

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4758342号
(P4758342)

(45) 発行日 平成23年8月24日(2011.8.24)

(24) 登録日 平成23年6月10日(2011.6.10)

(51) Int. Cl.		F I		
GO 1 N	19/10	(2006.01)	GO 1 N	19/10 Z
B 8 1 B	3/00	(2006.01)	B 8 1 B	3/00
GO 1 N	33/569	(2006.01)	GO 1 N	33/569 B

請求項の数 52 (全 39 頁)

(21) 出願番号	特願2006-515018 (P2006-515018)	(73) 特許権者	508108202
(86) (22) 出願日	平成16年5月28日 (2004.5.28)		キャンティマー インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2006-526784 (P2006-526784A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
(43) 公表日	平成18年11月24日 (2006.11.24)		25, メンロ パーク, ハイブン コ
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/016999		ート 3700
(87) 国際公開番号	W02005/003821	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開日	平成17年1月13日 (2005.1.13)		弁理士 山本 秀策
審査請求日	平成19年3月16日 (2007.3.16)	(74) 代理人	100062409
(31) 優先権主張番号	60/475,637		弁理士 安村 高明
(32) 優先日	平成15年6月3日 (2003.6.3)	(74) 代理人	100113413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 森下 夏樹
		(72) 発明者	スチュワート, レイ エフ.
			アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
			62, レッドウッド シティ, ハン
			ドリー トレイル 634
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 相変化センサー

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

センサデバイスであって、

疎水性基と親水性基との両方を有するモノマーまたはモノマー群から構成されるヒドロゲル感知材料であって、該感知材料は、体積変化による浸透圧重量モル濃度の変化に応答性であり、標的分子と接触した場合に0.5%以上の体積変化を起こすヒドロゲル感知材料；

該標的分子に選択的に結合するレセプターであって、該レセプターは、該感知材料に結合している、レセプター；

第一の端部および第二の端部を備える変形可能なアームであって、該第一の端部は、基板に接続され、かつ該感知材料から間隔を空けられており、そして該第二の端部は、該感知材料の体積変化に¹⁰ 応答して動くように位置決めされている、変形可能なアーム；ならびに

該アームの第二の端部の動きによって引き起こされる、該アームの変形に¹⁰ 応答して、検出可能な信号を発生させる、信号発生構成要素、を備える、センサデバイス。

【請求項 2】

前記感知材料が、前記標的材料と接触した場合に、1%以上の体積変化を起こす、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 3】

10

20

前記感知材料が、前記標的材料と接触した場合に、50%以上の体積増加を起こす、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項4】

前記感知材料が、約5.0ミクロン～約100ミクロンの範囲の厚さを有するシート内にある、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項5】

前記感知材料が、前記標的材料と接触した場合に、相転移を起こす、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項6】

前記体積変化が、体積の減少であり、そして前記相転移が、膨潤転移である、請求項5に記載のセンサデバイス。 10

【請求項7】

前記レセプターが、抗体である、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項8】

前記抗体が、モノクローナル抗体であり、そして前記標的分子が、アミノ酸配列である、請求項7に記載のセンサデバイス。

【請求項9】

前記レセプターが、アミノ酸配列であり、そして前記標的分子が、抗体である、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項10】

前記アミノ酸配列が、細胞のエピトープである、請求項9に記載のセンサデバイス。 20

【請求項11】

前記細胞が、病原性細菌である、請求項10に記載のセンサデバイス。

【請求項12】

前記体積変化が、体積の減少であり、前記レセプターが、ヌクレオチド配列であり、そして前記標的分子が、該レセプターのヌクレオチド配列と相補的なヌクレオチド配列である、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項13】

前記レセプターのヌクレオチド配列が、該レセプターの配列と95%以上の同一性の程度を有する、DNA配列、PNAおよびRNA配列から選択される、請求項12に記載のセンサデバイス。 30

【請求項14】

前記レセプターが、抗体であり、そして前記標的分子が、ウイルスの表面のアミノ酸配列である、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項15】

前記信号発生構成要素が、圧電抵抗器、圧電気構成要素、およびコンデンサから選択される、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項16】

前記アームに接続され、そして該アームの2つの点の間に電位差を印加する、電圧源、をさらに備える、請求項15に記載のセンサデバイス。 40

【請求項17】

前記アームに接続されており、前記圧電抵抗器の抵抗の変化を測定し得る、計器、をさらに備える、請求項16に記載のセンサデバイス。

【請求項18】

前記アームの第二の端部が、該第二の端部と前記感知材料の表面との間に空間を有して位置決めされている、請求項1に記載のセンサデバイス。

【請求項19】

前記間隔が、1mm以下であり、そしてさらに、前記アームが、10ミクロン～50ミクロンの範囲の厚さ、25ミクロン～75ミクロンの範囲の幅、および100ミクロン～200ミクロンの範囲の長さを有する、請求項18に記載のセンサデバイス。 50

【請求項 2 0】

前記アームの第二の端部が、前記感知材料に接続されている、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 2 1】

前記感知材料が、ヒドロキシプロピルアクリレートから構成される、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 2 2】

前記感知材料がさらに、アクリルアミドモノマーを含む、請求項 2 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 2 3】

前記感知材料が、1 0 と 1 1 0 との間の相転移点を有する結晶性材料である、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 2 4】

前記相転移点が、融点およびガラス転移点から選択される、請求項 2 3 に記載のセンサデバイス。

【請求項 2 5】

前記アームの第二の端部が、前記感知材料の内部に位置決めされている、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 2 6】

感知材料であって、
疎水性基と親水性基との両方を有するモノマーまたはモノマー群から構成されるポリマーヒドロゲルであって、該ヒドロゲルは、体積変化による浸透圧重量モル濃度の変化にตอบสนอง性であり、該ヒドロゲルは、ポリマーの繊維性ストランドを備える、ポリマーヒドロゲル；および

該ヒドロゲル全体にわたって分布しており、かつ該ストランドに結合している、複数のレセプター、
を備える、感知材料。

【請求項 2 7】

前記レセプターが、標的エピトープに対して、 10^7 リットル/モル以上の結合親和性を有する抗体である、請求項 2 6 に記載の感知材料。

【請求項 2 8】

前記抗体が、モノクローナル抗体であり、そして前記標的分子が、アミノ酸配列である、請求項 2 7 に記載の感知材料。

【請求項 2 9】

前記レセプターが、アミノ酸配列であり、そして前記標的分子が、抗体である、請求項 2 6 に記載の感知材料。

【請求項 3 0】

前記アミノ酸配列が、細胞のエピトープである、請求項 2 9 に記載の感知材料。

【請求項 3 1】

前記細胞が、病原性細菌である、請求項 3 0 に記載の感知材料。

【請求項 3 2】

前記レセプターが、ヌクレオチド配列であり、そして前記標的分子が、該レセプターのヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列である、請求項 2 6 に記載の感知材料。

【請求項 3 3】

前記レセプターヌクレオチド配列が、DNA 配列、PNA 配列およびRNA 配列から選択される、請求項 3 2 に記載の感知材料。

【請求項 3 4】

前記レセプターが、抗体であり、そして前記標的分子が、ウイルス表面のアミノ酸配列である、請求項 2 6 に記載の感知材料。

10

20

30

40

50

【請求項 35】

標的分析物を検出する方法であって、

疎水性基および親水性基との両方を有するモノマーまたはモノマー群から構成されるヒドロゲル感知材料の体積をモニタリングし、一方、該感知材料が、該標的分析物が存在しない、制御された水性環境にある間に、コントロール体積を決定する工程；

該コントロール体積を、該分析物が存在し得る試験水性環境において測定された体積と比較する工程；ならびに

該コントロール水性環境と該試験水性環境との間での、該感知材料の体積の変化に基づいて、該試験水性環境中に存在する分析物を決定する工程、

を包含する、方法。

10

【請求項 36】

前記感知材料が n - イソプロピル疎水性基およびアクリルアミド親水性基を含む、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記コントロール水性環境および前記試験水性環境が、同じ温度および圧力にあり、そしてさらに、前記方法において、前記感知材料の体積が、該コントロール水性環境および試験水性環境の中に、同じ長さの時間だけ存在した後に測定される、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 38】

分析物を測定するためのデバイスであって、

20

(a) 疎水性基と親水性基との両方を有するモノマーまたはモノマー群から構成される感知材料であって、該感知材料は、体積変化による浸透圧重量モル濃度の変化に応答性であり、該感知材料は、温度 A のコントロール環境における第一の物理的状態、および温度 B のコントロール環境における第二の物理的状態を有する、感知材料、

(b) 体積、粘度、モジュラス、熱容量、伝導率または光学特性のうちの 1 つから選択される、該感知材料の物理的特性を測定するためのデバイス、ならびに

(c) 制御された加熱要素であって、該分析物の存在下および非存在下において、該特性のうちの 1 つ以上を測定しながら、該感知材料の温度を、温度 A 未満から温度 B を超えるまで変化させ得る、制御された加熱要素、

を備える、デバイス。

30

【請求項 39】

前記第一の物理的状態および第二の物理的状態が、ガラス状およびゴム状から選択される、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 40】

前記第一の物理的状態および第二の物理的状態が、結晶性および非晶質から選択される、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 41】

前記分析物が、親水性有機分子、DNA フラグメントまたは RNA フラグメント、細菌、ウイルス、およびイオンから選択される、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 42】

前記感知材料が、10 と 110 との間の融点またはガラス転移温度を有する結晶性材料である、請求項 38 に記載のデバイス。

40

【請求項 43】

前記感知材料に、DNA 相補体、抗体、およびアミン基から選択される、分析物特異的部分が付着している、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 44】

前記感知材料が、前記分析物の存在下で、テンプレート重合によって調製される、請求項 42 に記載のデバイス。

【請求項 45】

前記温度が、1 分間あたり約 1 から 1 分間あたり約 10 までの速度で変化する、請

50

求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 46】

前記感知材料が、10 ~ 80 の LCST を有し、そして前記分析物が、1%未満の水溶性を有する有機化合物である、請求項 38 に記載のデバイス。

【請求項 47】

前記感知材料が、重合されたヒドロキシプロピルアクリレートモノマーから構成される、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 48】

前記レセプターが、前記感知材料に結合された化学的部分を含む、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

10

【請求項 49】

前記化学的部分が、前記感知材料上のヒドロキシル化学的部分である、請求項 48 に記載のセンサデバイス。

【請求項 50】

前記感知材料が、唾液内の標的分子と接触した場合に体積の増加を起こす、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 51】

前記感知材料が、唾液内の標的分子と接触した場合に体積の減少を起こす、請求項 1 に記載のセンサデバイス。

【請求項 52】

20

前記感知材料の体積の増加は、前記変形可能なアームの前記第二の端部の動きを引き起こし、検出可能な信号として前記抵抗の変化を生じさせる、請求項 50 に記載のセンサデバイス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、一般に、高感度センサーおよび検出デバイスの分野に関し、より詳細には、MEMS 検出器（例えば、片持ち梁アーム）を備えるそのようなデバイスに関する。

【背景技術】

30

【0002】

(発明の背景)

非整列プローブは、原子間力顕微鏡 (AFM) のために開発されてきた。この原子間力顕微鏡は、圧電材料または圧抵抗材料を含む歪みゲージ片持ち梁プローブを備え、これは、片持ち梁の屈曲にตอบสนองして電圧または抵抗の変化を生じる。このようなプローブは、最初、米国特許第 5,229,606 号および同第 5,226,801 号に開示され、そしてその後もまた、米国特許第 5,345,816 号、同第 5,345,815 号および同第 5,321,977 号に記載されている。非整列 STM プローブおよび圧抵抗片持ち梁プローブは、Park Scientific Instruments により販売されている AutoProbe.TM.VP.UHV.AFM/STM で使用されている。

40

【0003】

原子間力顕微鏡は、表面の三次元地形画像を提供するデバイスである。これらのデバイスは、表面特性の原子の大きさに対する分解能を提供し得る。原子間力顕微鏡 (AFM) において、非常に鋭い先端が、小さな可撓性レバー上に取り付けられている。この先端は、表面と先端との間の引力および先端に対する表面の斥力が非常にほぼ平衡になるように表面上に配置され、その結果、先端の表面に対する力は、非常に小さくなる。先端がサンプルをこえて外側に走査される場合、先端の変形は、表面構造と共に変化し、そして側方走査位置に対するこの変調は、表面画像を生じるために使用され得る。より代表的には、サンプルは、先端の変形（従って先端力）が側方走査の間一定に維持されるように、サーボ機構で上下にされ得、そして側方走査位置に対する垂直方向の調整信号が、上記表面の

50

地形図を生じる。この型の顕微鏡は、Hansmaらによる米国特許第4,935,634号に記載される。上記先端の変形は、種々の方法で、例えば、Binnigによる特許に記載されるような先端の裏面からのトンネル効果を使用して、光学的手段(例えば、Hansmaに記載されるようなビーム変形)を使用して、またはインターフェロメトリーを使用して、感知され得る。代表的には、大部分のAFMは、低いバネ定数の片持ち梁に先端を取り付け、そしてその片持ち梁の裏面から反射された光の角度の変化をモニタリングすることによって変形を感知する。AFMは、絶縁体および伝導体に対して直接的に作動し得、従って、他の超高分解能デバイス(例えば、走査電子顕微鏡(SEM)または走査トンネル顕微鏡(STM))には直接使用できない材料に対して使用され得る。

【0004】

AFMにおける先端は、サンプルに対して三次元で非常に精密に配置されなければならない。サンプルに対して垂直な(z軸)動きは、表面プロフィールデータを提供する。表面に対して平行な動きは、走査をもたらす。代表的なシステムにおいて、画像は、ラスタ型走査から作製される。このラスタ型走査において、一連のデータポイントは、上記先端を線(x軸)に沿って走査し、その先端を画像平面(y軸)に垂直に動かし;そして画像が完成するまで上記工程および走査プロセスを繰り返すことによって収集される。x、y、およびzでの精密な位置合わせは、通常、圧電デバイスを使用して達成される。圧電デバイスは、電圧を、その電圧材料上に配置される電極に印加することによって膨張または収縮するように作製され得る。これらの圧電走査装置によって生じた動きは、非常に小さいものであり得、いくつかの走査装置は、1ボルトあたり数十ほどの低い感度を有する。これらの走査装置にとって可能な変形の合計は、代表的には200ミクロン未満である。種々の感度を有する走査装置が、種々の適用に使用され、低感度のものは原子分解画像に使用され、そしてより高感度の走査装置は、低分解能のより大きな領域の画像に対して使用される。圧電走査装置の設計(走査装置の形状および電極の配置を含む)は、当該分野で周知である。

【0005】

AFMにおいて、サンプルは、定常に保持された走査装置および先端に装着され得るか、または先端が固定された走査装置およびサンプルに装着され得るかのいずれかである。代表的には、現在主流のAFMは、サンプルを走査する。本発明は、サンプルが走査される事例を記載し、そして図面は、その事例を示すが、本発明は、いずれの事例に均等に良好に当てはまる。

【0006】

上記サンプルがxおよびyで走査される場合、z軸の動きは、先端変形と密に関連する。AFMにおいて、先端変形は、サンプルが走査される場合にモニタリングされ得るか、またはz位置が、変形をフィードバックで一定に維持するように変動され得るかのいずれかである。この一定の変形は、セットポイントと呼ばれ、そして制御システムによって設定され得る。z位置をフィードバックで調節することは、先端とサンプルとの間の接触力を制御して最小にするために有用であり、そしてこれはまた、AFMが他の測定(例えば、剛性)に使用されることを可能にする。

