

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국

(43) 국제공개일  
2013년 11월 7일 (07.11.2013)



(10) 국제공개번호  
WO 2013/165076 A1

- (51) 국제특허분류:  
C12Q 1/26 (2006.01) G01N 27/26 (2006.01)  
C12N 9/02 (2006.01) C08B 37/16 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/000632
- (22) 국제출원일: 2013년 1월 25일 (25.01.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:  
10-2012-0046531 2012년 5월 2일 (02.05.2012) KR
- (71) 출원인: 주식회사 아이센스 (I-SENS, INC.) [KR/KR];  
139-050 서울시 노원구 월계동 465-14, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 정성권 (JUNG, Sung-Kwon); 406-840 인천시 연수구 송도동 20-22 대우월드마크 101 동 502 호, Incheon (KR). 김문환 (KIM, Moon-Hwan); 130-860 서울시 동대문구 제기 2 동 134-19 302 호, Seoul (KR). 임은혜 (IM, Eun-Hye); 402-208 인천시 남구 주안동 1571 한진스카이타운 214 호, Incheon (KR). 이명호 (LEE, Myeong-Ho); 121-872 서울시 마포구 염리동 63-3, Seoul (KR). 이웅기 (LEE, Ung-Ki); 406-840 인천시 연수구 송도동 30-3 센트로드 C 동 1601 호, Incheon (KR).

차근식 (CHA, Geun Sig); 120-100 서울시 서대문구 홍은동 9-78, Seoul (KR). 남학현 (NAM, Hakhyun); 142-060 서울시 강북구 번 3 동 133-1 한양아파트 101 동 206 호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 유미특허법인 (YOU ME PATENT AND LAW FIRM); 135-080 서울시 강남구 역삼동 649-10 서림빌딩, Seoul (KR).

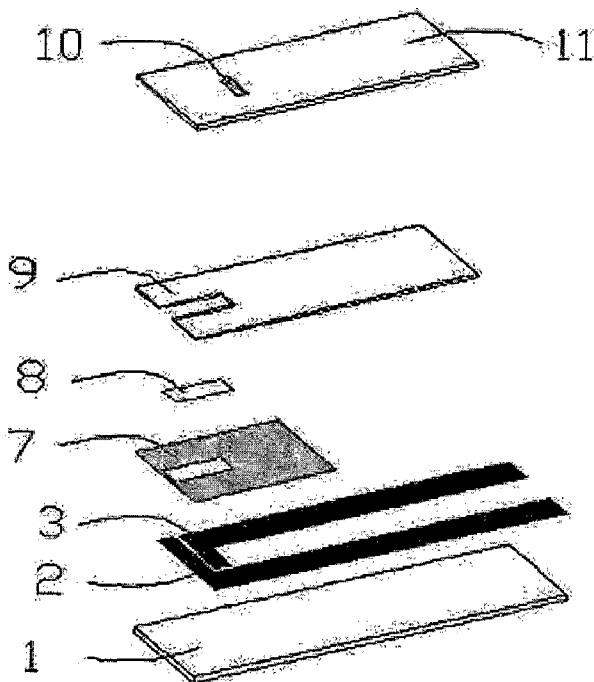
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: REAGENT COMPOSITION FOR REDOX REACTION

(54) 발명의 명칭 : 산화환원반응용 시약 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a stabilizer composition for improving the stability of a reagent for a redox reaction, and a reagent composition for a redox reaction with improved stability containing the same. The reagent composition for a redox reaction can be used as a reagent for an electrochemical biosensor.

(57) 요약서: 본 발명은 산화환원반응용 시약의 안정성 향상을 위한 안정제 조성물, 및 이를 포함하는 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약 조성물에 관한 것으로, 상기 산화환원반응용 시약 조성물은 전기화학적 바이오센서용 시약으로 사용될 수 있다.

WO 2013/165076 A1

ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, **공개:**  
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, — 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))  
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

## 【명세서】

## 【발명의 명칭】

산화환원반응용 시약 조성물

## 【기술분야】

- 5           본 발명은 산화환원반응용 시약의 안정성 향상을 위한 안정제 조성물, 및 이를 포함하는 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약 조성물에 관한 것으로, 상기 산화환원반응용 시약 조성물은 전기화학적 바이오센서용 시약으로 사용될 수 있다.

## 【배경기술】

- 10           당뇨 관리에 있어 혈당의 주기적인 측정은 대단히 중요하며, 이에 정확성과 정밀성을 갖춘 다양한 종류의 전기화학적 바이오센서가 널리 쓰이고 있다. 혈당을 측정하는 전기화학적 바이오센서는 작동 전극에 효소, 전자전달체 및 다양한 안정제와 분산제를 섞어서 조제한 시약을 건조시켜 제조하는데, 그 특성을 가장 크게 좌우하는 것은 사용하는 효소의 종류와
- 15 전자전달체의 특성이다.

- 예를 들어, 대부분의 상용화된 전기화학적 센서에 사용되는 글루코오스 산화환원효소인 FAD-GOx (flavin adenine dinucleotide-glucose oxidase)는 열에 안정하고 글루코오스만을 산화시키는 반응선택성은 탁월하지만, 혈액에 녹아 있는 산소와 반응하기 때문에 FAD-GOx 효소를
- 20 사용하여 만든 센서는 시료 혈액의 종류 (정맥혈, 동맥혈, 또는 모세혈)에 따라서 측정값이 크게 다를 수 있다.

- 한편, PQQ-GDH 효소 (pyrrole quinoline quinone-glucose dehydrogenase)를 이용하여 만든 센서는 혈중 산소의 영향을 거의 받지 않는 특성을 보이는 반면, 글루코오스에 대한 특이성 외에도 만노스 (mannose), 말토스 (maltose)
- 25 또는 락토스 (lactose) 등과 같은 여러 종의 단당류 또는 이당류에도 선택성을 보이며, 특히, 신장복막투석을 하는 환자의 경우에는 말토스에 의한 영향으로 인하여 잘못된 치료를 하게 되는 경우가 발생할 수 있다는 사실이 알려졌다. 또 다른 GDH 효소인 NAD-GDH (nicotinamide adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase)를 이용하는 센서는 만노스, 말토스 및
- 30 락토스와 같은 이당류와 반응하지 않기 때문에 반응선택성은 PQQ-GDH보다

좋지만,  $\text{NAD}^+$  또는  $\text{NADP}^+$ 와 같은 조효소를 별도로 시약 조성에 첨가해야 하고 보관 안정성이 낮은 문제가 있다.

FAD-GDH (flavin adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase)를 이용하는 전기화학적 센서는 혈중에 녹아 있는 산소의 양에 영향을 받지 않고, 5 안정성이 높으며, PQQ-GDH 효소를 사용하는 센서의 단점인 말토스에 대한 특이성도 없어서 최근 많이 사용되고 있다. 반면 FAD-GDH는 그 효소를 생산하는 세균이나 진균 (fungi) 종류에 따라 같이 사용할 수 있는 전자전달체 (mediator)의 종류가 제한적이다.

가장 보편적으로 사용되는 전자전달체로는 포타슘페리시아나이드 10  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 가 있는데, 가격이 저렴하고 반응성이 좋아서 FAD-GOx, PQQ-GDH 또는 FAD-GDH를 이용한 센서 모두에 유용하다. 그러나, 이 전자전달체를 이용한 센서는 혈액에 존재하는 요산 (uric acid)이나 겐티식산 (gentisic acid)과 같은 방해 물질에 의한 측정오차를 발생하고, 온도와 습도에 의하여 변질되기 쉽기 때문에 제조와 보관에 각별히 주의해야 하고 장시간 15 보관 후 바탕전류의 변화로 낮은 농도의 글루코오스를 정확하게 검출하는데 어려움이 있다.

헥사암민루테늄클로라이드  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3]$ 는 페리시아나이드에 비하여 산화환원 안정성이 높아 이 전자전달체를 사용한 바이오센서는 제조와 보관이 용이하고 장시간 보관에도 바탕전류의 변화가 작아 안정성이 높은 20 장점을 갖지만, FAD-GDH와 사용하기에는 반응성이 서로 맞지 않아 상업적으로 유용한 센서로 제작하기가 어렵다는 단점이 있다.

최근 효소나 전자전달체를 사용하지 않는 나노 동공 전극 표면을 갖는 특수 형태의 바이오센서들을 사용하여 글루코스를 검출하려는 시도들이 있다. 예를 들어 US8083926은 사이클로덱스트린으로 형성한 25 나노동공 구조의 전극을 사용하여 낮은 농도의 글루코즈 측정에 유용한 센서를 제시하였다. 그러나 이 센서는 아주 낮은 농도에서 높은 농도까지 모두 측정하기에는 적합하지 않으며, 대량생산에도 적합하지 않은 단점을 가지고 있다.

따라서 산소에 의하여 영향을 받지 않고, 온도와 습도에 의한 30 성능변화가 적으며, 장기간 보관한 후에도 성능의 변화가 적으며, 넓은 농도

범위의 측정이 가능하며, 대량생산에 적합한 산화환원반응용 시약, 보다 구체적으로 전기화학적 바이오센서용 시약을 제조하기 위한 기술의 개발이 요구되고 있다. 본 발명은 이와 같은 요건을 만족하는 바이오센서 시약 조성물을 제시한다.

5 **【발명의 상세한 설명】**

**【기술적 과제】**

이에 본 발명자들은 전기화학적 바이오센서에 사용가능한 산화환원반응용 시약에 친수성 포합화합물 (inclusion compound)을 첨가하여 산화환원효소와 전자전달체를 안정화시킬 수 있음을 확인하여 본 발명을 10 완성하였다.

따라서, 본 발명의 일례는 친수성 포합화합물을 유효성분으로 포함하는 산화환원반응용 시약 안정제 조성물을 제공한다.

또 다른 예는 산화환원효소, 전자전달매개체, 및 친수성 포합화합물을 포함하고, 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약 조성물을 제공한다.

