の中に溶液1A2が拡散しても導電線に影響を及ぼさないようにし、溶液と化学的に隔離された状態で溶液との電氣的接続を行う。

[0007] しかし、逆に飽和液2A3が溶液1A2に拡散（2A6）したとき、溶液のイオン濃度を変えてしまい、生体物質に影響を与え、検出精度を低下させる弊害がある。通常用いられる溶液のイオン濃度は飽和液のイオン濃度の0.1%以下である。図3は従来のフロー系を用いた電気化学計測法を示す図である。同図において、3A1はシリンジ、3A2はサンプル液、3A3はバッファ液、3A4 流路切り替えバルブ、1A2は基板上の溶液、1A3は半導体基板、1A1は参照電極、3A8は電線、1A4は電圧源、3A10は流路ジョイントであるが、飽和液の影響を避ける

方法として図3に示すように、絶えず溶液を流し、参照電極1A1を川下に設置することにより、飽和溶液がセンサに届かないようにするフロー系が用いられている。この構成では以下に述べるような問題点があり、装置の操作性や小型化に対し障害となっている。

[0008] まず、図2示す従来の参照電極はガラス管の中に常に飽和液を満たしておく必要があり、測定を行わないときには装置から取り外して飽和溶液中に浸して保管する必要がある。一方、測定を行うたびに、参照電極を装置に取り付けなければならない。このとき、図4のように参照電極の先に気泡4A1が混入すると溶液との電氣的接続が失われるので、注意深く気泡を取る必要がある。これらは操作性を著しく損なう。更に従来の参照電極はガラス管でできているため、小型化が困難である。

[0009] また、参照電極の電位は、溶液の基準電位を定めるものであり、ここに雑音が入ると検出信号に直接影響を及ぼす。これを避けるため参照電極を含んで電磁シールドを行うと装置全体が大きくなる問題がある。

[0010] これらの問題を解決するには、参照電極からガラス管および飽和溶液を排除し、導電線のみとする必要があるが、導電線を保護するものが無くなると、従来の図3の構成では、導電線がサンプルと接触するため化学反応が起こって導電線が汚染されてしまい（雑音等の影響を受ける）、電位の基準点にならない問題が生じる。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明は、上記の課題を解決するために成されたものであり、その目的は、小型化が可能であって操作性が高く、また導電線が汚染されにくい（即ち、雑音等にも強い）物質検出装置及び該物質検出装置を構成する参照電極保持部材を実現することにある。

[0012] 上記課題を解決するための本発明の構成は以下の通りである。

（1）溶液の電氣的基準を定める参照電極を用いて、溶液内の物質を電気化学的に検出する物質検出装置に用いる参照電極保持部材であって、

前記参照電極保持部材は、基材、並びに、該基材に形成された参照電極保

持孔、参照電極流路及び第 1 流路を少なくとも含み、

前記基材には、前記物質検出装置の電気化学センサに面するセンサ対向面が形成され、

前記参照電極保持孔は、前記基材の前記センサ対向面以外の部分に形成され、且つ参照電極を挿入・保持することができ、

前記参照電極流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材内部に位置し、

前記参照電極保持孔の先端は、前記参照電極流路の端部以外の箇所であって前記参照電極流路と連通し、

前記第 1 流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材のセンサ対向面で開口部を形成し、

前記参照電極流路の他端と前記第 1 流路は、前記基材内で連通する、参照電極保持部材。

(2) 一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材のセンサ対向面で開口部を形成する第 2 流路、を更に含む、上記 (1) に記載の参照電極保持部材。

(3) 前記第 1 流路は少なくとも 1 以上の分岐流路を含み、

前記第 1 流路から分岐した分岐流路の端部は、前記センサ対向面で開口部を形成する、

上記 (1) 又は (2) に記載の参照電極保持部材。

(4) 前記第 1 流路が 2 以上設けられ、

各々の前記第 1 流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材のセンサ対向面で開口部を形成し、且つ、各々の第 1 流路の内、少なくとも一本は、前記参照電極流路と前記基材内で連通する、

上記 (1) 又は (2) に記載の参照電極保持部材。

(5) 前記センサ対向面に流路が形成されている、

上記 (1) ～ (4) の何れか一に記載の参照電極保持部材。

(6) 参照電極を更に含み、

前記参照電極は導体線であり、前記参照電極保持孔に挿入・保持した時に、前記導体線の少なくとも一部が、前記参照電極流路内に位置する、
上記(1)～(5)の何れかに記載の参照電極保持部材。

(7) 上記(6)に記載の参照電極保持部材、溶液内の物質を電気化学的に検出する電気化学センサ、及び電圧源、
を少なくとも含む物質検出装置。

(8) 参照電極流路及び第1流路に供給する溶液を切り替えるバルブ、
を含む、上記(7)に記載の物質検出装置。

(9) 前記電気化学センサが、電位、電流、インピーダンスの少なくとも1以上を検出できる、
上記(7)又は(8)に記載の物質検出装置。

発明の効果

[0013] 本発明の参照電極保持部材を用いて物質検出装置を作製すると、参照電極は常に同じ環境下におかれ不変な基準電位を提供できるようになる。また、本発明の参照電極保持部材は、参照電極保持孔、参照電極流路及び第1流路の配置を工夫することで、参照電極保持部材をセンサに面するようにセットした状態で参照電極を洗浄することが可能となる。これらの構成を取ることにより、参照電極からガラス管および飽和溶液を排除することができ、参照電極がコンパクトになり物質検出装置の小型化が可能になる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]従来の参照電極の原理を示す図。

[図2]従来用いられている参照電極を示す図。

[図3]従来のフロー系を用いた電気化学計測法を示す図。

[図4]参照電極に泡が付着したときの導通不良を示す図。

[図5] (A) 及び (B) は、本発明において、第1流路が1つある場合の概念図。

[図6] (A) は本発明において第1流路が複数個ある場合の概念図。(B) は

本発明において第 1 流路が複数の分岐流路を有する場合の概念図。(C) は本発明において第 2 流路が複数個ある場合の概念図。(D) は本発明において第 2 流路が複数の分岐流路を有する場合の概念図。

[図7]本発明の実施例を示す図で、(A) は平面図、(B) 及び (C) は断面図、(D) は底面図。

[図8]本発明における参照電極の固定法を示す図。

[図9] (A) 及び (B) は、本発明の溶液の制御法を示す図。

[図10] (A) ~ (C) は、本発明の溶液の流れを示す図。

[図11] (A) は、図面代用写真で、作製した物質検出装置の写真。(B) は、図面代用写真で、作製した参照電極保持部材の写真。(C) は、図面代用写真で、作製した参照電極の写真。

[図12]本発明で用いたプリント回路板の実装法を示す図で、(A) は平面図、(B) は断面図。(C) は、図面代用写真で、作製したプリント回路板の写真、(D) は、図面代用写真で、半導体基板部分の拡大写真。

[図13] (A) 及び (B) は、図面代用写真で、本発明で用いたプリント基板のハンドリング法を示す図。

[図14]本発明の物質検出装置の一例を示す図で、参照電極保持部材とプリント回路板の接続を示す側面図。

[図15] (A) 及び (B) は、図面代用写真で、参照電極保持部材の抑え蓋と半導体基板の接続を示した写真。

[図16] (A) 及び (B) は、半導体基板上にマイクロ流路を組み込む方法を示した図。

[図17] (A) は本発明の物質検出装置を用いた生体物質の検出の 1 例を示した図。(B) は、図面代用写真で、電極部分の顕微鏡写真。

[図18] (A) は、図面代用写真で、第 1 の半導体基板に設けられたセンサアレイを示す写真。(B) は、図面代用写真で、センサアレイの拡大写真。

[図19]本発明の物質検出装置の第 1 の半導体基板の回路構成とインターフェース回路を示す図。

[図20]図面代用写真で、本発明の物質検出装置に用いる、電位、電流、インピーダンスの変化を同時に検出するセンサアレイを集積した第2の半導体基板の写真。

[図21]第2の半導体基板において電位、電流、インピーダンス計測を統合する方法を示した概念図。

[図22]第2の半導体基板の構成を示す図。

[図23]第2の半導体基板を構成する電位センサセルの回路図。

[図24]第2の半導体基板を構成するセンサセルのバイアス回路図。

[図25]第2の半導体基板を構成する電位センサセルの電流電圧特性を示す図。

[図26]第2の半導体基板を構成する電流センサセルの回路図。

[図27]第2の半導体基板のアレイ周辺回路で用いられる電流検出部。

[図28]第2の半導体基板のアレイ周辺回路で用いられるミキサ回路図。

[図29]第2の半導体基板の各要素回路を接続した図。

[図30]第3の半導体基板のチップ写真。

[図31]第3の半導体基板を用いて温度を制御した図。

[図32]第3の半導体基板の構成を示す図。

発明を実施するための形態

[0015] 以下、図面を参照しながら、本発明を望ましい実施の形態に基づいて説明する。なお、本発明は、以下の実施形態に限定されるものではなく、本実施形態を変形した変形例等も本発明の権利範囲に含まれる。

[0016] 図5及び図6は、本発明の物質検出装置の概略を説明する図である。図5(A)は第1流路が1つで、第1流路をサンプル流路として用い、第2流路を廃液流路として用いる場合の構成図である。5A1がサンプル流路（第1流路）、5A2が参照電極流路、5A3が廃液流路（第2流路）、5A4が本発明の参照電極、1A3が半導体基板、5A6が電気化学センサ（半導体集積回路センサ。以下、単に「センサ」と記載することがある。）である。参照電極流路5A2からバッファ液が半導体基板1A3に向かって絶えず流れるため、サンプル流路5A1を

流れるサンプルが参照電極5A4に到達することはない。なお、図5（A）に示す実施形態において、参照電極5A4を洗浄するときには、サンプル流路5A1（第1流路）から参照電極洗浄液を流せばよい。サンプル流路5A1（第1流路）を流れた参照電極洗浄液は、サンプル流路5A1（第1流路）の途中で連通する参照電極流路5A2に流れるので、参照電極5A4を洗浄することができる。その際、参照電極洗浄液が参照電極流路5A2に流れ易くするために、参照電極流路5A2を吸引してもよい。なお、参照電極洗浄液がセンサに流れると、センサが破損することがある。そのため、参照電極洗浄液を流す際には、廃液流路5A3（第2流路）からセンサ5A6に向かってバッファ液を流すことにより、参照電極洗浄液がセンサに流れないようにしてもよい。図5（A）に示す構成の場合、サンプル流路5A1（第1流路）から参照電極洗浄液を流すようにしたが、必ずしもそのような構成にする必要はなく、例えば、サンプル流路5A1（第1流路）と参照電極洗浄液を流す洗浄流路を別々にしてもよい。そして、サンプル液は、サンプル流路5A1（第1流路）を流れて半導体基板1A3上のセンサ5A6に供給されるので、半導体基板1A3と溶液との間の適正な電位の関係を確立することができる。

[0017] 図5（B）は第1流路が1つで、第1流路を廃液流路5A3として用い、第2流路をサンプル流路5A1として用いる場合の構成図である。図5（B）に示す実施形態の場合、サンプル流路5A1（第2流路）からセンサに供給されたサンプル液は、廃液流路5A3（第1流路）から排出する。その際、参照電極流路5A2にはバッファ液が絶えず流れているが、参照電極流路5A2は、廃液流路5A3（第1流路）の途中で連通している。したがって、バッファ液はサンプル液と共に廃液流路5A3（第1流路）に流れることから、廃液流路5A3（第1流路）を流れるサンプルが参照電極5A4に到達することはない。参照電極5A4を洗浄する場合は、バッファ液に代え、参照電極流路5A2に参照電極洗浄液を流せばよい。図5（B）に示す実施形態は、後述するとおり、サンプル液、バッファ液、廃液等の切り替えが簡単になる。そのため、装置の部品点数を少なくすることができ、装置を小型化できる。そして、サンプル液は、サンプル流

路5A1（第2流路）を流れて半導体基板1A3上のセンサ5A6に供給され、廃液流路5A3（第1流路）を流れて廃液されるので、半導体基板1A3と溶液との間の適正な電位の関係を確立することができる。

[0018] 図6（A）は、第1流路（サンプル流路）およびセンサが複数ある場合の構成を示した図である。図6（A）では、サンプル流路5A1（第1流路）を3本設け、各々のサンプル流路5A1（第1流路）の端部は、センサ5A6に面している。参照電極流路5A2は、サンプル流路5A1（第1流路）の少なくとも1本と、流路の途中で連通している。各々のサンプル流路5A1（第1流路）を流れてきたサンプル液はセンサ5A6に供給されるので、参照電極5A4は半導体基板1A3上の溶液を介して全てのサンプル流路5A1と電氣的接続を行うことができる。なお、図6（A）に示す例では、参照電極流路5A2は一本のサンプル流路5A1（第1流路）に連通しているが、参照電極保持部材の基材の中で、全てのサンプル流路5A1（第1流路）と連通するようにしてもよい。参照電極流路5A2からバッファ液が半導体基板1A3に向かって流れるため、サンプル流路5A1を流れるサンプルが参照電極5A4に到達することはない。このように複数の第1流路5A1は、溶液内の複数のセンサ5A6に対し、検出すべき物質を含むサンプル液を供給する流路としての機能を果たす。廃液流路5A3（第2流路）は、センサ5A6に供給されたサンプル液及びバッファ液を排出するための流路としての機能を果たす。図6（A）に示す実施形態では、廃液流路5A3（第2流路）は、各々のセンサ5A6付近に端部を有する分岐流路5A31を含んでいるが、分岐流路5A31は無くてもよい。サンプル流路5A1（第1流路）の数に特に制限は無いが、後述するとおり、サンプル流路5A1（第1流路）は参照電極保持部材の基材の中を通るように形成する。したがって、基材の大きさ、サンプル流路5A1（第1流路）の太さ等を考慮し、基材の強度が維持できる程度の数にすればよい。

[0019] 図6（B）は、サンプル流路（第1流路）が分岐流路を含む場合の構成を示した図である。図6（B）に示す実施形態では、一本のサンプル流路5A1（第1流路）の途中から分岐流路5A11が形成され、各々の分岐流路5A11の他端

がセンサ5A6に面している以外は、図6（A）に示す実施形態と同様である。図6（B）に示す実施形態では、サンプル液を供給するポンプ等の装置が一つであっても、他のセンサ上の化学反応に影響されずにサンプル液を供給することができる。

[0020] 図6（C）は、図5（B）に示す実施形態で、第2流路（サンプル流路5A1）及びセンサ5A6を複数設けた実施形態を示しており、その他の構成は、図5（B）と同様である。

[0021] 図6（D）は、一本の第2流路（サンプル流路5A1）の途中から分岐流路5A11が形成されている以外は、図6（C）に示す実施形態と同じ構成である。

[0022] なお、上記構成において、参照電極は導体線（導線）であるのが望ましいが、これは交換がしやすくなるからである。この場合、参照電極としての導体線（導線）には、例えば金やプラチナの汎用線を用いることができる。このような構成をとることにより、参照電極5A4を物質検出装置内に取り込み電磁シールドが可能となり、ノイズを大幅に減らすことができる。

[0023] 図7は本発明の参照電極保持部材の概略を説明するための図で、図7（A）は平面図、図7（B）及び（C）は図7（A）のA-A断面図、図7（D）は底面図である。図7（A）～（C）に示すように、参照電極保持部材1は、基材7A1、基材7A1に形成された参照電極保持孔7A2、参照電極流路7A3、第1流路7A4を少なくとも含んでいる。

[0024] 基材7A1は、サンプル等と反応しない材料であれば特に制限は無く、ポリカーボネイト、石英、テフロン（登録商標）等が挙げられる。基材7A1には、センサ5A6に面するセンサ対向面7A5が形成されている。参照電極保持孔7A2は、基材7A1のセンサ対向面7A5以外の部分であれば、何処に形成されていてもよい。参照電極流路7A3の一端は、基材7A1のセンサ対向面7A5以外の部分で開口部7A31を形成している。なお、図7（A）～（C）に示すように、開口部7A31はチューブ等に接続し易くするために、参照電極流路7A3の流路幅より大きくしてもよい。また、参照電極流路7A3の他端7A32は、基材7A1の内部に位置している。そして、参照電極保持孔7A2の先端7A21は、参照電極流路7A3の端