【0007】

走査プローブ顕微鏡(SPM)は、鋭いプローブがサンプル表面上を走査し、サンプル表面の特性の局所的測定を行う。1つの一般的な例は、原子間力顕微鏡(走査力顕微鏡としても公知)であり、これは、可撓性のバネレバー(一般的に片持ち梁と呼ばれる)に装着された鋭い針が、サンプル表面上を走査する。上記片持ち梁の自由端の動き、位置または角度を測定することによって、多くの表面特性(表面地形、局所接着、摩擦、弾性、磁界または電界の存在などを含む)が決定され得る。他のSPMとしては、走査トンネル顕微鏡、走査近接光学顕微鏡、走査キャパシタンス顕微鏡などが挙げられる。

【0008】

精巧なプローブの一例は、原子間力顕微鏡で使用される片持ち梁チップである。代表的な片持ち梁は、長さ10~500μm、幅10~50μm、および厚さ0.5~5μmで

10

20

30

40

50

あり、この片持ち梁は、多くの場合、およそ長さ1.5mm、幅3mm、高さ0.5mmである支持体基板上に製造される。片持ち梁はまた、単一のワイヤまたは薄い金属梁などから形成される。上記プローブの精巧な性質および以下に記載する整列の理由で、いくつかのSPM設計におけるプローブの交換は、米国特許第5,376,790号(Park Scientific Instrumentsに譲渡された)に記載されるように、多くの時間を取り得る。この時間の間、SPM機器は通常使用できないので、最短のプローブ交換時間および整列時間が、高いサンプル処理量に必須である。走査プローブ顕微鏡がますます広範に使用されるようになるにつれて、より迅速に操作され得、かつ技量の少ない操作者によって使用され得る機器、またはたとえ操作者の介在がなくても自動的に作動される機器を開発することに、必要性が高まっている。

10

【0009】

この課題を解決することを試みて、1998年6月2日に発行された米国特許第5,760,675号は、電気の連続性を依然維持する、厚さが0.15nm程の薄い超薄Mo-Cフィルムを提供する。このフィルムは、Mo-C標的を直接使用するスパッタリング法によってか、または広範囲の基板温度にて周囲でかまたはAr/C₂H₂混合気体中でMo標的を使用する反応性スパッタリング法によって、平面の絶縁基板または半導性基板上に調製され得る。

【0010】

電気連続性の超薄Mo-Cフィルムは、単位領域あたりの機械的力に対して感度が高い。なぜなら、このフィルムは超薄であり、上記力を受けるいくつかの原子が存在するからである。Mo-Cフィルムがほんの数個分の原子距離の厚さ(例えば、約1nm)を有する場合、非常に小さな機械的応力/歪みが、フィルム中の原子距離を、フィルムの導電性に影響を与えるのに十分に变化させ得る。なぜなら、原子間の距離は、所定の材料についての導電性の重大因子であるからである。従って、この超薄Mo-Cフィルムは、良好な圧抵抗材料として機能し得る。

20

【0011】

このような圧電デバイスに重大なMO-Cフィルムの別の局面は、上記超薄Mo-Cは、絶縁体または半導体の任意の平面を有する基板上に容易に調製され得ることである。圧抵抗性のフィルムの品質は、 $x = 0.25$ までの中程度の範囲内の $Mo_{0.5+x}C_{0.5-x}$ の化学量論、および堆積温度ならびに基板に依存して、非常に低い。これらの特性は、このような集積回路の製造に必要不可欠である。

30

【0012】

米国特許第5,266,801号は、片持ち梁の歪みを測定するために圧電材料または圧抵抗材料を使用するが、連結ワイヤに沿った信号を分解できないままにする不快な問題を有する。また、外部伝達用および処理用の回路は、比較的大きな空間を占め、システム構造を複雑にする。

【0013】

米国特許第5,400,647号は、原子間力顕微鏡を使用することによって、摩擦力の大きさに関連する横の力を測定する。原子間力顕微鏡は、片持ち梁の変形を測定する光学的方法を利用する。他の先行技術と同様に、原子間力顕微鏡は、多くの光学素子を有するので、原子間力顕微鏡のシステムの空間は比較的大きく、原子間力顕微鏡の構造は比較的複雑であり、そして原子間力顕微鏡の連結ワイヤはの不快な問題がまだ存在する。

40

【0014】

米国特許第5,468,959号は、プローブ装置自体の特別のエレメントを有さずに表面を測定するための方法である。この特許は、プローブに言及しないが、しかし、このプローブは、この特許の焦点ではない。この特許は主に、コンデンサーおよび静電気力の使用、ならびに変位および外部静電気力の測定を記載する。

【0015】

本発明で使用される別の適切なMEMS検出器は、共振エレメントを備え、ここで、その共振器の共振振動数は、その質量の高感度な関数である。2つの主要な型の共振器(マ

50

マイクロ片持ち梁および小型音叉)が、以前利用された。米国特許第5,719,324号(Thundat 1998)は、選択的結合因子で調整されたマイクロ片持ち梁、および共振振動数または偏向を測定するための方法を開示する。米国特許第6,289,717号(Thundat 2001)は、検出器分子(例えば、抗体または抗原)のコーティングを有するマイクロ片持ち梁バネエレメントを使用するセンサー装置を記載する。標的分子を含むサンプルまたは基板は、コーティングに供される。上記バネエレメントは、検出器と標的分子との間に生じる結合により誘導される応力に応答して、たわむ。片持ち梁の偏向は、種々の検出技術によって検出される。上記マイクロ片持ち梁は、長さが約1~200 μm 、幅が約1~50 μm 、そして厚さが約0.3~3.0 μm であり得る。偏向の検出のための感度は、0.01nmの範囲である。

10

【0016】

米国特許6,528,026号は、小型音叉を備え得る共振器を使用してポリマーの化学量論アレイの特性を測定するためのデバイスおよび方法を記載する。このシステムは、固有のポリマー特性(例えば、Tgおよび分子量)を測定するのに特に有用である。026特許に記載される他の刊行物としては、「The Oscillation Frequency of a Quartz Resonator in Contact with a Liquid」, K. Keiji KanazawaおよびJoseph G. Gordon II, *Analytica Chimica Acta*, 第175巻, pp. 99-105, 1985が挙げられる。走査近接超音波顕微鏡用のプローブとしての1MHz石英の長さ伸長共振器は、Thin Solid Films, A

20

Michels, F. Meinen, T. Murdfield, W. Gohde, U. C. Fischer, E. BeckmannおよびH. Fuchs, 第264巻, pp. 172-195, 1995に記載される。圧電石英共振器または機械的発振器は、反応混合物の粘度、ならびに多くの他の材料特性(分子量、比重、弾性、誘電率、および導電性を含む)を評価するために使用され得る。代表的な適用において、機械的発振器(これは、長さが数mmほどに小さくあり得る)は、反応混合物中に浸漬される。励起信号に対するこの発振器の応答は、入力信号振動数の範囲について得られ、反応混合物の組成および特性に依存する。共振器を、十分に特徴付けられた液体標準物質のセットで較正することによって、反応混合物の特性は、機械的発振器の応答から決定され得る。材料特性を測定するための圧電石英発振器の使用についてのさらなる詳細は、同時係属の米国特許出願番号第09/133,171号「Method

30

and Apparatus for Characterizing Materials by Using a Mechanical Resonator」(1998年8月12日出願)に記載される。この米国特許出願番号第09/133,171号は、本明細書中で参考として援用される。

【0017】

多くの種々の種類の機械的発振器が現在存在するが、いくつかは、液体溶液の特性を測定するにはあまり有用でない。例えば、超音波変換器または超音波発振器は、反応器容器内で発生される、回折効果および一定の音波(圧縮性)に起因して、全ての液体で使用され得ない。これらの効果は、通常、発振器および容器のサイズが音波の特徴的波長よりも

40

あまり大きくない場合に発生する。従って、数cmオーダーの反応器容器直径について、機械的発振器の振動数は1MHzを超えるべきである。残念なことに、複合液体および混合物(ポリマー溶液を含む)は、多くの場合、これらの高い振動数において弾性ゲルのように挙動し、これは、不正確な共振応答をもたらす。

【0018】

多くの場合、せん断モード(shear mode)の変換器および種々の表面-波の変換器は、代表的な超音波変換器に関連する問題のいくつかを回避するために使用され得る。それらの変換器が振動する様式の理由で、せん断モードの変換器は、超音波の代わりに粘性のせん断波を生じる。粘性のせん断波は、センサー表面からの距離に伴って指数関数的に減衰するので、このようなセンサーは、測定体積の幾何学に鈍感である傾向があり

50

、従って、回折問題および反射問題の大部分を取り除く。残念なことに、これらのセンサーの操作振動数はまた高く、これは、上記のように、単純な流体に対してそれらセンサーの使用を制限する。さらに、高い振動の振動数において、センサーと流体との間の相互作用のほとんどは、センサー表面近くの液体の薄層に限定される。溶液成分の吸収による、このセンサー表面の任意の改質は、多くの場合、反応器応答において劇的な変化をもたらす。

【0019】

米国特許第6,553,318号は、「Visco-elastic Properties of Thin Films Probed with a Quartz Crystal Resonator」, D. Johannsmann, F. Embs, C. G. Willson, G. Wegner, および W. Knoll, Makromol. Chem., Macromol. Symp., 第46, 1991巻, pp. 247-251に記載された共振器を使用してポリマーの種々の物理的特性を測定するための方法を記載する。

10

【0020】

最近、アリゾナ州立大学の研究者らは、ポリマー「ワイヤ」を使用するj小型音叉ベースのセンサーに言及した。

【0021】

その研究者らの研究は、石英音叉アレイを使用することによる、化学蒸気センサーの使用に言及する。そのセンサーアレイは、石英音叉(2mm x 1mm x 0.2mm)の2つの突起から伸びた薄いポリマーワイヤの機械的応答の検出に基づく。この音叉が発振するように設定される場合、上記ワイヤは2つの突起により伸びたり縮んだりされ、独特の特性の共振スペクトルを示す。分析物に暴露される際に、ポリマーの機械的特性は変化され、そして振動数および/または増幅の変化が、分析物の濃度に比例する伸長において起こる。アレイの全ての音叉は、特別なポリマーワイヤで改質され、その固有の振動数で発振する。従って、複数ピークのスペクトルは、線形振動数掃引が適用される場合に得られる。化学的蒸気注入の後、ポリマーワイヤのいくつかは、化学的吸収を受け、その結果生じたスペクトルの変化は、化学的蒸気の性質が識別されることを可能にする。上記研究者らの研究は、種々の極性蒸気および非極性蒸気を感知する5つの異なるポリマー材料の試験を示す。種々の濃度を有するエタノール蒸気注入に対する応答が実証され、そして非常に低い検出限界が達成された。

20

30

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0022】

(発明の要旨)

高度に感度が高く、選択的なセンサーであるデバイスが開示される。このデバイスは、基板、変形可能なアームおよび信号発生構成要素に固定位置に固定されたセンサー材料から構成され、この信号発生構成要素は、アームの動きに応答して検出可能な信号を作製する。上記デバイスの感度は、目的の標的分子に応答して劇的な体積変化(例えば、相変化)を行うセンサー材料を使用することによって高められる。上記デバイスの選択性は、高度に特異的な結合レセプター(例えば、抗体)を、そのレセプターが特定の標的(例えば、ペプチドエピトープ)に結合するセンサー材料に組み込むことによって高められる。上記レセプターへの標的分子の結合は、センサー材料が相変化を起こすことを引き起こし、これは、信号発生構成要素(例えば、圧抵抗)を引き起こすアームを動かして検出可能な信号(例えば、抵抗の変化)を作製し、それによって標的の存在を示す。

40

【0023】

本発明のデバイスは、詳細には、音叉(ここで、ポリマーは2つのフォークにまたがる)を備える共振器、またはポリマーが付着した基板に付着した共振器を備える。共振器をヒドロゲル中に置くことは、ヒドロゲルの内部粘度が変化する場合、非常に感度の高い検出手段を提供する。本発明はまた、詳細には、相変化ポリマーでコーティングされた共振

50

器を包含し、ここで、デバイス（コーティングされた共振器）は、分析物を含む水のような環境に配置される。このようなシステムは、一定温度に維持されるか、または制御温度ランプが供される、ヒドロゲルまたは結晶またはガラス状ポリマーのいずれについても良好に機能する。

【0024】

本発明の一局面は、広範囲の標的分子を高度な感度および選択性で検出可能なデバイスである。

【0025】

本発明の別の局面は、センサー材料が劇的な体積変化を起こし、それによって、厚さが約5ミクロン、10ミクロン、20ミクロン、50ミクロンまたは100ミクロンのヒドロゲルシートが、0.5%以上、1%以上、5%以上もしくは10%以上膨潤または収縮し、そしてセンサー材料の体積変化は、相変化を含み得る、1~1,000以上の範囲の動きを検出し得るアームによって検出されることである。

10

【0026】

本発明の別の局面は、センサー材料が、単一の標的にのみ結合し、その標的に密に関連し得る他の分子には結合しない、高度に特異的な結合レセプター（例えば、モノクローナル抗体またはヌクレオチド配列）を含むことである。

【0027】

本発明のさらに別の局面は、アームの非常に小さな動きに応答するか、または共振器の場合では、それが接触する材料の流体力学的特性に応答する、抵抗変化、共振振動数変化、電気出力の変化、もしくはキャパシタンスの変化のような変化を起こす信号発生構成要素である。

20

【0028】

本発明のこれらのおよび他の目的、利点および特性は、以下により完全に記載されるような本発明の詳細を読む際に、当業者に明らかとなる。

【0029】

本発明は、添付の図面と組み合わせて読む場合、以下の詳細な説明から最も良好に理解される。一般的な実施に従って、図面の種々の特徴は一定比率ではないことが強調される。対照的に、種々の特徴の寸法は、明確性のために、任意に拡大または縮小される。以下の図が図面に含まれる。

30

【0030】

（発明の詳細な説明）

本発明のセンサー材料、センサーデバイスおよび方法が記載される前に、本発明は、記載される特定の材料および実施形態に限定されず、当然変化し得ることが理解されるべきである。本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるので、本明細書中で使用される用語は、特定の実施形態のみを説明する目的であり、限定することを意図しないことがまた、理解されるべきである。

【0031】

値の範囲が提供される場合、その文脈が明らかに別なように示されない限り、その下限の単位の10分の1までの、その範囲の上限と下限との間の、各介在値もまた、詳細に開示されることが理解される。表示された範囲における任意の表示値または介在値と、その表示された範囲における任意の他の表示値または介在値との間の各々より小さな範囲は、本発明内に包含される。これらのより小さな範囲の上限および下限は、独立して、その範囲に含まれても除かれてもよく、そのいずれかまたは両方の限定がより小さな範囲に含まれる場合、あるいは両方の限定がより小さな範囲に含まれない場合の各範囲はまた、本発明内に包含され、表示された範囲における任意の具体的に除かれた限定を受ける。表示された範囲が1つまたは両方の限定を含む場合、これらの含まれる限定のいずれかまたは両方を除く範囲もまた、本発明に包含される。

40

【0032】

他で特に定義されない限り、本明細書中で使用される技術用語および科学用語の全ては

50

、本発明が属する分野の当業者に一般的に理解されるようなものと同じ意味を有する。本明細書中で記載される方法および材料と類似または等価な任意の方法および材料が本発明の実施または試験に使用され得るが、好ましい方法および材料が、ここで記載される。本明細書中で言及される全ての刊行物は、本明細書中で参考として援用され、これらの刊行物が列挙した方法および/または材料と組み合わせ、方法および/または材料を開示および記載する。

