(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113518584 B
(45)授权公告日 2024.11.08

(21)申请号 201980090556.5
(22)申请日 2019.09.25
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113518584 A
(43)申请公布日 2021.10.19
(30)优先权数据
62/797,566 2019.01.28 US
62/884,869 2019.08.09 US
62/884,841 2019.08.09 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.07.28
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/052942 2019.09.25
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/159584 EN 2020.08.06

(73)专利权人 美国雅培糖尿病护理公司
地址 美国加利福尼亚
(72)发明人 T·欧阳 B·J·费尔德曼 H·赵
(74)专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038
专利代理师 张小勇

(51)Int.Cl.
A61B 5/145(2006.01)
A61B 5/1473(2006.01)
A61B 5/1486(2006.01)
(56)对比文件
CN 1292086 A,2001.04.18
US 2012181189 A1,2012.07.19
审查员 王传利

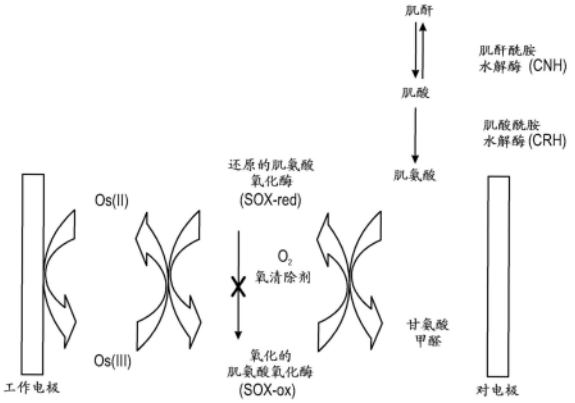
权利要求书2页 说明书20页 附图10页

(54)发明名称

检测肌酐的分析物传感器和感测方法

(57)摘要

可以监测肌酐水平作为肾功能的量度。通常,使用血液和/或尿液测试以用于此目的。能够在体内监测肌酐的分析物传感器可以包含:传感器尾部,其包含至少第一工作电极、设置在第一工作电极表面上的肌酐响应活性区域、可渗透肌酐并覆盖肌酐响应活性区域的第一膜,以及位于传感器尾部并靠近肌酐响应活性区域的氧清除剂。肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进肌酐检测的多种酶特别是肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶的酶系统。氧化酶可用作氧清除剂,尤其是在检测还含有葡萄糖的流体中的肌酐时,葡萄糖氧化酶可用作氧清除剂。



CN 113518584 B

1.一种分析物传感器,包含:

传感器尾部,其包含至少第一工作电极;

肌酐响应活性区域,其设置在所述第一工作电极的表面上,所述肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进检测肌酐的多种酶的酶系统,所述酶系统包含:

肌酐酰胺水解酶,

肌酸脒基水解酶,和

肌氨酸氧化酶;

第一膜,其可渗透肌酐并且覆盖所述肌酐响应活性区域,所述第一膜包含聚(乙烯基吡啶-共-苯乙烯);和

氧清除剂,其设置在所述第一膜上。

2.根据权利要求1所述的分析物传感器,其中所述氧清除剂包含氧化酶。

3.根据权利要求2所述的分析物传感器,其中所述氧清除剂包含葡萄糖氧化酶。

4.根据权利要求3所述的分析物传感器,其中第二聚合物设置在所述第一膜上并且所述葡萄糖氧化酶共价键合至所述第二聚合物。

5.根据权利要求1所述的分析物传感器,其中所述肌酐酰胺水解酶、所述肌酸脒基水解酶和所述肌氨酸氧化酶各自共价键合至所述第一聚合物。

6.根据权利要求1所述的分析物传感器,还包含:

第二工作电极;

葡萄糖响应活性区域,其设置在所述第二工作电极的表面上,所述葡萄糖响应活性区域包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至所述第三聚合物的葡萄糖氧化酶;和

第二膜,其可渗透葡萄糖并覆盖所述葡萄糖响应活性区域。

7.根据权利要求6所述的分析物传感器,还包含:

设置在所述第一膜上的第二聚合物和共价键合至所述第二聚合物的葡萄糖氧化酶。

8.根据权利要求6所述的分析物传感器,其中所述第一膜和所述第二膜在组成上相同。

9.一种分析物传感器,包含:

传感器尾部,其包含第一工作电极和第二工作电极;

肌酐响应活性区域,其设置在所述第一工作电极的表面上,所述肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进肌酐检测的多种酶的酶系统,所述酶系统包含:

肌酐酰胺水解酶,

肌酸脒基水解酶,和

肌氨酸氧化酶;

第一膜,其可渗透肌酐并覆盖所述肌酐响应活性区域,所述第一膜包含聚(乙烯基吡啶-共-苯乙烯);

第二聚合物,其设置在所述第一膜上;

葡萄糖氧化酶,其共价键合至所述第二聚合物;

葡萄糖响应活性区域,其设置在所述第二工作电极的表面上,所述葡萄糖响应活性区域包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至所述第三聚合物的葡萄糖氧化酶;和

第二膜,其可渗透葡萄糖并覆盖所述葡萄糖响应活性区域。

10.根据权利要求9所述的分析物传感器,其中设置在所述第一膜的葡萄糖氧化酶是由第三膜覆盖,所述第三膜也可渗透肌酐。

11.根据权利要求10所述的分析物传感器,其中所述第一膜、所述第二膜和所述第三膜在组成上是相同的。

12.根据权利要求9所述的分析物传感器,其中所述第一膜和所述第二膜在组成上是相同的。

13.根据权利要求9所述的分析物传感器,其中所述肌酐酰胺水解酶、所述肌酸脒基水解酶和所述肌氨酸氧化酶各自共价键合至所述第一聚合物。

14.一种方法,包括:

将分析物传感器暴露于包含至少肌酐的流体;

其中所述分析物传感器包含至少第一工作电极、设置在所述第一工作电极表面上的肌酐响应活性区域、可渗透肌酐并覆盖所述肌酐响应活性区域的第一膜,和设置在所述第一膜上的氧清除剂,所述第一膜包含聚(乙烯基吡啶-共-苯乙烯);

其中所述肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进检测肌酐的多种酶的酶系统,所述酶系统包含:

肌酐酰胺水解酶,

肌酸脒基水解酶,和

肌氨酸氧化酶;

向所述第一工作电极施加电位;

获得等于或高于所述肌酐响应活性区域的氧化还原电位的第一信号,所述第一信号与流体中的肌酐浓度成比例;和

将所述第一信号与所述流体中的肌酐浓度相关联。

15.根据权利要求14所述的方法,其中所述肌酐酰胺水解酶、所述肌酸脒基水解酶和所述肌氨酸氧化酶各自共价键合至所述第一聚合物。

16.根据权利要求14所述的方法,其中第二聚合物设置在所述第一膜上并且所述氧清除剂包含共价键合至所述第二聚合物的葡萄糖氧化酶。

17.根据权利要求14所述的方法,其中所述传感器还包含第二工作电极,其具有设置在所述第二工作电极的表面上的葡萄糖响应活性区域,所述葡萄糖响应活性区域包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至所述第三聚合物的葡萄糖氧化酶,所述方法还包括:

向所述第二工作电极施加电位;

获得等于或高于所述葡萄糖响应活性区域的氧化还原电位的第二信号,所述第二信号与流体中的葡萄糖浓度成比例;和

将所述第二信号与所述流体中的葡萄糖浓度相关联。

18.根据权利要求17所述的方法,其中在不同时间获得所述第一信号和所述第二信号。

19.根据权利要求17所述的方法,其中通过第一通道和第二通道同时获得所述第一信号和所述第二信号。

检测肌酐的分析物传感器和感测方法

[0001] 背景

[0002] 检测个体体内的各种分析物有时对于监测其健康与幸福至关重要。与正常分析物水平的偏差通常表示潜在的生理状况,例如代谢状况或疾病,或暴露于特定环境条件。虽然对于给定的生理状况,单个分析物可能会单独失调,但有时会出现多种分析物同时失调的情况,要么是由于同一生理状况,要么是由共病(相关)生理状况引起。当多种分析物同时失调时,每种分析物的失调程度可能不同。因此,可能需要对每种分析物进行监测,以获得对个体健康状况的满意评估。

[0003] 使用抽取的体液进行的定期离体分析物监测可能足以观察许多个体的给定生理状况。然而,对于某些人来说,离体分析物监测可能不方便或痛苦,特别是如果需要相当频繁地抽取或收集体液(例如,每天数次)。使用植入的体内分析物传感器进行的连续分析物监测对于具有严重分析物失调和/或分析物水平快速波动的个体来说可能是更理想的方法,但是由于提供的便利,它可能也对其他个体有益。连续分析物监测可允许个人或医生在有机会导致更严重的健康后果(例如器官损伤或衰竭)之前主动解决异常分析物水平。在许多情况下,皮下、间质或皮肤分析物传感器可以为此目的提供足够的测量精度,同时将用户的不适感降至最低。

[0004] 许多分析物代表生理分析的有趣目标,前提是可以鉴定合适的检测化学。为此,近年来已经开发和改进了配置用于体内测定葡萄糖的电流传感器,以帮助监测糖尿病个体的健康状况。在糖尿病个体中通常与葡萄糖同时发生失调的其他分析物包括例如乳酸、氧气、pH、A1c、酮等。配置用于检测通常与葡萄糖组合失调的分析物的传感器是已知的,但目前相当不精细。

[0005] 体内分析物传感器通常被配置为分析单一分析物以提供特定分析,通常使用酶来为给定分析物提供高特异性。由于这种分析特异性,配置用于测定葡萄糖的现有的体内分析物传感器对于分析经常与葡萄糖组合失调或由失调的葡萄糖水平导致的其他分析物通常是无效的。充其量,现有的分析物监测方法需要糖尿病个体佩戴两个不同的体内分析物传感器,一个配置用于测定葡萄糖而另一个配置用于测定另一种感兴趣的分析物。使用多个体内分析物传感器的分析物监测方法对于用户来说可能非常不方便。此外,当多个体内分析物传感器用于分析物监测时,设备的成本负担增加,并且个体体内分析物传感器中的至少一个出现故障的统计可能性增加。

[0006] 糖尿病个体通常特别容易受到共病的影响,这可能是由于他们的胰岛素水平管理不善或甚至由于长期患有管理良好的糖尿病的结果。举例而言,糖尿病性神经病变可能由高血糖水平引起并最终导致肾衰竭。糖尿病神经病变是美国肾衰竭的主要原因,并且在患病的头10-20年内有大量糖尿病个体经历糖尿病神经病变。用于评估肾功能的诊断测试目前基于对血液和/或尿液样品中升高的肌酐水平的测量。尽管希望尽快检测潜在的肾衰竭,但目前的诊断测试方法通常会在很长一段时间(数月至数年)内进行,以验证肌酐水平是否持续升高或随着时间的推移呈上升趋势。如果未及早发现异常肾功能,常规肌酐监测的频率不高可能会增加发生肾衰竭的风险。

[0007] 附图的简要说明

[0008] 包括以下附图以说明本公开内容的某些方面,并且不应将其视为专属实施方案。在不脱离本公开内容的范围的情况下,所公开的主题能够在形式和功能上进行相当大的修改、变更、组合和等效。

[0009] 图1显示了可以结合本公开内容的分析物传感器的示例性感测系统的图。

[0010] 图2A和2B显示了根据本公开内容可用于检测肌酐的协同酶系统的实例。

[0011] 图3A-3C显示了具有适用于检测肌酐的活性区域的示例性分析物传感器的横截面图。

[0012] 图4A-4C显示了具有单个工作电极和适用于检测肌酐和葡萄糖的活性区域的示例性分析物传感器的横截面图。

[0013] 图5显示了具有两个工作电极和适用于检测肌酐和葡萄糖的活性区域的示例性分析物传感器的横截面图。

[0014] 图6A-6D显示了示例性分析物传感器的透视图,其特征在于相对于彼此同心设置的电极。

[0015] 图7A和7B显示了具有膜和设置在其上的氧清除剂的肌酐响应活性区域的图。

[0016] 图8显示了当暴露于不同肌酐浓度时包含用葡萄糖氧化酶覆盖的肌酐响应活性区域的传感器的三个重复的电流响应的示例性图。

[0017] 图9显示了当暴露于各种肌酐浓度时包含用葡萄糖氧化酶覆盖的肌酐响应活性区域的单个传感器的电流响应的示例性图。

[0018] 详述

[0019] 本公开内容一般性描述了使用多种酶来检测一种或多种分析物的分析物传感器,更具体而言,描述了使用多种酶来检测至少肌酐和任选地其他分析物的分析物传感器及其相应的使用方法。

[0020] 如上所讨论的,由于酶对特定底物或底物类别的频繁特异性,采用酶的分析物传感器通常用于监测例如葡萄糖的单个分析物。也可以监测其他分析物,前提是可以鉴定合适的检测化学。由于需要使用相应数量的分析物传感器来分别检测每个分析物,因此多种分析物的监测可能变得复杂。由于例如多个分析物传感器的成本、佩戴多个分析物传感器时用户的不适以及个体分析物传感器故障的增加的统计可能性等问题,这种方法可能有问题或不可取,尤其是在体内监测多种分析物时。

[0021] 葡萄糖响应分析物传感器是一个经过充分研究且仍在发展中的领域,以帮助糖尿病个体更好地管理他们的健康。尽管糖尿病个体中普遍存在共病情况,但适用于体内监测其他通常与葡萄糖结合失调的分析物的传感器化学已经显著落后于更发达的葡萄糖检测化学。例如,肌酐可能是一种特别感兴趣的分析物,用于监测易患肾衰竭的个体,尤其是有糖尿病神经病变风险的糖尿病个体。

[0022] 本公开内容提供了响应于肌酐的分析物传感器。具体而言,本公开内容提供了能够佩戴在身体上以连续或接近连续地体内监测肌酐水平的分析物传感器。用本文公开的分析物传感器分析肌酐水平可以为个体或医疗护理提供者在延长的时间段内提供比定期离体实验室测量更准确的肾功能表征。通过根据本公开内容分析肌酐水平,较早的健康护理干预可以使得限制潜在的肾损伤并改善个体的整体健康结果成为可能。

[0023] 使用单一酶促反应来电化学检测肌酐是不可行的,因为没有已知的酶能够将电子直接从肌酐转移到工作电极。本公开内容通过提供适合于检测肌酐在一定范围的肌酐浓度范围内具有良好响应稳定性的传感器化学物质来减轻这种缺陷。具体而言,本公开内容利用包含能够协同作用以促进肌酐检测的多种酶的酶系统。如本文所用,术语“协同作用”是指偶联的酶促反应,其中第一酶促反应的产物成为第二酶促反应的底物,并且第二酶促反应作为测量在第一酶促反应期间反应的底物(分析物)浓度的基础。尽管根据两个偶联的酶促反应进行定义,但应理解在某些情况下可以偶联两个以上的酶促反应。例如,第一酶促反应的产物可能成为第二酶促反应的底物,第二酶促反应的产物可能成为第三酶促反应的底物,第三酶促反应作为测定在第一酶促反应期间反应的底物(分析物)的浓度的基础。如下文进一步讨论的,根据本公开内容用于检测肌酐的合适的酶系统采用协同作用的三种酶,连同第四种酶或其他氧清除剂以促进氧气清除。第四种酶或其他氧清除剂不直接参与协同的酶促反应,而是防止与氧气发生不需要的副反应。