部7A31、7A32以外の箇所で、参照電極流路7A3と連通している。そのため、後述する本発明の参照電極を参照電極保持孔7A2に挿入・保持すると、参照電極である導体線の少なくとも一部が参照電極流路7A3内に位置することができる。

[0025] 第1流路7A4は、一端が基材7A1のセンサ対向面7A5以外の部分で開口部7A41を形成し、他端は基材7A1のセンサ対向面7A5で開口部7A42を形成している。開口部7A41は、チューブ等に接続し易くするために第1流路7A4の流路幅より大きくしてもよい。そして、参照電極流路7A3の他端7A32と第1流路7A4は、基材7A1内で連通している。

[0026] また、参照電極保持部材1は、必要に応じて第2流路7A6を含んでいてもよい。第2流路7A6は、一端が基材7A1のセンサ対向面7A5以外の部分で開口部7A61を形成し、他端は基材7A1のセンサ対向面7A5で開口部7A62を形成している。開口部7A61は、チューブ等に接続し易くするために第2流路7A6の流路幅より大きくしてもよい。なお、第2流路7A6を参照電極保持部材1に形成しない場合は、チューブ等を用いて、センサ5A6にサンプル液を供給し、センサ5A6上の廃液を吸液すればよい。

[0027] 参照電極保持部材1には、物質検出装置に螺子等により取り付けするための、取付孔7A7を必要に応じて形成してもよい。参照電極保持孔7A2、参照電極流路7A3、第1流路7A4、第2流路7A6、開口部7A31、7A41、7A61、取付孔7A7は、基材7A1をドリル加工等により形成すればよい。

[0028] 図7(C)は、本発明の参照電極保持部材1の他の実施形態を示す断面図である。図7(C)に示す断面図では、基材7A1にシート部7A8を形成し、シート部7A8にセンサ対向面7A5を形成している。シート部7A8の機能は後述する。そして、第1流路7A4の開口部7A42、第2流路7A6の開口部7A62は、シート部7A8のセンサ対向面7A5に形成すればよい。

[0029] 図7(D)は、本発明の参照電極保持部材1の他の実施形態を示す底面図である。図7(D)に示す実施形態では、センサ対向面7A5に第3流路7A51を形成している。第3流路7A51を形成することで、第1流路7A4の開口部7A42及

び第2流路7A6の開口部7A62からサンプル液等を投入・吸引する際に、サンプル液等の流れる向きを調整し易くなる。第3流路7A51の数、形状の制限は特になく、センサ5A6の数及び配置に応じて適宜調整すればよい。第3流路7A51は、ドリル等で切削して形成すればよい。また、基材7A1又はシート部7A8がP D M S等の柔軟性のある素材の場合は、第3流路7A51に対応する凸部を有するモールドを作製し、転写すればよい。

[0030] 図8は、本発明における参照電極の固定法を示す図である。同図において、8A1は参照電極固定ねじ、5A4は参照電極（導体線）、8A3はOリング、7A2は参照電極保持孔である。図8に示すようにねじの中央に穴をあけ参照電極5A4（導体線）を通し、水漏れ防止用のOリング8A3を通して参照電極保持孔7A2に固定する。参照電極保持孔7A2の先端と参照電極流路7A3は連通しているので、参照電極5A4（導体線）の先端部分は参照電極流路7A3内に位置することができる。そのため、参照電極5A4は参照電極流路7A3内を流れるバッファ液に当接するので、サンプル液等により汚染されることはない。

[0031] 図9（A）は、第1流路7A4をサンプル流路、第2流路7A6を廃液流路として用いる場合の溶液の流れの制御法を示した図である。具体的な溶液の流れは、図10において説明する。同図において、3A2はサンプル液、3A3はバッファ液、9A3は廃液、9A4はバルブ（6方バルブ）、9A5、9A7、9A8はバルブ（3方バルブ）、9A6は参照電極洗浄液、9A9はバッファ液、9A10は廃液、5A4は参照電極、1A3は半導体基板、9A13はサンプル液を計量するチューブである。サンプルはあらかじめ容積の定まったチューブ9A13に収め、サンプルを含まないバッファ液と連続して半導体基板1A3に供給されるようにすることにより、サンプルによる変化量を検出する。

[0032] 図9（B）は、第1流路7A4を廃液流路、第2流路7A6をサンプル流路として用いる場合の溶液の流れの制御法を示した図である。図9（B）に示す実施形態の場合、第2流路7A6はサンプル液を供給できればよい。また、第1流路は、半導体基板1A3上の廃液及び参照電極流路7A3に流されているバッファ液9A9を吸引・廃液できればよい。なお、参照電極5A4を洗浄する場合は、バ

ッファ液9A9に代え、参照電極洗浄液を流せばよい。図9（B）に示す実施形態では、流路の切り替えをシンプル化できるので、3方バルブの個数を少なくできる。したがって、物質検出装置を小型化できる。

[0033] 図10は、図9（A）に示す実施形態の溶液の流れをより具体的に説明するための図である。（なお、図10の符号に示すものは図9の符号に示すものと一致する。）

[0034] 最初に、図10（A）に示すように、サンプルを含む溶液をチューブ9A13に満たすとともに、参照電極洗浄液9A6により参照電極5A4を洗浄する。半導体基板1A3には、第2流路7A6を通してバッファ液9A9が流れるので、参照電極洗浄液9A6が半導体基板1A3に到達することはない。

[0035] 次に図10（B）に示すように、6方バルブ9A4および3方バルブ9A5を切り替え、チューブ9A13に蓄えられたサンプル溶液3A2が第1流路7A4を通して半導体基板1A3に向かって運ばれる。このとき、3方バルブ9A5以降の参照電極洗浄液9A6はバッファ液3A3により押し出される。

[0036] 次に図10（C）に示すように、3方バルブ9A7および9A8を切り替え、バッファ液9A9が参照電極5A4に流れサンプル液3A2が参照電極5A4に到達しないようにする。バッファ液9A9はサンプル液3A2が参照電極5A4に到達するのを防ぐだけでよく、非常にゆっくり送ることにより、サンプルを含む溶液の組成への影響を小さくする。

[0037] 図11（A）は、作製した物質検出装置の全体の写真で、参照電極5A4を含めコンパクトにできている。また、電圧源としてバッテリー駆動を用いることで電源ノイズの低減を図っている。参照電極5A4を含む参照電極保持部材1に金属製の蓋をかぶせることにより、更に、電磁ノイズを減らすことができる。図11（B）は、ドリルを用いてポリカーボネイトを切削して作製した参照電極保持部材1の写真である。図11（B）に示す参照電極保持部材1は、第1流路7A4及び第2流路7A6を夫々一本形成し、各流路のセンサ対向面7A5以外の開口部は幅広に形成し、1/4-28UNF（ユニファイ細目ねじ）の螺子を用いてチューブに接続している。図11（C）は参照電極5A4の写真である。

同図において、8A1は参照電極固定ねじ、5A4は参照電極（金線）、8A3はリングである。なお、図11（B）は図11（A）に示す物質検出装置の一部を拡大した写真であって、図11（B）に示す参照電極保持部材1は、図7に示す参照電極保持部材1に対応する。図11（C）に示す参照電極5A4は、図8に示す参照電極5A4に対応する。

[0038] なお、サンプル液に接触する半導体基板1A3は図12に示すプリント回路板上に設置される。図12（A）、（B）、（D）において、12A1はプリント回路板、1A3は半導体基板、12A3はボンディングワイヤ、12A4、12A5はシリコンシート枠（枠体）、12A6はシリコンペースト、12A7は水漏れ検出用の対電極、12A8はプリント回路板を取り出すための穴（取出部）、12A9は参照電極保持部材1の第1流路7A4の開口部7A42及び第2流路7A6の開口部7A62に面する溶液の出入り位置である。

[0039] 半導体基板1A3をダイボンディングした後、電線12A3によるワイヤボンディングをして電氣的配線を行う。この後、シリコンシート枠12A4、12A5を張り付け、その間にシリコンペースト12A6を流し込むことにより、ボンディングワイヤ12A3を保護する。プリント回路板12A1には溶液の漏れを検出する対電極12A7が設けられている。溶液が漏れたときに対電極間の電気抵抗が下がり、外部に接続したLEDが光ることにより警告を発する。図12（C）はプリント回路板の写真、図12（D）は半導体基板1A3の部分を拡大した写真で、半導体基板1A3、シリコンシート枠12A4、参照電極保持部材1の溶液出入口の位置12A9の位置関係を示す。

[0040] プリント回路板12A1はエッジコネクタと接続されるが、この接続は固く、プリント回路板12A1をはずすのは、ある程度の力を要する。プリント回路板12A1は装置内に固定されるため、その取り外し用に開孔（穴）12A8をプリント回路板の一部に設け、図13に示すピンセット13A1（取出具）を用いる。この場合、プリント回路板の開孔（穴）12A8にピンセット13A1の取出用突起をはめ込んで装着及び取り出すようにする。

[0041] 図14は本発明の物質検出装置1-1の一例を示す図で、参照電極保持部材

1 とプリント回路板12A1の接続を示す側面図である。図14において、12A1はプリント回路板、14A1はプリント回路板12A1を保持するためのプリント回路板保持部、1A3は半導体基板、14A3は磁石、12A4はシリコンシート枠（枠体）、7A8はシート部、1は参照電極保持部材、14A7は参照電極保持部材1の抑え蓋（支持部材）、14A8は参照電極保持部材1の合わせピン、14A9はばね（弾性部材）、14A10は密着用のシリコンシート（シート材）、14A11は参照電極保持部材1の固定ステンレス板、14A2は合わせピン14A8を挿入するためのピン挿入孔である。なお、図14に示す例では、固定ステンレス板14A11を介して参照電極保持部材1と半導体基板1A3が対向するように取り付けられているが、参照電極保持部材1を直接半導体基板1A3に対向するように取り付けてもよい。

[0042] 参照電極保持部材1はステンレス板14A11に固定され、ステンレス板には位置決め用のピン14A8およびばね14A9が設けられている。参照電極保持部材1の下面にはシート部（シリコンシート製）7A8が形成されている。そのため、プリント回路板12A1に固定された半導体基板1A3上のシリコンシート12A4と密着することにより水漏れを防ぐ。蓋14A7はシリコンシート14A10を通してステンレス板を抑える。

[0043] 図15は参照電極保持部材1の抑え蓋14A7と半導体基板の接続を示した写真である。図15（A）のように蓋取り付けねじ15A1を締め付けると参照電極保持部材と半導体基板が密着する。図15（B）のように蓋取り付けねじを緩めると、ばね14A9により参照電極保持部材が半導体基板と離れ、プリント回路板の取り外しが可能となる。

[0044] 半導体基板1A3上にPDMS（ポリジメチルシロキサン、以下単に「PDMS」と記載する。）を用いた流路を形成した場合の構成図を図16に示す。図16において、12A4はシリコンシート枠、1A3は半導体基板、16A3はPDMS保持台、16A4はPDMSである。

[0045] 半導体基板1A3表面は洗浄したり、界面処理をしたり、分子をあらかじめ吸着する等の処理をおこなうことが多く、図16（A）のようにPDMSを固定せ

ずに半導体基板1A3の表面全体を開放することが望ましい。一方、後述するとおり、半導体基板1A3上には多数の電極を形成することから、個々の電極にサンプル液が流れ易くする必要がある。そのため、半導体基板1A3の表面を層状にして、流路を形成してもよい。図16(B)は、流路を形成する場合の断面模式図である。流路を設けたPDMS 16A4は図16(B)の断面模式図に示すように、PDMS支持台となるPDMS保持台16A3に固定し、半導体基板1A3の表面と密着させる方法をとる。このとき、PDMS 16A4と半導体基板1A3の密着性を良くするには、シリコンシート枠12A4とPDMS 16A4とは接しないようにすることが望ましい。なお、流路を設けたPDMS 16A4を半導体基板1A3の表面に被せる場合、図12(D)に示す12A9の位置でPDMS 16A4に孔をあける。そうすると、参照電極保持部材1の第1流路7A4の開口部7A42及び第2流路7A6の開口部7A62とPDMS 16A4の孔が相對するので、半導体基板1A3とPDMS 16A4とで形成した流路にサンプル液を導入し、排出することができる。第1流路又は第2流路を複数本形成する場合は、PDMS 16A4にも対応する箇所に、複数の孔を形成すればよい。

[0046] 図17は本発明の物質検出装置を用いた生体物質の検出の1例を示した図で、図17(A)は断面模式図、図17(B)は電極部分の顕微鏡写真である。図17において、17A1は検出対象分子、17A2はビーズ、17A3はプローブ分子、17A4は自己組織化単分子膜、17A5は電極、17A6はポリイミド、17A7はSU-8（ネガティブフォトリソグレイスの一種であり、以下単に「SU-8」と記載する。）、17A8はPDMS、1A3は半導体基板である。

[0047] 半導体基板1A3には集積回路が形成され、最上層の配線層には金、銀、白金等の金属、又はダイヤモンド、シリコン等の半導体で作製した電極17A5が形成されることで、電気化学センサが形成される。前記金属の中で、金はイオン化傾向が低く、溶液に接しても安定な金属であるので、電極として金を用いることが望ましい。半導体基板1A3の表面は保護膜としてポリイミド17A6およびSU-8のマイクロ流路17A7が設けられ、その上に比較的大きな流路を形成したPDMS17A8が密着される。電極17A5の汚染を防ぐため、電極17A5上に自己

組織化単分子膜17A4を設ける。SU-8 17A7によりセンサ上にトレンチを形成し、酵素や抗体、プライマー等の検出分子17A3を直径10ミクロン程度のビーズに固定し、トレンチ内に入れる。検出対象分子17A1はビーズ17A2上のプローブ分子17A3と化学反応を起こし、その結果を電位の変化として検出する。

[0048] ビーズ17A2は磁気ビーズを用いると磁石により半導体基板1A3の表面に近づけることができ、検出信号が増大する。図14に示す物質検出装置では半導体基板1A3の直下に磁石14A3が挿入できるようになっている。ビーズ17A2が電極17A5を覆うと化学反応物質が電極17A5に供給されなくなる弊害がある。これを避けるために、図17(B)に示すように、トレンチの中心と電極17A5の中心をずらしている。

[0049] 上記の電気化学センサの構成を用いて血液中のグルコースを検出した結果が、次の文献に報告されている。(H. Komori, K. Niitsu, J. Tanaka, Y. Ishige, M. Kamahori, and K. Nakazato, "An Extended-Gate CMOS Sensor Array with Enzyme immobilized Microbeads for Redox-Potential Glucose Detection", BIOCAS, 2014、及び、H. Anan, M. Kamahori, Y. Ishige, and K. Nakazato, "Redox-potential sensor array based on extended-gate field-effect transistors with-ferrocenylalkanethiol-modified gold electrodes," Sensors and Actuators B: Chemical, 187, 254-261, 2013)

[0050] そこでは、プローブ分子17A3としてヘキソキナーゼ、Glucose-6-phosphate dehydrogenase、Diaphoraseの3酵素が1つのビーズ17A2にアビジン-ビオチン結合を用いて固定され、自己組織化単分子膜17A4として11-FUTを用いている。

[0051] 図18(A)は第1の半導体基板1A3に設けられたセンサアレイを示す写真で、図18(B)はSU-8 17A7を形成する前のセンサアレイの拡大写真である。この回路では64×64個のセンサがアレイ上に並び、同時並行して4096種類の反応による電位の変化を検出することができる。図18(A)及び(B)において、18A1はセンサアレイ、17A5は電極である。

