



## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480000528.3

[43] 公开日 2005 年 11 月 16 日

[11] 公开号 CN 1697970A

[22] 申请日 2004.2.18

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

[21] 申请号 200480000528.3

代理人 徐 谦 叶恺东

[30] 优先权

[32] 2003.2.21 [33] JP [31] 044529/2003

[86] 国际申请 PCT/JP2004/001848 2004.2.18

[87] 国际公布 WO2004/074827 日 2004.9.2

[85] 进入国家阶段日期 2005.1.21

[71] 申请人 松下电器产业株式会社

地址 日本大阪府门真市

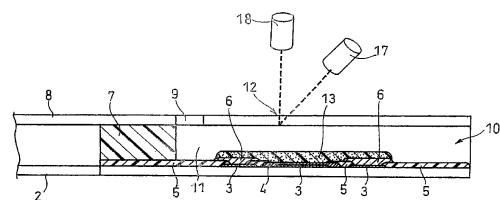
[72] 发明人 宫下万里子 谷池优子 吉冈俊彦

权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图 5 页

[54] 发明名称 生物传感器用测定装置及使用该装置的测定方法

## [57] 摘要

本发明提供一种能够不受样品物理属性影响，在短时间内简便而高精度地测定样品中特定成分的生物传感器用测定装置及测定方法。本发明的生物传感器用测定装置中使用的生物传感器具备样品供应口、含有测定电极和对电极的电极系统、以及样品供应通道的至少一部分中使样品能够得到光照的部位，能够检测上述样品的电变化和光学变化，通过判定样品的物理因素对测定值进行校正。



1. 一种生物传感器用测定装置，其特征在于：

具备：

5 支承部，支承生物传感器并使其装卸自由，该生物传感器具备含有测定电极和对电极的电极系统以及具有光线可从外部照射到的部位的样品供应通道；

多个连接端子，电连接到上述电极系统；

电信号计量电路，经由上述连接端子向上述电极系统施加电压，并经由上述连接端子计量上述电极系统的电信号的变化；

10 光源，设置在能对上述部位照射光的位置；

受光部，接收来自上述部位的光；

光学信号计量电路，经由上述受光部计量上述部位上的光学变化；

演算部，计算上述电信号的变化和上述光学变化；以及

15 显示部，显示上述计算的结果，

通过对上述样品供应通道照射光，计量样品中所含的固体和液体的体积比。

2. 如权利要求1所述的生物传感器用测定装置，其特征在于：

上述样品是血液，上述体积比是红细胞比容值。

20 3. 一种特定成分的测定方法，其特征在于：

包括：

(a) 固定生物传感器的工序，该生物传感器具备：含有测定电极和对电极的电极系统以及具有光线可从外部照射到的部位的样品供应通道；

25 (b) 连接工序，将上述生物传感器的电极系统连接到测定用的连接端子；

(c) 对上述生物传感器供应样品的工序；

(d) 点亮光源，向上述部位照射光的工序；

(e) 经由受光部计量上述部位的光学变化的工序；

30 (f) 计算上述工序(e)的测定结果的工序；

(g) 经过预定时间后，经由上述连接端子给上述电极系统施加电

压的工序；

(h) 经由上述连接端子计量流经上述电极系统中的电流的工序；

(i) 计算上述工序 (h) 的计量结果的工序；以及

5 (j) 根据上述工序 (f) 的测定结果，计量上述样品中固体和液体的  
体积比，从而校正上述工序 (i) 的测定结果的工序。

4. 如权利要求 3 所述的特定成分的测定方法，其特征在于：

包含：(k) 根据上述工序 (f) 的测定结果，检测上述样品供应通道  
中上述样品是否存在的工序。

## 生物传感器用测定装置及使用该装置的测定方法

### 技术领域

5 本发明涉及一种生物传感器用测定装置及使用该装置的测定方法，其能够在短时间内简便而高精度地测定样品中所含的特定物质的浓度。

### 背景技术

10 以前，在例如特开平 3-202764 号公报中提出了一种无需稀释或搅拌样品即可简便而高精度地测定样品中的特定物质的生物传感器。

这种生物传感器是通过在绝缘性基板上形成电极系统并在电极系统上用亲水性高分子、氧化还原酶及电子受体的混合物形成酶反应层而得到的。而且，上述氧化还原酶和电子受体及样品的反应导致的物质浓度变化通过上述电极系统以电化学方式检得，从而测定样品中的特定成分。