【0033】

本明細書中および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」および「the」は、文脈が他で特に明らかに示さない限り、複数の対象を包含することが注意されるべきである。従って、例えば、「レセプター (a r e c e p t o r) 」への言及は、複数のこのようなレセプターを包含し、「ヒドロゲル (t h e h y d r o g e l) 」への言及は、1種以上のヒドロゲルおよび当該分野で公知のその等価物などへの言及を包含する。

10

【0034】

本明細書中で考察される刊行物は、本出願の出願日前の開示に対してのみ提供される。本明細書中では、本発明は、先行発明によるこのような刊行物を日付を早めることに権利を与えられていないことが、承認として解釈されていない。さらに、提供される刊行物の日付は、実際の刊行日と異なり得、これは、独立して確認されることが必要とされ得る。

【0035】

(定義)

「抗体」とは、抗原に結合し得る免疫グロブリンタンパク質を意味する。本明細書中で使用される場合、抗体は、抗体全体、および標的分子であり得る、エピトープ、抗原または目的の抗原フラグメントに結合し得る任意の抗体フラグメント (例えば、F (a b ')₂、F a b '、F a b、F v) を包含することが意味される。

20

【0036】

センサー材料に結合するために本発明で使用される抗体は、免疫反応性または免疫特異性であり、従って、標的分子に特異的かつ選択的に結合する。単一の標的分子に対して免疫反応性および免疫特異性である抗体が好ましい。公知の病原性細菌およびウイルスの抗原に対する抗体は、好ましくは免疫特異性であり、すなわち、関連の物質とは実質的に相互反応しない。用語「抗体」は、全ての型の抗体 (例えば、モノクローナル抗体) を包含するが、本発明で使用される抗体は、好ましくはモノクローナル抗体および複製可能な抗体である。

30

【0037】

「精製された抗体」とは、自然に結合する他のタンパク質、炭水化物および脂質を十分に含まない抗体を意味する。標的分子 (例えば、ペプチドまたはタンパク質 (またはその抗原フラグメント)) に「好ましくは結合する」このような抗体は、すなわち、抗原に無関連の他の分子を実質的に認識せず、その分子に結合しない。本発明のセンサー材料で使用される精製された抗体は、好ましくは、特定の種の微生物の病原性微生物の表面上の単純な標的分子またはその一部と免疫反応性であり、それらに免疫特異性である。

【0038】

「抗原性フラグメント」とは、本発明のセンサー材料と一緒に使用される抗体に結合し得るタンパク質の部分を意味する。

40

【0039】

「特異的に結合する」によって、特異的なポリペプチド (すなわち、標的タンパク質のような特定の標的分子のエピトープ) に対する抗体の高い結合力および/または高い親和性の結合が意味される。この特異的ポリペプチド上のそのエピトープに結合する抗体は、好ましくは、その抗体の任意の他のエピトープ (目的の特定のポリペプチドとして、特に同一のサンプルに関連するか、またはその中にある分子に存在し得るエピトープ) に対する結合よりも強い。目的のポリペプチドに特異的に結合する抗体は、他のポリペプチドに弱く、しかし、検出可能なレベルで (例えば、目的のポリペプチドに対して示される結合

50

の10%以下)結合し得る。このような弱い結合、すなわち、バックグラウンド結合は、適切なコントロールを使用することによって、目的の化合物またはポリペプチドに結合する特異的な抗体から容易に識別可能である。概して、標的分子に、 10^7 リットル/モル以上、好ましくは、 10^8 リットル/モル以上の結合親和性で結合する本発明の抗体は、目的の標的分子に特異的に結合すると言われる。概して、 10^6 リットル/モル以下の結合親和性を有する抗体は、抗原に、現在使用される従来の方法を使用して検出可能なレベルで抗原に結合しないという点で有用ではない。

【0040】

「検出可能に標識された抗体」によって、結合した検出可能な標識を有する抗体(または結合特異性を保持する抗体フラグメント)が意味される。検出可能な標識は、通常化学結合によって結合されるが、標識がポリペプチドである場合、その代わりに、遺伝子操作技術によって結合され得る。検出可能に標識されたタンパク質を生成するための方法は、当該分野で周知である。検出可能な標識は、当該分野で公知の種々の標識から選択されるが、通常は、放射性同位体、フルオロフォア、常磁性標識、酵素(例えば、セイヨウワサビペルオキシダーゼ)、または検出可能な信号(例えば、放射活性、蛍光、色)を発するか、または標識をその基質に曝露した後に検出可能な信号を発する他の部分または化合物である。種々の検出可能な標識/基質の対(例えば、セイヨウワサビペルオキシダーゼ/ジアミノベンジジン、アビジン/ストレプトアビジン、ルシフェラーゼ/ルシフェリン)、抗体を標識するための方法および標識された抗体を使用するための方法が、当該分野で周知である(例えば、HarlowおよびLane編、Antibodies: A Laboratory Manual (1988) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.を参照のこと。)

【0041】

用語「相変化」および「相転移」は、相互変換可能に使用され、気化、水の溶解および凍結、霜および雪の形成、ならびに周知の現象であるドライアイスの昇華、ならびに以下の6個の一般的な状態の変化の内の5個の例が挙げられる:

- (i) 固体の液体への溶解
- (ii) 液体の固体への凝固
- (iii) 液体の気体への気化
- (iv) 気体の液体への凝縮
- (v) 固体の気体への気化(昇華)
- (vi) 気体の固体への凝固。

【0042】

上記対の各プロセスが互いの逆である対における変化が列挙される。物質が、多様な固体形態(例えば、ヒドロゲル)を有する場合、他の相転移が可能であって、例えば、

- (vii) 固体Iから固体IIへの転移
- (viii) 固体IIから固体Iへの転移
- (ix) 固体IIから液体への溶解
- (x) 液体から固体IIへの凝固、など

が挙げられる。

【0043】

(xi) 特定の固体(ポリマー性物質が挙げられる)に関して、目的の特異的な相転移は、ガラス転移(Tg)である。Tgは一般的に、分子運動の開始が観察される温度として示される。Tgは、例えば、示差走査熱量測定法、動的機械分光法、誘電分光法および他の公知の技術によって測定され得る。

【0044】

ポリマー系における別の目的とする相変化は、融点である。ポリマーは、通常個々の構成要素の統計学的な混合物であるので、代表的に、純粋な成分または化合物より広い融点範囲を有する。ゲルを含むポリマーの融点は、熱量測定法(例えば、示差走査熱量測定法

10

20

30

40

50

) または光学的方法もしくは機械的方法により測定され得る。

【0045】

水は、気体から液体、固体（氷）への相変化を受けるだけでなく、氷Ⅰから氷ⅠⅠ、氷ⅠⅠⅠ、氷ⅠⅤ、氷Ⅴ、氷ⅤⅠ、氷ⅤⅠⅠへの相変化も受ける。本発明のセンサー材料（例えば、ヒドロゲル）は、標的分子と接触する場合、あるゲル相から別の相への相変化を受け得る。

【0046】

本明細書中で使用される場合、用語「圧電抵抗性の（piezoresistive）」とは、電流の進路の向きにそれを加えられた機械的圧力によって引き起こされる圧縮に反応して減少する電気抵抗を有する物質をいう。このような圧電抵抗性の物質は、例えば、細胞の壁を覆う導電性コーティングを有する弾性細胞性ポリマー泡であり得る。

10

【0047】

「抵抗」とは、物質内の電流の進路沿った電流の流れに対する物質の抵抗をいい、オームで測定される。抵抗は、電流の進路の長さおよびその物質の特異的な抵抗または「固有抵抗」に比例して増加し、電流が利用可能な断面積の大きさに反比例して変動する。その固有抵抗は、物質の特性であり、（抵抗／長さ）／面積の基準として考えられる。より詳細には、抵抗は、以下の式：

$$R = (L) / A \quad (I)$$

に従って決定され得、

ここで、

- R = オーム単位の抵抗
- = オーム - インチ単位の固有抵抗
- L = インチ単位の長さ
- A = 平方インチ単位の面積

20

である。

【0048】

回路を通る電流は、以下のオームの法則：

$$I = V / R$$

に提供されるように、加える電圧に比例して変動し、抵抗に反比例して変動し、

ここで、

- I = アンペア単位の電流
- V = ボルト単位の電圧
- R = オーム単位の抵抗性

30

である。

【0049】

代表的に、シートの面を横切る（すなわち、一方の端から反対の端まで）平面の導電性シートの抵抗は、平方あたりのオーム単位で測定される。任意の所定の厚さの導電性シートについて、平方を横切る抵抗値は、その平方がどんな大きさであっても同じままである。電流の進路が、導電性シートの一面から別の面である（すなわち、シートの面に対して垂直な向きである）適用において、抵抗は、オーム単位で測定される。

40

【0050】

（特定の実施形態）

図1は、本発明のセンサーデバイス1の一実施形態の透視概略図を示す。上記デバイス1は、なんらかの様式で適切な位置（例えば、基板3）に接続されたか、固定されたか、取り付けられたか、固着されたセンサー材料2を備える。アーム4は、センサー材料2の上に配置され、アーム4の末端5は、センサー材料2の表面に非常に近接して（例えば、1mm以下、または0.1mm以下または1μm以下）配置される。従って、センサー材料2が膨張する場合、センサー材料2は、アーム4の末端5を移動させる。従来のマイクロ片持ち梁センサーデバイスは、2003年2月25日に発行された米国特許第6,523,392号および2003年1月16日に公開された米国特許公開番号2003/001

50

0097に開示される。これらの設計は、本発明のセンサー材料2を備えるように変更され得る。

【0051】

上記アーム4は、加熱されて細いひも状に引き伸ばされ得る適切な物質（例えば、ケイ素またはそのバリエーションもしくはアナログ（例えば、窒化ケイ素））から構成される。上記アーム4は、同一の物質からなる基部6から形成され得、それと一体となり得る。一つ以上の信号発生構成要素（例えば、4つの信号発生要素7、8、9および10）が、アーム4上またはアーム4内に存在する。上記基部6は、なんらかの様式で基板11に、接続されるか、取り付けられたか、固定されたか、または固着される。従って、センサー部材2が伸びる場合、それは、末端5と接触することによってアーム4を移動させる。センサー材料2が基板3に固定され、上記アームの基部6は、基板11に固定されるので、アーム4は屈曲する。アーム4の屈曲は、圧縮が信号構成要素7、8、9および10に加えられるように、物理力を生じる。抵抗は、容易にかつ安価に製造され得、圧電性抵抗は、程度の小さい物理力に反応しての抵抗の変化に対して、非常に高感度に設計され得る。圧電性抵抗は、チタン酸バリウムからなり得る。

10

【0052】

電気接続12および13は、アーム14に二点で接続し、それらの2点間で電流が流れることを可能にする。電流は、信号構成要素7~10を通して流れ、計測器14によって検出される。種々の型の計測器（例えば、ボルト、メーター、アンペアメーターなど）が使用され得る。計測器14は、例えば、センサー材料2の小さい膨張によって引き起こされるアーム4の小さな曲げによって引き起こされる抵抗の小さな変化 q によって引き起こされる電流の小さな変化を示す。信号構成要素7~10は、圧電性抵抗、圧電性構成要素、コンデンサーまたはこれらの組合せであり得る。これらは、単一、2個、3個、または4個以上の信号構成要素であり得る。1個より多くが存在する場合、それらは、それらが、アーム4の種々のレベルでの移動に応答し、信号を送るように、同一であっても、異なってもよい。

20

【0053】

図2は、センサー部材2の表面に接触しないアーム4の末端5を示す側面概略図である。アーム4の末端5は、材料2の小さな膨張が、末端5との接触およびアーム4の移動を引き起こす材料2の表面に十分に近接する。しかし、センサー材料2が、標的に応答して大きさが減少する場合、末端5は、作用されない。この引き込みは、図3および4の実施形態で扱われる。

30

【0054】

アーム4の末端15は、センサー材料2の表面に取り付けられる。その結果、センサー部材2が、容積変化を受ける（大きさが膨張するか、または減少する）場合、末端15は、作用され、アーム4は移動する。多少類似する様式で、アーム4の部分16は、図4に示されるように、材料2の内側に存在し得る。この開示を読んだ当業者は、構成要素の他の配置が可能であり、本発明の範囲内であることを理解する。例えば、図1の末端5は、アーム4が、センサー材料2の表面によって押し上げられた位置に保持される末端5を備える屈曲した位置に存在するような様式で、センサー部材2と接触して配置され得る。このような配置において、材料2の収縮は、末端5の移動を引き起こし、信号構成要素7~10によって検出され得るアーム4の屈曲を緩める。信号構成要素7~10の種々の構成および配置はまた、本発明の範囲内であると考えられる。例えば、信号構成要素は、アーム4の全長に沿って等しく間隔をあけ、アーム4の最大限の屈曲が、センサー部材2の動きに反応して生じると決定されたアームのどちらかの末端に位置するかまたはアーム内の点に配置される。

40

【0055】

信号構成要素の数および配置の変化に加えて、デバイスが、互いに同一の様式で配置されたか、独立に配置された2個、3個、4個、5個以上のアームおよびセンサー材料2を備えるように構成することが可能である。信号構成要素およびアームの数および配置は、

50

デバイスの全体的な感度に影響し得る。しかし、デバイスの感度は、通常、センサー材料 2 の性質によってより影響を受ける。センサー材料は、体積の劇的な変化（例えば、20%以上、50%以上、100%以上）を受ける物質である。その変化は、膨張または収縮であり得る。センサー材料は、広範な種々の物質であり得るが、そのような一つのクラスは、ヒドロゲルである。ヒドロゲルに冠する情報およびその例は、以下に提供される。

【0056】

（ヒドロゲル）

ヒドロゲルは、水により膨張する構造であるが、水には不溶性の構造を形成するように一緒に結合した親水性ポリマーの三次元ネットワークである。用語ヒドロゲルは、乾燥状態（キセロゲル）および湿潤状態における親水性ポリマーに適用されるべきである。これらのヒドロゲルは、多数の様式で一緒に結合され得る。第一は、親水性ポリマー（例えば、ポリ（アクリル酸）、ポリ（メタクリル酸）、ポリ（ヒドロキシエチルメタクリレート）、ポリ（グリセリルメタクリレート）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（アクリルアミド）、ポリ（N-アルキルアミド）、ポリ（N,N-ジメチルアミノプロピル-N'-アクリルアミド）、ポリ（エチレンイミン）、ポリ（アクリル酸）ナトリウム/カリウム、多糖類（例えば、キサントゲン酸塩、アルギン酸塩、ゲアガム、アガロースなど）、ポリ（ビニルピロリドン）、およびセルロースベースの誘導体の放射線またはラジカルの架橋結合である。第二に、親水性ポリマーおよびモノマーの、適切な多官能性モノマーとの化学的架橋結合の例としては、適切な薬剤と架橋したポリ（ヒドロキシエチルメタクリレート）、ジメタクリレートエステル架橋剤を含むヒドロキシエチルメタクリレートモノマーのコポリマー化、ヒドロキシル末端ポリ（エチレングリコール）のポリイソシアネートとの反応、または多官能性モノマー（例えば、トリオール）の存在下でのジイソシアネートとの反応を介して調製されたポリ（エチレンオキシド）ベースのポリウレタン、ならびにジアルデヒド、ジエポキシドおよびポリ塩基酸と架橋結合したセルロース誘導体が挙げられる。第三に、親水性モノマーおよび親水性ポリマーのブロックコポリマーおよびグラフトコポリマーへの組み込みであって、その例は、ポリ（エチレンオキシド）の適切なポリマーとのブロックコポリマーおよびグラフトコポリマー、ポリ（ビニルピロリドン）-co-ポリスチレンコポリマー、ポリウレタンおよびポリウレタンウレアおよびポリ（エチレンオキシド）に基づいたポリウレタンウレア、ポリウレタンウレアとポリ（アクリロニトリル）-co-ポリ（アクリル酸）コポリマー、ならびにポリ（アクリロニトリル）、ポリ（ビニルアルコール）およびポリ（アクリル酸）の種々の誘導体である。第四は、親水性ポリマーと他のポリマーとの間の分子複合体形成であって、その例は、ポリ（アクリル酸）とポリ（メタクリル酸）とのポリ（エチレンオキシド）ヒドロゲル複合体である。最後は、高分子量親水性ポリマーの架橋のもつれ（entanglement）であって、例えば、多官能性アクリルモノマーまたは多官能性ビニルポリマーと混合された高分子量のポリ（エチレンオキシド）に基づいたヒドロゲルである。

