

明 細 書

発明の名称： センサ及びその製造方法

技術分野

[0001] 第1の開示は、例えばセンサ及びその製造方法に関する。

背景技術

[0002] 細胞培養液、血液試料等の被検試料中の目的物質を測定するために、電気化学式のセンサが従来から用いられている。このようなセンサは、例えば、絶縁性基材、及び、前記基材表面上に配置された作用極を備え、更に、対極及び／又は参照極を備える。前記作用極は、典型的には、導電層と、前記導電層上に配置され、酸化還元反応に関与する試薬（例えば酸化還元酵素及び電子伝達体）を含む試薬層とを備える。前記センサは、更に、前記試薬層からの試薬の流出を防ぐために、前記作用極のみを被覆する、或いは、前記作用極を前記対極及び／又は前記参照極とともに被覆する保護膜を備えることができる。

[0003] 例えば、特許文献1に記載の電気化学センサは、基材と、前記基材上に配置された感知層（試薬層）を含む第1電極（作用極）及び第2電極（参照極）と、それらの全体を被覆する、所定のポリマー化合物を含む流動制限膜（保護膜）とを備える。特許文献1では、前記流動制限膜（保護膜）を、浸漬コーティング又はキャストリングにより形成することが記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1： 米国特許第9014774号明細書

発明の概要

[0005] しかしながら、上記の導電層上に試薬層及び保護膜を含む作用極を備える従来のセンサは、以下に示すような問題点を有している。

[0006] 特許文献1では、ポリマー化合物を含む溶液に、導電層及び試薬層を含む作用極を備える絶縁性基材を浸漬し、乾燥して、絶縁性基材の全体を被覆す

る保護膜を形成する。

[0007] しかし、この方法では、作用極の試薬層上の保護膜の特性（保護膜の厚さ、保護膜を構成するポリマー化合物の量等）を、設計した範囲に制御することが困難な場合がある。作用極の保護膜の特性のばらつきは、センサの測定精度の低下の原因となり得る。

[0008] 特許文献1ではまた、平坦な電極の表面に、酵素等の試薬を含む試薬層を配置している。

[0009] しかし、平坦な電極の表面に試薬層を形成する方法では、試薬層の特性（試薬層の厚さ、試薬層を構成する試薬の量等）を、設計した範囲に制御することが困難な場合がある。作用極における試薬層の特性のばらつきもまた、センサの測定精度の低下の原因となり得る。

[0010] 第1の開示の課題は、特性を所望の範囲に制御することが容易な試薬層及び保護膜を含む作用極を備えるセンサ及びその製造方法を提供することにある。

[0011] 第1の開示に係るセンサは、絶縁性の基板と、前記基板上に配置された作用極とを備える。

[0012] 前記作用極は、
前記基板上に配置された導電層と、
少なくとも一部が前記導電層上に配置され、前記基板の厚さ方向からの平面視において前記導電層の一部と重なる位置に形成された前記厚さ方向に貫通した第1開口部と、撥水性の表面とを有する第1絶縁層と、
前記第1絶縁層上に配置され、前記厚さ方向からの平面視において前記第1絶縁層のうち前記第1開口部の全体を内包する部分と重なる位置に形成された前記厚さ方向に貫通した第2開口部と、アルコールに対して撥液性の表面とを有する第2絶縁層と、
前記第1絶縁層の前記第1開口部内に配置され、前記第1絶縁層の前記第1開口部の内周縁により規定される外周縁と、酸化還元反応に関与する試薬とを含む試薬層と、

前記第2絶縁層の前記第2開口部内に配置され、前記第2絶縁層の前記第2開口部の内周縁により規定される外周縁を含む保護膜とを備える。

- [0013] 第1の開示に係る、前記センサの製造方法は、
前記導電層、前記第1絶縁層及び前記第2絶縁層が配置された前記基板の、前記第1絶縁層の前記第1開口部内に、水中に前記試薬を含む液体組成物Aの液滴を形成したのち乾燥して、前記試薬層を形成すること、及び、
前記試薬層の形成後に、前記第2絶縁層の前記第2開口部内に、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物Bの液滴を形成したのち乾燥して、前記保護膜を形成することを含む。
(発明の効果)

- [0014] 第1の開示に係るセンサ及び製造方法によれば、センサの作用極の試薬層及び保護膜の特性を所望の範囲に制御することが容易である。

図面の簡単な説明

- [0015] [図1]第1作用極、第2作用極、参照極及び対極の導電層並びに配線が配置された基板を示す平面図。
[図2]第1作用極、第2作用極、参照極及び対極の導電層並びに配線が配置され、更にそれらの上に第1絶縁層が配置された基板を示す平面図。
[図3]第1作用極、第2作用極、参照極及び対極の導電層並びに配線が配置され、更にそれらの上に第1絶縁層及び第2絶縁層が配置された基板を示す平面図。
[図4]図3の基板に、作用極の試薬層及び参照極の銀／塩化銀層が更に配置された基板を示す平面図。
[図5]第1の開示の一実施形態に係るセンサの平面図。
[図6]図3の基板の、第1作用極に対応する部分の、A－A'線に沿った断面図。
[図7]図3の基板の、第1作用極の第1絶縁層の第1開口部内に形成した、水

中に酸化還元反応に関与する試薬を含む液体組成物 A の液滴の断面図。

[図8]図 3 の液体組成物 A の液滴を乾燥して得られる、図 4 の基板の、第 1 作用極に対応する部分の、B - B' 線に沿った断面図。

[図9]図 4 の基板の、第 1 作用極の第 2 絶縁層の第 2 開口部内に形成した、アルコール中に保護膜成分を含む第 1 液体組成物 B の液滴の断面図。

[図10]図 9 に示す第 1 液体組成物 B の液滴を乾燥して得られる、図 4 の基板の、第 1 作用極の第 2 絶縁層の第 2 開口部内の保護膜の一部の断面図。

[図11]図 10 の保護膜の一部を含む、第 1 作用極の第 2 絶縁層の第 2 開口部内に更に形成した、第 1 液体組成物 B の液滴の断面図。

[図12]図 11 の第 1 液体組成物 B の液滴を乾燥して得られる第 1 保護膜を含む、図 5 のセンサの、第 1 作用極を含む部分の、C - C' 線に沿った断面図。

[図13]図 4 の基板の、第 2 作用極の第 2 絶縁層の第 2 開口部内に形成した、アルコール中に保護膜成分を含む第 2 液体組成物 B の液滴の断面図。

[図14]図 9 の第 2 液体組成物 B の液滴を乾燥して得られる、図 4 の基板の、第 2 作用極の第 2 絶縁層の第 2 開口部内の第 2 保護膜の断面図。

[図15]図 14 の第 2 保護膜を含む、第 2 作用極の第 2 絶縁層の第 2 開口部内に形成した、アルコール中に別の保護膜成分を含む第 3 液体組成物 B の液滴の断面図。

[図16]図 15 の第 3 液体組成物 B の液滴を乾燥して得られる第 3 保護膜を含む、図 5 のセンサの、第 2 作用極を含む部分の、D - D' 線に沿った断面図。

[図17]比較例のセンサの、第 1 作用極の第 2 絶縁層の第 2 開口部内に形成した、アルコール中に保護膜成分を含む第 1 液体組成物 B の液滴が濡れ広がった状態の断面図。

[図18]図 17 の濡れ広がった第 1 液体組成物 B を乾燥して得られる、第 1 作用極の第 2 絶縁層の上面及び第 2 開口部内に形成された第 1 保護膜の一部の断面図。

[図19]図18の第1保護膜の一部を含む、比較例のセンサの第1作用極の第2絶縁層の第2開口部内に更に形成した、第1液体組成物Bの液滴が濡れ拡がった状態の断面図。

[図20]図19の濡れ拡がった第1液体組成物Bを乾燥して得られる、第1作用極の第2絶縁層の上面及び第2開口部内に形成された第1保護膜の断面図。

[図21]図5のセンサを液体試料中に浸漬して被検物質を測定する方法を説明する模式図。

[図22]図5のセンサの、参照極を含む部分の、E-E'線に沿った断面図。

[図23]図5のセンサの、対極を含む部分の、F-F'線に沿った断面図。

[図24]第1の開示の一実施形態のセンサを含む分析装置の制御ブロック図。

[図25]図25Aは、実施例のセンサの第1作用極（グルコース測定用）の電流値の測定結果を示す。図25Bは、比較例のセンサの第1作用極（グルコース測定用）の電流値の測定結果を示す。

[図26]図26Aは、実施例のセンサの第2作用極（乳酸測定用）の電流値の測定結果を示す。図26Bは、比較例のセンサの第2作用極（乳酸測定用）の電流値の測定結果を示す。

[図27]作用極導電層、参照極導電層、対極及び配線が配置された基板を示す平面図。

[図28]作用極導電層、参照極導電層、対極及び配線が配置され、更にそれらの上に第1絶縁層が配置された基板を示す平面図。

[図29]作用極導電層、参照極導電層、対極及び配線が配置され、更にそれらの上に第1絶縁層及び第2絶縁層が配置された基板を示す平面図。

[図30]図29の基板に、作用極の試薬層及び参照極の銀／塩化銀層が更に配置された基板を示す平面図。

[図31]第2絶縁層に先端開口部及び流路が形成された第2の開示の一実施形態に係るセンサの平面図。

[図32]第1絶縁層及び第2絶縁層に先端側開口部及び流路が形成された第2

の開示の別の一実施形態に係るセンサの平面図。

[図33]図31のセンサの、作用極を含む部分のJ-J'線に沿った断面図。

[図34]図31のセンサの、参照極を含む部分のK-K'線に沿った断面図。

[図35]図31のセンサの、対極を含む部分のL-L'線に沿った断面図。

[図36]図31のセンサの、対極並びに第2絶縁層に形成された先端開口部及び流路を含む部分のM-M'線に沿った断面図。

[図37]絶縁層の上面を含まない厚さ方向の一部に形成され、周囲が囲われた構造の先端開口部及び流路を備える更に別の一実施形態に係るセンサの、対極並びに先端開口部及び流路を含む部分の断面図。

[図38]図32のセンサの、対極並びに第1絶縁層と第2絶縁層に形成された先端開口部及び流路を含む部分のN-N'線に沿った断面図。

[図39]基板の先端部が下端となるように液体試料に浸漬した、図31及び図36に示すセンサの、対極、先端開口部及び流路を含む部分の断面の模式図。

[図40]基板の先端部が下端となるように液体試料に浸漬した、先端開口部及び流路を備えていない比較例のセンサの、対極を含む部分の断面の模式図。

[図41]本体部、接続部及び基端部を含む基板、並びに、基板の第1面上の全体に配置された第1絶縁層及び基板の第1面のうち折り曲げ部よりも先端部に配置された絶縁シートを含む第2絶縁層を備える、第2の開示の一実施形態に係るセンサの平面図。

[図42]複数の図41のセンサが基板の基端部において連結された、多連式のセンサの平面図。図42では絶縁層は省略した。

[図43]基板の接続部の折り曲げ部において折り曲げられた、検出電極が配置された基板の本体部を液体試料に浸した図41のセンサの模式図。図43では絶縁層は省略した。

[図44]基板の接続部の折り曲げ部において折り曲げられた、検出電極が配置された基板の本体部を液体試料に浸した図41のセンサの、側方からの模式図。

[図45]図4 1のセンサにおいて基板の第1面上の全体に絶縁シートを含む第2絶縁層を配置し、基板の接続部の折り曲げ部において折り曲げられた、検出電極が配置された基板の本体部を液体試料に浸した比較例のセンサの、側方からの模式図。

[図46]本体部、接続部及び基端部を含む基板、並びに、基板の第1面上の全体に配置された第1絶縁層、基板の第1面のうち折り曲げ部よりも先端部側に配置された第1絶縁シートを含む第2絶縁層、及び、基板の基端部の第1面上に配置された第2絶縁シートを含む第2絶縁層を備え、基板の折り曲げ部上に絶縁シートを含まない、第2の開示の別の一実施形態に係るセンサの平面図。

[図47]図4 6に示すセンサにおいて、更に、基板の第1面うち折り曲げ部上の領域に、切り込み部を介して第1絶縁シート及び第2絶縁シートと分離された、複数の、第3絶縁シートを含む第2絶縁層が更に配置された、第2の開示の更に別の一実施形態に係るセンサの平面図。

[図48]第2の開示の一実施形態のセンサを含む分析装置の制御ブロック図。

[図49A]比較例のセンサS 1の平面図。

[図49B]比較例のセンサS 2の平面図。

[図49C]実施例のセンサS 3の平面図。

[図49D]実施例のセンサS 4の平面図。

[図49E]実施例のセンサS 5の平面図。

[図50A]図5 0 AはセンサS 1の作用極の電流値の測定結果を示す。

[図50B]図5 0 BはセンサS 2の作用極の電流値の測定結果を示す。

[図50C]図5 0 CはセンサS 3の作用極の電流値の測定結果を示す。

[図50D]図5 0 DはセンサS 4の作用極の電流値の測定結果を示す。

[図50E]図5 0 EはセンサS 5の作用極の電流値の測定結果を示す。

[図51]第2の開示の一実施形態のセンサユニットの分解斜視図。

[図52]上方支持プレートと下方支持プレートとの間に保持されるセンサを示す断面図。

[図53]センサユニットを含むアダプタユニットの分解斜視図。

[図54]第3の開示の一実施形態に係るセンサの平面図。

[図55]図54に示すセンサの、対極を含む部分の、P-P'線に沿った断面図。

[図56]図54に示すセンサの、第1作用極を含む部分の、Q-Q'線に沿った断面図。

[図57]図54に示すセンサの、第2作用極を含む部分の、R-R'線に沿った断面図。

[図58]第3の開示の実験4における、白金粒子なしカーボン電極（実験3-1）、白金粒子1%含有カーボン電極（実験3-2）及び白金粒子5%含有カーボン電極（実験3-3）のいずれかを作用極として用いたサイクリックボルタンメトリー試験の結果を示す。

[図59]第3の開示の実験5において、白金粒子なしカーボン電極（A）及び白金粒子1%含有カーボン電極（B）のいずれかを作用極として用い、0.3V又は-0.2Vの電位を印加して電流値を経時的に測定した結果を示す。

[図60]第3の開示の実験6において、実験2-1のセンサ（作用極導電層及び対極が、白金粒子を含まないカーボン導電層）、及び、実験2-2のセンサ（対極が表面に白金ナノ粒子が修飾されたカーボン導電層、作用極導電層が白金粒子を含まないカーボン導電層）を用いて、液体試料中のグルコース濃度に対応する電流値（A）及び乳酸濃度に対応する電流値（B）を経時的に測定した結果を示す（N=2）。

[図61]第3の開示の実験7において、実験3-1のセンサ（作用極導電層及び対極が、白金粒子を含まないカーボン導電層）、実験3-2のセンサ（作用極導電層及び対極が、白金粒子をカーボンに対し1重量%含有するカーボン導電層）、及び、実験3-3のセンサ（作用極導電層及び対極が、白金粒子をカーボンに対し5重量%含有するカーボン導電層）を用いて、液体試料中のグルコース濃度に対応する電流値（A）及び乳酸濃度に対応する電流値

(B) を経時的に測定した結果を示す ($N = 2$)。

[図62] 第4の開示の一実施形態に係るセンサの平面図。

[図63] 図62に示すセンサの、対極を含む部分の、 $S - S'$ 線に沿った断面図。

[図64] 図62に示すセンサの、作用極を含む部分の、 $T - T'$ 線に沿った断面図。

[図65] 図65は、第4の開示の実験8の結果を示す。図65Aは実験8-1のセンサを用いた測定結果を示し、図65Bは実験8-2のセンサを用いた測定結果を示す。

[図66] 図66は、第4の開示の実験9の結果を示す。図66Aは実験9-1のセンサを用いた測定結果を示し、図66Bは実験9-2のセンサを用いた測定結果を示し、図66Cは実験9-3のセンサを用いた測定結果を示す。

[図67] 図67は、第4の開示の実験10の結果を示す。

発明を実施するための形態

[0016] 本明細書における第1の開示から第4の開示の一以上の実施形態について説明する。本明細書において、ある方法及び物性について温度を明示しない場合は、室温 ($25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) での方法及び物性を指す。

本明細書は本願の優先権の基礎となる日本国特許出願番号2022-107320号及び2022-116287号の開示内容を包含する。

また本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願はそのまま引用により本明細書に組み入れられるものとする。

[0017] <第1の開示の実施形態>

以下、第1の開示に係るセンサ及びセンサの製造方法の実施形態について説明する。本実施形態では、必要以上に詳細な説明は省略する場合がある。例えば、既によく知られた事項の詳細説明や実質的に同一の構成に対する重複説明を省略する場合がある。これは、以下の説明が不必要に冗長になるのを避け、当業者の理解を容易にするためである。

[0018] また、出願人は、当業者が第1の開示を十分に理解するために添付図面及

び以下の説明を提供するのであって、これらによって特許請求の範囲に記載の主題を限定することを意図するものではない。

[0019] <材料>

本明細書の第1の開示のセンサ及びその製造方法に用いることができる材料の例について説明する。

[0020] 本明細書の第1の開示のセンサの絶縁性の基板の材料は特に限定されないが、例えば、ポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート、ポリイミド、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリオキシメチレン、モノマーキャストナイロン、ポリブチレンテレフタレート、メタクリル樹脂、ABS樹脂等の樹脂材料、或いは、ガラス材料を用いることができる。好ましくはポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート及びポリイミドであり、より好ましくはポリエチレンテレフタレートである。基板の厚さ等の寸法は特に限定されないが、厚さが例えば0.05mm以上、2mm以下であり、好ましくは0.1mm以上、1mm以下の基板を用いることができる。

[0021] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える導電層は、カーボン、金、白金、パラジウム等の導電性材料を含む層である。作用極、参照極及び対極の導電層は、前記のような導電性材料の層を、スパッタリング法、蒸着法、スクリーン印刷法等を用いて基板の表面上に形成することにより製造することができる。導電層は、必要に応じて、レーザートリミング法を用いて所定のパターンに加工することができる。後述する実施形態に係るセンサの配線もまた同様の導電性材料により構成することができる。

[0022] 本明細書の第1の開示のセンサは、液体試料に浸漬して液体試料中の所定の被検物質を検出するために用いられる。被検物質としては、グルコース、乳酸、コレステロール、ビリルビン、グルタミン、グルタミン酸等のアミノ酸、糖化アミノ酸、糖化ペプチド、ケトン体（3-ヒドロキシ酪酸）、アルコール等が挙げられる。

[0023] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極は、酸化還元反応に関与する試薬

を含む試薬層を備える。酸化還元反応に関与する試薬は、被検物質の酸化還元反応に関与する試薬であればよく、被検物質に応じて適宜選択することができる。酸化還元反応に関与する試薬としては、酸化還元酵素とメディエータ（電子伝達物質）との組み合わせ、又は、酸化還元酵素を含むことができる。酸化還元酵素は補酵素を含むことができる。

[0024] 酸化還元酵素としては、酸化酵素又は脱水素酵素が挙げられる。酸化還元酵素の具体例としては、例えば、グルコースオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ビリルビンオキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、アミノ酸オキシダーゼ、アミノ酸デヒドロゲナーゼ、グルタミン酸オキシダーゼ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ、フルクトシルペプチドオキシダーゼ、3-ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼ、アルコールオキシダーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ等を挙げることができる。これらの酸化還元酵素は、上記で例示した被検物質の検出に利用できる。

[0025] また、メディエータは、限定するものではないが、金属錯体（例えば、オスミウム錯体、ルテニウム錯体、鉄錯体等）、キノン化合物（例えば、ベンゾキノン、ナフトキノン、フェナントレンキノン、フェナントロリンキノン、アントラキノン、及びそれらの誘導体等）、フェナジン化合物、ピオロゲン化合物、フェノチアジン化合物、及びフェノール化合物から選択される1以上であることができる。メディエータの具体例としては、フェリシアン化カリウム、ヘキサアンミンルテニウム、フェロセン、ポリ（1-ビニルイミダゾール）-ビス（ビピリジン）クロロオスミウム、ヒドロキノン、2-メチル-1, 4-ベンゾキノン、1, 2-ナフトキノン-4-スルホン酸塩、9, 10-フェナントレンキノン-2-スルホン酸塩、9, 10-フェナントレンキノン-2, 7-ジスルホン酸塩、1, 10-フェナントロリン-5, 6-ジオン、アントラキノン-2-スルホン酸塩、フェナジン誘導体（1-メトキシ-5-メチルフェナジニウムメチルサルフェート、1-メトキシ-5-エチルフェナジニウムエチルサルフェート等）、メチルピオロゲン、

ベンジルピオロゲン、メチレンブルー、メチレングリーン、2-アミノフェノール、2-アミノ-4-メチルフェノール、及び2, 4-ジアミノフェノールから選択される1以上が挙げられる。上記塩としては、限定するものではないが、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、リチウム塩等が挙げられる。

[0026] メディエータは、センサの耐久性やセンサ外への流出を抑制するという観点から高分子化合物に結合した高分子化メディエータであることが望ましい。メディエータが結合する高分子化合物は、ホモポリマー、ランダムコポリマー、ブロックコポリマー、或いは、それらが結合又は混合された高分子化合物であることができる。その高分子化合物の重量平均分子量は、例えば10,000以上、好ましくは50,000以上、更に好ましくは100,000以上であり、重量平均分子量の上限は、例えば10,000,000未満、好ましくは1,000,000未満である。また、高分子化合物は、特に限定されるものではないが、炭素原子、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子の少なくとも1つから選ばれる原子が、鎖状に複数結合して主鎖を構成するものが挙げられる。その具体例としては、タンパク質、ポリペプチド、ポリヌクレオチド等の天然系高分子化合物、並びに、ポリアミノ酸、ポリイミン、ポリアリル化合物、ポリ(メタ)アクリレート、ポリアルキレンオキシド、及びそれらのコポリマー等の合成系高分子化合物を挙げることができる。ポリアミノ酸としては、ポリ(レーグルタミン酸)やポリ(レーリジン)を挙げることができる。また、ポリイミンとしては、ポリエチレンイミンやポリプロピレンイミン等のポリアルキレンイミンを挙げることができる。また、ポリアリル化合物としては、ポリアリルアミンやポリジアリルアミン等を挙げることができる。また、ポリアルキレンオキシドとしては、ポリエチレンオキシドやポリプロピレンオキシドを挙げることができる。なお、高分子化メディエータ全体は親水性であることが好ましく、更にメディエータを結合させる高分子化合物が親水性であることが好ましい。

[0027] 高分子化メディエータとしては、共有結合を介してメディエータと高分子

化合物とを結合させたものを用いることができる。この共有結合としては、例えば特表2003-514924号公報に記載されているものを用いることができ、具体的には、エーテル結合、チオエーテル結合、エステル結合、ウレタン結合、アミド結合等を挙げることができる。共有結合は、高分子化合物を形成するモノマーが元来有していた反応基から形成されてもよく、或いは、別途メディエータ又は高分子化合物に導入されたリンカーが有する反応基から形成されてもよい。高分子化メディエータの具体例としては、例えば、メディエータにフェナジン化合物を用い、高分子にポリ（レーリジン）を用い、アミド結合を介して、フェナジン化合物とポリ（レーリジン）が結合したものを挙げることができる。

[0028] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える試薬層は、水中に酸化還元反応に関与する試薬を含む液体組成物Aを乾燥させることにより形成することができる。液体組成物Aは、水中に前記試薬を含み、更に必要に応じて、緩衝剤、親水性高分子化合物、導電性炭素フィラー、架橋剤等の成分を含むことができる。親水性高分子化合物としては、セルロース誘導体が挙げられ、セルロース誘導体としては、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルメチルセルロース及びヒドロキシプロピルメチルセルロースから選択される1種以上が挙げられる。導電性炭素フィラーとしては、カーボンブラック、黒鉛粉、多孔質炭素及びナノカーボンから選択される1種以上が挙げられる。

[0029] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える保護膜は、試薬層に含まれる試薬の保護膜外への漏出を防止又は抑制し、且つ、保護膜外に存在する被検物質が透過可能な膜であることができる。このような性質を有する保護膜は、高分子化合物を含むことが好ましい。保護膜に含まれる高分子化合物としては、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物等が例示できる。

[0030] 4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物としては、ポリ（4-

ビニルピリジン)、4-ビニルピリジンとメタクリル酸アルキルエステルとのコポリマー(好ましくはブロックコポリマー)、スチレンと4-ビニルピリジンとオリゴプロピレングリコールメチルエーテルメタクリレートとのコポリマー(好ましくはランダムコポリマー)が挙げられる。前記メタクリル酸アルキルエステルとしてはtert-ブチルメタクリレートが挙げられる。前記オリゴプロピレングリコールメチルエーテルメタクリレートとしてはトリプロピレングリコールメチルエーテルメタクリレートが挙げられる。4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物は、ポリエチレングリコールジグリシジルエーテル(PEGDGE)等の、2以上のエポキシ基を含む架橋剤により架橋されていることが好ましい。2以上のエポキシ基を含む架橋剤により架橋された、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物は、4-ビニルピリジン由来のピリジル基(第3級アミン)と、エポキシ基との反応により生じる第四級アンモニウムカチオン含有官能基を含む。2以上のエポキシ基を含む架橋剤により架橋された、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物の好ましい態様としては、第4の開示において記載する「陽イオン性官能基を含む第2重合体化合物」の具体的態様が好ましい。

[0031] 陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物としては、側鎖にスルホン酸基を有する構成単位を含む重合体化合物が挙げられ、好ましくは側鎖にスルホン酸基を有するパーフルオロ化合物を構成単位に含む重合体化合物であり、より好ましくは側鎖にスルホン酸基を有するパーフルオロ化合物と、側鎖にイオン性官能基を有さないパーフルオロ化合物とを構成単位に含む共重合体化合物であり、特に好ましくはテトラフルオロエチレンとパーフルオロ-2-(2-フルオロスルホニルエトキシ)プロピルビニルエーテルとの共重合体化合物であり、特に好ましくはNafion(登録商標)である。陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物の好ましい態様としては、第4の開示において記載する「陽イオン交換性官能基を含む第1重合体化合物」の具体的態様が好ましい。陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物を含む保護膜は

、プロトンなどの陽イオンを試薬層と液体試料との間で輸送するために、試薬層上に設けられることが好ましい。

[0032] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える保護膜は、2以上の保護膜の積層体であることができ、例えば、試薬層と接する側に設けられた、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物を含む保護膜と、その上に設けられた、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む保護膜との積層体であることができる。

[0033] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える保護膜は、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物Bを乾燥することにより形成することができる。ここで保護膜成分としては、保護膜に含まれる高分子化合物、架橋剤等が挙げられる。液体組成物B中のアルコールとしては、例えば炭素数1～5の一価アルコールが挙げられ、特にメタノール、エタノール又はイソプロピルアルコールが好ましく、エタノールが最も好ましい。

[0034] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える第1絶縁層は、撥水性の表面を含む。ここで撥水性の表面とは、水に対する接触角が例えば90°以上、より好ましくは100°以上、最も好ましくは110°以上の表面を指す。第1絶縁層の撥水性の表面の、水に対する接触角の上限は特に限定されないが、例えば160°以下（前記水に対する接触角の範囲は例えば90°以上、160°以下）であることができる。

[0035] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える第2絶縁層は、アルコールに対して撥液性（撥アルコール性）の表面を含む。ここでアルコールに対して撥液性の表面とは、アルコールに対する接触角が例えば45°以上、より好ましくは50°以上、最も好ましくは55°以上の表面を指す。第2絶縁層のアルコールに対して撥液性の表面の、アルコールに対する接触角の上限は特に限定されないが、例えば100°以下（前記アルコールに対する接触角の範囲は例えば45°以上、100°以下）であることができる。ここでアルコールとは、例えば炭素数1～5の一価アルコールが挙げられ、特にメタノール、エタノール又はイソプロピルアルコールが好ましく、エタノー

ルが最も好ましい。

[0036] 第1絶縁層の表面の水に対する接触角、及び、第2絶縁層の表面のアルコールに対する接触角は、20℃における測定値を採用することができる。第1絶縁層の表面の水に対する接触角、及び、第2絶縁層の表面のアルコールに対する接触角は、市販の解析装置を用いて測定することができ、例えばKRUS社製のハンディ接触角・表面自由エネルギー解析装置MSAを用いて測定することができる。表面の水又はアルコールに対する接触角は、測定対象の表面に水又はアルコールの2μLの液滴を吐出して、2秒後に、液滴と表面との接触角を測定することが好ましい。

[0037] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える第1絶縁層の、撥水性の表面は、好ましくはフッ素樹脂を含む。フッ素樹脂としては、フッ化炭化水素の重合体化合物が使用でき、例えば、フッ化ビニリデン、テトラフルオロエチレン、ヘキサフルオロプロピレン及びパーフルオロ（アルキルビニルエーテル）から選択される1以上を含む重合体化合物が挙げられ、特にフッ化ビニリデン、テトラフルオロエチレン、ヘキサフルオロプロピレン及びパーフルオロ（アルキルビニルエーテル）から選択される2以上を含むコポリマーであることが好ましく、フッ化ビニリデンとヘキサフルオロプロピレンとを含むコポリマーであることがより好ましい。第1絶縁層は全体をフッ素樹脂により構成することができる。

[0038] 本明細書の第1の開示のセンサの作用極が備える第2絶縁層の、アルコールに対して撥液性の表面は、好ましくはパーフルオロアルキル基を含む化合物を含む。パーフルオロアルキル基を含む化合物としては、フッ素系表面改質添加剤が挙げられる。このような第2絶縁層は、溶媒中に、絶縁性のマトリックス樹脂と、パーフルオロアルキル基を含む化合物（フッ素系表面改質添加剤）とを含む組成物を、第1絶縁層上に塗布して乾燥させることにより形成することができる。このとき、パーフルオロアルキル基を含む化合物が表面に偏析して、アルコールに対して撥液性の表面が形成される。こうして形成される第2絶縁層は、好ましくは、表面にパーフルオロアルキル基を含

む化合物を含む絶縁性のマトリックス樹脂の層である。絶縁性のマトリックス樹脂の種類は特に限定されないが、例えばポリエステル系樹脂であってよい。パーフルオロアルキル基の炭素数は特に限定されないが、例えば炭素数2～20の範囲であることができる。パーフルオロアルキル基は末端にトリフルオロメチル基を含有することができる。

