

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>  
C12Q 1/54

(45) 공고일자 1996년03월25일  
(11) 공고번호 특1996-0004040

(21) 출원번호	특 1991-0701446	(65) 공개번호	특 1992-7001475
(22) 출원일자	1991년 10월 25일	(43) 공개일자	1992년 08월 11일
(86) 국제출원번호	PCT/SE 90/000273	(87) 국제공개번호	WO 90/12890
(86) 국제출원일자	1990년 04월 24일	(87) 국제공개일자	1990년 11월 01일

(30) 우선권 주장 8901514-3 1989년 04월 25일 스웨덴(SE)  
(71) 출원인 미그라타 유케이 리미티드 얀 릴리아, 스벤-에릭 닐손  
영국 에스더블유 1 와이 6 비제이 런던 세인트 제임스 듀크 스트리트 2

(72) 발명자 얀 에베르트 릴리아  
스웨덴 에스-253 68 헬싱보르크 쇠드라 브룬스배겐 63  
스벤-에릭 렌나르트 닐손

(74) 대리인 스웨덴 에스-283 67 헬싱보르크 뉘벨리우스배겐 39  
박장원

**심사관 : 김형준 (책자공보 제4390호)**

**(54) 전체 혈액중의 글루코스 측정법 및 이 방법을 수행하는데 사용되는 큐벳 및 광도계**

**요약**

내용 없음.

**대표도**

**도 1**

**명세서**

[발명의 명칭]

전체 혈액중의 글루코스 측정법 및 이 방법을 수행하는데 사용되는 큐벳 및 광도계

[도면의 간단한 설명]

제 1 도는 파장대 흡수도의 그래프로서 두가지 모두 글루코스 시약에 포함된 색소형성 물질과 헤모글로빈유도체 혼합물에 대한 것임.

제 2 a, 3 a 및 4 a 도는 본 발명 광도계의 세가지 상이한 구체예를 나타내는 것임.

제 2 b, 3b, 및 4b는 각각 제 2 a, 3a 및 4 a 도의 구체예에 해당하는 것으로 각각 별도의 로그 증폭기를 포함한다.

제 5 도는 본 발명 광도계의 광학부의 한 구체예의 절단면을 도시한 것이다.

\* 도면의 주요부분에 대한 부호의 설명

- |               |                |
|---------------|----------------|
| 16 : 인쇄회로기판   | 18 : 마이크로프로세서  |
| 19 : 로그 증폭기   | 20 : A/D 변환기   |
| 22 : 멀티플렉서    | 24 : 전위차계      |
| 26 : LCD 드라이브 | 28 : LCD 디스플레이 |
| 30 : LED 드라이브 | 32 : 정류기       |
| 34 : 배터리 충전회로 | 36 : 큐벳 하우징    |
| 38 : 광방출 다이오드 | 40 : 광센서       |
| 42 : 스위치      | 45 : 비교 분석기    |
| 46 : D/A 변환기  | 52 : 광방출 다이오드  |

- 53 : 개구부
- 54 : 간섭필터
- 55 : 큐벳 홀더
- 56 : 거울
- 58 : 큐벳
- 60 : 케비티
- 64 : 광방출 다이오드
- 70 : D/A 변환기

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 전체 혈액(전혈 : whole blood)중의 글루코스 함량을 정량적으로 측정하는 방법, 이 방법에 사용할 수 있는 1회용 큐벳 및 강도계에 관한 것이다.

전체 혈액중의 글루코스 측정은 당뇨병의 진단 및 제어, 그리고 내분비학 연구를 위해 행해진다. 의식되지 않은 불분명한 경우에도, 전체 혈액의 글루코스 측정은 정당화될 수 있다. 당뇨병은 세계적으로 가장 큰 건강문제로서, 4천만 이상의 사람들이 이 병으로 시달리는 것으로 추정되며 타일 II 당뇨병의 만연이 증가하는 것으로 보인다.

몇가지 글루코스 측정방법이 알려져 있다. 여러 가지 낡은 방법들이 현재 쓰이지 않고 있는데 이는 항암제 개재나 불확실성 때문이다.

혈액중 글루코스, 전체 혈액 그루코스란 혈액중에 존재하는 비-단백질-결합 글루코스(non-protein-bound glucose)를 의미하는 것으로 한다. 글루코스는 세포외의 물과 세포내 물, 예컨대 적혈구내에 유리되어 분포하며, 이때 동일 농도로 분포할 필요는 없다. 이는 전체 혈액중의 글루코스 총 함량이 혈장이나 혈청중의 글루코스 총 함량과 다르다는 것을 의미한다. 예컨대 당뇨병의 경우 진단기준은 대체로 전체 혈액 글루코스에 기초한다. 전체 혈액중의 글루코스 측정과 혈장이나 혈청중의 글루코스 측정의 차이점이 W.T.Caraway : Amer. J. Clin. Path. 37 : 445, 1962에 논의되어 있다. 본래의 적혈구 세포를 제거하는 요즘의 여러가지 글루코스 테스트는 그들의 결과를 혈액 글루코스로서 잘못 언급하고 있으며, 따라서 상이한 레퍼런스 사용으로 인해 의료진단에 혼란을 일으킬 수 있다.

오늘날 대부분의 특별한 글루코스 측정법은 효소나 효소계를 함유하는 시약에 기초한다. 세가지의 상이한 효소계, 즉 글루코스 옥시다제, 헥소키나제 및 글루코스 데히드로게나제(GDH)가 많이 사용된다.

본 발명은 바람직하게는 글루코스 데히드로게나제(GDH)를 함유하는 시약에 대한다. GDH를 이용하는 공지의 측정법이 US 4,120,775 및 US 3,964,974에 기재되어 있다. GDH를 이용하는 이들 종래기술의 측정법은 전통적인 습윤-화학적 방법이다.

그러나, 이 방법들중 어느것도, 희석되지 않음(이하 "비희석"이라 칭함)전체 혈액중의 글루코스 측정에는 적합치 않다. US 3,964,974의 실시예 7에 전체 혈액 글루코스 측정법이 기재되어 있으나 이 방법은 혈액 샘플의 희석 및 단백질 침전이나 별도 용혈에 기초한 것이다.

EP 84112835.8은 비희석 혈액에 대한 전체 혈액 글루코스 측정법을 설명한다. 사용된 화학적 효소 반응은 글루코스 옥시다제에 기초하며, 광학 반사율 측정은 660nm이상의 파장에서 행한다. 헤모글로빈이 옥시다제 반응을 방해한다는 것은 잘 알려져 있다. 또한, 옥시다제 반응은 유리산소에의 접근을 필요로 한다. 그러므로,비희석 혈액중 글루코스 옥시다제계를 이용하여 전체 혈액 글루코스 측정을 수행하기 위해 마이크로큐벳을 사용하는 것은 실제로 여러 문제점을 갖는다.

