



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 23 447 T2** 2008.11.13

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 260 589 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 23 447.6**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 011 230.6**

(96) Europäischer Anmeldetag: **22.05.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.11.2002**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **14.11.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **13.11.2008**

(51) Int Cl.⁸: **C12Q 1/00 (2006.01)**

G01N 33/487 (2006.01)

G01N 27/403 (2006.01)

G01N 27/30 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

866030 25.05.2001 US

(73) Patentinhaber:

Roche Diagnostics GmbH, 68305 Mannheim, DE

(72) Erfinder:

Bhullar, Raghbir S., Indianapolis, Indiana 46236, US; Wilsey, Christopher D., Carmel, Indiana 46032, US; Auster, John T., Indianapolis, Indiana 46236, US; Reiser, Wolfgang O.L., 68159 Mannheim, DE

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR

(54) Bezeichnung: **Biosensor**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft einen Biosensor, insbesondere einen elektrochemischen Biosensor mit einem kontinuierlichen Kapillarkanal, der sich über Elektroden erstreckt.

HINTERGRUND UND ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0002] Elektrochemische Biosensoren sind bekannt. Sie wurden zur Bestimmung der Konzentration verschiedener Analyten aus biologischen Proben, insbesondere aus Blut, verwendet. Elektrochemische Biosensoren sind in US Patent Nr. 5,413,690; 5,762,770; 5,798,031 und 5,997,817 sowie in EP 0 359 831 und WO 0 125 775 beschrieben.

[0003] Erfindungsgemäß werden ein Biosensor wie in Anspruch 1 definiert und ein Verfahren zur Bildung eines Biosensors wie in Anspruch 7 definiert bereitgestellt.

[0004] Weitere Merkmale der Erfindung sind für den Fachmann bei Betrachtung der folgenden ausführlichen Beschreibung der bevorzugten Ausführungsform ersichtlich, die das zurzeit beste Verfahren zur Durchführung der Erfindung beispielhaft darstellt.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0005] Die detaillierte Beschreibung bezieht sich insbesondere auf die beiliegenden Zeichnungen, in denen:

[0006] [Fig. 1A](#) eine perspektivische Ansicht eines erfindungsgemäßen Biosensors ist, die den Biosensor mit einem Stützsubstrat und einer Abdeckung zeigt, die jeweils so geformt sind, dass eine Kerbe dazwischen entsteht.

[0007] [Fig. 1B](#) ist eine vergrößerte perspektivische Ansicht des Biosensors aus [Fig. 1A](#) mit weggebrochenen Teilen.

[0008] [Fig. 2](#) ist eine explodierte Ansicht des Biosensors aus [Fig. 1](#), die den Biosensor mit zwei voneinander im Abstand angeordneten Elektrodenreihen an einem Ende, einem Abstandssubstrat mit ersten, zweiten und dritten Elementen, die sich um die Elektrodenreihen erstrecken, zeigt.

[0009] [Fig. 3](#) ist eine Ansicht entlang Linie 3-3 in [Fig. 1A](#).

[0010] [Fig. 4](#) ist eine Ansicht entlang Linie 4-4 in [Fig. 1A](#).

[0011] [Fig. 5](#) ist eine diagrammatische Ansicht eines Herstellungsverfahrens zum Zusammenbauen des Biosensors aus [Fig. 1](#).

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0012] Die vorliegende Erfindung betrifft einen Biosensor und ein Verfahren zur Herstellung eines Biosensors, der dem Hersteller eine präzise und genaue doppelte Kanalposition bietet. Der Biosensor formt in einem kontinuierlichen Prozess einen Kanal, der sich über die Elektroden erstreckt. Aspekte der Erfindung sind in [Fig. 1–Fig. 5](#) gezeigt, die nicht maßstabsgerecht sind und in denen ähnliche Komponenten in den mehreren Ansichten mit den gleichen Ziffern versehen sind.

[0013] [Fig. 1–Fig. 4](#) zeigen einen Aspekt der Erfindung in Form eines Biosensors **10** mit einem Elektroden-trägersubstrat **12**, einem elektrischen Leiter **13**, der auf dem Substrat **12** positioniert ist und unterbrochen ist, um die Elektroden **14**, **16**, **18** zu definieren, einem Abstandssubstrat **20**, das auf dem Substrat **12** positioniert ist, und einer Abdeckung **22**, die auf dem Abstandssubstrat **20** positioniert ist. Der Biosensor **10** ist vorzugsweise rechteckig geformt. Es versteht sich jedoch, dass der Biosensor **10** gemäß der vorliegenden Offenbarung beliebige Formen annehmen kann. Der Biosensor **10** besteht vorzugsweise aus Materialrollen, aber es versteht sich, dass der Biosensor **10** gemäß der vorliegenden Offenbarung auch aus einzelnen Platten geformt sein kann. Die Wahl des Materials zur Konstruktion des Biosensors **10** setzt also voraus, dass die verwendeten Materialien für die Bearbeitung der Rolle ausreichend flexibel sind, aber dass sie dennoch starr genug sind,

um dem fertigen Biosensor **10** nützliche Steifheit zu verleihen.

[0014] Das Elektrodenträgersubstrat **12** ist in [Fig. 2](#) und [Fig. 3](#) gezeigt. In [Fig. 3](#) weist das Substrat **12** eine erste Oberfläche **24**, die zum Abstandssubstrat **20** weist, und eine zweite Oberfläche **26** auf. Darüber hinaus hat das Substrat **12** gegenüberliegende erste und zweite Enden **28**, **30** und gegenüberliegende Ränder **32**, **34**, die sich zwischen den ersten und zweiten Enden **28**, **30** erstrecken. Siehe [Fig. 2](#). Das erste Ende **28** weist eine darin geformte Kerbe **36** auf. Eine allgemein konkave Grenze **38** definiert die Kerbe **36**. Es versteht sich, dass die Kerbe gemäß der vorliegenden Offenbarung eine Vielzahl von Formen und Größen annehmen kann. Das Substrat **12** ist allgemein rechteckig geformt, aber es versteht sich, dass der Träger gemäß der vorliegenden Offenbarung eine Vielzahl von Formen und Größen aufweisen kann. Das Substrat **12** ist aus einem flexiblen Polymer und vorzugsweise aus einem Polymer wie z. B. Polyester oder Polyimid, Polyethylenaphthalat (PEN) geformt. Ein nicht einschränkendes Beispiel eines geeigneten PEN ist die 5 mil dicke KALADEx[®], ein PEN-Folie, die im Handel von E.I. DuPont de Nemours, Wilmington, Delaware, erhältlich ist und die von ROWO Coating, Henbolzhelm, Deutschland, mit Gold beschichtet wird.

