(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl. [7]
C12Q 1/00

(11) 공개번호 특2001-0085902
(43) 공개일자 2001년09월07일

(21) 출원번호 10-2001-7004451
(22) 출원일자 2001년04월07일
번역문 제출일자 2001년04월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US1999/23425
(86) 국제출원출원일자 1999년10월08일
(87) 국제공개번호 WO 2000/20626
(87) 국제공개일자 2000년04월13일

(81) 지정국 국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아-헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀랜드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기즈, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, 터어키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투칼, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 도미니카연방, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 인도, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 유고슬라비아, 짐바브웨, 시에라리온, 그레나다,
AP ARIPO특허: 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아,
EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄,
EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 핀랜드, 사이프러스,
OA OAPI특허: 부르키나파소, 베넹, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기네, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기네비쏘,

(30) 우선권주장
60/103,627 1998년10월08일 미국(US)
60/105,773 1998년10월08일 미국(US)
09/295,962 1999년04월21일 미국(US)

(71) 출원인 쎄라센스, 인크
추후제출
미합중국, 캘리포니아 94502, 알라메다, 사우쓰 루프 로드 1360

(72) 발명자 펠드만,벤자민제이.
미국,캘리포니아94618,오클랜드,5830콜비스트리트
헬러,아담
미국,텍사스78759,오스틴,4711스파이스우드스프링스로드,아파트먼트271
헬러,에프라임
미국,캘리포니아94618,오클랜드,44스타크크놀플레이스
마오,페이
미국,캘리포니아94555,프레몬트,34379베네딕레인
비볼로,조셉에이.
미국,캘리포니아94117,샌프란시스코,1548하이트스트리트
펀더버크,제프리브이.
미국,캘리포니아94536,프레몬트,37670캐리지써클커먼
콜만,프레드릭씨.
미국,캘리포니아94605,오클랜드,13864캠퍼스드라이브
크리쉬난,라제쉬
미국,캘리포니아94536,프레몬트,4211센트럴애비뉴,아파트먼트#1

(74) 대리인 한양특허법인

심사청구 : 없음

(54) 확산성 또는 비용해성 산화환원 매개체를 포함하는 작은부피 시험관내 분석물 감지기

요약

비용해성 또는 확산성 산화환원 매개체를 사용하는 감지기를 기술한다. 감지기는 작업전극과 전기적 접촉에서 샘플을 유지하는 샘플 챔버를 포함하고, 적어도 한 예에서, 감지기는 또한, 비용해성 또는 확산성 제2전자 전달제를 포함한다. 감지기 및/또는 사용된 방법은 매개체에 의해 야기된 배경 신호로부터 구별될 수 있는 분석물에 대한 감지기 신호를 생성한다. 본 발명은 전기량측정법, 전류측정법 및 전위차측정법 등의 기술을 사용하여 혈액 또는 혈청 등의 생체액 중 글루코오스 또는 젖산 등의 생물학적 분자의 농도를 측정하는데 사용될 수 있다. 생물학적 분자의 전기산화 또는 전기환원을 촉매할 수 있는 효소는 일반적으로 제2전자 전달제로서 제공된다.

대표도

도 1

명세서

기술분야

본 발명은 작은 부피 샘플 중의 생물학적 분석물(bioanalyte)의 검출을 위한 분석 감지기에 관한 것이다.

배경기술

분석 감지기는 생물학적 분석물의 존재 및 농도를 측정하는 화학 및 의학 분야에서 유용하다. 예컨대, 당료병 환자에서 글루코오스 및 위독한 상태에서 젖산(lactate)을 감지하는데 그러한 감지기가 요구된다.

최근의 유용한 기술은 다소 큰 샘플 부피, 예컨대, 일반적으로 3㎕ 이상의 혈액 또는 다른 생체액의 생물학적 분석물을 측정한다. 이들 액체 샘플은 주사기를 사용하거나 또는 손가락 끝 및 유용한 샘플 부피를 얻을 수 있는 " 용출(milking)" 부위 등의 피부의 일부를 란싱(lancing)하여 환자로부터 얻는다. 이 과정들은 환자들에게 불편하고, 특히, 빈번한 샘플 채취가 요구될 때, 종종 고통을 수반한다. 샘플을 얻는 보다 덜 고통스러운 방법은 보다 낮은 신경 말단 밀도를 갖는 팔 또는 넓적다리를 란싱하는 것이 알려져 있다. 그러나, 상기 부위에서 신체를 란싱하는 것은 이 부위들에 인접 표면 모세혈관이 충분히 제공되지 않기 때문에, 일반적으로 마이크로리터 이하의 혈액 샘플을 제공한다.

그러므로, 작은 부피 샘플 중의 분석물 농도를, 정확하고 민감하게 분석할 수 있고, 다소 고통이 없고 용이하게 사용할 수 있는 혈액 분석물 감지기의 개발이 바람직하고 매우 유용하다. 샘플 중의 분석물을 전기화학적으로 측정할 수 있는 감지기는 기술 공지되어 있다. 기술 공지된 감지기들은 적어도 두 개의 전극을 사용하고, 전기화학적 반응에서 보조를 위한 산화환원 매개체를 포함할 수 있다. 그러나, 작은 부피에서 분석물을 측정하기 위한 전기화학적 감지기의 사용은 오류를 측정으로 나타낸다. 부정확성의 한 형태로 확산성 산화환원 매개체의 사용으로부터 발생한다. 전극은 작은 부피 감지기에서 서로 매우 인접해 있기 때문에, 확산성 산화환원 매개체는 작업전극과 상대전극 사이를 왕복할 수 있게 되어, 분석물에 대해 측정된 신호를 증가시킨다. 작은 부피 감지기에서 또 다른 부정확성은 작은 샘플 부피의 측정 또는 샘플 챔버의 충전을 확인하는 것의 어려움에 있다. 그러므로, 감지기 및 샘플의 크기에 기인한 오차를 감소시킬 수 있는 작은 부피 전기화학적 감지기를 발달시키는 것이 바람직하다.

발명의 상세한 설명

본 발명의 감지기는 마이크로리터 이하의 샘플의 분석물을 검출 정량화하는 방법을 제공한다. 일반적으로, 본 발명은 작은 부피의 샘플에서 예컨대, 전기량법(coulometry) 전류측정법(amperometry) 및/또는 전위차법(potentiometry) 등에 의한 분석물의 분석을 위한 방법 및 감지기를 포함한다. 본 발명의 감지기는 비용해성 또는 확산성 산화환원 매개체를 사용한다. 감지기는 또한, 작업전극과 전기분해적 접촉에서 샘플을 지지하는 샘플 챔버를 포함한다. 여러가지 예에서, 감지기는 또한 비용해성 또는 확산성 제2전자 전달제(second electron tranfer agent)를 포함한다.

바람직한 실시형태에서, 작업전극은 상대전극에 대향하여 두 개 전극 사이에서 1㎕ 이하, 바람직하게는 0.5㎕ 이하, 더욱 바람직하게는 0.25㎕ 이하 및 가장 바람직하게는 0.1㎕ 이하의 샘플을 포함하는 크기의 샘플 챔버내에 측정 지대(measurement zone)를 형성한다. 추가로, 흡착제 물질이 샘플 챔버 및 측정 지대를 충전하기 위해 필요한 샘플 부피를 감소시키기 위해 샘플 챔버 및 측정 지대에 위치된다.

본 발명의 한 실시형태에서, 생물학적 감지기가 전기량적 전기화학적 감지를 마이크로리터 이하 샘플의 생물학적 분석물을 정확하고, 효과적으로 측정하기 위해 비용해성 또는 확산성 산화환원 매개체와 결합하여 제공된다. 바람직한 감지기는 전극, 전극 위에 비용해성 또는 확산성 산화환원 매개체, 전극과의 전기적 접촉에서 샘플을 지지하기 위한 샘플 챔버 및 바람직하게는 챔버의 부피를 감소시키기 위해 샘플 챔버 내에 위치된 흡착제 물질을 포함한다. 가능한 흡착제 물질과 함께 샘플 챔버는 일반적으로 약 1㎕이하, 바람직하게는 0.5㎕ 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.25㎕ 이하 및 가장 바람직하게는 약 0.1㎕ 이하인 샘플 부피의 분석을 위한 크기로 제공된다. 한 예에서, 감지기는 또한 비용해성 또는 확산성 제2전자 전달제를 포함한다. 본 발명의 한 실시형태는 우선, 샘플을 전기화학적 감지기와 접촉시킨 후, 분석물의 농도를 측정하는 것에 의해 샘플 중 분석물의 농도를 측정하는 방법을 포함한다. 전기화학적 감지기는 작업전극 및 상대 전극의 대향하는 전극쌍과 두 개의 전극 사이에 위치된 측정 지대를 포함하는 샘플 챔버를 포함한다. 측정 지대는 약 1㎕ 이하의 샘플을 포함하는 크기이다.

본 발명은 또한, 두 개 이상의 대향하는 전극쌍을 갖는 전기화학적 감지기를 포함한다. 각 전극 쌍은 작업전극, 상대전극 및 두 개 전극 사이의 약 1㎕ 이하의 샘플을 지지하는 크기인 측정 지대를 갖는다. 게다가, 감지기는 또한, 전극쌍 중의 적어도 하나의 작업전극에 비용해성 산화환원 매개체 또는 샘플 챔버 또는 샘플에서 표면에 확산성 산화환원 매개체를 포함한다.

본 발명의 한 관점은 샘플을 전기화학적 감지기와 접촉시키고, 전기량법에의해 분석물의 농도를 측정하는 것으로 샘플에서 분석물의 농도를 측정하는 방법이다. 전기화학적 감지기는 작업전극 및 상대전극을 갖는 전극쌍을 포함한다. 감지기는 또한, 작업전극과 전기분해성 접촉에서 샘플을 지지하는 샘플 챔버를 포함한다. 샘플 챔버 내에는 샘플 챔버를 1㎕ 이하를 포함하는 크기가 되도록 하기 위해 샘플 챔버를 충전하기 위해 필요한 샘플 부피를 감소시키는 흡착제 물질이 있다. 샘플 챔버는 또한, 비용해성 또는 확산성 산화환원 매개체를 포함하고, 추가로 비용해성 또는 확산성 제2전자 전달제를 포함한다.

감지기는 또한, 측정 지대 또는 샘플 챔버가 충전될 때, 확인을 위해 사용될 수 있는 지시전극 또는 제2전극쌍 등의 충전 지시기를 포함한다. 지시전극 또는 제2전극쌍은 또한 분석물 농도 측정의 정확성을 증가시키는데 사용될 수 있다. 감지기는 또한, 측정 지대를 가열하기 위한 가열 원소 또는 분석물의 산화율 또는 환원율을 증가시키기 위한 샘플 챔버를 포함할 수 있다.

감지기는 측면-충전 또는 첨단-충전의 형태일 수 있다. 게다가, 한 실시형태에서, 감지기는 통합된 샘플 획득 및 분석물 측정 장치의 일부분일 수 있다. 통합된 샘플 획득 및 분석물 측정 장치는 감지기와 피부 관통 요소를 포함할 수 있고, 이 장치는 혈액 등의 액체 샘플의 유동을 야기하도록 사용자의 피부를 뚫는데 사용될 수 있고, 그 후, 감지기에 의해 수집될 수 있다. 적어도 몇 가지 실시형태에서, 액체 샘플은 통합된 샘플 획득물 및 분석물 측정 장치을 움직이지 않고, 수집할 수 있다.

상기 기술된 바와 같이, 감지기 형성의 한 방법은 제1기판에 적어도 하나의 작업전극을 형성하고, 제2기판에 적어도 하나의 상대전극 또는 상대/대조전극을 형성하는 것을 포함한다. 스페이서층(spacer layer)은 제1 또는 제2기판 위에 위치한다. 감지기가 완성될 때, 스페이서층은 샘플을 끌어당기고, 유지하는 채널을 한정한다. 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제는 감지기가 완성될 때 채널내의 노출될 영역에서 제1 또는 제2기판 위에 위치한다. 제1 및 제2기판은 함께 모이고, 적어도 하나의 작업전극 및 적어도 하나의 상대전극 또는 상대/대조전극에 접근하도록 채널을 갖는 스페이서층에 의해 분리된다. 한 실시형태에서, 제1 및 제2기판은 단일 시트 또는 연속망의 부분이다.

본 발명을 특정하는 이들 및 다른 다양한 특징들은 첨부된 청구항에서 특이성으로 지시된다. 본 발명의 더 큰 이해를 위해, 그것의 이점 및 그것의 이용 및 참조에 의한 대상물이 도면 및 기술된 바람직한 실시형태에 따라 이루어진다.

도면의 간단한 설명

도면에 있어서, 참조 부호 및 문자는 각 도면의 전체에 걸쳐 상응하는 구조를 지시한다.

도1은 서로 대향하는 작업전극 및 상대전극을 갖는 본 발명의 원리에 따른 전기화학 감지기의 제1실시형태의 개략도,

도2는 동일 평면상 형태에서 작업전극 및 상대전극을 갖는 본 발명의 원리에 따른 전기화학 감지기의 제2실시형태의 개략도,

도3은 서로 대향하는 작업전극 및 상대전극 및 연장된 샘플 챔버를 갖는 본 발명의 원리에 따른 전기화학 감지기의 제3실시형태의 개략도,

도4는 산화환원 매개체, 샘플 챔버 및 전극의 상대적 위치를 나타내는 도1 또는 3의 감지기의 실제 측면도,

도5는 다중 작업전극을 포함하는 본 발명의 원리에 따른 전기화학 감지기의 제4실시형태의 상부도,

도6은 도4의 샘플 획득 수단 및 감지기를 갖는 본 발명의 원리에 따른 분석물 측정 장치의 실시형태의 투시도,

도7은 제2전자 전달제 같은 글루코오스 옥시다아제를 갖는 도1의 감지기를 사용하여 전해질 완충 용액(닫힌 원) 또는 혈청 용액(열린 원) 중에 알려진 글루코오스 양을 전기 산화하기 위해 필요한 전하의 그래프,

도8은 평균에 맞게 계산된 보정 곡선을 갖는 도7의 데이터(완충 용액만)의 평균 글루코오스 농도의 그래프(직선상의 보정 곡선은 10-20mM 농도에 대해, 제2서열 다항식 보정 곡선은 0-10mM 농도에 대해 계산되었다.),

도9는 도7의 글루코오스 측정의 임상적 관련성을 분석하는 클라크형(Clarke-type) 임상 그리드(grid),

도10은 제2전자 전달제 같은 글루코오스 디하이드로게나아제를 갖는 도1의 감지기를 사용하는 전해질 완충 용액 중의 글루코오스의 알려진 양을 전기산화하는 데 필요한 전하의 그래프,

도11a, 11b 및 11c는 본 발명에 따른 작업전극 및 상대전극을 겹치기 위한 세 가지 형태의 상부도,

도12a 및 12b는 본 발명에 따른 기재의 리세스(recess)를 사용하여 형성된 전극쌍의 한 실시형태의 단면도,

도13a 및 13b는 기재의 리세스에 형성된 본 발명의 전극쌍의 다른 실시형태의 단면도이고,

도14a 및 14b는 기재 및 흡착제 물질의 리세스를 사용하여 형성된 본 발명의 전극쌍의 또 다른 실시형태의 단면도,

도15는 다양한 농도의 글루코오스에 대해 시간에 따른 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기에 의해 전달된 전하의 그래프,

도16은 다양한 글루코오스 농도에 대해 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기에 의해 전달된 전하의 그래프,

도17은 시간에 따른 다른 양의 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기에 의해 전달된 전하의 그래프,

도18a는 본 발명에 따른 감지기의 제5실시형태에서 용도를 위한 작업전극을 갖는 제1필름의 상부도,

도18b는 도18a의 제1필름 위의 배치를 위한 스페이서의 상부도,

도18c는 도18b의 스페이서 위의 상대전극 배치 및 도18a의 제1필름을 갖는 제2필름(도18a 및 18b에 역전된)의 저부도,

도19a는 본 발명에 따른 감지기의 제6 실시형태에서 용도를 위한 작업전극을 갖는 제1필름의 상부도,

도19b는 도19a의 제1필름 위의 배치를 위한 스페이서의 상부도,

도19c는 도19b의 스페이서 위의 상대전극 배치 및 도19a의 제1필름을 갖는 제2필름(도19a 및 19b에 역전된)의 저부도,

도20a는 본 발명에 따른 감지기의 제7실시형태에서 용도를 위한 작업전극을 갖는 제1필름의 상부도,

도20b는 도20a의 제1필름 위의 배치를 위한 스페이서의 상부도,

도20c는 도20b의 스페이서 위의 상대전극 배치 및 도20a의 제1필름을 갖는 제2필름(도20a 및 도20b에 역전된)의 저부도,

도21a는 본 발명에 따른 감지기의 제8실시형태에서 용도를 위한 작업전극을 갖는 제1필름의 상부도,

도21b는 도21a의 제1필름 위에 배치를 위한 스페이서의 상부도,

도21c는 도21b의 스페이서 위의 상대전극 배치 및 도21a의 제1필름을 갖는 제2필름(도21a 및 21b에 역전된)을 갖는 제2필름의 저부도,

도22a는 본 발명에 따른 감지기의 제9실시형태에서 용도를 위한 작업전극을 갖는 제1필름의 상부도,

도22b는 도22a의 제1필름 위의 배치를 위한 스페이서의 상부도를 도시,

도22c는 도22b의 스페이서 위의 상대전극 배치 및 도22a의 제1필름을 갖는 제2필름(도22a 및 22b에 역전된)의 저부도,

도23a는 본 발명에 따른 감지기의 제10실시형태에서 용도를 위한 작업전극을 갖는 제1필름의 상부도,

도23b는 도23a의 제1필름 위의 배치를 위한 스페이서의 상부도,

도23c는 도23b의 스페이서 위의 상대전극 배치 및 도23a의 제1필름을 갖는 제2필름(도23a 및 23b에 역전된)의 저부도,

도24a는 본 발명에 따른 감지기의 제11실시형태에서 용도를 위한 작업전극을 갖는 제1필름의 상부도,

도24b는 도24a의 제1필름 위의 배치를 위한 스페이서의 상부도,

도24c는 도24b의 스페이서 위의 상대전극 배치 및 도24a의 제1필름을 갖는 제2필름(도24a 및 24b에 역전된)의 저부도,

도25는 본 발명에 따른 전기화학 감지기의 제12실시형태의 상부도,

도26은 통합된 분석물 획득 및 감지기 장치의 한 실시형태의 투시도,

도27은 본 발명에 따른 감지기의 제13실시형태의 단면도,

도28은 표준 혈액 시험에 의해 측정된 것과 본 발명의 감지기에 의해 이루어진 대상의 팔로부터 수집된 혈액 샘플에서 분석물 농도의 측정을 비교한 그래프,

도29는 표준 혈액 시험에 의해 측정된 것과 본 발명의 감지기에 의해 이루어진 대상의 손가락으로부터 수집된 혈액 샘플에서 분석물 농도의 측정을 비교한 그래프,

도30은 표준 혈액 시험에 의해 측정된 것과 본 발명의 감지기에 의해 만들어진 정맥 샘플에서 분석물 농도의 측정을 비교한 그래프,

도31a는 본 발명에 따른 한 장의 감지기의 한 실시형태의 상부도,

도31b는 본 발명에 따른 한 장의 감지기 요소의 다른 실시형태의 상부도 및,

도32는 메터 내부로부터 메터에 배치된 본 발명의 감지기의 단면도이다.

실시예

하기 정의가 본 명세서에 기술된 용어를 한정한다.

" 공기 산화성 매개체(air-oxidizable mediator)" 는 공기에 의해 산화되는 산화환원 매개체이고, 바람직하게는, 매개체의 적어도 90%가 일정 주기 동안, 예컨대, 한달 가량 및 바람직하게는, 1주간 및 더욱 바람직하게는 하루동안 고체 또는 액체로서 공기 중의 저장에 따른 산화 상태이다.

" 전류측정법(Amperometry)" 은 정상 상태 전류측정법, 대시간전류법(chronoamperometry) 및 코트렐형(Cottrell-type) 측정법을 포함한다.

" 생체액(biological fluid)" 은 분석물이 측정될 수 있는 체액 예컨대, 혈액, 장액, 피부액, 땀 및 눈물이다.

본 발명에서 " 혈액(blood)" 은 전혈(whole blood) 및 혈장 및 혈청 등의 무세포 성분을 포함한다.

" 전기량법(Coulometry)" 은 전극에 직접 또는 하나 이상의 전자 전달제를 통하여 분석물의 전기분해 완성 또는 거의 완성시 동안 통과된 또는 통과하기 위해 투사된 전하의 측정법이다. 전하는 분석물의 부분적 또는 거의 완성한 전기분해 동안 또는 그 이상 동안 통과된 전하의 측정 또는 감소하는 전류 및 경과된 시간의 전기분해 동안 다중 측정에 의해 측정된다. 감소하는 전류는 전기분해에 의해 야기된 전기분해된 종의 농도 감소의 결과이다.

" 상대전극(counter electrode)" 은 크기에 있어서 동일하고, 작업전극을 통하여 통과된 전류의 신호에 상반하는 작업전극과 쌍을 이루는 하나 이상의 전극을 의미한다. " 작업전극" 이라는 용어는 대조전극 또는 상대/대조전극을 제외하지 않는 한, 또한, 대조전극으로 작용하는 상대전극을 포함하는 것을 의미한다.

" 유효 확산 계수(effective diffusion coefficient)" 는 전기화학적 세포의 전극 사이 부피에서 기질, 예컨대, 분석물, 효소 또는 산화환원 매개체의 수송을 특정하는 확산 계수이다. 적어도 한 예에서, 세포 부피는 한 종류 이상의 배지(예컨대, 샘플액 및 중합체 필름)로 차지될 수 있다. 각 배지를 통하는 기질의 확산은 다른 속도로 일어날 수 있다. 유효 확산 계수는 이 다중-배지 부피를 통하는 확산율에 상응하고, 일반적으로, 단지 샘플액으로만 충전된 세포에서 기질에 대한 확산계수와 다르다.

" 전기화학적 감지기(electrochemical sensor)" 는 전기화학적 산화 및 환원 반응을 통하여 분석물의 존재 및/또는 농도를 검출하기 위한 형태로 구조된 장치이다. 이들 반응은 분석물의 양 또는 농도와 관련될 수 있는 전기 신호로 변화된다.

" 전기분해(Electrolysis)" 는 전극에서 직접 또는 하나 이상의 전자 전달제를 통하는 화합물의 전자산화 또는 전자환원이다(예컨대, 산화환원 매개체 및/또는 효소).

" 대향하는 전극(facing electrode)" 은 작업전극의 작업 표면이 상대전극의 표면에 거의 상반하도록 배치되는 작업전극 및 상대전극의 구조를 의미한다. 적어도 한 예에서, 작업전극 및 상대전극 사이의 거리는 작업전극의 작업표면의 폭보다 작다.

화합물이 표면에 " 고정된(immobilized)" 은 표면에 걸린 또는 화학적으로 결합된 것을 의미한다.

" 지시전극(indicator electrode)" 은 샘플 챔버 및/또는 측정 지대의 부분적 또는 완전한 충전을 검출하는 하나 이상의 전극을 포함한다.

" 층(layer)" 은 하나 이상의 층을 포함한다.

" 측정 지대(measurement zone)" 는 분석물 분석시 요구된 샘플의 단지 그 일부분만을 포함하는 크기로된 샘플 챔버의 영역으로 한정된다.

" 비확산성(non-diffusible)" , " 비용해성(non-leachable)" 또는 " 비방출성(non-releasable)" 화합물은 분석물 분석 동안 작업전극의 작업 표면으로부터 실질적으로 분산하지 않는 화합물이다.

" 상대/대조전극의 전위(potential of the counter/reference electrode)" 는 세포중 용액이 pH7에서 0.1M NaCl 용액일 때, 세포의 대조전극 또는 상대/대조전극의 1/2 세포 전위이다.

" 전위차법(Potentiometry)" 및 " 대시간전위차법(chronopotentiometry)" 은 시간 내에 하나 이상의 점에서 전위차 측정을 하는 것을 의미한다.

" 산화환원 매개체(redox mediator)" 는 직접 또는 제2전자 전달제를 통하여 분석물 및 작업전극 사이에서 전자를 운반하는 전자 전달제이다.

" 대조전극(reference electrode)" 은 상대/대조전극을 제외하지 않는한, 또한 상대전극(즉, 상대/대조전극)으로 작용하는 대조전극을 포함한다.

" 제2전자 전달제(second electron transfer agent)" 는 산화환원 매개체 및 분석물 사이에서 전자를 운반하는 분자이다.

" 흡착제 물질(sorbent material)" 은 윅스, 보유 및/또는 액체 샘플로 젖고, 전극에 분석물의 확산을 실질적으로 억제하지 않는 물질이다.

" 샘플 챔버의 표면(surface in the sample chamber)" 은 작업전극, 상대전극, 상대/대조전극, 대조전극, 지시전극, 스페이서의 표면 또는 샘플 챔버를 결합하는 다른 표면을 포함한다.

" 작업전극(working electrode)" 은 산화환원 매개체의 에이전시를 갖거나 갖지 않는 상태로 분석물이 전기산화 또는 전기환원되는 전극이다.

" 작업표면(working surface)" 은 비용해성 산화환원 매개체로 덮인 작업전극의 일부이고, 샘플에 노출되거나, 또는 그 산화환원 매개체가 확산성이면 " 작업표면" 은 샘플중 노출된 작업전극의 일부분이다.

본 발명의 시험관내 분석물 감지기의 작은 부피는 약 1㎕ 이하의 부피, 바람직하게는 약 0.5㎕ 이하, 더욱 바람직하게는 0.25㎕ 및 가장 바람직하게는 0.1㎕이하의 부피를 갖는 샘플의 일부에서 분석물의 농도를 측정하도록 고안된다. 대상 분석물은 일반적으로 혈액 또는 혈청 등의 용액 또는 생체액으로 제공된다. 전체 도면 및 특히, 도1-4에서, 본 발명의 작은 부피의 시험관내 전기화학적 감지기(20)는 작업전극(22), 상대(또는 상대/대조)전극(24) 및 샘플 챔버(26)을 포함한다(도4). 샘플 챔버(26)는 샘플 챔버에 샘플이 제공될 때, 샘플이 작업전극(22) 및 상대전극(24) 양쪽과 전기분해적 접촉 상태로 구조된다. 이는 전류가 분석물의 전기분해(전기산화 또는 전기환원)에 영향을 미치도록 전극 사이에 흐르도록 한다.

작업전극

작업전극(22)은 적절한 도전층(conducting layer)이 적층된 위에 몰드된 탄소 섬유 구성물로부터 형성될 수 있거나, 폴리에스테르 등의 불활성 비-도전성 기재로 구성될 수 있다. 도전층은 일반적으로 다소 낮은 전기 저항성을 갖고, 일

반적으로 작동시 감지기의 전위 범위에 걸쳐서 전기화학적으로 불활성이다. 적절한 도전층은 금, 탄소, 백금, 루테늄다이옥사이드, 팔라듐 및 종래 공지된 다른 비-부식 물질과 예컨대, ECCOCOAT CT5079-3 탄소-충전된 도전성 에폭시 코팅(W.R. Grace Company, Woburn, massachusetts) 등의 도전성 에폭시를 포함한다. 전극(예컨대, 도전층)은 침착 또는 인쇄 등의 방법에 의해 불활성 물질의 표면에 배치된다.

탭(23)은 전압원 또는 전류 측정 장비 등의 외부 전기(미도시)에 전극을 용이하게 연결하기 위해 작업전극(22)의 말단에 제공될 수 있다. 다른 공지 방법 또는 구조(접촉 패드등)가 작업전극(22)을 외부 전기에 연결하는데 사용될 수 있다.

매개체에 의해 코팅되지 않은 작업전극의 일부분에서 발생하는 전기화학 반응을 막기 위해, 비용해성 매개체를 사용시, 유전체(40)가 도4에 도시된 바와 같이, 산화환원 매개체를 갖는 영역 위, 아래 또는 주위의 전극에 배치될 수 있다. 적절한 유전체 물질은 왁스 및 폴리에틸렌 등의 비도전성 유기 중합체를 포함한다. 유전체(40)는 또한, 전극 위의 산화환원 매개체의 일부를 덮을 수 있다. 산화환원 매개체의 덮인 부분은 샘플과 접촉하지 않을 것이고, 따라서, 전극의 작업 표면의 일부가 되지 않을 것이다.

감지 화학 물질

작업전극(22)에 부가하여, 감지 화학물질이 분석물의 분석을 위해 샘플 챔버(26)에 제공된다. 이 감지 화학 물질은 바람직하게는 산화환원 매개체 및 제2 전자 전달 매개체를 포함하고, 한 예에서는 전자 또는 후자가 단독으로 사용될 수 있다. 산화환원 매개체 및 제2전자 전달제는 독립적으로 확산성 또는 비용해성(즉, 비확산성)일 수 있어서, 어느 하나 또는 양쪽이 확산성 또는 비용해성일 수 있다. 감지 화학 물질 성분의 위치는 그들이 확산성 또는 비용해성인지에 의존할 수 있다. 예컨대, 비용해성 및/또는 확산성 성분들은 일반적으로 작업전극 위에서 감지층을 형성한다.

또한, 하나 이상의 확산성 성분들이 샘플의 도입 전에 샘플 챔버에 어떤 표면에도 배치될 수 있다. 다른 예로, 하나 이상의 확산성 성분들이 샘플을 감지기에 도입하기 전에 샘플 중에 들어갈 수 있다.

산화환원 매개체가 비용해성이면, 비용해성 산화환원 매개체는 일반적으로 감지층(32)과 같이 작업전극(22)에 배치된다. 산화환원 매개체 및 제2전자 전달제를 갖는 실시형태에서, 산화환원 매개체 및 제2전자 전달제는 모두 비용해성이면, 비용해성 성분들 모두는 감지층(32)과 같이 작업전극(22) 위에 배치된다.

예컨대, 제2전자 전달제가 확산성이고, 산화환원 매개체가 비용해성이면, 적어도 산화환원 매개체는 감지층(32)과 같이 작업전극(22) 위에 배치된다. 확산성 제2전자 전달제는 작업전극의 감지층에 배치될 필요가 없으나, 산화환원 매개체 감지층 내에 포함하는 샘플 챔버의 어떤 표면에도 배치될 수 있거나 또는 샘플에 들어갈 수 있다. 산화환원 매개체가 확산성이면, 산화환원 매개체가 샘플 챔버의 어떤 표면에도 위치될 수 있거나 샘플에 들어갈 수 있다.

산화환원 매개체 및 제2전자 전달제가 모두 확산성이면, 확산성 성분들은 독립적으로 또는 결합하여 샘플 챔버의 어떤 면에도 배치 및/또는 샘플에 넣을 수 있다(즉, 각 확산성 성분은 샘플 챔버의 동일한 표면에 배치하거나 또는 샘플에 넣을 필요가 없다.).

확산성 또는 비용해성이든 산화환원 매개체는 작업전극(22)과 분석물 사이에서 전류를 중재하고, 전극에 대한 직접 전기화학적 반응에 적절하지 않는 분자의 전기화학적 분석을 가능하게 한다. 매개체는 전극과 분석물 사이에서 전자 전달제로 작용한다.

한 실시형태에서, 산화환원 매개체 및 제2전자 전달제는 확산성이고, 예컨대, 작업전극 위와 같이 샘플 챔버의 동일 표

면에 배치된다. 이 동일한 줄기에서, 양쪽은 예컨대, 상대전극, 상대/대조전극, 대조전극 또는 지시전극에 배치될 수 있다. 다른 예에서, 산화환원 매개체 및 제2전자 전달제는 모두 확산성이고, 독립적으로 샘플 챔버의 표면 및/또는 샘플에 놓일 수 있다. 예컨대, 산화환원 매개체는 제2전자 전달제가 작업전극을 제외한 어떤 표면 또는 샘플에 놓일 때, 작업전극에 놓일 수 있다. 유사하게, 제2전자 전달제가 작업전극에 배치되고, 산화환원 매개체가 작업전극을 제외한 어떤 표면 또는 샘플에 놓이는 반대 상황도 또한 적절한 실시형태이다. 또 다른 예로서, 산화환원 매개체가 상대전극에 배치될 수 있고, 제2전자 전달제는 상대전극을 제외한 어떠한 표면 또는 샘플에 놓일 수 있다. 반대 상황도 또한, 가능하다.

확산성 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제가 샘플로 신속하게 확산할 수 있거나, 일정시간에 걸쳐서 확산이 일어날 수 있다.

유사하게, 확산성 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제는 먼저 고체 상태로 놓여 있는 표면으로부터 용해할 수 있고, 그 후, 확산성 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제는 신속하게 또는 일정 시간에 걸쳐서 샘플에 확산할 수 있다. 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제가 일정 시간에 걸쳐서 확산하면, 사용자는 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제의 확산이 가능하도록 분석물 농도를 측정하기 전에 일정의 시간을 기다리도록 지시될 수 있다.

배경 신호배경 신호

적어도 한 예에서, 확산성 산화환원 매개체는 분석물의 부재시에도, 작업전극에서 상대전극으로 앞뒤로 왕복할 수 있다. 이는 일반적으로 배경 신호를 산출한다. 전기량적 측정에서, 이 배경 신호를 " Q_{Back} " 으로 한다. 배경 신호는 분석물의 부재시, 전기화학적 분석중에 통과된 전하에 상응한다. 배경 신호는 일반적으로 일시적 성분 및 정상상태 성분 모두를 포함한다. 적어도 일시적 성분의 일부는 예컨대, 특정 산화 상태에서 매개체의 농도차 발생으로부터 발생될 수 있다. 적어도 정상상태 성분의 일부는 예컨대, 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이에서 산화환원 매개체가 왕복하는 것으로부터 발생될 수 있다. 왕복은 작업전극에서 산화환원 매개체가 전기산화(또는, 전기환원)되는 것을 의미하고, 상대전극 또는 상대/대조전극에서 전기환원(또는, 전기산화)되고, 이에 의해 산화환원 매개체가 작업전극에서 다시 전기산화(또는, 전기환원)되어 산화환원 매개체가 전기산화 및 전기환원 사이를 순환하게 된다.

산화환원 매개체의 왕복량 및 배경 신호의 정상상태 성분은 예컨대, 산화환원 매개체의 유효 확산 계수, 샘플의 점도, 샘플의 온도, 전기화학 세포의 크기, 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이의 거리 및 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이의 각에 따라 다양하다.

한 예에서, 배경 신호의 정상상태 성분은 (a) 다양성, 예컨대, 샘플의 온도, 샘플 점도 또는 분석시 배경 신호가 의존하는 다른 변인 또는 (b) 전기화학 세포에서 결함, 예컨대, 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이의 비전형 분리, 전극 기하학상의 다양함 또는 작업전극, 상대전극 및/또는 상대/대조전극으로부터의 돌출 등과 관련된 노이즈(noise)를 포함할 수 있다.

배경 신호의 정상상태 성분이 재생될 수 있을지라도, 어떤 타고난 노이즈는 재생할 수 없다. 결과로, 노이즈는 정확성에 불리한 영향을 준다. 어떠한 경우에서, 배경 신호와 노이즈는 관련된다. 결과로, 노이즈 및 그것이 일으키는 오류는 배경 신호를 감소시켜 감소될 수 있다. 예컨대, 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이에서 매개체의 왕복을 감소시키는 것이 산화환원 매개체의 확산에 영향을 미치는 샘플 온도 및 점성에서 변화와 관련된 노이즈를 감소시킬 것이다.

이렇게 해서, 배경 신호가 또한 노이즈를 감소시키는 것을 감소하는 예에서, 측정의 정확함을 증가시키는 것 또는 측정에서 오류를 감소시키기 위해, 배경 신호의 제로 수준에 근접하는 것이 바람직하다. 적어도 한 예에서, 감지기는 배경 신호가 분석물 양의 전기분해에 의해 발생된 신호의 5배 이하가 되도록 구조된다. 바람직하게는, 배경 신호는 분석물의 전기분해에 의해 발생된 신호의 200%, 100%, 50%, 25%, 10% 또는 5%이하이다. 전류측정법의 경우에서, 이 비교는 분석물의 전기분해에 의해 발생된 전류에 산화환원 매개체의 왕복으로부터 전류의 비율을 측정하여 이루어질 수 있다. 전위차법의 경우에서, 이 비교는 산화환원 매개체의 왕복으로부터의 전위 측정 및 분석물의 전기분해에 의해 발생된 전위 측정을 통하여 이루어질 수 있다. 전기량법에서, 이 비교는 산화환원 매개체의 왕복에 의한 작업전극에서 이동된 전하 및 분석물의 전기분해에 의해 작업전극에서 이동된 전하를 측정함으로써 이루어질 수 있다.

배경 신호의 크기는 분석물의 미리 측정된 양과 비교될 수 있다. 샘플에서 분석물의 미리 측정된 양은 예컨대, 분석물의 기대된 또는 평균 몰량일 수 있다. 분석물의 기대 또는 평균 몰량은 예컨대, 사용자 또는 개별 평균값, 집단 평균값, 정상의 생리적 범위의 최대, 최소 또는 평균, 집단 최대 또는 최소 생리적 값, 사용자 또는 개별 최대 또는 최소 생리적 값, 사용자, 개별 또는 집단의 정상 생리적 범위 값의 밖의 평균, 최대 또는 최소 편차, 집단에 대한 평균 값 이상 또는 이하의 편차 또는 사용자 또는 개별 평균 정상 생리적 값 이상 또는 이하의 평균, 최소 또는 최대 편차로 측정될 수 있다.

집단은 예컨대, 정상 어른, 아이들 또는 신생아 집단 등의 건강, 성 또는 나이에 의해 한정될 수 있다. 집단이 건강에 의해 한정되면, 집단은 당료병 등의 특정 상태를 갖는 특정 상태를 결핍한 사람들을 포함할 수 있다. 평균 또는 기대값에 적절한 대조 스페이서는 예컨대, 티에츠 텍스트북 오브 클리니컬 케미스트리(Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Appendix(pp. 2175-2217)(2nd Ed., Carl A. Burtis and Edward R. Ashwood, eds., W.D.Saunders Co., Philadelphia 1994))(여기에 참고문헌으로 포함됨)에 제공된 것들이 지침으로 사용되고, 그러나, 전문가들에 의해 물리적 시험 또는 혈액 화학 측정이 개인에 대한 평균값 또는 기대값을 측정하는데 사용될 수 있다. 예컨대, 어른은 티에츠 텍스트북 오브 클리니컬 케미스트리에 따라 금식 후 전혈 중 65 내지 95mg/dl 농도의 글루코오스 또는 정맥 전혈 중 8.1 내지 15.3mg/dl 농도의 L-젖산을 가질 수 있다. 성인의 평균 정상 생리적 농도는 예컨대, 글루코오스 80mg/dl 또는 젖산 12.7mg/dl일 수 있다. 다른 예들은 유년기 발생 당료병이나, 충분한 글리세믹(glycemic) 제어 및 약 50mg/dl 및 400mg/dl 사이의 글루코오스 농도를 갖고 있어 225mg/dl의 평균 몰량을 갖는 사람을 포함한다. 다른 예에서, 비당료병성 성인은 약 80mg/dl(금식 후) 및 140mg/dl(음식 소비 후) 사이의 글루코오스 농도를 갖고, 이에 의해, 110mg/dl의 평균 몰량을 갖을 수 있다.

측정될 수 있는 추가 분석물은 예컨대, 아세틸콜린, 아밀라제, 빌리루빈(bilirubin), 콜레스테롤, 융모성 생식선자극호르몬(chorionic gonadotropin), 크레아틴 키나아제(예컨대, CK-MB), 크레아틴, DNA, 프럭토자민, 글루코오스, 글루타민, 성장 호르몬, 호르몬, 케톤, 젖산, 페록사이드, 전립선-특이 항원, 프로트롬빈, RNA, 갑상선 자극 호르몬(thyroid stimulating hormone) 및 트로포닌(troponin)을 포함한다. 약제, 예컨대, 항생제(예컨대, 젠타마이신, 반코마이신 등), 디지톡신, 디곡신, 남용제, 테오필린(theophylline), 와르파린(warfarin) 등의 농도가 또한 측정될 수 있다. DNA 및/또는 RNA의 농도는 측정에 적절한 분석은 미국 특허출원 제09/138,888 및 제09/145, 776호, 미국 임시 특허출원 제60/090,517호, 제60/093,100호 및 제60/114,919호에 기술되어 있다(여기에 참고문헌으로 포함된다.).

전기분해로부터의 분석물 신호에 대한 배경 신호의 특정비를 갖는 감지기를 구성하기 위해, 전류에 관련한 몇 가지 변인 및/또는 산화환원 매개체 왕복 배경 신호 및/또는 분석물의 전기분해에 의해 발생된 신호로부터의 전하는 소정의 비를 얻는 것이 고려되고 선택될 수 있다. 일반적으로, 전기량 분석을 위해 측정된 신호는 전하이고, 반면, 전류측정 분석을 위해 측정된 신호는 측정시의 전류이다. 전류 및 전하는 몇 가지 변인에 의존하기 때문에, 분석물의 전기분해에 의해 발생된 신호에 산화환원 매개체의 왕복에 의해 발생된 배경 신호에 대한 소정의 비가 감지기를 작동하기 위한 다양한 감지기 구조 및 방법을 통해 이루어질 수 있다.

배경 신호 제어배경 신호 제어

배경 신호 제어의 방법은 a) pH7, 0.1M NaCl 중의 순환 전압전류법(cyclic voltammetry)에 의해 측정된 바와 같이, 대조전극 또는 상대/대조 전극의 전위에 대해 약 +100mV 이하의 1/2파 전위에서 분석물을 산화하거나, b) pH7, 0.1M NaCl 중의 순환 전압전류법에 의해 측정된 바와 같이, 대조전극 또는 상대/대조전극에 대해 단지 -100mV 이상의

1/2파 전위에서 분석물을 환원하는 산화환원 매개체의 사용을 포함한다. 적절한 대조전극 또는 상대/대조전극(예컨대, 은/염화은 전극)이 선택될 수 있다. 바람직하게는, 산화환원 매개체는 pH7, 0.1M NaCl 중에서 순환 전압전류법에 의해 측정된 바와 같이, 대조전극 또는 상대/대조전극에 대해 단지 약 +50mV, +25mV, 0mV, -25mV, -50mV, -100mV 또는 -150mV의 1/2파 전위에서 분석물을 산화하거나 b) pH7, 0.1M NaCl 중의 순환 전압전류법에 의해 측정된 바와 같이, 대조전극 또는 상대/대조전극의 전위에 대해 약 -50mV, -25mV, 0mV, +25mV, +50mV, +100mV, +150mV 또는 +200mV의 1/2 파 전위에서 분석물을 환원한다. 또한, 상대전극에 의해 산화환원 매개체의 환원의 경우에서, 감지기는 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이에서, 약 +100mV, +50mV, +25mV, 0mV, -25mV, -50mV, -100mV 또는 -150mV의 적용 전위에서 작동된다. 상대전극에서 산화환원 매개체의 산화의 경우에, 감지기는 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이에서 약 -100mV, -50mV, -25mV, 0mV, +25mV, +50mV, +100mV, +150mV 또는 +200mV 이상의 적용 전위에서 작동된다.

다른 방법은 전기산화 분석에 대해, 산화환원 매개체가 상대전극 또는 상대/대조전극에서 용이하게 환원되지 않거나, 전기환원 분석에 대해, 산화환원 매개체가 상대전극 또는 상대/대조전극에서 용이하게 산화되지 않는 적용 전위를 제어하는 것을 포함한다. 이는 예컨대, 상대전극(대조전극에 대해) 또는 상대/대조전극의 전위에 대해 음성인 대조전극 또는 상대/대조전극에 대한 전위로 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기를 사용한 전기산화적 분석에서 이루어질 수 있다. 작업전극(대조전극 또는 상대/대조전극에 대해)의 전위는 산화환원 매개체에 대해 양성인 것으로 선택되고, 상대전극 또는 상대/대조전극에 대해 음성일 수 있어서, 산화환원 매개체는 작업전극에서 산화된다. 예컨대, 분석물의 전기산화가 -200mV 대 대조전극 또는 상대전극의 전위를 갖는 확산성 산화환원 매개체에 의해 중재되고, 작업전극이 평형을 이룬 전위는 대조전극 또는 상대/대조전극에 대해 -150mV일때, 산화환원 매개체는 실질적으로 작업전극에서 산화되고, 분석물을 산화할 것이다. 또한, 산화환원 매개체 중의 일부가 상대전극 또는 상대/대조전극에 도달하면, 산화환원 매개체는 상대전극 또는 상대/대조전극이 산화환원 매개체의 전위에 매우 양성으로(즉, 150mV) 균형을 이루기 때문에 상대전극 또는 상대/대조전극에서 용이하게 환원되지 않는다.

전기환원적 분석에서, 감지기는 상대전극 또는 상대/대조전극의 전위에 대해 양성인 대조전극 또는 상대/대조전극에 대해 형식적 전위로 확산성 산화환원 매개체를 갖는 것으로 제공된다. 대조전극 또는 상대/대조전극에 대한 작업전극의 전위는 산화환원 매개체에 대해 음성이 되도록 선택되고, 상대전극 또는 상대/대조전극에 대해 양성으로 균형을 이룰 수 있어서, 산화환원 매개체는 작업전극에서 환원된다.

배경 전류를 제한하는 다른 방법은 상대전극 또는 상대/대조전극에서 예컨대, 침전 또는 중합으로 반응될 때, 고정되는 산화환원 매개체를 갖는 것을 포함한다. 예컨대, 매개체는 산화 상태에서 양이온성일 수 있고, 환원 상태에서 중성 및 보다 낮은 수용성일 수 있다. 상대/대조전극에서 환원은 상대/대조전극 위의 환원된 중성 매개체의 침전을 유도한다.

배경 신호를 제어하기에 적합한 다른 감지기 구조는 화학량론적으로 분석물의 기대 몰량 또는 평균 몰량 이하인 산화환원 매개체 몰량을 갖는 감지기를 포함한다. 분석물의 기대 몰량 또는 평균 몰량은 상기 설명된 바와 같이 측정될 수 있다. 분석물의 기대 몰량 또는 평균 몰량은 예컨대, 사용자들 또는 개인에 대한 평균값, 집단에 대한 평균값, 통상 생리적 범위의 최대, 최소 또는 평균, 집단에 대한 최대 또는 최소 생리적 값, 사용자들 또는 개인에 대한 최대 또는 최소 생리적 값, 사용자, 개인 또는 집단에 대한 통상 생리적 범위값을 벗어난 최대 또는 최소 편차, 집단에 대한 평균값 이상 또는 이하의 편차 또는 사용자 또는 개인에 대한 평균 통상 생리적 값 이상 또는 이하의 평균, 최대 또는 최소 편차로 측정될 수 있다. 집단은 예컨대, 정상 어른, 아이들 또는 신생아 집단 등의 건강, 성 또는 나이에 의해 한정될 수 있다. 집단이 건강으로 한정되면, 집단은 당료병 등의 특정 조건을 갖거나 특정 조건이 결핍한 사람들을 포함할 수 있다. 평균 또는 기대값에 적절한 대조 스페이서는 예컨대, 티에츠 텍스트북 오브 클리니컬 케미스트에 제공된 것들이 지침으로 사용되고, 그러나, 물리적 시험 또는 혈액 화학 측정이 개인에 대한 평균값 또는 기대값을 측정하는데 사용될 수 있다. 예컨대, 분석물의 생리적 평균 몰량은 얻어진 샘플의 사람의 건강 또는 나이에 의존할 수 있다. 이 측정은 전문가에 의한다.

분석물의 농도에 대한 산화환원 매개체의 농도를 감소시킴으로써, 산화환원 매개체의 왕복에 대한 신호에 대해 분석물에 대한 신호가 증가된다. 이 방법의 실행에서, 산화환원 매개체의 몰량은 화학량론을 근거로 분석물의 기대 몰량 또는 평균 몰량의 50%, 20%, 10% 또는 5% 이하일 수 있다.

그러한 감지기 구조에서 사용된 산화환원량은 범위내이어야 한다. 범위의 상한은 예컨대, 산화환원 매개체의 왕복에 따른 허용가능한 최고 신호, 세포의 크기 및 전극의 위치를 포함하는 전기화학적 세포의 고안, 산화환원 매개체의 유효 확산 계수 및 분석에 요구된 시간의 길이를 근거로 측정될 수 있다. 게다가, 산화환원 매개체 왕복에 따른 허용가능한 최대 신호는 예컨대, 분석이 정성적, 반-정성적 또는 정량적인지, 분석물 농도에서의 작은 차이가 치료를 수정하는 기초로 제공될 수 있는지 및 분석물의 기대 농도 등의 하나 이상의 분석 변인의 결과로 분석에 따라 다양할 수 있다.

사용된 산화환원 매개체의 양을 최소화하는 것이 유용할 지라도, 산화환원 매개체의 허용가능한 양에 대한 범위는 일반적으로 더 낮은 제한을 갖는다. 사용될 수 있는 최소량의 산화환원 매개체는 소정의 측정시간 예컨대, 약 5분 이하 또는 약 1분 이하내에 분석을 달성하는 것이 필수적인 산화환원 매개체의 농도이다. 분석을 위해 필요한 시간은 예컨대, 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이의 거리, 산화환원 매개체의 유효 확산 계수 및 분석물의 농도에 의존한다. 한 예에서, 예컨대, 동력학적 제한이 존재하지 않을 때, 즉, 산화환원 매개체의 왕복이 단지 확산에 의존하는 경우, 산화환원 매개체의 최소 농도는 하기식에 의해 측정될 수 있다.

$$C_m = (d^2 C_A)/D_m t$$

(식중, C_m은 필요한 매개체의 최소 농도이고, d는 대향 배열하는 작업전극 및 상대전극 또는 상대/대조전극 사이의 거리이고, C_A는 샘플 중의 평균 분석물 농도이고, D_m은 샘플 중의 매개체의 유효 확산 계수이고, t는 소정의 측정 시간이다.)

예컨대, 대향하는 전극쌍 사이의 거리가 50㎛일 때, 측정된 분석물은 5mM 글루코오스이고, 산화환원 매개체 유효 확산 계수는 10^{-6} ㎠/초이고, 소정의 반응 시간은 1분 이하일 때, 최소 산화환원 매개체 농도는 2.08mM이다. 이러한 조건 하에서, 배경 신호는 분석물의 전기산화의 신호 보다 작을 것이다.

확산성 산화환원 매개체에 의해 발생된 배경 전류를 제한하는 다른 감지기 구조는 상대전극에 확산성 매개체의 유동에 배리어를 갖는 것을 포함한다. 배리어는 예컨대, 산화환원 매개체가 확산할 수 없거나 또는 산화환원 매개체가 천천히 확산하는 필름일 수 있다. 적절한 필름의 예는 폴리카르보네이트, 폴리비닐알코올 및 재생성된 셀룰로오스 또는 셀룰로오스 에스테르막을 포함한다.

또한, 배리어는 중성 전하 또는 거의 전하되지 않은 분석물의 유동에 대해 전하된 산화환원 매개체의 유동을 막거나 감소시키는 전하된 또는 극성 입자, 화합물 또는 관능기를 포함할 수 있다. 산화환원 매개체가 하기 기술된 오스뮴 산화환원 매개체의 대부분과 같이, 양성 전하이면, 배리어는 메틸화 폴리(1-비닐이미다졸) 등의 양성 전하 또는 극성 필름일 수 있다. 산화환원 매개체가 음성 전하이면, 배리어는 Nafion ^{R}등의 음성 전하 또는 극성 필름일 수 있다. 적절한 극성 기질의 예는 음이온성 중합체 등과 교차결합된 양이온성 중합체를 갖는 양극성 막을 포함한다. 한 예에서, 배리어는 적어도 25%, 50% 또는 90%로 상대전극에서 확산성 산화환원 매개체의 산화 또는 환원을 감소시킨다.

또 다른 배경 전류를 제한하는 감지기 구조는 상대전극에서 환원된 또는 산화되는 것 보다 작업전극에서 더 용이하게 산화되거나 환원되는 산화환원 매개체를 갖는 감지기를 포함한다. 전극에서 산화환원 매개체의 반응율은 전극 재료의 작용일 수 있다. 예컨대, 몇 가지 산화환원 매개체는 Ag/AgCl 전극에서 보다 탄소전극에서 더 빠르게 반응할 수 있다. 적절한 전극의 선택은 다른 전극에서 속도 보다 상당히 느린 한 전극에서 반응 속도를 제공할 수 있다. 한 예에서, 상대전극에서 확산성 산화환원 매개체의 산화 또는 환원 속도는 작업전극과 비교하여 적어도 25%, 50% 또는 90%로 감소된다. 한 예에서, 상대전극 또는 상대/대조전극에서 산화환원 매개체에 대한 반응 속도는 예컨대, 상대전극 또는 상대/

대조전극에서 반응 속도를 증가시키기 위한 적용 전위 보다 높은 전위 또는 그 이상의 전위를 필요로 하는 상대전극 또는 상대/대조전극에 대한 재료를 선택하여 제어된다.