[0039] <センサ1の概要>

第1の開示の一実施形態に係るセンサ1について図面を参照して説明する。

本実施形態のセンサ1は、図5に示すように、絶縁性の基板2と、基板2上に配置された第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極30と、第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極30のそれぞれと電氣的に接続された配線50を備える。本実施形態のセンサ1は作用極を2つ含むが、図示しない別の実施形態では、作用極は1つのみであってもよく、3つ以上であってもよい。以下の説明では、第1作用極10a及び第2作用極10bを区別しない場合は、作用極10a、10bと表現する場合がある。また、第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極30を総称して、電極と表現する場合がある。また、本実施形態のセンサ1は電極として作用極、参照極及び対極を含む三極式センサであるが、参照極を含まず作用極及び対極のみを含む二極式センサであってもよい。図示しないが、参照極及び／又は対極は、作用極が配置された基板とは別の基板上に設けられていてもよい。

[0040] センサ1は、図21に示すように、液体試料Xに浸漬して液体試料X中の所定の被検物質を検出するために用いられる。液体試料Xとしては、例えば図示するように細胞Cを含む培養液や、生体から取得された血液を用いて調製された液体試料が挙げられる。被検物質の具体例は、<材料>の欄に記載の通りである。

[0041] センサ1の作用極10a、10bは、図12及び図16に示す通り、導電層11a、11b上に、液体試料X中の被検物質の酸化還元反応に関与する

試薬を含む試薬層 15 a, 15 b を含む。酸化還元反応に関与する試薬の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

- [0042] センサ 1 の作用極 10 a, 10 b の試薬層 15 a, 15 b が、液体試料 X 中の被検物質を酸化する試薬を含む場合、センサ 1 の電極に所定の電圧を印加した条件下で、被検物質から導電層 11 a, 11 b に電子が移動する。同様に、試薬層 15 a, 15 b が、液体試料 X 中の被検物質を還元する試薬を含む場合、導電層 11 a, 11 b から被検物質に電子が移動する。移動する電子の量は被検物質の濃度に依存するため、センサ 1 の作用極 10 a, 10 b を流れる電流値又は電流値の変化に基づき、液体試料 X 中の被検物質の濃度又は濃度変化を測定することができる。
- [0043] センサ 1 を備える、液体試料中の被検物質を分析するための分析装置 100 の一例について、図 24 を参照して説明する。
- [0044] 分析装置 100 は、図 24 に示すように、センサ 1 と、分析ユニット 102 と、制御ユニット 104 とを備える。センサ 1 の作用極 10 a, 10 b、参照極 20 及び対極 30 は、それぞれ、配線 50 を介して分析ユニット 102 と接続される。分析ユニット 102 は制御ユニット 104 と通信可能である。
- [0045] 分析ユニット 102 は、電気化学測定部 111、制御部 112、記憶部 113 及び通信部 114 を備える。
- [0046] 電気化学測定部 111 は、センサ 1 の各電極に対して所定の電圧を印加して被検物質の濃度を測定するポテンショスタットであって、電圧印加部 111 a と、電流測定部 111 b とを含み、好ましくは更に電圧測定部（対極端子電圧測定部） 111 c を含む。
- [0047] 電圧印加部 111 a は、センサ 1 の電極に対して、液体試料 X に含まれる被検物質の濃度を測定するために所定の電圧を印加する。
- [0048] 電流測定部 111 b は、電圧印加部 111 a からセンサ 1 の電極に対して電圧が印加された状態で測定される、センサ 1 の作用極 10 a, 10 b と対極 30 との間に流れる電流値又はその変化を検出する。上記の通り、電流測

定部 1 1 1 b で検出される電流値又は電流値の変化は、液体試料 X 中の被検物質の濃度又は濃度変化の指標となる。

- [0049] 電圧測定部 1 1 1 c は、センサ 1 の各電極の端子電圧を測定する。
- [0050] 制御部 1 1 2 は、電圧印加部 1 1 1 a、電流測定部 1 1 1 b、電圧測定部 1 1 1 c、記憶部 1 1 3 及び通信部 1 1 4 と接続されている。制御部 1 1 2 は、電圧印加部 1 1 1 a に対し、センサ 1 の各電極に所定の電圧を印加するように制御するとともに、電流測定部 1 1 1 b 及び電圧測定部 1 1 1 c における測定結果を、制御ユニット 1 0 4 に送信するように、通信部 1 1 4 を制御する。
- [0051] 記憶部 1 1 3 は、制御部 1 1 2 と接続されており、例えば、測定対象ごとに予め設定された印加電圧の値、電流測定部 1 1 1 b 及び電圧測定部 1 1 1 c における測定値、予め測定された検量線等のデータを保存する。
- [0052] 通信部 1 1 4 は、制御部 1 1 2 によって制御され、制御ユニット 1 0 4 の解析部 1 4 2 に、電流測定部 1 1 1 b 及び電圧測定部 1 1 1 c における測定結果等のデータを送信する。
- [0053] 制御ユニット 1 0 4 は、通信部 1 1 4 を介して分析ユニット 1 0 2 との間で通信可能であって、表示部 1 4 1 と、解析部 1 4 2 とを備えている。
- [0054] 表示部 1 4 1 は、解析部 1 4 2 における解析の結果として、例えば、電流測定部 1 1 1 b において検出された電流値から液体試料 X 中の被検物質の濃度等を表示する。
- [0055] 解析部 1 4 2 は、例えば、PC (Personal Computer) であって、電流測定部 1 1 1 b において測定された、作用極 1 0 a、1 0 b と対極 3 0 との間に流れる電流値に基づき、被検物質の濃度を算出する。
- [0056] <作用極>

センサ 1 の作用極 1 0 a、1 0 b の特徴について、図面、特に図 1 2 及び図 1 6 を参照して説明する。図 1 2 は、センサ 1 の第 1 作用極 1 0 a を含む部分の、図 5 の C - C' 線に沿った断面図である。図 1 6 は、センサ 1 の第 2 作用極 1 0 b を含む部分の、図 5 の D - D' 線に沿った断面図である。

- [0057] 第1作用極10aは、導電層11a、第1絶縁層3a、第2絶縁層4a、試薬層15a及び保護膜16aを備える(図12)。第2作用極10bは、導電層11b、第1絶縁層3b、第2絶縁層4b、試薬層15b及び保護膜16bを備える(図16)。以下の説明において、第1作用極10a及び第2作用極10bの各要素を区別せずに言及する場合は、導電層11a、11b、第1絶縁層3a、3b、第2絶縁層4a、4b、試薬層15a、15b及び保護膜16a、16bのように表現する。
- [0058] 作用極10a、10bの導電層11a、11bは、絶縁性の基板2上に配置される。導電層11a、11bが形成された側の主面を第1面2aとする。
- [0059] 基板2及び導電層11a、11bの材料の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。
- [0060] 作用極10a、10bの第1絶縁層3a、3bは、少なくとも一部が導電層11a、11b上に配置される。図12及び図16に示すように、第1絶縁層3a、3bの一部が導電層11a、11b上に配置されてもよいし、図示しないが、第1絶縁層3a、3bの全体が導電層11a、11b上に配置されてもよい。
- [0061] 図示する実施形態では、作用極10a、10bの第1絶縁層3a、3bは、基板2の第1面2a上のほぼ全体を覆う第1絶縁層3のうち、作用極10a、10bの導電層11a、11bの近傍部分を指す。しかしこの実施形態には限定されず、作用極10a、10bの第1絶縁層3a、3bは、作用極10a、10bの導電層11a、11bの近傍部分のみに配置されていてもよい。
- [0062] 作用極10a、10bの第1絶縁層3a、3bは、基板2の厚さ方向Tからの平面視において導電層11a、11bの一部と重なる位置に形成された、厚さ方向Tに貫通した第1開口部3a1、3b1と、撥水性の表面3a2、3b2を有することを特徴とする。第1開口部3a1、3b1の内周縁3a10、3b10の、厚さ方向Tからの平面視における形状は、図示する例

では円形であるが、これには限定されず、多角形（四角形、三角形等）やその他の任意の形状であることができる。

[0063] 作用極10a, 10bの第1絶縁層3a, 3bの、導電層11a, 11bを覆う部分の厚さは特に限定されないが例えば0.5 μm 以上、50 μm 以下とすることができ、好ましくは2 μm 以上、20 μm 以下とすることができる。

[0064] 作用極10a, 10bの第1絶縁層3a, 3bの第1開口部3a1, 3b1の開口幅は特に限定されないが、例えば0.5 mm以上、5 mm以下、好ましくは1 mm以上、2 mm以下とすることができる。

[0065] 作用極10a, 10bの第1絶縁層3a, 3bは、撥水性の表面3a2, 3b2を有する。後述する通り、作用極10a, 10bの試薬層15a, 15bは、作用極10a, 10bの第1絶縁層3a, 3bの第1開口部3a1, 3b1内に、水中に酸化還元反応に関与する試薬を含む液体組成物Aの液滴を形成したのち乾燥することにより形成する。液滴形成時に、作用極10a, 10bの第1絶縁層3a, 3bの表面3a2, 3b2は撥水性であるため、液体組成物Aの液滴は崩壊せずに保持され易い。このため乾燥後の試薬層15a, 15bの特性（例えば試薬層15a, 15bの厚さ、試薬層15a, 15bを構成する試薬の量）を設計した範囲とすることが容易である。

[0066] 撥水性の表面3a2, 3b2を有する第1絶縁層3a, 3bを構成する材料の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0067] 作用極10a, 10bの第2絶縁層4a, 4bは、第1絶縁層3a, 3b上に配置される。図示する実施形態では、作用極10a, 10bの第2絶縁層4a, 4bは、基板2の第1面2a上のほぼ全体を覆う第2絶縁層4のうち、作用極10a, 10bの導電層11a, 11bの近傍部分を指す。しかしこの実施形態には限定されず、作用極10a, 10bの第2絶縁層4a, 4bは、作用極10a, 10bの導電層11a, 11bの近傍部分のみに配置されていてもよい。

[0068] 作用極10a, 10bの第2絶縁層4a, 4bは、基板2の厚さ方向Tか

らの平面視において、第1絶縁層3a、3bのうち第1開口部3a1、3b1の全体を内包する部分3a3、3b3と重なる位置に形成された、厚さ方向Tに貫通した第2開口部4a1、4b1と、アルコールに対して撥液性の表面4a2、4b2とを有する。

[0069] 作用極10a、10bの第2絶縁層4a、4bの第2開口部4a1、4b1の内周縁4a10、4b10の、厚さ方向Tからの平面視における形状は、図示する例では円形であるが、これには限定されず、多角形（四角形、三角形等）やその他の任意の形状であることができる。図3に示すように、第1絶縁層3a、3bの第1開口部3a1、3b1の内周縁3a10、3b10と、第2絶縁層4a、4bの第2開口部4a1、4b1の内周縁4a10、4b10とは、厚さ方向Tからの平面視において平行な形状であることが好ましいが、これには限定されない。第2絶縁層4a、4bの第2開口部4a1、4b1は、その底に、第1絶縁層3a、3bの第1開口部3a1、3b1及びその内部の試薬層15a、15bと、第1絶縁層3a、3bの撥水性の表面3a2、3b2のうち、第1開口部3a1、3b1を囲う領域を含む凹部である。

[0070] 作用極10a、10bの第2絶縁層4a、4bの厚さは特に限定されないが例えば5 μ m以上、100 μ m以下とすることができ、好ましくは10 μ m以上、50 μ m以下とすることができる。

[0071] 作用極10a、10bの第2絶縁層4a、4bの第2開口部4a1、4b1の開口幅は特に限定されないが、例えば0.5mm以上、5mm以下、好ましくは1mm以上、3mm以下とすることができる。

[0072] 作用極10a、10bの第2絶縁層4a、4bは、アルコールに対し撥液性（撥アルコール性）の表面4a2、4b2を有する。後述する通り、作用極10a、10bの保護膜16a、16bは、作用極10a、10bの第2絶縁層4a、4bの第2開口部4a1、4b1内に、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物Bの液滴を形成したのち乾燥することにより形成する。液体組成物Bの液滴形成時に、作用極10a、10bの第2絶縁層4a、

4 b の表面 4 a 2, 4 b 2 はアルコールに対して撥液性であるため、液体組成物 B の液滴は崩壊せずに保持され易い。このため乾燥後の保護膜 1 6 a, 1 6 b の特性（例えば保護膜 1 6 a, 1 6 b の厚さ、保護膜 1 6 a, 1 6 b を構成する成分の量）を設計した範囲とすることが容易である。

[0073] アルコールに対し撥液性（撥アルコール性）の表面 4 a 2, 4 b 2 を有する第 2 絶縁層 4 a, 4 b を構成する材料の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0074] 作用極 1 0 a, 1 0 b の試薬層 1 5 a, 1 5 b は、第 1 絶縁層 3 a, 3 b の第 1 開口部 3 a 1, 3 b 1 内に配置され、第 1 絶縁層 3 a, 3 b の第 1 開口部 3 a 1, 3 b 1 の内周縁 3 a 1 0, 3 b 1 0 により規定される外周縁 1 5 a 1 0, 1 5 b 1 0 と、酸化還元反応に関与する試薬とを含む。試薬層 1 5 a, 1 5 b の厚さは、特に限定されないが、図示するように第 1 絶縁層 3 a, 3 b の、導電層 1 1 a, 1 1 b を覆う部分の厚さとほぼ同一であるか、それよりも小さいことが好ましい。

[0075] 試薬層 1 5 a, 1 5 b における酸化還元反応に関与する試薬の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0076] 作用極 1 0 a, 1 0 b の保護膜 1 6 a, 1 6 b は、第 2 絶縁層 4 a, 4 b の第 2 開口部 4 a 1, 4 b 1 内に配置され、第 2 絶縁層 4 a, 4 b の第 2 開口部 4 a 1, 4 b 1 の内周縁 4 a 1 0, 4 b 1 0 により規定される外周縁 1 6 a 1 0, 1 6 b 1 0 を含む。保護膜 1 6 a, 1 6 b の厚さは、特に限定されないが、図示するように第 2 絶縁層 4 a, 4 b の厚さとほぼ同一であるか、それよりも小さいことが好ましい。

[0077] 保護膜 1 6 a, 1 6 b の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0078] 以下の説明では、第 1 作用極 1 0 a の「試薬層 1 5 a」と、第 2 作用極 1 0 b の「試薬層 1 5 b」とを区別するために、前者を第 1 作用極 1 0 a の「第 1 試薬層 1 5 a」、後者を第 2 作用極 1 0 b の「第 2 試薬層 1 5 b」と表現する場合がある。また、第 1 作用極 1 0 a の試薬層 1 5 a が有する試薬を

「第1試薬」、第2作用極10bの第2試薬層15bが有する試薬を「第2試薬」と表現する場合がある。

[0079] センサ1は、好適な実施形態において、複数の作用極10a, 10bを備え、複数の作用極10a, 10bのうち第1作用極10aの第1試薬層15aに含まれる第1試薬と、第1作用極10aとは異なる第2作用極10bの第2試薬層15bに含まれる第2試薬とは、互いに異なる。この好適な実施形態に係るセンサ1は、第1試薬が、液体試料X中の第1被検物質の酸化還元反応に関与し、第2試薬が、液体試料X中の第1被検物質とは異なる第2被検物質の酸化還元反応に関与することができるため、液体試料X中の、第1被検物質及び第2被検物質を含む複数の被検物質を検出するために用いることができる。

[0080] 複数の作用極10a, 10bを備える上記の好適な実施形態に係るセンサ1において、第1試薬は、好ましくはグルコースの酸化還元反応に関与する酵素、より好ましくはグルコースデヒドロゲナーゼ又はグルコースオキシダーゼを含み、第2試薬は、好ましくは乳酸の酸化還元反応に関与する酵素、より好ましくは乳酸オキシダーゼ又は乳酸デヒドロゲナーゼを含む。この態様に係るセンサ1は、グルコースと乳酸とを検出することができる。

[0081] <参照極>

センサ1の参照極20の構造について、図面、特に図22を参照して説明する。図22は、センサ1の参照極20を含む部分の、図5のE-E'線に沿った断面図である。

[0082] 参照極20は、絶縁性の基板2の第1面2a上に配置された参照極導電層21と、参照極導電層21上に配置された銀/塩化銀層22と、銀/塩化銀層22上に配置された参照極保護膜23とを備える。

[0083] 参照極導電層21は、作用極10a, 10bの導電層11a, 11bに関して記載した材料により形成することができる。

[0084] 参照極保護膜23は、作用極10a, 10bの保護膜16a, 16bに関して<材料>の欄に記載した材料により形成することができる。

[0085] 基板2の第1面2a上に配置された第1絶縁層3は、一部が参照極導電層21上に配置されており、基板2の厚さ方向Tからの平面視において参照極導電層21の一部と重なる位置に形成された厚さ方向Tに貫通した参照極第1開口部301を含む。参照極20の銀／塩化銀層22は、第1絶縁層3の参照極第1開口部301内に配置されている。

[0086] 第1絶縁層3上に配置された第2絶縁層4は、厚さ方向Tからの平面視において第1絶縁層3のうち参照極第1開口部301の全体を内包する部分と重なる位置に形成された厚さ方向Tに貫通した参照極第2開口部401を含む。参照極20の参照極保護膜23は、第2絶縁層4の参照極第2開口部401内に配置されている。

[0087] <対極>

センサ1の対極30の構造について、図面、特に図23を参照して説明する。図23は、センサ1の対極30を含む部分の、図5のF-F'線に沿った断面図である。

[0088] 対極30は、絶縁性の基板2の第1面2a上に配置された対極導電層31を備える。

[0089] 対極導電層31は、作用極10a、10bの導電層11a、11bに関して記載した材料により形成することができる。

[0090] 基板2の第1面2a上に配置された第1絶縁層3は、一部が対極導電層31上に配置されており、基板2の厚さ方向Tからの平面視において対極導電層31の一部と重なる位置に形成された厚さ方向Tに貫通した対極第1開口部302を含む。

[0091] 第1絶縁層3上に配置された第2絶縁層4は、厚さ方向Tからの平面視において第1絶縁層3のうち対極第1開口部302と重なる位置に形成された厚さ方向Tに貫通した対極第2開口部402を含む。

[0092] 対極30の対極導電層31は、第1絶縁層3の対極第1開口部302及び第2絶縁層4の対極第2開口部402を通じて外部に露出している。このため図21に示すようにセンサ1を液体試料Xに浸漬したときに、対極30の

対極導電層 3 1 は液体試料 X と直接接触する。

[0093] <センサ 1 の製造方法>

センサ 1 の製造方法の好ましい実施形態について、図面、特に図 1 ～図 1 6 を参照して説明する。

[0094] まず図 1 に示すように、絶縁性の基板 2 の第 1 面 2 a 上に、作用極 1 0 a , 1 0 b の導電層 1 1 a , 1 1 b、参照極 2 0 の参照極導電層 2 1 及び対極 3 0 の対極導電層 3 1、並びに、それらの各々に電氣的に接続された配線 5 0 を配置する。

[0095] 続いて図 2 に示すように、作用極 1 0 a , 1 0 b の導電層 1 1 a , 1 1 b、参照極導電層 2 1、対極導電層 3 1 及び配線 5 0 が配置された基板 2 の第 1 面 2 a 上に、第 1 絶縁層 3 を更に積層する。第 1 絶縁層 3 のうち、作用極 1 0 a , 1 0 b の導電層 1 1 a , 1 1 b の近傍の部分が、作用極 1 0 a , 1 0 b の第 1 絶縁層 3 a , 3 b である。作用極 1 0 a , 1 0 b の第 1 絶縁層 3 a , 3 b の一部は、導電層 1 1 a , 1 1 b 上に配置され、導電層 1 1 a , 1 1 b の上面を覆う。作用極 1 0 a , 1 0 b の第 1 絶縁層 3 a , 3 b は、作用極 1 0 a , 1 0 b の導電層 1 1 a , 1 1 b の一部と重なる位置に、作用極 1 0 a , 1 0 b の第 1 開口部 3 a 1 , 3 b 1 を有する。第 1 絶縁層 3 は更に、参照極導電層 2 1 の一部と重なる位置に参照極第 1 開口部 3 0 1 を有し、対極導電層 3 1 の一部と重なる位置に対極第 1 開口部 3 0 2 を有する。

[0096] 続いて図 3 に示すように、第 1 絶縁層 3 上に、第 2 絶縁層 4 を更に積層する。第 2 絶縁層 4 のうち、作用極 1 0 a , 1 0 b の導電層 1 1 a , 1 1 b の近傍の部分が、作用極 1 0 a , 1 0 b の第 2 絶縁層 4 a , 4 b である。作用極 1 0 a , 1 0 b の第 2 絶縁層 4 a , 4 b は、作用極 1 0 a , 1 0 b の第 1 絶縁層 3 a , 3 b のうち第 1 開口部 3 a 1 , 3 b 1 の全体を内包する部分 3 a 3 , 3 b 3 と重なる位置に形成された、第 2 開口部 4 a 1 , 4 b 1 を有する。第 2 絶縁層 4 は更に、第 1 絶縁層 3 の参照極第 1 開口部 3 0 1 と重なる位置に参照極第 2 開口部 4 0 1 を有し、第 1 絶縁層 3 の対極第 1 開口部 3 0 2 と重なる位置に対極第 2 開口部 4 0 2 を有する。好ましくは、第 2 絶縁層

4は、溶媒中に、絶縁性のマトリックス樹脂と、パーフルオロアルキル基を含む化合物（フッ素系表面改質添加剤）とを含むインクを、第1絶縁層上に塗布して乾燥させることにより形成することができる。

[0097] 図3に示す、作用極10a、10bの導電層11a、11b、参照極導電層21、対極導電層31及び配線50、第1絶縁層3並びに第2絶縁層4が配置された基板2のうち、第1作用極10aに対応する部分の、A-A'線に沿った断面を図6に示す。図6に示すように、作用極10aの第1絶縁層3aの第1開口部3a1は、その底に、作用極10aの導電層11aを含む凹部である。作用極10aの第1絶縁層3aは、撥水性の表面3a2を有する。

[0098] 続いて図7に示すように、作用極10aの第1絶縁層3aの第1開口部3a1内に、水中に酸化還元反応に関与する試薬を含む液体組成物Aの液滴を形成する。このとき、作用極10aの第1絶縁層3aの表面3a2は撥水性であるため、液体組成物Aの液滴は、第1絶縁層3aの表面3a2との接点での内角 θ_a （図7に図示）が、第1絶縁層3aの表面3a2の水接触角に達するまで崩壊せずに保持される。

[0099] このように作用極10aの第1絶縁層3aの第1開口部3a1内に液体組成物Aの液滴を形成したのち、乾燥して、図8に示すように、試薬層15aを形成する。上記の通り、水中に酸化還元反応に関与する試薬を含む液体組成物Aの液滴は、撥水性の表面3a2を有する第1絶縁層3aの第1開口部3a1内で崩壊せずに保持され易いため、乾燥後の試薬層15aの特性（例えば試薬層15aの厚さ、試薬層15aを構成する試薬の量）を設計した範囲とすることが容易である。仮に、第1絶縁層3aの表面が撥水性を有さない場合は、第1絶縁層3aの第1開口部3a1内に液体組成物Aの液滴を形成したときに、液滴が崩壊し液体組成物Aは第1絶縁層3aの第1開口部3a1の外側を濡らす可能性が高く、乾燥して得られる試薬層の特性を、設計した範囲に調節することは容易ではない。

[0100] 水中に酸化還元反応に関与する試薬を含む液体組成物Aの組成の好ましい

態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0101] 試薬層 15 a の形成後に、図 9 に示すように、作用極 10 a の第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 内に、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物 B の液滴を形成する。このとき、第 2 絶縁層 4 a の表面 4 a 2 はアルコールに対して撥液性であるため、液体組成物 B の液滴は、第 2 絶縁層 4 a の表面 4 a 2 との接点での内角 θb （図 9 に図示）が、第 2 絶縁層 4 a の表面 4 a 2 のアルコールとの接触角に達するまで崩壊せずに保持される。

[0102] このように作用極 10 a の第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 内の液体組成物 B の液滴を形成したのち、乾燥して、図 10 に示すように、保護膜 16 a を形成する。上記の通り、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物 B の液滴は、アルコールに対して撥液性の表面 4 a 2 を有する第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 内で崩壊せずに保持され易いため、乾燥後の保護膜 16 a の特性（例えば保護膜 16 a の厚さ、保護膜 16 a を構成する成分の量）を設計した範囲とすることが容易である。仮に、第 2 絶縁層 4 a の表面がアルコールに対する撥液性を有さない場合は、第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 内に液体組成物 B の液滴を形成したときに、液滴が崩壊し液体組成物 B は第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 の外側を濡らす可能性が高く、乾燥して得られる保護膜の特性を、設計した範囲に調節することは容易ではない（図 17 ～ 20 を参照して説明する後述の比較例を参照）。

[0103] アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物 B の組成の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0104] 図 9 ～ 12 では、作用極 10 a の第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 内における保護膜 16 a の形成を 2 段階で行う例を示す。センサ 1 の製造方法のこの態様では、図 9 に示すように、試薬層 15 a の形成後に、第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 内に、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物 B の液滴を形成したのち乾燥して、図 10 に示すように、保護膜 16 a の厚さ方向の一部を形成する。続いて、図 11 に示すように、第 2 絶縁層 4 a の第 2 開口部 4 a 1 内に、更に液体組成物 B の液滴を形成したのち乾燥して、図

12に示すように、保護膜16aの全体を形成する。ただしこの例には限定されず、保護膜の形成は1段階で行ってもよいし、3段階以上で行ってもよい。

[0105] 上記の通り、センサ1は、好適な実施形態において、複数の作用極10a, 10bを備え、複数の作用極10a, 10bのうち第1作用極10aの第1試薬層15aに含まれる第1試薬と、第1作用極10aとは異なる第2作用極10bの第2試薬層15bに含まれる第2試薬とは、互いに異なる。この好適な実施形態に係るセンサ1の製造方法は、試薬層を形成する工程として、

複数の作用極10a, 10bに含まれる第1作用極10aの第1試薬層15aを、第1作用極10aの第1絶縁層3aの第1開口部3a1内に、水中に第1試薬を含む第1液体組成物Aの液滴を形成したのち乾燥して形成すること（図6～図8参照）、及び

複数の作用極10a, 10bに含まれる第1作用極10aとは異なる第2作用極10bの第2試薬層15bを、第2作用極10bの第1絶縁層3bの第1開口部3b1内に、水中に第1試薬とは異なる第2試薬を含む第2液体組成物Aの液滴を形成したのち乾燥して形成すること（図示しないが、図6～図8と同様の工程）

を含むことが好ましい。

[0106] 本実施形態に係るセンサ1の製造方法では、複数の作用極10a, 10bの試薬層15a, 15bを個別に独立して形成することができるため、水中に試薬を含む液体組成物Aの組成を調節することにより、複数の作用極10a, 10bに、異なる試薬を含む試薬層15a, 15bを形成することが容易である。

[0107] 上記の好適な実施形態に係る方法により製造される、複数の作用極10a, 10bに異なる試薬を含むセンサ1において、第1作用極10aの第1試薬層15aは、例えばグルコースデヒドロゲナーゼ又はグルコースオキシダーゼを含む第1試薬を含む。この実施形態では、第1作用極10aは、図1

2に示すように、4ービニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第1保護膜16aを備える。このような第1保護膜16aの形成は、

第1作用極10aの第1試薬層15aの形成後に、第1作用極10aの第2絶縁層4aの第2開口部4a1内に、アルコール中に4ービニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第1液体組成物Bの液滴を形成したのち乾燥して、第1保護膜16aを形成すること

を含むことができる。第1保護膜16aの形成は、図9～図12に示すように2段階で行ってもよいし、図示しないが1段階又は3段階以上で行ってもよい。

[0108] 上記の好適な実施形態に係る方法により製造される、複数の作用極10a, 10bに異なる試薬を含むセンサ1において、第2作用極10bの第2試薬層15bは、例えば乳酸オキシダーゼ又は乳酸デヒドロゲナーゼを含む第2試薬を含む。この実施形態では、第2作用極10bの保護膜16bは、図16に示すように、第2試薬層15b上に配置された、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物を含む第2保護膜16baと、第2保護膜16ba上に配置された、4ービニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第3保護膜16bbとを含む。このような第2保護膜16baと第3保護膜16bbとを含む保護膜16bの形成は、

第2作用極10bの第2試薬層15bの形成後に、第2作用極10bの第2絶縁層4bの第2開口部4b1内に、アルコール中に前記陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物を含む第2液体組成物Bの液滴を形成したのち乾燥して、第2保護膜16baを形成すること（図13及び図14参照）、及び

第2保護膜16baの形成後に、第2作用極10bの第2絶縁層4bの第2開口部4b1内に、アルコール中に前記4ービニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第3液体組成物Bの液滴を形成したのち乾燥して、第3保護膜16bbを形成すること（図15及び図16参照）を含むことができる。

[0109] 本実施形態に係る方法では、複数の作用極 10 a, 10 b の保護膜 16 a, 16 b を個別に独立して形成することができるため、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物 B の組成を調節することにより、複数の作用極 10 a, 10 b の異なる試薬を含む試薬層 15 a, 15 b 上に、試薬層 15 a, 15 b に応じて最適化された異なる組成の保護膜 16 a, 16 b を形成することが容易である。

[0110] 本実施形態に係る方法では、参照極 20 を形成する工程を含むことができる。参照極 20 を形成する工程は、

図 3 に示す、参照極導電層 21、第 1 絶縁層 3 及び第 2 絶縁層 4 が配置された基板 2 において、第 1 絶縁層 3 の参照極第 1 開口部 301 内の参照極導電層 21 上に銀／塩化銀層 22 を配置すること（図 4）、及び

銀／塩化銀層 22 の配置後に、基板 2 の第 2 絶縁層 4 の参照極第 2 開口部 401 内の銀／塩化銀層 22 上に参照極保護膜 23 を配置すること（図 5、図 22）

を含むことができる。

[0111] <第 1 の開示の実施例>

第 1 の開示の実施例として、図 5 に示す構成のセンサ 1 を製造した。図 5 に示す構成のセンサ 1 に使用した材料及び製造方法の概略を以下に示す。

[0112] （基板）

絶縁性の基板 2 として図 1 等で図示する形状のポリエチレンテレフタレートからなる厚さ 188 μm の基板を用いた。

[0113] （導電層）

絶縁性の基板 2 の第 1 面 2 a 上に、カーボンペーストを適用し 140℃で 1 時間加熱することにより、図 1 に図示する形状の、作用極 10 a, 10 b の導電層 11 a, 11 b、参照極導電層 21 及び対極導電層 31、並びに、それらの各々に電氣的に接続された配線 50 を、厚さ 5 μm のカーボン導電層により形成した。

