



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월26일

(11) 등록번호 10-2480669

(24) 등록일자 2022년12월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

B01D 71/54 (2006.01) B01D 67/00 (2006.01)

B01D 69/12 (2006.01) B01D 69/14 (2006.01)

C12Q 1/00 (2018.01) C12Q 1/54 (2006.01)

G01N 27/30 (2006.01) G01N 27/327 (2006.01)

G01N 27/333 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/70 (2006.01)

(52) CPC특허분류

B01D 71/54 (2013.01)

B01D 67/0011 (2022.08)

(21) 출원번호 10-2020-7037321

(22) 출원일자(국제) 2019년06월03일

심사청구일자 2020년12월24일

(85) 번역문제출일자 2020년12월24일

(65) 공개번호 10-2021-0014667

(43) 공개일자 2021년02월09일

(86) 국제출원번호 PCT/US2019/035157

(87) 국제공개번호 WO 2020/204976

국제공개일자 2020년10월08일

(30) 우선권주장

62/830,191 2019년04월05일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

JP2008256725 A

JP2008545952 A

JP2004528579 A

US20170363568 A1

(73) 특허권자

인스트루멘테이션 레보라토리 컴퍼니

미국, 매사추세츠주, 베드포드, 하트웰 로드 180
(우편번호: 01730)

(72) 발명자

쉬 시아오시안

미국 매사추세츠주 07154 메이나드 크리스틴 레인
8

(74) 대리인

하영욱

전체 청구항 수 : 총 15 항

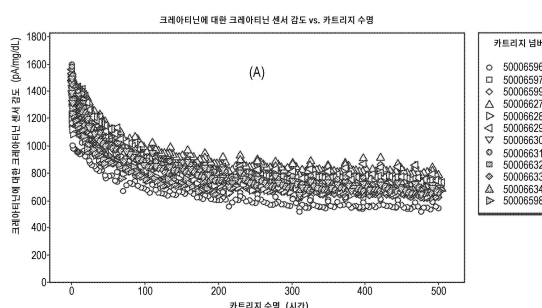
심사관 : 김경미

(54) 발명의 명칭 크레아티닌/크레아틴 센서용 외부막 조성물

(57) 요약

본 발명은 크레아티닌 및 크레아틴 센서용의 투과성 외부 확산 제어막의 조성물 및 상기 막의 제조방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

B01D 69/12 (2022.08)

B01D 69/144 (2013.01)

C12Q 1/002 (2013.01)

C12Q 1/003 (2013.01)

C12Q 1/005 (2013.01)

C12Q 1/54 (2013.01)

G01N 27/308 (2013.01)

G01N 27/3271 (2013.01)

G01N 27/3272 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

전극, 상기 전극 상에 고정된 복수의 효소, 및 확산막을 포함하는 바이오센서로서,

상기 복수의 효소는 크레아티니나아제, 크레아티나아제, 및 사르코신옥시다아제로 이루어지는 군으로부터 선택되고,

상기 확산막은 55% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄 및 45% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄을 포함하고,

상기 확산막은 크레아틴에 대한 크레아티닌의 확산비가 적어도 2.0인, 바이오센서.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 크레아틴에 대한 크레아티닌의 확산비가 적어도 3.0인, 바이오센서.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 크레아틴에 대한 크레아티닌의 확산비는 상온에서 5개월 저장 기간 동안에 안정한 것인, 바이오센서.

청구항 4

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 전극은 금속으로 이루어지는, 바이오센서.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 금속은 백금, 금, 팔라듐, 혹은 백금, 금 및 팔라듐의 합금 중 하나를 포함하는, 바이오센서.

청구항 6

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 전극은 탄소, 그래파이트 또는 탄소 나노 튜브로 이루어지는, 바이오센서.

청구항 7

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 복수의 효소는 크레아티니나아제, 크레아티나아제, 및 사르코신옥시다아제인, 바이오센서.

청구항 8

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 바이오센서는 체액 샘플에서 크레아틴 및/또는 크레아티닌을 측정하는데 사용되는, 바이오센서.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 체액 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청인, 바이오센서.

청구항 10

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 바이오센서의 확산막은 하기 단계:

- a) 유기 용매 또는 용매 혼합물에 적어도 2개의 상이한 폴리우레탄 수지를 용해시켜 폴리우레탄 혼합물을 생성하는 단계;
- b) 상기 폴리우레탄 혼합물의 층을 지지체 물질 상에 캐스팅하는 단계;
- c) 상기 유기 용매 또는 용매 혼합물을 증발시키는 단계; 및
- d) 단계 b) 및 c)를 1-3회 반복하는 단계

를 포함하는 방법에 의해 얻어지는 것인, 바이오센서.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 유기 용매는 메틸렌클로라이드, 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드, 테트라히드로푸란, 시클로헥사논, 이소프로판올 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는, 바이오센서.

청구항 12

제 10 항에 있어서,

상기 지지체 물질은 그 위에 고정된 복수의 효소를 갖는 전극인, 바이오센서.

청구항 13

제 10 항에 있어서,

상기 단계 b) 및 c)가 2회 반복되는 방법인, 바이오센서.

청구항 14

제 1 항 또는 제 2 항에 기재된 바이오센서를 수용하는 일회용 카트리지.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 바이오센서는 센서 어레이 중 하나의 센서인, 일회용 카트리지.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 샘플에 있어서의 크레아티닌 및 크레아틴을 측정하기 위해 사용되는 전기화학적 센서용 확산 제어막에 관한 것이다. 보다 구체적으로는, 본 발명은 크레아티닌 및 크레아틴 검출을 위한 투과성 외부 확산 제어막용 조성물 및 이와 같은 막의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 환자의 혈액에서 크레아티닌 및 크레아틴 수치의 정확한 측정력은 신장 건강의 중요한 지표이다. 특히, 혈청 크레아티닌은 신장에 의해 변하지 않고 배설되어 용이하게 측정할 수 있기 때문에 신장 건강의 중요한 지표이다. 예를 들면, 혈청 크레아티닌의 상승된 수치는 만성 신장 질환의 늦은 표식이고, 일반적으로 심각한 신장 손상이 이미 발생된 경우에만 관찰된다.

[0003] 샘플(예를 들면, 환자의 혈액)에 있어서의 크레아티닌 및 크레아틴 농도는 전기화학 센서를 통해 측정될 수 있다. 예를 들면, 현재의 크레아티닌 센서는, 크레아티닌 및 물로부터 글리신, 포름알데히드 및 하이드로겐퍼옥사이드의 생성을 촉진하는 3개 효소 -크레아티나아제, 크레아티나아제 및 사르코신옥시다아제-를 함유하는 효소 바이오센서가 포함될 수 있다. 상기 3개의 효소는 백금 전극의 표면에 고정될 수 있고, 그런 후, 하이드로겐퍼옥사이드(H_2O_2)의 최종 반응 생성물이 일정한 분극 전위 하의 백금 전극에서 전기 화학적으로 산화되어 환자 혈액의 크레아티닌/크레아틴을 측정하는데 사용된다. 임상 샘플에 있어서, 크레아틴이 존재하기 때문에 크레아티닌 센서의 크레아틴 반응을 교정하기 위해서 크레아틴 측정용의 추가 센서가 요구된다. 이와 같은 크레아틴 센서는 2개 효소-크레아티나아제 및 사르코신옥시다아제-를 함유하는 효소 바이오센서를 포함한다.