US 4,088,488로부터 혈액의 헤모글로빈 측정(Hb 측정)에 사용될 수 있는 마이크로큐벳이 이미 알려져 있다. 혈액샘플이 큐벳에 떨어질 때, 적혈구의 세포벽이 용해되어 화학반응이 개시되도록 하며, 그 결단 정확히 정의된 갭 너비(gap width)를 갖는 큐벳을 통해 직접 흡수도를 측정함으로써 Hb 측정을 가능케하도록 이 큐벳을 전처리 시킨다.

US 4,088,448에 따른 글루코스에 대한 Hb 측정방법은 실제로는 쉽사리 이용할 수 없는데 이는 글루코스 함량 결정을 위한 흡수 측정이 헤모글로빈에 의한 흡수에 의해 크게 방해받기 때문이다. 그러므로 헤모글로빈 농도의 다양성은 글루코스 측정을 심각한 정도까지 방해하게 된다.

따라서, 현재 사용되는 방법은 복잡하다. 이 방법들은 흔히 혈액 샘플의 의식을 요구하거나 적혈구의 글루코스 함량을 고려하지 않은채 혈장에 대한 글루코스 측정만을 수행한다.

그러므로, 희석제 전체 혈액중의 총 글루코스 함량을 정량적으로 측정하기 위한 간단하고도 신뢰성 있으며 신속한 방법의 개발이 당뇨병의 진단 및 통제에 큰 도움을 주게 될 것이다.

본 발명의 한가지 목적은 투과 분광법에 의해 비희석 전체 혈액중의 총 글루코스 함량을 정량적으로 측정하는 방법을 제공하는 것이다. 본 발명의 또다른 목적은 이러한 측정을 위한 큐벳 및 광도계를 제공하는 것이다.

일반적으로, 헤모글로빈에 기인하는 상술한 방해문제는 본 발명의 방법에 따라 다음과 같이 해소된다 :

적절한 시약을 사용함으로써, 적혈구 세포벽을 먼저 용해시킨다음 혈액 샘플의 총 글루코스와 시약 사이에 글루코스에 기초하며, 파장같은 그의 흡수범위가 적어도 부분적으로는 헤모글로빈 흡수범위의 파장범위밖인 화학적 화합물을 생성시키는 화학반응을 일으킬 수 있다. 그러므로 적합하게 선택된 파장에서의 흡수도 측정에 의해, 측정결과에 미치는 헤모글로빈의 영향을 완전히 제거할 수 있으며 글루코스 측정을 매우 신속한 달성할 수 있다.

따라서, 본 발명은 샘플중 글루코스와외 화학반응에 의해 샘플내에서 검색가능한 색소농도 변화를 일으키는(이 변화의 크기가 글루코스 함량의 척도로서 결정됨) 시약에 전체 혈액 샘플을 접촉시키는, 전체 혈액내의 글루코스 측정방법을 제공하며, 이 방법은 다음의 단계들로 이루어진다.

즉, 건조한 형태의 시약으로 내부를 전처리한 하나이상의 샘플 수용 캐비티를 갖는 마이크로큐벳에 비희석 샘플을 넣어 이캐비티내에서 화학반응을 일으키고, 시약중에 포함되는 활성성분으로서, 전체 혈액 용혈 물질중의 총 글루코스의 정량적 측정을 위해 샘플의 적혈구에 함유된 글루코스를 노출시키기 위한 한가지 이상의 용혈제 및 화학반응에 참여하고 색소농도 변화가 혈중 헤모글로빈의 흡수범위 밖의 한가지 이상의 파장범위에서 일어나도록 하는 제제를 선택하고, 큐벳내에서 샘플에 대해 직접적으로 상기 파장범위에서 흡수도 측정을 행하는 단계로 이루어진다.

본 발명의 바람직한 구체예는 청구범위 2-7항에 기재되어 있다.

본 발명의 바람직한 구체예에 따른 방법은 적은 값 너비를 갖는 큐벳내, 용혈제, GDH, 디아포라제나 그동족체, NAD나 그 동족체, 세제 및 색소형성 물질을 포함하는 건조시약에 비희석 전체 혈액을 공급한다음, 필터 광도계내에 형성된 색소의 농도를 투과 측정법에 의해 분광광도적으로 측정하는 것으로 된다. 디아포라제 동족체는 페나진 메트로술페이트나 페나진 에트로술페이트형 산화환원 (redox) 특성을 갖는 물질이다. 이들 디아포라제 물질은 대체할 수 있지만 독성 관점에서 볼 때 적합치 못하다.

글루코스 데히드로게나제법은  $\beta$ -글루코스에 특이적이다. 혈액중,  $\alpha$ -글루코스와  $\beta$ -글루코스는 온도-의존성 평형상태로 존재한다. 혈액 샘플의 온도를 저하시키면, 평형은 대량 비율의  $\alpha$ -글루코스 쪽으로 이동한다. 평형의 변화는 서서히 일어난다. 글루코스 데히드로게나제의 반응 속도는 유타로타제 효소에 의해 영향을 받고,  $\alpha$ -글루코스/ $\beta$ -글루코스 평형도 마찬가지로 영향을 받는다. 혈액중 글루코스 측정에 있어서는 샘플내의 내재적인 대사를 방지하기 위해 분석을 기체없이 수행해야 하는 것이 필수적이다. 자연발생적인  $\alpha \rightarrow \beta$  반응이 매우 느리게 일어나고, 체온은  $\alpha/\beta$  평형을 유지하는 데 충분히 일정하므로 총 글루코스내 광도계의 검정을 가능케 하면서도, 체온혈액을 직접 테스트하는 경우 유타로타제를 이롭게 배제할 수 있다. 경비절감에 덧붙여, 본 발명 방법의 장점은 반응시간이 감소되고 분석범위가 확대되었다는 것을 들 수 있다. 단점은 검정 용액과 대조군 용액을 적어도 1시간 동안 적절한 온도로 유지시켜야 한다는 것이다.

본 발명의 바람직한 구체예에 따라, 글루코스 데히드로게나제 타입의 시약 시스템은 적혈구를 파괴하고 헤모글로빈을 유리시키기 위한 용혈제, NADH 반응을 가시화 하기 위한 GDH 디아포라제나 그의 동족체, NAD 또는 그의 동족체, 세제 또는 예컨대 테트라졸륨 화합물들로부터 선택한 색소 형성물질로 이루어지는 것이 바람직하다. 이들 활성물질에 덧붙여, 기타 화학물질도 생산 보조제로서 사용가능하다.

