



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107110813 B

(45)授权公告日 2020.04.17

(21)申请号 201580069339.X

(22)申请日 2015.12.14

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107110813 A

(43)申请公布日 2017.08.29

(30)优先权数据  
PA201400736 2014.12.18 DK

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.06.19

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2015/079524 2015.12.14

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02016/096683 EN 2016.06.23

(73)专利权人 雷迪奥米特医学公司

地址 丹麦布伦斯霍伊

(72)发明人 T.S.汉森 T.克亚尔 T.P.尼高

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所  
11105

代理人 曹立莉

(51)Int.Cl.  
G01N 27/327(2006.01)

(56)对比文件  
WO 2014134537 A1,2014.09.04,  
WO 2008034587 A1,2008.03.27,  
US 2006275859 A1,2006.12.07,  
CN 101175999 A,2008.05.07,

审查员 王思雨

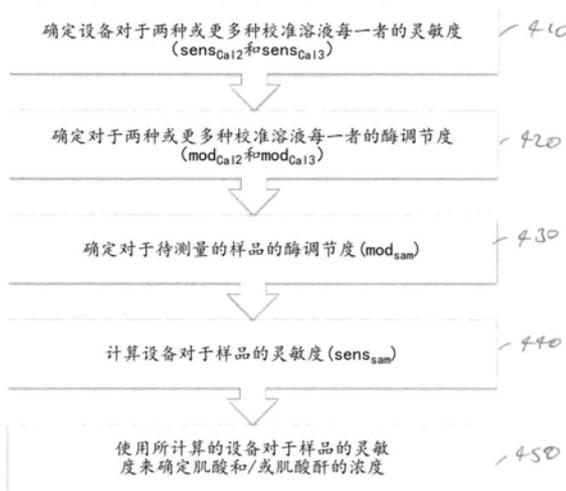
权利要求书3页 说明书7页 附图4页

(54)发明名称

对内源性调节剂进行校正的安培型肌酸酐传感器的校准概念

(57)摘要

本发明提供了一种校准设备的方法,所述设备用于测量包含一种或多种酶调节剂的样品中的肌酸酐浓度,所述方法包括:确定所述设备对于两种或更多种校准溶液每一者的灵敏度,其中每种校准溶液具有不同量的酶调节剂;确定对于所述两种或更多种校准溶液每一者的调节度;确定对于待测量的样品的调节度;以及计算所述设备对于所述样品的灵敏度,其中所述计算包括通过包括所确定的调节度的函数,更改所述两种或更多种校准溶液之一的灵敏度。



1. 一种校准酶的安培型设备的方法,所述设备用于测量包含一种或多种酶调节剂的样品中的肌酸酐和/或肌酸的浓度,所述方法包括:

测量两种或更多种校准溶液的设备输出;

通过计算所述校准溶液中的所述设备的输出与所述校准溶液的肌酸和/或肌酸酐的已知浓度之间的比率确定所述设备对于两种或更多种校准溶液每一者的灵敏度,其中每种校准溶液具有不同量的酶调节剂;

基于所述校准溶液中的酶调节剂的量来估计酶调节度而确定对于所述两种或更多种校准溶液每一者的调节度;

基于所述样品中的酶调节剂的量确定对于待测量的样品的调节度;以及

计算所述设备对于所述样品的灵敏度,其中所述计算包括将所述设备对于所述两种或更多种校准溶液之一的灵敏度调节一定因数,其中所述因数是所确定的样品和校准溶液的调节度的函数,并且其中酶调节度与样品的酶调节度最接近的校准溶液的灵敏度是经调节的灵敏度,

使用对于所述样品的灵敏度来确定样品的肌酸或肌酸酐的准确浓度,具体方式为测量安培计的原始输出并将其除以所计算的灵敏度。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述一种或多种酶调节剂包括酸或碱或其盐。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述一种或多种酶调节剂包括以下的一者或多者:碳酸氢根、乙酸根、甲酸根、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 和pH。

4. 根据权利要求2所述的方法,其中所述一种或多种酶调节剂包括以下的一者或多者:碳酸氢根、乙酸根、甲酸根、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 和pH。

5. 根据权利要求1所述的方法,其中所述确定对于所述校准溶液每一者的调节度包括:接收所述调节度的值。

6. 根据权利要求2所述的方法,其中所述确定对于所述校准溶液每一者的调节度包括:接收所述调节度的值。

7. 根据权利要求3所述的方法,其中所述确定对于所述校准溶液每一者的调节度包括:接收所述调节度的值。

8. 根据权利要求4所述的方法,其中所述确定对于所述校准溶液每一者的调节度包括:接收所述调节度的值。

9. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述设备还包括覆盖所述设备并面向所述样品的膜,且所述函数还包括酶活性与所述膜的渗透性之间的比率。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中酶活性与覆盖电极的一个或多个膜层的渗透性之间的所述比率是所述设备特异性的无量纲常数。

11. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有与所述样品中的酶调节剂的量相同水平的酶调节剂的量。

12. 根据权利要求9所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有与所述样品中的酶调节剂的量相同水平的酶调节剂的量。

13. 根据权利要求10所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有与所述样品中的酶调节剂的量相同水平的酶调节剂的量。

14. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有

低水平的酶调节,而另一种校准溶液具有较高水平的酶调节。

15. 根据权利要求9所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有低水平的酶调节,而另一种校准溶液具有较高水平的酶调节。

16. 根据权利要求10所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有低水平的酶调节,而另一种校准溶液具有较高水平的酶调节。

17. 根据权利要求11所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有低水平的酶调节,而另一种校准溶液具有较高水平的酶调节。