[0024] 当单一酶不能促进检测时,如肌酐的情况,可能需要利用彼此协同作用的两种或更多种酶来检测感兴趣的分析物。单一酶对于促进分析物检测可能无效的情况包括,例如,酶被一种或多种反应产物抑制,当置于分析物传感器中时不能在氧化态和还原态之间循环的情况,和/或对于促进检测所需的所需反应途径是未知的。在肌酐的情况下,肌酐到肌酸的酶促转化以水解方式发生并且不会导致氧化态的变化以向工作电极提供电流以促进该分析物的检测。包含根据本文公开的协同作用的多种酶的酶系统可以减轻这种困难。

[0025] 本文公开的肌酐传感器可能有利于监测任何可能处于肾损伤或衰竭风险中的个体的肌酐水平(和肾功能),但由于糖尿病神经病变的普遍性,它们可能对糖尿病个体特别有利。尽管单独监测肌酐水平可能是有益的,但糖尿病个体也可以监测其葡萄糖和肌酐水平以改善健康结果,特别是考虑到糖尿病个体已经常规进行葡萄糖监测。本公开内容提供使用一个或多个响应于每种分析物的体内分析物传感器监测葡萄糖和肌酐,并且在特别有利的配置中,可以使用体内响应两种分析物的单个分析物传感器。有利且出人意料的是,可以通过采用本文的公开内容来制造在单个传感器尾部上结合了针对葡萄糖和肌酐两者的感测功能的分析物传感器。

[0026] 如在下文中参考图2A和2B进一步讨论的,本公开内容的肌酐响应活性区域可以利用氧清除剂来促进使用其中所示的酶系统检测肌酐。在某些传感器配置中,氧化酶可用作氧清除剂。葡萄糖氧化酶可能是一种特别有利的氧清除剂,因为葡萄糖广泛存在于还含有肌酐的体液中,在这种情况下,葡萄糖可用作清除氧气的试剂(参见下面的反应1)。氧清除剂可以通过膜与肌酐响应活性区域绝缘,以便不在带有肌酐响应活性区域的工作电极处产生信号(即,在通过促进氧化反应清除氧气时)。氧清除剂可位于膜上,以促进肌酐响应活性区域内的有效氧气清除。除了设置在膜上之外,氧清除剂可以位于远离膜的传感器尾部上的第二位置上,其中远离氧清除剂可以在远离位置上发挥不同作用(例如,通过促进对葡萄糖响应活性区域的检测)。取决于远离氧清除剂的放置方式和位置,除了其清除氧气功能外,氧清除剂可以对于促进另一种分析物(特别是葡萄糖)的检测是有活性的或无活性的。当对于促进葡萄糖检测是无活性的时候,葡萄糖氧化酶可以与工作电极绝缘,使得由该酶促进的氧化反应(清除氧气)不会导致在工作电极上产生电流。当葡萄糖氧化酶对于促进葡萄糖检测和清除氧气是有活性的时候,葡萄糖氧化酶可以存在于葡萄糖响应活性区域中,

该区域位于第二工作电极上或位于带有肌酐响应活性区域的工作电极上,使得可以从每个区域获得单独的信号。在下文中进一步讨论在单个传感器尾部同时设置肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域的策略。

[0027] 即使手头有合适的检测化学物质,在单个分析物传感器上结合两种不同类型的活性区域有时也不是一件简单的事情。分析物传感器通常采用覆盖活性区域的膜来充当传质限制膜和/或改善生物相容性。使用传质限制膜限制分析物进入活性区域有助于避免传感器过载(饱和),从而改善检测性能和准确性。当使用单个分析物传感器测定多种分析物时,不同的分析物可能会通过给定的传质限制膜表现出不同的渗透率值,这可能导致对于每种分析物的灵敏度差异很大。在某些情况下,在每个活性区域上结合不同的传质限制膜可能是有问题的。出人意料且有利的是,可以使用在每个位置组成相同的传质限制膜成功分析葡萄糖和肌酐,从而简化对两种分析物具有检测能力的分析物传感器的制造。

[0028] 在更详细地描述本公开内容的分析物传感器之前,将首先提供合适的体内分析物传感器配置和采用分析物传感器的传感器系统的简要概述,以便可以更好地理解本公开内容的实施方案。图1显示了可以结合本公开内容的分析物传感器、特别是包括肌酐响应活性区域和任选的葡萄糖响应活性区域的分析物传感器的示例性感测系统的图。如图所示,感测系统100包括传感器控制装置102和阅读器装置120,它们被配置为通过本地通信路径或链路彼此通信,本地通信路径或链路可以是有线或无线、单向或双向、加密或非加密的。根据一些实施方案,阅读器装置120可以构成用于查看由传感器104或与其相关联的处理器确定的分析物浓度和警报或通知以及允许一个或多个用户输入的输出介质。阅读器装置120可以是多功能智能手机或专用电子阅读器仪器。虽然仅显示了一个阅读器装置120,但在某些情况下可以存在多个阅读器装置120。阅读器装置120还可以分别经由通信路径/链路141和/或142与远程终端170和/或可信计算机系统180通信,通信路径/链路141和/或142也可以是有线或无线、单向或双向、加密或非加密的。阅读器装置120还可以或备选地通过通信路径/链路151与网络150(例如,移动电话网络、互联网或云服务器)通信。网络150还可以通过通信路径/链路152通信耦合到远程终端170和/或通过通信路径/链路153至可信计算机系统180。或者,传感器104可以在不存在中间阅读器装置120的情况下直接与远程终端170和/或可信计算机系统180通信。例如,根据一些实施方案,传感器104可以通过到网络150的直接通信链路与远程终端170和/或可信计算机系统180通信,如美国专利申请公开2011/0213225中所述并且通过引用整体并入本文。任何合适的电子通信协议都可以用于每个通信路径或链路,例如近场通信(NFC)、射频识别(RFID)、**BLUETOOTH®**或**BLUETOOTH®**低能量协议、WiFi等。根据一些实施方案,远程终端170和/或可信计算机系统180可由除主要用户之外的对用户的分析物水平感兴趣的个人访问。阅读器装置120可以包括显示器122和任选的输入组件121。根据一些实施方案,显示器122可以包括触摸屏界面。

[0029] 传感器控制装置102包括传感器外壳103,其可以容纳用于操作传感器104的电路和电源。任选地,可以省略电源和/或有源电路。处理器(未示出)可以通信耦合到传感器104,处理器物理地位于传感器外壳103或阅读器装置120内。传感器104从传感器外壳103的下侧突出并延伸穿过粘附层105,其适用于根据一些实施方案,将传感器外壳103粘附到例如皮肤的组织表面。

[0030] 传感器104适于至少部分地插入感兴趣的组织中,例如在皮肤的真皮层或皮下层内。传感器104可以包含足够长度的传感器尾部以插入到给定组织中的期望深度。传感器尾部可以包括至少一个工作电极和设置在其上的肌酐响应活性区域。任选地,葡萄糖响应活性区域、进一步任选地与第二工作电极组合的葡萄糖响应活性区域可位于传感器尾部以促进该分析物的检测。对电极可以与至少一个工作电极组合存在。参考图3A-7B在下文中更详细地描述传感器尾部上的特定电极配置。

[0031] 至少一个传质限制膜可以覆盖肌酐响应活性区域和任选的葡萄糖响应活性区域(当存在时)也如下文进一步详细描述。葡萄糖响应活性区域(当存在时)可包含葡萄糖响应酶。传质限制膜还可以覆盖氧清除剂(例如,葡萄糖氧化酶),在这种情况下,氧清除剂可以插入分开的膜层之间。

[0032] 如下文参考图2A和2B所述,肌酐响应活性区域可包含酶系统,该酶系统包含能够协同作用以促进肌酐的检测的多种酶。根据各种实施方案,肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域(当存在时)可包括聚合物,其与酶共价键合。位于葡萄糖响应活性区域之外的葡萄糖氧化酶也可以与本文公开的分析物传感器中的聚合物共价键合。根据本公开内容,可以在例如以下的任何感兴趣的生物流体中监测肌酐和任选的葡萄糖:真皮液、间质液、血浆、血液、淋巴液、滑液、脑脊液、唾液、支气管肺泡灌洗液、羊水等。在特定实施方案中,本公开内容的分析物传感器可适用于测定真皮液或间质液以体内确定肌酐和/或葡萄糖的浓度。

[0033] 再参考图1,传感器104可以自动将数据转发到阅读器装置120。例如,分析物浓度数据(即,肌酐和/或葡萄糖浓度)可以自动和周期性通信,例如在获得数据时或数据在传输前被存储在存储器中并在某个时间段已经过去之后以某个频率(例如,每分钟、每五分钟或其他预定时间段)通信。在其他实施方案中,传感器104可以以非自动方式而不是根据设定的时间表与阅读器装置120通信。例如,当传感器电子器件进入阅读器装置120的通信范围时,可以使用RFID技术从传感器104进行数据通信。直到与阅读器装置120通信完毕,数据可以保持存储在传感器104的存储器中。因此,用户不必一直保持靠近阅读器装置120,而是可以在方便的时间上传数据。在其他实施方案中,可以实现自动和非自动数据传输的组合。例如,数据传输可以在自动基础上继续,直到阅读器装置120不再在传感器104的通信范围内。

[0034] 导引器可以暂时存在以促进将传感器104引入到组织中。在示例性实施方案中,导引器可以包含针或类似的锐器。应当认识到,在替代实施方案中可以存在其他类型的导引器,例如套管或刀片。更具体而言,针或其他导引器可以在组织插入之前暂时驻留在传感器104附近,然后在之后撤回。当存在时,针或其他导引器可通过打开供传感器104跟随的进入通路来促进将传感器104插入到组织中。例如,根据一个或多个实施方案,针可以促进作为进入真皮的通路穿透表皮以允许植入传感器104。在打开进入通路后,可以撤回针或其他导引器,使其不存在锐器危险。在示例性实施方案中,合适的针的横截面可以是实心或空心、斜面或非斜面、和/或圆形或非圆形的。在更具体的实施方案中,合适的针在横截面直径和/或尖端设计方面可与针灸针相当,针灸针可具有约250微米的横截面直径。然而,应当认识到,如果特定应用需要,合适的针可以具有更大或更小的横截面直径。

[0035] 在一些实施方案中,针的尖端(当存在时)可以在传感器104的末端上方成角度,使得针首先刺入组织并为传感器104打开进入通路。在其他示例性实施方案中,传感器104可

以驻留在针的内腔或凹槽内,针类似地为传感器104打开进入通路。在任一情况下,在促进传感器插入之后针随后被撤回。

[0036] 参照图2A和2B进一步详细描述可用于检测根据本文公开内容的肌酐的合适的酶系统。如图所示,肌酐可在肌酐酰胺水解酶(CNH)存在下发生可逆和水解反应以形成肌酸。肌酸进而可以在肌酸脒基水解酶(CRH)的存在下进行催化水解,形成肌氨酸。这些反应都不会产生电子流(例如,氧化或还原)来为肌酐的电化学检测提供基础。

[0037] 如图2A和2B进一步所示,通过肌酸水解产生的肌氨酸可以在氧化形式的肌氨酸氧化酶(SOX-ox)存在下进行氧化,形成甘氨酸和甲醛,从而在过程中生成还原形式的肌氨酸氧化酶(SOX-red)。在氧气存在下还可以产生过氧化氢(图2B)。还原形式的肌氨酸氧化酶继而可以在氧化形式的电子转移剂(例如,Os(III))的存在下进行再氧化,从而产生相应的还原形式的电子转移剂(例如,Os(II))并将电子流输送到工作电极。

[0038] 氧气可能会干扰根据本公开内容的用于检测肌酐的协调反应序列。具体来说,如图2B所示,还原形式的肌氨酸氧化酶可以与氧气发生反应以重新形成该酶的相应氧化形式,但不与电子转移剂交换电子。虽然酶在与氧气发生反应时都保持活性,但没有电子流向工作电极。不受理论或机制的束缚,据信与氧气的竞争反应是由动力学效应引起的。即,据信,还原形式的肌氨酸氧化酶被氧气氧化比电子转移剂促进的氧化发生得更快。在氧气存在下还形成过氧化氢。

[0039] 在图2A中显示了用于促进肌酐检测的所需反应通路。可以通过在酶系统附近包括氧清除剂来促进还原形式的肌氨酸氧化酶的氧化。如上所讨论的,各种氧清除剂及其处置可能是合适的,包括氧化酶,例如葡萄糖氧化酶。小分子氧清除剂也可能是合适的,但它们可能在传感器寿命以其他方式完全耗尽之前被完全消耗掉。相比之下,酶可能会经历可逆的氧化和还原,从而提供更长的传感器寿命。通过阻止还原形式的肌氨酸氧化酶被氧气氧化,可以发生与电子转移剂的较慢的电子交换反应,从而允许在工作电极处产生电流。产生的电流大小与最初反应的肌酐量成比例。

[0040] 在本公开内容的任何实施方案中,用于促进图2A中所需反应途径的氧清除剂可以是氧化酶。任何氧化酶都可用于促进酶系统附近的氧气清除,前提是含有肌酐的流体中也存在酶的合适底物,从而提供在氧化酶存在下与氧气反应的试剂。本公开内容中可适用于氧气清除的氧化酶包括但不限于葡萄糖氧化酶、乳酸氧化酶、黄嘌呤氧化酶等。由于葡萄糖在各种体液中容易获得,因此葡萄糖氧化酶可以是特别适合用于本公开内容的氧化酶。下面的反应1显示了由葡萄糖氧化酶促进以提供氧气清除的酶促反应。

[0041] β-D-葡萄糖+O_2--→D-葡糖酸-1,5-内酯+H_2O_2

[0042] 反应1

[0043] 体内有效乳酸的浓度低于葡萄糖的浓度,但仍足以促进氧气清除。

[0044] 氧化酶(例如葡萄糖氧化酶)可以位于任何适合促进本文公开的分析物传感器中的氧气清除的位置。例如,葡萄糖氧化酶可以位于传感器尾部上,使得葡萄糖氧化酶对于促进葡萄糖检测是有功能的和/或无功能的。当对促进葡萄糖检测是无功能的时候,葡萄糖氧化酶可位于传感器尾部上,使得葡萄糖氧化期间产生的电子无法到达接收氧化肌氨酸时产生的电子的工作电极。下面更详细地阐述了将葡萄糖氧化酶与工作电极绝缘的方法。当对促进葡萄糖检测是有功能的时候,葡萄糖氧化酶可以位于工作电极上的葡萄糖响应活性区

域中,这样,除了清除肌酐响应活性区域附近的氧气外,工作电极接收葡萄糖氧化过程中产生的电子。其上具有葡萄糖响应活性区域的工作电极可以是与具有肌酐响应活性区域的工作电极相同的工作电极或是不同的工作电极。下文还讨论了用于在特定工作电极上的葡萄糖响应活性区域内设置葡萄糖氧化酶的合适方法。在本文公开的分析物传感器中可以使用用于将葡萄糖氧化酶设置在传感器尾部上的前述方法的任何组合。

