

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：96 1 34 4 1 2

※ 申請日期：96. 9. 14

※IPC 分類：

A61B 5/1468 (2006.01,

A61B 5/1486 (2006.01,

一、發明名稱：(中文/英文)

具增進穩定性與血容比效能之生物感測器系統

BIOSENSOR SYSTEM HAVING ENHANCED STABILITY AND
HEMATOCRIT PERFORMANCE

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

拜耳保健公司 / Bayer HealthCare LLC

代表人：(中文/英文)

蘿拉 A 梅茲 / MEZEY, LAURA A.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國紐約州 10591 泰瑞城白平原路 555 號

555 White Plains Road, Tarrytown, NY 10591, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 / U.S.A.

三、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 伍煥平 / WU, HUAN-PING

2. 克莉斯汀 D 尼爾森 / NELSON, CHRISTINE D.

3. 霍普 G 斯普拉林 / SPRADLIN, HOPEG

4. 艾瑞克 毛爾 / MAURER, ERIC

國 籍：(中文/英文)

1.2.3.4. 美國 / U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，
其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、2006.09.22、60/846,688
2. PCT、2007.09.09、PCT/US07/77955

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於電化學感測條帶及確定樣本中之分析物濃度或改良濃度確定之效能之方法。亦提供一種增加定量分析物確定之效能之方法。

【背景/先前技術】

生物感測器提供諸如全血、尿液或唾液之生物流體的分析。通常，生物感測器分析生物流體之樣本以確定生物流體中一或多種諸如葡萄糖、尿酸、乳酸鹽、膽固醇或膽紅素之分析物的濃度。該分析適用於診斷及治療生理異常。舉例而言，糖尿病個體可使用生物感測器確定全血中之葡萄糖含量用於對飲食及/或藥劑作出調整。

生物感測器可使用桌上型 (bench-top) 裝置、攜帶型裝置及類似裝置來建構。攜帶型裝置可為手持式。生物感測器可經設計以分析一或多種分析物且可使用不同體積之生物流體。一些生物感測器可分析全血之單個液滴，諸如體積 0.25-15 微升 (μl)。攜帶型量測裝置之實例包括 Bayer 公司之 Ascensia Breeze[®] 及 Elite[®] 計量器；可購自 Abbott (Abbott Park, Illinois) 之 Precision[®] 生物感測器；可購自 Roche (Indianapolis, Indiana) 之 Accucheck[®] 生物感測器；及可購自 Lifescan (Milpitas, California) 之 OneTouch Ultra[®] 生物感測器。桌上型量測裝置之實例包括可購自 BAS Instruments (West Lafayette, Indiana) 之 BAS 100B 分析器；可購自 CH Instruments (Austin, Texas) 之 CH Instruments

電化學工作站；可購自 Cypress Systems(Lawrence, Kansas) 之 Cypress 電化學工作站；及可購自 Princeton Research Instruments(Princeton, New Jersey) 之 EG&G 電化學儀器。

生物感測器通常量測電信號以確定生物流體樣本中之分析物濃度。當將輸入信號施加於樣本時分析物通常經歷氧化/還原或氧化還原反應。可將酶或類似物質添加至樣本中以增進氧化還原反應。輸入信號通常為電信號，諸如電流或電位。氧化還原反應回應輸入信號而產生輸出信號。輸出信號一般為電信號，諸如電流或電位，其可加以量測且與生物流體中之分析物濃度相關。

許多生物感測器具有量測裝置及感測條帶。將生物流體之樣本引入感測條帶中之樣本腔室(chamber)中。將感測條帶置放於量測裝置中用於分析。量測裝置通常具有與感測條帶中之電導體連接之電接點。該等電導體通常連接至延伸至樣本腔室中之工作電極、相對電極及/或其他電極。該量測裝置將輸入信號經電接點施加於感測條帶中之電導體。該等電導體將輸入信號經電極輸送至沈積於樣本腔室中之樣本中。分析物之氧化還原反應回應輸入信號而產生輸出信號。量測裝置回應該輸出信號而確定分析物濃度。

感測條帶可包括與生物流體樣本中之分析物反應之試劑。該等試劑可包括用於促進分析物之氧化還原反應的電離劑，以及幫助在分析物與導體之間轉移電子之媒介物或其他物質。電離劑可為氧化還原酶，諸如分析物特異性酶，其催化全血樣本中之葡萄糖氧化。該等試劑可包括使酶與

媒介物結合於一起之黏合劑。

習知生物感測器中所使用之試劑組成物之一缺陷在於，當感測條帶經儲存時量測效能（準確度或精確度）會發生變化。由量測裝置所使用以確定樣本之分析物濃度之電子學及分析方法一般係鑒於如初始製造時表現之於感測條帶上之試劑組成物來加以選擇。然而，在運輸及儲存於儲存架上後，試劑組成物隨時間及溫度而降解。此在試劑組成物之化學方面的變化可使量測效能下降。

為增加生物感測器試劑組成物之長期穩定性，習知生物感測器一般依賴於相對於分析樣本所需之酶及媒介物的量而實質過量之此等試劑。預期此等試劑隨時間降解，習知試劑組成物包括與按化學計量與分析物反應所需相比實質上更大量之酶及/或媒介物。除使用犧牲試劑會使生物感測器之成本增加以外，多餘試劑亦可能會需要更大樣本體積、更長分析時間且因許多因素而使生物感測器之量測效能下降。

舉例而言，PCT 公開案 WO 88/03270 揭示以絲網印刷法，總沈積密度為 3 mg/cm^2 ($30 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$)。 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 之相對量為 57.7%，磷酸鹽緩衝液為 28.8%，且葡萄糖氧化酶（glucose oxidase；GO）為 3.6%。在感測條帶上將此等百分比轉化為沈積密度使得 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 密度為 $17.31 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ ，磷酸鹽緩衝液密度為 $8.64 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ ，且 GO 密度為 $1.08 \text{ } \mu\text{g/mm}^2$ 。在另一實例中，美國專利第 4,711,245 號第 17 行，第 25-35 列揭示 $15 \text{ } \mu\text{L}$ 1,1'-二甲基二茂鐵於甲苯中

之 0.1 M 溶液沈積於具有 4 mm 直徑之圓盤電極上。具有 214 M.U. 之分子量之 1,1'-二甲基二茂鐵媒介物係以 $25.5 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ $[(15 \mu\text{L} \times 0.1 \text{ M} \times 214 \text{ g/mol})/2^2 \times 3.14 \text{ mm}^2 = 25.5 \mu\text{g}/\text{mm}^2]$ 之沈積密度施加。在又一實例中，美國專利第 5,958,199 號揭示包括於 1 mL 水中之 40 mg GO、16 mg $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 及 20 mg CMC 之 4 μL 溶液沈積於感測電極上。在此情形下，以 6 mm^2 之估計電極面積（沈積面積）計，GO 沈積密度為 $6.67 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ ， $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 為 $10.67 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ ，且 CMC 為 $13.33 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 。在又一實例中，美國專利第 5,997,817 號描述包括溶於約 900 mL 水中之 59 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 與其他成份之試劑調配物。使約 4.5 μL 此試劑沈積於 21.4 mm^2 (3.2×6.7) 開口上以得到 $13.96 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ ($4.5 \times 10^{-3} \text{ mL} \times 59 \text{ g}/900 \text{ mL}$) 之媒介物沈積密度。

在此等實例中之每一者中，試劑組成物具有 10-25 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 範圍內之媒介物沈積密度，而酶沈積密度在 1-6 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之範圍內。此相對於酶之大媒介物負載可歸因於組成物單一施加於工作電極與相對電極。視感測器設計而定，媒介物可在相對電極處起作用以支持工作電極處之電化學活性。因此，覆蓋兩個電極之單一試劑組成物沈積可能使得工作電極實質上超載媒介物。

實例顯示過量酶及媒介物用於確保對於準確葡萄糖量測而言存在足夠活性成份。使用以增加犧牲量之試劑所製造之感測條帶在長期儲存後可能產生量測效能漂移（drift）之缺陷。此漂移可以至少兩種方式來觀測：（1）背景電

流隨時間增加（影響校正截距）及（2）感測器靈敏度移動（影響校正斜率）。

儲存期間，還原媒介物可由氧化媒介物與酶系統及聚合物之間的相互作用而產生。此過程為可信係由熱力學控制之自然過程。媒介物或酶之量愈大，所產生之還原媒介物的量愈大。隨著還原媒介物之濃度隨時間增加，背景電流將朝著感測條帶存放期之終點不斷增加。

已提出多種方法以在使用經儲存之感測條帶前降低漂移對感測器效能的影響。舉例而言，Genshaw 等人於美國專利第 5,653,863 號中揭示在分析前使用相對較長的初始脈動以將運輸及儲存期間被還原之媒介物氧化之方法。儘管有效，但此方法使完成分析所需之時間延長。

因此，將需要增加試劑組成物之長期穩定性以改良運輸及儲存後生物感測器之量測效能。試劑組成物之該長期穩定性增加可提高生物感測器之量測效能且對於感測條帶而言提供更長存放期。亦將需要減少試劑組成物中所包括之犧牲酶及/或媒介物之量且減少完成分析所需之時間。

用於量測全血（whole blood；WB）樣本中之葡萄糖濃度之習知生物感測器之另一缺陷係稱作「血容比效應（hematocrit effect）」。除水及葡萄糖以外，WB 樣本含有紅血球（RBC）。血容比為由 RBC 所佔據之 WB 樣本之體積相對於 WB 樣本之總體積且常以百分比表示。當紅血球阻斷分析物及/或媒介物擴散至生物感測器之一或多個電極時，血容比效應即發生。由於由生物感測器所量測之輸

出信號乃對應於分析物及/或媒介物之擴散速率，因此 RBC 可能藉由干擾此擴散過程而對分析引入誤差。因此，血容比百分比（紅血球之體積）偏離 WB 樣本之血容比系統校正 % 愈大，自生物感測器所獲得之葡萄糖讀數之血容比偏差（誤差）愈大。

WB 樣本一般具有 20% 至 60% 範圍內之血容比百分比，平均為約 40%。若測試含有相同葡萄糖含量但具有 20%、40% 及 60% 血容比之 WB 樣本，則由基於一組校正常數（例如，含 40% 血容比之 WB 樣本之斜率及截距）之系統將報導三個不同的葡萄糖讀數。即使葡萄糖濃度相同，系統亦將報導 20% 血容比 WB 樣本含有比 40% 血容比 WB 樣本多之葡萄糖，且 60% 血容比 WB 樣本含有比 40% 血容比 WB 樣本少之葡萄糖，此係由於 RBC 干擾分析物及/或媒介物至電極表面之擴散。因此，當 RBC 干擾擴散時，習知生物感測器可能不能區分較低分析物濃度與較高分析物濃度。

習知生物感測器一般經組態以報導對於 WB 樣本假定 40% 血容比含量之葡萄糖濃度，而不慮及實際血容比含量。對於此等系統而言，在含有小於或大於 40% 血容比之血樣上所進行之任何葡萄糖量測將包括因血容比效應而產生之一些血容比偏差。

已提出各種方法及技術以減少血容比效應對葡萄糖量測產生之偏差。舉例而言，Ohara 等人於美國專利第 6,475,372 號中揭示使用來自正向電位脈動與反向電位脈動之電流之比以補償血容比效應之方法。McAleer 等人於美

國專利第 5,708,247 號及第 5,951,836 號中揭示使用矽石粒子以自電極表面過濾 RBC 用於減少血容比效應之試劑調配物。Carter 等人於美國專利第 5,628,890 號中揭示使用與網格層組合之寬電極間距以分散血樣以減少血容比效應之方法。

用於減少因血容比效應而產生之偏差之此等習知技術包括 (a) 使聚合物共同沈積以使血容比效應最小化, (b) 添加各種溶融矽石以增進聚合物層之過濾作用, (c) 基於來自正向電位脈動與反向電位脈動之電流之比的補償係數, 及 (d) 藉由利用全血樣本之現有溶液電阻而自補償。儘管此等方法可能有用, 但習知葡萄糖感測器仍顯示因血容比效應而產生之顯著分析偏差, 一般為約 15% 至 30%。因此, 將需要提供用於定量生物流體中之分析物 (尤其全血之葡萄糖含量) 之系統, 其減少源於血容比效應之偏差。

在一個態樣中, 電化學感測條帶包括基部、於該基部上之第一及第二電極, 及於該基部上之蓋。該條帶包括於第一導體上之至少一層第一層, 該第一層包括包括至多 $8 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 媒介物之試劑層。該條帶提供具有以下各項中之至少一者的確定濃度值: 當與在 -20°C 下儲存 2 週之比較條帶相比時, 在 50°C 下儲存 2 週後小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差, 對於包括 20% 至 60% 血容比之全血樣本而言小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差, 及至多 20 mg/dL 之截距與斜率比。

條帶之第一及第二電極可處於實質上同一平面內且第二電極可包括於第二導體上之第一層。第二電極可包括於

該第二導體上之第二層，且該第二層可包括在組成上與第一層之試劑層不同之試劑層。電極可隔開 200 μm 以上且可與蓋之上部隔開至少 100 μm 。

條帶之試劑層之平均初始厚度可小於 8 μm 或可為 0.25 μm 至 3 μm 。條帶之試劑層可以至多 0.2 $\mu\text{L}/\text{mm}^2$ 之沈積密度自試劑溶液形成。該試劑層可包括作為聚合黏合劑之聚(氧化乙烯)、聚乙烯醇、羥基伸乙基纖維素、羧甲基纖維素或其組合。在第一導體上聚合黏合劑之沈積密度可為至多 2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 。聚合黏合劑可為部分水溶性及/或可基於水合作用而形成凝膠狀物質。

試劑層可包括至多 0.8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之沈積密度之酶系統及/或包括至多 1.3 個單位之酶。工作電極上之試劑層可包括至多 2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之媒介物。該媒介物可為雙電子轉移媒介物且可為 3-苯基亞胺基-3H-啡噻吡、3-苯基亞胺基-3H-啡噻吡、其鹽、其酸、其衍生物或其組合。媒介物可具有比鐵氰化物之氧化還原電位低至少 100 mV 之氧化還原電位。

當分別與在 -20°C 下儲存 2 週或 4 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 2 週或 4 週後該條帶可具有小於 $\pm 5\%$ 之穩定性偏差。對於包括 20% 至 60% 血容比之全血樣本而言，該條帶可具有小於 $\pm 5\%$ 之血容比偏差。該條帶可具有至多 10 mg/dL 或至多 1 mg/dL 之截距與斜率比值。

在另一個態樣中，電化學感測條帶包括基部、於該基部上之第一及第二電極，及於該基部上之蓋。該條帶包括於第一導體上之至少一層第一層，該第一層包括包括媒介

物及酶系統之試劑層，其中該試劑層提供具有以下各項中之至少一者之確定濃度值：當與 -20°C 下儲存 2 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 2 週後小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差，對於包括 20%至 60%血容比之全血樣本而言小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差，及至多 20 mg/dL 之截距與斜率比值。

在另一態樣中，提供確定樣本中之分析物濃度之方法。該方法包括將脈動序列施加於該樣本，該脈動序列在 30 秒內包括至少 3 個工作週期。該方法亦包括確定樣本中之分析物濃度，其中該濃度具有以下各項中之至少一者：小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差，對於在 20%至 60%血容比範圍內之全血樣本而言小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差，及至多 20 mg/dL 之截距與斜率比值。

該方法可在 9 秒內包括至少 3 個工作週期，且脈動序列可在至多 5 秒內完成。確定樣本中之分析物濃度可包括由自施加脈動序列起始 2 秒內所進行之電流量測來確定樣本中之分析物濃度。每個工作週期可包括激發及鬆馳，其中每次激發可具有 0.01 至 3 秒之持續時間。激發可具有至多 10 秒或至多 2 秒之總持續時間，且激發可具有相差 500 mV 之振幅。激發可為脈動序列時間之至多 45%。鬆馳各自可具有至少 0.2 秒之持續時間或可具有 0.2 至 3 秒之持續時間。脈動序列可包括持續時間為 0.75 至 3 秒之初始激發，其中此初始激發之持續時間比工作週期之激發持續時間長。