용혈도중 방출된 헤모글로빈에 의한 흡수는 E.J. van Kampen 및 W.G. Zijlstra(1965) : "Determination of hemoglobin and its derivations" in Adv. Clin. Chem. 8, 141-187, p 165, 제 12 도면에서 설명되어 있다. 이 도면에서 645nm를 초과하는 파장에서 흡수 측정을 행하는 경우, 어떠한 헤모글로빈 유도체에 의한 영향도 최소화할 수 있으므로 보여진다.

흡수도 측정시 또다른 유형의 방해작용은 예컨대 세포, 지방, 먼지 또는 기타 오염물로부터 유래된 빛을 산란시키는 입자이다. 생성된 색소나 헤모글로빈중 어느 것도 흡수 방해를 일으키지 않는 다른 파장(보통 주요 측정 파장의 윗 파장)에서 측정함으로써, 이 배경 흡수를 보상할 수 있다.

글루코스 데히드로게나제계의 반응법은 공지이며 US 3,964,974에 설명되어 있다. 이 문헌은 가시광선 범위에서 테트라졸륨 흡수를 조절하는 반응법을 보고하고 있다.

본 발명에 따른 방법의 필수적인 중요한 측면은 화학적 및 흡수 분광학의 두가지 관점에서 모두 글루코스데히드로게나지 반응공정을 종결점까지 사용한다는 것이다. 안정성 및 신뢰성 관점에서, 이러한 반응은 사용자에게 바람직스럽다.

용액내의 화학물질 농도의 정량적 측정을 위한 광학적 방법은 공지이며 잘 기록되어 있다. 흡수 분광학은 광학적 측정기술이다. 흡수 분광학을 지지하는 이론 및 광도계의 디자인이 Skoog 및 West : "Fundamentals of Analytical Chemistry", Section Edition, Chapter 29에 기재되어 있다. 기본적으로, 광도계는 광학부, 기계부 및 전자부의 3부로 구성된다. 광학부는 모노크로마터나 간섭필터가 구비된 광원과 광검색기로 이루어지며 어떤 경우 렌즈 시스템이 추가된다. 기계부는 광학부의 서스펜션과 화학용액과 함께 큐벳 이동수단으로 이루어진다. 전자부는 광원의 조절과 모니터 및 광검색기로부터의 시그널을 측정을 위해 고안된 것이며, 이 시그널들은 측정된 화학농도를 표시하거나 이에 관련된 수치를 사용자가 읽을 수 있도록 변환된다.

이러한 광도계 구조는 US 4,357,105에 개시되어 있다. 이 특허는 혈중 헤모글로빈 측정을 위한 분광기를 설명하며, 이는 분광 측정을 가능한한 파장 540nm에 근접해서 행하도록, 공기 성분으로 최적화시키는 것을 설명한다. 측정 파장 540nm로의 조정은 광방출 다이오드와 디디미움-옥사이드 글래스 타입의 광필터를 사용하여 수행한다. 또다른 구체예에서, 광방출 다이오드를 화학 용액중의 탁도측정을 위한 적외선 범위내에서 사용한다. 이 공지의 광도계는 혈액과 시약사이의 희석도가 1/200 이상인, 통상적인 습윤-화학적 헤모글로빈 측정에 사용되도록 의도된 것이다.

설명된 방법, 즉, 비희석 혈액에 건조 글루코스 시약을 공급하고 마이크로큐벳 상에서 분광학적 2-파장측정을 하는 방법에 따라 전체 혈액중 글루코스 함량을 측정하기 위한 광도계는 간단하고, 믿을 수 있고 염가로 구입할 수 있어야 한다. 큐벳은 건조 글루코스 시약을 함유하므로, 1회용 형태이며, 비희석 혈액으로 충전시킨 후 복잡해지지 말아야 하고 스트레이광의 효과를 최소화하여야 한다. 작동 관점에서, 광도계는 분광적으로 안정하여야 하고 최소한의 통제를 요구하여야 한다.

따라서, 본 발명 방법을 수행하기 위해서 본 발명은 건조 시약으로 전처리된 제 8 항에 따른 1회용 큐벳과 2가지 별개 파장에서 작동하는 제 9 항에 따른 광도계를 추가로 제공하며 후자의 바람직한 구체예는 제 10 항과 11 항에 언급되어 있다.

대수계산능력뿐 아니라 간섭필터가 구비된 광방출 다이오드를 갖는 모니터 및 통제용 마이크로프로세서에 의해 비희석 혈액중의 소량의 전체 혈액 글루코스를 측정하기 위한 본 발명 방법의 광도계는

다루기 쉽고, 기술적으로 안정한 구조를 가지며 전체적으로 실리콘 전자학을 이용하여, 동력 소모가 작고, 신뢰도가 매우 높으며 염가로 제작가능하다. 광학 요소가 부착된 부분을 포함하여 외부 케이싱 및 바닥부 그리고 큐벳 이동수단, 기계부가 사출성형 플라스틱으로 만들어진 경우에는, 전체적인 광도계 제작 경비가 경감될 것이다.

마이크로프로세서가 보조된 광도계는 모든 공정을 제어하고 로그 변환을 포함하여 모든 계산을 수행할 수 있다. 2-파장 측정용 분광기의 광방출 다이오드는 한번에 오직 하나의 광방출 다이오드만 켜지는 방식으로 마이크로세서를 통해 펄스된다. 광방출 다이오드는 잔광(after glow)을 갖지 않는 것이 고도로 유리하다. 광방출 다이오드가 시간경과에 따라 그의 광 강도를 잃는 것을 방지하기 위해, 100% 광에 해당하는 최대 광 강도가 상이한 큐벳 측정사이에서 정기적으로 광도계를 도안한다. 광도계가 큐벳이 측정되어야 하거나 총 강도, 100% 광이 측정되어야 하는 경우, 광도계가 감지할 수 있도록 기계적인 큐벳 이동기능을 고안함으로써, 광도계는 광 강도 보상을 수행하면서 작동할 수 있다. 측정치가 큐벳 값인지 또는 블랭크 치인지, 100% 투과인지를 결정하는 가능성에 의해, 로그 아날로그 증폭기 없이도 그의 마이크로프로세서 설비에 의해 광도계가 작동할 수 있다. 로그 아날로그 증폭기의 부재는 광도계의 신뢰도와 안정성을 증가시키는 한편 동시에 마이크로프로세서 프로그램중의 로르 알고리즘에 의해 임의의 정확성이 달성된다. 마이크로프로세서에 의해 보조된 광도계의 또다른 장점은 상이한 유형의 선형화나 칼리브레이션 곡선의 대수적 곡선 적용을 프로그램에 쉽게 도입할 수 있다는 것이다. 마이크로프로세서 기능에 의해, 상이한 유형의 종결점 루틴을 사용할 수 있다. 다시말해, 프로그램자신이 언제 종결점에 도달했는지를 결정하며, 이는 상이한 농도수준에 대해 상이한 정확도를 가지고 행해지며, 이는 이 경우 매우 바람직하다.