[0114] （第 1 絶縁層）

続いて、カーボン導電層が配置された基板2の第1面2a上に、図2に示すように、フッ化ビニリデンとヘキサフルオロプロピレンとを含むコポリマーを含むフッ素樹脂からなる、基板2の第1面2a及びカーボン導電層を覆う、カーボン導電層上の部分の厚さが5 μm の第1絶縁層3を積層した。第1絶縁層3は、硬化により前記フッ素樹脂を形成する組成物を、カーボン導電層が配置された基板2の第1面2a上に適用し140℃で1時間加熱することにより形成した。

[0115] 第1作用極10aの第1絶縁層3aの第1開口部3a1は、直径1.2mmの円形とした。第2作用極10bの第1絶縁層3bの第1開口部3b1は、直径1.4mmの円形とした。参照極第1開口部301は直径1.1mmの円形とし、対極第1開口部302は1.8mm×2.1mmの長方形とした。

[0116] 第1絶縁層3の表面（作用極10a、10bの第1絶縁層3a、3bの表面3a2、3b2を含む）の水接触角は134.2°であった。水接触角の測定は、KRUS社製のハンディ接触角・表面自由エネルギー解析装置MSAを用いて、20℃において、測定対象の表面に水の2 μL の液滴を吐出して、2秒後に、液滴と表面との接触角を測定することにより行った。

[0117] （第2絶縁層）

続いて図3に示すように、第1絶縁層3上に、溶媒中にポリエステル系樹脂と、パーフルオロアルキル基を含むフッ素系表面改質添加剤とを含む組成物を塗布し、140℃で1時間加熱することにより、厚さ40 μm の第2絶縁層4を積層した。

[0118] 第1作用極10aの第2絶縁層4aの第2開口部4a1及び第2作用極10bの第2絶縁層4bの第2開口部4b1は、それぞれ直径2mmの円形とした。参照極第2開口部401は直径2mmの円形とし、対極第2開口部402は1.8mm×2.1mmの長方形とした。

[0119] 第2絶縁層4の表面（作用極10a、10bの第2絶縁層4a、4bの表面4a2、4b2を含む）のエタノールに対する接触角は60.7°であっ

た。エタノールに対する接触角の測定は、KRUS社製のハンディ接触角・表面自由エネルギー解析装置MSAを用いて、20℃において、測定対象の表面にエタノールの2μLの液滴を吐出して、2秒後に、液滴と表面との接触角を測定することにより行った。

[0120] (第1作用極(グルコース測定用)試薬層)

第1作用極10aの第1絶縁層3aの第1開口部3a1内に、水中にリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.4)、カーボンブラック分散液、ポリマー結合型メディエータ、グルコースオキシダーゼ及び架橋剤を含む第1液体組成物Aの0.4μLの液滴を形成し、乾燥して、グルコースオキシダーゼ及びメディエータを含む第1試薬層15aを形成した。

[0121] このとき第1液体組成物Aの液滴は第1開口部3a1から溢れ出ることはなく、乾燥後の第1試薬層15aは第1開口部3a1内のみに形成された(図7及び図8参照)。

[0122] (第2作用極(乳酸測定用)試薬層)

第2作用極10bの第1絶縁層3bの第1開口部3b1内に、水中にカーボンブラック分散液、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリマー結合型メディエータ、乳酸オキシダーゼ、ポリイミダゾール、ポリーレーリジン及び架橋剤を含む第2液体組成物Aの0.6μLの液滴を形成し、乾燥して、乳酸オキシダーゼ及びメディエータを含む第2試薬層15bを形成した。

[0123] このとき第2液体組成物Aの液滴は第1開口部3b1から溢れ出ることはなく、乾燥後の第2試薬層15bは第1開口部3b1内のみに形成された(図7及び図8参照)。

[0124] (第1作用極(グルコース測定用)保護膜)

以下の各試薬を下記終濃度となるようにエタノールに混合し約1時間反応させて、第1液体組成物B(P4VP-tBuMAポリマー分散液)を調製した。

・P4VP-tBuMA(ポリ-4-ビニルピリジンのMn:74,000、ポリ-tert-ブチルメタクリレート(Mn:87,000、Mw/M

n : 1.16、NARD社製)、終濃度3.55wt%

・トリプロピレングリコールメチルエーテルメタクリレートスチレン-4-ビニルピリジンのランダムコポリマー(ナード社製)、終濃度4.45wt%

・PEGDGE(ポリ(エチレングリコール)ジグリシジルエーテル、Mn:~1,000、シグマアルドリッチ社製)、終濃度7mM

第1作用極10aの第2絶縁層4aの第2開口部4a1内に、前記第1液体組成物Bの0.65 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、続いて更に前記第1液体組成物Bの0.65 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、第1保護膜16aを形成した(図12参照)。

[0125] このとき第1液体組成物Bの液滴は第2開口部4a1から溢れ出ることなく、乾燥後の第1保護膜16aは第2開口部4a1内のみに形成された(図9、図10、図11及び図12参照)。

[0126] (第2作用極(乳酸測定用)保護膜)

21.5wt%濃度のNafion(登録商標)分散液(シグマアルドリッチ社製)23093.67mgに、エタノール(富士フイルム和光純薬社製)6472.79mg及び5mol/L水酸化ナトリウム水溶液(富士フイルム和光純薬社製)1226.46mgを添加して分散液のpHを調整し(陽イオン交換基の中和処理)、ボルテックスミキサーで析出物を溶解して、16.12wt%濃度のNafion(登録商標)分散液30792.92mgを調製した。得られた16.12wt%濃度のNafion(登録商標)分散液を第2液体組成物Bとした。この第2液体組成物Bは、低級アルコールを含む溶媒中にNafion(登録商標)を含む。

[0127] 第2作用極10bの第2絶縁層4bの第2開口部4b1内に、前記第2液体組成物Bの0.60 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、第2保護膜16baを形成した(図14参照)。

[0128] このとき第2液体組成物Bの液滴は第2開口部4b1から溢れ出ることなく、乾燥後の第2保護膜16baは第2開口部4b1内のみに形成された

(図13及び図14参照)。

[0129] 続いて、上記の第1液体組成物B(P4VP-tBuMAポリマー分散液)と同一の組成物を第3液体組成物Bとして以下の処理に用いた。すなわち、第2保護膜16baが形成された第2作用極10bの第2絶縁層4bの第2開口部4b1内に、前記第3液体組成物Bの0.65 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、第3保護膜16bbを形成した(図16参照)。

[0130] このとき第3液体組成物Bの液滴は第2開口部4b1から溢れ出ることはなく、乾燥後の第3保護膜16bbは第2開口部4b1内のみに形成された(図15及び図16参照)。

[0131] (参照極)

第1絶縁層3の参照極第1開口部301内の参照極導電層21上に、銀/塩化銀ペーストを適用し、140℃で1時間加熱して、銀/塩化銀層22形成した。

[0132] 続いて、第2絶縁層4の参照極第2開口部401内の銀/塩化銀層22上に参照極保護膜23を配置して、参照極20(図22)を形成した。

[0133] <比較例>

比較例のセンサを、第2絶縁層を次の手順で作製したことを除いて、上記の実施例のセンサ1と同様の方法で作製した。

[0134] 第1絶縁層3上に、溶媒中に実施例と同じポリエステル系樹脂を含み、フッ素系表面改質添加剤を含まない組成物を塗布し、140℃で1時間加熱することにより、厚さ38 μ mの第2絶縁層を形成した。

[0135] こうして得られた比較例のセンサの第2絶縁層の表面のエタノールに対する接触角は11.2°であった。

[0136] 比較例のセンサの第1作用極及び第2作用極の保護膜の形成時に次の問題が発生した。

[0137] 比較例のセンサの第1作用極10aの第2絶縁層4aの第2開口部4a1内に、実施例で用いたのと同じ前記第1液体組成物B(P4VP-tBuMAポリマー分散液)の0.65 μ Lの液滴を形成したところ、図17に示す

ように、液滴が第2開口部4 a 1内に留まらず、第2絶縁層4 aの上面まで前記第1液体組成物Bが濡れ拡がった。この液滴を乾燥したところ、図18に示すように、第2開口部4 a 1内だけでなく第2絶縁層4 aの上面上にも第1保護膜16 aの一部が形成された。乾燥して、続いて更に前記第1液体組成物Bの0.65 μ Lの液滴を形成したところ、図19に示すように、第2絶縁層4 aの上面まで前記第1液体組成物Bが濡れ拡がった。それを乾燥したところ、図20に示すように、第2開口部4 a 1内だけでなく第2絶縁層4 aの上面上にも第1保護膜16 aの一部が形成された。

[0138] 図示しないが、比較例のセンサの第2作用極10 bの第2絶縁層4 bの第2開口部4 b 1内に、実施例で用いたのと同じ前記第2液体組成物B (Nafion (登録商標) 分散液) の液滴を形成し乾燥したときにも、第2保護膜16 b aは第2開口部4 b 1内だけでなく第2絶縁層4 bの上面上にも不規則に形成された。更に、実施例で用いたのと同じ前記第3液体組成物B (P4VP-tBuMAポリマー分散液) の液滴を形成し乾燥したときにも、第3保護膜16 b bは第2開口部4 b 1内だけでなく第2絶縁層4 bの上面上にも不規則に形成された。

[0139] <グルコース及び乳酸の測定実験>

(培養液)

RPMI-1640 Medium (R1383、シグマアルドリッチ社製) の溶液に、緩衝液成分としてMES (2-Morpholinoethanesulfonic acid monohydrate) (同仁化学社製)、及びMOPS (3-Morpholinopropanesulfonic acid) (同仁化学社製) をそれぞれ終濃度25 mMとなるように加えた、更にグルコース濃度30 mM、乳酸濃度15 mM、pH 7.4に調整して、培養液を調製した。

[0140] (電流値測定)

上記の実施例のセンサ1及び比較例のセンサを、上記の培養液に浸漬し、第1作用極及び第2作用極に、参照極に対して100 mVの電圧を印加し、

第1作用極と対極との間の電流値及び第2作用極と対極との間の電流値を約11日間測定した。測定はN=2で行った。

[0141] 実施例のセンサ1の第1作用極（グルコース測定用）の電流値の測定結果を図25Aに示す。比較例のセンサの第1作用極（グルコース測定用）の電流値の測定結果を図25Bに示す。実施例のセンサ1での電流値は安定していたのに対し、比較例のセンサでの電流値は経時的に減少した。比較例のセンサでは、第1保護膜の厚みの制御が難しいため、グルコースの透過性が初期から大きいことや、グルコースオキシダーゼを含む試薬が漏出したことが推定された。

[0142] 実施例のセンサ1の第2作用極（乳酸測定用）の電流値の測定結果を図26Aに示す。比較例のセンサの第2作用極（乳酸測定用）の電流値の測定結果を図26Bに示す。実施例のセンサ1での電流値は安定していたのに対し、比較例のセンサでの電流値は経時的に減少した。比較例のセンサでは、第2保護膜及び第3保護膜の厚みの制御が難しいため、乳酸の透過性が初期から大きいことや、乳酸オキシダーゼを含む試薬が漏出したことが推定された。

[0143] <第2の開示の実施形態>

以下、第2の開示に係るセンサ及びセンサユニットの実施形態について説明する。本実施形態では、必要以上に詳細な説明は省略する場合がある。例えば、既によく知られた事項の詳細説明や実質的に同一の構成に対する重複説明を省略する場合がある。これは、以下の説明が不必要に冗長になるのを避け、当業者の理解を容易にするためである。

[0144] また、出願人は、当業者が第2の開示を十分に理解するために添付図面及び以下の説明を提供するのであって、これらによって下記の「第2の開示に関する付記」に記載の事項を限定することを意図するものではない。

[0145] <材料>

本明細書の第2の開示のセンサに用いることができる材料の例について説明する。

本明細書の第2の開示のセンサの絶縁性の基板の材料は特に限定されないが、例えば、本明細書の第1の開示のセンサの絶縁性の基板の材料と同じものが利用できる。

[0146] 本明細書の第2の開示のセンサの作用極、参照極及び対極が備える導電層は、カーボン、金、白金、パラジウム等の導電性材料を含む層である。導電層は、前記のような導電性材料の層を、スパッタリング法、蒸着法、スクリーン印刷法等を用いて基板の表面上に形成することにより製造することができる。導電層は、必要に応じて、レーザートリミング法を用いて所定のパターンに加工することができる。

[0147] 本明細書の第2の開示のセンサの配線もまた、導電層と同様の導電性材料により構成することができる。

[0148] 本明細書の第2の開示のセンサは、液体試料に浸漬して液体試料中の所定の被検物質を検出するために用いられる。液体試料は水を溶媒として含む液体試料であることが好ましい。液体試料としては、細胞培養液や、生体から取得された血液を用いて調製された液体試料が挙げられる。被検物質の例は、本明細書の第1の開示のセンサによる被検物質に関して記載の通りである。

[0149] 本明細書の第2の開示のセンサの作用極は、酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層を備える。酸化還元反応に関与する試薬は、被検物質の酸化還元反応に関与する試薬であればよく、被検物質に応じて適宜選択することができる。酸化還元反応に関与する試薬としては、酸化還元酵素とメディエータ（電子伝達物質）との組み合わせ、又は、酸化還元酵素を含むことができる。酸化還元酵素は補酵素を含むことができる。

[0150] 酸化還元酵素としては、酸化酵素又は脱水素酵素が挙げられる。酸化還元酵素の具体例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。

[0151] また、メディエータは特に限定されず、その例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。

[0152] 本明細書の第2の開示のセンサの作用極が備える試薬層は、前記試薬に加えて、更に緩衝剤、親水性高分子化合物、導電性炭素フィラー、架橋剤等の成分を含むことができる。親水性高分子化合物及び導電性炭素フィラーの例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。

[0153] 本明細書の第2の開示のセンサの作用極が備える保護膜は、試薬層に含まれる試薬の保護膜外への漏出を防止又は抑制し、且つ、保護膜外に存在する被検物質が透過可能な膜であることができる。このような性質を有する保護膜は、高分子化合物を含むことが好ましい。保護膜に含まれる高分子化合物としては、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物等が例示できる。

[0154] 4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物、及び、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物の例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。

[0155] 本明細書の第2の開示のセンサの作用極が備える保護膜は、2以上の保護膜の積層体であることができ、その例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。

[0156] 本明細書の第2の開示のセンサの作用極が備える保護膜の別の好適な例は、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む保護膜である。

[0157] 本明細書の第2の開示のセンサの参照極は保護膜を備えることができる。参照極の保護膜は、作用極の保護膜に関して上述した材料により構成することができる。

[0158] <センサ1101の概要>

第2の開示の一実施形態に係るセンサ1101について図面を参照して説明する。

本実施形態のセンサ1101は、図31並びにその断面図である図33、図34、図35及び図36に示すように、

液体試料に浸漬される先端部1201を含む絶縁性の基板1200と、
基板1200の第1面1202における先端部1201の付近に配置され

、作用極 1310、参照極 1320 及び対極 1330 を含む検出電極 1300 と、

基板 1200 の第 1 面 1202 に配置され、検出電極 1300 と接続された配線 1005 と、

基板 1200 の第 1 面 1202 に配置され、検出電極 1300 及び配線 1005 の少なくとも一部を覆うように形成された絶縁層 1050 と、

絶縁層 1050 に形成された、対極 1330 の上面 1331 と連通しており、基板 1200 の先端部 1201 の側に開口する先端開口部 1061 と、

絶縁層 1050 に形成された、先端開口部 1061 と対極 1330 の上面 1331 とを接続する、液体試料を先端開口部 1061 から対極 1330 の上面 1331 へと導く流路 1062 とを備える。

[0159] 本実施形態のセンサ 1101 は作用極 1310 を 2 つ含むが、図示しない別の実施形態では、作用極は 1 つのみであってもよく、3 つ以上であってもよい。

[0160] センサ 1101 は、図 39 及び図 43 に示すように、液体試料 X1 に浸漬して液体試料 X1 中の所定の被検物質を検出するために用いられる。液体試料及び被検物質の具体例は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0161] センサ 1101 の作用極 1310 は、図 33 に示すように、作用極導電層 1311 と、作用極導電層 1311 上に配置された、液体試料 X1 中の被検物質の酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層 1315 を含む。酸化還元反応に関与する試薬の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0162] 作用極 1310 の試薬層 1315 が、液体試料 X1 中の被検物質を酸化する試薬を含む場合、センサ 1101 の検出電極 1300 に所定の電圧を印加した条件下で、被検物質から作用極 1310 に電子が移動する。同様に、試薬層 1315 が、液体試料 X1 中の被検物質を還元する試薬を含む場合、作用極 1310 から被検物質に電子が移動する。移動する電子の量は被検物質の濃度に依存するため、センサ 1101 の作用極 1310 を流れる電流値又

は電流値の変化に基づき、液体試料X 1中の被検物質の濃度又は濃度変化を測定することができる。

[0163] センサ1101を備える、液体試料中の被検物質を分析するための分析装置1100の一例について、図48を参照して説明する。

[0164] 分析装置1100は、図48に示すように、センサ1101と、分析ユニット1102と、制御ユニット1104とを備える。センサ1101の作用極1310、参照極1320及び対極1330を含む検出電極1300は、それぞれ、配線1005を介して分析ユニット1102と接続される。分析ユニット1102は制御ユニット1104と通信可能である。

[0165] 分析ユニット1102は、電気化学測定部1111、制御部1112、記憶部1113及び通信部1114を備える。

[0166] 電気化学測定部1111は、センサ1101の検出電極1300に対して所定の電圧を印加して被検物質の濃度を測定するポテンショスタットであって、電圧印加部1111aと、電流測定部1111bとを含み、好ましくは更に電圧測定部（対極端子電圧測定部）1111cを含む。

[0167] 電圧印加部1111aは、センサ1101の検出電極1300に対して、液体試料X 1に含まれる被検物質の濃度を測定するために所定の電圧を印加する。

[0168] 電流測定部1111bは、電圧印加部1111aからセンサ1101の検出電極1300に対して電圧が印加された状態で測定される、センサ1101の作用極1310と対極1330との間に流れる電流値又はその変化を検出する。上記の通り、電流測定部1111bで検出される電流値又は電流値の変化は、液体試料X 1中の被検物質の濃度又は濃度変化の指標となる。

[0169] 電圧測定部1111cは、センサ1101の対極1330の端子電圧を測定する。

[0170] 制御部1112は、電圧印加部1111a、電流測定部1111b、電圧測定部1111c、記憶部1113及び通信部1114と接続されている。制御部1112は、電圧印加部1111aに対し、センサ1101の検出電

極 1 3 0 0 に所定の電圧を印加するように制御するとともに、電流測定部 1 1 1 1 b 及び電圧測定部 1 1 1 1 c における測定結果を、制御ユニット 1 1 0 4 に送信するように、通信部 1 1 1 4 を制御する。

[0171] 記憶部 1 1 1 3 は、制御部 1 1 1 2 と接続されており、例えば、測定対象ごとに予め設定された印加電圧の値、電流測定部 1 1 1 1 b 及び電圧測定部 1 1 1 1 c における測定値、予め測定された検量線等のデータを保存する。

[0172] 通信部 1 1 1 4 は、制御部 1 1 1 2 によって制御され、制御ユニット 1 1 0 4 の解析部 1 1 4 2 に、電流測定部 1 1 1 1 b 及び電圧測定部 1 1 1 1 c における測定結果等のデータを送信する。

[0173] 制御ユニット 1 1 0 4 は、通信部 1 1 1 4 を介して分析ユニット 1 1 0 2 との間で通信可能であって、表示部 1 1 4 1 と、解析部 1 1 4 2 とを備えている。

[0174] 表示部 1 1 4 1 は、解析部 1 1 4 2 における解析の結果として、例えば、電流測定部 1 1 1 1 b において検出された電流値から液体試料 X 1 中の被検物質の濃度等を表示する。

[0175] 解析部 1 1 4 2 は、例えば、PC (Personal Computer) であって、電流測定部 1 1 1 1 b において測定された、作用極 1 3 1 0 と対極 1 3 3 0 との間に流れる電流値に基づき、被検物質の濃度を算出する。

[0176] <センサ 1 1 0 1 の構造>

続いて本実施形態のセンサ 1 1 0 1 の構造を、主に図 3 1 並びにその断面図である図 3 3、図 3 4、図 3 5 及び図 3 6 を参照して説明する。

[0177] 本実施形態のセンサ 1 1 0 1 の基板 1 2 0 0 は、液体試料に浸漬される先端部 1 2 0 1 を含む。基板 1 2 0 0 は板状体であることができる。先端部 1 2 0 1 は、基板 1 2 0 0 の周縁部のうち、センサ 1 1 0 1 が液体試料 X 1 に浸漬される際の先端となる部分である（図 4 3 参照）。基板 1 2 0 0 の好ましい態様は、<材料>の欄に記載の通りである。

[0178] センサ 1 1 0 1 において、作用極 1 3 1 0、参照極 1 3 2 0 及び対極 1 3 3 0 を含む検出電極 1 3 0 0 は、基板 1 2 0 0 の第 1 面 1 2 0 2 における先

端部 1 2 0 1 の付近に配置される。

- [0179] センサ 1 1 0 1 の配線 1 0 0 5 は、基板 1 2 0 0 の第 1 面 1 2 0 2 上に配置され、検出電極 1 3 0 0 の各電極（作用極 1 3 1 0、参照極 1 3 2 0 及び対極 1 3 3 0）と電氣的に接続されている。配線 1 0 0 5 の材料の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。
- [0180] センサ 1 1 0 1 の絶縁層 1 0 5 0 は、基板 1 2 0 0 の第 1 面 1 2 0 2 に配置され、検出電極 1 3 0 0 及び配線 1 0 0 5 の少なくとも一部を覆うように形成されている。
- [0181] 絶縁層 1 0 5 0 は、図示する例では、基板 1 2 0 0 の第 1 面 1 2 0 2 に配置された第 1 絶縁層 1 0 5 1 と、第 1 絶縁層 1 0 5 1 上に配置された第 2 絶縁層 1 0 5 2 とを含む。しかし図示しない別の実施形態では、絶縁層 1 0 5 0 は 1 層のみからなってもよいし、3 層以上を含んでもよい。
- [0182] 絶縁層 1 0 5 0 は、絶縁性の層であればよく、材料は特に限定されないが、例えば、絶縁性の硬化樹脂を含む絶縁層、絶縁シートを含む絶縁層等であることができ、複数の絶縁層の組み合わせであってもよい。
- [0183] 絶縁性の硬化樹脂を含む絶縁層は、硬化性樹脂組成物を硬化して形成することができる。硬化性樹脂組成物としては、活性エネルギー線照射により重合及び／又は架橋して絶縁性の硬化樹脂を生じる組成物を用いることができる。活性エネルギー線としては紫外線、電子線、X 線、赤外線、可視光線等が挙げられ、紫外線又は電子線が好ましい。硬化性樹脂組成物としては例えばネガ型レジスト組成物が利用できる。硬化性樹脂組成物を硬化して形成することができる絶縁性の硬化樹脂としては、フッ素樹脂が好ましい。フッ素樹脂としては、主鎖炭素及び／又は側鎖上にフッ素原子を含むポリマーを含む樹脂であればよく、例えば主鎖炭素及び／又は側鎖上にフッ素原子を含むポリ（メタ）アクリレート樹脂、ポリエステル樹脂等が挙げられる。絶縁性の硬化樹脂を含む絶縁層の厚さは特に限定されないが、例えば 1 μm 以上、50 μm 以下とすることができる。
- [0184] 絶縁シートを含む絶縁層は、絶縁シートと、絶縁シート的一方の面上に配

置された粘着剤又は接着剤を含む結合層とを含むことができる。結合層を含む絶縁シートを、基板1200の第1面1202上に、直接又は他の絶縁層を介して貼付することにより、絶縁シートを含む絶縁層を形成することができる。絶縁シートは絶縁性樹脂シートであることができ、例えばポリエチレンテレフタレートシートが例示できる。結合層としては例えば両面テープや、粘着剤又は接着剤の層が利用できる。絶縁シートの外側の表面は、撥水性表面であることが好ましく、例えば撥水コーティングや表面の凹凸処理により撥水性が付与された撥水性表面であることができる。絶縁シートを含む絶縁層の厚さは特に限定されないが、絶縁シートの厚さが例えば10 μ m以上、200 μ m以下とすることができ、好ましくは20 μ m以上、100 μ m以下とすることができ、絶縁シート的一方の面に配置される結合層の厚さが例えば1 μ m以上、50 μ m以下とすることができ、好ましくは5 μ m以上、20 μ m以下とすることができる。

[0185] 絶縁層1050の好ましい態様は、基板1200の第1面1202に配置された、絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051と、第1絶縁層1051上に配置された、絶縁シートを含む第2絶縁層1052とを含む。この態様において第2絶縁層1052は、絶縁シートと、絶縁シートの第1絶縁層1051側の面上に配置された結合層とを含むことができ、絶縁シートが結合層を介して第1絶縁層1051上に貼付されていることが好ましい。この態様において、絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051の厚さは特に限定されないが、検出電極1300の配線1005及び各導電層（作用極導電層1311、参照極導電層1321、対極1330）を覆う部分の厚さが例えば0.5 μ m以上、50 μ m以下とすることができ、好ましくは2 μ m以上、20 μ m以下とすることができる。絶縁シートを含む第2絶縁層1052の厚さの例は前段落に記載の通りである。

[0186] センサ1101の作用極1310を、図面、特に図33を参照して説明する。図33は、図31に示すセンサ1101の作用極1310を含む部分の、図31のJ-J'線に沿った断面図である。

- [0187] 作用極 1310 は、基板 1200 の第 1 面 1202 上に配置された作用極導電層 1311 と、作用極導電層 1311 上に配置された試薬層 1315 とを含む。作用極 1310 は、好ましくは、図示するように試薬層 1315 上に配置された作用極保護膜 1316 を更に含む。作用極導電層 1311、試薬層 1315 及び作用極保護膜 1316 の材料の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。作用極 1310 の作用極導電層 1311 に配線 1005 が接続される（図 27 及び図 31 参照）。
- [0188] 作用極 1310 が作用極保護膜 1316 を含むことにより次の効果が奏される。作用極保護膜 1316 は試薬層 1315 からの試薬の漏出を抑制する。また、作用極保護膜 1316 は多孔質であるため、液体試料 X1 が浸透することができる。このためセンサ 1101 を液体試料 X1 に浸漬したときに、作用極 1310 への液体試料 X1 の到達が容易であり、作用極 1310 への液体試料 X1 の浸漬阻害が生じにくい。
- [0189] 絶縁層 1050 は、基板 1200 の厚さ方向 T1 からの平面視において、作用極 1310 の少なくとも一部と重なる位置に形成された、厚さ方向 T1 に貫通した作用極開口部 1501 を備える。図示する例では作用極開口部 1501 は、作用極導電層 1311 上に位置し、試薬層 1315 及び作用極保護膜 1316 が作用極開口部 1501 内に配置されている。作用極保護膜 1316 が作用極開口部 1501 内に配置されていることにより、試薬層 1315 からの試薬の漏出が更に効果的に抑制される。試薬層 1315 及び作用極保護膜 1316 のそれぞれの外周縁は、作用極開口部 1501 の内周縁により規定される。絶縁層 1050 の作用極開口部 1501 の内周縁の、厚さ方向 T1 からの平面視における形状は、図示する例では円形であるが、これには限定されず、多角形（四角形、三角形等）やその他の任意の形状であることができる。絶縁層 1050 の作用極開口部 1501 の開口幅（最も広い部分の幅）は特に限定されないが、例えば 0.5 mm 以上、10 mm 以下、好ましくは 1 mm 以上、5 mm 以下とすることができる。
- [0190] 図示する例では、絶縁層 1050 の作用極開口部 1501 は、第 1 絶縁層

1051の作用極第1開口部1511と、第2絶縁層1052の作用極第2開口部1521とにより構成される。作用極第1開口部1511は、第1絶縁層1051の、厚さ方向T1からの平面視において作用極導電層1311の一部と重なる位置に形成されており、厚さ方向T1に貫通する。作用極第2開口部1521は、第2絶縁層1052の、厚さ方向T1からの平面視において第1絶縁層1051のうち作用極第1開口部1511の全体を内包する部分と重なる位置に形成されており、厚さ方向T1に貫通する。試薬層1315は、第1絶縁層1051の作用極第1開口部1511内に配置されており、作用極第1開口部1511の内周縁により規定される外周縁を含む。作用極保護膜1316は、第2絶縁層1052の作用極第2開口部1521内に配置されており、作用極第2開口部1521の内周縁により規定される外周縁を含む。第1絶縁層1051の作用極第1開口部1511及び第2絶縁層1052の作用極第2開口部1521の内周縁の、厚さ方向T1からの平面視における形状は、図示する例ではそれぞれ円形であるが、これには限定されず、それぞれ多角形（四角形、三角形等）やその他の任意の形状であることができる。第1絶縁層1051の作用極第1開口部1511の開口幅（最も広い部分の幅）は特に限定されないが、例えば0.5mm以上、5mm以下、好ましくは1mm以上、2mm以下とすることができる。第2絶縁層1052の作用極第2開口部1521の開口幅（最も広い部分の幅）は特に限定されないが、例えば0.5mm以上、10mm以下、好ましくは1mm以上、5mm以下とすることができる。

[0191] 続いてセンサ1101の参照極1320について、図面、特に図34を参照して説明する。図34は、図31のセンサ1101の参照極1320を含む部分の、図31のK-K'線に沿った断面図である。

[0192] 参照極1320は、基板1200の第1面1202上に配置された参照極導電層1321と、参照極導電層1321上に配置された銀／塩化銀層1322とを含む。参照極1320は、好ましくは、図示するように銀／塩化銀層1322上に配置された参照極保護膜1326を更に含む。参照極導電層

1321及び参照極保護膜1326の材料の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。参照極1320の参照極導電層1321に配線1005が接続される（図27及び図31参照）。

[0193] 参照極1320が参照極保護膜1326を含むことにより次の効果が奏される。参照極保護膜1326は銀／塩化銀層1322からの銀の漏出を抑制する。また、参照極保護膜1326は多孔質であるため、液体試料X1が浸透することができる。このためセンサ1101を液体試料X1に浸漬したときに、参照極1320への液体試料X1の到達が容易であり、参照極1320への液体試料X1の浸漬阻害が生じにくい。

