



(43) 国際公開日
2007 年 9 月 27 日 (27.09.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/108388 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 27/327 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/055138

(22) 国際出願日: 2007 年 3 月 14 日 (14.03.2007)

(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2006-073880 2006 年 3 月 17 日 (17.03.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): グンゼ株式会社 (GUNZE LIMITED) [JP/JP]; 〒6230011 京都府綾部市青野町膳所 1 番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 田中秀樹 (TANAKA, Hideki) [JP/JP]; 〒6230051 京都府綾部市

井倉新町石風呂 1 グンゼ株式会社研究開発センター内 Kyoto (JP). 田邊伸和 (TANABE, Nobukazu) [JP/JP]; 〒6230011 京都府綾部市青野町膳所 4 6 グンゼ株式会社研究開発センターメディカル材料センター内 Kyoto (JP). 田中貴文 (TANAKA, Takafumi) [JP/JP]; 〒6230051 京都府綾部市井倉新町石風呂 1 グンゼ株式会社研究開発センター内 Kyoto (JP).

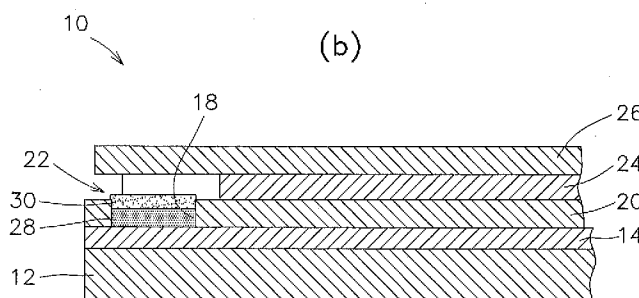
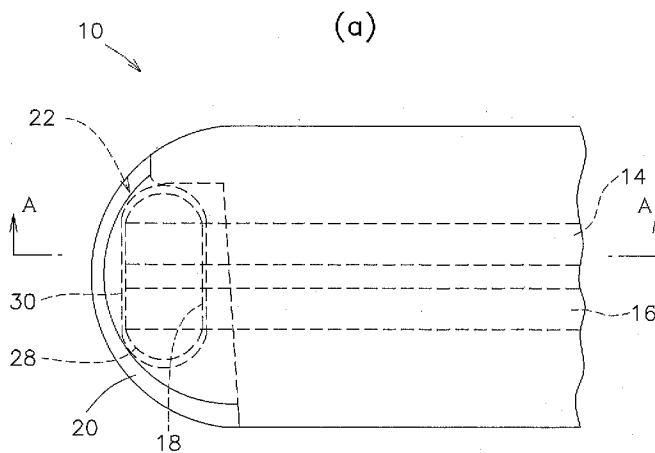
(74) 代理人: 楠本高義 (KUSUMOTO, Takayoshi); 〒5200832 滋賀県大津市栗津町 4 番 7 号 近江鉄道ビル 5 F 楠本特許事務所 Shiga (JP).

(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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR MANUFACTURING BIOSENSOR AND BIOSENSOR

(54) 発明の名称: バイオセンサの製造方法、及びバイオセンサ



(57) Abstract: To provide a biosensor exhibiting high storage stability in which variations in measurements due to storage temperature are extremely small, and to provide a manufacturing method of the biosensor. A method for manufacturing a biosensor (10) comprises a reactive portion forming step which comprises a first layer forming step for forming a first layer (28) on a working electrode (14) and a counter electrode (16) by applying and drying thereon a first coating liquid for the reactive portion containing an oxidation/reduction enzyme, and a second layer forming step for forming a second layer (30) on the first layer (28) by applying and drying thereon a second coating liquid for the reactive portion containing a hydrophilic polymer compound and an electron receptor.

(57) 要約: 保存していた温度による測定値の変化が極力少なく、保存安定性の高いバイオセンサ及びその製造方法を提供することを目的とする。【課題】【解決手段】反応部形成ステップを含むバイオセンサ 10 の製造方法において、反応部形成ステップが、作用電極 14 及び対電極 16 上に、酸化還元酵素を有する第一の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第一層 28 を形成する第一層形成ステップと、第一層 28 上に、親水性高分子化合物及び電子受容体を有する第二の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第二層 30 を形成する第二層形成ステップとを含む製造方法とした。

WO 2007/108388 A1



SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- (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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