첨부된 도면을 참고로 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다.

제 1 도의 실선(10)은 테트라졸륨염, 3-(4, 5-디메틸티아졸-1-2)-2, 5-디페닐 테트라졸륨 브로마이드(MTT)의 흡수 스펙트럼을 점선(12)는 용혈된 혈액의 흡수 스펙트럼을 가리킨다. 헤모글로빈에 의한 방해할 최소로 받으면서 MTT가 정량적으로 측정될 수 있는 파장 범위가 60nm 이상에 존재하는 것으로 보인다. 또한 배경 간섭 보상은 보다 높은 파장에서 일어날 수 있는 것으로 나타난다. 2-파장에서의 흡수 측정에서, 서로 간섭하지 않을 정도로 확실히 분리된 파장들을 사용하는 것이 필수적이다. 필터 광도계에 사용되는 간섭 필터는 최대 광투과가 얻어지는 파장에 의해 정해진다. 이에 더해, 간섭 필터는 최대치의 50%의 광투과가 얻어지는 경우 정의된 밴드너비의 절반을 갖는다.

제 2a, 3a, 4a 및 2b, 3b, 4b 도는 마이크로프로세서-보조된 분광기의 상이한 구체예들을 나타내준다. 이 도면들중의 버전 "A"는 로그 증폭기가 없는 분광기를 나타낸다. 로그 오퍼레이션은 마이크로프로세서의 프로그램에서 일어난다. 이 도면들 중의 버전 "B"는 별도의 로그 증폭기(19)를 사용한다. 별도의 로그 증폭기(19)의 사용은 마이크로프로세서 내에서의 보다 간단한 프로그램을, 그러나 분광기의 보다 저조한 기술적 특성을 의미한다.

제 2a, 2b 및 3a, 3b 도는 제 3a, 3b 도가 아날로그에서 디지털형으로 패스할 때 디지털-아날로그 변환기(46)를 사용한다는데서 서로 다르다. 이 배치는 경제적이라는 장점을 가지나, 주변 장비를 필요하므로 인정성은 떨어진다.

제 2-4 도의 분광기는 2개의 구조 블록으로 이루어진다 : 즉 하나의 광학 하우징과 하나의 전자 인쇄기판(16)이 그것들이다. 전자 인쇄기판은 표준형이며 여기에 사용된 요소들은 천공된 적층판에 전통적인 방식으로 표면 마운팅 또는 납땀에 의해 붙여져 있다. 어떤 경우, 상이한 마운팅 기술 결합을 가능케하는 전자기판을 사용할 수 있다.

제 2 a 도의 구체예를 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다. 광도계에 포함된 인쇄기판(16)은 대쉬-점선으로 표시되어 있으며 마이크로프로세서(18), 아날로그-디지털 변환기(20), 멀티플렉서(22), 전위차계(24), LCD 드라이브 유닛(26), LCD 디스플레이 유닛(28), 광방출 다이오드회로(30), 주정류기(32), 배터리 충전회로(34) 및 당업자에게 알려진 주변 장치(나타내지 않음)를 포함한다.

인쇄기판(16)은 큐벳 하우징(36), 2개의 광방출 다이오드(38), 광센서(40) 및 스위치(42)로 구성된 기타 광도계 부분에 연결된다.

작동시, 멀티플렉서(22)는 광센서(40), 배터리 충전회로(34) 및 전위차계(24)로부터 시그널을 받아, 통제지시(44)에 따라 이들 시그널중 하나를 마이크로프로세서(18)로부터 디지털 변환기(20)으로 전달한다. 이것은 시그널을 접수된 시그널에 의존하여 상이한 작동을 지휘하는 프로세서(18)에 의해 조작될 수 있다.

프로세서(18)는 공지의 글루코스 함량 시로에 의해 광도계가 계산될 때, 사용자에게 의해 조절가능한 전위차계(24)로부터 시그널을 받는다. 이러한 방식으로, 측정된 트랜스미턴스를 기초로 글루코스 함량이 계산됨으로서 상수가 알고리즘으로 확립된다.

프로세서(18)는 프로세서(18)가 배터리 충전을 변화시키기 위하여 보충할 때 배터리 충전회로(34)로부터 시그널을 받는다.

프로세서(18)는 참고로서 100% 트랜스미턴스를 측정할 때, 그리고 광방출 다이오드(38) 및 광센서(40)사이에서 위치한 일회용 큐벳에서 혈액시료를 통한 트랜스미턴스를 측정할 때의 두가지 모두에서 광센서(40)로부터 디지털화된 측정 시그널을 받는다.

예비 프로그램된 알고리즘을 기초로, 프로세서(18)는 샘플의 글루코스 함량을 계산하며 그 결과를 LCD디스플레이(28) 위에 게시하기 위한 LCD 드라이브 회로(26)로 방출한다.

제 2b, 3a 및 3b 도 그외에 제 4a 및 4b 도에서, 제 2a 도에서 같은 부분은 동일 참고부호로 표시된다.

제 3a도의 변형에 있어서, 제 2a 도에서 아날로그-디지털 변환기가 제외되며 비교기(45), 디지털-아날로그 변환기(46) 및 마이크로프로세서(18)의 조합에 의하여 대체된다. 프로세서(18)는 변환기(4

6)로 아날로그 형태로 전환되고 영점 시그널이 비교기의 출력에서 얻어질 때까지 프로세서(18)에 의해 연속적으로 바뀌는 디지털 값을 방출한다. 달리, 그 기능은 제 2a도와 동일하다.

광 하우징의 기본 디자인이 제 5 도에 나타난다. 그 배치는 서로 90° 에 배치된 두 개의 광방출 다이오드(52, 64)로 구성된다. 유사한 광축을 얻기 위하여, 광방출 다이오드는 고정전에 조정되어야 한다.

회색되지 않은 혈액에서 글루코스에 대한 포토미터는 660nm에서 그의 측정 파장을 가질 수 있다(제 1 도에서 14). 형성된 염료에 대한 흡수 프랭크의 측정 결과처럼, 측정 파장 반의 밴드폭이 잘 정의 되어야 한다. 미회색 혈액에서 글루코스 측정을 위한 바탕 파장은 700nm 이상이다. 바탕 파장의 적합한 선택은 상용광방출 다이오드가 이용가능한 경우, 예 740-940nm이다.