[0194] 絶縁層1050は、基板1200の厚さ方向T1からの平面視において、参照極1320の少なくとも一部と重なる位置に形成された、厚さ方向T1に貫通した参照極開口部1502を備える。図示する例では参照極開口部1502内に、参照極導電層1321の一部と、銀／塩化銀層1322及び参照極保護膜1326が配置されている。参照極保護膜1326が参照極開口部1502の内に配置されていることにより、銀／塩化銀層1322からの銀の漏出が更に効果的に抑制される。銀／塩化銀層1322及び参照極保護膜1326のそれぞれの外周縁は、参照極開口部1502の内周縁により規定される。絶縁層1050の参照極開口部1502の内周縁の、厚さ方向T1からの平面視における形状は、図示する例では円形であるが、これには限定されず、多角形（四角形、三角形等）やその他の任意の形状であることができる。絶縁層1050の参照極開口部1502の開口幅（最も広い部分の幅）は特に限定されないが、例えば0.5mm以上、10mm以下、好ましくは1mm以上、5mm以下とすることができる。

[0195] 図示する例では、絶縁層1050の参照極開口部1502は、第1絶縁層1051の参照極第1開口部1512と、第2絶縁層1052の参照極第2開口部1522とにより構成される。参照極第1開口部1512は、第1絶縁層1051の、厚さ方向T1からの平面視において参照極導電層1321の一部と重なる位置に形成されており、厚さ方向T1に貫通する。参照極第

2 開口部 1 5 2 2 は、第 2 絶縁層 1 0 5 2 の、厚さ方向 T 1 からの平面視において第 1 絶縁層 1 0 5 1 のうち参照極第 1 開口部 1 5 1 2 の全体を内包する部分と重なる位置に形成されており、厚さ方向 T 1 に貫通する。参照極導電層 1 3 2 1 の一部及び銀／塩化銀層 1 3 2 2 は、第 1 絶縁層 1 0 5 1 の参照極第 1 開口部 1 5 1 2 に配置されており、参照極第 1 開口部 1 5 1 2 の内周縁により規定される外周縁を含む。参照極保護膜 1 3 2 6 は、第 2 絶縁層 1 0 5 2 の参照極第 2 開口部 1 5 2 2 に配置されており、参照極第 2 開口部 1 5 2 2 の内周縁により規定される外周縁を含む。第 1 絶縁層 1 0 5 1 の参照極第 1 開口部 1 5 1 2 及び第 2 絶縁層 1 0 5 2 の参照極第 2 開口部 1 5 2 2 の内周縁の、厚さ方向 T 1 からの平面視における形状は、図示する例ではそれぞれ円形であるが、これには限定されず、それぞれ多角形（四角形、三角形等）やその他の任意の形状であることができる。第 1 絶縁層 1 0 5 1 の参照極第 1 開口部 1 5 1 2 の開口幅（最も広い部分の幅）は特に限定されないが、例えば 0.5 mm 以上、5 mm 以下、好ましくは 1 mm 以上、2 mm 以下とすることができる。第 2 絶縁層 1 0 5 2 の参照極第 2 開口部 1 5 2 2 の開口幅（最も広い部分の幅）は特に限定されないが、例えば 0.5 mm 以上、10 mm 以下、好ましくは 1 mm 以上、5 mm 以下とすることができる。

[0196] 続いてセンサ 1 1 0 1 の対極 1 3 3 0 について、図面、特に図 3 5 を参照して説明する。図 3 5 は、図 3 1 のセンサ 1 1 0 1 の対極 1 3 3 0 を含む部分の、図 3 1 の L-L' 線に沿った断面図である。

[0197] 対極 1 3 3 0 は、基板 1 2 0 0 の第 1 面 1 2 0 2 上に配置される。図示する実施形態では、対極 1 3 3 0 は全体が導電層からなる。対極のうち導電層の部分を特に指すために、「対極導電層」又は「対極の導電層」と称する場合がある。対極 1 3 3 0 の材料の好ましい態様は、対極の導電層の材料として<材料>の欄に記載の通りである。対極 1 3 3 0 に配線 1 0 0 5 が接続される（図 2 7 及び図 3 1 参照）。

[0198] センサ 1 1 0 1 では、絶縁層 1 0 5 0 は、基板 1 2 0 0 の厚さ方向 T 1 か

らの平面視において、対極 1 3 3 0 の少なくとも一部と重なる位置に形成された、厚さ方向 T 1 に貫通した対極開口部 1 5 0 3 を備え、対極 1 3 3 0 の上面 1 3 3 1 は、対極開口部 1 5 0 3 を通じて露出している。この構成を有するセンサ 1 1 0 1 を液体試料 X 1 に浸漬したとき、液体試料 X 1 が絶縁層 1 0 5 0 の対極開口部 1 5 0 3 を通じて対極 1 3 3 0 の上面 1 3 3 1 に接触することができる。絶縁層 1 0 5 0 の対極開口部 1 5 0 3 の内周縁の、厚さ方向 T 1 からの平面視における形状は、図示する例では四角形であるが、これには限定されず、円形、四角形以外の多角形（三角形等）やその他の任意の形状であることができる。絶縁層 1 0 5 0 の対極開口部 1 5 0 3 の開口幅（最も広い部分の幅）は特に限定されないが、例えば 0.5 mm 以上、1.0 mm 以下、好ましくは 1 mm 以上、5 mm 以下とすることができる。図示する例では、対極 1 3 3 0 の上面 1 3 3 1 の一部が、対極開口部 1 5 0 3 を通じて露出しているが、これには限定されない。例えば、対極開口部 1 5 0 3 が対極 1 3 3 0 の全体を内包する形状であり、対極 1 3 3 0 の上面 1 3 3 1 の全体が対極開口部 1 5 0 3 を通じて露出していてもよい。

- [0199] 図示する例では、絶縁層 1 0 5 0 の対極開口部 1 5 0 3 は、第 1 絶縁層 1 0 5 1 の対極第 1 開口部 1 5 1 3 と、第 2 絶縁層 1 0 5 2 の対極第 2 開口部 1 5 2 3 とにより構成される。対極第 1 開口部 1 5 1 3 は、第 1 絶縁層 1 0 5 1 の、厚さ方向 T 1 からの平面視において対極 1 3 3 0 の一部と重なる位置に形成されており、厚さ方向 T 1 に貫通する。対極第 2 開口部 1 5 2 3 は、第 2 絶縁層 1 0 5 2 の、厚さ方向 T 1 からの平面視において第 1 絶縁層 1 0 5 1 の対極第 1 開口部 1 5 1 3 と一致する位置に形成されており、厚さ方向 T 1 に貫通する。第 1 絶縁層 1 0 5 1 の対極第 1 開口部 1 5 1 3 と、第 2 絶縁層 1 0 5 2 の対極第 2 開口部 1 5 2 3 とは一致していることは必須ではなく、少なくとも一部が重なっていればよい。第 1 絶縁層 1 0 5 1 の対極第 1 開口部 1 5 1 3 及び第 2 絶縁層 1 0 5 2 の対極第 2 開口部 1 5 2 3 の内周縁の形状及び開口幅は特に限定されず、例えばそれぞれが絶縁層 1 0 5 0 の対極開口部 1 5 0 3 に関して記載の範囲であることができる。

- [0200] 続いてセンサ１１０１の先端開口部１０６１及び流路１０６２について、図面、特に図３１及び図３６を参照して説明する。図３６は、図３１のセンサ１１０１の対極１３３０、先端開口部１０６１及び流路１０６２を含む部分の、図３１のＭ－Ｍ’線に沿った断面図である。
- [0201] 先端開口部１０６１は、絶縁層１０５０に形成されており、対極１３３０の上面１３３１と連通しており、基板１２００の先端部１２０１の側に開口する。流路１０６２は、絶縁層１０５０に形成されており、先端開口部１０６１と対極１３３０の上面１３３１とを接続する。流路１０６２は、先端開口部１０６１から対極１３３０の上面１３３１へと液体試料Ｘ１を導く。例えば流路１０６２は、毛細管現象により液体試料Ｘ１を先端開口部１０６１から対極１３３０の上面１３３１へと導くことができる。
- [0202] 図３１及び図３６に示す実施形態のセンサ１１０１の先端開口部１０６１及び流路１０６２の機能を、図３９及び図４０を参照して説明する。図３９は、基板１２００の先端部１２０１から液体試料Ｘ１に浸漬した、先端開口部１０６１及び流路１０６２を備える本実施形態のセンサ１１０１の、図３６に相当する断面の模式図である。図４０は、液体試料Ｘ１に浸漬した、先端開口部１０６１及び流路１０６２を備えていないことを除いて本実施形態のセンサ１１０１と同じ構造の比較例のセンサ１１５０の断面の模式図である。
- [0203] 図３９に示す通り、本実施形態のセンサ１１０１を基板１２００の先端部１２０１が下端となるように液体試料Ｘ１に浸漬したとき、液体試料Ｘ１は、先端開口部１０６１から流路１０６２を通じて対極１３３０の上面１３３１に導かれる。この結果、センサ１１０１の対極１３３０の上面１３３１が液体試料Ｘ１に十分に接触することができる。特に、液体試料Ｘ１の深さが十分でない場合であっても、センサ１１０１の対極１３３０の上面１３３１が液体試料Ｘ１に十分に接触することができるため好ましい。このため本実施形態のセンサ１１０１を用いることにより液体試料Ｘ１中の被検物質の測定精度が高まる。

- [0204] 一方、図40に示すように、絶縁層1050に先端開口部1061及び流路1062が形成されていない比較例のセンサ1150では、基板1200の第1面1202の、対極1330と先端部1201との間の領域が絶縁層1050により被覆されている。この構造の比較例のセンサ1150を基板1200の先端部1201が先端となるように液体試料X1に浸漬した場合、液体試料X1が、対極1330と基板1200の先端部1201との間の絶縁層1050による撥液により対極1330から遠ざけられ易い。このため比較例のセンサ1150では、対極1330と液体試料X1との接触が阻害され易く、液体試料X1中の被検物質の測定を正常に行うことができない場合がある。なかでも、対極1330がカーボン導電層である場合、対極1330の上面1331は撥水性が高いため、水を溶媒として含む液体試料X1の、対極1330の上面1331との接触は特に阻害され易い。比較例のセンサ1150のこの問題点を、絶縁層1050に先端開口部1061及び流路1062を形成した本実施形態のセンサ1101により解消することができる。
- [0205] 図31及び図36に示す本実施形態のセンサ1101は、基板1200の厚さ方向T1からの平面視において、絶縁層1050のうち、対極1330と、基板1200の先端部1201との間の部分に形成された、先端開口部1061及び流路1062を備える。本実施形態のセンサ1101では、流路1062が、絶縁層1050の対極開口部1503と接続しており、対極1330の上面1331は対極開口部1503を通じて露出しているため、液体試料X1への浸漬時に、対極1330の上面1331が液体試料X1に接触する効果が特に高い。
- [0206] 図31及び図36に示すセンサ1101の先端開口部1061及び流路1062は、基板1200が存在する側が閉じ、絶縁層1050の上面1053の側が開放された、絶縁層1050に形成された凹部であるがこの態様には限定されない。例えば図37に示す別の実施形態に係るセンサ1101'のように、先端開口部1061及び流路1062が、絶縁層1050の上面

1053を含まない厚さ方向の一部に形成されており、対極1330から基板1200の先端部1201に至る方向（図31のM-M'方向）から見たときに先端開口部1061及び流路1062の周囲が囲われた構造を有しているもよい。

[0207] 図31及び図36に示すセンサ1101が備える流路1062は、先端開口部1061に向かって流路幅W（図31参照）を拡張する拡張部1062Aを有している。流路1062が拡張部1062Aを有することにより、センサ1101を液体試料X1に浸漬したときの、先端開口部1061から対極1330の上面1331への液体試料X1の移動が促進される。ここで流路幅Wは、センサ1101の、基板1200の厚さ方向T1からの平面視において、対極1330から基板1200の先端部1201に至る方向（図31のM-M'方向）に直交する方向（図31のL-L'方向）での、流路1062の幅を指す。

[0208] 図31及び図36に示すセンサ1101では、絶縁層1050は、基板1200の第1面1202上に配置された第1絶縁層1051と、第1絶縁層1051上に配置された第2絶縁層1052とを含み、第2絶縁層1052に先端開口部1061及び流路1062が形成されている。本実施形態のセンサ1101の特に好ましい態様では、第1絶縁層1051が、絶縁性の硬化樹脂を含み、第2絶縁層1052が、絶縁シートを含む。絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051は、硬化性樹脂組成物を、基板1200の第1面1202に塗布し、塗膜に活性エネルギー線を照射して硬化させることにより形成できる。絶縁シートを含む第2絶縁層1052は、絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051上に結合層を介して絶縁シートを貼付することにより形成できる。絶縁シートを含む第2絶縁層1052を形成後に、絶縁シートのうち、対極1330と基板1200の先端部1201との間の部分を剥離することにより第2絶縁層1052に先端開口部1061及び流路1062を形成することができる。或いは、対極1330と基板1200の先端部1201との間の部分に予め切り欠きを有する絶縁シートを、絶縁性の

硬化樹脂を含む第1絶縁層1051上に結合層を介して貼付することにより、先端開口部1061及び流路1062が形成された絶縁シートを含む第2絶縁層1052を形成することができる。

[0209] 図32及び図38に示す更に別の実施形態のセンサ1101'では、図31及び図36に示すセンサ1101において、先端開口部1061及び流路1062が、第1絶縁層1051にも更に形成されている。図32及び図38に示すセンサ1101'は、図31及び図36に示すセンサ1101において、第1絶縁層1051の、対極1330と基板1200の先端部1201との間の部分1515（図36参照）に先端開口部1061及び流路1062が更に形成されたものである。図32及び図38に示すセンサ1101'は、基板1200の第1面1202上の対極1330と先端部1201との間に絶縁層を含まないため、センサ1101'を液体試料X1に浸漬するときの液体試料X1と対極1330との接触が更に促進され、液体試料X1中の被検物質を更に高精度に検出することができる。図32及び図38に示すセンサ1101'の特に好ましい態様は、第1絶縁層1051が絶縁性の硬化樹脂を含む層であり、第2絶縁層1052が絶縁シートを含む層である。この特に好ましい態様に係るセンサ1101'は、前段落で説明した手順により、絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051と、絶縁シートを含む第2絶縁層1052とを含む絶縁層1050を備えるセンサ1101を製造した後に、絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051の前記部分1515（図36参照）を剥離することによって製造することができる。或いは、基板1200の第1面1202上で硬化性樹脂組成物を硬化して絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051を形成する際に、前記部分1515を欠いた第1絶縁層1051を形成し、その上に第2絶縁層1052を形成することによりセンサ1101'を製造することもできる。

[0210] <センサ1101の製造方法>

第2の開示の図31に示す実施形態のセンサ1101の製造方法の一例について、図面、特に図27～図31を参照して説明する。

- [0211] まず図27に示すように、絶縁性の基板1200の第1面1202上に、作用極導電層1311、1311、参照極導電層1321及び対極1330（対極導電層）、並びに、それらの各々に電氣的に接続された配線1005を配置する。
- [0212] 続いて図28に示すように、作用極導電層1311、1311、参照極導電層1321、対極1330及び配線1005が配置された基板1200の第1面1202上に、第1絶縁層1051を積層する。第1絶縁層1051は、作用極導電層1311、1311の一部と重なる位置に作用極第1開口部1511、1511、参照極導電層1321の一部と重なる位置に参照極第1開口部1512、対極1330の一部と重なる位置に対極第1開口部1513を有する。
- [0213] 上記の通り、本実施形態のセンサ1101の特に好ましい態様では、第1絶縁層1051は、絶縁性の硬化樹脂を含む。絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051は、硬化性樹脂組成物を、基板1200の第1面1202に塗布し、塗膜に活性エネルギー線を照射して硬化することにより形成することができる。
- [0214] 続いて図29に示すように、図28の基板1200の第1絶縁層1051上に、第2絶縁層1052を更に積層する。第2絶縁層1052は、第1絶縁層1051の作用極第1開口部1511、1511と重なる位置に作用極第1開口部1511、1511の全体を内包する形状の作用極第2開口部1521、1521、参照極第1開口部1512と重なる位置に参照極第1開口部1512の全体を内包する形状の参照極第2開口部1522、対極第1開口部1513と重なる位置に対極第1開口部1513と一致する形状の対極第2開口部1523を有する。第2絶縁層1052は更に、基板1200の厚さ方向T1からの平面視において対極1330と基板1200の先端部1201との間の部分に、先端開口部1061及び流路1062を有する。
- [0215] 上記の通り、本実施形態のセンサ1101の特に好ましい態様では、第2絶縁層1052は、絶縁シートを含む。絶縁シートを含む第2絶縁層105

2は、更に、絶縁シート的一方の面上に配置された粘着剤又は接着剤を含む結合層を含むことができる。絶縁シートを含む第2絶縁層1052は、第1絶縁層1051上に結合層を介して絶縁シートを貼付することにより形成することができる。

[0216] 続いて図30に示すように、第1絶縁層1051の作用極第1開口部1511、1511内に、試薬層1315を配置し、第1絶縁層1051の参照極第1開口部1512内に、銀／塩化銀層1322を配置する。

[0217] 続いて図31に示すように、第2絶縁層1052の作用極第2開口部1521、1521内に、作用極保護膜1316、1316を配置して作用極1310、1310を形成し、第2絶縁層1052の参照極第2開口部1522内に参照極保護膜1326を配置して参照極1320を形成する。なお図30と図31の各層の形成の順序は特に限定されず別の順序で行ってもよい。

[0218] <センサ1101の更なる実施形態>

第2の開示のセンサ1101の更なる好ましい実施形態を図41～図47を参照して説明する。

図41に示す実施形態に係るセンサ1101において、基板1200は、先端部1201と、先端部1201と反対側の第1端部1211とを含み、検出電極1300が配置された本体部1210と、

本体部1210の第1端部1211に接続された第2端部1222と、第2端部1222と反対側の第3端部1223とを含み、第2端部1222から第3端部1223まで延在する接続部1220と、

接続部1220の第3端部1223に接続された第4端部1234を含む基端部1230と

を含み、

基板1200の接続部1220は、第3端部1223の付近に、基板1200の第1面1202の側が突出するように基板1200を折り曲げる折り曲げ部1225を含む。

- [0219] なお図4 1、図4 2、図4 6及び図4 7では基板1 2 0 0を、折り曲げ部1 2 2 5で折り曲げる前のセンサ1 1 0 1の平面図を示している。
- [0220] 図4 1に示すように、配線1 0 0 5は、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2上に、本体部1 2 1 0から接続部1 2 2 0を経由して基端部1 2 3 0まで配置されていることが好ましい。図4 1に示すように、基端部1 2 3 0の第1面1 2 0 2上に端子1 0 0 6が配置されており、配線1 0 0 5はそれぞれ、本体部1 2 1 0の第1面1 2 0 2上の検出電極1 3 0 0の1つと、基端部1 2 3 0の第1面1 2 0 2上の端子1 0 0 6の1つとを電氣的に接続することが好ましい。
- [0221] 図4 1に示すセンサ1 1 0 1の基板1 2 0 0は、検出電極1 3 0 0等が配置された第1面1 2 0 2の側が突出するように、折り曲げ部1 2 2 5において折り曲げられる。折り曲げ部1 2 2 5で折り曲げられた基板1 2 0 0は、基端部1 2 3 0に対して、本体部1 2 1 0と、接続部1 2 2 0の折り曲げ部1 2 2 5よりも第2端部1 2 2 2側の部分とが突出した形状を有する。好ましくは、図4 3及び図4 4に示すように、基板1 2 0 0の基端部1 2 3 0に対して、基板1 2 0 0の本体部1 2 1 0と、接続部1 2 2 0の折り曲げ部1 2 2 5よりも第2端部1 2 2 2側の部分とが略垂直に突出した形状を有する。
- [0222] 接続部1 2 2 0の折り曲げ部1 2 2 5において折り曲げられた基板1 2 0 0を備える図4 1に示すセンサ1 1 0 1は、図4 3及び図4 4に示すように、基板1 2 0 0の基端部1 2 3 0を傾斜させなくとも（例えば、図4 3及び図4 4に示すように基板1 2 0 0の基端部1 2 3 0を水平方向に保持した状態で）、検出電極1 3 0 0が配置された基板1 2 0 0の本体部1 2 1 0を、先端部1 2 0 1が下端となるように配向させ、被検物質の測定のために液体試料X 1に浸漬することが可能である。
- [0223] 図4 1に示すセンサ1 1 0 1は、図4 2に示すように、複数連結し一体化して多連式センサ1 1 0 5として用いることができる。図4 2に示す多連式センサ1 1 0 5は、4つのセンサ1 1 0 1の、基板1 2 0 0の基端部1 2 3

0が一体化されたものである。

[0224] 図41に示すセンサ1101では、絶縁層1050が、基板1200の第1面1202のうち、本体部1210、及び、接続部1220の折り曲げ部1225よりも第2端部1222側の部分の領域に配置された、第1絶縁シートを含む第2絶縁層1052を含む。ここで、接続部1220の折り曲げ部1225よりも第2端部1222側の部分とは、接続部1220のうち、折り曲げ部1225の第2端部1222側の端から、第2端部1222までの部分である。図41に示すセンサ1101では、絶縁層1050は更に、基板1200の第1面1202の全体に形成された絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051を含む。第1絶縁シートを含む第2絶縁層1052は、第1絶縁シートに加えて、粘着剤又は接着剤を含む結合層（図示せず）を含み、結合層の側から第1絶縁層1051を介して基板1200の第1面1202の上記領域に貼付されている。図41に示すセンサ1101は、液体試料X1に浸漬される部分が、第1絶縁シートを含む第2絶縁層1052により一体に覆われているため、検出電極1300及び配線1005の間の必要な絶縁が達成されており、且つ、第2絶縁層1052の第1絶縁シートに先端開口部1061及び流路1062を形成することが容易であるため好ましい。

[0225] 図41に示すセンサ1101の、絶縁層1050は、基板1200の第1面1202のうち、接続部1220の折り曲げ部1225の領域上に、絶縁シートを含まない非絶縁領域1055を含む。この構成により奏される効果を図44及び図45を参照して説明する。

[0226] 図44は、基板1200の先端部1201を含む本体部1210を液体試料X1に浸漬した、図41に示すセンサ1101の、側方からの模式図である。図44に示すように、センサ1101は、基板1200が、接続部1220の折り曲げ部1225において、第1面1202の側が突出し、基端部1230に対して、本体部1210及び接続部1220の折り曲げ部1225よりも第2端部1222側の部分が略垂直となるように折り曲げられてい

る。図41及び図44に示すセンサ1101において、絶縁層1050は、基板1200の第1面1202の全体を覆う絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051と、第1絶縁層1051を介して、基板1200の第1面1202のうち、本体部1210、及び、接続部1220の折り曲げ部1225よりも第2端部1222側の部分の領域を覆う、第1絶縁シートを含む第2絶縁層1052とを含む。絶縁層1050は、基板1200の第1面1202のうち、接続部1220の折り曲げ部1225の領域上に、絶縁シートを含まず、絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1051を含む非絶縁領域1055を含む。本実施形態において第1絶縁シートを含む第2絶縁層1052は平坦であり変形していない。このため基板1200は、第1絶縁シートを変形した後に起こる収縮又は伸長の影響を受けず、本体部1210及び接続部1220の折り曲げ部1225よりも第2端部1222側の部分は平坦な形状に保持される。この結果、図44に示すように、センサ1101の基板1200の本体部1210は、液体試料X1中で、先端部1201を下端とした垂直な姿勢で保持され、検出電極1300による被検物質の測定を正常に行うことができる。

[0227] 一方、図45は、第1絶縁シートを含む第2絶縁層1052が、基板1200の第1面1202の、折り曲げ部1225上の領域を含む全体に形成された以外は図41及び図44に示すセンサ1101と同じ構造を有する比較例のセンサ1151を示す。比較例のセンサ1151では、基板1200の第1面1202上の絶縁シートを含む第2絶縁層1052は、基板1200の折り曲げ部1225での折り曲げにより伸長される。伸長した絶縁シートを含む第2絶縁層1052は収縮しようとするため、基板1200の本体部1210及び接続部1220に図45に示すような反りが発生する。反りが発生した基板1200の本体部1210は、検出電極1300が配置された第1面1202の側が上方を向いて傾斜する。このため、図45に示すように液体試料X1と、本体部1210の第1面1202上の検出電極1300との接触が阻害され、検出電極1300による被検物質の測定の精度が低下

する。図4 1及び図4 4に示すセンサ1 1 0 1は、絶縁層1 0 5 0が、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2の折り曲げ部1 2 2 5上の領域に非絶縁領域1 0 5 5を含むことにより、比較例のセンサ1 1 5 1のこの問題点を解消する。

[0228] 図4 1及び4 4に示すセンサ1 1 0 1の更に別の実施形態を、図4 6に基づいて説明する。図4 6に示すセンサ1 1 0 1は、絶縁層1 0 5 0が、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2のうち、本体部1 2 1 0、及び、接続部1 2 2 0の折り曲げ部1 2 2 5よりも第2端部1 2 2 2側の部分の領域上に配置された、第1絶縁シートを含む第2絶縁層1 0 5 2 aと、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2のうち、基端部1 2 3 0の領域上に配置された、第2絶縁シートを含む第2絶縁層1 0 5 2 bとを含む。ここで、第2絶縁層1 0 5 2 aの第1絶縁シートと、第2絶縁層1 0 5 2 bの第2絶縁シートとは、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2のうち、接続部1 2 2 0の折り曲げ部1 2 2 5の領域上において分離されている。図4 6に示すセンサ1 1 0 1において、絶縁層1 0 5 0は、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2の全体に形成された絶縁性の硬化樹脂を含む第1絶縁層1 0 5 1を更に含む。絶縁層1 0 5 0は、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2のうち接続部1 2 2 0の折り曲げ部1 2 2 5の領域上に、絶縁シートを含まず第1絶縁層1 0 5 1を含む非絶縁領域1 0 5 5を含む。第1絶縁シートを含む第2絶縁層1 0 5 2 a及び第2絶縁シートを含む第2絶縁層1 0 5 2 bは、それぞれ、第1絶縁層1 0 5 1上から基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2の上記領域に配置されている。この実施形態によれば、センサ1 1 0 1の基板1 2 0 0の反りによる検出精度の低下を抑制できるとともに、基板1 2 0 0の基端部1 2 3 0上の配線1 0 0 5及び端子1 0 0 6の間の絶縁性を高めることができる。

[0229] 図4 6に示すセンサ1 1 0 1の更に別の実施形態を、図4 7に基づいて説明する。図4 7に示すセンサ1 1 0 1では、第2絶縁層1 0 5 2 aの第1絶縁シートと、第2絶縁層1 0 5 2 bの第2絶縁シートとが、基板1 2 0 0の第1面1 2 0 2のうち接続部1 2 2 0の折り曲げ部1 2 2 5の領域上において、接続部1 2 2 0が延在する方向と交差する方向に形成された切り込み部

1056を介して分離されている。本実施形態では、絶縁層1050は、基板1200の第1面1202のうち接続部1220の折り曲げ部1225の領域上に、切り込み部1056を介して第2絶縁層1052a, 1052bと分離された、複数の第3絶縁シートを含む第2絶縁層1052cを含む。この実施形態によれば、センサ1101の基板1200の反りによる検出精度の低下を抑制できるとともに、基板1200の接続部1220の折り曲げ部1225上の配線1005の間の絶縁性を高めることができる。

[0230] <センサユニット900>

センサユニット900について図51、図52及び図53を参照して説明する。

図示するセンサユニット900は、24ウェルプレート925の各ウェルに対して、センサ1101の検出電極1300を含む基板1200の本体部1210を位置決めするために用いられる。

[0231] センサユニット900は、図51に示すように、下方から順に配置された、下方支持プレート957、6セットの多連式センサ1105（図42参照）、添加剤を供給するためのポート961が取り付けられた上方支持プレート959、及び、ガスケットシート960を備える。

[0232] 本実施形態では、多連式センサ1105は、図42に示す、4つのセンサ1101が、基板1200の基端部1230において連結されて一体化されたものである。4つのセンサ1101の各々は、基板1200の接続部1220の折り曲げ部1225において、基板1200の第1面1202の側が突出し、基端部1230に対し、本体部1210及び接続部1220の折り曲げ部1225よりも第2端部1222側の部分が垂直となるように折り曲げられている。図51に示すように、4つのセンサ1101を備える多連式センサ1105は、6セット分、下方支持プレート957に取り付けられる。

[0233] 下方支持プレート957は、6セットの多連式センサ1105に含まれる24のセンサ1101のそれぞれの基板1200の本体部1210及び接続

部 1 2 2 0 に対応する位置に貫通孔 9 5 7 b を備える。下方支持プレート 9 5 7 の貫通孔 9 5 7 b のそれぞれに、2 4 のセンサ 1 1 0 1 のそれぞれの基板 1 2 0 0 の本体部 1 2 1 0 及び接続部 1 2 2 0 が挿入される。センサ 1 1 0 1 が下方支持プレート 9 5 7 の貫通孔 9 5 7 b に挿入されると、図 5 2 に示すように、下方支持プレート 9 5 7 の上面と、センサ 1 1 0 1 の基板 1 2 0 0 の基端部 1 2 3 0 の下面とが係合した状態となる。また、下方支持プレート 9 5 7 の貫通孔 9 5 7 b の内周壁のうち、センサ 1 1 0 1 の基板 1 2 0 0 の接続部 1 2 2 0 の折り曲げ部 1 2 2 5 の内側と係合する部分に、基板 1 2 0 0 の接続部 1 2 2 0 の折り曲げ部 1 2 2 5 を下方から支持する第 1 係合部 9 5 7 d が設けられている。

[0234] 一方、上方支持プレート 9 5 9 の下側面には、下方支持プレート 9 5 7 の 2 4 の貫通孔 9 5 7 b の各々に挿入されるピン状の第 2 係合部 9 5 9 a が設けられている。