20 以葡萄糖传感器为例说明该生物传感器的测定工作。向葡萄糖传感器供应含有葡萄糖的样品时，酶反应层被样品溶解。葡萄糖被酶反应层中作为氧化还原酶的葡萄糖氧化酶 (GOx) 氧化，此时，酶反应层中的电子受体被还原。经过预定的时间后，当在测定电极和对电极之间施加适当的规定电压时，电子受体的还原体被氧化。通过测定该氧化过程中的氧化电流值，能够量化样品中的葡萄糖浓度。

但是，对于特开平 3-202764 号公报中记载的生物传感器来说，由于样品中存在影响样品物理属性的物质，故有时测定结果会受到影响。例如，当样品是血液时，红细胞比容 (hematocrit) 值会因被检查体不同而存在 20~30% 左右的差异，即使使用等量样品，其中所含固体成分 (血球) 和液体成分的体积比也不相同。因而，由于红细胞比容值升高导致血液粘性增大、血球成分对电极和酶的吸着程度增大等现象的影响，出现了传感器响应性下降的问题。

30 对此，针对样品中含有妨碍测定的物质这样的情况，特开平 5-340915 号公报中公开了一种在绝缘性基板上形成主电极系统和副电极

系统、在上述主电极系统上形成含酶反应层的生物传感器。基于检测上述主电极系统中电特性变化与上述副电极系统中电特性变化的时间差异，能够判定样品的物理属性。

以葡萄糖传感器为例说明该生物传感器的测定工作。当血液（全血）作为含有妨碍测定的物质的样品被供应到传感器时，首先到达副电极系统，副电极系统的测定电极和对电极之间的阻抗下降。接着，血液到达主电极系统，主电极系统的反应层溶解，从而使主电极系统的测定电极和对电极之间的阻抗下降。反应层溶于血液后，血液中的葡萄糖被 Gox 氧化的同时，共存于反应层中的电子受体被还原。经过预定时间后，在测定电极和对电极之间施加适当的规定电压，从而使电子受体的还原体被氧化。通过测定该氧化时的氧化电流值，能够量化样品中的葡萄糖浓度。

在该生物传感器中，使用具有红细胞比容值（血液中固体和液体的体积比）为 20~60% 的血液测量氧化电流值时，氧化电流值随着红细胞比容值的增大而下降。进而，用  $t$  表示检测到的副电极系统和主电极系统中阻抗变化的时间差，发现  $t$  与上述红细胞比容值的变化成比例地增大。因此，只要根据上述  $t$  因子校正氧化电流值，就可以不依赖于红细胞比容值而正确地量化血液中的葡萄糖。即，该生物传感器中通过在主电极系统之外另设副电极系统，就可以根据副电极系统跟主电极系统的阻抗变化的时间差预测样品的粘度，校正电流值。

但是，特开平 5-340915 号公报中记载的技术中，由于利用了时间差  $t$  来校正电流值，因而存在着缩短测定时间本身就受限的问题。

另外，特开平 9-105720 号公报中公开了一种用于光学式测定血液中特定成分和红细胞比容值中任意一个的生物传感器；作为各自的光学式测定中所用的不同位置，需要毛细管室部分和试剂部部分；由于必须用样品充分填满这些部分，存在着难以削减测量所需样品量的问题。