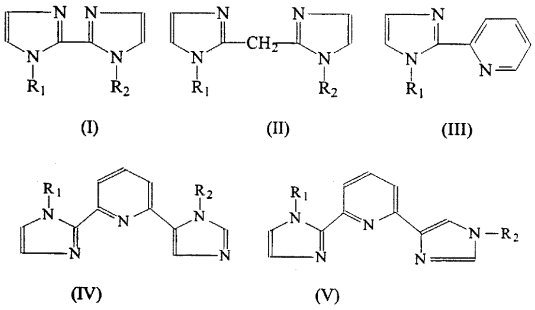
또 다른 배경 전류를 제한하는 감지기 구조는 산화환원 매개체의 확산을 감소시키는데 적합한 요소를 포함한다. 확산은 예컨대, 다소 낮은 확산 계수를 갖는 산화환원 매개체를 사용하거나 또는 측정 지대에서 샘플의 점도를 증가시켜서 감소될 수 있다. 다른 실시형태에서, 산화환원 매개체의 확산은 높은 분자량, 예컨대, 5,000달톤 이상, 바람직하게는 25,000달톤 이상 및 더욱 바람직하게는 100,000달톤 이상의 산화환원 매개체를 선택하여 감소될 수 있다.

산화환원 매개체

어떠한 유기 또는 유기금속 산화환원종이 산화환원 매개체로 사용될 수 있을지라도, 적절한 산화환원 매개체 중의 한 형태는 전이금속 화합물 또는 복합체이다. 적절한 전이금속 화합물 또는 복합체의 예는 오스뮴, 루테늄, 철 및 코발트 화합물 또는 복합체를 포함한다. 이들 복합체에서, 전이금속은 하나 이상의 리간드에 배위결합된다. 리간드들은 일반적으로 한자리, 두자리, 세자리, 또는 네자리이다. 가장 바람직한 리간드들은 피리딘 및/또는 이미다졸 유도체 등의 헤테로고리 질소 화합물이다. 여러자리 리간드들은 다중 피리딘 및/또는 이미다졸환을 포함할 수 있다. 또한, 페로센 등의 메탈로센 유도체가 사용될 수 있다.

적절한 산화환원 매개체는 각 리간드가 하나 이상의 질소 함유 헤테로고리를 갖는 하나 이상의 리간드를 갖는 오스뮴 또는 루테늄 전이금속 복합체를 포함한다. 그러한 리간드들의 예는 피리딘 및 이미다졸환과 2,2'-비피리딘, 2,2':6',2"-테르피리딘, 1,10-펜안트롤린 등의 두 개 이상의 피리딘 및/또는 이미다졸환을 갖는 리간드 및 하기 구조를 갖는 리간드 및 이것의 유도체를 포함한다.

화학식 1



(식중, R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소, 히드록시, 알킬, 알콕시, 알케닐, 비닐, 알릴, 아미도, 아미노, 비닐케톤, 케토 또는 황-함유기이다.)

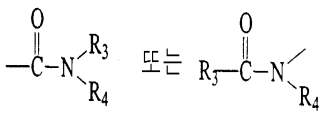
"알킬"은 예컨대, 메틸, 에틸이소프로필(1-메틸에틸), 부틸, 3차부틸(1,1-디메틸에틸) 등의 탄소수 1 내지 6을 갖는 직쇄 또는 분쇄 포화 지방성 탄화수소를 포함한다. 바람직하게는 탄화수소는 탄소수 1 내지 3을 갖는다.

"알콕시"는 예컨대, 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 이소프로폭시(1-메틸에톡시), 부톡시, 3차부톡시 등의 산소 원자에 의한 구조의 나머지에 결합된 상기 한정된 알킬을 포함한다.

"알케닐"은 예컨대, 에테닐, 1-프로페닐, 2-프로페닐, 1-부테닐, 2-메틸-1-프로페닐 등의 탄소수 2 내지 6의 불포화 지방성 탄화수소 체인을 포함한다. 바람직하게는 탄화수소 체인은 탄소수 2 내지 3을 갖는다.

"아미도"는 카르보닐기의 탄소 원자에 결합된 질소 원자를 갖는 기 및 하기 일반식을 갖는 기를 포함한다.

화학식 2

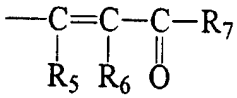


(식중, R_3 및 R_4 는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 알콕시 또는 알케닐이다.)

여기서 사용된 " 아미노" 는 메틸아미노, 디에틸아미노, N,N - 메틸에틸아미노 등의 알킬아미노, N - (에톡시에틸)아미노, N,N - 디(메톡시에틸)아미노, N,N - (메톡시에틸)(에톡시에틸)아미노 등의 알콕시알킬아미노 및 피레리디노, 피페라지노, 모르폴리노 등의 질소 - 함유 환을 포함한다.

" 비닐케톤" 은 하기 일반식을 갖는 기를 포함한다.

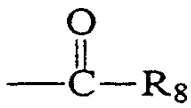
화학식 3



(식중, R_5 , R_6 및 R_7 은 각각 독립적으로 수소, 알킬, 알콕시 또는 알케닐이다.)

" 케토" 는 하기 일반식을 갖는 기를 포함한다.

화학식 4



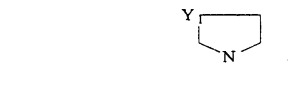
(식중, R_8 은 수소, 알킬, 알콕시 또는 알케닐이다.)

" 황 - 함유기" 는 머캅토, 알킬머캅토(메틸머캅토, 에틸머캅토 등), 알콕시알킬머캅토(메톡시에틸머캅토 등), 알킬술폭사이드(메틸술폭사이드, 프로필술폭사이드 등), 알콕시알킬술폭사이드(에톡시에틸술폭사이드 등), 알킬술폰(메틸술폰, 프로필술폰 등) 및 알콕시알킬술폰(메톡시에틸술폰 등)을 포함한다. 바람직하게는, 황 - 함유기는 머캅토기이다.

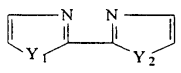
다른 적절한 산화환원 매개체는 하나 이상의 리간드를 갖는 오스뮴 또는 루테늄 전이금속 복합체를 포함하고, 여기서, 각 리간드는 하나 이상의 질소 - 함유 헤테로고리를 갖고, 각 질소 - 함유 헤테로고리는 질소, 산소, 황 및 셀레늄으로 구성된 군으로부터 선택된 제2헤테로 원자를 갖는다.

리간드의 예는 하나 이상의 질소 - 함유 헤테로고리를 갖고, 각 헤테로고리는 하기 구조를 갖는 리간드를 포함하는 제2헤테로원자를 갖는다.

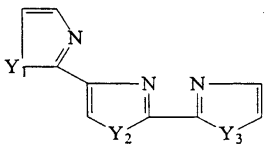
화학식 5



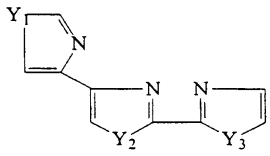
(VI)



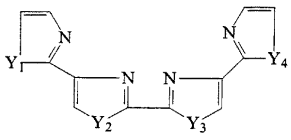
(VII)



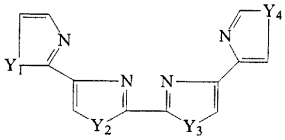
(VIII)



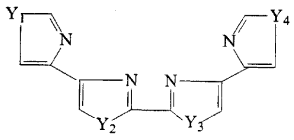
(IX)



(X)



(XI)



(XII)

{식중, Y_1, Y_2, Y_3 및 Y_4 는 각각 독립적으로 산소 원자, 황 원자, 셀레늄 원자 또는 식 NR_9 (여기서, R_9 는 수소, 히드록시, 알킬, 알콕시, 알케닐, 아미도, 아미노, 비닐케톤, 케토 또는 황-함유기이다.)를 갖는 치환 질소 원자이다.}

"알킬", 알콕시", "알케닐", "아미도", 아미노", "비닐케톤", "케토" 및 "황-함유기" 는 상기 정의된 바와 같다.

이들 리간드의 적절한 유도체는 예컨대, 헤테로고리 환의 유용한 부위, 예컨대, 피리딘환의 4-위치(즉, 질소에 파라) 또는 이미다졸환의 질소 원자의 하나에 알킬, 알콕시, 알케닐, 비닐에스테르 및 아미도 관능기의 첨가를 포함한다.

오스뮴 양이온과의 복합체에 대한 2,2'-비피리딘의 적절한 유도체는 예컨대, 4,4'-디메틸-2,2'-비피리딘 등의 모노-, 디- 및 폴리알킬-2,2'-비피리딘, 4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘 등의 모노-, 디- 및 폴리알콕시-2,2'-비피리딘, 4,4'-디(아세트아미도)-2,2'-비피리딘 등의 모노-, 디- 및 폴리아세트아미도-2,2'-비피리딘, 4,4'-디(N,N-디메틸아미노에톡시)-2,2'-비피리딘 등의 모노-, 디- 및 폴리알킬아미노알콕시-2,2'-비피리딘 및 4,4'-디메톡시-6-(N-피라졸일)-2,2'-비피리딘 및 4,4'-디메톡시-6-(N-피라졸일메틸)-2,2'-비피리딘 등의 치환 모노-, 디- 및 폴리피라졸일-2,2'-비피리딘을 포함한다.

오스뮴 양이온과의 복합체에 대한 1,10-펜안트롤린의 적절한 유도체는 예컨대, 4,7-디메틸-1,10-펜안트롤린 등의 모노-, 디- 및 폴리알킬-1,10-펜안트롤린 및 4,7-디메톡시-1,10-펜안트롤린 및 5-메톡시-1,10-펜안트롤린 등의 모노, 디- 및 폴리알콕시-1,10-펜안트롤린을 포함한다.

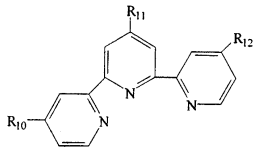
2,2':6'2" -테르피리딘에 대한 적절한 유도체는, 예컨대, 4,4',4" -트리메틸-2,2':6',2" -테르피리딘, 4,4'4" -트리

에틸-2,2':6',2" -테르피리딘 등의 모노-, 디, 트리 및 폴리알킬-2,2':6',2" -테르피리딘, 4,4'4" -트리메톡시-2,2':6',2" -테르피리딘 및 4'-메톡시-2,2':6',2" -테르피리딘 등의 모노-, 디-, 트리- 및 폴리알콕시-2,2':6',2" -테르피리딘, 4'-아미노-2,2':6',2" -테르피리딘 등의 모노-, 디-, 트리- 및 폴리아미노-2,2':6',2" -테르피리딘, 4'-디메틸아미노-2,2':6',2" -테르피리딘 등의 모노-, 디-, 트리- 및 폴리알킬아미노-2,2':6,2" -테르피리딘 및 4'-메틸티오-2,2':6',2" -테르피리딘 및 4-메틸티오-4'-에틸티오-2,2':6',2" -테르피리딘 등의 모노-, 디-, 트리 및 폴리알킬티오-2,2':6',2" -테르피리딘을 포함한다.

피리딘에 대한 적절한 유도체는 예컨대, 2,6-비스(N-피라졸일)피리딘, 2,6-비스(3-메틸-N-피라졸일)피리딘, 2,6-비스(2-이미다졸일)피리딘, 2,6-비스(1-메틸-2-이미다졸일)피리딘 및 2,6-비스(1-비닐-2-이미다졸일)피리딘 등의 모노, 디, 트리 및 폴리치환형 피리딘과 4-아미노피리딘, 4,4'-디아미노비피리딘, 4,4'-디(디메틸아미노)비피리딘 및 4,4',4" -트리아미노테르피리딘 등의 모노, 디, 트리 및 폴리아미노피리딘을 포함한다.

다른 적절한 유도체는 세 개의 헤테로고리환을 갖는 화합물을 포함한다. 예컨대, 한 적절한 유도체는 하기 일반식의 화합물을 포함한다.

화학식 6



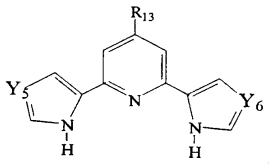
(XIII)

(식중, R_{10} , R_{11} 및 R_{12} 는 각각 독립적으로, 수소, 히드록시, 알킬, 알콕시, 알케닐, 비닐, 알릴, 아미도, 아미노, 비닐케톤, 케토 또는 황-함유기이다.)

" 알킬" , " 알콕시" , " 알케닐" , " 아미도" , 아미노" , " 비닐케톤" , " 케토" 및 " 황-함유기" 는 상기 한정된 바와 같다.

다른 적절한 산화환원 매개체 유도체는 하기 일반식의 화합물을 포함한다.

화학식 7



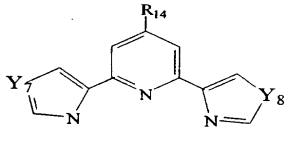
(XIV)

(식중, R_{13} 은 수소, 히드록시, 알킬, 알콕시, 알케닐, 비닐, 알링, 비닐케톤, 케토, 아미도, 아미노 또는 황-함유기이고, Y_5 및 Y_6 은 각각 독립적으로 질소 또는 탄소 원자이다.)

" 알킬" , " 알콕시" , " 알케닐" , " 아미도" , " 아미노" , " 비닐케톤" , " 케토" 및 " 황-함유기" 는 상기 한정된 바와 같다.

또 다른 적절한 유도체는 하기 일반식의 화합물을 포함한다.

화학식 8



(XV)

(식중, R_{14} 는 상기한 바와 같고, Y_7 및 Y_8 은 각각 독립적으로 황 또는 산소 원자이다.)

적절한 산화환원 매개체의 예로는 또한, 예컨대, (a) 2,2'-비피리딘, 1,10-펜안트롤린 또는 이것의 유도체 등의 하나의 두가지 리간드(두개의 리간드가 필수적으로 동일하지는 않다.), (b) 2,2',2"-테르피리딘 및 2,6-디(이미다졸-2-일)-피리딘 등의 하나의 세가지 리간드 또는 또는 (c) 하나의 두가지 리간드 및 하나의 세가지 리간드와 복합체를 이룬 오스뮴 양이온을 포함한다. 적절한 오스뮴 전이 금속 복합체는 예컨대, $[(bpy)_2OsLX]^{+/2+}$, $[(dimet)_2OsLX]^{+/2+}$, $[(dmo)_2OsLX]^{+/2+}$, $[terOsLX_2]^{0/+}$, $[trimetOsLX_2]^{0/+}$ 및 $[(ter)(bpy)LOs]^{2+/3+}$ 을 포함하고, 여기서, bpy는 2,2'-비피리딘, dimet은 4,4'-디메틸-2,2'-비피리딘, dmo는 4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘, ter는 2,2':6',2"-테르피리딘, trimet는 4,4',4"-트리메틸-2,2':6',2"-테르피리딘, L은 질소-함유 헤테로고리 리간드 및 X는 플루오린, 클로린 또는 브로마인 등의 할로겐이다.

산화환원 매개체는 종종 신속하게 서로 및 전극과 전자를 교환하게 되어 복합체는 신속하게 산화 및/또는 환원될 수 있다. 일반적으로, 철 복합체는 루테늄 복합체 보다 더 산화성이고, 이는 차례로, 오스뮴 복합체 보다 더 산화성이다. 게다가, 산화환원 전위는 일반적으로, 헤테로고리 환을 배위결합하는 수를 증가시키고, 6번째 헤테로고리 환은 금속과 배위결합하는 질소가 형식상 음이온인 경우를 제외하고는 5번째 환 이상의 전위를 증가시킨다. 이는 환의 질소가 단일 결합에 의한 이웃하는 탄소 원자의 양쪽에 결합하는 유일한 경우이다. 질소가 형식상 음이온이면, 산화환원 전위는 일반적으로 금속 이온의 배위결합에 대해 더 증가한다.

적어도 한 확산성 산화환원 매개체는 한 개 이상의 피리딘 또는 이미다졸 관능기를 포함한다. 이미다졸 관능기는 예컨대, 1-비닐이미다졸 같은 비닐이미다졸 또는 1-메틸이미다졸 같은 메틸이미다졸 등의 다른 치환분을 또한, 포함할 수 있다. 적절한 확산성 매개체의 예로는 $[Os(dmo)_2(이미다졸)X]X$, $[Os(dmo)_2(1-비닐이미다졸)X]X_2$, $[Os(dmo)_2(이미다졸)X]X$, $[Os(dmo)_2(이미다졸)X]X_2$, $[Os(dmo)_2(1-메틸이미다졸)X]X_2$ 및 $[Os(dmo)_2(메틸이미다졸)X]X_2$ 을 포함할 수 있고, 여기서, dmo는 4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘 및 X는 상기 기술된 바와 같은 할로겐이다.

다른 오스뮴-함유 산화환원 매개체는 $[Os((메톡시)_2펜안트롤린)_2(N-메틸이미다졸)X]^{+/2+}$, $[Os((아세트아미도)_2비피리딘)_2(L)X]^{+/2+}$ (여기서, L은 전위를 정제하기 위해 선택된 한가지 질소-함유 화합물로 이미다졸 유도체에 제한되는 것은 아니다.) 및 디알킬아미노피리딘 등의 $Os(테르피리딘)(L)_2Cl$(여기서, L은 아미노피리딘, N-메틸이미다졸 등의 N-치환 이미다졸, 옥사졸, 티아졸 또는 메톡시피리딘 등의 알콕시피리딘을 포함한다.)을 포함한다. X는 상기 기술된 바와 같은 할로겐이다.

무오스뮴 확산성 산화환원 매개체는 예컨대, 7-디메틸아미노-1,2-벤조펜옥사진(Medola Blue), 1,2-벤조펜옥사진 및 나일 블루(Nile Blue) 등의 펜옥사진, 3-β-나프토일(Brilliant Cresyl Blue), 테르라메틸페닐렌디아민(TMPD), 디클로로페놀인도페놀(DCIP), 펜아진메탄술페이트(PMS), N-메틸펜아진메토술페이트 및 메톡시펜아진메토술페이트 등의 N-메틸펜아조니움염, 테트라졸리움 블루 또는 니트로테트라졸리움 블루 등의 테트라졸리움염 및 톨루이단인 블루 O 등의 페노티아진을 포함한다.

다른 산화환원종의 예는 산화 상태에서, 나일 블루 등의 퀴노이드 구조를 갖는 안정한 퀴논 및 종을 포함한다. 적절한 퀴논의 예는 나프토퀴논, 페노퀴논, 벤조퀴논, 나프텐퀴논 등의 유도체를 포함한다. 나프토퀴논 유도체의 예는 예컨대, 2,3-디클로로-5,8-디히드록시-1,4-나프토퀴논, 2,3-디메틸-5,8-디히드록시-1,4-나프토퀴논, 2-클로로-5,8-디히드록시-1,4-나프토퀴논, 2,3-메톡시-5-히드록시-1,4-나프토퀴논 등의 주글론(즉, 5-히드록시-1,4-나프토퀴논) 및 이것의 유도체를 포함한다. 다른 예는 2-클로로-3-모르폴리노-1,4-나프토퀴논 등의 모르폴리노-나프토퀴논, 2-메틸-3-피페리디노-1,4-나프토퀴논 등의 피페리디노-나프토퀴논, 2-에톡시-3-피페라지노-1,4-나프토퀴논 등의 피페라지노-나프토퀴논 등의 아미노나프토퀴논을 포함한다.

적절한 페노퀴논 유도체는 예컨대, 3,3',5,5'-테트라메틸디페노퀴논, 3,3',5,5'-테트라히드록시디페노퀴논 등의 코에루리그논(즉, 3,3',5,5'-테르라메톡시디페노퀴논) 및 이것의 유도체를 포함한다.

적절한 벤조퀴논 유도체는 예컨대, 2,3,5-트리메틸-1,4-벤조퀴논, 2,3-디메틸-5-메톡시-1,4-벤조퀴논, 2,3-디메틸-5-히드록시-1,4-벤조퀴논 등의 조효소 Q_0 (즉, 2,3-디메톡시-5-메틸-1,4-벤조퀴논) 및 이것의 유도체를 포함한다.

다른 적절한 퀴논 유도체는 예컨대, Q_1, Q_2, Q_6, Q_7, Q_9 및 Q_{10} 을 포함하는 조효소 Q 등의 아세나프텐퀴논 및 유비퀴논을 포함한다.

또한, 다른 적절한 무오스뮴 확산성 산화환원 매개체는 예컨대, 테일러스 블루(Taylor's blue)(즉, 1,9-디메틸메틸렌 블루), N,N'-디에틸티아시아닌 아이오다이드 및 티오닌을 포함한다.

다른 방법에서, 감지층(32)은 비용해성(즉, 비방출성) 산화환원 매개체를 포함하고, 작업전극(22)의 일부에 배치된다. 비용해성 산화환원 매개체는 예컨대, 산화환원 중합체(즉, 하나 이상의 산화환원종을 갖는 중합체)일 수 있다. 바람직하게는, 일반적으로 약 5분 미만의 측정기 동안 작업전극(22)에서 샘플로 비용해성 산화환원 매개체의 거의 새지 않는다. 이 실시형태의 산화환원 매개체는 매개체가 샘플로 새는 것을 방지하기 위해 작업전극(22)에 결합될 수 있거나 고정될 수 있다. 산화환원 매개체는 공지된 방법 예컨대, 역전하된 고분자전해질을 갖는 다중 이온 브리지의 형성, 작업전극 위의 중합체에 산화환원 매개체의 공유 부착, 산화환원 매개체에 대한 고친화도를 갖는 기질에서 산화환원 매개체의 인트랩먼트 또는 작업전극에 결합된 화합물을 갖는 산화환원 매개체의 생물학적결합(bioconjugation) 등에 의해 작업전극 위에 결합되거나 고정될 수 있다. 한 실시형태에서, 양이온 교환막은 음이온 산화환원 화합물을 인트랩하는데 사용될 수 있다. 유사하게, 다른 실시형태에서, 음이온 교환막은 양이온 산화환원 화합물을 인트랩하는데 사용될 수 있다. 생물학적결합을 포함하는 또 다른 실시형태에서, 바이오틴-결합 산화환원 매개체는 기질에 근접에서 아비딘 또는 스트랩트아비딘과 결합할 수 있거나 작업전극에 고정될 수 있다. 또 다른 실시형태는 기질 근처 또는 작업전극에 고정된 상태로 항디곡신과 반응하는 디곡신 또는 디곡시제닌을 갖는 것을 포함한다.

바람직한 비용해성 산화환원 매개체는 중합성 전이 금속 화합물 또는 복합체 등의 산화환원 중합체이다. 일반적으로, 산화환원 중합체를 형성하기 위해 사용된 중합체는 산화환원종에 리간드로서 결합하기 위해 피리딘, 이미다졸 또는 이것의 유도체 등의 질소-함유 헤테로고리를 갖는다. 상기 기술된 바와 같은 전이 금속 복합체 등의 산화환원종과 복합체를 이루기 위한 적절한 중합체는 예컨대, 폴리(아크릴산) 또는 피리딘 및 이미다졸 등의 펜던트 질소함유 헤테로고리의 첨가로 변형된 폴리아크릴아미드의 중합체 및 공중합체 뿐만 아니라, 폴리(1-비닐이미다졸)(이하 "PVT") 및 폴리(4-비닐피리딘)(이하 "PVP")의 중합체 및 공중합체를 포함한다. 폴리(아크릴산)의 변형은 아미드를 형성하기 위해, 4-에틸아미노피리딘 등의 아미노알킬피리딘 또는 아미노알킬이미다졸을 갖는 카르복실산 관능기들의 적어도 일부의 반응에 의해 실시될 수 있다. PVI, PVP 및 폴리(아크릴산)의 적절한 공중합체 치환분은 아크릴로니트릴, 아크릴아미드, 아크릴하이드라지드 및 치환형 또는 쿼터나이즈드(quaternized) 1-비닐이미다졸을 포함한다. 공중합체는 임의이거나 블록 공중합체일 수 있다.

비용해성 산화환원 매개체의 전이 금속 복합체는 일반적으로 중합체의 질소-함유 헤테로고리(예컨대, 이미다졸 및/또는 피리딘환)과 공유 또는 배위결합된다. 전이 금속 복합체는 복합체가 공중합체될 수 있는 것을 통하여 비닐 관능기를 가질 수 있다. 적절한 비닐 관능기는 예컨대, 비닐 헤테로고리, 아미드, 니트릴, 카르복실산, 술폰산 또는 다른 극성 비닐 화합물을 포함한다. 이런 형태의 산화환원 중합체의 예는 폴리(비닐페로센) 또는 폴리(비닐페로센)의 유도체가 관능화되어 물에서 산화환원 중합체의 팽창을 증가시킨다.

산화환원 중합체의 다른 형태는 다중 이온-브리지를 형성하여 이온 결합된 산화환원종을 포함한다. 일반적으로, 매개체의 이런 형태는 상반 전하된 산화환원종에 결합된 전하된 중합체를 포함한다. 이런 산화환원 중합체의 예로는 오스뮴 또는 루테늄 폴리피리딜 양이온 등의 다중 양성 전하 산화환원종에 결합된 Nafion^{R}(Dupont) 등의 음성 전하된 중합체를 포함한다. 이온 결합된 매개체의 다른 예로는 페리시아나이드 또는 페로시아나이드 등의 음성 전하된 산화환원종에 결합된 쿼터나이즈드 폴리(4-비닐피리딘) 또는 폴리(1-비닐이미다졸) 등의 양성 전하된 중합체이다. 바람직한 이온 결합된 산화환원종은 상반하는 전하된 중합체내에 결합된 배가 전하되고, 흔히 다가음이온인 산화환원종이다.

다른 적당한 산화환원 중합체는 중합체에 배위 결합된 산화환원종을 포함한다. 예컨대, 매개체는 폴리(1-비닐이미다졸) 또는 폴리(4-비닐피리딘)에 오스뮴, 루테늄 또는 코발트 2,2'-비피리딜 복합체의 배위결합 또는 예컨대, 1-비닐이미다졸 또는 4-비닐피리딘과 4-비닐-2,2'-비피리딜오스뮴, 루테늄 또는 코발트 복합체의 공중합체화에 의해 형성될 수 있다.

일반적으로, 비용해성 산화환원 매개체의 이미다졸 및/또는 피리딘기에 오스뮴 또는 루테늄 전이 금속 복합체의 비는 1:20-1:1, 바람직하게는 1:15-1:2 및 더욱 바람직하게는 1:10-1:4의 범위이다. 일반적으로, 산화환원 전위는 적어도 부분적으로 산화환원 전위의 순서가 폴리(아크릴산)< PVI< PVP가 되는 중합체에 의존한다.

다양한 방법이 전극 표면에 산화환원 중합체를 고정시키는데 사용될 수 있다. 한 방법은 흡착 고정법이다. 이 방법은 특히, 다소 고분자량을 갖는 산화환원 중합체에 유용하다. 중합체의 분자량은 예컨대, 교차결합에 의해 증가될 수 있다. 산화환원 중합체의 중합체는 예컨대, 히드라지드, 아민, 알코올, 헤테로고리 질소, 비닐, 알릴 및 카르복실산기 등의 관능기를 포함할 수 있고, 이는 교차결합체를 사용하여 교차결합될 수 있다. 이들 관능기는 중합체 또는 하나 이상의 공중합체에 제공될 수 있다. 부가 또는 첨가하는 것으로, 관능기는 예컨대, 쿼터니제이션(quaternization) 등의 반응에 의해 첨가될 수 있다. 한 예는 브로모에틸아민기로 PVP의 쿼터니제이션이다.

적절한 교차결합제는 예컨대, 두 개 이상의 에폭사이드(예컨대, 폴리(에틸렌글리콜)디글리시딜에테르(PEGDGE)), 알데히드, 아지리딘, 알킬할리드 및 아지드 관능기 또는 이것의 조합을 갖는 분자를 포함한다. 중합체가 다중 아크릴 관능을 가질 때, 이는 디티올 또는 폴리티올과 교차결합될 수 있고, 다중 티올 관능을 지닐 때, 디폴리아크릴레이트 또는 폴리아크릴레이트와 교차결합될 수 있다. 교차결합체의 다른 예들은 아민 또는 다른 질소 화합물과 응축을 위한 카르복실산 또는 다른 산 관능기를 활성화하는 화합물을 포함한다. 이들 교차결합체는 카르보디이미드 또는 활성 N-히드록시석신이미드 또는 이미데이트 관능기를 갖는 화합물을 포함한다. 교차결합체의 다른 예는 퀴논(예컨대, 테트라클로로벤조퀴논 및 테트라시아노퀴노디메탄) 및 시아뉴릭클로라이드이다. 다른 교차결합제가 사용될 수 있다. 어떠한 실시형태에서는, 첨가 교차결합제가 요구되지 않는다. 교차결합 및 교차결합체의 논의 및 예들은 미국 특허 제5,262,035호, 제5,262,305호, 제5,320,725호, 제5,264,105호, 제5,356,786호 및 제5,593,852호에 기술되어 있고, 이들은 여기에 참고문헌으로 포함된다.

다른 실시형태에서, 산화환원 중합체는 전극 표면이 관능화되고, 그후 전극 표면의 관응기에 산화환원 중합체의 화학적 결합, 흔히, 공유결합하여 고정된다. 고정화 형태의 한 예는 폴리(4-비닐피리딘)로 개시한다. 중합체의 피리딘환은 부분적으로, $[Os(bpy)_2Cl]^{+/2+}$ (여기서, bpy는 2,2'-비피리딘) 등의 환원/산화종과 복합체화된다. 피리딘환의 일부는 2-브로모에틸아민과 반응하여 쿼터나이즈드된다. 그리고, 중합체는 예컨대, 폴리(에틸렌글리콜)디글리시딜에테르 등의 디에폭사이드를 사용하여 교차결합된다.

탄소 표면은 예컨대, 디아조니움염의 전기환원에 의한 산화환원 중합체의 부착을 위해 변형될 수 있다. 실례로, p-아미노벤조산의 디아조티제이션에 형성된 디아조니움염의 환원은 페닐카르복실산 관능기를 갖는 탄소 표면을 변형한다. 이들 관능기는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드히드로클로라이드(EDC) 등의 카르보디이미드에 의해 활성화될 수 있다. 활성화된 관능기는 산화환원 커플을 형성하기 위해, 예컨대, 상기 기술된 쿼터나이즈드 오스뮴-함유 산화환원 중합체 또는 2-아미노에틸페로센 등의 아민-관능화 산화환원 커플로 결합된다.

유사하게, 금 및 다른 금속 표면은 예컨대, 시스타민 등의 아민 또는 티오트산 등의 카르복실산에 의해 관능화될 수 있다. $[Os(bpy)_2$(피리딘-4-카르복실레이트)$Cl]^{0/+}$ 등의 산화환원 커플은 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드히드로클로라이드(EDC)에 의해 활성화되어 아미드를 형성하기 위해 금-결합 아민과 반응하는 반응성 O-아실이소우레아를 형성한다. 티옥트산의 카르복실산 관능기는 중합체 또는 단백질 아민과 결합하는 EDC로 활성화되어 아미드를 형성할 수 있다.

사용된 효소가 PQQ 글루코오스 디하이드로게나아제 또는 글루코오스 옥시다아제인 경우, 바람직한 비용해성 산화환원 매개체는 표준 칼로멜 전극(SCE)에 비교하여 약 -300mV 내지 약 +400mV 사이의 산화환원 전위 갖는다. 가장 바람직한 비용해성 산화환원 매개체는 오스뮴 산화환원 센터 및 SCE와 비교하여 +100mV 보다 음성의 산화환원 전위, 더욱 바람직하게는, SCE에 비교하여 0mV 보다 음성 및 가장 바람직하게는 SCE에 비교하여 -150mV 가까이의 전위를 갖는다.

적어도 한 예에서, 감지기의 산화환원 매개체는 공기 산화성이다. 이는 산화환원 매개체가 공기에 의해 산화되고, 바람직하게는 매개체의 적어도 90%가 감지기로의 샘플 도입 전에 산화 상태이다. 공기-산화성 산화환원 매개체는 두 개의 모노, 디 또는 폴리알콕시-2,2'-비피리딘 또는 모노, 디 또는 폴리알콕시-1,10-펜안트롤린 리간드와 복합체를 이룬 오스뮴 양이온을 포함하는데, 여기서, 두 개의 리간드는 필수적으로 동일하지 않고, 피리딘 및 이미다졸 관능기를 갖는 중합체 또는 다른 리간드들과 복합체를 이룬다. 특히, 폴리(4-비닐피리딘) 또는 폴리(1-비닐이미다졸)과 복합체를 형성한 $Os[4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘]_2Cl^{+/+2}$ 는 공기 중에서 대략 90% 이상의 산화를 이룬다. 산화환원 매개체의 공기 산화는 산화환원 매개체가 예컨대, 건조 상태에서 건조기 위에 코팅되어 저장될 때 등의 고체인 동안 발생할 수 있다. 또한, 산화환원 매개체의 공기 산화는 산화환원 매개체가 용액을 감지기에 가하여 건조하기 전에 용액 상태인 동안 발생할 수 있다. 산화환원 매개체가 용액 중에 공기 산화되는 경우에서, 산화환원 매개체를 함유하는 용액이 제조 과정 중 용액의 사용 전에 매개체를 공기 산화하기에 충분한 시간 동안 저장 상태일 수 있다.

제2전자 전달제제2전자 전달제

본 발명의 바람직한 실시형태에서, 감지기는 산화환원 매개체 및 산화환원 매개체 및 분석물에 또는 그것으로부터 전자를 전달할 수 있는 제2전자 전달제를 포함한다. 제2전자 전달제는 확산성 또는 비용해성일 수 있다(즉, 산화환원 중합체에 인트랩되어 있거나 배위, 공유 또는 이온결합된). 적절한 제2전자 전달제의 한 예는 분석물의 반응을 촉매하는 효소이다. 예컨대, 글루코오스 옥시다아제 또는 피롤로퀴놀린 퀴논 글루코오스 디하이드로게나아제(PQQ) 등의 글루코오스 디하이드로게나아제가 분석물이 글루코오스인 경우에 사용된다. 젖산 옥시다아제는 분석물이 젖산인 경우 이 역할을 한다. 다른 효소들이 다른 분석물을 위해 사용될 수 있다. 이들 효소들은 산화환원 매개체를 통하여 분석물 및 전극 사이에서 전자를 운반하여 분석물의 전기분해를 촉매한다. 한 실시형태에서, 제2전자 전달제는 약제가 샘플로 새들어가는 것을 방지하기 위해 비용해성이고, 더욱 바람직하게는 작업전극에 고정된다. 이는 예컨대, 비용해성 산화환원 매개체와 비용해성 제2전자 전달제를 교차결합시킴으로서 작업전극 위에 비용해성 요소를 갖는 감지층을 제공함으로써 이루어진다. 다른 실시형태에서, 제2전자 전달제는 확산성이다(그리고, 샘플 챔버의 표면에 배치 또는 샘플에 넣어질 수 있다).

상대전극

도1-4에 도시된 상대전극(24)은 작업전극(22)과 유사한 방식으로 구조될 수 있다. 상대전극(24)은 또한, 상대/대조전극일 수 있다. 또한, 별도의 대조전극이 샘플 챔버와 접촉하여 제공될 수 있다. 상대/대조전극 또는 대조전극을 위한 적절합 재료는 비-도전성 기재 위에 인쇄된 Ag/AgCl 또는 Ag/AgBr 또는 은 금속 기재 위의 염화은을 포함한다. 다른 재료 및 방법이 사용될지라도, 동일한 재료 및 방법이 작업전극(22)을 구조하기 위해 유효한 상대전극을 만드는데 사용될 수 있다. 탭(25)은 전량계, 정전위전해장치 또는 다른 측정 장치 등의 외부 전기(미도시)에 편의상 연결하기 위해

전극에 제공될 수 있다.

전극 구조

본 발명의 한 실시형태에서, 작업전극(22) 및 상대전극(24)은 도1 및 3에 도시된 바와 같이 대향하는 전극쌍을 형성하기 위해 서로 상반하여 대향하게 배치된다. 이 바람직한 구조에서, 샘플 챔버(26)는 일반적으로 두 개의 전극 사이에 배치된다. 이 대향하는 전극 구성을 위해, 전극이 약 0.2mm 이하의 스페이서(즉, 작업전극의 적어도 한 부분은 200㎛ 이하의 상대전극의 한 부분으로부터 분리된다.), 바람직하게는 100㎛ 이하 및 가장 바람직하게는 50㎛ 이하로 분리된다.

전극은 직접 서로 대향할 필요는 없고, 약간 벗어날 수 있다. 게다가, 두 개의 전극은 동일한 크기일 필요는 없다. 바람직하게는, 상대전극(24)은 적어도 작업전극(22)의 작업 표면의 크기이다. 상대전극(22)은 빗 형태의 살로 형성될 수 있다. 상대전극 및 작업전극의 다른 구조는 본 발명의 범위내이다. 그러나, 이 특정 실시형태에 대해, 작업전극의 적어도 한 부분 및 상대전극의 일부분 사이의 분리 거리는 상기 설명된 범위를 넘지 않는 것이 바람직하다.

도11a, 11b 및 11c는 상기 기술된 바와 같이 대향하는 전극(22,24)쌍의 다른 실시형태를 도시한다. 두 개 전극(22,24) 사이의 오버랩 영역(21)은 일반적으로 샘플이 요구하는 측정 지대에 상응한다. 각 전극(22,24)은 도전 표면이고, 콘덴서의 플레이트로 작용한다. 전극(22,24) 사이의 측정 지대는 플레이트 사이에서 유전체층으로 작용한다. 따라서, 두 개 전극(22,24) 사이의 콘덴서이다. 이 콘덴서는 오버래핑 전극(22,24)의 크기, 전극(22,24) 사이의 분리 및 전극(22,24) 사이의 기재의 유전체 상수의 함수이다. 이렇게 해서, 오버래핑 전극(24) 영역(21)의 크기 및 전극 사이의 재료(공기 또는 흡착제)의 유전체 상수를 알고 있다면, 전극 사이의 분리가 측정 지대의 부피를 측정하여 계산된다.

도11a는 두 전극(22,24)이 대향 배열된 본 발명의 실시형태를 기술한다. 이 특정 감지기 구조를 갖는 유사하게 구조된 분석물 중에서 형성된 콘덴서에 대해, 겹침(registration)(즉, 서로에 대한 두 개 전극의 위치)이 일정해야 한다. 전극 중 어느 것의 위치가 도11a에 도시된 위치로부터 x-y 평면에서 이동되면, 오버랩의 크기 및 그에 따른 콘덴서의 크기도 변할 것이다. 동일한 원리가 측정 지대의 부피를 유지한다.

도11b 및 11c는 대향 배열에서 전극(22,24)을 갖는 본 발명의 다른 실시형태를 기술한다. 이들 특이적 배열에서, 전극 중의 어는 하나의 위치는 콘덴서 또는 측정 지대의 부피에서 변화 없이 다른 전극에 대해 X-Y 평면에서 적어도 최소 거리로 이동될 수 있다. 이들 전극 배열에서, 각 전극(22,24)은 각각 암(122,124)을 포함하고, 이들은 다른 전극의 상응하는 암과 겹친다. 두 개의 암(122,124)은 서로에 평행하지 않고(도11a에 기술된 바와 같이), 다소, 암(122,124)은 서로에 대해 0 이상인 각(123)에 배치된다. 게다가, 두 개의 암(122,124)은 오버랩 영역(21)을 넘어서 연장된다(즉, 각 암은 각 암(222,224)의 길이 및 오버랩(21)의 너비(121) 사이의 차이에 상응하는 여분의 길이를 갖는다.). 이들 전극 배열로, 전극 배열의 콘덴서를 변화시키지 않는 전극(22,24)의 겹침에서 정해진 부정확함의 정도가 있을 수 있다. 겹침에서 인정된 소정의 부정확성의 정도는 암(122,124)이 겹치는 각(123) 및 오버랩 영역(21)의 너비(121)에 대한 각 암(122,124)의 여분의 길이의 크기를 다양하게 한 전극 배열로 고안될 수 있다. 일반적으로, 암(122,124)이 직각(즉, 각(123)이 90°)에 가까워질수록, 부정확성이 커진다. 또한, 오버랩 영역(21)의 너비(121)에 대한 각 암(122,124)(이는 동일한 길이 또는 다른 길이일 수 있다.)의 여분의 길이가 커질수록, 부정확성이 커진다. 반대로, 부정확성이 커질수록, 전극의 크기가 커진다(주어진 전극 너비, 두께 및 다른 전극과의 교차각(123)에 대해). 이렇게 해서, 한 전극이 다른 전극에 대해 이동될 수 있는 최소 거리는 전극들에 필요한 재료의 양에 대해 조절된다. 일반적으로, 5-90 정도 범위의 교차각(123), 바람직하게는 30-90 정도 및 더욱 바람직하게는 60-90 정도이다. 일반적으로, 오버랩 영역(21)의 너비(121)에 대한 암 길이(222,224)(암 길이(222,224) 및 오버랩 영역(21)의 너비(121) 사이의 차이에 상응)의 여분의 길이 비는 0.1:1 내지 50:1, 바람직하게는 1:1 내지 15:1 및 더욱 바람직하게는 4:1 내지 10:1이다.

본 발명의 다른 실시형태에서, 두 개의 전극(22,24)은 도2에 도시된 바와 같은 동일평면상이다. 이런 경우에, 샘플 챔버(26)는 양쪽 전극과 접촉하고, 비도전성 불활성 기재(30)에 의해 상반하는 전극 면에 결합된다. 불활성 기재를 위한 적절한 물질은 폴리에스테르 등의 비도전성 물질을 포함한다.

발명의 감지기의 다른 구성이 또한, 가능하다. 예컨대, 두 개의 전극이 서로에게 각을 이루도록 평면에 형성될 수 있다. 그러한 구조는 오른쪽 각을 형성하는 표면 위에 전극을 가질 수 있다. 다른 가능한 구조는 튜브 내부 등의 굽은 표면 위에 전극을 갖는다. 작업전극 및 상대전극이 배열될 수 있어 그들은 튜브의 상반되는 면으로부터 서로 대향한다. 이는 대향하는 전극쌍의 다른 예이다. 또한, 전극은 튜브 벽 위에 서로 인접하여 놓일 수 있다(예컨대, 다른 것의 위에 또는 차례로)

한 구조에서, 두 개 전극이 전기화학 감지기의 쇼팅을 억제하기 위해 서로 직접적인 전기 접촉을 형성하지 않도록 구조된다. 이는 대향하는 전극이 약 100㎛ 이하의 평균 이상으로 분리될 때, 피하기 어려울 수 있다.

스페이서(28)는 전극이 도1 및 3에 도시된 바와 같이 서로 대향하고 있을 때, 전극을 분리하는데 사용될 수 있다. 스페이서는 일반적으로 감압 접착제, 폴리에스테르, Mylar™ , Kevlar™ 또는 다른 강한, 얇은 중합 필름 등의 불활성 비도전성 재료 또는, 그것의 화학적 불활성으로 선택된 Teflon™ 필름 등의 얇은 중합 필름으로 구성된다. 전극 사이의 접촉을 억제하는데 더하여, 스페이서(28)는 도1-4에 도시된 바와 같이 샘플 챔버(26)에 대한 경계의 부분으로 작용한다. 다른 스페이서는 접착층 및 양면 접착 테이프(필름의 대향하는 면에 접착제를 갖는 운반체 필름)를 포함한다.

샘플 챔버

샘플 챔버(26)는 도1-4에 도시된 바와 같이, 일반적으로 전극(22,24), 불활성 기재(30) 및 스페이서(28)의 조합으로 한정된다. 측정 지대는 샘플 챔버내에 포함되고, 분석물 분석시 요구되는 샘플의 일부만을 포함하는 샘플 챔버의 영역이다. 도1 및 2에 기술된 본 발명의 실시형태에서, 샘플 챔버(26)는 두 개 전극(22,24) 및/또는 불활성 기재(30) 사이의 공간이다. 이 실시형태에서, 샘플 챔버는 약 1㎕이하, 더욱 바람직하게는 0.5㎕ 이하 및 가장 바람직하게는 약 0.25㎕ 이하의 부피를 갖는다. 도1 및 2에서 기술된 본 발명의 실시형태에서, 측정 지대는 샘플 챔버의 부피와 거의 동일한 부피를 갖는다. 바람직한 실시형태에서, 측정 지대는 샘플 챔버의 80%, 더욱 바람직한 실시형태에서 90% 및 가장 바람직한 실시형태에서 약 100%를 포함한다.

본 발명의 다른 실시형태에서 도3에 도시된 바와 같이, 샘플 챔버(26)는 영역 근접 전극(22,24) 보다 더 큰 공간을 포함한다. 이 구조는 도5에 도시된 바와 같이, 하나 이상의 샘플 챔버와 접촉하는 다중 전극을 제공하는 것을 가능하게 한다. 이 실시형태에서, 샘플 챔버(26)는 약 1㎕ 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.5㎕ 이하 및 가장 바람직하게는 약 0.25㎕ 이하의 부피를 포함하는 크기가 되는 것이 바람직하다. 측정 지대(즉, 요구된 샘플의 부피를 포함하는 영역)는 약 1㎕이하, 바람직하게는 약 0.5㎕ 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.25㎕ 이하 및 가장 바람직하게는 약 0.1㎕ 이하의 샘플 부피를 포함하는 크기로 되어 있다. 이 실시형태의 하나의 특이적 유용한 구조는 도3에 도시된 바와 같이, 작업전극(22) 및 상대전극(24)을 대향하도록 위치시키는 것이다. 이 실시형태에서, 요구된 샘플의 일부를 포함하는 영역인 측정 지대는 작업전극의 작업 표면에 의해 한정된 샘플 챔버(26)의 일부이고, 두 개의 대향하는 전극 사이에 배치된다.

상기 기술된 양쪽 실시형태에서, 샘플 챔버 및 측정 지대의 두께는 일반적으로 스페이서(28)의 두께에 상응한다(즉, 도1 및 3에서 전극 사이의 거리 또는 도2에서 전극과 불활성 기재 사이의 거리). 예컨대, 스페이서는 접착체 또는 양면 접착 테이프 또는 필름이다. 바람직하게는, 이 두께는 더 많은 샘플이 주어진 샘플 부피에 대한 전극 표면과 접촉하는 것과 같이, 분석물의 신속한 전기분해를 진행하기에 작다. 게다가, 가느다란 샘플 챔버는 확산 시간이 측정 시간에 비해 길기 때문에, 분석물 분석시 샘플 챔버의 다른 부분으로부터 측정 지대로의 분석물의 확산으로부터의 오류를 감소시킨

다. 일반적으로, 샘플 챔버의 두께는 0.2mm 이하이다. 바람직하게는, 샘플 챔버의 두께는 약 0.1mm 이하이고, 더욱 바람직하게는 샘플 챔버의 두께는 약 0.05mm 이하이다.

샘플 챔버는 다른 방법에 의해 형성될 수 있다. 예시적인 방법으로 엠보싱(embossing), 인덴팅(indenting) 또는 작업 전극(22) 또는 상대전극(24)이 형성된 내의 기판에서 리세스를 형성하는 방법을 포함한다. 도12a 및 12b는 이 구조의 한 실시형태를 도시한다. 먼저, 도전층(100)이 불활성 비도전성 기재(102)에 형성된다. 상기 기술된 바와 같이 도전층(100)은 금, 탄소, 백금, 루테늄디옥사이드, 팔라듐 또는 다른 비부식 재료를 포함할 수 있다. 불활성 비도전성 기재(102)는 폴리에스테르, 다른 중합체 또는 다른 비도전성, 변형성 재료를 사용하여 만들어질 수 있다. 리세스(104)는 비도전성 기재(102)의 영역에 형성되어, 도전층(100)의 적어도 일부분이 리세스에(104)에 포함된다. 리세스(104)는 인덴팅, 변형 또는 기재(102)에서의 푸싱을 포함하는 다양한 기술을 사용하여 형성될 수 있다. 리세스를 형성하는 추가 예시적 방법은 기재(102)를 엠보싱하는 것을 포함한다. 예컨대, 기재(102)는 펀치 부재 또는 채널 등의 증가된 부분을 갖는 엠보싱 롤 또는 스탬프와 접촉하여 리세스(104)를 형성한다. 한 실시형태에서, 기재(102)는 재료를 가열하여 부드럽게 될 수 있다.

리세스(104)는 원형, 타원형, 직각형 또는 다른 규칙적 또는 불규칙적 형태일 수 있다. 또한, 리세스(104)는 기재(102)의 일부를 따라 연장하는 채널로서 형성될 수 있다. 도전층(100)은 전체 채널 또는 채널의 단지 일부만을 따라 연장할 수 있다. 측정 지대는 채널의 특정 영역 내에 도전층(100)의 일부분 위에 감지층(32)을 배치하는 것에 의해 채널 내에 특정 영역에 한정될 수 있다. 또한, 측정 지대는 제1전극(105)의 소정의 영역 위에 제2전극(107)을 위치시키는 것에 의해 한정될 수 있다.

도전층(100)의 적어도 일부 및 어떤 경우에서는 전체가 리세스(104)에 위치된다. 도전층(100)의 이 일부는 제1전극(105)(상대전극 또는 작업전극)으로 작용할 수 있다. 도전층(100)이 작업전극을 형성한다면, 감지층(32)은 도12b에 도시된 바와 같이, 리세스(104)에서 비용해성 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제를 배치함으로써 도전층(100)의 일부분 위에 형성될 수 있다. 확산성 산화환원 매개체 또는 제2전자 전달제가 사용된다면, 확산성 재료는 샘플 챔버의 표면 또는 샘플에 배치될 수 있다.

제2전극(107)은 제2기재(106) 위에 제2도전층을 배치하여 형성된다. 이 제2전극(107)은 대향 배열에서 제1전극(105) 위에 위치된다. 도시되지 않아도, 산화환원 매개체가 비용해성으로 제1전극(105)이 상대전극으로 작용한다면, 감지층(32)은 작업전극으로서 작용하는 제2전극(107) 위에 배치될 것이다. 그러나, 산화환원 매개체가 확산성이면, 산화환원 매개체가 샘플 챔버의 표면에 배치되거나 또는 샘플에 놓일 수 있다.

한 실시형태에서, 제2기재(106)는 제1기재(102) 및/또는 저하되지 않는 도전층(100) 위에 놓여서, 제2전극(107)은 리세스로 연장한다. 다른 실시형태에서, 제1 및 제2기재(102,106) 사이에 스페이서(미도시)가 있다. 이 실시형태에서, 제2전극(107)은 리세스로 연장될 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 어떤 경우에서, 제1 및 제2전극(105,107)은 접촉하지 않고, 그렇지 않으면, 두 개 전극이 단축될 것이다.

리세스(104)의 깊이와 도전층(100), 감지층(32) 및 만일 있다면, 리세스(104)에서 제2전극(107)의 부분의 부피가 측정 지대의 부피를 결정한다. 이렇게 해서, 측정 지대 부피의 예상이 리세스(104)의 형성이 일정하다는 범위에 의존한다.

도전층(100)에 부가하여, 하기 상세히 기술된 흡착제층(103)은 도14a에 도시된 바와 같이 리세스(104)를 형성하기 전에 기재(102) 위에 배치될 수 있다. 흡착제 물질(103)은 인덴트, 엠보스 또는 도14b에 도시된 바와 같이 도전층(100) 및 기재(102)로 변형될 수 있다. 또한, 흡착제 물질(103)은 도전층(100) 및 기재(102)가 리세스(104)를 형성도록 인덴트, 엠보스 또는 변형된 후 배치될 수 있다.

분석물 감지지를 형성하기 위한 다른 예시적 방법에서, 리세스(114)는 도13a 및 13b에 도시된 바와 같이, 제1기재(112)에 형성된다. 리세스는 인덴팅, 엠보싱, 에칭(예컨대, 포토리소그라픽 방법 또는 기재 일부의 레이저 제거를 통해) 또는 기재(112)의 변형 또는 일부를 제거하여 형성될 수 있다. 그 후, 제1도전층(110)이 리세스(114)에 형성된다. 상기 기술된 도전성 물질 중의 어느 것도 사용될 수 있다. 바람직한 물질은 예컨대, 에르콘 인크.(Ercon, Inc, Wareham, MA)의 도전성 탄소 잉크 등의 도전성 잉크이다.

도전성 잉크는 일반적으로, 용매 또는 분산제에 용해된 또는 분산된 금속 또는 탄소를 포함한다. 용매 또는 분산제가 제거될 때, 금속 또는 탄소는 제1전극(115)로 사용될 수 있는 도전층(110)을 형성한다. 제2전극(117)은 제2기재(116)에 형성될 수 있고, 상기 기술된 바와 같이, 리세스(114) 위에 위치될 수 있다. 비용해성 산화환원 매개체를 갖는 실시형태에서, 감지층(32)은 도13b에 도시된 바와 같이 작업전극을 형성하도록 제1전극(115) 위해 형성된다. 비용해성 산화환원 매개체를 갖는 다른 실시형태에서, 감지층(32)은 작업전극을 형성하도록 제2전극(117) 위에 형성될 수 있다. 또한, 확산성 산화환원 매개체가 사용되면, 작업전극은 그 위에 배치된 감지층을 포함할 필요가 없다. 사실, 산화환원 매개체가 샘플에 놓일 수 있고, 확산성 제2전자 전달제가 존재한다면 마찬가지이기 때문에, 감지층이 필요하지 않는다. 확산성 요소들은 독립적으로 샘플 챔버의 표면에 배치 또는 샘플에 넣어질 수 있다. 또한, 흡착제 물질(미도시)은 리세스내에, 예컨대, 제1전극(115) 위에 형성될 수 있다.

폴리우레탄 수지, 셀룰로오스 유도체, 탄성체(예컨대, 실리콘, 폴리머릭디엔 또는 아크릴로니트릴-부타디엔-스티렌(ABS) 수지), 고불소화 중합체 등의 바인더가 또한 도전성 잉크 중에 포함될 수 있다. 경화가 필수적이지는 않으나, 바인더를 경화하는 것이 도전층(110)의 도전성을 증가시킬 수 있다. 바인더의 경화 방법은 사용된 특정 바인더의 성질에 의존할 수 있다. 어떠한 바인더들은 열 및/또는 자외선에 의해 경화된다.