[0015] Die Elektroden **14**, **16**, **18** werden auf der ersten Oberfläche **24** des Substrats **12** erzeugt oder vom Leiter **13** isoliert. Nicht einschränkende Beispiele eines geeigneten elektrischen Leiters **13** sind u. a. Aluminium, Kohlenstoff (z. B. Graphit), Kobalt, Kupfer, Gallium, Gold, Indium, Iridium, Eisen, Blei, Magnesium, Quecksilber (z. B. ein Amalgam), Nickel, Niob, Osmium, Palladium, Platin, Rhenium, Rhodium, Selen, Silikon (z. B. hochdotiertes polykristallines Silikon), Silber, Tantal, Zinn, Titan, Wolfram, Uran, Vanadium, Zink, Zirkonium, Gemische davon, und Legierungen, Oxide oder Metallverbindungen dieser Elemente. Vorzugsweise ist der elektrische Leiter **13** unter folgenden Stoffen ausgewählt: Gold, Platin, Palladium, Iridium oder Legierungen dieser Metalle, denn diese Edelmetalle und ihre Legierungen sind in biologischen Systemen nicht reaktiv. Insbesondere besteht der elektrische Leiter **13** aus Gold.

[0016] Die Elektroden **14**, **16**, **18** werden vom Rest des elektrischen Leiters **13** durch Laserablation isoliert. Siehe [Fig. 3](#). Techniken zur Bildung von Elektroden auf einer Oberfläche mit Laserablation sind bekannt. Siehe beispielsweise US Patentanmeldung Nr. 09/411,940, eingereicht am 4. Oktober 1999, mit dem Titel „LASER-DEFINIERTER MERKMALE VON GEMUSTERTEN LAMINATEN UND ELEKTRODE“. Vorzugsweise werden die Elektroden **14**, **16**, **18** erzeugt, indem der elektrische Leiter **13** von einem sich um die Elektroden erstreckenden Bereich entfernt wird.

[0017] Deshalb werden die Elektroden **14**, **16**, **18** vom Rest des elektrisch leitenden Materials auf dem Substrat **12** durch eine Lücke mit einer Breite von ca. 25 µm bis ca. 500 µm, vorzugsweise durch eine Lücke mit einer Breite von ca. 100 µm bis ca. 200 µm isoliert. Alternativ versteht es sich, dass die Elektroden **14**, **16**, **18** nur auf Substrat **12** durch Laserablation geformt werden können. Es versteht sich, dass die Laserablation aufgrund ihrer Präzision und Sensitivität zwar die bevorzugte Methode zur Bildung der Elektroden **14**, **16**, **18** ist, dass aber auch andere Techniken, wie z. B. Lamination, Siebdruck oder Fotolithographie gemäß der vorliegenden Offenbarung verwendet werden können.

[0018] Wie in [Fig. 2](#) gezeigt wirken die Elektroden **14**, **16**, **18** zusammen, um erste und zweite Elektrodenreihen **76**, **78** und Leitungen **80** zu bilden, die sich von den ersten und zweiten Reihen **76**, **78** weg erstrecken. Die Leitungen **80** erstrecken sich von den Reihen **76**, **78** bis zu Kontakten **74** am zweiten Ende **30** des Elektrodenträgersubstrats **12**. Es versteht sich, dass die sich von den Reihen weg erstreckenden Leitungen mit zahlreichen Längen geformt werden können und dass sie sich bis zu einer Vielzahl von Orten auf dem Elektrodenträgersubstrat **12** erstrecken können. Es versteht sich, dass die Konfiguration der Elektrodenreihen, die Anzahl Elektroden und der Abstand zwischen den Elektroden gemäß der vorliegenden Offenbarung variieren können und dass auch mehr als zwei Reihen geformt werden können, wie für den Fachmann offensichtlich sein wird.

[0019] Das Abstandssubstrat **20** des Biosensors **10** weist ein erstes Element **40** auf, das sich zwischen den Rändern **32**, **34** des Elektrodenträgersubstrats **12** erstreckt, und zweite und dritte Elemente **42**, **44**, die vom ersten Element **40** in einem Abstand angeordnet sind. Jedes Element **40**, **42**, **44** weist eine Oberseite **46** und eine Unterseite **48** auf, die zum Substrat **12** weist. Darüber hinaus weist das erste Element **40** einen Innenrand **50** auf, der zu den zweiten und dritten Elementen **42**, **44** weist, und einen Außenrand **52**. Die zweiten und dritten Elemente **42**, **44** weisen einen ersten Rand **54** auf, der zum ersten Element **40** weist, und einen zweiten Rand **56**. Die zweiten Ränder **56** der zweiten und dritten Elemente **42**, **44** weisen jeweils zueinander hin.

[0020] Wenn das Abstandssubstrat **20** wie in [Fig. 1B](#) und [Fig. 4](#) gezeigt mit dem Substrat **12** verbunden ist, sind die Elektrodenreihen **76**, **78** so positioniert, dass sie zwischen dem ersten Element **40** und den zweiten und dritten Elementen **42**, **44** liegen. Darüber hinaus liegen die zweiten und dritten Elemente **42**, **44** neben der

Grenze **38** der Kerbe **36**. Das Abstandssubstrat **20** besteht aus einem flexiblen Polymer und insbesondere aus einem Polymer wie z. B. einem mit Klebstoff beschichteten Polyethylenterephthalat (PET)-Polyester. Ein nicht einschränkendes Beispiel eines geeigneten PET ist die 3 mil (75 µm) dicke weiße PET-Folie, deren beide Seiten mit einem Kontaktkleber (Produkt Nr. ARcare 8877) beschichtet sind und die im Handel von Adhesives Research, Inc. Glen Rock, Pennsylvania, erhältlich ist.