제 5 도에서, 적색 광방출 다이오드(52)로부터 광선(50)이 660nm와 15nm이하의 반 밴드폭에서 최대 광투과율을 가진 간섭필터(54)와 45° 의 각도에 배치된 거울을 어떻게 통과하는지를 보여준다. 광선(50)이 간섭필터(54)와 거울(56)을 통과한 후, 그것은 공동이 미회색 완전 혈액 및 글루코스 시약 또는 글루코스 시약 생성물을 함유한 큐벳(58)의 공동(60)을 통과하며 큐벳 홀더(55)내 개구부(53)을 통하여 광검출기(40)에 도달한다. 광검출기(40)는 소형의 수집 렌즈(62)를 구비할 수 있다.

적외선 방출 다이오드(64)로부터 광선은 45° -경사 거울(56)의 배면에 반사되며, 큐벳(58)의 공동(60)을 통과하며 검출기(40)에 도달한다. 적외선 바탕 파장은 제 2 광방출 다이오드(64)로서 평면 흡수 수준( 예 제 1 도에서 15)으로 측정되며, 적외선 방출 다이오드(64)의 반 밴드폭은 중요하지 않다.

큐벳 이송장치(55), 예를들어 캐리지 조립체가 공정 배치된 센서에 의하여 감지될 수 있는 요소를 구비하고 있다면, 마이크로프로세서(18)는 큐벳(58)이 처한 위치에 대한 정보(43)를 쉽게 제공할 수 있다. 캐리지(55)가 큐벳 콘베어로서 사용된다면, 그것은 두 개의 고정된 자기 리이드 계전기에 의하여 감지된 자기를 가질 수 있다. 캐리지가 큐벳(58)을 도입하기 위한 추출 위치에 존재한다면, 최대 광, 100% 광이 측정된다.

측정파장 및 바탕 측정파장 두가지 모두를 위하여 최대광을 측정한다. 측정값, 측정 위치에서 큐벳 및 최대광 사이에 퍼센트로 계수를 연속 계산함으로써, 광선(52, 64)에서 현상을 익히기 위한 양호한 보상이 트랜스미터스 측정으로 얻어진다. 투과율 값에 대한 대수적 작동이 마이크로프로세서(18), 또는 흡수도 측정을 수용하기 위한 분리회로(참조 버전 "B")에서 실행된다.

광 검출기(40)의 전류는 인쇄회로기판(16) 위 시그널의 용이한 처리가 되도록 전류를 전압으로 변환시키는 작동 증폭기에 도달한다. 마이크로프로세서(18)는 또한 검출기(40)로부터 암전류가 낮은지 검증하여 사용된 계산식으로 이와 같은 사실을 설명함으로써 암전류의 영향을 보상한다.

제 2-4 도에서, 단지 한 개의 이동가능한 파트, 일반적으로 전위차계(24)가 존재한다. 전위차계(24)는 단지 사용자가 인쇄회로기판(16)에서 작동할 수 있는 요소이다. 전위차계(24)는 공지의 글루코스 함량의 혈액에 대한 광도계를 계산하는데 사용된다. 최대 안정도를 성취하기 위하여, 광도계의 다른 요소가 잔류하는 것이 바람직하다.

경제적 이유로, 마이크로프로세서는 한 개의 칩 프로세서이다. 에너지를 절약하기 위하여, 디지털 디스플레이가 LCD형이며 광도계가 주 트랜스포머 또는 배터리로부터 에너지를 제공한다.

제 4a 도는 본 발명의 또다른 유형을 보여준다. 이와 같은 버전은 준비하는데 용이하고 증가된 안정성을 가진 광도계를 제공하기 위한 마이크로프로세서(18)의 프로그래밍 가능성을 이용한다. 이와 같은 사실은 프로그래밍에 의하여 측정 시그널로 피드백되는 디지털-아날로그 변환기(70)를 통하여 두 개의 광방출 다이오드(38)로 전류의 공급이 조절된다는 점에서 성취된다. 그후 정상 수준에서 블랭크 값, 100% 투과를 유지하는 것이 측정에 의하여 가능하다. 이와 같은 정상 수준은 디지털-아날로그 변환에서 분해(비트수)에 의하여 전자적으로 측정된다.

[실시에]

상기 언급된 US 4,088,448호에 기재된 형태의 마이크로큐벳(58)을 완전 혈액에서 총 글루코스의 정량 측정용 건조시약으로서 동결건조에 의하여 제공하였다. 제 1 단계에서 수용성 시약 조성물을 생성함으로써 마이크로큐벳을 건조시약으로 채웠다. 수용성 글루코스 시약 조성물은 다음과 같이 구성되었다:

GDH, 글루코스 데히드로게나제	100units
디아포라제	20units
NAD	20 μ mol
MTT	30 μ mol
화이트 사포닌	20mg
이온교환수	1ml

단계 2에서 마이크로큐벳을 약 5μl의 시약 조성물 용액으로 충전하였고, 또한 분석 캐비티로서 작용하는 샘플-흡수캐비티(60)내 벽간 거리는 약 0.14mm이었다.

단계 3에서 마이크로큐벳을 동결건조시약을 함유하였다. 단계 3 후, 마이크로큐벳은 캐비티(60)내에 균일하게 분배된 비회색 혈액내 글루코스 측정용 건조시약을 함유하였다. 그후 마이크로큐벳을 분석하는데 준비하였다.

상기에 기재되고 Intel 8751형의 마이크로프로세서(18)가 구비된 형태의 광도계에 전체 혈액내 글루

코스를 측정하기 위한 적합한 프로그램을 제공하였다. 종결점에서 광도계를 차례로 프로그램하여 mmol/l로

표시된 전체 혈액내 글루코스에 대한 결과를 제공하였다. 광방출 다이오드(38)를 매 15초마다 펄스 시켰고, 광방출 다이오드가 5ms 동안 빛을 내었다.

다음 표는 서로 다른 글루코스수준을 성취하기 위하여 글루코스로서 “스파이크” 된 완전 혈액으로 부터 얻어진 결과를 나타낸다. 이용된 기준방법은 Marck, Gluc-DH-방법, 형태 13886, 13887로부터 글루코스 데히드로게나제 시험 시스템이었다. 기준방법에서 Gluc-DH-방법을 동반하는 패킹사양에 따라 UV 범위, 즉 약 340nm에서 분광광도 측정을 수행하였다. 참고방법은 습식-케미칼 형태의 분석방법이다.

“스파이크” 된 혈액샘플의 글루코스 함량을 기준 방법에 의하여 삼중으로 측정하였다. 각 글루코스 수준에서 예비처리된 마이크로큐벳 10개를 비희석 혈액으로 채웠고 측정 파장 660nm 및 배경 파장 880nm에서 본발명에 따라 분석하였다. 얻어진 결과를 다음 표에 제시한다.