[0004] 크레아티닌 및 크레아틴 센서 모두에 효소층의 상부에 확산 제어막(외부막이라고도 함)이 있다. 상기 확산 제어막은 효소층으로 들어가는 크레아티닌 및 크레아틴 기질의 플럭스를 제한하여 하이드로겐퍼옥사이드에 의해 생성된 신호가 샘플의 기질 농도에 비례하도록 한다.

[0005] 이론적으로, 상기 크레아티닌 측정 시스템은 생물학적 샘플의 크레아티닌을 정량적으로 측정할 수 있지만, 몇몇 요인이 정확한 크레아티닌 측정을 얻는데 문제를 일으킬 수 있다. 하나의 요인인 크레아틴 간섭은, 일반적으로 별도의 크레아틴 센서를 사용하고 보정 수단으로서 크레아틴 농도를 차감함으로써 처리된다. 그러나 크레아틴 농도가 높으면(예를 들면, [크레아틴] ≫ [크레아티닌]), 큰 오류가 발생될 수 있다. 또 다른 요인인 느린 베이스라인 보정은 제거되지 않은 기질이 전류 신호를 계속 생성할 수 있기 때문에 샘플 측정 직후에 미반응의 기질을 제거하지 않으면 오류를 생성할 수 있다. 세 번째 요소는 생물학적 샘플 매트릭스 효과 및 생체 적합성과 관련된다. 예를 들면, 전혈 등의 생물학적 샘플 매트릭스에 노출되는 경우, 일부의 외부 확산막은 단백질 오염 또는 표면 소수성 변화 및 미세 응고 형성으로 인해 심각한 감도와 베이스라인 변화를 나타낼 수 있다.

[0006] 현재, 크레아티닌 센서용으로 시판의 외부 확산 제어막은 폴리카보네이트, 폴리2-하이드록시에틸메타크릴레이트(폴리HEMA) 및 폴리우레탄 등의 폴리머 물질을 포함한다. 그러나, 이와 같은 확산막은 상기한 3개 제한 사항을 모두 해결하지 못한다. 따라서, 크레아틴 간섭, 느린 베이스라인 보정 및 생물학적 샘플 매트릭스 효과 및 생체 적합성으로 인한 문제를 해결하기 위해 외부막 특성을 개선하기 위해 새로운 조성물을 식별하고 개발해야 하는 충족되지 않은 시급한 요구가 있다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 확산막 조성물, 이러한 확산막을 포함하는 바이오센서 및 이러한 확산막을 포함하는 바이오센서를 수용하는 카트리지의 제조방법에 관한 것이다. 상기 확산막을 포함하는 바이오센서는 크레아티닌/크레아틴 바이오센서이다. 확산막 및 외부막이라는 용어는 본 발명의 전반에 걸쳐 상호 교환적으로 사용된다. 또한, 바이오센서 및 센서라는 용어는 본 명세서 전반에 걸쳐 상호 교환적으로 사용된다.

[0008] 하나의 양태에 있어서, 적어도 2개의 상이한 종류의 폴리우레탄 물질을 포함하는 확산막 조성물이 제공된다. 상기 상이한 종류의 폴리우레탄 물질은 상이한 흡수율 및 상이한 시어 경도값을 포함하여 다양한 특성을 갖는다. 상이한 종류의 폴리우레탄 물질의 w/w 양은 적어도 2.0, 바람직하게는 2.0-2.5, 더욱 바람직하게는 2.5-3.0 및 가장 바람직하게는 적어도 3.0의 크레아틴에 대한 크레아티닌 확산 비율을 갖는 확산막을 얻도록 조정된다. 또

한, 상기 상이한 종류의 폴리우레탄 물질의 w/w 양은 적어도 1800, 바람직하게는 적어도 1900, 더욱 바람직하게는 적어도 2000의 크레아티닌 기율기를 갖는 확산막을 얻도록 조정된다.

[0009] 일부 실시형태에 있어서, 확산막 조성물에 사용되는 폴리우레탄 물질은 약 3%~60%의 흡수율(water uptake percentages)을 갖는다. 폴리우레탄 물질의 대표적인 예로는 3% 흡수성(water uptake) 폴리우레탄, 20% 흡수성 폴리우레탄, 50% 흡수성 폴리우레탄 및 60% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다.

[0010] 일부 실시형태에 있어서, 50% 흡수성 폴리우레탄은 0% w/w를 초과하는 양으로 확산막 조성물에 존재한다. 다른 실시형태에 있어서, 50% 흡수성 폴리우레탄은 65% w/w 이하의 양으로 확산막 조성물에 존재한다. 일부 실시형태에 있어서, 20% 흡수성 폴리우레탄은 69% w/w 이하의 양으로 확산막 조성물에 존재한다. 일부 실시형태에 있어서, 3% 흡수성 폴리우레탄은 33% w/w 이하의 양으로 확산막 조성물에 존재한다. 일부 실시형태에 있어서, 60% 흡수성 폴리우레탄은 67% w/w 이하의 양으로 확산막 조성물에 존재한다.

[0011] 일부 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 적어도 2개의 상이한 종류의 폴리우레탄을 포함한다. 2개의 상이한 종류의 폴리우레탄을 포함하는 확산막 조성물의 대표적인 예는 20% 흡수성 폴리우레탄 및 60% 흡수성 폴리우레탄의 혼합물, 20% 흡수성 폴리우레탄 및 50% 흡수성 폴리우레탄의 혼합물 및 60% 흡수성 폴리우레탄 및 50% 흡수성 폴리우레탄의 혼합물이 열거된다. 일부 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 50-55% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄 및 45-50% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 50% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄 및 50% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 55% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄 및 45% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 50% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄 및 50% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 또 다른 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 50% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄 및 50% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다.

[0012] 일부 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 적어도 3개의 상이한 종류의 폴리우레탄을 포함한다. 예를 들면, 3개의 상이한 종류의 폴리우레탄을 포함하는 확산막 조성물은 20% 흡수성 폴리우레탄, 50% 흡수성 폴리우레탄 및 60% 흡수성 폴리우레탄의 혼합물을 포함한다. 일부 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 33.3% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄, 33.3% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄 및 33.3% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 69% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄, 2% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄 및 29% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다.

[0013] 일부 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 적어도 4개의 상이한 종류의 폴리우레탄을 포함한다. 예를 들면, 4개의 상이한 종류의 폴리우레탄을 포함하는 확산막 조성물은 3% 흡수성 폴리우레탄, 20% 흡수성 폴리우레탄, 50% 흡수성 폴리우레탄 및 60% 흡수성 폴리우레탄의 혼합물을 포함한다. 일부 실시형태에 있어서, 확산막 조성물은 12.5% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄, 12.5% w/w의 3% 흡수성 폴리우레탄, 62.5% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄 및 12.5% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 12.5% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄, 12.5% w/w의 3% 흡수성 폴리우레탄, 12.5% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄 및 62.5% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 8% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄, 23% w/w의 3% 흡수성 폴리우레탄, 4% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄 및 65% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다. 또 다른 실시형태에 있어서, 상기 확산막 조성물은 11% w/w의 20% 흡수성 폴리우레탄, 11% w/w의 3% 흡수성 폴리우레탄, 67% w/w의 60% 흡수성 폴리우레탄 및 11% w/w의 50% 흡수성 폴리우레탄을 포함한다.