이들 구조는 측정 지대의 부피가 적어도 부분적으로 리세스(104)의 정확성 및 생산성에 의존하는데 있어서, 전기화학적 감지기의 형성을 가능하게 한다. 엠보싱, 레이저 에칭, 포토리소그라피 에칭 및 다른 방법이 200㎛ 이하의 크기에서도 재생성 리세스(104)를 만드는데 사용될 수 있다.

흡착제 물질

샘플 챔버는 샘플이 챔버에 놓이기 전에 빈 상태일 수 있다. 또한, 샘플 챔버는 측정 과정 동안 액체 샘플을 흡수하고, 유지하기 위해 흡착제 물질(34)을 포함할 수 있다. 적당한 흡착제 물질은 폴리에스테르, 나일론, 셀룰로오스 및 니트로셀룰로오스 등의 셀룰로오스 유도체를 포함한다. 흡착제 물질은 샘플 챔버의 모세관 작용을 보조하거나 또는 바람직하게는 대치할 수 있는 위킹 작용(wicking action)에 의해 작은 부피 샘플의 흡입을 용이하게 한다. 또한, 샘플 챔버 벽의 일부 또는 전체는 예컨대, 조닐 FSO 등의 계면활성제로 덮일 수 있다.

한 실시형태에서, 흡착제 물질은 흡착제 물질이 용해되거나 분산된 액체 또는 현탁액을 사용하여 침착된다. 액체 또는 현탁액 중의 용매 또는 분산제는 가열 또는 증발 과정에 의해 끌어내질 수 있다. 적절한 흡착제 물질은, 예컨대, 물 등의 적절한 용매 또는 분산제에 용해 또는 분산된 셀룰로오스 또는 나일론 분말을 포함한다. 특정 용매 또는 분산제가 작업전극(22)의 물질과 양립할 수 있어야 한다(예컨대, 용매 또는 분산제는 전극을 용해해서는 안된다.).

흡착제 물질의 가장 중요한 기능 중의 하나는 샘플 챔버 및 감지기의 상응하는 측정 지대를 충전하는데 요구된 액의 부피를 감소시키는 것이다. 측정 지대 내의 샘플의 실제 부피는 흡착제 물질 내의 공극의 크기에 의해 부분적으로 측정된다. 일반적으로, 적절한 흡착제는 약 5% 내지 50% 공극으로 구성된다. 바람직하게는, 흡착제 물질은 약 10% 내지 약 25% 공극으로 구성된다.

흡착제 물질에 의한 액체의 치환은 유용하다. 흡착제의 첨가에 의해, 보다 소량의 샘플이 샘플 챔버(26)을 채우는데 요구된다. 이는 측정을 하기 위해 요구된 샘플의 부피를 감소시키고, 또한 샘플을 전기분해하는데 필요한 시간을 감소시킨다.

흡착제 물질(34)은 흡착제로서 동일한 물질로 구성되고, 감지기로부터 또는 감지기의 개구에서부터 연장된 탭(33)을 포함할 수 있어서, 샘플이 탭(33)과 접촉할 수 있게 되어 탭에 의해 흡착되고, 흡착제 물질(34)에 의한 위킹 작용에 의해 샘플 챔버(26)로 수송된다. 이는 샘플을 샘플 챔버(26)로 향하도록 하는 바람직한 방법을 제공한다. 예컨대, 감지기는 혈액을 끌어들이는 란셋으로 뚫어서 동물(사람 포함)의 부위에 접촉할 수 있게 한다. 혈액은 탭(33)과 접촉하고, 흡착제(34)의 위킹 작용에 의해 샘플 챔버(26)로 끌려 들어간다. 감지기로의 샘플의 직접 이동은 특히, 란셋이 근접한 표면 모세관에 제공되지 않고, 1μℓ 이하의 혈액 샘플을 공급할 때 등의 샘플이 소량인 경우 특히 중요하다.

흡착제의 위킹 작용 외의 방법이 샘플을 샘플 챔버 또는 측정 지대로 수송하는데 사용될 수 있다. 수송 방법의 예는 흡착제 물질의 위킹 작용뿐만 아니라, 샘플 챔버 안으로 넣기 위해 샘플에 가압, 챔버에 샘플을 넣기 위해 샘플 챔버에서 펌프 또는 다른 진공 생산 방법에 의해 진공의 창조 및 얇은 샘플 챔버의 벽과 샘플의 경계면 인장에 의한 모세관 작용 작용을 포함한다.

감지기는 또한 샘플 흐름을 따라 사용될 수 있다. 이 구성에서, 샘플 흐름은 샘플 챔버를 통하여 이동하도록 된다. 그 유동은 정기적으로 정지되고, 분석물의 농도가 전기량법 등의 전기화학적 방법에 의해 측정된다. 측정 후, 유동은 다시 계속되고, 이에 의해 감지기로부터 샘플을 제거한다. 또한, 샘플은 매우 낮은 속도로 챔버를 통하여 유동할 수 있고, 분석물 모두는 수송 중에 전기분해되어 분석물 농도 및 유속에 따른 전류를 생성한다.

다른 충전 물질은 측정 지대를 충전하는데 사용될 수 있고, 샘플 부피를 감소시킬 수 있다. 예컨대, 유리 비드가 공간을 채우기 위해 측정 지대에 침착될 수 있다. 바람직하게는 이 충전 물질들은 친수성이어서, 체액은 용이하게 측정 지대로 유동할 수 있다. 이러한 경우에, 높은 표면적을 갖는 유리 비드 등의 이들 충전 물질은 또한, 그들의 높은 표면적 및 친수성으로 체액을 측정 지대로 체액을 위크할 수 있다.

전체 감지기 어셈블리는 샘플이 전극과 접촉하도록 하고, 샘플 챔버 및 측정 지대가 동일한 부피를 유지하도록 하기 위해 단단히 지지되어 있다. 이는 샘플의 전기량적 분석에 중요하고, 여기서, 제한된 샘플 부피의 측정이 요구된다. 감지기를 단단히 지지하는 방법은 도1 및 2에 도시된다. 두 개의 플레이트(38)는 감지기의 상반 말단에 제공된다. 이 플레이트들은 일반적으로, 플라스틱 등의 비도전성 물질로 구성된다. 플레이트는 두 개 플레이트 사이에서 감지기와 고정될 수 있도록 고안된다. 적절한 지지 장치는 접착제, 클램프, 너트 및 볼트, 스쿠르 등을 포함한다.

다른 감지기 구조

도18a 내지 18c는 박막 감지기의 형성을 위한 다른 감지기 구조를 도시한다. 감지기는 작업전극(502)이 형성된 제1기판(500)을 포함한다. 작업전극(502)은 외부 전기와 연결하기 위한 접촉 영역(503)을 포함한다. 예컨대, 접착제 또는 양면 테이프 등의 스페이서(504)는 감지기에 대한 샘플 챔버를 생산하기 위한 채널(506)을 한정한다. 두 개의 상대(또는 상대/대조)전극(510,512)이 도18c(전극 측면을 도시하기 위해 도18a 및 18b에 역전된)에 도시된 바와 같이, 제2기판(508)에 형성된다. 이 다중 상대전극 배열은 하기 기술된 바와 같이, 충전 지시기 작용을 할 수 있다. 각 상대전극(510,512)은 외부 전기와 연결을 위해 접촉 영역(511,513)을 갖는다. 제2기판(508)은 역전되고, 그 사이에 스페이서(504)를 두고 제1기판(500) 위에 놓여서 작업전극(502) 및 두 개의 상대전극(510,512)은 채널(506)의 영역에서 대향한다.

한 예에서, 채널(506)의 입구(514)에 인접한 상대전극(510)은 다른 상대전극(512) 보다 적어도 두배 크고, 적어도 5배 또는 10배 더 클 수 있는 샘플 챔버 내에 표면적을 갖는다. 비용해성 또는 확산성 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제는 상기 기술된 바와 같이, 채널(506)에 상응하는 영역에서 제1기판 또는 제2기판(500,508)에 제공될 수 있다.

작업전극 및 상대전극은 전체 채널 영역을 덮도록 형성될 수 있다(두 개의 상대전극 사이의 작은 공간을 제외하고). 이 실시형태에서, 샘플 챔버 및 측정 지대는 유효하게 동일하고 동일한 부피를 갖는다. 다른 실시형태에서, 측정 지대는 예컨대, 샘플 챔버 부피의 80% 또는 90%를 갖는다. 유사한 감지기가 하나의 상대전극 또는 3개 이상의 상대전극을 사용하여 구성될 수 있다. 또한, 다중 작업전극이 감지기에 또한 제공될 수 있다.

박막 감지기를 만드는 방법의 예는 도18a 내지 18c에 도시된 감지기 배열에 관해 기술하고, 전에 기술된 이들을 포함하는 다양한 감지기 배열을 만들기 위해 사용될 수 있다. 플라스틱 기판 등의 기판이 제공된다. 기판은 개개의 시트 또는 웹 위의 연속하는 롤일 수 있다. 이 기판은 단일 감지기 또는 다중 감지기를 만드는데 사용될 수 있다. 다중 감지기는 작업전극(1010) 및 상대전극(1020)으로서 기판(1000)에 형성될 수 있다. 한 실시형태에서, 기판은 작업전극(1010) 및 상대전극(1020)을 함께 연결시키기 위해 스코어되고, 겹쳐질 수 있어 감지기를 형성한다. 한 실시형태에서, 도31a에 도시된 바와 같이 개개 작업전극(1010)(및 분리 영역에서 상대전극(1020))이 도31a에 도시된 바와 같이 낭비하는 재료를 줄이기 위해 기판(1000) 위에 서로 나란히 형성될 수 있다. 다른 실시형태에서, 개개 작업전극(1010)(및 분리 영역에서 상대전극(1020))이 도31b에 도시된 바와 같이 분리될 수 있다. 이 과정의 나머지는 다중 감지기의 제작에 대해 기술되나 용이하게 개별 감지기를 형성하도록 수정될 수 있다.

탄소 또는 다른 전극 물질(예컨대, 금 또는 백금 등의 금속)이 각 감지기에 대한 작업전극을 제공하기 위한 기판에 형성된다. 탄소 또는 다른 전극 물질은 탄소 또는 금속 잉크를 인쇄, 침착 및 다른 방법을 포함하는 다양한 방법에 의해 침착될 수 있다.

첨가로, 비도전성 잉크 등의 비도전성 물질이 샘플액의 이동 통로를 따라 평면의 표면을 제공하기 위해 작업전극에 인접하여 형성될 수 있다. 비도전성 물질은 모세관 작용에 의한 충전을 용이하게 하기 위한 평탄한 표면을 제공 및/또는 공기 방울이 작업전극에 인접하여 인트랩되는 가능성을 감소시키는데 적당하다. 이 비도전성 재료는 유색 또는 무색일 수 있고, 인쇄 또는 다른 기술에 의해 기판에 형성될 수 있다. 비도전성 재료는 작업전극의 형성 전에 또는 이어서 침착될 수 있다.

상대전극 또는 상대전극들이 기판에 형성된다. 상대전극들은 기판에 탄소 또는 다른 전극 재료를 침착하여 형성된다. 한 실시형태에서, 상대전극들의 재료는 Ag/AgCl 잉크이다. 상대전극들의 재료는 인쇄 또는 증착을 포함하는 다양한 방법에 의해 침착될 수 있다. 한 실시형태에서, 상대전극들은 다른 재료를 사용하여 형성 및/또는 한 전극은 상대전극 또는 상대/대조전극이고, 다른 전극은 대조전극 또는 상대/대조전극이다. 한 실시형태에서, 작업전극들은 중합체 시트 또는 웹의 제1의 1/2부에 형성되고, 상대전극은 중합체 시트 또는 제2의 1/2부에 형성되어 시트 또는 웹은 대향하는 배열에서 작업 및 상대전극을 겹쳐서 포갤 수 있다.

제2비도전성 재료는 상대전극에 인접 및/또는 상대전극 사이에 배치될 수 있어 샘플액의 이동 통로를 따르는 평면 표면을 제공한다. 이는 특히 샘플 챔버의 표면을 평면화하는 샘플 챔버의 일부인 상대전극 사이의 영역에서 바람직할 수 있다. 비도전성 재료는 모세관 작용에 의한 충전을 용이하게 하기 위해 평탄한 표면을 생성 및/또는 공기 방울이 상대전극 사이 또는 인접에서 생길 수 있는 가능성을 줄이는데 적당하다. 이 비도전성 재료는 유색 또는 무색일 수 있고, 인쇄 또는 다른 기술에 의해 형성될 수 있다. 비도전성 재료는 상대전극 형성 전에 또는 이어서 침착될 수 있다.

접착 스페이서는 기판/작업전극 및 기판/상대전극 중의 적어도 하나 위에 형성된다. 접착 스페이서는 접착제의 단일층 또는 양면 접착 테이프(예컨대, 상반하는 표면에 접착 성분이 배치된 중합체 담체 필름)일 수 있다. 채널을 형성하기 위해, 첨가로, 한 개 이상의 방출 라이너(liners)가 제공된 스페이서가 기판에 스페이서를 배치하기 전에 채널에 상응하는 접착제의 부분을 제거하기 위해 잘라질 수 있다(예컨대, 다이컷(die-cut)). 또한, 접착제는 채널 영역을 한정하는 패턴에 따라 기판 위에 인쇄 또는 배치될 수 있다. 스페이서의 두께는 일반적으로, 작업전극 및 상대전극 사이의 스페이서를 결정한다. 감지기 사이에서 이 간격의 일정함이 필수적일 때(예컨대, 전기량 측정을 위해), 스페이서의 두께에서 일정함은 중요하다. 바람직하게는, 두께는 개개 감지기 및/또는 배치의 개개 감지기 중에서 ±5% 이상으로 다양하지 않다.

비용해성 또는 확산성 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제는 적어도 샘플 챔버 영역의 기판에 배치된다. 이들 성분들의 하나 또는 양쪽이 비용해성이면, 그 성분 또는 성분들은 작업전극 위에 배치되어야 한다. 이들 성분들 중의 하나 또는 양쪽이 확산성이면, 그 성분 또는 성분들은 채널 영역의 기판의 어떠한 표면에도 배치될 수 있다. 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제는 스페이서의 배치 전 또는 후에 기판에 독립적으로 또는 함께 배치될 수 있다. 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제는 예컨대, 스크린 인쇄, 잉크젯 인쇄, 스프레이, 페인팅, 연결된 및/또는 인접한 전극의 종 또는 횡을 따른 스트리핑(striping) 등의 다양한 방법에 의해 배치될 수 있다. 다른 성분들은 산화환원 매개체 및/또는 예컨대, 계면활성제, 중합체, 중합 필름, 방부제, 바인더, 완충액 및 교차결합제 등을 포함하는 제2전자 전달제와 별개로 또는 함께 침착될 수 있다.

스페이서, 산화환원 매개체 및 제2전자 전달제를 배치 후, 기판을 포개어 감지기를 형성할 수 있다. 기판의 면은 스페이서의 접착제에 의해 결합된다. 면을 함께 붙인 후, 감지기는 다양한 방법, 예컨대, 다이커팅, 슬리팅(slitting) 또는 과도한 기판 재료를 잘라버리는 방법으로 자라내어 개개 감지기로 분리될 수 있다. 한 실시형태에서, 여러 방법의 조합이 사용될 수 있다. 예컨대, 어떤 구조는 다이커트될 수 있고, 반면, 감지기의 나머지는 슬리팅에 의해 자를 수 있다. 또한, 감지기 성분들(예컨대, 도18a 및 18c에 도시된 성분들)을 기판으로부터 먼저 잘라내고, 스페이서 접착제를 사용하여 두 개의 성분들을 결합하여 감지기를 형성할 수 있다.

도18a 내지 18c에 도시된 감지기의 실시형태는 팁-충전 감지기의 예이다. 다른 감지기 구조가 도19a 내지 19c에 기술된다. 이는 측면 충전 감지기이다. 도19a는 작업전극(522)을 갖는 제1기판(520)을 도시한다. 도19b는 채널(526)을 한정하는 스페이서(524)를 도시한다. 도19c(도19a 및 19b에 각각 역전된)는 세 개 전극(또는 상대/대조전극)(530,532,534)을 갖는 제2기판(528)을 도시한다.

이 감지기는 상기 기술된 바와 같이 제작될 수 있다. 상대전극의 대칭적 배치는 감지기가 왼손 및 오른손잡이의 편의를 고려하여 왼쪽 또는 오른쪽으로부터 충전될 수 있다. 그러나, 유사한 감지기 배열은 한 개, 두 개 또는 4개이상의 상대전극 및/또는 두 개 이상의 작업전극을 사용하여 형성될 수 있다. 부채꼴형 영역(536,638)은 예컨대, 다이커팅에 의해 형성될 수 있고, 적어도 몇가지 예에서, 재생할 수 있는 채널 길이를 제공하도록 정확히 제어될 수 있다. 다른 배열에서, 감지기의 측면은 평행 방향에서 기판을 슬리팅하는 예컨대, 갱 아버 블레이드 시스테을 사용하여 기판의 나머지 및/또는 다른 감지기로부터 잘라낼 수 있다. 도19a, 19b 및 19c에 도시된 바와 같이, 감지기의 가장자리는 샘플 챔버 및/또는 측정 지대의 가장자리를 한정할 수 있다. 커트 사이의 거리를 정확히 제어하여, 샘플 챔버 부피의 다양함이 종종 감소될 수 있다. 한 예에서, 이들 커트는 바람직하게는 평행 커트가 재생하기 용이하도록 서로에 평행하는 것이 바람직하다.

도20a, 20b 및 20c는 측면 충전 감지기 배열의 다른 예를 도시한다. 도20a는 작업전극(542)을 갖는 제1기판(540)을 도시한다. 도20b는 채널(546)을 한정하는 스페이서(544)를 도시한다. 도20c(도20a 및 20b에 대하여 역전된)는 세 개의 상대(또는 상대/대조)전극(550,552,554)을 갖는 제2기판(548)을 도시한다.

도21a, 21b 및 21c는 팁-충전 감지기 배열의 다른 예를 도시한다. 도21a는 작업전극(562)을 갖는 제1기판(560)을 도시한다. 도21b는 채널(566)을 한정하는 스페이서(564)를 도시한다. 도21c(도21a 및 21b에 대하여 역전된)는 두 개의 상대(또는 상대/대조)전극(570,572)을 갖는 제2박막 기판(568)을 도시한다. 벤트홀(574)(도21c에서 빛금친 부분)은 제2기판을 통하여 제공된다. 도시된 실시형태에서, 이 벤트홀(574)은 상대전극 및 추가로, 스페이서(564)를 갖는 기판(568)을 통하여 제공된다. 이 실시형태에서, 벤트홀은 예컨대, 기판의 일부를 다이커팅하는 것으로 형성될 수 있다. 이 다이커트는 적어도 하나의 상대전극의 일부를 제거할 수 있으나, 상대전극의 충분한 양이 채널의 샘플과 접촉하고, 감지기의 다른 말단에서 접촉에 전기적 연결을 위해 남아있다. 다른 실시형태에서, 벤트홀(574)은 층들 전체 또는 제2기판은 아닌 제1기판을 통하여 이루어질 수 있다.

다른 실시형태는 다른 형태를 갖는 도22a, 22b 및 22c에 도시된다. 이 감지기는 도22a에 도시된 바와 같이, 적어도 한 개의 작업전극(580)을 갖는 제1기판(579)을 포함한다. 이 감지기는 또한, 도22b에 도시된 바와 같이 스페이서(581)에 형성된 채널(582)을 갖는 스페이서(581)를 포함한다. 감지기는 또한, 도22c(도22a 및 22b에 대하여 역전된)에 도시된 바와 같이, 두 개 전극(584,585)을 갖는 제2기판(583)을 포함한다. 벤팅구(venting aperture)(586)는 일반적으로, 층들 전체를 통하여 절단되고, 감지기의 측면으로부터 연장한다. 한 실시형태에서, 감지기의 벤팅구 및 전부(587)는 동시에 감지기의 벤팅구 및 전부(587) 사이에서 재생성 거리를 갖도록 잘려져서, 채널(582) 및 작업전극(580)에 대한 재생성 길이를 제공한다. 도22a, 22b 및 22c는 또한, 감지기 배열을 갖고 사용될 수 있는 다른 구조를 도시한다. 인덴테이션(indentation)(588)은 감지기 안으로 액체를 끌어들이는 것을 용이하게 하는 채널(582)의 충전 개구에 형성될 수 있다. 이 구조에서, 액체는 편평한 표면으로 제공되지 않고, 다소, 채널(즉, 샘플 챔버)의 위킹 또는 모세관 충전에 도움이 될 수 있는 인데트 표면을 갖는다. 이 구조는 또한, 감지기의 사용자가 샘플의 수집시 채널을 막는 가능성을 감소시킬 수 있다. 편평한 면의 감지기는 피부에 대해 감지기 가장자리 같은 팁을 가압하여 억제될 수 있다.

도23a, 23b 및 23c는 측면 충전 감지기 배열의 다른 예를 도시한다. 도23a는 작업전극(642)을 갖는 제1기판(640)을 도시한다. 도23b는 채널(646)을 한정하는 스페이서(644)를 도시한다. 도23c(도23a 및 23b에 역전된)는 3개의 상대(또는 상대/대조)전극(650,652,654)을 갖는 제2기판(648)을 도시한다. 이 감지기는 기판의 직선 커트를 이루어 형성될 수 있다. 이 감지기는 도31a에 도시된 바와 같이, 다른 것에 인접하여 만들어질 수 있어 낭비 재료를 줄일 수 있다. 채널(646)의 길이는 일반적으로, 감지기의 측면(656,658)을 따라 두 개의 평행 커트에 의해 한정된다. 다른 부가적 처리 이점은, 특히, 감지기가 서로에 인접하여 형성되면, 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제가 인접한 감지기의 횡 또는 종을 따라 이 성분들의 연속하는 흐름을 스트리핑하여 채널에 배치될 수 있다. 이는 개개의 채널 내에 이들 성분들을 개별적으로 놓는 등의 다른 기술과 비교하여 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제를 더 효율적이고, 낭비하지 않는다.

도24a, 24b 및 24c는 다른 감지기 구조를 도시한다. 이 감지기는 도24a에 도시된 바와 같이, 적어도 한 개의 작업전극(602)을 갖는 제1기판(600)을 포함한다. 이 감지기는 또한, 도24b에 도시된 바와 같이, 스페이서(604)에 형성된 채널(606)을 갖는 스페이서(604)를 포함한다. 감지기는 또한, 도24c(도24a 및 24b에 역전된)에 도시된 바와 같이, 두 개의 상대전극(610,612)을 갖는 제2기판(608)을 포함한다. 감지기는 또한, 예컨대, 어떤 면이 샘플에 인접 위치에 놓여야 하는 지를 사용자에게 지시하는 감지기의 본체로부터 슬롯(614) 또는 연장(616) 등의 지시기를 포함할 수 있다. 이는 샘플이 특정 면으로부터 들어갈 때 감지기 리딩이 정확한 위치에서만 특히 중요하다.

도24b는 또한, 어떠한 감지기 구조에서도 사용될 수 있는 다른 첨가 구조를 도시한다. 이 도면에서, 샘플 챔버(606)는 직선을 사용하여 형성되지 않으나, 샘플 챔버 내의 연장된 영역(618)이 있다. 이는 더 큰 개구를 형성하지 않으면서 더 큰 샘플 챔버를 가능하게 한다. 이 연장된 영역은 원형, 사각형, 직사각형 및 다른 규칙정 및 불규칙적 형태를 포함하는 형태로 형성될 수 있다.

도25는 측면-충전 감지기(620)에 대한 다른 감지기 배열을 도시하는 집합된 감지기의 예이다. 이 감지기는 샘플 챔버(626)에 대한 개구가 제공되는 위치를 사용자에게 지시하는 감지기 본체(624)로부터 연장(622)을 포함한다.

하나의 부가적 특징은 메터의 내부로부터 감지기의 가장자리 부분인 도32에 도시한다. 도32는 감지기(1100)의 나머지로부터 메터로 연장되는 제1기판(1120) 및 제2기판(1130)을 도시한다(즉, 도32에서 부분(1140)은 기판(1120, 1130)에 대해 리세스된다.). 이 구조의 예는 도18a-18c 및 24a-24c에 도시된다. 일반적으로, 감지기(1100)는 감지기(1100)의 전극의 접촉 영역(예컨대, 도18a 및 18c에 도시된 영역 503, 511 및 513)을 접촉하는 접촉 패드(미도시)를 포함하는 메터(1110)에 연결된다. 접촉 영역을 포함하는 감지기(1100)의 말단은 메터(1110)로 들어갈 수 있다. 일반적으로, 메터(1110)의 접촉 패드는 감지기의 정확한 접촉 영역과 접촉하고, 상대전극은 정확히 메터에 연결된다. 한 예에서, 감지기는 제1기판(1120) 위의 작업전극에 대한 접촉 영역이 상대전극을 갖는 제2기판(1130) 의 접촉 영역에 대한 너비(w2)와 다른 너비(w1)를 갖는 구조로 되어 있다. 이 구조를 갖는 전극 구성의 예는 도18a-c 및 24a-c에 제공된다. 감지기(1100)의 메터(1110)로의 적당한 삽입을 확실히 하기 위해, 메터(1110)는 부적절한 방향으로 감지기의 삽입을 막거나 방지하는 증가된 영역(1140)을 포함할 수 있다. 예컨대, 도32에 도시된 바와 같이, 제2기판(1130)의 접촉 영역의 너비(w2)가 제1기판(1120)의 접촉 영역의 너비(w1) 보다 넓을 수 있다. 이 예에서, 증가된 영역(1140)은 감지기(1100)가 메터로 들러가도록 위치시켜서, 제1기판(1120)은 증가된 영역(1140)이 돌출한 것으로부터의 표면(1150)에 인접하나, 증가된 영역(1140)이 돌출한 것으로부터 표면(1150)에 인접한 제2기판(1130)을 갖는 것을 억제 또는 방지한다. 증가된 영역 이외의 목적은 또한, 감지기의 메터로의 정확한 도입에서 사용자를 인도하는데 사용될 수 있다.

통합된 샘플 획득 및 분석물 측정 장치

신체로부터의 작은 샘플의 획득 및/또는 감지기로의 수송의 기술은 공지되어 있다. 이들은 예컨대, 미국 특허 제5,746,217호, 제5,820,570호, 제5857983호 및 제5879311호로, 여기서 참고문헌으로 포함된다. 이들 샘플 획득 및/또는 수송 방법 중 어떠한 것도 본 발명의 감지기에 사용될 수 있다.

본 발명의 바람직한 실시형태에서, 본 발명에 따라 구조된 분석물 측정 장치(52)는 하기 기술된 통합된 샘플링 및 측정 장치를 제공하는 샘플 획득 장치(50)와 조합된 감지기(20)를 포함한다. 샘플 획득 장치(50)는 도6에 도시되고, 예컨대, 란셋을 환자의 피부에 주입하여 혈류를 유도할 수 있는 탄성 변형 스트립(56)(또는 다른 유사한 스프링 같은 장치)에 부착된 란셋 등의 피부 관통 부재(54)를 포함한다.

탄성 스트립(56)은 방출되고, 피부 관통 부재(54)는 회복된다. 부재(54)에 의해 관통된 피부의 영역으로부터의 혈류는 예컨대, 흡착제 물질(34)의 위킹 작용에 의해 분석물의 분석을 위한 감지기(20)로 수송될 수 있다. 분석물 측정 장치(52)는 리더(reader)(미도시)에 놓일 수 있고, 이는 전기량계 또는 다른 전기화학적 분석 장치를 전기분석 수단에 의해 분석물의 농도를 측정하기 위해 전극 탭(23,25)에 연결한다. 바람직하게는 분석물 측정 장치는 전기량계 또는 다른 전기화학적 분석 장치에 연결될 때, 리더 내에 넣어진다.

바람직한 실시형태에서, 통합된 샘플 획득 및 분석물 측정 장치는 란셋 및 측정 스트립을 지지하는 란싱 도구를 포함한다. 란싱 도구는 바람직하게는 활성 코킹(cocking)을 필요로 한다. 사용 전에 사용자가 장치를 코크하도록 하여 란셋을 부주의하게 당기는 위험을 최소화한다.

바람직하게는, 란싱 도구가 적당한 압력으로 피부에 대해 강하게 가압될 때 자동적으로 당겨진다. 종래 공지된 바와 같이, 피부에 홀이 생길 수 있는 부위의 주위가 가압될 때 혈액 또는 장액 등의 체액의 더 많은 양의 샘플이 얻어진다. 예컨대, 벡톤 디켄슨(Becton Dickenson)의 란싱 도구의 팁 고안 뿐만 아니라 인테그 앤드 아미레(Integ and Amire)에 상기 기술된 특허를 참고하라. 이들 란싱 장치들은 샘플을 상처 밖으로 나오게 하는 압력을 일으키는 란싱 부위 주위를 둘러싸는 돌출 링을 갖는다. 그러나, 이들 장치 모두는 사용자가 샘플을 나오게 하기 위하여 상처 주위에 적당한 압력을

가해야 하고, 란싱 도구들은 사용자에 의한 버튼을 눌러 당겨진다. 적당한 압력 제동기가 종래 기술 공지되어 있다.

바람직하게는, 란싱 도구는 또한 사용자가 피부에 란셋의 투과 깊이를 조절하도록 한다. 그러한 장치는 이미 베링거 만하임(Boehringer Mannheim) 및 팔코(Palco) 등의 회사에서 판매하고 있다. 이 특징은 사용자가 란싱 장치를 피부 두께, 피부 내구성 및 신체의 부위 및 사용자에 따른 고통 민감도의 차이를 위해 란싱 장치를 조절 가능하게 한다.

더욱 바람직한 실시형태에서, 란싱 도구 및 테스트 리더는 단일 장치로 통합되어 있다. 장치를 조정하기 위하여, 사용자는 단지 측정 스트립 및 란싱 장치를 포함하는 일회용 카트리지를 삽입하고, 란싱 도구를 잡아당기고, 피부에 그것을 눌러서, 활성화하고, 측정의 결과를 읽는다. 그러한 통합된 란싱 장치 및 테스트 리더는 사용자를 위한 테스팅 과정을 단순하게 하고, 체액의 조작을 최소화한다.

도26은 통합된 샘플 획득 및 감지기 장치(700)의 다른 예를 도시한다. 통합된 샘플 획득 및 감지기 장치(700)는 하우징(702), 피부 관통 부재(예컨대, 란셋)(704), 관통/수집구(706), 첨가 제거 감지기(708), 감지기 가이드(710) 및 피부 관통 부재를 위한 수축 메커니즘(714)을 포함한다. 이 장치(700)는 재사용(예컨대, 피부 관통 부재(704) 및 감지기(708)를 제거할 수 있는) 또는 1회용으로 고안될 수 있다.

하우징(702)은 금속 및 플라스틱을 포함하는 다양한 재료로 형성될 수 있다. 하우징(702)은 하우징의 지지 부위에 대한 경첩부(716) 또는 다른 구조(예컨대, 접착제 또는 상호고정부)를 포함할 수 있다.

관통/수집구(706)는 하우징(702)에 제공되어 피부 관통 부재(704)가 구(706)를 통하여 연장하고, 사용자의 피부를 관통하여 혈액(또는 다른 체액) 유동을 야기한다. 감지기(708)는 또한, 감지기의 팁에서 개구(미도시)를 통하여 혈액(또는 다른 체액)을 수집하기 위해 구(706)의 가장자리 또는 밖에 연장한다. 이는 사용자가 장치(700)를 움지이지 않고, 피부를 관통하여 체액 샘플을 수집하도록 할 수 있다. 또한, 별도의 구가 피부 관통 부재(704) 및 감지기(708)에 대해 제공될 수 있다. 감지기 가이드는 하우징(702)에 형성될 수 있거나 감지기(708)에 추가되어 감지기가 하우징에 삽입되고, 통하는 위치로 감지기(708)를 가이드 및/또는 하우징 내에서 샘플 수집 동안 감지기를 지지한다.

피부 관통 부재(704)는 피부 관통 부재(704)를 코킹 및 방출하기 위한 메커니즘을 포함하거나 외부에서 구동할 수 있는 구동장치(미도시)를 포함할 수 있다. 예컨대, 감지기 리더(미도시) 또는 다른 장치가 샘플 획득 및 감지기 장치, 감지기 리더 또는 피부 관통 부재(704)를 코크 및/또는 방출하는 메커니즘을 포함하는 다른 장치에 연결될 수 있다.

장치(700)의 수축 메커니즘(714)은 예컨대, 사용자의 피부 관통 후 하우징으로 피부 관통 부재(704)를 수축하는 스프링 또는 탄성 금속 스트립일 수 있다. 샘플의 차단되지 않은 수집을 허용 및/또는 체액 또는 다른 해로운 제제에 의해 야기된 오염 또는 감염을 감소시키거나 억제하기 위해 사용자 또는 다른 사람들의 피부 관통을 억제할 수 있다. 또한, 피부 관통 부재의 수축은 외부 장치 또는 기구를 사용하여 이루어질 수 있다.

작동의 한 예는 피부 관통 부재(704)를 코킹하고, 피부 관통 부재(704)를 방출하는 것을 포함하여 이것이 관통/수집구(706)를 통하여 하우징(702)의 밖으로 연장하고, 사용자의 피부를 관통하도록 한다. 피부 관통 부재(704)는 부가로 하우징의 밖으로 연장하는 동안 감지기를 밀어낸다. 피부 관통 부재(704)는 수축 메커니즘(714)을 사용하여 하우징(702) 내에 수축된다. 피부 관통 부재의 수축에 따라 감지기는 감지기(708)의 개구를 통하여 관통된 피부로부터 샘플액을 수집한다.

감지기 리더가 사용되면, 감지기 리더는 또한 감지기의 접촉 말단에 연결되도록 구조될 수 있다. 감지기 리더는 감지기의 전극에 대한 전위 및/또는 전류를 제공하는 정전위전해장치 또는 다른 성분을 포함할 수 있다. 감지기 리더는 또한, 감지기 신호로부터의 분석물 농도를 측정하기 위한 프로세서(예컨대, 마이크로프로세서 또는 하드웨어)를 포함할 수

있다. 감지기 리더는 디스플레이 또는 감지기에 디스플레이를 연결하기 위한 포트를 포함할 수 있다. 디스플레이는 감지기 신호 및/또는 예컨대, 분석물 농도, 분석물 농도의 변화율 및/또는 역치 분석물 농도의 과도함(예컨대, 저혈당 또는 고혈당)을 포함하는 감지기 신호로부터 측정된 결과를 나타낼 수 있다. 이 감지기 리더는 통합된 샘플 획득 및 감지기 장치와 함께 사용될 수 있거나 또는, 감지기 리더는 감지기의 접촉부가 감지기 리더의 접촉부와 연결되어 감지기만과 사용될 수 있다.

감지기의 작동

본 발명의 전기화학적 감지기는 전위를 가하거나 가하지 않고 작동될 수 있다. 한 실시형태에서, 전기화학적 반응은 자연발생적으로 발생하고, 작업전극 및 상대전극 사이에 전위가 가해질 필요가 없다.

다른 실시형태에서, 전위는 작업전극 및 상대전극 사이에 가해진다. 전위는 일정할 필요는 없다. 필요한 전위의 크기는 산화환원 매개체에 의존한다. 전극 자체가 평형을 이루거나 또는 외부 관여에 의해 평형을 이루고, 분석물이 전기분해될 때의 전위는 일반적으로 전기화학 반응이 거의 완전하게 일어나지만, 바람직하게는, 요산염, 아스코르베이트 및 아세트아미노펜 등의 측정된 신호에 영향을 미칠 수 있는 간섭물질의 특이적 전기화학 반응을 일으키기에 충분히 산화되지 않는다. 비용해성 산화환원 매개체에 대하여, 전위는 일반적으로, 표준 카로멜 전극(SCE)에 대하여 약 -350mV 및 +400mV 사이이다. 바람직하게는, 산화환원 매개체의 전위는 SCE에 대하여 +100mV 보다 음성이고, 더욱 바람직한 전위는 0mV 이상의 음성이고, 가장 바람직하게는 SCE에 대하여 약 -150mV 이다.

외부 전위가 가해지는 경우, 샘플이 샘플 챔버에 놓이기 전 또는 후에 가해질 수 있다. 측정 지대가 샘플 챔버의 단지 일부를 포함한다면, 전위는 바람직하게는 샘플 챔버가 충전될 때 측정 지대를 통하여 흐르는 샘플의 전기분해를 막기 위해 샘플 챔버에서 샘플이 정지한 후 가한다. 또한, 측정 지대가 샘플 챔버의 대부분 또는 전체를 포함하는 경우에서, 첨가 전위가 분석의 정확성에 영향을 미치지 않는 샘플 챔버의 충전 전 또는 동안 가해질 수 있다. 전위가 가해지고, 샘플이 측정 지대에 있을 때, 전류는 작업전극 및 상대전극 사이에서 흐를 것이다. 전류는 샘플 중 분석물의 전기분해 중의 적어도 일부분의 결과이다. 이 전기화학적 반응은 산화환원 매개체 및 첨가하는 제2전자 전달제를 통하여 일어난다. 다양한 생물학적 분자, B에 대해, 과정은 하기 반응식으로 기술된다.

$$nA_{(산화)} + B \xrightarrow{\text{효소}} nA_{(환원)} + C \qquad (1)$$

$$nA_{(환원)} \longrightarrow nA_{(산화)} + ne^- \qquad (2)$$

생화학적 물질 B는 적당한 효소의 존재에서 산화환원 매개체종 A에 의해 C로 산화된다. 그리고, 산화환원 매개체 A는 전극에서 산화된다. 전자는 전극에 의해 수집되고, 발생 전류가 측정된다. 측정된 전류는 또한 적어도 부분적으로 작업전극 및 상대전극 사이의 확산성 산화환원 매개체의 왕복 때문에 측정된 배경 전하를 일으키는 배경 전류를 포함할 수 있다. 배경 전류는 상기 기술된 바와 같이 최소화될 수 있고, 설명될 수 있다.

예로서, 본 발명의 한 감지기는 두 개의 $[Os(dmo\text{-}phen)_2(NMI)Cl]^+$ 양이온을 생성하기 위한 글루코오스 옥시다아제, 두 개의 양자 및 예컨대, 글루코노락톤 또는 다른 케톤 등의 글루코오스의 산화 생성물의 존재에서, 두 개의 $[Os(dmo\text{-}phen)_2(NMI)Cl]^{2+}$ 양이온을 갖는 글루코오스 분자(여기서, dmo-phen은 4,8-디메톡시펜안트롤린 및 NMI는 N-메틸이미다졸이다.)의 반응에 근거한다. 존재하는 글루코오스의 양은 $[Os(dmo\text{-}phen)_2(NMI)Cl]^+$ 양이온을 $[Os(dmo\text{-}phen)_2(NMI)Cl]^{2+}$ 양이온으로 전기산화시켜서 통과한 총 전하를 측정하여 분석된다.

공지의 기술들이 동일한 결과, 즉, 산화환원 매개체를 포함하는 반응 경로를 통하여 분석물의 전기분해를 제공하는 다양한 반응이 존재한다. 등식(1) 및 (2)는 그러한 반응의 비제한성 예이다.

전기량법전기량법

본 발명의 바람직한 실시형태에서, 전기량법은 분석물의 농도를 측정하는데 사용된다. 이 측정 기술은 분석물 농도를 측정하기 위해, 분석의 과정 중에 일정 간격에서 얻어진 전류 측정을 이용한다. 이러한 전류 측정은 전극에 또는 전극으로부터 통과된 전하(Q)의 양을 얻기 위해 시간에 따라 통합된다. Q는 하기 등식에 따라 분석물(C_A)의 농도를 계산하는데 사용된다(산화환원 매개체가 비용해성인 경우).

$$C_A = Q/nFV \quad (3a)$$

(식중, n은 분석물을 전기분해하기 위해 필요한 전자당량의 수이고, F는 페러데이 상수(당량당 약 96,500쿨롱) 및 V는 측정 지대에서 샘플의 부피이다.)

확산성 매개체를 사용시, 분석물의 농도는 하기 등식으로부터 얻을 수 있다.

$$C_A = (Q_{tot} - Q_{back})/nFV \quad (3b)$$

(식중, Q_{tot} 는 측정시에 이동된 총 전하이고, Q_{back} 는 분석물에 의하지 않은 이동된 전하의 양 예컨대, 작업전극 및 상대전극 사이의 확산성 매개체의 왕복에 의해 이동된 전하이다.)

적어도 한 예에서, 감지기는 배경 전하가 분석물의 전기분해에 의해 발생된 전하 크기의 5배 이하이다. 바람직하게는, 배경 신호는 분석물의 전기분해에 의해 발생된 전하의 200%, 100%, 50%, 25%, 10% 또는 5% 전하 이하이다.

분석물의 전기분해에 의해 발생된 신호에 대한 배경 신호의 비를 측정하기 위한 방법의 한 예는 대향하는 전극쌍에 대한 것으로 기술된다. 산화환원 매개체의 왕복이 적용 전위에 의해 쓸모 없게 되지 않는다면, 산화환원 매개체의 왕복에 기인한 전하는 하기 식에 의해 나타낼 수 있다.

$$Q_{back} = (A\ F\ D_M\ C_M/d)(tn_M)$$

(식중, A는 작업전극 영역이고, F는 패러데이 상수(96,5000쿨롱/당량), D_M 은 산화환원 매개체의 유효 확산 계수이고, C_M 은 측정 지대에서 산화환원 매개체의 농도이고, d는 대향 전극 사이의 거리이고, t는 측정을 시간 및 n_M 은 산화환원 매개체에 의해 얻어진 또는 잃은 전자의 수이다.)

또한, 분석물, 예컨대, 글루코오스의 전하는 분석물이 측정기에서 약 90%로 전기산화될 때 하기 식에 의해 나타낼 수 있다.

$$Q_G = A\ d(0.90)C_G\ n_G\ F$$

(식중, A는 작업전극의 영역이고, d는 대향 전극 사이의 거리이고, C_G 는 글루코오스의 농도이고, n은 분석물을 전기분해하는데 필요한 전자의 수(예컨대, 글루코오스 분자당 2전자) 및 F는 패러데이 상수이다.)

C_G 가 5mM(또는 5×10^{-6} 몰/㎤)일 때, t는 60초이고, n_G 가 2이고, n_M 이 1일 때, 분석물의 전기산화로부터의 전하에 대한 산화환원 매개체로부터의 전하의 비가 하기 식으로 나타낼 수 있다.

$$Q_{Back}/Q_G = (D_M C_M/d^2)(tn_M/(0.90n_G C_G)) = (D_M C_M/d^2) \times (6.7 \times 10^6)$$

예컨대, Q_{Back}/Q_G가 5이면, $(D_M C_M)/d^2$은 7.5×10^{-7} 몰/(㎤초)이다. 또한, 예컨대, Q_{Back}/Q_G가 1이면, $(D_M C_M)/d^2$은 1.5×10^{-7} 몰(/㎤초)이다. 또한 다른 예로, Q_{Back}/Q_G가 0.1이면, $(D_M C_M)/d^2$은 1.5×10^{-8} 몰/(㎤초)이다. 이렇게 해서, 소정의 비에 따라, 감지기는 D_M, C_M 및 d를 선택하여 구조될 수 있다. 예컨대, 산화환원 매개체의 농도는 감소될 수 있다(즉, C_M이 감소될 수 있다.). 또한, 산화환원 매개체의 확산이 예컨대, 상대전극에의 확산성 매개체 유동에 운반체를 갖는 것에 의해 감소될 수 있다(즉, 산화환원 매개체의 유효 확산 계수-D_M를 감소시킨다.). 다른 감지기 구조는 또한, 분석물에 의해 발생된 신호에 대한 배경 신호의 비를 조절하는데 적절하고 하기에 기술된다.

배경 전하, Q_{Back}은 다양한 방법으로 설명될 수 있다. Q_{Back}은 예컨대, 확산성 산화환원 매개체의 제한된 양을 사용하고, 상대전극에 산화환원 매개체의 확산을 제한하는 상대 전극 위에 막을 제공하거나 또는 작업전극 및 상대전극 사이의 비교적 작은 전위 차이를 갖는 것으로 감소시킬 수 있다. Q_{Back}을 감소시기는데 적절한 감지기 구조 및 방법의 다른 예는 상대전극에서 보다 더 빠른 작업전극에서의 산화환원 매개체 반응비를 갖고, 작업전극 위에 산화환원 매개체를 고정시키고, 상대전극 또는 상대/대조전극에서 그것의 반응에 따란 상대전극 또는 상/대조전극에 고정될 수 있는 산화환원 매개체를 갖거나 산화환원 매개체의 확산을 느리게 하는 감지기 등으로 기술된 것들을 포함한다.

또한, 감지기는 보정 곡선 또는 Q_{Back}에 대한 값을 측정하기 위해 개별적으로 또는 배치로 보정될 수 있다. 다른 옵션은 분석물의 전기분해를 위한 필수적인 아이템, 예컨대, 제2전자 전달제를 갖지 않는 제2전극쌍을 포함하는 것으로, 제2전극쌍으로부터 전체 신호는 Q_{Back}에 상응한다.

전기량 측정에 대해, 분석물의 적어도 20%는 전기분해된다. 바람직하게는 분석물의 적어도 50%, 보다 바람직하게는 적어도 80% 및 더욱 바람직하게는 적어도 90%가 전기분해된다. 본 발명의 한 실시형태에서, 분석물은 완전히 또는 거의 완전희 전기분해된다. 전하는 전기화학 반응시에 실행된 전류 측정으로부터 계산될 수 있고, 분석물의 농도는 등식(3a) 또는 (3b)를 사용하여 측정한다. 전기화학적 반응의 완결은 일반적으로 전류가 정상상태 값에 도달할 때 신호화된다. 이는 분석물 모두 또는 거의 모두가 전기분해된 것을 의미한다. 측정의 이런 방식에 대해, 분석물의 적어도 90%가 일반적으로 전기분해되고, 바람직하게는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 적어도 99%가 전기분해된다.

전기량법에 대해, 분석물이 신속하게 전기분해되는 것이 일반적으로 바람직하다. 전기화학 반응의 속도는 반응(1) 및 (2)의 전극 및 동력 사이에 가해진 전위를 포함하는 몇 가지 요인에 의존한다(다른 중요한 인자는 측정 지대의 크기 및 측정 지대에서 흡착제의 존재를 포함한다.). 일반적으로, 전위가 커질수록 세포를 통하는 전류가 커지고(수송 제한 최대까지), 그러므로, 반응이 일반적으로 더 빠르게 일어난다. 그러나, 전위가 너무 크면, 다른 전기화학적 반응이 측정에서 상당한 오차를 유도한다. 일반적으로, 특정 산화환원 매개체뿐만 아니라 전극 및 첨가 제2전자 전달제 사이의 전위는 분석물이 샘플 중 분석물의 기대된 농도에 근거하여 거의 완전히 5분 이내에 전기분해될 수 있도록 선택된다. 바람직하게는 분석물은 약 2분이내에, 더욱 바람직하게는 약 1분 이내에 거의 완전희 전기분해될 것이다.

본 발명의 다른 실시형태에서, 분석물은 단지 부분적으로 전기분해된다. 전류는 부분적 반응시 측정되고, 분석물의 완전한 또는 거의 완전한 전기분해에 대한 전류 곡선을 확인하기 위해 종래의 공지된 수학적 기술을 사용하여 추정될 수 있다. 이 곡선의 통합은 분석물이 완전히 또는 거의 완전히 전기분해될 때의 통과된 전하량을 산출하고, 등식(3a) 또는 (3b)를 사용하여 분석물의 농도가 계산된다.

전기량법은 측정 샘플의 부피를 알고 있어야 하는 단점을 가질지라도, 전기량법은 측정의 온도, 효소 활성, 산화환원 매개체 활성에 대해 의존하지 않고, 샘플 중 분석물의 고갈로부터의 측정 오차가 없는 이점을 갖기 때문에 작은 샘플의 분석을 위해 바람직한 기술이다. 상기 기술된 바와 같이, 전기량법은 분석물의 완전한 또는 거의 완전한 전기분해시 통과한 또는 통과하기로 되어 있는 전하량을 측정하는 방법이다. 한 전기량측정 기술은 작업 전극 위의 분석물을 전기분해하고, 전기분해시 2번 이상 작업전극 및 상대전극 사이의 발생 전류를 측정하는 것을 포함한다. 전기분해는 전류가 정상상태에 도달했을 때 완성된다. 샘플을 전기분해하기 위해 사용된 전하는 시간에 따라 측정된 전하를 통합하고, 배경 신호를 고려하여 계산된다. 전하가 샘플 중 분석물 양과 직접 관련되기 때문에 측정의 온도 의존이 없다. 게다가, 효소

의 활성은 측정값에 영향을 미치지 않으나, 시간에 따른 효소의 쇠퇴가 분석물 농도 측정을 부정확하게 하지 않도록 측정을 위해 요구된 시간에는 영향을 미친다(즉, 보다 활성인 낮은 효소는 샘플의 완전한 전기분해를 얻기 위해 더 긴 시간을 요구한다.). 그리고 마지막으로, 전기분해에 의한 샘플 중 분석물의 고갈은 오차의 원인이 아니라, 기술의 문제이다(그러나, 전기분해 곡선이 공지된 전기화학적 원리에 근거한 부분적인 전기분해 곡선으로부터 추정되는 것으로 분석물이 완전히 전기분해될 필요는 없다.).

비전기량 분석

전기량 분석이 유용할지라도, 종래 기술은 본 발명의 감지기가 또한, 샘플 중 분석물의 농도를 측정하기 위해, 전위차법, 전류측정법, 전압전류법 및 다른 전기화학적 기술을 사용할 수 있다. 이 전기량법에 의해 얻은 측정치는 전기량 측정처럼 온도 독립적이지 않다.

게다가, 이들 비전기량 전기화학적 기술에 의해 얻은 측정은 감지기에 제공된 활성 효소의 양에 민감할 수 있다. 효소가 시간에 따라 비활성 또는 쇠퇴하면,에 영향을 미칠 수 있다. 이는 효소가 매우 안정하지 않는다면, 그러한 감지기의 반감기를 제한할 수 있다.

마지막으로, 정상상태 전류측정법과 같은 비전기량 전기화학적 기술에 의한 측정은 분석물 및/또는 산화환원 매개체의 상당한 부분이 측정기 동안 전기분해되는 것에 음성적 영향을 미칠 수 있다. 정확한 정상상태의 측정은 충분한 분석물 및/또는 산화환원 매개체가 아니면, 얻어질 수 없는데, 분석물 및/또는 산화환원 매개체의 다소 적은 부분이 측정 과정 동안 전기분해된다. 이는 1㎕ 이하의 샘플 크기에서 이루어질 수 있다.

전류측정법 또는 전위차측정 기술 등의 비전기량 측정법을 사용하는 것이 몇 가지 예에서 바람직할 수 있다. 예컨대, 전기량법은 측정된 샘플의 부피를 알고 있어야 한다. 그리고, 작은 부피 감지기(즉, 1㎕ 이하) 측정 지대에서 샘플의 부피는 하나 이상 크기의 측정 지대를 허용하는 제작이 상당한 다양성을 가지고 있어서, 정확히 재생하는 것이 어려울 수 있다.

전기량 측정에 대해 기술된 바와 같이, 전극 사이에서 산화환원 매개체의 왕복으로부터 발생하는 배경 신호는 박층 전기화학적 세포에서 1㎕ 이하의 샘플의 전류측정 또는 전위차측정 분석에서 측정 오차의 원인이 될 수 있다. 일반적으로, 매개체가 측정기에서, 10배 이상, 바람직하게는 1회 이하 및 더욱 바람직하게는 0.1배 이하의 전극쌍 사이를 왕복하지 않는 것이 바람직하다. 배경 신호로부터의 오차 발생을 감소시키기 위해, 방법 및 감지기 구조는 전기량법을 위해 사용된 것과 유사 및 어떠한 경우에는 동일한 것이 사용될 수 있다. 예는 산화환원 매개체가 다소 천천히 반응하는 상대전극(특히, 작업전극에서 산화환원 매개체의 반응과 비교하여) 및/또는 상대전극에서 비가역적 반응을 수행하는 산화환원 매개체를 사용하여 다소 낮은 적용 전위에서 전기화학적 분석, 음성적 적용 전위에서 분석물을 전기산화 또는 양성적 적용 전위에서 분석물을 전기환원하는 등의 상기 기술된 방법 및 구조 모두를 포함한다. 다른 예는 하기 기술된다.

전기량법에 대해 기술된 바와 같이, 배경 신호가 분석물의 전기분해에 의해 발생된 신호의 5배 이하의 크기가 되도록 고안되고 작동되는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 배경 신호는 분석물 양의 전기분해에 의해 발생된 신호의 200%, 100%, 50%, 25%, 10% 또는 5% 이하이다. 배경 신호가 비교되는 분석물의 양은 " 배경 신호" 의 영역에서 상기 기술된다. 전류측정법의 경우, 분석물의 전기분해에 의해 발생된 신호는 측정될 때의 시간 또는 시간들에서 전류이다. 전위차측정법의 경우, 분석물의 전기분해에 의해 발생된 신호는 측정이 될 때의 시간 또는 시간들에서 전위이다.