該方法可確定當分別與在 -20°C 下儲存 2 週或 4 週之比

較條帶相比時，在 50°C 下儲存 2 週或 4 週後具有小於 $\pm 5\%$ 之穩定性偏差之濃度。對於包括 20% 至 60% 血容比之全血樣本而言，該濃度可具有小於 $\pm 5\%$ 之血容比偏差。該濃度可具有至多 10 mg/dL 或至多 1 mg/dL 之截距與斜率比值。

在另一態樣中，增加定量分析物確定之效能之方法包括將具有液體組份之含分析物樣本引入電化學感測條帶中，該條帶具有基部、於該基部上之第一導體、於該基部上之第二導體及於至少該第一導體上之至少第一層，其中該至少一層第一層包括包括聚合黏合劑之試劑層且該樣本提供第一導體與第二導體之間的電通信。該方法亦包括以 30 秒內或 9 秒內至少四個讀出脈動形式將電位施加於第一導體與第二導體之間，且量測讀出脈動中之至少一者，從而以增加之效能提供樣本中分析物濃度之定量值，該增加之效能係歸因於選自以下各項之至少一個效能參數：當與在 -20°C 下儲存 2 週之比較條帶相比時，在該條帶於 50°C 下儲存 2 週後小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差；對於在 20% 至 60% 血容比範圍內之全血樣本而言小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差；至多 10 mg/dL 之截距與斜率比值；及其組合。

讀出脈動可在至多 5 秒內完成，該等讀出脈動可在施加電位 2 秒內量測，且讀出脈動可各自具有 0.01 至 3 秒之持續時間。讀出脈動可具有至多 2 秒之持續時間且可具有相差 500 mV 以內之振幅。

該方法可確定當分別與在 -20°C 下儲存 2 週或 4 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 2 週或 4 週後具有小於 $\pm 5\%$

之穩定性偏差之定量值。該方法可確定對於包括 20%至 60% 血容比之全血樣本而言具有小於 $\pm 5\%$ 之血容比偏差之定量值。該方法可確定具有至多 10 mg/dL 或至多 1 mg/dL 之截距與斜率比值之定量值。

【發明內容】

生物感測器向患者提供幾乎即時的量測葡萄糖含量之效益。此等量測中之誤差可歸因於試劑組成物降解及/或血容比效應。試劑組成物降解為連續過程，在感測條帶製造後的運輸及儲存之時段中所發生。多個因素會影響試劑組成物降級之速率，包括溫度。當紅血球隨機影響可量測物質至工作電極導體表面之擴散速率時，血容比效應即產生。

藉由減少感測條帶上所使用之媒介物及/或酶的量，試劑組成物之長期穩定性可相對於習知生物感測器及試劑組成物而增加。由此，感測條帶之穩定性偏差及截距與斜率比值可得以改良。此外，藉由將閘控分析法與穩定性增進試劑組成物合併，血容比效應可得以減小。因此，一種或任何該等及其他效能參數中之組合可根據本發明而得以改良。

在一個態樣中，當與 -20°C 下儲存 4 週之感測條帶相比時，在 50°C 下儲存 4 週後本發明之生物感測器展示較佳小於 $\pm 10\%$ 、更佳小於 $\pm 5\%$ 之穩定性偏差。在另一態樣中，對於包括 20%至 60%血容比之 WB 樣本而言，本發明之生物感測器展示較佳小於 $\pm 10\%$ 、更佳小於 $\pm 5\%$ 之血容比偏差。

在另一態樣中，本發明之生物感測器展示較佳至多 20 mg/dL、更佳至多 10 mg/dL 或至多 6 mg/dL 及進一步更佳至多 1 mg/dL 之截距與斜率比值。感測條帶之此等及其他效能參數可得以改良。

圖 1A 及圖 1B 描繪可用於本發明之感測條帶 100。圖 1A 為經裝配之感測條帶 100 之透視圖，其包括感測器基部 110，該感測器基部 110 至少部分被蓋 120 所覆蓋，該蓋包括排氣口 130、樣本覆蓋區域 140 及輸入端開口 150。在基部 110 與蓋 120 之間形成部分封閉體 160(毛細間隙)。亦可使用與本發明相容之其他感測條帶設計，諸如美國專利第 5,120,420 號及第 5,798,031 號中所述之彼等感測條帶。

可藉由將液體引入開口 150 而將用於分析之液體樣本轉移至毛細間隙 160 中。液體填充毛細間隙 160，同時經排氣口 130 排出先前所含之空氣。毛細間隙 160 可含有幫助使液體樣本保持於毛細間隙中之組成物(圖中未示)。該等組成物之實例包括水可膨脹聚合物，諸如羧甲基纖維素及聚乙二醇；及多孔聚合物基質，諸如葡聚糖及聚丙烯醯胺。

圖 1B 描繪蓋 120 經移除之感測條帶 100 之俯視圖。導體 170 及 180 可在介電層 190 之下自開口 150 分別連至工作電極 175 及相對電極 185。在一個態樣中，如圖中所描繪，工作電極及相對電極 175、185 可處於實質上同一平面內。在相關態樣中，工作電極及相對電極 175、185

可隔開 200 或 250 μm 以上且可與蓋 120 之上部隔開至少 100 μm 。在另一態樣中，工作電極及相對電極 175、185 可隔開 200 μm 以下。介電層 190 可部分覆蓋電極 175、185 且可由任何合適諸如絕緣聚合物之介電材料製成。

相對電極 185 可支持感測條帶 100 之工作電極 175 處之電化學活性。在一個態樣中，藉由惰性物質（諸如碳）形成相對電極 185 且使可溶性氧化還原物質（諸如鐵氰化物）包括於毛細間隙 160 內而將支持工作電極 175 處之電化學活性之電位提供給感測器系統。在另一態樣中，相對電極 185 處之電位可為藉由以氧化還原對（諸如 Ag/AgCl ）形成相對電極 185 而達成之參考電位以提供合併的參考-相對電極。或者，感測條帶 100 可具備第三導體及電極（圖中未示）以將參考電位提供給感測器系統。

圖 2A 描繪圖 1B 中所描繪之感測條帶之端視圖，其展示工作電極 175 及相對電極 185 之層結構。導體 170 及 180 可直接位於基部 110 上。表面導體層 270 及 280 可視情況分別沈積於導體 170 及 180 上。表面導體層 270、280 可由相同或不同材料製成。

用於形成導體 170、180 及表面導體層 270、280 之材料包括任何電導體。較佳的電導體為非電離型，使得材料在樣本分析期間並不經歷淨氧化或淨還原。導體 170、180 較佳包括諸如金、銀、鉑、鈀、銅或鎢之金屬膏或金屬之薄層。表面導體層 270、280 較佳包括碳、金、鉑、鈀或其組合。若導體上不存在表面導體層，則該導體較佳由非

電離型材料製成。

表面導體材料可由與感測條帶操作相容之任何習知方式沈積於導體 170、180 上，該等沈積方式包括箔片沈積、化學氣相沈積、漿料沈積及類似方式。在漿料沈積之狀況下，如美國專利第 5,798,031 號中所述，可以墨水形式將混合物塗佈於導體 170、180 上。

試劑層 275 及 285 可分別沈積於導體 170 及 180 上。該等層係由包括試劑及視情況黏合劑之至少一種試劑組成物形成。該黏合劑較佳為至少部分水溶性之聚合物質。在一個態樣中，黏合劑當被樣本水合時可形成凝膠或凝膠狀物質。在另一態樣中，黏合劑可過濾紅血球。

適合用作黏合劑之部分水溶性聚合物質可包括：聚(氧化乙烯)(PEO)、羧甲基纖維素(CMC)、聚乙烯醇(PVA)、羥基伸乙基纖維素(HEC)、羥丙基纖維素(HPC)、甲基纖維素、乙基纖維素、乙基羥乙基纖維素、羧甲基乙基纖維素、聚乙烯吡咯啉酮(PVP)、聚胺基酸(諸如聚離胺酸)、聚苯乙烯磺酸酯、明膠、丙烯酸、甲基丙烯酸、澱粉、順丁烯二酸酐、其鹽、其衍生物及其組合。在上述黏合劑物質中，PEO、PVA、CMC 及 HEC 為較佳，其中 CMC 目前為更佳。

除黏合劑以外，試劑層 275 及 285 可包括相同或不同試劑。當包括相同試劑時，試劑層 275 及 285 可為同一層。在一個態樣中，存在於第一層 275 中之試劑可經選擇以與工作電極 175 一起使用，而存在於第二層 285 中之試劑可

經選擇以與相對電極 185 一起使用。舉例而言，層 285 中之試劑可促進電子在樣本與導體 180 之間自由流動。類似地，層 275 中之試劑可促進分析物反應。

試劑層 275 可包括對分析物具特異性之酶系統，其可促進分析物反應，同時增進感測器系統對分析物之特異性，尤其在複雜生物樣本中。該酶系統可包括一或多種參與與分析物之氧化還原反應之酶、輔因子及/或其他部分。舉例而言，醇氧化酶可用於提供對樣本中醇的存在敏感之感測條帶。該系統可適用於量測血醇濃度。在另一實例中，葡萄糖脫氫酶或葡萄糖氧化酶可用於提供對樣本中葡萄糖的存在敏感之感測條帶。此系統可適用於量測（例如）已知或疑似患有糖尿病之患者中之血糖濃度。

在酶系統中使用之酶包括：醇脫氫酶、乳酸脫氫酶、 β -羥基丁酸脫氫酶、葡萄糖-6-磷酸脫氫酶、葡萄糖脫氫酶、甲醛脫氫酶、蘋果酸脫氫酶及 3-羥基類固醇脫氫酶。較佳的酶系統為不依賴氧者，因此實質上不被氧氧化。

一個不依賴氧的酶家族為葡萄糖脫氫酶（GDH）。使用不同輔酶或輔因子，GDH 可以不同方式由不同媒介物所媒介。視與 GDH 之締合作用而定，諸如黃素腺嘌呤二核苷酸（FAD）之輔因子可由主酶緊固，諸如 FAD-GDH 之狀況；或諸如吡咯并喹啉醌（PQQ）之輔因子可與主酶共價連接，諸如 PQQ-GDH。在此等酶系統中之每一者中之輔因子可由主酶永久固定，或輔酶及脫輔酶可在將酶系統添加至試劑組成物之前重新構成。亦可將輔酶獨立地添加

至試劑組成物中之主酶部分中以輔助主酶之催化功能，諸如在菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸 NAD/NADH^+ 或菸醯胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 $\text{NADP}/\text{NADPH}^+$ 之狀況下。

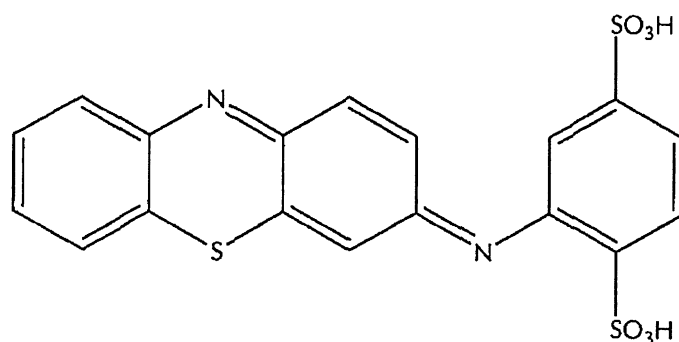
試劑層 275 亦可包括媒介物以更有效地向表面導體 270 及/或導體 170 傳達分析物反應之結果。可基於電化學活性將媒介物分成兩類。單電子轉移媒介物為在電化學反應條件下能獲取一個額外電子之化學部分，而雙電子轉移媒介物為在反應條件下能獲取兩個額外電子之化學部分。如圖 2B 所描繪，單電子轉移媒介物可將一個電子自酶轉移至工作電極，而如圖 2C 所描繪，雙電子轉移媒介物可轉移兩個電子。

儘管可使用其他媒介物，但雙電子轉移媒介物為較佳，此係歸因於相對於單電子轉移媒介物，對於相同莫耳量之媒介物而言，其能將約多達兩倍之電子自酶系統轉移至工作電極。藉由相對於習知感測條帶減少感測器執行所需之媒介物量，本發明之感測條帶可展示長期穩定性增加。此穩定性增加可歸因於在儲存期間因媒介物所引起之酶變性減少。穩定性增加亦可歸因於在儲存期間可用於使酶氧化之媒介物量減少。

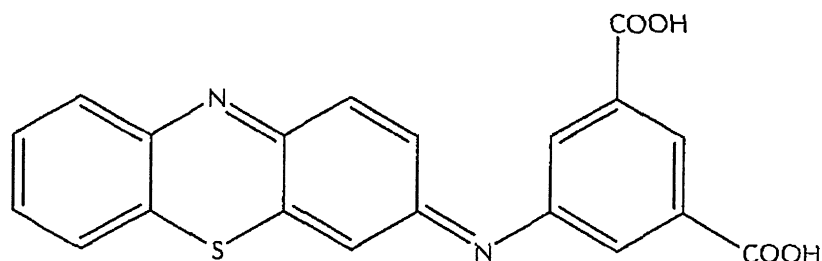
單電子轉移媒介物之實例包括諸如 1,1'-二甲基二茂鐵、亞鐵氰化物與鐵氰化物及釷(III)與釷(II)六胺之化合物。雙電子媒介物包括有機醌及氫醌，諸如菲啉醌；啡噻吡及啡噻吡衍生物；3-(苯基胺基)-3H-啡噻吡；啡噻吡；及 7-羥基-9,9-二甲基-9H-吡啶-2-酮及其衍生物。其他雙電

子媒介物之實例包括（例如）美國專利第 5,393,615 號、第 5,498,542 號及第 5,520,786 號中所述之電活性有機分子，該等專利以引用的方式併入本文中。

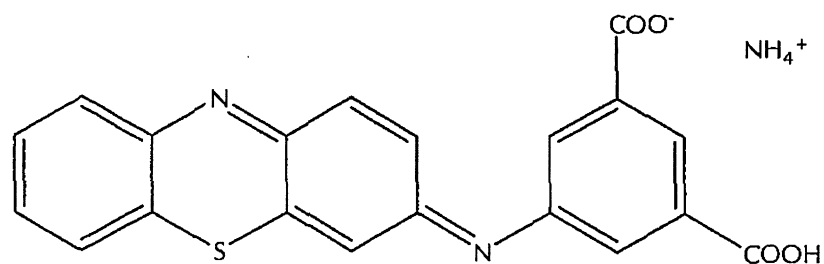
較佳之雙電子轉移媒介物包括 3-苯基亞胺基-3H-噻吩（PIPT）及 3-苯基亞胺基-3H-吡啶（PIPO）。更佳之雙電子媒介物包括羧酸或鹽，諸如噻吩衍生物之銨鹽。目前，尤其較佳之雙電子媒介物包括 (E)-2-(3H-亞噻吩-3-亞基胺基) 苯-1,4-二磺酸（結構 I）、(E)-5-(3H-亞噻吩-3-亞基胺基) 間苯二甲酸（結構 II）、(E)-3-(3H-亞噻吩-3-亞基胺基)-5-羧基苯甲酸銨（結構 III）及其組合。此等媒介物之結構式呈現如下。



結構 I



結構 II



結構 III

在另一態樣中，較佳之雙電子媒介物具有比鐵氰化物低至少 100 mV、更佳低至少 150 mV 之氧化還原電位。

試劑層 275、285 可藉由諸如印刷、液體沈積或噴墨沈積之任何便利方式來沈積。在一個態樣中，該等層係藉由印刷而沈積。在其他因素皆相等的情況下，印刷刮刀之角度可相反地影響試劑層之厚度。舉例而言，當刮刀以與基部 110 成約 80° 角移動時，該層可具有約 10 μm 之厚度。類似地，當使用與基部 110 成約 62° 之刮刀角時，可產生厚於 30 μm 之層。因此，較小刮刀角可提供較厚試劑層。除刮刀角以外，諸如正塗佈之材料之黏度以及篩尺寸及乳液組合之其他因素亦可能影響試劑層 275、285 之所得厚度。