18. 根据权利要求12所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有低水平的酶调节,而另一种校准溶液具有较高水平的酶调节。

19. 根据权利要求13所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有低水平的酶调节,而另一种校准溶液具有较高水平的酶调节。

20. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

21. 根据权利要求9所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

22. 根据权利要求10所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

23. 根据权利要求11所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

24. 根据权利要求12所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

25. 根据权利要求13所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

26. 根据权利要求14所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

27. 根据权利要求15所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

28. 根据权利要求16所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

29. 根据权利要求17所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

30. 根据权利要求18所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

31. 根据权利要求19所述的方法,其中所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节。

32. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。

33. 根据权利要求9所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。

34. 根据权利要求10所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。

35. 根据权利要求11所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。

36. 根据权利要求12所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
37. 根据权利要求13所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
38. 根据权利要求14所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
39. 根据权利要求15所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
40. 根据权利要求16所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
41. 根据权利要求17所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
42. 根据权利要求18所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
43. 根据权利要求19所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
44. 根据权利要求20所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
45. 根据权利要求21所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
46. 根据权利要求22所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
47. 根据权利要求23所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
48. 根据权利要求24所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
49. 根据权利要求25所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
50. 根据权利要求26所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
51. 根据权利要求27所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
52. 根据权利要求28所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
53. 根据权利要求29所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
54. 根据权利要求30所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
55. 根据权利要求31所述的方法,其中所述设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。
56. 一种包含指令的计算机可读介质,所述指令在由电子设备的一个或多个处理器执行时,致使所述电子设备根据权利要求1至55任一项中要求保护的方法操作。
57. 一种电子设备,包括:
  - 一个或多个处理器;以及
  - 包含指令的存储器,所述指令在由所述处理器中的一者或多者执行时,致使所述电子设备根据权利要求1至55任一项中要求保护的方法操作。

## 对内源性调节剂进行校正的安培型肌酸酐传感器的校准概念

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于校准肌酸酐和肌酸的测量设备的方法,以及用于这些方法的校准溶液。

### 背景技术

[0002] 用于测量肌酸酐(Crn)和肌酸(Cr)的浓度的技术在医学上、例如在监测肾病方面有用途。可通过安培测量法确定水溶液中Cr的浓度(cCr)和Crn的浓度(cCrn)。可使用两个传感器测量cCrn:检测Cr的Crea A传感器;以及检测Cr和Crn两者的Crea B传感器。cCrn基于Crea A与Crea B传感器测量值之间的差值。

[0003] 传感器通常使用酶将肌酸酐和肌酸转化为可测量的产物,诸如可在安培型系统中检测的过氧化氢。为了以足够精确度确定未知样品中的cCrn和cCr,必须校准Crea A和Crea B传感器以便确定其实际灵敏度。

[0004] 然而,样品中的酶调节剂的存在可调节(即,提高或降低)传感器中的酶的活性。因此,使用具有与待测量的样品不同量或类型的酶调节剂的校准溶液来校准的传感器可能会得出不准确的结果。

[0005] 酶调节剂可天然存在于待测量的样品中,并且可以不可预知的量存在。例如,碳酸氢根是酶抑制剂,对于血液是内源性的,并且不同的人在其血液中将有不同浓度的碳酸氢根。因此,不可能制备碳酸氢根浓度匹配所有可能的人血浆样品的单种校准溶液。更一般地讲,公认的是,制备具有与目标样品相同的酶调节度的校准溶液可能难以实现。

[0006] 现有解决方案包括添加一定浓度的乙酸根,该浓度所显示的酶调节水平与血液中所存在的类似。该解决方案仅对于携带平均水平的调节剂的血液样品是准确的,即使在该情况下,传感器也可能以不同方式响应于不同调节剂,因为扩散迁移特征不同。

[0007] 因此,仍然需要将所测量的样品中不同水平的酶调节考虑在内的校准肌酸和/或肌酸酐传感器的有效方法。

### 发明内容

[0008] 在本发明的第一方面,申请人提供了校准设备的方法,该设备用于测量包含一种或多种酶调节剂的样品中的肌酸酐浓度,该方法包括:确定设备对于两种或更多种校准溶液每一者的灵敏度,其中每种校准溶液具有不同量的酶调节剂;确定对于所述两种或更多种校准溶液每一者的调节度;确定对于待测量的样品的调节度;以及计算设备对于样品的灵敏度,其中所述计算包括通过包括所确定的调节度的函数,更改所述两种或更多种校准溶液之一的灵敏度。