### 发明内容

因此，本发明鉴于上述的现有问题，目的是提供一种生物传感器用测定装置及使用该装置的测定方法，当存在影响样品物理属性的物

质时，能够不受该物质影响进行正确的测定。

进而，本发明鉴于上述的现有问题，目的是提供一种生物传感器用测定装置及使用该装置的测定方法，通过将判定样品物理属性的单元跟检测感应器响应的单元分开，能够不受样品物理属性影响地进行快速而正确的测定。  
5

本发明涉及一种生物传感器用测定装置，具有：支承部，支承生物传感器并使其装卸自由，该生物传感器具备含有测定电极和对电极的电极系统以及具有外部光线可照射到的部位的样品供应通道；多个连接端子，电连接到上述电极系统；电信号计量电路，经由上述连接端子向上述电极系统施加电压，并经由上述连接端子计量上述电极系统的电信号的变化；光源，设置在能对上述部位照射光的位置；受光部，接收来自上述部位的光；光学信号计量电路，经由上述受光部计量上述部位的光学变化；演算部，计算上述电信号的变化和上述光学变化；以及显示部，显示上述计算的结果；通过对上述样品供应通道照射光，计算样品中含有的固体和液体的体积比。  
10  
15

上述生物传感器用测定装置中，最好上述样品是血液，上述体积比是红细胞比容值。

另外，本发明也涉及一种特定成分的测定方法，包括下列工序：

(a) 固定生物传感器的工序，该生物传感器具备：含有测定电极和对电极的电极系统以及具有外部光线可照射到的部位的样品供应通道；  
20

(b) 连接工序，将上述生物传感器的电极系统连接到测定用的连接端子；

(c) 向上述生物传感器供应样品的工序；

25 (d) 点亮光源，向上述部位照射光的工序；

(e) 经由受光部计量上述部位的光学变化的工序；

(f) 计算上述工序 (e) 的测定结果的工序；

(g) 经过预定时间后，经由上述连接端子给上述电极系统施加电压的工序；  
30

(h) 经由上述连接端子计量流经上述电极系统中的电流的工序；

(i) 计算上述工序 (h) 的计量结果的工序；以及

(j) 根据上述工序 (f) 的测定结果, 计量上述样品中固体和液体的体积比, 校正上述工序 (i) 的测定结果的工序。

上述特定成分的测定方法最好还包含: (k) 根据上述工序 (f) 的测定结果, 检测上述样品供应通道中上述样品是否存在工序。

5

#### 附图说明

图 1 是本发明的实施方式中生物传感器的俯视图。

图 2 是本发明的实施方式中生物传感器的剖视图。

图 3 是本发明的实施方式中生物传感器用测定装置的概略立体图。

图 4 是表示图 2 所示的生物传感器用测定装置上支承了生物传感器时的立体图。

图 5 是表示本发明的实施方式中生物传感器用测定装置结构的方框图。

图 6 是本发明的另一实施方式中生物传感器的剖视图。

#### 具体实施方式

为解决上述课题, 本发明提供一种生物传感器用测定装置, 具有: 支承部, 支承生物传感器并使其可装卸自由, 该生物传感器具备: 含有测定电极和对电极的电极系统以及具有外部光线可照射到的部位的样品供应通道; 多个连接端子, 电连接到上述电极系统; 电信号计量电路, 经由上述连接端子向上述电极系统施加电压, 并经由上述连接端子计量上述电极系统的电信号的变化; 光源, 设置在能对上述部位照射光的位置; 受光部, 接收来自上述部位的光; 光学信号计量电路, 经由上述受光部计量上述部位的光学变化; 演算部, 计算上述电信号的变化和上述光学变化; 以及显示部, 显示上述计算的结果; 通过对上述样品供应通道照射光, 计量样品中含有的固体和液体的体积比。

即, 本发明中的生物传感器用测定装置具有将光学方式和电极方式配合使用的特征, 具体地, 测定本身采用电极方式, 对血液中红细胞比容值的影响的校正则采用光学方式。由此, 可将电极方式测定位置跟光学方式测定位置靠近, 另外, 如果利用反射光, 也可以将同一