본 발명에 따른 방법

수준 mmol/l	CV%	종결점까지 시간(s)
3.8	3.3	53
6.1	2.5	71
8.6	2.4	77
13.0	2.0	99
17.7	1.5	119
21.8	1.5	145

CV=가변계수

**(57) 청구의 범위**

**청구항 1**

건조한 형태의 시약으로 내부를 전처리한, 하나 이상의 샘플 수용 캐비티 갖는 마이크로큐벳에 희석되지 않은 샘플을 넣어 상기 캐비티 내에서 화학반응을 일으키고; 시약중에 포함되는 활성성분으로, 전체혈액 용혈물중의 총 글루코스의 정량적으로 측정하기 위해 샘플의 적혈구에 함유된 글루코스를 노출시키기 위한 한가지 이상의 용혈제 및 상기 화학반응에 참여하고 색소농도 변화가 최소한 혈중 헤모글로빈의 흡수범위 밖의 파장범위에서 일어나도록 하는 제제를 선택하고, 큐벳 내에서 샘플에 대해 직접적으로 상기 파장범위에서 흡수도를 측정하는 단계로 이루어짐을 특징으로 하는, 샘플내에서 글루코스와의 화학반응에 의해, 글루코스 함량의 척도로 결정되는 검색가능한 색소농도 변화를 일으키는 시약과 전체 혈액 샘플을 접촉시키는 것으로 이루어지는, 글루코스 데히드로게나제법에 의해 전체 혈액중 글루코스 함량을 측정하는 방법.

**청구항 2**

제 1 항에 있어서, 시약내에 포함되는 활성성분으로 디아포라제(diaphorase)도 선택되는 것이 특징인 방법.

**청구항 3**

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서, 시약내에 포함되는 활성 성분으로 뮤타로타제(mutarotase)도 선택되는 것이 특징인 방법.

**청구항 4**

제 1 항에 있어서, 상기 색소농도 변화가 일어나는 상기 파장범위에서 상기 흡수도 측정을 하는데 더하여, 배경간섭을 보상하기 위해 상기 파장보다 높은 파장범위에서 제 2 의 흡수도 측정을 수행하는 것이 특징인 방법.

**청구항 5**

제 5 항에 있어서, 상기 색도농도 변화가 일어나는 제 1 파장 범위가 650nm를 초과하고, 상기 보상 측정을 행하는 제 2 파장 범위가 700nm를 초과하는 것이 특징인 방법.

**청구항 6**

제 1 항에 있어서, 상기 화학반응이 종결정 반응이고, 상기 흡수도 측정은 상기 색소농도 변화가 실제로 종결될 때만 수행되는 것이 특징인 방법.

**청구항 7**

큐벳(58)이 건조 형태의 시약으로 내부가 전처리된 하나 이상의 샘플 수용 캐비티(60)를 갖고 샘플이 희석되지 않은 형태로 상기 캐비티에 도입된 후 이 캐비티에서 화학반응이 일어나도록 되며 ; 큐

벧의시 약에 포함되는 활성 성분에는 총 글루코스 측정을 위해 샘플의 혈액샘플에 함유된 그루코스를 노출시키기 위한 한가지 이상의 용혈제와, 화학반응에 참여하고 색소농도 변화가 최소한 혈중 헤모글로빈의 흡수범위 밖의 파장범위에서 일어나도록 하는 제제가 포함되며 ; 상기 파장범위에서 큐벳의 캐비티내의 샘플에 대한 직접적인 흡수도 측정이 가능하도록 큐벳이 적어도 부분적으로 투명함을 특징으로 하는, 샘플 내에서 글루코스와의 화학반응에 의해, 글루코스 함량의 척도로 결정되는 검색가능한 색소농도 변화를 일으키는 시약과 전체 혈액 샘플을 접촉시켜 전체 혈액중 그루코스 농도를 측정하는데 사용되는 1회용 큐벳(58).

**청구항 8**

건조 형태의 시약으로 전처리되고 샘플이 희석되지 않은 형태로 큐벳에 도입된 후 이 큐벳에서 화학반응이 일어나도록 의도된 적어도 부분적으로 투명한 1회용 마이크로큐벳(58)과 결합되어 사용되도록 맞춰 지고, 큐벳 내의 샘플에 대한 직접적인 흡수도 측정을 수행하기 위해 색소농도 변화가 일어나는 파장범위의 광파장을 갖는 제 1 광방출 다이오드(52), 상기 파장범위로부터 떨어진 다른 광파장을 갖는 제 2 광방출 다이오드(64), 측정중 제 1 및 제 2 광방출 다이오드로부터 번갈아가면서 큐벳을 통해 전달된 광을 수용하는 광검색기(40), 상기 광검색기(40)에 의해 측정된 광량에 기초하여 상기 제 1 광방출 다이오드(52)의 광파장에서의 투과율과 제 2 광방출 다이오드(64)의 광파장에서의 투과율과의 차이로부터 샘플의 글루코스 함량을 산출해 내는 전자 평가수단(18, 20, 22, 24 ; 46) 및 상기 평가수단에 의해 산출된 글루코스 함량을 표시하기 위한 디스플레이 수단(26, 28)으로 구성됨을 특징으로 하는, 샘플 내에서 글루코스와의 화학반응에 의해, 글루코스 함량의 척도로 결정되는 검색가능한 색소농도 변화를 일으키는 시약과 전체 혈액 샘플을 접촉시켜 전체 혈액중 글루코스 농도를 측정하는데 사용하기 위한 광도계.

**청구항 9**

제 9 항에 있어서, 상기 제 1 광방출 다이오드(52)의 광파장이 650nm를 초과하고 제 2 광방출 다이오드(64)의 광파장이 700nm를 초과하는 것이 특징인 광도계.

**청구항 10**

제 9 항 또는 제 10 항에 있어서, 상기 광방출 다이오드들중 적어도 하나(58)로부터의 광을 모노크로마틱 필터(54)를 통해 통과하도록 하는 것이 특징인 광도계.