[0009] 通过使用具有不同量的酶调节剂的两种校准溶液,可以计算测量设备受到酶调节剂怎样的影响,从而预测所测量的样品中的任何酶调节水平的效应。

[0010] 在一些示例实施例中,所述一种或多种酶调节剂包括酸或碱或其盐。

[0011] 在一些示例实施例中,所述一种或多种酶调节剂包括以下的一者或多者:碳酸氢

根、乙酸根、甲酸根、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 。

[0012] 在一些示例实施例中,pH充当酶调节剂。

[0013] 在一些示例实施例中,所述确定设备对于两种或更多种校准溶液的灵敏度包括:计算校准溶液中的设备的输出与校准溶液中的肌酸酐和/或肌酸的浓度之间的比率。

[0014] 在一些示例实施例中,所述确定对于校准溶液每一者的调节度包括:基于校准溶液中的酶调节剂的量来估计酶调节。

[0015] 在一些示例实施例中,所述确定对于校准溶液每一者的调节度包括:接收所述调节度的值。

[0016] 在一些示例实施例中,所述函数还包括酶活性与设备的渗透性之间的比率。

[0017] 在一些示例实施例中,酶活性与设备的渗透性之间的比率是设备特异性的无量纲常数。

[0018] 在一些示例实施例中,所述两种或更多种校准溶液之一具有与样品相同的数量级的酶调节剂的量。

[0019] 在一些示例实施例中,所述两种或更多种校准溶液之一没有酶调节剂,或具有低水平的酶调节剂。

[0020] 在一些示例实施例中,所述两种或更多种校准溶液之一具有高水平的酶调节,其至少实质上高于低或零水平的酶调节剂。

[0021] 在一些示例实施例中,该设备是肌酸和/或肌酸酐传感器。

[0022] 根据本发明的另一个方面,提供了包含指令的计算机可读介质,所述指令在由电子设备的一个或多个处理器执行时,致使电子设备根据任何上述方法操作。

[0023] 根据本发明的另一个方面,提供了电子设备,其包括:一个或多个处理器;和包含指令的存储器,所述指令在由处理器中的一者或多者执行时,致使电子设备根据任何上述方法操作。

[0024] 根据本发明的另一个方面,提供了包装,其包括:两种或更多种校准溶液,其中每种校准溶液具有不同量的酶调节剂;和与任何上述方法或上述电子设备一起使用的指令。

## 附图说明

[0025] 现在将参照附图详细描述本发明提出的装置的示例,在附图中:

[0026] 图1是安培测量系统的示例的示意图;

[0027] 图2是示出将肌酸酐转化为过氧化氢的酶级联反应的一系列示意图;

[0028] 图3是说明酶调节剂示例的表格;以及

[0029] 图4是概述所提出的方法的步骤的流程图。

## 具体实施方式

[0030] 现在将参照图1,其是三电极安培测量系统101的示意图。安培测量系统可具有至少两个电极:工作电极(WE) 110及组合的反电极和参比电极(CE/RE)。对于三电极安培测量系统101而言,CE/RE电极的功能分成两个单独的电极:参比电极(RE) 111和反电极(CE) 112。示例安培测量系统101还包括安培计120、伏特计121和电压源122及电解质溶液140。

[0031] WE 110是带正电的电极,此处发生氧化反应。RE 111通常由Ag/AgCl制成并且能够

保持稳定电势(尤其是在没有电流流过其中的情况下),因此需要CE 112使来自WE 110的电流往回流到电解质溶液140。电解质溶液140和样品150提供这三个电极之间的离子接触。膜130选择性地分析物转化为选择性地允许从样品150穿过的物质。电压源122施加必要的电势以保持所需的还原或氧化反应,这受到伏特计121的控制。安培计120测量所产生的流过电路的电流,其是因样品150与电解质溶液140之间的化学反应而产生的自由流动的电子的量度。

[0032] 图1所示的安培测量系统是说明性的示例,可以设想到若干其他实施方式。例如,安培测量系统可为如上所述的双电极系统。

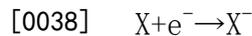
[0033] 流过电极链的电流的强度与在WE 110处氧化(或还原)的物质的浓度成比例。理想情况下,当获知将电流与浓度关联起来的比例常数时,任何给定样品中的浓度都可通过测量该特定样品所生成的电流来获得。

[0034] 为了说明安培测量系统中的测量过程,我们假定:样品150含有物质B,其在膜130中选择性地转化为物质A,后者可在WE 110(WE)处氧化为 $A^+$ ;并且电解质140含有物质X,其在CE 112(阴极)处还原为 $X^-$ 。我们还假定,膜130仅允许物质A从样品穿过并进入电解质溶液140中。

[0035] 当在电极两端施加适当的电势时,A根据以下反应在WE 110处发生氧化:



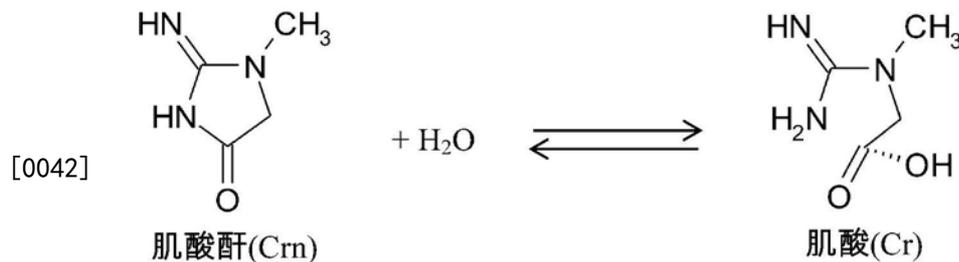
[0037] A的氧化反应产生电子流。为了完成该电路,需要消耗电子的还原反应。因此,物质X根据以下反应在CE 112处发生还原:



[0039] 流过电路的电流的强度与发生氧化的分析物的浓度成比例。因此,如果物质X过量,则分析仪可自动计算样品中的分析物的浓度。

[0040] 术语传感器是指完整的安培测量系统,如不包括样品150的图1中所示。

[0041] Crn在水溶液(例如,血液)中不稳定,它会在此可逆地转化为Cr(参见方案1)。为了测量cCr,使用了肌酸传感器(Crea A)。为了测量cCrn,可使用双传感器系统,其中一个传感器(Crea A)仅检测Cr,而另一个传感器(Crea B)检测Cr和Crn两者。借助于差值测量,可以获得cCrn值。



### 方案 1

[0043] 传感器由多层膜130保护,该多层膜由至少三个功能层组成,即可透过Crn和Cr的外膜层;中间酶层;以及可透过 $H_2O_2$ 的内膜层。

[0044] 在另一个实施例中,使用基本上仅对Crn具有灵敏度的传感器直接确定cCrn。这可通过施加不可透过Cr但可透过Crn的外膜进行,由于Cr是阴离子而Crn呈中性,因此是可行的。