[0052] 図19は、本発明の物質検出装置の第1の半導体基板と外部インターフェース回路の構成を示す。図19において、1A3は半導体基板、17A5は電極、18A1はセンサアレイ19A4は出力バッファ、19A5は校正用切り替えスイッチセンサ回路である。19A3には特許文献1の電位検出型センサが用いられている。信号はバッファ回路19A4を通して出力しているが、バッファ回路以降の誤差を補正するため、スイッチ19A5により外部から電圧を加えてその結果を測定し、誤差を1/10以下に低減している。

[0053] 図20は、本発明の物質検出装置に用いる、電位、電流、インピーダンスの変化を同時に検出するセンサアレイを集積した第2の半導体基板の写真である。図20において、20A1はYデコーダ、20A2はヒーター、20A3は温度計、20A4はYアドレスバッファ、20A5は電流積分器、20A6はアナログーデジタル変換器とパラレル入カーシリアル出力シフトレジスタ、20A7は温度計のプリアンプ、20A8はセンサセル、20A9はクロック発生回路である。

[0054] 基板には電位、電流、インピーダンスを検出するセンサセル20A8が、32×32の1024個としてアレイ状に並ぶ。また、基板には、Yデコーダ20A1、Yアドレスバッファ20A4、電流積分器20A5、アナログーデジタル変換器とパラレル入カーシリアル出力シフトレジスタ20A6、クロック発生回路20A9が集積されている。更に、基板には、温度を制御するために配線（ヒータ）20A2、温度計20A3、温度計のプリアンプ20A7が集積されている。

[0055] 化学反応の時間は通常数ミリ秒の長さで、これは集積回路の処理時間の6桁長い。検出時間を高速に行う利点はなく、長い時間を有効に使って精度を向上することが有効である。精度を高める方法として、単発の信号を用いるのではなく、積算した信号を用い信号を平均化する。電流は電荷量の時間微分

であるので、キャパシタに電荷として蓄えることにより、電流の積算を行うことができる。電位を積算するには、一旦、電流に置き換え、キャパシタに電荷として蓄える。

[0056] 図 2 1 に電位、電流、インピーダンスの検出法を示す。同図において、センサセル、アレイ周辺回路を備える。センサセルは電圧電流変換回路、電圧固定電流検出回路を備える。アレイ周辺回路はミキサ、電流積分回路、アナログーデジタル変換回路を備える。

[0057] インピーダンスは交流の電流であり、ミキサにより平滑化する。その後のキャパシタを用いた積算はローパスフィルタの役割をする。電位はセンサセル内で電流に変換してアレイ周辺回路で積算する。この構成をとることにより、電位、電流、インピーダンスの信号を 1 つのアレイ周辺回路で処理することができる。

[0058] 図 2 2 に半導体集積回路の構成を示す。センサ回路 22A3 は次に述べる電圧電流変換回路もしくは電圧固定電流検出回路のいずれかを用いる。検出信号はアナログーデジタル変換によりデジタル信号として出力する。アナログーデジタル変換回路としては、デュアルスロープ型や電流モード $\Delta - \Sigma$ 方式等を用いる。

[0059] 図 2 3 は電圧電流変換型のセンサセルの回路図であり、定電圧 B_{pp} 、 B_{Bp} は図 2 4 のセルバイアス回路により供給される。検出電圧の範囲を 3 倍に広げるため、2 段のソース縮退の電界効果型トランジスタ M_{23N2} 、 M_{23N3} 、 M_{23N4} 、 M_{23N5} を設けている。電界効果型トランジスタ M_{23N7} は、センサのトランジスタ M_{23N1} のドレイン電圧を固定するために、電界効果型トランジスタ M_{23N6} はトランジスタ M_{23N7} を飽和領域で動作させるためのものである。この回路の利点は入力電圧 V_{IN} が大きくなっても、電界効果型トランジスタ M_{23P1} 、 M_{23P4} 、 M_{23N6} 、 M_{23N1} 、 M_{23N2} 、 M_{23N4} を流れる電流が、電界効果型トランジスタ M_{23P2} 、 M_{23P5} 、 M_{23N7} 、 M_{23N3} 、 M_{23N5} を流れる電流以上にはならないことである。これにより定電圧 B_n により回路の消費電力の上限を設定できる。

[0060] 図 2 5 は図 2 3 の回路の電流電圧特性の測定結果である。IBC は出力 BC の電

流、IDDは回路全体に流れる電流である。a、b、c、d、e、fはそれぞれBnの電圧2V、1.8V、1.6V、1.4V、1.2V、1Vに対応している。Bnの電圧を1.6Vに設定することにより2V近い広い検出範囲を得るとともに、VINが高くなっても回路の電流に2uAの上限を設定することができる。

[0061] 電圧電流変換回路ではトランジスタの閾値ばらつきの影響を受ける。閾値のばらつきを校正するため、図23の回路においてトランジスタM23N9を設けている。

[0062] 図26は電位を固定した状態で電流を検出する電流センサの回路図である。これらセンサセルからの電流信号を受けるアレイ周辺部の電流受信部を図27に示す。電流入力部I_{in}の電位を固定した状態で電流を移すoutの電位を得ている。

[0063] 図28は電流のミキサ回路である。M23P1、M23P3を流れる電流とM23P2、M23P4を流れる電流の差と信号Qの積をの電流をI_{out}に出力する。信号Qはロジック信号であるため振幅が大きくクロックフィールドスルーの影響が大きい。これを緩和するため、カスコード・トランジスタM28P1、M28P2および折り返しカスコード接続M28P5、M28P6、M28P7、M28P8、M28N5、M28N6、M28N7、M28N9のオペレーショナルトランスコンダクタンスアンプの構成をとる。

[0064] 図29はこれらの回路を接続した図である。図29において、29Aは交流信号源（交流電源）、29A2は位相シフター、29A21、29A22、29A23はインバータ回路、29A3はサンプル・ホールド切り替えスイッチ（スイッチ・切替手段）、29A4はキャパシタ放電スイッチ（スイッチ・切替手段）、29A7はキャパシタ放電用電流源、29A5はキャパシタ、29A6はオペアンプである。

[0065] センサセルからの出力電圧はミキサを通した後に、キャパシタ29A5に電荷として蓄えられる。電荷量リセットするには、定電流源29A7によりキャパシタの電荷をオペアンプ29A6の電圧がGNDレベルになるまで引き抜く。スイッチ29A3はオペアンプの出力電圧をホールドするためのものである。

[0066] オペアンプの動作電圧は有限であり、オペアンプの出力電圧の上限と下限を設定し、上限もしくは下限に達したときに、キャパシタの電荷を放電する

とともに、その回数をカウントすることにより、センサのダイナミックレンジを大きくすることができる。

[0067] また、図20の半導体集積回路はセンサアレイの上下にミキサー、電流積分回路、アナログーデジタル変換器とパラレル入力ーシリアル出力シフトレジスタを配している。これにより、片方が検出信号を出力している間に片方が信号を積算することができ、積算時間を2倍とることが可能になる。

[0068] 以上は電位、電流、インピーダンスの変化により生体物質を検出する半導体集積回路であるが、生体物質の制御も半導体基板上で行うことができる。図30は任意の場所に任意の電位を記憶して電極に印可する半導体集積回路の写真で温度制御と電気泳動により生体物質を制御しながら電気化学計測をおこなうことができる。

[0069] 温度はPCRにみられるように分子の増幅を行うことができる。また、検出信号の精度を高めるには温度の制御が有効である。サンプル液とバッファ液を交互に半導体基板に供給した場合、2つの溶液に温度差があると、温度差による信号の変化が加わることになる。これを除去するためには、センサ前にチップ上で溶液の温度を一定にすることが有効である。図31は半導体基板上のヒーターと温度計を用いて基板上の温度を制御した結果で正確に温度が制御できることを示している。図30において、30A1はヒーター、30A2は温度計、30A3は電圧印可用セルおよびセンサセルのアレイ、30A4は電圧印可用電極である。

[0070] 図32は図30の半導体集積回路の構成を示した図である。アナログメモリ32A31に保持された電位が電極32A21に印可される。アナログメモリはサンプルホールド回路からなり、 I_pF のキャパシタを用いおおよそ10秒間、電位を保持することができる。長時間、電位を保持するには、リフレッシュ動作を行い、サンプリング時に電位が変化しないようにマスター・スレーブ構成をとることが有効である。

[0071] 電位は、X addressを変えてvoltage bufferに一行分逐次記憶された後、Y addressで指定した列に移される。これにより、アレイのすべての電極に任意

の電圧を印可することができる。

[0072] 生体分子の分析において電気泳動は標準的に用いられている方法であるが、10cmの距離に1000V近い電圧を印可して行う。これを半導体基板で行う場合、電極距離は100ミクロンに縮小され、同じ電界をえるのに1Vで済む。

[0073] 電位を保つには光電流を抑える必要があり、遮光環境が必要で、光学的検出法を用いることができない。このため生体物質を検出するには、電氣的検出法しか用いることができず、半導体集積回路上には、電位を検出する電極32A22、32A23と電位検出センサセル32A32、32A33が設けられている。センサ回路は図20で用いた電位、電流、インピーダンスを統合することも可能である。

[0074] 以上、上記した実施例の発明によれば、溶液の電氣的基準を定める参照電極5A4を用いて、溶液と接したセンサ5A6により電気化学的に溶液内の物質を検出する物質検出装置において、溶液内と接したセンサ5A6に対し、検出すべき物質を含むサンプル液を供給するサンプル流路5A1と、参照電極5A4に対しサンプル液の到達を阻止するためのバッファ液を供給するとともにバッファ液をセンサ5A6に供給する参照電極流路5A2と、センサ5A6を通過したサンプル液及びバッファ液を排出する廃液流路5A3を備えるので、サンプル流路を流れる溶液内のサンプルが参照電極5A4に到達することはない。

[0075] なお、この実施例の場合、複数のサンプル流路5A1のうちの1つのサンプル流路5A1において、センサ5A6に向かう流路の途中で参照電極流路5A2が合流する構成となっているので、参照電極5A4はセンサ5A6と離れた構成をとりやすく、参照電極が汚染されにくい構成となる。

産業上の利用可能性

[0076] 本発明の半導体集積回路センサを利用する物質検出装置は、操作性の高い高感度の電気化学計測方法を提供するとともに、DNA、生体分子等の物質を容易かつ大量に検出することができ、医療・健康・環境等の生命科学の分野における革新的な検査診断法としてライフイノベーションを創出するものである。また、この物質検出装置は、高品質の半導体集積回路を用いたセン

サチップを用いることで高精度の検査を可能にするとともに、大量のセンサチップを医学・薬学・化学等のバイオ系業界に供給することで、操作性の高い高感度な検査を容易に行えることができ、人類の福祉に多大に貢献しえるものである。

符号の説明

[0077] 1…参照電極保持部材、1-1…物質検出装置、1A1…従来の参照電極、1A2…溶液、1A3…電子回路（半導体集積回路）、1A4…電圧源、V1…溶液の基準電位、V2…電子回路の基準電位（通常、グランド電位）、2A1…導体線、2A2…ガラス管、2A3…飽和溶液、2A4…コルク、2A6…溶液への飽和液の拡散、3A1…シリンジ、3A2…サンプル液、3A3…バッファ液、3A4…流路切り替えバルブ、3A8…電線、3A10…流路ジョイント、4A1…気泡、5A1…サンプル流路、5A2…参照電極流路、5A3…廃液流路、5A4…参照電極、5A6…電気化学センサ、7A1…基材、7A2…参照電極保持孔、7A3…参照電極流路、7A4…第1流路、7A5…センサ対向面、7A6…第2流路、7A7…取付孔、7A8…シート部、7A21…参照電極保持孔の先端、7A31…開口部、7A32…参照電極流路の他端、7A41…開口部、7A42…開口部、7A51…第3流路、7A61…開口部、7A62…開口部、8A1…参照電極固定ねじ、8A3…Oリング、9A3…廃液、9A4…6方バルブ（バルブ）、9A5, 9A7, 9A8…3方バルブ（バルブ）、9A6…参照電極洗浄液、9A9…バッファ液、9A10…廃液、9A13…サンプル液を計量するチューブ、12A1…プリント回路板、12A3…ボンディングワイヤ、12A4, 12A5…シリコンシート枠、12A6…シリコンペースト、12A7…水漏れ検出用対電極、12A8…プリント回路板を取り出すための穴、12A9…溶液ホルダの溶液出入り位置、13A1…プリント回路板を取り出すのに用いるピンセット、14A1…プリント回路板保持部、14A2…ピン挿入孔、14A3…磁石、14A4…シリコンシート枠、14A7…参照電極保持部材1の抑え蓋、14A8…参照電極保持部材1の合わせピン、14A9…ばね、14A10…密着用のシリコンシート（シート材）、14A11…固定ステンレス板、15A1…蓋取り付けねじ、16A3…PDMS保持台、16A4…PDMS、17A1…検出対象分子、17A2…ビーズ、17A3…プローブ分子、17A4…自己組織化単分子膜、17A5…電極

、17A6…ポリイミド、17A7…SU-8、17A8…PDMS、18A1…センサセルアレイ、19A4…出力バッファ、19A5…校正用切り替えスイッチ、20A1…Yデコーダ、20A2…ヒーター、20A3…温度計、20A4…Yアドレスバッファ、20A5…電流積分器、20A6…アナログーデジタル変換器とパラレル入力ーシリアル出力シフトレジスタ、20A7…温度計のプリアンプ、20A8…センサセル、20A9…クロック発生回路、22A3…センサ回路、 M_{aNb} (a, bは数字) …NMOS型電界効果型トランジスタ、 M_{aPb} (a, bは数字) …PMOS型電界効果型トランジスタ、29A1…交流信号源、29A2…位相シフター、29A21, 29A22, 29A23…インバータ回路、29A3…サンプル・ホールド切り替えスイッチ、29A4…キャパシタ放電スイッチ、29A7…キャパシタ放電用電流源、29A5…キャパシタ、29A6…オペアンプ、30A1…ヒーター、30A2…温度計、30A3…電圧印可用セルおよびセンサセルのアレイ、30A4…電圧印可用電極、32A31…アナログメモリ、32A22, 32A23…電位を検出する電極、32A32, 32A33…電位検出センサセル

請求の範囲

- [請求項1] 溶液の電氣的基準を定める参照電極を用いて、溶液内の物質を電気化学的に検出する物質検出装置に用いる参照電極保持部材であって、
- 前記参照電極保持部材は、基材、並びに、該基材に形成された参照電極保持孔、参照電極流路及び第1流路を少なくとも含み、
- 前記基材には、前記物質検出装置の電気化学センサに面するセンサ対向面が形成され、
- 前記参照電極保持孔は、前記基材の前記センサ対向面以外の部分に形成され、且つ参照電極を挿入・保持することができ、
- 前記参照電極流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材内部に位置し、
- 前記参照電極保持孔の先端は、前記参照電極流路の端部以外の箇所 で前記参照電極流路と連通し、
- 前記第1流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材のセンサ対向面で開口部を形成し、
- 前記参照電極流路の他端と前記第1流路は、前記基材内で連通する、
- 参照電極保持部材。
- [請求項2] 一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材のセンサ対向面で開口部を形成する第2流路、
- を更に含む、請求項1に記載の参照電極保持部材。
- [請求項3] 前記第1流路は少なくとも1以上の分岐流路を含み、
- 前記第1流路から分岐した分岐流路の端部は、前記センサ対向面で開口部を形成する、
- 請求項1又は2に記載の参照電極保持部材。
- [請求項4] 前記第1流路が2以上設けられ、
- 各々の前記第1流路は、一端が前記基材のセンサ対向面以外の部分で開口部を形成し、他端は前記基材のセンサ対向面で開口部を形成し