**청구항 11**

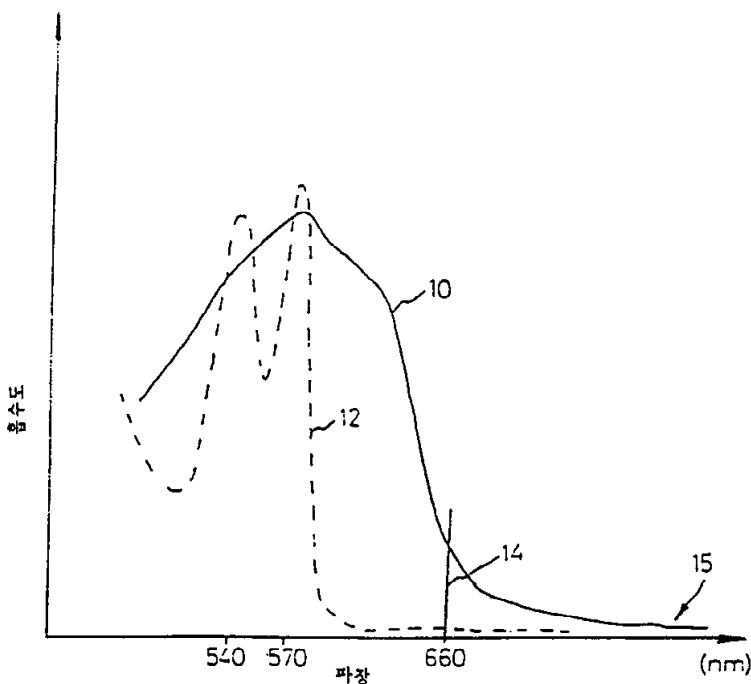
제 6 항에 있어서, 상기 보상 측정을 행하는 제 2 파장 범위가 740~940nm인 것이 특징인 방법.

**청구항 12**

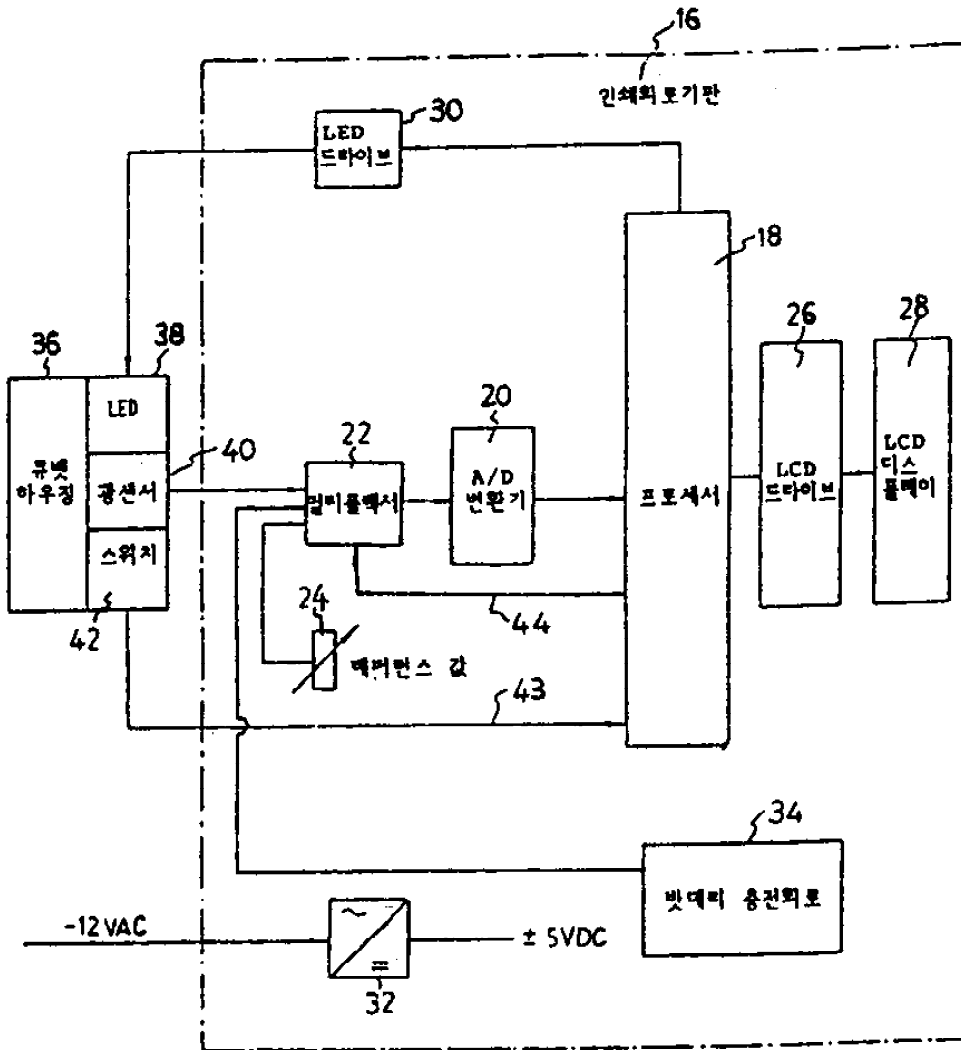
제 10 항에 있어서, 상기 제 2 광방출 다이오드(64)의 광파장이 740~940nm인 것이 특징인 방법.

