



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2011년03월31일
(11) 등록번호 10-1026073
(24) 등록일자 2011년03월24일

(51) Int. Cl.

G06F 19/00 (2011.01)

(21) 출원번호 10-2003-0073051

(22) 출원일자 2003년10월20일

심사청구일자 2008년08월28일

(65) 공개번호 10-2004-0034545

(43) 공개일자 2004년04월28일

(30) 우선권주장

10/278,167 2002년10월21일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

US20020146835 A1

전체 청구항 수 : 총 18 항

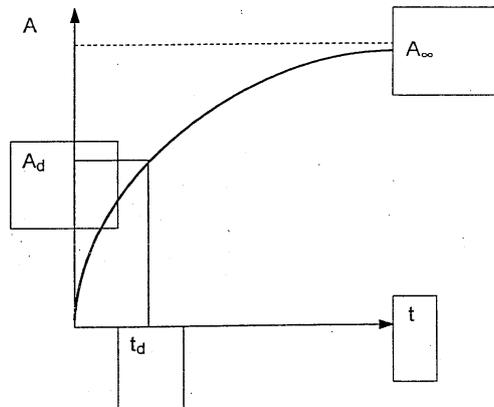
심사관 : 박봉서

(54) 종료점 유형의 반응 프로파일의 검정 시간을 단축시키는 방법

(57) 요약

본 발명은 의학 진단 검정을 용이하게 하고 이러한 검정을 수행하는 데 소요되는 시간을 단축시키기 위한 방법, 장치 및 키트에 관한 것이다. 당해 방법은 반응을 개시하는 단계, 당해 반응과 관련된 관찰 대상의 값 또는 수준을 3개 이상의 상이한 시점에서 측정하는 3개 이상의 측정치를 획득하는 단계 및 이러한 측정으로부터 관찰 대상에 대한 반응 종료점 값을 추정하는 단계를 포함한다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

화학 반응의 진행 정도를 나타내는 관찰 가능한 표지 A를 포함하는 화학 반응을 개시하는 단계(a),
 상기 관찰 가능한 표지에 대하여 제1 시점 t_1 , 제2 시점 t_2 및 제3 시점 t_3 (여기서, 시간 간격 $t_2 - t_1$ 은 시간 간격 $t_3 - t_2$ 과 균등하다)에서 제1 측정치 A_1 , 제2 측정치 A_2 및 제3 측정치 A_3 을 측정하는 단계(b) 및
 상기 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 으로부터 수학적 식 1에 따라 관찰 가능한 표지에 대한 종료점 값 A_∞ 를 측정하는 단계(c)를 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

[수학적 식 1]

$$A_\infty \cong A_2 - \frac{(A_3 - A_1)^2}{4(A_3 - 2A_2 + A_1)}$$

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 관찰 가능한 표지가 상기 화학 반응과 관련된 광학적으로 검출 가능한 화학종을 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 관찰 가능한 표지가 상기 화학 반응과 관련된 전기적으로 검출 가능한 화학종을 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 6

화학 반응과 관련된 관찰 가능한 표지에 대하여 제1 시점 t_1 , 제2 시점 t_2 및 제3 시점 t_3 (여기서, 시간 간격 $t_2 - t_1$ 은 시간 간격 $t_3 - t_2$ 과 균등하다)에서 측정된 제1 측정치 A_1 , 제2 측정치 A_2 및 제3 측정치 A_3 을 입력할 수 있는 저장된 프로그램(a) 및

상기 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 으로부터 수학적 식 1에 따라 관찰 가능한 표지에 대한 종료점 값 A_∞ 를 측정할 수 있는 저장된 프로그램(b)을 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

[수학적 식 1]

$$A_\infty \cong A_2 - \frac{(A_3 - A_1)^2}{4(A_3 - 2A_2 + A_1)}$$

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 관찰 가능한 표지가 상기 화학 반응과 관련된 광학적으로 검출 가능한 화학종을 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

청구항 10

제6항에 있어서, 상기 관찰 가능한 표지가 상기 화학 반응과 관련된 전기적으로 검출 가능한 화학종을 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 화학 반응이 산화 가능한 염료와의 반응을 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 화학 반응이 체액으로부터 수득된 분석물(analyte)을 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 관찰 가능한 표지가 반응 샘플 내의 상기 분석물의 농도와 관련되는 표지인, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 단계(b)가 제1 관찰 과정 동안 상기 관찰 가능한 표지에 대해 제1 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 을 측정하는 단계(b1), 및 제2 관찰 과정 동안 상기 관찰 가능한 표지에 대해 제2 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 을 측정하는 단계(b2)를 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 단계(c)가 상기 제1 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 으로부터 제1 종료점 값을 측정하는 단계(c1),

상기 제2 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 으로부터 제2 종료점 값을 측정하는 단계(c2), 및

상기 제1 종료점 값과 상기 제2 종료점 값으로부터 종료점 값의 차이를 측정하는 단계(d)를 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, n번째 관찰 과정 동안 상기 관찰 가능한 표지에 대해 제n 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 을 측정하는 단계(bn), 상기 제n 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 으로부터 제n 종료점 값을 측정하는 단계(cn), 및

상기 제1, 제2 및 제n 종료점 값들이 수렴하는 경우, 이를 측정하는 단계(dn)를 추가로 포함하는, 진단 검정 장치의 반응 종료점 특성화 방법.

청구항 17

제6항에 있어서, 상기 화학 반응이 산화 가능한 염료와의 반응을 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

청구항 18

제6항에 있어서, 상기 화학 반응이 체액으로부터 수득된 분석물을 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 관찰 가능한 표지가 반응 샘플 내의 상기 분석물의 농도와 관련되는 표지인, 반응 종료점 특성화용 시스템.

청구항 20

제6항에 있어서, 제1 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 을 입력할 수 있는 저장된 프로그램(a1), 및 제2 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 을 입력할 수 있는 저장된 프로그램(a2)를 추가로 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 제1 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 로부터 제1 종료점 값을 측정할 수 있는 저장된 프로그램(b1), 및 제2 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 로부터 제2 종료점 값을 측정할 수 있는 저장된 프로그램(b2)을 추가로 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

청구항 22

제21항에 있어서, n번째 관찰 과정 동안 상기 관찰 가능한 표지에 대해 제n 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 을 입력할 수 있는 저장된 프로그램(an),

상기 제n 세트의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 으로부터 제n 종료점 값을 측정할 수 있는 저장된 프로그램(bn), 및

상기 제1, 제2 및 제n 종료점 값들이 수렴하는 경우, 이를 입력할 수 있는 저장된 프로그램(c)를 추가로 포함하는, 반응 종료점 특성화용 시스템.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- [0004] 임상 화학 분야에서, 진단 검정은 분석물이 반응하여 반응에 여전히 존재하는 분석물의 양에 비례하는 비율로 관찰 가능한 생성물을 형성하는 화학 반응으로 종종 이루어진다. 이는 1차 반응이라고도 하며, 여기서 생성물 형성 속도는 반응물, 즉 분석물의 1차 반응 차수에 비례한다. 1차 반응은, 반응 생성물의 농도에 비례하는 관찰 가능한 대응이 반응 시간 및 반응 속도 상수에 관련된 지수 등식에 의해 수학적으로 모델링된 지수 농도 대 시간 프로필을 생성한다. 관찰 가능한 대응은, 예를 들면, 반응물 또는 반응 생성물의 농도를 비색계 측정(colorimetric determination)할 수 있다. 반응의 속도 상수는 전형적으로 온도에 따라 가변적이며, 통상 온도가 증가함에 따라 증가한다.
- [0005] 반응 프로필이 완전히 1차가 아니라, 대부분의 반응 시간 과정에 걸쳐 1차 반응 속도 지수에 의해 근사되기에 충분한 정도로 근접하는 상황에 빈번하게 직면한다. 이는 종종 반응 속도(소정 온도하에서의 반응 속도)가 효소 및 분석물(반응물) 농도의 함수인 효소 촉매 반응의 경우에 해당한다. 반응 종료점을 특성화하려면 통상 반응이 종결되어야 한다. 당해 반응은 온도나 효소 또는 기타 촉매 농도를 증가시킴으로써 가속되는 경우가 있을 수 있다. 그러나, 대부분의 경우, 반응은 주변 온도에서 수행되어야 하며, 심지어 효소 또는 촉매 농도를 증가시키는 경우에도, 관찰 가능한 한계 대응에 도달하는 데 소요되는 시간은 긴 종료 시간을 요할 수 있다.
- [0006] 1차 또는 슈도-1차 반응 속도에 대한 다수의 의학 진단 시험은 주변 온도 조건하에 수행되는 종료점 검정을 기반으로 한다. 이러한 대부분의 검정은, 반응을 고려한 시간이 반응의 종료점과 관련된 관찰 가능한 대응에 대한 재현 가능한 값을 획득하기에 충분해야 할 필요가 있다. 화학적 및 생화학적 화합물을 검출하기 위한 검정은, 반응 종료점을 지시하는 타당하고 정확하게 관찰된 대응 또는 값을 획득하는 데 수분 또는 수시간이 소요될 수 있다.
- [0007] 다수의 임상적 및 생화학적 검정에 대한 반응 종료점을 획득하는 데 필요한 대기 시간은 의학 실험의 생산성을 감소시키고 응급 상황에서 허용될 수 없는 긴 종료 시간을 지닐 수 있다. 추가로, 당뇨병 환자에 대한 혈당치 시험 및 항응고 환자에 대한 트롬보플라스틴계 시험과 같이 다수의 통상적으로 사용되는 검정은, 비임상 설정하에 일반인에 의해 점점 더 많이 수행된다. 이러한 일반인에 의해 필요 시간 동안 측정하면서 기술 또는 인내심