15 또 다른 예는 산화환원효소, 전자전달매개체, 및 친수성 포합화합물을 혼합하는 단계를 포함하는 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약의 제조 방법을 제공한다.

또 다른 예는 상기 안정성이 증진된 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물을 포함하는 전기화학적 바이오센서를 제공한다.

20 **【기술적 해결방법】**

본 발명자들은 FAD-GDH의 전자전달매개체로 티오닌 (thionine) 또는 1-Methoxy PMS (1-Methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate)과 25 헥사암민루테늄클로라이드를 함께 사용할 경우 효소와 전자전달체간의 반응속도가 빨라져 글루코오스 검출성능이 현저히 향상된다는 것을 발견하여 이들은 포함하는 바이오센서용 시약 조성물에 관한 특허출원한 바 있다 (대한민국 특허출원 제2012-0009668호).

본 발명자들은 상기와 같이 제 1의 전자전달매개체인 금속함유 착물 (예컨대, 헥사암민루테늄클로라이드)과 반응성이 낮은 산화환원효소의 활성을 30 높이기 위하여 제2의 전자전달매개체로 티오닌 (도 6 참조) 및 이 화합물과 유사한 구조를 가진 화합물들 (도 7 참조)을 같이 사용할 때 나타나는

불안정성을 해결하여 시약 조성물의 안정성을 증진시키기 위한 연구를 거듭한 결과, 상기 시약 조성물에 시약 안정제로서 하이드록시프로필 알파 사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin, HP- $\alpha$ -CD), 하이드록시프로필 베타 사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, HP- $\beta$ -CD), 또는 하이드록시프로필 감마 사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\gamma$ -cyclodextrin, HP- $\gamma$ -CD)과 같은 친수성 포합화합물 (inclusion compound)을 첨가하는 경우 센서를 장기간 보관한 후에도 산화환원반응 효율 및 글루코오스 검출 성능에 변화가 거의 없다는 것을 확인하였다. 친수성 포합화합물은 티오닌과의 포합복합체 형성을 유도하여 티오닌의 제한된 용해성을 높여주고 효소와의 직접적인 반응을 제한하여 시약 조성물의 안정성을 증가시킬 수 있다. 예를 들어 HP- $\beta$ -CD는 단위 부피당 거의 50 % (w/v)까지 녹을 정도로 물에 매우 잘 녹는 성질을 갖는데, 이러한 성질에 의하여 물에 잘 녹지 않는 물질과 복합체를 형성하여 물에 녹아있는 형태의 안정된 복합체를 형성하게 된다.

본 발명자들은 친수성 포합화합물이, FAD-GDH 효소와 헥사암민루테늄 및 티오닌 전달매개체를 포함하는 전기화학적 바이오센서에서, 산소와 반응하지 않고, 높은 온도와 습도에 의하여 변질되는 정도가 작으며, 검출 감도가 방해물질에 의하여 거의 영향 받지 않으며, 장기간 보관성도 탁월한 산화환원반응용 시약으로 사용 가능성을 확인하고, 보다 구체적으로 전기화학적 바이오센서용 시약 및 이를 포함하는 바이오센서를 제공할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

본 발명에 제공되는 산화환원반응용 시약, 보다 구체적으로 전기화학적 바이오센서용 시약은 산소에 의하여 영향 받지 않고, 온도와 습도에 의한 성능변화가 적으며, 장기간 보관한 후에도 성능의 변화가 적으며, 넓은 농도 범위 (예컨대, 5 내지 1000 mg/dL)의 측정이 가능하며, 대량생산에 적합하다는 이점을 갖는다.

본 발명의 구체예에서는 적용 가능한 예로서 글루코오스를 측정하기 위한 바이오센서를 예시하고 있지만, 본 발명의 시약조성물에 포함되는 효소의 종류를 달리함으로써 콜레스테롤, 락테이트, 크레아티닌, 과산화수소, 알코올, 아미노산, 글루타메이트와 같은 다양한 물질의 정량을 위한 바이오센서에 적용할 수 있다.

**【유리한 효과】**

본 발명에 따른 바이오센서용 시약 안정제 조성물 및 이를 포함하는 시약 조성물은 산소와 반응하지 않고, 높은 온도와 습도에 의하여 변질되는 정도가 작으며 방해물질에 의하여 거의 영향 받지 않으므로, 혈액 내 대사물질, 특히 글루코오스 검출을 위한 전기화학적 바이오센서의 제조에 유용하다.

**【도면의 간단한 설명】**

도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 평면형 바이오센서의 분해사시도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 대면형 바이오센서의 분해사시도이다.

도 3은 실시예 2에 따른 평면형 바이오센서를 이용하여 글루코오스 농도를 달리한 시료를 적용하였을 경우, 나타나는 전류의 변화를 측정한 그래프이다.

도 4는 실시예 1에 따른 대면형 바이오센서를 이용하여 글루코오스 농도를 달리한 시료를 적용하였을 경우, 나타나는 전류의 변화를 측정한 그래프이다.

도 5는 실시예 3과 비교예 2에 따른 대면형 바이오센서를 50°C에서 숙성하고 글루코오스 농도를 달리한 시료를 적용하였을 경우, 숙성 기간에 따른 기울기의 변화를 나타낸 그래프이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에서 사용된 티오닌의 구조이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에서 사용된 티오닌 유도체들의 구조이다.

**【발명의 실시를 위한 형태】**

상기한 바와 같이, 본 발명의 일례는 친수성 포함화합물을 유효성분으로 포함하는 산화환원반응용 시약 안정제 조성물을 제공한다.

한 구체예에서, 상기 산화환원반응용 시약은 전기화학적 바이오센서용 시약으로 사용 가능하므로, 본 발명의 또 다른 예는 친수성 포함화합물을 유효성분으로 포함하는 전기화학적 바이오센서용 시약 안정제 조성물을 제공한다.

또 다른 예는 산화환원효소, 전자전달매개체, 및 친수성 포함화합물을

포함하고, 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약 조성물을 제공한다.

한 구체예에서, 상기 산화환원반응용 시약 조성물은 전기화학적 바이오센서에 적용될 수 있으므로, 본 발명의 또 다른 예는 산화환원효소, 전자전달매개체, 및 포함화합물을 포함하고, 안정성이 증진된 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물을 제공한다.

또 다른 예는 산화환원효소, 전자전달매개체 및 친수성 포함 화합물을 혼합하는 단계를 포함하는 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약의 제조 방법을 제공한다.

한 구체예에서, 상기 산화환원반응용 시약 조성물은 전기화학적 바이오센서에 적용될 수 있으므로, 본 발명의 또 다른 예는 산화환원효소, 전자전달매개체, 및 친수성 포함 화합물을 혼합하는 단계를 포함하는 안정성이 증진된 전기화학적 바이오센서용 시약의 제조 방법을 제공한다.

또 다른 예는 상기 안정성이 증진된 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물을 포함하는 전기화학적 바이오센서를 제공한다.

이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

본 명세서에 사용된 바로서, '포함화합물 (inclusion compound)'은 포접화합물 또는 내포화합물이라고도 하며, 적당한 조건하에서 2 가지 분자 중 한쪽 분자가 바구니형의 내포 격자를 만들고 그 사이에 다른 분자가 채워지는 형태를 갖는 화합물을 의미한다.

본 발명에서 사용되는 친수성 포함화합물은 사이클로덱스트린 (cyclodextrin) 계열 화합물 및 이의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 보다 구체적으로 사이클로덱스트린 (cyclodextrin) 계열 화합물일 수 있다. 상기와 같은 사이클로덱스트린 계열 화합물과 같은 친수성 포함화합물은 센서를 장기간 보관하여도 글루코오스 검출성능에 변화가 적도록 하는 역할을 한다.

상기 사이클로덱스트린 계열 화합물은 구조적으로 환상에 결합한 글루코오스의 수가 6개인 알파-사이클로덱스트린 ( $\alpha$ -cyclodextrin), 7개인 베타-사이클로덱스트린 ( $\beta$ -cyclodextrin), 8개인 감마-사이클로덱스트린 ( $\gamma$ -cyclodextrin) 등으로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있으며, 구체적으로 사이클로덱스트린은 베타-사이클로덱스트린일 수 있다.

상기 사이클로덱스트린 계열 화합물의 유도체는 사이클로덱스트린 계열 화합물이 하이드록시프로필기, 메틸기 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 치환기를 포함하는 것일 수 있다. 예컨대, 대표적인 사이클로덱스트린 계열 화합물의 유도체로서 하이드록시프로필-알파- 사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin), 하이드록시프로필-베타- 사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin), 하이드록시프로필-감마- 사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\gamma$ -cyclodextrin), 메틸-베타-사이클로덱스트린 (methyl- $\beta$ -cyclodextrin) 등을 들 수 있다. 본 발명의 구체예에서는 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린을 대표예로서 예시하였으나, 알파- 및 감마-사이클로덱스트린의 유사한 특성을 갖는 유도체 역시 유사한 성질을 보일 수 있음을 확인하였다 (도 4 참조).

상기한 친수성 포함화합물, 즉 사이클로덱스트린 계열 화합물, 사이클로덱스트린 계열 화합물의 유도체, 특히 하이드록시프로필-베타- 사이클로덱스트린은 물에 매우 잘 녹기 때문에, 산화환원반응용 시약 조성물, 특히 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물에 포함되는 경우, 시약 내 불용성 물질과 복합체를 형성하여 물에 녹는 안정한 복합체를 형성함으로써, 용해성을 높이고 시약을 안정화하는 역할을 한다.

따라서, 본 발명은 친수성 포함화합물의 산화환원반응용 시약, 예컨대 전기화학적 바이오센서용 시약을 안정화시키기 위한 용도를 제공하며, 그 일 구현예로서 상기 친수성 포함화합물을 유효성분으로 포함하는 산화환원반응용 시약 안정제 조성물, 또는 바이오센서용 시약 안정제 조성물을 제공한다.