、且つ、各々の第1流路の内、少なくとも一本は、前記参照電極流路と前記基材内で連通する、

請求項1又は2に記載の参照電極保持部材。

[請求項5] 前記センサ対向面に流路が形成されている、

請求項1～4の何れか一項に記載の参照電極保持部材。

[請求項6] 参照電極を更に含み、

前記参照電極は導体線であり、前記参照電極保持孔に挿入・保持した時に、前記導体線の少なくとも一部が、前記参照電極流路内に位置する、

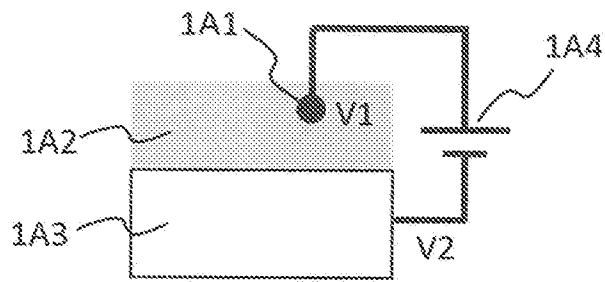
請求項1～5の何れか一項に記載の参照電極保持部材。

[請求項7] 請求項6に記載の参照電極保持部材、溶液内の物質を電気化学的に検出する電気化学センサ、及び電圧源、
を少なくとも含む物質検出装置。

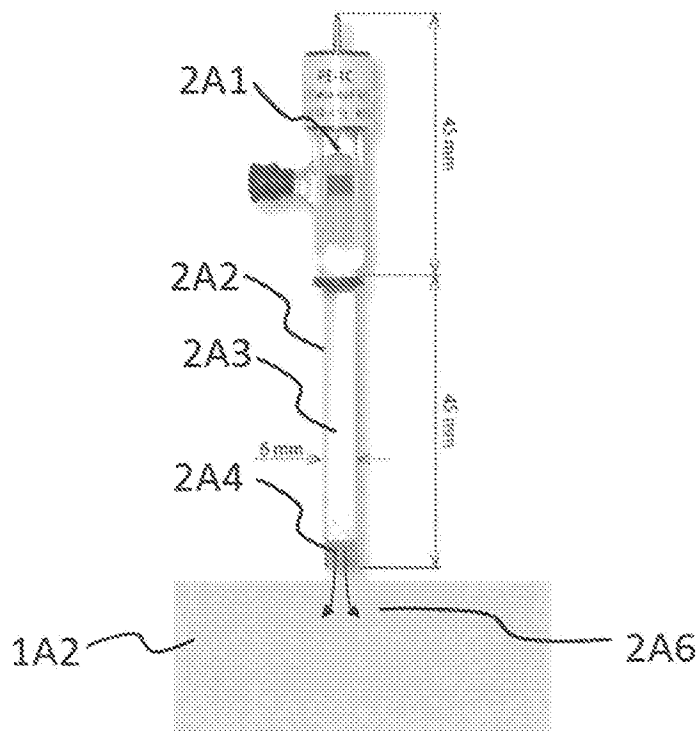
[請求項8] 参照電極流路及び第1流路に供給する溶液を切り替えるバルブ、
を含む、請求項7に記載の物質検出装置。

[請求項9] 前記電気化学センサが、電位、電流、インピーダンスの少なくとも1以上を検出できる、
請求項7又は8に記載の物質検出装置。

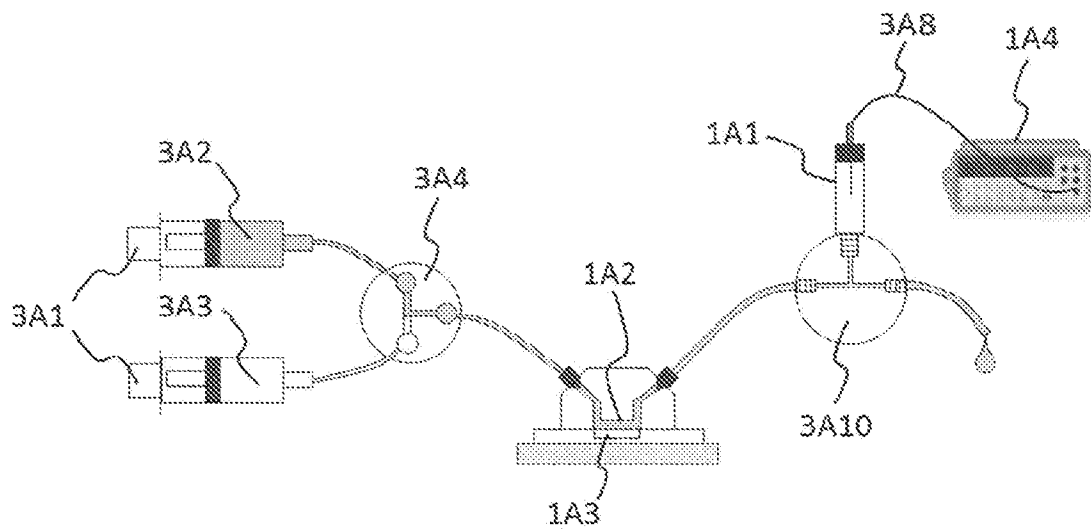
[図1]



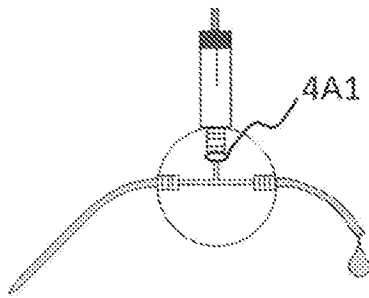
[図2]



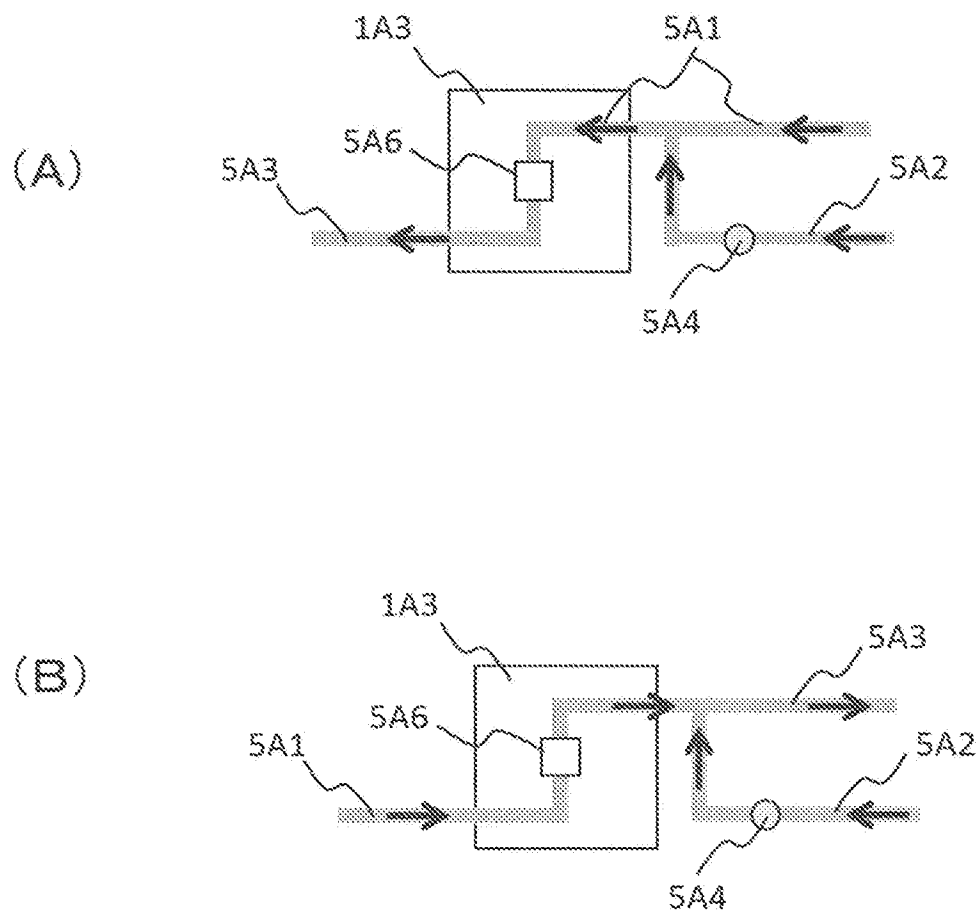
[図3]



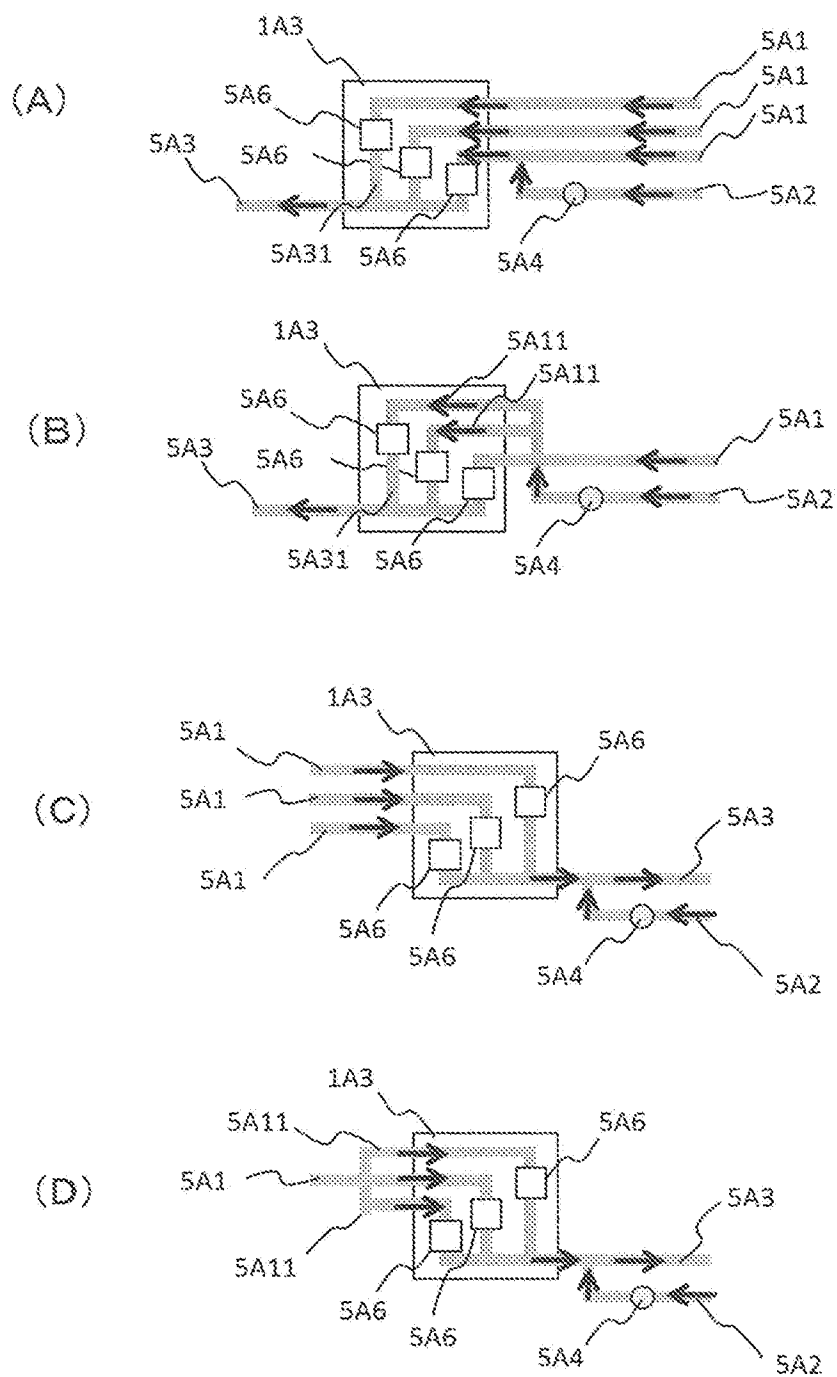
[図4]



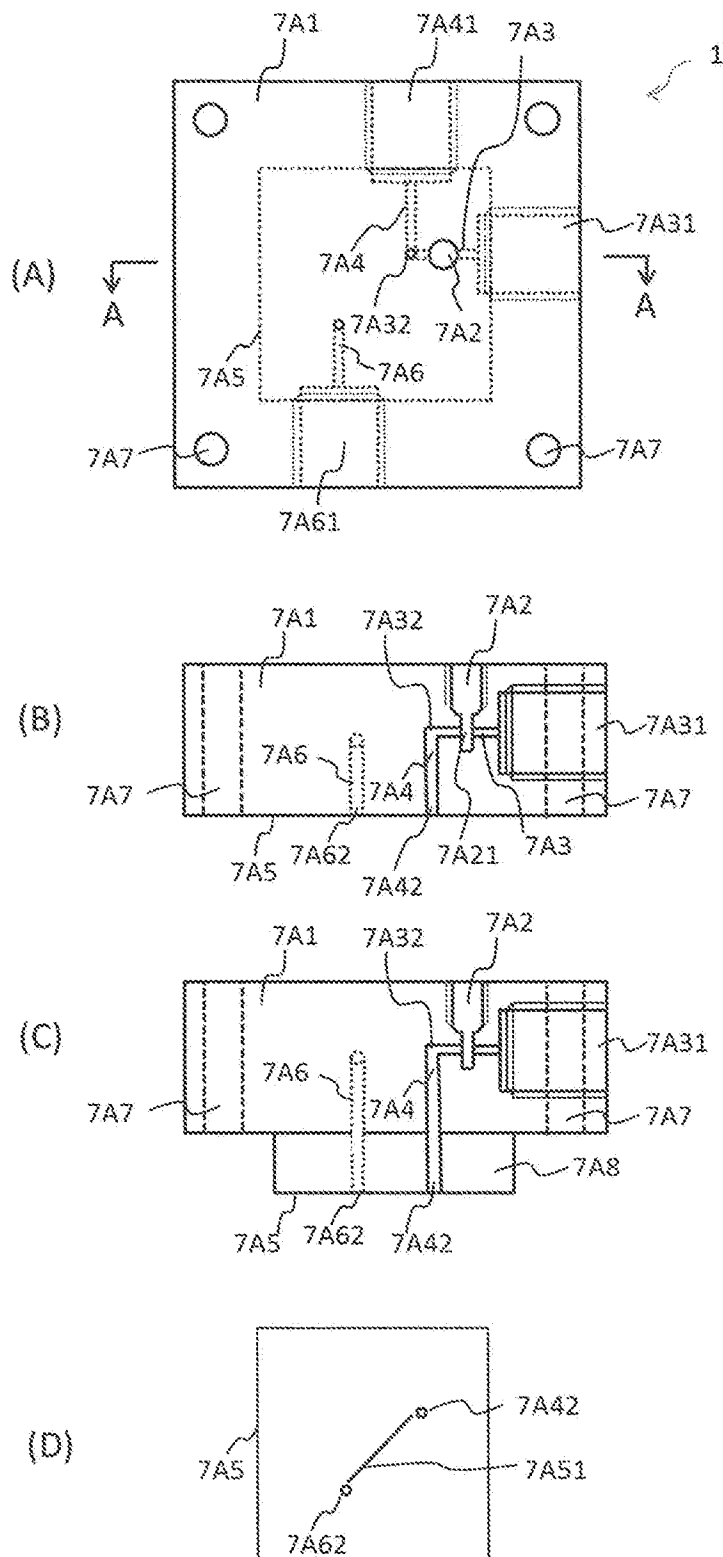
[図5]



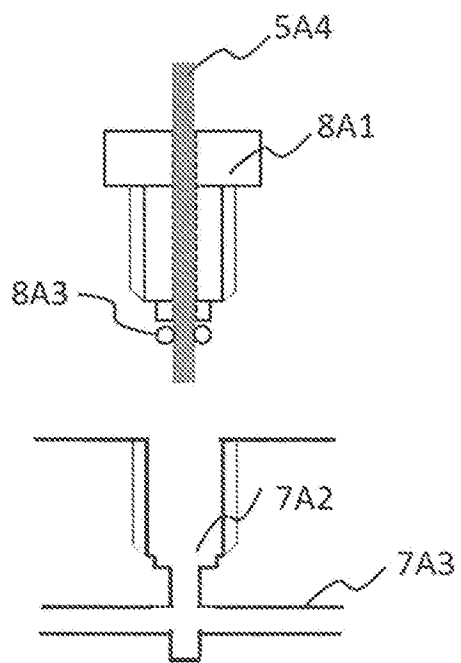
[図6]