[0045] 图2A中描绘的检测策略的替代检测策略可以省略葡萄糖氧化酶、将葡萄糖氧化酶与工作电极绝缘的膜和电子转移剂。在这样的检测方法中,肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶可以如图所描绘的协同工作,其中氧气促进过氧化氢的形成并且使氧化形式和还原形式的肌氨酸氧化酶相互转化。可以在工作电极处检测过氧化氢,以作为在这种类型的传感器配置中测定肌酐的基础。

[0046] 本文公开的分析物传感器的特征在于工作电极上的至少一个肌酐响应活性区域,结合至少一个附加电极,该附加电极可以是对电极、参考电极和/或对电极/参考电极。以肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域为特征的分析物传感器可将肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域结合在分开的工作电极上或同一工作电极上。在下文中讨论每种可能性的示例性配置。

[0047] 以肌酐响应活性区域而不是葡萄糖响应活性区域为特征的传感器配置可以采用双电极或三电极检测模体,如本文参考图3A-3C进一步描述的。在分开的工作电极上或在同一工作电极上的特征在于肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域两者的传感器配置在下文中参考图4A-6D分别进行描述。具有多个工作电极的传感器配置对于将肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域结合在同一传感器尾部中可能特别有利,因为可以更容易地确定来自每个活性区域的信号贡献。

[0048] 当分析物传感器中存在单个工作电极时,三电极传感器配置可包括工作电极、对电极和参考电极。相关的双电极传感器配置可包括工作电极和第二电极,其中第二电极可用作对电极和参考电极(即,对电极/参考电极)。各种电极可以至少部分地堆叠(分层)在彼此之上和/或在传感器尾部上彼此横向间隔开。合适的传感器配置可以是基本上平坦的形状或基本上圆柱体的形状,其中肌酐响应活性区域和任选的葡萄糖响应活性区域在工作电极上横向间隔开。在本文公开的任何传感器配置中,各种电极可以通过介电材料或类似绝缘体彼此绝缘。

[0049] 以多个工作电极为特征的分析物传感器可类似地包含至少一个附加电极。当存在一个附加电极时,一个附加电极可以用作多个工作电极中每一个的对电极/参考电极。当存在两个附加电极时,附加电极之一可用作多个工作电极中每一个的对电极,而附加电极中的另一个可用作多个工作电极中每一个的参考电极。

[0050] 图3A显示了示例性的双电极分析物传感器配置的图,其兼容用于本文的公开。如图所示,分析物传感器200包含设置在工作电极214和对电极/参考电极216之间的基底212。或者,工作电极214和对电极/参考电极216可以位于基底212的同一侧,介电材料插入其间(配置未显示)。肌酐响应活性区域218作为至少一层设置在工作电极214的至少一部分上。肌酐响应活性区域218可包括多个点或单个点,其配置用于检测肌酐,如本文进一步讨论的。

[0051] 再参考图3A,根据一些实施方案,膜220至少覆盖肌酐响应活性区域218,并且可以

任选地覆盖工作电极214和/或对电极/参考电极216的部分或全部,或整个分析物传感器200。分析物传感器200的一个或两个面可以用膜220覆盖。膜220可以包含一种或多种聚合物膜材料,其具有限制分析物流向活性区域218的能力(即,膜220是对肌酐具有一定渗透性的传质限制膜)。膜220的组成和厚度可以变化以促进到达肌酐响应活性区域218的期望肌酐通量,从而提供期望的信号强度和稳定性。分析物传感器200可通过库仑法、电流法、伏安法或电位电化学检测技术中的任一种操作来测定肌酐。

[0052] 图3B和3C显示了示例性三电极分析物传感器配置的图,其也兼容用于本文的公开。除了在分析物传感器201和202中包括附加电极217(图3B和3C)之外,三电极分析物传感器配置可类似于图3A中分析物传感器200所示的配置。使用附加电极217,对电极/参考电极216然后可以用作对电极或参考电极,并且附加电极217实现另外未考虑的其他电极功能。工作电极214继续履行其原始功能。附加电极217可以设置在工作电极214或电极216上,其间具有介电材料的绝缘层。例如,如图2B中所描绘的,介电层219a、219b和219c将电极214、216和217彼此分开并提供绝缘。或者,如图3C所示,电极214、216和217中的至少一个可以位于基板212的相对面上。因此,在一些实施方案中,电极214(工作电极)和电极216(对电极)可以位于基板212的相对面上,电极217(参考电极)位于电极214或216之一上并且与其以介电材料间隔开。参考材料层230(例如,Ag/AgCl)可以存在于电极217上,参考材料层230的位置不限于图3B和3C中所描绘的位置。如图3A中的传感器200所示,分析物传感器201和202中的肌酐响应活性区域218可以包括多个点或单个点。此外,分析物传感器201和202可通过库仑法、电流法、伏安法或电位电化学检测技术中的任一种操作来测定肌酐。

[0053] 与分析物传感器200一样,膜220也可以覆盖分析物传感器201和202中的肌酐响应活性区域218以及其他传感器组件,从而用作传质限制膜。在一些实施方案中,附加电极217可以用膜220覆盖。尽管图3B和3C已经将所有电极214、216和217描绘为被膜220覆盖,但是应当认识到,在一些实施方案中可以仅覆盖工作电极214。此外,每个电极214、216和217处的膜220的厚度可以相同或不同。如在双电极分析物传感器配置(图3A)中,分析物传感器201和202的一个或两个面可以在图3B和3C的传感器配置中用膜220覆盖,或者整个分析物传感器201和202可以被覆盖。因此,图3B和3C中所示的三电极传感器配置应理解为对本文公开的实施方案是非限制性的,替代电极和/或层配置保留在本公开内容的范围内。

[0054] 在单个工作电极上或在多个工作电极上具有肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域的分析物传感器将参考图4A-6D进一步详细描述。

[0055] 图4A显示了具有在其上设置有肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域的单个工作电极的传感器203的示例性配置。除了在工作电极214上存在的在工作电极214的表面上彼此横向间隔开的两个活性区域:肌酐响应活性区域218a和葡萄糖响应活性区域218b之外,图4A类似于图3。活性区域218a和218b可以包含配置用于检测每个分析物的多个点或单个点。膜220的组成在活性区域218a和218b处可以变化或在组成上相同。

[0056] 图4B和4C分别显示了传感器204和205的示例性三电极传感器配置的横截面图,每一个特征在于其上设置有肌酐响应活性区域218a和葡萄糖响应活性区域218b二者的单个工作电极。图4B和4C在其他方面类似于图3B和3C并且通过参考图3B和3C可以更好地理解。如图4A所示,膜220的组成在活性区域218a和218b处可以变化或在组成上相同。

[0057] 具有多个工作电极、特别是两个工作电极的示例性传感器配置参考图5-6D进一步

详细描述。尽管以下描述主要针对具有两个工作电极的传感器配置,但是应当理解,通过对本文公开内容的扩展,可以结合多于两个的工作电极。除了肌酐和葡萄糖感测之外,额外的工作电极可用于赋予分析物传感器额外的感测能力。

[0058] 图5显示了具有两个工作电极、一个参考电极和一个对电极的示例性分析物传感器配置的横截面图,其兼容用于本文的公开。如图所示,分析物传感器300包括设置在基底302的相对面上的工作电极304和306。肌酐响应活性区域310a设置在工作电极304的表面上,葡萄糖响应活性区域310b设置在工作电极306的表面上。对电极320通过介电层322与工作电极304绝缘,而参考电极321通过介电层323与工作电极306绝缘。外介电层330和332分别位于参考电极321和对电极320上。根据各种实施方案,膜340可以至少覆盖活性区域310a和310b,分析物传感器300的其他部件或整个分析物传感器300也任选地覆盖有膜340。再次,如果需要,膜340可以在活性区域310a和310b处在组成上变化,以便提供合适的渗透率值以在每个位置差异调节分析物通量。

[0059] 具有多个工作电极并且与图5所示的配置不同的替代传感器配置可以特征在于对电极/参考电极而不是分开的对电极和参考电极320、321,和/或不同于那些明确描绘的特征层和/或膜布置。例如,对电极320和参考电极321的定位可以与图5中描绘的相反。此外,工作电极304和306不必以图4所示的方式位于基底302的相对面上。

[0060] 虽然合适的传感器配置可以特征在于特征上基本上是平面的电极,但是应当理解,特征在于非平面电极的传感器配置可能是有利的并且特别适合用于本文的公开。具体而言,如下文所述,彼此同心设置的基本上圆柱体的电极可以促进质量传输限制膜的沉积。图6A-6D显示了分析物传感器的透视图,其特征在于相对于彼此同心设置的两个工作电极。应当理解,具有同心电极设置但缺少第二工作电极的传感器配置在本公开内容中也是可能的。

[0061] 图6A显示了示例性传感器配置的透视图,其中多个电极基本上是圆柱体的并且围绕中央基板相对于彼此同心设置。如图所示,分析物传感器400包括中央基板402,所有电极和介电层围绕该中央基板相对于彼此同心设置。具体而言,工作电极410设置在中央基板402的表面上,并且介电层412设置在工作电极410的远离传感器尖端404的部分上。工作电极420设置在介电层412上,并且介电层422设置在工作电极420的远离传感器尖端404的部分上。对电极430设置在介电层422上,并且介电层432设置在对电极430的远离传感器尖端404的部分上。参考电极440设置在介电层432上,并且介电层442设置在参考电极440的远离传感器尖端404的部分上。因此,工作电极410、工作电极420、对电极430和参考电极440的暴露表面沿着分析物传感器400的纵轴B彼此间隔开。

[0062] 再参考图6A,肌酐响应活性区域414a和葡萄糖响应活性区域414b分别设置在工作电极410和420的暴露表面上,从而允许与流体接触以发生肌酐和/或葡萄糖的感测。尽管活性区域414a和414b在图6A中被描绘为三个离散的点,但是应当理解,在替代传感器配置中可以存在少于或多于三个点。此外,肌酐响应活性区域414a和葡萄糖响应活性区域414b的定位可以与图6A中描绘的相反。

[0063] 在图6A中,传感器400在工作电极410和420以及设置在其上的活性区域414a和414b上部分地涂覆有膜450。图6B显示了替代传感器配置,其中传感器401基本上整体被膜450覆盖。膜450在活性区域414a和414b处可以在组成上相同或在组成上不同。

[0064] 还应当理解,图6A和6B中的各种电极的定位可能与明确描绘的不同。例如,对电极430和参考电极440的位置可以与图6A和6B中所示的配置相反。类似地,工作电极410和420的位置不限于图6A和6B中明确描绘的那些。图6C显示了图6B中所示的传感器配置的替代传感器配置,其中传感器405包含位于更靠近传感器尖端404的对电极430和参考电极440以及位于更远离传感器尖端404的工作电极410和420。其中工作电极410和420位于更远离传感器尖端404的传感器配置可能是有利的,其在通过提供更大的表面积用于沉积活性区域414a和414b(图6C中示例性示出了五个离散感测点)从而在一些情况下促进增加的信号强度。

[0065] 虽然图6A-6C已经描绘了每个都支撑在中央基板402上的传感器配置,但可以理解,替代的传感器配置可以改为电极支撑而没有中央基板402。具体而言,最里面的同心电极可以用来支撑其他电极和介电层。图6D显示了图6C中所描绘的传感器配置的替代传感器配置,其中传感器406不含中央基板402,而对电极430是最里面的同心电极,用于在其上依次设置参考电极440、工作电极410和420以及介电层432、442、412和422。鉴于本文的公开内容,再次认识到,在缺少中央基底402的传感器配置中可以采用其他电极和介电层配置。因此,图6D中描绘的传感器配置应该被认为本质上是示例性的并且是非限制性的。

[0066] 如上所提到的,氧清除剂可位于肌酐响应活性区域附近,以促进还原形式的肌氨酸氧化酶用电子转移剂而不是用氧气的氧化。氧化酶、特别是葡萄糖氧化酶,可用于本文公开的各种传感器配置中的此目的。当仅存在肌酐响应活性区域时,对葡萄糖检测无功能的葡萄糖氧化酶可能位于肌酐响应活性区域附近。当肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域都存在时,葡萄糖响应活性区域中的葡萄糖氧化酶可有效促进氧气清除,任选地与对葡萄糖检测无功能的葡萄糖氧化酶组合。

[0067] 在图7A和7B显示了葡萄糖氧化酶的示例性配置对于肌酐响应活性区域的葡萄糖检测是无功能的。具体而言,图7A和7B显示了葡萄糖氧化酶407设置膜409上,膜409覆盖位于工作电极500上的肌酐响应活性区域403。膜409将葡萄糖氧化酶407与工作电极500绝缘,使得在氧化葡萄糖时产生电子以限制氧暴露不传递到工作电极500。膜408随后覆盖葡萄糖氧化酶407以向其提供传质限制功能。在本公开内容的各种实施方案中,膜408和409可以在组成上相同。虽然图7A已经显示葡萄糖氧化酶407直接设置在肌酐响应活性区域403上,但应理解,肌酐响应活性区域403和葡萄糖氧化酶407可以彼此横向间隔开,同样假设葡萄糖氧化酶407被排除在当氧化葡萄糖时将电子转移到工作电极500。进一步备选地,在其他传感器配置中,葡萄糖氧化酶407可以额外地位于传感器的相对面上。如图7B所示,膜409不必在工作电极500上延伸与膜408相同的横向距离。

[0068] 在本文公开的传感器配置中,肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域(如果存在的话)可以包括一个或多个离散点(例如,一个到约十个点,或甚至更多离散点),其尺寸范围可以从约0.01mm^2到约1mm^2,但是本文也考虑了活性区域内更大或更小的单个点。可选择总活性区域以提供每种分析物的所需灵敏度。

[0069] 在一些或其他实施方案中,本公开内容的分析物传感器可以包含被配置用于插入组织中的传感器尾部。合适的组织不被认为是特别受限的并且在上文已经更详细地论述过了。在给定组织内的特定位置部署传感器尾部的考虑在上文中有所论述。

[0070] 因此,本文公开的分析物传感器可以包含传感器尾部,该传感器尾部至少包含第

一工作电极、设置在第一工作电极的表面上并且包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进肌酐检测的多种酶的酶系统、可渗透肌酐并覆盖肌酐响应活性区域的第一膜,以及位于传感器尾部靠近肌酐响应活性区域的氧清除剂。酶系统包含肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶。根据本公开内容的特定实施方案,氧清除剂可以通过第一膜与肌酐响应活性区域分开。在一些实施方案中,氧化酶(例如葡萄糖氧化酶)可以构成氧清除剂的至少一部分。

[0071] 当靠近肌酐响应活性区域设置时,氧化酶(例如葡萄糖氧化酶)可以共价键合至第二聚合物。用于共价键合至葡萄糖氧化酶的合适聚合物没有特别限制并且在本公开内容的特定实施方案中可以是聚乙烯基吡啶。共价键合的聚合物可有助于将葡萄糖氧化酶固定在相对于肌酐响应活性区域的所需位置。

[0072] 在本公开内容的任何实施方案中,肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶可以共价键合至肌酐响应活性区域中的第一聚合物。用于共价键合这些酶的合适聚合物不被认为是特别受限的并且在本公开内容的特定实施方案中可以是聚乙烯基吡啶。肌酐响应活性区域中的第一聚合物和共价键合至葡萄糖氧化酶的第二聚合物可以是相同的聚合物。