상기 안정화되는 산화환원반응용 시약 또는 전기화학적 바이오센서용 시약은 산화환원효소 및 전자전달 매개체를 포함하는 통상의 산화환원반응용 시약 또는 전기화학적 바이오센서용 시약이다.

다른 측면에서, 산화환원효소, 전자전달 매개체, 및 친수성 포함화합물을 포함하는 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약 조성물이 제공된다. 구체예에서, 상기 산화환원반응용 시약 조성물은 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물로서 적용가능하므로, 또 다른 예에서 산화환원효소, 전자전달 매개체, 및 친수성 포함화합물을 포함하는 안정성이

증진된 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물이 제공된다.

또 다른 측면에서 산화환원효소, 전자전달매개체 및 친수성 포함 화합물을 혼합하는 단계를 포함하는 안정성이 증진된 산화환원반응용 시약의 제조 방법이 제공된다. 구체예에서, 상기 산화환원반응용 시약 조성물은 전기화학적 바이오센서에 적용될 수 있으므로, 또 다른 예에서 산화환원효소, 전자전달매개체 및 친수성 포함 화합물을 혼합하는 단계를 포함하는 안정성이 증진된 전기화학적 바이오센서용 시약의 제조 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 상기 제조 방법에 있어서, 상기 산화환원효소, 전자전달매개체 및 친수성 포함 화합물을 혼합하는 단계는 산화환원효소 및 전자전달매개체를 혼합하는 단계 및 상기 얻어진 혼합물에 친수성 포함 화합물을 첨가하는 단계를 포함하여 수행할 수 있다.

또 다른 예는 상기 안정성이 증진된 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물을 포함하는 전기화학적 바이오센서를 제공한다.

또 다른 예는 상기 안정성이 증진된 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물을 포함하는 전기화학적 바이오센서를 제공한다.

이 때, 친수성 포함화합물은 앞서 설명한 바와 같이 시약을 안정화시키는 시약안정제로서의 역할을 한다.

본 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, 산화환원효소, 전자전달매개체, 및 시약안정제로서 친수성 포함화합물을 포함하는 안정성이 증진된 시약은 '산화환원반응용 시약 조성물 또는 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물'로 기재하고, 친수성 포함화합물에 의한 안정화 대상이 되는 통상의 산화환원효소 및 전자전달 매개체를 포함하는 기존의 시약은 '산화환원반응용 시약 또는 전기화학적 바이오센서용 시약'으로 구분하여 기재한다. 또한, 산화환원반응용 시약 조성물 또는 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물을 총칭하는 경우 특별한 언급이 없는 한 '시약 조성물'이라 칭한다.

상기 친수성 포함화합물은 상기한 바와 같다.

산화환원효소는 생체의 산화환원반응을 촉매하는 효소를 총칭하는 것으로, 본 발명에서는 측정하고자 하는 대상물질, 예컨대 바이오센서의 경우에는 측정하고자하는 대사물질과 반응하여 환원되는 효소를 의미한다.

이와 같이 환원된 효소는 전자전달매개체와 반응하며, 이 때 발생한 전류변화 등의 신호를 측정하여 대사물질을 정량하게 된다. 본 발명에 사용 가능한 산화환원효소는 각종 탈수소효소 (dehydrogenase), 산화효소 (oxidase), 에스테르화효소 (esterase) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것일 수 있으며, 산화환원 또는 검출 대상 물질에 따라서, 상기 효소 군에 속하는 효소들 중에서 상기 대상 물질을 기질로 하는 효소를 선택하여 사용할 수 있다.

보다 구체적으로 상기 산화환원효소는 글루코오스탈수소효소 (glucose dehydrogenase), 글루탐산탈수소효소 (glutamate dehydrogenase), 글루코오스산화효소 (glucose oxidase), 콜레스테롤산화효소 (cholesterol oxidase), 콜레스테롤에스테르화효소 (cholesterol esterase), 락테이트산화효소 (lactate oxidase), 아스코빅산산화효소 (ascorbic acid oxidase), 알코올산화효소 (alcohol oxidase), 알코올탈수소효소 (alcohol dehydrogenase), 빌리루빈산화효소 (bilirubin oxidase) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

한편, 상기 산화환원효소는 측정하고자 하는 대상물질 (예컨대, 대사물질)로부터 산화환원효소가 뺏어온 수소를 보관하는 역할을 하는 보조인자 (cofactor)를 함께 포함할 수 있는데, 예컨대, 플라빈 아데닌 디뉴클레오타이드 (flavin adenine dinucleotide, FAD), 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타이드 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD), 피롤로퀴놀린 퀴논 (Pyrroloquinoline quinone, PQQ) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

예컨대, 혈중 글루코오스 농도를 측정하고자 하는 경우, 상기 산화환원효소로서 글루코오스 탈수소효소 (glucose dehydrogenase, GDH)를 사용할 수 있으며, 상기 글루코오스 탈수소효소는 보조인자로서 FAD를 포함하는 플라빈아데닌디뉴클레오타이드-글루코오스탈수소효소 (flavin adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase, FAD-GDH), 및/또는 보조인자로서 FAD-GDH를 포함하는 니코틴아미드아데닌디뉴클레오타이드-글루코오스탈수소효소 (nicotinamide adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase)일 수 있다.

구체예에서, 상기 사용 가능한 산화환원효소는 FAD-GDH (예컨대, EC 1.1.99.10 등), NAD-GDH (예컨대, EC 1.1.1.47 등), PQQ-GDH (예컨대, EC1.1.5.2

등), 글루탐산탈수소효소 (예컨대, EC 1.4.1.2 등), 글루코오스산화효소 (예컨대, EC 1.1.3.4 등), 콜레스테롤산화효소 (예컨대, EC 1.1.3.6 등), 콜레스테롤에스테르화효소(예컨대, EC 3.1.1.13 등), 락테이트산화효소(예컨대, EC 1.1.3.2 등), 아스코빅산산화효소 (예컨대, EC 1.10.3.3 등), 알코올산화효소 (예컨대, EC 1.1.3.13 등), 알코올탈수소효소 (예컨대, EC 1.1.1.1 등), 빌리루빈산화효소 (예컨대, EC 1.3.3.5 등) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

상기 전자전달매개체는 대사물질과 반응하여 환원된 효소와 산화환원반응하여 환원되게 되며, 이렇게 형성된 환원상태의 전자전달매개체는 산화전위가 인가된 전극표면에서 전류를 발생시키는 역할을 수행한다.

상기 전자전달매개체는 제1 전자전달매개체 및 제2 전자전달매개체의 혼합물일 수 있다.

상기 제1 전자전달매개체 및 제2 전자전달매개체의 혼합물에서, 상기 제1 전자전달매개체는 금속함유 착물일 수 있고, 제2 전자전달매개체는 티오닌 (thionine), 1-메톡시 PMS (1-Methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate), 3-아미노-7-(2,3,4,5,6-펜타하이드록시헥산아미도)-5-페노티아지늄 (3-amino-7-(2,3,4,5,6-pentahydroxy hexanamido)-5-phenothiazinium), 1-메톡시-5-메틸페나지늄 (1-Methoxy-5-methylphenazinium), 아주르 C (Azure C), 아주르 A (Azure A), 메틸렌블루 (Methylene Blue), 톨루이딘블루 (Toluidine Blue), 및 이들의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다 (도 6 및 도 7 참조). 상기 금속함유 착물은 Ru, Fe, Os, Rh, Mo, 및 Ir로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 착물일 수 있다.

구체예에서 상기 금속함유 착물은 루테늄 착물, 예컨대 헥사암민루테늄클로라이드  $[Ru(NH_3)_6Cl_3]$ , 루테늄트리펜디온  $\{[Ru(phenadione)_3]^{2+}$ , phenadione = 1,10-phenanthroline-5,6-dione}, 루테늄티피와이비피와이  $\{[Ru(tpy)(bpy)H_2O]^{2+}$ , tpy=2,2':6',2''-terpyridine, bpy = 2,2'-bipyridine} 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 루테늄 착물일 수 있다.

전자전달매개체로서 금속함유 착물과 티오닌 또는 이의 유도체의

혼합물, 및/또는 금속함유 착물과 1-메톡시 PMS 또는 이의 유도체와 혼합물을 사용하는 경우, 티오닌 또는 1-메톡시 PMS와 금속함유 착물의 몰비가 1:1 내지 20 (티오닌 또는 1-메톡시 PMS의 몰:금속함유 착물 몰), 보다 구체적으로 1:1 내지 10일 수 있다.

- 5           본 발명의 바람직한 구체예에 따르면 상기 전자전달매개체로서 루테늄 착물과 티오닌 또는 티오닌 유도체를 함께 사용함으로써 글루코오스 검출 성능을 현저히 증가시키고 글루코오스 검출에 있어서의 여러 방해물질에 영향이 거의 없도록 할 수 있다.

10           이때, 상기 전자전달매개체로서 금속함유 착물(예컨대, 루테늄 착물)과 티오닌 또는 티오닌 유도체를 포함하는 시약 조성물은 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 금속함유 착물 20 내지 700 중량부, 예컨대 60 내지 700 중량부 또는 30 내지 340 중량부를 함유할 수 있다. 상기 금속함유 착물의 함량은 산화환원효소의 활성도에 따라서 적절히 조절할 수 있으며, 시약 조성물 내에 함유된 산화환원효소의 활성도가 높으면 금속함유 착물의  
15           함량이 낮아도 시약 조성물이 목적하는 효과를 발휘할 수 있으므로, 일반적으로 산화환원효소의 활성도가 높을수록 금속함유 착물의 함량은 상대적으로 낮게 조절할 수 있다. 예컨대, 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우에는 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 금속함유 착물 60 내지 700 중량부, 예컨대 30 내지 340 중량부를 함유할 수  
20           있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 금속함유 착물의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다. 금속함유 착물의 함량이 상기 범위보다 낮은 경우 높은 혈당농도에서 센서의 반응이 둔감해지는 문제가 있고, 상기 범위를 초과하는 경우 혈액에 의하여 시약이 빨리 녹지 않는 문제가 있을 수 있다.