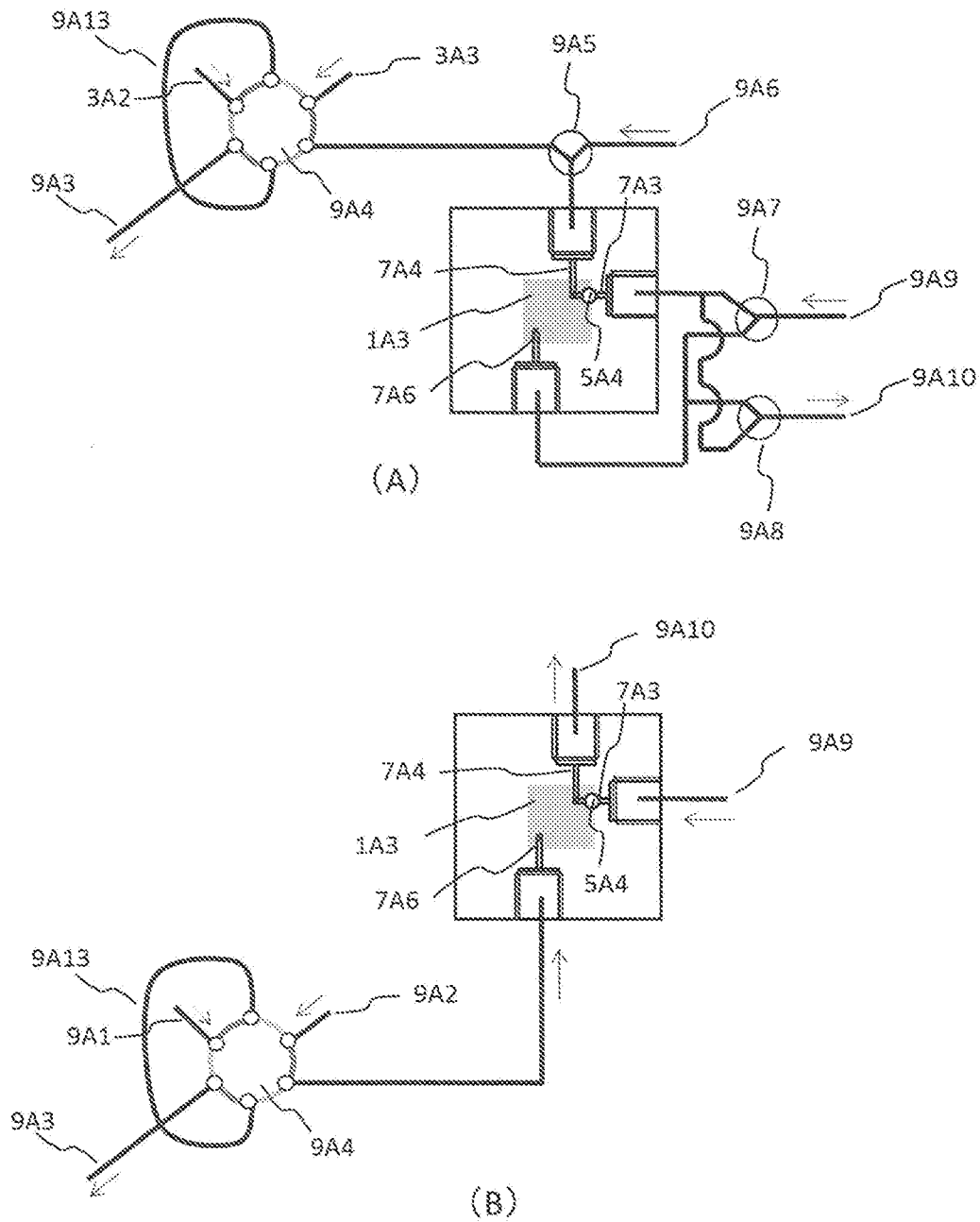
[図7]



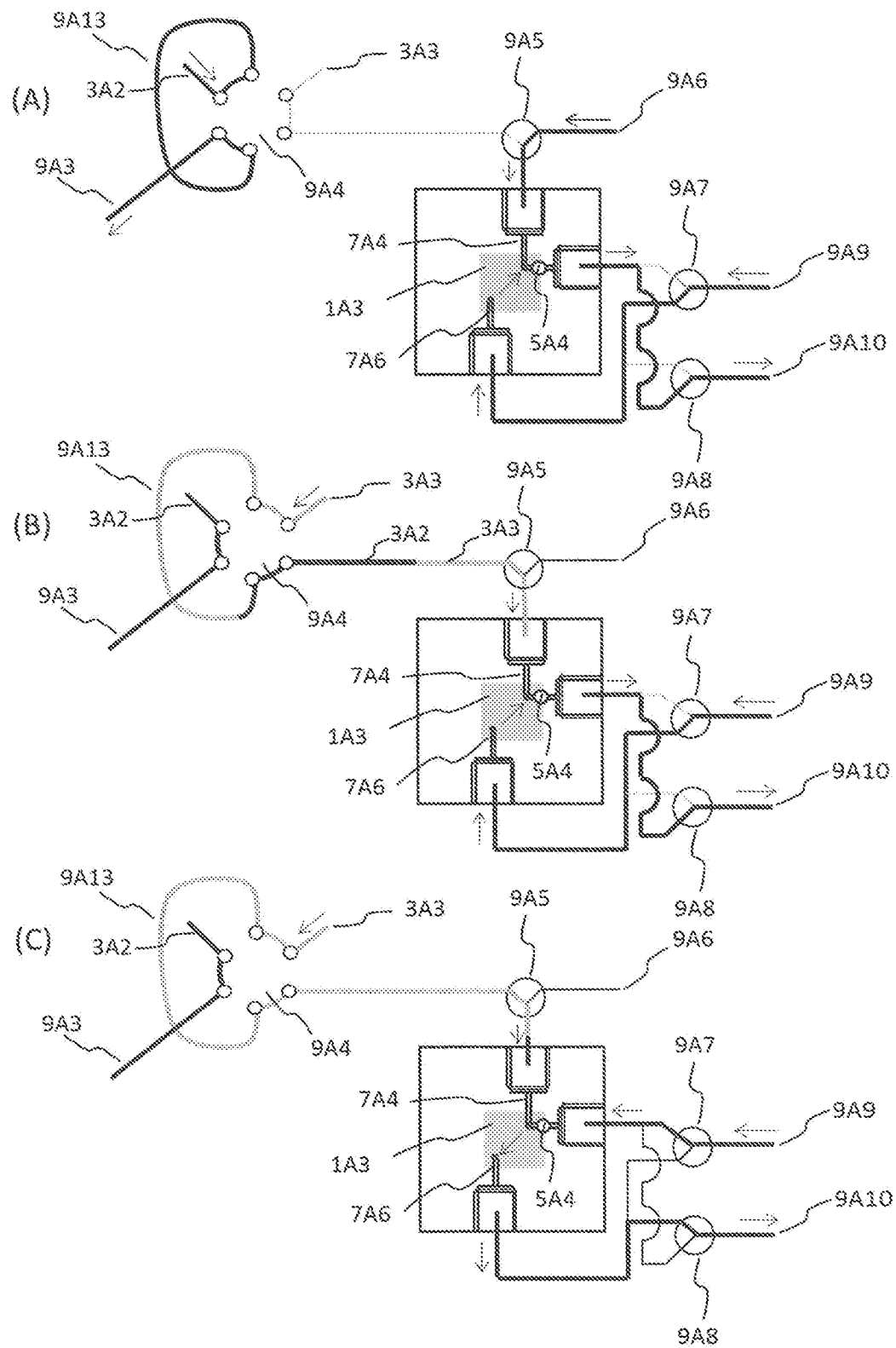
[図8]



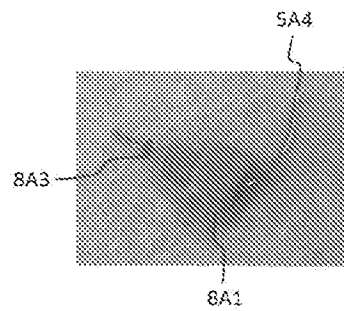
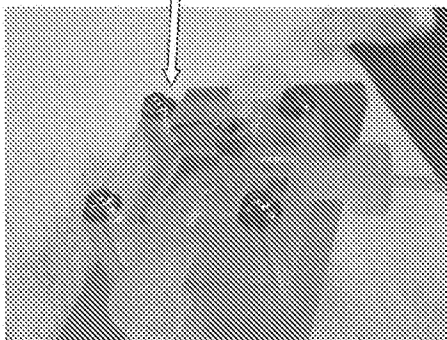
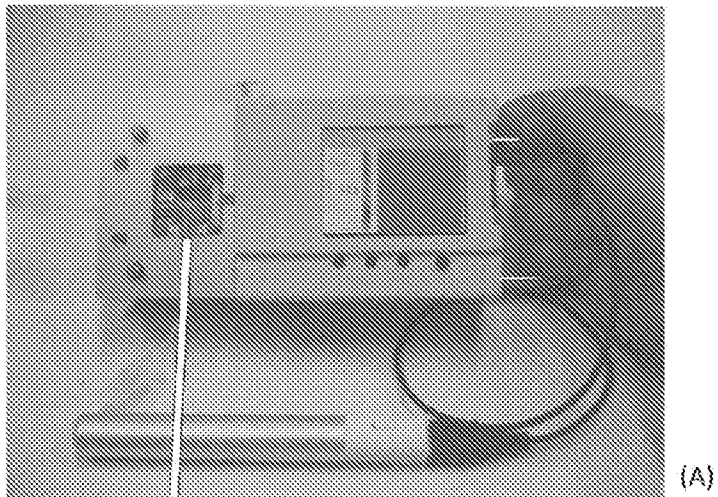
[図9]



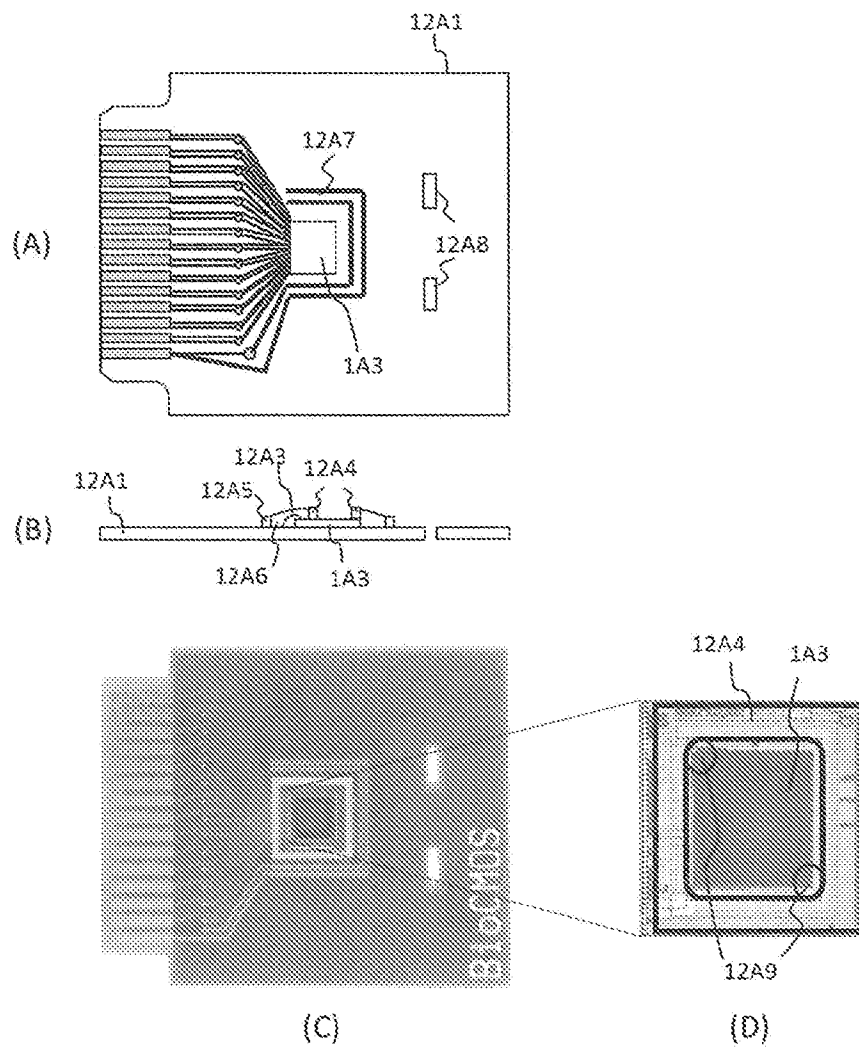
[図10]



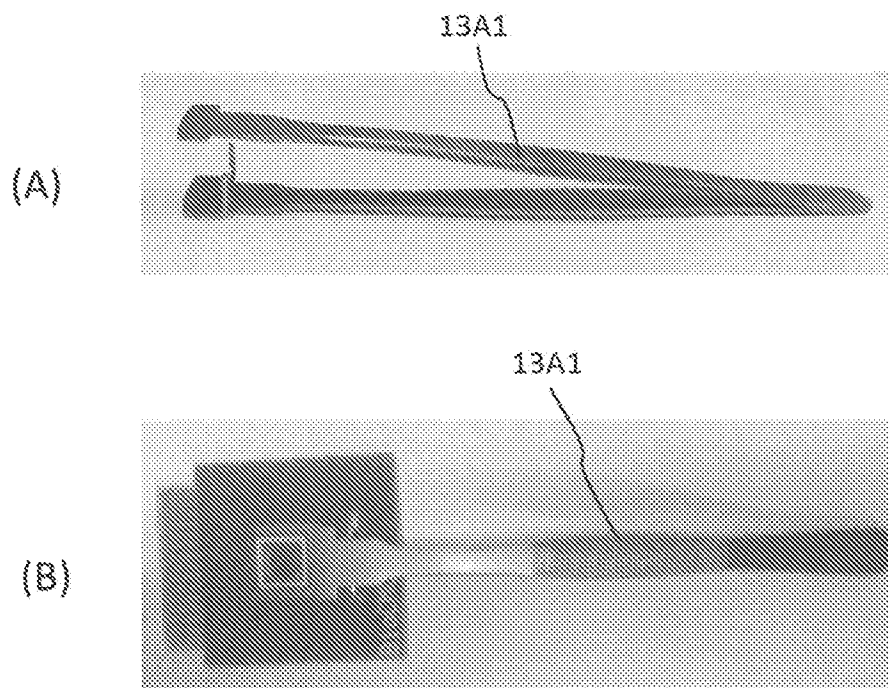
[図11]



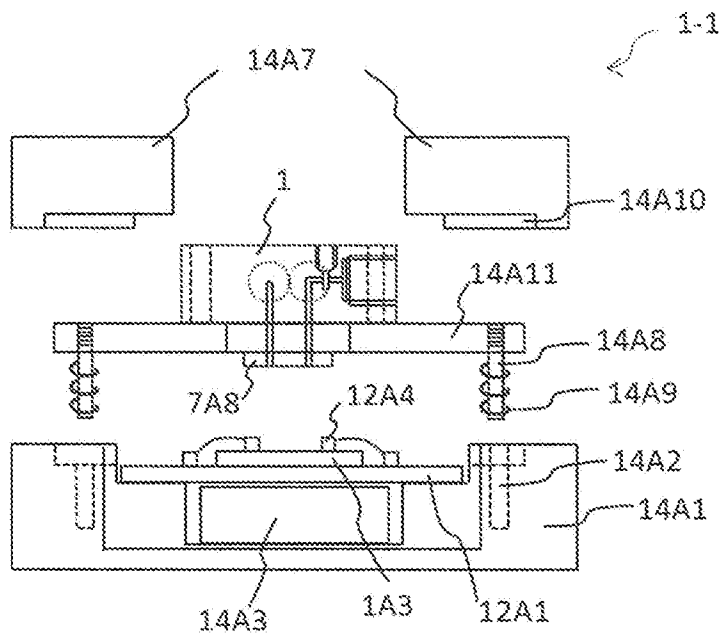
[図12]