當較薄試劑層為較佳時，可能需要不同於印刷之沈積法，諸如微量吸管法、噴墨法或針銷沈積法。此等沈積法一般產生微米或次微米厚度（諸如 1-2 μm ）之乾試劑層。舉例而言，針銷沈積法可提供 1 μm 之平均試劑層厚度。由針銷沈積法所產生之試劑層厚度（例如）可由試劑組成物中所包括之聚合物的量控制，較高聚合物含量提供較厚

試劑層。較薄試劑層可能需要比較厚試劑層所需短之脈動寬度以維持所要量測效能及/或實質上量測擴散障壁層 (DBL) 內之分析物。

工作電極 175 亦可包括與試劑層 275 整合或為獨特層 290 之 DBL，諸如圖 2A 中所描繪之獨特層 290。因此，DBL 可以組合試劑/DBL 形式形成於導體上，以獨特層形式形成於導體上，或以獨特層形式形成於試劑層上。當工作電極 175 包括獨特 DBL 290 時，試劑層 275 可位於或不位於 DBL 290 上。替代位於 DBL 290 上，試劑層 275 可位於使試劑溶解於樣本中之感測條帶 100 任何部分上。舉例而言，試劑層 175 可位於基部 110 上或蓋 120 上。

DBL 提供具有可量測物質可位於其中之內部體積之多孔空間。DBL 之孔可經選擇以使可量測物質可擴散至該 DBL 中，而實質上排除實體上較大之樣本組份（諸如 RBC）。儘管習知感測條帶已使用各種材料以自工作電極之表面過濾 RBC，但 DBL 提供內部多孔空間以容納一部分可量測物質且使該部分可量測物質與樣本分離。

當試劑層 275 包括水溶性黏合劑時，在施加激發前不溶於樣本中之黏合劑之任何部分可充當整合 DBL。組合 DBL/試劑層之平均初始厚度較佳小於 16 或 8 微米 (μm) 且更佳小於 4 μm 。目前，組合 DBL/試劑層之尤其較佳之平均初始厚度為 0.25 至 3 μm 或 0.5 至 2 μm 。在可量測物質自 DBL 至導體表面（諸如圖 2A 之導體 170 之表面或表面導體 270 之表面）之擴散速率變得相對恆定之基礎上，

可對於特定激發長度選擇組合 DBL/試劑層之所要平均初始厚度。在一個態樣中，當與 0.25 秒或更小之激發脈動寬度組合時，DBL/試劑層可具有 1 μm 或更小之平均初始厚度。

獨特 DBL 290 可包括提供所要孔隙、同時部分或緩慢溶解於樣本中之任何物質。在一個態樣中，獨特 DBL 290 可包括缺乏試劑黏合物質之試劑。獨特 DBL 290 可具有 1 至 15 μm 及更佳 2 至 5 μm 之平均初始厚度。

圖 3 呈現用於確定樣本 312 中分析物 322 的存在及(視情況)濃度之電化學分析 300。在 310 中，將樣本 312 引入感測條帶 314 (諸如圖 1A-1B 及圖 2A 中所描繪之感測條帶) 中。諸如圖 2A 之 275 及/或 285 之試劑層開始溶解於樣本 312 中，由此允許反應。在分析中此點處，可有利地對與樣本 312 反應之試劑提供初始時間延遲或「培育時段」。較佳地，初始時間延遲可為 0.5 至 5 秒。初始時間延遲之詳細處理可見於美國專利第 5,620,579 號及第 5,653,863 號中。

反應期間，存在於樣本 312 中之分析物 322 之一部分在 320 中經化學或生物化學氧化或還原，諸如經氧化還原酶作用。氧化或還原後，可在 330 中使電子在分析物 322 與媒介物 332 之間轉移，諸如經氧化還原酶作用。

在 340 中，電化學激發(氧化或還原)帶電媒介物 332。舉例而言，當樣本 312 為含有葡萄糖之全血且所含葡萄糖在 320 中由 PQQ-GDH 酶系統氧化並接著在 330 中轉移兩個電子以使啡噻吡衍生物媒介物還原時，340 的激發使啡

噻吡衍生物媒介物在工作電極處氧化。以此方式，將電子選擇性地自葡萄糖分析物轉移至感測條帶之工作電極，在此該等電子可由量測裝置偵測。

在 350 中，由激發 340 所產生之電流可在激發 340 期間隨時間記錄。在 360 中，樣本經歷鬆馳。較佳地，在鬆馳 360 期間不記錄電流。在 370 中，可分析所記錄之電流及時間值以確定樣本 312 中分析物 322 的存在及/或濃度。

量測電流感測器系統將電位（電壓）施加於感測條帶以激發可量測物質同時監控電流（安培數）。習知量測電流感測器系統可維持電位同時量測電流歷時（例如）5 至 10 秒之連續讀出脈動長度。與習知方法相反，電化學分析 300 中所使用之工作週期用短持續時間之多個激發及鬆馳替代連續、長持續時間之讀出脈動。多個激發及鬆馳或「閘控」脈動序列之更詳細描述可見於 2006 年 7 月 19 日申請之題為「閘控電流滴定法」（「Gated Amperometry」）之 PCT/US2006/028013 中。

參看圖 3，激發 340、記錄 350 及鬆馳 360 構成單一工作週期。較佳地，在經獨立地選擇之 3 秒、5 秒、7 秒、9 秒或 14 秒時段內施加至少 2 個、3 個、6 個或 7 個工作週期。在一個態樣中，在 3 秒至 14 秒時段內施加工作週期。在另一態樣中，在 30 秒、9 秒或更短時段內施加至少 4 個工作週期。在另一態樣中，可在 10 秒或更短時段內施加 2 至 6 個工作週期。在另一態樣中，可在 3 至 9 秒內施加 2 至 4 個工作週期。

激發 340 後，在 360 中，量測裝置可斷開經感測條帶 314 之電路，由此允許系統鬆馳。鬆馳 360 期間，激發 340 期間所存在之電流實質上減少至少一半，較佳減少一個數量級，且更佳減至零。較佳地，零電流狀態係由開路或一般熟習此項技術者所知之其他方法來達成以提供實質上零電流流動。在一個態樣中，鬆馳 360 之持續時間為至少 0.5 秒或至少 0.2 秒。在另一態樣中，鬆馳 360 之持續時間為 0.2 至 3 秒或 0.5 至 1 秒。

圖 4A-4D 描繪閘控量測電流脈動序列之實例，其中多個工作週期係在引入樣本後施加於感測條帶。在此等實例中，使用方波脈動；然而，亦可使用與感測器系統及測試樣本相容之其他波型。

每個經描繪之脈動序列包括初始 1 秒激發脈動 420、接著多個 0.25 秒激發 430。初始激發脈動 420 可具有比隨後激發 430 長之持續時間。舉例而言，初始激發脈動 420 之持續時間可在 0.75 至 3 秒之範圍內。激發脈動 420 之長度可經調整以使沈積於條帶上之相對少量酶系統氧化。當使用初始激發脈動 420 時，其較佳具有比隨後多個激發 430 長之持續時間。舉例而言，脈動序列可包括具有 2 秒持續時間之初始激發脈動 420、接著 3 秒之開路鬆馳、接著具有 0.125 秒持續時間之隨後激發 430。

多個激發 430 之持續時間可在 0.01 至 3 秒之範圍內。在一個態樣中，總激發長度為兩秒或更短，由此包括初始 1 秒脈動 420、接著四個 0.25 秒激發 430。在另一態樣中，

總激發長度為 1.5 秒或更短，由此包括初始 1 秒脈動 420、接著一或兩個 0.25 秒激發 430。脈動序列可包括其他激發，諸如圖 4A 中所描繪之激發 440。在另一個態樣中，激發可具有不同振幅，諸如圖 4C 及圖 4D 中所描繪之振幅。在較佳態樣中，當使用不同振幅之激發時，振幅之差可在 500 mV 內。

短激發可允許用相對於習知組成物具有減少之聚合物、酶系統及媒介物濃度之試劑組成物來準確分析樣本。此外，短激發允許自將信號初始施加於感測條帶起始在 8.5 秒或更短時段內或更佳 5 秒或更短時段內完成分析。

可使用短激發或長激發。較佳地，用來確定分析物濃度之電流量測係在初始施加信號 2 秒或 1 秒內進行。更佳地，將多個短激發與自初始施加信號起始 2 秒、1 秒或更短時段內所進行之電流量測組合以確定樣本之分析物濃度。

與本發明之閘控量測電流脈動序列組合，發現包括特定量之聚合黏合劑、酶系統及/或媒介物之試劑組成物使血容比偏差減少及/或使長期穩定性增加。儘管習知條帶通常根據每種試劑組成物成份之百分比來描述，但每種試劑組成物成份之密度（絕對量/面積）係與長期穩定性相關。藉由限制可用於相互作用之媒介物及酶之量，可實質上減少分析時所存在之環境減少（environmentally reduced）媒介物（對基本分析物濃度不起反應之媒介物）的量。由此，提供背景電流的有利減少。由於習知生物感測器試圖使用

過量酶改良長期穩定性，因此意想不到地，對於本發明生物感測器而言，酶系統及/或媒介物的減少提供長期穩定性之改良。此外，若個別試劑組成物對於每個電極加以優化，則可用於與酶相互作用之媒介物之相對量可相對於單一試劑組成物感測條帶進一步減少。

舉例而言，當使用高酶負載時，對於試劑溶液中 2%、1.5% 及 1% 之較高聚合物濃度之血容比偏差比對於 0.5% (w/w) 聚合物濃度之血容比偏差高。此可歸因於較高聚合物濃度產生較厚試劑層，其基於再水合作用而影響血容比偏差。因此，當檢定時間變得更短時，快速再水合作用而不增加血容比偏差可為較佳。以此方式，可在聚合物含量與試劑組成物之酶負載之間達成較佳平衡以在檢定時間內提供所要水合程度。當施加於感測條帶時， $2 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 或更小之聚合物沈積密度可為較佳，0.8 至 $1.5 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之聚合物沈積密度可為更佳。

當使不同沈積溶液沈積於工作電極及相對電極上時，工作電極上所存在之酶系統之量係加以控制。因此，使包括 1.2 U PQQ-GDH 酶系統、 $2.57 \mu\text{g}$ 結構 I 媒介物、 $1.18 \mu\text{g}$ CMC 聚合物及 $3.28 \mu\text{g}$ 磷酸鹽緩衝液之約 $0.24 \mu\text{L}$ 溶液沈積提供 5 U/ μL 酶系統、24 mM 媒介物、0.5% 聚合物及 100 mM 磷酸鹽緩衝液之試劑溶液濃度。

使此試劑溶液沈積於 1.5 mm^2 之沈積區域（包括 1 mm^2 之工作電極區域）上提供在工作電極處約 $0.8 \text{ U}/\text{mm}^2$ ($1.2 \text{ U}/1.5 \text{ mm}^2$) 之酶系統沈積密度、 $1.72 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ ($2.57 \mu\text{g}/1.5$

mm^2) 之媒介物沈積密度、 $0.8 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之聚合物沈積密度及 $2.2 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之磷酸鹽緩衝液沈積密度。類似地，對於包括約 $2 \text{ U}/\mu\text{L}$ PQQ-GDH 酶系統、 24 mM 結構 I 媒介物、 0.5% CMC 及 100 mM 磷酸鹽緩衝液之試劑溶液而言，酶系統沈積密度將為約 $0.3 \text{ U}/\text{mm}^2$ 。此外，可將酶系統之比活性轉化成以 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 為單位之重量密度。舉例而言，若酶系統之活性為 $770 \text{ U}/\text{mg}$ ，則 $0.3 \text{ U}/\text{mm}^2$ 之酶系統活性密度變成 $0.39 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之重量密度。因此，當確定酶系統之沈積密度時，可考慮酶系統之活性。

習知試劑層包括 1 至 $6 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之酶沈積密度。相反，沈積後，本發明之試劑組成物可包括小於 $1 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 、較佳小於 $0.5 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之酶系統沈積密度。本發明之沈積溶液可包括約 $4 \text{ U}/\mu\text{L}$ 或更小之酶系統或可包括約 $3 \text{ U}/\mu\text{L}$ 或更小之酶系統。目前，試劑溶液中可包括 $2.2 \text{ U}/\mu\text{L}$ 或更小之 PQQ-GDH 酶系統。因此，當將試劑組成物塗佈於感測條帶上時， 1.3 個單位或更少之酶系統可存在於感測條帶上， 0.3 至 0.8 個單位為更佳。

習知感測條帶一般具有 10 至 $25 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之媒介物沈積密度。相反， $8 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 及更小之媒介物沈積密度對於本發明而言為較佳， $5 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 及更小之媒介物沈積密度為更佳。目前， $2 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 及更小之媒介物沈積密度尤其較佳。在較佳態樣中，雙電子媒介物比單電子媒介物更佳。

下表 I 提供下文所論述之圖 5A-5E 及圖 6A-6C 中所用試劑組成物中聚合黏合劑、緩衝液、酶系統及媒介物組份

之沈積密度。對於試劑組成物 3 (RC3) 之 $0.42 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之酶系統沈積密度比先前所論述之習知條帶之最低值 $1 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 小接近 60%。

類似地，表 I 所給出之媒介物密度比習知感測條帶之彼等媒介物密度小約一個數量級。舉例而言，RC3 之媒介物沈積密度為習知感測條帶之彼媒介物沈積密度之約五分之一。此相對於習知感測條帶媒介物沈積密度之減小可提供本發明試劑組成物之長期穩定性的實質增加。

	CMC $\mu\text{g}/\text{mm}^2$	緩衝液 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$	PQQ/GDH $\mu\text{g}/\text{mm}^2$	媒介物 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$
RC1	1.59	2.17	3.99	1.72
RC2	0.79	2.19	1.07	1.72
RC3	0.79	2.19	0.42	1.72
RC4	0.77	2.22	0.99	1.36

表 I

圖 5A 描繪對於包括 1.2 個單位/感測器 (U/感測器) 之沈積密度為 $0.8 \text{ U}/\text{mm}^2$ 之 PQQ-GDH 酶之 RC2 感測條帶，在 WB 樣本中在不同血容比含量下的葡萄糖劑量反應曲線。圖 5B 描繪對於包括 0.5 個單位/感測器之沈積密度為 $0.3 \text{ U}/\text{mm}^2$ 之 PQQ-GDH 酶之 RC3 感測條帶，在 WB 樣本中在不同血容比含量下的葡萄糖劑量反應曲線。1.2 U 與 0.5 U 感測器傳遞小於 $\pm 5\%$ 之血容比偏差。然而，關於系統靈敏度及截距，觀測到 1.2 U 與 0.5 U 感測器之間的差異。

藉由將圖 5B 之 0.5 U/感測器之截距與斜率 (I/S) 比值 (以 mg/dL 為單位表示) 與圖 5A 之 1.2 U/感測器之截距與斜率比值作比較, 可見前者截距與斜率比值減小, 其中較小比率表示背景信號減小。因此, 對於圖 5A 之 1.2 U/感測器之 I/S 比值為約 6 mg/dL, 而對於圖 5B 之 0.5 U/感測器之 I/S 比值為約 0.15 mg/dL, 在 40%血容比濃度下減小約 40 倍。相對於 1.5 U 感測器, 確立 0.5 U 感測器之較優背景信號效能。

在一個態樣中, 低背景 (低截距) 之效能特徵可由相對低的媒介物及酶沈積密度來提供。在另一態樣中, 高靈敏度 (高斜率) 之效能特徵可藉由優化脈動序列之激發與鬆馳時序比值來提供。舉例而言, 將相對長之 1.5 秒鬆馳時段與相對短之 0.25 秒激發時段組合在工作電極之表面處提供大電流密度。數值上, 相對小之截距值比相對大之斜率值更進一步改良 I/S。因此, 較佳感測器效能特徵 (小 I/S 值) 可由組合之試劑組成物及量測方法來提供。