의 부족으로 시험 측정을 반복하는 불편이 요구될 수 있고, 잘못된 진단 데이터가 취득되는 위험도 증가될 수 있으며, 결국에는 부적절하게 수행된 시험 측정과 관련된 최적화되지 못한 임상 결과가 유도될 수 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

[0008] 따라서, 의학 진단 시험에서 전체 검정 시간을 단축시키고 이러한 시험을 용이하고 간단하게 수행하게 하는 방법이 요구된다. 본 발명은 이러한 요구를 충족시킬 뿐만 아니라, 배경기술에서 밝혀진 결함도 대체로 극복할 수 있다.

발명의 구성 및 작용

[0009] 본 발명은 의학 진단 검정을 용이하게 하고 이러한 검정을 수행하는 데 소요되는 시간을 단축시키는 방법을 제공한다. 보다 구체적으로는, 본 발명은 반응 종료점의 계산 추정을 가능하게 하는 상이한 시간 간격으로 측정된 측정치로부터 1차 반응 속도 지수에 대한 해법을 측정하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 상이한 시간 간격에서 측정된 측정치로부터 1차 반응을 근사하는 방법을 제공한다. 당해 방법은, 개략적으로, 반응을 개시하는 단계, 상기 반응을 지시하는 관찰 가능한 화학종과 관련된 값 또는 농도를 3개의 상이한 시점에서 측정된 3개 이상의 측정치를 취득하는 단계 및 상기 측정치로부터 관찰 가능한 화학종에 대한 종료점 값을 추정하는 단계를 포함한다. 당해 종료점 값은, 중간 측정치에서, 이전 측정치와 이후 측정치 간의 차이를 제공한 값과 거의 동일한 수를 (이후 측정치 - 중간 측정치의 2배 + 초기 측정치)의 정수배와 거의 동일한 수로 나눈 값을 뺀 차이값에 따라 추정할 수 있다.

[0010] 제한하고자 하는 것은 아니지만 예를 들자면, 당해 반응은 1차 또는 슈도-1차 거동 또는 특성을 갖는 어떠한 화학 반응, 생물학적 반응, 생리학적 반응 또는 기타 반응이라도 포함할 수 있다. 반응과 관련된 관찰 가능한 화학종은, 광학적, 전기학적, 분광학적, 방사선학적, 화학적이거나 기타 기술을 통해 검출 가능한 샘플 계측기, 샘플 판독기 또는 기타 검출 장치에 내장될 수 있는 분자(들), 또는 이와 관련된 표지(들)를 포함할 수 있다. 관찰 가능한 화학종은 반응에서 검출 가능한 분석물 또는 반응물, 검출 가능한 반응 생성물, 또는 반응에는 참여하지 않지만 반응에서의 반응물 또는 분석물의 농도 또는 수준을 지시하는 검출 가능한 화학종, 화합물 또는 약품을 포함할 수 있다. 이러한 값의 측정은, 다수의 양태에서, 균등하거나 실질적으로 균등한 시간 간격 Δt 에서 취득될 수 있다. 다른 양태에서, 상이한 시간 간격은 별개의 개별적인 측정일 수 있다. 측정은 반응 전, 반응 후, 또는 반응 전후 모두 수행될 수 있다. 당해 방법은 측정값으로부터 반응에 대한 종료 시점을 추정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0011] 본 발명의 방법은, 특정 양태에서, 수학적 식 1에 따르는 관계에 따라 반응의 진행 정도를 지시하는 관찰 가능한 화학종 A가 존재하는 반응을 개시하는 단계, 관찰 가능한 화학종에 대해 제1 측정치 A_1 , 제2 측정치 A_2 및 제3 측정치 A_3 를 측정하는 단계 및 관찰 가능한 화학종에 대한 최종 또는 종료점 값 A_∞ 를 측정하는 단계를 포함한다.

수학적 식 1

$$A_\infty \cong A_2 - \frac{(A_3 - A_1)^2}{4(A_3 - 2A_2 + A_1)}$$

[0012] 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 에 대한 측정은 다수의 양태에서 균등하거나 실질적으로 균등한 시간 간격 Δt 에서 이루어질 수 있으나, 특정 양태에서는 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 에 대한 측정이 균등하지 않은 시간 간격에서 이루어질 수 있으며, 이러한 측정은 소정의 기간이 경과한 후 특정하게 이루어질 수 있다. 측정치 A_1 , A_2 및/또는 A_3 에 대한 측정은 일반적으로 반응의 개시 후 임의 시점에서 수행되거나 개시될 수 있고, 종료점 값의 측정은 반응 개시 시간의 특성화 또는 지정을 요구하지 않는다. 일부 양태에서, 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 에 대한 측정은, 반응 개시 후 소정 시간이 경과한 후, 또는 이전의 측정(들)을 수행한 후 소정 시간이 경과한 후에 수행할 수 있다.

[0014] 본 발명의 방법은, 일부 양태에서, 제1 관찰 윈도우 동안 관찰 가능한 화학종에 대한 제1 세트의 A_1 , A_2 및 A_3 값을 측정하는 단계, 상기 수학적 식 1에 따라 제1 종료점 값 A_∞ 를 측정하는 단계, 후속 제2 관찰 윈도우 동안 관

찰 가능한 화학종의 제2 세트의 A_1 , A_2 및 A_3 값을 측정하는 단계, 제2 종료점 값 A_{∞} 를 측정하는 단계, 및 제1 종료점 값과 제2 종료점 값으로부터 종료점 값의 차 ΔA_{∞} 를 측정하는 단계를 포함한다. 당해 방법은 n번째 관찰 윈도우 동안 관찰 가능한 화학종에 대한 제n 세트의 A_1 , A_2 및 A_3 값을 측정하는 단계, 제n 종료점 값 A_{∞} 를 측정하는 단계, 제1, 제2 및 제n 세트의 값들로부터 ΔA_{∞} 를 측정하는 단계, 및 관찰 가능한 화학종의 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 을 측정하기 위한 관찰 윈도우 동안 반응 개시 후 시간 간격을 선택하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0015] 반응 동안 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 세트의 측정은 해당 반응에 대한 "관찰 윈도우"로 간주될 수 있으며, 그 동안 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 에 대한 3회 측정이 이루어진다. 관찰 윈도우는 반응 개시에 대해 시간에 따라 이동 가능하며, 종료점 값 A_{∞} 를 성공적으로 추정하기 위해 반복될 수 있다. 종료점 값 A_{∞} 의 추정시 고유한 시스템 오차는 개별 측정 사이의 임의의 소정 시간 간격 Δt 와 임의의 소정 반응 상수 k 에 대한 $A_{\infty} - A_2$ 의 일정한 %이다. 바람직한 결과 A_{∞} 의 %로서의 오차는 "3개의 관찰 윈도우"가 시간 경과에 따라 진행하면서 작아져서, 반응을 수행하면서 더 뒤로 갈수록 보다 정확한 추정치 A_{∞} 가 유도된다.