位置用作电极方式测定位置和光学方式测定位置。这有助于所用的生物传感器的紧凑化。

本发明中可用的生物传感器具备：绝缘性基板上的样品供应口、与上述样品供应口相连通的样品供应通道、上述样品供应通道内设置的包含测定电极和对电极的电极系统、以及含有酶的试剂部；上述电极系统的至少一部分和上述试剂部的至少一部分各自暴露在样品供应通道内，进而，上述样品供应通道的至少一部分中含有使上述样品供应通道中的样品能够得到光照的部位（光照部位）。

上述试剂部最好设置在上述电极系统的附近。另外，也可将上述试剂部与构成测定电极或对电极的导电性材料混合的模式设置。

另外，样品供应通道中所设的电极系统比上述光照部位更靠近上述样品供应口一侧。将上述电极系统配置在比上述光照部位更靠近上述样品供应口一侧，从而能够通过光学变化来判断样品是否存在；在检测到已供应了充分的样品后，就有可能测定样品中的特定成分。

另外，如果将上述光照部位配置于电极系统的上方，就能够缩短样品供应通道的设计长度，从而减少测定所需的样品量。另外，本说明书中，在绝缘性基板表面的垂直方向上，取面向样品供应通道的方向为“上方”。

为使光线到达上述光照部位，只要构成生物传感器的部件中至少一部分是透光性材料即可。

如果使用上述生物传感器，通过本发明中的生物传感器用测定装置向样品供应通道提供光照，即可计量样品中所含的固体和液体的体积比。

体液，尤其是血液适合用作上述样品，这种样品中存在着不可忽略地影响样品物理属性的物质；这种情况下，上述体积比就是红细胞比容值。

另外，本说明书也涉及了使用本发明中生物传感器用测定装置时特定成分的测定方法，该测定方法包含：

(a) 固定生物传感器的工序，该生物传感器具备：含有测定电极和对电极的电极系统以及具有外部光线可照射到的部位的样品供应通道；

(b) 连接工序，将上述生物传感器的电极系统连接到测定用的连接端子；

5 (c) 向上述生物传感器供应样品的工序；

(d) 点亮光源，向上述部位照射光的工序；

(e) 经由受光部计量上述部位的光学变化的工序；

(f) 计算上述工序 (e) 中测定结果的工序；

(g) 经过预定时间后，经由上述连接端子给上述电极系统施加电压的工序；

10 (h) 经由上述连接端子计量流经上述电极系统中的电流的工序；

(i) 计算上述工序 (h) 中计量结果的工序；以及

(j) 根据上述工序 (f) 的测定结果，计量上述样品中固体和液体的体积比，从而校正上述工序 (i) 的测定结果的工序。

上述特定成分的测定方法最好进一步包含：(k)根据上述工序 (f) 的测定结果，检测上述样品供应通道中上述样品是否存在的工序。

15 本发明中特定成分的测定方法中，也可以去掉上述工序 (j) 而只保留上述工序 (k)。这种情况下，本发明中的特定成分的测定方法包含：

20 (a) 固定生物传感器的工序，该生物传感器具备：含有测定电极和对电极的电极系统以及具有外部光线可照射到的部位的样品供应通道；

(b) 连接工序，将上述生物传感器的电极系统连接到测定用的连接端子；

25 (c) 向上述生物传感器供应样品的工序；

(d) 点亮光源，向上述部位照射光的工序；

(e) 经由受光部计量上述部位的光学变化的工序；

(f) 计算上述工序 (e) 中测定结果的工序；

(g) 经过预定时间后，经由上述连接端子给上述电极系统施加电压的工序；

30 (h) 经由上述连接端子计量流经上述电极系统中的电流的工序；

(i) 计算上述工序 (h) 中计量结果的工序；以及

(k) 根据上述工序 (f) 的测定结果检测上述样品供应通道中上述样

品是否存在工序。

### 第1实施方式

图1是表示本发明中可用的生物传感器1的概观的俯视图。图1中用点划线表示中心线。另外，图2是表示图1中点划线位置处的生物传感器截面的图。一边参照图1及图2一边说明本发明中的生物传感器的制作方法。