バイオセンサの製造方法、及びバイオセンサ

技術分野

[0001] 本発明は、血糖値の測定等を行うためのバイオセンサの製造方法、及びその製造方法によって製造したバイオセンサに関する。

[0002] 従来から、検体の血糖値等を測定するバイオセンサ及びその製造方法が案出されている(例えば、特許文献1～特許文献4参照。)。図4に従来のバイオセンサ1を示す。このバイオセンサ1は、電極絶縁基板2上に作用電極3及び対電極4を平行近接して設け、電極絶縁基板2、作用電極3及び対電極4上に、反応部セル5を有するマスクシート6を熱接着し、反応部セル5内の作用電極3及び対電極4上に酸化還元酵素を含む反応部用塗布液を塗布し乾燥して反応部7を形成することにより製造されていた。なお、マスクシート6上には電気絶縁性のスペーサシート8及び透明のカバーシート9が積層される。このバイオセンサ1によれば、血糖値計測表示器に取り付けて検体を取り込み、血糖値計測表示器が血糖値を計測表示することにより、血糖値を認識できる。

[0003] ここで、一般に、バイオセンサによる測定値は、その温度依存性により、保存していた温度により測定値が変化することが知られている。例えば、常温よりも高い温度で保存した後に血糖値等を測定した場合、実際よりも高く検知することが知られている。このため、バイオセンサの保存には、特別の配慮や保存装置が必要であった。

[0004] 特許文献1:国際公開第2004/017057号パンフレット

特許文献2:特公平7-114705号公報

特許文献3:特許第3063442号公報

特許文献4:特許第3483314号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] そこで、本発明者は、このような課題の原因を究明してこのような課題を解決するべく、鋭意研究を重ねた結果、本発明に至ったのである。

[0006] すなわち、本発明は、保存していた温度による測定値の変化が極力少なく、保存安定性の高いバイオセンサ及びその製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明のバイオセンサの製造方法は、電気絶縁基板上に設けられた作用電極及び対電極上に酸化還元酵素を有する反応部を形成する反応部形成ステップを含むバイオセンサの製造方法において、前記反応部形成ステップが、前記作用電極及び対電極上に、酸化還元酵素を有する第一の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第一層を形成する第一層形成ステップと、前記第一層上に、親水性高分子化合物及び電子受容体を有する第二の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第二層を形成する第二層形成ステップと、を含むことを特徴とする。

[0008] また、本発明のバイオセンサの製造方法は、前記バイオセンサの製造方法において、前記酸化還元酵素がグルコースオキシダーゼであることを特徴とする。

[0009] また、本発明のバイオセンサの製造方法は、前記バイオセンサの製造方法において、前記親水性高分子化合物がポリビニルピロリドンであることを特徴とする。

[0010] また、本発明のバイオセンサの製造方法は、前記バイオセンサの製造方法において、前記電子受容体がフェリシアン化カリウムであることを特徴とする。

[0011] また、本発明のバイオセンサの製造方法は、前記バイオセンサの製造方法において、前記親水性高分子化合物がポリビニルピロリドンであり、前記電子受容体がフェリシアン化カリウムであり、該フェリシアン化カリウムに対する該ポリビニルピロリドンの重量比が0.5～50%であることを特徴とする。

[0012] 本発明のバイオセンサは、上記本発明のバイオセンサの製造方法により製造することを特徴とする。

発明の効果

[0013] 本発明のバイオセンサの製造方法及びバイオセンサによれば、酸化還元酵素を有する第一の反応部用塗布液を塗布し乾燥して第一層を形成し、親水性高分子化合物及び電子受容体を有する第二の反応部用塗布液を塗布し乾燥して第二層を形成するため、製造したバイオセンサにおいて、酸化還元酵素が第一層内に存在し、電子受容体が第二層内に存在する。これにより、酸化還元酵素と電子受容体が分離し

て存在するため、乾燥状態での長期保存性を高めることができる。また、酸化還元酵素を有する第一層を第二層でカバーする形態となるため、酸化還元酵素が無用に反応することなく、保存性を高めることができる。実際に、バイオセンサを製造して、高温で保存したものと室温(25℃)で保存したものの測定値の差を求めたところ、第一層を溶解しない溶媒を用いて第二層を形成した場合の方が、第一層を溶解する溶媒を用いて第二層を形成した場合よりも、その差が小さく保存温度による影響が少ないことが判明した。