25           또한, 상기 전자전달매개체로서 금속함유 착물(예컨대, 루테늄 착물)과 티오닌 또는 티오닌 유도체를 포함하는 시약 조성물은 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 티오닌 또는 이의 유도체를 2 내지 25 중량부, 예컨대 6 내지 25 중량부 또는 6 내지 20 중량부를 함유할 수 있다. 상기 티오닌 또는 이의 유도체의 함량은 산화환원효소의 활성도에 따라서 적절히  
30           조절할 수 있으며, 시약 조성물 내에 함유된 산화환원효소의 활성도가

높으면 금속함유 착물의 함량이 낮아도 시약 조성물이 목적하는 효과를 발휘할 수 있으므로, 일반적으로 산화환원효소의 활성도가 높을수록 티오닌 또는 이의 유도체의 함량은 상대적으로 낮게 조절할 수 있다. 예컨대, 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우에는 산화환원효소 100 5 중량부를 기준으로 티오닌 또는 이의 유도체 6 내지 25 중량부 또는 6 내지 20 중량부를 함유할 수 있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 티오닌 또는 이의 유도체의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다. 티오닌 또는 이의 유도체의 함량이 상기 범위 미만인 경우 높은 혈당농도에서 센서의 반응이 둔감해지는 문제가 있고, 상기 범위를 초과하는 경우 혈액에 10 의하여 시약이 빨리 녹지 않는 문제가 있을 수 있다.

본 발명에 따른 시약 조성물은 상기 시약 안정제로서의 친수성 포함화합물을 산화환원효소 100 중량부에 대하여 50 내지 600 중량부, 예컨대 80 내지 500 중량부, 100 내지 450 중량부, 200 내지 600 중량부, 300 내지 500 중량부, 또는 350 내지 450 중량부의 양으로 포함할 수 있다. 15 예컨대, 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우에는 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 친수성 포함화합물 200 내지 600 중량부, 구체적으로 300 내지 500 중량부, 보다 구체적으로 350 내지 450 중량부를 함유할 수 있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 포함화합물의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다. 상기 시약 안정제로서의 20 친수성 포함화합물의 함량이 상기 범위보다 적은 경우 티오닌 또는 티오닌 유도체가 완전히 녹지 않는 문제가 있고, 상기 범위를 초과하는 경우 센서의 민감도가 낮아지는 문제가 있으므로, 시약 안정제로서의 친수성 포함화합물의 함량은 상기 범위로 하는 것이 좋다.

한편, 본 발명에 따른 시약 조성물은 계면활성제, 수용성 고분자, 4차 25 암모늄염, 지방산, 점증제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 첨가제를 시약 용해시의 분산제, 시약 제조시의 점착제, 장기 보관의 안정제 등의 역할을 위하여 추가로 포함할 수 있다.

상기 계면활성제는 시약을 분주할 때 시약이 전극위에서 골고루 퍼져서 시약이 균일한 두께로 분주되게 하는 역할을 하는 것일 수 있다. 30 상기 계면활성제로 트리톤 X-100 (Triton X-100), 소듐도데실설페이트 (sodium

dodecyl sulfate), 퍼플루오로옥탄설포네이트 (perfluorooctane sulfonate), 소듐스테아레이트 (sodium stearate) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 시약 조성물은, 시약을 분주할 때 시약이 전극위에서 골고루 퍼져서 시약이 균일한 두께로 분주되게 하는 역할을 적절하게 수행하도록 하기 위하여, 상기 계면활성제를 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 3 내지 25 중량부, 예컨대 10 내지 25 중량부의 양으로 함유할 수 있다. 예컨대, 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 계면활성제 10 내지 25 중량부를 함유할 수 있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 계면활성제의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다.

상기 수용성 고분자는 시약 조성물의 고분자 지지체로서 효소의 안정화 및 분산 (dispersing)을 돕는 역할을 수행하는 것일 수 있다. 상기 수용성 고분자로는 폴리비닐피롤리돈 (polyvinyl pyrrolidone; PVP), 폴리비닐알코올 (polyvinyl alcohol; PVA), 폴리플루오로설포네이트 (perfluoro sulfonate), 하이드록시에틸 셀룰로오스 (hydroxyethyl cellulose; HEC), 하이드록시프로필 셀룰로오스(hydroxypropyl cellulose; HPC), 카르복시메틸 셀룰로오스 (carboxy methyl cellulose; CMC), 셀룰로오스 아세테이트 (cellulose acetate), 폴리아미드 (polyamide) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 시약 조성물은, 산화환원효소의 안정화 및 분산 (dispersing)을 돕는 역할을 충분하고 적절하게 발휘하도록 하기 위하여, 상기 수용성 고분자를 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 10 내지 70 중량부, 예컨대 30 내지 70 중량부의 양으로 함유할 수 있다. 예컨대, 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 수용성 고분자 30 내지 70 중량부를 함유할 수 있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 수용성 고분자의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다.

상기 수용성 고분자는 지지체 및 효소의 안정화 및 분산 (dispersing)을 돕는 역할을 효과적으로 수행하기 위하여 중량평균분자량이 2,500 내지 3,000,000 정도, 예컨대, 5,000 내지 1,000,000 정도일 수 있다.

상기 4차 암모늄염은 적혈구용적률 (hematocrit)의 양에 따른

측정오차를 감소시키는 역할을 하는 것일 수 있다. 상기 4차 암모늄염으로는 에실트리메틸 암모늄 (cetyltrimethylammonium), 마이리스틸트리메틸암모늄 (myristyltrimethylammonium), 세틸트리메틸 암모늄 (cetyltrimethylammonium), 옥타데실트리메틸 암모늄 (octadecyltrimethylammonium), 테트라헥실 암모늄 (tetrahexylammonium) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 시약 조성물은 적혈구용적률에 따른 측정오차를 효율적으로 감소시키기 위하여, 상기 4차 암모늄염을 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 20 내지 130 중량부, 예컨대 70 내지 130 중량부의 양으로 함유할 수 있다. 예컨대, 10 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 4차 암모늄염 70 내지 130 중량부를 함유할 수 있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 4차 암모늄염의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다.

상기 지방산은 상술한 4차 암모늄염과 같이 적혈구용적률 (hematocrit)의 양에 따른 측정오차를 감소시키는 역할을 하며, 또한 고농도 영역에서 바이오센서의 선형 동적 영역 (linear dynamic range)을 확대시키는 역할을 한다. 상기 지방산으로는 C<sub>4</sub>~C<sub>20</sub>의 탄소사슬을 갖는 지방산 및 그의 지방산염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있고, 바람직하게는 C<sub>6</sub>~C<sub>12</sub>로 이루어진 알킬탄소사슬을 갖는 지방산 또는 그의 지방산염을 사용할 수 있다. 상기 지방산으로는 카프로산 (caproic acid), 헵타노산 (heptanoic acid), 카프릴산 (caprylic acid), 옥타논산 (octanoic acid), 노나노산 (nonanoic acid), 카프르산 (capric acid), 운데카노산 (undecanoic acid), 라우르산 (lauric acid), 트리데카노산 (tridecanoic acid), 미리스티산 (myristic acid), 펜타데카노산 (pentadecanoic acid), 팔미트산 (palmitic acid), 헵타데카노산 (heptadecanoic acid), 스테아르산 (stearic acid), 노나데카노산 (nonadecanoic acid), 아라키드산 (arachidonic acid), 상기 지방산의 염 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 시약 조성물은, 적혈구용적률에 따른 측정오차 감소 및 고농도 영역에서 바이오센서의 선형 동적 영역 확대 효과를 적절하게 얻기 위하여, 상기 지방산을 산화환원효소 30 100 중량부를 기준으로 10 내지 70 중량부, 예컨대 30 내지 70 중량부의

양으로 함유할 수 있다. 예컨대, 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 지방산 30 내지 70 중량부를 함유할 수 있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 지방산의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다.

5           상기 점증제는 시약을 전극에 견고하게 부착하도록 하는 역할을 한다. 상기 점증제로는 나트로졸, 디에틸아미노에틸-덱스트란 하이드로클로라이드 (DEAE-Dextran hydrochloride) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 시약 조성물은, 시약이 전극에 견고하게  
10           부착되도록 하기 위하여, 상기 점증제를 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 10 내지 90 중량부, 예컨대 30 내지 90 중량부의 양으로 함유할 수 있다. 예컨대, 활성도가 700 U/mg인 산화환원효소를 사용하는 경우 산화환원효소 100 중량부를 기준으로 점증제 30 내지 90 중량부를 함유할 수 있으며, 산화환원효소의 활성도가 이보다 높아지면, 점증제의 함량을 이보다 낮게 조절할 수 있다.

15           또한, 본 발명은 상기 시약 조성물이 포함된 전기화학적 바이오센서를 제공한다.

          일 구현예에서, 전기화학적 바이오센서에 있어서 작동전극 및 보조전극이 한 평면상에 구비되고, 상기 작동전극 위에 본 발명에 따른 시약 조성물이 포함된 것을 특징으로 하는 평면형 전기화학적 바이오센서가  
20           제공된다 (도 1 참조).

          또 다른 구현예에서, 전기화학적 바이오센서에 있어서, 작동전극 및 보조전극이 서로 다른 평면상에서 대면하도록 구비되고, 상기 작동전극 위에 본 발명에 따른 시약 조성물이 포함된 것을 특징으로 하는 대면형 전기화학적 바이오센서가 제공된다 (도 2 참조).