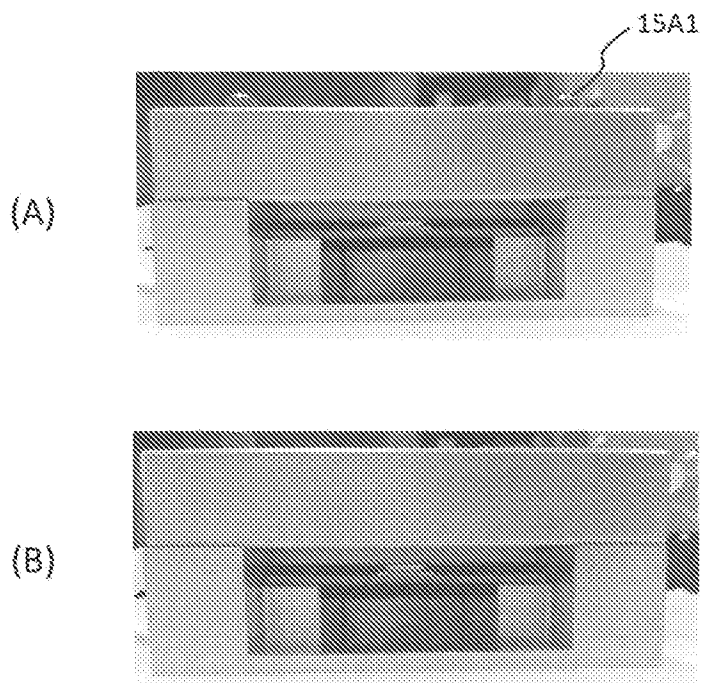
[図13]



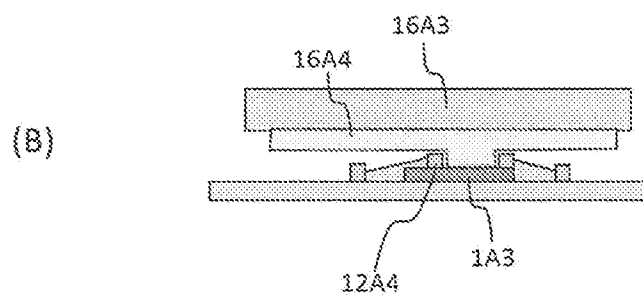
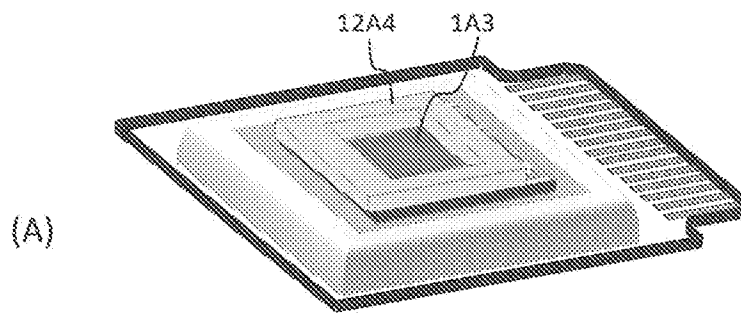
[図14]



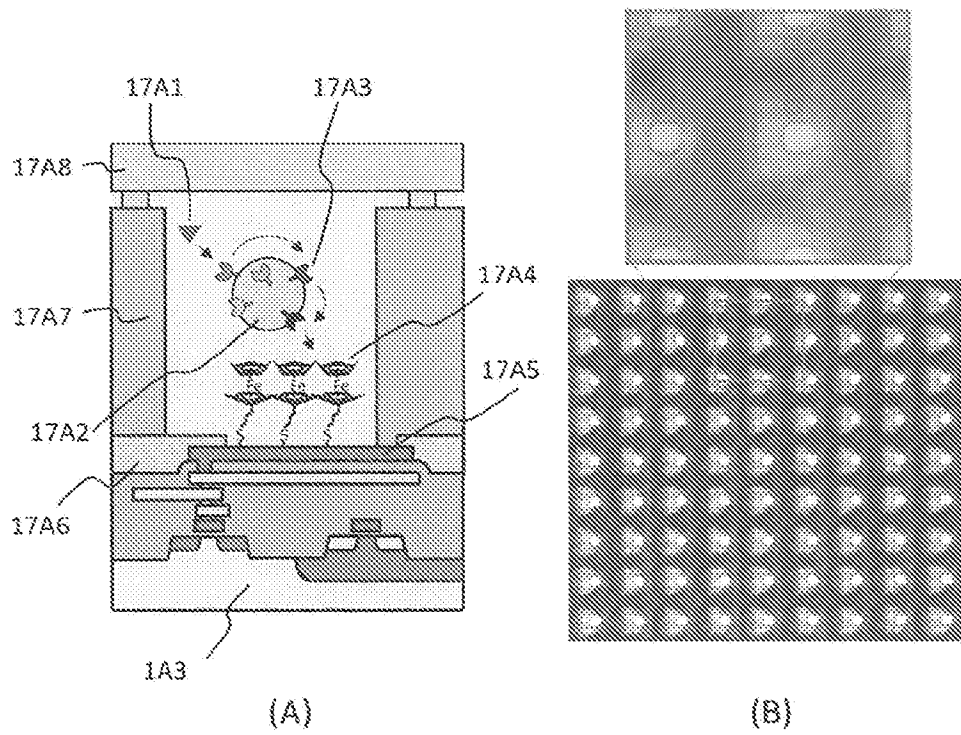
[図15]



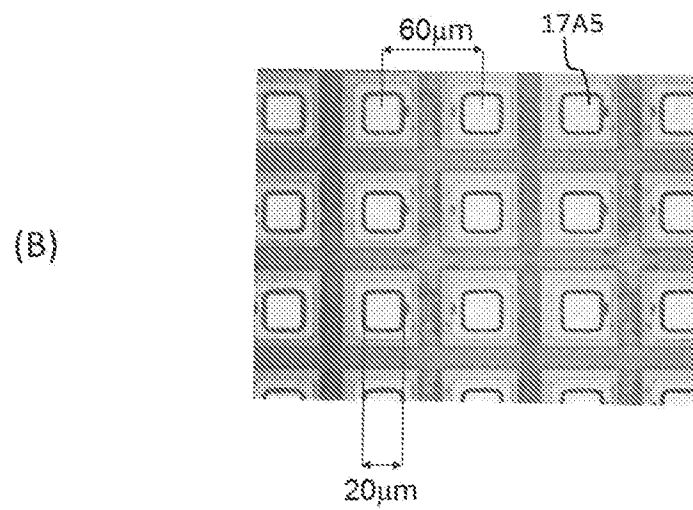
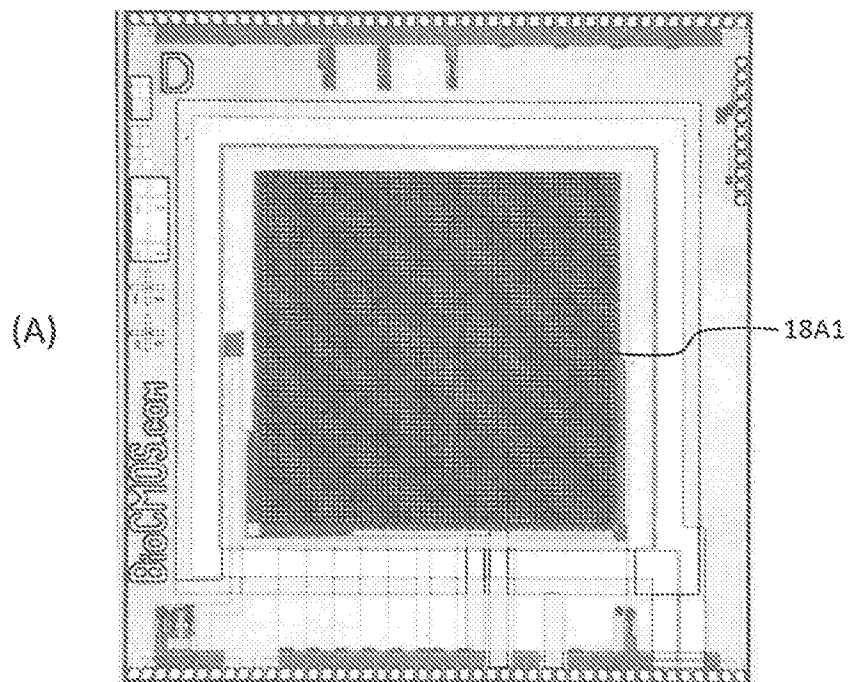
[図16]



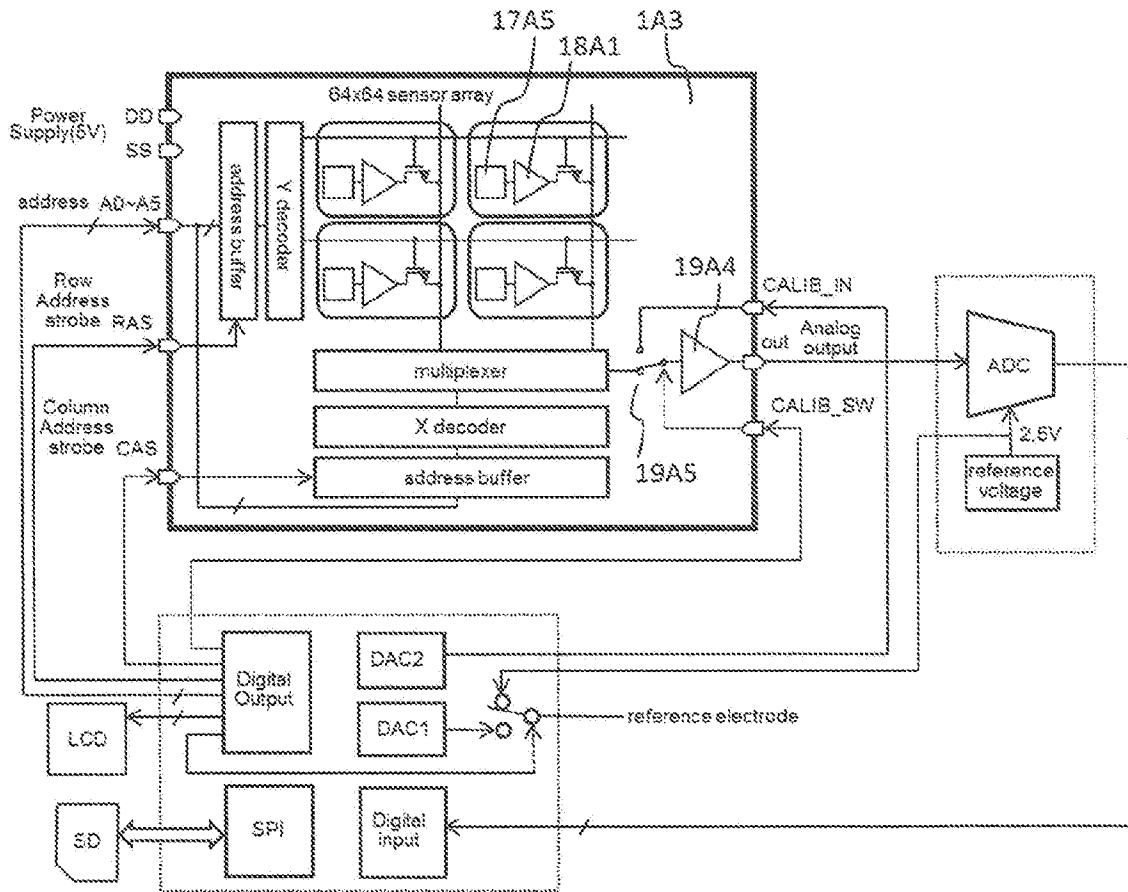
[図17]



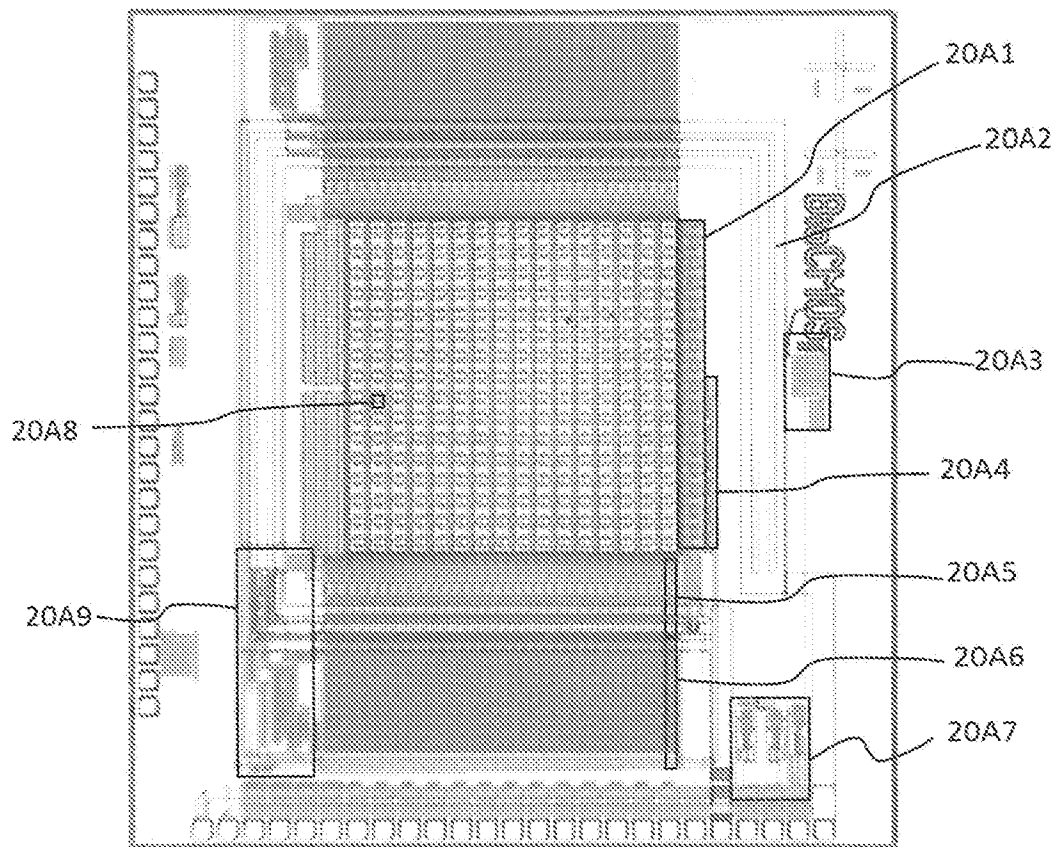
[図18]



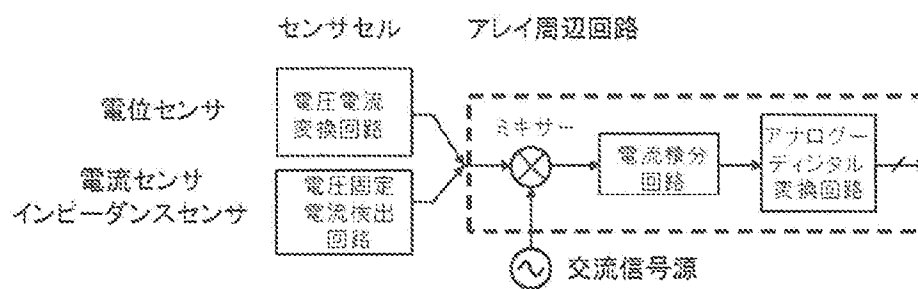
[図19]