【0057】

水中で膨張した場合に、それ自体の重量または低剪断のいずれかの下で流動するように、物理的に極端に弱いヒドロゲルを生成することが可能である。しかし、好ましいヒドロゲルは、水で十分に膨張した場合に、それ自体の重量の元では流動しないという特徴を示す。好ましくは、それらはまた、水中で膨張した時にその構造内に生じる浸透圧を伝え得るように、顕著な強度を有する。それらは、乾燥（またはキセロゲル）非水和状態で、丈夫でもろくない物質である物質であり、ことがさらに望ましいが、本質的な特徴ではなく、ガラス転移温度（ T_g ）が、室温より十分に低いことが好ましい。好ましくは、 T_g は、センサーの考えられる使用温度以下である。多くのヒドロゲル材料が、室温より十分に高い T_g 値を有し、極端な収縮工程における使用でもろくかつ弱くあり得る。しかし、そのような極端な収縮にはめったに遭遇しないとして使用され得る。

【0058】

ヒドロゲルを構成する親水性ポリマーの好ましい群は、架橋されたか、または鎖伸長も

10

20

30

40

50

しくはブロックコポリマーとして作製されたポリ(エチレングリコール)(PEG)ベースのヒドロゲルである。このような架橋コポリマーは、PEGのヒドロゲル末端をジイソシアネートおよびポリオールと反応させることによって作製され得る。これらは、ポリウレタンとして公知であり、例えば、英国特許GB2047093B、英国特許第1506473号、欧州特許出願公開番号0205815および国際特許出願(PCI)公開番号WO89/07117に記載される。PEGのブロックコポリマーはまた、二官能性単位(例えば、ポリ(エチレングリコール)、ポリ(プロピレングリコール)、ジイソシアネート、および必要に応じてジアミンの組合せ)のみを使用して作製され得る。

【0059】

ヒドロゲルを構成する親水性ポリマーのさらなる好ましい群は、直鎖伸長ポリ(エチレンオキシド)ポリウレタン尿素ヒドロゲル(UK GB22354630)および一連の直鎖ポリ(エチレンオキシド)-co-ポリ(プロピレンオキシド)ブロックコポリマーポリウレタン尿素ヒドロゲルに基づく。これらのポリウレタン尿素(PUU)物質は、水性媒体中で吸収して膨張し得るが、その機械的完全性を保持する。ポリマー性ヒドロゲルが吸収する程度および水溶液中で膨張する程度は、その構造内に組み込まれた親水性ポリ(エチレンオキシド)(PEO)の量によって決定される。PEO含量が高ければ、そのヒドロゲル物質の膨張性はより大きくなる。PUUヒドロゲルは、膨張した場合、室温で、5~95重量%の範囲の平衡水性媒体含量を有し得る。上記ヒドロゲルはまた、温度の変化で、膨張の変化を示し、「温度反応性ヒドロゲル」と記載され得る。

【0060】

それらの直鎖構造および化学組成物の結果として、PUUヒドロゲルは、メタノール、エタノール、プロパン-2-オール、メチルエチルケトン、ジクロロメタンおよびクロロホルムなどの多くの比較的「マイルドな(mild)」有機溶媒に溶解性である。PUUヒドロゲルの溶解性は、それらが溶媒成型技術によってか、またはコーティング適用に使用されて、容易にフィルムまたはデバイスに加工され得ることを意味する。PUUヒドロゲルによる水性媒体の吸収は、その物理的大きさを増加させ、この変化は、機械力または圧力を発揮するのに使用され得る。PUUヒドロゲルの膨張の速度および程度、ならびに寸法の反応は、PEO含量によって制御されるその疎水性の程度、その物理的寸法およびその系の温度によって決定される。ポリ(エチレンオキシド)ベースのPUUヒドロゲル系は、水性媒体中で、温度が上昇するにつれて、逆の膨張反応を有する。膨張したPUUヒドロゲルは、その系の温度が上昇するにつれて膨張が減少する。PUUヒドロゲルの膨張の減少は、その物質の物理的大きさの収縮を生じ、それは、機械的応答を生じるのに用いられ得る。記載されるヒドロゲルは、種々の公知のプロセスによって製造され得、溶媒に溶解性であるという利点を有し、それゆえにコーティングに適した形態で製造され得る。それらはまた、熱可塑性であり、(可塑剤があってもなくても)融解物から繊維に押し出され得る。このような材料の性質は、「Polymer Science and Materials」、Tobolsky, A.V.およびMark, H.F., Wiley-Interscience 1971に説明されている。

【0061】

ポリ(エチレンオキシド)ベースのポリウレタン尿素ヒドロゲルは、ポリ(アクリル酸)またはポリ(メタクリル酸)と組み合わせられて、高分子(ヒドロゲル構造内のポリエーテルとポリ酸部分との間の水素結合複合体)の形成を介したpH反応性ヒドロゲルを生成するのに使用され得る。これらの物質は、溶媒系に可溶性であり、従って、pH応答性ヒドロゲルフィルムおよびコーティングの生成に適している。PUU/ポリ酸複合膜が、pH2.2~pH8.0の範囲を越えるクエン酸/リン酸緩衝液系中、約4.0で、低度~高度の膨張反応を有することが実証されている。

【0062】

ポリ(アクリルアミド-co-アクリル酸)コポリマーゲルの、イオン強度およびpHの変化に反応しての膨張挙動は、膨張反応が、種々のイオン強度および低いpH値と高いpH値との両方の環境下でも生じ得ることを示唆している。非常に低いpHでは、ポリ(

10

20

30

40

50

アクリルアミド - c o - アクリル酸)ゲルは、イオン化していないゲルの体積まで脱膨張する。pHが増加するにつれて、ゲルは、膨張が増加し、酸基が、高pH値 (> pH 10)までイオン化すると、ゲルは、ゲル内のカチオン濃度の増加に起因して脱膨張し始める。PUU/ポリ酸ヒドロゲルは、高pH値 (pH 10 ~ pH 12)では、この型の膨張反応を示すことが示されている。

【0063】

ポリマー性マイクロゲルを含む親水性ポリマーのさらなる基が、反応溶媒中でゾルを形成し得る架橋粒子を含む溶液ポリマー化プロセスによって開発されている(英国特許GB 2090264B)。これらの架橋粒子またはマイクロゲルは、特定の機能性、反応性、溶解度および大きさを有するように設計され得る。塩基性ポリ(メチルメタクリレート - c o - (ジメチルアミノ)エチルメタクリレート)マイクロゲルが開発され、これは、PUUヒドロゲルマトリクスに組み込まれる場合、約pH 6 ~ 7で膨張の変化を示すpH反応性ヒドロゲル物質を生成する。マイクロゲルプロセスの多能性は、任意の選択された外部刺激に応答するマイクロゲルが調製され得ることを意味する。例えば、酸性基および/または塩基性基を組み込んだマイクロゲルは、pHおよび/またはイオン強度の変化に反応し、ポリ(ヒドロキシエチルメタクリレート - c o - ジニトロフェノール)マイクロゲルは、アミンの存在に反応し、ポリ(ヒドロキシエチルメタクリレート - c o - アゾベンゾエート)マイクロゲルは、YV照射に反応し、ポリ(N, N - アルキル置換アルキルアミド)ベースのヒドロゲルは、系の温度に関連して膨張反応を有する。

【0064】

マイクロゲルは、PUUヒドロゲルマトリクス、または特定の標的に曝露された場合に膨張するかもしくは脱膨張(すなわち、収縮)する反応性ヒドロゲル物質を生成するためのキャリアまたは結合剤を有する二種の成分系で組み合わせられ得る。

【0065】

別のクラスの好ましいヒドロゲルとしては、アクリルアミドベースのポリマー、例えば、ポリアクリルアミド、ポリ - n - イソプロピルアクリルアミド、ポリ - n - メチルアクリルアミド、ポリ - n , n - ジメチルアクリルアミドおよびこれらのメチルアクリルアミドアナログが挙げられる。これらのポリマーは、本質的にホモポリマーであり得るか、または別の親水性ポリマーもしくは疎水性ポリマーとのコポリマーであり得ることが理解される。

【0066】

(センサー材料機能)

本発明のセンサーデバイスと一緒に使用するための可能なヒドロゲル物質は、上に記載される。このヒドロゲルの、体積の顕著な変化を受ける能力は、デバイスの感度を増強する。デバイスの感度は、センサー材料の特定の受容体構成要素の使用を介して獲得される。センサー物質の機能は、図5、6および7を参照して最も良く記載される。

【0067】

図5に示される代表的なセンサー材料2は、線維性のひも20および21のネットワークを構成する一種以上の親水性ポリマーを含む。このひもは、ヒドロゲルの水性環境中で、ある程度自由な動きを有する。このヒドロゲルは、多数のひもを含むが、記載を単純にするために、ここでは、2つのみが示されている。このひもは、ここでは、一本鎖DNA配列22および23であるレセプターに結合している。一本鎖配列は、その相補的な配列に結合する。

【0068】

相補的な一本鎖DNA標的配列24が、図6に示されるように添加される。標的配列26の半分は、レセプター配列22に対して相補的であり、図6に示されるように配列22にハイブリダイズする。

【0069】

図7は、レセプター配列23に結合した標的配列の他方の半分を示す。これは、ひも20および21と一緒に引き、それによって検出材料2の体積を圧縮する。実施において、

10

20

30

40

50

多数のレセプターは、センサー材料2全体にわたって分配され、多数の標的配列が添加され得る。それは、数十、数百、数千以上のレセプター配列およびそれと類似する数の標的配列が存在し得る。

【0070】

相同な配列は、互いにハイブリダイズすることが公知である。pHおよび温度などのハイブリダイゼーション条件は、必要な場合、例えば、正確に適合するか、または90%以上、もしくは95%以上、もしくは99%以上の相同性を有する配列とのみハイブリダイゼーションを可能にするように変動され得る。他の対(例えば、エピトープに対する抗体)の結合のための条件はまた、選択性に関して所望の結果を得るように変動され得る。

【0071】

上記ヌクレオチド配列は、異常な細胞(例えば、癌細胞)に見出されるヌクレオチド配列に対応する配列であり得、そして上記抗体は、病原性細菌またはウイルスの表面上のエピトープに結合する抗体であり得る。

【0072】

ペプチド核酸配列(PNA)またはRNAは、センサー内で、DNAの代わりに使用され得ることが理解される。

【0073】

レセプターを入手し、それをセンサー材料上に配置するための技術は、分子生物学(組換え技術を含む)、微生物学、細胞生物学、生化学および免疫学(これらは、当業者の範囲内である)の一般的に従来式の技術である。このような技術は、文献(例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第二版(Sambrookら、1989); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait編、1984); Animal Cell Culture (R. I. Freshney編、1987); Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. WeiおよびC. C. Blackwell編); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. MillerおよびM. P. Calos編、1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubelら編、1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction (Mullisら編、1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coliganら編、1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley & Sons、1999))に十分に説明されている。

【0074】

病原性細菌および/またはこのような細菌の抗原もしくはエピトープに結合する抗体は、センサー材料内、またはそれ上のレセプターとして使用され得る。E. ColiまたはSalmonellaの病原性株が代表的である。上記レセプターは、種々の広範なSalmonellaであり得、それらとしては、公知の群、種または株の任意のものが挙げられ、より好ましくは、群A、BまたはDのものが挙げられ、それらは、特定の脊椎動物宿主の特定の病原体であるほとんどの種を含む。生ワクチンを製造され得るSalmonellaが原因の疾患の例は、S. typhimurium; S. enteritidis、S. typhi; S. abortusovi; S. abortus-equi; S. dublin; S. gallinarum; S. pullorum; ならびに哺乳動物に感染を引き起こすことが既知であるか、またはそのことが発見され得る他の種である。

【0075】

それらに対する抗体がレセプターとして使用され得る他の生物としては、Yersinia spp. (特に、Y. pestis); Vibrio spp. (特に、V. cholerae); Shigella spp. (特に、S. flexneriおよびS. sonnei); Haemophilus spp. (特に、H. influenzae

10

20

30

40

50

(より具体的にはb型)); *Bordetella* (特に、*B. pertussis*); *Neisseria* (特に、*N. meningitidis* および *N. gonorrhoeae*); *Pasteurella* (特に、*P. multocida*); 病原性 *E. coli* ; および *Treponema* (例えば、*T. pallidum*); ならびに哺乳動物において感染症を引き起こすことが公知であるかまたは哺乳動物において感染症を引き起こすことが発見され得る他の生物が、挙げられる。

【0076】

他の病原性細菌は、当該分野で公知であり、それらの病原性細菌としては、例えば、*Bacillus* (特に、*B. cereus* および *B. anthracis*); *Clostridium* (特に、*C. tetani*、*C. botulinum*、*C. perfringens*、および *C. difficile*); *Corynebacterium* (特に、*C. diphtheriae*); *Propionibacterium* (特に、*P. acnes*); *Listeria* (特に、*L. monocytogenes*); *Erysipelothrix* (特に、*E. rhusiopathiae*); *Rothia* (特に、*R. dentocariosa*); *Kurthia* ; *Oerskovia* ; *Staphylococcus* (特に、*S. aureus*、*S. epidermidis*、および *S. saprophyticus*); *Streptococci* (特に、*S. pyogenes*、*S. agalactiae*、*S. faecalis*、*S. faecium*、*S. bovis*、*S. equinus*、および *S. pneumoniae*); *Klebsiella* (特に、*K. pneumoniae*); *Enterobacter* (特に、*E. aerogenes*); *Serratia* ; *Proteus* (特に、*P. mirabilis*); *Morganella* (特に、*M. morganii*); *Providencia* ; *Pseudomonas* (特に、*P. aeruginosa*); *Acinetobacter* (特に、*A. calcoaceticus*); *Achromobacter* (特に、*A. xylosoxidans*); *Alcaligenes* ; *Capnocytophaga* ; *Cardiobacterium* (特に、*C. hominis*); *Chromobacterium* ; *DF-2 Bacteria* ; *Eikenella* (特に、*E. corrodens*); *Flavobacterium* ; *Kingella* (特に、*K. kingae*); *Moraxella* ; *Aeromonas* (特に、*A. hydrophila*); *Plesiomonas* (特に、*P. shigelloides*); *Campylobacter* (特に、*C. jejuni*、*C. fetus* ssp. *fetus*、*C. coli*、*C. laridis*、*C. cinaedi*、*C. hyointerstitialis*、および *C. fennelliae*); *Bruceella* (特に、*B. melitensis*、*B. suis*、*B. abortus*、および *B. canis*); *Francisella* (特に、*F. tularensis*); *Bacteroides* (特に、*B. fragilis* および *B. melaninogenicus*); *Fusobacteriaria* ; *Veillonella* ; *Peptostreptococcus* ; *Actinomyces* (特に、*A. israelii*); *Lactobacillus* ; *Eubacterium* ; *Bifidobacterium* ; *Arachnia* ; *Legionella* (特に、*L. pneumophila*); *Gardnerella* (特に、*G. vaginalis*); *Mobiluncus* ; *Streptobacillus* (特に、*S. moniliformis*); *Bartonella* (特に、*B. bacilliformis*); *Calymatobacterium* (特に、*C. granulomatis*); *Mycoplasma* (特に、*M. pneumoniae* および *M. hominis*); *Mycobacterium* (特に、*M. tuberculosis* および *M. leprae*); *Borrelia* (特に、*B. recurrentis*); *Leptospira* (特に、*L. interrogans*); *Spirillum* (特に、*S. minor*); *Rickettsiae* (特に、*R. rickettsii*、*R. conorii*、*R. tsutsugamushi*、および *R. akari*); *Chlamydiae* (特に、*C. psittaci* および *C. trachomatis*) が、挙げられ