25           상기 바이오센서에 있어서 본 발명에 따른 시약 조성물이 포함된 형태는 특별한 제한이 없으며, 구체적으로 작동전극 표면에 코팅된 형태로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

          본 발명에 따른 상기 평면형 및 대면형 전기화학적 바이오센서는, 예컨대 대한민국 특허공개 제10-2004-0105429호, 대한민국 특허공개 제10-  
30           2006-0089464호, 대한민국 특허등록 제0854389호, 대한민국 특허공개 제10-

2008-0080841호, 대한민국 특허공개 제10-2008-0084030호, 대한민국 특허공개 제10-2008-0088028호 등에 공지된 방법을 통해 제조할 수 있다.

이하, 상기 평면형 및 대면형 전기화학적 바이오센서의 구조를 도 1 및 도 2를 참조하여 예시한다.

5            먼저, 도 1에 나타낸 평면형 전기화학적 바이오센서는 작동전극과 보조전극이 한 평면상에 구비되는 것으로, 위에서부터, 혈액이 센서 안으로 스며들도록 하기 위한 통기부 (10)를 구비한 상판 (11); 양면에 접착제가 코팅되어 있어 상기 상판과 하기 하판을 접착하는 역할을 하며, 혈액이 모세작용으로 전극쪽으로 스며들도록 하기 위한 끼움판 (9); 하기  
10    작동전극과 보조전극에 포함(예컨대, 코팅)되는 본 발명에 따른 시약 조성물 (8); 하기 작동전극과 보조전극의 면적을 규정하기 위한 통로부가 구비된 절연판 (7); 하기 하판 상에 프린트되는 작동전극 (2)과 보조전극 (3); 및 상기 작동전극 및 보조전극이 형성되는 하판 (1)이 순차적으로 적층된 구조를 갖는다.

15            도 2에 나타낸 대면형 전기화학적 바이오센서는 작동전극과 보조전극이 서로 다른 평면상에 대면하도록 구비되는 것으로, 위에서부터, 혈액이 센서 안으로 스며들도록 하기 위한 통기부 (10)를 구비하며, 하기 보조전극이 프린트되는 상판 (11); 상기 상판에 프린트되는 보조전극 (3); 양면에 접착제가 코팅되어 있어 상기 상판과 하기 하판을 접착하는 역할을  
20    하고, 혈액이 모세작용으로 전극쪽으로 스며들도록 하기 위한 끼움판 (9); 하기 작동전극에 포함 (예컨대, 코팅)되는 본 발명에 따른 시약 조성물 (8); 하기 작동전극과 상기 보조전극의 면적을 규정하기 위한 통로부가 구비된 절연판 (7); 상기 보조전극과 하기 보조전극의 리드를 연결하는 회로연결접지 (5); 하기 하판 상에 프린트되는 작동전극 (2), 보조전극의 리드  
25    (4) 및 혈액이 들어오는 속도를 측정하기 위한 유동감지전극 (6); 및 상기 작동전극, 보조전극의 리드 및 유동감지전극이 형성되는 하판 (1)이 순차적으로 적층되는 구조를 갖는다.

          상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 시약조성물은 센서를 장기간 보관한 후에도 글루코오스 등의 검출 대상 대사산물에 대한 검출 성능에  
30    변화가 적어서 특히 혈당 측정을 위한 전기화학적 바이오센서의 제조에

유용하다.

이하, 본 발명을 하기의 실시 예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시 예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시 예에 의해 한정되는 것은 아니다.

실시예

<실시예 1> 시약 안정제를 포함하는 시약 조성물의 제조

산화환원효소로 플라빈아데닌디뉴클레오티드-글루코오스탈수소효소 (flavin adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase, FAD-GDH, EC 1.1.99.10) 100 중량부에 대하여;

금속함유 착물로 헥사암민루테늄클로라이드 (Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>Cl<sub>3</sub>) 80 중량부 (50 mM);

티오닌 (thionine) 36 중량부 (20 mM);

하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린 (hydroxypropyl-β-cyclodextrin) 406 중량부 (50 mM);

지방산으로 소듐옥타노에이트 (sodium octanoate) 52 중량부;

4차 암모늄염으로 브롬화미리스틸트리메틸암모늄 (myristyltrimethylammonium bromide) 104.3 중량부;

점증제로 디에틸아미노에틸-덱스트란 하이드로클로라이드 (DEAE-Dextran hydrochloride) 52 중량부 및 나트로졸 (Natrosol) 11.7 중량부;

수용성 고분자로 80% 수화된 폴리비닐알코올 (Polyvinyl alcohol; 중량평균분자량: 9,000 ~ 10,000) 52 중량부; 및

계면활성제 (상품명: Triton X-100) 17.4 중량부;

를 소듐포스페이트 완충액 (pH 6.4, 0.1 M 농도의 1249 ml) 및 탈이온수 (1614.6 ml)에 녹이고, 용액 내에 남아있는 미립자들은 걸러서 제거하여, 산화환원반응용 시약 조성물을 제조하였다.

<실시예 2> 실시예 1의 시약 조성물을 포함하는 평면형

바이오센서의 제조

평면형 바이오센서의 일례로서 도 1에 나타낸 것과 같이 평균값 0.5  $\mu\text{l}$  시료도입부를 가진 평면형 바이오센서를 제조하였다.

도 1에서,

- (1)은 작동전극 (면적: 1.05  $\text{mm}^2$ ) 및 보조전극이 형성되는  
5 폴리에스터로 만든 하판 플라스틱이고,  
(2)와 (3)은 탄소그라파이트를 스크린 프린트하여 만든 전극으로, (2)는 작동전극이고 (3)은 보조전극이며,  
(7)은 절연체로써 작동전극과 보조전극의 면적을 규정하고,  
(8)은 작동전극에 코팅되는 실시예 1에서 제조한 시약 조성물이고,  
10 (9)는 혈액이 모세작용으로 전극쪽으로 스며들도록 한 0.10 mm 두께의 끼움판으로, 그 양면에 접착제가 코팅되어 있어서 상판과 하판을 접착시키는 역할을 하고,  
(10)은 혈액이 센서안으로 스며들도록 하기 위한 공기배출구이며,  
(11)은 폴리에스터로 만든 상판 플라스틱으로 하여 바이오센서를  
15 제작하였다.

### <실시예 3> 실시예 1의 시약 조성물을 포함하는 대면형 바이오센서의 제조

대면형 바이오센서의 일례로서 도 2에 나타낸 것과 같이 평균값 0.5  $\mu\text{l}$  시료도입부를 가진 대면형 바이오센서를 제조하였다.

도 2에서,

- (1)은 작동전극 (면적: 1.95  $\text{mm}^2$ ), 보조전극의 리드 및 유동감지전극이 스크린 프린트된 폴리에스터로 만든 하판 플라스틱이고,  
(2), (3), (4) 및 (6)은 탄소그라파이트를 스크린프린트하여 만든  
25 전극으로, (2)는 작동전극이고, (3)은 보조전극이며, (4)는 보조전극의 리드이고, (6)은 혈액이 들어오는 속도를 측정하기 위한 유동감지전극이고,  
(5)는 (3)과 (4)를 연결하도록 은과 염화은 (Ag/AgCl)으로 만든 회로연결점지이고,  
(7)은 절연체로써 작동전극의 면적을 규정하고,  
30 (8)은 작동전극에 코팅되는 실시예 1에서 제조한 시약 조성물이고,

(9)는 혈액이 모세작용으로 전극쪽으로 스며들도록한 0.07 mm 두께의 끼움판으로, 그 양면에 접착제가 코팅되어 있어서 상판과 하판을 접촉시키는 역할을 하고,

(10)은 공기배출구이며,

- 5 (11)은 보조전극이 스크린 프린트된 폴리에스터로 만든 상판 플라스틱으로 하여 바이오센서를 제작하였다.

#### <비교예 1> 시약 안정제를 포함하지 않는 시약 조성물의 제조

- 실시예 1과 동일하게 실시하여 시약조성물을 제조하되 시약 안정제인  
10 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린을 첨가하지 않고 시약 조성물을 제조하였다.

#### <비교예 2> 비교예 1의 시약 조성물을 포함하는 대면형 바이오센서의 제조

- 15 실시예 1-2와 동일하게 실시하여 대면형 바이오센서를 제조하되, 비교예 1에서 제조한 시약 조성물을 작동전극에 코팅하여 바이오센서를 제작하였다.

#### <실험예 1> 평면형 바이오센서의 글루코오스 표준용액에 대한 전류측정

- 20 실시예 2에서 제작한 평면형 바이오센서를 이용하여 글루코오스 표준용액에 대한 전류측정을 수행하였다. 여기서, 상기 글루코오스 표준용액은 정맥에서 추출한 혈액을 헤마토크릿 (hematocrit) 42%에 맞추고 글루코오스 분석기 (제조사: YSI, 모델명: 2300 Stat Plus)를 사용하여 여러  
25 가지의 글루코오스 농도를 가지도록 제조한 혈액을 말한다.

- 구체적으로, 각각의 글루코오스 농도가 11, 22, 50, 67, 101, 202, 301, 396 및 509 mg/dL인 표준용액이 작동전극과 보조전극을 동시에 덮는 순간 작동전극에 0 mV를 걸어주고, 3초간 대기한 후 작동전극에 200 mV를 걸어준 뒤 1초 후에 전류를 측정하였다. 모든 측정은 각 농도당 10회씩 측정하였고,  
30 그 평균값을 도 3에 나타내었다.

도 3에 나타난 바와 같이, 실시예 2에서 제조한 평면형 바이오센서는 글루코오스 농도에 따라서 측정되는 전류가 점진적으로 증가하는 좋은 직선성을 보이는 것을 알 수 있었다. 이때, 측정되는 전류의 작동전극의 단위면적당 기울기는 20.5 nA/(mg/dL)/mm<sup>2</sup>이다.

5

**<실험예 2> 대면형 바이오센서의 글루코오스 표준용액에 대한 전류측정**

실시예 3에서 제작한 대면형 바이오센서를 이용하여 실험예 1에서와 같이 글루코오스 표준용액에 대한 전류측정을 수행하였다. 단, 각각의  
10 글루코오스 표준용액의 농도는 11, 21, 50, 72, 104, 204, 303, 397 및 500 mg/dL로 하였다.