以下方程式 (1) 提供當葡萄糖與電流關係為 $i = S \times G + \text{Int}$ 時電流不精確度與確定葡萄糖濃度之所得不精確度之間作為 I/S 比值之函數的分析關係:

$$\frac{\Delta G/G}{\Delta i/i} = \frac{SD_G/G}{SD_i/i} = \frac{\%CV_G}{\%CV_i} = 1 + \frac{1}{G} \frac{\text{Int}}{S} \quad (1),$$

其中 G 表示葡萄糖濃度, $\Delta G/G$ 為以 mg/dL 為單位之葡萄糖濃度之相對誤差, $\Delta i/i$ 為所量測之電流之相對誤差,

SD_G/G 為 $\Delta G/G$ 之相對標準差， SD_i/i 為 $\Delta i/i$ 之相對標準差， $\%CV_G$ 為與相對標準差成比例且表示葡萄糖量測精確度之變異係數， $\%CV_i$ 為與相對標準差成比例且表示電流量測精確度之變異係數，且 Int/S 為以 mg/dL 為單位之截距與斜率 (I/S) 比值。方程式 (1) 可藉由於誤差傳播求解及分析中獲取逆函數 $G = f(i) = (i - Int)/S$ 之導數而自 $i = S \times G + Int$ 得到。歸因於 $1 + 1/G$ 術語，若 I/S 值大於零，則電流不精確度 1 產生大於 1 之葡萄糖濃度不精確度。以 mg/dL 為單位表示之截距與斜率 (I/S) 比值可藉由以 18 除 I/S (mg/dL) (對於葡萄糖， $[mg/dL]/18 = [mM]$) 而以毫莫耳/公升 (mM/L) 為單位來表示。

電流不精確度描述多個感測條帶之電流量測之間的變異。因此，電流不精確度表示當使用多個感測條帶分析相同葡萄糖樣本時所記錄之電流值不同於平均電流值之量。自特定條帶所記錄之電流值愈偏離對於多個條帶之平均值，自彼條帶所記錄之電流與樣本之實際葡萄糖濃度之相關性愈差。因此，電流量測精確度可由其不精確度或 $\%CV_i$ 來度量，且葡萄糖量測精確度亦可由其不精確度或 $\%CV_G$ 來度量。

下表 II 提供以方程式 (1) 自以 mg/dL 為單位之多個葡萄糖濃度所計算之斜率 ($1/G$ 值)。因此， $1/57.6 = 0.0174$ ， $1/111 = 0.009$ ， $1/222.25 = 0.0045$ ， $1/444.75 = 0.0022$ ，且 $1/669 = 0.0015$ ，其中分母為所測試之血漿葡萄糖濃度。根據方程式 (1)，隨著葡萄糖濃度增加，斜率值減小。

葡萄糖濃度 (mg/dL)	自方程式 (1) 所計算之 I/S 比值	經實驗確定之 I/S 比值
57.6	0.0174	0.0174
111	0.009	0.009
222.25	0.0045	0.0045
444.75	0.0022	0.0022
669	0.0015	0.0015

表 II

圖 5C 呈現自實驗數據確定之以 mg/dL 為單位之 I/S 比值。電流值係以閘控量測電流脈動序列自包括 40%血容比及 57.6、111、222.25、444.75 或 669 mg/dL 之葡萄糖濃度之 WB 樣本獲得。校正常數在進入分析 4、5.5、7、8.5、10、11.5、13 及 14.5 秒時確定。如自表可見，所計算之值與經實驗確定之值相同，其證實方程式 (1) 能關於葡萄糖及電流不精確度描述感測條帶之行為。

對於低葡萄糖濃度（諸如 50 mg/dL 及以下）而言，較佳地維持低 I/S 值以使自所記錄之電流值之基本不精確度引入經確定之葡萄糖濃度中之不精確度減小。舉例而言，若 I/S 比值為 50 mg/dL 且葡萄糖濃度為 50 mg/dL，則 $\%CV_G/\%CV_i$ 之比值為 2 [$1 + (I/S)/G = 1 + 50/50 = 2$]，且任何電流不精確度在經確定之葡萄糖濃度中將以因子 2 放大。因此，若所記錄電流值之典型不精確度為 3.5%，則具有 50 mg/dL 之 I/S 比值之系統產生 7% 之葡萄糖不精確度。

圖 5D 展示對於自具有上表 I 之試劑組成物 RC2、RC3 或 RC4 之感測條帶所確定之 55.375、112.25 及 433.5 mg/dL 之葡萄糖濃度，0 至 20 mg/dL 之 I/S 比值。隨著 I/S 比值自 20 減小，與經確定之葡萄糖濃度相關之不精確度亦減小。因此，如先前所述，證明在較低葡萄糖濃度下，較低 I/S 比值為較佳。

當考慮此等因素中之每一者時，具有 20 mg/dL 或更小之 I/S 比值之感測條帶為較佳，具有 10 mg/dL 或更小或 6 mg/dL 或更小之 I/S 比值之感測條帶為更佳。目前，具有 1 mg/dL 或更小之 I/S 比值之條帶為進一步更佳。

圖 5E 展示與血漿及 40%血容比全血樣本一起使用之本發明感測器系統之幾乎相同之血容比效能。在此實例中，感測條帶之試劑組成物為如上表 I 中所述之 RC2。因此，與本發明試劑組成物組合之閘控脈動序列提供對於 WB 樣本所觀測到之血容比效應的實質減小。

圖 6A 展示環境應力對感測條帶之長期穩定性的影響。圖表之 Y 軸展示相對於儲存於 -20°C 下之感測條帶，對於受環境應力之感測條帶而言，對於 75 mg/dL 以下之葡萄糖濃度之以 mg/dL 為單位之絕對穩定性偏差或對於 75 mg/dL 及以上之葡萄糖濃度之偏差%。將受應力之感測條帶在 50°C 下儲存兩週以作為模擬在 25°C 下儲存 18 個月之加速過程。由於媒介物密度最初很低 ($1.72 \mu\text{g}/\text{mm}^2$)，因此圖 6A 中之平均穩定性偏差線確立酶密度自 RC1 ($3.2 \text{ U}/\text{mm}^2$ ，或在 $770 \text{ U}/\text{mg}$ 特異性酶活性下為 $4 \mu\text{g}/\text{mm}^2$) 降至 RC2、RC3

及 RC4（均處於 0.8 U/mm^2 或更小），環境誘導之偏差亦如此。

圖 6A 亦確立本發明之試劑組成物可提供足以在分析前無需初始長氧化脈動之長期穩定性，諸如 Genshaw 等人之美國專利第 5,653,863 號中所述。產生圖 6A 之數據之分析具有 4.5 秒之總持續時間，其中總氧化時間為 1.5 秒（對應於圖 4A 之脈動序列）。因此，與美國專利第 5,653,863 號分析中之總檢定時間之約 67%（30 秒總分析時間，氧化 20 秒）相比，在圖 6A 中僅消耗 30% 之檢定時間使 WB 樣本氧化。在一個態樣中，消耗 45% 或更短之總檢定時間使樣本氧化。在另一態樣中，消耗 35% 或更短之總檢定時間使樣本氧化。

儘管結構 III 媒介物似乎具有比圖 6A 中之結構 I 媒介物稍低之穩定性偏差，但此小差異可歸因於測試系統內之其他因素。因此，與本發明之閘控脈動序列組合之試劑組成物 RC2、RC3 及 RC4 在暴露於 50°C 溫度歷時兩週後展示小於 $\pm 5\%$ 之穩定性偏差，而具有較高酶系統沈積密度之 RC1 並非如此。

圖 6B 展示環境應力對在 50°C 下儲存四週之感測條帶之長期穩定性的影響。圖表之 Y 軸展示相對於儲存於 -20°C 下之感測條帶，對於受環境應力之感測條帶而言，對於 75 mg/dL 以下之葡萄糖濃度之以 mg/dL 為單位之絕對穩定性偏差或對於 75 mg/dL 及以上之葡萄糖濃度之偏差%。由對於 RC1 之 Y 軸值可見，相對於圖 6A 之較短 2 週儲存時段，

對於圖 6B 之 4 週儲存時段而言穩定性偏差增加。由於媒介物密度最初很低 ($1.72 \mu\text{g}/\text{mm}^2$)，因此圖 6B 中之平均穩定性偏差線確立隨酶密度自 RC1 ($3.2 \text{ U}/\text{mm}^2$ ，或在 $770 \text{ U}/\text{mg}$ 特異性酶活性下為 $4 \mu\text{g}/\text{mm}^2$) 至 RC2、RC3 及 RC4 (均處於 $0.8 \text{ U}/\text{mm}^2$ 或更小) 降低，環境誘導之偏差亦如此。因此，對於圖 6B 之較長 4 週儲存時段而言，平均穩定性偏差線對於 RC2、RC3 及 RC4 相對於 RC1 亦實質上下降。甚至在 50°C 下儲存 4 週後，與本發明之閘控脈動序列組合之試劑組成物 RC2、RC3 及 RC4 展示小於 $\pm 5\%$ 之穩定性偏差。

圖 6C 展示包括 PQQ-GDH 酶系統之三種試劑組成物在 25°C 、60% 相對濕度下 52 週後之穩定性偏差。不同於圖 6A 及圖 6B，在較低溫度下使用較長時段使條帶老化。對於 RC2 及 RC3 之偏差值類似於在加速老化下所觀測到之偏差值，其平均小於 $\pm 5\%$ 。相對於圖 6A 及圖 6B 之加速老化結果，RC4 顯示偏差增加，其增至平均稍小於 $\pm 10\%$ 之水平。此增加可歸因於實驗誤差或歸因於在此測試之特定情況下在 RC4 中所用結構 III 媒介物之批次所引起之穩定性問題。

圖 6D 展示包括 RC2 之感測條帶之穩定性偏差值，其中用於計算分析物濃度之數據點係在開始分析後在特定時間獲取。舉例而言，2.75 秒線表示如在第一短激發脈動（諸如圖 4A 中之激發 430）後所確定之分析物濃度之偏差/偏差 % 值。類似地，4.375 秒線表示如在第二短激發脈動後所確定之分析物濃度之偏差/偏差 %。因此，使用包括 RC2 之

受環境應力之感測條帶及閘控脈動序列，樣本之分析物濃度可在小於 3 秒內準確確定。

【實施方式】

實施例 1：感測條帶製備

在一個態樣中，本發明之感測條帶係使用針銷沈積法製成。藉由製成 100 mM 磷酸鹽緩衝液於 1% 羧甲基纖維素（CMC）中之儲備溶液來製備相對電極試劑溶液。接著，將足夠粉末狀媒介物溶解於緩衝液/CMC 溶液中以製成 100 mM 媒介物於 100 mM 磷酸鹽緩衝液及 1% CMC 中之最終溶液。

通常藉由製成 100 mM 磷酸鹽緩衝液於 0.5% CMC 中之儲備溶液（例如 100 mL）來製備工作電極試劑溶液。接著，將足夠粉末狀媒介物溶解於緩衝液/CMC 儲備溶液中以製成 24-25 mM 媒介物於 100 mM 磷酸鹽緩衝液及 0.5% CMC 中之溶液（例如 10 mL）。最後，對於 5 U/ μ L 之酶負載而言，將約 33.4 mg PQQ-GDH 酶系統（749 U/mg 比活性）與 5 mL 之媒介物/緩衝液/CMC 溶液在玻璃容器中組合（ $5000 \text{ U/mL} \times 5 \text{ mL}$ ）/ $[749 \text{ U/mg}] = 33.4 \text{ mg}$ ）。使混合物緩慢渦旋以將乾酶粉末溶解於溶液中。此調配物係對於 RC2。若僅需 2 mL 最終試劑溶液，則稱出具有 749 U/mg 比活性之約 13.4 mg PQQ-GDH 酶。類似地，對於 2 U/ μ L 之 RC3 組成物而言，將具有 749 U/mg 比活性之約 13.4 mg PQQ-GDH 酶由 5 mL 之媒介物/緩衝液/CMC 溶液溶解以組成用於沈積之最終試劑溶液。若僅需 2 mL 最終試劑溶液，

則稱出 749 U/mg 比活性之約 5.34 mg PQQ-GDH 酶以製成最終溶液。

針銷沈積法用於使相對電極試劑溶液沈積於碳表面之一上以形成相對電極。由每次沈積所傳遞之體積為約 0.2 至 0.24 μL ，其展開以覆蓋約 1.5 至 2 mm^2 之面積。類似地，針銷沈積法用於使工作電極試劑溶液沈積於碳表面之一上以形成工作電極。對於每次工作電極沈積之體積亦為約 0.2-0.24 μL ，類似的溶液於碳上展開以形成工作電極。在最終層壓以形成完成之感測條帶之前，使完成之感測薄片經空氣乾燥 15 分鐘，接著儲存於乾燥容器中。在一個態樣中，在工作電極處，試劑溶液沈積密度較佳為 0.16 $\mu\text{L}/\text{mm}^2$ (0.24 $\mu\text{L}/1.5 \text{ mm}^2$) 或更小。

實施例 2：供體研究

自患有糖尿病之 21 名受檢者收集全血樣本。對每個受檢者進行兩次分析以提供 42 次量測結果，用來自四個感測條帶批次 SS1 至 SS4 中之每一者，如下表 III 中所示。不同工作電極及相對電極試劑組成物用於 SS1 至 SS3，而 SS4 使用實質上覆蓋兩個導體之單一試劑組成物。SS1、SS2 及 SS3 表示使用相同試劑量之不同製造批次。對於 SS1 至 SS3，沈積於個別導體上之試劑組成物之體積為約 0.24 μL ，兩個沈積面積各為約 1.5 mm^2 。對於 SS1，經沈積以覆蓋兩個導體之試劑組成物之體積為約 0.3 μL ，總沈積面積為約 3 mm^2 。

	工作電極沈積	相對電極沈積
S1	$1.62 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ CMC $1.11 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 緩衝液 $0.58 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ PQQ/GDH 酶系統 $1.39 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 結構 I 媒介物 $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$	$1.62 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ CMC $1.11 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 緩衝液 $1.39 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 結構 I 媒介物 $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$
S2	$1.62 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ CMC $1.11 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 緩衝液 $0.58 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ PQQ/GDH 酶系統 $1.39 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 結構 I 媒介物 $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$	$1.62 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ CMC $1.11 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 緩衝液 $1.39 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 結構 I 媒介物 $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$
S3	$1.62 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ CMC $1.11 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 緩衝液 $0.58 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ PQQ/GDH 酶系統 $1.39 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 結構 I 媒介物 $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$	$1.62 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ CMC $1.11 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 緩衝液 $1.39 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 結構 I 媒介物 $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$
S4	$1.14 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ CMC $0.78 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 緩衝液 $0.41 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ PQQ/GDH 酶系統 $1.95 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 結構 I 媒介物 $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$	與工作電極相同

表 III

使用具有包括兩個相隔約 0.25 秒之短激發之初始激發、繼之以 1 秒鬆馳之脈動序列來分析樣本。初始激發及鬆馳後，施加由兩個約 1 秒鬆馳隔開之三個約 0.375 秒激發之序列。自施加初始輸入信號起始約 5 秒後所記錄之輸出電流用於確定樣本之葡萄糖濃度。

如下表 IV 及表 V 提供 SS1 至 SS4 之血容比偏差統計結果，其中對於 21 個血樣之每一者以每一類型之感測條帶進行兩次分析以提供 42 個讀數。表 IV 展示對於每一感測條帶批次之斜率、截距及 I/S 比值，而表 V 展示具有在 YSI 參考值之 $\pm 15/\pm 15\%$ 、 $\pm 10/\pm 10\%$ 或 $\pm 5/\pm 5\%$ 內之偏差的讀數百分比。對於小於 75 mg/dL 之葡萄糖濃度而言，偏差以 mg/dL 為單位表示（絕對），且對於 75 mg/dL 及更大之葡萄糖濃度而言，偏差以百分比為單位表示（相對）。

感測器	斜率	截距	I/S 比值，mg/dL
SS1	34.61	91.73	2.65
SS2	32.65	-115.8	-3.55
SS3	30.76	-28.00	-0.91
SS4	33.91	106.87	3.15