[0021] Es versteht sich, dass das Abstandssubstrat **20** aus einer Vielzahl von Materialien bestehen kann und dass es mit dem Substrat **12** und dem Abdecksubstrat **22** mit einer Vielzahl von handelsüblichen Klebstoffen verbunden sein kann. Wenn die Oberfläche **24** des Substrats **12** darüber hinaus frei liegt und nicht vom elektrischen Leiter **13** bedeckt ist, kann das Abstandssubstrat **20** gemäß der vorliegenden Offenbarung auch durch Schweißen (Wärme oder Ultraschall) mit dem Substrat **12** verbunden werden. Es versteht sich auch, dass die erste Oberfläche **24** des Substrats **12** beispielsweise mit Produktkennzeichnung oder Gebrauchsanweisungen gemäß der vorliegenden Offenbarung bedruckt sein kann.

[0022] Das Abdecksubstrat **22** ist mit der Oberseite **46** des Abstandssubstrats **20** verbunden. Siehe [Fig. 1B](#). Das Abdecksubstrat **22** weist eine Innenseite **58**, die zum Abstandssubstrat **20** weist, und eine Außenseite **60** auf. Darüber hinaus weist die Abdeckung **22** gegenüberliegende erste und zweite Enden **62**, **64** und Ränder **66**, **68** auf, die sich zwischen den ersten und zweiten Enden **62**, **64** erstrecken. Das erste Ende **62** weist eine Kerbe **70** auf. Eine allgemein konkave Grenze **72** definiert die Kerbe **70**. Es versteht sich, dass die Kerbe gemäß der vorliegenden Offenbarung eine Vielzahl von Formen und Größen annehmen kann. Wenn der Biosensor **10** zusammengebaut wird, wirkt die Abdeckung **22** mit dem Abstandsträger **20** und dem Elektrodenträger **12** zusammen, um einen Kapillarkanal **82** zu definieren.

[0023] Die Abdeckung **22** ist allgemein rechteckig geformt, aber es versteht sich, dass die Abdeckung gemäß der vorliegenden Offenbarung eine Vielzahl von Formen und Größen aufweisen kann. Das Abdecksubstrat **22** besteht aus einem flexiblen Polymer und vorzugsweise aus einem Polymer wie z. B. Polyester oder Polyimid. Ein nicht einschränkendes Beispiel eines geeigneten Polymers ist 3,9 mil (99 µm) dicke 3 M hydrophile Polyesterfolie (3 M Produkt Nr. 9971), die im Handel von 3 M Healthcare, St. Paul, MN, erhältlich ist.

[0024] In [Fig. 1A](#) und [Fig. 1B](#) ist der Kapillarkanal **82** allgemein linear geformt und weist einen Probeneinlass **84** und voneinander im Abstand angeordnete Enden **86** auf. Wie in [Fig. 1A](#) gezeigt sind die Enden **86** zwischen den Rändern **32**, **66** bzw. **34**, **68** angeordnet. Es versteht sich, dass der gezeigte Biosensor **10** zwar Enden **86** aufweist, die als Luftauslässe fungieren, dass er aber gemäß der vorliegenden Offenbarung auch mit einer beliebigen Anzahl von Luftauslässen geformt werden kann. Der Kapillarkanal **82** erstreckt sich zwischen den Grenzen **38**, **72** und den Rändern **32**, **66** bzw. **34**, **68**. Der Kanal wird auch durch den Innenrand **50** des ersten Elements **40** des Abstandssubstrats **20** und den ersten Rändern **54** der zweiten und dritten Elemente **42**, **44** geformt. Wenn der Biosensor **10** zusammengebaut wird, erstreckt sich deshalb der Kanal **82** über die Elektrodenreihen **76**, **78**. Siehe beispielsweise [Fig. 1B](#).

[0025] Elektrochemische Reagenzien **88** sind auf den ersten und zweiten Reihen **76**, **78** angeordnet. Die Reagenzien **88** stellen elektrochemische Sonden für spezifische Analyten dar. Die Wahl der jeweiligen Reagenzien **88** hängt von dem bzw. den jeweils zu messenden Analyten ab und ist für den normalen Fachmann wohlbekannt. Ein Beispiel für ein Reagenz zur Verwendung in einem erfindungsgemäßen Biosensor **10** ist ein Reagenz zur Messung von Blutzucker in einer Ganzblutprobe. Ein nicht einschränkendes Beispiel eines Reagenz zur Messung von Blutzucker in einer menschlichen Blutprobe enthält 62,2 mg Polyethylenoxid (mittleres Molekulargewicht 100–900 kiloDalton), 3,3 mg NATROSOL 244 M, 41,5 mg AVICEL RC-591 F, 89,4 mg monobasisches Kaliumphosphat, 157,9 mg dibasisches Kaliumphosphat, 437,3 mg Kaliumferricyanid, 46,0 mg Natriumsuccinat, 148,0 mg Trehalose, 2,6 mg TRITON X-100 Tensid und 2000 bis 9000 Einheiten Enzymaktivität pro Gramm Reagenz. Das Enzym wird als Enzymlösung aus 12,5 mg Coenzym PQQ und 1,21 Millionen Einheiten des Apoenzyms Chinoproteinglucosedehydrogenase hergestellt. Das Reagenz wird in US Patent Nr. 5,997,817 weiter beschrieben.

[0026] Nicht einschränkende Beispiele von Enzymen und Mediatoren, die bei der Messung bestimmter Analyten in Biosensor **10** verwendet werden können, sind in Tabelle 1 unten aufgeführt.