発明を実施するための最良の形態

- [0014] 次に、本発明に係るバイオセンサの製造方法及びバイオセンサについて、図面に基づいて詳しく説明する。
- [0015] 図1及び図2において、符号10は本発明のバイオセンサである。このバイオセンサ10の製造方法は、電気絶縁基板12上に作用電極14及び対電極16を平行近接して設ける電極部形成ステップと、反応部セル18を有するマスクシート20を熱接着するマスクステップと、反応部セル18内の作用電極14及び対電極16上に酸化還元酵素を有する反応部22を形成する反応部形成ステップと、マスクシート20上に電気絶縁性のスペーサシート24及び透明のカバーシート26を積層する積層ステップとを含む。
- [0016] 反応部形成ステップは、作用電極14及び対電極16上に、酸化還元酵素を有する第一の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第一層28を形成する第一層形成ステップと、第一層28上に、親水性高分子化合物及び電子受容体を有する第二の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第二層30を形成する第二層形成ステップとを含む。第一層形成ステップにおいては、例えば、酸化還元酵素を水に溶かして塗布する。第二層形成ステップにおいて、第一層28が溶けないように、親水性高分子化合物は、第一層28が溶けない溶媒で溶解される。この溶媒として、例えば、エチルセロソルブやエタノールが挙げられる。このような反応部形成ステップにより、図1に示すように、第一層28及び第二層30から成る反応部22が形成される。
- [0017] 電気絶縁基板12の材料としては、例えば、ポリエチレンテレフタレート(PET)、ポリエチレンナフタレート、脂肪族ユニット及び芳香族ユニットからなる生分解性ポリエス

テル樹脂等のポリエステル系樹脂シート、より耐熱性、耐薬品性、強度等に優れるポリアミドイミドシート、ポリイミドフィルムシート等のプラスチックシート、セラミック等の無機系基板が挙げられる。

- [0018] 作用電極14及び対電極16は、電気絶縁基板12上に、例えば白金、金、パラジウム、インジウムスズ酸化物等の良電導体によって形成される。形成方法としては、ホットスタンピングが考えられる、真空蒸着又はスパッタリングによる方が微細な電極パターンを精度良く、迅速に形成できるので好ましい。スパッタリングの場合は、両極形成外をマスキングすることで一挙に形成できる。
- [0019] 酸化還元酵素は、例えば、グルコースを測定する場合には、グルコースオキシダーゼが挙げられる。グルコースオキシダーゼは、グルコースと反応して、グルコン酸及び過酸化水素が生成する。また、アルコール値を測定する場合には、アルコールオキシダーゼ又はアルコールデヒドロゲナーゼを使用する。また、乳酸を測定する場合には、乳酸オキシダーゼ又は乳酸デヒドロゲナーゼを使用する。また、尿酸を測定する場合には、ウリカーゼを使用する。酸化還元酵素の塗布は水に溶かして行う。
- [0020] 親水性高分子化合物は、水、アルコール及びこれらの混合溶媒に可溶な高分子化合物である。親水性高分子化合物の一例としてポリビニルピロリドン(PVP)が挙げられる。親水性高分子化合物としてのポリビニルピロリドンは、エチルセロソルブ等の溶剤に溶解されて使用される。その他、親水性高分子化合物としては、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシビニルポリマー等が挙げられる。親水性高分子化合物を第二層30に含むことにより、電子受容体を固定することができる。
- [0021] 電子受容体は、一般には酵素の酸化還元を促進させる無機又は有機の微細粉末状化合物である。例えば、フェリシアン化アルカリ金属塩(特にフェリシアン化カリウム金属塩が好ましい。)、フェロセン又はそのアルキル置換体、p-ベンゾキノン、メチレンブルー、 β -ナフトキノン-4-スルホン酸カリウム、フェナジンメトサルフェート、2、6-ジクロロフェノール-インドフェノール等が挙げられる。フェリシアン化アルカリ金属塩、フェロセン系が、電子移動媒体としての働きが安定しており、水、アルコール類、又はこれら混合溶媒等の水性溶媒に良く溶けるため、電子受容体として有効に作用する。親水性高分子化合物としてポリビニルピロリドンを選択し、電子受容体として

フェリシアン化カリウムを選択した場合、フェリシアン化カリウムに対するポリビニルピロリドンの重量比は0.5～50% (0.005～0.5) が好ましい。0.5%未満で少なすぎる場合には、電子受容体を固定することができない。一方、50%より多いと、血液への溶解速度が遅くなりすぎる。

[0022] 以上、本発明のバイオセンサ10の製造方法について説明したが、このようにして製造されたバイオセンサ10は、乾燥状態で保存された後、適宜使用される。バイオセンサ10の製造方法によれば、酸化還元酵素を有する第一の反応部用塗布液を塗布し乾燥して第一層28を形成し、親水性高分子化合物及び電子受容体を有する第二の反応部用塗布液を塗布し乾燥して第二層30を形成するため、製造したバイオセンサ10において、酸化還元酵素が第一層28内に存在し、電子受容体が第二層30内に存在する。これにより、酸化還元酵素と電子受容体が分離して存在するため、乾燥状態での長期保存性を高めることができる。