[0014] 또 다른 양태에 있어서, 본원에 기재된 확산막 조성물의 제조방법이 제공된다. 상기 방법은 다음 단계를 포함한다 : a) 유기 용매 또는 용매 혼합물에 적어도 2개의 상이한 폴리우레탄 수지를 용해시켜 폴리우레탄 혼합물을 생성하는 단계; b) 상기 폴리우레탄 혼합물층을 지지체 물질 상에 캐스팅하는 단계; c) 용매 또는 용매 혼합물을 증발시키는 단계; 및 d) 단계 b) 및 c)를 1-3회 반복하는 단계.

[0015] 상기 방법의 다른 실시형태에 있어서, 확산막 조성물에 사용되는 폴리우레탄 물질(예를 들면, 수지)는 조성물에 대해 상술한 바와 같이 약 3%~60%의 흡수율을 갖는다. 상기 방법의 일부 실시형태에 있어서, 상이한 종류의 폴리우레탄 물질의 w/w 양은 적어도 2.0, 바람직하게는 2.0-2.5, 더욱 바람직하게는 2.5-3.0 및 가장 바람직하게는 적어도 3.0의 크레아티닌에 대한 크레아티닌의 확산비를 갖는 확산막이 얻어지도록 조정된다. 또한, 상이한 종류의 폴리우레탄 물질의 w/w 양은 적어도 1800, 바람직하게는 적어도 1900, 더욱 바람직하게는 적어도 2000의 크레아티닌 기율기를 갖는 확산막이 얻어지도록 조정된다.

- [0016] 상기 방법의 일부 실시형태에 있어서, 상기 폴리우레탄 물질은 메틸렌클로라이드, 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드, 테트라히드로푸란, 시클로헥산, 이소프로판올 또는 이들의 혼합물을 포함하는 유기 용매(들)에 용해된다.
- [0017] 상기 방법의 일부 실시형태에 있어서, 상기 지지체 물질은 그 상부에 고정된 효소층을 갖는 전극이다. 특정 실시형태에 있어서, 상기 전극은 탄소, 그래파이트 또는 탄소 나노 튜브로 이루어진다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 전극은 금속으로 이루어진다. 상기 전극의 금속의 대표적인 예로는 백금, 금, 팔라듐 또는 백금, 금 및 팔라듐의 합금을 포함한다. 상기 방법의 일부 실시형태에 있어서, 상기 효소층은 크레아티나아제, 크레아티나아제, 사르코신옥시다아제 및 이들의 조합을 포함하는 복수의 효소가 열거된다. 상기 효소층은 상기 외부 확산막과 상기 전극 사이에 위치된다.
- [0018] 상기 방법의 일부 실시형태에 있어서, 단계 b) 및 c)는 2회 반복된다.
- [0019] 다른 양태에 있어서, 바이오센서가 제공된다. 일부 실시형태에 있어서, 상기 바이오센서는 전극, 효소층을 형성하는 전극 상에 고정된 복수의 효소 및 상기 효소층의 표면 상에 위치한 확산막을 포함한다.
- [0020] 상기 바이오센서의 일부 실시형태에서, 확산막 조성물에 사용되는 폴리우레탄 물질(예를 들면, 수지)은 상기 조성물에 대해 상술한 바와 같이 약 3%-60%의 흡수율을 갖는다. 상기 바이오센서의 일부 실시형태에서, 상이한 종류의 폴리우레탄 물질의 w/w 양은 적어도 2.0, 바람직하게는 2.0-2.5, 보다 바람직하게는 2.5-3.0 및 가장 바람직하게는 적어도 3.0의 크레아틴에 대한 크레아티닌의 확산비를 갖는 확산막이 얻어지도록 조정된다. 또한, 상이한 종류의 폴리우레탄 물질의 w/w 양은 적어도 1800, 바람직하게는 적어도 1900, 더욱 바람직하게는 적어도 2000의 크레아티닌 기울기를 갖는 확산막이 얻어지도록 조정된다.
- [0021] 상기 바이오센서의 임의의 실시형태에 있어서, 상기 전극은 탄소, 그래파이트 또는 탄소 나노튜브로 이루어진다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 전극은 금속으로 이루어진다. 상기 전극의 금속의 대표적인 예로는 백금, 금, 팔라듐 또는 백금, 금 및 팔라듐의 합금을 포함한다. 상기 바이오센서의 일부 실시형태에 있어서, 상기 효소층은 크레아티나아제, 크레아티나아제, 사르코신옥시다아제 및 이들의 조합을 포함하는 복수의 효소를 포함한다. 상기 효소층은 외부 확산막과 전극 사이에 위치된다. 상기 바이오센서는 혈액, 혈장 또는 혈청 등의 체액 샘플에서 크레아틴 및/또는 크레아티닌을 측정하는데 사용된다.
- [0022] 다른 양태에 있어서, 본원에 기재된 바이오센서를 수용하는 일회용 카트리지가 제공된다. 상기 일회용 카트리지의 일부 실시형태에 있어서, 본원에 기재된 바이오센서는 센서 어레이 중 하나의 센서이다. 상기 일회용 카트리지의 일부 실시형태에 있어서, 상기 바이오센서는 전극, 효소층을 형성하는 전극에 고정된 복수의 효소 및 효소층의 표면에 배치된 확산막을 포함하고, 상기 확산막은 체액 샘플 플로우 챔버와 인접하고 있다..
- [0023] 본 발명의 다른 특징 및 잇점은 그의 바람직한 실시형태의 하기 설명 및 청구 범위로부터 명백해질 것이다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 재료가 이하에 기재된다. 본원에 인용된 모든 공개된 외국 특허 및 특허 출원은 본원에 참조로 포함된다. 본원에 인용된 모든 다른 공개된 참고 문헌, 문서, 원고 및 과학 문헌은 본원에 참조로 포함된다. 또한 재료, 방법 및 실시예는 단지 예시일 뿐이며 제한하고자 하는 의도가 아니다.
- [0024] 적용 가능하거나 특별히 권리를 포기하지 않는 경우, 실시형태가 본 발명의 상이한 양태 하에 기재되었지만, 본원에 기재된 실시형태 중 임의의 하나는 임의의 다른 하나 이상의 실시형태와 결합할 수 있는 것으로 간주된다.
- [0025] 이들 및 다른 실시형태는 이하의 상세한 설명에 개시 및/또는 포함된다.