TABELLE 1

Analyt	Enzyme	Mediator (oxidierte Form)	Zusätzlicher Mediator
Glucose	Glucosedehydrogenase und Diaphorase	Ferricyanid	
Glucose	Glucosedehydrogenase (Chinoprotein)	Ferricyanid	
Cholesterin	Cholesterinesterase und Cholesterinoxidase	Ferricyanid	2,6-Dimethyl-1,4-benzochinon, 2,5-Dichlor-1,4-benzochinon oder Phenazinethosulfat
HDL-Cholesterin	Cholesterinesterase und Cholesterinoxidase	Ferricyanid	2,6-Dimethyl-1,4-benzochinon, 2,5-Dichlor-1,4-benzochinon oder Phenazinethosulfat
Triglyceride	Lipoprotein-Lipase, Glycerinkinase und Glycerin-3-Phosphatoxidase	Ferricyanid oder Phenazinethosulfat	Phenazinmethosulfat
Lactat	Lactatoxidase	Ferricyanid	2,6-Dichlor-1,4-benzochinon
Lactat	Lactatdehydrogenase und Diaphorase	Ferricyanid, Phenazinethosulfat oder Phenazinmethosulfat	
Lactat-dehydrogenase	Diaphorase	Ferricyanid	Phenazinethosulfat oder Phenazinmethosulfat
Pyruvat	Pyruvatoxidase	Ferricyanid	
Alkohol	Alkoholoxidase	Phenylendiamin	
Bilirubin	Bilirubinoxidase	1-Methoxyphenazinethosulfat	
Harnsäure	Uricase	Ferricyanid	

[0027] In einigen der in Tabelle 1 gezeigten Beispiele wird mindestens ein zusätzliches Enzym als Reaktionskatalysator verwendet. Einige der in Tabelle 1 gezeigten Beispiele können ferner einen zusätzlichen Mediator verwenden, der den Elektronentransfer zur oxidierten Form des Mediators erleichtert. Der zusätzliche Mediator kann dem Reagenz in einer geringeren Menge als die oxidierte Form des Mediators zugeführt werden. Trotz der oben beschriebenen Assays ist vorgesehen, dass mit dem Biosensor **10** gemäß dieser Offenbarung Strom, Ladung, Impedanz, Leitfähigkeit, Potential oder andere elektrochemische Eigenschaften der Probe genau mit der Konzentration des Analyten in der Probe korreliert werden können.

[0028] Eine Vielzahl von Biosensoren **10** sind in der Regel in einem Fläschchen verpackt, wobei das Fläschchen üblicherweise mit einem Stopfen verschlossen ist. Es versteht sich jedoch, dass Biosensoren **10** auch einzeln verpackt sein können oder dass Biosensoren aufeinander gefaltet, aufgerollt, in einem Kassettenmagazin gestapelt oder in einer Blisterpackung verpackt sein können.

[0029] Der Biosensor **10** wird in Verbindung mit Folgendem verwendet:

1. einer Stromquelle, die mit den Kontakten **74** elektrisch verbunden ist und ein elektrisches Potentialgefälle zwischen den Elektroden **14**, **16** bzw. **18**, **16** liefern kann, um eine diffusionsbegrenzte Elektrooxidation der reduzierten Form des Mediators an der Oberfläche der Arbeitselektrode zu verursachen; und
2. einem Messgerät, das mit den Kontakten **74** elektrisch verbunden ist und den diffusionsbegrenzten Strom, der durch die Oxidation der reduzierten Form des Mediators erzeugt wird, wenn das oben erwähnte elektrische Potentialgefälle angelegt wird, messen kann.

[0030] Das Messgerät legt normalerweise einen Algorithmus an die Strommessung an, wobei eine Analytkonzentration bereitgestellt und visuell angezeigt wird. Verbesserungen dieser Stromquelle, des Messgeräts und

des Biosensorsystems sind Gegenstand von US Pat. Nr. 4,963,814, das am 16. Oktober 1990 erteilt wurde; US Pat. Nr. 4,999,632, das am 12. März 1991 erteilt wurde; US Pat. Nr. 4,999,582, das am 12. März 1991 erteilt wurde; US Pat. Nr. 5,243,516, erteilt am 7. September 1993; US Pat. Nr. 5,352,351, erteilt am 4. Oktober 1994; US Pat. Nr. 5,366,609, erteilt am 22. November 1994; White et al., US Pat. Nr. 5,405,511, erteilt am 11. April 1995; und White et al., US Pat. Nr. 5,438,271, erteilt am 1. August 1995.

[0031] Es können viele Flüssigkeitsproben untersucht werden. Beispielsweise können menschlichen Körperflüssigkeiten, wie z. B. Ganzblut, Plasma, Sera, Lymphe, Galle, Urin, Samen, Liquor, Spinalflüssigkeit, Tränenflüssigkeit und Stuhlproben sowie andere biologische Flüssigkeiten, die für den Fachmann offensichtlich sind, gemessen werden. Auch flüssige Zubereitungen von Geweben sowie Nahrungsmittel, Fermentationsprodukte und Umweltschmutzungen, die Umweltverschmutzungen enthalten können, können untersucht werden. Vorzugsweise wird mit dieser Erfindung Ganzblut untersucht.

[0032] Zur Herstellung des Biosensors **10** wird eine Rolle aus metallisiertem Elektroenträgermaterial **90** wie durch den Pfeil **92** in [Fig. 5](#) gezeigt durch die Führungsrollen in eine Ablations/Wasch- und Trocknungsstation **94** geführt. Ein Lasersystem, das den Träger **14** ablatieren kann, ist dem normalen Fachmann bekannt. Nicht einschränkende Beispiele umfassen Exzimerlaser, wobei das Ablationsmuster durch Spiegel, Linsen und Masken kontrolliert wird. Ein nicht einschränkendes Beispiel eines solchen maßgeschneiderten Systems ist LPx-400, LPX-300 oder LPX-200, die im Handel vom LPKF Laser Electronic GmbH; Garbsen, Deutschland, erhältlich sind.

[0033] In der Laserstation **94** wird die Metallschicht der metallisierten Folie in einem vorbestimmten Muster ablatiert, um ein Band aus isolierten Elektrodenreihen auf dem Elektroenträgermaterial zu formen. Zum Ablatieren der Elektroden **14**, **16**, **18** in dem 50 nm dicken Goldleiter **13** wird 90 mJ/cm² Energie angelegt. Es versteht sich jedoch, dass die erforderliche Energiemenge von Material zu Material, Metall zu Metall oder Dicke zu Dicke unterschiedlich sein kann. Das Band wird dann durch weitere Führungsrollen mit einer Spannungsschleife und durch ein optionales Inspektionssystem geführt, wo die optische und elektrische Inspektion erfolgen kann. Das System wird zur Qualitätskontrolle zur Prüfung auf Defekte verwendet.