[0023] なお、このバイオセンサ10による血糖値の測定について以下に説明する。血糖値の測定は、バイオセンサ10をセンサカバー34に挿入固定した状態で、図2に示すように、血糖値計測表示器36に取り付けて、バイオセンサ10の先端部を血液38に接触させることによって行う。バイオセンサ10の先端部に接触した血液38は、図3(a)に示すように、反応層22の第二層30に接触する。血液38が第二層30に接触すると、第二層30及び第一層28に浸透しながら酵素反応し、その際の電気化学変化が作用電極14及び対電極16で検出されて血糖値が測定される。

[0024] 以上、本発明の実施形態について図面に基づいて説明したが、本発明は図示したものには限定されない。例えば、本発明の用途は、血糖値の測定に限定されず、広く、医学的、生物学的、化学的な検査又は試験等であっても良い。また、血糖値以外の血液検査であっても良い。また、バイオセンサの形状は、本発明の作用効果が生じれば特に限定されない。

[0025] その他、本発明の技術的範囲には、その趣旨を逸脱しない範囲で当業者の知識に基づき種々なる改良、修正、変形を加えた態様も含まれる。また、同一の作用又は効果が生じる範囲内で、いずれかの発明特定事項を他の技術に置換した形態で実施しても良い。

実施例

[0026] 以下のように、実際に本発明のバイオセンサ10を製造して血糖値を測定し、保存温度による測定値の差を評価した。

[0027] (実施例1)

グルコースオキシダーゼ74mg(安定化剤50%を含む)を、水4.9gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)2.16gに、分子量約4万のPVP(ポリビニルピロリドン)を240mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム0.8gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するPVPの重量比は30%である。

[0028] (実施例2)

グルコースオキシダーゼ50mg(安定化剤50%を含む)を、水3.3gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)1.77gに、分子量約4万のPVP(ポリビニルピロリドン)を22mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム0.6gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するPVPの重量比は3.7%である。

[0029] (実施例3)

グルコースオキシダーゼ50mg(安定化剤50%を含む)を、水3.3gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)1.75gに、分子量約4万のPVP(ポリビニルピロリドン)を45mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム0.6gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するPVPの重量比は7.5%である。

[0030] (実施例4)

グルコースオキシダーゼ50mg(安定化剤50%を含む)を、水3.3gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)1.68gに、分子量約4万のPVP(ポリビニルピロリドン)を112mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム0.6gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するPVPの重量比は18.7%である。

[0031] (実施例5)

グルコースオキシダーゼ50mg(安定化剤50%を含む)を、水3.3gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)1.57gに、分子量約4万のPVP(ポリビニルピロリドン)を225mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム0.6gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するPVPの重量比は37.5%である。

[0032] (実施例6)

グルコースオキシダーゼ77mg(安定化剤50%を含む)を、水5.1gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)5.38gに、分子量約36万のPVP(ポリビニルピロリドン)を71mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム2.05gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するPVPの重量比は3.5%である。

[0033] (実施例7)

グルコースオキシダーゼ52mg(安定化剤50%を含む)を、水3.2gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)9.30gに、分子量約10250のポリエチレンオキサイド(PEO)ーポリプロピレンオキサイド(PPO)ブロック共重

合体(商品名:ニューポールPE-78)を750mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム0.81gを混合した液を、第一層28上に1.0 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するニューポールの重量比は92.6%である。

[0034] (実施例8)

グルコースオキシダーゼ49mg(安定化剤50%を含む)を、水3.1gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)2.40gに、分子量約4100のポリエチレンオキサイド(PEO)-ポリプロピレンオキサイド(PPO)ブロック共重合体(商品名:ニューポールPE-75)を600mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム0.80gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するニューポールの重量比は75%である。

[0035] (実施例9)

グルコースオキシダーゼ75mg(安定化剤50%を含む)を、水4.9gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層28を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)3.24gに、分子量約4100のポリエチレンオキサイド(PEO)-ポリプロピレンオキサイド(PPO)ブロック共重合体(商品名:ニューポールPE-75)を360mg溶解した後、微粒子化したフェリシアン化カリウム1.20gを混合した液を、第一層28上に0.8 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層30を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するニューポールの重量比は30%である。

[0036] (比較例)

グルコースオキシダーゼ51mg(安定化剤50%を含む)を、水3.2gに溶解した液を、電極系表面に1 μ l滴下し、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第一層を形成した。次に、エチルセロソルブ(2-エトキシエタノール)2.98gに、分子量約4100のポリエチレンオキサイド(PEO)-ポリプロピレンオキサイド(PPO)ブロック共重合体(商品名:ニューポールPE-75)を240mg溶解した後、結晶セルロース(商品名:

セオラスクリーム、含水率90%) 1. 12g及び、微粒子化したフェリシアン化カリウム0. 81gを混合した液を、第一層上に1. 3 μ l滴下、40℃のコンベア乾燥炉で6分間乾燥して第二層を形成した。上記の組成において、フェリシアン化カリウムに対するニューポールの重量比は29. 6%である。また、フェリシアン化カリウムに対する結晶セルロースの重量比は13. 8%である。なお、本比較例に用いた塗布液中には水を19. 6%含んでいる。そのため、フェリシアン化カリウムの一部が溶解しており、さらに第一層上に滴下した際には、第一層のGODの一部と溶解混合している。

[0037] (評価方法)

乾燥剤(活性アルミナ)約25mgとともに、センサチップをアルミ個包装した後、熱安定性評価のために25℃と40℃で1ヶ月保存した。測定はグルコース濃度30,50,130mg/dlに調整した全血を用い、40℃保存したセンサの測定結果から25℃保存したセンサの測定結果を差し引き、熱的安定性の指標とした。この測定結果の差について、実施例1～6によって製造したバイオセンサ10に関して表1に、実施例7～9によって製造したバイオセンサ10に関して表2に、比較例によって製造したバイオセンサに関して表3に示す。

[表1]

	実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	実施例5	実施例6
30mg/dl	2	8	4	3	6	1
50mg/dl	4	2	3	12	6	-1
130mg/dl	3	-1	11	0	-5	-5

[表2]

	実施例7	実施例8	実施例9
30mg/dl	20	24	20
50mg/dl	20	16	20
130mg/dl	18	9	20

[表3]

	比較例
30mg/dl	97
50mg/dl	96
130mg/dl	71

実施例1～6について、測定結果の差の絶対値の平均は、グルコース濃度30mg/dlの場合4.0mg/dl、グルコース濃度50mg/dlの場合4.7mg/dl、グルコース濃度130mg/dlの場合4.2mg/dlであった。実施例7～9について、測定結果の差の平均値は、グルコース濃度30mg/dlの場合21.3mg/dl、グルコース濃度50mg/dlの場合18.7mg/dl、グルコース濃度130mg/dlの場合15.7mg/dlであった。これに対して、比較例では、それぞれ97、96、71mg/dlであり、第一層28を溶解しない溶媒を用いて第二層30を塗布した方が測定結果の差が少なかった。特に、ポリビニルピロリドンを用いた場合が最も安定性が高かった。

産業上の利用可能性

[0038] 本発明のバイオセンサの製造方法は、バイオセンサの保存温度の影響を少なくして保存性を高めることができる。このため、種々のバイオセンサの製造のために広く利用できる。

図面の簡単な説明

[0039] [図1]本発明のバイオセンサを示す図であり、同図(a)は平面図であり、同図(b)はA－A線切断部断面図である。

[図2]図1のバイオセンサの使用状態を示す正面図である。

[図3]図1のバイオセンサの使用状態を示す図であり、同図(a)は血液が接触した瞬間を示すA－A線切断部断面図であり、同図(b)は血液が反応した状態を示すA－A線切断部断面図である。