[0235] 6 つの多連式センサ 1 1 0 5 を、下方支持プレート 9 5 7 と上方支持プレート 9 5 9 との間に挟んで組み合わせると、図 5 2 に示すように、下方支持プレート 9 5 7 の第 1 係合部 9 5 7 d の上面と、上方支持プレート 9 5 9 の第 2 係合部 9 5 9 a の下面とにより、センサ 1 1 0 1 の基板 1 2 0 0 の接続部 1 2 2 0 の折り曲げ部 1 2 2 5 が係合されて支持される。図 5 2 に示すように、下方支持プレート 9 5 7 の第 1 係合部 9 5 7 d は、上面に湾曲した面を含む上面湾曲部形状を有している。また、上方支持プレート 9 5 9 の第 2 係合部 9 5 9 a は、下面に湾曲した面を含む下面湾曲部形状を有している。この構成により、センサ 1 1 0 1 は、基板 1 2 0 0 の先端部 1 2 0 1 が下端となり、基板 1 2 0 0 の本体部 1 2 1 0 及び接続部 1 2 2 0 の折り曲げ部 1 2 2 5 よりも先端側の部分が垂直となるように支持される。この結果、ウェルプレートの各ウェル内に収容された液体試料に対する、センサ 1 1 0 1 の基板 1 2 0 0 の本体部 1 2 1 0 の姿勢を安定化することができ、センサ 1 1 0 1 による検出の精度を高めることができる。

[0236] 最後に、図 5 1 に示すように、上方支持プレート 9 5 9 の上面に貫通孔を

有するガスケットシート960を重ねて配置して、センサユニット900を完成させる。

- [0237] センサユニット900は他の部材と組み合わせてアダプタユニット920を構成することができる。アダプタユニット920は、図53に示すように、最下段から、アダプタボトム（培養容器設置部）924、ウェルプレート（培養容器）925、アダプタトップ926、センサユニット900がこの順に載置されている。

本実施形態において、ウェルプレート925は4×6の24個のウェルを有している。

- [0238] アダプタトップ926は、ウェルプレート925の高さを調整するために設けられており、ウェルプレート925の高さに応じて、異なるアダプタトップ926が使用される。これは、アダプタトップ926の上にセンサユニット900が載置された際に、センサユニット900とウェルプレート925との高さ関係を調整するためである。

- [0239] ウェルプレート925は、汎用品も含めていくつかの種類を有しており、その種類に応じてアダプタトップ926が使い分けられる。

- [0240] アダプタトップ926上に配置されたセンサユニット900は、その下面側に設けられた4本の脚部（支持体）940が、下方のアダプタトップ926の貫通孔941を通して、培養容器設置部としてのアダプタボトム924に設けられた位置決め穴942内に挿入される。

- [0241] こうして形成された、センサユニット900及びウェルプレート925を備えたアダプタユニット920では、センサ1101の検出電極1300を含む基板1200の本体部1210が、ウェルプレート925の各ウェル内で安定した姿勢で保持されている。

- [0242] 図示しないが、アダプタユニット920において、センサユニット900に含まれるセンサ1101の基板1200の基端部1230上の端子1006は、センサユニット900のガスケットシート960の貫通孔を通じて、外部の分析ユニット1102の電気化学測定部1111（図48参照）と、

電氣的に接続することができる。すなわち、センサユニット 900 を備えるアダプタユニット 920 は、外部の分析ユニット 1102 及び制御ユニット 1104 と組み合わせることで、図 48 に示す分析装置 1100 を構成することができる。

[0243] <第 2 の開示の実施例>

第 2 の開示の実施例または比較例として、以下の 5 つのセンサを作成した。なお以下の実験で用いたセンサ S1～S5 には、作用極 1310, 1310 の試薬層 1315, 1315 及び作用極保護膜 1316, 1316、並びに、参照極 1320 の参照極保護膜 1326 は設けていない。

[0244] センサ S1

センサ S1 は図 49A に示す構造の比較例である。センサ S1 は、基板 1200 の第 1 面 1202 の全体に第 1 絶縁層 1051 と絶縁シートを含む第 2 絶縁層 1052 が積層されている。センサ S1 では先端開口部 1061 及び流路 1062 が形成されておらず、基板 1200 の第 1 面 1202 の、対極 1330 と先端部 1201 との間の部分も、第 1 絶縁層 1051 及び第 2 絶縁層 1052 を含む絶縁層 1050 により被覆されている。すなわち、センサ S1 は、基板 1200 の反りを防止するための絶縁層 1050 の非絶縁領域 1055、並びに、対極 1330 の上面 1331 へ液体試料を導くための先端開口部 1061 及び流路 1062 を有さない。

[0245] センサ S2

センサ S2 は図 49B に示す構造の比較例である。センサ S2 は、センサ S1 における全体を覆う第 2 絶縁層 1052 の代わりに、基板 1200 の接続部 1220 の折り曲げ部 1225 よりも先端側の部分に配置された第 1 絶縁シートを含む第 2 絶縁層 1052a と、基板 1200 の基端部 1230 に配置された第 2 絶縁シートを含む第 2 絶縁層 1052b とを配置し、基板 1200 の接続部 1220 の折り曲げ部 1225 上に第 1 絶縁層 1051 を含み絶縁シートを含まない非絶縁領域 1055 を配置したものである。すなわち、センサ S2 は、基板 1200 の反りを防止するための絶縁層 1050 の

非絶縁領域 1055 を有するが、対極 1330 の上面 1331 へ液体試料を導くための先端開口部 1061 及び流路 1062 を有さない。

[0246] センサ S3

センサ S3 は図 49C に示す構造のセンサ 1101 の実施例である。センサ S3 は図 46 に示すセンサ 1101 と同様に、基板 1200 の反りを防止するための絶縁層 1050 の非絶縁領域 1055 と、第 2 絶縁層 1052 のみに形成された先端開口部 1061 及び流路 1062 (図 36 参照) を有する。

[0247] センサ S4

センサ S4 は図 49D に示す構造のセンサ 1101 の実施例である。センサ S4 は、センサ S3 において、絶縁層 1050 の第 1 絶縁シートを含む第 2 絶縁層 1052a 及び第 2 絶縁シートを含む第 2 絶縁層 1052b を、基板 1200 の第 1 面 1202 の全体を覆う一体の絶縁シートを含む第 2 絶縁層 1052 に置換し、且つ、第 1 絶縁層 1051 の、対極 1330 と基板 1200 の先端部 1201 との間の部分 1515 (図 36、図 49C 参照) を剥離して先端開口部 1061 及び流路 1062 としたものである。すなわち、センサ S4 は、基板 1200 の反りを防止するための絶縁層 1050 の非絶縁領域 1055 を有さず、第 1 絶縁層 1051 及び第 2 絶縁層 1052 に形成された先端開口部 1061 及び流路 1062 (図 38 参照) を有する。

[0248] センサ S5

センサ S5 は図 49E に示す構造のセンサ 1101 の実施例である。センサ S5 は、センサ S3 において、第 1 絶縁層 1051 の、対極 1330 と基板 1200 の先端部 1201 との間の部分 1515 (図 36、図 49C 参照) を剥離して先端開口部 1061 及び流路 1062 としたものである。すなわち、センサ S5 は、基板 1200 の反りを防止するための絶縁層 1050 の非絶縁領域 1055 と、第 1 絶縁層 1051 及び第 2 絶縁層 1052 に形成された先端開口部 1061 及び流路 1062 (図 38 参照) を有する。

[0249] 上記の 5 つのセンサの製造に使用した材料を示す。

[0250] (基板)

絶縁性の基板として、図49A～図49E等を示す形状の、本体部1210、接続部1220及び基端部1230を含む、ポリエチレンテレフタレートからなる厚さ188 μ mの基板1200を用いた。

[0251] 基板1200の本体部1210は、横幅11mm、縦幅4.2mmの長方形とした。

[0252] 絶縁層1050を積層してセンサを完成後に基板1200の接続部1220の折り曲げ部1225において、第1面1202の側に突出し、本体部1210及び接続部1220の折り曲げ部1225よりも先端側の部分が、基端部1230に対して垂直になるように折り曲げた。

[0253] (導電層)

基板1200の第1面1202上に、カーボンペーストを適用し加熱して得られる厚さ5 μ mのカーボン導電層により、図27及び図46に図示する形状の、作用極導電層1311、1311、参照極導電層1321、対極(対極導電層)1330、配線1005及び端子1006を形成した。

[0254] (第1絶縁層)

カーボン導電層が配置された基板1200の第1面1202上に、図28に示すようにフッ素樹脂からなる、基板1200の第1面1202及びカーボン導電層を覆う、カーボン導電層上の部分の厚さが5 μ mの第1絶縁層1051を積層した。第1絶縁層1051は、活性エネルギー線照射により硬化して絶縁性の硬化樹脂を生じる硬化性樹脂組成物(ネガ型レジスト組成物)を塗布し、塗膜に活性エネルギー線を照射することにより形成した。適宜マスキングを施し、第1絶縁層1051に、作用極第1開口部1511、1511、参照極第1開口部1512、対極第1開口部1513を形成した。

[0255] 第1絶縁層1051の参照極第1開口部1512内に銀/塩化銀層1322を配置した。

[0256] (第2絶縁層)

カーボン導電層及び第1絶縁層1051が配置された基板1200の第1

面1202上の所定の領域に第2絶縁層1052を配置した。表面が撥水処理された厚さ50 μ mのポリエチレンテレフタレートシート（絶縁シート）と、厚さ10 μ mの粘着剤を含む結合層との積層体である第2絶縁層1052を、結合層を介して、基板1200の第1面1202上に配置された第1絶縁層1051上の所定の領域に貼付した。

[0257] 作用極第2開口部1521, 1521及び参照極第2開口部1522はそれぞれ直径2.0mmの円形とした。対極第2開口部1523は、本体部1210の横方向の幅が2.1mm、縦方向の幅が1.8mmの長方形とした。

[0258] 以下の実験では、作用極1310, 1310の試薬層1315, 1315及び作用極保護膜1316, 1316、及び参照極1320の参照極保護膜1326を設けていないセンサS1～S5を用いた。

[0259] 各々が深さ17.40mm、ウェル底直径16.26mm、ウェル直径15.62mmの円筒型のウェルを有する24ウェルプレートを用意した。24ウェルプレートの各ウェルに、500 μ Mのアスコルビン酸を添加したRPMI培地（以下「液体試料X1」とする）を、0.85mL、0.94mL、1.0mL又は1.2mL加えた。

[0260] センサS1～S5を、図43～45に示すように基板1200の基端部1230を第1面1202が上方を向くように水平に保持し、基板1200の本体部1210を先端部1201が下端となるようにウェル内の各量の液体試料X1中に浸漬した。

[0261] センサS1～S5のそれぞれの作用極1310, 1310（ただし試薬層及び保護膜を含まない）の、参照極1320（ただし保護膜を含まない）に対する電圧差を500mVとなるようにポテンショスタットにより制御し、2つの作用極1310, 1310のそれぞれと対極1330との間の電流値を経時的に0.7時間後まで測定した。また、対極1330に液体試料X1が接触しているかどうかを確認するため、対極1330の電圧を経時的に測定した。

- [0262] 検出電極 1 3 0 0 の各々と液体試料 X 1 との接触を促進するために、測定開始後一定時間経過後に 2 4 ウェルプレートを振動させながら測定を行った。
- [0263] センサ S 1 ～ S 5 の各々について、4 つの容量の液体試料の各々を用いた場合の 2 つの作用極 1 3 1 0, 1 3 1 0 の電流値の測定結果を図 5 0 に示す。図 5 0 A は、センサ S 1 の結果を示し、図 5 0 B はセンサ S 2 の結果を示し、図 5 0 C はセンサ S 3 の結果を示し、図 5 0 D はセンサ S 4 の結果を示し、図 5 0 E はセンサ S 5 の結果を示す。
- [0264] 比較例のセンサ S 1 (図 4 9 A 参照) は、振動を加えない場合、すべての容量の液体試料 X 1 中で作用極の電流値が底打ちし正常な電流値が測定されなかった。振動を加えた場合に、1. 2 m L、1. 0 m L 及び 0. 9 4 m L の液体試料 X 1 中で作用極に正常な電流値が測定されたが、0. 8 5 m L の液体試料 X 1 中では作用極の電流値が底打ちし正常な測定ができなかった。
- [0265] 比較例のセンサ S 2 (図 4 9 B 参照) は、振動を加えない場合、1. 2 m L、1. 0 m L 及び 0. 8 5 m L の液体試料 X 1 中で作用極の電流値が底打ちし正常な電流値が測定なかったが、0. 9 4 m L の液体試料 X 1 中では作用極に正常な電流値が測定された。振動を加えた場合に、すべての容量の液体試料 X 1 中で作用極に正常な電流値が測定された。
- [0266] 実施例のセンサ S 3 (図 4 9 C 参照) は、振動を加えない場合と振動を加えた場合のどちらも、すべての容量の液体試料 X 1 中で作用極に正常な電流値が測定された。
- [0267] 実施例のセンサ S 4 (図 4 9 D 参照) は、振動を加えない場合、1. 2 m L、1. 0 m L 及び 0. 9 4 m L の液体試料 X 1 中で作用極に正常な電流値が測定され、0. 8 5 m L の液体試料中では作用極の電流値が底打ちし正常な測定ができなかった。振動を加えた場合は、どの容量の液体試料 X 1 中でも作用極に正常な電流値が測定された。
- [0268] 実施例のセンサ S 5 (図 4 9 E 参照) は、振動を加えない場合と振動を加えた場合のどちらも、すべての容量の液体試料 X 1 中で作用極に正常な電流

値が測定された。

[0269] 上記の結果を下記表にまとめた。

[0270] [表1]

センサ	液量 1. 2 mL	液量 1. 0 mL	液量 0. 9 4 mL	液量 0. 8 5 mL
S 1	F (A)	F (A)	F (A)	F (F)
S 2	F (A)	F (A)	A (A)	F (A)
S 3	A (A)	A (A)	A (A)	A (A)
S 4	A (A)	A (A)	A (A)	F (A)
S 5	A (A)	A (A)	A (A)	A (A)

F：作用極電流値測定不可

A：作用極電流値測定成功

() 外は振動を加えていない場合の結果

() 内は振動を加えた場合の結果

[0271] どのセンサを用いた場合でも、作用極の電流値が底打ちし正常な測定ができていないときは、対極の電圧値も底打ちしており、作用極の電流値が正常なときは、対極の電圧値も正常であることが確認された（データは不図示）。このことは、センサによる正常な測定のためには対極と液体試料とを十分に接触させることが必要であることを示す。そして、上記の電流値の測定結果から、絶縁層に先端開口部及び流路を形成することにより対極の上面へ液体試料を導くことができ対極と液体試料との接触阻害を抑制できること、並びに、基材の反りを抑制することにより接触阻害が更に抑制できることが確認された。

[0272] <第2の開示に関する付記>

細胞培養液を分析するためのセンサを備える従来の細胞培養分析装置の構成では、基体に設けられた貫通孔部分にセンサが固定されるとともに、このセンサには、信号を取り出すためのリード線が接続されていた。

[0273] 例えば、特許文献2（米国特許第9 1 7 0 2 5 5号明細書）には、複数の細胞培養容器が設けられたプレートと嵌合するカートリッジを有する細胞培養分析装置について開示されている。

[0274] 特許文献2の細胞培養分析装置は、それぞれの培養容器内を計測するセン

サを有しており、これらのセンサを挿入する複数の開口がカートリッジに設けられ、それぞれの開口内でセンサとファイバーケーブルとが接続されている。そして、これら複数のファイバーケーブルが、外部の制御部に接続されている。

[0275] 特許文献2に記載の上記の細胞培養分析装置のセンサは、以下に示すような問題点を有している。

[0276] すなわち、特許文献2に開示された細胞培養分析装置では、複数の培養容器にそれぞれ挿入される各センサの培養容器に対する正確な位置決めを行うことが困難であった。

[0277] このため、培養容器に入れられた培地へのセンサの浸漬深さ等にばらつきが生じ、測定精度が低下するおそれがあった。特に、培地へのセンサの浸漬深さが十分でない場合、センサの検出電極に液体試料が十分に接触せず、測定精度が低下するおそれがあった。

[0278] 第2の開示の課題は、液体試料中にセンサを浸漬した場合の、センサの検出電極への液体試料の接触阻害が抑制されたセンサ及びそれを備えるセンサユニットを提供することにある。

[0279] そこで本明細書では、第2の開示として、以下の付記1～11のいずれかに記載のセンサ及びセンサユニットを開示する。

[0280] (付記1)

液体試料に浸漬された状態で使用されるセンサであって、
前記液体試料に浸漬される先端部を含む絶縁性の基板と、
前記基板の第1面における前記先端部の付近に配置され、作用極、対極及び参照極を含む検出電極と、
前記基板の前記第1面に配置され、前記検出電極と接続された配線と、
前記基板の前記第1面に配置され、前記検出電極及び前記配線の少なくとも一部を覆うように形成された絶縁層と、
前記絶縁層に形成された、前記対極の上面に連通しており、前記基板の前記先端部の側に開口する先端開口部と、

前記絶縁層に形成された、前記先端開口部と前記対極の前記上面とを接続する、前記液体試料を前記先端開口部から前記対極の前記上面へと導く流路とを備えたセンサ。

(付記 2)

前記絶縁層は、前記基板の厚さ方向からの平面視において前記対極と重なる位置に形成された、前記厚さ方向に貫通した対極開口部を備え、
前記対極の前記上面は、前記対極開口部を通じて露出している、
付記 1 に記載のセンサ。

(付記 3)

前記絶縁層は、前記基板の厚さ方向からの平面視において
前記作用極と重なる位置に形成された、前記厚さ方向に貫通した作用極開口部と、
前記参照極と重なる位置に形成された、前記厚さ方向に貫通した参照極開口部とを備え、
前記作用極は、前記作用極開口部内に配置された作用極保護膜を含み、
前記参照極は、前記参照極開口部内に配置された参照極保護膜を含む、
付記 1 又は 2 に記載のセンサ。

(付記 4)

前記絶縁層は、
前記基板の前記第 1 面に配置された、絶縁性の硬化樹脂を含む第 1 絶縁層と、
前記第 1 絶縁層上に配置された、絶縁シートを含む第 2 絶縁層とを含み、
前記先端開口部及び前記流路は、前記第 2 絶縁層に形成されている、
付記 1 ～ 3 のいずれか 1 つに記載のセンサ。

(付記 5)

前記先端開口部及び前記流路は、更に前記第 1 絶縁層に形成されている、
付記 4 に記載のセンサ。

(付記 6)

前記流路は、前記先端開口部に向かって流路幅を拡張する拡張部を有している、付記 1～5 のいずれか 1 つに記載のセンサ。

(付記 7)

前記基板は、
前記先端部と、前記先端部と反対側の第 1 端部とを含み、前記検出電極が配置された本体部と、

前記本体部の前記第 1 端部に接続された第 2 端部と、前記第 2 端部と反対側の第 3 端部とを含み、前記第 2 端部から前記第 3 端部まで延在する接続部と、

前記接続部の前記第 3 端部に接続された第 4 端部を含む基端部とを含み、

前記基板の前記接続部は、前記第 3 端部の付近に、前記第 1 面の側が突出するように前記基板を折り曲げる折り曲げ部を含む、
付記 1～6 のいずれか 1 つに記載のセンサ。

(付記 8)

前記絶縁層は、前記基板の前記第 1 面のうち、前記本体部、及び、前記接続部の、前記折り曲げ部よりも前記第 2 端部側の部分の領域上に配置された、第 1 絶縁シートを含む、
付記 7 に記載のセンサ。

(付記 9)

前記絶縁層は、前記基板の前記第 1 面のうち、前記接続部の前記折り曲げ部の領域上に、絶縁シートを含まない非絶縁領域を有している、
付記 8 に記載のセンサ。

(付記 10)

前記絶縁層は、前記基板の前記第 1 面のうち、前記基端部の領域上に配置

された第2絶縁シートを更に含み、

前記第1絶縁シートと前記第2絶縁シートとは、前記基板の前記第1面のうち、前記接続部の前記折り曲げ部の領域上において分離されている、付記8又は9に記載のセンサ。

(付記11)

付記1～10のいずれか1項に記載のセンサ、及び、

前記センサの前記基板と係合して、前記基板の前記先端部が下端となるように前記センサを支持する係合部を備える支持部材を備えるセンサユニット。

[0281] <第3の開示の実施形態>

以下、第3の開示に係るセンサの実施形態について説明する。本実施形態では、必要以上に詳細な説明は省略する場合がある。例えば、既によく知られた事項の詳細説明や実質的に同一の構成に対する重複説明を省略する場合がある。これは、以下の説明が不必要に冗長になるのを避け、当業者の理解を容易にするためである。なお、第3の開示に係るセンサにおける構成のうち、第1の開示に係るセンサにおける構成と同じ符号を付したものについては、第1の開示に係るセンサにおける対応する構成の説明を参照することができる。

[0282] また、出願人は、当業者が第3の開示を十分に理解するために添付図面及び以下の説明を提供するのであって、これらによって下記の「第3の開示に関する付記」に記載の事項を限定することを意図するものではない。

[0283] <材料>

本明細書の第3の開示のセンサに用いることができる材料の例について説明する。

[0284] 本明細書の第3の開示のセンサが絶縁性の基板を備える場合、その材料は特に限定されないが、例えば、本明細書の第1の開示のセンサの絶縁性の基板の材料と同じものが利用できる。

[0285] 本明細書の第3の開示のセンサの作用極、参照極及び対極が備える導電層

は、カーボン、金等の導電性材料を含む層である。導電層は、前記のような導電性材料の層を、スパッタリング法、蒸着法、スクリーン印刷法等を用いて基板の表面上に形成することにより製造することができる。導電層は、必要に応じて、レーザートリミング法を用いて所定のパターンに加工することができる。第3の開示において、作用極の導電層を作用極導電層、参照極の導電層を参照極導電層と称する場合がある。第3の開示において、対極の導電層に関しては、導電層自体が対極を構成するため、単に対極と称する。作用極導電層及び対極を構成する導電性材料のより好ましい実施形態は、後述する通りである。

- [0286] 本明細書の第3の開示のセンサの配線もまた、導電層と同様の導電性材料により構成することができる。
- [0287] 本明細書の第3の開示のセンサは、液体試料に浸漬して液体試料中の所定の被検物質（アナライト）を検出するために用いられる。液体試料は水を溶媒として含む液体試料であることが好ましい。液体試料としては、細胞培養液や、生体から取得された血液を用いて調製された液体試料が挙げられる。被検物質の例は、本明細書の第1の開示のセンサによる被検物質に関して記載の通りであり、特に好ましくはグルコース及び乳酸から選択される1以上である。液体試料としては、細胞、特に生細胞、を含む液体試料が好ましく、細胞培養液が特に好ましい。
- [0288] 本明細書の第3の開示のセンサの作用極は、作用極導電層上に配置された、被検物質の酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層を備える。当該試薬は被検物質に応じて適宜選択することができる。当該試薬としては、酸化還元酵素とメディエータ（電子伝達物質）との組み合わせ、又は、酸化還元酵素を含むことができる。酸化還元酵素は補酵素を含むことができる。
- [0289] 酸化還元酵素としては、酸化酵素又は脱水素酵素が挙げられる。酸化還元酵素の具体例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りであり、特に好ましくは、グルコースオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ又は乳酸デヒドロゲナーゼであることができる。

- [0290] また、メディエータは特に限定されず、その例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。
- [0291] 本明細書の第3の開示のセンサの作用極が備える試薬層は、前記試薬に加えて、更に緩衝剤、親水性高分子化合物、導電性炭素フィラー、架橋剤等の成分を含むことができる。親水性高分子化合物及び導電性炭素フィラーの例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。
- [0292] 本明細書の第3の開示のセンサの作用極は、保護膜を更に備えることができる。作用極上の保護膜は、試薬層に含まれる試薬の保護膜外への漏出を防止又は抑制し、且つ、保護膜外に存在する被検物質が透過可能な膜であることができる。このような性質を有する保護膜は、高分子化合物を含むことが好ましい。保護膜に含まれる高分子化合物としては、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物が挙げられる。陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物としては、プロトン伝導性を有する重合体化合物等が例示できる。陽イオン交換性官能基としては陰イオン性官能基が例示できる。
- [0293] 4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物、及び、プロトン伝導性を有する重合体化合物の例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。
- [0294] 本明細書の第3の開示のセンサの作用極が備える保護膜は、2以上の保護膜の積層体であることができ、その例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。
- [0295] 本明細書の第3の開示のセンサの作用極が備える保護膜の別の好適な例は、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む保護膜である。
- [0296] 本明細書の第3の開示のセンサの参照極は保護膜を備えることができる。参照極の保護膜は、作用極の保護膜に関して上述した材料により構成することができる。
- [0297] 本明細書の第3の開示のセンサの対極は、保護膜により被覆されていてもよい。対極を被覆する保護膜の好ましい態様については後述する通りである。

。

[0298] 本明細書の第3の開示のセンサにおいて、絶縁性の基板上に配置された作用極及び対極を含む電極の、液体試料と接触する部分以外の部分は、絶縁層により被覆されていることが好ましい。絶縁層は絶縁性樹脂を含むことができる。絶縁層は2層以上の多層構造であることができる。多層構造の絶縁層は、例えば、絶縁性の基板及び導電層上に配置された第1絶縁層と、第1絶縁層上に配置された第2絶縁層とを含むことができる。第1絶縁層と第2絶縁層を構成する材料の好ましい態様は、第1の開示に係るセンサに関して説明した通りである。

[0299] <センサ300の概要>

第3の開示の一実施形態に係るセンサ300について図面を参照して説明する。

[0300] 本実施形態のセンサ300は、図54～57に示すように、絶縁性の基板2と、基板2の第1面2a上に配置された第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極60と、第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極60のそれぞれと電氣的に接続された配線50を備える。本実施形態のセンサ300は作用極を2つ含むが、図示しない別の実施形態では、作用極は1つのみであってもよく、3つ以上であってもよい。以下の説明では、第1作用極10a及び第2作用極10bを区別しない場合は、作用極10a、10bと表現する場合がある。また、第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極60を総称して、電極と表現する場合がある。また、本実施形態のセンサ300は電極として作用極、参照極及び対極を含む三極式センサであるが、参照極を含まず作用極及び対極のみを含む二極式センサであってもよい。図示しないが、参照極及び／又は対極は、作用極が配置された基板とは別の基板上に設けられていてもよい。

[0301] センサ300は、第1の開示のセンサ1に関して図21に示すのと同様に、液体試料Xに浸漬して液体試料X中の所定の被検物質を検出するために用いられる。液体試料及び被検物質の具体例は、<材料>の欄に記載の通りで

ある。

[0302] センサ300の作用極10a, 10bは、図56、57に示すように、作用極導電層11a, 11bと、液体試料中の被検物質の酸化還元反応に関する試薬を含む試薬層15a, 15bを含む。試薬の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0303] センサ300の作用極10a, 10bの試薬層15a, 15bが、液体試料中の被検物質を酸化する試薬を含む場合、センサ300の電極に所定の電圧を印加した条件下で、被検物質から作用極導電層11a, 11bに電子が移動する。同様に、試薬層15a, 15bが、液体試料中の被検物質を還元する試薬を含む場合、作用極導電層11a, 11bから被検物質に電子が移動する。移動する電子の量は被検物質の濃度に依存するため、センサ300の作用極10a, 10bを流れる電流値又は電流値の変化に基づき、液体試料中の被検物質の濃度又は濃度変化を測定することができる。

[0304] センサ300は、液体試料中の被検物質を分析するための分析装置を構成することができる。分析装置としては、図24に示す分析装置100において、第1の開示に係るセンサ1が、第3の開示に係るセンサ300に置換された、センサ300と、分析ユニット102と、制御ユニット104とを備える分析装置が挙げられる。この分析装置の機能は、図24に示す分析装置100に関して説明した通りである。

[0305] ＜センサ300の構造＞

第3の開示に係るセンサ300の構造について、図54並びにその断面図である図55、56及び57を参照して説明する。なお第3の開示に係るセンサ300の参照極20の構造は、第1の開示に係るセンサ1の参照極20の構造と同じである。このため図22を参照した、第1の開示に係るセンサ1の参照極20の説明を、第3の開示に係るセンサ300の参照極20の説明として引用する。

[0306] センサ300は、絶縁性の基板2と、基板2の第1面2a上に配置された、作用極導電層11a, 11b、対極60、参照極導電層21、配線50を

備える。なお、第3の開示に係るセンサ300の図示する実施形態では、対極60は全体が導電層からなる。対極のうち導電層の部分を特に指すために、「対極導電層」又は「対極の導電層」と称することもできる。基板2の第1面2a上にはさらに、第1絶縁層3が配置されており、第1絶縁層3上にはさらに第2絶縁層4が配置されている。第1絶縁層3の上面の、基板2の第1面2aからの高さは、作用極導電層11a、11b、対極60、参照極導電層21及び配線50の、基板2の第1面2aからの高さよりも大きい。このため、第1絶縁層3の一部は、作用極導電層11a、11b、対極60、参照極導電層21及び配線50上に配置される。

[0307] 図55に示すように、第1絶縁層3は、対極60の一部と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した対極第1開口部302を備える。更に第2絶縁層4は、第1絶縁層3の対極第1開口部302の全体と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した対極第2開口部402を備える。対極第1開口部302及び対極第2開口部402を通じて、対極60は外部に露出している。対極60のうち、センサ300を液体試料に浸漬したときに液体試料と接触する部分60aは、対極第1開口部302により形成される凹部の底面に位置する。

[0308] 図56、57に示すように、作用極10a、10bは、作用極導電層11a、11bと、作用極導電層11a、11b上に配置され、被検物質の酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層15a、15bを含む。試薬層15a、15bにおける前記試薬の好ましい態様は<材料>の欄に記載の通りである。

[0309] 第1の開示と同様に、第1作用極10aの「試薬層15a」と、第2作用極10bの「試薬層15b」とを区別するために、前者を第1作用極10aの「第1試薬層15a」、後者を第2作用極10bの「第2試薬層15b」と表現する場合がある。また、第1作用極10aの試薬層15aが有する試薬を「第1試薬」、第2作用極10bの第2試薬層15bが有する試薬を「第2試薬」と表現する場合がある。センサ300は、好適な実施形態におい

て、複数の作用極10a, 10bを備え、複数の作用極10a, 10bのうち第1作用極10aの第1試薬層15aに含まれる第1試薬と、第1作用極10aとは異なる第2作用極10bの第2試薬層15bに含まれる第2試薬とは、互いに異なる。この好適な実施形態に係るセンサ300は、第1試薬が、液体試料中の第1被検物質の酸化還元反応に関与し、第2試薬が、液体試料中の第1被検物質とは異なる第2被検物質の酸化還元反応に関与することができるため、液体試料中の、第1被検物質及び第2被検物質を含む複数の被検物質を検出するために用いることができる。