[0034] Nach dem Verlassen der Station **94** wird die metallisierte Folie wie durch den Pfeil **96** gezeigt in eine Reagenz-Ausgabestation **98** geführt. Vermischte Reagenzien werden wie durch den Pfeil **100** gezeigt in die Ausgabestation **98** geführt, wo sie linienbeschichtet werden, um einen Teil des Kanals **82** mit einem maßgeschneiderten handelsüblichen System von Iwashita Engineering Incorporated, Tokio, Japan, zu überdecken.

[0035] Alternativ werden vermischte Reagenzien gesondert in flüssiger Form auf die Mitte der jeweiligen ersten und zweiten Reihen **76**, **78** mit einem maßgeschneiderten handelsüblichen System von Fluilogic Systems, Espoo, Finnland, aufgetragen. Wenn die gesonderte Auftragung von Reagenzien gewählt wird, ist es vorteilhaft, mindestens eine Vertiefung (nicht gezeigt) im Trägersubstrat **12** um die gewünschte Reagenzienauftragungsstelle zu bilden, um die Reagenzien **88** innerhalb der Grenzen der umschriebenen Reagenzienauftragungsstelle zu halten. Techniken zum Auftragen von Reagenzien sind für den normalen Fachmann wohl bekannt und in US Patent Nr. 5,762,770 beschrieben. Es versteht sich, dass die Reagenzien in flüssiger oder anderer Form auf die Reihen **76**, **78** aufgetragen und auf den Reihen **76**, **78** gemäß der vorliegenden Offenbarung getrocknet oder halb getrocknet werden können.

[0036] In einem separaten Verfahren wird eine doppelseitige Kontaktfolie mit doppelter Freigabeschicht **102** wie durch den Pfeil **104** gezeigt in eine Laminations- & Schneidestation **112** geführt. Gleichzeitig wird eine Rolle aus Abdecksubstratmaterial **106** über eine Führungsrolle **110** wie durch den Pfeil **108** gezeigt in die Station **112** geführt. In der Station **112** wird die Freigabeschicht von der Oberfläche **46** wie durch den Pfeil **114** gezeigt, von der Station **112** gelöst und zur Entsorgung wieder über die Führungsrolle **116** zu einer Rolle **118** gewickelt. In der Station **112** wird die Oberseite **46** der Folie **42** auf die Innenseite **58** des Abdecksubstratmaterials aufgebracht. Das Abdeckmaterial wird zwischen dem ersten Element **40** und dem zweiten/dritten Element freigelegt.

[0037] Die Baugruppe aus Abdeckmaterial/Abstandssubstrat wird wie durch den Pfeil **122** gezeigt in eine Sensorlaminier- & Schneide/Verpackungsstation **124** geführt. Das mit dem Reagenz beschichtete Elektroenträgersubstratmaterial wird von der Station **98** wie durch den Pfeil **120** gezeigt ebenfalls in die Sensorlaminier- & Schneide/Verpackungsstation **124** geführt. Die restliche Freigabeschicht wird vom Abstandssubstrat entfernt und das Abstandssubstrat wird auf dem Elektroenträgersubstratmaterial so positioniert, dass die Elektrodenreihen **76**, **78** zwischen dem ersten Element **40** und dem zweiten/dritten Elementstreifen liegen. Nach dem Zusammenbauen werden die Kerben **36**, **70** durch das Elektroenträgersubstratmaterial, das zweite/dritte Element des Abstandssubstrats und das Abdecksubstratmaterial gestanzt. Dieser Schnitt bildet den Probenein-

lass **84** in den Kapillarkanal **82**.

[0038] Danach wird das resultierende zusammengesetzte Material zu einzelnen Biosensoren **10** geschnitten, die sortiert und in Fläschchen abgepackt werden, wobei jedes Fläschchen mit einem Stopfen verschlossen wird, um verpackte Biosensorstreifen zu erhalten.

[0039] Im Gebrauch legt ein Anwender eines Biosensors **10** einen Finger mit einem Einschnitt zur Blutentnahme an die Grenze **38, 72** der Kerben **36, 70**. Kapillarkräfte ziehen eine flüssige Blutprobe an, die vom Einschnitt in den Probeneinlass **84** und durch den Kapillarkanal **82** über die Reagenzien **88** und die Reihen **76, 78** fließt. Die flüssige Blutprobe löst die Reagenzien auf und greift in die Reihen **76, 78** ein, wo die elektrochemische Reaktion stattfindet.

[0040] Im Gebrauch legt am Ende der Reaktion eine Stromquelle (z. B. eine Batterie) ein Potentialgefälle zwischen den Elektroden **14, 16** bzw. **18, 16** an. Wenn das Potentialgefälle angelegt wird, muss die Menge der oxidierten Form des Mediators an der Referenzelektrode und das Potentialgefälle ausreichend sein, um eine diffusionsbegrenzte Elektrooxidation der reduzierten Form des Mediators an der Oberfläche der Arbeitselektrode hervorzurufen. Ein (nicht gezeigter) Strommesser misst den durch die Oxidation der reduzierten Form des Mediators an der Oberfläche der Arbeitselektrode erzeugten diffusionsbegrenzten Strom.

[0041] Der gemessene Strom kann genau mit der Konzentration des Analyten in der Probe korreliert werden, wenn die folgenden Anforderungen erfüllt sind:

1. Die Oxidationsrate der reduzierten Form des Mediators wird durch die Diffusionsrate der reduzierten Form des Mediators an der Oberfläche der Arbeitselektrode bestimmt.
2. Der erzeugte Strom wird durch die Oxidation der reduzierten Form des Mediators an der Oberfläche der Arbeitselektrode begrenzt.

[0042] Die oben beschriebenen Verfahren und Produkte weisen einen Einweg-Biosensor **10** auf, der speziell für die Verwendung in diagnostischen Vorrichtungen vorgesehen ist. Umfasst sind aber auch elektrochemische Sensoren für nicht-diagnostische Zwecke, wie z. B. für die Messung eines Analyten in einer beliebigen biologischen, Umwelt- oder anderen Probe. Wie oben besprochen kann der Biosensor **10** eine Vielzahl von Formen und Größen aufweisen und zur Durchführung einer Vielzahl verschiedener Assays verwendet werden, von denen nicht-einschränkende Beispiele Strom, Ladung, Impedanz, Leitfähigkeit, Potential oder andere elektrochemische Eigenschaften der an den Biosensor angelegten Probe sind.