[図4]従来のバイオセンサを示す図であり、同図(a)は平面図であり、同図(b)はA－A線切断部断面図である。

符号の説明

[0040] 10:バイオセンサ

12:電気絶縁基板

14:作用電極

16:対電極

18:反応部セル

20:マスクシート

22:反応部

24:スペーサシート

26:カバーシート

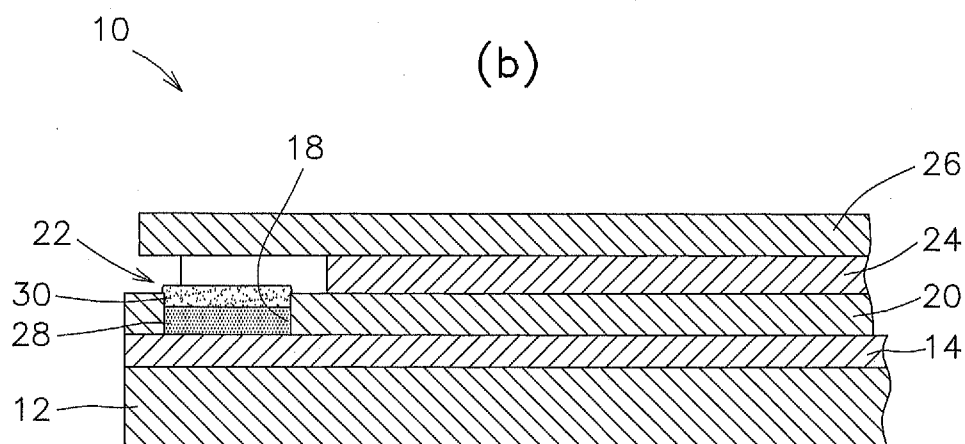
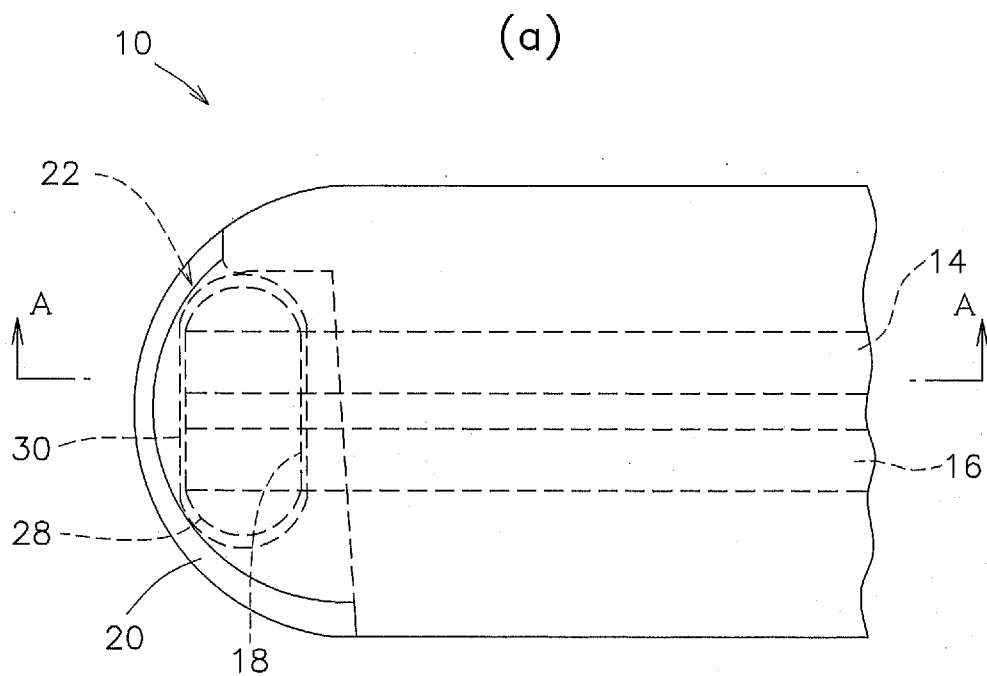
28:第一層