[0045] 图2示出了将肌酸和肌酸酐转化为过氧化氢的示例酶级联反应。在该示例中,肌酸酶(肌酸脒基水解酶)220、肌氨酸氧化酶230和肌酸酐酶(肌酸酐酰胺水解酶)210这些酶用于酶级联反应。这些酶固定在内膜层与外膜层之间,而Crn和Cr分子可扩散穿越外膜层。

[0046] Crea A传感器根据反应202和203将肌酸转化为过氧化氢,由此检测肌酸。为了实现该转化,Crea A传感器使用肌酸脒基水解酶220和肌氨酸氧化酶230。在Crea A传感器中,酶级联反应按如下方式改变Cr:

[0047] 肌酸+H<sub>2</sub>O→肌氨酸+脲 (肌酸脒基水解酶)

[0048] 肌氨酸+H<sub>2</sub>O+O<sub>2</sub>→甘氨酸+甲醛+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (肌氨酸氧化酶)

[0049] Crea B传感器含有肌酸酐酰胺水解酶210、肌酸脒基水解酶220和肌氨酸氧化酶230所有三种酶,因此能检测Crn和Cr两者。在酶级联反应中,Crn/Cr参与反应201、202和203:

[0050] **肌酸酐+H<sub>2</sub>O↔肌酸 (肌酸酐酰胺水解酶)**

[0051] 肌酸+H<sub>2</sub>O→肌氨酸+脲 (肌酸脒基水解酶)

[0052] 肌氨酸+H<sub>2</sub>O+O<sub>2</sub>→甘氨酸+甲醛+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (肌氨酸氧化酶)

[0053] 对于Crea A和Crea B传感器两者而言,这些酶反应产生相同的终产物,其中之一是H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,它可穿越内膜层扩散到WE 110(优选铂)。通过将足够高的电势施加到Crea A和Crea B传感器的电极链,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可在Pt阳极240处发生氧化:

[0054]  $H_2O_2 \rightarrow 2H^+ + O_2 + 2e^-$

[0055] 为了完成该电路,在CE 112处利用还原反应消耗电子,从而保持WE110与CE 112之间的电荷平衡。

[0056] H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的氧化反应产生与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的量成比例的电流(dE),继而根据以下传感器响应模型,将电流(dE)与Crea A传感器的Cr量及Crea B传感器的Cr和Crn量直接关联:

[0057]  $dE_A = Sens_{A,Cr} \cdot [Cr]_A$  方程1

[0058]  $dE_B = Sens_{B,Crn} \cdot [Crn]_B + Sens_{B,Cr} \cdot [Cr]_B$  方程2

[0059] 其中dE<sub>A</sub>和dE<sub>B</sub>分别是在Crea A和Crea B传感器处产生的电流;Sens<sub>A,Cr</sub>和Sens<sub>B,Cr</sub>分别是Crea A和Crea B传感器中将电流(dE)与Cr浓度关联起来的灵敏度常数,并且Sens<sub>B,Crn</sub>是Crea B传感器中将电流(dE)与Crn浓度关联起来的灵敏度常数。

[0060] 将电流与浓度关联起来的比例常数Sens通常称为灵敏度。通过校准传感器来确定这些常数。通过分析仪中的安培计120来测量每个传感器的电流(信号)。如果传感器灵敏度S为已知的,则易于由以上方程确定给定样品中的未知Crn浓度。

[0061] 可通过酶调节剂来调节图2所示的反应。这些酶调节剂对于样品可以是内源性的,诸如碳酸氢根,并且这些酶调节剂可以抑制所使用的任何酶的作用。术语酶调节剂包括降低酶性能(抑制剂)或提高酶性能的物质。

[0062] 图3示出了可存在于样品中的内源性调节剂的多个示例。该表格示出了示例调节剂及其在调节酶方面的有效性的量度,即以mM为单位的I<sub>50</sub>值(半数抑制浓度)。酶调节剂不限于具体分子,并且可包括其他因子,诸如溶液或样品的pH或温度。众所周知,像溶液pH这样的因子可影响酶的性能,因此诸如pH之类的因子在本文可称为酶调节剂。

[0063] 在一个示例实施例中,制作校准溶液,以确定pH和碳酸氢根浓度对Cr传感器的传感器读数的影响。在该示例实施例中,使用Crea A传感器来测量Cr的浓度,但可以设想到,

该溶液可适于使用Crea A和Crea B传感器来测量Crn的浓度。

[0064] 在该示例实施例中,可使用表示为Ca12和Ca13的两种校准溶液来校准传感器。以下方案示出了这两种溶液和给定样品的内容物:

[0065]		Ca12	Ca13	样品
	cCr [ $\mu\text{M}$ ]	943	487	待测定
	pH	6.8	7.1	7.4
	[ $\text{HCO}_3^-$ ] [mM]	0	24	53.2
	pCO <sub>2</sub> [mmHg]	0	80	82.9
	dE样品 (读数) [pA]	31179	14235	2640
	灵敏度 ([Cr]/dE样品) [pA/ $\mu\text{M}$ ]	33.1	29.2	待测定

[0066] 表1

[0067] 表1示出了校准溶液Ca12和Ca13具有已知浓度的Cr和 $\text{HCO}_3^-$ 、已知的pH水平以及已知的CO<sub>2</sub>分压的情况。校准物Ca12和Ca13还可含有缓冲剂、盐、防腐剂和洗涤剂,但在该示例实施例中将忽略这些物质。

[0068] 样品可以是待测量的血液样品,并且可以通过适当的传感器来测量其pH、 $\text{HCO}_3^-$ 浓度和CO<sub>2</sub>分压。可使用安培测量设备来测量样品的原始读数(dE样品),但需要在可确定样品的Cr浓度之前确定灵敏度。