[0310] 図56、57に示すように、作用極10a, 10bは、試薬層15a, 15b上に配置された、保護膜16a, 16bを備えることができる。保護膜16a, 16bの好ましい態様は<材料>の欄に記載の通りである。図示する例では、第1試薬層15a上に一層からなる第1保護膜16aが配置され、第2試薬層15b上に、第2保護膜16baと第3保護膜16bbとからなる保護膜16bが配置されているが、この例には限定されず、保護膜16a, 16bは同じ構造を有していてもよいし、図示しない他の構造を有していてもよい。

[0311] 図56、57に示すように、第1絶縁層3は、作用極導電層11a, 11bの各々の一部と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した作用極第1開口部303a, 303bを備える。更に第2絶縁層4は、第1絶縁層3の作用極第1開口部303a, 303bの全体を内包する部分と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した作用極第2開口部403a, 403bを備える。作用極第1開口部303a, 303b及び作用極第2開口部403a, 403bを通じて、作用極10a, 10bは外部に露出している。作用極導電層11a, 11bのうち、センサ300を液体試料に浸漬したときに液体試料と接触する部分11a1, 11b1は、作用極第1開口部303a, 303bにより形成される凹部の底面に位置する。また、試薬層15a, 15bは、作用極第1開口部303a, 303bに内包され、試薬層15a, 15bの外周縁は、作用極第1開口部303a, 30

3 bの内周縁により規定される。保護膜16 a, 16 bは、作用極第2開口部403 a, 403 bに内包され、保護膜16 a, 16 bの外周縁は、作用極第2開口部403 a, 403 bの内周縁により規定される。

[0312] <センサ300による過酸化水素の発生の抑制>

第3の開示に係るセンサ300は、液体試料中に浸漬し、前記液体試料中の被検物質を電気化学的に測定するとき、測定中の過酸化水素の発生の抑制、及び／又は、発生した過酸化水素の濃度低下により、測定の間、前記液体試料中の過酸化水素濃度が15 μ M未満に維持されることを特徴とする。過酸化水素は細胞に対し毒性を有することが知られている。このため、電気化学センサを用いて、細胞培養液等の、細胞を含む液体試料における被検物質を、数日間以上の長期間にわたり連続的に測定する場合に、測定中の過酸化水素濃度の上昇を抑制することが望ましい。

[0313] センサ300によれば、被検物質の検出感度の顕著な低下を生じることなく、測定の間、液体試料中の過酸化水素濃度を15 μ M未満の低濃度に維持することが可能である。

[0314] ここで「液体試料中の被検物質を電気化学的に測定する」とは、例えば、液体試料中に浸漬したセンサ300をポテンショスタットに接続し、参照極20を基準として、作用極10 a, 10 bに所定の電位を印加したときの、作用極10 a, 10 bと対極60の間の電流を検出し、検出された電流に基づいて被検物質を測定することを指す。センサ300を用いた電気化学的測定は、典型的には数時間以上または数日間以上の期間、例えば1時間以上、好ましくは72時間（3日間）以上、より好ましくは96時間（4日間）以上、更に好ましくは168時間（7日間）以上、最も好ましくは240時間（10日間）以上の期間にわたり連続的に行う。前記期間は、その上限は特に限定されないが、例えば336時間（14日間）以内である。センサ300によればこの期間中の液体試料中の過酸化水素濃度が15 μ M未満に維持される。前記期間中の液体試料の過酸化水素濃度は、より好ましくは10 μ M以下に維持される。

- [0315] 上記の特徴を有するセンサ 300 の好ましい実施形態では、対極 60 が、液体試料と接触する部分 60a に、過酸化水素を分解する触媒を含む。過酸化水素の発生は、主に、対極 60 上における、液体試料中の酸素 (O_2) が過酸化水素 (H_2O_2) へ還元される反応により生じると考えられる。特に、作用極 10a, 10b 上で酸化反応を行う被検物質の測定において、対極 60 上での過酸化水素の発生が問題なり得る。作用極 10a, 10b 上で酸化反応を行う被検物質の測定としては、被検物質の酸化に参与する酸化酵素、脱水素酵素等を含む試薬層 15a, 15b を備える作用極 10a, 10b を用いた測定が挙げられる。液体試料と接触する部分 60a に、過酸化水素を分解する触媒を含む対極 60 を備えるセンサ 300 によれば、測定時に、対極 60 上で液体試料中の酸素 (O_2) は水 (H_2O) へ還元されるため、過酸化水素の発生が抑制される。また、作用極 10a, 10b の試薬層 15a, 15b に含まれる試薬のなかには、測定時に過酸化水素を発生する反応を伴う試薬がある（例えば酸化酵素、脱水素酵素）。本実施形態によれば、作用極 10a, 10b 上で発生した過酸化水素もまた、対極 60 に含まれる前記触媒により水へと分解されるため、測定中の液体試料中の過酸化水素濃度の上昇が抑制され得る。
- [0316] 第 3 の開示において、前記触媒は、例えば、金属を含む触媒であることができる。金属を含む触媒は、カタラーゼ等の有機触媒と比較して、安定性が高いため好ましい。金属を含む触媒としては、白金、ニッケル、パラジウム、鉄、マンガン及びタングステンから選択される 1 以上を含む触媒が好ましく、特に白金を含む触媒が好ましい。これらの金属を含む触媒は、過酸化水素を分解する活性が高いため好ましく、なかでも白金を含む触媒は、触媒活性及び安定性の観点から特に好ましい。
- [0317] 第 3 の開示において、前記触媒は、対極の、液体試料と接触する部分に含まれていればよく、液体試料と接触する部分のみに含まれていてもよいし、対極の全体に含まれていてもよい。また、前記触媒は、少なくとも液体試料と接触する部分の表面を被覆する膜として対極に含まれていてもよいし、対

極の全体または少なくとも液体試料と接触する部分を構成する導電性材料に分散した状態で含まれていてもよい。

[0318] 第3の開示において、前記触媒が、液体試料と接触する部分の表面を被覆する膜として含まれる対極の例としては、例えば、前記触媒として利用できる金属を、スパッタリング、メッキ等の手段により、液体試料と接触する部分の表面上に成膜して得られた対極や、液体媒体中に前記触媒の粒子を含む分散液を、液体試料と接触する部分の表面上に塗布し乾燥させて得られた対極が挙げられる。このうち、液体媒体中に前記触媒の粒子を含む分散液を用いて得られた対極は、塗布や印刷等の簡便な方法で作成できるため好ましい。前記触媒の粒子としては、前記金属の粒子が挙げられ、特に白金粒子が好ましい。白金粒子としては、平均粒子径が $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満、例えば 800 nm 以下、好ましくは 600 nm 以下の白金ナノ粒子が好ましい。

[0319] 第3の開示において、前記触媒が、対極の全体または少なくとも液体試料と接触する部分を構成する導電性材料に分散した状態で含まれている対極の例としては、前記触媒の粒子及び導電性材料の粒子を含むペースト状又は液状の組成物を用いて、全体または少なくとも液体試料と接触する部分を形成して得られる対極が挙げられる。この態様の対極は、基板上での対極の形成時と同時に前記触媒を含ませることができるため、少ない工程数で作製することができる。前記触媒の粒子としては、前記金属の粒子が挙げられ、特に白金粒子が好ましい。白金粒子の好ましい態様は上記の通りである。

[0320] 第3の開示において、対極は、カーボン、金等を導電性材料として含むことができ、特にカーボンを導電性材料として含むことが好ましい。カーボンとしては、ガラス状カーボン、カーボンブラック、グラファイト、ダイヤモンドライクカーボン、グラフェン、カーボンナノチューブ、フラーレン等の導電性炭素材料が使用できる。

[0321] 第3の開示において、対極における前記触媒の含有量は、前記触媒の種類や活性に応じて適宜設定することができる。例えば、対極の全体または少なくとも液体試料と接触する部分が、導電性材料としてのカーボンと、前記触

媒としての白金粒子を含む場合、前記白金粒子を、前記カーボンに対して例えば0.5重量%以上、好ましくは1重量%以上、より好ましくは3重量%、特に好ましくは5重量%以上、上限は特に限定されないがコスト面から好ましくは50重量%以下（前記白金粒子の前記カーボンに対する割合は例えば0.5重量%以上、50重量%以下）、さらに好ましくは30重量%以下、最も好ましくは10重量%以下の量で含むことができる。カーボンと白金粒子との割合をこの範囲とすることにより、測定期間における液体試料中の過酸化水素濃度の上昇を抑制することができる。

[0322] 図示しないが、第3の開示において、対極の表面は、保護膜により更に被覆されていてもよい。対極を被覆する保護膜は、陽イオン交換性官能基を有する重合体化合物、特に、側鎖に陽イオン交換性官能基を有する重合体化合物を含むことが好ましい。ここで陽イオン交換性官能基を有する重合体化合物としては、スルホン酸基を有する構成単位を含む重合体化合物が挙げられ、好ましくは側鎖にスルホン酸基を有するパーフルオロ化合物を構成単位に含む重合体化合物であり、特に好ましくはテトラフルオロエチレンとパーフルオロ-2-(2-フルオロスルホニルエトキシ)プロピルビニルエーテルとのコポリマーであり、最も好ましくはNafion（登録商標）である。液体試料中に含まれ得る、塩化物イオン、有機酸イオン等の陰イオンは、白金触媒等の、過酸化水素を分解する触媒の活性に悪影響を与える可能性がある。対極を、陽イオン交換性官能基を有する重合体化合物を含む保護膜により被覆することで、陰イオンの対極への接触を阻止することができ、前記触媒の活性低下を抑制することができる。

[0323] 一方、本開示に係るセンサ300において、作用極10a、10bの作用極導電層11a、11bは、少なくとも液体試料と接触する部分11a1、11b1が、好ましくは全体が、過酸化水素を分解する触媒を含まないことが好ましい。センサ300の作用極10a、10bの作用極導電層11a、11bが前記触媒、特に白金を含む触媒、を含む場合、測定時のバックグラウンドノイズの増加、電流応答値の低下の可能性が生じ得る。過酸化水素を

分解する触媒を含まない作用極導電層 11a, 11b 又は前記部分 11a1, 11b1 としては、過酸化水素を分解する触媒を含まないカーボン、金等の導電性材料の層又はその部分が挙げられる。

[0324] 作用極 10a, 10b の作用極導電層 11a, 11b は、より好ましくは、作用極導電層 11a, 11b を作用極、銀塩化銀（飽和 KCl）電極を参照極、白金電極を対極として備える三極式電解セルを用い、リン酸緩衝生理食塩水中で前記作用極導電層に $-0.2\text{ V} \sim 0.3\text{ V}$ （対前記銀塩化銀（飽和 KCl）電極）の範囲の電位を印加したときに測定される電流値が $\pm 5.5\text{ nA/mm}^2$ 以下である、という条件を満たす。この条件を満たす作用極導電層 11a, 11b を備えるセンサ 300 は、被検物質を測定する際のバックグラウンド電流が十分に小さく、センサの応答性が高いため好ましい。このような作用極導電層 11a, 11b としては、カーボンを含むカーボン導電層が挙げられ、より好ましくは、白金を含む触媒等の、過酸化水素を分解する触媒を含まないカーボン導電層が挙げられる。ここでカーボンとは、対極 60 の導電性材料に関して例示したものが使用できる。なお電流値が $\pm 5.5\text{ nA/mm}^2$ 以下であるとは、作用極として用いた作用極導電層 11a, 11b の、リン酸緩衝生理食塩水と接触する部分の、垂直方向の投影面積 1 mm^2 あたりの電流値の絶対値が 5.5 nA 以下であることを意味する。上記の三極式電解セルを用いた電流値の測定は、具体的には、上述する＜第 3 の開示／実験 5＞に記載の手順で行うことができる。

[0325] 本発明者らは更に、本開示に係るセンサ 300 において、対極 60 の、液体試料と接触する部分 60a が、白金を含む触媒を含む態様では、低電位で、大きな絶対値の負電流を流すことができるという予想外の効果を見出した。したがって、液体試料と接触する部分 60a に白金を含む触媒を含む対極 60 は、白金を含む触媒を含まない対極と比較して、より少ない面積で効率的に対極として機能できるため、センササイズの縮小化に寄与できる。このため、本開示に係るセンサ 300 では、対極 60 の投影面積を、作用極導電層 11a, 11b の投影面積に対して、好ましくは 250% 以下、より好ま

しくは100%以下、好ましくは3%以上（前記対極の投影面積が、前記作用極導電層の投影面積に対して、例えば3%以上、250%以下）、より好ましくは10%以上とすることが可能である。また液体試料と接触する部分60aに白金を含む触媒を含む対極60を備えるセンサ300は、図示するように、作用極10a、10bを複数設ける場合にも適している。なお対極60の投影面積とは、対極60の液体試料と接触する部分60a（対極第1開口部302が形成する凹部の底面に相当）の、垂直方向の投影面積を指す。作用極導電層11a、11bの投影面積とは、作用極導電層11a、11bの液体試料と接触する部分11a1、11b1（作用極第1開口部303a、303bが形成する凹部の底面に相当）の、垂直方向の投影面積を指し、作用極10a、10bが複数存在する場合にはその合計面積を指す。

[0326] <第3の開示の実施例>

第3の開示に係るセンサの実験1～7では、第3の開示のセンサの実施例及び比較例として、図54に示す構成のセンサ300を使用した。

[0327] 各実験で用いたセンサの特徴は実験1～7において個別に説明する。各実験で用いたセンサに共通する材料および製造方法の概略を先に説明する。

[0328] （基板）

第1の開示の実施例と同様に、絶縁性の基板2として、図54で図示する形状のポリエチレンテレフタレートからなる厚さ188 μ mの基板を用いた。

[0329] （導電層）

絶縁性の基板2の第1面2a上に、実験1～7で記載の所定のカーボンペーストを適用し140℃で1時間加熱することにより、第1の開示に関する図1と同様の形状の作用極導電層11a、11b、参照極導電層21及び対極（対極導電層）60、並びに、それらの各々に電氣的に接続された配線50を、厚さ5 μ mのカーボン導電層により形成した。

[0330] （第1絶縁層）

続いて、カーボン導電層が配置された基板2の第1面2a上に、フッ化ビ

ニリデンとヘキサフルオロプロピレンとを含むコポリマーを含むフッ素樹脂からなる、基板2の第1面2a及びカーボン導電層を覆う、カーボン導電層上の部分の厚さが5 μm の第1絶縁層3を積層した。第1絶縁層3の製造方法は第1の開示の実施例に記載した通りである。

[0331] 第1絶縁層3の、第1作用極導電層11a上の作用極第1開口部303aは、直径1.2 mmの円形とし、第2作用極導電層11b上の作用極第1開口部303bは、直径1.4 mmの円形とした。参照極第1開口部301は直径1.1 mmの円形とし、対極第1開口部302は1.8 mm $\times$ 2.1 mmの長方形とした。

[0332] (第2絶縁層)

続いて第1絶縁層3上に、溶媒中にポリエステル系樹脂と、パーフルオロアルキル基を含むフッ素系表面改質添加剤とを含む組成物を塗布し、140 $^{\circ}\text{C}$ で1時間加熱することにより、厚さ40 μm の第2絶縁層4を積層した。

[0333] 作用極導電層11a、11b上の第2絶縁層4の作用極第2開口部403a、403bは、それぞれ直径2 mmの円形とした。参照極第2開口部401は直径2 mmの円形とし、対極第2開口部402は1.8 mm $\times$ 2.1 mmの長方形とした。

[0334] (第1作用極(グルコース測定用)試薬層)

第1作用極導電層11a上の第1絶縁層3の作用極第1開口部303a内に、水中にリン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.4)、カーボンプラック分散液、ポリマー結合型メディエータ、グルコースオキシダーゼ及び架橋剤を含む第1液体組成物Aの0.4 μL の液滴を形成し、乾燥して、グルコースオキシダーゼ及びメディエータを含む第1試薬層15aを形成した。

[0335] (第2作用極(乳酸測定用)試薬層)

第2作用極導電層11bの第1絶縁層3の作用極第1開口部303b内に、水中にカーボンプラック分散液、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリマー結合型メディエータ、乳酸オキシダーゼ、ポリイミダゾール、ポリレージン及び架橋剤を含む第2液体組成物Aの0.6 μL の液滴を形成し、乾

燥して、乳酸オキシダーゼ及びメディエータを含む第2試薬層15bを形成した。

[0336] (第1作用極(グルコース測定用)保護膜)

以下の各試薬を下記終濃度となるようにエタノールに混合し約1時間反応させて、第1液体組成物B(P4VP-tBuMAポリマー分散液)を調製した。

・P4VP-tBuMA(ポリ-4-ビニルピリジンのMn:74,000、ポリ-tert-ブチルメタクリレート(Mn:87,000、Mw/Mn:1.16、NARD社製)、終濃度5.72wt%

・PEGDGE(ポリ(エチレングリコール)ジグリシジルエーテル、Mn:~1,000、シグマアルドリッチ社製)、終濃度0.9wt%

[0337] 第1作用極10a上の第2絶縁層4の作用極第2開口部403a内に、前記第1液体組成物Bの0.65 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、続いて更に前記第1液体組成物Bの0.65 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、第1保護膜16aを形成した。

[0338] (第2作用極(乳酸測定用)保護膜)

21.5wt%濃度のNafion(登録商標)分散液(シグマアルドリッチ社製)23093.67mgに、エタノール(富士フイルム和光純薬社製)6472.79mg及び5mol/L水酸化ナトリウム水溶液(富士フイルム和光純薬社製)1226.46mgを添加して分散液のpHを調整し(陽イオン交換基の中和処理)、ボルテックスミキサーで析出物を溶解して、16.12wt%濃度のNafion(登録商標)分散液30792.92mgを調製した。得られた16.12wt%濃度のNafion(登録商標)分散液を第2液体組成物Bとした。この第2液体組成物Bは、低級アルコールを含む溶媒中にNafion(登録商標)を含む。

[0339] 第2作用極10b上の第2絶縁層4の作用極第2開口部403b内に、前記第2液体組成物Bの0.60 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、第2保護膜16baを形成した。

[0340] 続いて、上記の第1液体組成物B（P4VP-tBuMAポリマー分散液）と同一の組成物を第3液体組成物Bとして以下の処理に用いた。すなわち、第2保護膜16baが形成された第2絶縁層4の作用極第2開口部403b内に、前記第3液体組成物Bの0.65 μ Lの液滴を形成し、乾燥して、第3保護膜16bbを形成した。こうして、第2保護膜16ba上に第3保護膜16bbが積層された、保護膜16bを第2作用極10b上に形成した。

[0341] （参照極）

参照極20の断面構造は、第1の開示のセンサに関する図22と同一であるため、図22を参照して参照極20の製法の概略を以下に示す。第1絶縁層3の参照極第1開口部301内の参照極導電層21上に、銀塩化銀ペーストを適用し、140℃で1時間加熱して、銀塩化銀層22形成した。続いて、第2絶縁層4の参照極第2開口部401内の銀塩化銀層22上に参照極保護膜23を配置して、参照極20を形成した。

[0342] <第3の開示／実験1>

実験1-1：上記の方法において、白金等の触媒を含まない通常のカーボンペーストを用いてカーボン導電層を形成し、実験1-1のセンサ300を作製した。実験1-1のセンサでは、作用極導電層11a、11b、参照極導電層21及び対極（対極導電層）60がいずれも、過酸化水素を分解する触媒を含まないカーボン導電層からなる。

[0343] 実験1-2：白金等の触媒を含まない通常のカーボンペーストを用いてカーボン導電層を形成したのち、第1絶縁層3を形成する前に、対極60上のみに白金を蒸着させた以外は、上記の手順で実験1-2のセンサ300を作製した。実験1-2のセンサにおいて、対極60は、第1絶縁層3の対極第1開口部302及び第2絶縁層4の対極第2開口部402を通じて露出した、液体試料と接する部分60aが、カーボン導電層と、その上に積層された白金蒸着膜とを含み、作用極導電層11a、11b及び参照極導電層21は、白金等の触媒を含まないカーボン導電層からなる。

[0344] 被検物質としてグルコース及び乳酸を含む液体試料として、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）（タカラバイオ PBS Tablets T9181）、グルコース（富士フイルム和光純薬株式会社製）、及び、乳酸ナトリウム（シグマアルドリッチ社製）を用いて、グルコース30 mM、乳酸15.6 mMを含む、pHを7.0に調整したPBSを調製した。

[0345] 前記液体試料に、実験1-1又は実験1-2のセンサを浸漬し、第1作用極10a及び第2作用極10bに、参照極20（Ag/AgCl）に対して100 mVの電圧を印加し、第1作用極10aと対極60との間の電流値及び第2作用極10bと対極60との間の電流値を7日間連続で測定した。測定はN=4で行った。

[0346] 7日間測定後の前記液体試料を用いて、下記表に示す配合に従い過酸化水素濃度測定試料を調製した。前記過酸化水素濃度測定試料の666 nmの吸光度を、プレートリーダー（37℃下）で5分間測定した。

[0347] [表2]

	ストック濃度	添加体積 (μ L)	終濃度
リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0)	200 mM	40	40 mM
DA-67 (発色試薬、富士フイルム和光純薬)	0.5 mM	50	0.125 mM
セイヨウワサビ由来ペルオキシダーゼ (シグマアルドリッチ)	235 U/mL (ABTS換算)	10	11.75 U/mL
液体試料		100	
計		200	

[0348] また、上記表における前記液体試料の代わりに既知濃度の過酸化水素（富士フイルム和光純薬株式会社製）を含む溶液を配合した過酸化水素濃度測定試料を調製し、同様に666 nmの吸光度を測定することにより、過酸化水素濃度と吸光度との関係を示す検量線を作製した。

[0349] 前記検量線から前記液体試料中の過酸化水素濃度を求めた。求めた過酸化水素濃度は7日間の連続測定中の液体試料からの水の蒸発量を補正した値である。結果を下記表に示す。

[0350]

[表3]

	実験1-1	実験1-2
対極	カーボン導電層	白金蒸着膜を有する カーボン導電層
過酸化水素濃度 (N=4の平均)	49.94 μ M	検出感度外

[0351] 上記の結果から、液体試料と接触する部分に白金蒸着膜が積層されたカーボン導電層からなる対極を備える実験1-2のセンサは、カーボン導電層のみからなる対極を備える実験1-1のセンサと比較して、液体試料中の被検物質を測定する間の、液体試料中での過酸化水素の発生を抑制または低減できたことが確認された。

[0352] <第3の開示／実験2>

実験2-1：実験1-1のセンサと同じ、対極60を含む全ての導電層がカーボン導電層からなるセンサ300を、実験2-1のセンサとした。

[0353] 実験2-2：実験2-1のセンサにおいて、対極第1開口部302及び対極第2開口部402を通じて露出した対極60の表面に、白金ナノ粒子分散液（シグマアルドリッチ社製、白金粒子直径： 70 ± 6 nm）を滴下し乾燥させ、続いて、21.5 wt %濃度のNafion（登録商標）分散液（シグマアルドリッチ社製）を滴下し乾燥させて保護膜（図示せず）を形成して、実験2-2のセンサ300を作製した。こうして作製された実験2-2のセンサ300では、対極60の、液体試料と接触する部分60aが、表面に白金ナノ粒子が修飾されたカーボン導電層であり、当該部分60aの表面が、陽イオン交換性官能基を有する重合体化合物である、Nafion（登録商標）を含む保護膜（図示せず）により被覆されている。

[0354] 実験1に記載の組成の液体試料に、実験2-1又は実験2-2のセンサ300を浸漬し、第1作用極10a及び第2作用極10bに、参照極20（Ag/AgCl）に対して100 mVの電圧を印加し、第1作用極10aと対極60との間の電流値及び第2作用極10bと対極60との間の電流値を7日間連続で測定した。測定はN=2で行った。

[0355] 7日間測定後の前記液体試料を用いて、下記表に示す配合に従い過酸化水

素濃度測定試料を調製した。前記過酸化水素濃度測定試料の666nmの吸光度を、プレートリーダー（37℃下）で5分間測定した。

[0356] [表4]

	ストック濃度	添加体積 (μ L)	終濃度
リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0)	200 mM	24.5	24.5 mM
DA-67 (発色試薬、富士フイルム和光純薬)	0.5 mM	50	0.125 mM
セイヨウワサビ由来ペルオキシダーゼ (シグマアルドリッチ)	23.5 U/mL (ABTS換算)	25.5	3 U/mL
液体試料		100	
計		200	

[0357] また、上記表における液体試料の代わりに既知濃度の過酸化水素（富士フイルム和光純薬株式会社製）を含む溶液を配合した過酸化水素濃度測定試料を調製し、同様に666nmの吸光度を測定することにより、過酸化水素濃度と吸光度との検量線を作製した。

[0358] 前記検量線から液体試料中の過酸化水素濃度を求めた。求めた過酸化水素濃度は7日間の連続測定中の液体試料からの水の蒸発量を補正した値である。結果を下記表に示す。

[0359] [表5]

	実験2-1	実験2-2	
対極	カーボン導電層	白金ナノ粒子修飾 カーボン導電層	
過酸化水素濃度	47.59 μ M (N=2の平均)	検出感度外 (第1サンプル)	0.99 μ M (第2サンプル)

[0360] 上記の結果から、液体試料と接触する部分60aに白金ナノ粒子が修飾されたカーボン導電層からなる対極60を備える実験2-2のセンサ300は、カーボン導電層のみからなる対極60を備える実験2-1のセンサ300と比較して、液体試料中の被検物質を測定する間の、液体試料中での過酸化水素の発生を抑制または低減できたことが確認された。

[0361] <第3の開示／実験3>

実験2-1：実験1-1及び実験2-1のセンサと同じ、対極60を含む

全ての導電層がカーボン導電層からなるセンサ300を、実験3-1のセンサとした。

[0362] 実験3-2：カーボンペーストとして、カーボン（グラファイト、カーボンブラック含有）と、前記カーボンに対して1重量%の白金粒子（平均粒子径390 nm）とを含むカーボンペーストを用いて、作用極導電層11a、11b、参照極導電層21及び対極（対極導電層）30、並びに、配線50を形成した以外は、上記の手順により実験3-2のセンサ300を作製した。

[0363] 実験3-3：カーボンペーストとして、前記カーボンと、前記カーボンに対して5重量%の白金粒子とを含むカーボンペーストを用いたことを除いて、実験3-2のセンサと手順により実験3-3のセンサ300を作製した。

[0364] 実験1に記載した組成の液体試料に、実験3-1、実験3-2又は実験3-3のセンサを浸漬し、第1作用極10a及び第2作用極10bに、参照極20（Ag/AgCl）に対して100mVの電圧を印加し、第1作用極10aと対極60との間の電流値及び第2作用極10bと対極60との間の電流値を7日間連続で測定した。測定はN=4で行った。

[0365] 7日間測定後の前記液体試料を用いて、下記表に示す配合に従い過酸化水素濃度測定試料を調製した。前記過酸化水素濃度測定試料の666 nmの吸光度を、プレートリーダー（37℃下）で5分間測定した。

[0366] [表6]

	ストック濃度	添加体積 (μ L)	終濃度
リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0)	200 mM	85	106.25 mM
DA-67 (発色試薬、富士フイルム和光純薬)	2 mM	10	0.1 mM
セイヨウワサビ由来ペルオキシダーゼ (シグマアルドリッチ)	120 U/mL (ABTS換算)	5	3 U/mL
液体試料		100	
計		200	

[0367] また、上記表における液体試料の代わりに既知濃度の過酸化水素（富士フイルム和光純薬株式会社製）を含む溶液を配合した過酸化水素濃度測定試料

を調製し、同様に666nmの吸光度を測定することにより、過酸化水素濃度と吸光度との検量線を作製した。

[0368] 前記検量線から液体試料中の過酸化水素濃度を求めた。求めた過酸化水素濃度は7日間の連続測定中の液体試料からの水の蒸発量を補正した値である。結果を下記表に示す。

[0369] [表7]

	実験3-1	実験3-2	実験3-3
対極	カーボン導電層	白金粒子1重量%含有 カーボン導電層	白金粒子5重量%含有 カーボン導電層
過酸化水素濃度 (N=4の平均)	81.0 μM	6.21 μM	1.99 μM

[0370] 上記の結果から、白金粒子を含むカーボン導電層からなる対極60を備える実験3-2及び実験3-3のセンサ300は、カーボン導電層のみからなる対極60を備える実験3-1のセンサ300と比較して、液体試料中の被検物質を測定する間の、液体試料中での過酸化水素の発生を抑制または低減できたことが確認された。

[0371] <第3の開示／実験4>

実験3-1、3-2及び3-3で対極60として用いた、白金を含まないカーボン導電層（以下「白金粒子なしカーボン電極」）、カーボンに対し1重量%の白金粒子を含むカーボン導電層（以下「白金粒子1%含有カーボン電極」）、及び、カーボンに対し5重量%の白金粒子を含むカーボン導電層（以下「白金粒子5%含有カーボン電極」）の電気化学的特性を調べるために、以下の実験を行った。

[0372] 白金粒子なしカーボン電極、白金粒子1%含有カーボン電極及び白金粒子5%含有カーボン電極のいずれかを作用極、銀塩化銀（飽和KCl）電極（BAS社製）を参照極、白金電極を対極とした三極式電解セルを構築し、各電極をポテンシostatに接続した。前記作用極、対極及び参照極を、pH7.4±0.05（25℃）に調整したリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（タカラバイオ PBS Tablets T9181；0.14M N

aCl、0.0027M KCl、0.010M PO_4^{3+}) 中に浸し、前記作用極に、前記参照極に対し ± 0.5 Vの範囲の電位を掃引速度10 mV/sで印加してサイクリックボルタノメトリーを行った。得られたサイクリックボルタモグラムを図58に示す。

[0373] 白金粒子の含有割合が高い電極ほど、高電位側において正の電流値の絶対値が大きく、低電位側において負の電流値の絶対値が大きい。低電位側での負の電流値は、PBS中の酸素等の還元起因するものと考えられる。このことは、白金粒子を含有した電極を作用極として用いる場合には、バックグラウンドノイズの増加や電流応答値の低下、酸素濃度等の環境依存の外乱の影響が大きくなり、感度が低下する可能性があることを示唆した。

[0374] 一方、白金粒子を含有した電極を対極として用いる場合、酸素等の還元による電流の増加によって、マイナス（負）の電位領域では、低電位（絶対値の小さな電位）で、大きな絶対値の負電流を流すことができる。このため白金粒子を含有した電極は、白金を含まないカーボン電極よりも、より少ない面積で効率的に対極として機能できるため、センササイズの縮小化に寄与できる。また、白金粒子を含有した電極を対極として用いた本開示のセンサを、マイナスの電位領域における低電位で駆動することにより、測定装置であるポテンショスタットへの負担を軽減させることも可能である。

[0375] <第3の開示／実験5>

実験4で用いた、白金粒子なしカーボン電極及び白金粒子1%含有カーボン電極の電気化学的特性を更に調べるために、以下の実験を行った。

[0376] 白金粒子なしカーボン電極及び白金粒子1%含有カーボン電極のいずれかを作用極、銀塩化銀（飽和KCl）電極（BAS社製）を参照極、白金電極を対極とした三極式電解セルを構築し、各電極をポテンショスタットに接続した。前記作用極、対極及び参照極を、 $\text{pH } 7.4 \pm 0.05$ (25℃)に調整したリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（タカラバイオ PBS Tablets T9181；0.14M NaCl、0.0027M KCl、0.010M PO_4^{3+}) 中に浸し、前記作用極に、前記参照極に対し0.