주어진 작동 조건 하에서, 예컨대, 온도, 세포 기하 및 전극 크기, 배경 전류 I_{back} 의 크기는 하기 식에 의해 주어진다.

$$i_{back} = KC_M D_M / d$$

(식중, K는 비례 상수이고, C_M 은 측정 지대에서 매개체의 농도이고, D_m 은 통상의 작동 조건 하의 측정 지대에서 매개체의 유효 확산 계수이고, d는 전극 사이의 거리이다.)

비전기량 분석에 대해 배경 전류를 감소시키는 것이 바람직하다. 상기 기술된 감지기 구조 및 방법은 일반적으로 예컨대, 분석물의 농도에 대한 산화환원 매개체의 및/또는 제2전자 전달제(예컨대, 효소)의 낮은 농도 및/또는 다소 낮은 유효 확산 상수를 갖는 큰 산화환원 매개체를 사용하는 것을 포함한다. 상기 기술된 다른 유용한 방법은 확산성 매개체의 유동에 운반체(예컨대, 전하 또는 극성 운반체)를 갖거나 또는, 다소 낮은 유효 확산 상수를 갖는 산화환원 매개체를 사용하는 것에 의해 산화환원 매개체의 확산을 감소시키는 방법을 제공한다.

한 예에서, 유효 확산 계수는 약 1×10^{-6} ㎠/초 이하, 약 1×10^{-7} ㎠/초 이하 또는 약 1×10^{-8} ㎠/초 이하이다. 또한, 한 예에서, $C_M D_M$ (산화환원 매개체와 유효 확산 계수 곱의 농도)의 생성물은 약 1×10^{-12} ㎠/초 이하, 약 1×10^{-13} ㎠/초 이하 또는 약 1×10^{-14} ㎠/초 이하이다

하기는 글루코오스 10%가 d=0.01cm 길이로 분리된 대향 전극을 갖는 1㎕ 세포에서 전기분해되는 60초 동안 수행된 글루코오스의 전류 측정의 경우에 대한 특정 예를 제공한다. 측정이 하기 조건으로 실행되면(글루코오스 농도, C_G= 5 m_M (또는 5×10^{-6} 몰/㎤), A=0.1㎠의 영역, 산화환원 매개체로부터의 전자수 n_M =1 및 글루코오스로부터의 전자수 n_G =2), 산화환원 매개체 및 글루코오스에 의해 생성된 배경 전류는 하기로 측정된다.

$i_{back} = A F n_M D_M C_M /d$

$= (0.1)(96,500)(1)D_M C_M /(0.01)$

$= 9.65 \times10^5 C_M D_M$

$i_G = n_G A d(0.1)F C_G /t$

$= (2)(0.01)(0.1)(96,500)(5 \times10^{-6})/60 = 1.61 \mu amps$

이렇게 해서, i_{back}/i_G =5이면, $C_M D_M$ 의 값은 8.34×10^{-12} 몰/㎠초이다. 다른 예로, i_{back}/i_G =0.5이면, $C_M D_M$ 의 값은 8.34×10^{-13} 몰/㎠초이다. 또한, i_{back}/i_G =0.05이면, $C_M D_M$ 의 값은 8.34×10^{-14} 몰/㎠초이다.

한 전류측정 또는 전위차측정 실시형태에서, 산화환원 매개체 순환은 상대전극 또는 상대/대조전극으로부터 작업전극의 분리에 의해 감소되어 측정기에 산화환원 매개체가 확산하는 것을 통하는 거리가 예를 들어 전극 사이의 거리 보다 크지 않다. 산화환원 매개체는 $(D_m t)^{1/2}$ 와 같은 거리를 확산할 수 있다(식중, D_m 은 전극 사이의 매개물에 대한 유효 확산 계수이고, t는 시간이다.). 30초의 측정기 및 10^{-5} 및 10^{-6} ㎠/초 사이의 유효 확산 계수를 갖는 산화환원 매개체에 대하여, 전극은 적어도 100㎛, 바람직하게는 적어도 200㎛ 및 더욱 바람직하게는 적어도 400㎛로 분리될 수 있다.

작업전극 및 상대전극을 분리하는 방법은 전극 사이에 더 두꺼운 스페이서를 사용하는 것이다. 다른 방법이 도27에 도시된다. 이 실시형태에서, 작업전극(740)은 제1기판(742)에 배치되고, 상대전극(744)은 제2기판(746)에 배치된다(또한, 전극들은 동일한 기판에 배치될 수 있다.). 작업전극(742) 및 상대전극(744)은 균형을 이루어 두 전극 사이의 유효 거리(d)는 스페이서층(748)의 두께(w) 보다 크다. 한 실시형태에서, 전극 사이의 거리 d는 25 내지 1000㎛, 50 내지 500㎛ 또는 100 내지 250㎛의 범위내로 선택된다.

정상상태의 전류측정법 및 전위차법의 경우에서, 배경 신호는 전기분해율을 제한함으로써 제어될 수 있고, 그 비율은 충분히 느려서, 측정기, 예컨대, 30초, 1분, 5분 또는 10분 동안 분석물 농도를 약 20%, 10% 또는 5% 또는 그 이하의 이상으로 감소를 억제한다. 한 예에서, 전기분해율을 제어하기 위해, 제2전자 전달제의 농도 또는 활성은 감소 및/또는 작업전극 영역이 감소될 수 있다.

예컨대, 제2전자 전달제는 효소일 수 있고, 효소 활성은 전기분해율에 대한 제한 인자일 수 있다. 예컨대, 분석물 농도가 5nM 글루코오스(즉, 1㎕ 중의 5 $\times 10^{-9}$ 몰 글루코오스)이고, 글루코오스(5×10^{-10} 몰)의 10% 이하가 30초 측정기 동안 전기산화될 수 있고, 전류는 1㎕에 대해 3.3 $\times 10^{-6}$ 암페어를 초과하지 않는다. 효소 1유닛은 HEPES 완충액 중 37℃, pH7.4에서 60초내에 그 기판의 1μmole의 전기분해를 촉매하는 효소의 양이다. 따라서, 글루코오스에 대해, 1㎤(즉, 1ml) 중의 3.3 $\times 10^{-3}$ 암페어까지의 전류가 발생될 수 있다. 그러므로, 효소의 양을 조절하는 것에 의한 전기분해량을 제한하는 감지기에서 사용된 효소의 최대 양은 1유닛/㎤ 이하이다.

전기분해율은 또한 다소 작은 작업전극 영역을 사용하여 제한될 수 있다. 작업전극 영역이 충분히 작을 때(예컨대, 약 0.01㎠ 이하, 약 0.0025㎠ 이하 또는 약 0.001㎠ 이하), 전극에 대한 분석물의 방사 확산은 일정 적용 전위에서 정상 상태의 전류를 생성하고, 이는 분석물 농도의 대표이다. 원형 전극에 대해, 적절한 표면적은 60㎛ 이하, 30㎛ 이하 또는 20㎛ 이하의 반경을 갖는 전극을 사용하여 이루어질 수 있다. 분석물의 방사 확산은 단지 전극 표면에 수직의 방향으로부터가 아닌 모든 방향으로부터의 분석물 수송을 포함하고, 그러므로, 전극 표면에 인접한 분석물의 고갈을 감소시키거나 방지할 수 있다. 평면 표면 위의 작은 전극이 방사 확산을 가능하게 한다. 더 큰 표면적 전극을 갖는 감지기에서, 전극에 분석물의 수송은 방사 확산 대신에 반-영구 직선 확산으로 구조될 수 있다. 이렇게 해서, 전극에 대한 분석물의 수송은 전극 표면에 직선 방향으로 확산에 의해 조절된다. 결과로, 감소된 수송율은 일반적으로 전극 표면에 인접한 분석물의 고갈을 극복할 수 없고, 일정 적용 전위에서, 전류는 $t^{-1/2}$ 에 따른 시간, t로 감소한다.

야니츠키 앤드 헬러(Yarnitzky and Heller, J. Phys. Chem., 102:10057-61(1998))에 의해 제안된 형태의 전위차 측정 분석에 대해, 전위는 분석물 농도에 따라 직선상으로 다양하고, 특정 산화 상태에서 분석물 및/또는 산화환원 매개체의 농도는 분석시 약 20% 이하로 다양하다. 농도가 20% 이상이면, 분석물 또는 산화환원 매개체의 확산은 예컨대, 온도 및/또는 샘플 챔버 및/또는 측정 지대의 부피를 조정하여 제어될 수 있다.

이 서술이 분석물의 전기분해를 기술하는 반면, 종래 기술은 동일한 장치 및 기술이 또한 예컨대, 코트렐형의 반응에서 매개체의 평균 산화 상태의 측정에 적합하다는 것을 확인한다.

공기 산화성 산화환원 매개체

산화환원 매개체를 갖는 감지기에서, 측정 오차의 전위 근원은 알려지지 않은 혼합된 산화 상태 중의 산화환원 매개체의 존재이다(즉, 알려진 산화 상태에서 재생되지 않는 매개체). 산화환원 매개체가 작업전극에서 전기산화 또는 전기환원될 때 통과된 전하는 초기 산화 상태에 의해 영향을 받는다. " 감지기의 작동" 이라는 제목 하에 기술된 등식(1) 및 (2)에 관해서, 전류는 샘플의 첨가 전에 그것의 환원형인 산화환원 매개체, A의 일부분의 전기산화 때문에, 생화합물 B의 산화에 관여하지 않는 전류가 흐를 것이다. 이렇게 해서, 샘플의 감지기로의 도입 전에 분석물의 산화 상태를 아는 것이 중요할 수 있다. 게다가, 산화환원 매개체의 모두 또는 거의 모두가 샘플의 감지기로의 도입 전에 산화의 동일한 상태 또는 범위를 갖는 것이 바람직하다.

각 산화환원 매개체는 환원형 또는 상태 및 산화형 또는 상태를 갖는다. 측정된 전류에 상당한 배경 기여를 피하기 위하여, 샘플의 도입 전에 환원형의 산화환원 매개체의 양이 샘플 중 분석물의 기대 양보다 작은 것이 바람직하다. 본 발명의 실시형태에서, 분석물 도입 전에 환원형의 산화환원 매개체의 몰량은 화학량론적 기초에 근거를 두어, 기대 분석물 농도에 대한 분석물 몰량의 약 10% 및 더욱 바람직하게는 약 5% 이하 및 가장 바람직하게는 1%이하이다(분석물 및 산화환원 매개체의 상대 몰량은 감지할 수 있을 정도의 산화환원 반응의 화학량론에 근거하여 비교된다. 예컨대, 산화환원 매개체의 2몰이 분석물 1몰을 전기분해하는데 요구되면, 분석물의 도입 전에 환원형의 산화환원 매개체의 몰량이 기대 분석물 농도에 대한 분석물 몰량의 바람직하게는 20% 이하 및 더욱 바람직하게는 10% 이하 및 가장 바람직하게는 2% 이하이다.).환원된 매개체의 양을 제어하는 방법은 하기 기술된다.

본 발명의 다른 면에서, 감지기에 샘플의 도입 전에 환원된 산화환원 매개체에 대한 산화된 산화환원 매개체의 비율은

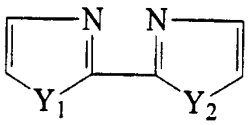
다소 유사한 구조된 감지기들 사이에서 일정한 것이 바람직하다. 다소 일정한 비율을 유지하는 것으로부터의 벗어남이 여러 개의 유사한 감지기를 갖는 동일한 샘플에 대해 얻어진 결과의 분산을 증가시킬 수 있다. 본 발명의 이런 관점에 대해, 감지기에서 샘플의 도입 전에 환원형의 산화환원 매개체의 비율은 유사하게 구조된 감지기들 사이에서 약 20% 이하, 바람직하게는 10% 이하로 다양하다.

감지기에서 샘플의 도입 전에 환원된 산화환원 매개체의 양을 조절하는 방법은 매개체의 환원형을 산화하는 산화제를 제공하는 것이다. 가장 편리한 산화제 중의 하나는 O_2이다. 산소는 일반적으로 이 산화 작용을 용이하게 수행할 수 있다. 산소는 공기에 감지기를 노출함하여 제공될 수 있다. 또한, 특별한 주의가 주어지지 않으면, 대부분의 중합체 및 액체가 공기로부터 산소를 흡수한다. 일반적으로, 고체상에서 공기 산화성(즉, O_2) 매개체의 적어도 90%는 유용한 기간, 예컨대, 한달 이하 및 바람직하게는 한 주 이하 및 더욱 바람직하게는 하루 이하의 공기에 저장 또는 노출에 대해 산화 상태이다. 공기 산화는 감지기에 배치 전에 매개체를 공기 산화하기에 충분한 기간 동안 고체상 또는 용액으로서 발생할 수 있다. 용액 중의 공기 산화성 산화환원 매개체의 경우에서, 산화환원 매개체의 산화를 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90%를 이루기 위해 요구된 시간이 적어도, 분석의 기대 기간에 대해 10배이고, 또한 용액의 팟 라이프(pot life) 이하이다. 산화환원 매개체의 바람직하게는 적어도 80%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%가 1주일 내, 바람직하게는 1일, 보다 바람직하게는 8시간내 및 더욱 바람직하게는 1시간 이내에 공기 산화된다.

산화의 동일한 상태 또는 범위에 단일 배치에서 제작된 감지기의 매개체를 가져오는 것이 바람직한 반면, 매개체가 높은 전자 상태로 완전히 산화되는 것이 필수적이지는 않다. 또한, 용해된 산화환원 매개체의 공기 산화가 너무 빠르지 않아서 분석시 공기-산화가 측정을 간섭하거나 오차를 낼 수 있다.

모두 공기-산화성(즉, 산소-산화성)이고, 전자 전달력을 갖는 적절한 매개체가 기술된다. 유용한 매개체의 한 특정 군은 전자리치(electron-rich) 질소함유 헤테로고리 또는 전자리치 질소함유 헤테로고리 및 할리드의 조합에 결합된 오스뮴 복합체이다. 전자리치 질소함유 헤테로고리는 이미다졸 유도체 및 알킬, 알콕시, 아미노, 알킬아미노, 아미도 및 머캅토기 등의 전자-기여 치환분을 포함하는 피리딘 또는 펜안트롤린을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 오스뮴 복합체는 금속에 결합된 하나 이상의 할리드를 갖고, 이 매개체는 전체적으로 양성 전하이고, 이렇게 해서 수용성이다. 예로 모노, 디 및 폴리알콕시-2,2'-비피리딘과 복합된 오스뮴이다. 다른 예는 알콕시기가 물 중의 용해성을 함유하기에 충분한 산소 비율에 대해 탄소를 갖는 공기 산화성인 모노, 디 및 폴리알콕시-1,10-펜안트롤린을 포함한다. 이들 오스뮴 복합체는 일반적으로 두 개의 치환형 비피리딘 또는 치환형 펜안트롤린 리간드를 갖고, 이들 두 리간드는 필수적으로 동일하지는 않다. 이들 오스뮴 복합체는 또한 피리딘 및 이미다졸 등의 하나 이상의 질소함유 헤테로고리를 갖는 모노메릭 또는 폴리메릭 리간드와 복합체를 이룬다. 바람직한 폴리메릭 리간드는 폴리(4-비닐피리딘) 및 더욱 바람직하게는 폴리(1-비닐이미다졸) 또는 이것의 공중합체를 포함한다. 폴리(1-비닐이미다졸) 또는 폴리(4-비닐피리딘)과 복합체를 이룬 $[Os[4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘]_2Cl]^{+/+2}$ 는 Os^{+2} 양이온이 O_2에서 Os^{+3}에 의해 산화될 때, 특히 유용한 것으로 보인다. 유사한 결과는 $[Os(4,7-디메톡시-1,10-펜안트롤린)_2Cl]^{+/+2}$ 및 다른 모노, 디 및 폴리알콕시비피리딘 및 펜안트롤린과 다른 중합체의 복합체에 대해 기대된다. 브롬 등의 다른 할로겐기가 염소에 대해 치환될 수 있다. 유사한 결과가 또한 상기 명시된 바와 같이 하기 구조를 포함하는 복합체에 대해 기대된다.

화학식 9



공기-산화성 매개체와 결합된 복합체는 산화환원 매개체의 공기 산화가 매우 빨라서, 분석물 환원형 산화환원 매개체의 상당한 부분이 분석물 분석시 O_2에 의해 산화될 때 발생한다. 이는 매개체가 전극에서 그것의 전기산화 외에 공기에 의해 산화되기 때문에 분석물의 양이 추정되는 것처럼 부정확한 분석을 야기한다. 매개체의 공기 산화가 빠르면, 용해된 공기 및 공기의 내부 확산이 측정의 결과에 영향을 미치기 때문에 O_2와 산화환원 매개체의 반응은 매개체의 전기산화보다 더욱 천천히 진행된다.

일반적으로, 분석은 약 10분 이하, 바람직하게는 5분 이하 및 가장 바람직하게는 약 1분 이하가 걸리기 때문에, 저장 상태에서 공기 산화성을 통하는 매개체는 분석시 용해된 산소에 의해 산화되지 않을 것이다. 이렇게 해서, 혈장 또는 혈청에 용해될 때, 1분 이내에, 바람직하게는 10분 이내에 용해되지 않는 매개체가 바람직하다. 일반적으로, 환원된 매개체의 5% 이하 및 바람직하게는 1% 이하가 분석시 공기에 의해 산화된다.

매개체의 공기 산화의 반응율은 적당한 복합체를 이룬 중합체의 선택으로 조절될 수 있다. 예컨대, 폴리(4-비닐피리딘)에 결합된 동일한 Os 복합체 보다 폴리(1-비닐이미다졸)에 공유결합된 $[Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)_2Cl]^{+/+2}$ 에 대해 더 빠르다. 적당한 중합체의 선택은 기대된 분석물 농도 및 전기화학적 반응율을 측정하는 양쪽 전극 사이에 가해진 전위에 의존한다.

이렇게 해서, 본 발명의 한 실시형태에서, 바람직한 산화환원 매개체는 하기 1) 매개체는 샘플 또는 분석물 외의 감지기에서의 어떠한 분자와도 반응하지 않고(첨가로, 제2전자 전달제를 통하여), 2) 산화환원 매개체의 거의 모두는 감지기에서 샘플의 도입 전에 O_2 등의 산화제의 의해 산화되고 및, 3) 산화제에 의한 산화환원 매개체의 산화는 전극에 의한 매개체의 전기산화화 비교하여 느린 특징을 갖는다.

또한, 산화환원 매개체가 분석물의 존재에서 산화되고, 전극에서 전기환원되면, 산화제 외의 환원제가 필요하다. 환원제 및 매개체의 적절한 선택을 위한 동일한 고려가 산화제에 대해 기술된 바와 같이 적용된다.

본 발명의 전기화학적 감지기에서 안정한 공기-산화성 산화환원 매개체의 이용은 저장 및 포장시 추가되는 이점을 제공한다. 공기-산화성 산화환원 매개체를 포함하는 본 발명의 감지기는 오랜 기간 동안, 예컨대, 한 달 이상 동안 산화 상태에서 산화환원종의 적어도 80% 및 바람직하게는 적어도 90%를 유지하면서 분자 산소를 포함하는 분위기에서 포장될 수 있고 저장될 수 있다.

광학적 감지기에서 공기-산화성 매개체의 이용

본 발명의 공기-산화성 산화환원 매개체종은 감지기의 다른 형태에서 사용될 수 있다. 여기서 기술된 오스뮴 복합체는 흡수 스펙트라에서 차이, 복합체를 이룬 Os^{+2} 및 Os^{+3} 의 발광 및/또는 형광 특징 때문에 광학적 감지기에서 이용을 위해 적절하다. 산화환원종의 흡수, 전이, 반사, 발광 및/또는 형광 측정은 샘플 중 분석물 양과 관련있다(분석물 및 산화환원종 사이의 반응 후, 직접 또는 효소 등의 제2전자전달제를 통하여).이 구조에서, 화학량론을 근거로 산화환원 매개체의 분자량이 감지기의 측정 지대를 충전하기로 예상된 분석물의 분자량 보다 커진다.

광-가이딩 광학적 섬유 감지기 및 측정 기술을 포함하는 표준 광학적 감지기는 공기-산화성 매개체와 사용에 적합할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 광학적 감지기는 공기-산화성 산화환원종 및 바람직하게는 분석물-반응성 효소가 필름을 형성하기 위해 코팅된 위에 광전이 또는 광반사 지지체를 포함할 수 있다.지지 필름은 샘플이 놓여진 측정 지대에 대한 한 경계를 형성한다.

측정 지대의 다른 경계는 세포의 구조에 의해 결정된다. 분석물-함유 샘플로 측정 지대를 채울 때, 분석물, 바람직하게는 분석물-반응성 효소와 반응을 통하여 공기-산화성 매개체의 환원이 광전이, 흡수 또는 반사 스펙트라 또는 하나 이상의 광파장에서 매개체의 발광 및/또는 형광에서 변화에 의해 감지된 매개체의 산화 상태에서 변이를 유도한다.

다중 전극 감지기 및 보정

다중 전극 감지기는 다양한 이유로 사용될 수 있다. 예컨대, 다중 전극 감지기는 단일 샘플을 사용하는 다양한 분석물을 시험하는데 사용될 수 있다. 도5에 도시된 다중 전극 감지기의 한 실시형태는 다른 측정 지대를 한정하는 각 작업전극(22)을 갖는 하나 이상의 작업전극을 차례로 포함할 수 있는 하나 이상의 샘플 챔버를 갖는다. 산화환원 매개체가 비용해성이면, 하나 이상의 작업전극은 예컨대, 제1분석물을 시험하기 위한 적당한 화학제, 예컨대, 적당한 효소를 갖고, 하나 이상의 남은 전극은 제2분석물을 시험하기 위해 적당한 화학제를 갖는다. 화학제(예컨대, 산화환원 매개체 및/또는 제2전자 전달제)는 작업전극 위에 감지층으로 침착될 수 있거나, 확산성 제제가 사용되면, 그들은 샘플 챔버의 어떠한 표면에 침착될 수 있거나 또는 샘플에 놓일 수 있다. 예컨대, 다중 전극 감지기는 1) 글루코오스 농도를 측정하기 위해

감지층에서 글루코오스 옥시다아제를 갖는 하나 이상의 작업전극 및 2) 젖산 농도를 측정하기 위해 감지층에서 젖산 옥시다아제를 갖는 하나 이상의 작업전극을 포함할 수 있다.

다중 전극 감지기는 결과 리딩의 정확성을 향상시키기 위해 사용될 수 있다. 작업전극(모두 또는 동일한 분석물을 감지하는 것) 각각으로부터의 측정은 더욱 정밀한 리딩을 얻기 위해 함께 모아져 평균이 구해질 수 있다. 한 경우에서, 측정은 값 및 평균 사이의 차이가 역치 제한을 초과하면 거절될 수 있다. 이 역치는 예컨대, 평균 측정의 표준오차 등의 통계학적 변인에 대해 측정될 수 있다. 평균은 거절된 값을 제거하여 재계산될 수 있다. 게다가, 거절된 값을 산출한 전극으로부터 계속된 리딩은 특정 전극이 잘못되었는 지를 측정하여 후에 무시될 수 있다. 또한, 특정 전극은 다른 전극으로부터의 리딩을 근거로 거절된 리딩의 미리 측정된 수를 갖은 후에만, 제거될 수 있다.

정확성을 증가시키기 위해 다중 전극 감지기를 사용하는 것에 첨가하여, 다중 측정이 각 전극에서 이루어질 수 있고 정확성을 증가시키기 위해 평균이 구해진다. 이 기술은 또한, 단일 전극 감지기의 정확성을 증가시키는 것에도 사용될 수 있다.

분석에서 오차는 감지기의 측정 지대의 부피의 다양함 때문에 다수의 생산된 감지기가 사용될 때 발생할 수 있다. 측정 지대의 세 가지 크기 중 두 가지, 길이 및 너비는 일반적으로 약 1-5mm 사이로 다소 크다. 그러한 크기의 전극은 2% 이하의 다양성을 갖도록 용이하게 생산될 수 있다. 그러나, μℓ 이하의 측정 지대는 세번째의 크기가 첫번째 또는 두번째의 크기의 길이 또는 너비 보다 작을 것으로 필요로 한다. 기술된 바와 같이, 샘플 챔버의 두께는 일반적으로 약 50 내지 약 200㎛ 사이이다. 두께에서의 생산 차이는 20 내지 50㎛의 일 수 있다. 그러므로, 측정 지대 내의 샘플 부피에서 부정확성에 대해 수용되도록 제공되는 방법이 바람직하다.

도5에 도시된 본 발명의 한 실시형태에서, 다중 작업전극(42,44,46)이 기재(48)에 제공된다. 이 전극들은 상대전극(미도시)을 갖는 다른 기재(미도시)에 의해 덮일 수 있고, 다중 대향 전극쌍을 제공하는데에 배치될 수 있다. 주어진 감지기의 전극쌍중 작업전극 및 상대전극 사이의 분리 거리에서 다양성은 작업전극 및 상대전극이 각 전극쌍 사이의 동일한 스페이서(28)를 갖는 단일 기재에 제공된다(도3).

전극쌍의 측정 지대의 부피를 정확히 측정하는데 사용될 수 있고, 노이즈를 감소시키는데 유용한 다중 전극 감지기의 한 예가 하기 기술된다. 이 예에서, 작업전극(42)의 하나는 비용해성 산화환원 매개체 및 비용해성 제2전자 전달제(예컨대, 효소)로 준비된다. 흡착제 물질은 작업전극(42)과 그에 상응하는 상대전극 사이에 배치될 수 있다. 다른 작업전극(44)은 전극 위에 비용해성 산화환원 매개체를 포함하나 제2전자 전달제는 포함하지 않는다. 또한, 이 제2전극쌍은 작업전극(44) 및 상응하는 상대전극 사이의 흡착제 물질을 가질 수 있다. 첨가로, 제3작업전극(46)은 산화환원 매개체 및 전극에 결합된 제2전자전달제도 갖지 않고, 작업전극(46) 및 이에 상응하는 상대전극 사이의 흡착제 물질도 없다. 유사한 구조가 확산성 성분이 작업전극 위에 배치되는 것이 제한되지 않을 지라도, 확산성 산화환원 매개체 및/또는 확산성 제2전자전달제를 사용하여 구조될 수 있다. 한 예에서, 전극쌍 사이의 거리는 산화환원 매개체 및/또는 효소가 측정기 및/또는 측정의 말기에 동일한 샘플의 샘플 챔버로의 도입 시에 전극쌍 사이에서 실질적으로 확산하지 않는다.

샘플의 도입 전에 비전형적 산화 상태에서 산화환원 매개체에 의해 야기된 감지기 오차는 인접한 전극(42,44)인 측정 지대에서 샘플을 전기분해하여 측정될 수 있다. 전극(42)에서, 분석물은 전기분해되어 샘플 신호를 제공한다. 전극(44)에서, 분석물은 제2전자전달제의 부재 때문에 전기분해되지 않는다(제2전자 전달제가 필수적으로 가정될지라도). 그러나, 전하는 샘플의 도입 및/또는 작업전극 및 상대전극 사이에서 확산성 산화환원 매개체의 왕복 이전에 혼합된 산화 상태(즉, 환원 상태 및 산화 상태에서 산화환원 센터)인 산화환원 매개체의 전기분해 때문에 통과할 것이다(그리고 전류도 통할 것이다.). 제2전극쌍에서 전극 사이를 통과한 작은 전하는 산화환원 매개체의 산화 상태에 의한 오차를 제

거 및/또는 확산성 산화환원 매개체에 의해 야기된 배경 전류를 제거하기 위해 제1전극쌍 사이를 통과한 전하에서 감해질 수 있다. 이 과정은 또한 용량 전하 및 페러데이 전류와 관련한 오차 및 아스코르베이트, 요산염 및 아세트아미노펜 등의 다른 전기분해된 간섭제와 관련한 오차를 감소시킨다.

샘플 챔버의 두께는 전극(46)(또는 흡착제 물질의 부재에서 다른 전극(42,44) 중 어느 하나)과 그에 상응하는 전극 사이의 용량을 바람직하게는 용액의 부존재에서 측정하여 결정된다. 전극쌍의 용량은 전극의 표면적, 전극 상이의 공간 및 플레이트 사이에서 재료의 유전체 상수에 의존한다. 공기의 유전체 상수는 이 전극 구조의 용량이 피코패럿(picofarads)(또는 대부분의 생체액에 대한 유전체 상수가 대략 75로 주어진 전극 및 상대 전극 사이가 액체이면, 약 100-1000피코패럿)인 것을 일반적으로 의미하는 단위이다. 이렇게 해서, 전극의 표면적이 알려지기 때문에, 전극쌍의 용량의 측정은 약 1-5% 이내로 측정 지대의 두께 측정을 가능하게 한다.

흡착제 물질 중 공극 부피의 크기는 액체의 추가 전후에 전극(44)(제2전자 전달제를 갖지 않는) 및 이에 관련한 상대 전극 사이의 용량을 측정함으로써 측정될 수 있다. 첨가 액체에 따라, 용량은 액체가 더 큰 유전체 상수를 갖기 때문에 크게 증가한다. 액체를 포함하는 것과 포함하지 않는 것의 용량을 측정하는 것은 전극과 흡착제 중의 공극 부피 사이의 공간의 측정을 가능하게 하고, 이렇게 해서, 반응 지대의 액체의 부피를 측정하게 한다.

다른 전극 구조는 또한, 이들 기술(즉, 중요한 성분의 부존재시에 용량 측정 및 전기량 측정)을 간섭제 및 지시된 샘플의 부피에 대한 부정확한 지식에 의한 배경 노이즈 및 오차를 감소시키기 위해 사용할 수 있다. 상기 기술된 하나 이상의 전극쌍 및 하나 이상의 측정과 관련한 프로토콜은 본 발명의 범위내에서 발달되고 있을 수 있다. 예컨대, 단지 한 전극쌍이 용량 측정을 위해 필요하나 첨가 전극쌍이 편의상 사용될 수 있다.

충전 지시기

1μℓ 이하의 액체로 충전된 샘플 챔버를 사용시, 샘플 챔버가 충전된 것을 확인할 수 있는 것이 바람직하다. 도18a-18c는 충전 지시기 구조를 갖는 감지기를 도시한다. 도18a는 작업전극(502)이 인쇄된 제1기판(500)을 도시한다. 한 층의 접착제 또는 양면테이프 등의 스페이서(504)(도18b)는 제1기판(500) 및 샘플 챔버를 제공하기 위한 층에 형성된 채널(506)을 갖는 작업전극(502)에 형성된다. 제2기판(508)은 도18c(도18a 및 18b에 역전된 전극 측면)에 도시된 바와 같이, 두 개의 전극(510,512)으로 인쇄된다. 한 예에서, 채널(506)의 입구(514)에 가장 인접한 상대전극(510)은 적어도 다른 상대전극(512) 보다 두배 크고, 바람직하게는 5 또는 10배 이상 큰 샘플 챔버내의 표면적을 갖는다.

감지기는 액체로 충전될 때, 제2상대전극(512) 및 작업전극(502) 사이의 신호를 관찰하여 충전되는 것으로 지시될 수 있다. 액체가 제2상대전극(512)에 도달할 때, 상대전극으로부터의 신호는 변한다. 관찰을 위한 적절한 신호는 예컨대, 제2상대전극(512) 및 작업전극(502) 사이의 전압, 전류, 저항, 임피던스 또는 용량이다. 또한, 감지기는 신호 값(예컨대, 전압, 전류, 저항, 임피던스 또는 용량)이 샘플 챔버가 충전되었다는 것을 지시할때를 결정하는 것을 충전 후 관찰될 수 있다.

다른 실시형태에서, 상대전극 및/또는 작업전극은 두 개 이상의 부분으로 나뉘고, 각 부분으로부터의 신호가 감지기가 충전되었는지를 결정하기 위해 관찰된다. 한 실시형태에서, 작업전극은 상대전극 및 지시전극과의 대향 관계이다. 다른 예에서, 상대전극, 작업전극 및 지시전극은 대향하는 관계는 아니나, 예컨대, 나란히 위치한다. 다른 경우에서, 제2전극쌍은 감지기가 충전되었는지를 결정하기 위한 전하 및/또는 특정값에 접근에 대해 감지된 제2전극쌍으로부터의 신호로 사용될 수 있다. 일반적으로, 지시전극은 또한, 작업전극 및 상대전극 보다 샘플 입구 포트로부터 아래쪽이다.

도19a-19c 및 도20a-20c에 도시된 바와 같이, 측면-충전 감지기에 대해, 두 개의 지시전극은 제1상대전극의 측면에 배치될 수 있다. 이는 사용자가 더 상부에 배치된 지시전극으로 왼쪽 또는 오른쪽 측면으로부터 샘플을 충전하도록 한다. 이 세 개의 전극 구조는 필수적이지 않다. 측면 충전 감지기는 또한, 단일 지시기 전극을 갖고, 바람직하게는 샘플 액체와 접촉하여 놓일 수 있도록 몇 가지 지시를 갖는다.

한 실시형태에서, 세 개의 상대/대조전극 및/또는 지시전극의 사용은 샘플 챔버가 충전하기 시작하고, 샘플 챔버가 샘플 챔버의 부분적 충전을 방지하기 위해 충전될 때 감지한다. 이 실시형태에서, 두 개의 지시전극은 가장 큰 상대/대조전극보다 다른 전위에서 지지된다. 샘플 챔버의 충전의 개시 및 완결은 지시전극 및 상대/대조전극 사이의 전류의 유동에 의해 지시된다.

다른 예에서, 상대/대조전극의 각각의 전위는 동일할 수 있다. 모든 세 개의 상대/대조전극에서 전위는 예컨대, 0 볼트로 동일할 때, 측정 지대가 충전하기 시작하고, 액체가 작업전극 및 상대/대조전극 사이의 전기 접촉이 가능하게 되도록 하여 효소 및 매개체와의 분석물의 반응 때문에 제1상대/대조전극에서 전류를 야기한다. 액체가 제3상대/대조전극에 도달할 때, 측정 지대가 충전하는 것을 지시하는 제1상대/대조전극과 유사한 다른 전류가 측정될 수 있다. 측정 지대 충전시, 세 개의 상대/대조전극은 함께 짧아지거나, 그들의 신호가 추가되거나 조합될 수 있다.

지시전극은 또한, 다중 전극 감지기에 대한 상기 기술된 방법에 따라 분석물 측정의 정확성을 증가시키는데 사용될 수 있다. 지시전극은 작업전극 또는 상대전극 또는 상대/대조전극으로 작용한다. 도18a-18c의 실시형태에서, 지시전극(512)은 작업전극(502)에 대하여 제2상대전극 또는 상대/대조전극으로 작용할 수 있다.

지시전극/작업전극쌍으로 부터의 측정은 더욱 정확한 측정을 얻기 위해 제1상대전극 또는 상대/대조전극/작업전극쌍의 것과 조합될 수 있다(예컨대, 추가 및/또는 평균). 한 실시형태에서, 지시전극은 상대전극 또는 상대/대조전극과 제2작업전극으로 작동할 수 있다. 다른 실시형태에서, 지시전극은 제2상대전극 또는 상대/대조전극과 제2작업전극으로 작동할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 지시전극은 제2작업전극과 제2상대전극 또는 상대/대조전극으로 작용할 수 있다.

감지기 또는 감지기 리더는 사용자에게 측정 지대가 충전되는 것을 알리기 위하여 지시전극에 반응하여 활성화되는 신호(예컨대, 시각 또는 청각 신호)를 포함할 수 있다. 한 예에서, 감지기 또는 감지기 리더는 측정 지대가 사용자를 주의시키거나 그렇지 않으면서 충전되는 것을 지시할 때 리딩을 개시하는 형태로 구조될 수 있다. 리딩은 예컨대, 작업전극 및 상대전극 사이에 전위를 가하고 작업전극에서 발생된 신호를 감지하는 것을 시작하여 개시될 수 있다.

샘플의 가열

샘플은 분석물의 확산율, 산화율 또는 환원율을 증가시키도록 가열될 수 있다. 이 가열은 가열된 환경에 감지기를 위치시키거나 감지기에 가열 유닛을 넣는 것을 포함하는 다양한 기술에 의해 이루어질 수 있다.

또 다른 기술은 예컨대, 감지기 위에 전기 에너지를 열에너지로 전환할 수 있는 와이어 또는 잉크 등의 열 가열 요소를 제공하는 것을 포함한다. 이 와이어 또는 잉크가 작업, 상대, 대조전극 또는 상대/대조전극 중의 하나 이상으로부터 예컨대, 중합체 필름 등의 기재의 반대측면에 가해질 수 있거나 작업, 상대, 대조전극 또는 상대/대조전극의 주위에 가해질 수 있다. 한 예에서, 샘플은 상기 개시 온도 5 내지 20℃까지 가열될 수 있다. 다른 예에서, 샘플의 온도가 알려져 있지 않는 경우에도, 전압 또는 전류의 일정 양이 와이어 또는 잉크에 가해질 수 있다.

(실시예)

본 발명은 또한, 하기의 실시예들을 통하여 특정화된다. 이 실시예들은 이전의 기술된 본 발명의 범위를 제한하는 의도는 아니다. 본 발명의 개념내의 다양함이 종래 기술에 명확하다.

실시예1: 글루코오스 농도의 측정을 위한 작은 부피 시험관내 감지기의 준비실시예1: 글루코오스 농도의 측정을 위한 작은 부피 시험관내 감지기의 준비

감지기는 도1에 도시된 본 발명의 실시형태에 따라 구조된다. 작업전극은 0.175mm의 두께 및 약 2.5cm의 직경을 갖는 Mylar™ 필름(DuPont)에 구조되었다. 약 1cm의 직경을 갖는 대략 12 미크론 두께의 탄소 패드가 Mylar ™ 위에 스크린 인쇄되었다. 탄소 전극은 12㎛의 두께 및 중앙 입구에 4mm 직경을 갖는 물불용성 유전 절연체(Insulator)로 덮여있다.

유전체에 의해 덮이지 않은 탄소 전극의 중심은 비용해성 산화환원 매개체로 덮여있다. 산화환원 매개체를 Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)$_2$Cl$_2$와 폴리(1-비닐이미다졸)을 복합체화하여 형성한 후, 테일러 등(Taylor et al., J. Electroanal. Chem. 396:511(1995))에 기술된 바와 같이, 폴리에틸렌글리콜디글리시딜에테르(PEGDGE)를 사용하여 오스뮴 중합체와 글루코오스 옥시다아제를 교차결합하였다. 산화환원 매개체에서 이미다졸 관능기에 대한 오스뮴의 비는 대략 1:15이다. 매개체는 0.6㎛의 두께 및 4mm의 직경을 갖는 층의 작업전극에 침착된다. 전극 위의 매개체의 범위는 약 60㎍/㎠(건조 중량)이었다. 스페이서 재료는 전극의 매개체 덮인 표면의 주위의 전극에 놓였다. 스페이서는 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)으로 구성되고, 약 0.040mm의 두께를 갖는다.

흡착제 물질은 작업전극의 매개체 덮인 표면과 접촉하도록 놓였다. 흡착제는 나일론(Tetko Nitex 나일론 3-10/2)로 구성된다. 흡착제는 5mm의 직경, 0.045mm의 두께 및 약 20%의 공극부피를 갖는다. 측정 지대에서 샘플의 부피는 흡착제 및 전극의 크기 및 특징으로부터 계산되었다. 측정 지대는 0.57㎕의 부피를 산출하는 4mm의 직경(전극의 매개체 덮인 표면의 직경) 및 0.045mm의 두께(나일론 흡착제의 두께)를 갖는다. 이 공간 중에서, 약 80%는 나일론으로 충전되고, 다른 20%는 나일론 흡착제 내의 공극 공간이었다. 측정 지대 내의 샘플의 생성 부피는 약 0.11㎕이었다.

상대/대조전극은 스페이서 및 작업전극에 상반하는 흡착제의 측면에 접촉하여 놓여서, 두 개의 전극은 서로 대향한다. 상대/대조전극은 약 1cm의 직경을 갖는 은/염화은의 12미크론 두께층이 스크린 인쇄된 위에 0.0175mm의 두께 및 약 2.5cm의 직경을 갖는 Mylar ™ 필름 위에 구조된다.

전극, 흡착제 및 스페이서는 전극 어셈블리의 한 측면 위의 플레이트를 사용하여 함께 가압된다. 플레이트는 폴리카르보네이트 플라스틱으로 형성되고, 감지기와 단단하게 클램프되어 있다. 전극은 사용 전 48시간 동안 공기 중에 저장된다.

탭은 작업전극 및 상대/대조전극 사이로부터 연장하고, 분석 장치와 전기적 접촉을 위해 제공된다. 정전위전해장치가 작업전극이 양극이 되도록 하여 작업전극 및 상대/대조전극 사이에서 +200mV의 전위차를 제공하는데 사용되었다. 전극 사이의 도전성 통로가 없을 때처럼 샘플의 부존재시에 전극 사이에 전류의 흐름이 없었다.

샘플은 샘플 챔버에서 나일론 흡착제로부터의 연장으로서 형성된 나일론 흡착제 물질의 작은 탭을 통하여 도입되었다. 액체는 샘플 및 흡착제 탭 사이의 접촉이 있을 때 흡착제로 위크된다. 샘플 챔버가 충전되고, 샘플이 전극과 접촉할 때, 전극 사이에 전류가 흐른다. 샘플 중의 글루코오스 분자가 작업전극에서 글루코오스 옥시다아제와 접촉시, 글루코오스 분자가 글루코노락톤으로 전기산화되었다. 산화환원 매개체 중의 오스뮴 산화환원 센터가 글루코오스 옥시다아제를 재산화한다. 오스뮴 센터는 차례로 작업전극과 반응하여 재산화된다. 이는 전기량측정기(EG& G Princeton Applied Research Model #173)에 의해 측정되고, 동시에 통합되었다.

전기화학적 반응은 글루코오스의 95% 이상이 전기환원되는 것이 지시된 정상상태 값에 전류가 도달할때까지 계속되었다. 특정 간격에서 전류의 측정에 의해 얻어진 전류 곡선은 전기화학적 반응 동안 통과된 전하량을 측정하기 위해 통합되었다. 이들 전하는 알려진 글루코오스 농도와 구상된 글루코오스 농도를 비교하여 보정 곡선을 얻는다.

감지기를 3 내지 20mM 글루코오스의 범위에서 인공 뇌척수액의 완충액 또는 대조 혈청(Batex-Dade, Monitrol Level 1, Miami, FL) 중의 글루코오스의 알려진 농도를 포함하는 용액의 0.5㎕ 분액을 사용하여 시험하였다. 인공 뇌척수액은 염의 혼합물(126mM NaCl, 27.5mM $NaHCO_3$, 2.4mM KCl, 0.5mM KH_2PO_4, 1.1mM $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 및 0.5mM Na_2SO_4)로 준비되었다.

분석물의 결과는 표1 및 도7에 나타낸다. 표1에서, Q_{avg} 는 3-6개의 동일한 시험 샘플에서 글루코오스를 전기분해하는데 사용된 평균 전하이고(도7은 시험 샘플의 각각에 대한 전하를 도표화한다.), 90% 상승 시간은 글루코오스의 90%가 전기분해되기 위해 필요한 시간에 상응한다. 데이터는 10-20%의 감지기 정확도를 나타내는데, 생리적 관련 범위(30㎍/dl- 600㎍/dl)와 저 글루코오스 농도에 대한 감지기의 적절한 민감도를 지시한다.

[표 1]

글루코오스 옥시다아제를 사용하는 감지기 결과

	시험된 샘플수	Q_{avg} (TC)	90% 상승 시간 (초)
완충액만	4	9.9 ± 1.8	13 ± 6
3 mM글루코오스/완충액	5	17.8 ± 3.5	19 ± 5
6 mM글루코오스/완충액	4	49.4 ± 4.9	25 ± 3
10 mM글루코오스/완충액	6	96.1 ± 12.4	36 ± 17
15 mM글루코오스/완충액	5	205.2 ± 75.7	56 ± 23
20 mM글루코오스/완충액	4	255.7 ± 41.0	62 ± 17
4.2 mM 글루코오스/혈청	3	44.2 ± 4.3	44 ± 3
15.8 mM글루코오스/혈청	3	218.2 ± 57.5	72 ± 21

글루쿠오스 농도의 평균 측정된 값은 하나 이상의 등식으로 맞추어져서 보정 곡선을 제공한다. 도8은 표1의 글루코오스/완충액 데이터에 대한 보정 곡선을 도시한다. 15.0mM 글루코오스 측정값의 하나는 측정의 평균값으로부터 2 이상의 표준편차이기 때문에 이들 계산으로부터 제거하였다. 글루코오스 농도(10-20mM)가 더욱 커질수록 직선 등식에 적합해졌다. 글루코오스 농도가 더욱 낮을수록 2차 다항식에 적합해졌다.

도9는 부정확한 글루코오스 농도 측정을 근거로 오차의 결과를 측정하기 위해 클라크 등(Clarke et al., Diabetes Care, 5, 622-27, 1987)에 의해 발달된 오차 그리드 위에 구상된 표1의 데이터를 도시한다. 그래프는 측정된 글루코오스 농도에 비교하여 " 실제" 글루코오스 농도를 구상하고 , 여기서, 측정된 글루코오스 농도는 도7의 각 데이터 포인트에 대해 도8의 보정 곡선을 사용하여 측정된다. 구역 A에서 포인트는 정확하고, 구역 B에서는 임상적으로 허용할 수 있고, 구역 C,D 및 E의 것은 비적절하게 증가를 유도하여 결과적으로 위험한 처리를 유도한다.

34 데이터 포인트가 있다. 데이터 포인트 91%는 구역 A, 6%는 구역 B 및 3%는 구역 C에 있다. 단지 한 번의 리딩이 구역 C에서 측정되었다. 이 리딩은 오프 스케일이고, 도9에 도시되지 않았다. 이렇게 해서, 리딩의 97%는 임상적으로 허용가능한 구역 A 및 B에 있었다.

Os 원자의 총수는 Os 모두를 환원시켜서 측정되고, 이를 샘플 챔버에서 무글루코오스 완충액으로 전기산화한다. 이는 59.6±5.4μC의 전하를 일으킨다. 이 결과와 표1에 나타낸 무글루코오스 완충액과 비교는 Os의 20% 이하가 샘플의 도입 전에 환원형이라는 것을 지시한다. 환원형 오스뮴의 양의 다양성은 존재하는 오스뮴의 총량의 5% 이하이다.

실시예2: 간섭제에 대한 글루코오스 감지기의 반응실시예2: 간섭제에 대한 글루코오스 감지기의 반응

실시예1에 상기 기술된 바와 같은 방식으로 구조된 감지기는 간섭제에 대한 감지기의 반응을 측정하는데 사용된다. 혈중 글루코오스 측정에 대한 제1전기화학적 간섭제는 아스코르베이트, 아세트아미노펜 및 요산염이다. 이들 통상 간섭제의 통상의 생리 또는 치료(아세트아미노펜) 농도는,

아스코르베이트: 0.034 - 0.114mM

아세트아미노펜: 0.066 - 0.200mM

요산염(성인 남자): 0.27 - 0.47mM이다(Tietz, in: Textbook of Clinical Chemistry, C. A. Burtis and E.R. Ashwood, eds., W.B. Saunders Co., Philadelphia 1994, pp.2210 - 12).

완충 무글루코오스 간섭제 용액은 상기 열거된 생리 또는 치료 범위의 높은 간섭제의 농도로 시험되었다. 각 용기에 주사된 샘플 부피는 0.5μℓ이었다. +100mV 또는 200mV의 전위가 전극 사이에 가해졌다. 평균 전하(Q_{avg})는 간섭제의 존재시 기록된 평균 신호로부터 완충액만의 용액(즉, 간섭제 없는)으로부터 얻는 평균 배경 전류를 제거하여 계산되었다. 생성 평균 전하는 간섭제로부터 기인되는 비율 오차를 결정하기 위해 4mM 및 10mM 글루코오스 농도에 대한 표1의 신호와 비교되었다.

[표 2]

글루코오스 감지기의 간섭 반응

용액	E (mV)	n	Q_{avg} (TC)	오류 @4 mM글루코오스	오류 @10 mM글루코오스
0.114 mM아스코르브산	100	4	0.4	2%	<1%
0.114 mM아스코르브산	200	4	-0.5	2%	<1%
0.2 mM 아세트아미노펜	100	4	0.1	<1%	<1%
0.2 mM 아세트아미노펜	200	4	1.0	5%	1%
0.47 mM 요산염	100	4	6.0	30%	7%
0.47 mM 요산염	200	4	18.0	90%	21%

이들 결과는 아스코르베이트 및 아세트아미노펜이 글루코오스 감지기 구조, 특히, 저 전위 측정에 대한 중요한 간섭제가 아니라는 것을 지시하였다. 그러나, 요산염는 중요한 간섭을 제공하였다. 이 간섭은 감지기의 모든 글루코오스 측정으로부터의 이 결과들의 추정에 의해 측정된 전하량을 제거함으로써 0.37mM의 요산염 농도에 대한 감지기를 보정하여 최소화할 수 있다. 요산염 농도 중의 0.10mM 의 변화(요산염 농도의 범위가 성인 남자에서 0.27 - 0.47이다.)때문에 생긴 오차는 4mM 글루코오스 및 100mV에서 약 6%이다.

실시예3: 글루코오스 디하이드로게나아제를 갖는 감지기실시예3: 글루코오스 디하이드로게나아제를 갖는 감지기

글루코오스 옥시다아제가 피롤로퀴놀린퀴논글루코오스 디하이드로게나아제로 대치되고, 실시예1에서의 +200mV 전위에 상반된 단지 100mV의 전위만이 가해진 것을 제외하고, 실시예1에 기술된 것과 유사한 감지기를 준비하고, 이 실시예를 위하여 사용되었다. 결과는 표3에 나타내고, 도10에 도시되었다.

[표 3]

글루코오스 디하이드로게나아제를 사용하는 감지기 결과

	n	Q_{avg} (TC)	90% 상승 시간(s)
완충액	4	21.7 ± 5.2	14 ± 3
3 mM글루코오스/완충액	4	96.9 ± 15.0	24 ± 6
6 mM글루코오스/완충액	4	190.6 ± 18.4	26 ± 6
10 mM글루코오스/완충액	4	327.8 ± 69.3	42 ± 9

이 결과는 글루코오스 디하이드로게나아제 감지기로부터 얻은 전하가 글루코오스 옥시다아제 감지기에 비교하여, 특히 저농도의 글루코오스에 비교하여 크다. 4mM 글루코오스 농도에 대하여 두 개 감지기에서 얻어진 측정치는 5가지 요인에 의해 달랐다. 글루코오스 디하이드로게나아제 감지기는 저 전위에서 작동되어 간섭 반응의 효과를 감소시킬 수 있다.

게다가, 표3의 결과는 도10에 도시된 바와 같이 실시예1에서의 결과에 비교하여 직선 보정 곡선에 의해 모두 적합해졌다. 단일 직선 보정 곡선은 감지기 구조 및 작동을 단순화시켜서 바람직하다.

또한, 표2의 결과의 간섭제는 이 감지기에 적용하여 간섭제 모두가 100mV의 전위에서 3mM 글루코오스 용액에 대해 7% 이하의 오차를 나타낼 것으로 예상된다.

실시예4: 용액 흐름에서 젖산 농도의 측정실시예4: 용액 흐름에서 젖산 농도의 측정

이 실시예의 감지기는 유리 탄소전극으로 유동 세포(BioAnalytical Systems, Inc. #MF-1025)를 사용하여 구조되었다. 산화환원 매개체는 작업전극을 제공하기 위해 유동 세포의 전극에 코팅된다. 이 경우에, 산화환원 매개체는 각 15 이미다졸 관능기에 대해 1 오스뮴의 비율로 폴리(1-비닐이미다졸)과 Os(4,4'-디메틸-2,2'-비피리딘) $_2Cl_2$를 복합체를 이루어 형성된 중합체이다. 젖산 옥시다아제는 폴리에틸렌글리콜디글리시딜에테르를 통하여 중합체와 교차결합된다. 매개체는 500μg/㎠의 범위 및 5Tm의 두께를 갖는 전극 위에 코팅된다. 매개체는 폴리카르보네이트 트랙-에치드(track-etched) 막(Osmonics-Poretics #10550)으로 덮여서 유동 흐름에서 부착성을 증가시킨다. 막은 샘플 챔버 및 상응하는 측정 지대를 한정하는 공극을 포함하는 단일 50Tm 두께 스페이서 개스킷(Bioanalytical Systems, Inc. #MF-1062)에 의해 덮인다. 감지기의 어셈블리는 유동 세포의 대조 및 보조 전극을 포함하는 세포 블록(BioAnalytical Systems, Inc. #MF-1005)의 부착에 의해 완성된다.

이 경우에서 샘플 챔버는 0.031㎠의 표면적을 갖는 매개체-코팅된 전극과 접촉하는 50Tm 두께 실린더(스페이서 개스킷의 두께)에 상응한다. 이 감지기의 측정 지대에서 샘플의 계산된 부피는 대략 0.16TL이었다.

액체 흐름의 유속은 5TL/분이었다. 표준 세 개 전극 정전위전해장치는 세포 리드에 부착되고, +200mV의 전위가 산화환원 매개체-코팅된 유리 탄소전극 및 대조전극 사이에 가해졌다. 이 전위는 젖산의 효소-중재 산화를 유도하는데 충분하다.