首先，在树脂（聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)）制的绝缘性基板2上面以丝网(screen)印刷方式印刷银膏，形成引线(lead)3。然后，印刷含有树脂粘合剂和导电性碳的膏，形成测定电极4；接着印刷绝缘性膏(抗蚀剂)形成绝缘层5。最后，再次印刷含有树脂粘合剂和导电性碳的膏，形成对电极6。这时，绝缘层5规定了测定电极4的面积。

接着在测定电极4及对电极6构成的电极系统上形成含有酶和电子受体的试剂部13。进而，把绝缘性基板2、树脂做成的隔离物7及含有空气孔9的盖8依次粘到一起，完成生物传感器1。

此时，盖8使用透明树脂，例如聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)。只要使样品接触到样品供应口10即可借助毛细现象导入由隔离物7和盖8所构成的样品供应通道11，到达试剂部13。

### 第2实施方式

图3是表示本发明的实施方式中的生物传感器用测定装置的概观的立体图。图3中，生物传感器用测定装置101中设置了支承部15，对插入其中的生物传感器1加以装载和支撑。图4表示了装载生物传感器1后的样子。将生物传感器1插入支承部15后，测定装置101的计量准备即告完成。测定装置101中设置了显示部14。

然后，用小刀刺破指尖，待确认了血液渗出后，使其接触到生物传感器1的样品供应口10，导入生物传感器1内。被导入到生物传感器1内的血液在试剂部13中与酶发生反应。另外，借助光照可求得血液中固体和液体的体积比。

另外，虽然没有图示出来，测定装置101中包含：分别电连接到电极系统的多个连接端子；经由连接端子向上述电极系统施加电压并经由上述连接端子计量上述电极系统的电信号变化的电信号计量电

路；光源；受光部；经由上述受光部计量光学变化的光学信号计量电路；以及计算上述电信号变化和上述光学变化的演算部。

### 第3实施方式

图5是表示包含生物传感器1的本发明中的测定装置101的结构的图。参照图5说明本发明中的特定成分的测定方法。

首先，将生物传感器1插入测定装置101的支承部15固定起来(工序(a))。在支承部15的内侧与生物传感器1的引线3接触的位置设置连接端子16，通过装载生物传感器1该连接端子16跟引线3相连接(工序(b))。

该工序结束后，自生物传感器1的样品供应口(图2中的10)供应样品(工序(c))。进而点亮光源17(工序(d))。这时，光源17设置在能够照射到如图2所示插入到测定装置101内的生物传感器1的上方，即规定部位(光照部位)12的位置。

光照部位12设置在覆盖样品供应通道11的透明盖8上，位于自样品供应口10观察时，对电极5的内深处侧一端并且比空气孔9更靠前。

其次，受光部18接收自光源17发出的照射到光照部位12的光，开始计量其光学变化(工序(e))。该计量在光学信号计量电路19中进行，基于所得到的计量值，演算部21求出样品的固体和液体的体积比(工序(f))。

另外，本发明中的特定成分的测定方法中，从样品供应口10向样品供应通道11导入样品，样品一到达光照部位12，通过受光部18即检测到光学变化，从而能够通过演算部21判断出已经向生物传感器1供应了足够测定用量的样品(工序(j))。

样品导入样品供应通道11后，试剂部13中所含酶与样品中的特定物质，即被酶作用物(substrate)，发生反应，电子受体的氧化还原状态发生变化。接着，经过预定时间后，从电信号计量电路20给电极之间施加电压(工序(g))，使电子受体发生电气化学式的氧化还原反应而产生电流，在上述电信号计量电路20中测量该电流值(工序(h))。与此同时，通过计量受光部18的散射光强度或反射光强度，判断样品中所含固体和液体的体积比，校正电流值。在演算部21中