[0016] 따라서, 종료점 값 A_{∞} 의 추정시의 오차%는 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 사이의 시간 간격 Δt , 반응의 완료도 및 반응 상수 k 의 함수이다. 추정치 A_{∞} 의 오차가 진짜 또는 실제 값의 허용 가능한 범위 내에 있도록 하려면, 측정하기 전에 반응이 특정한 종결도 이하로 진행되도록 하고/하거나 측정된 값 A_1 를 종료점 값 A_{∞} 의 추정치와 비교하여 관찰된 반응 상수에 대한 측정 사이의 시간 간격 Δt 를 최적화하고/하거나 반응을 수행하는 동안의 온도를 관찰 하고 온도와 반응 상수 k 사이의 공지된 관계를 적용함으로써 상기 파라미터들을 조정할 수 있다. 보다 고온에서(보다 높은 k 값), Δt 는 관찰 가능한 화학종의 측정값 A 에 대한 시간 곡선에서의 보다 큰 곡률을 보상하기 위해 더 작을 수 있는 반면, 보다 낮은 k 값에서, 일련의 A 값 사이의 차이가 작아서 무작위 오차의 존재하에 신호 대 노이즈 비가 불량해질 수 있다. 따라서, 다수의 양태에서, 시간 간격 Δt 는 소정의 반응상수 k 에서 목적하는 최소한의 종결도에서 허용가능한 오차의 한계 내에서 가능한 커야한다.

[0017] 배경 노이즈는 반응과 관련된 관찰 가능한 화학종의 값을 측정하기 위한 다수의 검출 시스템에서 중요한 인자이다. 따라서, 본 발명의 일부 양태에서는, 측정 동안 존재하는 신호 대 노이즈 비 뿐만 아니라 반응 종결도를 지시하는 수렴치를 점검하기 위해 다수의 일련의 종료점 값 A_{∞} 의 추정치를 검사하는 것이 바람직할 수 있다. 또한, 시스템 오차가 일정한 지수 함수이므로, 시간 경과에 따른 추정치 변화 자체는 이에 대한 지수이고, 종료점 값의 추정치를 또한 예측하여 시스템 오차를 추가로 감소시킬 수 있다.

[0018] 본 발명의 방법은 의학, 생물학 또는 기타 검정의 종료점 측정에 필요한 전체 검정 시간을 단축시킨다. 검정에 대한 시간 단축 요구는 사용자에게 보다 큰 편의를 유도하며, 의학 실험 인원 및 자원을 보다 효율적으로 사용할 수 있게 한다. 본 발명은 또한 로그 또는 지수를 사용하지 않는 지수 반응의 종료점의 추정을 가능하게 하여, 종료점 추정에 요구되는 계산이 계측기 또는 판독기에서 입수할 수 있는 것과 같은 저전력 마이크로프로세서 및 "개인용 디지털 보조기" 또는 PDA 장치와 같은 포켓형 데이터 프로세서로 용이하게 수행될 수 있다. 본 발명은 추가로, 검정 반응의 정밀한 개시 시간을 몰라도 종료점을 추정할 수 있게 한다.

[0019] 본 발명은, 예를 들면, 치료학적 약물에 대한 환자의 노출 및 당해 약물의 흡수를 측정하는 단계, 개인에게 존재하는 비독성물의 농도를 측정하는 단계 및 샘플 내의 유해한 약품의 존재 여부를 검출하는 단계를 포함하는 무수한 진단 시험에 사용할 수 있다. 본 발명의 방법은, 환자 또는 일반인에 의해 '해당 분야' 또는 임상적 설정의 외부에서 통상적으로 수행되는 혈당치 모니터링 및 항응고제 요법 모니터링과 같은 의학 진단 시험에 특히 유용하다. 본 발명의 이러한 목적 및 이점과 기타 목적 및 이점은 후술되는 상세한 설명으로부터 명백할 것이다.

[0020] 본 발명은 단지 예시용으로 주어진 도면을 참고로 하여 보다 상세하게 이해될 것이다.

[0021] 의학 생물학적 검정에서 종료점 측정에 소요되는 검정 시간을 단축시키는 방법이 본원에 기재되어 있다. 특히, 본 발명은 반응 종료점 이전에 수득된 관찰 가능한 지시물의 3회 측정치로부터 반응의 관찰 가능한 특징(들)의 종료점 값을 추정하는 방법을 제공한다. 본 발명은 임상 또는 의학 진단 검정, 및 특히 혈당치 검정에서의 용도의 견지에서 주로 기술된다. 본 발명을 추가로 기술하기 전에, 특정한 양태의 변형이 이루어질 수 있고 이러한 변형이 첨부된 특허청구의 범위의 범주에 속함에 따라, 본 발명은 후술되는 특정 양태에 한정되지 않는다.

또한, 사용되는 용어는 특정 양태를 기술하려는 목적으로 주어졌으며 이로 제한하려는 의도는 없음을 이해해야 한다. 대신, 본 발명의 범주는 첨부된 특허청구의 범위에 의해 수립될 것이다.

- [0022] 본원의 모든 정의는 명확성을 위해 제공되며, 제한을 가하는 것으로 간주되어서는 안된다. 본원에서 사용된 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 분야에서 통상적인 기술을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.
- [0023] 본원에서 사용되는 "1차 반응"이라는 용어는 1차 또는 슈도-1차 반응 속도를 나타내거나 1차 반응 속도에 근사함으로써 적절하게 특성화될 수 있는 모든 화학적, 전기화학적, 생화학적 또는 기타 반응을 의미한다.
- [0024] 본원에 사용되는 "프로트롬빈 시간" 또는 "PT" 및 문법적으로 이에 상응하는 용어는, 과도한 응혈(혈전)의 위험이 있는 개인의 치료를 모니터링하는 데 사용 가능한 혈액 응고 시간에 대한 시험을 의미한다.
- [0025] 본원에서 사용되는 "눈금 코드" 및 문법적으로 이에 상응하는 용어는 상업적인 다수의 진단 검정 및/또는 이의 구성분을 표준화하는 데 사용되는 독특한 수 또는 수의 세트를 의미한다.
- [0026] 본원에서 사용되는 "혈장" 및 문법적으로 이에 상응하는 용어는, 혈액의 혈장, 즉 혈액 세포가 현탁되는 무세포 유체를 의미한다.
- [0027] 본원에서 사용되는 "숙주", "환자", "개인" 및 "피검자" 및 문법적으로 이에 상응하는 용어는 반응의 관찰 가능한 특징에 대한 종료점 값을 추정하기 위한 본 발명의 방법을 사용하거나 이의 사용을 요하는 임의의 포유동물 또는 비포유 동물의 구성원(들)을 의미한다.
- [0028] 본 명세서 및 첨부된 특허청구의 범위에서 사용되는 용어가 단수로 사용되는 경우에도 별도의 명백한 언급의 없는 한 복수의 의미도 포함하는 것으로 이해해야 한다. 따라서, 예를 들면, "대조용 혼합물"이라는 용어는 하나 이상의 대조용 혼합물을 의미하며, "응고 시험"은 하나 이상의 응고 시험을 의미한다.
- [0029] 화학적 및 생물학적 검정 또는 유사 반응의 경우, 분석물은 전형적으로, 반응 용기에 그대로 존재하는 분석물의 양에 비례하는 관찰 가능한 화학종의 농도 또는 값을 변화시키는 방식으로 반응한다. 관찰 가능한 화학종은 반응 동안 농도가 감소하는 분석물 자체, 분석물이 고갈됨에 따라 증가하는 반응 생성물, 또는 반응에 실제적으로 참여하지는 않지만 반응의 진행을 지시하는 또 다른 화학종을 포함할 수 있다. 1차 반응의 경우, 분석물은 반응에 잔류하는 분석물의 양에 비례하는 속도로 관찰 가능한 방식으로 반응한다. 이러한 화학적 반응의 대응을 모니터링하면서, 시간 경과에 따른 반응의 대응 또는 진행은 지수적이며, 농도(관찰 가능한 화학종의 농도) 대 시간의 함수로서, 반응 생성물의 생성이 모니터링되는 상황에 대해서 수학식 2a로 나타내거나, 반응물의 소멸이 모니터링되는 상황에 대해서 수학식 2b로 나타낸다.

수학식 2a

[0030]
$$A_t = A_\infty (1 - e^{-kt})$$

수학식 2b

[0031]
$$A_t = (A_0 - A_\infty) e^{-kt} + A_\infty$$

[0032] 위의 수학식 2a 및 2b에서,

[0033] A_t 는 시간 t 에서 관찰 가능한 대응값이고,

[0034] A_∞ 는 반응 종료시에 관찰 가능한 대응이며,

[0035] A_0 는 반응을 개시하기 전에 관찰 가능한 대응값이다.

[0036] 반응물의 소멸을 수반하는 또 다른 가능한 상황은 수학식 2c로 나타낼 수 있을 것이다.