액체 흐름이 감지기를 통하여 유도할 때, 젖산 농도에 대한 정상상태의 전류가 측정된다. 정기적 간격으로 액체 유동은 멈추고, 고정된 정상상태의 전류를 얻는 것으로 지시된 바와 같이, 측정 지대에서 거의 모든 젖산이 전기산화될 때까지, 전극 사이에서 전류가 유동하였다. 젖산 전기산화를 위해 필요한 총 전하, Q는 전류가 유동 정지로부터 정상상태에 도달할때까지 기록된 전류차의 통합에 의해 확인된다.

농도는 하기 등식에 의해 계산된다.

[젖산] = Q/2FV (4)

(식중, V는 측정 지대 내의 샘플의 부피이고, F는 패러데이 상수이다.)

이 분석은 1.0, 5.0 및 10.0mM의 근소한 젖산 농도를 갖는 젖산 용액을 사용하여 실시되었다. 분석에 대해 측정된 농도는 각각 1.9, 5.4 및 8.9mM이었다.

실시예5 : 폴리(1-비닐이미다졸)과 복합체를 이룬 Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)실시예5: 폴리(1-비닐이미다졸)과 복합체를 이룬 Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)222ClCl+/+2+/+2+/+2의 산화 상태의 확인의 산화 상태의 확인

세 가지 전극을 갖는 감지기는 모델명 " 라지 에어리어 일회용 전극" 으로 에코센서스(Ecossensors Ltd., Long Hanborough, England)에서 시판하고 있다. 감지기는 평행하고 동일 평면상의 작업, 대조 및 상대전극을 포함한다. 작업 표면적(0.2㎠) 및 상대전극은 인쇄된 탄소로 형성되고, 대조전극은 인쇄된 Ag/AgCl로 형성된다. 산화환원 매개체는 탄소 작업전극 위에 코팅된다. 산화환원 매개체는 Os 양이온당 15 이미다졸기의 비율로 폴리(1-비닐이미다졸)과 Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)$_2$Cl$_2$의 복합체로 형성되고, 폴리에틸렌글리콜디글리시딜에테르를 사용하여 글루코오스 옥시다아제와 오스뮴 중합체가 교차결합된다.

전극은 실온에서 24시간 동안 보관된다. 동일 평면상의 전극 배열은 완충 전기분해 용액 중에 담기고, +200mV의 전위(Os(Ⅱ)를 Os(Ⅲ)로의 전환에 충분한)가 작업전극 및 대조전극 사이에 가해졌다.

전위의 적용에 따라, 1μC 이하의 감지할 수 없는 전하가 통과된다. 산화환원 매개체의 계속되는 재환원 및 재산화가 Os(Ⅱ)에서 65TC의 Os(Ⅲ)전환을 필요한 전하를 생성한다. 그러므로, 산화환원 매개체 중의 Os 양이온의 98% 이상이 소정의 산화된 Os(Ⅲ) 상태이다.

실시예6 : 폴리(4-비닐피리딘)과 복합체를 이룬 Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)실시예6: 폴리(4-비닐피리딘)과 복합체를 이룬 Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)222ClCl+/+2+/+2+/+2의 산화 상태의 확인의 산화 상태의 확인

실시예5와 유사한 실험이 작업전극 위의 산화환원 매개체가 Os 양이온 당 12 피리딘기로 폴리(4-비닐피리딘)과 Os(4,4'-디메톡시-2,2'-비피리딘)$_2$Cl$_2$의 복합체로 바뀌어 폴리에틸렌글리콜디글리시딜에테르를 통하여 글루코오스 옥시다아제와 교차결합을 하는 것을 제외하고는 동일한 작업/상대/대조전극 구조로 실행되었다.

두 개의 감지기가 구조되었다. 두 개의 감지기의 전극은 실온에서 24시간 동안 보관되었다. 전극은 완충 전해질 용액에 담기고, +200mV의 전위가 작업전극 및 대조전극 사이에 가해진다.

전극에 전위를 가하여 2.5TC 및 3.8 TC의 전하가 각각 두 개의 감지기에 통과된다. 산화환원 매개체의 계속되는 환원 및 재산화가 각각 27.9TC 및 28.0TC의 산화 전하를 생성하였다. 그러므로, 감지기는 본래 소정의 산화된 Os(III) 상태 중의 Os 양이온의 91% 및 86%를 포함하였다.

실시예7: 광학적 감지기실시예7: 광학적 감지기

광학적 감지기는 유리판 등의 광-투명 지지판에 교차결합된 효소를 갖는 산화환원 중합체의 필름을 가하여 구조된다. 산화환원 매개체의 양은 측정 지대를 충전할 것으로 기대된 분석물의 최대양과 동일하거나 그 이상이다(화학량론적 감각에서). 스페이서 재료, 흡착제 및 대향 기판은 단단히 클램프된다. 샘플 챔버는 광학적 밀도 디텍터 또는 발광 및/또는 형광 디텍터에 집합된 감지기를 통하여 광을 전송하도록 되어 있다. 샘플이 샘플 챔버를 충전하고, 산화환원 매개체가 산화될 때, 챔버에서 흡수, 전이, 반사 또는 산화환원 매개체의 발광 및/또는 형광은 샘플 중의 글루코오스 양과 관련된다.

실시예8: 상박 란셋 스틱으로부터의 혈액 부피실시예8: 상박 란셋 스틱으로부터의 혈액 부피

단일 개인의 전완을 이 방법에 의해 얻어진 혈액 부피의 재생을 측정하기 위해 란셋으로 여러번 관통한다. 각 전완의 앞쪽 및 좌 전완의 등 부분에서 30회 이상의 란셋에도 불구하고, 개인은 실제 고통이 없는 각 스틱을 확인하였다.

전완은 페이리스 컬러 란셋(Payless Color Lancet)으로 관통하였다. 각 스틱으로부터 혈액은 1㎕ 모세관을 사용하여 수집되고, 부피는 혈액 컬럼의 길이를 측정하여 결정되었다. 각 스틱으로부터 얻은 부피는 표4에 나타낸다.

[표 4]

란셋 스틱의 부피

	좌측 전완(nL)	우측 전완(nL)	좌배측 전완(nL)
1	180	190	180
2	250	180	300
3	170	120	310
4	150	100	300
5	100	210	60
6	50	140	380
7	90	120	220
8	130	140	200
9	120	100	380
10		100	320
11			260
12			250
13			280
14			260
평균	138 ± 58 nL	140 ± 40 nL	264 ± 83 nL

실시예9: 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기실시예9: 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기

감지기는 폴리에스테르 기판 위의 그래파이트 잉크(Graphite #G4491, Ercon, Wareham, MA)를 인쇄하여 형성되었다. 5.5μg/㎠의 [Os(디메톡시비피리딘)$_2$(비닐이미다졸)Cl]Cl, 23.7μg/㎠의 PQQ-글루코오스 디하이드로게나아제 및 18.2μg/㎠의 조닐 FSO^{R}계면활성제(E.I. duPont de Nemous & Co., Inc., Wilmington, DE)의 혼합물을 작업전극의 일부에 침착하였다. 150㎛ 두께 감압 접착 테이프를 샘플 챔버를 형성하기 위해 노출된 작업전극의 일부분만을 남기고 작업전극에 적용한다. 필름 위에 배치된 상대전극을 갖는 제2폴리에스테르 필름을 감압 접착 테이프 위에 제공하였다. 상대전극은 제2폴리에스테르 필름 위의 Ag/AgCl 잉크(은/염화은 #R414, Ercon, Wareham,MA)를 배치하여 형성된다. Ag/AgCl 상대전극은 PEGDGE를 사용하여 교차결합된 메틸렌화 폴리(비닐이미다졸)의 대략 100μg/㎠로 코팅된다.

실시예10: 0V 전위에서 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기를 사용하여 글루코오스를 측정실시예10: 0V 전위에서 확산성 산화환원 매개체를 갖는 감지기를 사용하여 글루코오스를 측정

감지기는 실시예9에 기술된 바와 같이 형성되고, 0, 90, 180, 270 및 360mg/dl 글루코오스 농도에서 글루코오스/완충액을 측정하기 위해 사용되었다. 이들 용액의 각각에 대한 시간에 따른 측정된 전하는 도15에 도시된다. 글루코오스의 부재시, 감지기는 약 3mg/dl 글루코오스 농도를 지시한다. 도16은 각 글루코오스 농도에서, 세 가지 감지기에 대해 글루코오스 농도에 대한 측정된 전하를 도시한다. 측정된 전하는 비용해성 산화환원 매개체를 사용하는 감지기에 대해 관찰된 것과 유사한 글루코오스 농도를 갖는 직선상으로 다양하다.

실시예11: 확산성 산화환원 매개체를 사용하여 형성된 다른 감지기실시예11: 확산성 산화환원 매개체를 사용하여 형성된 다른 감지기

감지기 A 및 B는 폴리에스테르 기판 위에 그래파이트 잉크(Graphite #G4491, Ercon, Wareham, MA)를 인쇄하여 형성된다. 감지기 A에 대하여, 8.0μg/㎠의 [Os(디메톡시비피리딘)$_2$(비닐이미다졸)Cl]Cl, 34.7μg/㎠의 PQQ 글루코오스 디하이드로게나아제 및 26.6μg/㎠의 조닐 FSO^{R}계면활성제(E.I.duPont de Nemours & Co., Inc., Wilmington, DE)를 작업전극의 일부에 배치하였다. 감지기 B에 대하여, 24μg/㎠의 [Os(디메톡시비피리딘)$_2$(비닐이미다졸)Cl]Cl, 104μg/㎠의 PQQ-글루코오스 디하이드로게나아제 및 80μg/㎠의 조닐 FSO^{R}계면활성제(E.I.duPont de Nemours & Co., Inc., Wilmington, DE)를 작업전극의 일부에 배치하였다. 200㎛ 감압 접착 테이프를 샘플 챔버를 형성하기 위해 노출된 작업전극의 일부만을 남긴채 각 감지기의 작업전극 위를 덮었다. 필름 위에 배치된 상대전극을 갖는 제2폴리에스테르 필름을 감압 접착 테이프 위에 가하였다. 각 감지기의 상대전극을 제2폴리에스테르 필름 위의 Ag/AgCl 잉크(실버/실버클로라이드 #R414, Ercon, Wareham, MA)를 배치하여 형성하였다. Ag/AgCl 상대전극을 PEGDGE를 사용하여 교차결합된 대략 100μg/㎠의 메틸레이트화 폴리(비닐이미다졸)으로 코팅하였다.

실시예12: 감지기에서 확산성 산화환원 매개체 양의 다양함실시예12: 감지기에서 확산성 산화환원 매개체 양의 다양함

감지기 A 및 B를 분석물의 전기분해에 요구된 시간을 측정하기 위해 각각 시험하였다. 도17은 결과를 도시한다. 샘플에서 확산성 산화환원 매개체의 양을 증가시키는 것은 감지기의 반응 시간을 감소시킨다.

실시예13: 작은 부피 감지기의 임상적 정확성실시예13: 작은 부피 감지기의 임상적 정확성

이 실시예의 감지기는 도24a, 24b 및 24c에 도시된 본 발명의 실시형태에 따라 구조되었다. 탄소 작업전극은 실시예11에 도시된 바와 같이, Melinex^{TM} 폴리에스테르 필름(DuPont, Wilmington, Delaware)에 인쇄되었다. 탄소전극은 18μg/㎠의 Os[MeO)$_2$bpy]$_2$(1-비닐이미다졸)Cl$_3$, 162μg/㎠의 GDH(Toyobo, Japan), 1.35μg/㎠의 PQQ(Fluka, Mila, Wisconsin) 및 60μg/㎠의 조닐 FSO(DuPont, Wilmington, Delaware)로 코팅하였다. 코팅은 18℃ 및 상대습도 50%에서 작업전극에 가해졌다. 접착제(50㎛ 두께)를 코팅된 표면 주위의 탄소 전극 위에 놓고, 약 0.04인치의 너비를 갖는 채널을 형성한다.

두 개의 Ag/AgCl 상대/대조전극은 실시예11에 기술된 바와 같이, 제2 Melinex ™ 중합체 필름 위에 인쇄되었다. 이 필름은 접착제 및 작업전극과 접촉하여 작업전극 및 두 개의 상대전극이 서로 대향한다. 상대/대조전극은 142μg/㎠의 메틸화 폴리비닐이미다졸, 18μg/㎠의 PEGDGE(PolySciences, Warington, Pennsylvania) 및 7μg/㎠의 조닐 FSO(Dupont, Wilmington, Delaware)으로 코팅하였다. 다른 상대전극들의 상부의 상대전극 중 하나는 샘플 챔버가 충전될 때를 결정하는 지시전극으로 사용되었다. 감지기는 핸드 롤러로 3개의 통로로 적층되고, $CaSO_4$, 실온에서 3일 동안 두었다.

감지기는 충분한 전류가 지시전극 및 상대/대조전극 사이를 흐를 때, 외부 회로가 작업전극을 덮고 있는 채널이 혈액으로 가득찬 것을 지시하도록 구조되었다.

감지기를 사용하기 며칠 전에, 건조 용량 측정이 샘플 챔버의 균일함을 확이하도록 고려된다. 용량의 다양함은 전극의 불일치 및/또는 접착제 두께의 다양함을 나타낸다. 측정된 평균 용량은 0.28pF 또는 3.8%의 표준편차를 갖는 7.49pF이었다. 측정된 최대 용량은 8.15pF이고, 측정된 최소 용량은 6.66pF이었다.

감지기를 23명의 사람으로부터 얻은 혈액 샘플에서 글루코오스 농도를 측정하는데 사용하였다. 이 연구에서, 사람은 26 내지 76세이었고, 14명은 남자 9명은 여자였다. 그 중 6명은 타입 Ⅰ 당료병의 증세를 갖고, 16명은 타입 Ⅱ 당료병 및 한 사람은 당료병에 관한 어떠한 증세도 없었다. 조사된 사람들은 표준편차 3.9%의 40.7% 평균 혈장혈구율을 갖고 있었다. 최대 혈장혈구율은 49%였고, 최소는 33.2이었다.

각 사람에 대한 혈액 샘플을 검체의 손가락을 찔러서 수집하였다. 작은 부피 감지기를 이 잔여 혈액으로 충전하였다.

각 사람에 대한 세 개의 혈액 샘플을 팔을 찌르는 2mm Carelet ™ 을 사용하여 작은 부피 감지기에 수집하였다. 적절한 샘플이 10초 이내에 얻어지지 않으면, 찌른 상처 부위의 영역을 주무러서 감지기를 충전하였다. 69 샘플 중의 16개 샘플이 주물러서 얻어졌다.

사람 마다 세 개 혈액 샘플을 정맥천자에 의해 수집하였다. YSI 혈중 글루코오스 측정 및 혈장혈구율 측정은 적어도 한 샘플에서 얻어졌다. 46개의 작은 부피 감지기는 또한 이 샘플로부터의 혈액으로 충전되었다.

감지기로부터의 측정은 0mV의 적용 전위에서 실시되었다. BAS 정전위전해장치(CA50W, West Lafayette, Indiana)는 샘플이 가해지기 전에 " on" 이고, 스트립이 충전될 때 전기분해가 개시되었다. 전류 수집은 대부분의 분석이 실질적으로 150초 전에 완성될지라도, 150초 동안 실시되었다(이 전하는 " 완전한 가수분해" 를 의미한다.). 어떤 결과도 버리지 않았다. 3번의 연속적 감지기 혈중 글루코오스 측정을 얻었다..

대조 샘플에 대한 측정은 YSI 혈중 글루코오스 측정(Yellow Springs Instruments, Model 2300 Chemical Glucose Analyzer)를 사용하여 실시되었다.

데이터는 YSI 정맥 결과에 대해 구상되었고, 직선 함수가 데이터로부터 확인되었다. 모든 데이터는 감지기에서 글루코오스의 " 완전한" (150초) 전기분해로부터 수집되었다.

도28은 팔에서 얻은 혈액으로 시험된 69개의 작은 부피 감지기에 대한 데이터를 도시한다. R^2는 0.947이고, 평균 CV(다양성 계수)는 4.8% 및 RMS(root mean square) CV는 5.7%이었다.

도29는 손가락에서 얻은 혈액으로 시험된 23개의 작은 부피 감지기에 대한 데이터를 도시한다. R^2은 0.986이었다.

도30은 정맥 혈액으로 시험된 46개의 작은 부피 감지기에 대한 데이터를 도시한다. R^2은 0.986이었다. 평균 CV는 3.8%이었다. RMS CV는 4.6%이었다.

본 발명은 다양한 특이적 및 바람직한 실시형태 및 기술로 기술되었다. 그러나, 본 발명의 다양함 및 변형은 본 발명의 범위내에 있다.

본 명세서에서의 모든 출판물 및 특허 명세서는 본 발명에 속하는 종래 기술의 수준이다. 모든 출판물 및 특허 명세서는 개별적으로 또는 전체적으로 본 발명의 참고문헌으로 포함된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

샘플액 내 분석물의 농도를 측정하기 위한 감지기에 있어서,

상기 감지기는,

작업전극 및 상대전극을 포함하고, 상기 작업전극의 적어도 한 부분은 상기 상대전극 한 부분의 200㎛ 이하의 거리내이고 선택적으로, 상기 상대전극은 상대/대조전극인 전극쌍,

선택적으로 대조전극,

작업전극, 상대전극 및 대조전극에 인접하여 위치된 측정 지대를 포함하는(여기서, 측정 지대는 약 1㎕ 샘플액 이하의 부피를 포함하고 또한, 샘플 챔버는 샘플액 1㎕ 이하를 포함하는 크기로 되어있다.) 작업전극, 상대전극 및 대조전극과 전기분해적 접촉에서 샘플액을 지지하는 샘플 챔버 및,

상기 측정 지대에 배치된, 분석물-반응성 효소와 확산성 산화환원 매개체를 포함하고,

또한, 상기 감지기는 상기 확산성 산화환원 매개체에 의해 발생된 배경 신호가 평균 통상 생리 분석물 양의 산화 또는 환원에 의해 발생된 신호의 5배 이하가 되도록 구조 및 배열된 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 2.

샘플액 내 분석물의 농도를 측정하기 위한 감지기에 있어서

상기 감지기는,

작업전극 및 상대전극을 포함하고, 작업전극의 적어도 한 부분은 상기 상대전극의 한 부분의 200㎛ 이하의 거리내이고 선택적으로, 상대전극은 상대/대조전극인 전극쌍,

선택적으로 대조전극,

작업전극, 상대전극 및 대조전극에 인접하여 위치된 측정 지대를 포함하는(여기서, 측정 지대는 약 1㎕ 샘플액 이하의 부피를 포함하고 또한, 샘플 챔버는 샘플액 1㎕ 이하를 포함하는 크기로 되어있다.) 작업전극, 상대전극 및 대조전극과 전기분해적 접촉에서 샘플액을 지지하는 샘플 챔버 및,

상기 측정 지대에 배치된, 분석물-반응성 효소와 확산성 산화환원 매개체를 포함하고,

또한, 상기 감지기는 상기 확산성 산화환원 매개체에 의해 발생된 배경 신호가 평균 통상 생리 분석물 양의 평균 편차에 상응하는 분석물의 산화 또는 환원에 의해 발생된 신호의 5배 이하가 되도록 구조 및 배열된 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 3.

제1항 및 제2항에 있어서, 상기 감지기는 확산성 산화환원 매개체에 의해 발생된 배경 신호가 평균 통상 생리 분석물 양의 산화 또는 환원에 의해 발생된 신호와 동일하거나 그 이하, 바람직하게는 기대된 분석물량의 산화 또는 환원에 의해 발생된 신호의 25% 이하 및 더욱 바람직하게는 기대된 분석물량의 산화 또는 환원에 의해 발생된 신호의 5% 이하인 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 4.

샘플액 내 분석물의 농도를 측정하기 위한 감지기에 있어서,

상기 감지기는,

작업전극 및 상대전극을 포함하고, 작업전극의 적어도 한 부분은 상기 상대전극의 한 부분의 200㎛ 이하의 거리내이고 선택적으로, 상대전극은 상대/대조전극인 전극쌍,

선택적으로 대조전극,

작업전극, 상대전극 및 대조전극에 인접하여 위치된 측정 지대를 포함하는(여기서, 측정 지대는 약 1㎕ 샘플액 이하의 부피를 포함하고 또한, 샘플 챔버는 샘플액 1㎕ 이하를 포함하는 크기로 되어있다.) 작업전극 상대전극 및 대조전극과 전기분해적 접촉에서 샘플액을 지지하는 샘플 챔버 및,

상기 측정 지대에 배치된, 분석물-반응성 효소와 확산성 산화환원 매개체를 포함하고,

또한, 상기 분석물은 상기 확산성 산화환원 매개체에 의해 발생된 배경 신호가 5mM 글루코오스의 산화 또는 환원에 의해 발생된 신호의 5배 이하가 되도록 구조 및 배열된 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 5.

제1항 내지 제4항에 있어서, 상기 감지기는,

(a) 인접부 및 말단부를 갖는 제1기판으로, 인접부에서 말단부에 이르는 전기화학적 감지기의 제1측면 및 제2측면을 한정하며, 말단부는 감지기 리더로 주입하기 위해 구조 및 배열되어 있고,

(b) 제2기판은 제1기판 위에 배치되어, 작업전극이 제1 및 제2기판의 한 쪽에 배치되며, 상대전극은 제1 및 제2기판의 한 쪽에 배치되고,

(c) 스페이서는 제1 및 제2기판 사이에 배치되어 감지기의 제1측면을 따라 제1구 및 감지기의 제2측면을 따라 제2구를 한정하고, 샘플 챔버는 제1구에서 제2구로 연장하고,

(d) 적어도 하나의 지시 전극이 제1기판 및 제2기판 중 적어도 하나에 배치되고, 샘플 챔버의 샘플 함유시를 확인하기 위해 샘플 챔버에 대해 위치되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 6.

제1항 내지 제4항에 있어서, 상기 감지기는,

(a) 인접부 및 말단부를 갖는 제1기판으로, 말단부는 감지기 리더로 주입하기 위해 구조 및 배열되어 있으며, 인접부에서 말단부에 이르는 전기화학적 감지기의 제1측면 및 제2측면을 한정하고,

(b) 제2기판은 제1기판 위에 배치되어 작업전극이 제1 및 제2기판의 한 쪽에 배치되며, 상대전극은 제1 및 제2기판의 한 쪽에 배치되고,

(c) 스페이서는 제1 및 제2기판 사이에 배치되어 감지기의 제1측면을 따라 제1구 및 감지기의 제2측면을 따라 제2구를 한정하고, 샘플 챔버는 제1구에서 제2구로 연장하고,

(d) 적어도 하나의 지시 전극이 제1기판 및 제2기판 중 적어도 하나에 배치되며, 샘플 챔버의 샘플 함유시를 확인하기 위해 샘플 챔버에 대해 위치되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 7.

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 측정 지대의 샘플 함유시를 지시하기 위해 감지기에 배치된 지시전극을 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 8.

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 지시전극은 또한, 작업전극 또는 상대전극인 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 9.

제5항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 또한, 지시전극이 측정 지대의 샘플 함유를 지시할 때, 활성화하는 지시전극에 연결된 가시 또는 청각 신호를 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 10.

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 지시전극은 작업전극 또는 상대전극 중 하나에 대향 배치되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 11.

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 감지기에 배치된 적어도 두 개의 지시전극을 포함하고 또한, 제1지시전극은 측정 지대가 샘플로 충전되기 시작할 때를 지시하고, 제2지시전극은 측정 지대가 샘플로 완전히 충전된 때를 지시하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 12.

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 감지기에 배치된 적어도 두 개의 지시전극을 포함하고, 또한, 지시전극들 중 두 개는 제1 및 제2 상대/지시 전극들 사이에 배치된 상대 전극을 갖는 제1상대/지시전극 및 제2상대/지시전극을 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 13.

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 측정 지대 및 샘플 챔버는 동일한 부피를 갖는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 14.

제1항 내지 제3항 및 제5항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분석물은 글루코오스이고, 분석물-반응성 효소는 글루코오스-반응성 효소인 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 15.

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분석물은 약제인 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 16.

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 측정 지대는 작업전극 및 상대전극의 적어도 두 면에 결합되고 또한, 작업전극 및 상대전극은 작업전극 및 상대전극 사이에 위치된 측정 지대를 갖는 대향 전극쌍을 형성하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 17.

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 pH 7, 0.1M NaCl 중의 순환 전압전류법(cyclic voltammetry)에 의해 측정된 바와 같이, 매개체가 분석물을 산화하고, 산화환원 매개체의 반-파장 전위가 상대/대조전극의 전위에 대하여 약 +100mV 이하가 되도록 구조 및 배열된 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 18.

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 pH 7, 0.1M NaCl 중의 순환 전압전류법(cyclic voltammetry)에 의해 측정된 바와 같이, 매개체가 분석물을 산화하고, 산화환원 매개체의 반-파장 전위가 상대/대조전극의 전위와 거의 동일하도록 구조 및 배열된 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 19.

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 pH 7, 0.1M NaCl 중의 순환 전압전류법(cyclic voltammetry)에 의해 측정된 바와 같이, 매개체가 분석물을 산화하고, 산화환원 매개체의 반-파장 전위가 상대/대조전극의 전위에 대하여 약 -150mV 이하가 되도록 구조 및 배열된 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 20.

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 감지기내에서, 샘플액을 통하는 산화환원 매개체의 유효 확산 계수는 샘플액을 통하는 분석물의 유효 확산 계수 보다 작고, 바람직하게는, 샘플액을 통하는 분석물의 유효 확산 계수의 적어도 10배 이하인 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 21.

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 확산성 매개체는 적어도 5,000 달톤의 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 22.

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 산화환원 매개체가 상대전극 보다 작업전극에서 보다 용이하게 전기분해되도록 구조 및 배열되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 23.

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 산화환원 매개체의 몰량이 화학량론을 근거로 평균 통상 생리 분석물량 이하 및 바람직하게는, 감지기는 산화환원 매개체의 몰량이 화학량론을 근거로 평균 통상 생리 분석물량의 20% 이하인 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 24.

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 작업전극은 측정 지대 중에 노출된 약 0.01㎠ 이하의 표면적을 갖는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 25.

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 효소의 활성은 1유닛/㎤ 이하인 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 26.

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 확산성 산화환원 매개체가 상대전극에서 반응시 침전하도록 구조 및 배열되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 27.

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 산화환원 매개체의 유효 확산 계수의 수학적 산출 및 산화환원 매개체의 농도가 샘플액이 측정 지대를 충전할 때 1×10^{-12} 몰㎝$^{-1}$ 초$^{-1}$ 이하가 되도록 구조 및 배열된 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 28.

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 확산성 산화환원 매개체는 작업전극에 배치되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 29.

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분석물-반응성 효소는 작업전극에 배치되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 30.

샘플 중 분석물의 농도를 측정하기 위한 감지기에 있어서, 상기 감지기는,

(a) 인접부 및 말단부를 갖는 제1기판으로, 인접부에서 말단부에 이르는 전기화학적 감지기의 제1측면 및 제2측면을 한정하며, 말단부는 감지기 리더로 주입하기 위해 구조 및 배열되어 있고,

(b) 제2기판은 제1기판 위에 배치되고,

(c) 스페이서는 제1 및 제2기판 사이에 배치되고, 감지기의 제1측면을 따라 제1구 및 감지기의 제2측면 또는 인접부를 따라 제2구를 한정하고, 샘플 챔버는 제1구에서 제2구로 연장하고,

(d) 적어도 하나의 작업전극이 제1기판 및 제2기판 중 적어도 하나에 배치되고,

(e) 적어도 하나의 상대전극이 제1 및 제2기판의 적어도 하나에 배치되고, 여기서, 적어도 하나의 작업전극 및 적어도 하나의 상대전극은 분석물을 함유하는 샘플이 샘플 챔버에 배치될 때 분석물-반응성 신호를 발생시키기 위해 샘플 챔버에 대해 위치되고,

(f) 적어도 하나의 지시전극이 제1 및 제2기판 중 적어도 하나에 배치되고, 샘플 챔버의 샘플 함유시를 확인하기 위해 샘플 챔버에 대해 위치되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 31.

샘플 중 분석물의 농도를 측정하기 위한 감지기에 있어서, 상기 감지기는,

작업전극 및 상대전극이 대향 배치된 작업전극 및 상대전극을 포함하는 전극쌍,

측정 지대는 샘플 1μℓ 이하의 부피를 포함하는 크기이고, 또한, 샘플 챔버는 샘플 1μℓ 이하의 부피를 포함하는 크기인 작업전극 및 상대전극에 인접하여 위치된 측정 지대를 포함하는 샘플 챔버,

샘플 챔버에 배치된 산화환원 매개체 및,

측정 지대의 샘플 함유를 지시하하고, 분석물의 전기분해를 보조하기 위해 감지기에 배치된 지시전극을 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 32.

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 감지기는 측정 지대가 샘플로 충전되기 시작할 때를 지시하는 제1지시전극 및 측정 지대가 샘플로 충전되었을 때를 지시하는 제2지시전극을 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 33.

제31항 또는 제32항에 있어서,

작업전극이 배치된 제1기판,

상대전극이 배치된 제2기판,

제1기판에 배치되어 작업전극에 전기적으로 연결된 작업전극 접촉 패드,

제2기판에 배치되어 상대전극에 전기적으로 연결된 상대전극 접촉 패드 및,

지시전극에 전기적으로 연결된 지시전극 접촉 패드(여기서, 지시전극 및 지시전극 접촉 패드는 제1 및 제2기판 중 하나에 배치되고, 지시전극 접촉 패드는 작업전극 접촉 패드 및 상대전극 접촉 패드 중 하나에 인접하여 배치된다.)를 포함하고,

또한, 작업전극 접촉 패드, 상대전극 접촉 패드 및 지시전극 접촉 패드는 제1 및 제2기판에 의해 한정된 차단 영역에 의해 메터에 전기적 연결을 위해 노출되는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 34.

제30항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 감지기는 감지기에 배치된 적어도 두 개의 지시전극을 포함하고, 지시전극들 중 두 개는 제1 및 제2상대/지시전극 사이에 배치된 상대전극을 갖는 제1상대/지시전극 및 제2상대/지시전극을 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정용 감지기.

청구항 35.

샘플 중 분석물의 농도를 측정하기 위한 방법에 있어서,

상기 방법은,

제1항 내지 제34항의 전기화학적 감지기 중 어느 하나에 샘플을 접촉하는 단계,

작업전극에서 감지기 신호를 발생시키는 단계(여기서, 확산성 산화환원 매개체에 의해 발생된 배경 신호는 평균 통상 생리 분석물량의 산화 또는 환원에 의해 발생된 신호의 5배 이하이다.) 및,

감지기 신호를 사용하여 분석물의 농도를 측정하는 단계로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정 방법.

청구항 36.

제35항에 있어서, 분석물 농도의 측정은 감지기 신호를 사용하는 전기량측정법에 의해 분석물 농도를 측정하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정 방법.

청구항 37.

제35항에 있어서, 분석물 농도의 측정은 감지기 신호를 사용하는 전류측정법에 의해 분석물 농도를 측정하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정 방법.

청구항 38.

제35항에 있어서, 분석물 농도의 측정은 감지기 신호를 사용하는 전위차측정법에 의해 분석물 농도를 측정하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정 방법.

청구항 39.

제35 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

전기화학적 감지기의 배치에 대한 배경 전하의 크기에 대한 정보를 포함하는 전기화학적 감지기에 대한 보정 데이터를 측정 도구에 제공하고,

또한, 분석물 농도의 측정 단계는 감지기 신호 및 보정 데이터를 사용하여 분석물의 농도를 측정하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정 방법.

청구항 40.

샘플 중 분석물의 농도를 측정하기 위한 방법에 있어서,

상기 방법은,

제5항 내지 제12항 및 제30항 내지 제34항의 전기화학적 감지기 중 어느 하나에 샘플을 접촉하는 단계,

측정 지대의 샘플 함유를 의미하는 지시전극으로부터의 신호를 관찰하는 단계,

샘플 중 분석물을 전기분해하기 위해 작업전극 및 상대전극 사이의 전위를 가하는 단계,

샘플 중 분석물의 전기분해에 반응하는 감지기로부터의 분석물-반응성 신호를 발생시키는 단계 및,

분석물-반응성 신호를 사용하여 분석물의 농도를 측정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 샘플 내 분석물 농도 측정 방법.

청구항 41.

제1항 내지 제34항의 어느 한 항에 따른 전기화학적 감지기 제조 방법에 있어서,

(a) 제1기판에 다수의 작업전극을 형성,

(b) 제2기판에 다수의 상대전극을 형성,

(c) 제1 및 제2기판 중 어느 하나에 스페이서층을 배치,

(d) 샘플 챔버 영역을 한정하기 위해 스페이서층의 일부를 제거,

(e) 제1 및 제2기판을 함께 적층 및,

(f) 각 전기화학적 감지기가 작업전극들 중 적어도 하나, 상대전극들 중 적어도 하나 및 샘플 챔버 영역 중 적어도 한 부분을 포함하도록 적층된 기판들로부터 다수의 전기화학적 감지기를 분리하는 것을 특징으로 하는, 전기화학적 감지기의 제조 방법.

청구항 42.

제41항에 있어서, 상기 제1기판은 기판의 제1영역이고, 제2기판은 기판의 제2영역이고, 또한, 기판의 제1 및 제2영역을 얻기 위해 기판을 포개는 것을 특징으로 하는, 전기화학적 감지기의 제조 방법.

청구항 43.

제41항 또는 제42항에 있어서, 다수의 전기화학적 감지기의 분리는 전기화학적 감지기를 분리하고, 전기화학적 감지기의 샘플 챔버의 적어도 한 말단을 한정하기 위해 제1 및 제2기판을 커팅하는 것을 특징으로 하는, 전기화학적 감지기의 제조 방법.

청구항 44.

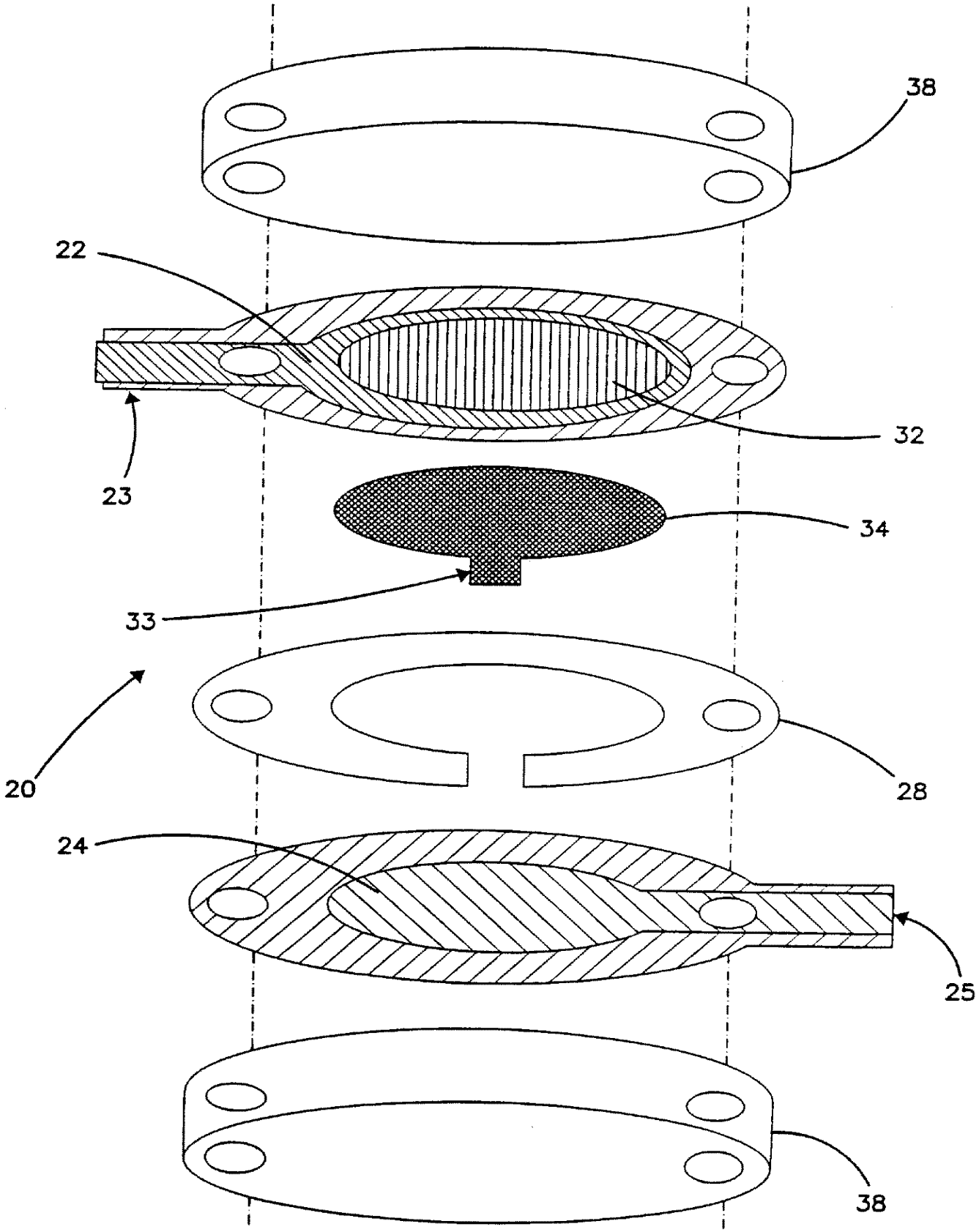
제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 또한, 제1 및 제2기판의 한쪽에 다수의 지시전극을 형성하는 것을 특징으로 하는, 전기화학적 감지기의 제조 방법.

청구항 45.

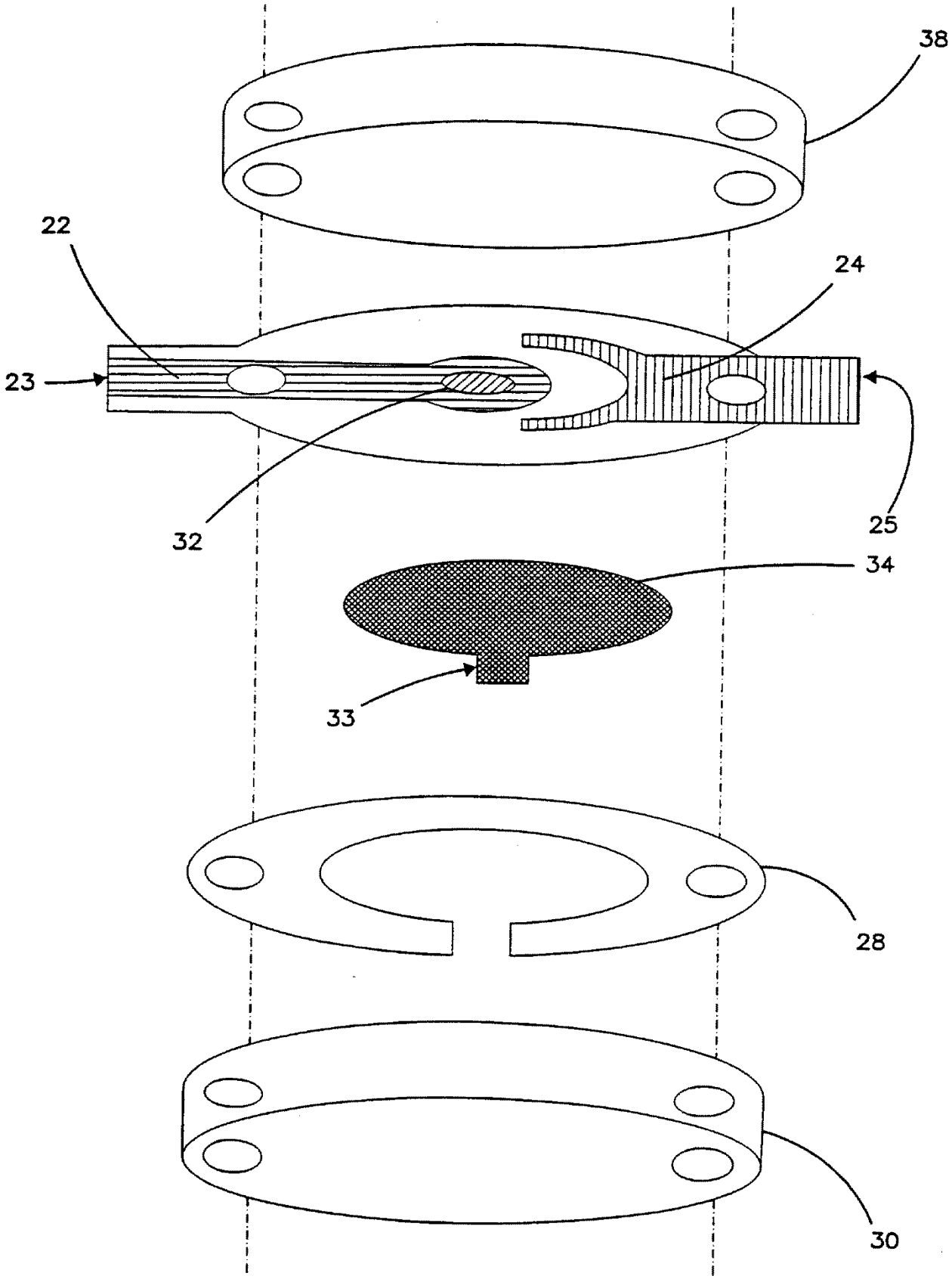
제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 스페이서층의 일부를 스페이서층이 제1 및 제2기판의 한쪽에 배치된 후 샘플 챔버 영역을 한정하기 위해 제거되는 것을 특징으로 하는, 전기화학적 감지지기의 제조 방법.