본 실험은 시약 안정화제로 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린대신에 하이드록시프로필-알파-사이클로덱스트린, 하이드록시프로필-감마-사이클로덱스트린, 또는 베타-사이클로덱스트린을  
15 포함하는 시약 조성물을 실시예 1의 방법에 따라서 각각 제조하고, 각각 제조된 시약 조성물을 이용하여 실시예 3의 방법에 따라서 바이오센서를 제작하여 상기와 동일한 실험을 수행하였다.

모든 측정은 각 농도당 10회씩 측정하였고, 그 평균값을 도 4에 나타내었다.

20

도 4에 나타난 바와 같이, 시약 조성물 중에서 시약 안정제로 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린을 포함하는 바이오센서는 작동전극의 단위면적당 기울기가 26.9 nA/(mg/dL)/mm<sup>2</sup>로 가장 좋은 직선성을 보였으며, 다른 시약 안정제를 포함하는 경우에도 양호한 직선성을 보이는 것으로 나타났다.

25

**<실험예 3> 대면형 바이오센서를 50°C에서 숙성하였을 때의 글루코오스 표준용액에 대한 전류측정**

센서를 상용화하기 위해서는 센서의 유효기간 내에 센서의 성능변화가 적어야한다. 실험예 3은 센서를 장기간 보관할 때 얼마나  
30 안정한지를 알아보는 실험이다. 즉, 실시예 3과 비교예 2에서 제작한

대면형 바이오센서를 50 °C에서 4, 11, 17, 24, 29, 36, 및 43일간 숙성한 후 실험예 2에서와 같이 글루코오스 표준용액에 대한 전류측정을 수행하여 그 결과를 도 5에 나타내었다. 이 때, 50 °C에서 43일 간 숙성시킨 경우는 실온에서 17개월 보관한 것에 해당한다.

- 5           도 5에 보여지는 바와 같이, 시약 안정제로 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린 (HP $\beta$ CD)을 포함한 경우 적어도 43일 동안의 숙성기간에 기울기의 변화는 최대 3.6%이나, 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린을 포함하지 않은 경우 숙성기간에 따라 기울기가 점점 감소하여 43일간 숙성한 후 기울기는 숙성전과 비교하여 21% 감소한 것으로 나타났다.
- 10          따라서 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린을 시약 조성물에 첨가하면 센서를 장기간 성능 변화 없이 보관할 수 있도록 할 수 있다는 것을 확인할 수 있다.

- 따라서, 본 발명에 따른 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린을 포함하는 산화환원반응용 시약 조성물은 장기 보관에 매우 안정하여 혈액
- 15          내 글루코오스 검출을 위한 바이오센서의 제조에 유용하다. 본 발명의 실시예에 제시한 시약 조성물 및 비율은 발명의 한 예일 뿐이며, 사용하고자 하는 용도 및 요구하는 성능에 따라 감응의 정도를 조절하기 위하여 자유롭게 바꿀 수 있고, 이는 본 실시 기술을 다루는 당업자에게는 당연한 일이므로 본 발명의 핵심은 제시한 실시예에 한정되지 않는다.

## 【청구의 범위】

## 【청구항 1】

산화환원효소, 전자전달 매개체, 및 친수성 포함화합물을 포함하는 산화환원반응용 시약 조성물.

## 5 【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 친수성 포함화합물은 사이클로덱스트린 (cyclodextrin) 계열 화합물 및 사이클로덱스트린 계열 화합물의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 산화환원반응용 시약 조성물.

## 【청구항 3】

10 제2항에 있어서, 상기 친수성 포함화합물은 알파-사이클로덱스트린 ( $\alpha$ -cyclodextrin), 베타-사이클로덱스트린 ( $\beta$ -cyclodextrin), 감마-사이클로덱스트린 ( $\gamma$ -cyclodextrin), 하이드록시프로필-알파-사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin), 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin), 하이드록시프로필-감마-사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\gamma$ -cyclodextrin), 및 메틸-베타-사이클로덱스트린 (methyl- $\beta$ -cyclodextrin)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 산화환원반응용 시약 조성물.

## 【청구항 4】

20 제1항에 있어서, 상기 산화환원효소는 탈수소효소 (dehydrogenase), 산화효소 (oxidase), 및 에스테르화효소 (esterase)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 산화환원효소; 또는 탈수소효소, 산화효소, 및 에스테르화효소로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 산화환원효소와 플라빈 아데닌 디뉴클레오타티드 (flavin adenine dinucleotide, FAD), 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타티드 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD), 및 피롤로퀴놀린 퀴논 (Pyrroloquinoline quinone, PQQ)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 보조인자를 포함하는 것인, 산화환원반응용 시약 조성물.

## 【청구항 5】

30 제4항에 있어서, 상기 탈수소효소 (dehydrogenase), 산화효소 (oxidase), 및 에스테르화효소 (esterase)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의

산화환원효소는 글루코오스탈수소효소 (glucose dehydrogenase), 글루탐산탈수소효소 (glutamate dehydrogenase), 글루코오스산화효소 (glucose oxidase), 콜레스테롤산화효소 (cholesterol oxidase), 콜레스테롤에스테르화효소 (cholesterol esterase), 락테이트산화효소 (lactate oxidase), 아스코빅산산화효소 (ascorbic acid oxidase), 알코올산화효소 (alcohol oxidase), 알코올탈수소효소 (alcohol dehydrogenase), 및 빌리루빈산화효소 (bilirubin oxidase)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것인, 산화환원반응용 시약 조성물.

**【청구항 6】**

제4항에 있어서, 상기 산화환원효소는 플라빈아데닌디뉴클레오티드-글루코오스탈수소효소 (flavin adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase, FAD-GDH), 및 니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드-글루코오스탈수소효소 (nicotinamide adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것인, 산화환원반응용 시약 조성물.

**【청구항 7】**

제1항에 있어서, 상기 전자전달매개체는 제1 전자전달매개체 및 제2 전자전달매개체의 혼합물로 이루어지고,

상기 제1 전자전달매개체는 Ru, Fe, Os, Rh, Mo, 및 Ir로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 금속함유 착물이고,

상기 제2 전자전달매개체의 혼합물은 티오닌 (thionine), 1-메톡시 PMS(1-Methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate), 3-아미노-7-(2,3,4,5,6-펜타하이드록시헥산아미도)-5-페노티아지늄 (3-amino-7-(2,3,4,5,6-pentahydroxy hexanamido)-5-phenothiazinium), 1-메톡시-5-메틸페나지늄 (1-Methoxy-5-methylphenazinium), 아주르 C (Azure C), 아주르 A (Azure A), 메틸렌블루 (Methylene Blue), 톨루이딘블루 (Toluidine Blue), 및 이들의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인,

산화환원반응용 시약 조성물.

**【청구항 8】**

제1항에 있어서, 계면활성제, 수용성 고분자, 4차 암모늄염, 지방산, 및 점증제로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 첨가제를 추가로 포함하는, 산화환원반응용 시약 조성물.

## 【청구항 9】

제8항에 있어서,

상기 계면활성제는 트리톤 X-100 (Triton X-100), 소듐도데실설페이트 (sodium dodecyl sulfate), 퍼플루오로옥탄설포네이트 (perfluorooctane sulfonate),  
5 및 소듐스테아레이트 (sodium stearate)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것이고;

상기 수용성 고분자는 폴리비닐피롤리돈 (polyvinyl pyrrolidone; PVP), 폴리비닐알코올 (polyvinyl alcohol; PVA), 폴리플루오로설포네이트 (perfluoro sulfonate), 하이드록시에틸 셀룰로오즈 (hydroxyethyl cellulose; HEC),  
10 하이드록시프로필 셀룰로오즈 (hydroxypropyl cellulose; HPC), 카르복시메틸 셀룰로오즈 (carboxy methyl cellulose; CMC), 셀룰로오즈 아세테이트 (cellulose acetate), 및 폴리아미드 (polyamide)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것이고;

상기 4차 암모늄염은 에실트리메틸 암모늄 (ecyltrimethylammonium),  
15 마이리스틸트리메틸암모늄(myristyltrimethylammonium), 세틸트리메틸 암모늄 (cetyltrimethylammonium), 옥타데실트리메틸 암모늄 (octadecyltrimethylammonium), 및 테트라헥실 암모늄 (tetrahexylammonium)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것이고;

상기 지방산은 C<sub>4</sub>~C<sub>20</sub>의 탄소사슬을 갖는 지방산 및 그의  
20 지방산염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것이고;

상기 점증제는 나트로졸 및 디에틸아미노에틸-덱스트란 하이드로클로라이드 (DEAE-Dextran hydrochloride)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 것인,

산화환원반응용 시약 조성물.

## 25 【청구항 10】

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 산화환원반응용 시약 조성물은 전기화학적 바이오센서에 사용하기 위한 전기화학적 바이오센서용 시약 조성물인, 산화환원반응용 시약 조성물.

## 【청구항 11】

30 작동전극과 보조전극이 한 기판에 구성되고,

상기 작동전극은 제10항의 산화환원반응용 시약 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는, 평면형 전기화학적 바이오센서.

【청구항 12】

작동전극과 보조전극이 별도의 기판에 구성되고,

5       상기 작동전극은 제10항의 산화환원반응용 시약 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는, 대면형 전기화학적 바이오센서.

【청구항 13】

산화환원효소, 전자전달 매개체, 및 친수성 포함화합물을 혼합하는 단계를 포함하는 산화환원반응용 시약 조성물의 제조 방법.

10       【청구항 14】

제13항에 있어서, 상기 친수성 포함화합물은 사이클로덱스트린 (cyclodextrin) 계열 화합물 및 사이클로덱스트린 계열 화합물의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 방법.