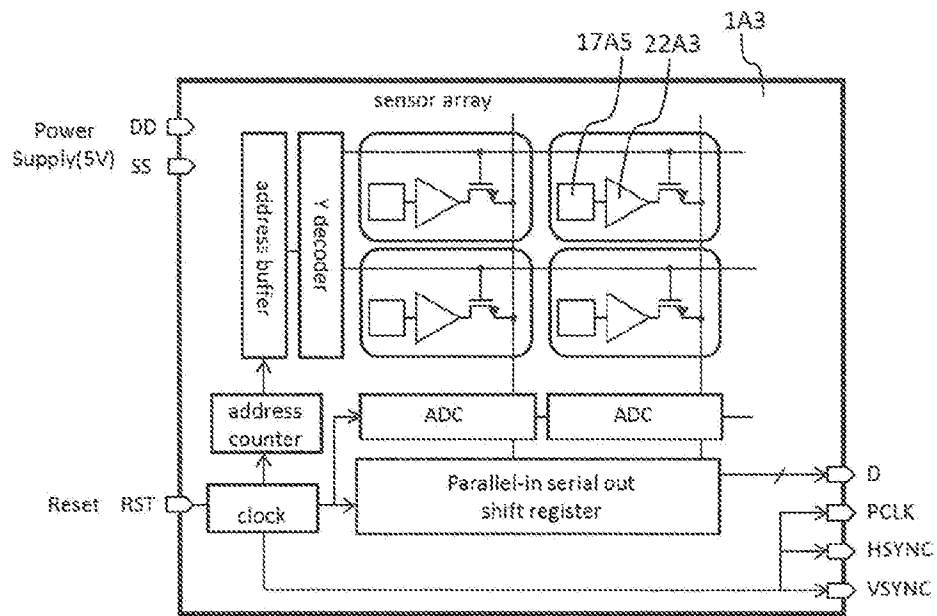
[図20]



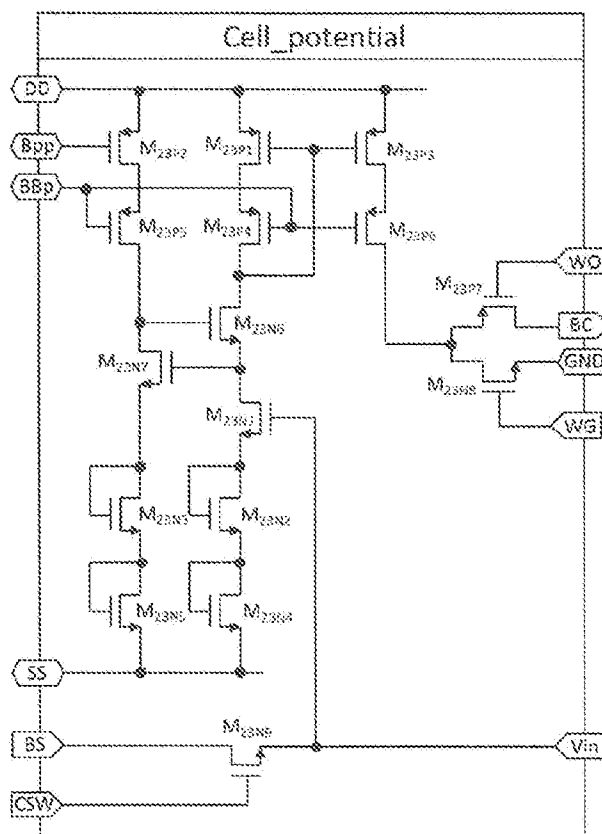
[図21]



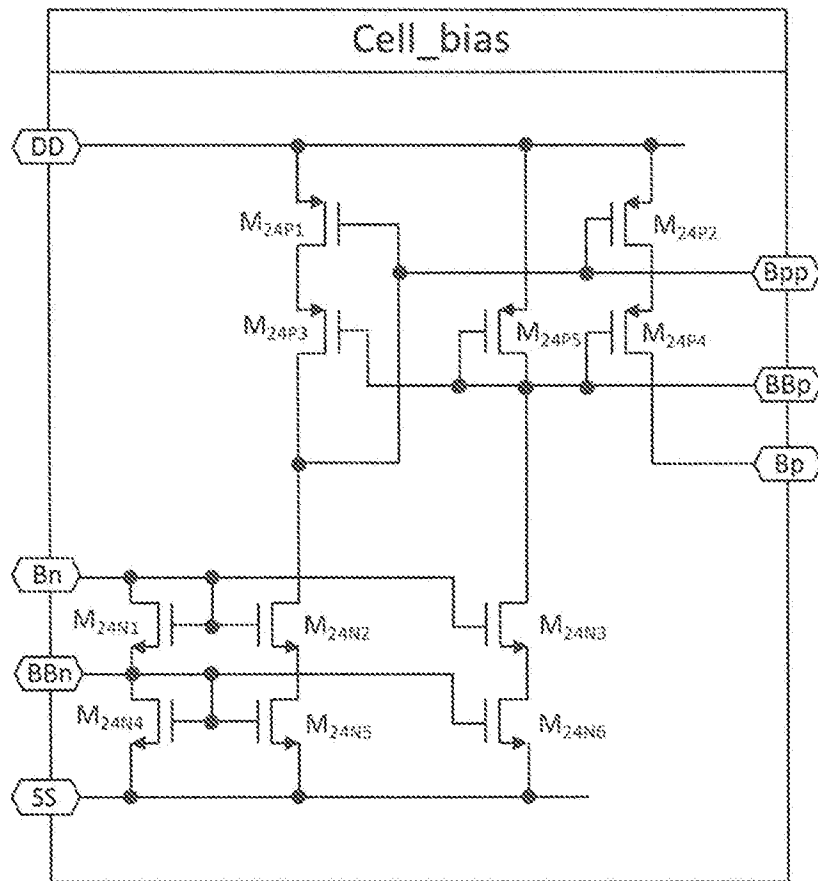
[図22]



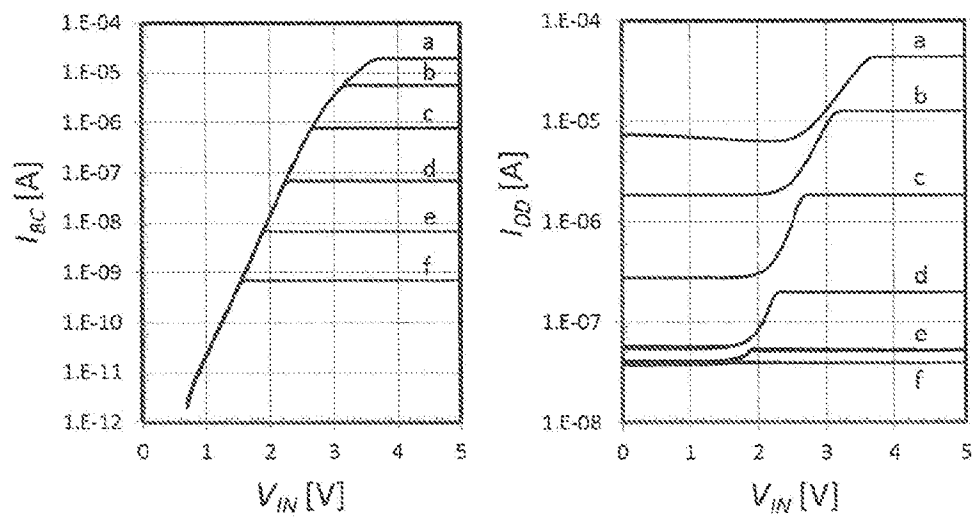
[図23]



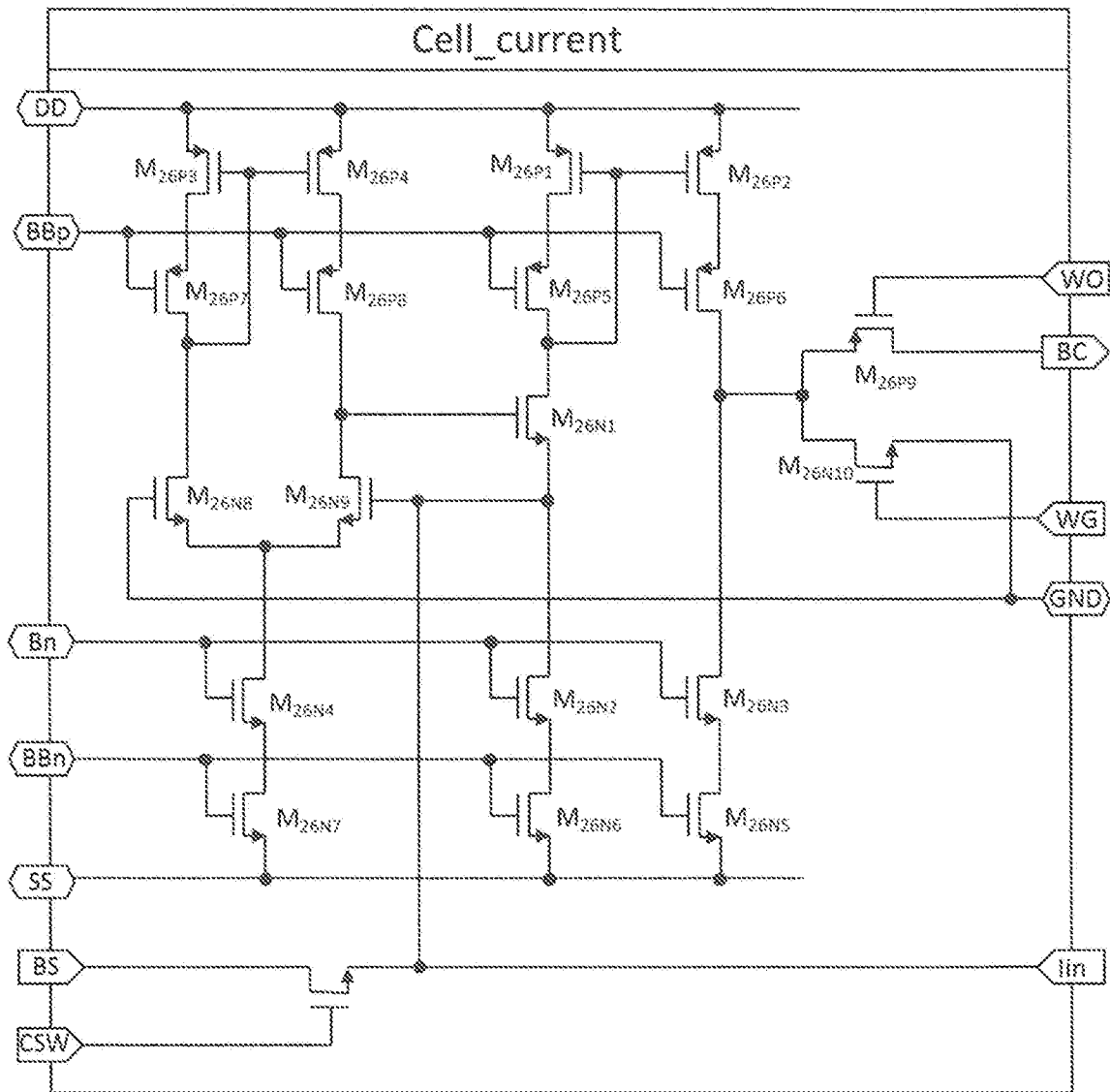
[図24]



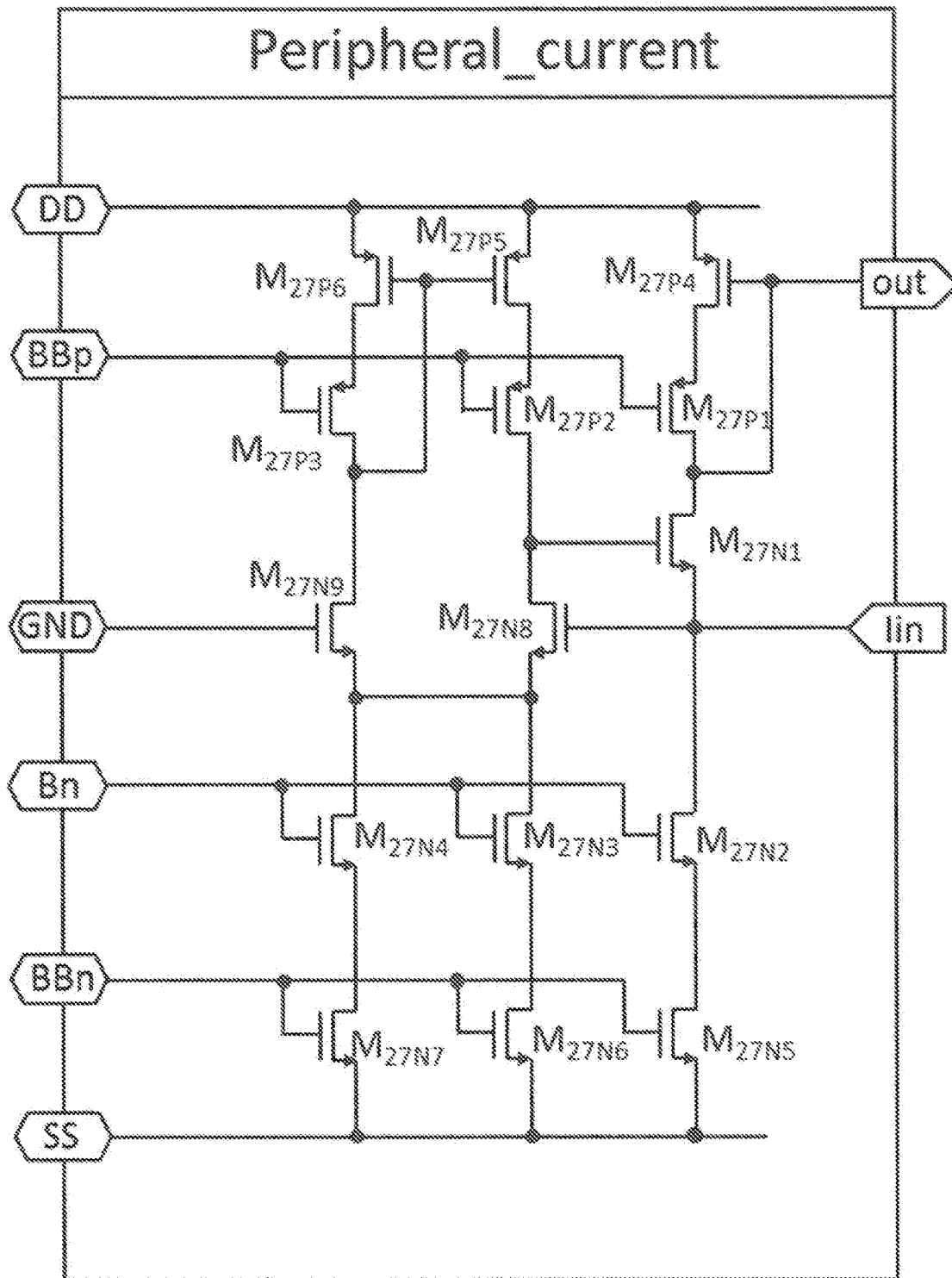
[図25]