도면의 간단한 설명

- [0026] 도 1a는 12개의 카트리지가 그룹에서 크레아티닌(Crea)에 대한 크레아티닌 센서 감도의 그래프이고, 3주에 걸쳐 카트리지의 수명(시간)에 대한 기울기로 플로팅된 각 카트리지의 크레아티닌에 대한 감도인 피코암페어/밀리그램/데시리터(pA/mg/dL)는 5개월 실온 보관 후의 기간을 사용한다. 각각의 카트리지는 화학식 F20의 외부 확산막(표 2 참조)을 포함한다.
- 도 1b는 12개의 카트리지가 그룹에서 크레아틴(Cr)에 대한 크레아티닌 센서 감도의 그래프이고, 3주에 걸쳐 카트리지의 수명(시간)에 대한 기울기로 플로팅된 각 카트리지의 크레아틴에 대한 감도인 피코암페어/밀리그램/데시

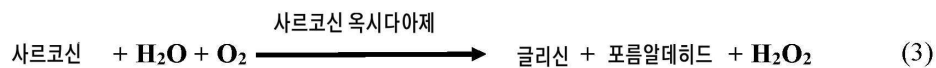
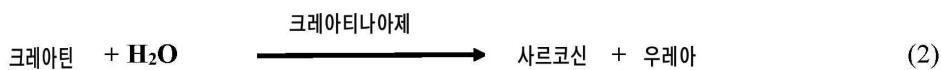
리터(pA/mg/dL)는 5개월 실온 보관 후의 기간을 사용한다. 각각의 카트리지는 화학식 F20의 외부 확산막(표 2 참조)을 포함한다.

도 2는 화학 분석기(예를 들면, 로슈 코바스(Roche Cobas))에서 전혈 크레아티닌 바이오센서 vs. 혈장 크레아티닌에 의해 측정된 크레아티닌의 편향성을 나타내는 산포도이다. 각 바이오센서는 화학식 F20의 외부 확산막(표 2 참조)을 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 본 발명은, 적어도 부분적으로 상이한 종류의 폴리우레탄 블렌드로 제조된 확산 제어막(즉, 외부막)이 크레아틴 간섭을 제한하고, 빠른 베이스라인 보정을 허용하고 생물학적 샘플 매트릭스 효과를 제한할 수 있다는 발견에 기초한다. 본 발명은 적어도 2개의 상이한 종류의 폴리우레탄을 포함하고 적어도 20의 크레아틴에 대한 크레아티닌의 확산비를 갖는 확산막 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 이와 같은 확산막 조성물의 제조방법 및 이와 같은 확산막을 사용한 바이오센서를 제조하는 방법을 제공한다.

[0028] 크레아틴/크레아티닌 시스템(예를 들면, GEM PAK 카트리지)의 현재 크레아티닌 센서는 3개 효소를 포함하는 효소 바이오센서를 포함한다. 상기 효소는 백금 전극의 표면에 고정되어 있다. 상기 크레아티닌 검출은 3개 효소 캐스케이드 반응을 기초로 한다:



[0029] 이어서, 생성물 하이드로젠퍼옥사이드(H_2O_2)는 일정한 분극 전위 하의 백금 전극 상에서 전기 화학적으로 산화된다.

[0030]

[0031] 임상 샘플에 있어서 크레아틴의 존재는 크레아티닌 센서의 크레아틴 반응을 보정하기 위해 크레아틴 측정을 위한 추가 센서를 필요로 한다. 상기 크레아틴 센서는 상기 효소 캐스케이드 반응의 단계 (2)와 (3)을 포함한다.

[0032] 생물학적 샘플(들)에 있어서 크레아티닌 및 크레아틴의 각각의 농도를 결정하기 위해, 크레아티닌 및 크레아틴 센서는 그들의 각각의 감도를 결정하기 위해 보정되어야 한다. 이것은 크레아티닌과 크레아틴의 미리 결정된 농도를 함유하는 보정 용액에서 크레아티닌 및 크레아틴 센서의 판독값을 비교함으로써 달성될 수 있다. 크레아티닌 및 크레아틴 센서의 감도가 결정되면, 임의의 생물학적 샘플에 있어서의 크레아틴 및 크레아티닌의 농도는 상기 보정 프로세스로부터 결정된 결과로 측정된 판독값을 조정함으로써 추정할 수 있다.

[0033] 또한, 크레아틴 및 크레아티닌 센서는 모두 효소층의 상부에 확산 제어막(외부막이라고도 함)을 갖는다. 상기 확산 제어막은 효소층으로 들어가는 크레아티닌 및 크레아틴 기질의 플럭스를 제한하여 하이드로젠퍼옥사이드에 의해 생성된 신호가 상기 샘플의 기질 농도에 비례하도록 한다.

[0034] 이론적으로, 상술한 크레아티닌 측정 시스템은 생물학적 샘플에 있어서의 크레아티닌의 농도를 정량적으로 측정할 수 있다. 그러나 일반적인 제조 공정, 보정 및 다른 분석기 동작 특이적 변동, 및 크레아티닌을 정확하게 측정하는 것과 관련하여 중요한 문제를 나타내는 생물학적 샘플 매트릭스 변동으로 인해 발생하는 센서 변동과 관련된 몇몇의 실질적인 문제가 예를 들면, 이하를 포함하여 존재한다.

[0035] 1. 크레아틴 간섭. 생물학적 샘플(예 : 전혈)은 크레아티닌과 크레아틴을 모두 함유하고 크레아티닌을 하이드로젠퍼옥사이드로 전환하는 3개의 효소 캐스케이드 반응을 사용한 상기 혈액 샘플 내의 크레아티닌(Crea) 센서는 크레아티닌과 크레아틴의 총 반응을 측정하는 것으로 알려져 있다. 대부분의 측정 방법은 상술한 2개 효소를 포함하는 별도의 크레아틴 센서로 혈액 크레아틴을 측정함으로써 크레아틴에 기인한 반응을 빼는 것을 교정으로서 포함한다. 상기 방법은 크레아티닌 및 크레아틴 센서 모두에 대한 크레아틴 반응에 영향을 미치는 혈액 샘플 중의 모든 인자(예를 들면, HCO_3^- , 헤마토크릿, 혈액 매트릭스 등)가 동일하며 보정 동안에 제거될 것을 가정한다. 그러나 크레아틴 농도가 높으면(예컨대, $[\text{Cr}] \gg [\text{Crea}]$) 큰 오류가 발생한다. 본 발명은 크레아틴 간섭으로 인한

영향을 차동 측정으로 최소화하도록 크레아틴 확산보다 크레아티닌 확산에 유리한 투과성을 갖는 외부막 조성물을 제공함으로써 효소 센서의 크레아틴 신호를 억제함으로써 크레아틴 간섭의 문제를 해결한다.

[0036] 2. 베이스라인 보정. 크레아티닌과 크레아틴 바이오센서의 효소 캐스케이드 반응에 의해 외부막을 통해 확산되는 기질, 크레아티닌 및 크레아틴의 일부만 생성물로 전환된다. 나머지 기질은 샘플 측정 후 즉시 제거되지 않으면 전류 신호를 지속적으로 생성할 수 있다. 백그라운드 전류의 이러한 느린 변화는 후속 샘플 측정에 오류를 야기한다. 본 발명은, 기질을 빠르게 샘플 측정 동안에 확산시키고 샘플 측정이 완료된 후에는 배출되도록 하는 투과성을 갖는 외부막 조성물을 제공함으로써 느린 베이스라인 보정 문제를 해결한다.