수학식 2c

[0037]
$$A_t = A_0 e^{-kt}$$

[0038] 수학식 2a는 일반적으로, 관찰 가능한 반응 생성물이 반응 개시시 전혀 존재하지 않는 상황에 관한 것이며, A_∞

로서 검출되는 이의 최종 농도는 진단 방법에서 정량화되는 분석물(출발 물질)의 양에 관한 것이다. 수학적 2b는 검출 가능한 출발 물질이 분석물과 반응하여 검출이 불가능한 생성물을 형성하는 상황에 관한 것이다. 검출 가능한 출발 물질이 과량으로 존재하고, 최초의 검출 가능한 대응값(A₀)과 최종 검출 가능한 대응값(A_∞) 사이의 차이는 존재하는 분석물의 양에 관한 것이다. 수학적 2c는 검출 가능한 대응값이 분석물 자체인 상황에 관한 것이며, 반응이 종결되는 경우 대응값은 0이 된다. 본 발명은 수학적 2a 및 2b와 관련된다. 파라미터 k는 반응의 속도 상수이며, 전형적으로 온도에 따라 가변적이며, 통상 온도 증가에 따라 증가한다. 관찰 가능한 대응값은, 예를 들면, 시약, 반응 종료 생성물, 또는 반응에 존재하는 기타 화합물 또는 종과 관련된 검출 가능한 색상을 포함할 수 있다.

[0039] 혈당치 모니터링 및 응고방지 치료요법의 치료제 농도를 모니터링하는 데 사용되는 것과 같은 다수의 중요한 검정은 종료점 값 A_∞의 측정을 필요로 한다. 많은 경우, 추정치 A_∞를 획득하기 위해 반응이 필수적으로 종결될 때까지 실제로 대기하는 것이 불편하다. 일부 경우, 반응 곡선은 예상대로 위의 수학적 2의 1차 반응 속도 지수적 수학적 유형을 준수하며, 적절한 추정치 A_∞를 획득하기 위해 반응이 종료될 동안 대기하지 않고 다수의 시점에서 A를 측정 후 당해 수학적 2의 파라미터(k 및 A_∞)를 구할 수 있다. 그러나, 중요한 의학 및 생물학적 검정에 수반되는 다수의 반응은 1차 반응 거동을 따르지 않아서, 적절한 추정치 A_∞가 용이하게 획득될 수 없다. 또한, 미분에 의해 파라미터 k 및 A_∞에 대한 수치 평가를 수행할 수 있다. 그러나, 이러한 접근법은 계산 집약적이며, 메모리가 제한되고 마이크로프로세서 주기가 긴 통상적인 측정 장치에 그다지 적합하지 않다.

[0040] 본 발명은 다수의 생물학 및 의학적 검정에서 사용될 수 있는 관찰 가능한 화학종료점 값 A_∞를 추정하기 위한 신속하고 용이하며 정확한 방법을 제공할 뿐만 아니라, 당해 방법을 수행하기 위한 수단 및 키트를 제공한다. 당해 방법은 반응의 진행 정도를 지시하는 관찰 가능한 화학종 A가 존재하는 반응을 개시하는 단계, 관찰 가능한 화학종에 대해 제1 시점 t₁, 제2 시점 t₂ 및 제3 시점 t₃에서 제1 측정치 A₁, 제2 측정치 A₂ 및 제3 측정치 A₃을 측정하는 단계 및 측정치 A₁, A₂ 및 A₃으로부터 수학적 1에 따라 관찰 가능한 화학종의 종료점 값 A_∞를 측정하는 단계를 포함한다.

[0041] 수학적 1

$$A_{\infty} \cong A_2 - \frac{(A_3 - A_1)^2}{4(A_3 - 2A_2 + A_1)}$$

[0043] 측정치 A₁, A₂ 및 A₃에 대한 측정은 다수의 양태에서 균등하거나 실질적으로 균등한 시간 간격 Δt에서 이루어질 수 있으며, 여기서 Δt는 연속적인 측정 시점 사이의 간격이다. 즉 $\Delta t \approx t_3 - t_2 \approx t_2 - t_1$ 이다. 측정치 A₁, A₂ 및/또는 A₃에 대한 측정이 추가로 후술되는 바와 같이 반응의 개시 후 소정의 시간이 경과한 후 수행될 수 있기는 하지만, 측정치 A₁, A₂ 및 A₃에 대한 측정이 일반적으로 반응 개시 후 임의의 시간에 이루어지거나 개시될 수 있다.

[0044] Δt의 값이 수반되는 특정 반응에 따라 선택될 수 있다. 상이한 온도에서 (및 후술되는 바와 같이 상이한 k 수치에서) 관심을 끄는 반응의 연구를 수행한다. 이러한 방식으로, 반응이 특정 온도에서 또는 특정한 온도 범위 내에서 수행되는 경우, 반응 시간을 충분한 정도로 단축시킬 수 있는 반면(즉, 좀 더 빨라진 종료점), 종료점 값 A_∞에서 허용 가능한 정확도를 유지한다. 이러한 정확도는 반응 프로파일에서 곡물의 양에 대해 지나치게 큰 Δt를 가짐으로써 저하될 수 있다. 각각의 온도 또는 k에 대해 최적인 fΔt 값을 측정하기 위해 상이한 온도에서 해당 반응을 연구하는 데에 표 또는 기타 수학적식을 사용하여, 반응의 수행시 종료점 측정에 사용되는 데이터 스트림을 처리하기 위한 최적의 Δt를 선택할 수 있다. 온도가 (온도 감지기, 온도계 또는 기타 수단을 통해) 측정되거나 k의 초기 추정치가 임의의 작은 Δt를 사용함으로써 획득되어, 초기 데이터를 처리하고 하기 수학적 20을 사용하여 k 값을 근사할 수 있다.

[0045] A_t = A₀ e^{-kt}인 수학적 2b에서, 관찰 가능한 값(A_t에서의 값) 대 시간의 log 값을 플롯팅하면, 각각 기울기 및 절편으로서 반응 상수 k 및 종료점 값 A_∞이 획득되며; 이러한 유형의 분석을 하려면 A를 2회 이상 2개의 상이한

시점에서 측정해야 한다. 그러나, $A_t = A_\infty(1 - e^{-kt})$ 의 경우, 반응 상수 k 및 종료점 값 A_∞ 의 측정은 보다 복잡하다. 종료점에서의 관찰 가능한 값 A_∞ 을 정확하게 측정하기 위해 수학적 1의 연산 효율은 다음과 같이 나타낼 수 있다. 우선, 미분 등식인 수학적 3을 고려한다.

수학적 3

$$\frac{dA}{dt} = A_\infty k e^{-kt}$$

[0046]

2개의 시점 t_1 및 t_2 에서 측정된 A 대 t 의 기울기에 대해, 수학적 4의 관계식이 수득된다.

수학적 4

$$\frac{\left(\frac{dA}{dt}\right)_{t_1}}{\left(\frac{dA}{dt}\right)_{t_2}} = \frac{A_\infty k e^{-kt_1}}{A_\infty k e^{-kt_2}} = e^{-k(t_1 - t_2)}$$

[0048]

[0049]

수학적 4는 수학적 5에 의해 보다 단순하게 나타낼 수 있다.

수학적 5

$$\ln \left[\frac{\left(\frac{dA}{dt}\right)_{t_1}}{\left(\frac{dA}{dt}\right)_{t_2}} \right] = -k(t_2 - t_1)$$

[0050]

[0051]

수학적 5는 반응 상수 k 를 구하기 위해 수학적 6으로서 나타낼 수 있다.

수학적 6

$$k = -\frac{\ln \left[\frac{\left(\frac{dA}{dt}\right)_{t_1}}{\left(\frac{dA}{dt}\right)_{t_2}} \right]}{(t_2 - t_1)}$$

[0052]

[0053]

수학적 6을 수학적 2a로 대체하면 수학적 7이 수득된다.

수학적 7

$$A_\infty = \frac{At_1}{(1 - e^{-kt_1})}$$

[0054]

[0055]

수학적 7에 따라 A_∞ 를 측정하기 위해, A_t 에 대한 값을 최소한 3회 측정해야 한다. 로그 및 지수 산정이 둘 다 사용될 수 있으며, 해법은 계산 집약적이어서, 임상 검정에서 통상적으로 사용되는 저전력 마이크로프로세서에서의 편리함보다 시간 및 계산기 사용이 더 많이 요구된다.

[0056]

그러나, 추가의 단계를 밟아서 수학적 8에 제시된 2차 미분을 계산하면, 상황이 보다 단순해진다.