3 V又は-0.2 Vの電位を印加して電流値を経時的に測定するアンペロメトリー測定を行った。作用極の面積あたりの電流値の測定結果を図59に示す。

[0377] 図59Aは、白金粒子なしカーボン電極を作用極として用いた場合の測定結果を示す。図59Bは、白金粒子1%含有カーボン電極を作用極として用いた場合の測定結果を示す。白金粒子なしカーボン電極を作用極として用いた場合の電流値（絶対値）は、白金粒子1%含有カーボン電極を作用極として用いた場合の電流値（絶対値）と比較して顕著に小さいことが確認された（AとBとは縦軸のスケールが異なる）。この結果は、作用極導電層11a, 11bとしては、白金粒子を含まない導電層が、バックグラウンド電流が少ないため適していることを示す。

[0378] <第3の開示／実験6>

上記実験2に記載の、実験2-1のセンサは、作用極導電層11a, 11b及び対極60を含むすべての導電層が、白金粒子を含まないカーボン導電層である。

[0379] 一方、実験2-2のセンサは、実験2-1のセンサにおける対極60のうち、測定しようとする液体試料と接触する部分60aが、表面に白金ナノ粒子が修飾されたカーボン導電層であり、作用極導電層11a, 11bが、白金粒子を含まないカーボン導電層である。

[0380] 本実験6では、実験1に記載した組成の液体試料に、実験2-1又は実験2-2のセンサを浸漬し、第1作用極10a及び第2作用極10bに、参照極20（Ag/AgCl）に対して100mVの電圧を印加し、第1作用極10aと対極60との間の電流値及び第2作用極10bと対極60との間の電流値を所定の時間、連続で測定した。測定はN=2で行った。

[0381] 第1作用極10a、第2作用極10bの電流値の測定結果をそれぞれ図60のA、Bに示す。図60Aに示す第1作用極10aの電流値は、グルコース濃度に対応する。図60Bに示す第2作用極10bの電流値は、乳酸濃度に対応する。作用極導電層11a, 11bが白金粒子を含まず、対極60の

みが白金粒子を含む実験 2-2 のセンサと、作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 がともに白金粒子を含まない実験 2-1 のセンサとで、応答性に顕著な違いは認められなかった。

[0382] <第 3 の開示／実験 7>

上記実験 3 に記載の、実験 3-1 のセンサは、作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 を含むすべての導電層が、白金粒子を含まないカーボン導電層である。

[0383] 実験 3-2 のセンサは、作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 を含むすべての導電層が、白金粒子をカーボンに対し 1 重量%含有するカーボン導電層である。

[0384] 実験 3-3 のセンサは、作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 を含むすべての導電層が、白金粒子をカーボンに対し 5 重量%含有するカーボン導電層である。

[0385] 本実験 7 では、実験 1 に記載した組成の液体試料に、実験 3-1、実験 3-2 又は実験 3-3 のセンサを浸漬し、第 1 作用極 10a 及び第 2 作用極 10b に、参照極 20 (Ag/AgCl) に対して 100mV の電圧を印加し、第 1 作用極 10a と対極 60 との間の電流値及び第 2 作用極 10b の電流値を所定の時間、連続で測定した。測定は N=2 で行った。

[0386] 第 1 作用極 10a 及び第 2 作用極 10b の電流値の測定結果をそれぞれ図 61 の A、B に示す。図 61 A に示す第 1 作用極 10a の電流値は、グルコース濃度に対応する。図 61 B に示す第 2 作用極 10b の電流値は、乳酸濃度に対応する。作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 が、白金粒子をカーボンに対し 1 重量%含有する実験 3-2 のセンサは、作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 が白金粒子を含まない実験 3-1 のセンサと比較して電流応答値の顕著な低下は見られなかった。一方、作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 が、白金粒子をカーボンに対し 5 重量%含有する実験 3-3 のセンサは、作用極導電層 11a, 11b 及び対極 60 が白金粒子を含まない実験 3-1 のセンサと比較して、電流応答値が明らかに低下した。この

ことは、作用極導電層 11a, 11b における白金の存在は、センサの応答性を低下させることを示唆する。

[0387] <第3の開示に関する付記>

細胞培養液等の液体試料中の被検物質（アラナイト）を電気化学的に測定するための、作用極と対極とを備えるセンサが従来から知られている。

[0388] このようなセンサは、液体試料に浸漬した状態で、数日間以上の長期間にわたり、連続的に被検物質を測定する連続モニタリングの用途に用いられることがある。この場合、センサには、被検物質の検出感度が高いことに加えて、液体試料中に含まれる培養細胞への負の影響（例えば細胞毒性）がより小さいことが望まれる。

[0389] 酸化還元酵素、メディエータ等の、被検物質の酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層を含む作用極と、対極とを備えるセンサを用いて、液体試料中の被検物質を電気化学的に測定する場合に、長時間の測定中に過酸化水素が発生し得ることが見いだされた。液体試料中の過酸化水素濃度が一定以上となると細胞に対し毒性を示す可能性がある。

[0390] そこで第3の開示は、感度の顕著な低下を生じることなく、測定中の過酸化水素の発生を抑制する又は発生した過酸化水素を減少させることができる、作用極と対極とを備えるセンサを提供することを課題とする。

[0391] 第3の開示に係るセンサは、細胞培養液等の液体試料中の被検物質の測定に用いる場合に、感度の顕著な低下を生じることなく、測定中の過酸化水素の発生を抑制する又は発生した過酸化水素を減少させることができるため、液体試料中の過酸化水素濃度の上昇を抑制することができる。このため第3の開示に係るセンサは、液体試料中の細胞に対する負の影響が小さく、長期間にわたる連続モニタリングに好適に利用することができる。

[0392] そこで本明細書では、第3の開示として、以下の付記3-1～3-16のいずれか1以上に記載のセンサを開示する。

[0393] （付記3-1）

液体試料中の被検物質を測定するためのセンサであって、

作用極導電層と、前記作用極導電層上に配置された、前記被検物質の酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層とを含む作用極と、

対極と、
を備え、

前記センサを前記液体試料中に浸漬し、前記液体試料中の前記被検物質を電気化学的に測定するとき、測定の間、前記液体試料中の過酸化水素濃度が $15\text{ }\mu\text{M}$ 未満に維持される、センサ。

(付記 3-2)

前記対極が、前記液体試料と接触する部分に、過酸化水素を分解する触媒を含む、付記 3-1 に記載のセンサ。

(付記 3-3)

前記作用極導電層が、前記液体試料と接触する部分に、過酸化水素を分解する触媒を含まない、付記 3-2 に記載のセンサ。

(付記 3-4)

前記触媒が、金属を含む、付記 3-2 又は 3-3 に記載のセンサ。

(付記 3-5)

前記金属が、白金、ニッケル、パラジウム、鉄、マンガン及びタングステンから選択される 1 以上を含む、付記 3-4 に記載のセンサ。

(付記 3-6)

前記金属が白金を含む、付記 3-4 に記載のセンサ。

(付記 3-7)

前記白金が、白金粒子である、付記 3-6 に記載のセンサ。

(付記 3-8)

前記対極の、前記液体試料と接触する前記部分が、カーボンと、前記カーボンに対して 1 重量%以上の前記白金粒子とを含む、付記 3-7 に記載のセンサ。

(付記 3-9)

前記対極の、前記液体試料と接触する前記部分が、前記カーボンと、前記

カーボンに対して50重量%以下の前記白金粒子とを含む、付記3-8に記載のセンサ。

(付記3-10)

前記作用極導電層が、前記作用極導電層を作用極、銀塩化銀（飽和KCl）電極を参照極、白金電極を対極として備える三極式電解セルを用い、リン酸緩衝生理食塩水中で前記作用極導電層に $-0.2\text{ V} \sim 0.3\text{ V}$ （対前記銀塩化銀（飽和KCl）電極）の範囲の電位を印加したときに測定される電流値が $\pm 5.5\text{ nA/mm}^2$ 以下である、という条件を満たす、付記3-1～3-9のいずれか1項に記載のセンサ。

(付記3-11)

前記作用極導電層がカーボン導電層である、付記3-10に記載のセンサ。

(付記3-12)

前記対極の投影面積が、前記作用極導電層の投影面積に対して、250%以下である、付記3-1～3-11のいずれか1項に記載のセンサ。

(付記3-13)

前記対極の投影面積が、前記作用極導電層の投影面積に対して、100%以下である、3-12に記載のセンサ。

(付記3-14)

複数の前記作用極を備える、付記3-12又は3-13に記載のセンサ。

(付記3-15)

前記対極を被覆する保護膜を更に備える、付記3-1～3-14のいずれか1項に記載のセンサ。

(付記3-16)

前記保護膜が、陽イオン交換性官能基を有する重合体化合物を含む、付記3-15に記載のセンサ。

[0394] <第4の開示の実施形態>

以下、第4の開示に係るセンサの実施形態について説明する。本実施形態

では、必要以上に詳細な説明は省略する場合がある。例えば、既によく知られた事項の詳細説明や実質的に同一の構成に対する重複説明を省略する場合がある。これは、以下の説明が不必要に冗長になるのを避け、当業者の理解を容易にするためである。なお、第4の開示に係るセンサにおける構成のうち、第1の開示に係るセンサにおける構成と同じ符号を付したものについては、第1の開示に係るセンサにおける対応する構成の説明を参照することができる。

[0395] また、出願人は、当業者が第4の開示を十分に理解するために添付図面及び以下の説明を提供するのであって、これらによって下記の「第4の開示に関する付記」に記載の事項を限定することを意図するものではない。

[0396] <材料>

本明細書の第4の開示のセンサに用いることができる材料の例について説明する。

[0397] 本明細書の第4の開示のセンサに用いる絶縁性の基板の材料は特に限定されないが、例えば、本明細書の第1の開示のセンサの絶縁性の基板の材料と同じものが利用できる。

[0398] 本明細書の第4の開示のセンサの作用極、参照極及び対極が備える導電層は、カーボン、金、白金、パラジウム等の導電性材料を含む層である。導電層は、前記のような導電性材料の層を、スパッタリング法、蒸着法、スクリーン印刷法等を用いて基板の表面上に形成することにより製造することができる。導電層は、必要に応じて、レーザートリミング法を用いて所定のパターンに加工することができる。第4の開示において、作用極の導電層を作用極導電層、参照極の導電層を参照極導電層と称する場合がある。第4の開示において、対極の導電層に関しては、導電層自体が対極を構成するため、単に対極と称する。

[0399] 本明細書の第4の開示のセンサの配線もまた、導電層と同様の導電性材料により構成することができる。

[0400] 本明細書の第4の開示のセンサは、液体試料に浸漬して液体試料中の所定

の被検物質（アナライト）を検出するために用いられる。液体試料は水を溶媒として含む液体試料であることが好ましい。液体試料としては、細胞培養液や、生体から取得された血液を用いて調製された液体試料が挙げられる。被検物質の例は、本明細書の第1の開示のセンサによる被検物質に関して記載の通りであり、特に好ましくはグルコース及び乳酸から選択される1以上である。

- [0401] 本明細書の第4の開示のセンサの作用極は、作用極導電層上に配置された、被検物質の酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層を備える。当該試薬は被検物質に応じて適宜選択することができる。当該試薬としては、酸化還元酵素とメディエータ（電子伝達物質）との組み合わせ、又は、酸化還元酵素を含むことができる。酸化還元酵素は補酵素を含むことができる。
- [0402] 酸化還元酵素としては、酸化酵素又は脱水素酵素が挙げられる。酸化還元酵素の具体例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りであり、特に好ましくは、グルコースオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ又は乳酸デヒドロゲナーゼであることができる。
- [0403] また、メディエータは特に限定されず、その例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。
- [0404] 本明細書の第4の開示のセンサの作用極が備える試薬層は、前記試薬に加えて、更に緩衝剤、親水性高分子化合物、導電性炭素フィラー、架橋剤等の成分を含むことができる。親水性高分子化合物及び導電性炭素フィラーの例は、本明細書の第1の開示のセンサに関して記載の通りである。
- [0405] 本明細書の第4の開示のセンサの作用極は、試薬層上に配置された第1保護膜と、第1保護膜上に配置された第2保護膜とを更に備える。第1保護膜と第2保護膜とを総称して保護膜と称する場合がある。試薬層上の保護膜は、試薬層に含まれる試薬の保護膜外への漏出を防止又は抑制し、且つ、保護膜外に存在する被検物質が透過可能な膜であることができる。このような性質を有する試薬層上の第1保護膜及び第2保護膜を構成する材料の好ましい態様については後述する。

- [0406] 本明細書の第4の開示のセンサの参照極は保護膜を備えることができる。参照極の保護膜は、高分子化合物を含むことができる。このような高分子化合物としては、作用極の試薬層上に配置される第1保護膜又は第2保護膜が含む後述する高分子化合物が例示でき、第2保護膜が含む高分子化合物が特に好ましい。
- [0407] 本明細書の第4の開示のセンサにおいて、絶縁性の基板上に配置された作用極及び対極を含む電極の、液体試料と接触する部分以外の部分は、絶縁層により被覆されていることが好ましい。絶縁層は絶縁性樹脂を含むことができる。絶縁層は2層以上の多層構造であることができる。多層構造の絶縁層は、例えば、絶縁性の基板及び導電層上に配置された第1絶縁層と、第1絶縁層上に配置された第2絶縁層とを含むことができる。第1絶縁層と第2絶縁層を構成する材料の好ましい態様は、第1の開示に係るセンサに関して説明した通りである。
- [0408] <センサ400の概要>
- 第4の開示の一実施形態に係るセンサ400について図面を参照して説明する。
- [0409] 本実施形態のセンサ400は、図62～64に示すように、絶縁性の基板2と、基板2の第1面2a上に配置された第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極30と、第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極30のそれぞれと電氣的に接続された配線50を備える。本実施形態のセンサ400は作用極を2つ含むが、図示しない別の実施形態では、作用極は1つのみであってもよく、3つ以上であってもよい。以下の説明では、第1作用極10a及び第2作用極10bを区別しない場合は、作用極10a、10bと表現する場合がある。また、第1作用極10a、第2作用極10b、参照極20及び対極30を総称して、電極と表現する場合がある。また、本実施形態のセンサ400は電極として作用極、参照極及び対極を含む三極式センサであるが、参照極を含まず作用極及び対極のみを含む二極式センサであってもよい。図示しないが、参照極及び／又は対極は、

作用極が配置された基板とは別の基板上に設けられていてもよい。

[0410] センサ４００は、第１の開示のセンサ１に関して図２１に示すのと同様に、液体試料Ｘに浸漬して液体試料Ｘ中の所定の被検物質を検出するために用いられる。液体試料及び被検物質の具体例は、＜材料＞の欄に記載の通りである。

[0411] センサ４００の第１作用極１０ａは、図６４に示すように、作用極導電層１１ａと、液体試料中の被検物質の酸化還元反応に關与する試薬を含む試薬層１５ａと、試薬層１５ａ上に配置された第１保護膜１８ａと、第１保護膜１８ａ上に配置された第２保護膜１８ｂとを備える。試薬の好ましい態様は、＜材料＞の欄に記載の通りである。なお、図示しないがセンサ４００の第２作用極１０ｂの断面構造は、図６４に示す第１作用極１０ａの断面構造と実質的に同一であり、図６４において、第１作用極１０ａが第２作用極１０ｂに、作用極導電層１１ａが作用極導電層１１に、試薬層１５ａが試薬層１５ｂに、第１保護膜１８ａが第１保護膜１８ｂに、第２保護膜１８ｂが第２保護膜１８ｂに、保護膜１８ａが保護膜１８ｂに置き換えられた構造である。

[0412] センサ４００の作用極１０ａ，１０ｂの試薬層１５ａ，１５ｂが、液体試料中の被検物質を酸化する試薬を含む場合、センサ４００の電極に所定の電圧を印加した条件下で、被検物質から作用極導電層１１ａ，１１ｂに電子が移動する。同様に、試薬層１５ａ，１５ｂが、液体試料中の被検物質を還元する試薬を含む場合、作用極導電層１１ａ，１１ｂから被検物質に電子が移動する。移動する電子の量は被検物質の濃度に依存するため、センサ４００の作用極１０ａ，１０ｂを流れる電流値又は電流値の変化に基づき、液体試料中の被検物質の濃度又は濃度変化を測定することができる。

[0413] センサ４００は、液体試料中の被検物質を分析するための分析装置を構成することができる。分析装置としては、図２４に示す分析装置１００において、第１の開示に係るセンサ１が、第４の開示に係るセンサ４００に置換された、センサ４００と、分析ユニット１０２と、制御ユニット１０４とを備

える分析装置が挙げられる。この分析装置の機能は、図24に示す分析装置100に関して説明した通りである。

[0414] <センサ400の構造>

第4の開示に係るセンサ400の構造について、図62並びにその断面図である図63及び64を参照して説明する。なお第4の開示に係るセンサ400の参照極20の構造は、第1の開示に係るセンサ1の参照極20の構造と同じである。このため図22を参照した、第1の開示に係るセンサ1の参照極20の説明を、第4の開示に係るセンサ400の参照極20の説明として引用する。

[0415] センサ400は、絶縁性の基板2と、基板2の第1面2a上に配置された、作用極導電層11a、11b、対極30、参照極導電層21、配線50を備える。なお、第4の開示に係るセンサ400の図示する実施形態では、対極30は全体が導電層からなる。対極のうち導電層の部分を特に指すために、「対極導電層」又は「対極の導電層」と称することもできる。基板2の第1面2a上にはさらに、第1絶縁層3が配置されており、第1絶縁層3上にさらに第2絶縁層4が配置されている。第1絶縁層3の上面の、基板2の第1面2aからの高さは、作用極導電層11a、11b、対極30、参照極導電層21及び配線50の、基板2の第1面2aからの高さよりも大きい。このため、第1絶縁層3の一部は、作用極導電層11a、11b、対極30、参照極導電層21及び配線50上に配置される。

[0416] 図63に示すように、第1絶縁層3は、対極30の一部と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した対極第1開口部302を備える。更に第2絶縁層4は、第1絶縁層3の対極第1開口部302の全体と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した対極第2開口部402を備える。対極第1開口部302及び対極第2開口部402を通じて、対極30は外部に露出している。センサ400を液体試料に浸漬したとき、対極第1開口部302により形成される凹部の底面に位置する対極30の部分が液体試料と接触する。

- [0417] 図64に示すように、作用極10a, 10bは、作用極導電層11a, 11bと、作用極導電層11a, 11b上に配置され、被検物質の酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層15a, 15bを含む。試薬層15a, 15bにおける前記試薬の好ましい態様は<材料>の欄に記載の通りである。
- [0418] 第1の開示と同様に、第1作用極10aの「試薬層15a」と、第2作用極10bの「試薬層15b」とを区別するために、前者を第1作用極10aの「第1試薬層15a」、後者を第2作用極10bの「第2試薬層15b」と表現する場合がある。また、第1作用極10aの試薬層15aが有する試薬を「第1試薬」、第2作用極10bの第2試薬層15bが有する試薬を「第2試薬」と表現する場合がある。センサ400は、好適な実施形態において、複数の作用極10a, 10bを備え、複数の作用極10a, 10bのうち第1作用極10aの第1試薬層15aに含まれる第1試薬と、第1作用極10aとは異なる第2作用極10bの第2試薬層15bに含まれる第2試薬とは、互いに異なる。この好適な実施形態に係るセンサ400は、第1試薬が、液体試料中の第1被検物質の酸化還元反応に関与し、第2試薬が、液体試料中の第1被検物質とは異なる第2被検物質の酸化還元反応に関与することができるため、液体試料中の、第1被検物質及び第2被検物質を含む複数の被検物質を検出するために用いることができる。
- [0419] 図64に示すように、作用極10a, 10bは、試薬層15a, 15b上に配置された、第1保護膜18aa, 18baと、第1保護膜18aa, 18ba上に配置された、第2保護膜18ab, 18bbとからなる保護膜18a, 18bを備える。
- [0420] 図64に示すように、第1絶縁層3は、作用極導電層11a, 11bの各々の一部と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した作用極第1開口部303a, 303bを備える。更に第2絶縁層4は、第1絶縁層3の作用極第1開口部303a, 303bの全体を内包する部分と重なる位置に形成された、基板2の厚さ方向Tに貫通した作用極第2開口部403a, 403bを備える。試薬層15a, 15bは、作用極第1開口部303a,

、303bに内包され、試薬層15a、15bの外周縁は、作用極第1開口部303a、303bの内周縁により規定される。第1保護膜18aa、18ba及び第2保護膜18ab、18bbは、作用極第2開口部403a、403bに内包され、第1保護膜18aa、18ba及び第2保護膜18ab、18bbの外周縁は、作用極第2開口部403a、403bの内周縁により規定される。

[0421] <センサ400の第1保護膜及び第2保護膜の特徴>

第4の開示に係るセンサ400は、第1保護膜18aa、18baが、陽イオン交換性官能基を含む第1重合体化合物を含み、第2保護膜18ab、18bbが、陽イオン性官能基を含む第2重合体化合物を含むことを特徴とする。この特徴を有するセンサは、液体試料に浸漬した状態で、数日間以上の長期間にわたり連続的に被検物質を測定する連続モニタリングの用途に用いた場合でも、第1保護膜と第2保護膜との剥離が生じず、安定した測定が可能である。

[0422] 従来から、プロトンなどの陽イオンを試薬層と液体試料との間で輸送するために陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物（例えばテトラフルオロエチレンとパーフルオロ-2-（2-フロオロスルホニルエトキシ）プロピルビニルエーテルとの共重合体化合物）を含む第1保護膜を試薬層上に設け、4-ビニルピリジンを含む重合体化合物（例えばP4VP-tBuMA（ポリ-4-ビニルピリジンとポリ-tert-ブチルメタクリレート）のブロック共重合体化合物）を含む第2保護膜を第1保護膜上に更に設けた二層構造の保護膜を含むセンサが知られている。本発明者らはこのセンサを液体試料中に浸漬して被検物質の連続的な電気化学的測定を行う場合、3日間を超える長時間の経過後に、検出される電流値が大きく変化する異常値が検出され正確な測定ができない事象が発生し得ることを見出した。そして異常値を示したセンサでは、第1保護膜と第2保護膜との間で剥離が生じていたことを確認した。

[0423] そして本発明者らは、鋭意検討の結果、上記の特徴を有する第1保護膜と

第2保護膜とを備える第4の開示に係るセンサにより上記の問題が解決できることを見出した。第1保護膜の第1重合体化合物は、陽イオン交換性官能基（すなわち、陰イオン性官能基）を含み、一方で、第2保護膜の第2重合体化合物は、陽イオン性官能基を含むため、第1保護膜と第2保護膜とは、界面において静電結合により密着し、剥離が抑制されるものと考えられる。

[0424] 第4の開示において、第1保護膜に含まれる第1重合体化合物は、陽イオン交換性官能基を有するものであればよく、好ましくは、側鎖に陽イオン交換性官能基を有するものである。陽イオン交換性官能基としては、スルホン酸基が好ましい。側鎖にスルホン酸基を有する第1重合体化合物は、好ましくは側鎖にスルホン酸基を有するパーフルオロ化合物を構成単位に含む重合体化合物であり、より好ましくは側鎖にスルホン酸基を有するパーフルオロ化合物と、側鎖にイオン性官能基を有さないパーフルオロ化合物とを構成単位に含む共重合体化合物であり、特に好ましくはテトラフルオロエチレンとパーフルオロ-2-(2-フルオロスルホニルエトキシ)プロピルビニルエーテルとの共重合体化合物であり、最も好ましくはNafion（登録商標）である。

[0425] 第4の開示において、第2保護膜に含まれる第2重合体化合物は、陽イオン性官能基を含むものであればよく、好ましくは、側鎖に陽イオン性官能基を有するものである。分析しようとする液体試料のpHが長期間の測定中に変動する場合があることから、第2重合体化合物における陽イオン性官能基はpH非依存性の陽イオン性官能基であることが好ましく、特に、第四級アンモニウムカチオンを含む官能基であることが好ましい。第四級アンモニウムカチオンは、好ましくは、第三級アミンとエポキシ基との反応に由来する。第三級アミンとしてはピリジル基が挙げられ、特に4-ピリジル基が挙げられる。

[0426] 第2重合体化合物は、陽イオン性官能基を含む第1単位と、疎水性官能基を含む第2単位とを含み、第2重合体化合物の構成単位の全量に対する第2単位の比が50モル%以上であることが好ましい。このような第2重合体化

合物は疎水性が高いため、第4の開示に係るセンサを細胞培養液等の水系の液体試料中で浸漬して長時間測定する場合でも、第2保護膜が水により膨潤せず、第1保護膜との界面の剥離が抑制され易い。第2重合体化合物における、疎水性官能基を含む第2単位の含有量の上限は特に限定されないが、例えば第2重合体化合物の構成単位の全量に対する第2単位の比が70モル%以下であることができる。疎水性官能基としては、炭素数1～10の飽和炭化水素基が挙げられる。例えば、炭素数1～10の飽和炭化水素基を含む一価アルコールによるメタクリル酸エステル又はアクリル酸エステル、具体例としてはt e r t -ブチルメタクリレート、に由来する第2単位が好ましい。

[0427] 陽イオン性官能基を含む第1単位と、疎水性官能基を含む第2単位とを含む第2重合体化合物は、例えば、第三級アミンを含む第3単位と疎水性官能基を含む前記第2単位とを含む未架橋重合体化合物と、2以上のエポキシ基を含む架橋剤化合物とを、一定時間反応させることにより、前記第3単位の第三級アミンと、前記架橋剤化合物のエポキシ基とを反応させて、前記第3単位を、第四級アンモニウムカチオンを含む前記第1単位に変換することにより得られる。この場合、前記第3単位中の第三級アミンに対し、前記架橋剤化合物のエポキシ基を、好ましくは6.8モル%以上、より好ましくは23モル%以下（前記第3単位中の第三級アミンに対し、前記架橋剤化合物のエポキシ基を例えば6.8モル%以上、23モル%以下）、となるように反応させることにより、得られる第2重合体化合物が、高密度の第四級アンモニウムカチオンを有することとなり、第1保護膜と第2保護膜との間の静電結合が強固となるため好ましい。ここで、前記未架橋重合体化合物中の前記第3単位の第三級アミンに対する、前記架橋剤化合物のエポキシ基の割合（モル%）の算出の際は、第三級アミンのモル数は前記第3単位のモノマーの分子量に基づき算出することができ、エポキシ基のモル数は前記架橋剤化合物の分子量（前記架橋剤化合物が重合体化合物である場合は、その数平均分子量を一律の分子量とみなす）に基づき算出することができる。

[0428] 前記未架橋重合体化合物における、第三級アミンを含む第3単位としては、4-ビニルピリジンに由来する構成単位が好ましい。

[0429] 前記未架橋重合体化合物の好ましい例としては、4-ビニルピリジンとtert-ブチルメタクリレートとの共重合体化合物が挙げられる。当該共重合体化合物は、より好ましくは、tert-ブチルメタクリレートに由来する第2単位を、4-ビニルピリジンに由来する第3単位とtert-ブチルメタクリレートに由来する第2単位の全量に対して好ましくは50モル%以上、より好ましくは70モル%以下（前記第2単位の、前記第3単位と前記第2単位の全量に対する割合が例えば50モル%以上、70モル%以下）含有する。4-ビニルピリジンとtert-ブチルメタクリレートとの共重合体化合物はブロック共重合体化合物であることが特に好ましい。前記未架橋重合体化合物の分子量は特に限定されないが、例えば数平均分子量（Mn）が150,000～500,000であることができる。

[0430] 2以上のエポキシ基を含む架橋剤化合物は、例えば両末端にそれぞれエポキシ基を有する直鎖状化合物であり、好ましくは、両末端がそれぞれグリシジル基により修飾されたポリアルキレングリコール化合物であり、具体的には、ポリ（エチレングリコール）ジグリシジルエーテルであることができる。ポリ（エチレングリコール）ジグリシジルエーテルの分子量は特に限定されないが、例えば数平均分子量（Mn）が200～2,000であることができる。

[0431] <センサ400の製造方法>

第2保護膜18a b, 18b bが、第三級アミンとエポキシ基との反応に由来する第四級アンモニウムカチオンを含む第1単位と、疎水性官能基を含む第2単位とを含む、第2重合体化合物を含む、第3の開示に係るセンサ400の好ましい製造方法は、

第三級アミンを含む第3単位と疎水性官能基を含む第2単位とを含む未架橋重合体化合物と、2以上のエポキシ基を含む架橋剤化合物とを、アルコール中に含む混合物を、20℃以上の温度条件で6時間以上保持することによ

り、前記第3単位の前記第三級アミンと、前記架橋剤化合物の前記エポキシ基とを反応させて、前記第3単位を、前記第四級アンモニウムカチオンを含む前記第1単位に変換して、前記第1単位と前記第2単位とを含む前記第2重合体化合物をアルコール中に含む、第2保護膜形成用組成物を得る第1工程と、

前記第2保護膜形成用組成物を、

基板2と、

基板2上に配置された、作用極導電層11a, 11bと、

作用極導電層11a, 11b上に配置された、試薬層15a, 15bと、

試薬層15a, 15b上に配置された、第1保護膜18aa, 18baと

、

を備えるセンサ部品の、

第1保護膜18aa, 18ba上に被覆し、乾燥させて、前記第2重合体化合物を含む第2保護膜18ab, 18bbを形成する第2工程と、

を含む。

[0432] この方法によれば、第1工程において、未架橋重合体化合物における第3単位の第三級アミンと、架橋剤化合物のエポキシ基との架橋反応が十分に進み、第四級アンモニウムカチオンの密度が高い第2重合体化合物を含む、第2保護膜形成用組成物を得ることができる。第1工程における温度条件はより好ましくは30℃以上、より好ましくは40℃以上であり、上限はアルコールの沸点未満であることが好ましく、例えばアルコールとしてエタノールを用いる場合は78℃未満であることが好ましい。第1工程における反応時間は好ましくは12時間以上であり、上限は特に限定されないが例えば48時間以下（第1工程における反応時間は例えば12時間以上、48時間以下）である。アルコールとしてはエタノール、メタノール、プロパノールが好ましく、エタノールが特に好ましい。美香共重合体化合物及び架橋剤化合物の好ましい態様は上述の通りである。