る。

【 0 0 7 7 】

上記感知材料は、ほぼ純粋なヌクレオチド（例えば、90%以上のDNA、または95%以上のDNA）であり得る。さらに、この実施形態および他の実施形態において、上記標的分子は、体積変化を増幅する。例えば、1単位体積の標的分子は、5倍以上、10倍以上、20倍以上の単位の体積変化（拡大もしくは縮小）を引き起こす。

【 0 0 7 8 】

（崩壊性ポリマー）

ポリマーは、ファンデルワールス力を示し得る。これらの力は、原子間引力または分子間引力である。これらの力は、永久双極子モーメントを有さない分子に関連する双極子モーメントのゆらぎの間の相互作用に起因する。これらの双極子は、その原子または分子の、そして隣接する原子または分子の、正電荷および負電荷の瞬間的非対称性から生じる。これらの双極子は、逆並行方向で整列する傾向があり、それにより、正味の引力を生じる。この力は、イオンなどの荷電領域間の距離の7乗と反比例して変化する。

【 0 0 7 9 】

上記のように、ファンデルワールス力は、永久双極子モーメントを有さない分子に関連する双極子モーメントのゆらぎの間の相互作用に起因する。従って、ヒドロゲルが、疎水性基と親水性基との両方を有するモノマーまたはモノマー群から調製され得る。このヒドロゲルは、第一環境において正常な水和状態にあり得る。この第一環境は、純水中で、このヒドロゲルが上部臨界完溶温度を示す種々の疎水性基および親水性基の配置に起因し得る。この臨界完溶温度とは、その温度が増加した場合に、上記ポリマーの溶解度が低くなることを意味する。所定温度において、上記ポリマーは、崩壊する。例えば、約37において、ポリマー-n-イソプロピルアクリルアミドは、崩壊する。上記ポリマーは、形成されるポリマー上の疎水性基のファンデルワールス相互作用が、水とそのポリマーの極性親水性部分とのファンデルワールス水素結合を上回る点において、崩壊する。従って、n-イソプロピルアクリルアミドポリマーを用いる場合、その崩壊は、疎水性n-イソプロピル基のファンデルワールス相互作用が、水と、水素結合の極性アクリルアミド部分とのファンデルワールス水素結合を上回る点で生じる。その時点で、そのポリマーの疎水性鎖は、互いに引き付けて、比較的強固なコイル構造を形成する。この開示を読む当業者は、種々の量比の疎水性基および親水性基から構成されるそのようなポリマーが、水中の化学種を感知するために使用され得ることを、理解する。例えば、水中の疎水性化学種を、そのポリマーが崩壊する温度に対するこれらの種の影響に起因して、検出することが可能である。このポリマーは、純水中で特定の温度にて崩壊するように設計され得る。従って、そのポリマーが上記温度において崩壊しない場合、化学種が、その水中に存在することが公知である。

【 0 0 8 0 】

当業者は、上記の型のポリマーを、種々の異なる様式でセンサとして使用し得ることを、認識する。収縮または膨潤などによって、そのポリマーが「崩壊する」が単に体積を変化させることは、必要ではない。目的とする化学物質の非存在下でのポリマーゲルの初期体積を決定し、その後、目的とするその化学物質の存在下でそのポリマーゲルの体積をモニターすることが、可能である。目的とする化学物質または分析物が、疎水性である場合、その化学物質は、ヒドロゲルの疎水性部分と関連し、それによって、ファンデルワールス引力を増加させ、そしてそのゲルが水中にある場合に収縮または膨潤を引き起こす影響をそのゲルに対して有する。

【 0 0 8 1 】

第一環境（例えば、純水）中のゲルのUCSTを測定し、その後、検出されるべき特定の化学物質（分析物種）の存在下でそのゲルのUCSTをモニターすることが、可能である。そのUCSTは、そのヒドロゲルの体積を温度の関数として測定することによって、簡便に測定され得る。この測定は、例えば、圧電抵抗マイクロ片持ち梁を使用して、実行され得る。あるいは、この測定は、示差走査熱量計を使用することなどによって、温度の

10

20

30

40

50

関数としてサンプルの熱流を測定することによって、実行され得る。

【0082】

(相変化結晶性ポリマー)

十分に規定された一次相変化(融解および結晶化)を示すポリマーが、有利に使用される。なぜなら、それらのポリマーは、粘度および体積のうちの1つ以上が、融解凍結転移に関連する特異的体積変化に起因して突然変化するからである。結晶化ポリマーの例としては、ポリエチレン、ポリプロピレン、エチレンと二級モノマー(酢酸ビニル、アクリル酸エチル、メタクリレート、アクリル酸、プロピレン、高級オレフィンが挙げられるが、これらに限定されない)とのコポリマー、プロピレン、ポリテトラヒドロフラン、アジピン酸ポリエチレンのコポリマー、ならびにそのホモログおよびアナログ、ならびに例えば、*Polymer Handbook*, 第4版、1999、第VI節、第1頁~第192頁、*Wiley Interscience Publications*において見出され得る他の公知の結晶ポリマーもしくは半結晶ポリマーが、挙げられる。本発明において使用される結晶ポリマーは、好ましくは、融解時に少なくとも2%、好ましくは少なくとも5%、最も好ましくは少なくとも7%の体積変化を有する。融解時の体積変化は、膨張計を介してか、または融点の上および下で比重を測定することによって、容易に測定される。そのポリマーは、測定するために便利な温度(例えば、約-20~約150、好ましくは約5~80、より好ましくは約20~約60)にて融点を示すこともまた、望ましい。これらの温度は、より高温または低温の融解範囲が望ましいものであり得る特定の適用のために使用され得るポリマーの範囲を限定することにはならない、水系において使用するために好ましい。

10

20

【0083】

好ましい相変化結晶ポリマーは、側鎖結晶性ポリマーである。側鎖結晶性ポリマーおよびその合成の例は、米国特許第5,120,349号、米国特許第4,830,855号、米国特許第5,665,882号および米国特許第5,783,332号中、ならびに「*Journal of Polymer Science*」: *Macromolecular Reviews* (1974) 8: 117および「*Journal of Polymer Science*」: *Polymer Chemistry Addition* (1981) 19: 1871~1873中に、記載される。側鎖結晶性ポリマーは、時には、「くし型(comb-like)」ポリマーと呼ばれ、市販されている。これらのポリマーは、一般的には、上記に参照される「*Macromolecular Review*」の記事において概説されている。

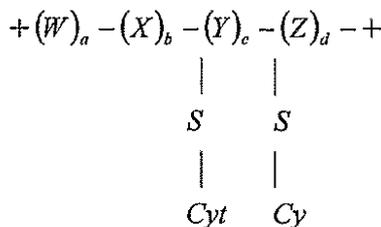
30

【0084】

本発明において使用される側鎖結晶性ポリマーは、一般構造式:

【0085】

【化1】



40

を有し、この式において、WおよびXは、各々、第一モノマー単位および第二モノマー単位であり、このモノマー単位は、隣接する分子部分に接続可能なく(すなわち、重合可能な)任意の分子部分であり得る。YおよびZは、各々独立して、骨格分子単位であり、この骨格分子単位は、任意の分子部分または原子であり得る。各Sは、独立して、連結基またはスペーサー単位であり、必要に応じて存在する。CytおよびCyは、各々独立して、個々の骨格に直接的にかまたはスペーサー単位を介して接続された、結晶性部分である。a、b、c、dおよびeは、各々、独立して、0~1,000の範囲の整数であり、但し

50

、すべてが0ではなく、その結果、十分なCytおよびCyが存在して、W、X、YおよびZのMwの合計の2倍以上であるMwが提供される。さらに、上記ポリマーは、少なくとも5ジュール/g、好ましくは約10ジュール/gの融解熱(Hf)を有する。変数a、b、cおよびdが1よりも大きい場合、モノマー単位W、X、Y、およびZは、反復単位であり得るか、または種々のモノマー単位の混合物であり得ることが、理解される。例えば、「a」が100である場合、Wは、スチレン、酢酸ビニル、アクリル酸、メチルスチレン、およびアクリル酸ヘキサデシルの5:5:2:5:83の比の混合物であり得る。従って、モノマー単位W、X、YおよびZのいずれかが、重合可能なモノマーの混合物であり得る。

【0086】

上記ポリマーは、望ましい場合には、溶解度特徴を改変するため、特異的結合を増強するために、極性基を含み得る。例えば、アクリル酸からのカルボン酸の付加により、増加した結合能力とアミンに対する選択性とを有するポリマーが、生成される。さらに、上記ポリマーは、化学的に結合された抗体、DNA配列、イオン特異的リガンド、または1つ以上の分析物に対する感受性または選択性を増強するように設計された他のレセプター部位を、有し得る。

【0087】

上記ポリマーの骨格(W、X、YおよびZにより規定される)は、任意の有機構造(脂肪族炭化水素または芳香族炭化水素、エステル、エーテル、アミドなど)、あるいは無機構造(スルフィド、ホスファジン、シリコンなど)であり得る。スペーサー結合は、適切な任意の有機単位または無機単位(例えば、エステル、アミド炭化水素、フェニル、エーテル、またはイオン塩(例えば、カルボキシアルキルアンモニウムイオン対、カルボキシルスルホニウムイオン対もしくはカルボキシアルキルホスホニウムイオン対、または他の公知のイオン塩対))であり得る。側鎖(S、CytおよびCyにより規定される)は、脂肪族側鎖であっても、もしくは芳香族側鎖であっても、または少なくとも10個の炭素原子の脂肪族側鎖と、少なくとも6個の炭素原子を含むフッ化脂肪族側鎖と、アルキルが8~24個の炭素原子を含むアルキルスチレン側鎖との組み合わせであってもよい。

【0088】

任意の側鎖部分の長さは、通常は、アクリレート、メタクリレート、ビニルエステル、アクリルアミド、メタクリルアミド、ビニルエーテル、およびオレフィンの場合には、側鎖間の距離の5倍よりも長い。ブタジエンとのフルオロアクリレート交互コポリマーの極端な場合、その側鎖は、分枝間の距離とほんの2倍程度の長さであり得る。いずれの場合においても、その側鎖単位(一般的には、10~30炭素、好ましくは12~18炭素の長さ)は、上記ポリマーの体積の50%よりも多くを構成し、好ましくはその体積の65%よりも多くを構成する。側鎖ポリマーに付加されるコモノマーは、通常は、結晶性に対して有害な影響を有する。少量の種々のコモノマーが、通常は、10体積パーセント~25体積パーセントまで許容され得る。

【0089】

結晶ポリマー(側鎖結晶ポリマーを含む)は、添加された化学物質の存在に対して高度に感受性である融点または融解範囲を有することが、見出された。従って、精製された場合に48で融解する側鎖結晶ポリマー(例えば、ポリオクタデシルアクリレート)は、そのポリマーが少量の有機化学物質(例えば、トルエンまたはヘプタン)を含む(そのポリマー中に溶解または分子分散している)場合に、有意に低い温度で融解する。

【0090】

(浸透圧に応答性であるヒドロゲルの温度特性)

本発明のなお別の局面において、本明細書中に記載される型の浸透圧応答性ヒドロゲルの浸透圧特性と熱特性との間に強い相関性が存在することが、示された。例えば、より浸透圧が高い溶液は、より低い熱容量と、より低いピークおよび開始温度とを有する、ポリマーを生じる。

【0091】

10

20

30

40

50

温度感受性ヒドロゲルは、マイクロアクチュエーターとしての利用性に起因して、文献中に十分に記載されている。ヒドロゲルの温度感受性は、所定温度における膨潤の程度が突然減少することによって示される。この現象は、伸長したコイルから球状構造へとヒドロゲルが熱誘導性崩壊することに原因がある(D. Kucklingら、Polymer Bulletin 2000, 44, 269)。これが生じる温度は、下部臨界完溶温度(LCST)と呼ばれる。このLCSTは、実際には相転移であり、これは、物質の融解の間の融解熱と同様の吸熱性熱エネルギー移動を含む。

【0092】

示差走査熱量計(DSC)は、膨潤したヒドロゲルのLCSTを決定するための簡便な方法として、同定されている。そのゲルの小さい水和サンプルが、密封された皿中にて調製され、その後、目的の温度範囲を通して上昇させるためにDSCのセル中に配置される。温度の関数として熱事象を示すプロットが、得られる。完全に膨潤したゲルから崩壊したゲルへの相転移の間の熱容量変化に対応する大きな吸熱ピークが、出現する。この熱事象は、ゲル溶液中の水の沸点よりも十分下で生じる。

【実施例】

【0093】

以下の実施例は、当業者に、本発明を作製して使用する方法的完全な開示および説明を提供するために示される。以下の実施例は、本発明者らが自身の発明であると見なすものの範囲を限定することは意図されず、本発明者らが、下記の実験を、実施したすべての実験または唯一の実験であると示すことも意図されない。使用した数字(例えば、量、温度など)に関する精度を保障する努力を行ったが、いくらかの実験誤差および偏差が、計上されるべきである。他のように示されない限り、部は、重量部であり、分子量は、重量平均分子量であり、温度は、であり、圧力は、大気圧またはほぼ大気圧である。

【0094】

(実施例1)

(ヒドロゲルポリマー)

ポリマーを、200,000ダルトンと500,000ダルトンとの間の分子量(MW)を有するヒドロキシプロピルアクリレートを含んで、調製する。得られるポリマーを、酢酸エチルで洗浄して、残留モノマーを除去する。これを、酢酸エチル：テトラヒドロフランの1：1混合物中に25%固体で溶かす。

【0095】

3gのポリマー固体サンプルに、0.2%w/w PFAZ 233多官能性架橋剤(BAYER)を添加し、ガラス製ペトリ皿上に成型する。このポリマーに架橋させ、90にて12時間乾燥させる。

【0096】

そのポリマーの水分取り込みを、種々の浸透圧において測定する。それは、浸透圧特性の変化に対して高度に応答性であることが観察される。ヒドロゲルポリマーに関するさらなる詳細が、下記の実施例8において提供される。