Patentansprüche

1. Biosensor (**10**), umfassend:

ein Trägersubstrat (**12**) mit einem ersten (**28**) und einem zweiten (**30**) Ende, Elektroden (**14, 16, 18**), die auf dem Trägersubstrat positioniert sind, wobei die Elektroden zusammenwirken, um neben dem ersten Ende angeordnete Elektrodenanordnungen (**76, 78**) zu definieren, ein Abstandssubstrat (**20**), das auf dem Trägersubstrat positioniert ist, und eine Abdeckung (**22**), die auf dem Trägersubstrat positioniert ist, wobei die Abdeckung mit dem Trägersubstrat zusammenwirkt, um einen Kapillarkanal mit sich gegenüberliegenden ersten und zweiten Enden zu definieren, und eine Kerbe (**36, 70**) durch das Trägersubstrat (**12**), wobei ein Teil des Abstandssubstrats (**20**) und der Abdeckung (**22**) **dadurch gekennzeichnet** sind, dass die Kerbe (**36, 70**) einen Einlass (**84**) in den Kapillarkanal formt, wobei der Kapillarkanal den Einlass (**84**) aufweist, wobei der Einlass (**84**) neben dem ersten Ende des Trägersubstrats (**12**) zwischen dem ersten und dem zweiten Ende des Kapillarkanal liegt, wobei jede Elektrodenanordnung (**76, 78**) im Kanal neben einem der Enden positioniert ist.

2. Biosensor (**10**) nach Anspruch 1, worin jede Kerbe (**36, 70**) eine im Wesentlichen konkave Gestalt aufweist.

3. Biosensor (**10**) nach Anspruch 1, worin das Trägersubstrat ein erstes Element (**40**) aufweist, das sich zwischen den Enden erstreckt.

4. Biosensor (**10**) nach Anspruch 3, worin das Abstandssubstrat (**20**) ein zweites Element (**42**), das zwischen einem Ende und dem Probeneinlass (**84**) positioniert ist, und ein drittes Element (**44**) aufweist, das zwischen dem gegenüberliegenden Ende und dem Probeneinlass (**84**) positioniert ist.

5. Biosensor (10) nach Anspruch 3, worin das Abstandssubstrat (20) zweite (42) und dritte (44) Elemente aufweist, die im Abstand vom ersten Element angeordnet sind, und worin sich der Kanal zwischen den ersten (40), zweiten (42) und dritten (44) Elementen erstreckt.

6. Biosensor (10) nach Anspruch 1, worin der Probeneinlass (84) so positioniert ist, dass er zwischen den Elektrodenanordnungen (76, 78) liegt.

7. Verfahren zur Bildung eines Biosensors (10), wobei das Verfahren die folgenden Schritte beinhaltet:
Formen von im Abstand angeordneten Elektrodenanordnungen (76, 78) auf einer Oberfläche eines Trägersubstrats (12),
Platzieren eines Abstandssubstrats (20) auf dem Trägersubstrat (12) über die Elektrodenanordnungen (76, 78),
Entfernen eines Teils des Abstandssubstrats (20), um die Elektrodenanordnungen (76, 78) freizulegen,
Platzieren einer Abdeckung (22) auf dem Abstandssubstrat (20), um einen Kapillarkanal mit gegenüberliegenden Enden zu definieren, der sich über die Elektrodenanordnungen (76, 78) erstreckt, und
Stanzten einer Kerbe (36, 70) durch das Trägersubstrat (12), eines Teils des Abstandssubstrats (20) und der Abdeckung (22), um einen Einlass (84) in den Kapillarkanal zu formen, wobei der Einlass (84) zwischen den gegenüberliegenden Enden positioniert ist.

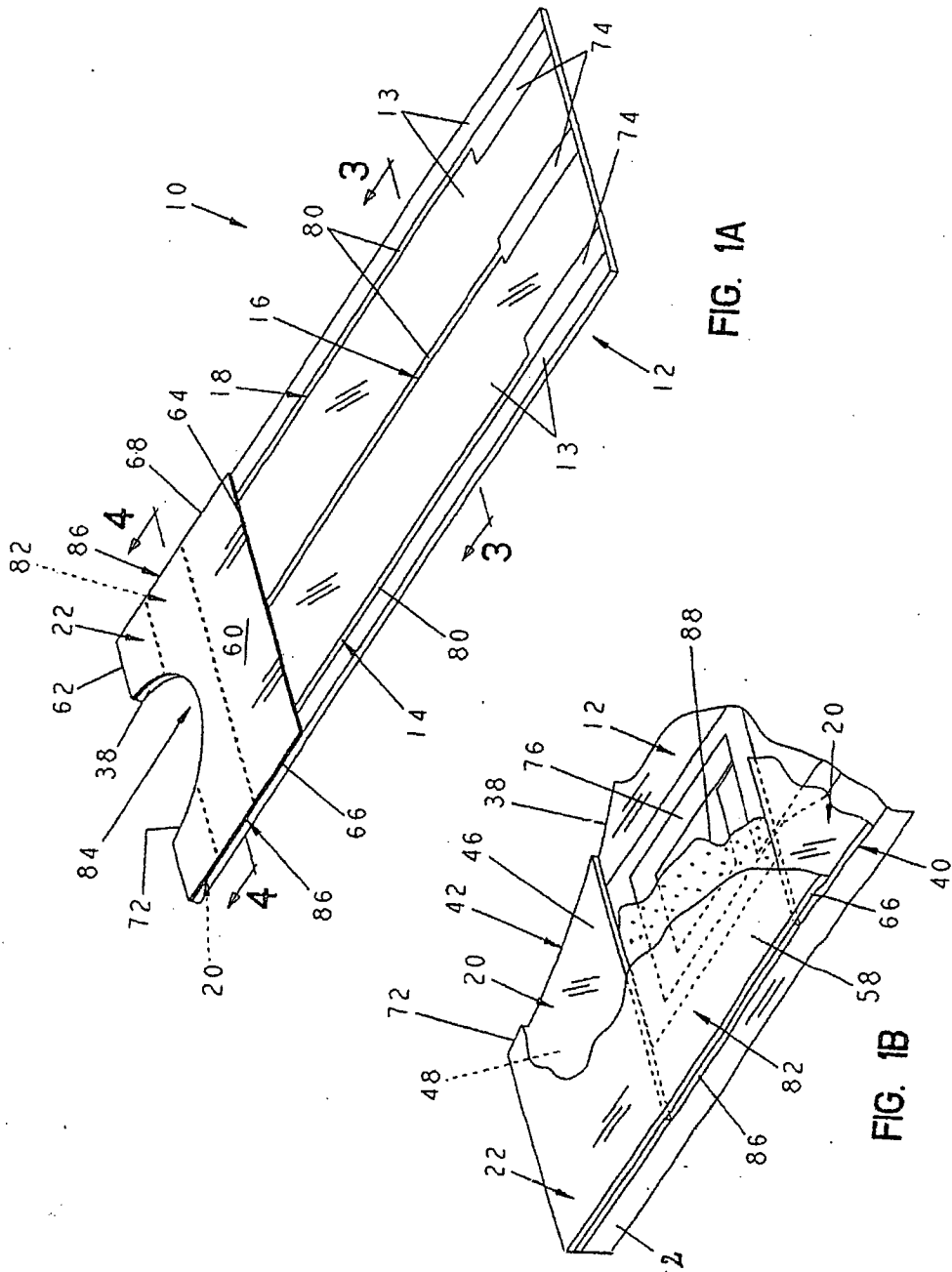
8. Verfahren nach Anspruch 7, worin der Stanzschritt das Formen des Einlasses (84) zwischen den Elektrodenanordnungen (76, 78) umfasst.