【청구항 15】

15       제14항에 있어서, 상기 친수성 포함화합물은 알파-사이클로덱스트린 ( $\alpha$ -cyclodextrin),       베타-사이클로덱스트린 ( $\beta$ -cyclodextrin),       감마-사이클로덱스트린 ( $\gamma$ -cyclodextrin),       하이드록시프로필-알파-사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin),       하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin),       하이드록시프로필-감마-사이클로덱스트린 (hydroxypropyl- $\gamma$ -cyclodextrin),       및       메틸-베타-사이클로덱스트린 (methyl- $\beta$ -cyclodextrin)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 방법.

【청구항 16】

제13항에 있어서, 상기 산화환원효소는

25       탈수소효소 (dehydrogenase), 산화효소 (oxidase), 및 에스테르화효소 (esterase)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 산화환원효소; 또는

30       탈수소효소, 산화효소, 및 에스테르화효소 로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 산화환원효소와 플라빈 아데닌 디뉴클레오타티드 (flavin adenine dinucleotide, FAD), 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타티드 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD), 및 피롤로퀴놀린 퀴논 (Pyrroloquinoline quinone, PQQ)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 보조인자를 포함하는 것인,

방법.

【청구항 17】

제13항에 있어서, 상기 전자전달매개체는 제1 전자전달매개체 및 제2 전자전달매개체의 혼합물로 이루어지고,

5           상기 제1 전자전달매개체는 Ru, Fe, Os, Rh, Mo, 및 Ir로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 금속함유 착물이고,

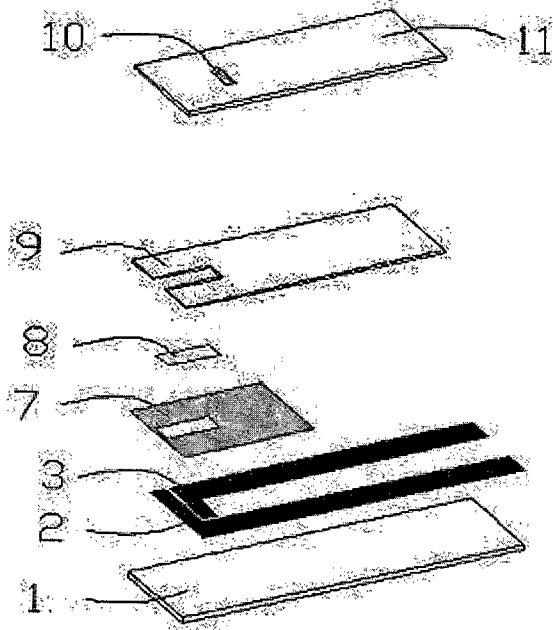
          상기 제2 전자전달매개체의 혼합물은 티오닌 (3,7-Diaminophenothiazin-5-ium chloride), 1-메톡시 PMS (1-Methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate), 3-아미노-7-(2,3,4,5,6-펜타하이드록시헥산아미도)-5-페노티아지늄 (3-amino-7-  
10 (2,3,4,5,6-pentahydroxy hexanamido)-5-phenothiazinium), 1-메톡시-5-메틸페나지늄 (1-Methoxy-5-methylphenazinium), 아주르 C (Azure C), 아주르 A (Azure A), 메틸렌블루 (Methylene Blue), 톨루이딘블루 (Toluidine Blue), 및 이들의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인,

방법.