表 IV

感測器	$\pm 15\%$ 內之偏差%	$\pm 10\%$ 內之偏差%	$\pm 5\%$ 內之偏差%
SS1	100	100	93
SS2	100	97.6	64
SS3	100	97.6	93
SS4	100	97.6	67

表 V

表 IV 確立感測條帶批次中之每一者具有小於 5 mg/dL

之 I/S 比值，由此確立該等條帶之較優背景信號效能。感測器系統之效能可以用相對參考值的偏差離度 (spread) 來表徵。此離度可由屬於特定界限內之偏差值之百分比來度量，諸如 $\pm 15 \text{ mg/dL}/\pm 15\%$ 或 $\pm 10 \text{ mg/dL}/\pm 10\%$ 。界限愈小，效能愈佳。包括量測不精確度及血容比效應在內之多種因素將促成偏差值。通常，效能係藉由至少 95% 之數據群處於特定效能界限內來判斷。因此，表 V 確立來自 SS1 至 SS4 之 100% 數據群處於 $\pm 15 \text{ mg/dL}/\pm 15\%$ 之界限內。此外，來自 SS1 至 SS4 之 95% 以上之數據群處於 $\pm 10 \text{ mg/dL}/\pm 10\%$ 之界限內。

圖 7A 描繪對於 21 個全血樣本，來自 SS1 批次之劑量反應曲線。0.997 之 R^2 值確立該條帶能提供準確反映樣本之實際葡萄糖濃度之電流值。圖 7B 描繪在供體研究中在葡萄糖濃度範圍內對於具有來自 21 個樣本之 42 個讀數之批次 SS1 至 SS4 之偏差離度。該圖確立對於所有感測條帶之 100% 偏差值處於 $\pm 15\%$ 內，且 SS1 及 SS3 製造批次之效能研究條件下為優越的，其中 93% 之數據群處在 $\pm 5\%$ 界限內。對於感測條帶之窄偏差離度可歸因於增進之靈敏度及精確度，其由小 I/S 比值反映，且歸因於由該等條帶所提供之小血容比效應。

圖 7C 描繪與 HEC 聚合物沈積密度為 $2.96 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 、對於檸檬酸緩衝液為 $0.69 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 、對於葡萄糖氧化酶為 $2.14 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 且對於鐵氰化物媒介物為 $13 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之習知條帶相比，自批次 SS1 所獲得之與樣本血容比含量相關之血

容比靈敏度、血容比偏差。對於 SS1 批次獲得 -0.26 之血容比靈敏度，而習知感測條帶具有 -1.26 之斜率，其中數值上較大之斜率值指示較大之血容比靈敏度。因此，SS1 批次之血容比靈敏度比由習知條帶所提供之血容比靈敏度小約 79%。

為對本說明書及申請專利範圍提供清楚及一致的理解，提供以下定義。

「系統」係定義為經導體與電子量測裝置電通信之電化學感測條帶，其允許定量樣本中之分析物。

「量測裝置」係定義為可施加電輸入信號且量測所得輸出信號之電子裝置。該量測裝置亦可包括回應該輸出信號而確定一或多種分析物的存在及/或濃度之處理能力。

「分析物」係定義為存在於樣本中之一或多種物質。分析確定存在於樣本中之分析物的存在及/或濃度。

「樣本」係定義為可含有未知量分析物之組成物。通常，用於電化學分析之樣本呈液體形式，且較佳地，該樣本為水性混合物。樣本可為生物樣本，諸如血液、尿液或唾液。樣本亦可為生物樣本之衍生物，諸如萃取物、稀釋液、濾液或重新構成沈澱物。

「導體」係定義為電化學分析期間保持固定之導電物質。導體材料之實例包括固體金屬、金屬膏、導電碳、導電碳膏及導電聚合物。

「非電離型材料」係定義為在電化學分析分析物期間不電離之材料。非電離型材料之實例包括碳、金、鉑及鈮。

「量測效能」係根據準確度及/或精確度來定義。因此，量測效能的增加可為量測之準確度及/或精確度的增加。

「精確度」係定義為對於同一樣本而言多個分析物量測值之接近程度。精確度可根據多個量測值相對於平均值之離度或變異來表示。

「準確度」係定義為感測條帶所量測到之分析物量對應於樣本中分析物真實量的接近程度。準確度可根據偏差來表示，較大偏差值反映較小準確度。

「偏差」係定義為量測值與接受參考值之間的差。偏差可根據「絕對偏差」或「相對偏差」來表示。絕對偏差可以量測之單位（諸如 mg/dL）來表示，而相對偏差可以絕對偏差值對參考值之百分比來表示。血容比偏差或穩定性偏差可根據絕對偏差值或以百分比來表示。血容比偏差使用以諸如購自 YSI 公司（Yellow Springs, Ohio）之 YSI 2300 STAT PLUS™之參考儀器所獲得之分析物濃度作為接受參考值。穩定性偏差使用自儲存於-20℃之溫度下之感測條帶以實質上減少試劑組成物熱變所獲得之分析物濃度。

「血容比靈敏度」係定義為樣本血容比含量之變化影響分析之血容比偏差值之程度。

「長期穩定性」係相對於製造後（諸如）以箔片及乾燥劑封裝且在-20℃下儲存 2 週或 4 週之感測條帶，分別對暴露於 50℃歷時 2 週或 4 週之感測條帶來定義。在 50℃下儲存 2 週可被視為在室溫下儲存約 18 個月。相對於在-20℃下儲存之條帶，對於 50℃而言，量測效能中 0%、50%、100%

及 400%血容比含量之平均變化或偏離指示感測條帶之長期穩定性漂移或「穩定性偏差」。在此情形下，背景信號或偏差的增加表明感測條帶之量測效能下降。因此，藉由在 50°C 下儲存經封裝之感測條帶且相對於在 -20°C 下儲存之條帶觀測偏差變化，可獲得對於在儲存架上保持各個時段之感測條帶而言偏差將增加多少之指示。

「媒介物」係定義為可被氧化或還原且可轉移一或多個電子之物質。媒介物為電化學分析中之試劑且並非所關注之分析物，但提供分析物之間接量測。在簡單系統中，媒介物回應分析物的氧化或還原作用而經歷氧化還原反應。經氧化或經還原之媒介物接著在感測條帶之工作電極處經歷相反反應且再生為其原始氧化數。

「可量測物質」係定義為可在電化學感測條帶之電極表面在適當電位下被氧化或還原之任何電化學活性物質。可量測物質之實例包括分析物、受質或媒介物。

「氧化還原酶」係定義為促進可量測物質氧化或還原之任何酶。氧化還原酶為試劑。術語氧化還原酶包括「氧化酶」，其促進分子氧為電子受體之氧化反應；「還原酶」，其促進分析物被還原且分子氧並非分析物之還原反應；及「脫氫酶」，其促進氧化反應，其中分子氧並非電子受體。參見，例如 *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised Edition*, A.D. Smith, 編, New York: Oxford University Press (1997) 第 161 頁，第 476 頁，第 477 頁，及第 560 頁。

「電活性有機分子」係定義為能經歷氧化還原反應之缺乏金屬之有機分子。電活性有機分子可充當氧化還原物質及/或媒介物。電活性有機分子之實例包括輔酶吡咯并喹啉醌（PQQ）、苯醌及萘醌、N-氧化物、亞硝基化合物、肱、奧辛、黃素、啡咁、啡噻咁、靛酚及吲達胺。

「黏合劑」係定義為對試劑提供實體支撐及包容同時與試劑具有化學相容性之物質。

「平均初始厚度」係定義為在引入液體樣本前呈乾狀之層平均高度。使用術語平均，此係由於層之頂表面不平坦，具有峰及谷。

「沈積密度」係定義為沈積於面積上之物質質量。舉例而言，當使含有 2.57 μg 固體之 0.24 μL 溶液沈積於具有 1.5 mm^2 面積之表面上時，產生 1.72 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (2.57 $\mu\text{g}/1.5 \text{ mm}^2$) 之沈積密度。

「酶單位」（U）係定義為在標準條件下在 1 分鐘內催化 1 微莫耳受質（分析物）轉化（氧化或還原）之酶系統的量。

關於酶系統之「酶活性」或「活性」為每體積酶單位數。因此，活性可以 U/L 或 mU/mL 為單位給出，例如 1 U/L = 微莫耳/分鐘/公升。

「氧化還原反應」係定義為在兩種物質之間發生的涉及至少一個電子自第一物質轉移至第二物質之化學反應。因此，氧化還原反應包括氧化及還原。反應之氧化部分涉及第一物質失去至少一個電子，且還原部分涉及至少一個

電子添加至第二物質中。被氧化物質之離子電荷正性增加等於所轉移之電子數的量。同樣地，被還原物質之離子電荷正性減少等於所轉移之電子數的量。

「氧化數」係定義為化學物質（諸如原子）之形式離子電荷。較高氧化數（諸如(III)）指示正性較多，且較低氧化數（諸如(II)）指示正性較少。中性物質具有零（0）之離子電荷。物質的氧化使得彼物質之氧化數增加，且物質的還原使得彼物質之氧化數減少。

「氧化還原對」係定義為具有不同氧化數之化學物質之兩種共軛物質。具有較高氧化數之物質的還原產生具有較低氧化數之物質。或者，具有較低氧化數之物質的氧化產生具有較高氧化數之物質。

「可氧化物質」係定義為氧化還原對中具有較低氧化數且由此能被氧化成具有較高氧化數之物質的物質。同樣地，術語「可還原物質」係定義為氧化還原對中具有較高氧化數且由此能被還原成具有較低氧化數之物質的物質。

「可溶氧化還原物質」係定義為能經歷氧化或還原且可以至少 1.0 公克/公升之量溶於水（pH 7, 25°C）之物質。可溶氧化還原物質包括電活性有機分子、有機過渡金屬錯合物及過渡金屬配位錯合物。術語「可溶氧化還原物質」不包括單質金屬及孤金屬離子，尤其不溶或微溶於水之彼等物質。

「有機過渡金屬錯合物」（亦稱作「OTM 錯合物」）係定義為過渡金屬經 σ 鍵（在與過渡金屬 σ 鍵結之碳原子

上形式電荷為 -1) 或 π 鍵 (在與過渡金屬 π 鍵結之碳原子上形式電荷為 0) 與至少一個碳原子鍵結之錯合物。舉例而言，二茂鐵為具有兩個環戊二烯基 (Cp) 環之 OTM 錯合物，該等環係各自經其五個碳原子由兩個 π 鍵及一個 σ 鍵與鐵中心鍵結。OTM 錯合物之另一實例為鐵氰化物(III)及其經還原亞鐵氰化物(II)對應物，其中六個氰基配位子(在 6 個配位子中之每一者上形式電荷為 -1) 經該等氰基之碳原子與鐵中心 σ 鍵結。

「配位錯合物」係定義為具有明確界定之配位幾何形狀 (諸如八面體或四方平面幾何形狀) 之錯合物。不同於由其鍵結所界定之 OTM 錯合物，配位錯合物係由其幾何形狀所界定。因此，配位錯合物可為 OTM 錯合物 (諸如先前所提及之鐵氰化物)，或其中不同於碳之非金屬原子 (諸如包括氮、硫、氧及磷之雜原子) 與過渡金屬中心配價 (detively) 鍵結之錯合物。舉例而言，鈦六胺為具有明確界定之八面體幾何形狀之配位錯合物，其中六個 NH_3 配位子 (在 6 個配位子中之每一者上形式電荷為 0) 與鈦中心配價鍵結。有機過渡金屬錯合物、配位錯合物及過渡金屬鍵結之更完整論述可見於 Collman 等人, *Principles and Applications of Organotransition Metal Chemistry* (1987) 及 Miessler 及 Tarr, *Inorganic Chemistry* (1991) 中。

「手持式裝置」係定義為可固持於人手中且為攜帶型之裝置。手持式裝置之實例為可購自 Bayer HealthCare(LLC, Elkhart, IN) 之附隨 Ascensia® Elite 血糖監控系統之量測

裝置。

「在...上」係定義為「在...上方」且與正描述之方位相關。舉例而言，若使第一元件沈積於第二元件之至少一部分上方，則該第一元件被稱作「沈積於該第二元件上」。在另一實例中，若第一元件存在於第二元件之至少一部分上方，則該第一元件被稱作「在該第二元件上」。使用術語「在...上」並不排除在正描述之上元件與下元件之間存在物質。舉例而言，第一元件可在其頂表面上具有塗層，而在該第一元件及其頂塗層之至少一部分上之第二元件可被描述為「在第一元件上」。因此，使用術語「在...上」可能意謂兩個正相關之元件彼此實體接觸或不實體接觸。

儘管已描述本發明之各個具體實例，但一般熟習此項技術者應顯而易見，其他具體實例及實施例皆可能處於本發明之範疇內。因此，本發明僅受隨附申請專利範圍及其等價物限制。

【圖式簡單說明】

參考以下圖式及描述可更好地理解本發明。圖中之組件未必按比例繪製，而替代性地著重於說明本發明之原則。此外，在圖中，貫穿不同視圖，相同參考數字一般表示相應部件。

圖 1A 為經裝配之感測條帶之透視圖。

圖 1B 為蓋經移除之感測條帶之俯視圖。

圖 2A 為圖 1B 之感測條帶之端視圖。

圖 2B 呈現經由媒介物自酶系統至工作電極之單電子

轉移。

圖 2C 呈現經由媒介物自酶系統至工作電極之雙電子轉移。

圖 3 呈現確定樣本中分析物的存在及濃度之電化學方法。

圖 4A-4D 描繪閘控量測電流脈動序列之實例，其中多個工作週期係在引入樣本後施加於感測條帶。

圖 5A 及圖 5B 描繪對於包括 20%、40%及 55%血容比含量之 PQQ-GDH 酶系統，感測條帶之劑量反應曲線。

圖 5C 呈現自實驗數據確定之以 mg/dL 為單位之 I/S 比值。

圖 5D 展示自具有試劑組成物 RC2、RC3 或 RC4 之感測條帶確定之對於多個葡萄糖濃度之 0 至 20 mg/dL 之 I/S 比值。

圖 5E 展示與血漿及 40%血容比全血樣本一起使用之系統之幾乎相同之血容比效能。

圖 6A 展示在 50°C 下 2 週後對於包括 PQQ-GDH 酶系統之四種試劑組成物之穩定性偏差。

圖 6B 展示在 50°C 下 4 週後對於包括 PQQ-GDH 酶系統之四種試劑組成物之穩定性偏差。

圖 6C 展示在 25°C、80%相對濕度下 52 週後對於包括 PQQ-GDH 酶系統之三種試劑組成物之穩定性偏差。

圖 6D 展示對於包括 RC2 之感測條帶之穩定性偏差之變異，其中用於計算分析物濃度之數據點係在開始分析後

在不同時間獲取。

圖 7A 描繪對於多個全血樣本來自感測條帶之劑量反應曲線。

圖 7B 描繪以多個全血樣本所獲得之四個感測條帶製造批次之絕對血容比偏差離度。

圖 7C 比較本發明感測條帶與習知感測條帶之間的血容比靈敏度。

【主要元件符號說明】

100：(經裝配之)感測條帶

110：(感測)基部

120：蓋

130：排氣口

140：樣本覆蓋區域

150：(輸入端)開口

160：部分封閉體積或毛細間隙

170：導體

175：工作電極

180：導體

185：相對電極

190：介電層

270：表面導體層

275：(試劑)層

280：表面導體層

285：(試劑)層

290：擴散障壁層或獨特擴散障壁層

300：電化學分析

310：樣本引入步驟

312：樣本

314：感測條帶

320：分析物氧化或還原步驟

322：分析物

330：電子轉移步驟

332：媒介物

340：激發步驟

350：記錄步驟

360：鬆馳步驟

370：分析物確定步驟

420：初始激發脈動

430：激發

440：激發

五、中文發明摘要：

本發明係關於電化學感測條帶及確定樣本中之分析物濃度或改良濃度確定之效能之方法。該等電化學感測條帶可包括至多 $8\text{ }\mu\text{g/mm}^2$ 之媒介物。該等條帶、該條帶試劑層或該等方法可用於確定濃度值，該濃度值具有以下各項中之至少一者：當與在 -20°C 下儲存 4 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 4 週後，小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差；對於包括 20% 至 60% 血容比之全血樣本而言，小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差；及至多 20 mg/dL 之截距與斜率比值。亦提供一種增加定量分析物確定之效能之方法。

六、英文發明摘要：

The present invention relates to electrochemical sensor strips and methods of determining the concentration of an analyte in a sample or improving the performance of a concentration determination. The electrochemical sensor strips may include at most $8\text{ }\mu\text{g/mm}^2$ of a mediator. The strips, the strip reagent layer, or the methods may provide for the determination of a concentration value having at least one of a stability bias of less than $\pm 10\%$ after storage at 50°C for 4 weeks when compared to a comparison strip stored at -20°C for 4 weeks, a hematocrit bias of less than $\pm 10\%$ for whole blood samples including from 20 to 60% hematocrit, and an intercept to slope ratio of at most 20 mg/dL . A

method of increasing the performance of a quantitative analyte determination also is provided.