[0069] 当Ca12和Ca13的Cr浓度为已知的时,可通过测量所测得的设备输出(dE)与已知的浓度之间的比率,来计算传感器对于校准溶液的灵敏度:

$$[0070] \quad \text{sens}_{\text{Ca12}} = \frac{\text{dE}_{\text{Ca12}}}{[\text{Cr}]_{\text{Ca12}}} = \frac{31179\text{pA}}{943\mu\text{M}} \quad \text{方程 3}$$

$$[0071] \quad \text{sens}_{\text{Ca13}} = \frac{\text{dE}_{\text{Ca13}}}{[\text{Cr}]_{\text{Ca13}}} = \frac{14235\text{pA}}{487\mu\text{M}} \quad \text{方程 4}$$

[0072] 记录每种校准溶液的读数(dE<sub>Ca1</sub>),并转换为灵敏度比率:

$$[0073] \quad \frac{\text{sens}_{\text{Ca13,2enz}}}{\text{sens}_{\text{Ca12,2enz}}} = \frac{\frac{\text{dE}_{\text{Ca13}}}{[\text{Cr}]_{\text{Ca13}}}}{\frac{\text{dE}_{\text{Ca12}}}{[\text{Cr}]_{\text{Ca12}}}} = \frac{\frac{14235}{487\mu\text{M}}}{\frac{31179\text{pA}}{943\mu\text{M}}} = 0.883 \quad \text{方程 5}$$

[0074] 比率0.883说明,与不含碳酸氢根的溶液Ca12中相比,像Ca13这样的溶液中传感器每 $\mu\text{M}$ 肌酸产生少12.3%的电流。使用已知的pH(pH<sub>Ca12</sub>和pH<sub>Ca13</sub>)、 $[\text{HCO}_3^-]$  ( $[\text{HCO}_3^-]_{\text{Ca12}}$ 和 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{Ca13}}$ ),计算两种校准溶液的调节度(mod):

$$[0075] \quad \text{mod}_{\text{Ca12}} = \frac{K_a}{10^{-\text{pH}_{\text{Ca12}}} + K_a} \frac{1}{(1 + [\text{HCO}_3^-]_{\text{Ca12}}/K_i)} = 0.137 \quad \text{方程 6}$$

$$[0076] \quad \text{mod}_{\text{Ca13}} = \frac{K_a}{10^{-\text{pH}_{\text{Ca13}}} + K_a} \frac{1}{(1 + [\text{HCO}_3^-]_{\text{Ca13}}/K_i)} = 0.025 \quad \text{方程 7}$$

[0077] 技术人员可通过将单盐基质子迁移的方程乘以简单竞争性抑制的表达式,而导出方程6和7。

[0078] 调节度(mod<sub>Ca12</sub>和mod<sub>Ca13</sub>)提供了在给定pH和碳酸氢根中对酶的调节程度的估计

值。 $K_a$ 是校准溶液的酸解离常数,而 $K_i$ 是抑制常数。对于给定示例而言,预期通过Ca12和Ca13中的抑制而分别去除了初始酶活性的86.3% (1-0.137) 和97.5% (1-0.025)。

[0079] 根据已知的调节值和灵敏度比率,可以计算传感器特异性常数 $\phi$ 。 $\phi$ 是无量纲常数,其是酶活性与传感器的渗透性之间的比率的表达式。在所提供的示例实施例中, $\phi$ 的值由以下方程给出:

$$[0080] \quad \phi = \frac{1}{\text{mod}_{\text{Ca13}} \left( \frac{\text{sens}_{\text{Ca12}}}{\text{sens}_{\text{Ca13}}} - 1 \right)} + \frac{1}{\text{mod}_{\text{Ca12}} \left( \frac{\text{sens}_{\text{Ca13}}}{\text{sens}_{\text{Ca12}}} - 1 \right)} = 238.3 \quad \text{方程 8}$$

[0081] 一旦吸出样品,就可以计算来自该具体样品的pH和碳酸氢根对传感器的调节:

$$[0082] \quad \begin{aligned} & \text{mod}([\text{pH}]_{\text{enz}}, [\text{HCO}_3]_{\text{enz}}) \\ &= \frac{K_a}{10^{-\text{pH}_{\text{rinse}}} + (10^{-\text{pH}_{\text{冲洗}}} - 10^{-\text{pH}_{\text{样品}}}) C_3 (\text{pCO}_2_{\text{样品}} - \text{pCO}_2_{\text{冲洗}}) + K_a (1 + [\text{HCO}_3]_{\text{enz}}/K_i)} \cdot \frac{1}{1} \\ &= 0.015 \end{aligned} \quad \text{方程 9}$$

[0083] 方程9是对方程6和7的改写,其中添加了考虑 $\text{pCO}_2$ 对传感器中的pH的影响的额外项。

[0084] 此处, $\text{pH}_{\text{冲洗}}$ 值是传感器在样品之间暴露于其中的冲洗液中的pH, $\text{pCO}_2_{\text{冲洗}}$ 是传感器在样品之间暴露于其中的冲洗液中的 $\text{CO}_2$ 分压,并且 $C_3$ 是对于所有传感器而言固定的常数,且与 $\text{CO}_2$ 的渗透性相关联。