[0433] 第2工程では、前記第2保護膜形成用組成物を、第1保護膜18aa, 1

8 b a 上に塗布又は滴下して被覆し、続いて溶媒であるアルコールを揮発させることにより乾燥させて、第2保護膜18 a b, 18 b bを形成する。

[0434] この方法では、第1工程において事前に架橋を行うため、第2工程での、第2保護膜18 a b, 18 b bの形成後に更に架橋処理を行う必要がない。このため、酵素等の試薬を含む試薬層15 a, 15 bが、架橋処理時の熱により損傷を受けるリスクを低減することができる。

[0435] <第4の開示の実施例>

第4の開示に係るセンサの実験8～10では、第4の開示のセンサの実施例及び比較例として、図62において、第2作用極10 bを備えず作用極として第1作用極10 a（以下、「作用極10 a」とする）のみを備えた構成のセンサ400を使用した。

[0436] 各実験で用いたセンサの特徴は実験8～10において個別に説明する。各実験で用いたセンサに共通する材料および製造方法の概略を先に説明する。

[0437] （基板）

第1の開示の実施例と同様に、絶縁性の基板2として、図62で図示する形状のポリエチレンテレフタレートからなる厚さ188 μm の基板を用いた。

[0438] （導電層）

絶縁性の基板2の第1面2 a上に、カーボンペーストを適用し140℃で1時間加熱することにより、第1の開示に関する図1と同様の形状の作用極導電層11 a、参照極導電層21及び対極（対極導電層）30、並びに、それらの各々に電氣的に接続された配線50を、厚さ5 μm のカーボン導電層により形成した。

[0439] （第1絶縁層）

続いて、カーボン導電層が配置された基板2の第1面2 a上に、フッ化ビニリデンとヘキサフルオロプロピレンとを含むコポリマーを含むフッ素樹脂からなる、基板2の第1面2 a及びカーボン導電層を覆う、カーボン導電層上の部分の厚さが5 μm の第1絶縁層3を積層した。第1絶縁層3の製造方

法は第1の開示の実施例に記載した通りである。

[0440] 第1絶縁層3の、作用極導電層11a上の作用極第1開口部303aは、直径1.2mmの円形とした。参照極第1開口部301は直径1.1mmの円形とし、対極第1開口部302は1.8mm×2.1mmの長方形とした。

[0441] (第2絶縁層)

続いて第1絶縁層3上に、溶媒中にポリエステル系樹脂と、パーフルオロアルキル基を含むフッ素系表面改質添加剤とを含む組成物を塗布し、140℃で1時間加熱することにより、厚さ40μmの第2絶縁層4を積層した。

[0442] 作用極導電層11a上の第2絶縁層4の作用極第2開口部403aは、直径2mmの円形とした。参照極第2開口部401は直径2mmの円形とし、対極第2開口部402は1.8mm×2.1mmの長方形とした。

[0443] (作用極試薬層)

第1絶縁層3の作用極第1開口部303a内において、作用極導電層11a上に、終濃度3mMのリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.4)、終濃度14mg/mL(カーボンブラック濃度)のカーボンブラック分散液、ポリマー結合型メディエータ、終濃度3200U/mLのFAD依存性グルコースデヒドロゲナーゼ及び終濃度0.1mM(結合部位の濃度)の架橋剤を含むグルコース測定用試薬液0.4mgを塗布、乾燥させ、グルコースデヒドロゲナーゼ及びメディエータを含む試薬層15aを形成した。

[0444] (作用極保護膜)

第2絶縁層4の作用極第2開口部403a内において、試薬層15a上に、第1保護膜18aaを形成し、第1保護膜18aa上に第2保護膜18abを形成して、第1保護膜18aaと第2保護膜18abとからなる二層構造の保護膜18aを形成した。第1保護膜18aa及び第2保護膜18abの具体的な製造方法については、実験8～10において説明する。

[0445] (参照極)

参照極20の断面構造は、第1の開示のセンサに関する図22と同一であ

るため、図22を参照して参照極20の製法の概略を以下に示す。第1絶縁層3の参照極第1開口部301内の参照極導電層21上に、銀塩化銀ペーストを適用し、140℃で1時間加熱して、銀塩化銀層22形成した。続いて、第2絶縁層4の参照極第2開口部401内の銀塩化銀層22上に参照極保護膜23を配置して、参照極20を形成した。

[0446] <第4の開示／実験8>

(作用極保護膜)

21.5wt%濃度のNafion(登録商標)分散液(シグマアルドリッチ社製)23,093.67mgに、エタノール(富士フイルム和光純薬社製)6,472.79mg及び5mol/L水酸化ナトリウム水溶液(富士フイルム和光純薬社製)1,226.46mgを添加して分散液のpHを調整し(陽イオン交換基の中和処理)、ボルテックスミキサーで析出物を溶解して、16.12wt%濃度のNafion(登録商標)分散液30,792.92mgを調製した。得られた16.12wt%濃度のNafion(登録商標)分散液を、第2絶縁層4の作用極第2開口部403a内の試薬層15a上に、0.6mg塗布し乾燥して、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物としてNafion(登録商標)を含む第1保護膜18aaを形成した。

[0447] 続いて、以下に示す2成分を記載の終濃度となるようにエタノールに混合し、室温(25℃±3℃)で約1時間反応させることにより、2種類の第2保護膜形成用組成物を調製した。P4VP-tBuMAは、所定分子量のポリ-4-ビニルピリジン(P4VP)と、所定分子量のポリ-tert-ブチルメタクリレート(tBuMA)との、ブロック共重合体である。

[0448] 実験8-1の第2保護膜形成用組成物：

- ・P4VP-tBuMA(ポリ-4-ビニルピリジンのMn:74,000、ポリ-tert-ブチルメタクリレートのMn:87,000、Mw/Mn:1.16、ポリマーソース社製)、終濃度5.72wt%
- ・PEGDGE(ポリ(エチレングリコール)ジグリシジルエーテル、Mn

: ~1, 000、シグマアルドリッチ社製)、終濃度0.91wt%

[0449] 実験8-2の第2保護膜形成用組成物:

・P4VP-tBuMA (ポリ-4-ビニルピリジンのMn: 120,000、ポリ-tert-ブチルメタクリレートのMn: 270,000、Mw/Mn: 1.15、ポリマーソース社製)、終濃度5.72wt%

・PEGDGE (ポリ(エチレングリコール)ジグリシジルエーテル、Mn: ~1, 000、シグマアルドリッチ社製)、終濃度2.0wt%

[0450] 第2絶縁層4の作用極第2開口部403a内の第1保護膜18aa上に、実験8-1又は実験8-2の第2保護膜形成用組成物を0.65mg塗布し乾燥して、実験8-1又は実験8-2の第2保護膜18abを形成した。

[0451] 実験8-1の第2保護膜18abを備えるセンサ400を、実験8-1のセンサとした。

[0452] 実験8-2の第2保護膜18abを備えるセンサ400を、実験8-2のセンサとした。

[0453] 被検物質を含む液体試料として、RPMI-1640 Medium (シグマアルドリッチ社製 R1383)、グルコース(富士フイルム和光純薬株式会社製)、乳酸ナトリウム(シグマアルドリッチ社製)を用いて、終濃度としてグルコース30mM、乳酸15mMを含む、pHを6.5に調整したRPMI培地を調製した。

[0454] 前記液体試料に、実験8-1又は実験8-2のセンサを浸漬し、作用極10aに、参照極20(Ag/AgCl)に対して100mVの電圧を印加し、作用極10aと対極30と間の電流値を約14日間連続で測定した。測定はN=12で行った。

[0455] 電流値の測定結果を図65に示す。図65Aは実験8-1のセンサを用いた測定結果を示し、図65Bは実験8-2のセンサを用いた測定結果を示す。

[0456] Mn: 74,000のP4VPとMn: 87,000のtBuMAとを含むP4VP-tBuMAを含み、PEGDGEを終濃度0.91wt%で含

む第2保護膜形成用組成物から形成された第2保護膜18abを備える実験8-1のセンサの一部のサンプルでは、測定開始から4日間以上経過すると電流値の異常高値が検出された。

[0457] 一方、 $M_n: 120,000$ のP4VPと $M_n: 270,000$ のtBuMAとを含むP4VP-tBuMAを含み、PEGDGEを終濃度2.0wt%で含む第2保護膜形成用組成物から形成された第2保護膜18abを備える実験8-2のセンサでは、測定開始から4日間以上経過後も電流値の異常高値が検出されなかった。

[0458] この結果は、第2保護膜18ab中の、疎水性官能基を含むtBuMA由来単位の比率及び架橋剤化合物の濃度を高めることにより、長期間の測定中の電流値の異常高値の発生を抑制できることを示唆する。

[0459] <第4の開示／実験9>

第2保護膜形成用組成物の組成として、エタノール中に下記の終濃度でP4VP-tBuMA及びPEGDGEを含む、2種類の組成を設計した。なお第4の開示に関し以下に示す実験において、P4VP由来のピリジンに対する、PEGDGE由来のエポキシ基の割合（モル%）の算出において、P4VPのモノマーの分子量に基づき算出したP4VP由来のピリジンのモル数と、PEGDGEの数平均分子量（一律のPEGDGEの分子量とみなす）に基づき算出したPEGDGE由来のエポキシ基のモル数とを用いた。

[0460] 組成A（4-ビニルピリジン由来のピリジンに対し、PEGDGE由来のエポキシ基が10.17モル%）：

- ・P4VP-tBuMA（ポリ-4-ビニルピリジンの $M_n: 120,000$ 、ポリ-tert-ブチルメタクリレート $M_n: 270,000$ 、 $M_w/M_n: 1.15$ 、ポリマーソース社製）、終濃度5.72wt%
- ・PEGDGE（ポリ（エチレングリコール）ジグリシジルエーテル、 $M_n: \sim 1,000$ 、シグマアルドリッチ社製）、終濃度0.9wt%

[0461] 組成B（4-ビニルピリジン由来のピリジンに対し、PEGDGE由来のエポキシ基が6.77モル%）：

- ・ P 4 V P - t B u M A (ポリ-4-ビニルピリジンのMn : 1 2 0 , 0 0 0、ポリ-tert-ブチルメタクリレートのMn : 2 7 0 , 0 0 0、Mw / Mn : 1 . 1 5、ポリマーソース社製)、終濃度 5 . 7 2 w t %
- ・ P E G D G E (ポリ(エチレングリコール)ジグリシジルエーテル、Mn : ~ 1 , 0 0 0、シグマアルドリッチ社製)、終濃度 0 . 6 w t %

- [0462] 組成Aの成分をエタノール中に含む混合物を、4 0 °Cで1 6時間保持することで事前架橋して、実験9-1の第2保護膜形成用組成物を調製した。
- [0463] 組成Bの成分をエタノール中に含む混合物を、4 0 °Cで1 6時間保持することで事前架橋して、実験9-2の第2保護膜形成用組成物を調製した。
- [0464] 組成Bの成分をエタノール中に含む混合物を、5 3 °Cで1 6時間保持することで事前架橋して、実験9-3の第2保護膜形成用組成物を調製した。
- [0465] 第2保護膜形成用組成物として、実験9-1、実験9-2、実験9-3の第2保護膜形成用組成物を用いて作用極1 0 aの第2保護膜1 8 a bを形成した以外は、実験8と同じ手順により、実験9-1、実験9-2、実験9-3のセンサを作製した。
- [0466] 実験8で用いたのと同じ液体試料に、実験9-1、実験9-2又は実験9-3のセンサを浸漬し、作用極1 0 aに、参照極2 0 (A g / A g C l)に対して1 0 0 m Vの電圧を印加し、作用極1 0 aと対極3 0との間の電流値を約1 4日間連続で測定した。測定は、実験9-1はN = 8、実験9-2はN = 1 2、実験9-3はN = 4で行った。
- [0467] 電流値の測定結果を図6 6に示す。図6 6 Aは実験9-1のセンサを用いた測定結果を示し、図6 6 Bは実験9-2のセンサを用いた測定結果を示し、図6 6 Cは実験9-3のセンサを用いた測定結果を示す。
- [0468] P 4 V P - t B u M AとP E G D G Eとを混合後に一定時間反応させて事前架橋した第2保護膜形成用組成物を用いて形成された第2保護膜1 8 a bを、陽イオン交換性官能基を含むN a f i o n (登録商標)を含む第1保護膜1 8 a a上に備えるセンサでは、長期間の測定中の電流値の異常高値の発生を抑制できることが示唆された。また、事前架橋の際の温度を高めること

により、長期間の測定中の電流値の異常高値の発生を更に抑制できることが示唆された。

[0469] <第4の開示／実験10>

第2保護膜形成用組成物の組成として、エタノール中に下記の終濃度でP4VP-tBuMA及びPEGDGEを含む、3種類の組成を設計した。

[0470] 組成C（4-ビニルピリジン由来のピリジンに対し、PEGDGE由来のエポキシ基が22.67モル%）：

・P4VP-tBuMA（ポリ-4-ビニルピリジンのMn：120,000、ポリ-tert-ブチルメタクリレートのMn：270,000、Mw/Mn：1.15、ポリマーソース社製）、終濃度5.72wt%

・PEGDGE（ポリ（エチレングリコール）ジグリシジルエーテル、Mn：~1,000、シグマアルドリッチ社製）、終濃度2.0wt%

[0471] 組成D（4-ビニルピリジン由来のピリジンに対し、PEGDGE由来のエポキシ基が10.17モル%）：

・P4VP-tBuMA（ポリ-4-ビニルピリジンのMn：120,000、ポリ-tert-ブチルメタクリレートのMn：270,000、Mw/Mn：1.15、ポリマーソース社製）、終濃度5.72wt%

・PEGDGE（ポリ（エチレングリコール）ジグリシジルエーテル、Mn：~1,000、シグマアルドリッチ社製）、終濃度0.9wt%

[0472] 組成E（4-ビニルピリジン由来のピリジンに対し、PEGDGE由来のエポキシ基が6.77モル%）：

・P4VP-tBuMA（ポリ-4-ビニルピリジンのMn：120,000、ポリ-tert-ブチルメタクリレートのMn：270,000、Mw/Mn：1.15、ポリマーソース社製）、終濃度5.72wt%

・PEGDGE（ポリ（エチレングリコール）ジグリシジルエーテル、Mn：~1,000、シグマアルドリッチ社製）、終濃度0.6wt%

[0473] 組成Cの成分をエタノール中に含む混合物を、室温（25℃±3℃）で約1時間保持することで事前架橋して、実験10-1の第2保護膜形成用組成

物を調製した。

- [0474] 組成Dの成分をエタノール中に含む混合物を、40℃で16時間保持することで事前架橋して、実験10-2の第2保護膜形成用組成物を調製した。
- [0475] 組成Eの成分をエタノール中に含む混合物を、53℃で16時間保持することで事前架橋して、実験10-3の第2保護膜形成用組成物を調製した。
- [0476] 第2保護膜形成用組成物として、実験10-1、実験10-2、実験10-3の第2保護膜形成用組成物を用いて作用極10aの第2保護膜18abを形成した以外は、実験8と同じ手順により、実験10-1、実験10-2、実験10-3のセンサを作製した。
- [0477] 続いて、作製された実験10-1、実験10-2及び実験10-3のセンサを、それぞれ、乾燥剤共存下、60℃で14日間保存した。この保存は劣化を加速させることを目的とする。
- [0478] 60℃で14日間保存後の各センサを、実験8で用いたのと同じ液体試料に浸漬し、作用極10aに、参照極20 (Ag/AgCl) に対して100 mVの電圧を印加し、作用極10aと対極30との間の電流値を10日間連続で測定した。測定はN=4で行った。測定開始24時間後の電流値 (N=4の平均) を100%とし、それよりも後の時点で測定された電流値 (N=4の平均) を相対値で表した。
- [0479] 電流値の測定結果を図67に示す。
- [0480] P4VP-tBuMAとPEGDGEとを混合後に6時間以上の時間反応させて事前架橋した第2保護膜形成用組成物を用いて形成された第2保護膜18abを、陽イオン交換性官能基を含むNafion (登録商標) を含む第1保護膜18aa上に備える実験10-2及び10-3のセンサは、実験10-1のセンサと比較して、温度加速試験後の電流値の変動が小さいことが確認された。また、事前架橋の際の温度を高めることにより、温度加速試験後の電流値の変動をさらに小さくできることが確認された。これらの結果は、P4VP-tBuMAとPEGDGEとを混合後に20℃以上の温度条件で6時間以上反応させて事前架橋した第2保護膜形成用組成物を用いて、

N a f i o n（登録商標）を含む第1保護膜18aa上に第2保護膜18abを形成することにより、長期安定性に優れたセンサを実現できることを示唆する。

[0481] <第4の開示に関する付記>

細胞培養液等の液体試料中の被検物質（アラナイト）を電気化学的に測定するための、酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層を含む作用極を備えるセンサが従来から知られている。

[0482] このようなセンサは、液体試料に浸漬した状態で、数日間以上の長期間にわたり連続的に被検物質を測定する連続モニタリングの用途に用いられることがある。この場合、センサには、測定期間における安定した測定を可能にするために、応答性の変化が小さいことが求められる。

[0483] そこで本明細書の第4の開示は、液体試料中に浸漬した状態で長期間測定を行った場合でも応答性の変化が小さく安定した測定が可能なセンサ及びその製造方法を提供することを課題とする。第4の開示に係るセンサは、長期間にわたる連続モニタリングの用途に好適に用いることができる。

[0484] 具体的には、本明細書では、第4の開示として、以下の付記4-1～4-10のいずれか1以上に記載のセンサ及びその製造方法を開示する。

[0485] （付記4-1）

絶縁性の基板と、前記基板上に配置された作用極とを備えるセンサであって、

前記作用極は、

前記基板上に配置された作用極導電層と、

前記作用極導電層上に配置された、酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層と、

前記試薬層上に配置された、陽イオン交換性官能基を含む第1重合体化合物を含む第1保護膜と、

前記第1保護膜上に配置された、陽イオン性官能基を含む第2重合体化合物を含む第2保護膜と

を備えることを特徴とするセンサ。

(付記4-2)

前記第2重合体化合物は、前記陽イオン性官能基を含む第1単位と、疎水性官能基を含む第2単位とを含み、前記第2重合体化合物の構成単位の全量に対する前記第2単位の比が50モル%以上である、付記4-1に記載のセンサ。

(付記4-3)

前記陽イオン性官能基は、pH非依存性である、付記4-1又は4-2に記載のセンサ。

(付記4-4)

前記陽イオン性官能基は、第三級アミンとエポキシ基との反応に由来する、第四級アンモニウムカチオンを含む、付記4-3に記載のセンサ。

(付記4-5)

前記反応が、前記第三級アミンと、前記第三級アミンに対し6.8モル%以上の前記エポキシ基との反応である、付記4-3に記載のセンサ。

(付記4-6)

前記第2重合体化合物が、2以上のエポキシ基を含む架橋剤化合物により架橋されている、4-ビニルピリジンとtert-ブチルメタクリレートとの共重合体化合物である、付記4-1～4-5のいずれか1項に記載のセンサ。

(付記4-7)

絶縁性の基板と、前記基板上に配置された作用極とを備え、

前記作用極は、

前記基板上に配置された作用極導電層と、

前記作用極導電層上に配置された、酸化還元反応に関与する試薬を含む試薬層と、

前記試薬層上に配置された、陽イオン交換性官能基を含む第1重合体化合物を含む第1保護膜と、

前記第 1 保護膜上に配置された、第三級アミンとエポキシ基との反応に由来する第四級アンモニウムカチオンを含む第 1 単位と、疎水性官能基を含む第 2 単位とを含む、第 2 重合体化合物を含む第 2 保護膜とを備えることを特徴とするセンサの製造方法であって、

第三級アミンを含む第 3 単位と前記疎水性官能基を含む前記第 2 単位とを含む未架橋重合体化合物と、2 以上のエポキシ基を含む架橋剤化合物とを、アルコール中に含む混合物を、20℃以上の温度条件で6時間以上保持することにより、前記第 3 単位の前記第三級アミンと、前記架橋剤化合物の前記エポキシ基とを反応させて、前記第 3 単位を、前記第四級アンモニウムカチオンを含む前記第 1 単位に変換して、前記第 1 単位と前記第 2 単位とを含む前記第 2 重合体化合物をアルコール中に含む、第 2 保護膜形成用組成物を得る工程と、

前記第 2 保護膜形成用組成物を、

前記基板と、

前記基板上に配置された、前記作用極導電層と、

前記作用極導電層上に配置された、前記試薬層と、

前記試薬層上に配置された、前記第 1 保護膜と、

を備えるセンサ部品の、

前記第 1 保護膜上に被覆し、乾燥させて、前記第 2 重合体化合物を含む前記第 2 保護膜を形成する工程と、

を含む方法。

(付記 4－8)

前記未架橋重合体化合物は、前記第 3 単位と、前記第 2 単位とを、前記第 2 単位が、前記第 3 単位と前記第 2 単位との全量に対して50モル%以上の比となるように含む、付記 4－7 に記載の方法。

(付記 4－9)

前記混合物が、前記第 3 単位の前記第三級アミンに対し、前記架橋剤化合物の前記エポキシ基が6.8モル%以上となるように、前記未架橋重合体化

合物と前記架橋剤化合物とを含む、付記4－7又は4－8に記載の方法。

(付記4－10)

前記未架橋重合体化合物が、4－ビニルピリジンとtert－ブチルメタクリレートとの共重合体化合物である、付記4－7～4－9のいずれか1項に記載の方法。

符号の説明

- [0486]
- 1 センサ
 - 2 基板
 - 3, 3a, 3b 第1絶縁層
 - 3a1, 3b1 第1開口部
 - 3a10, 3b10 第1開口部の内周縁
 - 3a2, 3b2 撥水性の表面
 - 3a3, 3b3 第1絶縁層のうち第1開口部の全体を内包する部分
 - 4, 4a, 4b 第2絶縁層
 - 4a1, 4b1 第2開口部
 - 4a10, 4b10 第2開口部の内周縁
 - 4b2, 4b2 アルコールに対して撥液性の表面
 - 10a, 10b 作用極
 - 10a 第1作用極
 - 10b 第2作用極
 - 11a, 11b 作用極の導電層
 - 11a 第1作用極の導電層
 - 11b 第2作用極の導電層
 - 15a, 15b 試薬層
 - 15a10, 15b10 試薬層の外周縁
 - 15a 第1作用極の第1試薬層
 - 15b 第2作用極の第2試薬層
 - 16a, 16b 保護膜

1 6 a 1 0, 1 6 b 1 0 保護膜の外周縁

1 6 a 第1保護膜

1 6 b a 第2保護膜

1 6 b b 第3保護膜

2 0 参照極

3 0 対極

5 0 配線

C 細胞

T 基板の厚さ方向

X 液体試料

A 水中の酸化還元反応に関与する試薬を含む液体組成物

B アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物

1 1 0 1、1 1 0 1'、1 1 0 1'' センサ

1 2 0 0 絶縁性の基板

1 2 0 1 基板の先端部

1 2 0 2 基板の第1面

1 2 1 0 本体部

1 2 1 1 本体部の第1端部

1 2 2 0 接続部

1 2 2 2 接続部の第2端部

1 2 2 3 接続部の第3端部

1 2 2 5 折り曲げ部

1 2 3 0 基端部

1 2 3 4 基端部の第4端部

1 3 0 0 検出電極

1 3 1 0 作用極

1 3 1 1 作用極導電層

1 3 1 5 試薬層

1 3 1 6 作用極保護膜
1 3 2 0 参照極
1 3 2 1 参照極導電層
1 3 2 2 銀／塩化銀層
1 3 2 6 参照極保護膜
1 3 3 0 対極
1 3 3 1 対極の上面
1 5 0 1 作用極開口部
1 5 0 2 参照極開口部
1 5 0 3 対極開口部
1 0 5 0 絶縁層
1 0 5 1 第1絶縁層
1 0 5 2、1 0 5 2 a、1 0 5 2 b、1 0 5 2 c 第2絶縁層
1 0 5 5 非絶縁領域
1 0 6 1 先端開口部
1 0 6 2 流路
1 0 6 2 A 拡張部
1 0 0 5 配線
1 0 0 6 端子
9 0 0 センサユニット
9 5 7 下方支持プレート（支持部材）
9 5 7 d 第1係合部
9 5 9 上方支持プレート（支持部材）
9 5 9 a 第2係合部
T 1 基板の厚さ方向
X 1 液体試料
3 0 0, 4 0 0 センサ
6 0 対極

6 0 a 対極の液体試料と接触する部分

1 1 a, 1 1 b 作用極導電層

1 1 a 1, 1 1 b 1 作用極導電層の液体試料と接触する部分

1 8 a 保護膜

1 8 a a 第1保護膜

1 8 a b 第2保護膜

請求の範囲

- [請求項1] 絶縁性の基板と、前記基板上に配置された作用極とを備えるセンサであって、
前記作用極は、
前記基板上に配置された導電層と、
少なくとも一部が前記導電層上に配置され、前記基板の厚さ方向からの平面視において前記導電層の一部と重なる位置に形成された前記厚さ方向に貫通した第1開口部と、撥水性の表面とを有する第1絶縁層と、
前記第1絶縁層上に配置され、前記厚さ方向からの平面視において前記第1絶縁層のうち前記第1開口部の全体を内包する部分と重なる位置に形成された前記厚さ方向に貫通した第2開口部と、アルコールに対して撥液性の表面とを有する第2絶縁層と、
前記第1絶縁層の前記第1開口部内に配置され、前記第1絶縁層の前記第1開口部の内周縁により規定される外周縁と、酸化還元反応に関与する試薬とを含む試薬層と、
前記第2絶縁層の前記第2開口部内に配置され、前記第2絶縁層の前記第2開口部の内周縁により規定される外周縁を含む保護膜とを備えることを特徴とするセンサ。
- [請求項2] 前記第1絶縁層の前記表面は、フッ素樹脂を含む、
請求項1に記載のセンサ。
- [請求項3] 前記第2絶縁層の前記表面は、パーフルオロアルキル基を含む化合物を含む、
請求項1又は2に記載のセンサ。
- [請求項4] 複数の前記作用極を備え、
複数の前記作用極に含まれる第1作用極の第1試薬層に含まれる第1試薬と、前記第1作用極とは異なる第2作用極の第2試薬層に含まれる第2試薬とは、互いに異なる、

請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のセンサ。

[請求項5] 前記第 1 試薬は、グルコースデヒドロゲナーゼ又はグルコースオキシダーゼを含み、

前記第 2 試薬は、乳酸オキシダーゼ又は乳酸デヒドロゲナーゼを含む、

請求項 4 に記載のセンサ。

[請求項6] 前記保護膜は、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第 1 保護膜を含む、

請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のセンサ。

[請求項7] 前記保護膜は、前記試薬層上に配置された、陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物を含む第 2 保護膜と、前記第 2 保護膜上に配置された、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第 3 保護膜とを含む、

請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載のセンサ。

[請求項8] 前記基板上に配置された、対極及び参照極を更に備える、

請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のセンサ。

[請求項9] 請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載のセンサの製造方法であって、
前記導電層、前記第 1 絶縁層及び前記第 2 絶縁層が配置された前記基板の、前記第 1 絶縁層の前記第 1 開口部内に、水中に前記試薬を含む液体組成物 A の液滴を形成したのち乾燥して、前記試薬層を形成すること、及び、

前記試薬層の形成後に、前記第 2 絶縁層の前記第 2 開口部内に、アルコール中に保護膜成分を含む液体組成物 B の液滴を形成したのち乾燥して、前記保護膜を形成すること
を含むことを特徴とする方法。

[請求項10] 前記第 1 絶縁層の前記表面は、フッ素樹脂を含む、

請求項 9 に記載の方法。

[請求項11] 前記第 2 絶縁層の前記表面は、パーフルオロアルキル基を含む化合

物を含む、

請求項 9 又は 10 に記載の方法。

[請求項12]

前記センサは、複数の前記作用極を備え、

前記試薬層の形成は、

複数の前記作用極に含まれる第 1 作用極の第 1 試薬層を、前記第 1 作用極の前記第 1 絶縁層の前記第 1 開口内に、水中に第 1 試薬を含む第 1 液体組成物 A の液滴を形成したのち乾燥して形成すること、及び

複数の前記作用極に含まれる前記第 1 作用極とは異なる第 2 作用極の第 2 試薬層を、前記第 2 作用極の前記第 1 絶縁層の前記第 1 開口内に、水中に前記第 1 試薬とは異なる第 2 試薬を含む第 2 液体組成物 A の液滴を形成したのち乾燥して形成すること

を含む、

請求項 9 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

[請求項13]

前記第 1 試薬は、グルコースデヒドロゲナーゼ又はグルコースオキシダーゼを含み、

前記第 2 試薬は、乳酸オキシダーゼ又は乳酸デヒドロゲナーゼを含む、

請求項 12 に記載の方法。

[請求項14]

前記保護膜は、前記試薬層上に配置された、4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第 1 保護膜を含み、

前記保護膜の形成は、

前記試薬層の形成後に、前記第 1 保護膜を、前記第 2 絶縁層の前記第 2 開口部内に、アルコール中に前記 4-ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第 1 液体組成物 B の液滴を形成したのち乾燥して形成すること

を含む、

請求項 9 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

[請求項15]

前記保護膜は、前記試薬層上に配置された、陽イオン交換性官能基

を含む重合体化合物を含む第2保護膜と、前記第2保護膜上に配置された、4－ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第3保護膜とを含み、

前記保護膜の形成は、

前記試薬層の形成後に、前記第2保護膜を、前記第2絶縁層の前記第2開口部内に、アルコール中に前記陽イオン交換性官能基を含む重合体化合物を含む第2液体組成物Bの液滴を形成したのち乾燥して形成すること、及び

前記第2保護膜の形成後に、前記第3保護膜を、前記第2作用極の前記第2絶縁層の前記第2開口部内に、アルコール中に前記4－ビニルピリジンを構成単位に含む重合体化合物を含む第3液体組成物Bの液滴を形成したのち乾燥して形成すること

を含む、

請求項9～14のいずれか1項に記載の方法。