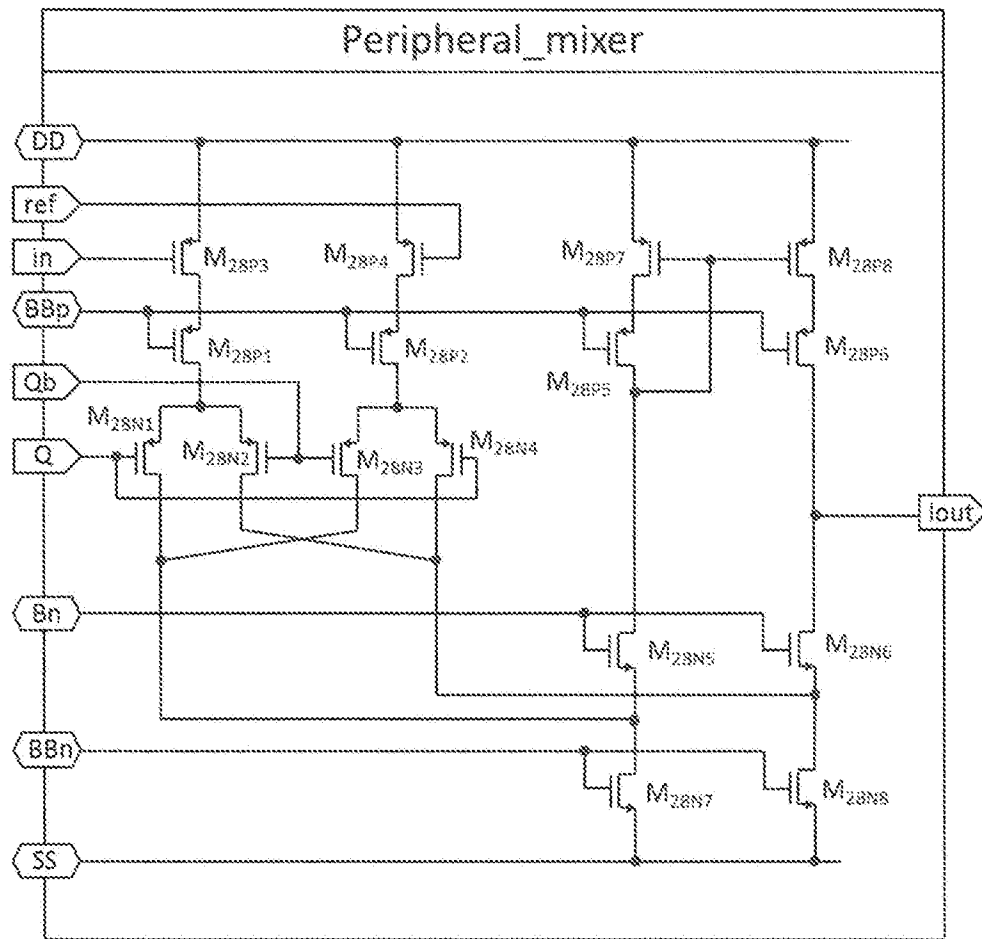
[図26]



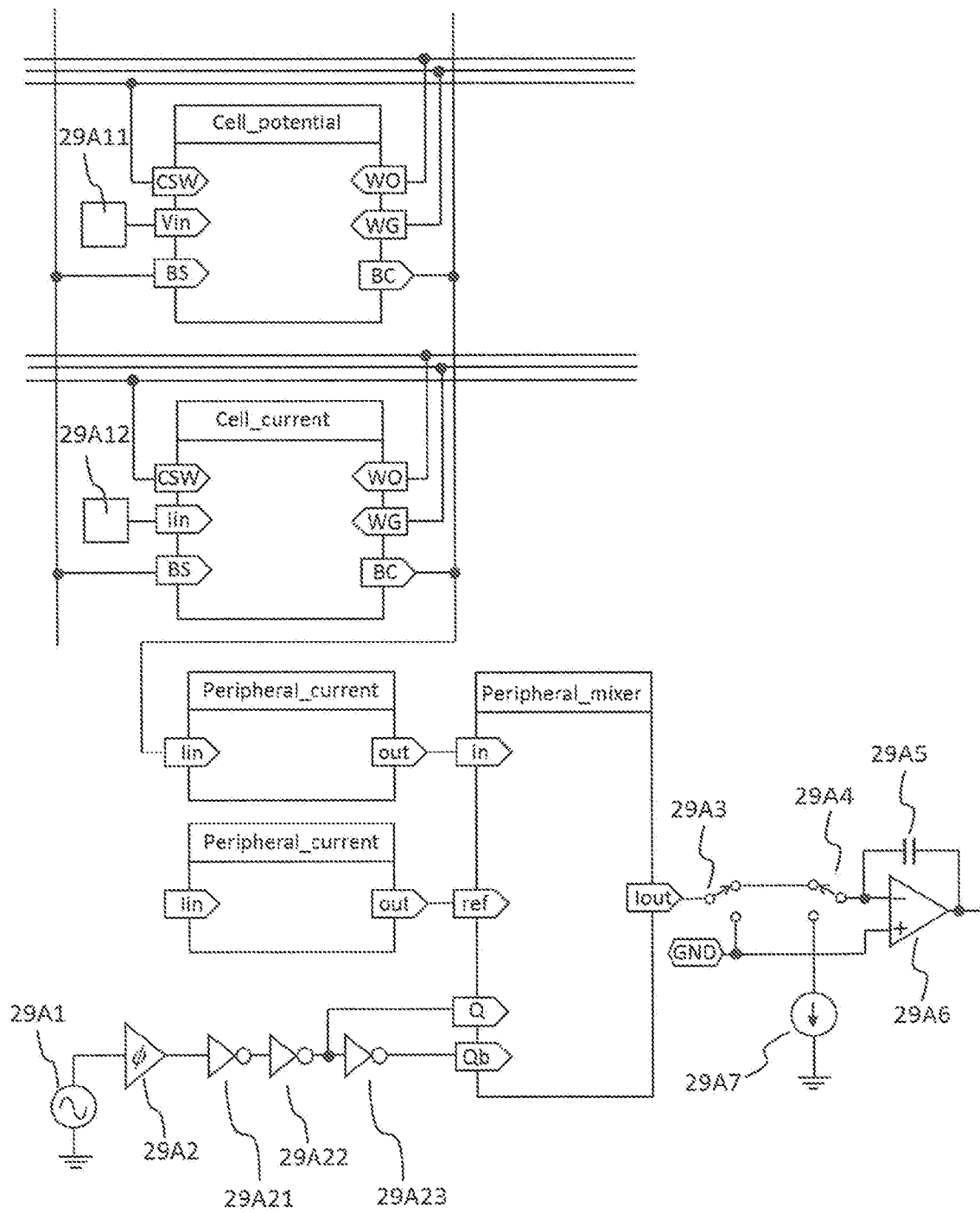
[図27]



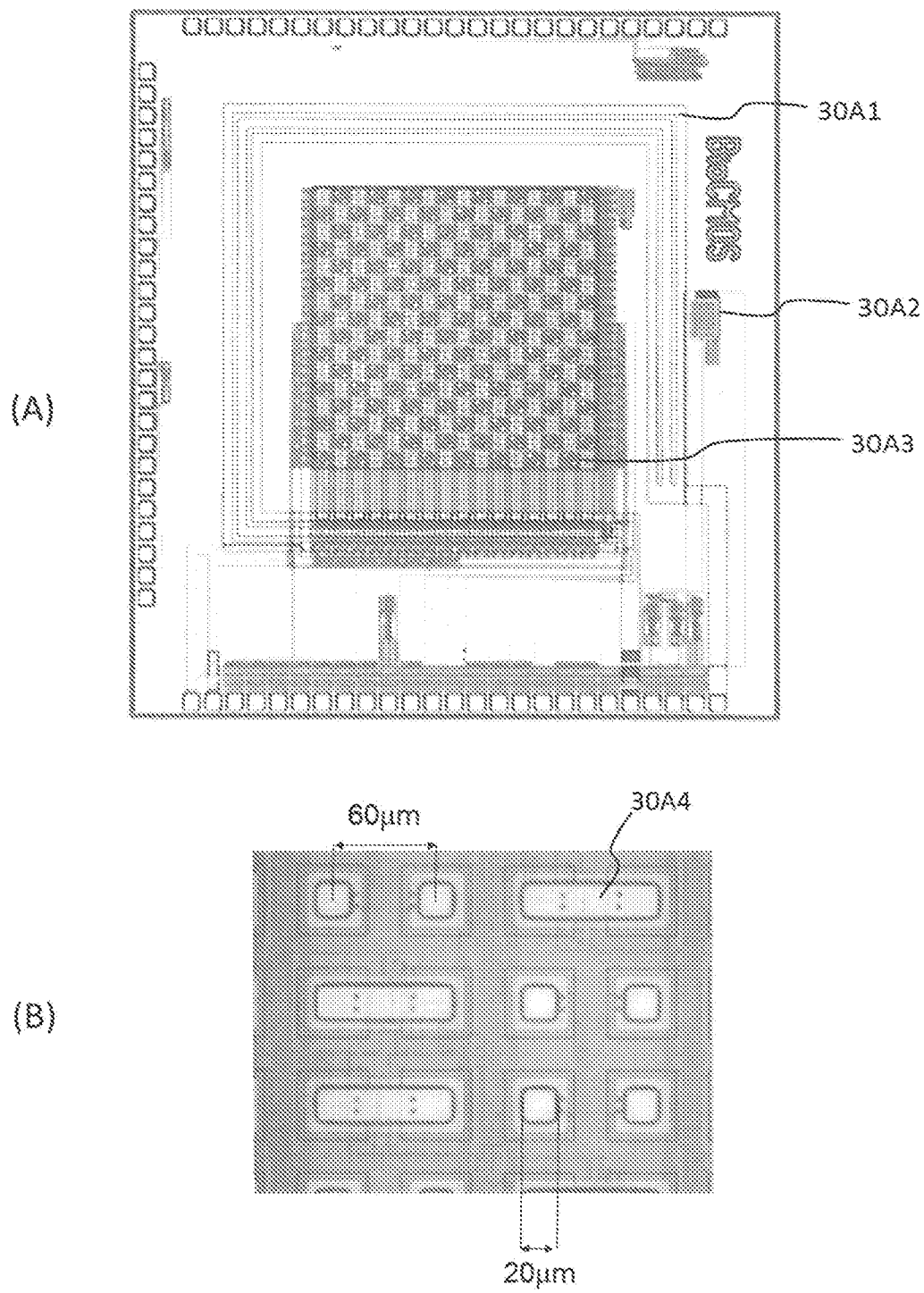
[図28]



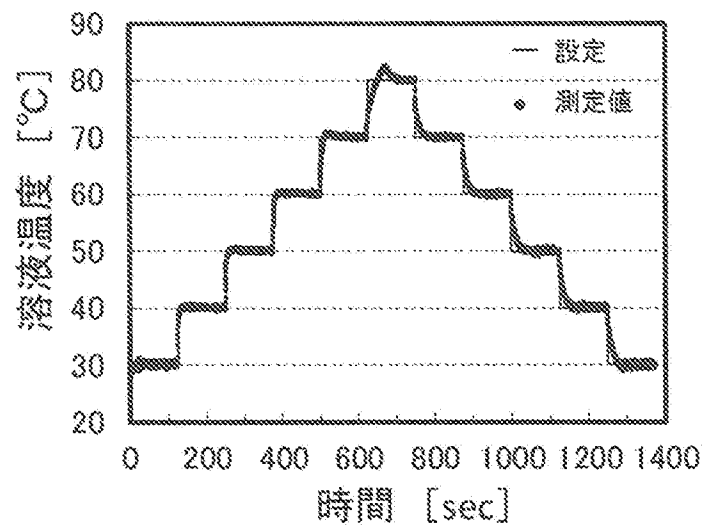
[図29]



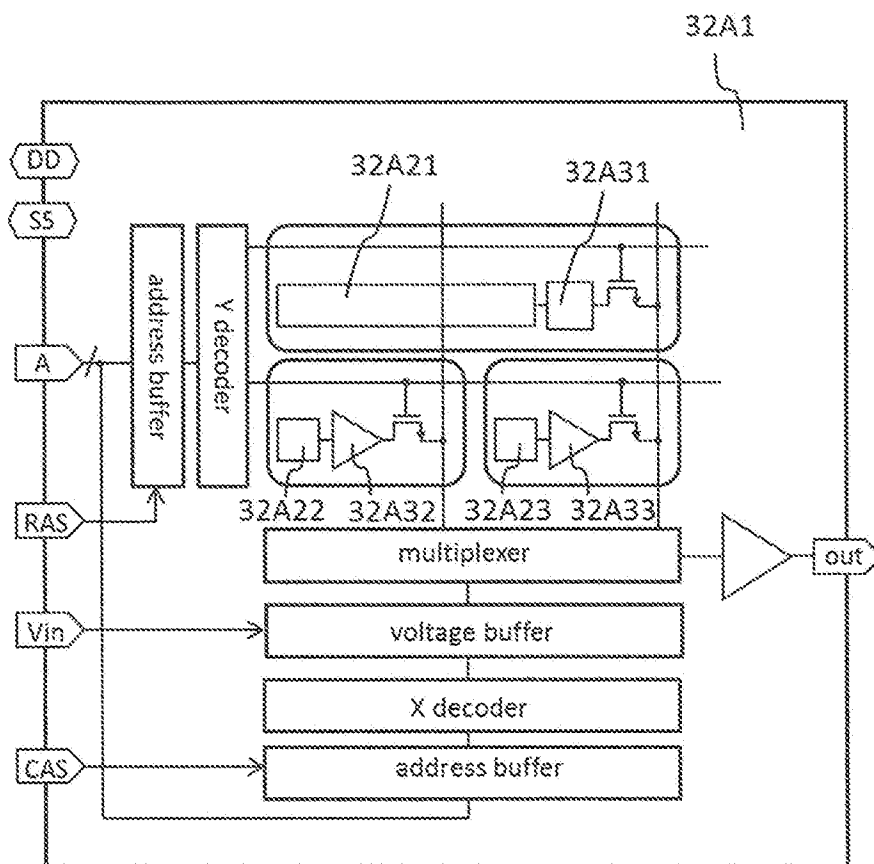
[図30]



[図31]



[図32]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/056849

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N27/28(2006.01)i, G01N27/414(2006.01)i 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) G01N27/28, G01N27/414 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016 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.
Y	JP 2011-99867 A (Toshiba Corp.), 19 May 2011 (19.05.2011), paragraphs [0019] to [0022], [0027], [0031], [0045]; fig. 2, 5, 7 & US 2005/0158787 A1 paragraphs [0121] to [0124], [0129], [0133], [0148]; fig. 2, 5, 7 & CN 1596369 A & KR 10-2004-0062657 A	1-9
Y	JP 6-148124 A (Hitachi, Ltd.), 27 May 1994 (27.05.1994), paragraphs [0003], [0005], [0008], [0012]; fig. 4 (Family: none)	1-9
☒ 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 24 March 2016 (24.03.16)		Date of mailing of the international search report 05 April 2016 (05.04.16)
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/JP2016/056849

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2006-242900 A (Mitsubishi Chemical Corp.), 14 September 2006 (14.09.2006), fig. 2 (Family: none)	3-4
Y	JP 2000-81406 A (Nippon Telegraph and Telephone Corp.), 21 March 2000 (21.03.2000), paragraphs [0016] to [0017]; fig. 1, 3 (Family: none)	6
A	JP 2012-528329 A (Life Technologies Corp.), 12 November 2012 (12.11.2012), paragraphs [0023] to [0031]; fig. 1 & US 2014/0202883 A1 paragraphs [0038] to [0046]; fig. 1	1-9

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N27/28(2006.01)i, G01N27/414(2006.01)i

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 (I P C))

Int.Cl. G01N27/28, G01N27/414

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	1971-2016年
日本国実用新案登録公報	1996-2016年
日本国登録実用新案公報	1994-2016年

国際調査で利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
Y	JP 2011-99867 A (株式会社東芝) 2011.05.19, 段落[0019]-[0022], [0027], [0031], [0045], 図 2, 5, 7 & US 2005/0158787 A1, 段落[0121]-[0124], [0129], [0133], [0148], 図 2, 5, 7 & CN 1596369 A & KR 10-2004-0062657 A	1-9
Y	JP 6-148124 A (株式会社日立製作所) 1994.05.27, 段落[0003], [0005], [0008], [0012], 図 4 (ファミリー なし)	1-9

☒ 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矛盾するものではなく、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

24.03.2016

国際調査報告の発送日

05.04.2016

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

檀本 研太郎

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

2 J

4 4 1 1

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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
Y	JP 2006-242900 A (三菱化学株式会社) 2006.09.14, 図2 (ファミリーなし)	3-4
Y	JP 2000-81406 A (日本電信電話株式会社) 2000.03.21, 段落[0016]-[0017], 図1, 3 (ファミリーなし)	6
A	JP 2012-528329 A (ライフ テクノロジーズ コーポレーション) 2012.11.12, 段落[0023]-[0031], 図1 & US 2014/0202883 A1, 段落[0038]-[0046], 図1	1-9