도면

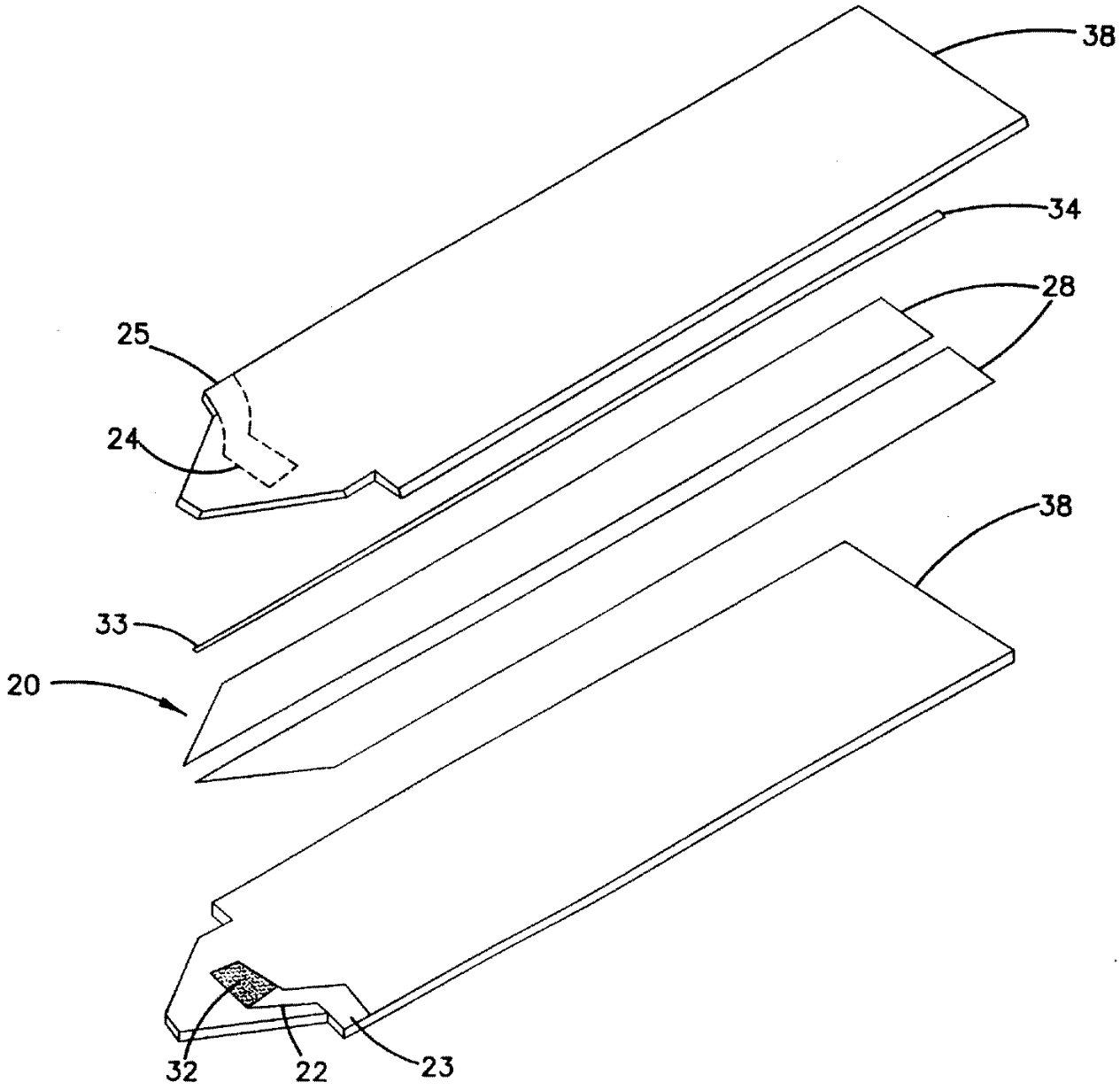
도면 1



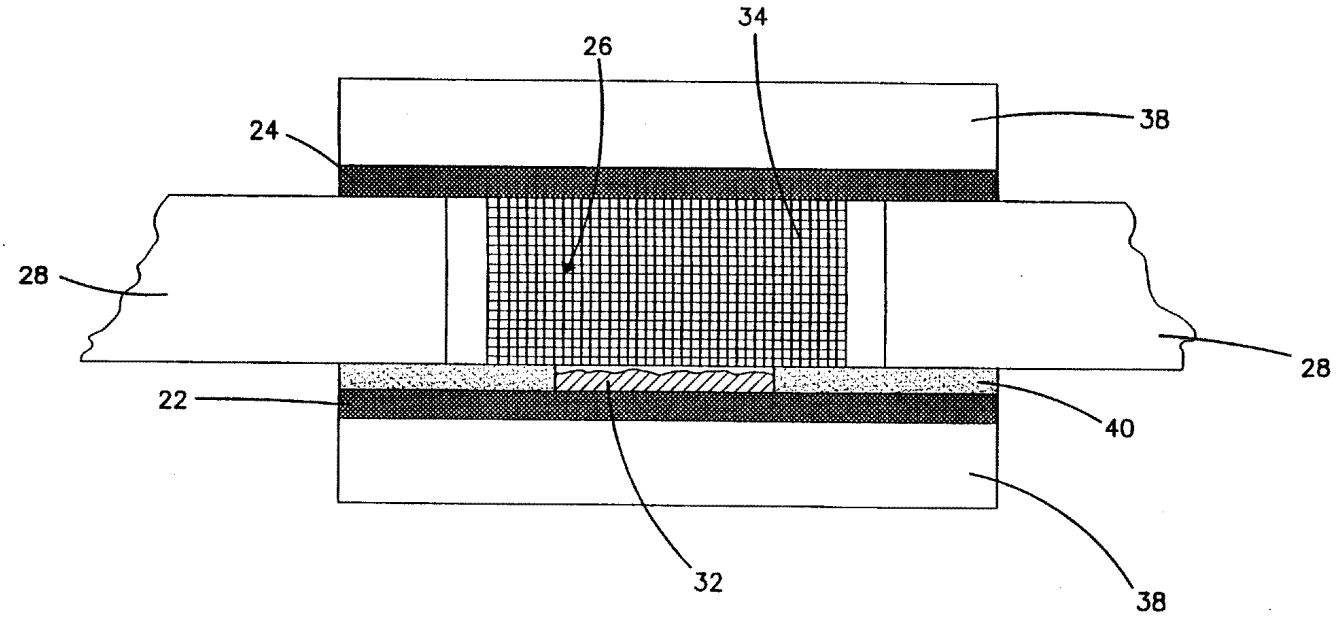
도면 2



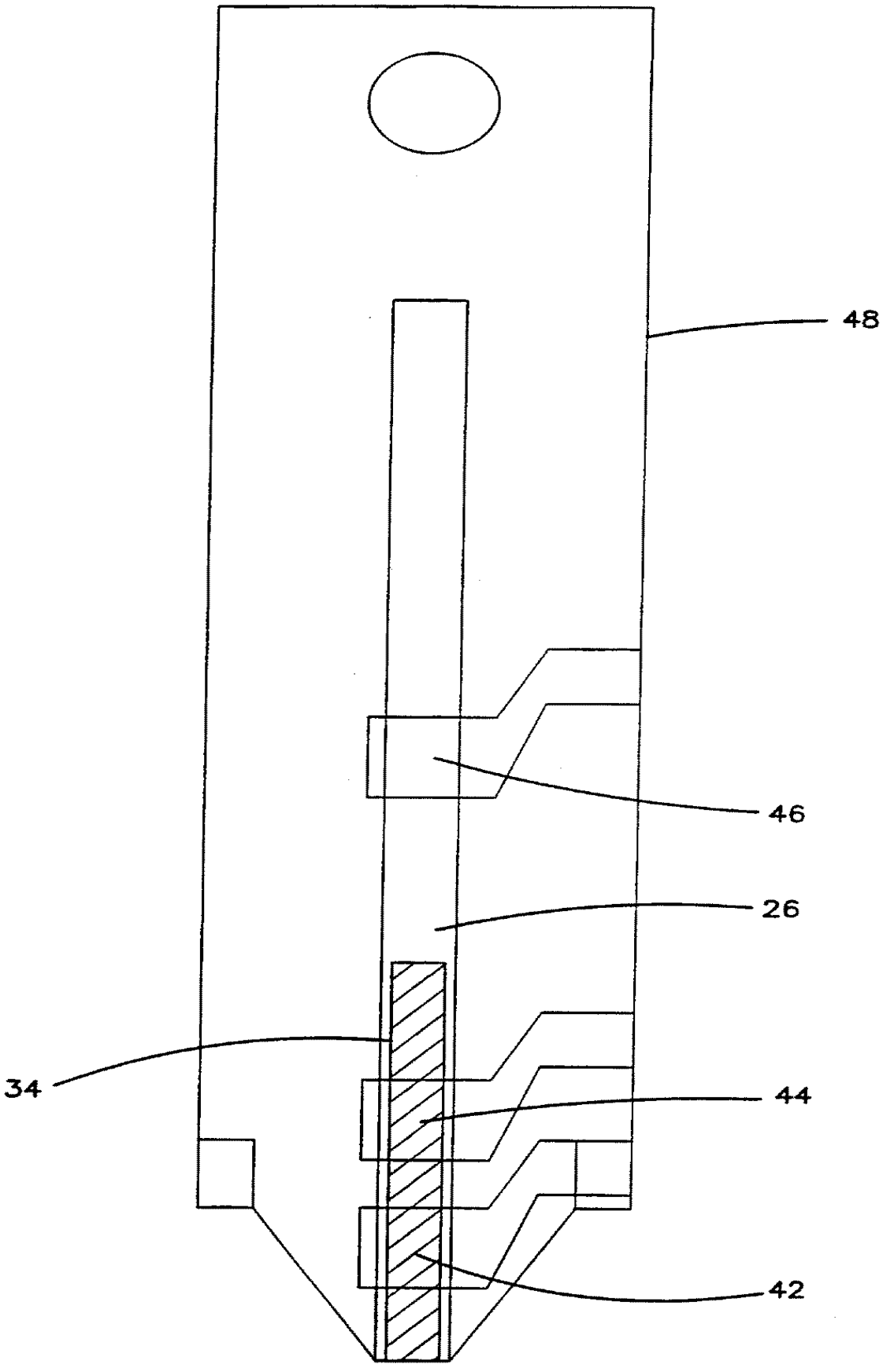
도면 3



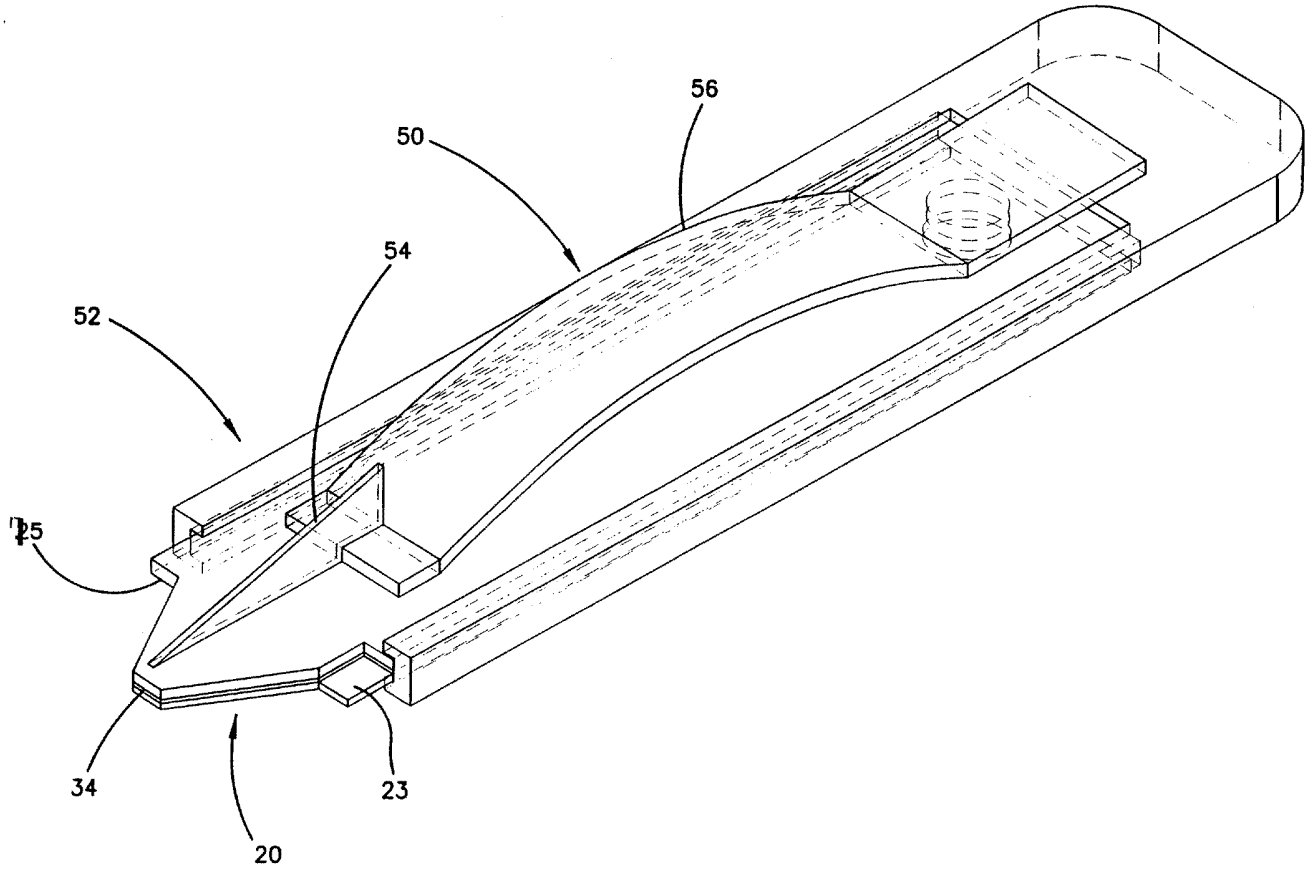
도면 4



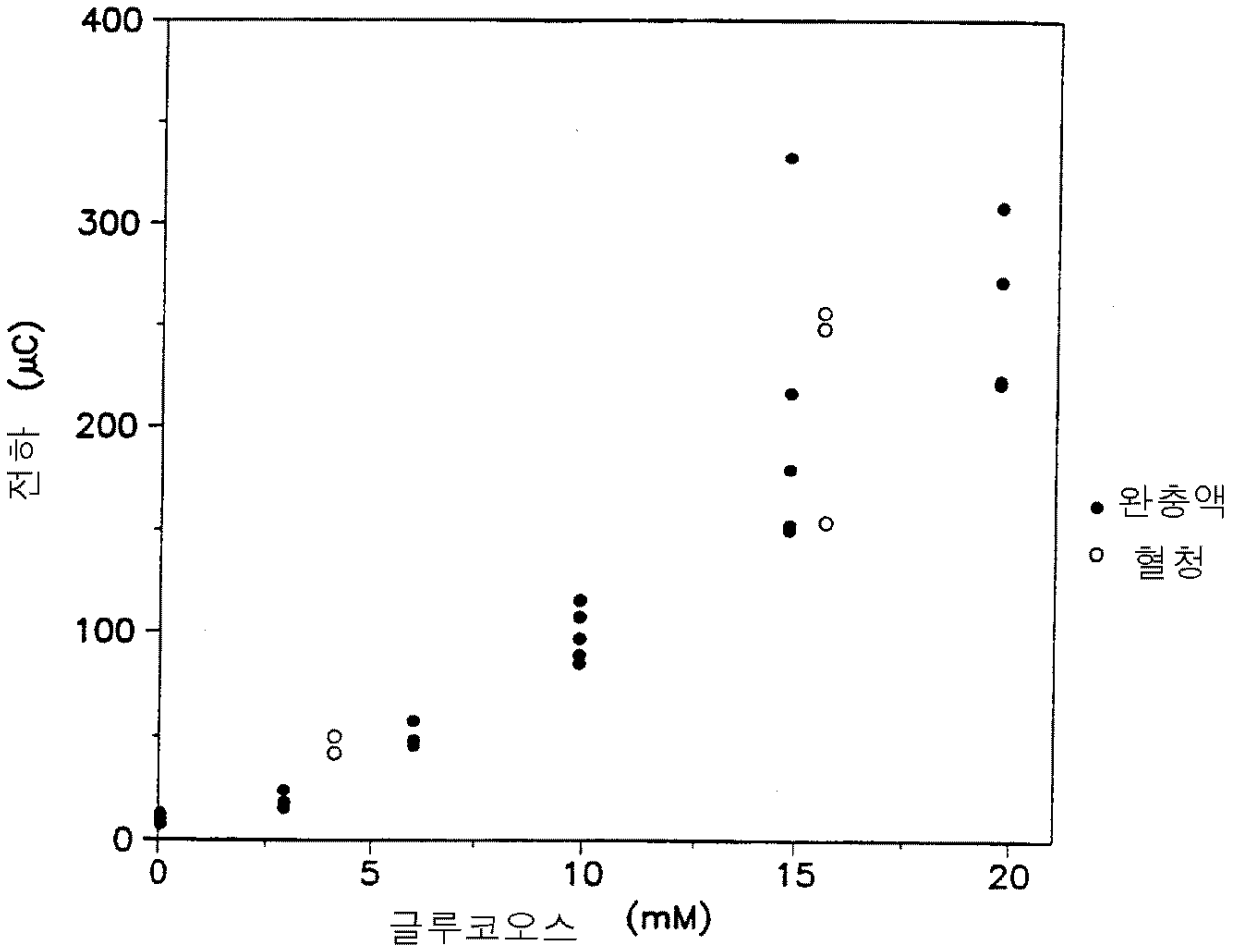
도면 5



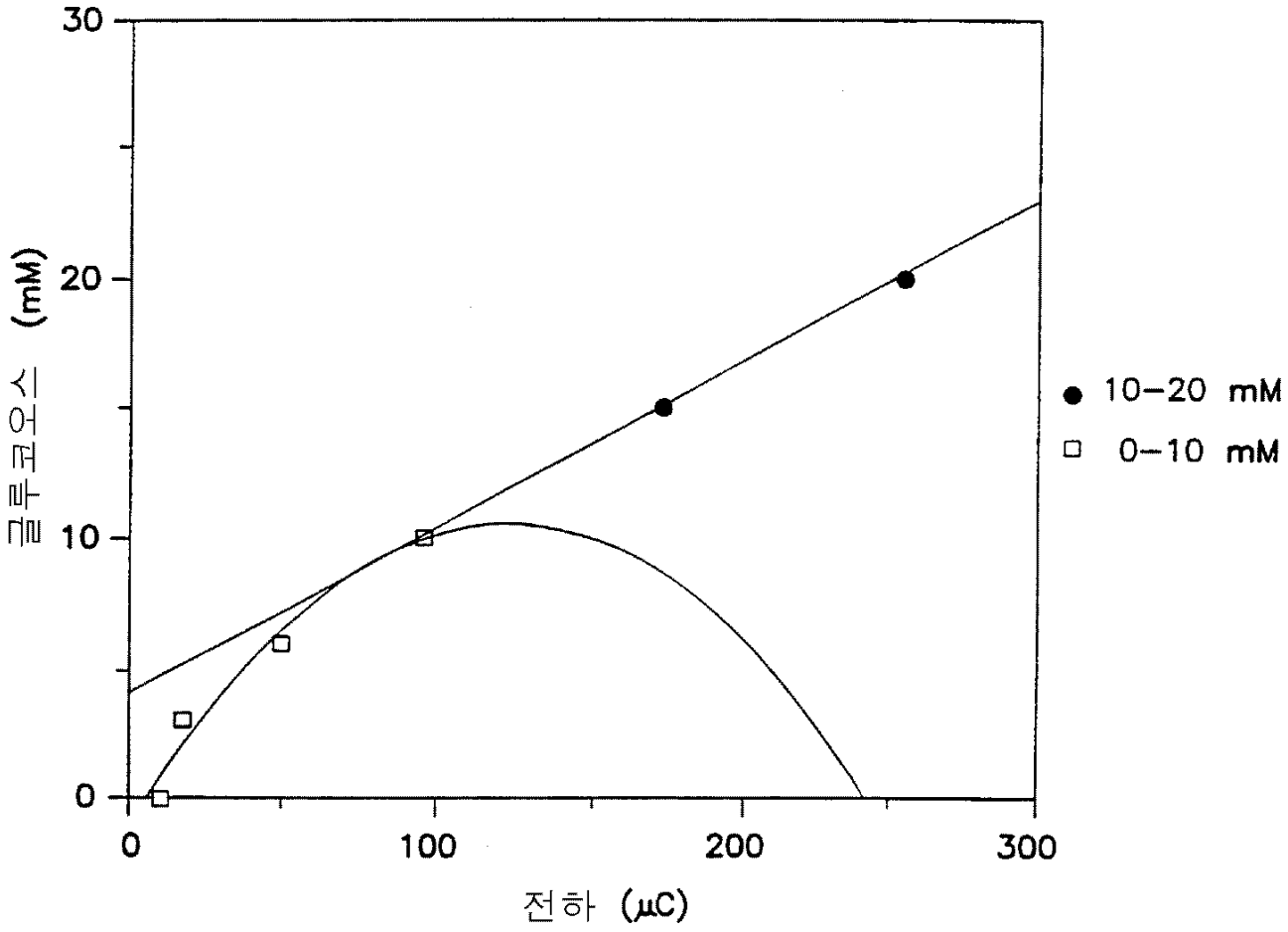
도면 6



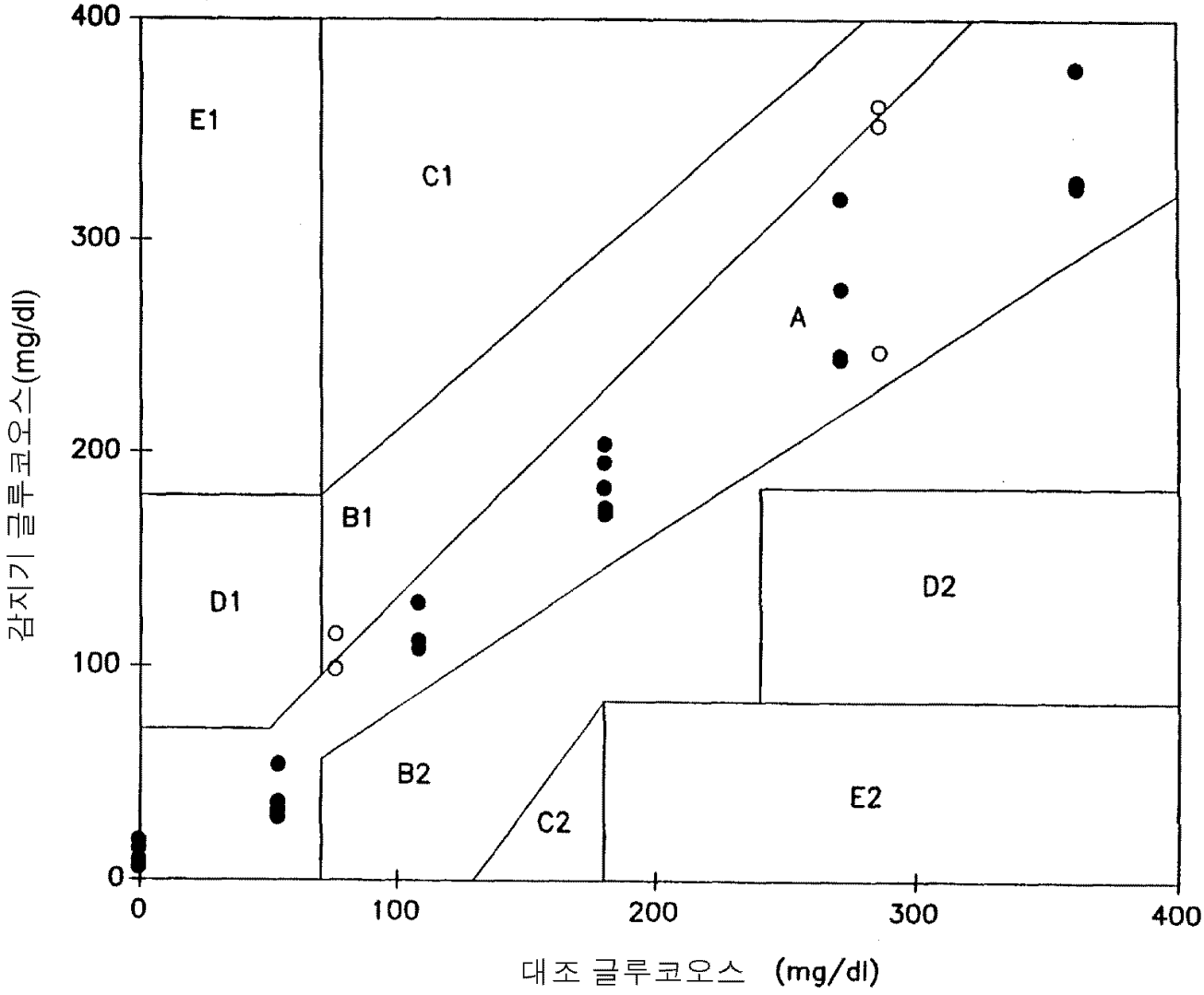
도면 7



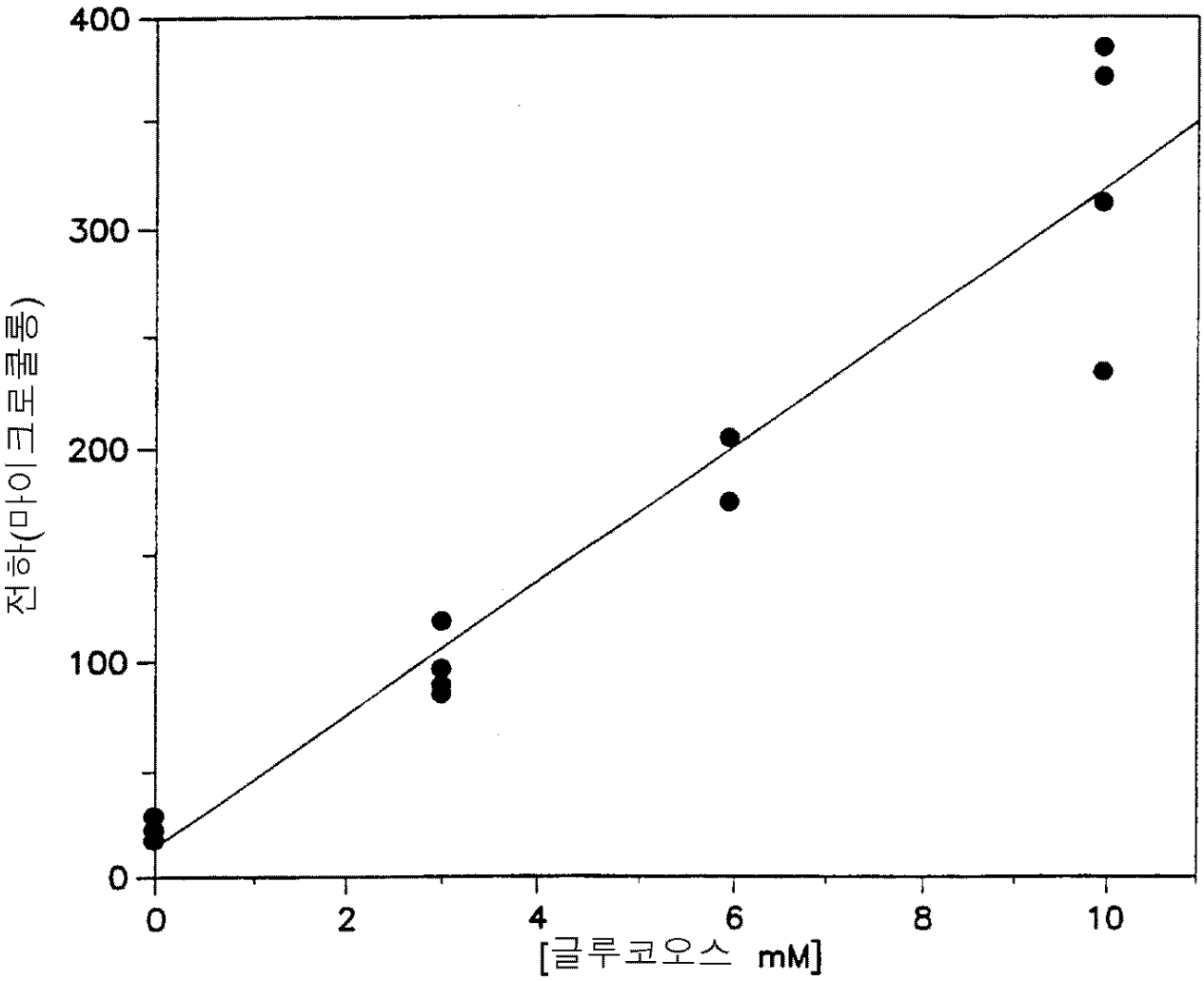
도면 8



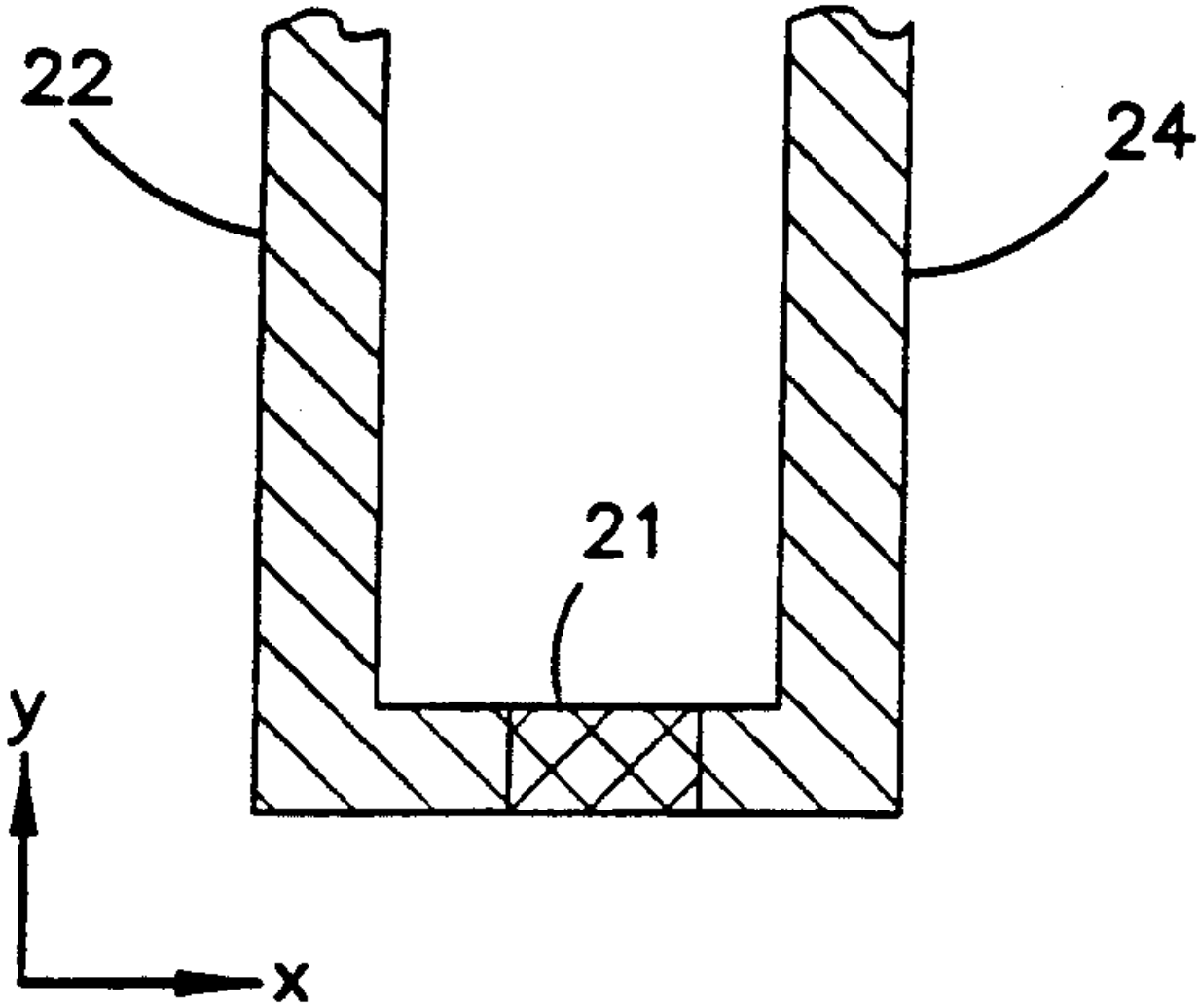
도면 9


400
300
200
100
0
0
100
200
300
400
감지기 글루코오스(mg/dl)
대조 글루코오스 (mg/dl)
E1
C1
A
B1
D1
D2
B2
C2
E2

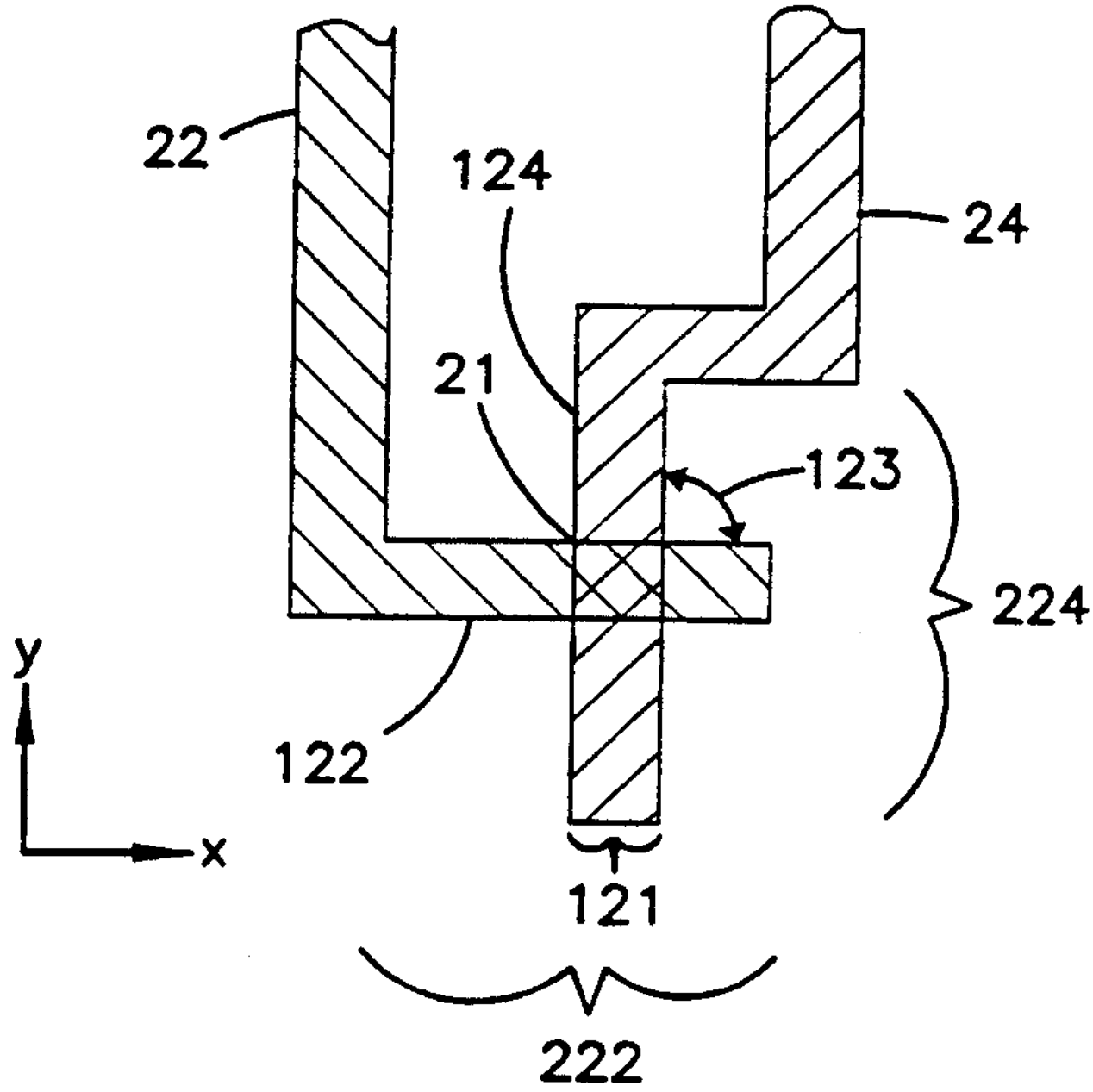
도면 10



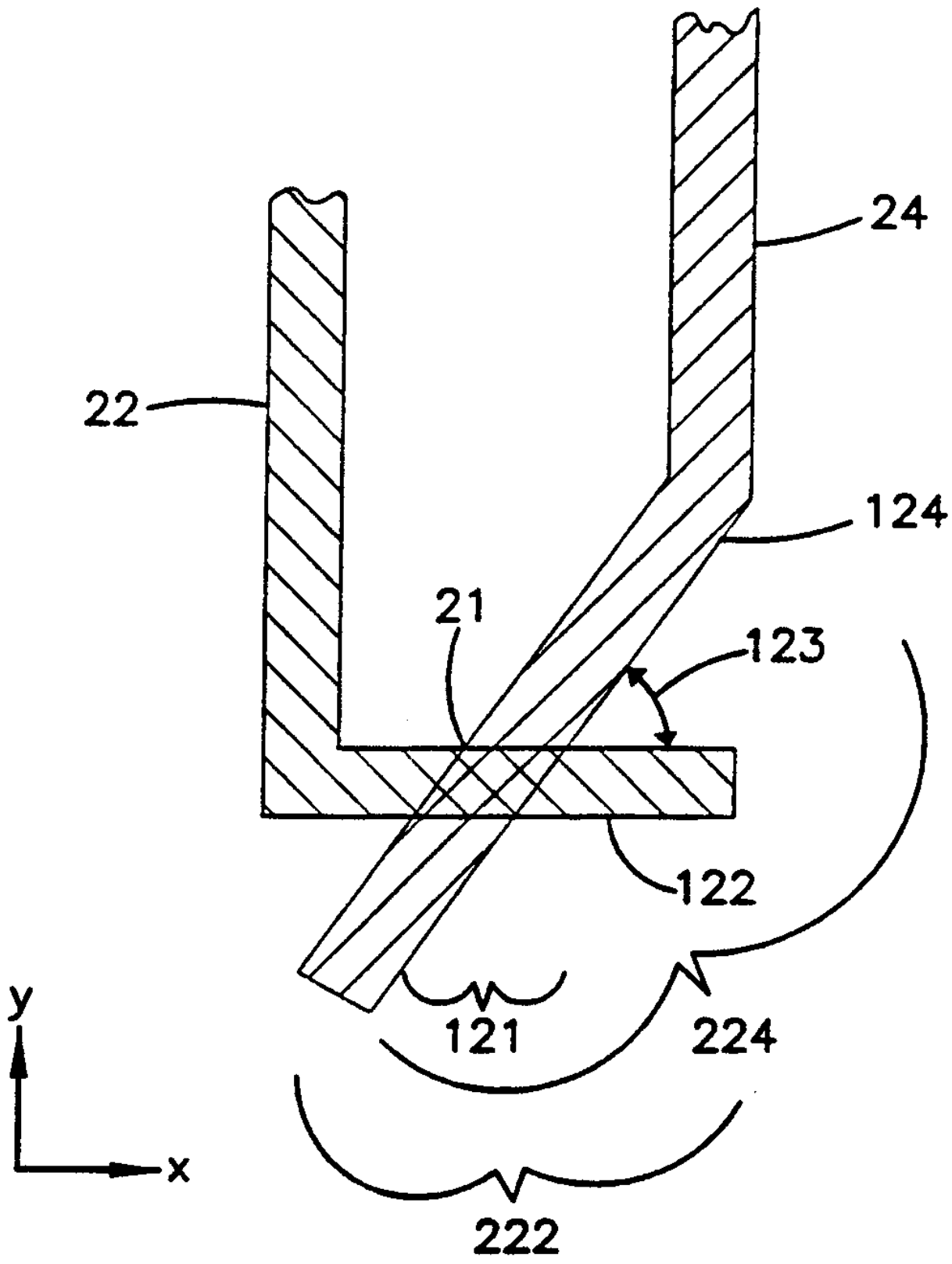
도면 11a



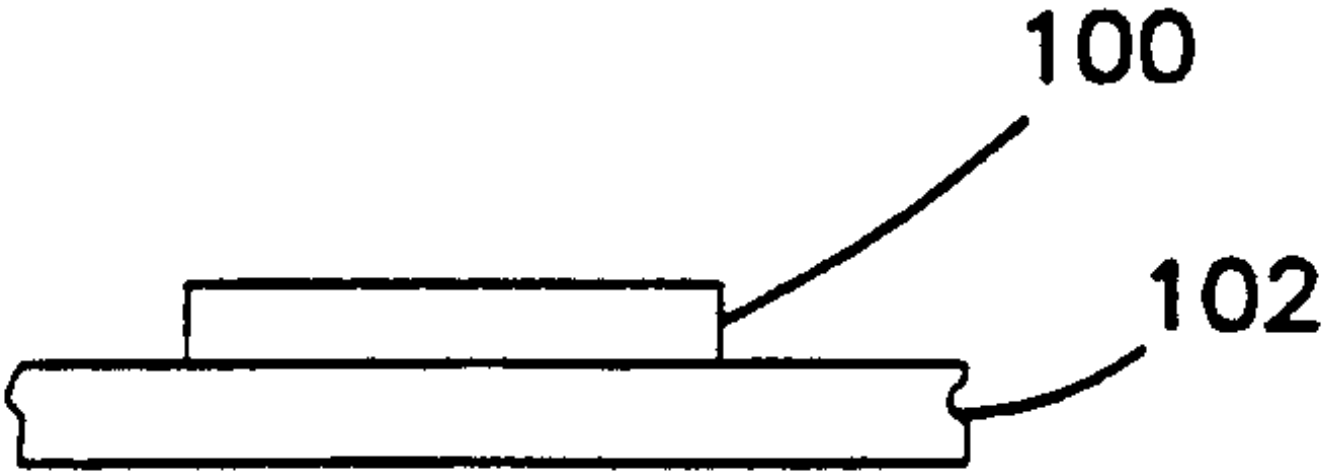
도면 11b



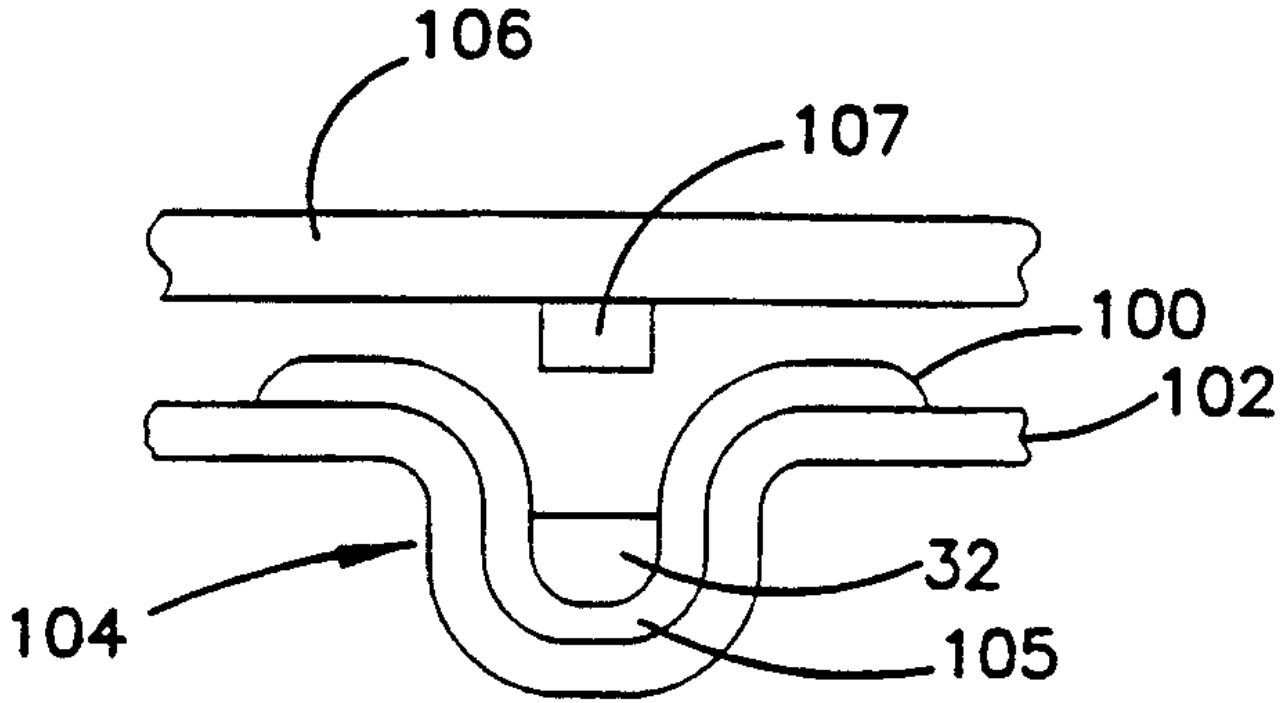
도면 11c



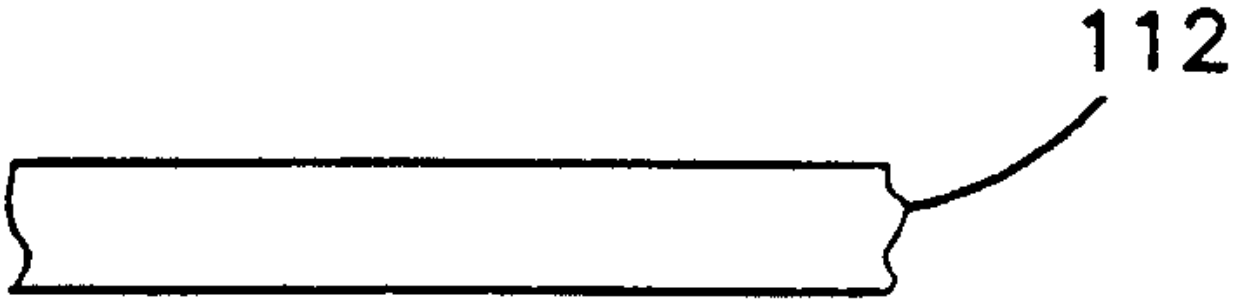
도면 12a



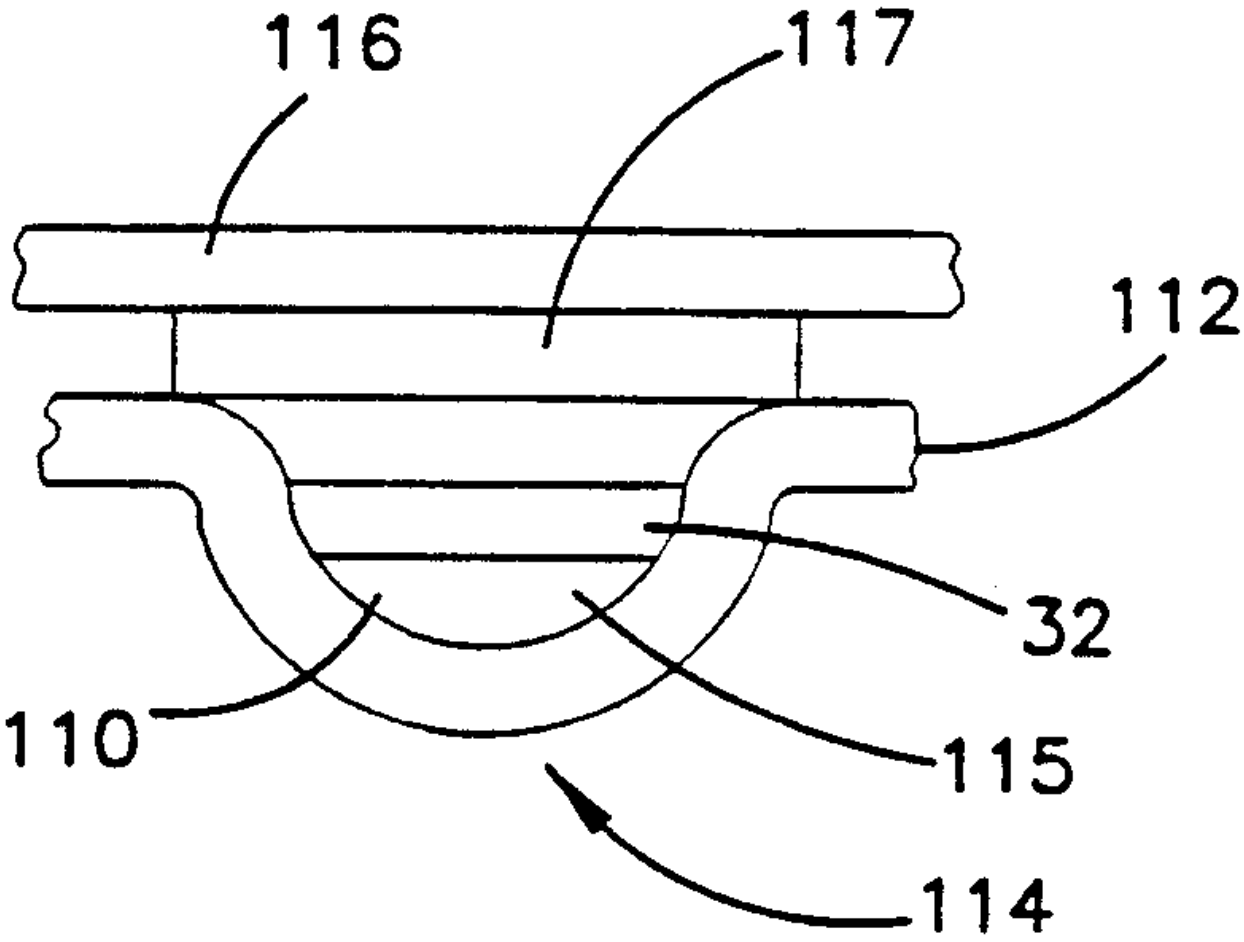
도면 12b



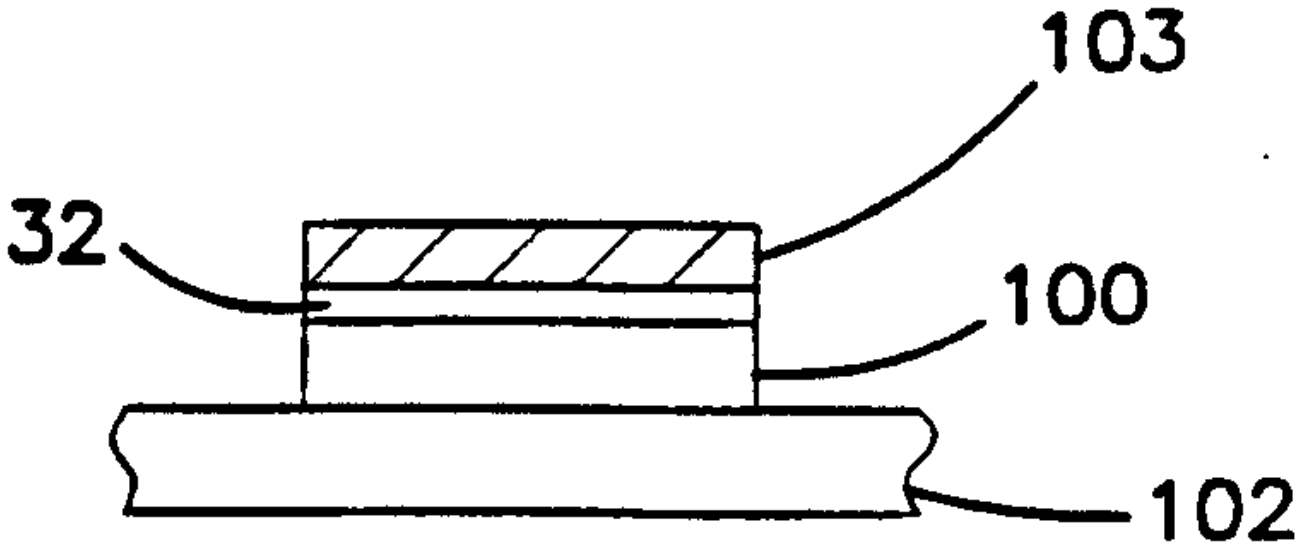
도면 13a



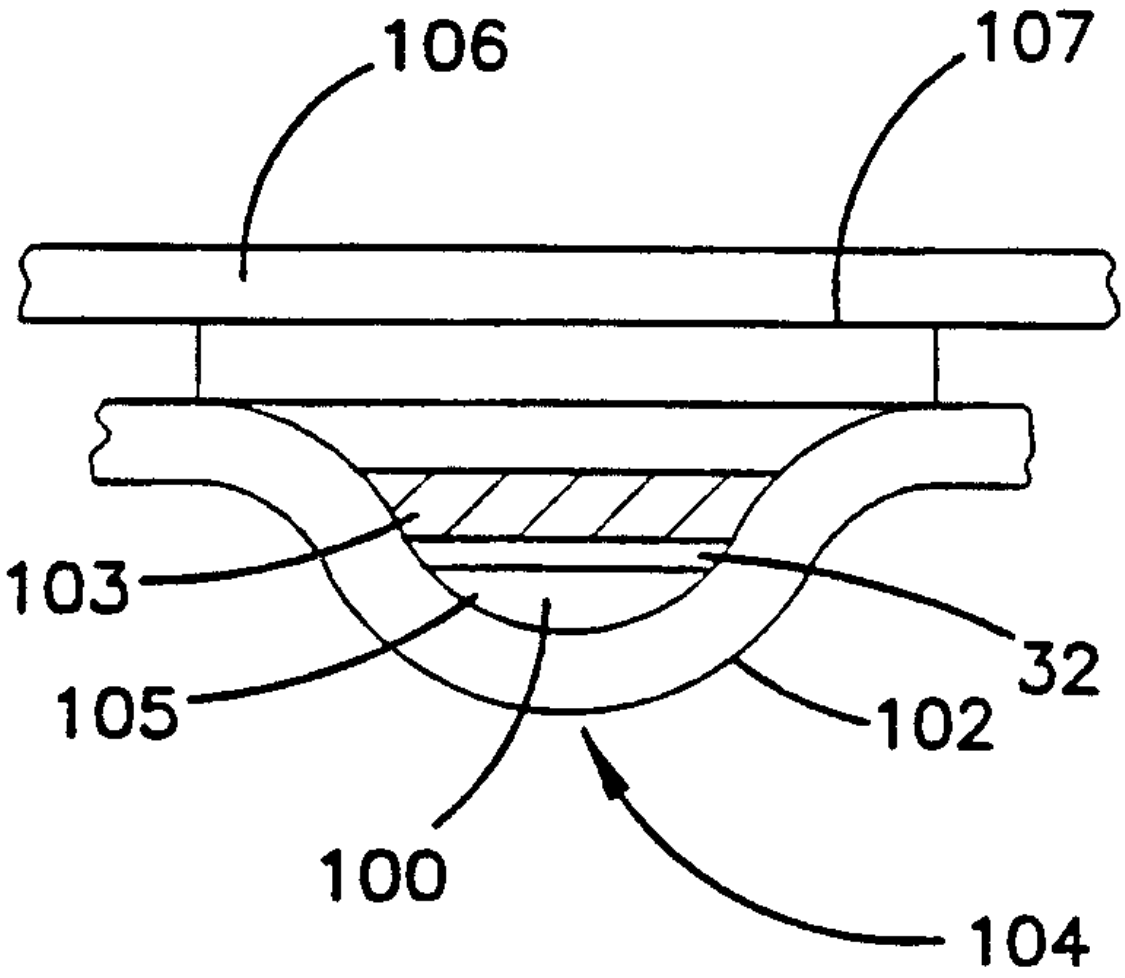
도면 13b



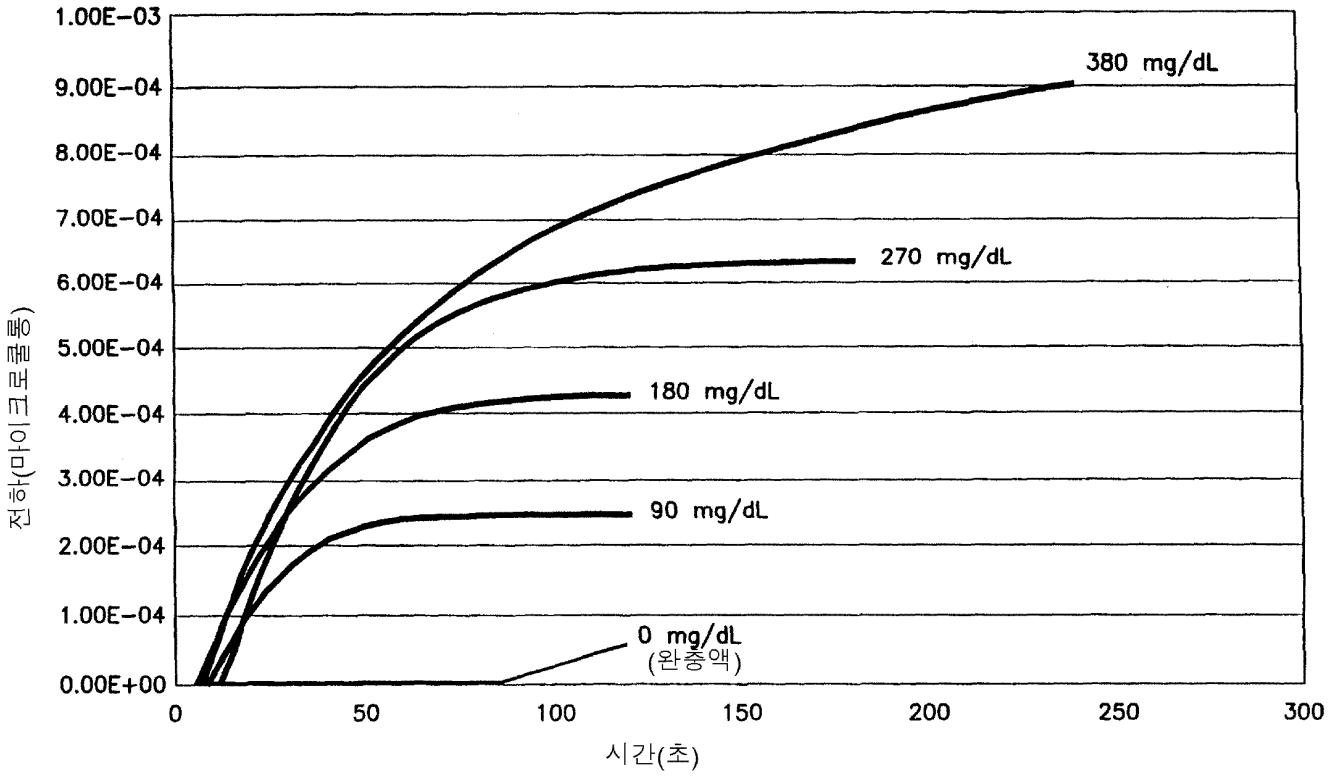
도면 14a



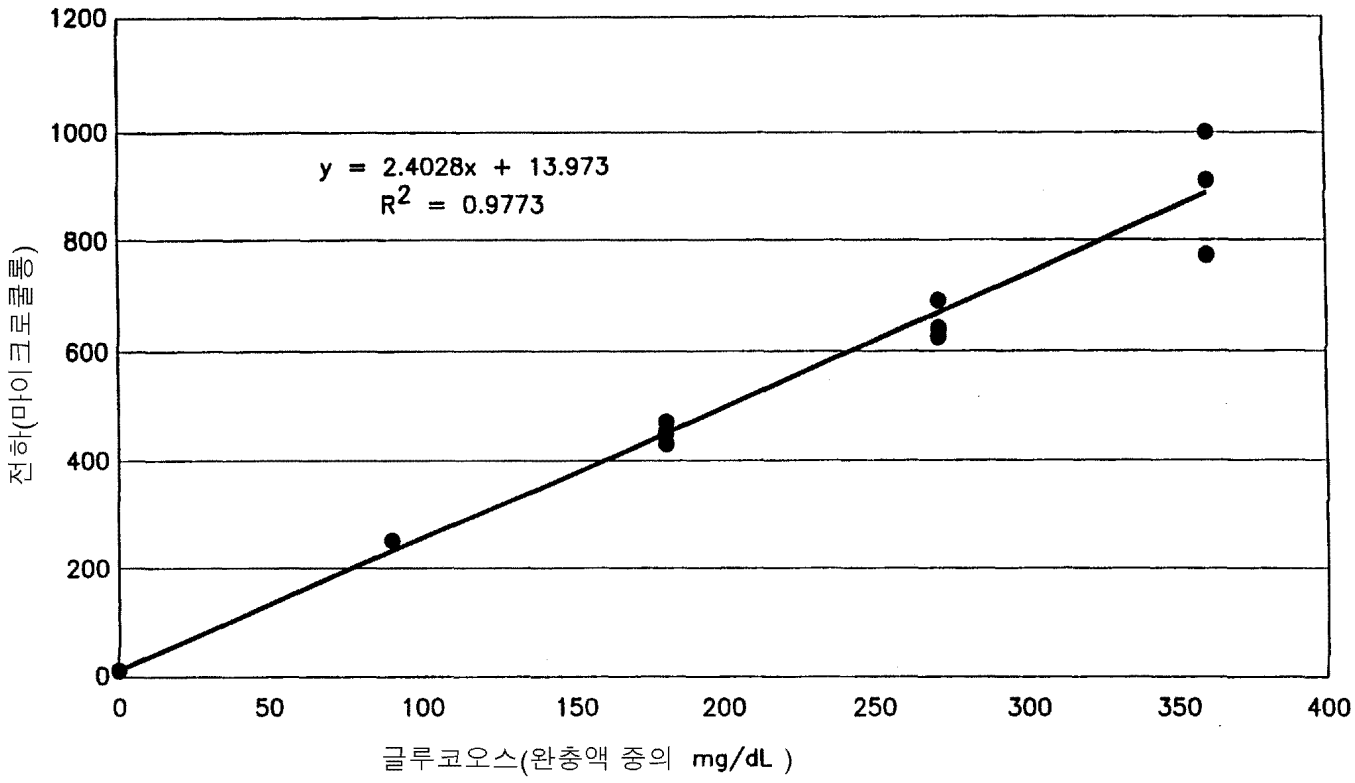
도면 14b



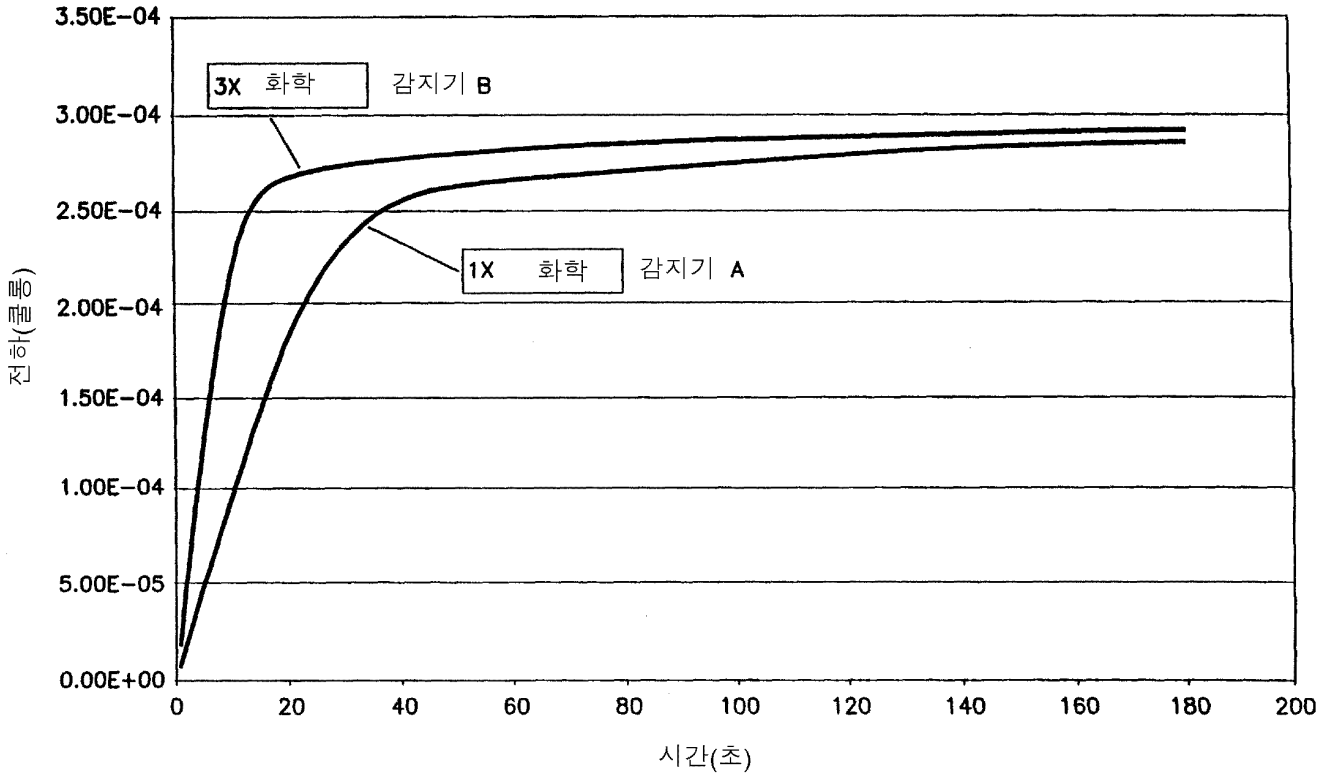
도면 15


1.00E-03
9.00E-04
8.00E-04
7.00E-04
6.00E-04
5.00E-04
4.00E-04
3.00E-04
2.00E-04
1.00E-04
0.00E+00
전하(마이크로쿨롬)
380 mg/dL
270 mg/dL
180 mg/dL
90 mg/dL
0 mg/dL
(완충액)
0
50
100
150
200
250
300
시간(초)