30:第二層

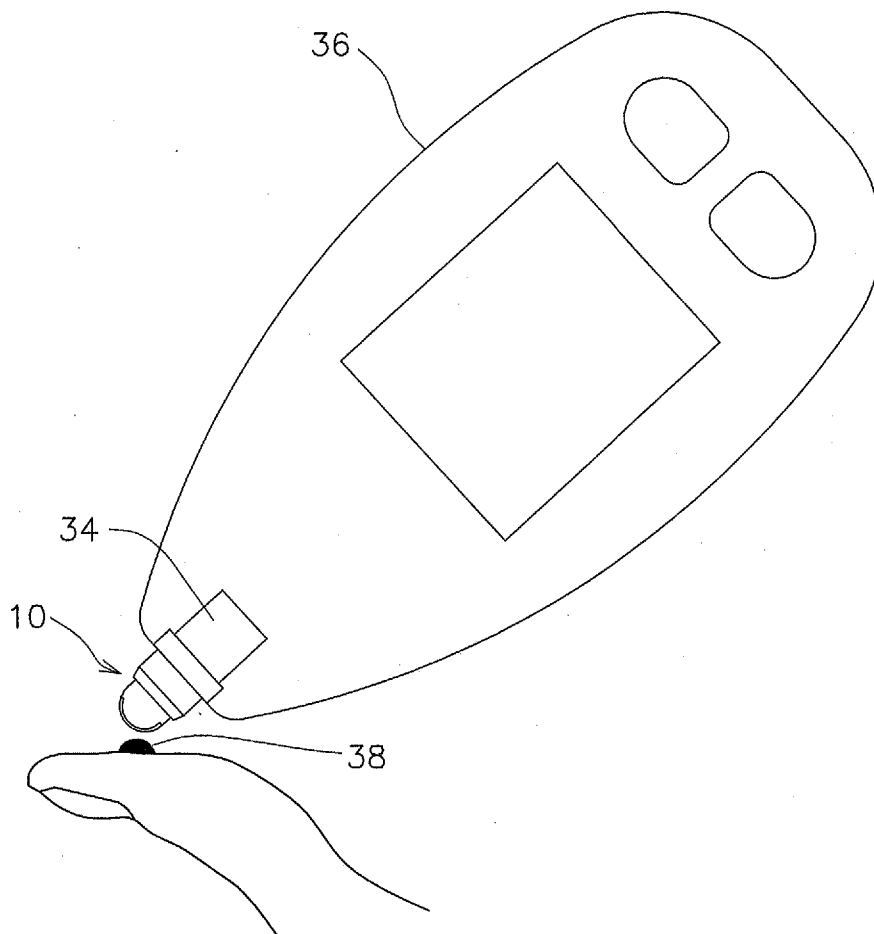
請求の範囲

- [1] 電気絶縁基板上に設けられた作用電極及び対電極上に酸化還元酵素を有する反応部を形成する反応部形成ステップを含むバイオセンサの製造方法において、前記反応部形成ステップが、
前記作用電極及び対電極上に、酸化還元酵素を有する第一の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第一層を形成する第一層形成ステップと、
前記第一層上に、親水性高分子化合物及び電子受容体を有する第二の反応部用塗布液を塗布し乾燥させて第二層を形成する第二層形成ステップと、
を含むバイオセンサの製造方法。
- [2] 前記酸化還元酵素がグルコースオキシダーゼである請求項1に記載するバイオセンサの製造方法。
- [3] 前記親水性高分子化合物がポリビニルピロリドンである請求項1又は請求項2に記載するバイオセンサの製造方法。
- [4] 前記電子受容体がフェリシアン化カリウムである請求項1～請求項3のいずれかに記載するバイオセンサの製造方法。
- [5] 前記親水性高分子化合物がポリビニルピロリドンであり、前記電子受容体がフェリシアン化カリウムであり、該フェリシアン化カリウムに対する該ポリビニルピロリドンの重量比が0.5～50%である請求項1又は請求項2に記載するバイオセンサの製造方法。
- [6] 請求項1～請求項5のいずれかに記載するバイオセンサの製造方法により製造するバイオセンサ。

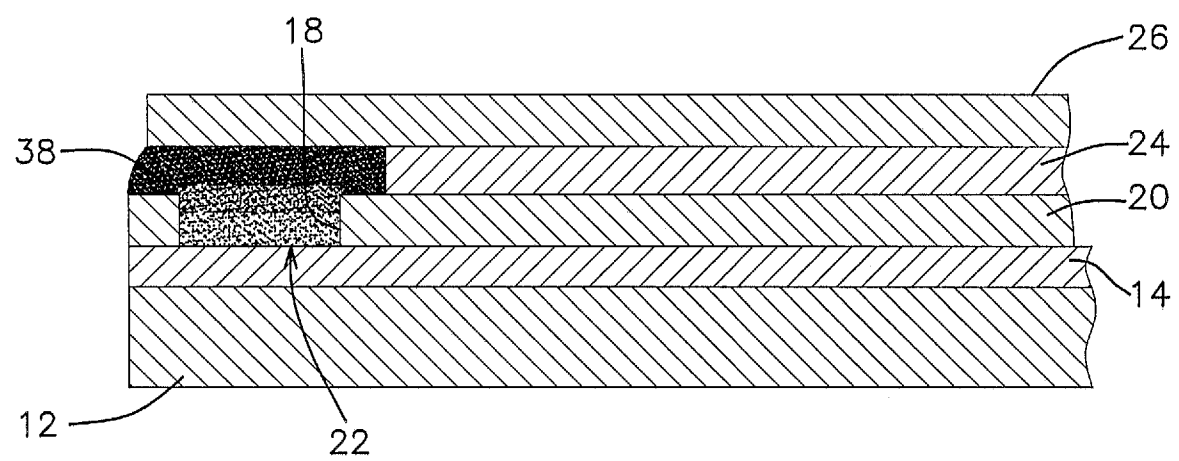
[図1]