9. Verfahren nach Anspruch 7, worin der Entfernungsschritt den Schritt des Formens eines ersten Elements und eines zweiten/dritten Elementenstreifens umfasst und die Elektrodenanordnungen (76, 78) zwischen dem ersten Element und dem zweiten/dritten Elementenstreifen positioniert sind.

10. Verfahren nach Anspruch 9, worin der Stanzschritt den Schritt des Trennens des zweiten/dritten Elementenstreifens in ein zweites Element (42) und ein drittes Element (44) umfasst und der Einlass (84) sich zwischen dem zweiten (42) und dem dritten (44) Element erstreckt.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



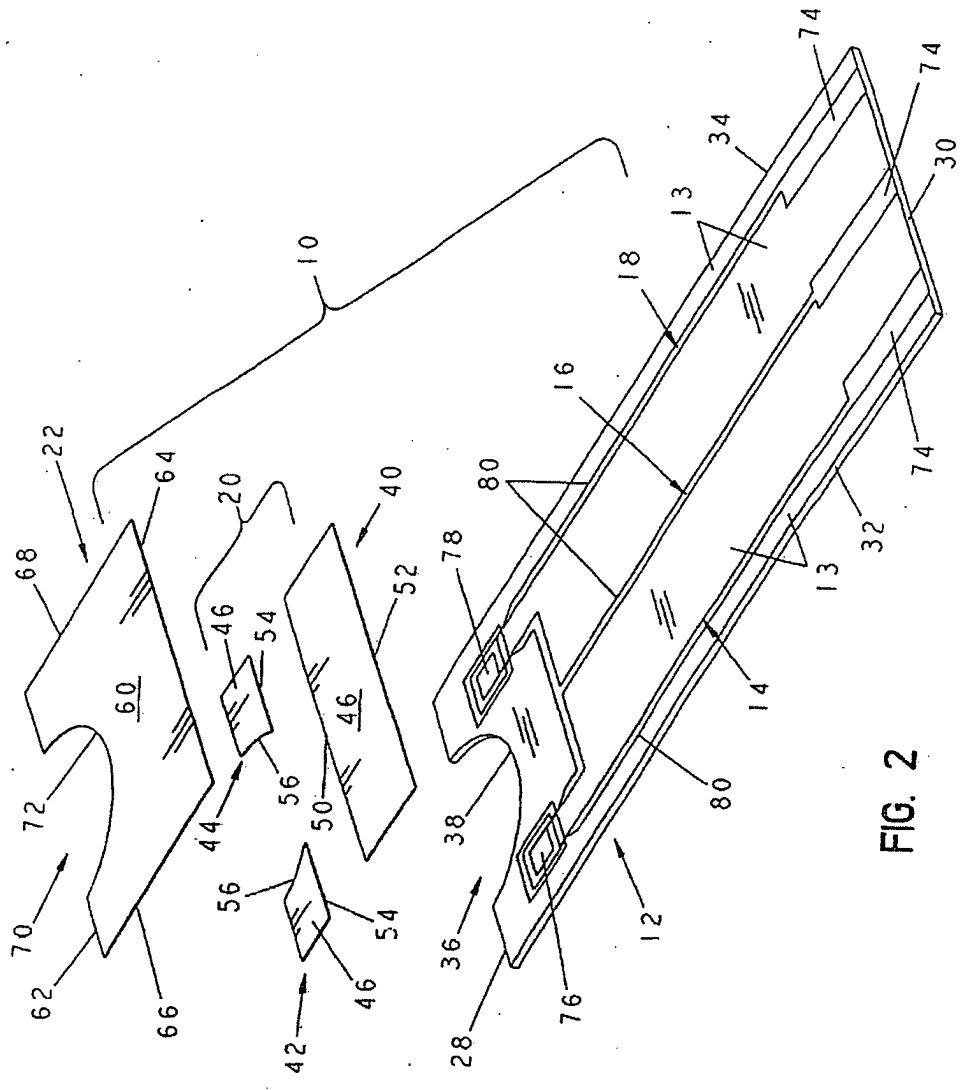


FIG. 2

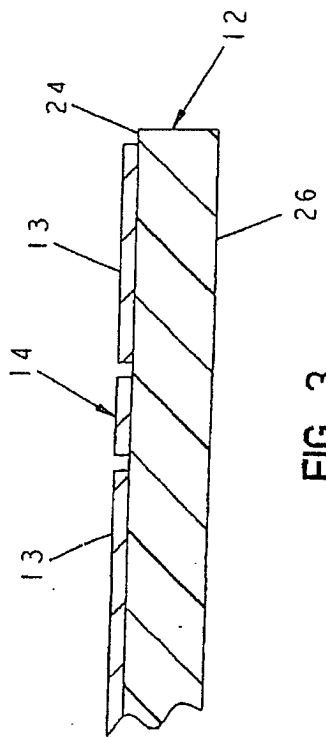


FIG. 3

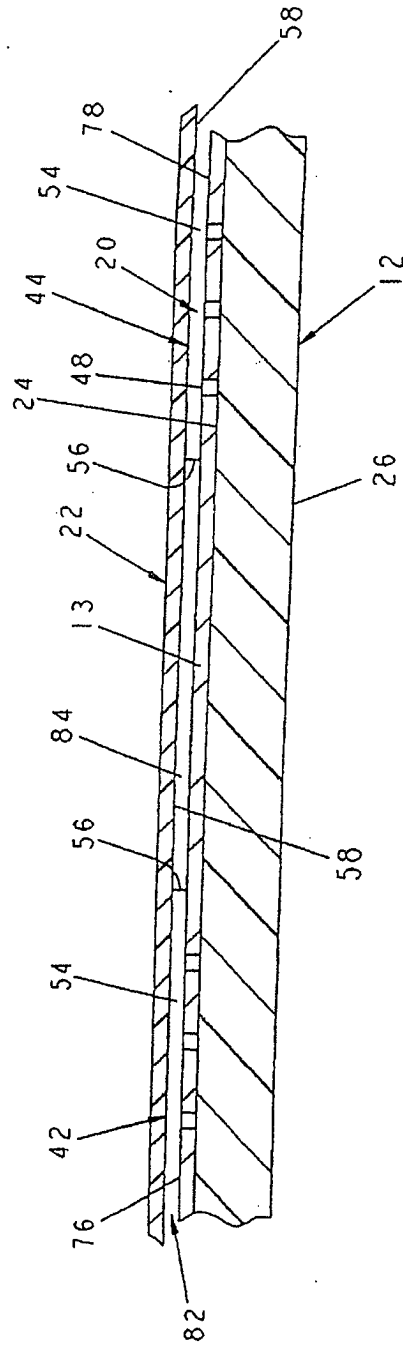


FIG. 4

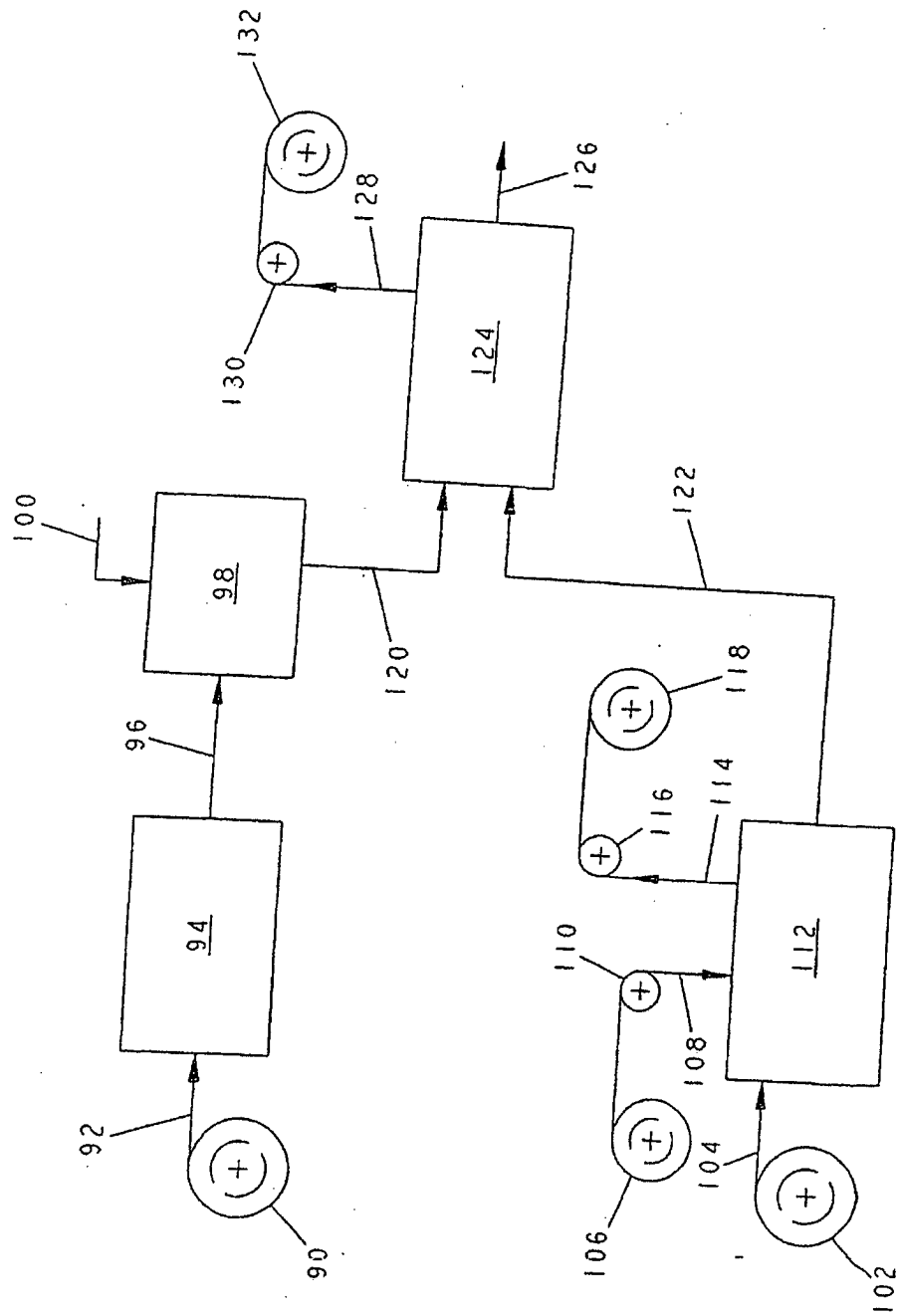


FIG. 5