【0097】

(実施例2)

(浸透圧重量モル濃度センサ)

上記のようなポリマー溶液を、10%固形分に希釈し、そして1.0mmの厚さのガラスチップを、この溶液で浸漬コーティングし、そして乾燥させる。得られたポリマーフィルムは、約25ミクロンの厚さである。圧電感受性微小片持ち梁(Vecco)(およびその電機接触点(はんだワイヤを含む))を、2部のエポキシの10%固形分の溶液で2回浸漬コーティングし、そして90で乾燥させる。次いで、この型持ち梁を、ガラスチップの近位に設置し、その結果、この型持ち梁は、このポリマーの表面にちょうど接する。得られたアセンブリを、2回目として浸漬コーティングして、この型持ち梁を包埋する。

【0098】

このセンサは、ヒト唾液について目的の範囲の浸透圧重量モル濃度 (50 ~ 200 mOsmol) の変化に、予測可能に応答する。このようなセンサに対するさらなる詳細は、以下の実施例 8 に提供される。

【0099】

(実施例 3)

(pH センサ)

ポリマーを、以下：

85 g のアクリル酸ヒドロキシプロピル

13 g のアクリル酸エチルヘキシル

2 g のアクリル酸

を重合させることによって、調製する。

10

【0100】

得られたポリマーを精製し、そして酢酸エチルに溶解する。

【0101】

センサを、実施例 1 および 2 に記載されるように作製し、そして 5 ~ 9 の範囲にわたる pH に応答する。最も劇的な応答は、pH 7 と pH 9 との間で見られ、そしてこれは、急激な溶解度の変化に対応する。

【0102】

第二の pH 応答性ポリマーを、ヒドロキシ - エチル - メタクリレートおよびアクリル酸を使用して、調製した。架橋の際に、このポリマーは、pH 5 において開始し、そして pH 6.5 において終了する、膨潤の急激な増加を示した。

20

【0103】

(実施例 4)

(痘瘡ウイルス検出器)

ポリマーを、溶媒として DMF 中で、以下：

N - イソプロピルアクリルアミド (98)

アクリル酸 (0.5)

N - ヒドロキシスクシンイミドメタクリレート (N - hydroxy succinimide methacrylate) (NHSI) (1.5)

から調製する。

30

【0104】

得られたポリマーを、水に溶解させ、そして痘瘡モノクローナル抗体と反応させる。過剰の NHSI 基が、メチルアミンと反応する。

【0105】

ポリマーをセンサに適用し、そして Xama 7 (Bayer) を使用して架橋させ、そして pH 7.5 の緩衝液で平衡化する。非活性化痘瘡ウイルスまたはワクシニアアナログの導入は、ヒドロゲルの体積の急激な減少および引き続く片持ち梁の抵抗変化を引き起こす。

【0106】

(実施例 5)

(DNA センサ)

ポリマーを、実施例 4 においてと同様に調製し、次いで、アミノ官能性一本鎖 DNA セグメントと反応させる。

40

【0107】

このセンサは、相補的 DNA 鎖に対して選択的に応答する。

【0108】

(実施例 6)

(イオン選択的センサ)

ポリマーを、n - イソプロピルアクリルアミドおよび 1 - アクリルアミドベンゾ 18 - クラウン - 6 エーテルおよびアクリル酸から調製する。このセンサは、鉛のようなようイ

50

オンに対して選択的に応答性であり、そしてナトリウムよりもカリウムに対して、選択的である。

【 0 1 0 9 】

(実施例 7)

(溶媒センサ)

ポリマーを、以下の酢酸ブチル中での重合によって、調製した :

アクリル酸オクタデシル (9 5)

アクリル酸 (5)。

【 0 1 1 0 】

得られたポリマーを、0.2%のヘキサメチレンジイソシアネート架橋剤で溶媒キャストリングして、微小片持ち梁センサを作製した。このセンサデバイスは、温度計および加熱要素を有し、その結果、このセンサは、45 に維持される。このセンサは、25 に維持された匹敵するセンサの10倍の感度で、トルエン蒸気に応答する。この増加した感度は、低レベルのトルエンが、このポリマーの融点を降下させ、これによって、相変化および引き続く体積膨張を誘導する能力に起因する。

10

【 0 1 1 1 】

(実施例 8)

(浸透圧重量モル濃度感知ポリマー)

本発明の別の実施形態は、口内への付着 (例えば、歯肉、歯または頬への付着) のために設計された、非侵襲性脱水センサは、水が組織から失われる際の、唾液の浸透圧重量モル濃度の変化をモニタリングし得る。この感知材料のポリマーは、唾液中で棒準して、低い浸透圧重量モル濃度の溶液 (十分に水和した高校流体を表す) を模倣し、そして身体の脱水の開始の際の、小さい浸透圧重量モル濃度の増加に応答して、有意に収縮する。文献の研究は、完全に水和および脱水した固体に付いての関連する唾液の浸透圧重量モル濃度の範囲が、50 ~ 200 mOsmであることを明らかにした。センサ材料は、好ましくは、以下の特徴を有する :

20

強い浸透膨潤応答。

低い浸透圧重量モル濃度の水性媒体中での、延長した時間にわたる安定性。

溶液加工可能性 (浸漬コーティング、スピンコーティングなど)。

ケイ素、ガラス、アルミニウム、セラミックへの結合。

30

乾燥した際に亀裂を生じない。

安全であり、非毒性であり、そして不活性である。

【 0 1 1 2 】

これらの特徴を有する特殊な材料としては、以下のポリマーの形態が挙げられる : 酢酸ビニルのポリマーおよびコポリマー ; 酢酸ビニルホモポリマー ; 酢酸ビニル / プロピオン酸ビニル ; エチレン / 酢酸ビニル ; 酢酸ビニル / アクリル酸エステル ; ビニルアルコール / エチレンのコポリマー ; 親水性熱可塑性ポリウレタン ; ならびにアクリルヒドロゲル。

【 0 1 1 3 】

(市販のポリマー候補物の試験)

他のポリマーを、「0」浸透圧重量モル濃度および高浸透圧の浸透圧重量モル濃度の水性媒体中への浸漬時間の関数として、ポリマーの重量増加の比重測定を包含する試験を用いて、適合性について試験し得る。スクリーニング試験に合格するためには、ポリマーフィルムは、脱イオン水 (0 Osm / Kg) への浸漬と 5% NaCl 溶液 (約 1.3 Osm / Kg) への浸漬との間での、強い膨潤差を示すべきである。本発明者らの最初のスクリーニング試験の結果を、表 1 に示す。

40

【 0 1 1 4 】

【表 1】

表 1. 市販の親水性ポリマーの浸透応答の結果

ポリマー	組成	膨潤比 脱イオン水:4% NaCl	合格 / 失格	正当化 (解説)
PVAc	ポリ酢酸ビニル	2.5	失格	Tg = 45 C
Flexbond 325	PVAc-co-酢酸 ブチル	3.1	失格	低い比
Airflex 500	PVAc-co-エチレン	6.8	合格	乏しい接着に伴う 問題
Airflex EF811	PVAc-co-エチレン	9.8	失格	離れ落ちた
EVAL L171A	エチレンビニルアル コールコポリマー	1.1	失格	低い比
Estane 58245	ポリウレタン	1.1	失格	低い比

示されるように、Airflex (PVA-co-エチレン) ポリマーは、最も高い膨潤比を示した。しかし、Airflex EF811は、失格であった。なぜなら、これらのフィルムは、高い膨潤に反応して、分解したからである。Airflex 500は、合格したが、高い膨潤の間に、乏しい接着を示した。このことは、この材料の分解を示唆した。従って、これらの候補物は、本発明者らの感知ポリマー用途に対する全体的な設計基準に失格であった。

【0115】

一連の市販のポリマーについての試験結果は、以下の結論を導いた：

膨潤は、ポリマーの極性に関連する。

膨潤比は、構造に基づいて容易には予測されない。

高い膨潤は、一般に、乏しい結合をもたらす。

膨潤応答は、薄いフィルムを用いると、迅速であり、かつ増大し得る。

【0116】

ヒドロゲル型のポリマーを、浸透圧重量モル濃度感知材料として、試験した。DI水中の架橋したポリアクリルアミド (Soil Moist) 試験溶液および4% NaClの試験溶液の浸透膨潤応答を、試験した。このポリマーは、12という非常に劇的な膨潤比を与えた。

【0117】

生物学的に関連のある浸透圧重量モル濃度での応答を試験するために、乾燥ポリアクリルアミドを、一連の低浸透圧溶液中に浸漬し、そして平衡における水の吸収を測定した。図8は、0.25%、0.5%、および0.75% (低浸透圧の浸透圧重量モル濃度85 mOsm/kg, 171 mOsm/kg, および256 mOsm/kgに対応する) のNaCl濃度を有する溶媒中で観察された、膨潤の差を示す。示されるように、このポリアクリルアミド材料は、各小さい増分の濃度変化について、大きい膨潤差を示した。

【0118】

この膨潤挙動は、頑丈な浸透圧重量モル濃度応答に対する基準に適合した。しかし、原材料は、デバイス製造の間、シリコン基板上にポリマーフィルムをキャストするために、可溶性/加工可能でなければならない。これらの基準は、現在の市販の架橋したポリアクリルアミド (例えば、Soil Moist) によっては適合されなかった。従って、薄いフィルムに容易に加工され得、引き続いてインサイチュで架橋反応工程を行い得る、あつらえのヒドロゲルプレポリマーを設計することが、必要であった。

【0119】

(浸透圧重量モル濃度センサとしてあつらえ設計されたヒドロゲル)

アクリルアミド (AM) ベースのヒドロゲルポリマーは、水和センサ適用のために、非常に有望であるようであった。それは、以下に起因する：

10

20

30

40

50

高い絶対膨潤比。

強い浸透応答。

文献において公開された広範な研究知見。

調整する目的で広範なモノマーと重合する能力。

【0120】

架橋していないか、または相分離した疎水性ブロックのかなりの量が欠乏したポリアクリルアミド(PAM)フィルムは、水溶液中に溶解し、そして機械的一体性を失う。この理由により、市販のPAM(すなわち、電気泳動ゲルの調製のためのもの)は、いずれも、好ましい結果を与えなかった。その結果、様々な量の親水性特徴を有する一連の樹脂を調製した。これらは、以下のように列挙される：

1. ポリメタクリルアミド-co-メタクリル酸(PMAM-co-MAA)(99:1%w/wおよび98:2%w/w)

2. エチルヘキシルアクリレート-co-アクリルアミド(EHA-co-AM)(80:20%w/w、70:30%w/wおよび45:55%w/w)(各々が、低レベルのアクリル酸を含む)。

【0121】

これらのPAMは、フィルムが乾燥するにつれて、ポリマー中のカルボン酸基と反応する市販の架橋剤(例えば、Xama 2(Bayer Corp.))を添加することによって、フィルムを成型した後、潜在的な架橋を起こす能力を有する。

【0122】

(PMAM-co-MAAヒドロゲルの合成および特徴づけ)

PMAM-co-MAAヒドロゲル前駆体を連続的に合成および精製した。これらの物質を、架橋剤であるZinplex 15(これは、フィルムが乾燥するにつれ、カルボキシル基と反応した)を含有する水溶液からフィルムを成型した。得られたフィルムは脆弱であり、完全に乾燥すると、ひびが入った。いくつかのフィルムは、ひび割れを避けるために部分的に水和したままにし、次いで、膨潤について試験するために水溶液中に浸した。目に見える膨潤が生じたが、このゲルは、寸法の安定性を維持することができず、この材料のほとんどは溶解した。従って、PMAM-co-MAA材料はセンサー材料には好ましくなかった。

【0123】

(EHA-co-AMヒドロゲルの合成および特徴づけ)

EHA-co-AMヒドロゲル前駆体の合成により、高AMモノマー含量(すなわち、45%w/w)が、酢酸エチル:エタノール(60:40)中での重合の間にいくつかのポリマーの沈殿を生じたことが明らかになった。しかし、より低いAMレベル(20%w/wおよび30%w/w)を含んだ2つのEHAコポリマーを、連続して調製した。30%AMコポリマーの場合、反応の間の可溶性は、酢酸エチルを含む共溶媒(25:75)のようなDMAcを使用して確認した。

【0124】

これらの2つのコポリマーの浸透圧応答を、一連の低張(0.1~0.75%w/v)および高張(1%w/wおよび4%w/w)のNaCl溶液を使用して特徴付けた。結果は、EHA-co-AM(30%AM、BM09-012)が最も有望な候補であることを示した。なぜならば、これは、クラッキング/剥離に抵抗しながら、迅速かつ再現性のある応答を生じたからである。図9は、一連のNaCl溶液に対する浸透圧の関数としてプロットしたフィルムの平衡吸水度を示す。示されるように、これらのフィルムは、生物学的対象の範囲(50~200mOsm)内での浸透圧の増減のように、大きな浸潤の差異を示した。しかし、いくつかのポリマーは、延長された浸潤の間、特に、低い浸透圧において試験溶液に溶解した。

【0125】

分別沈殿/洗浄を使用してポリマーを精製し、次いで、Xama 2を添加して架橋フィルムを調製することによって、BM09-012の安定性を最適にするための試みがな

10

20

30

40

50

された。修飾されたポリマーフィルムの浸透圧応答は、未修飾のバージョンのものに匹敵した。しかし、このフィルムは、低い浸透圧において不安定なままであった。

【0126】

EHA-co-AMヒドロゲル前駆体の特性は、分子量を最適にしながら、親水性-疎水性のモノマー単位の分布の良好な制御を生じる重合条件を設計することによって改善され得る。さらに、低い浸透圧において安定なままの浸透圧感受性のヒドロゲルを得るための比率および架橋剤の型を最適化することが可能である。

【0127】

(ヒドロキシプロピルアクリレートに基づくヒドロゲルの合成および特徴づけ)

浸透圧感受性のヒドロゲルを、代替的な親水性アクリル系モノマーである1-ヒドロキシプロピルアクリレート(HPA、Rocryl 430-Rohm and Haas)に基づいて設計した。異なる分子量%のHPAを含む一連のHPAベースのポリマー(表2に示す)を連続して調製した。

【0128】

HPAモノマーは、HPAホモポリマー中に1%w/wまでのカルボキシル基を供給し得る、アクリル酸副産物を含む。本発明者らのHPAヒドロゲルプレポリマーにおけるカルボキシル基の低いレベルは、反応性の多官能性アジリジン(Xama 2およびPFAZ 322)に対する架橋部位を提供した。

【0129】

いくつかの場合、本発明者らは、架橋剤としてジフェニルメタンジイソシアネート(MDI)を利用した。これは、HPAの-OH基とは優先的に反応するが、低レベルのカルボキシル基となお架橋し得る。

【0130】

【表2】

表2. HPAベースのヒドロゲルの浸透圧応答の結果

ポリマー	組成物	架橋剤	膨潤比 0.25%:1.0% NaCl	評価/ コメント
BM09-014	HPA-co-EHA 60:40	Xama 2 (0.05% w/w)	8.8	良好な浸透圧応答/ 大きな可溶性画分
BM09-015	HPA-co-EHA 50:50	MDI (0.25% w/w)	1.0	低い浸透圧応答/ 低い吸水率
BM09-019	HPA-co-EHA 75:25	MDI (0.25% w/w)	1.6	良好な浸透圧応答のための予浸
BM09-032	HPAホモポリマー	PFAZ 322 (0.77% w/w)	1.4	良好な浸透圧応答 (予浸なし)