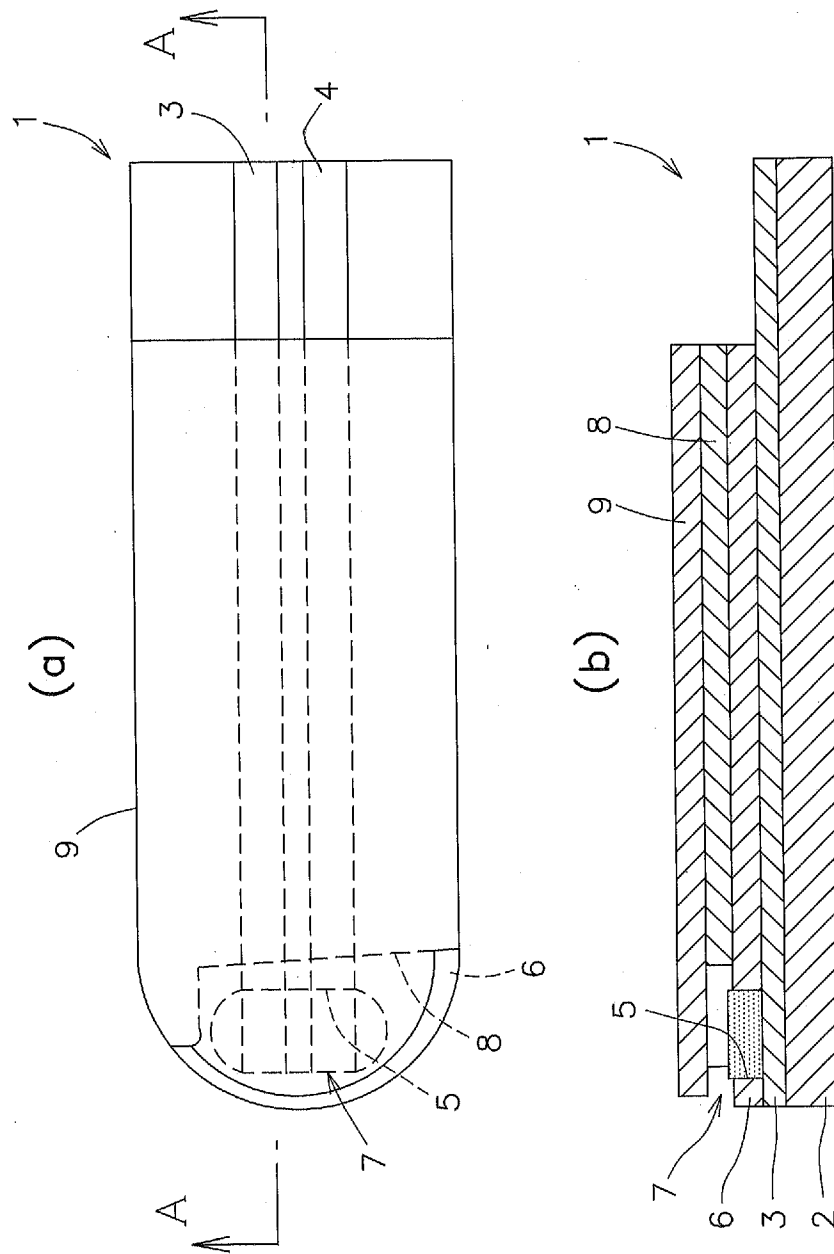
[図2]



(a)



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/055138

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N27/327(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)

G01N27/327

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	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 3-54447 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 08 March, 1991 (08.03.91), Page 2, lower left column, line 15 to page 3, upper left column, line 9; page 3, upper right column, line 19 to page 3, lower left column, line 3; page 4, lower right column, line 5 to page 5, upper left column, line 3; Fig. 1 (Family: none)	1-6
A	JP 2001-249103 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 14 September, 2001 (14.09.01), Par. Nos. [0009] to [0012]; Fig. 1 & US 2001/6149 A1 & EP 1126032 A1 & DE 60019547 T & CN 1301962 A & ES 2238254 T	1-6

☒ 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
25 May, 2007 (25.05.07)

Date of mailing of the international search report
12 June, 2007 (12.06.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/055138

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2004-264247 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 24 September, 2004 (24.09.04), Par. Nos. [0023], [0024], [0040], [0041]; Fig. 2 (Family: none)	1-6

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N27/327 (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. G01N27/327

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 7 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 7 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 7 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	J P 3 - 5 4 4 4 7 A（松下電器産業株式会社）1 9 9 1 . 0 3 . 0 8 , 第 2 頁 左 下 欄 第 1 5 行 - 第 3 頁 左 上 欄 第 9 行 , 第 3 頁 右 上 欄 第 1 9 行 - 第 3 頁 左 下 欄 第 3 行 , 第 4 頁 右 下 欄 第 5 行 - 第 5 頁 左 上 欄 第 3 行 , 図 1（ファミリーなし）	1 - 6

☒ 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

2 5 . 0 5 . 2 0 0 7

国際調査報告の発送日

1 2 . 0 6 . 2 0 0 7

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 1 0 0 - 8 9 1 5
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）

野村 伸雄

2 J

9 3 1 1

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

C (続き) . 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 請求の範囲の番号
A	JP 2001-249103 A (松下電器産業株式会社) 2001.09.14, 段落【0009】-【0012】, 図1 & US 2001/6149 A1 & EP 1126032 A1 & DE 60019547 T & CN 1301962 A & ES 2238254 T	1-6
A	JP 2004-264247 A (松下電器産業株式会社) 2004.09.24, 段落【0023】, 【0024】, 【0040】, 【0041】, 図2 (ファミリーなし)	1-6