[0073] 肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域(如果存在的话)可以在本文公开的任何示例性传感器配置中包含电子转移剂。当肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域都存在时,电子转移剂可以相同或不同,这取决于所采用的特定传感器配置。合适的电子转移剂可在酶促氧化或还原反应发生后促进电子向工作电极的传输,从而产生指示特定分析物的存在且与存在的分析物的量成比例的电流。例如,当肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域设置在同一工作电极上时,每个活性区域内的电子转移剂可以不同(例如,化学上不同,使得电子转移剂表现出不同的氧化还原电位)。当存在多个工作电极时,每个活性区域内的电子转移剂可以相同或不同,因为在获得信号时可以分开询问每个工作电极。电子转移剂可以与本文公开的任何活性区域中的聚合物共价键合。

[0074] 根据本公开内容的各种实施方案,合适的电子转移剂可包括具有高于或低于标准甘汞电极(SCE)的氧化还原电位数百毫伏的氧化还原电位的可电还原和可电氧化的离子、络合物或分子(例如,醌)。根据一些实施方案,合适的电子转移剂可包括低电位锇络合物,例如美国专利6,134,461和6,605,200中描述的那些,其通过引用整体并入本文。合适的电子转移剂的其他实例包括美国专利6,736,957、7,501,053和7,754,093中描述的那些,这些专利各自的公开内容通过引用整体并入本文。其他合适的电子转移剂可以包括钌、锇、铁(例如,聚乙烯基二茂铁或六氰基铁酸盐)或钴的金属化合物或络合物,包括例如它们的茂金属化合物。金属络合物的合适配体还可包括例如双齿或更高齿数的配体,例如联吡啶、联咪唑、菲咯啉或吡啶基(咪唑)。其他合适的二齿配体可以包括例如氨基酸、草酸、乙酰丙酮、二氨基烷烃或邻二氨基芳烃。单齿、双齿、三齿、四齿或更高齿数配体的任何组合可存在于金属络合物中以实现完整的配位球。

[0075] 适用于检测肌酐和/或葡萄糖的活性区域还可以包含聚合物,电子转移剂共价键合至该聚合物。本文公开的任何电子转移剂可包含合适的官能团以促进与活性区域内的聚合物的共价键合。聚合物结合的电子转移剂的合适实例可包括美国专利8,444,834、8,268,143和6,605,201中描述的那些,这些专利的公开内容通过引用整体并入本文。包含在活性

区域中的合适聚合物可包括但不限于聚乙烯基吡啶(例如,聚(4-乙烯基吡啶))、聚乙烯基咪唑(例如,聚(1-乙烯基咪唑))或其任何共聚物。可适合包含在活性区域中的示例性共聚物包括那些含有例如苯乙烯、丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺或丙烯腈的单体单元的共聚物。每个活性区域内的聚合物可以相同或不同。

[0076] 在本公开内容的特定实施方案中,覆盖肌酐响应活性区域的传质限制膜可以包含至少一种交联的聚乙烯基吡啶均聚物或共聚物,包括聚乙烯基吡啶聚苯乙烯共聚物。具有相似组成的传质限制膜也可以覆盖氧清除剂,例如葡萄糖氧化酶。传质限制膜的组成可以相同或不同,其中传质限制膜覆盖每个活性区域。用于在一个或多个活性区域上沉积传质限制膜的合适技术可以包括例如喷涂、涂漆、喷墨印刷、模板印刷、辊涂、浸涂等,以及它们的任何组合。

[0077] 每个活性区域中电子转移剂和聚合物之间的共价键合方式不被认为是特别限制的。电子转移剂与聚合物的共价键合可以通过聚合带有共价键合的电子转移剂的单体单元发生,或者电子转移剂可以在聚合物已经合成之后单独与聚合物反应。根据一些实施方案,双官能间隔基可将电子转移剂共价键合至活性区域内的聚合物,采用与聚合物反应的第一官能团(例如,能够季铵化吡啶氮原子或咪唑氮原子的官能团)和与电子转移剂反应的第二官能团(例如,与配位金属离子的配体反应的官能团)。

[0078] 类似地,活性区域内的一种或多种酶可以与聚合物共价键合。当包含多种酶的酶系统存在于给定的活性区域中时,在一些实施方案中所有多种酶可与聚合物共价键合,而在其他实施方案中,多种酶中仅一部分可与聚合物共价键合。例如,包含酶系统的一种或多种酶可以共价键合至聚合物并且至少一种酶可以与聚合物非共价缔合,使得非共价键合的酶被物理地夹带在聚合物内。根据更具体的实施方案,一种或多种酶与给定活性区域中的聚合物的共价键合可以通过引入合适交联剂的一种交联剂发生。用于与酶中的游离氨基(例如,与赖氨酸中的游离侧链胺)反应的合适交联剂可以包括交联剂,例如聚乙二醇二缩水甘油醚(PEGDGE)或其他聚环氧化物、氰尿酰氯、N-羟基琥珀酰亚胺、亚氨酸酯、环氧氯丙烷或其衍生变体。用于与酶中的游离羧酸基团反应的合适交联剂可以包括例如碳二亚胺。酶与聚合物的交联通常是分子间的,但在一些实施方案中可以是分子内的。在特定的实施方案中,本文中的所有酶可以与聚合物共价键合。

[0079] 电子转移剂和/或一种或多种酶也可以通过除共价键之外的方式与活性区域中的聚合物缔合。在一些实施方案中,电子转移剂和/或一种或多种酶可以与聚合物离子或配位地缔合。例如,带电聚合物可以与带相反电荷的电子转移剂或酶离子结合。在其他实施方案中,电子转移剂和/或一种或多种酶可以物理地夹带在聚合物内而不与其键合。物理夹带的电子转移剂和/或一种或多种酶仍可适当地与流体相互作用以促进分析物检测而基本上不会从活性区域浸出。

[0080] 在本公开内容的一些实施方案中,肌酐响应分析物传感器可以进一步结合葡萄糖响应活性区域以用于感测肌酐和葡萄糖。如上文参考图4A-6D所讨论的,当肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域二者都存在时,肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域可以存在于相同的工作电极上或不同的工作电极上。下面将更详细地讨论在任一位置结合葡萄糖响应活性区域的考虑。在本文中包括肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域两者的任何传感器配置中,对葡萄糖检测无功能的葡萄糖氧化酶可以设置在覆盖肌酐响应活性区域的

膜上或在无法将电子传送到与肌酐响应活性区域相关的工作电极的另一个位置。

[0081] 如下文所述,当肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域布置在单个工作电极上时,活性区域之一可以被配置为使得它可以被分开询问以促进每个分析物的检测。具体而言,肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域可包含不同的电子转移剂,以允许活性区之一独立于另一个产生信号。肌酐响应活性区域或葡萄糖响应活性区域中的任一个可以被配置为独立于另一个活性区域产生信号。

[0082] 在肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域布置在单个工作电极上的实施方案中,与葡萄糖响应活性区域相关的氧化还原电位可以与肌酐响应活性区域分离至少约100mV,或至少约150mV,或至少约200mV。氧化还原电位之间的分离上限由体内的工作电化学窗口决定。通过使两个活性区域的氧化还原电位在幅度上彼此充分分离,电化学反应在两个活性区域之一内(即,在葡萄糖响应活性区域或肌酐响应活性区域内)发生基本上不会在另一个活性区域内引发电化学反应。因此,来自葡萄糖响应活性区域或肌酐响应活性区域中的一个的信号可以等于或高于其相应的氧化还原电位(较低的氧化还原电位)但低于葡萄糖响应活性区域和肌酐响应活性区域中的另一个的氧化还原电位(较高的氧化还原电位)独立地产生。相反,等于或高于之前未询问的其他活性区域的氧化还原电位(较高的氧化还原电位)时,电化学反应可能发生在葡萄糖响应活性区域和肌酐响应活性区域二者内。因此,等于或高于较高的氧化还原电位所得的信号可包括来自葡萄糖响应活性区域和肌酐响应活性区域两者的信号贡献,并且观察到的信号是复合信号。然后可以通过从复合信号中减去仅从葡萄糖响应活性区域或肌酐响应活性区域中的任一个获得的信号,确定等于或高于其相应的氧化还原电位时来自一个活性区域(葡萄糖响应活性区域或肌酐响应活性区域)的信号贡献。

[0083] 在更具体的实施方案中,当活性区域位于同一工作电极上时,葡萄糖响应活性区域和肌酐响应活性区域可含有不同的电子转移剂,以提供彼此在量级上足够分离的氧化还原电位。更具体而言,葡萄糖响应活性区域可包含第一电子转移剂而肌酐响应活性区域可包含第二电子转移剂,其中第一电子转移剂和第二电子转移剂不同。根据本公开内容的各种实施方案,可以改变给定电子转移剂中存在的金属中心和/或配体以提供两个活性区域内氧化还原电位的充分分离。

[0084] 理想情况下,位于单个工作电极上的葡萄糖响应活性区域和肌酐响应活性区域可以被配置为在给定电位下操作分析物传感器时快速获得稳态电流。可以通过为每个活性区域选择一种电子转移剂来促进稳态电流的快速获得,该电子转移剂在暴露于等于或高于其氧化还原电位的电位时会迅速改变其氧化态。使活性区域尽可能薄还可以促进快速获得稳态电流。例如,葡萄糖响应活性区域和肌酐响应活性区域的合适厚度可以在约0.1微米至约10微米的范围内。在一些或其他实施方案中,在一个或多个活性区域内结合诸如碳纳米管、石墨烯或金属纳米颗粒的导电材料可促进快速达到稳态电流。导电粒子的合适量可以为活性区域的约0.1重量%至约50重量%,或约1重量%至约50重量%,或约0.1重量%至约10重量%,或约1重量%至约10重量%。也可以使用稳定剂来促进响应稳定性。

[0085] 还应当理解,可以通过改变活性区域的覆盖范围(面积或尺寸)、活性区域相对于彼此的面积比、覆盖活性区域的质量传输限制膜的特性、厚度和/或组成来改变分析物传感器对每个分析物的灵敏度(输出电流)。一旦获得本文公开的益处,本领域普通技术人员可

以容易地改变这些参数。

[0086] 本文公开的分析物传感器的其他实施方案可以以不同工作电极的表面上的肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域为特征。这种分析物传感器还可以包括第二工作电极、设置在第二工作电极表面上的葡萄糖响应活性区域和可渗透葡萄糖并覆盖葡萄糖响应活性区域的第二膜。葡萄糖响应活性区域可包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至第三聚合物的葡萄糖氧化酶。第三聚合物可以与分别与肌酐响应活性区或对检测葡萄糖无功能的葡萄糖氧化酶相关的第一聚合物和/或第二聚合物相同或不同。当肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域设置在分开的工作电极上时,与每个活性区域相关的电子转移剂可以相同或不同。

[0087] 因此,本公开内容的能够检测肌酐和葡萄糖两者的某些分析物传感器可以包含:传感器尾部,其包含第一工作电极和第二工作电极;设置在第一工作电极的表面上的肌酐响应活性区域,肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进检测肌酐的多种酶的酶系统,酶系统包含:肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶;可渗透肌酐并覆盖肌酐响应活性区域的第一膜;共价键合至第二聚合物并位于第一膜上的葡萄糖氧化酶;设置在第二工作电极的表面上的葡萄糖响应活性区域,葡萄糖响应活性区域包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至第三聚合物的葡萄糖氧化酶;以及可渗透葡萄糖并覆盖葡萄糖响应活性区域的第二膜。这种分析物传感器还可包括覆盖葡萄糖氧化酶的第三膜,该第三膜设置在第一膜上。第一膜、第二膜和第三膜(如果存在的话)在特定实施方案中可以在组成上相同。

[0088] 用于测定肌酐的检测方法可以包括:将分析物传感器暴露于至少包含肌酐的流体,其中所述分析物传感器包含传感器尾部,所述传感器尾部包含至少第一工作电极、设置在其表面上的肌酐响应活性区域,可渗透肌酐并覆盖肌酐响应活性区域的第一膜,以及位于传感器尾部靠近肌酐响应活性区域的氧清除剂。肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物、包含能够协同作用以促进肌酐检测的多种酶的酶系统。该酶系统包含肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶,在特定实施方案中,所有这些酶都可以共价键合至第一聚合物。所述方法还可包括向第一工作电极施加电位,获得等于或高于与流体中肌酐浓度成比例的肌酐响应活性区域的氧化还原电位的第一信号,以及将第一信号与流体中的肌酐浓度相关联。在本公开内容的特定实施方案中,流体可以是生物流体。在更具体的实施方案中,葡萄糖可以与肌酐组合存在于流体中。

[0089] 在一些实施方案中,第一信号可以通过查阅查找表或校准曲线与相应的肌酐浓度相关联。肌酐查找表可以通过测定具有已知肌酐浓度的多个样品并记录每个浓度下的传感器响应来填充。类似地,肌酐的校准曲线可以通过将分析物传感器响应绘制为肌酐浓度的函数并在校准范围内确定合适的校准函数来确定(例如,通过回归,特别是线性回归)。

[0090] 处理器可以确定查找表中的哪个传感器响应值最接近为具有未知分析物浓度的样品测量的值,然后相应地报告分析物浓度。在一些或其他实施方案中,如果具有未知分析物浓度的样品的传感器响应值在查找表中的记录值之间,则处理器可以在两个查找表值之间内插以估计分析物浓度。内插可以假设查找表中报告的两个值之间存在线性浓度变化。当传感器响应与查找表中的给定值相差足够大时,例如约10%或更大的变化,可以采用内插法。

[0091] 同样,根据一些或其他各种实施方案,处理器可以将具有未知分析物浓度的样品的传感器响应值输入到相应的校准函数中。然后处理器可以相应地报告分析物浓度。

[0092] 传感器尾部可以进一步包含其上设置有葡萄糖响应活性区域的第二工作电极,并且其中葡萄糖响应活性区域可以包括第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至第三聚合物的葡萄糖氧化酶。因此,该方法还可以包括:向第二工作电极施加电位,获得等于或高于与流体中葡萄糖浓度成比例的葡萄糖响应活性区域的氧化还原电位的第二信号,以及将第二信号与流体中的葡萄糖浓度相关联。