수학식 8

$$\frac{d^2 A}{dt^2} = -A_{\infty} k^2 e^{-kt}$$

[0057]

[0058] 수학식 8의 2차 미분을 1차 미분 dA/dt 로 나누면, 반응 상수 k 가 구해지는 수학식 9가 수득된다.

수학식 9

$$\frac{\frac{d^2 A}{dt^2}}{\frac{dA}{dt}} = \frac{-A_{\infty} k^2 e^{-kt}}{A_{\infty} k e^{-kt}} = -k$$

[0059]

[0060] 도 1의 그래프는 측정된 값 A 대 시간의 지수 반응 곡선을 도시한 것이다. 도 1은, 가정용 진단 검정이 환자에 의해 수행되는 경우 빈번한 바와 같이, 해당 반응의 개시 시간을 모르는 상황, 즉 t_0 가 미지인 상황을 예시한다. 관찰 가능한 값 A_d 의 1차 측정은 시간 t_d 에서 이루어지며, 이는 미지의 반응 개시시간 t_0 이후에 수행된다. 수학식 2a의 관계식은 수학식 10으로 나타낼 수 있다.

수학식 10

$$A = A_{\infty} (1 - e^{-kt}) = (A_{\infty} - A_d) (1 - e^{-k(t-t_d)}) + A_d$$

[0061]

[0062] 수학식 10의 미분은 수학식 11로 나타낼 수 있으며, 수학식 11은 수학식 12로 나타낼 수 있다.

수학식 11

$$\frac{dA}{dt} = A_{\infty} k e^{-kt} = (A_{\infty} - A_d) k e^{-k(t-t_d)}$$

[0063]

수학식 12

$$A_{\infty} = \frac{\frac{dA}{dt}}{k e^{-k(t-t_d)}} + A_d$$

[0064]

[0065] $t=t_d$ 인 경우, 수학식 12는 수학식 13으로 단순화될 수 있다.

수학식 13

$$A_{\infty} = \frac{dA}{k} + A_d$$

[0066]

[0067] 수학식 13으로부터, 종료점 값 A_{∞} 를 계산하는 데 필요한 것이, A 대 시간의 반응 곡선을 따라 한 개의 시점에서 1차 미분 및 2차 미분 뿐임을 알 수 있다.

[0068] 도 2를 보면, 각각 시점 t_1 , t_2 및 t_3 에서 측정된 값 A_1 , A_2 및 A_3 에 상응하는 곡선상의 3개의 지점 P_1 , P_2 및 P_3 을 갖는 반응 곡선이 그래프에 의해 도시되어 있다. 예시용으로, 1차 미분 및 2차 미분이 지점 P_2 에 할당되는 것으로 추정한다. 지점 P_1 및 P_2 사이의 곡선상의 중간에 위치한 지점(도시되지 않음)에서의 1차 미분인, 도 2의 곡선의 기울기 S_1 은 수학식 14로 나타낼 수 있다.

수학식 14

[0069]

$$S_1 = \frac{A_2 - A_1}{\Delta t}$$

[0070]

마찬가지로, 지점 P₂ 및 P₃ 사이의 곡선상의 중간에 위치한 지점(도시되지 않음)에서의 1차 미분인, 도 2의 곡선의 기울기 S₂는 수학식 15로 나타낼 수 있다.

수학식 15

[0071]

$$S_2 = \frac{A_3 - A_2}{\Delta t}$$

[0072]

P₂에 할당된 1차 미분의 평균치인 S₃은 수학식 16으로 나타낼 수 있으며, P₂에 할당된 2차 미분 S'는 수학식 17로 나타낼 수 있다.

수학식 16

[0073]

$$S_3 = \frac{S_1 + S_2}{2},$$

수학식 17

[0074]

$$S' = \frac{S_2 - S_1}{\Delta t}$$

[0075]

수학식 9로부터 반응상수 k를 추정하면 수학식 18이 제공되며, 수학식 13으로부터 A_∞를 추정하면 수학식 19가 제공된다.

수학식 18

[0076]

$$k \approx \frac{-S'}{S_3}$$

수학식 19

[0077]

$$A_\infty \approx \frac{S_3}{\left(\frac{S'}{S_3}\right)} + A_2.$$

[0078]

측정치 A₁, A₂ 및 A₃의 견지에서 A_∞를 구하면 수학식 1이 수득되며, 이는 본 발명에 따르는 반응 종료점을 특성화하는 데 사용될 수 있다.

[0079]

수학식 1

[0080]

$$A_\infty \cong A_2 - \frac{(A_3 - A_1)^2}{4(A_3 - 2A_2 + A_1)}$$

[0081]

유사한 방식으로, k의 근사화가 수학식 20으로서 유도될 수 있다.

수학식 20

$$k \equiv \frac{A_3 - 2A_2 + A_1}{2\Delta t(A_3 - A_1)}$$

[0082]

[0083]

[0084]

[0085]

[0086]

[0087]

[0088]

상술한 기술기 산정의 유한성으로 인해 수학식 1의 근사에 있어 고유한 오차가 어느 정도 존재함을 유의해야 한다.

따라서, 반응 진행 또는 종결을 나타내는 관찰 가능한 양 A인, 종료점 값 A_∞의 추정은, 관찰 가능한 화학종 A를 수반하는 반응을 개시하는 단계, 관찰 가능한 화학종에 대해 제1 측정치 A₁, 제2 측정치 A₂ 및 제3 측정치 A₃을 측정하는 단계 및 수학식 1에 따라 관찰 가능한 화학종의 종료점 값 A_∞를 측정하는 단계를 포함한다. 3개의 연속 측정치 A₁, A₂ 및 A₃은 시간 경과에 따라 이동하여 A_∞의 연속 추정치를 제공할 수 있는 "3개의 관찰 윈도우"로서 간주될 수 있다. 추정치에서의 고유한 시스템 오차는 Δt = t₁ - t₂ = t₂ - t₃와 k의 소정치에 대해 A_∞ - A₂의 일정 %이므로, 목적하는 결과 A_∞의 %로서의 오차는 "3개의 관찰 윈도우"가 시간 경과(반응 종료점을 향한 시간 경과)에 따라 진행되면서 점점 작아져서, 반응이 진행될수록 A_∞를 보다 정확하게 추정할 수 있다. 따라서, 오차%는 Δt, 반응 종결도 및 k의 함수이다.

A_∞의 추정치 오차가 실제 값의 목적하는 분율보다 작게 하기 위해, 관찰된 k(이는 수학식 20에 따라 추정 가능하다)에 대해 Δt를 최적화하면서 측정치 A₁를 A_∞의 추정치와 비교하고/하거나 온도를 관찰하고 온도와 반응상수 k 사이의 공지된 관계를 적용함으로써 반응이 특정한 반응 종결도를 넘어 진행되도록 이들 파라미터를 고정시킬 수 있다. 전형적인 화학 반응의 경우, 비교적 높은 온도에서는 k가 증가하여, Δt가 보다 큰 곡물에 대해 보상하기 위해 작아져야 하는 반면, 비교적 낮은 온도에서는 k가 낮아서, A₁의 연속 값 사이의 차이가 작기 때문에 불규칙한 장치상의 오차 또는 기타 오차의 존재하에 신호 대 노이즈의 비가 불량해질 수 있다. 따라서, Δt는 바람직하게는 목적하는 최소한의 종결도에서 허용 가능한 오차의 한계 내에서 소정의 k에서 가능한 한 커야 한다.

배경 노이즈가 본 발명을 사용하는 다수의 상황에서 중요할 수 있으므로, 반응 종결도와 신호 대 노이즈 둘 다를 지시하는 수렴치를 점검하여 A_∞의 연속 추정치를 검사하는 것이 바람직할 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 방법은 제1 관찰 윈도우 동안 관찰 가능한 화학종에 대해 제1 세트의 A₁, A₂ 및 A₃ 값을 측정하고 제1 종료점 값 A_∞을 수학식 1의 관계에 따라 측정하고, 제2의 후속 관찰 윈도우 동안 관찰 가능한 화학종의 제2 세트의 A₁, A₂ 및 A₃ 값을 측정한 다음, 제2 종료점 값 A_∞을 측정하고 제1 종료점 값과 제2 종료점 값으로부터 종료점 값의 차이 ΔA_∞를 측정함으로써 이러한 연속 추정치를 제공한다. 당해 방법은, 제3 관찰 윈도우 동안 제3 세트의 A₁, A₂ 및 A₃ 값을 측정하고 n번째 관찰 윈도우 동안 제3 세트의 A₁, A₂ 및 A₃ 값을 측정한 다음, n번째 종료점 값 A_∞을 측정하고 이들 값의 제1, 제2, 제3 및 제n 세트로부터 ΔA_∞를 측정하는 단계를 추가로 포함할 수도 있다. 측정치 A₁, A₂ 및 A₃을 측정하기 위한 관찰 윈도우 동안 반응을 개시한 후 최소한의 시간 간격 또는 최적의 시간 간격의 선정은, A_∞의 연속 추정치들을 비교하고 상이한 관찰 윈도우로부터의 A_∞에 대한 측정치의 수렴치를 관찰함으로써 측정될 수 있다. 추가로, 시스템 오차는 일정한 지수 함수이므로, 시간 경과에 따른 추정치 변화 자체는 이에 대한 지수이고, 종료점 값 A_∞의 추정치를 또한 예측하여 시스템 오차를 추가로 감소시킬 수도 있다.