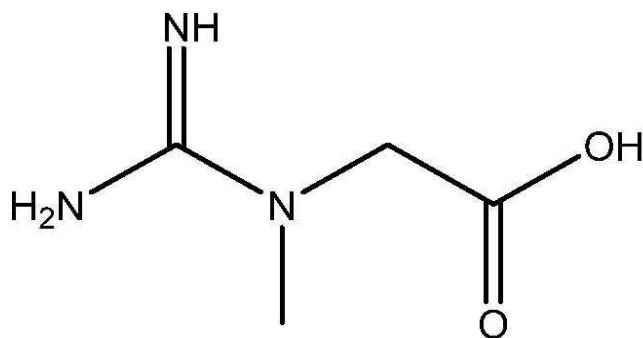
[0037] 3. 생물학적 샘플 매트릭스 효과 및 생체 적합성. 전혈 등의 생물학적 샘플 매트릭스에 노출될 때, 일부 외부 확산 제어막은 단백질 오염 또는 표면 소수성 변화 및 마이크로 응고 형성으로 인해 심각한 감도와 베이스라인 변화를 가질 수 있다. 생물학적 샘플의 크레아티닌 농도는 샘플 매트릭스의 일부 다른 성분(예를 들면, 글루코오스는 65-95mg/dL 농도로 존재)에 비해 매우 낮다(0.04-1.10mg/dL). 생물학적 샘플에서 낮은 농도의 크레아티닌, 외부막을 통한 제한된 확산으로 인한 크레아티닌 양의 더욱 감소, 및 바이오센서의 3개 효소 전환 프로세스는 매우 낮은 전기 신호를 발생시킨다. 생성되는 전기 신호가 매우 작기 때문에, 생물학적 샘플 매트릭스에서의 고농도 약물 또는 통상의 화학 물질로부터의 간섭은 임상 샘플 측정에 오류를 야기하는 크레아티닌 샘플 반응을 좌우할 수 있다. 본 발명은 최소한의 매트릭스 효과를 갖는 외부막 조성물을 제공함으로써 생물학적 샘플 매트릭스 효과 및 생체 적합성의 문제를 해결한다.

[0038] 본 발명은 크레아티닌/크레아틴 바이오센서에 대한 폴리우레탄계 외부막 조성물 및 상기 막의 제조방법을 기재한다. 본원에 기재된 막은 크레아틴에 대한 투과성보다 2~3배 더 높은 크레아티닌에 대한 투과성을 갖는다. 이러한 투과성 차이는 상기 바이오센서에 바람직한 Crea/Cr 신호비를 제공한다. 또한, 본원에 기재된 외부막 조성물은 효소층으로부터 기질(들)의 빠른 제거를 촉진하고 샘플 노출 및 세정 후 빠른 베이스라인 보정을 갖는다. 또한, 본원에 기재된 외부막 조성물은 미세응고(micro-clot) 형성이 거의 없거나 또는 전혀 없는 우수한 생체 적합성을 나타내고, 전혈 샘플과 접촉시 단백질 오염 및 투과성 변화를 최소화한다.

[0039] 폴리우레탄(PU)은 의료 기기의 많은 성공적인 인비보 및 인비트로 적용에 있어서 우수한 생체 적합성을 갖는 폴리머이다. Lubrizol(Ohio, USA)의 Tecophlic™ 및 Tecoflex™ 및 AdvanSource Biomaterials(Massachusetts, USA)의 HydroMed™ D시리즈를 포함하는 친수성 의료 등급의 폴리우레탄계가 본 발명에 기재된 외부막의 조성물에 사용되었다. 이와 같은 시판의 폴리머 수지 또는 용액은 예를 들면, 메틸렌클로라이드, 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸아세트아미드(DMA), 테트라히드로푸란(THF), 시클로헥사논, 이소프로판올 등의 유기 용매 또는 용매의 혼합물에 용해될 수 있는 지방족 폴리에테르계 폴리우레탄이다. 이들 폴리우레탄계에는 경도와 흡수율의 다양한 조합으로 사용할 수 있는 다양한 등급의 물질이 있다.

[0040] 물질 전달 폴리머막을 통과하는 기질의 투과성은 주로 그들의 분자 구조, 소수성 및 전하에 따라 달라진다. 본원에 기재된 폴리머막은 하나 이상의 폴리머의 혼합물이고, 이러한 막을 통한 기질의 투과성은 폴리머막 조성물의 분자 구조, 소수성 및 전하에 따라서도 달라진다.

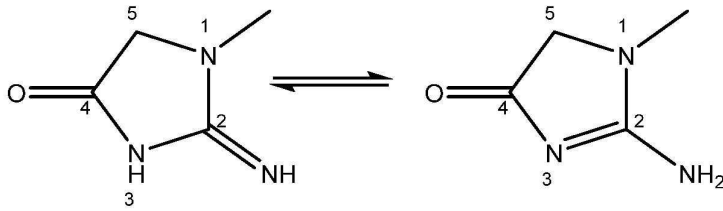
[0041] 본원에 사용된 "크레아틴(일명, 2-[카르바미미도일(메틸)아미노]아세트산, N- 카르바미미도일-N-메틸글리신 또는 메틸구아니도아세트산)"은 포스페이트기를 공여함으로써 아데노신 디포스페이트(ADP)를 ATP로 재전환시킴으로써 아데노신 트리포스페이트(ATP)의 리사이클링을 통해 세포에 에너지를 생성하는 유기 화합물을 말한다. 크레아틴은 이하의 화학 구조를 갖는다.



[0042] .

[0043] 2-[카르바미도일(메틸)아미노]아세트산

[0044] 본원에 사용되는 "크레아티닌"은 크레아틴의 효소 분해 부산물을 말하며, 일반적으로 이하에 나타내는 2개의 주요 호변이성 형태로 확인된다.



[0045]



[0046]

[0047] 상기 다이어그램에서 알 수 있는 바와 같이, 크레아티닌(환형 화합물)과 크레아틴(선형 화합물)의 분자 구조의 유의한 차이는 폴리머 재료 특성(구조, 소수성 및 전하), 복수의 폴리머의 혼합비 및 캐스팅 공정(고형물 농도, 층수 및 용매 선택)에 기초한 폴리머막 조성물에 의해 크레아티닌 및 크레아틴의 확산 속도를 변형 또는 조절할 수 있게 한다.

[0048] 크레아티닌에 대해 최상의 확산 속도를 가질뿐만 아니라 최대 Crea/Cr비를 가져 크레아틴 간섭을 최소화하는 외부막 조성물은 막 조성물의 주요 인자를 변경함으로써 개발되었다: 폴리우레탄 종류(경도 20-85, 흡수율: 3%-100%), 캐스팅 용액의 % w/v 고형물(2-10%), 용매 종류 및 용매 비율(예를 들면, THF, 시클로헥사논 및 50-100% 사이의 비율을 지닌 2개의 혼합물). 용매 캐스팅 공정을 통해 막을 형성하는 경우, 용매가 중요한 역할을 한다는 점에 유의해야 한다. 즉, 다른 용매는 다른 속도로 증발하기 때문에, 증발 속도는 내부 폴리머쇄의 형태와 배향뿐만 아니라 지지체 물질에 대한 막의 접촉에도 영향을 미칠 수 있다.