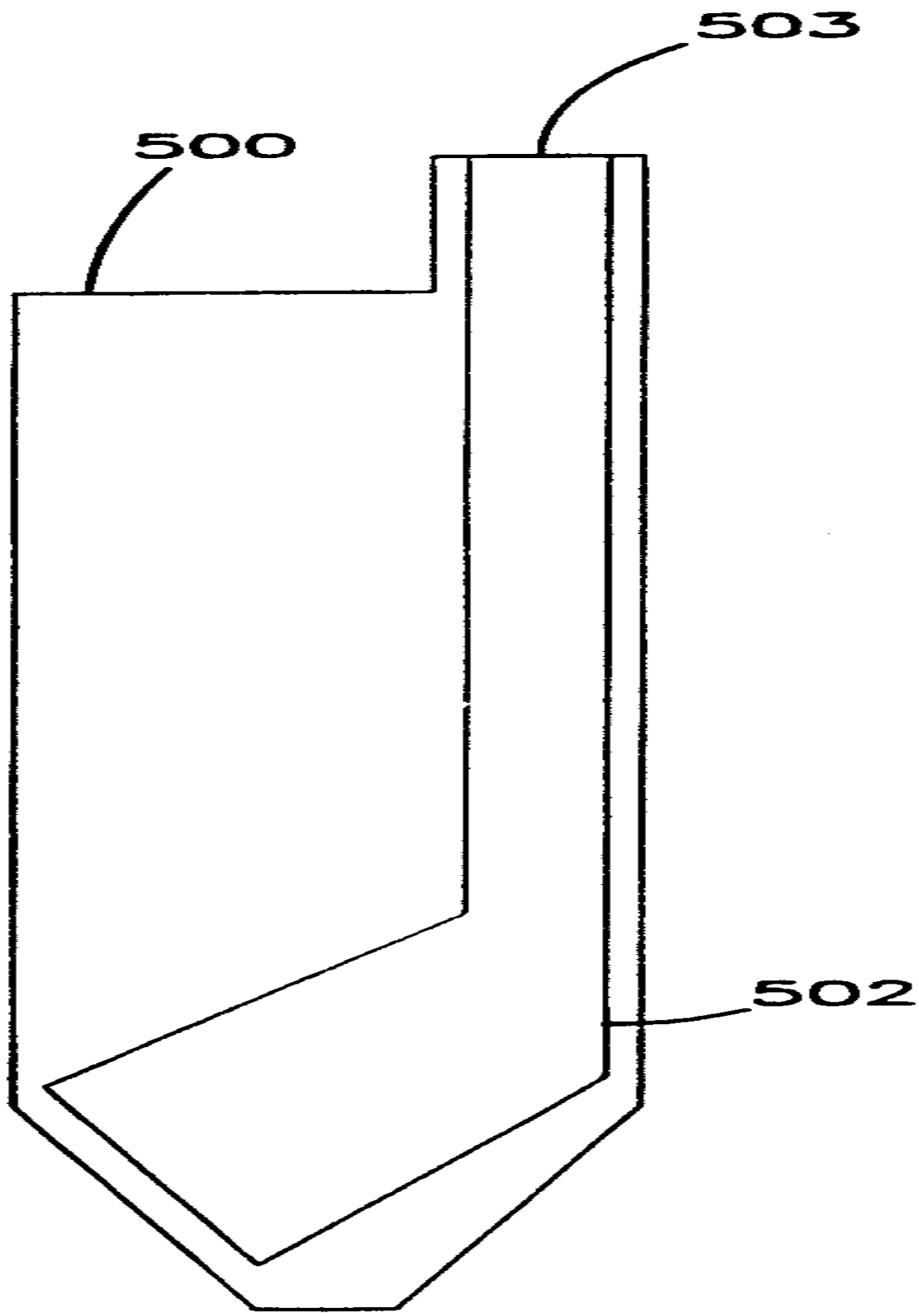
도면 16


1200
1000
800
600
400
200
0
전하(마이크로쿨롬)
y = 2.4028x + 13.973
R2 = 0.9773
0
50
100
150
200
250
300
350
400
글루코오스(완충액 중의 mg/dL)

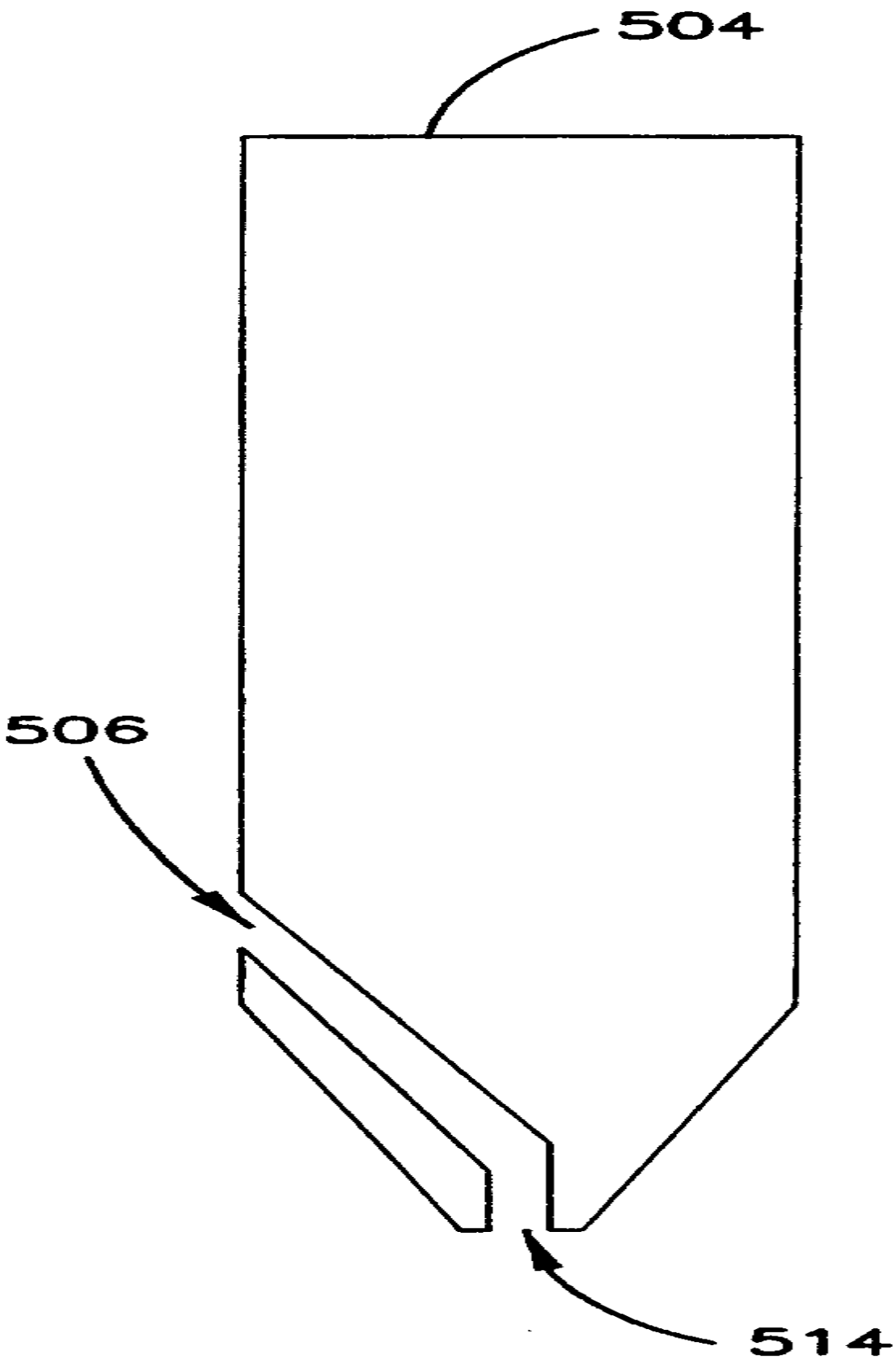
도면 17


3.50E-04
3.00E-04
2.50E-04
2.00E-04
1.50E-04
1.00E-04
5.00E-05
0.00E+00
전하(쿨롱)
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
시간(초)
3X 화학 감지기 B
1X 화학 감지기 A