일반적인 방법

본 발명은, 반응 종료점의 계산 추정을 가능하게 하는, 상이한 시간 간격에서 이루어진 측정으로부터, 의학 진단 검정을 용이하게 하고 이러한 검정에 사용되는 시간을 단축시키는 방법을 제공한다. 당해 방법은, 개략적으로, 반응을 개시하는 단계, 상기 반응을 나타내는 관찰 가능한 화학종과 관련된 값을 3개의 상이한 시점에서 3회 이상 측정된 값을 수득하는 단계 및 상기 측정치로부터 관찰 가능한 화학종에 대한 종료점 값을 추정하는 단계를 포함한다. 당해 종료점 값은, 중간 측정치에서, 이전 측정치와 이후 측정치 간의 차이를 제공한 값과 거의 동일한 수를 (이후 측정치 - 중간 측정치의 2배 + 초기 측정치)의 정수배와 거의 동일한 수로 나눈 값을 뺀

차이에 따라 추정할 수 있다.

[0089] 보다 구체적으로, 본 발명의 방법은, 관찰 가능한 화학종 A가 반응의 진행 정도를 지시하는 반응을 개시하는 단계, 관찰 가능한 화학종에 대해 제1 측정치 A_1 , 제2 측정치 A_2 및 제3 측정치 A_3 을 측정하는 단계 및 수학적 식 1에 따라 관찰 가능한 화학종의 종료점 값 A_∞ 를 측정하는 단계를 포함한다.

[0090] 수학적 식 1

[0091]
$$A_\infty \cong A_2 - \frac{(A_3 - A_1)^2}{4(A_3 - 2A_2 + A_1)}$$

[0092] 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 에 대한 측정은 이하 실시예에 제시한 바와 같이 다수의 양태에서 균등하거나 실질적으로 균등한 시간 간격 Δt 에서 이루어질 수 있다. 측정치 A_1 , A_2 및/또는 A_3 에 대한 측정은 일반적으로 반응의 개시 후 임의의 시점에서 수행되거나 개시될 수 있고, 일부 양태에서, 측정치 A_1 , A_2 및 A_3 에 대한 측정은, 반응 개시 후 소정 시간이 경과한 후, 또는 미리 측정(들)을 한 후 소정 시간이 경과한 후에 수행할 수 있다.

[0093] 본 발명의 방법은 모든 화학 반응, 생물학적 반응, 생리학적 반응 또는 기타 반응을 포함할 수 있다. 반응과 관련된 관찰 가능한 화학종은, 광학적, 전기학적, 분광학적, 방사선학적, 화학적이거나 기타 기술을 통해 검출 가능한 분자(들), 또는 이와 관련된 표지(들)를 포함할 수 있다. 본 발명의 방법은 특히 샘플 계측기, 샘플 판독기 또는 계산력이 한정된 기타 검출 장치로 사용하기에 매우 적합하다. 관찰 가능한 화학종은 반응에서 검출 가능한 분석물 또는 반응물, 검출 가능한 반응 생성물, 또는 반응에는 참여하지 않지만 반응에서의 반응물 또는 분석물의 농도 또는 수준을 지시하는 검출 가능한 화학종, 화합물 또는 약품을 포함할 수 있다. 하기 특정 실시예는 광학적으로 검출 가능한 화합물을 사용한다.

[0094] 많은 경우, 포켓형 장치로 수행되는 진단 검정 반응은, 목적 분석물에 특이적인 색 형성 시약 시스템으로 함침된 시험 패드 또는 스트립과 같은 고체 지지체를 사용한다. 전형적인 분석물은 글루코스, 콜레스테롤 및 우레아 등이다. 이러한 진단 검정에 통상적으로 수반되는 다수의 기타 분석물은 당해 분야의 숙련가들에게 용이하게 제안될 것이다. 색 형성 시약 시스템은 목적 분석물과의 1차 반응을 선택적으로 촉매하는 효소 또는 기타 촉매를 포함할 수 있다. 1차 반응의 생성물은 반응 영역에서 검출 가능한 색상 변화와 같은 광학적으로 검출 가능한 변화를 겪는 염료 또는 기타 화합물일 수 있다. 다른 양태에서, 1차 반응의 생성물은 또 다른 반응을 겪는, 효소 촉매화될 수 있고 최종 염료가 반응 영역에서 검출 가능한 색상변화를 직접 또는 간접적으로 겪도록 하는 2차 반응에 참여할 수 있는 중간체일 수 있다.

[0095] 본 발명에서 사용 가능한 색 형성 시약 시스템의 예는 글루코스에 특이적이고 글루코스 옥시다제, 퍼옥시다제 및 산화 가능한 염료를 함유하는 시스템이다. 글루코스 옥시다제는, 글루코스 및 산소와 반응하여 글루코노락톤 및 과산화수소를 생성시키는, 아스페르길루스 니거(*Aspergillus Niger*) 또는 페니실리움(*Penicillium*)으로부터 수득한 효소이다. 이와 같이 생성되어 양고추냉이 퍼옥시다제와 같은 퍼옥시다제 효소에 의해 촉매된 과산화수소는 염료를 산화시킨다. 생성된 발색단(산화된 염료)은 반응 영역에서 관찰될 수 있는 색상을 나타낸다. 따라서, 이러한 양태에서 관찰 가능한 값은 반응 영역에서 존재하는 염료의 농도를 비색계 측정하는 단계를 포함할 것이다.

[0096] 예를 들면, 본원에 참조로 인용된 미국 특허 제5,304,468호에 제시된 것을 포함하는 글루코스 검정용으로 사용하기에 적합한 다수의 산화 가능한 염료가 당해 분야에 공지되어 있다. 또 다른 특허 유용한 산화 가능한 염료는, 본원에 참조 인용되어 있는 미국 특허 제6,218,571호에 기재되어 있는 3-메틸-2-벤조티아졸리논 하이드라존 하이드로클로라이드/8-아닐리노 1-나프탈렌설포네이트 염료 시스템(MBTH/ANS)이다. 선호되는 또 다른 염료 쌍은 MBTH 유도체, 메타-3-메틸-2-벤조티아졸리논 하이드라존, ANS와 커플링된 N-설포닐 벤젠설포네이트 모노나트륨이다. 이러한 조합은 본원에 참조 인용된 1994년 9월 8일자로 출원된 미국 특허원 제08/302,575호에 상세하게 기술되어 있다. 반응을 광학적으로 특성화하는 기타 적합한 염료 및 염료 시스템이 당해 분야의 숙련가에게 제안될 수 있다.

[0097] 혈당치 측정에 통상적으로 사용되는 것과 같은 시험 스트립 및 광학 판독기 시스템에 산화 가능한 염료가 사용될 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 제6,268,162호는 다공성 시험 스트립으로부터 판독된 반사도를 기준으로 하여 체액 중의 분석물 농도를 측정하는 시스템을 기술하고 있으며, 당해 문헌은 본원에 참조 인용되어 있다. 이러한 시스템에서, 체액 샘플을 시험 스트립에 적용한 다음, 당해 스트립을 광학 판독기 또는 계측기 속에 삽입

한다. 이러한 경우의 측정치 A는 시험 스트립으로부터 측정된 반사도 값이고, 반응 종료점에 상응하는 반사도 값은 본 발명에 따라 측정된 반사도 값으로부터 산정될 수 있다.

[0098] 본 발명에 따르는 종료점 추정을 위한 값의 측정도 전기화학적 검정을 기본으로 할 수 있다. 이러한 검정은 일정 간격으로 이격된 전극이 내장되어 있는 전지 속에서 시험 샘플을 사용할 수 있다. 따라서, 측정치 A는 전위 측정치를 포함하며, 이는 전극을 가로지르는 종료점 전위 값을 산정하는 데 사용된다. 이러한 시스템은 본원에 참조 인용되는 미국 특허 제6,193,873호에 기술되어 있다.