**도면**

도면1



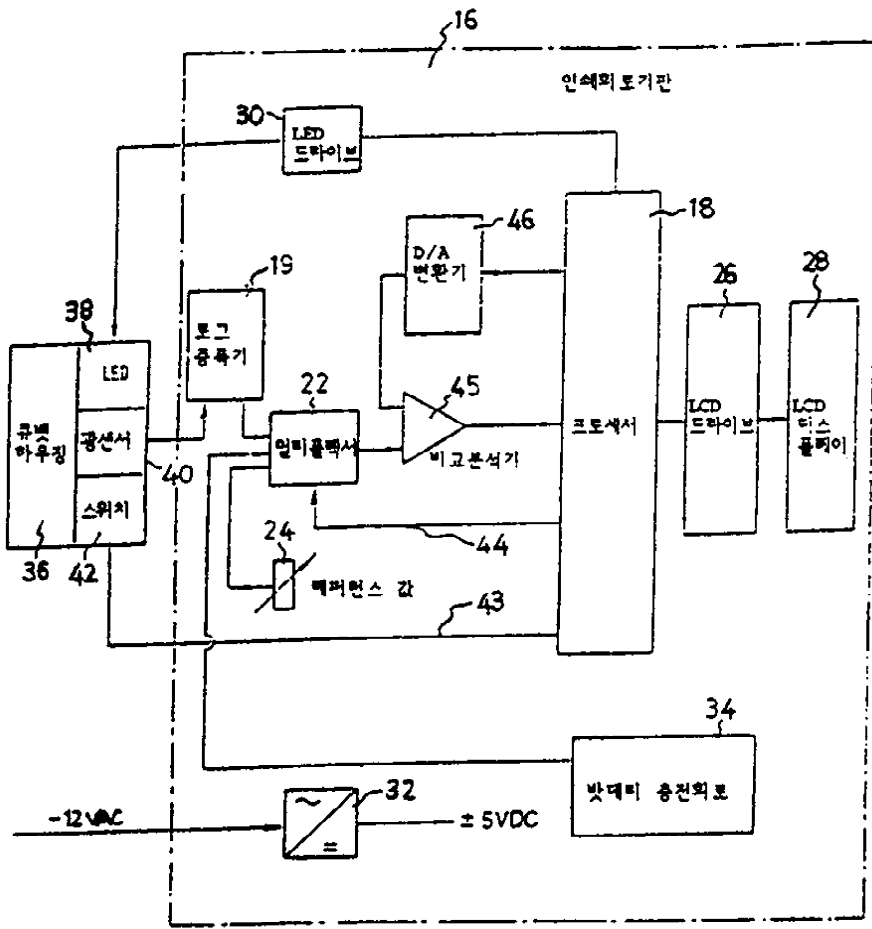
도면2A



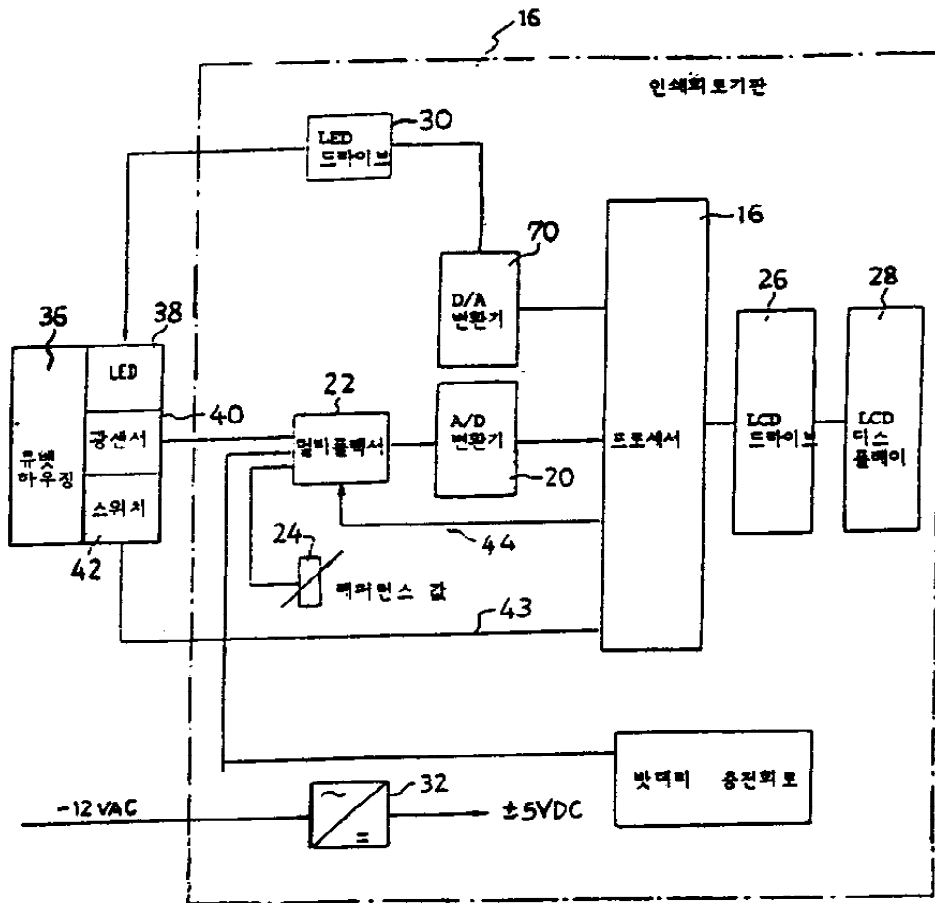




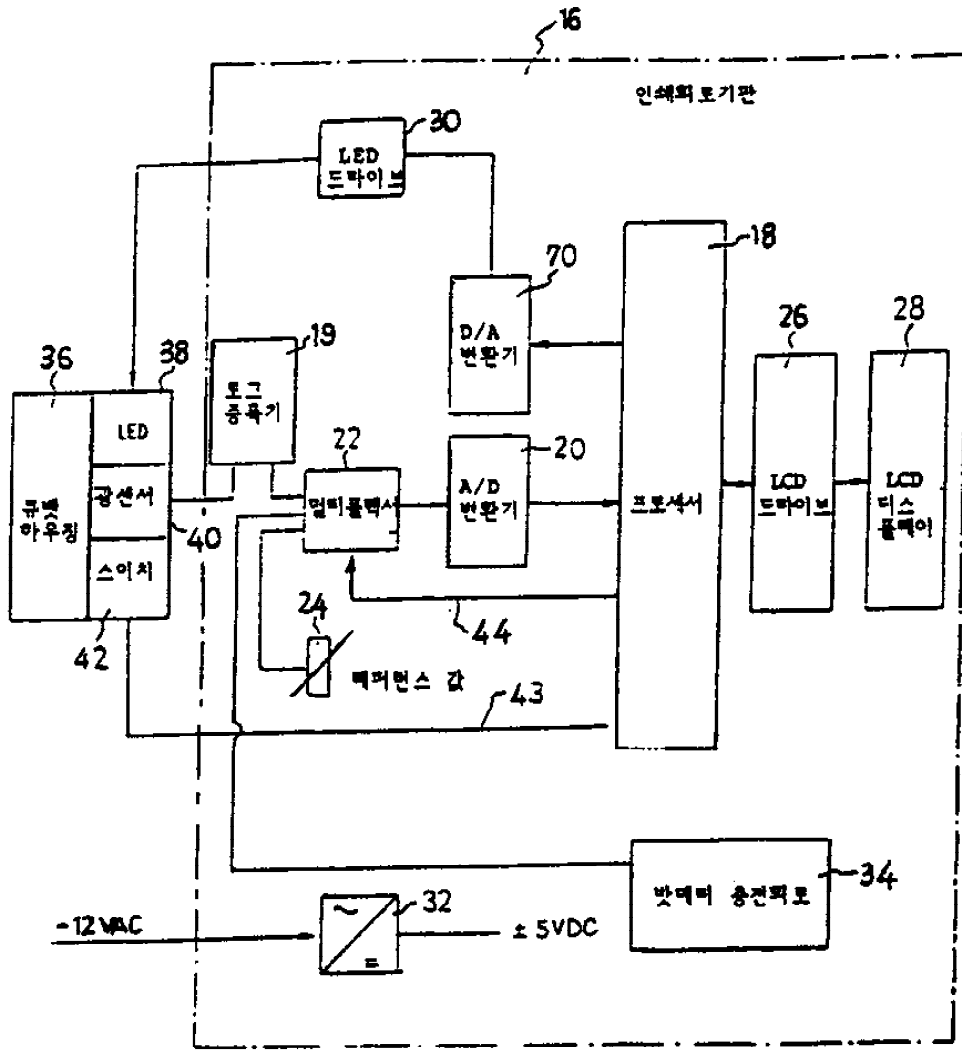
도면38



도면4A



도면4B



도면5