十、申請專利範圍：

1.一種用於偵測分析物之電化學感測條帶，其包含：
基部；

於該基部下之第一電極，其具有於第一導體上之至少一層第一層，該第一層包括包含至多 $8\text{ }\mu\text{g/mm}^2$ 之媒介物之試劑層；

於該基部下之第二電極；

於該基部下之蓋；且

其中該條帶提供確定濃度值，其具有以下各項中之至少一者：當與在 -20°C 下儲存 2 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 2 週後，小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差；對於包括 20% 至 60% 血容比之全血樣本而言，小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差；及至多 20 mg/dL 之截距與斜率比值。

2.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該第一電極及該第二電極係處於實質上同一平面內。

3.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該第二電極包含於第二導體上之該第一層。

4.如申請專利範圍第 3 項之條帶，其中該第二電極包含於該第二導體上之第二層。

5.如申請專利範圍第 4 項之條帶，其中該第二層包含在組成上與第一層之試劑層不同之試劑層。

6.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該等電極係隔開 $200\text{ }\mu\text{m}$ 以上。

7.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該等電極係與

該蓋之一上部隔開至少 100 μm 。

8.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層之平均初始厚度小於 8 μm 。

9.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層之平均初始厚度為 0.25 至 3 μm 。

10.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層係以至多 0.2 $\mu\text{L}/\text{mm}^2$ 之沈積密度自試劑溶液形成。

11.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層包含選自由聚(氧化乙烯)、聚乙烯醇、羥基伸乙基纖維素、羧甲基纖維素及其組合組成之群之聚合黏合劑。

12.如申請專利範圍第 11 項之條帶，其中該聚合黏合劑之沈積密度在該第一導體上為至多 2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 。

13.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層包含基於水合作用而形成凝膠狀物質之部分水溶性聚合黏合劑。

14.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層包含具有至多 0.8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之沈積密度之酶系統。

15.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層包含至多 1.3 個單位之酶系統。

16.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該試劑層包含至多 2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 之媒介物。

17.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該媒介物為雙電子轉移媒介物。

18.如申請專利範圍第 17 項之條帶，其中該媒介物係

選自由 3-苯基亞胺基-3H-啡噻吡、3-苯基亞胺基-3H-啡噻吡、其鹽、其酸、其衍生物及其組合組成之群。

19.如申請專利範圍第 17 項之條帶，其中該媒介物具有比鐵氰化物低至少 100 mV 之氧化還原電位。

20.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中當與在 -20°C 下儲存 2 週之該比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 2 週後該穩定性偏差小於 $\pm 5\%$ 。

21.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中當與在 -20°C 下儲存 4 週之該比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 4 週後該穩定性偏差小於 $\pm 5\%$ 。

22.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中對於包括 20% 至 60% 血容比之該等全血樣本而言，該血容比偏差小於 $\pm 5\%$ 。

23.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該截距與斜率比值為至多 10 mg/dL。

24.如申請專利範圍第 1 項之條帶，其中該截距與斜率比值為至多 1 mg/dL。

25.一種用於偵測分析物之電化學感測條帶，其包含：
基部；

於該基部上之第一電極，其具有於第一導體上之至少一層第一層，該第一層包括包含媒介物及酶系統之試劑層，其中該試劑層提供具有以下各項中之至少一者的確定濃度值：當與在 -20°C 下儲存 2 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 2 週後，小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差；對於包括 20% 至

60%血容比之全血樣本而言，小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差；及至多 20 mg/dL 之截距與斜率比值；

於該基部上之第二電極；及

於該基部上之蓋。

26.一種確定樣本中之分析物之濃度之方法，其包含：

將脈動序列施加於該樣本，該脈動序列在 30 秒內包含至少 3 個工作週期；及

確定該樣本中之該分析物之濃度，該確定濃度具有以下各項中之至少一者：小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差；對於在 20% 至 60%血容比範圍內之全血樣本而言，小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差；及至多 20 mg/dL 之截距與斜率比值。

27.如申請專利範圍第 26 項之方法，該脈動序列在 9 秒內包含至少 3 個工作週期。

28.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中該脈動序列係在至多 5 秒內完成。

29.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中確定樣本中之分析物之濃度包括由自施加脈動序列起始 2 秒內所進行之電流量測來確定樣本中之分析物之濃度。

30.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中每一工作週期包含激發及鬆馳。

31.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該等激發各自具有 0.01 至 3 秒之持續時間。

32.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該等激發具有至多 10 秒之總持續時間。

33.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該等激發具有相差 500 mV 以內之振幅。

34.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該等激發包含該脈動序列之時間之至多 45%。

35.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該等鬆馳各自具有 0.2 至 3 秒之持續時間。

36.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該脈動序列包括持續時間為 0.75 至 3 秒之初始激發，其中該初始激發之持續時間比工作週期之激發持續時間長。

37.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中穩定性偏差小於 $\pm 5\%$ 。

38.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中當與在 -20°C 下儲存 4 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 4 週後穩定性偏差小於 $\pm 5\%$ 。

39.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中對於包括 20% 至 60%血容比之全血樣本而言，血容比偏差小於 $\pm 5\%$ 。

40.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中截距與斜率比值為至多 10 mg/dL。

41.一種增加定量分析物確定之效能之方法，其包含：
將具有液體組份之含分析物樣本引入電化學感測條帶中，該條帶具有基部、於該基部上之第一導體、於該基部上之第二導體及於至少該第一導體上之至少一層第一層，其中該至少一層第一層包括包括聚合黏合劑之試劑層且該樣本提供第一導體與第二導體之間的電通信；

以 30 秒內至少 4 個讀出脈動之形式將電位施加於第一導體與第二導體之間；

量測該等讀出脈動中之至少一者，從而以增加之效能提供該樣本中之分析物濃度之定量值，該增加之效能係歸因於選自由以下各項組成之群之至少一個效能參數：當與在 -20°C 下儲存 2 週之比較條帶相比時，在該條帶於 50°C 下儲存 2 週後，小於 $\pm 10\%$ 之穩定性偏差；對於在 20% 至 60% 血容比範圍內全血樣本而言，小於 $\pm 10\%$ 之血容比偏差；至多 10 mg/dL 之截距與斜率比值；及其組合。

42. 如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該至少 4 個讀出脈動係在 9 秒內施加。

43. 如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該等讀出脈動係在至多 5 秒內完成。

44. 如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該讀出脈動係在施加電位之 2 秒內加以量測以提供該樣本中分析物濃度之定量值。

45. 如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該等讀出脈動具有至多 2 秒之持續時間。

46. 如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該等讀出脈動具有相差 500 mV 以內之振幅。

47. 如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該穩定性偏差小於 $\pm 5\%$ 。

48. 如申請專利範圍第 41 項之方法，其中當與在 -20°C 下儲存 4 週之比較條帶相比時，在 50°C 下儲存 4 週後穩定

性偏差小於 $\pm 5\%$ 。

49.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中對於在 20% 至 60%血容比範圍內全血樣本而言，該血容比偏差小於 $\pm 5\%$ 。

50.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該截距與斜率比值為至多 1 mg/dL。

十一、圖式：

如次頁

性偏差小於 $\pm 5\%$ 。

49.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中對於在 20% 至 60%血容比範圍內全血樣本而言，該血容比偏差小於 $\pm 5\%$ 。