[0099] 본 발명은 또한 프로트롬빈 시간 또는 PT 검정과 같은 혈액 응고 검정의 종료점 특성화에 사용될 수도 있다. 이러한 검정은, 스트립 판독기를 사용하여 응고를 광학적으로 모니터링(광학적 투광을 또는 반사도를 통해 모니터링)하는 과정과 병행해서, 트롬보플라스틴을 함유하는 시험 스트립에 혈액 샘플을 적용함으로써 수행될 수 있다. 이러한 시스템은 본원에 참조 인용된 유럽 특허원 EP 제0 974 840호에 기재되어 있다. 이러한 유형의 시험 스트립은 미국 캘리포니아주 밀피타스 소재의 라이프스캔 인코포레이티드(Lifescan Inc.)로부터 HARMONY™ 시험 스트립으로서 시판중이며, 당해 스트립용의 상응하는 광학 판독기도 시판중이다.

[0100] 장치

[0101] 본 발명은 또한 진단 검정에 유용한 장치 및 시스템을 제공한다. 당해 장치는, 예를 들면, 반응과 관련된 관찰 가능한 지시물의 측정치 A의 판독, 입력 또는 기타 기입을 가능하게 하는 인터페이스, 및 수학적 1에 기재되고 상기 논의된 연산을 사용하여 기입된 값을 사용할 수 있게 하는 로직(logic) 요소(들)를 갖는 데이터 처리 장치를 포함할 수 있다. 당해 장치는 A 값의 측정 사이의 시간 간격을 측정하도록 하는 시간 유지 소자를 추가로 포함하여, 당해 값이 상술한 바와 같이 소정의 시간 간격으로 측정될 수 있도록 할 수 있다.

[0102] 인터페이스는 사용자가 키패드 또는 기타 편리한 수단을 통해 측정치 A를 기입하도록 하는 사용자 인터페이스를 포함할 수 있다. 당해 인터페이스는 A 값을 직접 측정할 수 있게 하는 인터페이스를 추가로 포함하거나, 이러한 인터페이스를 기존의 것 대신 포함할 수 있다. 이러한 인터페이스는, 예를 들면, 시험 스트립 또는 기타 샘플로부터 비색계 측정에 의해 A 값을 측정하는 광학적 판독기, 샘플 속의 전기용량에 따라 A를 측정하기 위한 회로 또는 본 발명에 따르는 측정치를 획득할 수 있도록 하는 기타 인터페이스를 포함할 수 있다. 이러한 인터페이스를 갖는 예시된 샘플 판독기가 상술되어 있다.

[0103] 본 발명의 장치의 로직은 하드웨어, 소프트웨어 또는 이들 둘 다에 내장될 수 있다. 본 발명에 따르는 종료점 특성화는 상술한 바와 같은 로그 또는 지수 특성화를 필요로 하지 않으므로, 당해 장치에 요구되는 데이터 처리 용량은 적고, 비교적 단순한 샘플 판독기에 내장될 수 있다. 예를 들면, 로직은 다수의 측정치를 판독 또는 입력하고 측정치에 대한 수학적 1의 연산에 적용하며 및 입력된 측정치에 따르는 하나 이상의 종료점 추정치를 출력하도록 배열될 수 있다. 로직은 샘플로부터의 값 측정을 선택적으로 시간 배정하고 수렴치에 도달할 때까지 연속적 종료점 추정치를 비교하도록 추가로 배열될 수 있다.

[0104] 도 3에는, 본 발명에 따르는 반응 종료점 측정에 사용될 수 있는 장치 또는 시스템(10)이 도시되어 있다. 당해 시스템(10)은 개인용 디지털 보조기 또는 "PDA"와 같은 포켓형 컴퓨터를 포함할 수 있다. 다른 양태에서, 데이터 처리 장치는 미니컴퓨터, 마이크로컴퓨터, PC[예: INTEL® 계 프로세싱 컴퓨터 또는 이의 클론, APPLE® 컴퓨터 또는 이의 클론, SUN® 워크스테이션] 등의 컴퓨터를 포함할 수 있다. 당해 시스템(10)은 당해 양태에서 중앙 처리 유닛 또는 CPU(14)에 접속하여 작동하는 키패드(12)로서 나타낸 사용자 인터페이스 소자를 포함한다.

[0105] CPU(14)는 어드레스 및 데이터 버스(16) 및 제어/상태 신호 인터페이스(18)를 통해 시스템(10)의 부품에 접속되어 작동한다. 이들 부품은 특히 DRAM 1차 또는 주요 메모리, 하나 이상의 SRAM 완충제, 및 ROM, PROM, EPROM, EEPROM 등의 형태인 하나 이상의 판독 메모리 소자와 같은 다양한 메모리 소자(도시되지 않음)를 포함할 수 있는 시스템 메모리(20)를 포함한다. 시스템(10)은 또한 샘플 속의 분석물 농도를 측정 또는 검출할 수 있게 하는 샘플 판독기(22)를 포함할 수도 있다. 시스템(10)은 CRT, LCD 또는 기타 형태의 디스플레이와 같은 디스플레이 소자(24), 및 시스템(24)가 외부 데이터 프로세서, 샘플 판독기 또는 기타 외부 장치(도시되지 않음)와 인접하도록 하는 인터페이스 어댑터(26)를 추가로 포함할 수 있다. 인터페이스 어댑터(26)는 GPIB, RS-232, PCI, USB, SCSI, ETHERNET®, FIREWIRE® 또는 기타 IEEE 1394 인터페이스의 형태일 수 있다. CPU(14), 메모리(20), 샘플 판독기(22), 디스플레이(24) 및 인터페이스 어댑터(26)는 통상적인 방식으로 모판(도시되지 않음)을 통해 연관될 수 있으며, 그 위에 어드레스 및 데이터 버스(16) 및 제어/처리 인터페이스(18)에 의해 접속된다. 시스템(10)은 하드 디스크 드라이브, 플로피 디스크 드라이브, NIC, CD 드라이브 및/또는 기타 통상적인

하드웨어 소자와 같은 다양한 추가 부품(이 또한 도시되지 않음)을 포함할 수 있다.

[0106] 시스템 메모리(20)는 일반적으로, 어드레스/데이터 버스(16) 및 제어/상태 신호 인터페이스(18)를 통해 메모리(20) 및 CPU(14)에 연결되어 작동하는 다양한 하드웨어 부품의 작동에 적합한 작동 시스템 및 소프트웨어(도시되지 않음)를 함유할 것이다. 메모리(20)는 또한 반응의 진행에 대한 관찰 가능한 지시물과 관련된 수치를 3개의 상이한 시점에서 3회 이상 측정된 값을 입력 또는 수용할 수 있는 저장된 프로그램(28) 및 상술한 바와 같은 측정으로부터 관찰 가능한 지시물에 대한 종료점 값을 측정할 수 있는 저장된 프로그램(30)을 포함한다.

[0107] 키트

[0108] 적합한 방법을 실시하는 데 유용한 키트가 제공된다. 본 발명의 키트는, 예를 들면, 분석물(들)을 함유하는 시험 스트립 또는 기타 샘플 홀더, 및 시험 스트립으로부터 다수의 측정치를 관독 또는 입력하도록 배열된 로직을 함유하는 시험 스트립을 관독하기 위한 샘플 관독기 또는 계측기를 포함할 수 있으며, 측정된 값에 수학적 1의 연산을 적용하고, 입력된 측정치에 따라 하나 이상의 종료점 추정치를 출력한다. 당해 키트는 체액을 시험 스트립에 적용하기 위한 인쇄된 지침, 및 시험 스트립으로부터 값을 측정하기 위한 관독기 또는 계측기의 용도를 포함한다.

[0109] 실시예

[0110] 다음 실시예를 통해, 본 발명이 어떻게 구성되고 사용되는 지에 대한 완벽한 기술 및 설명이 당해 분야에서 통상의 기술을 가진 이에게 제공되나, 당해 실시예가 본 발명자가 본 발명으로서 간주하는 바의 범주를 제한하거나 실험이 수행된 전부 또는 유일한 실험을 나타내는 것으로 의도하지는 않는다. 사용되는 숫자에 대해 정확성을 보장하려는 시도가 이루어졌으나, 일부 실험 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 별도의 언급이 없는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이며, 온도는 °C이고, 압력은 대기압 부근이다.