[0085] 通过按一定因数调节校准溶液之一的灵敏度,来计算给定样品中的灵敏度。该因数是样品和校准溶液的调节度的函数,并且还可包括 $\phi$ 值。在该示例中,调节了Ca13的灵敏度( $\text{sens}_{\text{Ca13}}$ ),因为与Ca12中相比,Ca13中的调节度更接近样品的调节度。在该示例中,该因数由以下方程给出:

$$[0086] \quad \frac{1 - \frac{1}{\phi \text{mod}_{\text{Sam}} + 1}}{1 - \frac{1}{\phi \text{mod}_{\text{Ca13}} + 1}} \quad \text{方程 10}$$

[0087] 在该示例中,调节因数大约为0.89,因此样品的灵敏度等于Ca13的灵敏度乘以该因数:

$$[0088] \quad \text{sens}_{\text{Sam,Cr}} = \text{sens}_{\text{Ca13}} \frac{1 - \frac{1}{\phi \text{mod}_{\text{Sam}} + 1}}{1 - \frac{1}{\phi \text{mod}_{\text{Ca13}} + 1}} = 26.2 \text{pA}/\mu\text{M} \quad \text{方程 11}$$

[0089] 使用对该给定样品的读数(例如, $\text{dESamp} = 2640 \text{pA}$ )得出经校正的肌酸含量:

$$[0090] \quad [\text{Cr}]_{\text{Sam}} = \frac{\text{dESamp}}{\text{sens}_{\text{Sam,Cr}}} = \frac{2640 \text{pA}}{26.2 \text{pA}/\mu\text{M}} = 100.8 \mu\text{M} \quad \text{方程 12}$$

[0091] 如果浓度计算时使用的是Ca13的灵敏度而不是考虑了酶调节剂的灵敏度,则得出的浓度将低约10%:

$$[0092] \quad [\text{Cr}]_{\text{sam}} = \frac{\text{dESamp}}{\text{sens}_{\text{Ca13}}} = \frac{2640 \text{pA}}{28.8 \text{pA}/\mu\text{M}} = 91.7 \mu\text{M} \quad \text{方程 13}$$

[0093] 此外,如果浓度计算时使用的是没有任何碳酸氢根酶调节剂的Ca12的灵敏度,则Cr的浓度将为79.6 $\mu$ M,这与使用所提出的方法计算的浓度相差悬殊。这说明,与使用校准溶液校准传感器时未考虑酶调节剂的现有方法相比,所提出的解决方案提供了改善的结果。

[0094] 图4概述了用于执行所提出的方法的示例实施例的步骤。所提出的方法不限于图4所示的步骤的次序,可以设想所述方法也不仅仅限于所提供的该示例实施例。

[0095] 在步骤410处,确定设备对于所述两种或更多种校准溶液每一者的灵敏度。所述对灵敏度的确定可涉及计算安培计输出(电流)与校准溶液的肌酸或肌酸酐的已知浓度之间的比率。在一些实施例中,校准溶液的肌酸或肌酸酐的浓度需要根据初始浓度确定或调节,而在其他实施例中,这些浓度作为伴随校准溶液的数据提供。

[0096] 可提供两种校准溶液或不同量的酶调节剂,从而有效地提供两个数据点以用于确定酶调节剂与灵敏度之间的关系。提供不同量的酶调节剂的超过两种校准溶液可得出更准确的结果。一种校准溶液可被选择成具有非常低或没有酶调节剂,而另一种校准溶液可被选择成具有与样品中预期量的酶调节剂大约相同的数量级的酶调节剂。这样,第二校准溶液提供接近预期样品的灵敏度,而第一校准溶液提供离第二校准溶液足够远的灵敏度,从而提供酶调节与灵敏度之间关系的良好量度。

[0097] 在步骤420处,确定对于所述两种或更多种校准溶液每一者的酶调节度。该酶调节度是给定溶液中对酶活性的调节程度的量度。例如,在存在碳酸氢根[ $\text{HCO}_3^-$ ]浓度和高于最佳的碱度(pH)的情况下,这可将酶活性抑制特定百分比,该百分比由调节度给出。在这个示例中,[ $\text{HCO}_3^-$ ]、pH、 $K_a$ 和 $K_i$ 的已知值可用于确定该百分比。或者,所述确定可简单地涉及将酶调节度输入为输入值。在该示例中,该值可从数据库或参考源获知,并且可输入为该方法所用的已知的无量纲变量。

[0098] 在步骤430处,确定对于待测量的样品的酶调节度。该确定可与步骤420中对酶调节度的确定类似。对于样品的酶调节度的该确定还可考虑这样的事实:例如,可在样品之间进行冲洗,从而可影响pH的贡献。虽然可对每组校准溶液执行一次步骤420,但可对所测量的每种样品重复步骤430。

[0099] 在步骤440处,计算测量设备对于样品的灵敏度。该步骤可涉及确定因数,按该因数调节已针对校准溶液之一确定的灵敏度之一。酶调节度与样品的酶调节度最接近的校准溶液的灵敏度可以是经调节的灵敏度。

[0100] 调节校准溶液的灵敏度的因数可以是对于该校准溶液和样品的酶调节度的函数。该因数还可以是传感器特异性常数的函数,该传感器特异性常数是酶活性与设备的渗透性之间的比率的表达式。该传感器特异性常数可在步骤420之后且在步骤430之前计算,并且可重复用于计算对于使用所提出的方法测量的任何其他样品的灵敏度。

[0101] 在步骤450处,可使用对于样品的灵敏度来确定样品的肌酸或肌酸酐的准确浓度,具体方式是测量安培计的原始输出并将其除以所计算的灵敏度。

[0102] 应当理解,本公开包括上述实施例中陈述的任选特征的组合排列。具体地讲,应当理解,所附从属权利要求中陈述的特征与可提供的任何其他相关独立权利要求联合公开,并且该公开内容不限于仅仅是这些从属权利要求的特征与它们初始从属的独立权利要求的组合。