50.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該截距與斜率比值為至多 1 mg/dL。

十一、圖式：

如次頁

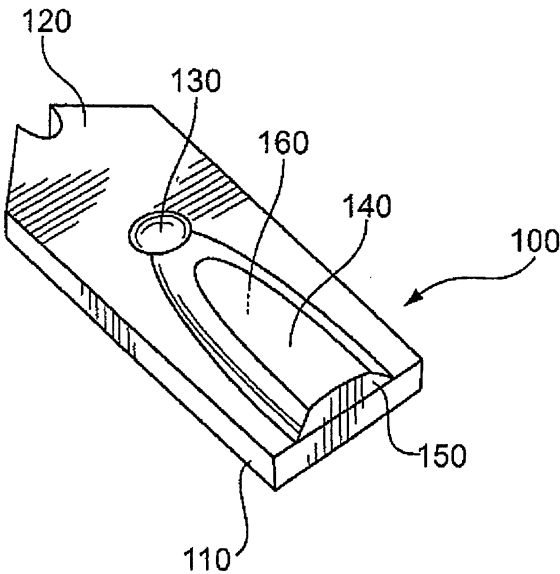


圖1A

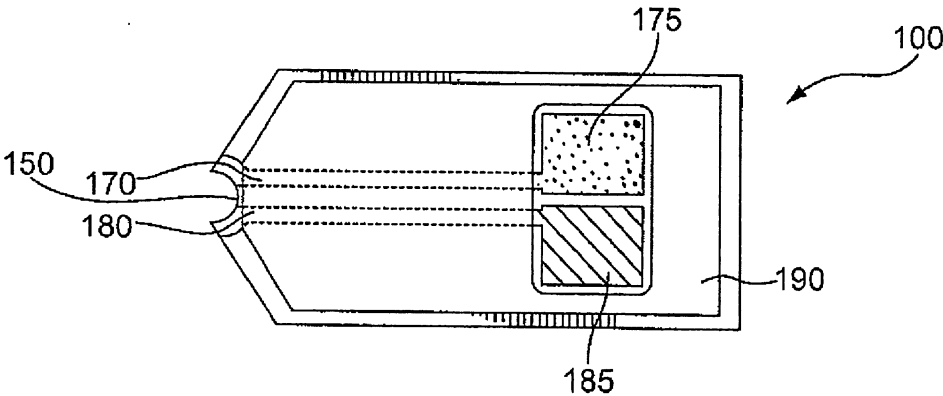


圖1B

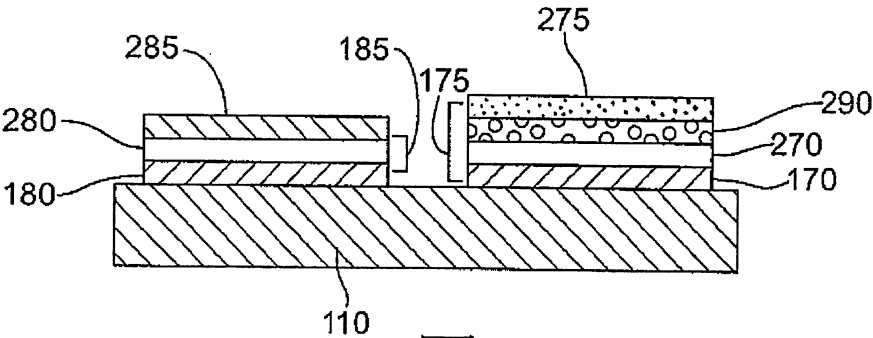


圖2A

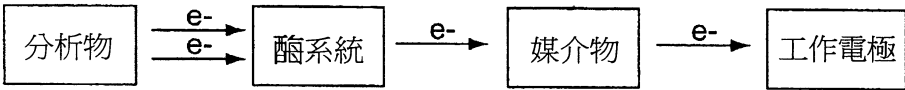


圖2B

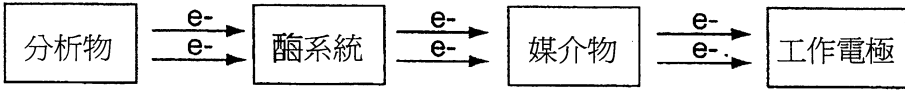


圖2C

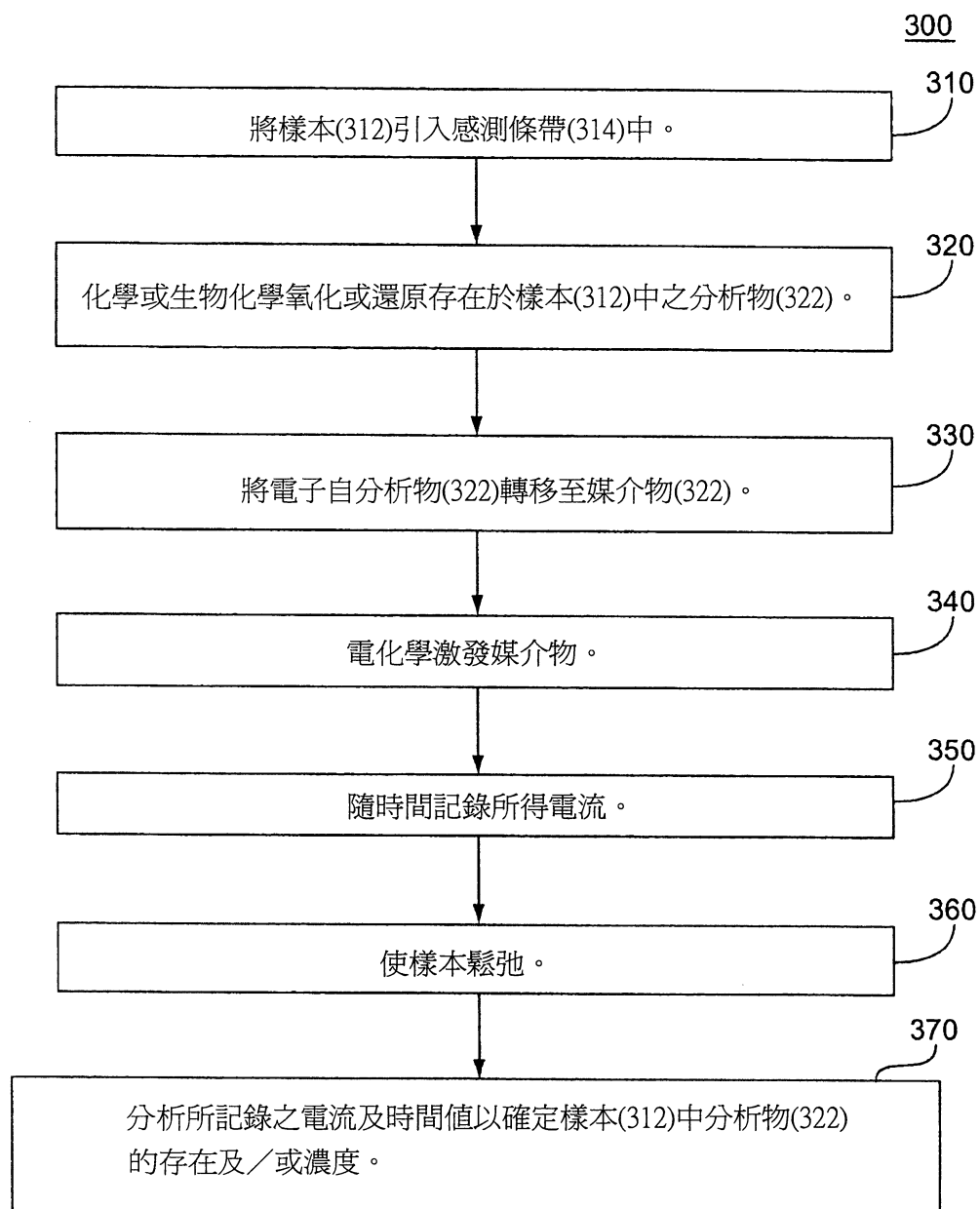


圖3

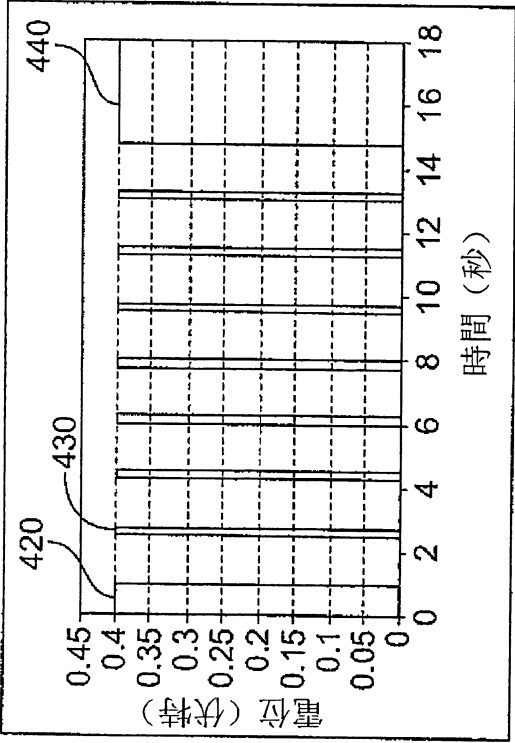


圖4A

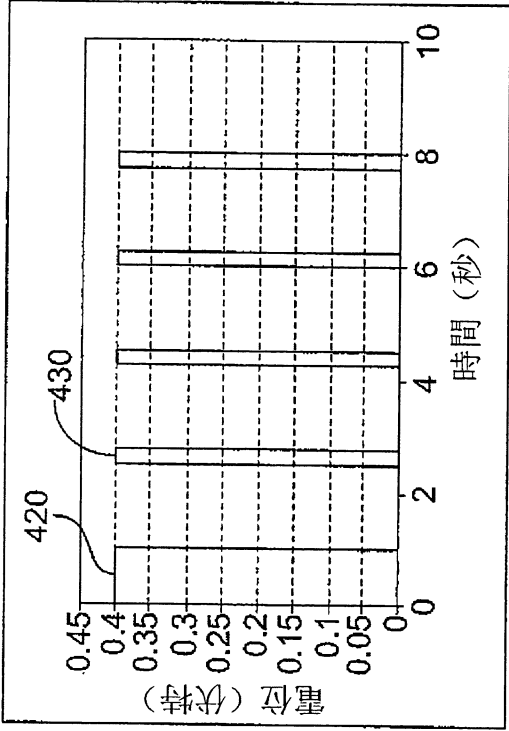


圖4B

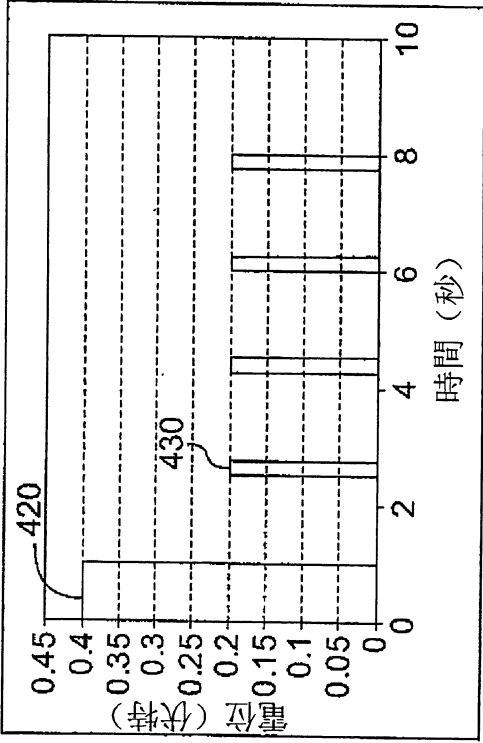


圖4C

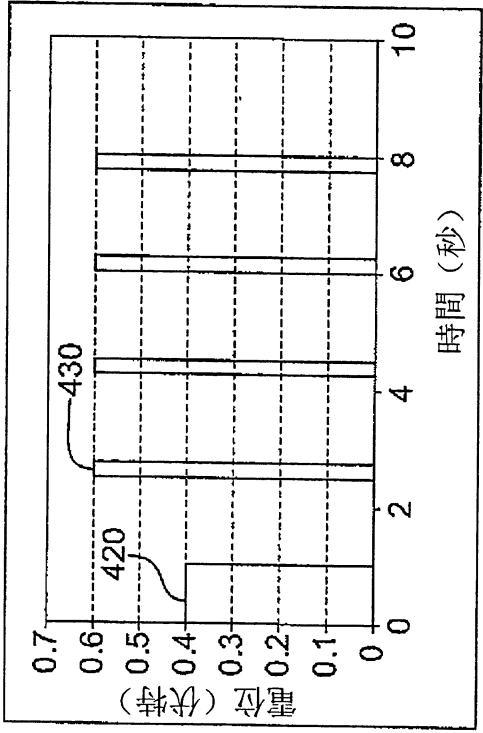


圖4D

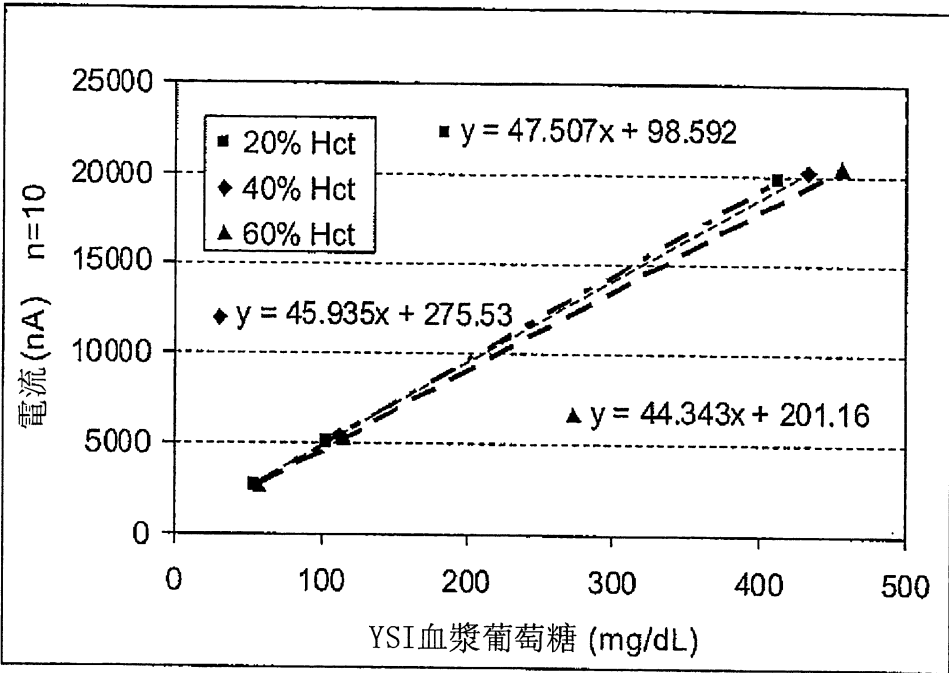


圖5A

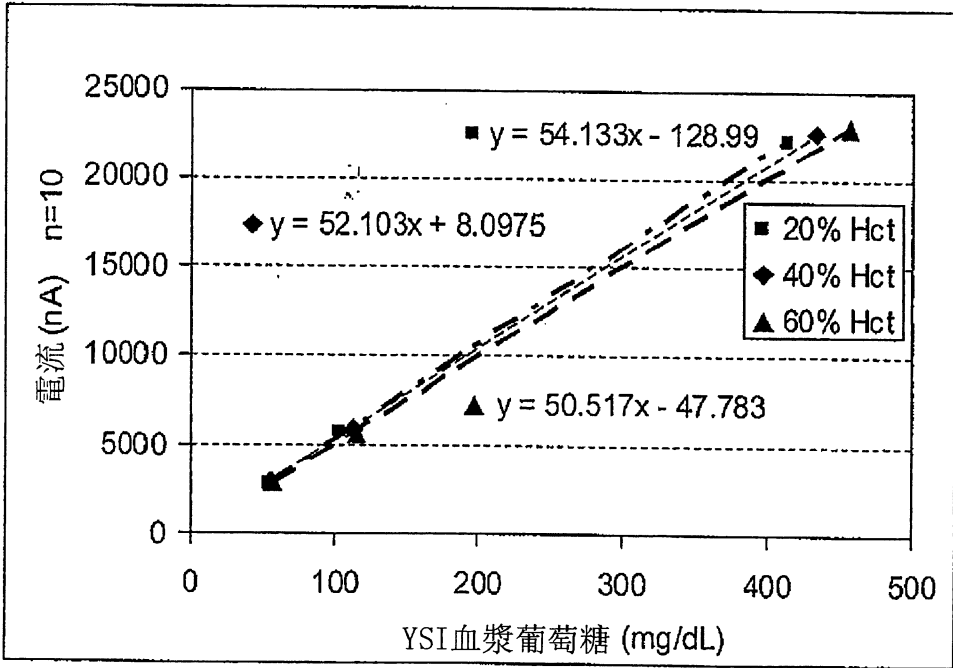


圖5B

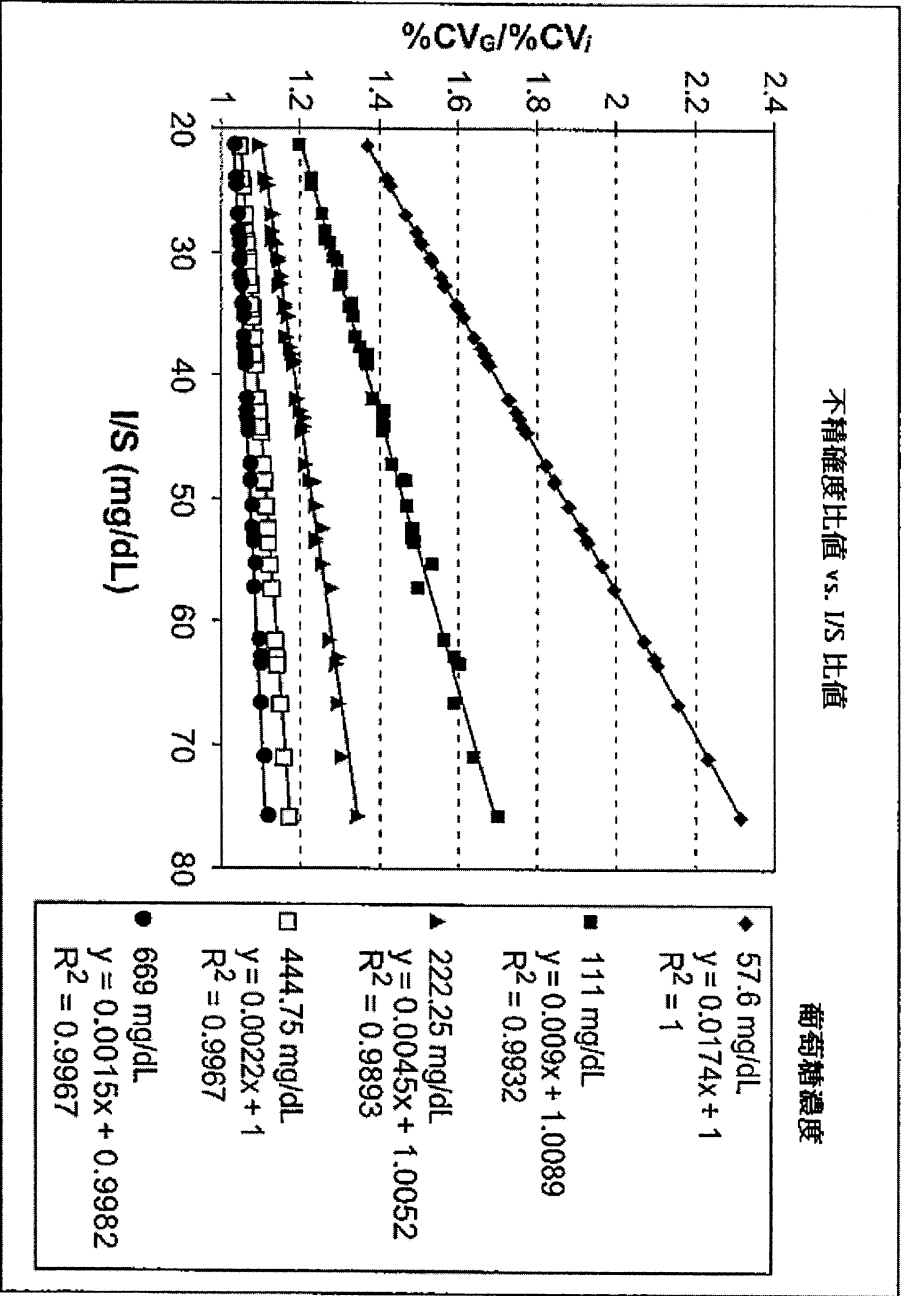