[0049] 크레아티닌에 대한 높은 감도와 Crea/Cr비>2를 갖는 요구를 충족시키는 실험을 통해 처방군이 얻어졌다. 후속의 스크리닝 테스트를 행하여 전혈 샘플에 노출되었을 때 센서 성능 안정성을 평가하였다. 기준 방법과 비교하여 보고된 크레아티닌 농도의 정확도 및 사용 수명 동안의 센서 감도의 안정성을 평가하였다. 일부의 외부막의 처방은 초기에 높은 감도를 가졌지만 전혈 샘플에 노출된 후 상당한 현저한 변화를 나타냈다. 이론에 구속됨이 없이 현상에 대한 몇몇 설명은 고형물의 총 중량%가 너무 낮아 건조 중에 막에 핀 홀이 형성되었을 수 있거나, 또는 혼합된 폴리우레탄의 조성물이 너무 친수성이어서 혈액 중의 단백질과 지질이 표면에 코팅되는 경우, 확산 속도가 현저하게 변화되어 센서 감도가 떨어졌다. 외부막 조성물 처방은 하기 실시예에서 더욱 상세히 논의된다.

[0050] 본원에 있어서, 범위가 "약" 하나의 특정값에서 및/또는 "약" 다른 특정값으로 표현될 수 있다. 이와 같은 범위가 표현될 때, 다른 양태는 하나의 특정값으로부터 및/또는 다른 특정값까지를 포함한다. 동일하게, 값이 선행의 "약"을 사용하여 근사값으로 표현될 때 특정값이 다른 양태를 형성하는 것으로 이해된다. 또한 각 범위의 중점은 다른 중점과 관련하여 또한 다른 중점과 독립적으로 모두 중요하다는 것이 이해된다. 또한, 본원에 기재된 다수의 값이 있고, 본원에서 각각의 값이 값 자체에 더하여 특정값인 "약"으로 기재된다는 것도 이해된다. 또한, 적용의 전반에 걸쳐 데이터는 다수의 다른 형식으로 제공되며 상기 데이터는 데이터 포인트의 임의의 조합에 대하여 중점과 시작점, 및 범위를 나타낸다. 예를 들면, 특정 데이터 포인트 "10" 및 특정 데이터 포인트 "15"가 기재되면, 10 내지 15 사이뿐만 아니라, 10과 15보다 크거나, 크거나 같거나, 작거나, 작거나 같거나, 또는 같음이 이해된다. 또한 2개의 특정 단위 사이의 각 단위도 기재되는 것으로 이해된다. 예를 들면, 10과 15가 기재되면, 11, 12, 13 및 14도 기재된다. 본원에 제공된 범위는 범위 내의 모든 값에 대한 축약인 것으로 이해된다. 예를 들면, 1에서 50의 범위는, 상술의 정수 사이의 모든 중간 10진수값, 예를 들면, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 및 1.9 뿐만 아니라, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,

43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50으로 이루어지는 군에서의 임의의 숫자, 숫자 조합 또는 하위 범위를 포함하는 것으로 이해된다. 하위 범위와 관련하여, 범위의 어느 중점으로부터 확장되는 "중복된 하위 범위"가 구체적으로 고려된다. 예를 들면, 1~50의 예시적인 범위의 중복된 하위 범위는 일방향으로 1~10, 1~20, 1~30 및 1~40, 또는 타방향으로 50~40, 50~30, 50~20 및 50~10을 포함할 수 있다.

[0051] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 이하에 기재된다. 본원에 기재된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고 문헌은 그 전체가 참고로 포함된다. 컨플릭트가 발생하면 정의를 포함한 본 명세서가 컨트롤할 수 있다. 또한 재료, 방법 및 실시예는 예시일 뿐이며 이를 제한하려는 의도가 아니다.

[0052] 이하, 본 발명의 예시적인 실시형태에 대한 참조가 상세하게 이루어질 것이다. 본 개시는 예시적인 실시형태와 관련하여 설명될 것이지만, 본 발명을 이들 실시형태에 한정하고자 의도되지 않는다는 것은 이해될 것이다. 반대로, 첨부한 청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 사상 및 범위 내에 포함될 수 있는 대안, 변형 및 등가물을 포함하는 것으로 의도된다. 당업계에 잘 알려진 표준 기술 또는 이하에 구체적으로 기재된 기술이 이용되었다.

[0053] 실시예

[0054] 실시예 1: 3개의 시판의 폴리우레탄(PU)계에 기초한 외부막 처방을 얻기 위한 심플렉스-중심 혼합물 디자인의 적용

[0055] 4개의 폴리우레탄 물질(PU1-PU4)이 쇼어 경도는 20-80, 흡수율은 3-60%인 Tecophlic™, Tecoflex™ 및 HydroMed™ D 제품군에서 선택되었다. 크레아티닌 및 크레아틴 기울기를 갖는 다양한 2, 3 및 4성분 혼합물과 각 성분의 투과성 관계를 조사하기 위해 실험이 설계되었다. 센서 기울기에 영향을 주는 다른 요인이 있기 때문에, 모든 테스트 PU 용액은 7% w/v의 농도와 THF/시클로헥사논의 85/15의 용매 비율로 유지되었다. 또한, 캐스팅 조건은 각 테스트 PU 용액에 대해 2개 층에서 일정하게 유지되었다. 상기 외부막은 용매 증발을 위해 각 층에 대해 5-10분 동안 실온에서 경화되었다.

[0056] 4종의 폴리우레탄(PU1-PU4)을 사용한 심플렉스-중심 혼합물 설계가 적용되어 표 1에 PU 원료 특성(경도 및 흡수)과 관련된 18개의 설계 포인트(F1-F18)가 기재되었다. 각각의 PU 성분에 대해 테스트된 농도 범위는 0-7% w/v이었다. 18개의 PU 처방 각각으로 12개의 센서를 제작하고 각각의 처방에 대한 크레아티닌 및 크레아틴에 대한 평균 기울기값(밀리그램/데시리터에 대한 피코암페어 단위, pA/mg/dL)이 표 1에 요약되어 있다.

[0057] (표 1)

[0058] 18개의 심플렉스-중심 혼합물 설계의 PU 조성물 및 해당 센서 기울기

	PU 종류의 상대비%				평균 기울기 및 비 (pA/mg/dL) (N=12)		
처방 ID	PU1	PU2	PU3	PU4	Crea	Cr	Crea/Cr
쇼어 경도	60	80	60	n/a			
흡수율 %	20	3	60	50			
F1	100.0	0.0	0.0	0.0	1025	237	4.3
F2	0.0	0.0	100.0	0.0	2213	638	3.5
F3	0.0	0.0	0.0	100.0	1862	1151	1.6
F4	50.0	50.0	0.0	0.0	해당없음	71	해당없음
F5	50.0	0.0	50.0	0.0	1987	589	3.4
F6	50.0	0.0	0.0	50.0	2232	739	3.0
F7	0.0	50.0	50.0	0.0	해당없음	11	해당없음
F8	0.0	50.0	0.0	50.0	666	382	1.7
F9	0.0	0.0	50.0	50.0	2564	1039	2.5
F10	33.3	33.3	33.3	0.0	106	79	1.3
F11	33.3	33.3	0.0	33.3	해당없음	35	해당없음
F12	33.3	0.0	33.3	33.3	2308	763	3.0
F13	0.0	33.3	33.3	33.3	1539	631	2.4
F14	25.0	25.0	25.0	25.0	1108	435	2.5
F15	62.5	12.5	12.5	12.5	1080	300	3.6
F16	12.5	62.5	12.5	12.5	해당없음	9	해당없음
F17	12.5	12.5	62.5	12.5	1935	614	3.2
F18	12.5	12.5	12.5	62.5	2410	1068	2.3

[0059]

[0060] 표 1의 결과는 크레아티닌 투과성이 시험된 PU 물질의 흡수율에 정비례 함을 나타낸다. 흡수율이 3%로 매우 낮은 PU2는 크레아티닌과 크레아틴의 확산을 차단하고 외부막 조성물이 33% 이상의 PU2를 포함하면, 유용한 센서 신호를 생성하지 않을 수 있다.