[0093] 使用在单个工作电极上具有肌酐响应活性区域和葡萄糖响应活性区域的分析物传感器分析肌酐和/或葡萄糖的检测方法可以包括:将分析物传感器暴露于包含肌酐和葡萄糖中的至少一种的流体。分析物传感器可以包含传感器尾部,该传感器尾部包含至少一个工作电极,特别是单个工作电极,以及设置在工作电极表面上并彼此间隔开的至少一个肌酐响应活性区域和一个葡萄糖响应活性区域。除了葡萄糖响应活性区域中的葡萄糖氧化酶之外,膜可以覆盖肌酐响应活性区域,并且与聚合物共价键合的葡萄糖氧化酶可以设置在膜上。肌酐响应活性区域包含酶系统,该酶系统包含两种或更多种能够协同作用以促进肌酐检测的酶、共价键合至酶的第一聚合物和共价键合至第一聚合物的第一电子转移剂。葡萄糖响应活性区包含葡萄糖氧化酶、共价键合至葡萄糖氧化酶的第三聚合物和共价键合至第三聚合物的第二电子转移剂。如本文更详细讨论的,当葡萄糖响应活性区域和肌酐响应活性区域位于单个工作电极上时,第一电子转移剂和第二电子转移剂在组成上彼此不同。每个活性区域具有氧化还原电位,肌酐响应活性区域的氧化还原电位与葡萄糖反应活性区域的氧化还原电位充分分离,以允许从其中一个活性区域产生信号。该方法另外包括:获得等于或高于较低的氧化还原电位但低于较高的氧化还原电位的第一信号,使得第一信号与流体中葡萄糖或肌酐之一的浓度成比例;获得等于或高于较高的氧化还原电位的第二信号,使得第二信号是复合信号,其包括来自葡萄糖响应活性区域的信号贡献和来自肌酐响应活性区域的信号贡献;以及从第二信号中减去第一信号以获得差值信号,差值信号与葡萄糖和肌酐之一的浓度成比例。

[0094] 在更具体的实施方案中,与肌酐响应活性区域相关的氧化还原电位可以与葡萄糖响应活性区域的氧化还原电位分离至少约100mV,或至少约150mV,或至少约200mV,以便为独立地产生来自第一活性区域的信号提供足够的分离。不同的氧化还原电位可能是由于在活性区域中加入了不同的电子转移剂。

[0095] 采用分析物传感器测定肌酐和/或葡萄糖的检测方法可以包括:将分析物传感器暴露于包含葡萄糖和肌酐中的至少一种的流体。分析物传感器包含至少包含第一工作电极和第二工作电极的传感器尾部、设置在第一工作电极表面上的肌酐响应活性区域、设置在第二工作电极表面上的葡萄糖响应活性区域,以及覆盖肌酐响应活性区域的第一膜,以及覆盖葡萄糖响应活性区域的第二膜。葡萄糖响应活性区域包含葡萄糖响应酶,例如葡萄糖氧化酶,而肌酐响应活性区域包含酶系统,酶系统包含至少两种能够协同作用以促进肌酐检测的酶。

[0096] 该方法还可以包括向第一工作电极施加电位并且向第二工作电极施加电位,获得等于或高于肌酐响应活性区域的氧化还原电位的第一信号,其中第一信号与流体中肌酐的浓度成比例,获得等于或高于葡萄糖响应活性区域的氧化还原电位的第二信号,其中第二

信号与流体中的葡萄糖浓度成比例,并且将第一信号与流体中肌酐的浓度相关联和将第二信号与流体中葡萄糖浓度相关联。

[0097] 根据更具体的实施方案,可以在不同时间测量第一信号和第二信号。因此,在这样的实施方案中,可以向第一工作电极和第二工作电极交替地施加电位。在其他具体实施方案中,可以通过第一通道和第二通道同时测量第一信号和第二信号,在这种情况下,可以同时向两个电极施加电位。在任一情况下,与每个活性区域相关的信号然后可以以与上面讨论的类似的方式使用查找表或校准函数与肌酐和葡萄糖的浓度相关联。

[0098] 本文公开的实施方案包括:

[0099] A.响应于肌酐的分析物传感器。分析物传感器包含:包含至少第一工作电极的传感器尾部;设置在第一工作电极的表面上的肌酐响应活性区域,肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进检测肌酐的多种酶的酶系统,酶系统包含:肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶;可渗透肌酐并覆盖肌酐响应活性区域的第一膜;以及位于传感器尾部靠近肌酐响应活性区域的氧清除剂。

[0100] B.响应于肌酐和葡萄糖的分析物传感器。分析物传感器包含:包括第一工作电极和第二工作电极的传感器尾部;在第一工作电极的表面上的肌酐响应活性区域设置,肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进检测肌酐的多种酶的酶系统,酶系统包含:肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶;可渗透肌酐并覆盖肌酐反应活性区域的第一膜;共价键合至第二聚合物并位于第一膜上的葡萄糖氧化酶;设置在第二工作电极的表面上的葡萄糖响应活性区域,葡萄糖响应活性区域包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至第三聚合物的葡萄糖氧化酶;以及可渗透葡萄糖并覆盖葡萄糖反应活性区域的第二膜。

[0101] C.使用分析物传感器测定肌酐的方法。该方法包括:将分析物传感器暴露于包含至少肌酐的流体;其中分析物传感器包含传感器尾部,该传感器尾部包含至少第一工作电极、设置在第一工作电极表面上的肌酐响应活性区域、可渗透肌酐并覆盖肌酐响应活性区域的第一膜,以及位于传感器尾部靠近肌酐响应活性区域的氧清除剂;其中肌酐响应活性区域包含第一电子转移剂、第一聚合物和包含能够协同作用以促进肌酐的检测的多种酶的酶系统,所述酶系统包含:肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶;向第一工作电极施加电位;获得等于或高于肌酐响应活性区域的氧化还原电位的第一信号,第一信号与流体中的肌酐浓度成比例;并将第一信号与流体中肌酐的浓度相关联。实施方案A-D中的每一个都可以具有任意组合的一个或多个以下附加元件:

[0102] 元件1:其中氧清除剂通过第一膜与肌酐响应活性区分开。

[0103] 元件2:其中氧清除剂包含氧化酶。

[0104] 元件3:其中氧清除剂包含葡萄糖氧化酶。

[0105] 元件4:其中葡萄糖氧化酶共价键合至第二聚合物。

[0106] 元件5:其中氧清除剂设置在第一膜上,任选地其中氧清除剂包含氧化酶,任选地其中氧清除剂包含葡萄糖氧化酶,任选地其中葡萄糖氧化酶共价键合至第二聚合物。

[0107] 元件6:其中肌酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶各自共价键合至第一聚合物。

[0108] 元件7:其中分析物传感器还包含第二工作电极;设置在第二工作电极的表面上的

葡萄糖响应活性区域,葡萄糖响应活性区域包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至第三聚合物的葡萄糖氧化酶;以及可渗透葡萄糖并覆盖葡萄糖反应活性区域的第二膜。

[0109] 元件8:其中分析物传感器还包括共价键合至第二聚合物并设置在第一膜上的葡萄糖氧化酶。

[0110] 元件9:其中第一膜和第二膜在组成上相同。

[0111] 元件10:其中位于第一膜上的葡萄糖氧化酶被第三膜覆盖,第三膜也可渗透肌酐。

[0112] 元件11:其中第一膜、第二膜和第三膜在组成上相同。

[0113] 元件12:其中氧清除剂设置在第一膜上。

[0114] 元件13:其中氧清除剂包含共价键合至第二聚合物的葡萄糖氧化酶。

[0115] 元件14:其中传感器尾部还包含第二工作电极,该第二工作电极具有设置在第二工作电极表面上的葡萄糖响应活性区域,葡萄糖响应活性区域包含第二电子转移剂、第三聚合物和共价键合至第三聚合物的葡萄糖氧化酶,该方法还包括:向第二工作电极施加电位;获得等于或高于葡萄糖反应活性区域的氧化还原电位的第二信号,该第二信号与流体中的葡萄糖浓度成比例;并将第二信号与流体中的葡萄糖浓度相关联。

[0116] 元件15:其中第一信号和第二信号是在不同时间获得的。

[0117] 元件16:其中第一信号和第二信号是通过第一通道和第二通道同时获得的。

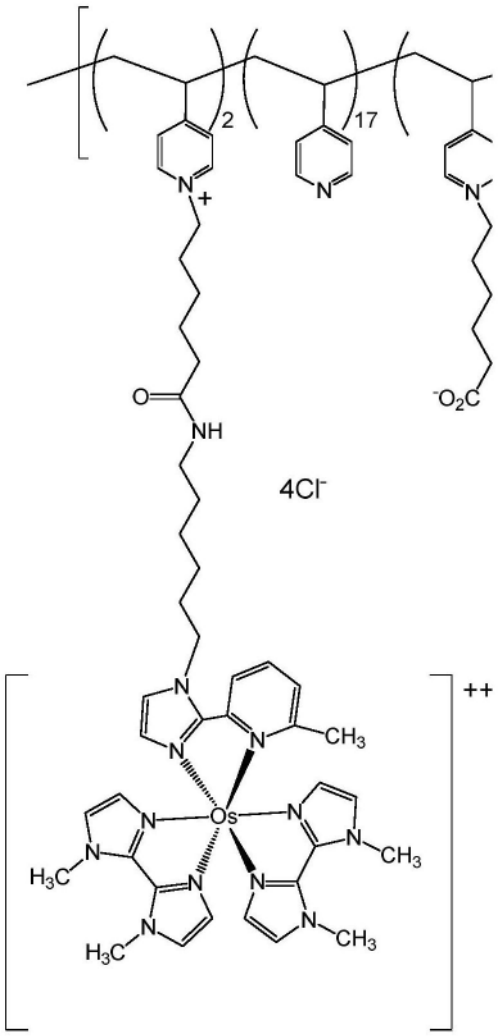
[0118] 作为非限制性示例,适用于A的示例性组合包括:1和2;1和3;1、3和4;1和5;1、5和6;1和7;1、3和7;1、3、4和7;1、5和7;1和5-7;1和8;1、7和8;1、3、4和7;1、5和7;1和5-7;1、6和7;1、3、4、6和7;1、3、4和6-8;1、3、4、6、7和9;1和5-10;1和5-11;1和5-12;2和3;2-4;2和6;2和7;3和6;3、6和7;3和7;3和8;3、7和8;3、8和9;3、7和8;3和7-9;3和8-10;3和8-11;3和8-12;3、4和7;3、4、8和9;3、4和7-10;3、4和7-11;4和5;5和6;5-7;5和7;7和9;7、9和10;7和9-11;7和8;适用于B的示例性组合包括10和11;以及8和9。9和10;6和10;适用于C的示例性组合包括1和3;以及6和11。1和6;1、3和6;1和9;1、3和9;1、3和10;1、3、10和11;6和12;6和13;6和14;6和15;6和16;12和13;12和14;12和15;12和16;13和14;13和15;13和16;14和15;和14和16。

[0119] 为了便于更好地理解本文的公开内容,给出了各种代表性实施例的以下实施例。以下实施例绝不应被解读为限制或定义本发明的范围。

实施例

[0120] 制备了具有式1所示结构的聚(乙烯基吡啶)结合的过渡金属络合物。在共同拥有的美国专利6,605,200中提供了关于该过渡金属络合物及其电子转移的更多细节,该专利通过引用并入本文。每个单体的下标代表示例性的原子比而不表示任何特定的单体顺序。

[0121]



式 1

[0122] 将下表1中指定的缓冲点样制剂(10mM MES缓冲液)沉积在碳工作电极上以形成肌酐响应活性区域。用15nL点样制剂进行沉积以形成作为具有0.12mm^{2}面积的单个点的肌酐响应活性区域。沉积后,肌酐响应活性区域在25℃下固化过夜。此后,使用由4mL在80:20的乙醇/10mM HEPES缓冲液(pH=8)中的35mg/mL聚乙烯基吡啶-共聚苯乙烯、0.1mL 100mg/mL PEGDGE400和3.3μL PDMS配制的涂布溶液将膜浸涂到肌酐响应活性区域。在此阶段不进行固化。

[0123] 表1

[0124]

组分	浓度(mg/mL)
CNH	20
CRH	40
SOX	5
式1的聚合物	8.5
PEGDGE400	6.5

[0125] 在肌酐响应活性区域上涂覆膜之后,将如表2中所指定的含有葡萄糖氧化酶的缓

冲点样制剂沉积在膜上。具体而言,将15 nL点样制剂以0.05 mm^2的面积沉积在膜上,然后在25℃下固化过夜。此后,使用上述相同的涂布溶液进行浸涂以在沉积的葡萄糖氧化酶上形成膜。

[0126] 表2

[0127]

组分	浓度(mg/mL)
GOX	32.8
PVI (pH = 5.8)	27.2
PEGDGE400	10

[0128] 如上制备对照电极,不同之处在于省略了在肌酐响应活性区域上的葡萄糖氧化酶沉积。

[0129] 肌酐分析是通过将电极浸入同样含有不同量肌酐(20μM、40μM、60μM、80μM、100μM、130μM和200μM)并测量电流响应。在相同条件下也测试了肌酐响应活性区域上缺乏葡萄糖氧化酶的对照电极。图8显示了当在33℃下暴露于不同肌酐浓度时,包含用葡萄糖氧化酶覆盖的肌酐响应活性区域的分析物传感器的三个重复的电流响应的示例性图。如图所示,在暴露于新的肌酐浓度后的几分钟内,电流反应增加,此后稳定。相比之下,在肌酐反应活性区域上缺乏葡萄糖氧化酶覆盖的两个对照传感器对任何浓度的肌酐均无反应。图9显示了当暴露于不同的肌酐浓度(20μM、40μM、60μM、80μM、100μM、130μM和200μM)。如图所示,传感器响应在测试浓度范围内基本上是线性的。缺乏葡萄糖氧化酶覆盖的对照传感器再次显示对肌酐基本上没有反应,可能是由于氧气对酶系统的干扰。

[0130] 除非另有说明,否则本说明书和相关权利要求中表示数量等的所有数字应理解为在所有情况下都被术语“约”修饰。因此,除非有相反的指示,否则在以下说明书和所附权利要求书中阐述的数值参数是近似值,其可以根据本发明的实施方案寻求获得的期望特性而变化。起码而不是试图将等效原则的应用限制在权利要求的范围内,每个数值参数至少应根据报告的有效数字的数量并通过应用普通的舍入技术来解释。

[0131] 本文呈现了结合各种特征的一个或多个示例性实施方案。为了清楚起见,在本申请中并未描述或示出物理实现的所有特征。可以理解,在包含本发明实施方案的物理实施方案的开发中,必须做出许多特定于实现的决策来实现开发者的目标,例如遵守系统相关的、业务相关的、政府相关的以及其他限制,这些限制因实施和不时而异。虽然开发者的劳动可能是耗时的,但是这样的劳动对于本领域技术人员来说将是常规工作并且受益于本公开内容。

[0132] 虽然各种系统、工具和方法在本文中以“包含/包括”各种组分或步骤的方式被描述,但是系统、工具和方法也可以“基本上由各种组分和步骤组成”或“由其组成”。

[0133] 如本文所用,在一系列项目之前的短语“至少一个/种”并且用术语“和”或“或”来分隔任何项目,将列表作为一个整体修改,而不是修改列表中的每个成员(即每个项目)。短语“至少一个/种”允许包括项目中的任何一项中的至少一项、和/或项目的任何组合中的至少一项、和/或每项中的至少一项的含义。例如,短语“A、B和C中的至少一个/种”或“A、B或C