圖 5C

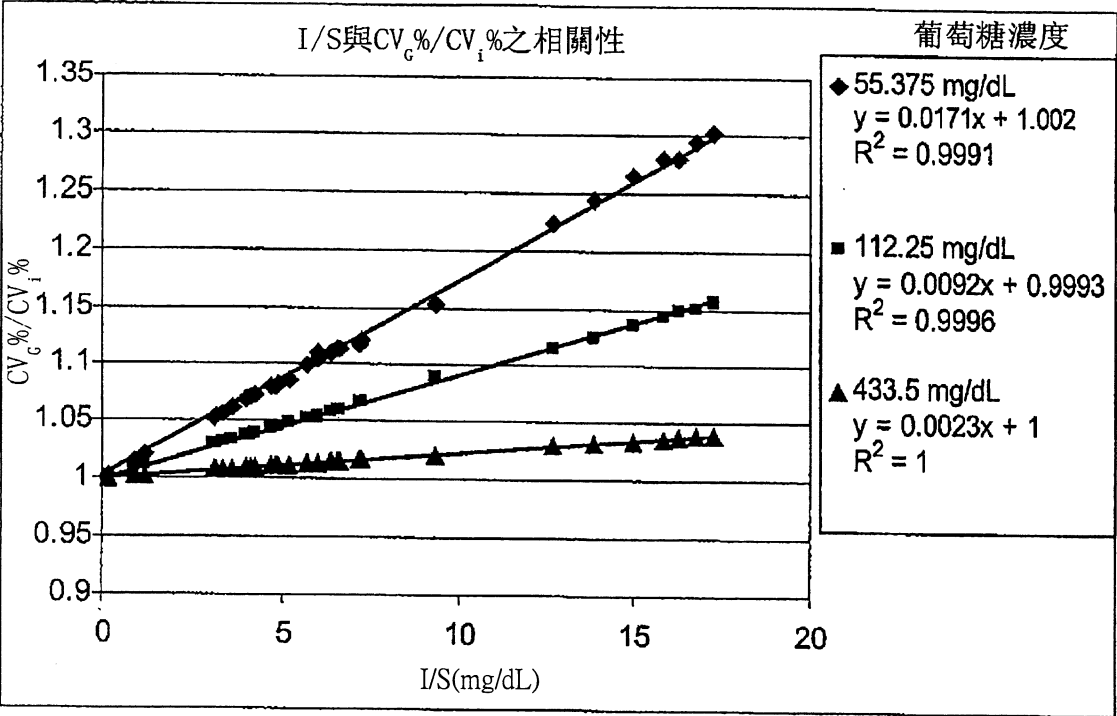


圖5D

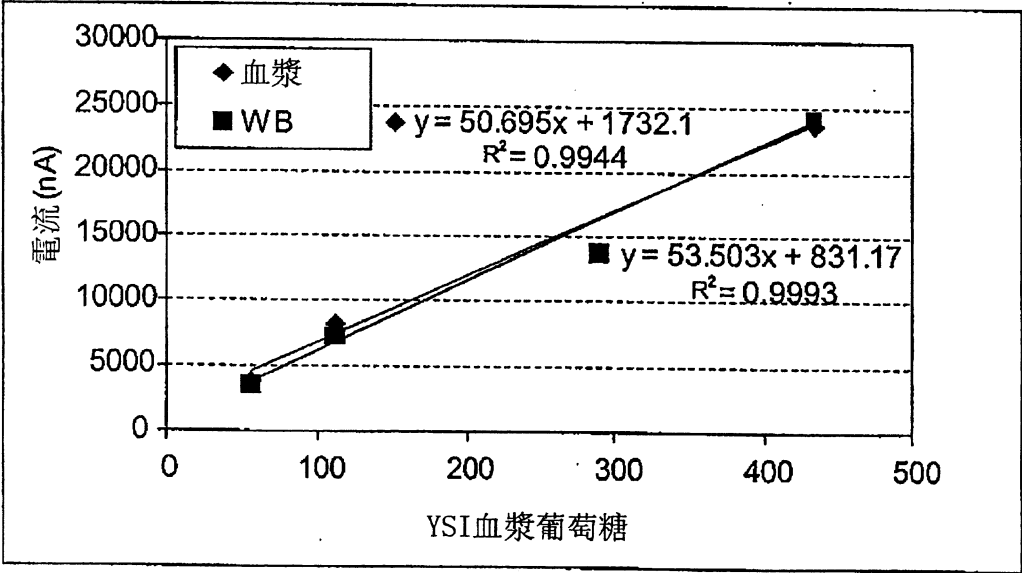


圖5E

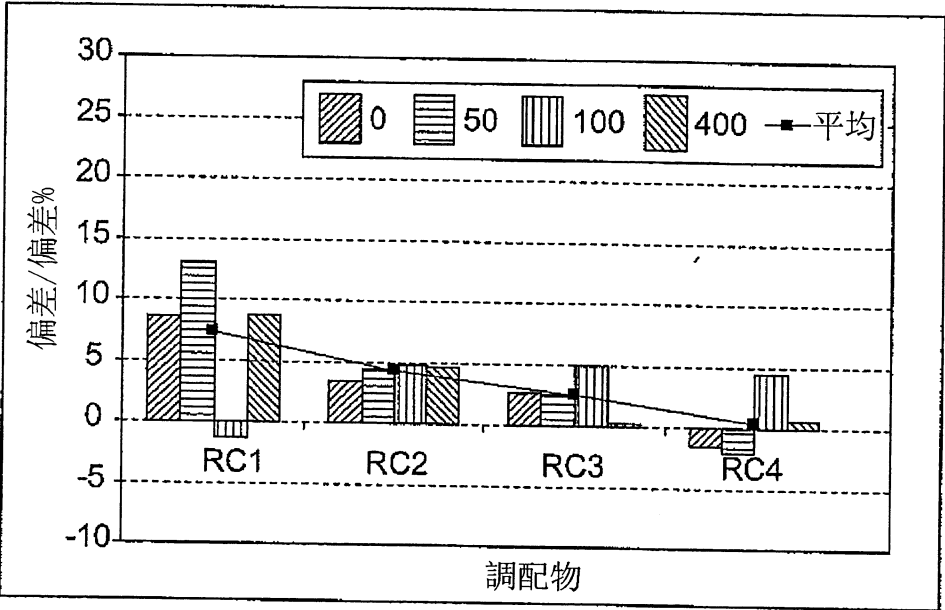


圖6A

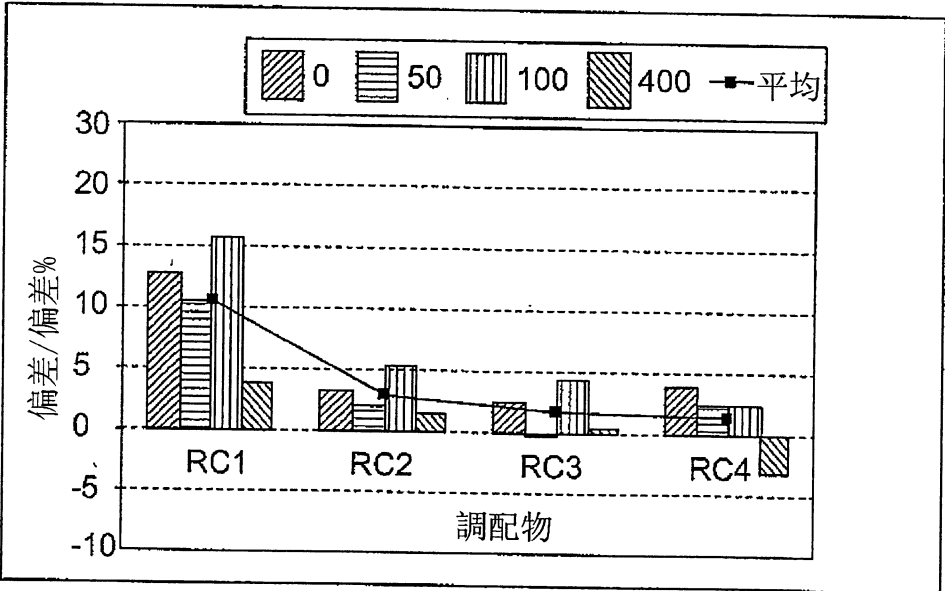


圖6B

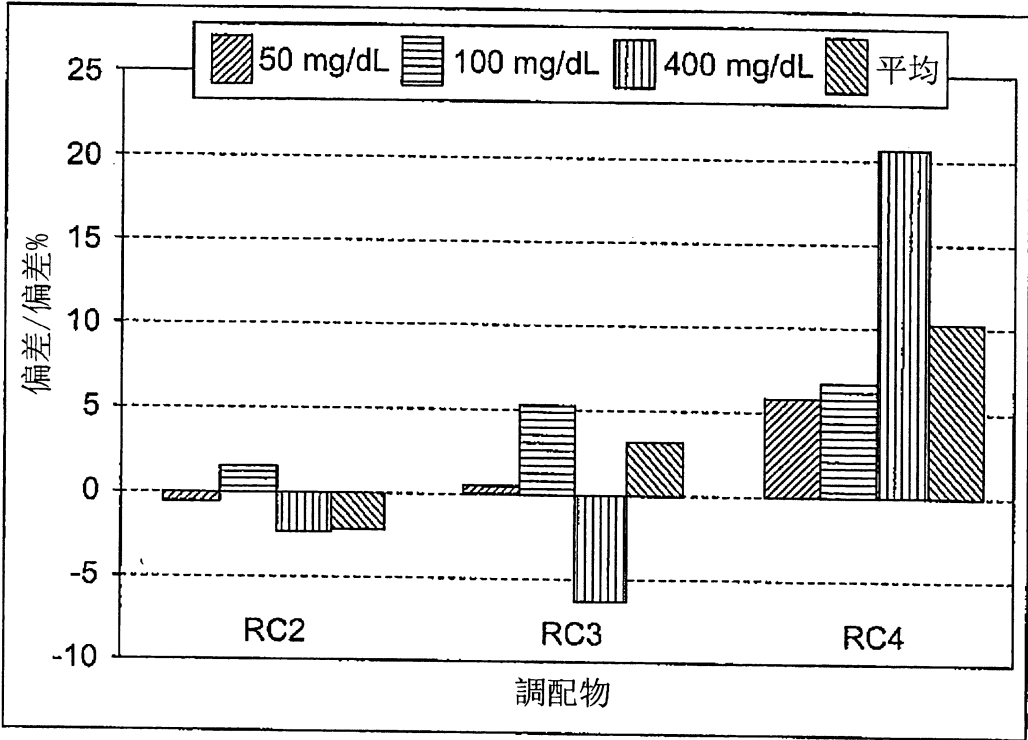


圖6C

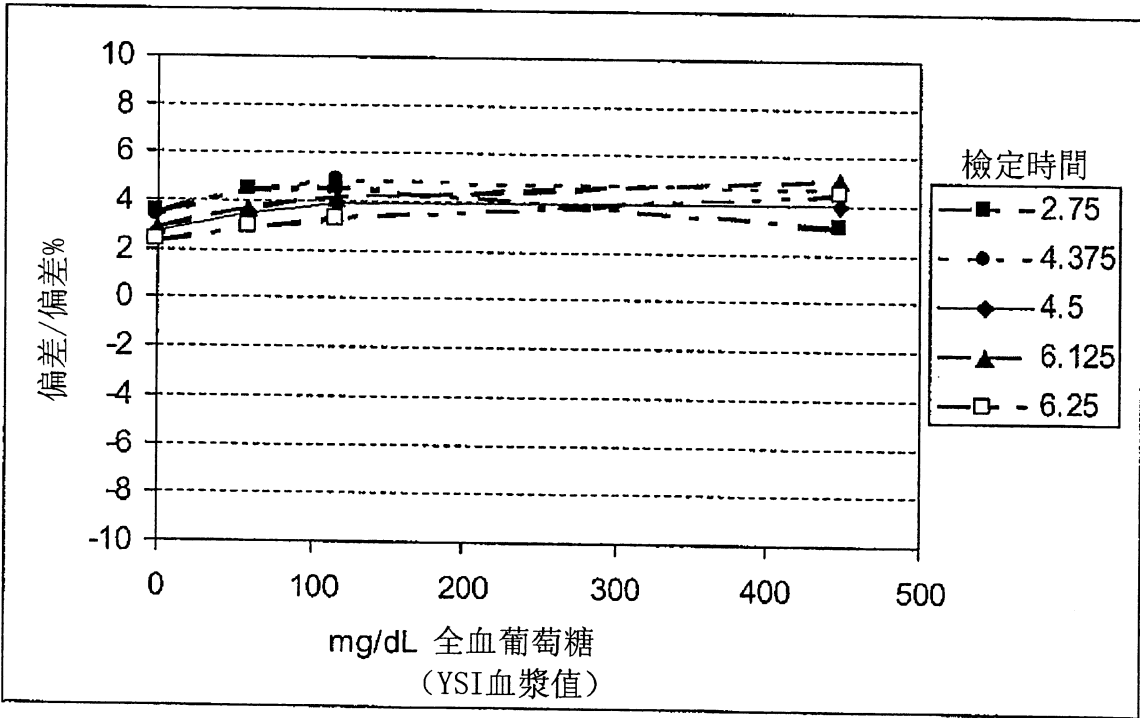


圖6D

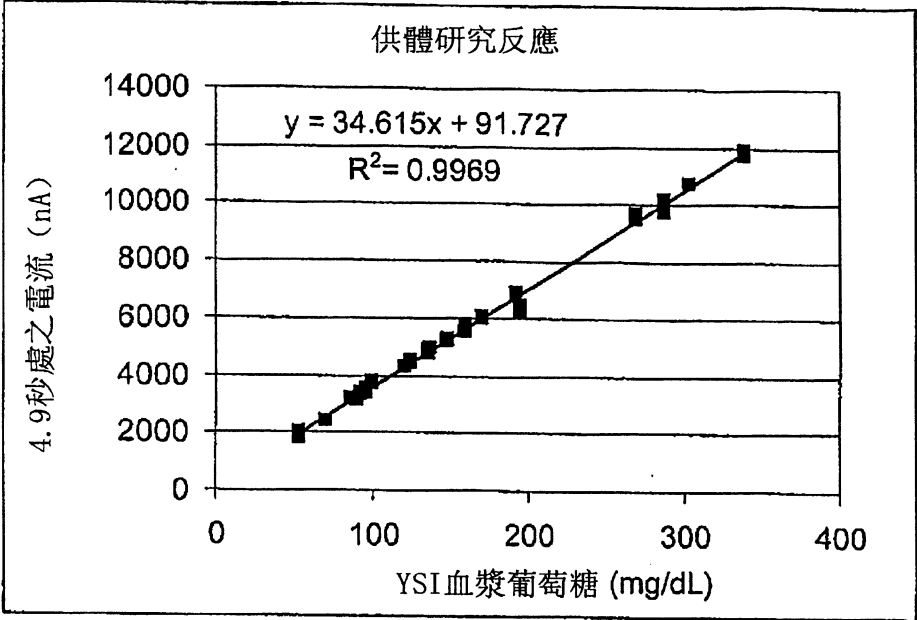


圖7A

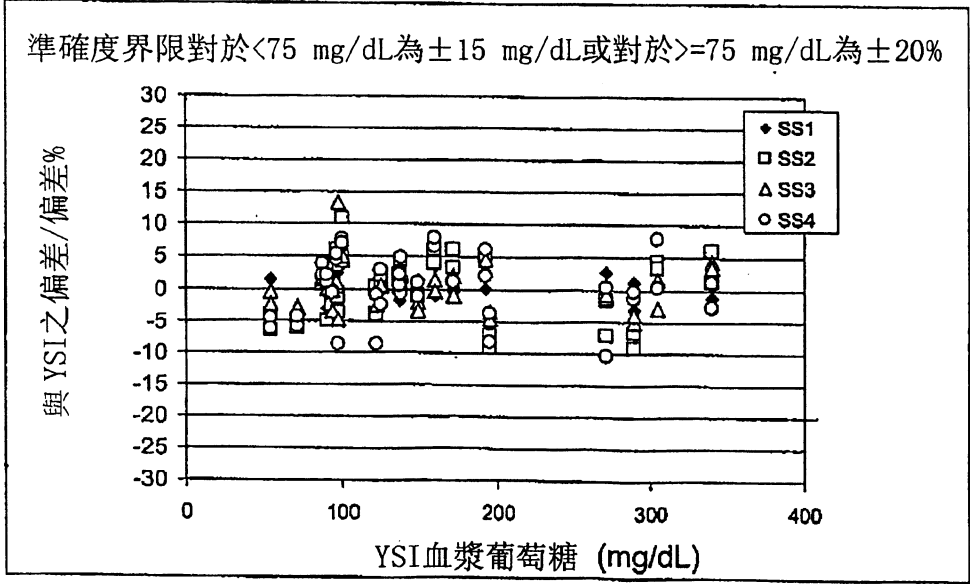


圖7B

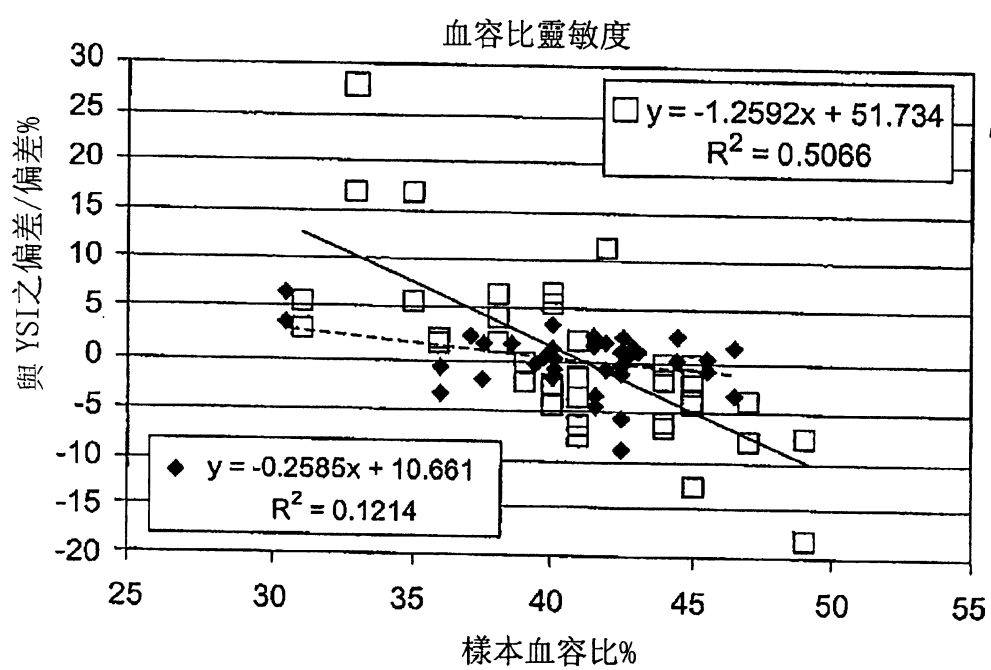


圖7C

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1A) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

100：(經裝配之)感測條帶

110：(感測)基部

120：蓋

130：排氣口

140：樣本覆蓋區域

150：(輸入端)開口

160：部分封閉體積或毛細間隙

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)