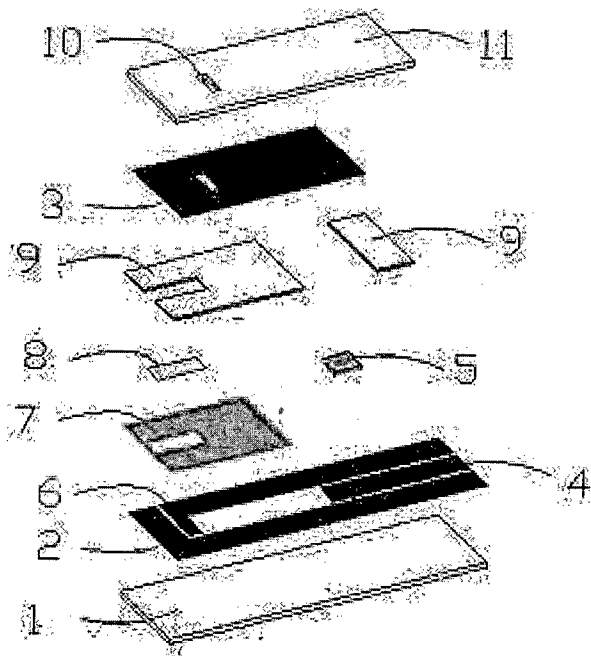
15

【도면】

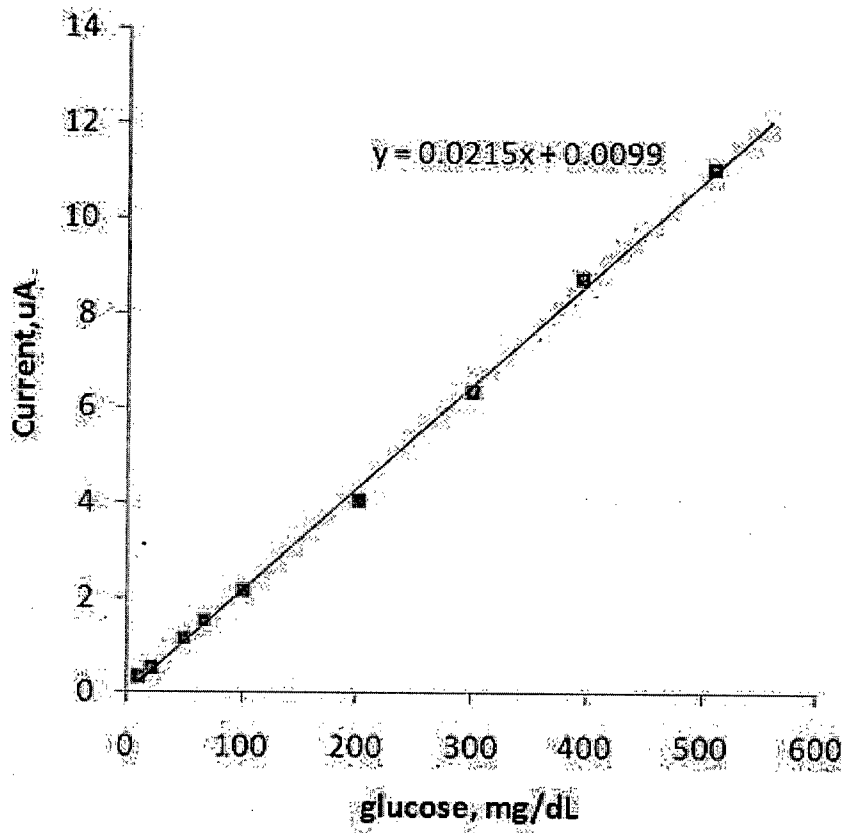
【도 1】



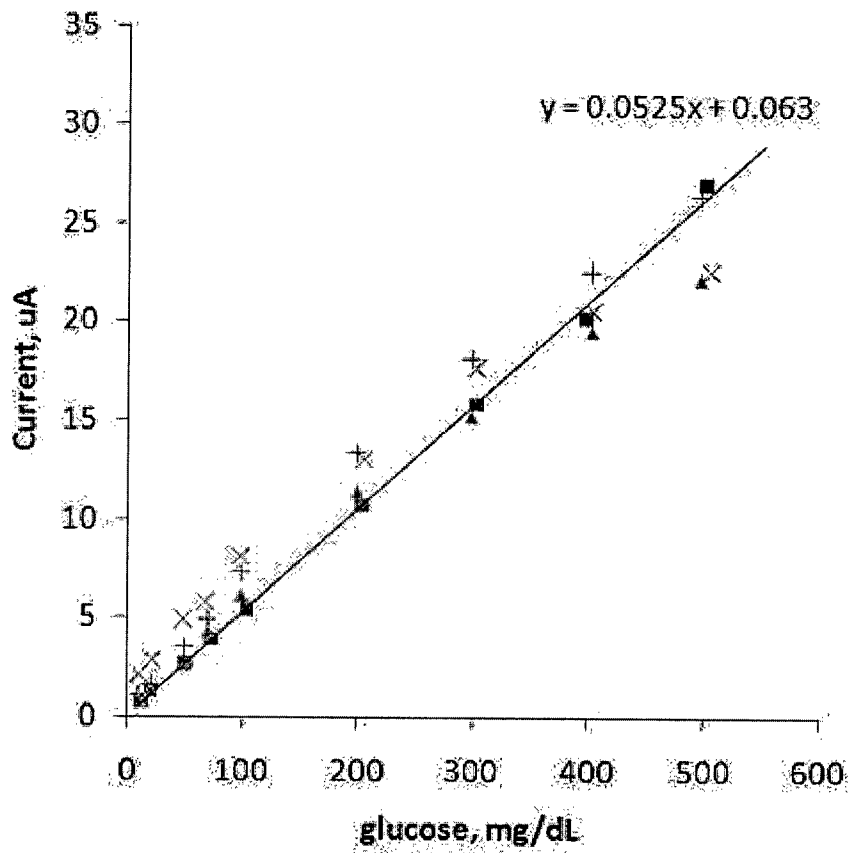
5 【도 2】



【도 3】

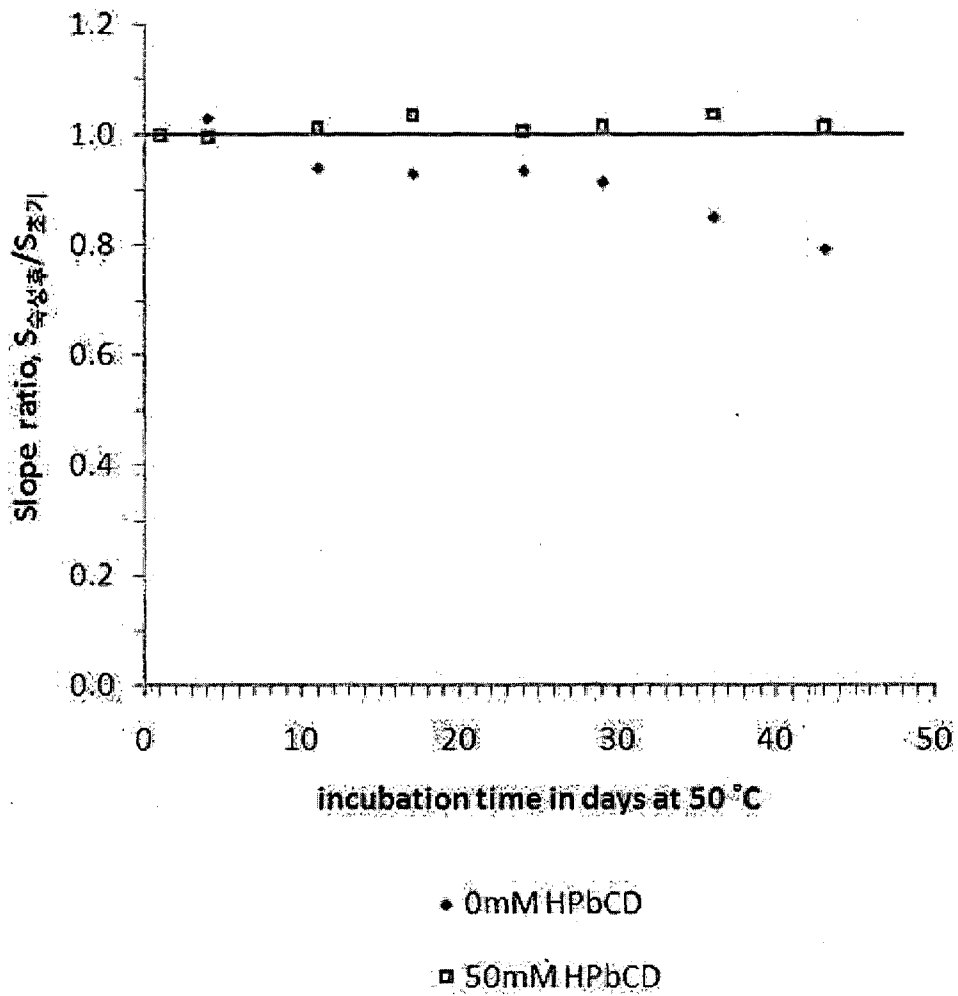


【도 4】

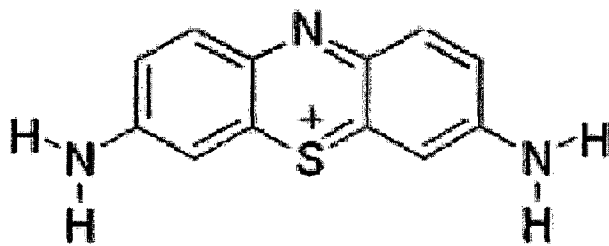


- hydroxypropyl-beta-cyclodextrin
- + hydroxypropyl-alpha-cyclodextrin
- ▲ hydroxypropyl-gamma-cyclodextrin
- × beta-cyclodextrin

【도 5】



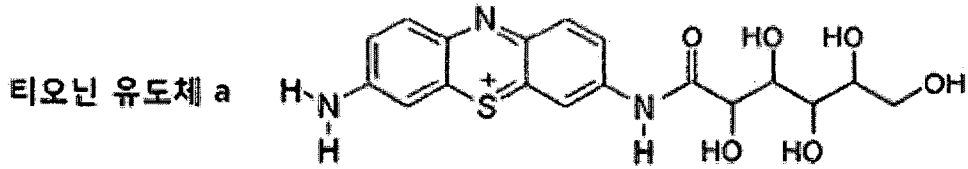
【도 6】



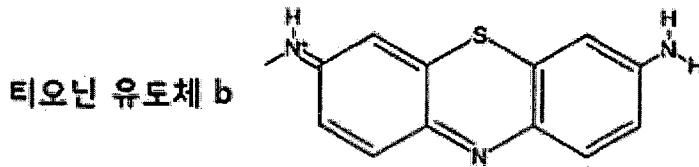
일반명: 티오닌(thionine)

화학명: 3,7-diamino-5-phenothiazinium

【도 7】

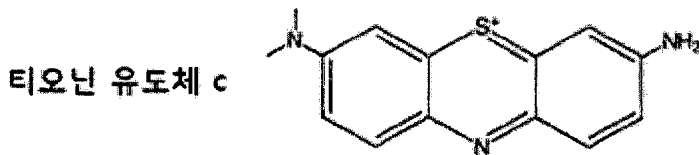


화학명: 3-amino-7-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexanamido)-5-phenothiazinium



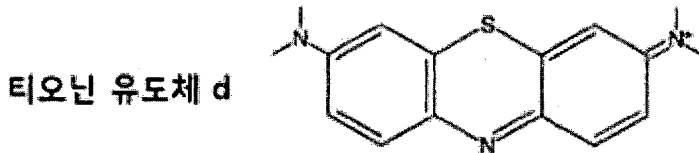
일반명: Azure C

화학명: (7-amino-3-phenothiazinylidene)-methylammonium



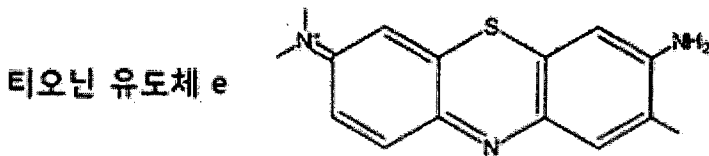
일반명: Azure A

화학명: N',N'-dimethylphenothiazin-5-ium-3,7-diamine



일반명: Methylene Blue

화학명: 3,7-bis(dimethylamino)-phenothiazin-5-ium



일반명: Toluidine Blue

화학명: (7-amino-8-methyl-phenothiazin-3-ylidene)-dimethyl-ammonium

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/KR2013/000632**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

**C12Q 1/26(2006.01)i, C12N 9/02(2006.01)i, G01N 27/26(2006.01)i, C08B 37/16(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/26

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above  
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as aboveElectronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: cyclodextrin, oxidation reductase, electron transfer reaction

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2005-118014 A (ARKRAY INC) 12 May 2005 -Abstract and claims 1-3, 6 and 12 and paragraphs 1-10, 16	1-6,8-16
A	JP 2000-221157 A (KDK CORP) 11 August 2000 -Claims 1, 6 and 7 and paragraphs 26, 27	1-17
A	KR 10-1992-0701476 A (MIGRATA UK LTD.) 11 August 1992 -See the entire document	1-17
A	JP 08-050113A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD) 20 February 1996 -See the entire document	1-17

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 MAY 2013 (30.05.2013)

Date of mailing of the international search report

**30 MAY 2013 (30.05.2013)**

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office  
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,  
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
Information on patent family members

International application No.

**PCT/KR2013/000632**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2005-118014 A	12.05.2005	NONE	
JP 2000-221157 A	11.08.2000	JP 4256007 B2	22.04.2009
KR 10-1992-0701476 A	11.08.1992	CA 2053315 C	04.07.2000
		EP 0470201 A1	12.02.1992
		EP 0470201 B1	03.05.1995
		JP 07-034757B2	19.04.1995
		US 05278047 A	11.01.1994
		WO 90-12889 A1	01.11.1990
JP 08-050113A	20.02.1996	CA 2150791 A1	03.12.1995
		CA 2150791 C	03.11.1998
		DE69528111 D11	17.10.2002
		DE69528111 T22	28.05.2003
		EP 0685737 A1	06.12.1995
		EP 0685737 B1	11.09.2002
		JP 03-027306B2	28.01.2000
		JP 3027306 B2	04.04.2000
		US 05575895 A	19.11.1996

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**  
C12Q 1/26(2006.01)i, C12N 9/02(2006.01)i, G01N 27/26(2006.01)i, C08B 37/16(2006.01)i

**B. 조사된 분야**  
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)  
C12Q 1/26

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌  
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC  
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))  
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: cyclodextrin, oxidation reductase, electron transfer reaction

**C. 관련 문헌**

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2005-118014 A (ARKRAY INC) 2005.05.12 -요약 및 청구항 1-3, 6, 12 및 식별번호 1-10, 16	1-6, 8-16
A	JP 2000-221157 A (KDK CORP) 2000.08.11 -청구항 1, 6, 7 및 식별번호 26, 27	1-17
A	KR 10-1992-0701476 A (미그라타유케이리미티드) 1992.08.11 -전체 문헌 참조	1-17
A	JP 08-050113A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD) 1996.02.20 -전체 문헌 참조	1-17

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

\* 인용된 문헌의 특별 카테고리:  
 “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌  
 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌  
 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌  
 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌  
 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌  
 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌  
 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.  
 “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.  
 “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일 2013년 05월 30일 (30.05.2013)	국제조사보고서 발송일 2013년 05월 30일 (30.05.2013)
--	---

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 82-42-472-7140	심사관 김남경 전화번호 481-5591
--	-----------------------------



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2005-118014 A	2005.05.12	없음	
JP 2000-221157 A	2000.08.11	JP 4256007 B2	2009.04.22
KR 10-1992-0701476 A	1992.08.11	CA 2053315 C	2000.07.04
		EP 0470201 A1	1992.02.12
		EP 0470201 B1	1995.05.03
		JP 07-034757B2	1995.04.19
		US 05278047 A	1994.01.11
		WO 90-12889 A1	1990.11.01
JP 08-050113A	1996.02.20	CA 2150791 A1	1995.12.03
		CA 2150791 C	1998.11.03
		DE69528111 D11	2002.10.17
		DE69528111 T22	2003.05.28
		EP 0685737 A1	1995.12.06
		EP 0685737 B1	2002.09.11
		JP 03-027306B2	2000.01.28
		JP 3027306 B2	2000.04.04
		US 05575895 A	1996.11.19