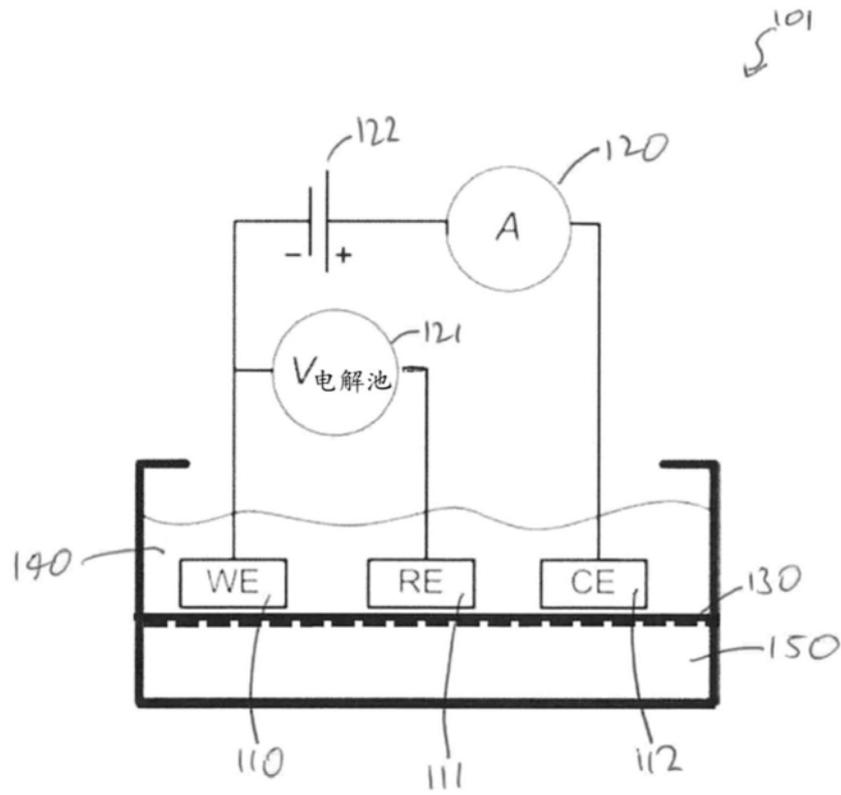


图1

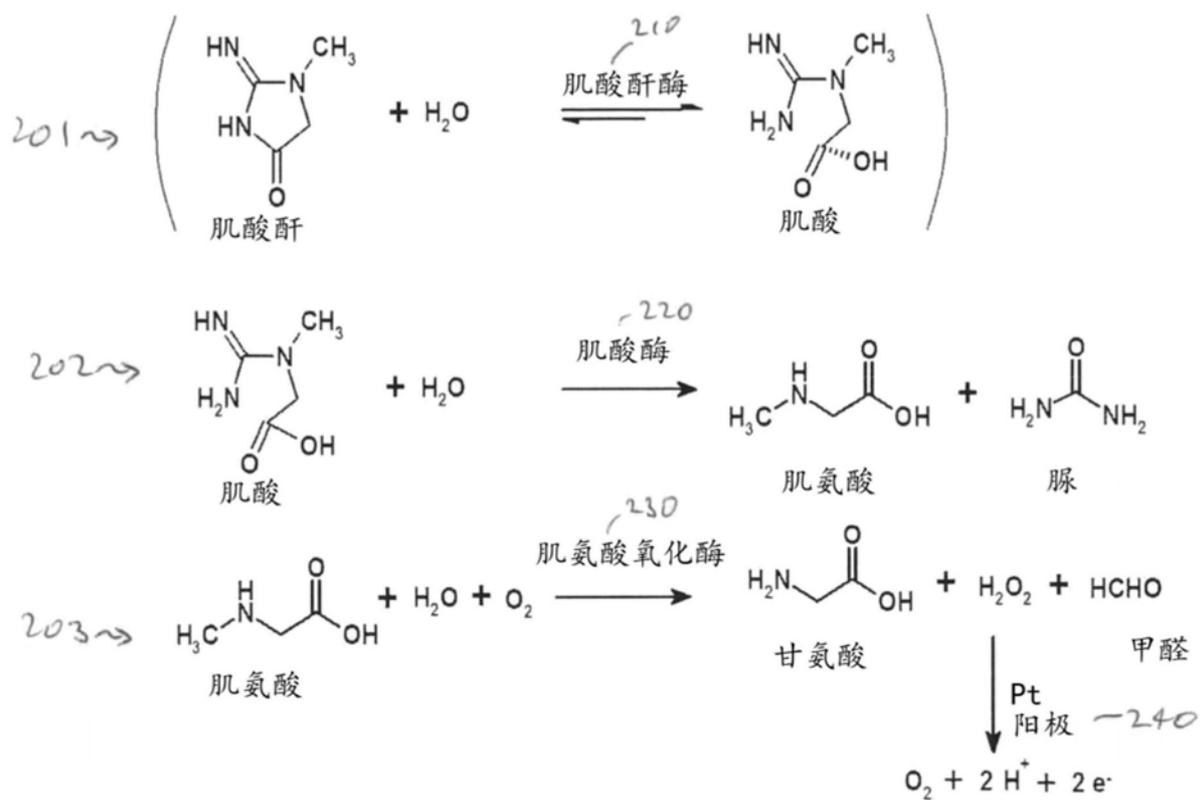
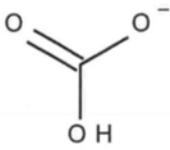
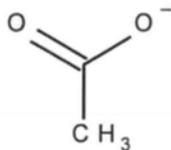
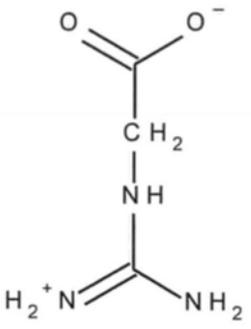
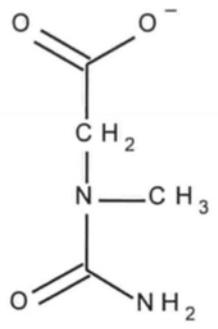