[0111] 실시예 1: 비색계에 의한 혈당치 측정을 위한 종료점 측정

[0112] 다음 실시예는, 피검자의 혈당 수준을 측정하기 위한 본 발명의 방법의 유용성을 설명하며, 재현 가능한 결과를 취득하는 데 필요한 전체 검정 시간(종료 시간)을 통상적인 종료점 분석 방법과 비교한다.

[0113] 당해 실시예에서, 글루코스 모니터 "SureStep®"를 사용하여, 본 발명의 연산법을 사용하여 소요되는 검정 시간을 피검자의 글루코스 수치를 측정하는 통상적인 방법과 비교한다. SureStep®은 미국 캘리포니아주 밀피타스 소재의 라이프스캔, 인코포레이티드로부터 시판중인 혈당치 측정 시스템이다. 이는 포켓형 반사도 계측기 및 효소 촉매된 비색계 약품(글루코스 옥시다제 및 퍼옥시다제에 의해 촉매화된, MBTH 및 ANS의 유도체)을 사용하는 시약 스트립을 포함한다. 당해 약품은, 스트립이 사용되는 경우 혈액 샘플을 흡수하는 다공성 폴리실폰 막 매트릭스 속에 분산된다. 당해 계측기는 반응 매트릭스를 피크 파장이 660 내지 940nm인 LED로 조명한다. 660nm LED는 샘플 속의 글루코스의 양에 비례하는 비색계 반응의 생성물을 검출하는데 사용한다.

[0114] 당해 계측기는 스트립을 1초 간격으로 반사도 측정된 다음, 수학적 21에 나타난 바와 같이 반사도를 정량 K/S로 전환시킨다.

수학적 21

$$\frac{K}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R}$$

[0115] 위의 수학적 21에서,
[0116]

[0117] R은 반응 매트릭스로부터 산란된 광량을 이를 조명하는 광량으로 나눈 비에 비례하는 양이다.

[0118] K/S는 흡광 중(예: 염료)에 대략적으로 비례하는 양으로서 당해 분야에 공지되어 있다. 당해 계측기는 1초 660nm K/S 데이터(K/S₆₆₀)를 수집하고, 일정 시점에서 1초 윈도우에 앞서 5초 윈도우로 당해 데이터를 처리한다. 각각의 5초 윈도우에 대해, 기울기(단위 시간당 K/S 변화)를, 현재 K/S 값과 5초 먼저 취득한 K/S 값 사이의 변화를 기준으로 하여 산정한다. 반응이 기울기가 5초당 1% 미만인 지점까지 느껴지는 경우, 종료점에 도달한 것으로 간주한다. 글루코스는 다음 수학적 22에 따르는 최종 K/S로부터 산정한다.

수학식 22

$$\text{글루코스} = -10 + 70.9 \cdot K / S_{660} - 2.86 \cdot K / S_{660}^2 - 0.277 \cdot K / S_{660}^3$$

[0119]

[0120]

당해 실시예에서, 660nm로부터 반사도로부터 산정한 K/S 데이터는 15 내지 35℃의 온도 범위에서 SureStep®에 대해 1초 간격으로 수집한다. 7개의 생산 라인으로부터의 스트립을 사용하고, 대략 표준인 적혈구 용량에서 스파이킹된(의도하는 글루코스 농도를 갖는) 전혈로 전개된다. 4가지 혈액 샘플이 각각의 온도에 대해 사용된다. 계획된 종료점의 선언에 사용되는 항목은 (1) 반응이 50% 이상 종결된다는 것과 (2) 3개의 연속 K/S 추정치가 평균 K/S의 2% 이상의 범위를 갖는다는 것이다. 이들 항목은 표준 SureStep® 종료점(5초 내의 1% 변화)이 달성되기 전에 만족되지 않는 경우, SureStep® 종료점을 사용한다. 글루코스는 K/S 및 글루코스 사이의 SureStep® 관계에 따라 계산한다. SureStep® 종료점 값이 새로운 연산 결과와 비교된다. 각각의 온도에서, 최적 Δt를 SureStep®과 당해 연산 사이의 평방 제곱근(RMS) 차이와, 관찰되는 평균 종료 시간의 단축의 조합을 기준으로 하여 측정한다. 표 1에서 데이터는 종료 시간이 개선되고, 2개의 연산 결과 사이의 전형적인 불일치가 적음을 나타낸다.

표 1

[0121]

온도 (°C)	Δt (초)	SureStep®을 사용한 평균 검정 시간 (초)	본 발명에 따르는 평균 검정 시간 (초)	RMS 오차 (%) 본 발명 대 SureStep®
15	5	41.7	16.7	2.2
20	4	29.1	12.9	1.7
25	3	31.9	15.5	2.1
30	2	18.2	10.4	1.0
35	1	12.4	8.4	1.0

발명의 효과

[0122]

본 발명에 따르는 반응 종료점을 특성화하는 방법은 의학 진단 검정을 용이하게 하고 이러한 검정을 수행하는 데 소요되는 시간을 단축시킬 수 있으며, 환자 또는 일반인에 의해 임상적 설정의 외부에서 통상적으로 수행되는 혈당치 모니터링 및 항응고제 요법 모니터링과 같은 의학 진단 시험에 특히 유용하다.

[0123]

본 발명은 이의 특정 양태에 대해 기술되었으나, 당해 분야의 숙련가들은 다양한 변화 및 등가물에 의한 대체가 본 발명의 요지 및 범주를 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 다수의 수정은 특정 상황, 재료, 물질의 조성, 공정, 공정 단계(들)을 본 발명의 목적, 요지 및 범주에 맞출 수 있다. 이러한 모든 변형은 첨부된 청구범위 내에서 이루어진다.

도면의 간단한 설명

[0001]

도 1은 1차 반응 속도를 갖는 반응을 나타낸 그래프로서, 세로축은 측정되거나 관찰된 분석물 농도이고, 가로축은 반응 시간을 나타낸다.

[0002]

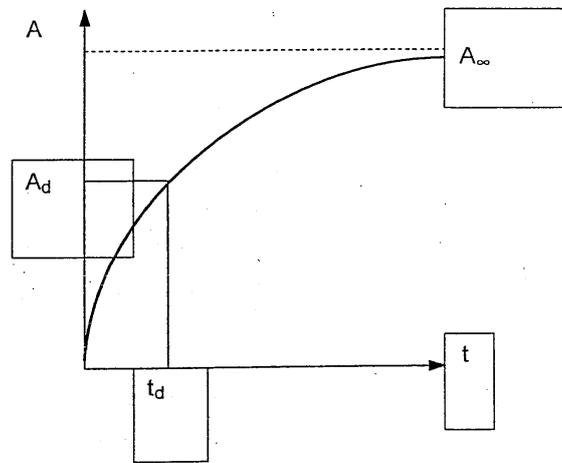
도 2는 1차 반응 속도를 갖는 반응에서 3지점 관찰 윈도우를 나타낸 그래프로서, 세로축은 측정되거나 관찰된 분석물 농도이고, 가로축은 반응 시간을 나타낸다.

[0003]

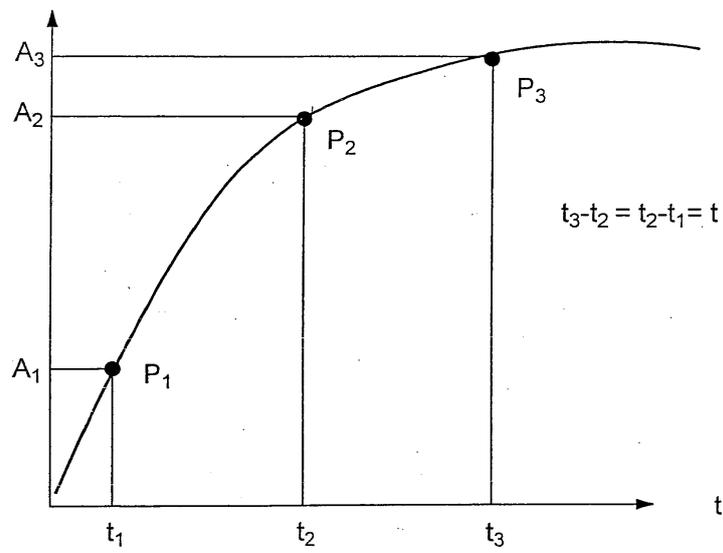
도 3은 본 발명에 따르는 반응 종료점 측정에 유용한 시스템을 도식적으로 도시한 도이다.

도면

도면1



도면2



도면3