中的至少一个/种”各自仅指A、仅B或仅C;A、B和C的任意组合;和/或A、B和C中的每一个中的至少一个/种。

[0134] 因此,所公开的系统、工具和方法非常适合于实现所提及的目的和优点以及其中固有的那些目的和优点。以上公开的特定实施方案仅是示例性的,因为本公开内容的教导可以以不同但等效的方式修改和实践,这对于受益于本文教导的本领域技术人员是显而易见的。此外,除了在所附权利要求书中描述的之外,不旨在限制这里所示的构造或设计的细节。因此很明显,上面公开的特定示例性实施方案可以被改变、组合或修改,并且所有这些变化都被认为在本公开内容的范围内。在没有本文未具体公开的任何元件和/或本文公开的任何任选元件的情况下,本文示例性公开的系统、工具和方法可以适当地实施。虽然系统、工具和方法是根据“包含”、“含有”或“包括”各种组分或步骤来描述的,但系统、工具和方法也可以“基本上由各种组分和步骤组成”或“由其组成”。上文公开的所有数字和范围可能会有所不同。每当公开具有下限和上限的数值范围时,具体公开落入该范围内的任何数值和任何包括的范围。具体而言,本文公开的值的每个范围(形式为“约a到约b”,或等效地“约a到b”,或等效地,“约a-b”)应理解为列出更广泛的数值范围内的每个数字和范围。此外,除非专利权人另有明确和明确的定义,否则权利要求书中的术语具有其简单、普通的含义。此外,在权利要求书中使用的不定冠词“a”或“an”在本文中被定义为表示它引入的一个或多个元件。如果本说明书中的词语或术语的用法与可能通过引用并入本文的一个或多个专利或其他文件发生冲突,则应采用与本说明书一致的定义。

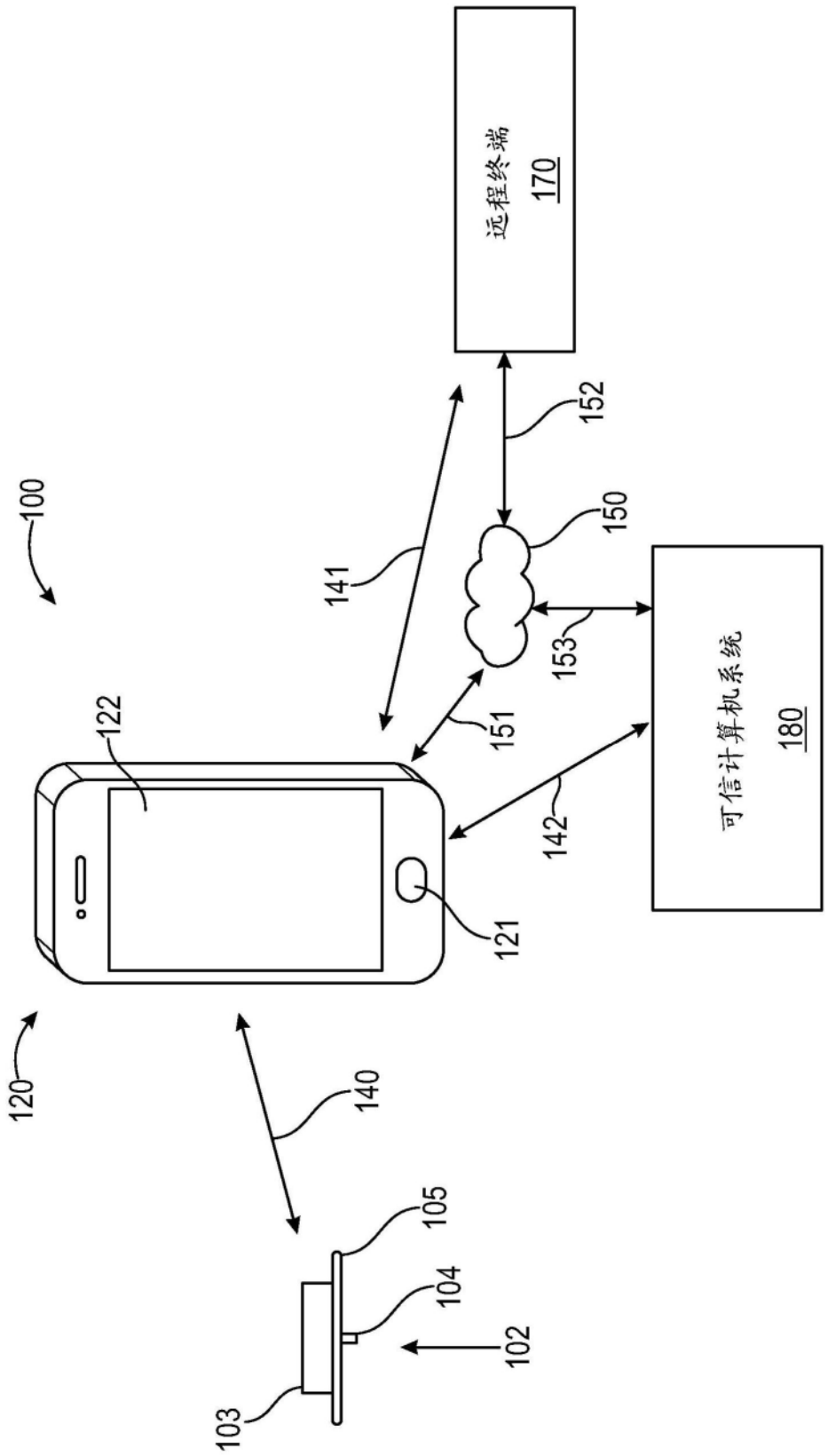

远程终端
170
152
150
141
100
153
可信计算机系统
180
151
122
142
121
120
140
105
104
102
103

图1

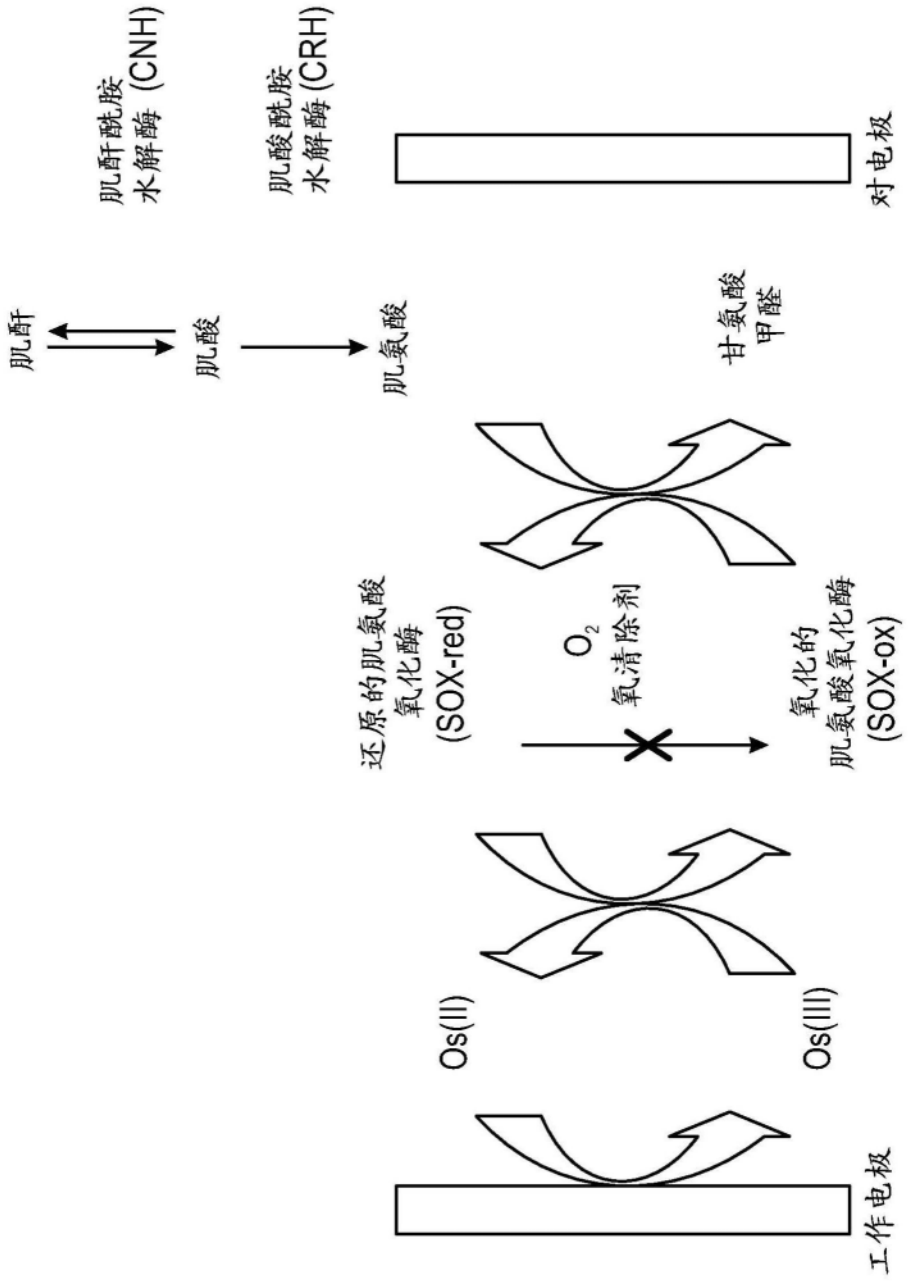

肌酐
肌酐酰胺
水解酶 (CNH)
肌酸
肌酸酰胺
水解酶 (CRH)
肌氨酸
对电极
甘氨酸
甲醛
还原的肌氨酸
氧化酶
(SOX-red)
O_2
氧清除剂
氧化的
肌氨酸氧化酶
(SOX-ox)
Os(II)
Os(III)
工作电极

图2A

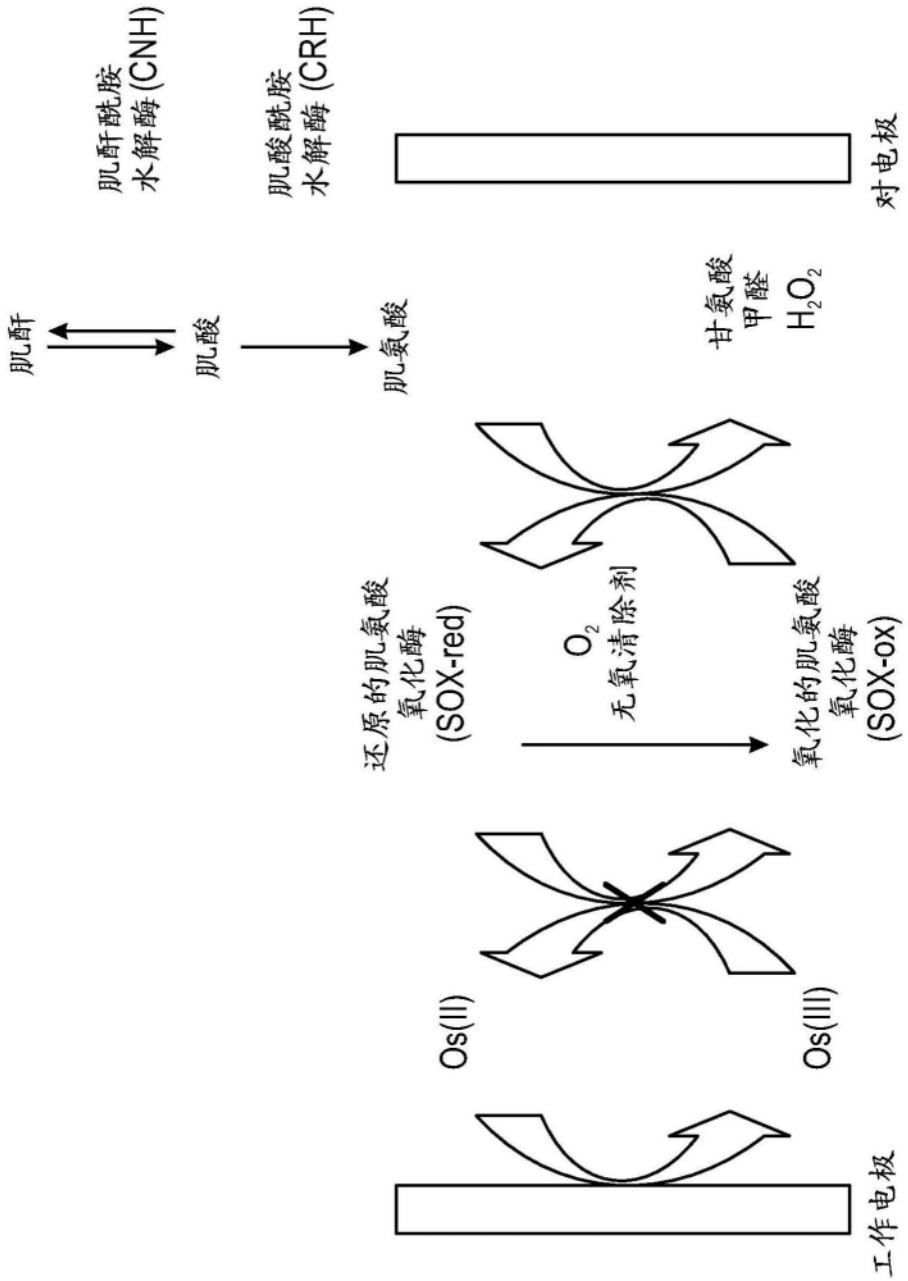

肌酐
肌酸
肌酐酰胺
水解酶(CNH)
肌酸酰胺
水解酶(CRH)
肌氨酸
还原的肌氨酸
氧化酶
(SOX-red)
O_2
无氧清除剂
氧化的肌氨酸
氧化酶
(SOX-ox)
甘氨酸
甲醛
H_2O_2
Os(II)
Os(III)
工作电极
对电极