图2

			
碳酸氢根 (重碳酸根)	乙酸根	胍基乙酸根	N-氨基甲酰肌氨酸
抑制剂	抑制剂	弱抑制底物	强抑制
$I_{50} = 9\text{mM}$	$I_{50} = 9.6\text{mM}$	$I_{50} = 36\text{mM}$	$I_{50} = 0.45\text{mM}$

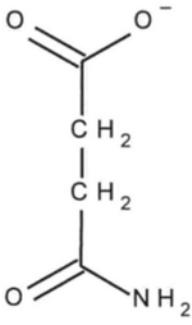
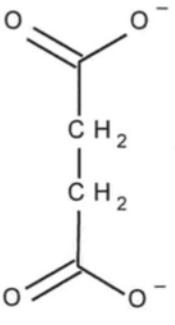
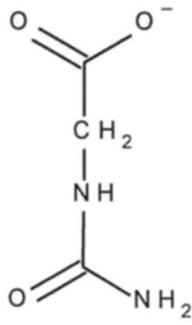
		
琥珀酰胺酸	琥珀酸根	海因酸
抑制剂	抑制剂	抑制剂
$I_{50} = 1.5\text{mM}$	$I_{50} = 2.4\text{mM}$	$I_{50} = 2.4\text{mM}$

图3

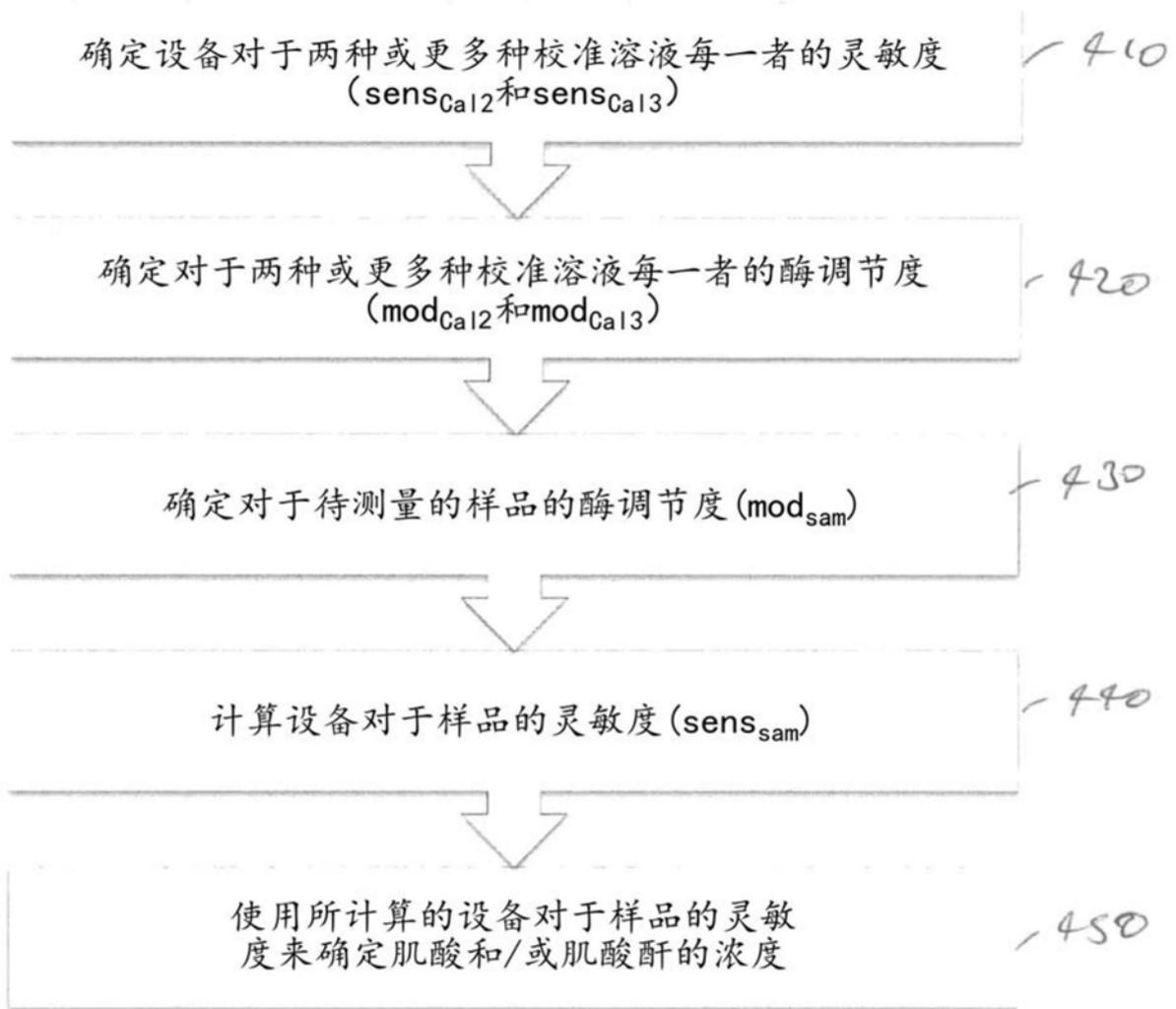


图4