これらのHPAベースのヒドロゲルの浸透圧膨潤応答を、以下の濃度/浸透圧の一連のNaCl溶液を使用して評価した:

0.1% NaCl、約34.2 mOsm

0.25% NaCl、約85.5 mOsm

0.5% NaCl、約171 mOsm

1% NaCl、約342 mOsm。

【0131】

前述のように、大きな測定可能な膨潤の差異が、低い浸透圧と高い浸透圧の間に所望された。スクリーニングのために、0.25%と1%のNaCl濃度の膨潤比を測定し、これを表2に示す。BM09-014ポリマー(60% HPA)は、2つの試験溶液の間で、8.8の高い膨潤比を示した。しかし、0.1% NaCl溶液中に浸潤した別の試験サンプルは、その元の乾燥重量の約80%を失った。ポリマーは架橋剤により完全には「ゲル化」されていなかったため、大きな「ゾル」ポリマーの画分が溶解した。このこと

は、架橋剤のレベルが増えれば、より高いゲルおよびより安定な構造を提供することを示す。

【 0 1 3 2 】

B M 0 9 - 0 1 9 ポリマー (7 5 % H P A) は、所望の浸透圧範囲内で、測定可能かつ再現性のある膨潤応答を示した。しかし、これは、乾燥フィルムが脱イオン水 (p H 8) 中に予浸することによって「馴化される」までは、達成されなかった。上記のように、H P A ポリマーは、低レベルのカルボキシル基を含む。いくらかの酸性基が M D I または X a m a 架橋剤との反応により消費されるが、これらのポリマーは、いくらかの遊離の未反応のカルボキシルをなお含む。高い p H において、これらは、脱プロトン化してカルボキシレートアニオンを形成すると予測される。カルボキシレート官能性は、ポリマーの親水性を増加し、同時に、より高い膨潤が低い浸透圧で生じる。

10

【 0 1 3 3 】

「馴化された」 B M 9 0 - 0 1 9 フィルムの浸透圧膨潤応答を図 1 0 に示す。この系のゲル (架橋) 含量は、大量の材料が低い浸透圧において溶解することを防止するのに十分であった。さらに、膨潤応答は、図 1 1 に示すような低い浸透圧濃度の間で循環するとき、再現性があった。浸透圧試験用得計を、これらの測定のために p H 8 に緩衝化した。将来的な研究は、ヒト唾液の p H 範囲 (6 ~ 7) 内に緩衝化した溶液内で、浸透圧応答を試験することを含む。

【 0 1 3 4 】

ポリマー B M 0 9 - 1 0 1 5 (5 0 % H P A) は、浸透圧の関数としての膨潤応答において相違なかった。この結果は、高い架橋密度と低い H P A 含量の組み合わせが、高い水の取込みおよび膨潤を予防したことを示す。より良い応答を得るために、フィルムを、p H 8 にて、脱イオン水中で「馴化した」。しかし、処理後、浸透圧 / p H 8 試験シリーズ全体の最大吸水率は、2 0 % w / w 未満であり、浸透圧の選択性はなお達成されなかった。従って、このポリマーは、浸透圧選択のための設計基準の観点から好ましくない。

20

【 0 1 3 5 】

より良い浸透圧応答を達成し、フィルムの「馴化」工程に対する必要性を排除するために、H P A ホモポリマー (B M 0 9 - 0 3 2) を調製し、特徴付けた。1 0 0 % の親水性モノマー含量は、浸透圧の選択性を損ねることなく、吸水の速度および量を増加することが予測された。さらに、ポリマーの吸水率を減少させることなく架橋密度が増加され得ると考えられた。より高いゲル含量は、浸漬の間に、低い浸透圧の溶液中へのポリマーの過度の溶解を予防することが予測された。

30

【 0 1 3 6 】

B M 0 9 - 0 3 2 の M D I 架橋フィルムを、浸透圧 / p H 8 シリーズの溶液を使用してスクリーニングした。図 1 2 および 1 3 に示すように、低い浸透圧と高い浸透圧との間で循環する間に、有意な膨潤の差異が観察された。

【 0 1 3 7 】

異なる p H レベルにおける浸透圧膨潤の研究を行い、ヒト唾液の範囲内でのあらゆる差異を確認した。生物学的対象のより低い p H レベルまで緩衝化した唾液模倣溶液 (約 1 0 0 m O s m) を使用し、比較のために 1 0 0 m O s m 溶液 (p H > 8) を使用した。H P A ホモポリマーの平衡吸水率を、図 1 4 において p H の関数としてプロットした。

40

【 0 1 3 8 】

予測されるように、吸水率 (膨潤) は、p H > 7 において顕著であった。このことは、溶液の塩基性が増加するときに形成する、より高いレベルのカルボキシレートに寄与し得る。このポリマーは、完全に水和され、脱水された個体において見られる関連する p H および浸透圧の範囲を含む、一連の唾液模倣溶液において試験され得る。別の選択肢は、ポリマーを合成する前に H P A モノマーを完全に精製することである。ポリマーを作製する前にアクリル酸不純物を除去することにより、p H 感受性が排除される。これは、カルボキシル基が、排除されるからである。

【 0 1 3 9 】

50

浸透圧試験 / スクリーニングの結果は、HPAベースのヒドロゲルが、特に、長い浸漬時間にわたっての感受性および再現可能な応答の点から最も有望であることを示した。HPAホモポリマー (BM09-032) は、以下の理由から、浸透圧感受性のポリマーとして好ましかった：

複雑でない合成技術

単純な精製手順

低い沸点から可溶かつ加工可能であり、環境にやさしい溶媒

ガラスおよびシリコンによく結合する

目に見えるクラッキングを伴わずに、高いレベルの架橋を生じる

馴化 / 精製の工程なしの浸透圧感受性

迅速かつ再現性のある応答

低い浸透圧の水性媒体中で、延長した時間にわたって安定である。

【0140】

BM09-032をマイクロ片持ち梁センサーデバイスに組み込むために、浸漬コーティング法を開発した。浸透圧循環実験の間の抵抗性の変化に基づく膨潤データを得た。

【0141】

(実施例9 浸透圧応答性のヒドロゲルについてのポリマー処方)

(ヒドロゲル前駆体の調製)

ヒドロゲル前駆体を、ヒドロキシプロピルアクリレート (CAS 25584-83-2、約97%純度) とアクリルアミド (CAS 79-06-1、100%純度) を、それぞれのモノマーの85:15重量比で使用して重合することによって調製した。特定の量のヒドロキシプロピルアクリレートおよびアクリルアミドモノマーを、開始剤として少量の過硫酸カリウム (モノマー重量あたり0.15重量%) を含有する水/ジメチルアセトアミド溶液 (70:30) 中に溶解することによって、20%の固体反応溶液を調製した。酸素で反応溶液をパージした後、攪拌しながら60で32時間加熱した。透明かつ粘性のポリマー溶液をゆっくりと室温まで冷却し、次いで、沸騰直前まで加熱された過剰の脱イオン水にゆっくりと添加した。ポリマーは、膨潤ゴム状塊として熱水中に沈殿した。熱い上清流体をデカントし、沈殿を冷却した。透明で粘性のポリマーのストック溶液を、この沈殿をエタノール/水 (94:6) 中に溶解することによって調製した。

【0142】

(前駆体からの架橋ヒドロゲルの調製)

架橋ヒドロゲルを、加熱したときに前駆体ポリマーのヒドロキシル基と反応した、水適合性架橋剤を添加することにより調製した。使用した薬剤は、ヘキサ (メトキシメチル) メラミンファミリーに由来するものであり、これは、中でも、海洋輸送の絵の具およびコーティングを架橋するために一般に使用されている。この型の薬剤の市販の溶液を使用して、ヒドロキシプロピルアクリレート/アクリルアミド前駆体ポリマーの反応性コーティングを調製した。

【0143】

反応性の架橋混合物を、ストック溶液中のポリマー固形物の重量あたり0.1重量%の架橋固形物を添加することにより調製した。この後に、少量の希釈硫酸 (0.1N 硫酸) を添加した。この溶液は、加工の準備ができるまで、室温で安定であった。スピン技術または機械技術を使用してこの溶液を基板に適用することによって、フィルムを成型した。得られた透明なフィルムを、固形物になるまで65にて焼き、そして温度を次第に80~90まで上昇させて、硬化反応が完了させた。

【0144】

(塩溶液におけるヒドロゲルの浸透圧膨潤応答の決定)

(重量測定法)

架橋フィルムを、シラン処理したガラスを基板として使用して、上記のようにして調製した。フィルムの乾燥重量を、最も近い0.1mgに決定した。次いで、このフィルムを、48~160mO s / K gの浸透圧濃度の範囲の一連の塩化ナトリウム水溶液に連続し

10

20

30

40

50

て浸漬し、水の取込みを、定期的にフィルムを除去し、表面をブロッティングし、最も近い 0.1 mg まで重さを量ることによって連続的にモニタリングした。2つの異なる温度： 25 および 37 にて二連または三連の浸漬トライアルを行なった。

【0145】

各温度および浸透圧における平均膨潤等級を、膨潤したゲルの元の乾燥フィルムに対する重量比として算出した。試験溶液の膨潤比 対 浸透圧の代表的なプロットを、図15に表す。示されるように、膨潤全体は、 37 においてよりも 25 においての方が高かった。ヒドロゲルは、それぞれの試験温度において浸透圧が減少するにつれての、膨潤比の顕著な増加により示されるように、浸透圧応答性の挙動を示した。各温度における浸透圧感受性指数を、 160 mOsm/Kg におけるものに対する 48 mOsm/Kg における棒潤の比として算出する。匹敵する値は、ヒドロゲルが、両方の温度における塩濃度の変化に等しく応答性であることを示す。

10

【0146】

(圧電性置き換え法)

反応性架橋ポリマー溶液の薄層(約 0.001 インチ)を、シラン処理したガラスまたはシリコン上に堆積させ、熱硬化させた。硬化した乾燥フィルムを、圧感受性マイクロ片持ち梁の下および圧感受性マイクロ片持ち梁と接触する表面に配置した。反応性ポリマー溶液の液滴を、片持ち梁の先端/フィルムの界面に堆積させ、圧電性材料を硬化フィルムに結合させた。このデバイスアセンブリを、 80 にて焼き、結合線を硬化した。

【0147】

20

マイクロ片持ち梁アセンブリを、集積回路上の電子圧感受性回路に組み込んだ(MEMSデバイス)。これを、マイクロ片持ち梁を横切る抵抗を測定するために、デジタルマルチメーターおよびデータ取得システムに電気接続した。リアルタイムにデジタルデータを取得するマルチメーターを使用して、片持ち梁が、その基線位置から上下に機械的に偏向されるにつれ、抵抗変化をモニターした。マイクロ片持ち梁の下のヒドロゲルフィルム内の寸法の変化は、塩溶液中のその浸透圧膨潤の関数として生じた。これは、片持ち梁の機械的偏向を生じ、これは、基線の抵抗値におけるシフトとして測定した。

【0148】

浸透圧試験のために、片持ち梁/ポリマーアセンブリをまず、 360 mOsm/Kg 濃度の塩(塩化ナトリウム)溶液に浸漬し、抵抗を安定な状態にさせた。次いで、最初の溶液の浸透圧濃度を、連続希釈により系統的に変化させ、抵抗変化によるヒドロゲルの浸透圧膨潤応答を決定した。浸透圧を、所定の容積の脱イオン水を使用してインサイチュで変化させた。脱イオン水は、混合しながら試験チャンバに滴下した。チャンバの温度を、冷蔵恒温水浴を使用して 25 に制御した。各プログラムされた希釈の後に、抵抗応答を安定な状態にさせた。

30

【0149】

図16は、各連続する浸透圧で測定した、安定状態の抵抗値のプロットを示す。示されるように、抵抗変化は、濃度と反比例した。より低い浸透圧において、ヒドロゲルの水取込みは増加し、片持ち梁の下のフィルムを厚くした。このことは、片持ち梁の上方向の偏向を生じ、これは、回路における電気抵抗を低下させた。浸透圧は、 $180 \sim 90 \text{ mOsm/Kg}$ および $90 \sim 45 \text{ mOsm/Kg}$ へと進み、それぞれ、 11 オームおよび 7 オーム抵抗を減少させた。このことは、この濃度範囲内の2倍の浸透圧希釈につき、 9 オームの平均抵抗変化を生じた。重量測定膨潤データ(図1)は、2倍希釈に対応する膨潤比の平均段階的变化が、 0.11 単位であったことを示す。この平均の逆数は、約 9 単位であり、これは、抵抗データと十分に相関する。

40

【0150】

(実施例10)

50 ml の脱気水ジメチルホルムアミド溶液(1:1)中、 70 にて、開始剤として過硫酸カリウムを使用して、 10 グラムの n -イソプロピルアクリルアミドおよび 0.1 g のアクリル酸を重合することにより、ヒドロゲルを調製する。得られたポリマーを 80

50

の水に沈殿させ、乾燥させて、9グラムの冷水可溶性ポリマーを生じる。1グラムのポリマーを10ml テトラヒドロフラン中に溶解し、0.001gのXama 2を添加して、成型溶液を作製する。この溶液を使用して、上記の実施例のような埋め込み型マイクロ片持ち梁を調製し、水和する。

【0151】

センサーを0mOsm/kgの溶液中に入れ、5～60の範囲にわたって、温度の関数として抵抗をモニターした。遷移は、約37にてピークを有するように見える。次いで、センサーを、500ppmの四塩化炭素を含有する水溶液中に置き、同じ温度範囲にわたる応答を測定する。この遷移における時間ピークは、低い方の温度において生じる。この方法を使用して、四塩化炭素 対 遷移温度の校正曲線を作成し得る。

10

【0152】

浸透圧 対 遷移温度の校正曲線を作成する代わりに種々の溶液浸透圧を使用して、類似の試験を実施する。

【0153】

一体型MEMセンサーは、圧感受性マイクロ片持ち梁検知要素A、検知ポリマーB、サーミスタCおよび加熱要素Dから構成される、一体型デバイスとして、容易に作成される。これらの全ては、公知の処理工程を使用して、単一のシリコン集積回路上で容易に生成され得る。

【0154】

(実施例11)

一体型の加熱および温度測定能を有する圧感受性マイクロ片持ち梁センサーを、約100μlのn-オクタデシルアクリレート、トリプロピレングリコールジアクリレート(TPGDA, Sartomer)およびIrgacure 184(Ciba)(98.5:1.0:0.5の比)を光重合することによって実施される。このセンサーを30のエタノール中で12時間リンスして、残留モノマーを除去する。センサーは、45において遷移ピークを示す。次いで、この溶液を500ppmのトルエンを含有する50の水溶液中に30分間入れる。次いで、このセンサーを再検査し、41にある遷移ピークを見出す。

20

【0155】

このセンサーは、より速く平衡化することが所望される場合、ピーク上の温度で、試験溶液に露出され、次いで、この例においてはピーク下の温度に急速に遷移され、そして測定され得るか、または、分析物に露出されその通常の融点の下に維持され得る。

30

【0156】

(実施例12 浸透圧応答性のヒドロゲルのLCSTに対する浸透圧の効果の決定)

(調製および方法)