[0061] 한편, 흡수율 이외에, 크레아틴 확산도 PU 종류 의존성이다. 크레아틴은 PU3 막 (평균 기울기 638pA/mg/dL)에 대해 PU4 막(평균 기울기 1151pA/mg/dL); 50% 흡수율을 갖는 PU4 막 및 60% 흡수율을 갖는 PU3 막에서 가장 높은 투과성을 나타낸다. 크레아티닌과 크레아틴 간의 이러한 투과성의 차는 PU 물질 및 조성물을 조정하여 높은 크레아티닌 신호를 유지하면서 Crea/Cr 신호비를 최대화할 수 있는 가능성을 제공한다. 예를 들면, F5는 F3에 대해 유사하게 높은 크레아티닌 기울기(1987 vs. 1862pA/mg/dL)를 제공하지만, F5는 F3보다 2배 큰 Crea/Cr 비 (3.4 vs. 1.6)를 가져서 크레아틴 간섭 영향이 적다는 측면에서 보다 양호한 센서를 제공할 수 있다.

[0062] 표 1에 나타난 18개의 PU 처방의 시험 결과에 기초하여, 크레아티닌 기울기는 PU 혼합물의 함수이다. 따라서, 크레아티닌과 크레아틴에 대한 타겟 크레아티닌 센서 기울기는 2~4개의 폴리우레탄의 혼합물로 달성될 수 있다. 예를 들면, 크레아티닌 기울기에 대해 2000pA/mg/dL의 타겟을 설정하면 회귀 모델링을 사용하여 다양한 처방을 얻을 수 있다(표 2).

[0063] (표 2)

[0064] 크레아티닌 기울기에 대해 2000pA/mg/dL의 설정 타겟으로 회귀 모델링에 의해 얻어진 PU 외부막 처방

처방 ID	PU 종류의 상대비%				예측된 기울기 및 비 (pA/mg/dL)		
	PU1	PU2	PU3	PU4	Crea	Cr	Crea/Cr
F19	8%	23%	4%	65%	2007	973	2.06
F20	55%	0%	45%	0%	2000	555	3.60
F21	69%	0%	2%	29%	2008	570	3.52
F22	11%	11%	67%	11%	2014	568	3.55

[0065]

[0066] 실시예 2: 크레아티닌 센서에 있어서 F20의 사용

[0067] 크레아티닌 센서에 적용된 처방 F20은 크레아티닌과 크레아틴 모두에 대해 안정된 감도를 나타내었고, 표 3에 나타난 바와 같이 약 3의 Crea/Cr 신호비를 가졌다. 센서 감도와 Crea/Cr 비는 모두 상온에서 5개월 저장 기간 동안에 안정하였다.

[0068] 외부막 처방 F20을 갖는 센서(N=12)는 5개월 실온 저장 후 3주 사용 기간 동안 복수의 배치에 걸쳐 일관되게 유지되는 크레아티닌 센서 감도를 증명하였다. 모든 센서는 안정된 크레아티닌 기울기(도 1a)와 안정된 크레아틴 기울기(도 1b) 및 표 3에 기재된 높은 Crea/Cr 비를 나타내었다. 또한, 표 3의 데이터는 바람직한 Crea/Cr 신호비가 5개월 저장 기간 동안에 안정한 것을 증명하였다.

[0069] (표 3)

[0070] 외부막 처방 F20을 사용한 저장 기간에 따른 크레아 센서 기울기 요약

사용기간 * (시간)	크레아티닌 기울기 (pA/mg/dL)	크레아틴 기울기 (pA/mg/dL)	크레아티닌/크레아틴 기울기 비
저장 기간 < 1개월			
0-5	1731	530	3.3
20-30	1563	523	3.0
500	1038	384	2.7
저장 기간 = 5개월			
0-5	1339	372	3.6
20-30	1122	350	3.2
500	705	240	2.9

[0071]

[0072] * 본원에 기재된 바와 같이 외부막 처방에 의한 다중 분석 Crea/Cr 카트리지의 사용 기간은 450개 샘플 또는 500시간이다.

[0073] 실시예 3: 외부막 처방 F20, 생체 적합성 및 센서 베이스라인 교정

[0074] 임상 샘플에 있어서 전혈 크레아티닌은 외부막 처방 F20을 갖는 크레아티닌 센서에 의해 측정되고, 화학 분석기인 Roche Cobas에 의해 측정된 혈장 크레아티닌과 비교되었다. 샘플 편향은 임상 요건(점선) 내에서 양호하였다(도면 2).

[0075] 결과는 임상의 전혈 샘플에 지속적으로 노출되었을 때 외부막 처방 F20의 생체 적합성을 증명하였고, 임상 실험실 분석기로 얻은 혈장 결과와 비교하여 안정된 성능을 나타냈다. 또한, F20은 혈액 샘플 측정 동안에 크레아티닌 센서의 빠른 베이스라인 보정을 나타내었다. 크레아티닌 정확도는 0.2-15 mg/dL의 측정된 샘플 범위에서 유지되었으며, 이는 샘플 캐리오버로 인한 영향이 최소화되었음을 나타낸다.

[0076] 참조에 의한 포함

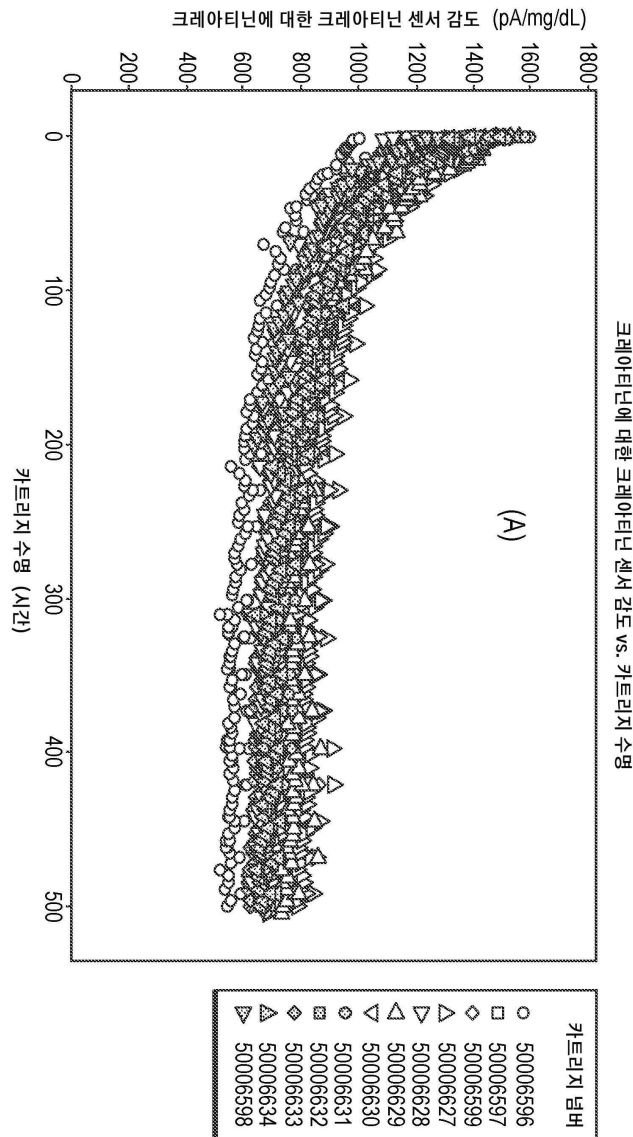
[0077] 본원에 인용 및 참조된 모든 문헌 및 본원에 인용된 문헌에 있어서 인용 또는 참조된 모든 문헌은, 본원에 또는 본원에 참고로 인용된 모든 문헌에 언급된 임의의 제품에 대한 임의의 제조자의 설명, 기술, 제품 사양, 및 제품 시트와 함께, 본원에 참고로 포함되고, 본 발명의 실시예에 채용될 수 있다.