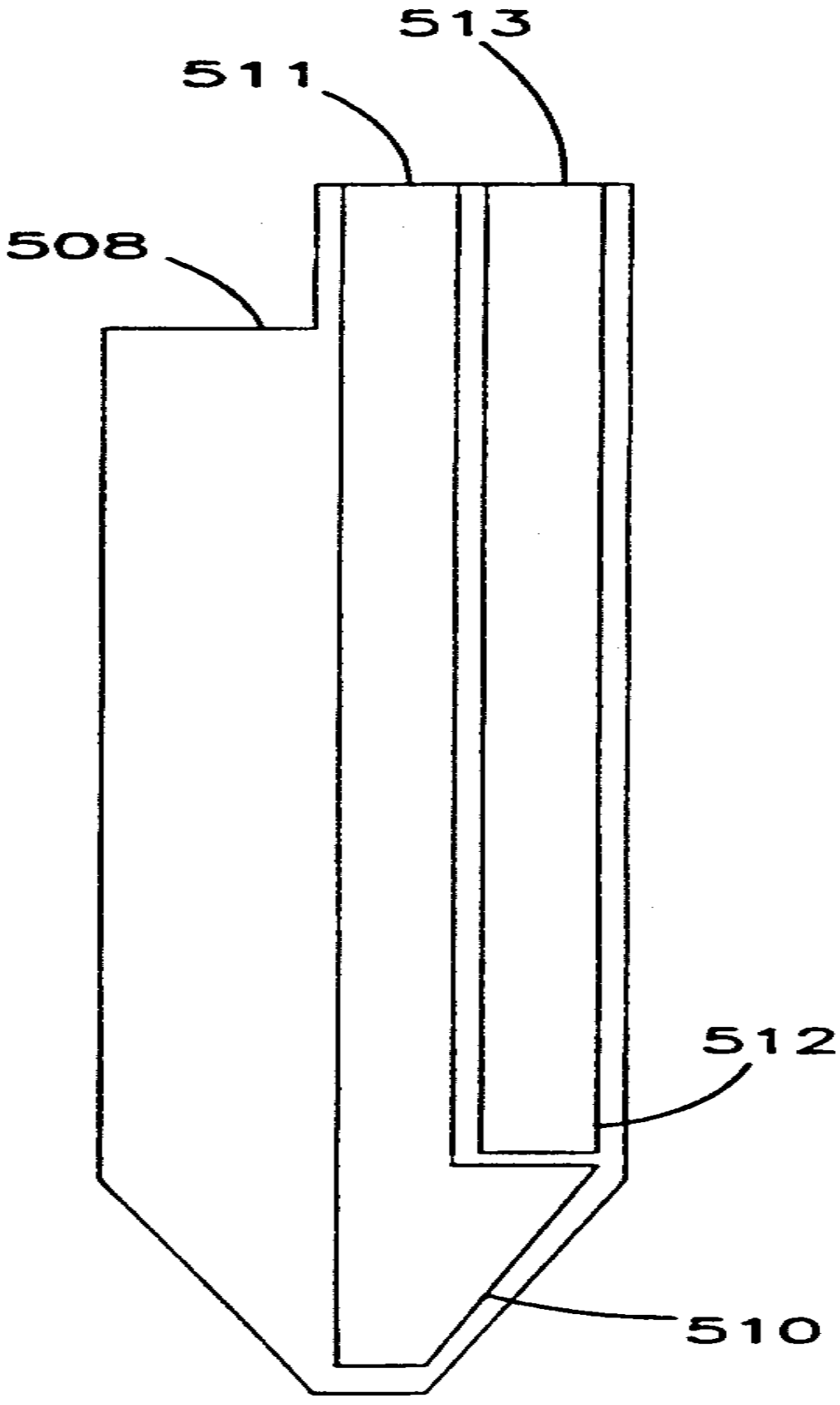
도면 18a



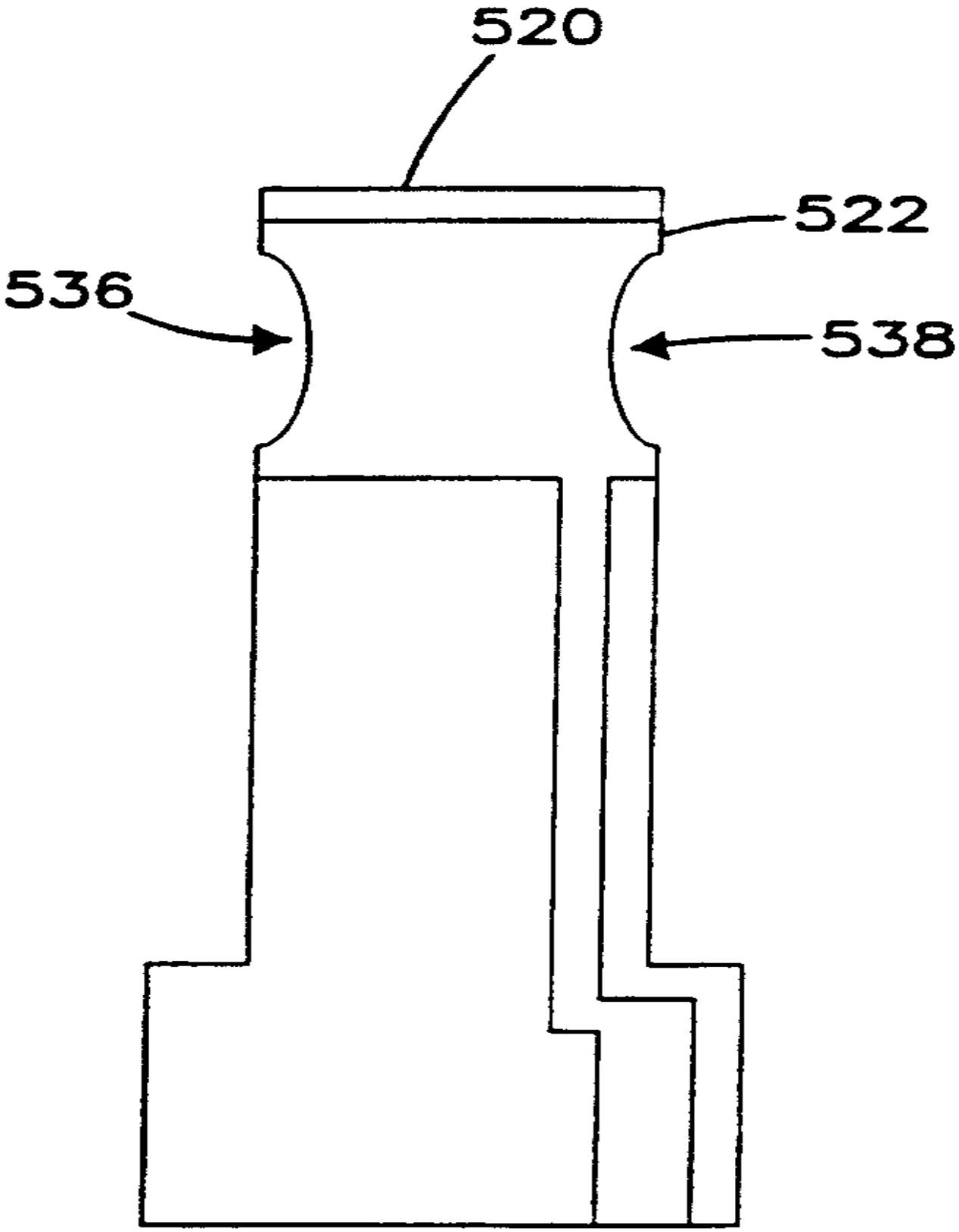
도면 18b



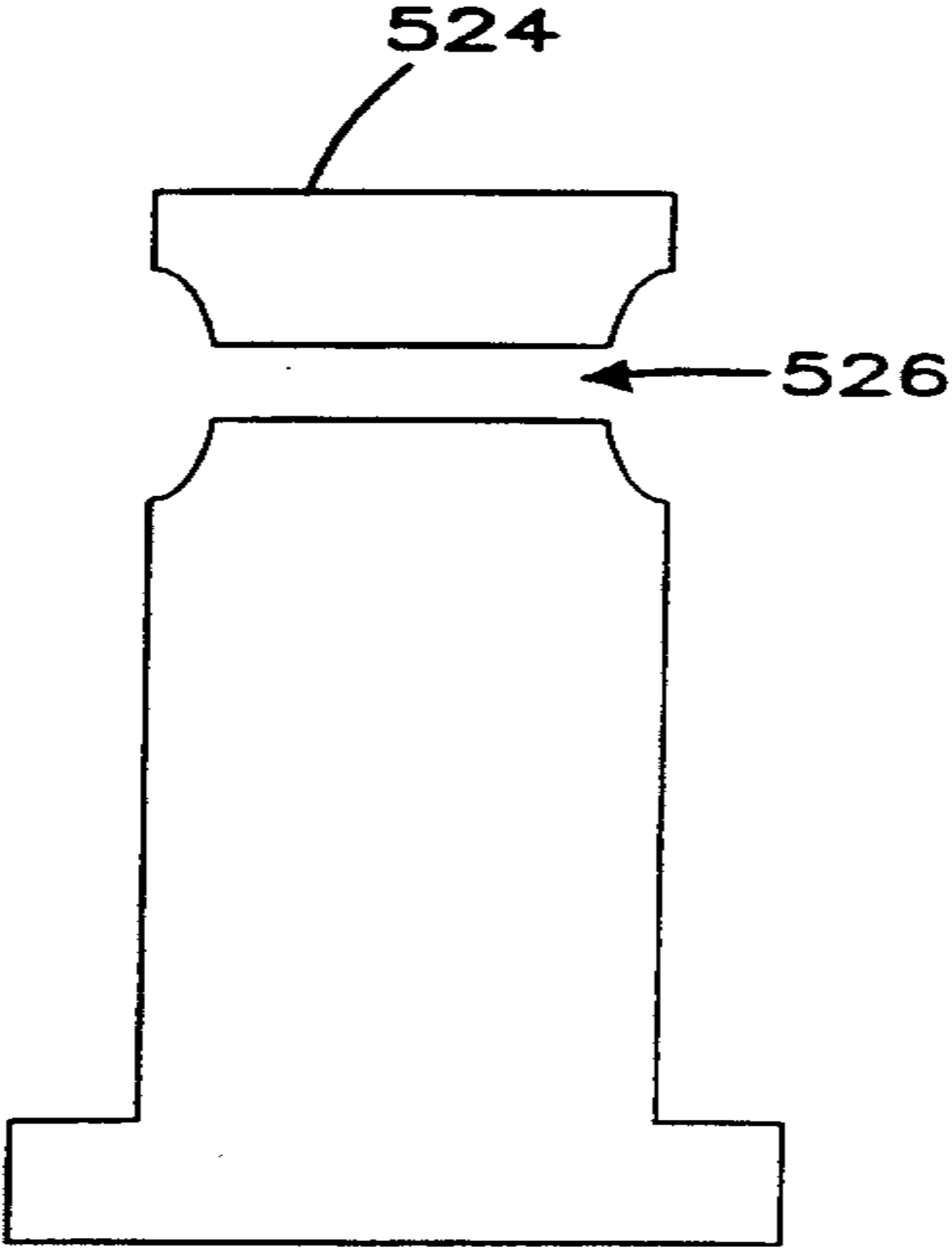
도면 18c



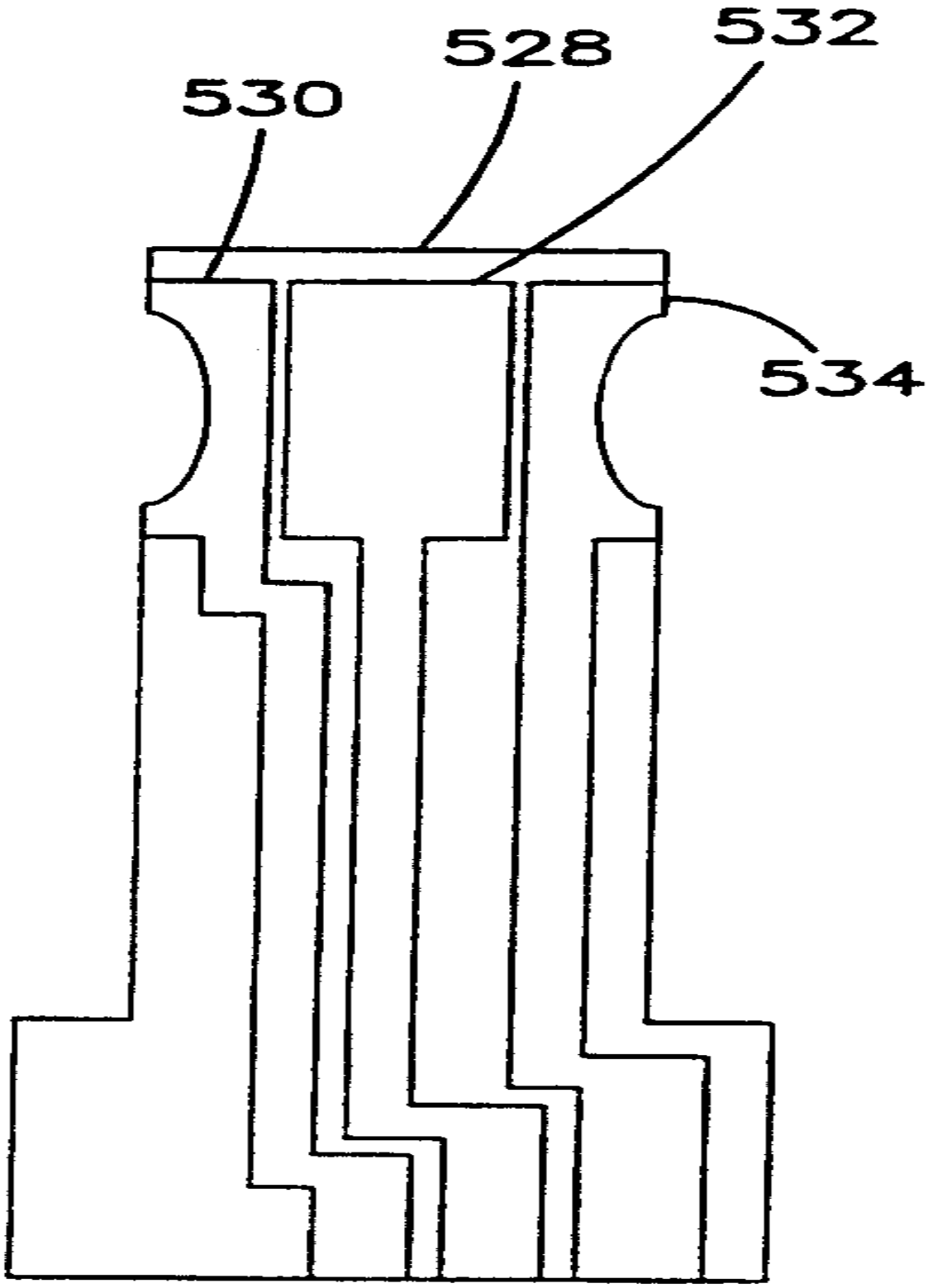
도면 19a



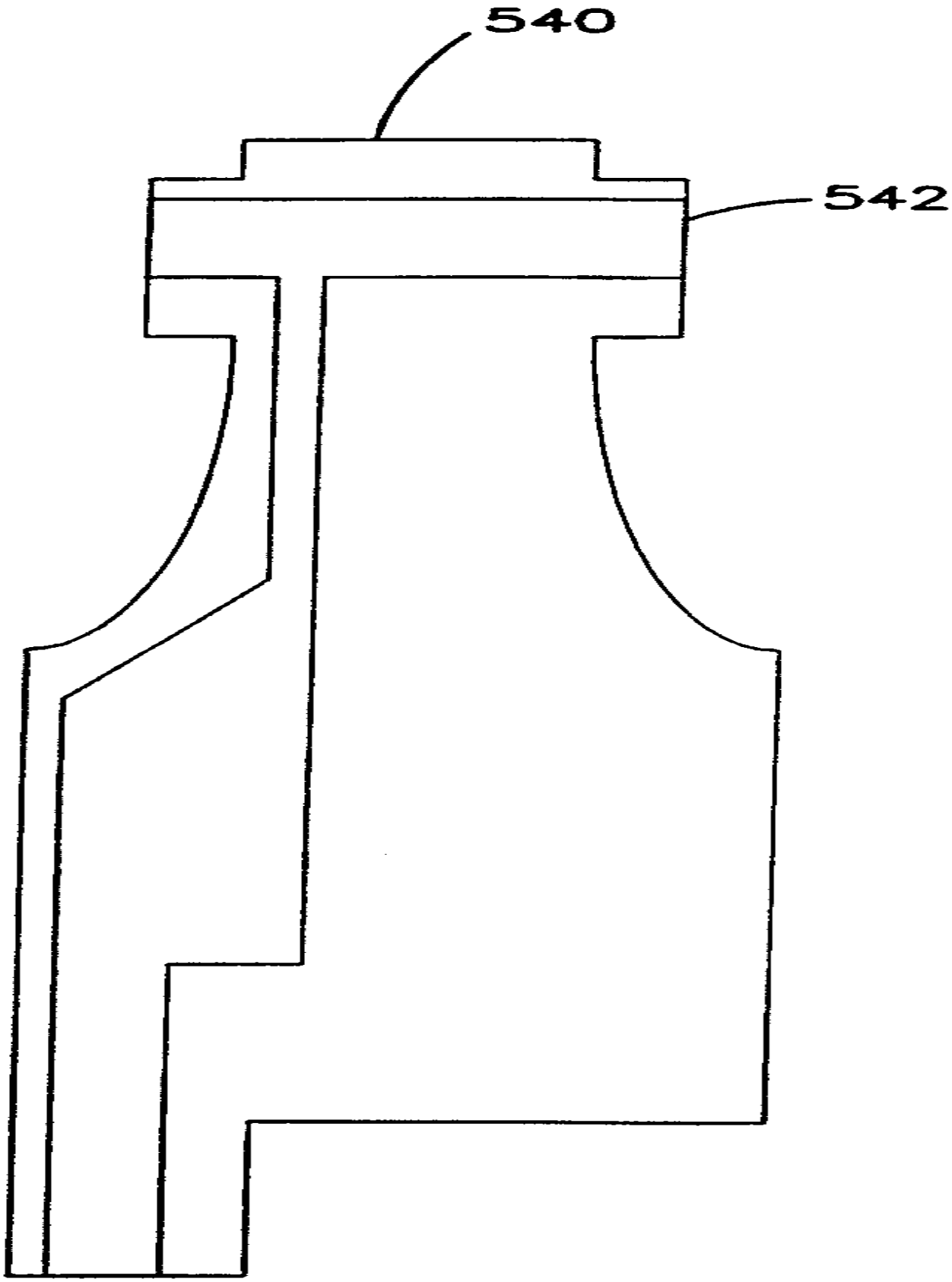
도면 19b



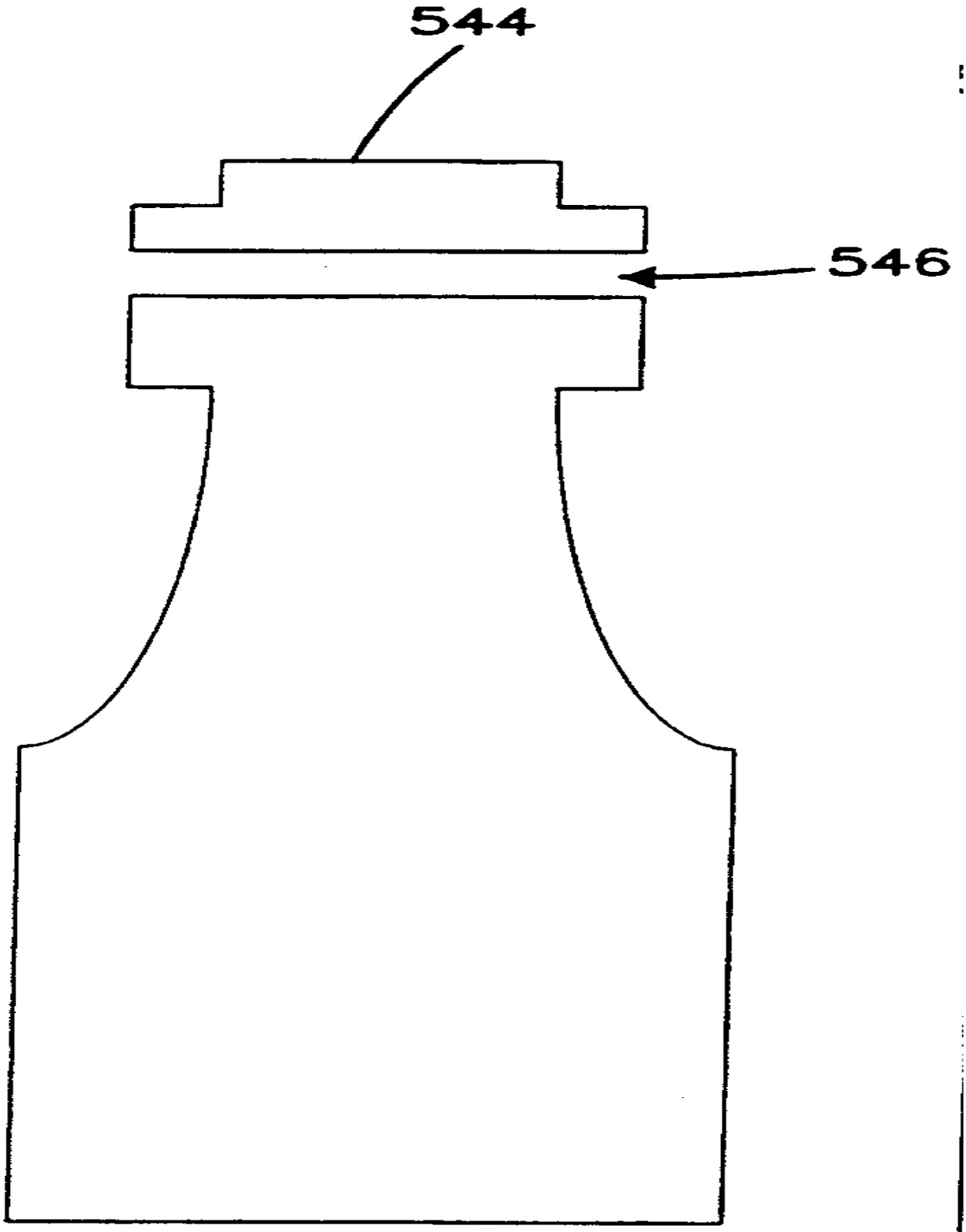
도면 19c



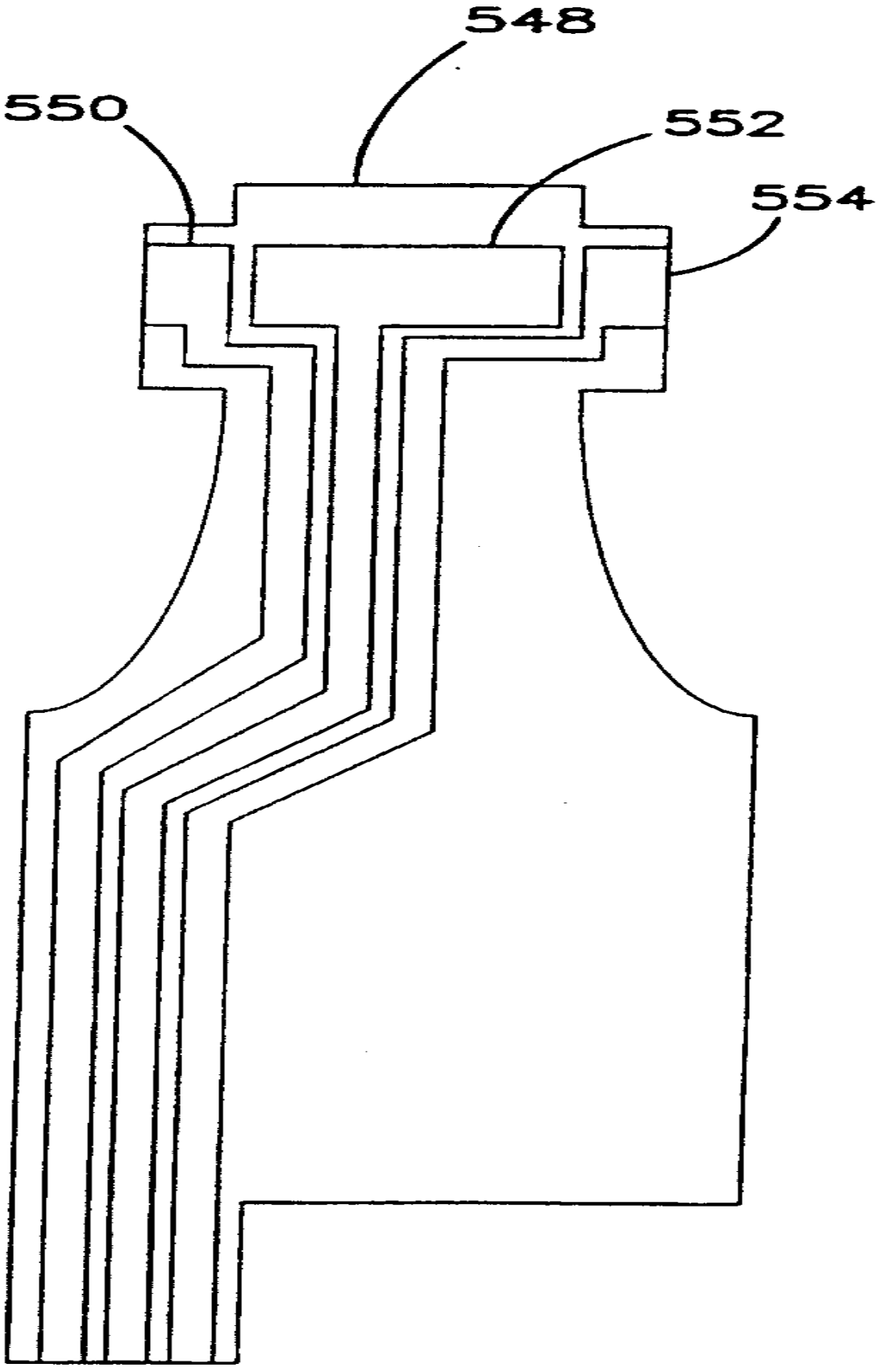
도면 20a



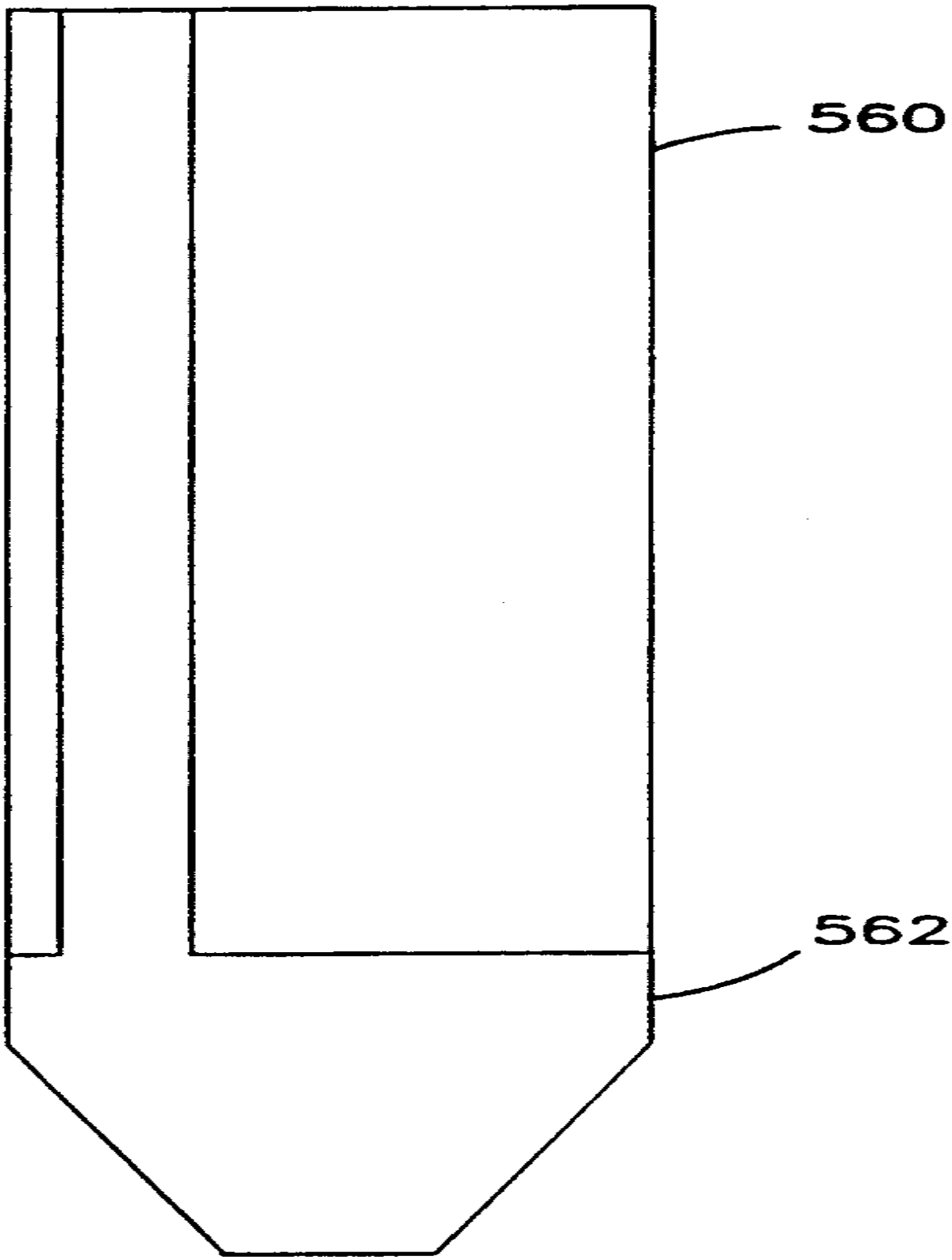
도면 20b



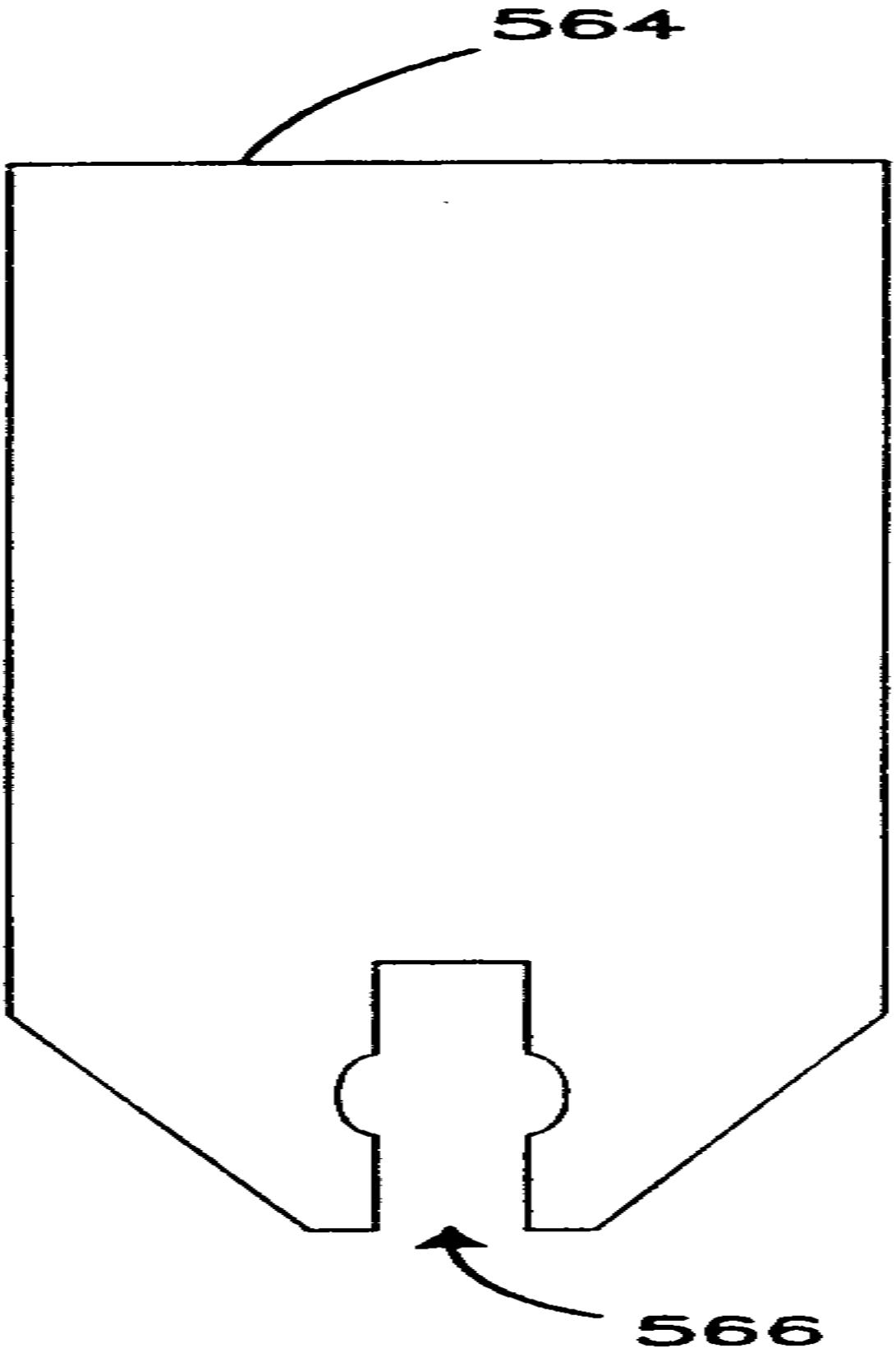
도면 20c



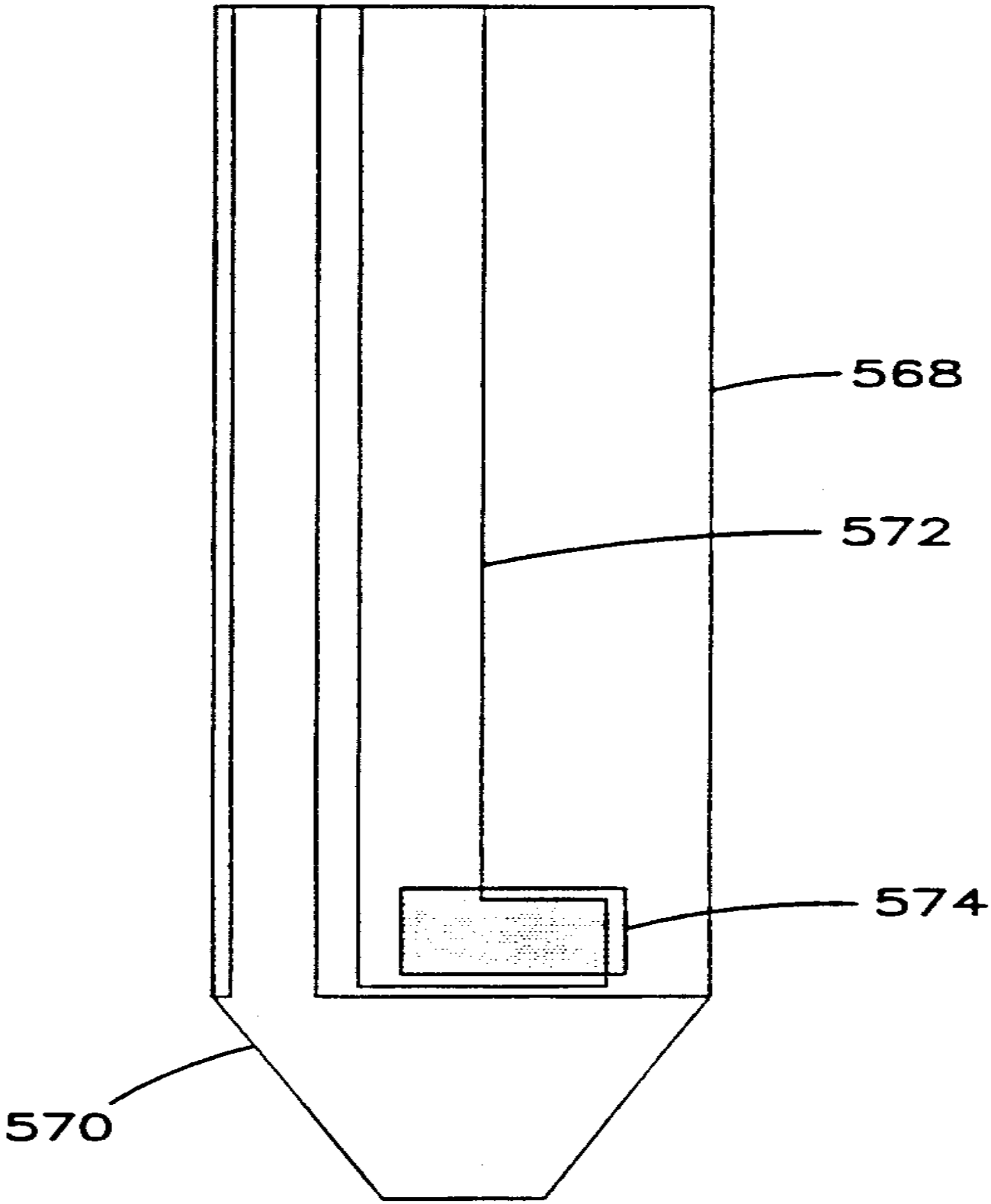
도면 21a



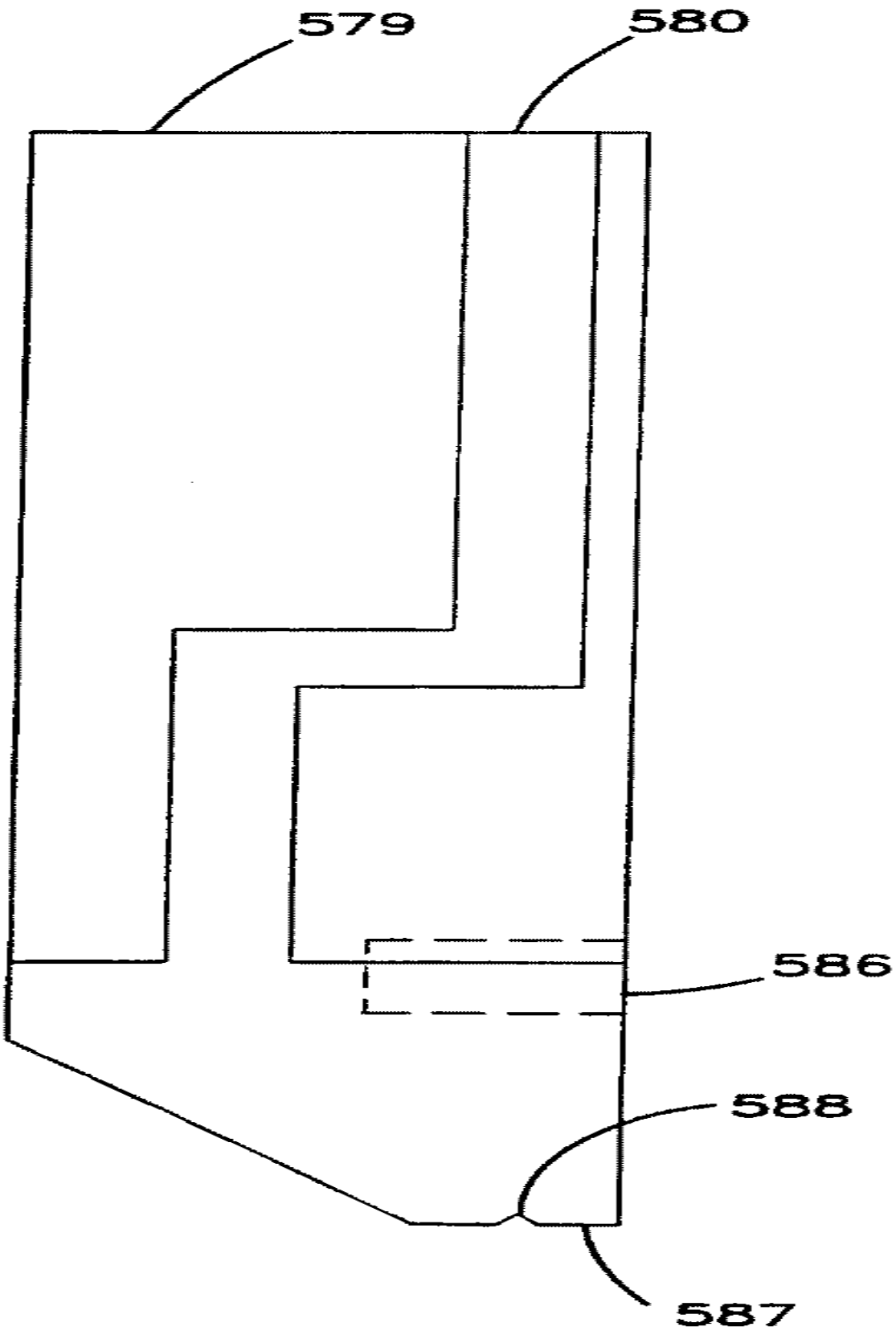
도면 21b



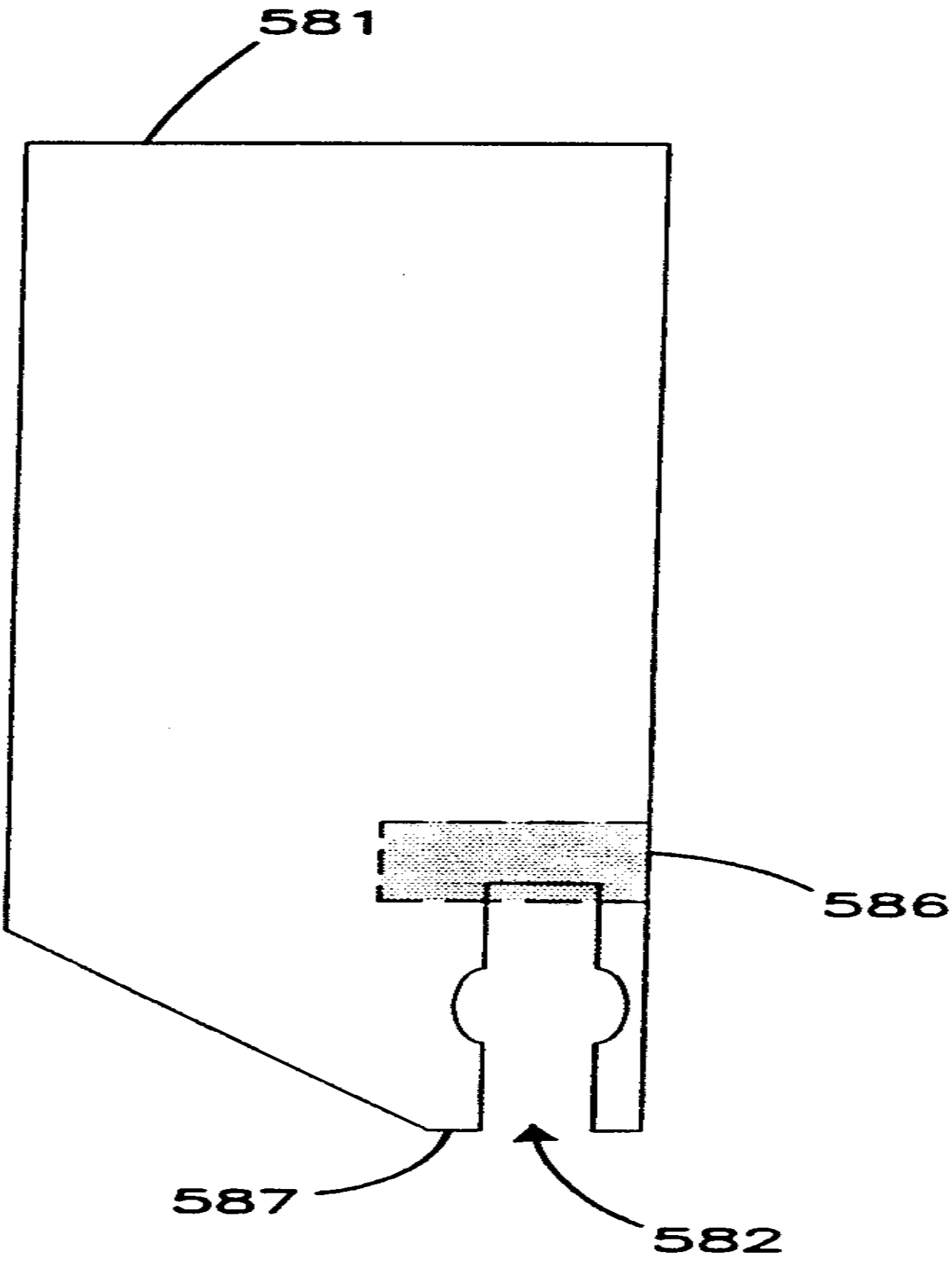
도면 21c



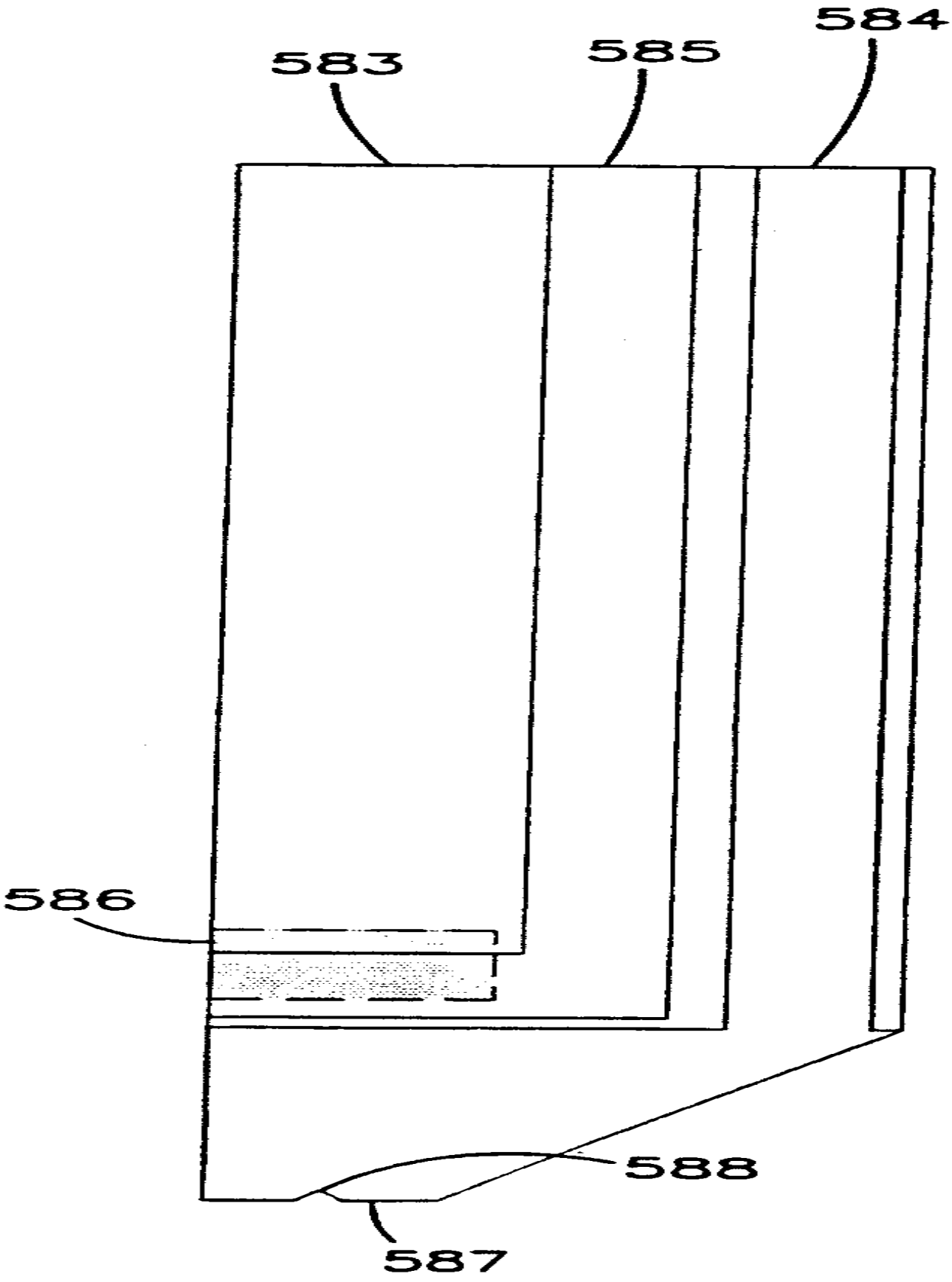
도면 22a



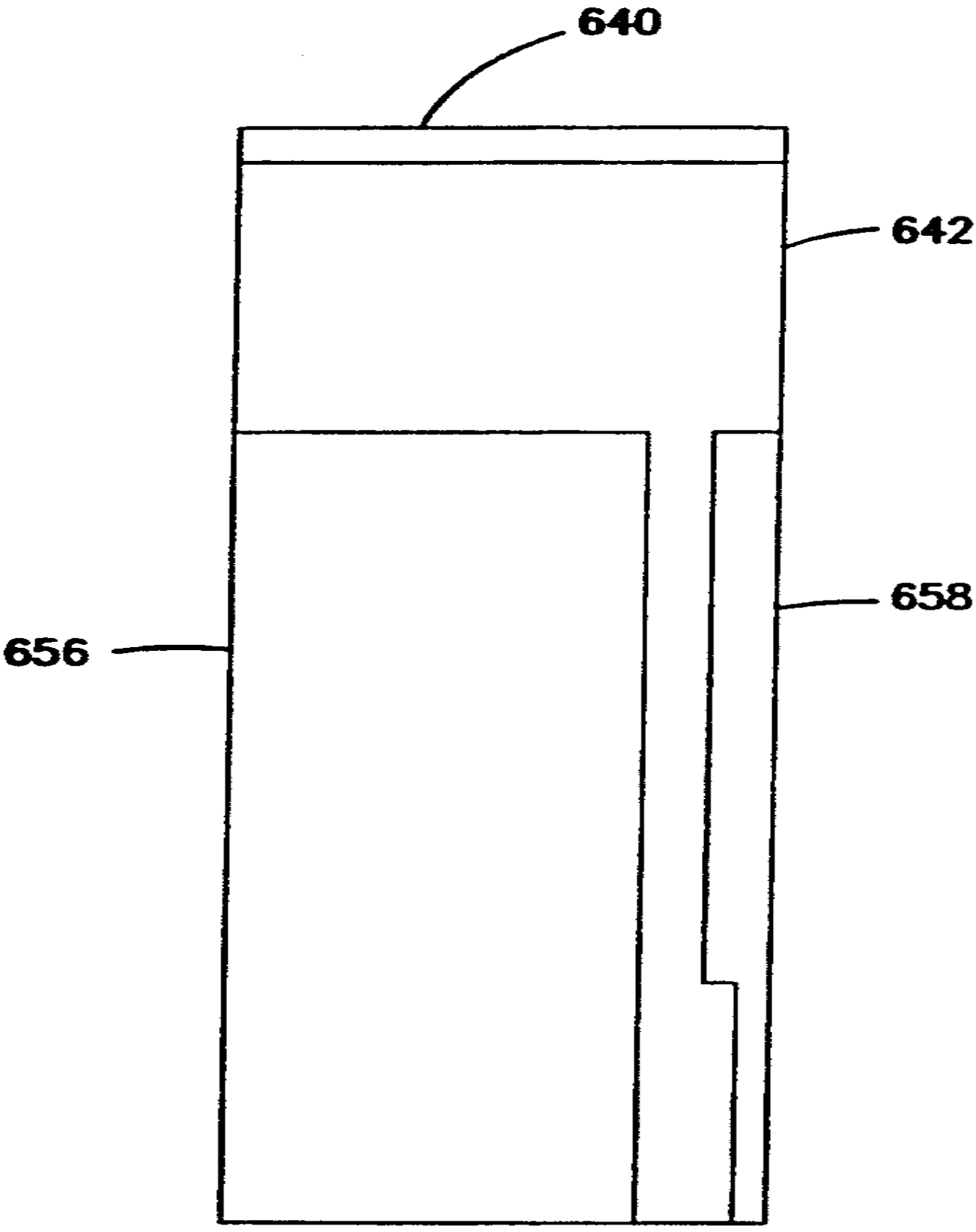
도면 22b



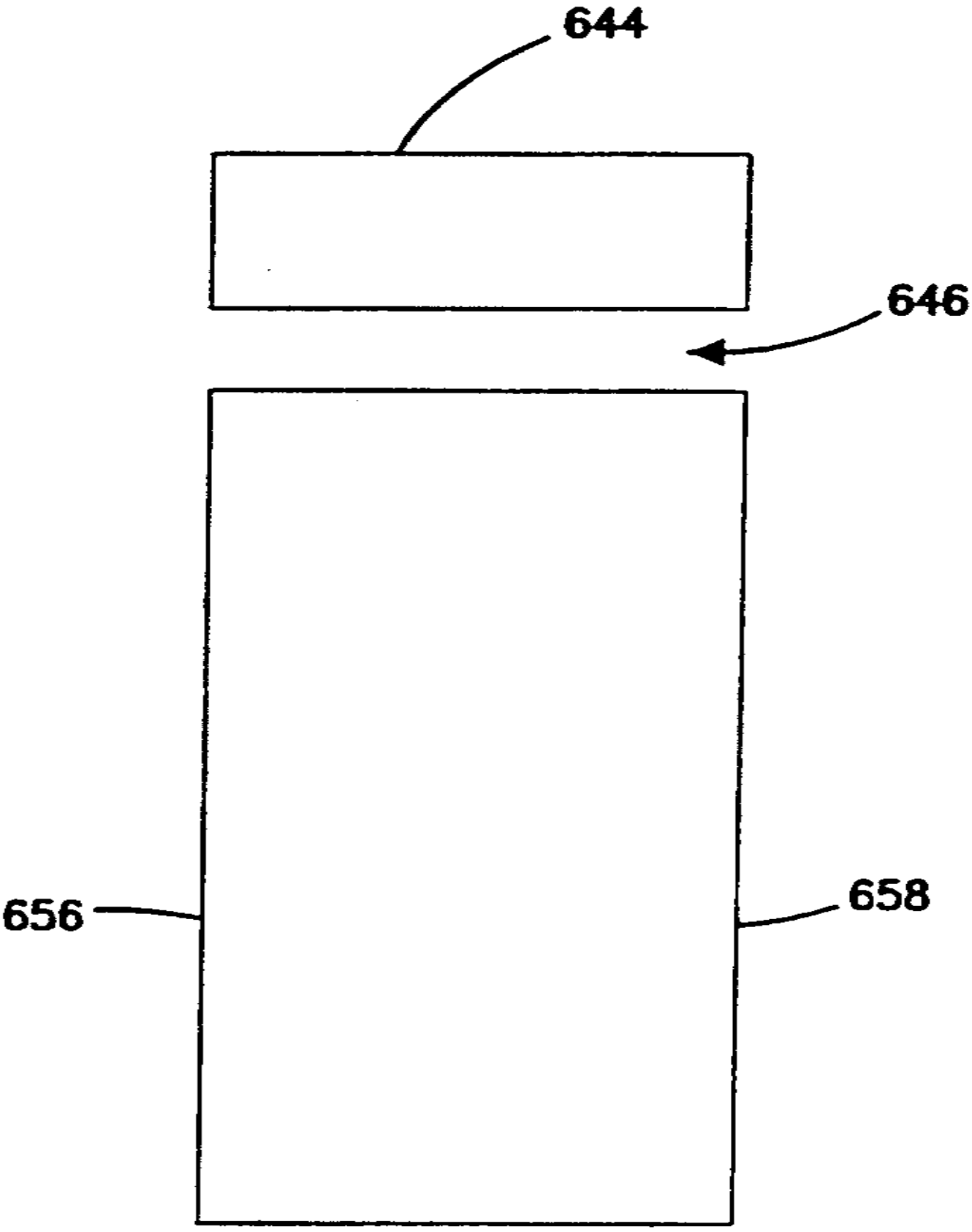
도면 22c



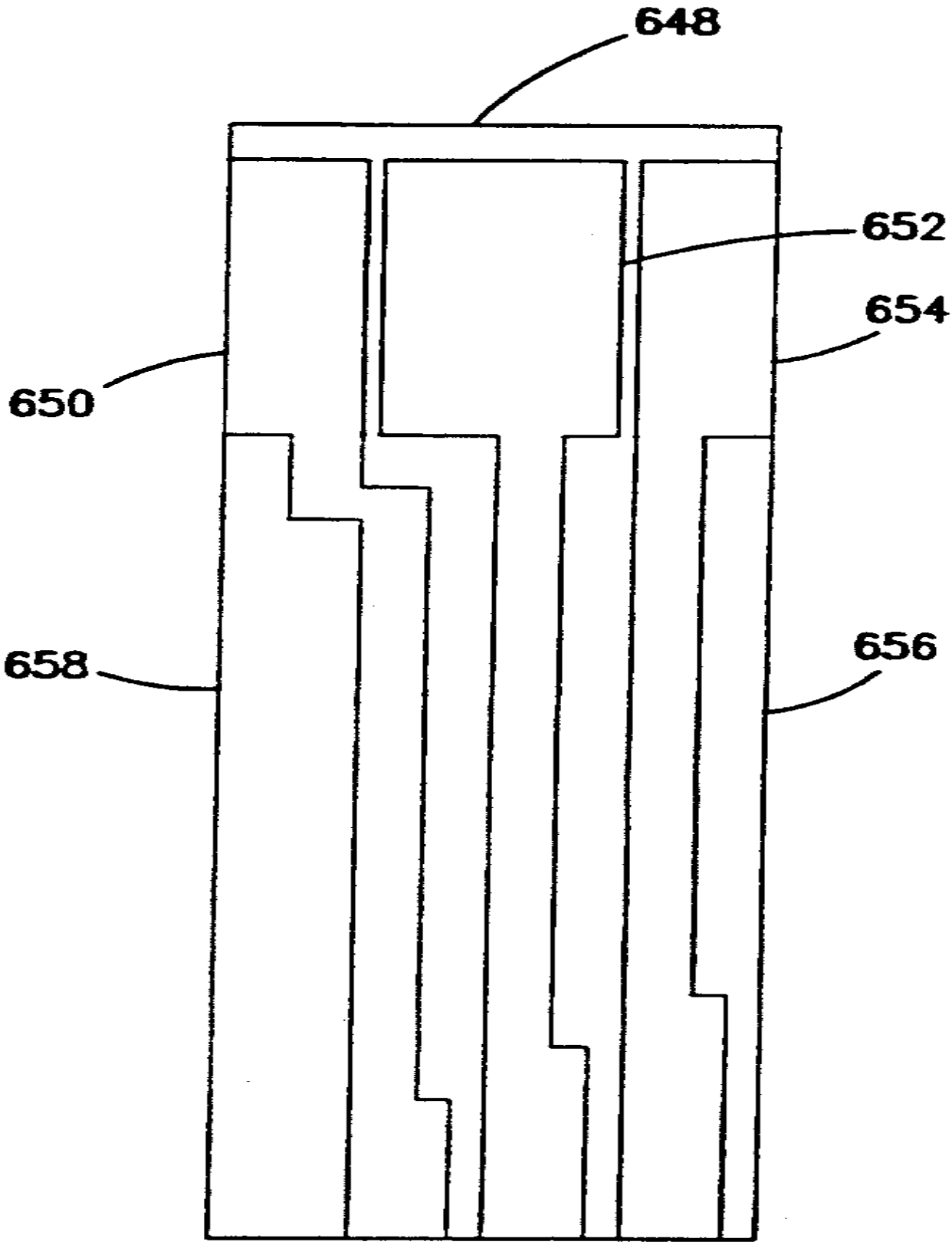
도면 23a



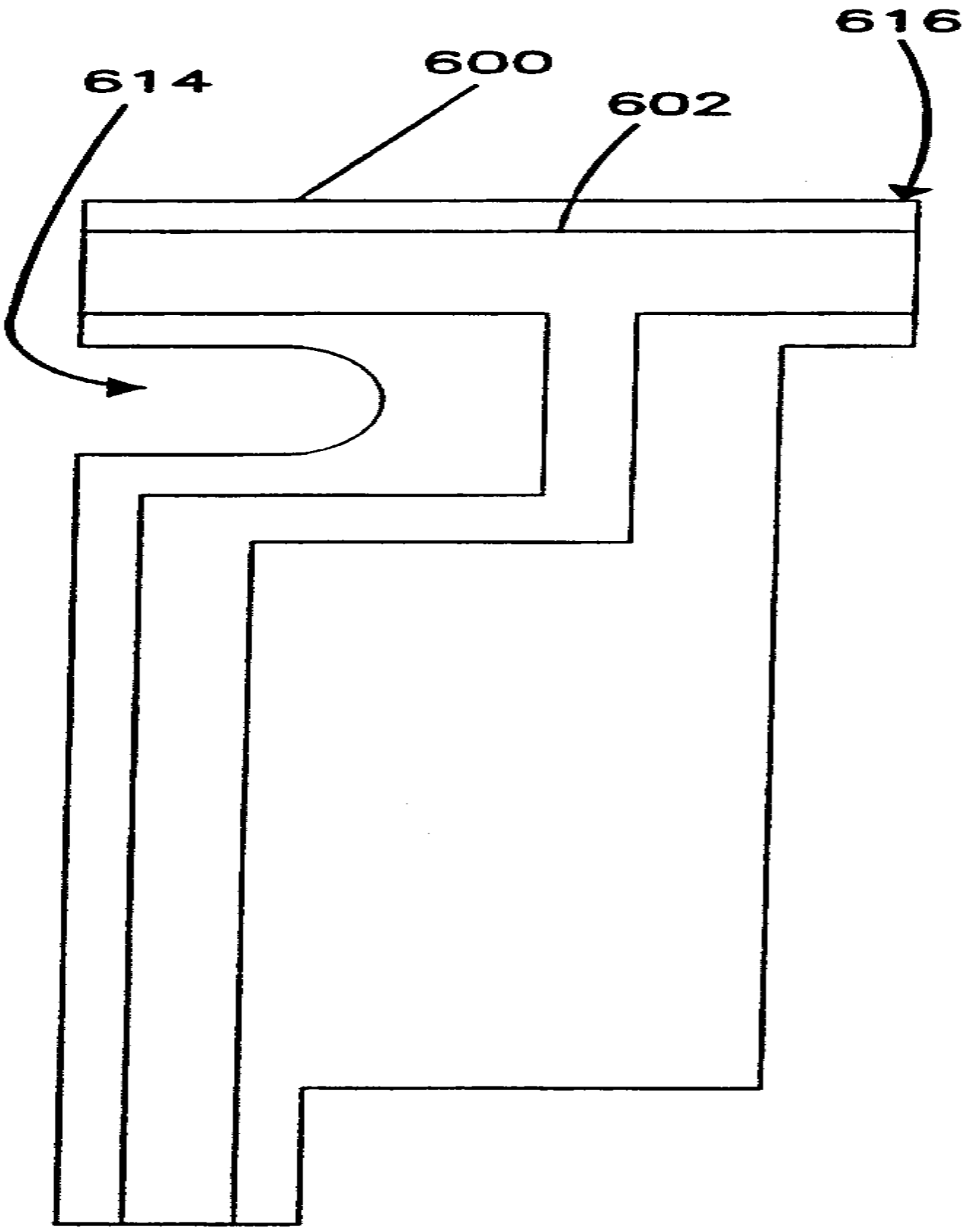
도면 23b



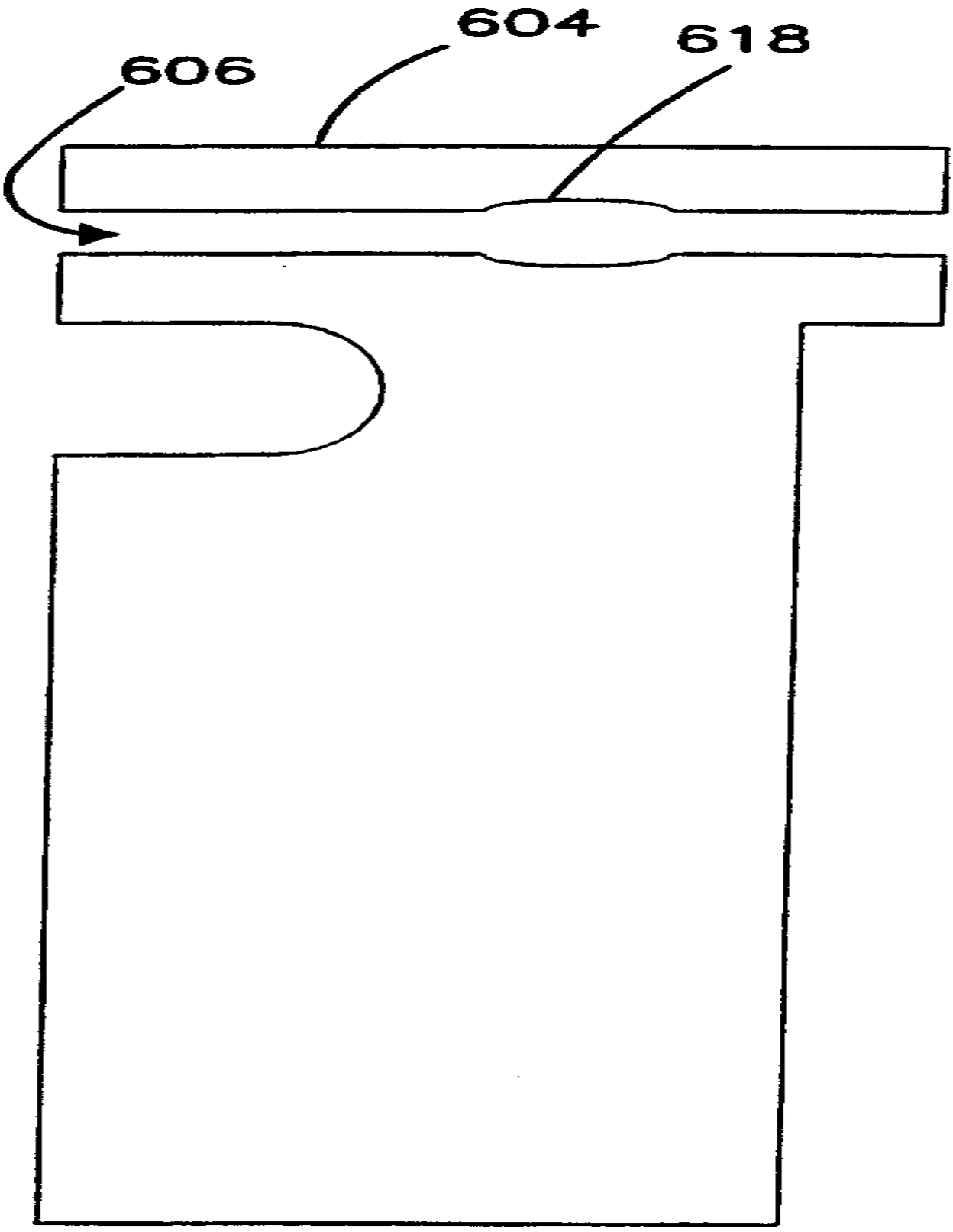
도면 23c



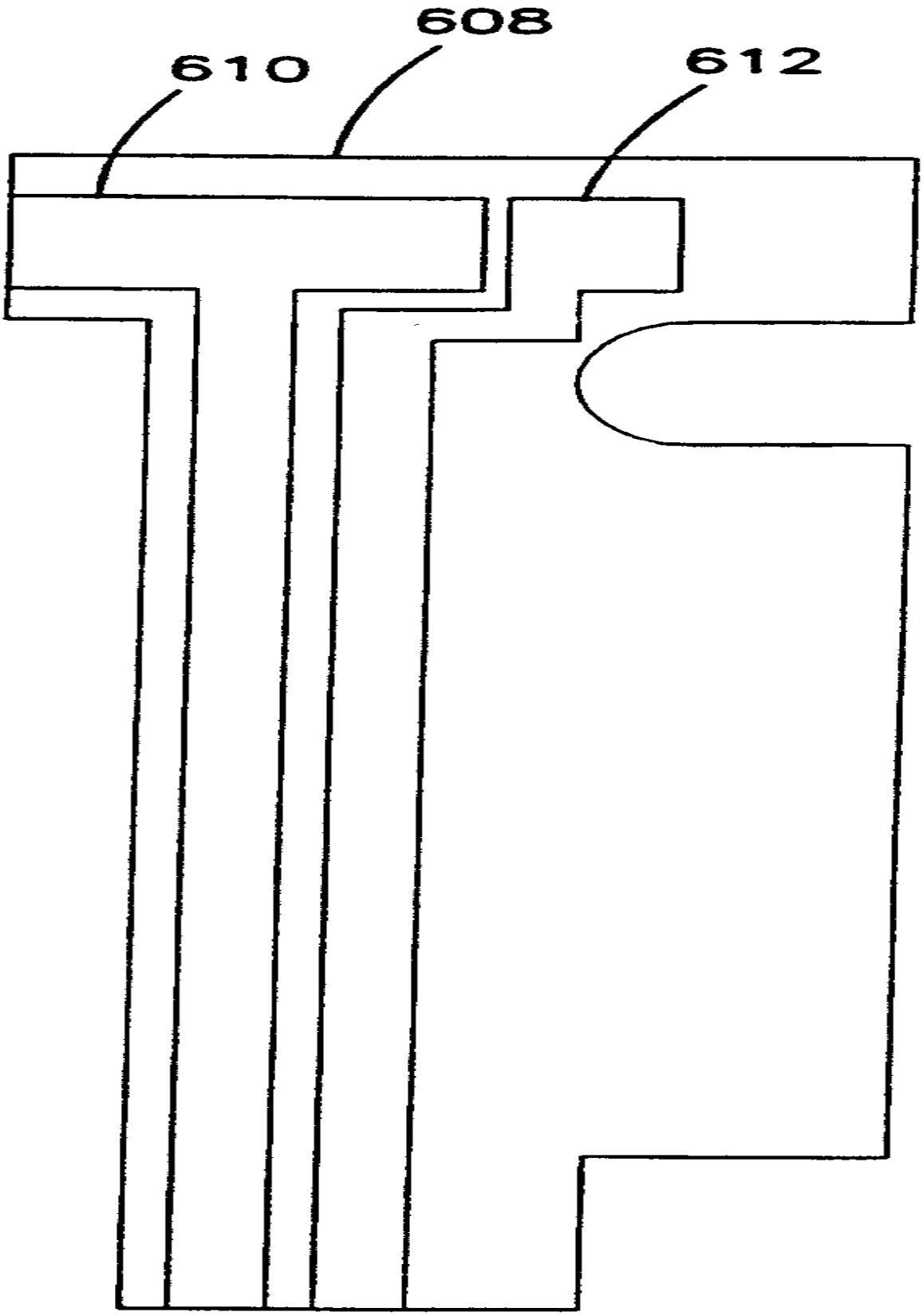
도면 24a



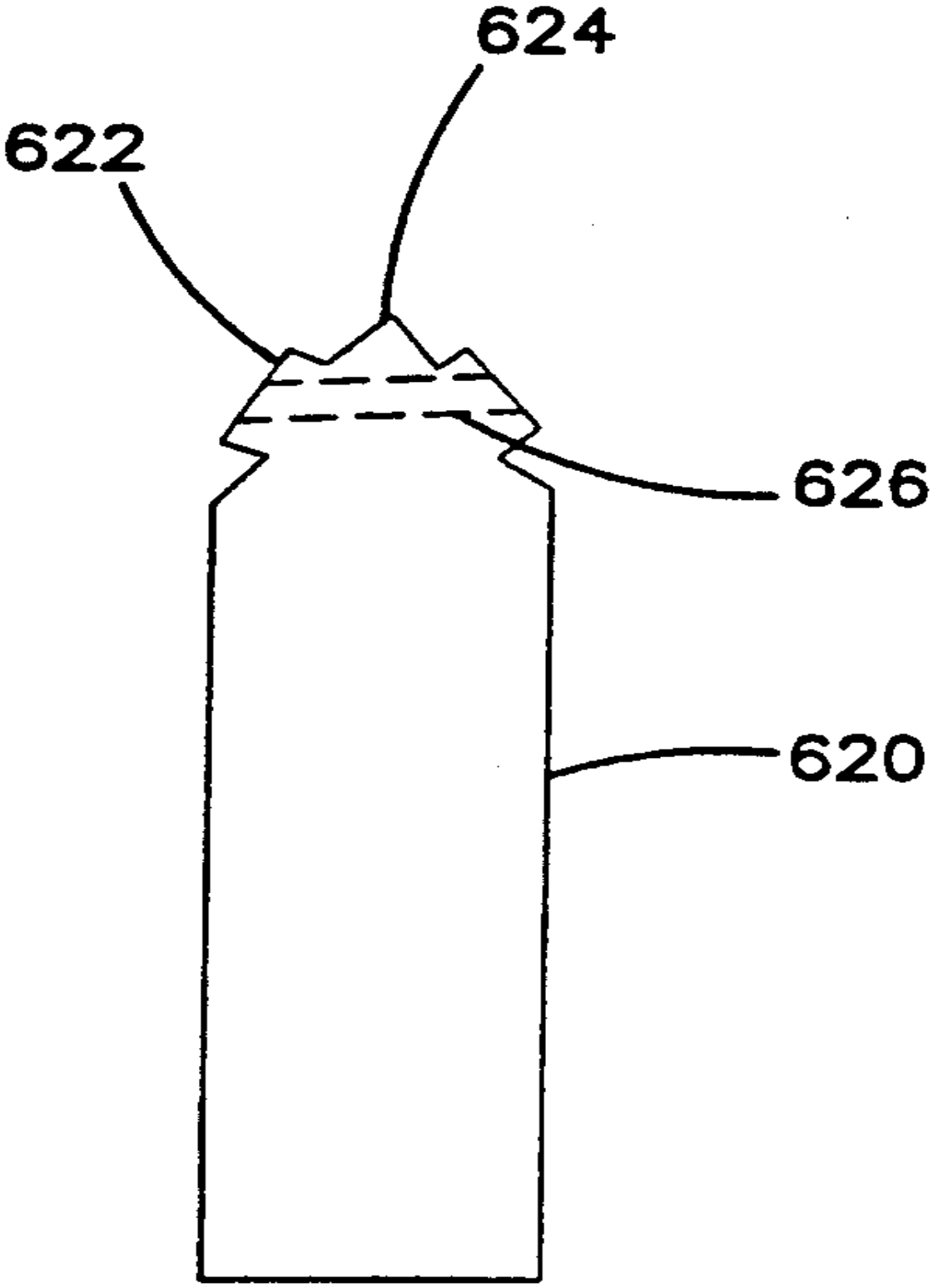
도면 24b



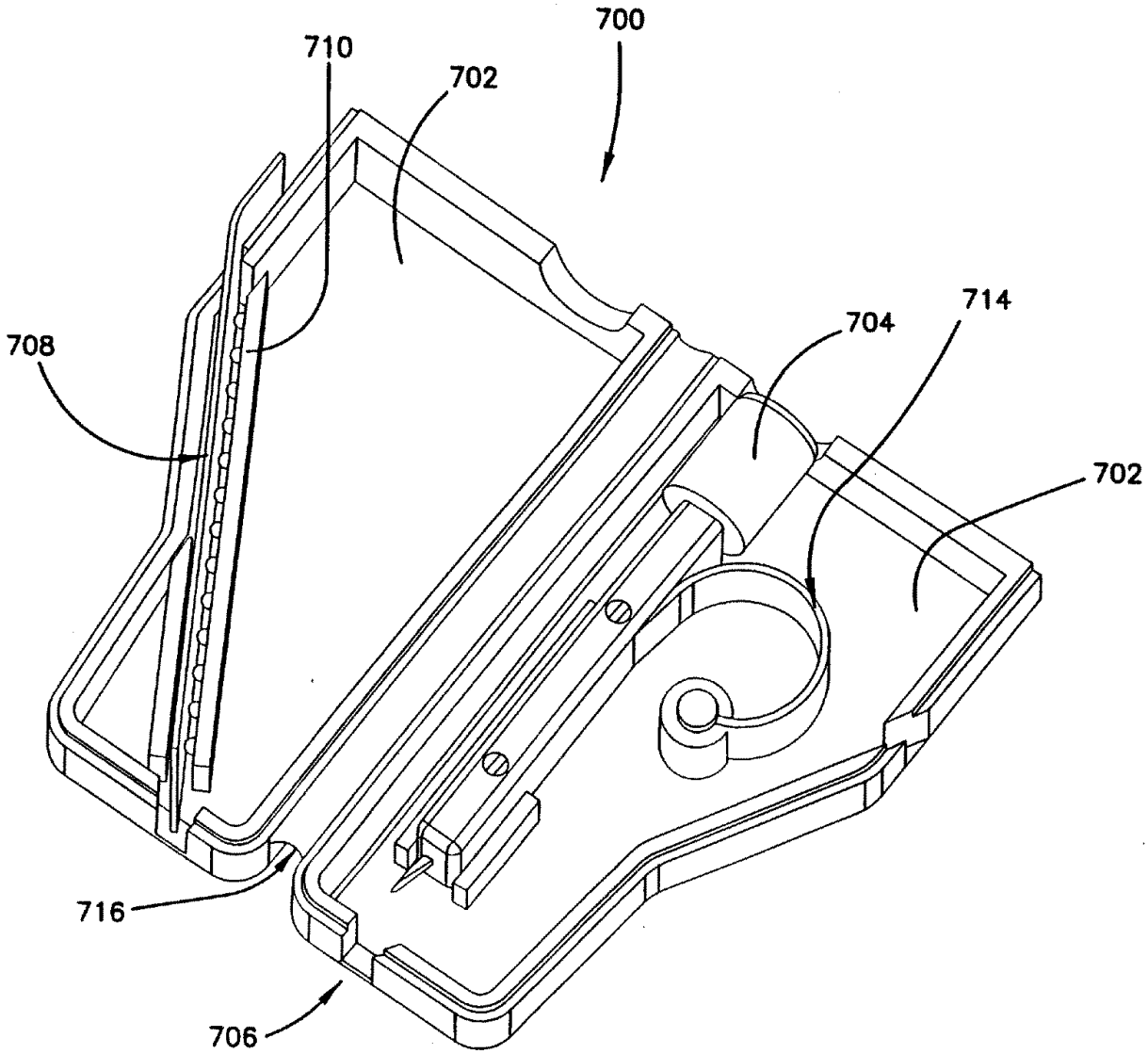
도면 24c



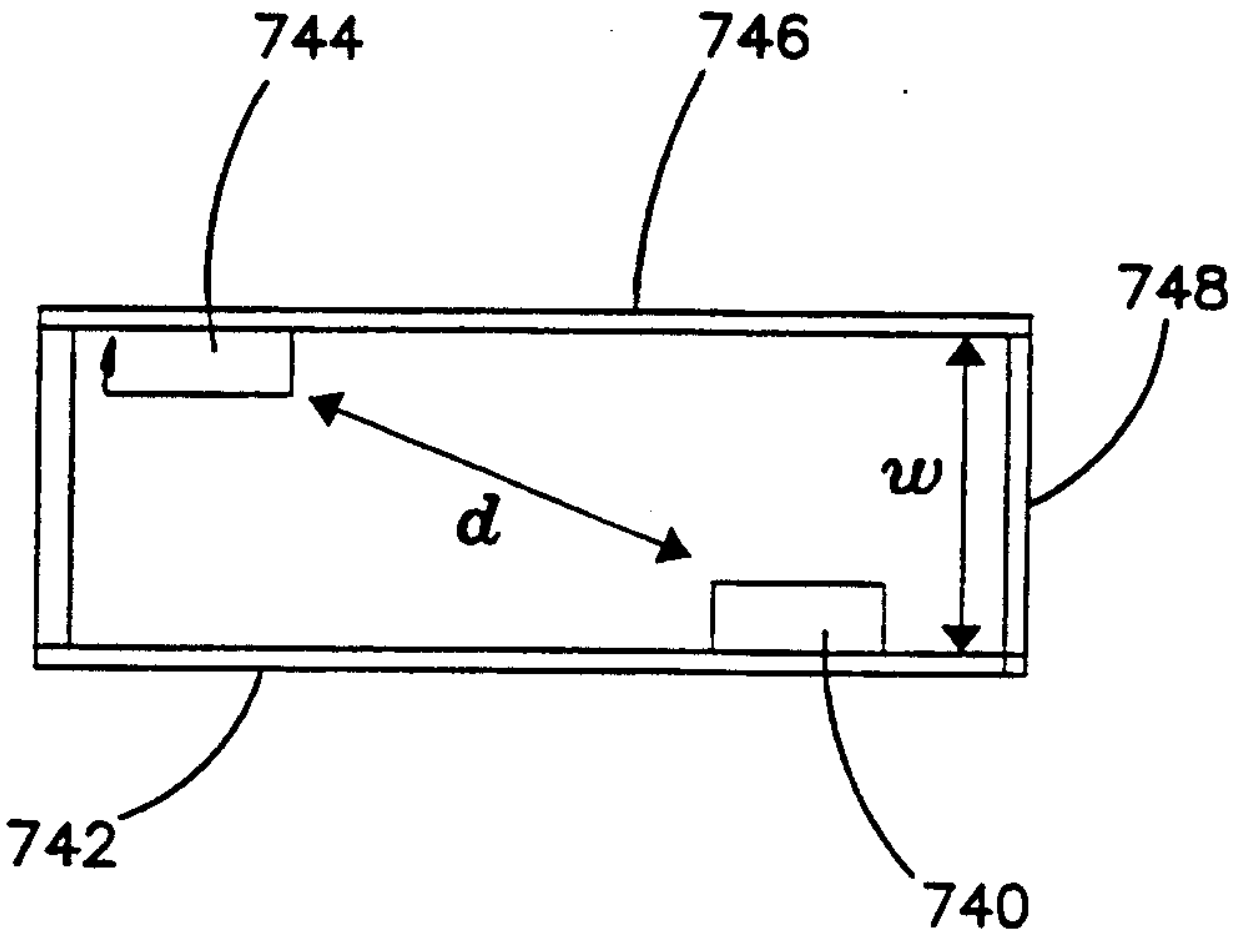
도면 25



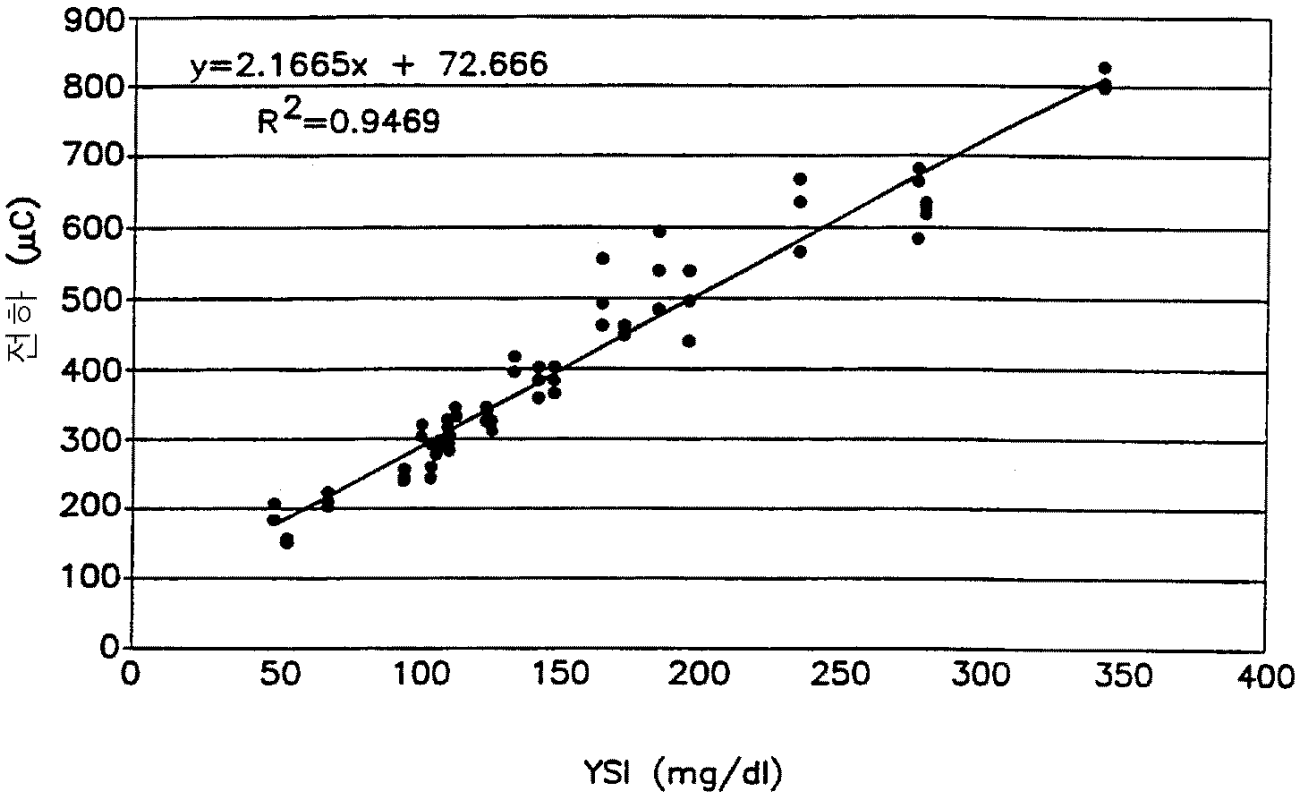
도면 26



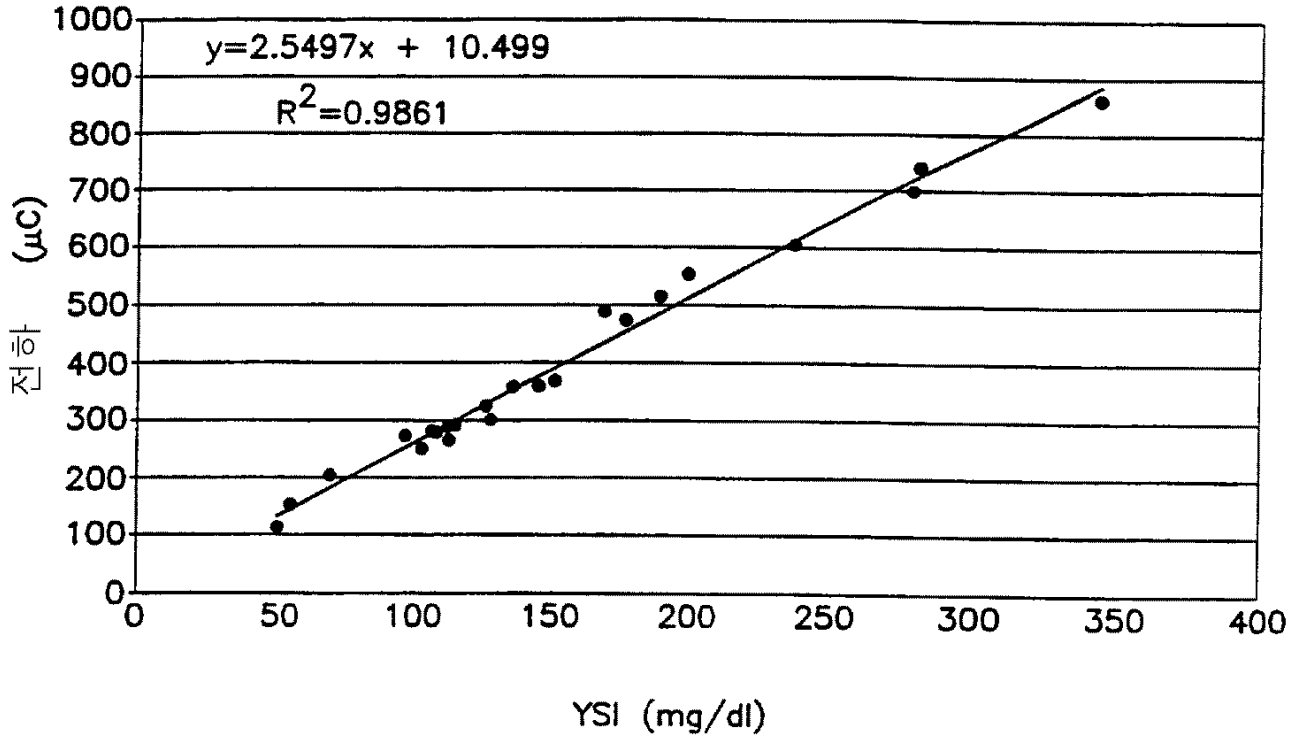
도면 27



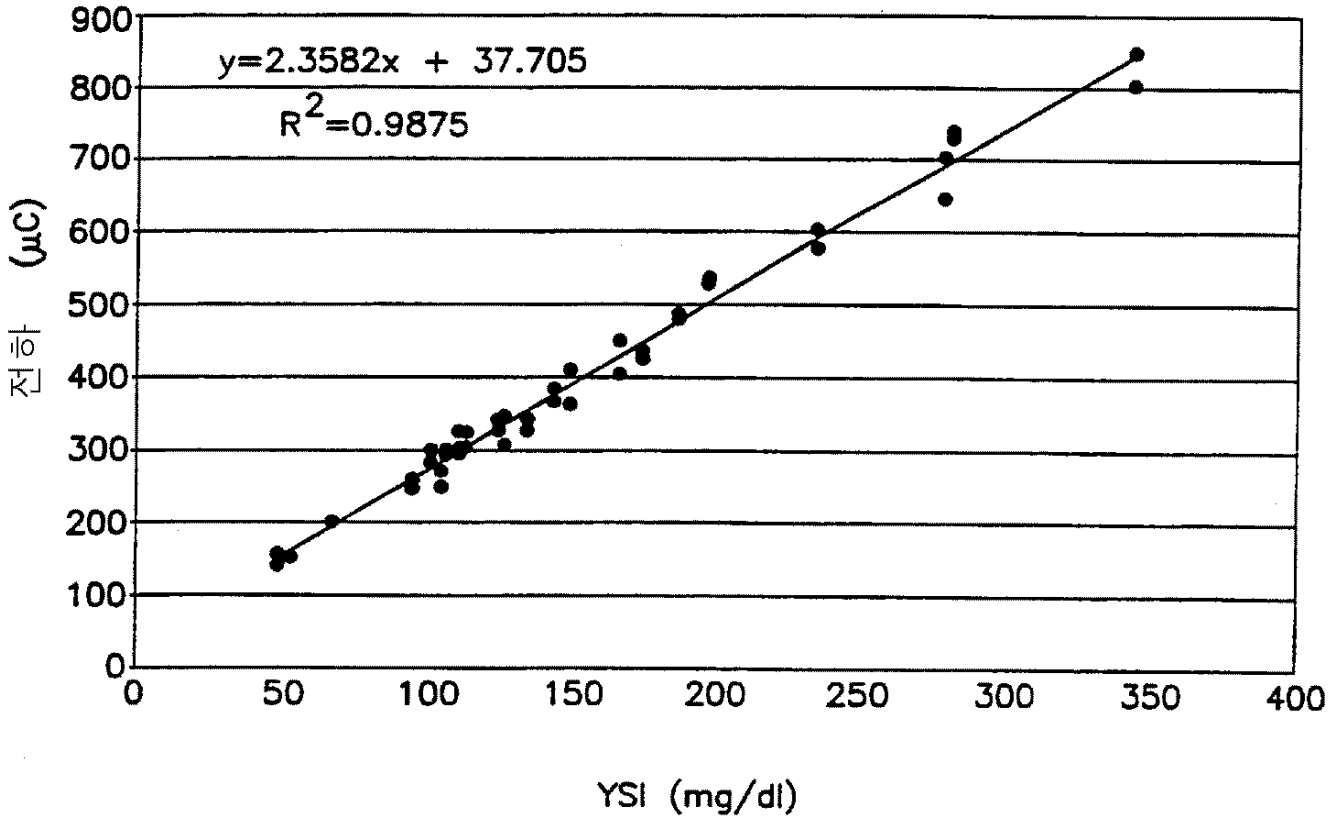
도면 28


y=2.1665x + 72.666
R2=0.9469
전하 (μC)
YSI (mg/dl)
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
0
50
100
150
200
250
300
350
400

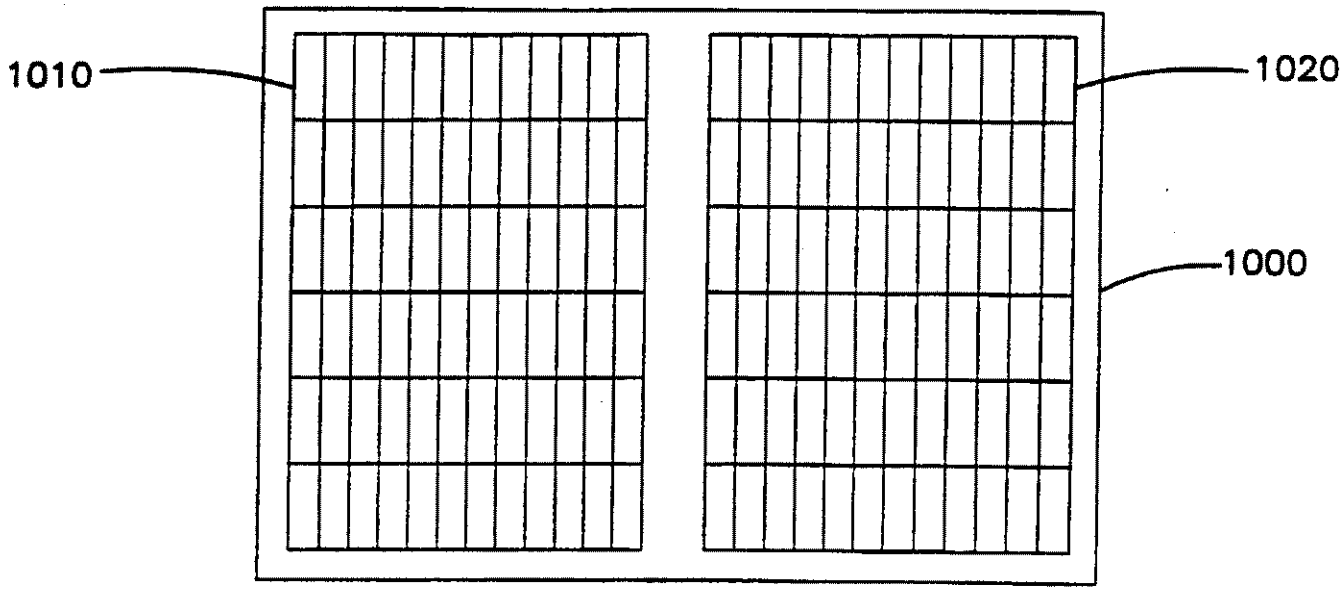
도면 29


y=2.5497x + 10.499
R2=0.9861
전하 (μC)
YSI (mg/dl)
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
0
50
100
150
200
250
300
350
400

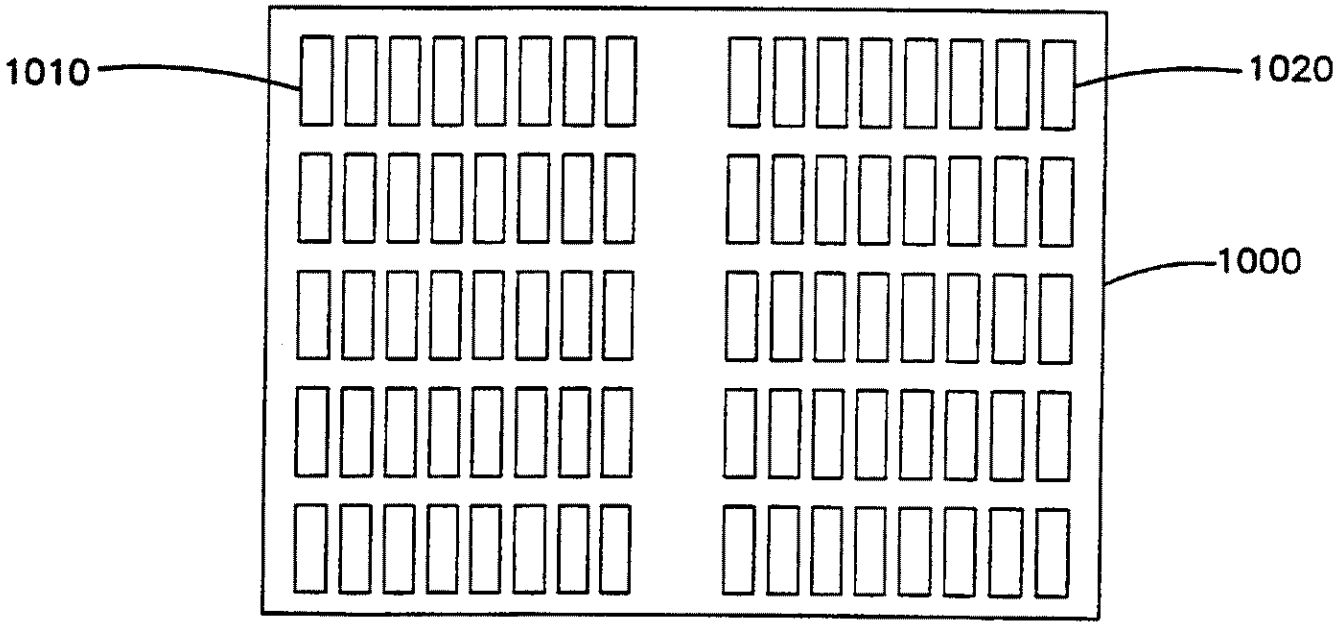
도면 30


y=2.3582x + 37.705
R2=0.9875
전하 (μC)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
50
100
150
200
250
300
350
400
YSI (mg/dl)

도면 31a


1010
1020
1000

도면 31b



도면 32