浸透圧応答性のポリマーを、ヒドロキシプロピルアクリレートプレポリマーおよびジフェニルメタンジイソシアネート(ポリマー固形物の重量あたり1重量%)を含有する溶液からフィルムを成型することによって調製した。硬化した後、フィルムの小さな片を、4つの異なる浸透圧試験溶液の各々に別個に入れた。ヒドロゲルを、室温にて、平衡(約48時間)まで膨潤させた。DSCで走査する直前に、気密パンを使用して、約10mgの膨潤ヒドロゲルサンプルをカプセル化した。DSC(TA Instruments Model 2910)を、5/分の速度で、5～80の間を走査するようにプログラミングした。

40

【0157】

(結果および考察)

図17は、各サンプルから得たDSC温度記録の重ね合せプロットを示す。以下の表1は、HPAサンプルの各々についての熱分析データを列挙する。図18は、最大ピークおよび最小二乗法線形フィット法に従ってプロットされたLCSTデータのグラフを含む。

【0158】

各浸透圧におけるLCSTを、対応するDSC温度記録における吸熱ピークの開始温度

50

として規定した。その値を、2つの線（一本は、最初の基線に対する正接を引き、もう一方は、曲線の最初の下向き勾配に対する正接を引いた）の交差点において計算した。

【0159】

ヒドロゲル浸透圧シリーズ（図17および18、ならびに表1に示す）は、相転移挙動において以下のような傾向を示した：

- LCSTおよび最大ピーク温度は、より高い浸透圧ゲル溶液につき、より低い温度で生じた。全体的な傾向として、遷移温度は、浸透圧が増加するにつれ、連続して減少した（同一のLCST = 28を示した80 mOsmおよび160 mOsmは除く）。
- 遷移エンタルピー（ ΔH ）は、浸透圧が上昇するにつれ減少した
- 回帰分析により、最大ピーク温度およびLCSTは、それぞれ、 $r = 0.916$ かつ $r = 0.883$ での浸透圧と相関することが示された。

10

【0160】

これらの結果は、より高い浸透圧において平衡化されたゲルが、より低い浸透圧溶液で平衡化されたものよりも「延長されていない」（膨潤していない）ことを示唆した。従って、ゲル鎖の「縮み」または崩壊は、より低い温度で生じ、そして、より少ない熱エネルギーを必要とした。

【0161】

【表3】

表3. 架橋ヒドロキシプロピルアクリレートヒドロゲルについてのDSC熱分析データ

グラフ記号	溶液の浸透圧 (mOsm/Kg)	LCST (開始温度、°C)	最大ピーク (温度、°C)	$\Delta H(J/g)$ (遷移エンタルピー)
◆	320	16	30	-132
+	160	28	43	-158
●	80	28	48	-555
—	45	37	57	-593

20

（実施例13 共鳴器ベースの相変化センサー）

共鳴周波数を有する圧電性マイクロ片持ち梁を、0.05% PFAZを含有する実施例7のポリマーで浸漬コーティングし、乾燥させた。乾燥した片持ち梁を、70にて30分間加熱して反応を完了させ、残留溶媒を除去する。コーティングした圧電性片持ち梁を、正確水温浴に入れ、20 ~ 60 の範囲にわたる温度の関数として、共鳴周波数を測定する。共鳴周波数は、約45 まで徐々に変化し、その後、48 にて段階的に変化し、次いで、次第に60 まで徐々に変化する。このプロセスを、50、100および400 PPMのトルエンを含有する水溶液中で繰り返し、徐々に低い相変化温度を生じる。

30

【0162】

（実施例14）

（相変化により分子的にインプリントされたヒドロゲル検知デバイス）

単結晶の石英から作製され、2mm長、200ミクロン幅および100ミクロン厚みの歯を有する市販の音叉は、空気中で3,000のQ値を示した。この共鳴器の共鳴周波数は、約32kHzである。ヒドロゲル前駆体を、過硫酸開始剤を使用して、(8g) 4-ビニルピリジン(1.5g)およびn-メトリルアクリルアミド(0.5g)を重合することによって調製した。このヒドロゲル前駆体をガラスピペットに取り、ポリマー溶液の小さな繊維を2つの歯にわたって橋渡しし、湿度50%にて5分間乾燥させた。次いで、このセンサーを、0.1%硫酸を含有する2%硫酸銅溶液中に5分間入れ、水中でリンスし、80にて3時間乾燥させて、メトリル基を濃縮させて、銅イオンを鑄型にするポリマーを生じた。その後、センサーを、5mlの脱イオン水に入れ、残留の銅イオンを抽出した。得られたセンサーは、亜鉛イオンおよびコバルトイオンよりも銅イオンに対して増強された選択性を有した。

40

50

【 0 1 6 3 】

本発明は、その特定の実施形態を参照して記載されてきたが、種々の変更がなされ得、等価物が、本発明の真の精神および範囲から逸脱することなく置き換えられ得ることが、当業者に理解されるべきである。さらに、特定の状況、材料、重要な組成物、プロセス、プロセスの工程に適合するように、本発明の目的、精神および範囲に対して多くの修飾がなされ得る。このような修飾の全ては、添付の特許請求の範囲内であると解釈される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 6 4 】

【 図 1 】 図 1 は、本発明のセンサーデバイスの実施形態の透視図である。

【 図 2 】 図 2 は、センサー材料と接触していない片持ち梁アームを示す、図 1 の実施形態の側面図である。

10

【 図 3 】 図 3 は、片持ち梁アームの端がセンサー材料に付着している、本発明のセンサーデバイスの別の実施形態の側面図である。

【 図 4 】 図 4 は、片持ち梁アームの一部がセンサー材料の一部の中に含まれている、本発明のセンサーデバイスのさらに別の実施形態の側面図である。

【 図 5 】 図 5 は、各々がレセプターヌクレオチド配列に付着されている 2 つの繊維を示す、感知材料の概略図である。

【 図 6 】 図 6 は、標的分子がレセプター配列に結合されている、図 5 の材料の概略図である。

【 図 7 】 図 7 は、標的配列が 2 つのレセプター配列の各々に結合し、それにより、繊維が一緒に引張られるにつれて材料の収縮を引き起こす、図 6 の材料の概略図である。

20

【 図 8 】 図 8 は、3 つの異なる塩化ナトリウム溶液中での架橋ポリアクリルミドの水取込みを示す、棒グラフである。

【 図 9 】 図 9 は、水取込みの重量 % の増幅率対塩化ナトリウム溶液の浸透圧モル濃度を示すグラフである。

【 図 1 0 】 図 1 0 は、浸透圧モル濃度の関数としての水取込みを示すグラフである。

【 図 1 1 】 図 1 1 は、膨潤対時間のグラフである。

【 図 1 2 】 図 1 2 は、膨潤対浸透圧モル濃度のグラフである。

【 図 1 3 】 図 1 3 は、膨潤率対時間のグラフである。

【 図 1 4 】 図 1 4 は、膨潤率対 pH のグラフである。

30

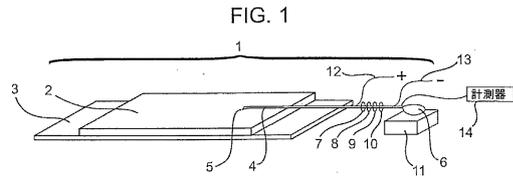
【 図 1 5 】 図 1 5 は、膨潤率対浸透圧モル濃度のグラフである。

【 図 1 6 】 図 1 6 は、抵抗対浸透圧モル濃度のグラフである。

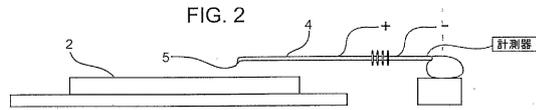
【 図 1 7 】 図 1 7 は、温度対浸透圧モル濃度のグラフである。

【 図 1 8 】 図 1 8 は、熱流対温度のグラフである。

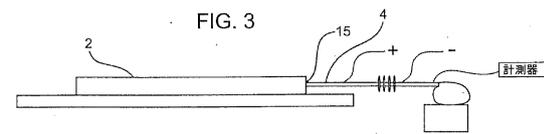
【図1】



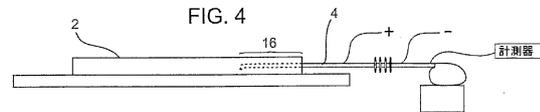
【図2】



【図3】



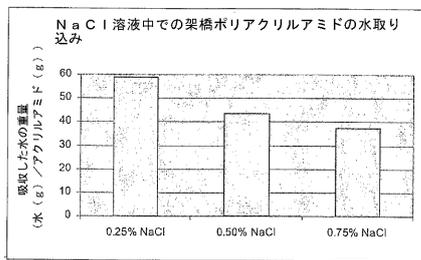
【図4】



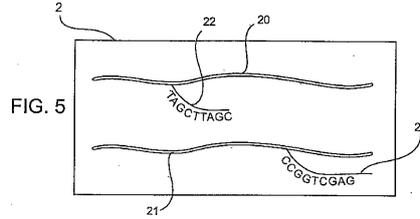
【図8】

Figure 8

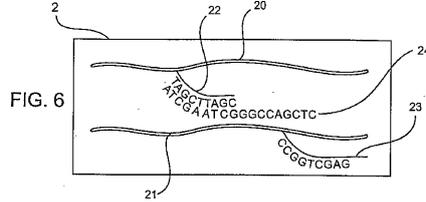
一連の低張NaCl溶液中での架橋ポリアクリルアミド (Soil Moist) の膨潤



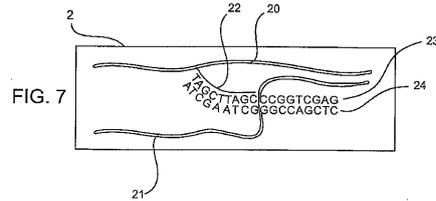
【図5】



【図6】



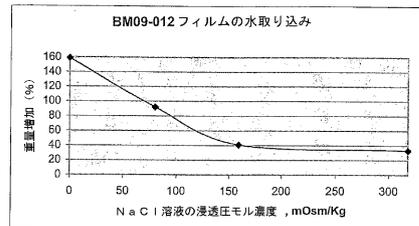
【図7】



【図9】

Figure 9

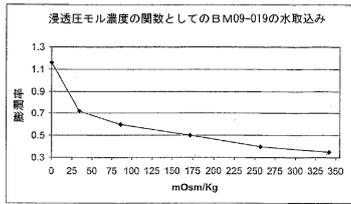
NaCl溶液の浸透圧モル濃度の関数としてのBM09-012ポリマーフィルムの膨潤率



【図 10】

Figure 10

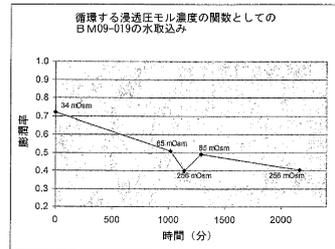
NaCl 溶液の浸透圧モル濃度の関数としてのBM09-019「条件付き」ポリマーフィルムの膨潤率



【図 11】

Figure 11

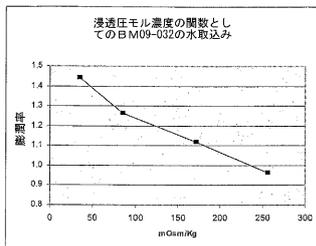
浸透圧モル濃度を介するサイクルの関数としてのBM09-019「条件付き」ポリマーフィルムの膨潤率



【図 12】

Figure 12

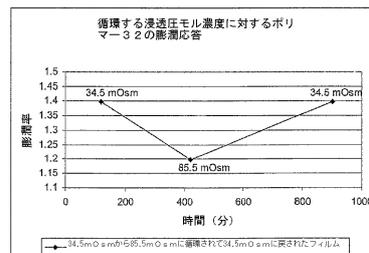
NaCl 溶液の浸透圧モル濃度の関数としてのBM09-032 HPA ホモポリマーフィルムの膨潤率



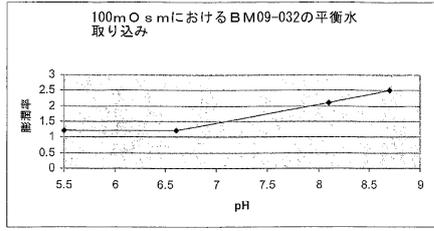
【図 13】

Figure 13

浸透圧モル濃度を介する循環の関数としてのBM09-032 HPA ホモポリマーフィルムの膨潤率



【 図 1 4 】



pHの関数としての、100mOsmにおけるBM09-032 HPAホモポリマーの平衡水吸収

Figure 14

【 図 1 5 】

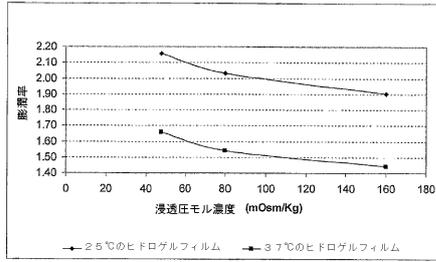
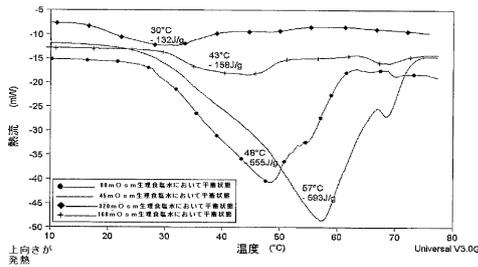


Figure 15. ヒドロキシプロピルアクリレート/アクリルアミドヒドロゲルの膨潤率対浸透圧モル濃度のプロット

【 図 1 8 】

Figure 18. 浸透圧モル濃度の関数としてのピーク最大値の最小二乗線形プロットおよび下限臨界溶液温度 (LCST)



【 図 1 6 】

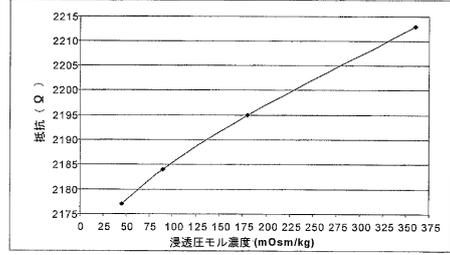
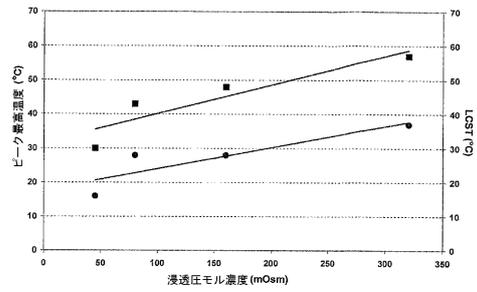


Figure 16. 各連続的な浸透圧モル濃度で測定した定常状態抵抗値のプロット

【 図 1 7 】

Figure 17. LCST転移を示す膨潤したヒドロゲルのDSCスキャンのオーバーレイプロット



【配列表】

0004758342000001.app

フロントページの続き

審査官 高橋 亨

(56)参考文献 米国特許出願公開第2003/0010097(US, A1)

特表2001-505236(JP, A)

特表平05-503996(JP, A)

特表平04-503754(JP, A)

特表2005-528597(JP, A)

特表2001-517307(JP, A)

特開平05-196458(JP, A)

特表2003-528583(JP, A)

特開昭64-015042(JP, A)

米国特許第04912032(US, A)

J.G.Hilt, A.K.Gupta, R.Bashir, N.A.Peppas, A Microsensor Based on a Microcantilever Patterned with an Environmentally Sensitive Hydrogel, Materials Research Society Symposium Proceedings, 米国, Materials Research Society, 2002年, Vol.729, pages U4.8.1-U4.8.6

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

JSTPlus(JDreamII)

G01N 19/10

B81B 3/00

G01N 33/569