图2B

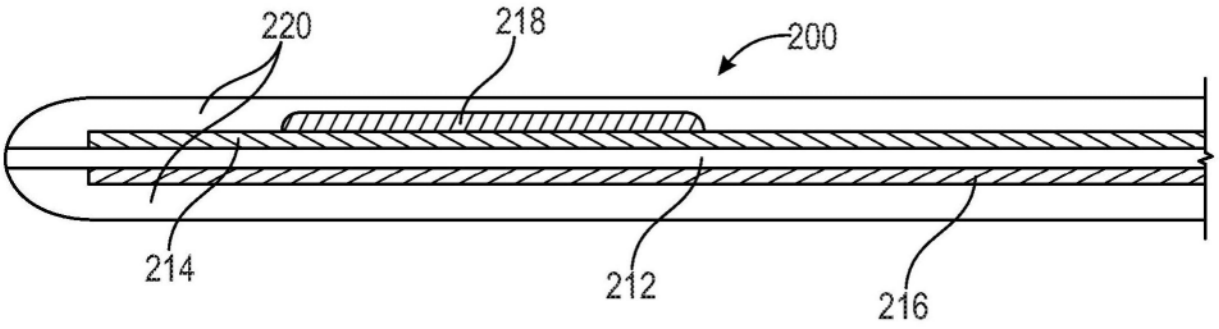

220
218
200
214
212
216

图3A

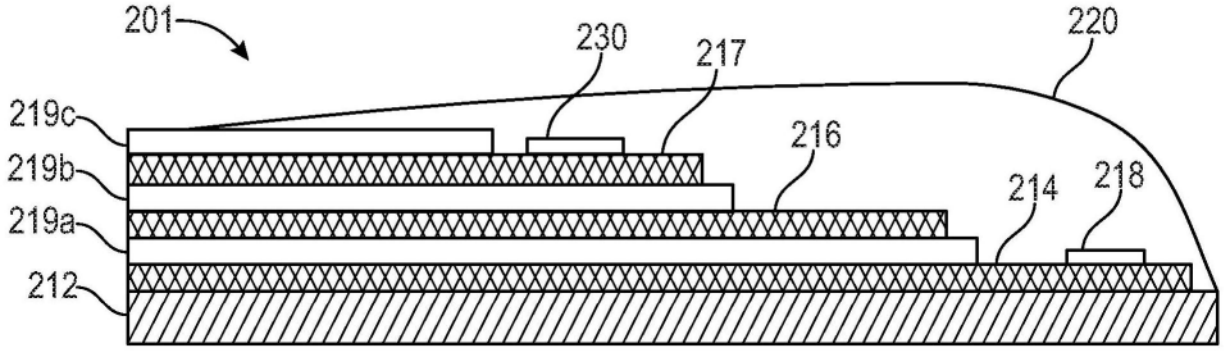

201
230
217
220
219c
219b
219a
212
216
214
218

图3B

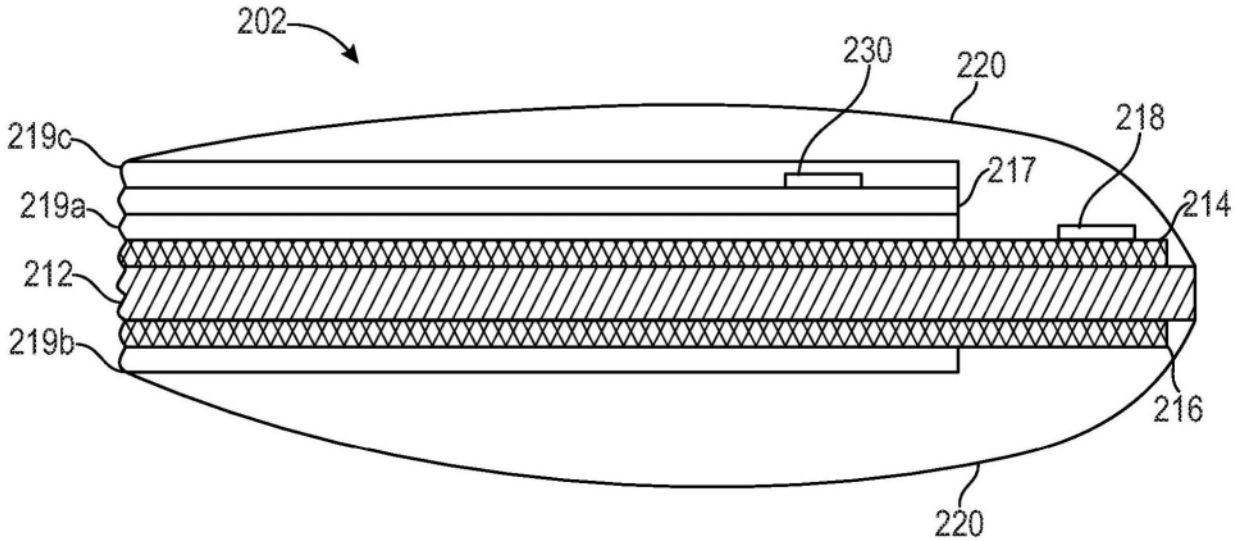

202
230
220
218
219c
217
219a
214
212
219b
216
220

图3C

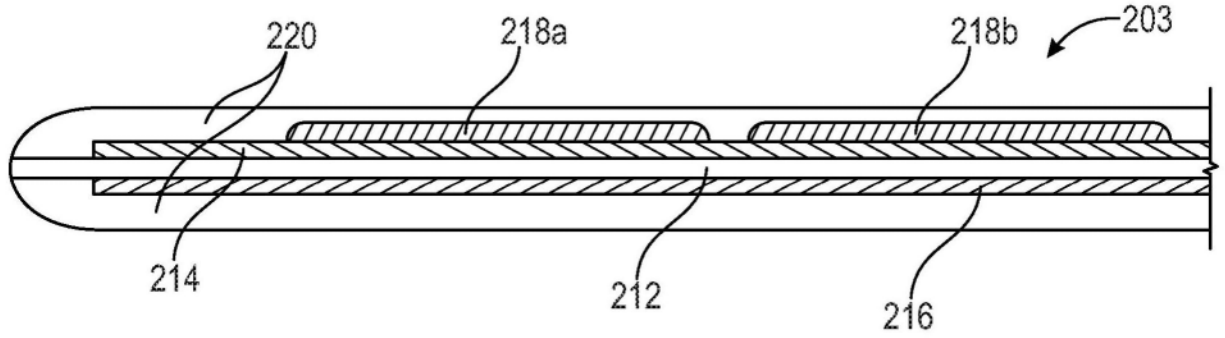

220
218a
218b
203
214
212
216

图4A

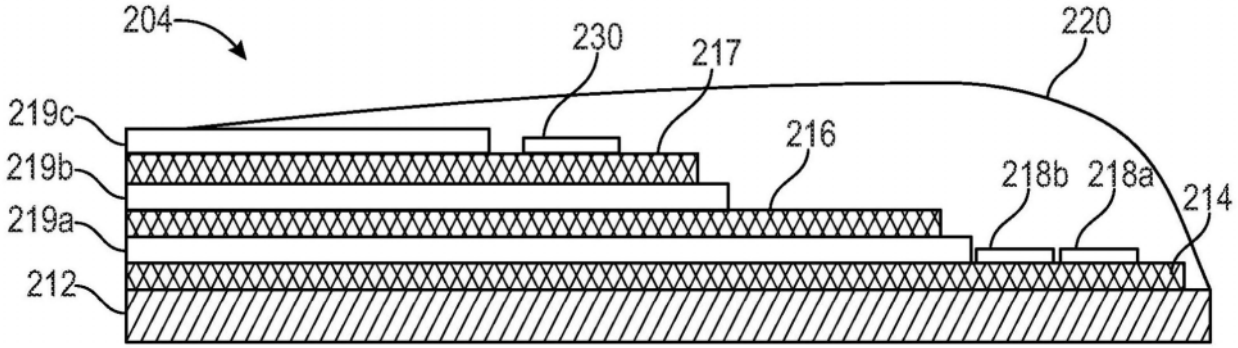

204
230
217
220
219c
219b
219a
212
216
218b
218a
214

图4B

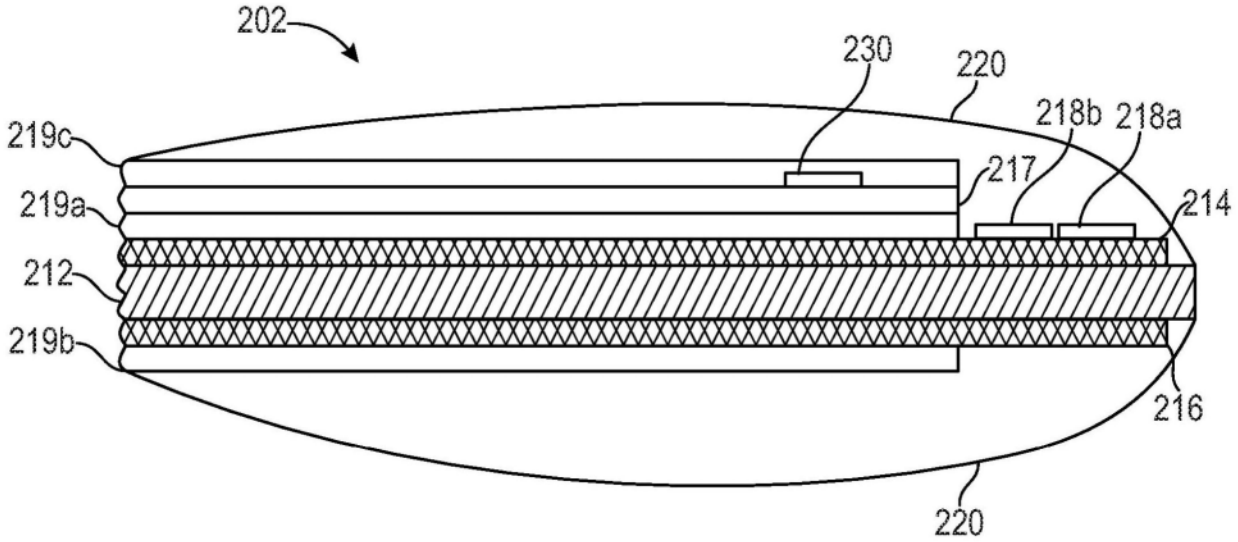

202
230
220
218b
218a
219c
217
219a
214
212
219b
216
220

图4C

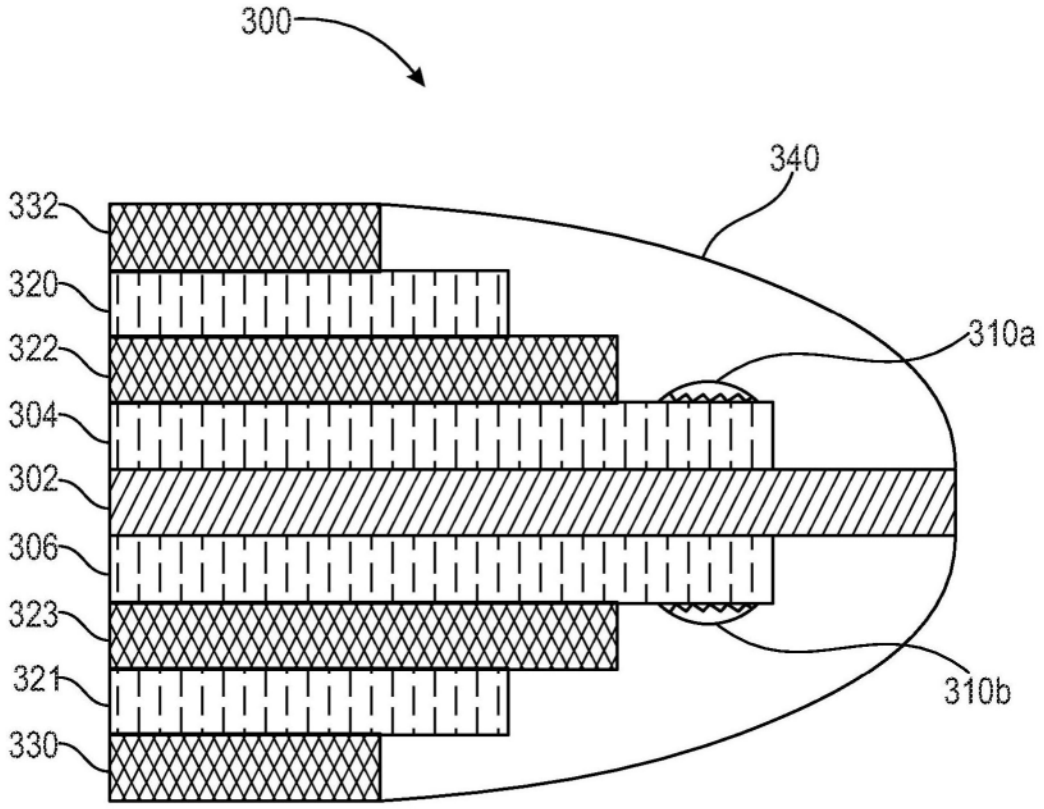


图5

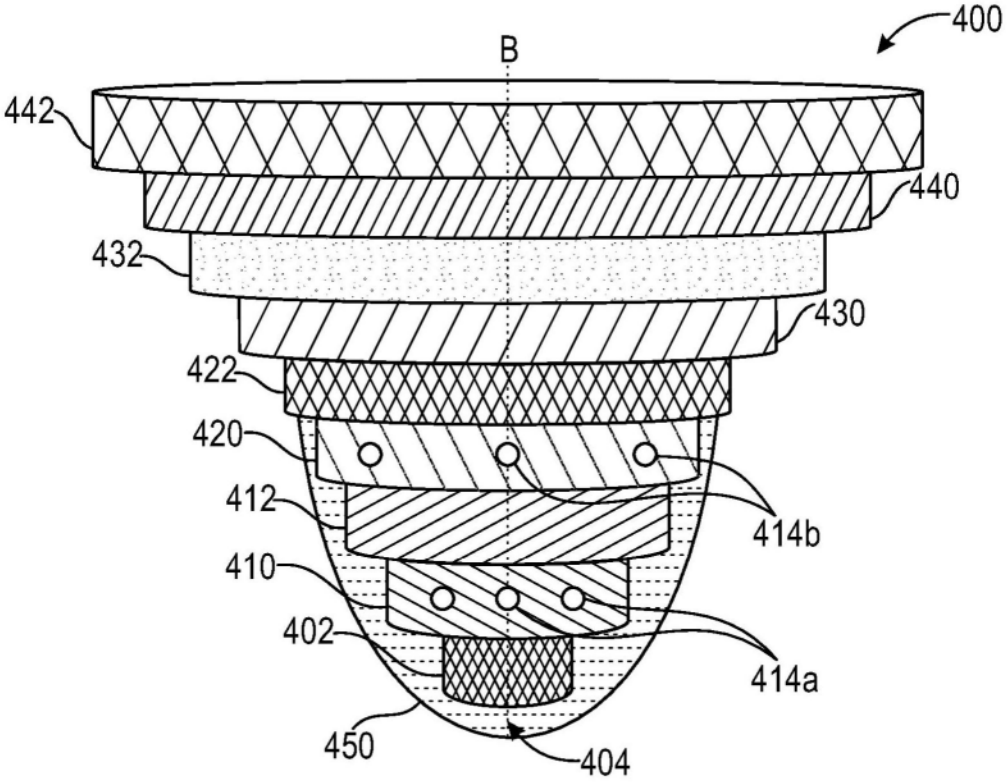

400
B
442
440
432
430
422
420
412
414b
410
402
414a
450
404

图6A

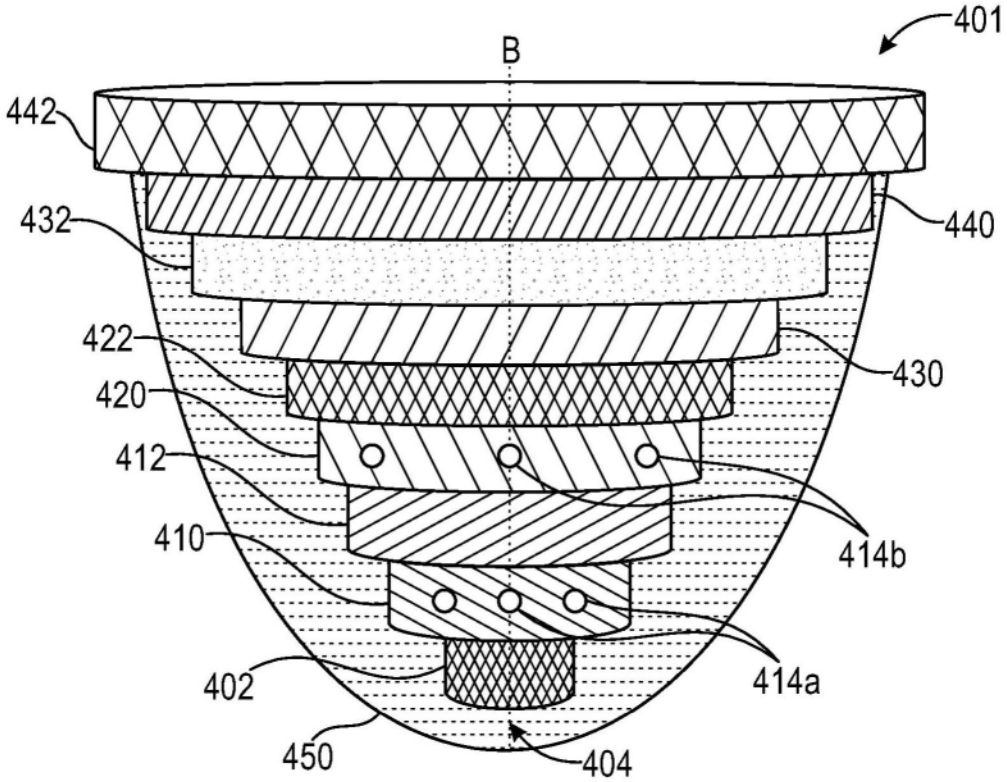

401