[0078] **등가물**

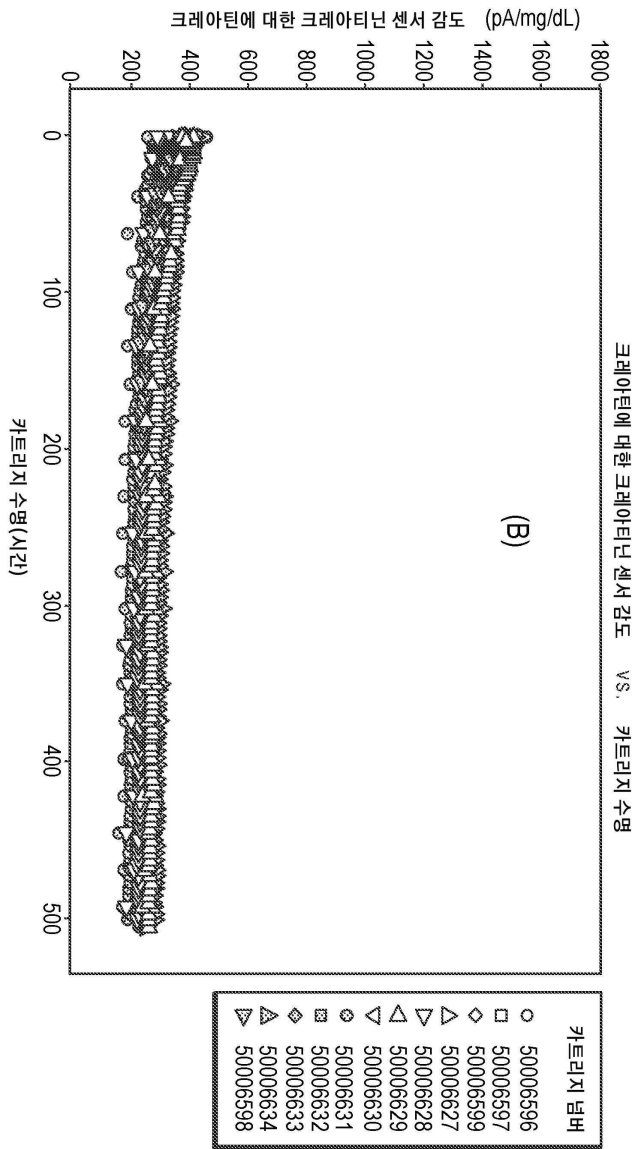
[0079] 본원에 기재된 상세한 실시예 및 실시형태는 단지 예시적인 목적의 예로서 제공된 것이며, 본 발명을 한정하는 것으로 간주되어서는 안된다는 것이 이해된다. 이것을 고려하여 다양한 변형 또는 변화가 당업자에게 제안될 것이며, 본 출원의 사상 및 범위 내에 포함되고, 또한 첨부된 청구범위의 범주 내에서 고려된다. 본 발명의 시스템, 방법 및 공정과 관련된 추가의 유리한 특징 및 기능은 첨부된 청구범위로부터 명백해질 것이다. 또한, 당업자는 본원에 기재된 본 개시의 특정 실시형태에 대한 다수의 등가물을 일상인 실험만을 사용하여 인식하거나 또는 확인할 수 있다. 이러한 등가물은 하기의 청구범위에 의해 포함되도록 의도된다.

도면

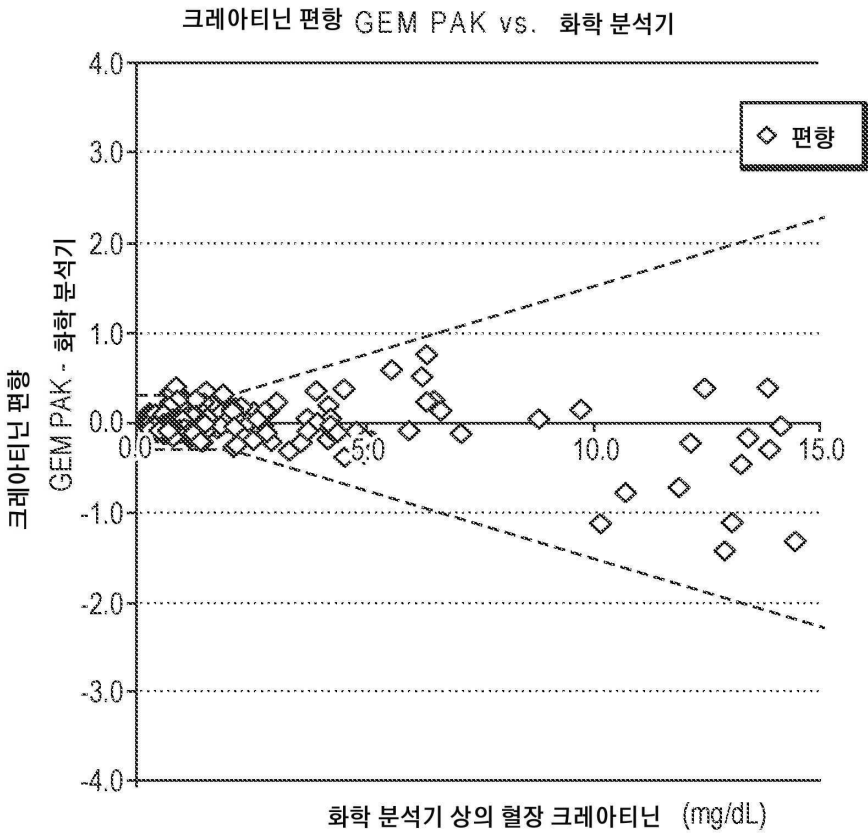
도면1a



도면1b



도면2



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 13

【변경전】

제 10 항에 있어서,

상기 단계 b) 및 c)가 2회 반복되는 방법.

【변경후】

제 10 항에 있어서,

상기 단계 b) 및 c)가 2회 반복되는 방법인, 바이오센서.