B
442
440
432
430
422
420
412
414b
410
402
414a
450
404

图6B

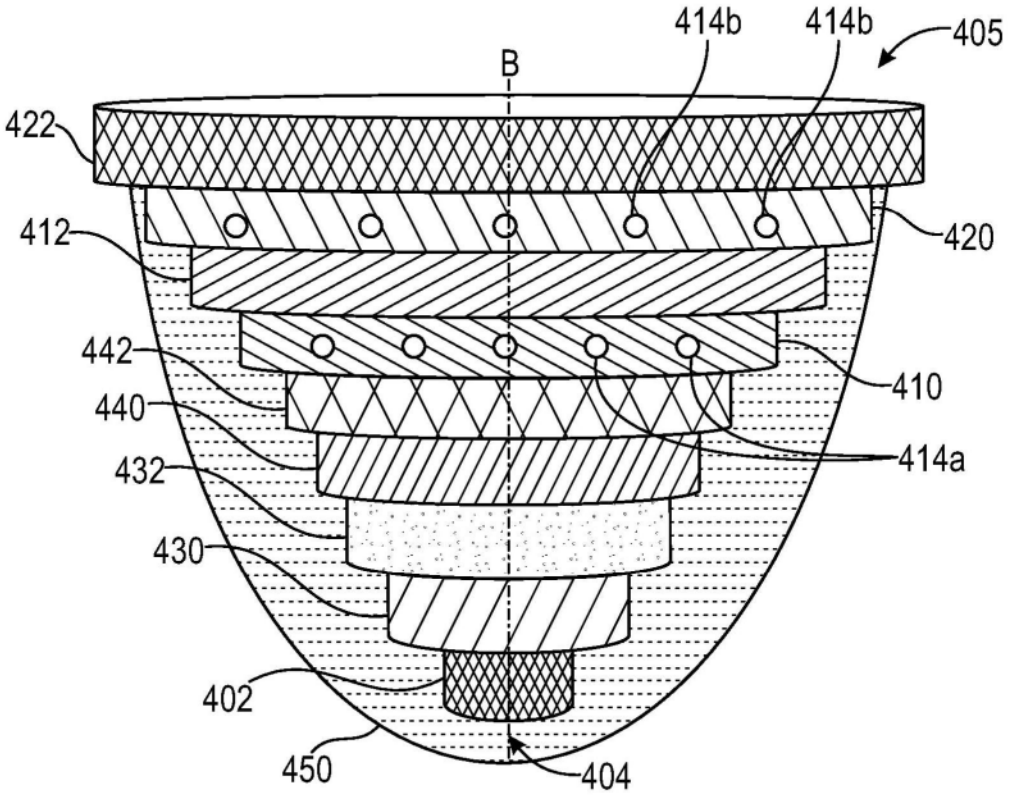

414b
414b
405
B
422
412
420
442
410
440
414a
432
430
402
450
404

图6C

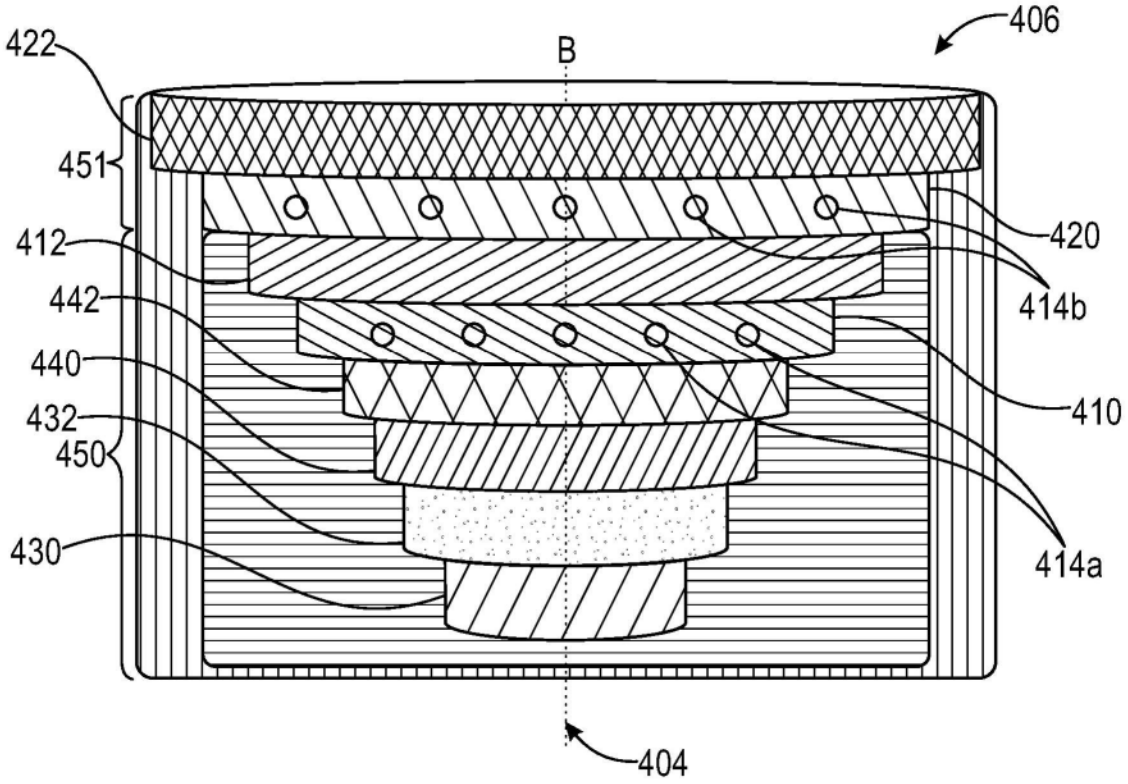

406
422
B
451
420
412
414b
442
440
410
432
450
430
414a
404

图6D

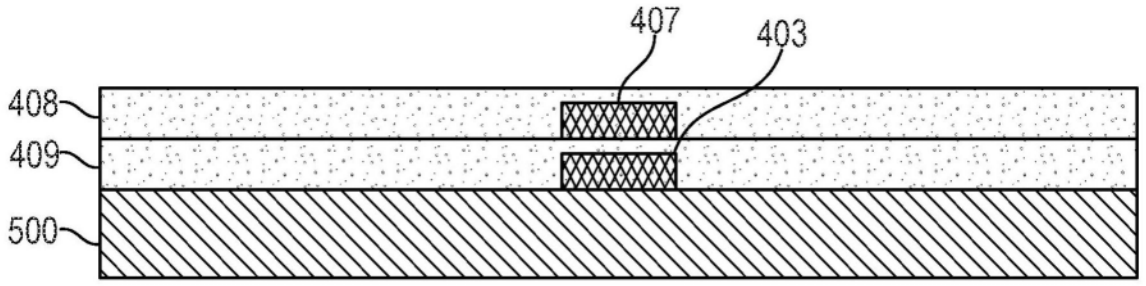

407
403
408
409
500

图7A

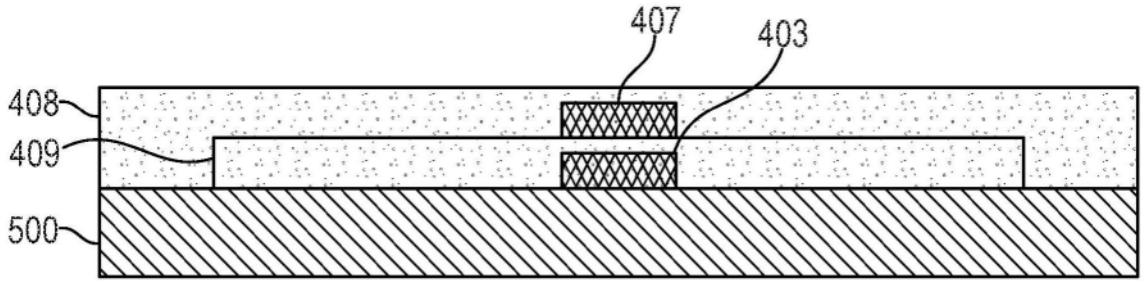

407
403
408
409
500

图7B

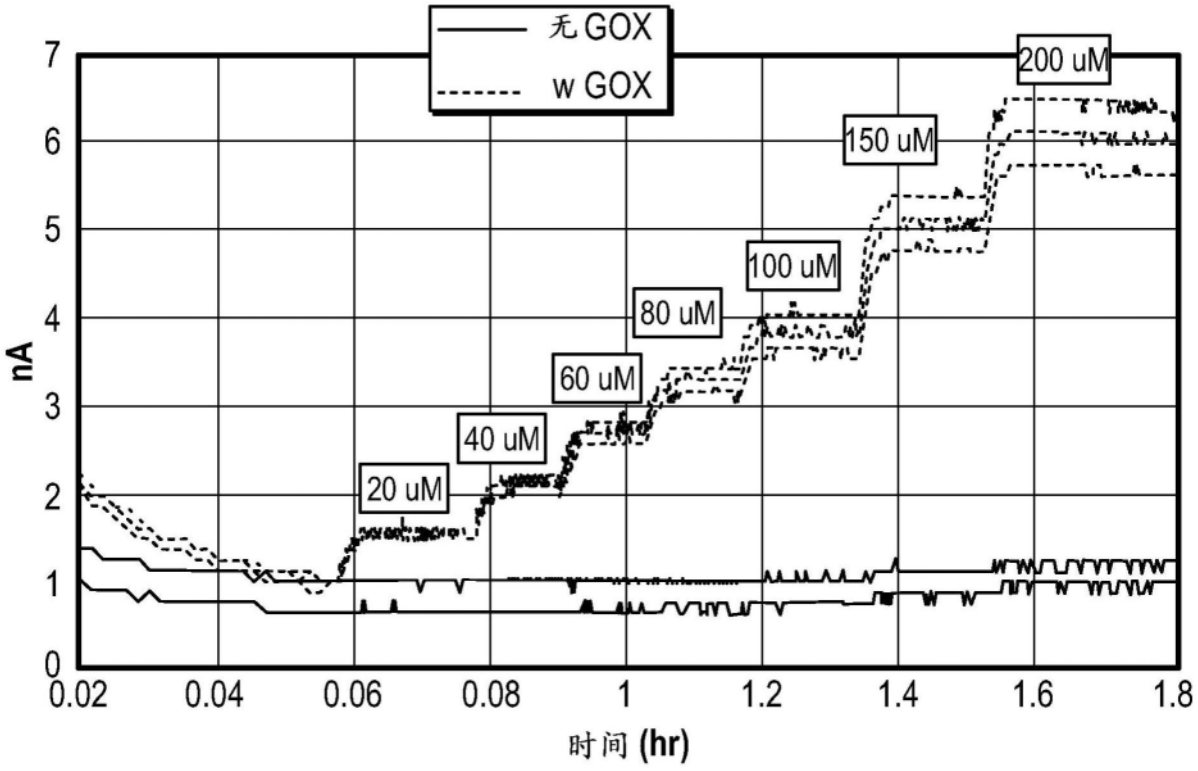

无 GOX
w GOX
20 uM
40 uM
60 uM
80 uM
100 uM
150 uM
200 uM
nA
0
1
2
3
4
5
6
7
0.02
0.04
0.06
0.08
1
1.2
1.4
1.6
1.8
时间 (hr)

图8

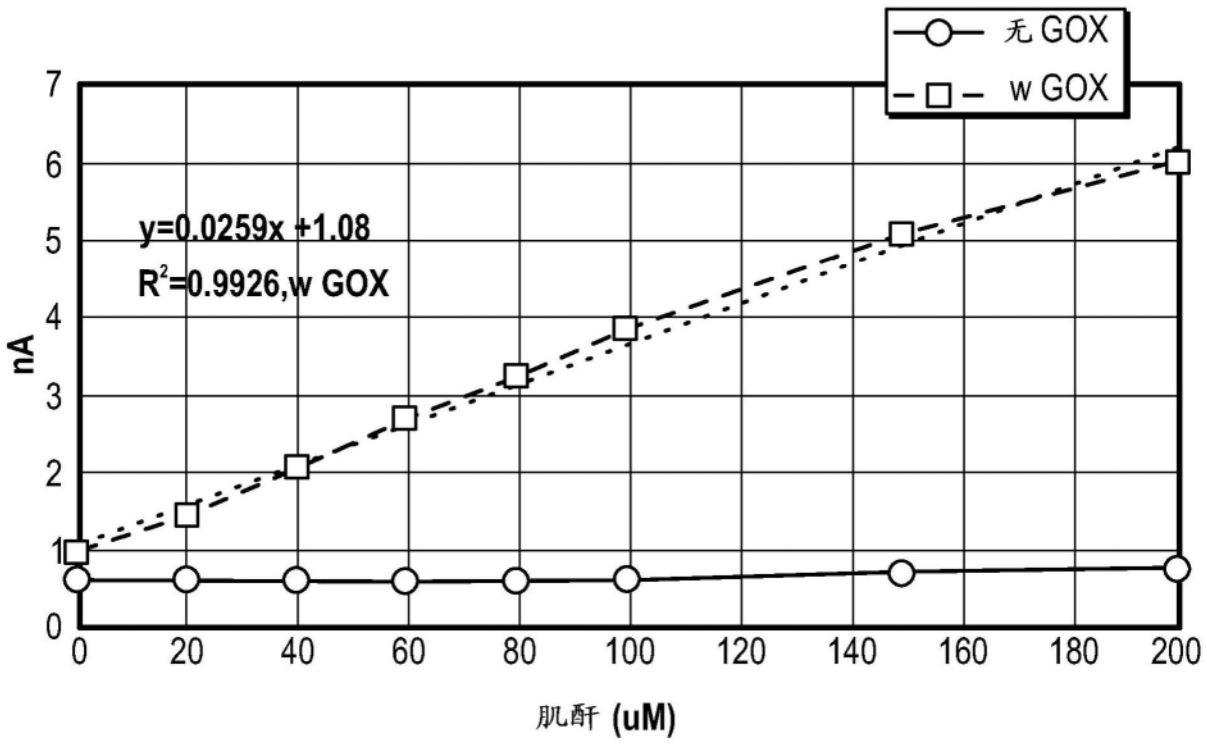

无 GOX
w GOX
y=0.0259x +1.08
R²=0.9926,w GOX
nA
0
1
2
3
4
5
6
7
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
肌酐 (uM)

图9