进行上述判断和电流值的校正。

工序 (h) 所获得的数值在演算部 21 中被转换成样品的数值信息 (工序 (i)), 通过显示部 14 显示出来。显示部 14 所显示的数值是血糖值、血浆量 (样品中的液体量) 和红细胞比容值。

5 另外, 本实施方式中, 前面说明了电极系统比光照部位位置更靠近样品供应口 10 一侧的情况; 如图 6 那样, 也可以把光照部位设置在电极系统的上方。这样做能够缩短样品供应通道。另外, 对于图 2 中符号所示的结构要素, 在图 2 中也用了同样符号表示。

#### 实施例 1

10 使用上述第 1 实施方式中所说明的生物传感器 1 和上述第 3 实施方式中所说明的测定装置 101, 测定血液样品的葡萄糖浓度。

如下所示制作生物传感器 1 的试剂部 13。首先, 通过将含有用作酶的葡萄糖脱氢酶 (glucose dehydrogenase) 和用作电子受体的铁氰化钾 (potassium ferricyanide) 的水溶液滴下后干燥, 制作出酶层。

15 进而, 为了便于吸引样品, 通过将含有卵磷脂 (lecithin) 的溶液滴到上述酶层上面后干燥, 对酶层的表面进行亲水性处理。

在这里, 将葡萄糖浓度为 100mg/dl、已调整为具有预先规定的若干种红细胞比容值的血液点滴到装载于测定装置 101 上的生物传感器 1 上面, 紧接着测定波长 ( $\lambda$ ) 为 550nm 的反射光强度。结果发现, 20 红细胞比容值跟反射光强度相关, 随着红细胞比容值的增大, 反射光强度降低。

这里说明一下采用 550nm 的反射光来校正红细胞比容值的理由。红细胞比容值是血液中固体和液体的体积比, 该固体成分大部分是红血球。红血球中所含的血红蛋白包括未跟氧结合的去氧血红蛋白 (最大吸收: 555nm) 和跟氧结合在一起的携氧血红蛋白 (最大吸收: 577、540nm)。虽然去氧血红蛋白和携氧血红蛋白分别具有处于能见区域的最大吸收, 但是由于跟氧的结合状态不同导致该最大吸收波长不同, 最好是用它们的吸收频谱的等吸收点 (520、550、570、585nm 附近) 的波长计量血液中的血红蛋白浓度。

30 这样做的话, 能够不依赖于跟氧的结合状态正确地测定血红蛋白量。本实施例中, 虽然选择了等吸收点中吸光度较大的 550nm 波长,

但并不一定限定于此。另外，反射光强度跟红细胞比容值的相关关系也依赖于所用的生物传感器的材料及结构。

另外，使用同样的血液，在经过预定的时间  $t$  秒之后，给测定电极 4 施加 500mV (相对于对电极 6) 的电位，施加 5 秒后测量电流值，  
5 发现电流值随着预先规定的红细胞比容值的增大而降低。根据以上结果确定反射光强度-红细胞比容值-电流值的相互关系，求得校正表。

将使用该校正表和不使用该校正表的结果进行比较，发现使用的情况下，红细胞比容值的影响变小。

上述第 1 实施方式中，虽然通过使用透明 PET 作为盖 8，在样品  
10 供应通道 11 中设置光照部位让光线可以照射到样品，也可以在构成样品供应通道 11 的一部分或全部部材中采用透光性材料。聚对苯二甲酸乙二醇酯等树脂或者玻璃等适合用作透光性材料。

另外，即使作为构成生物传感器的部件不使用透光性材料，也可以通过诸如设置切口部等的方法，设置让光线可以照射到样品的部位。  
15 受光部 18 设在了可以检测散射光或反射光的位置，也可以设在能检测到透射光的位置。

进而，第 1 实施方式中所示的测定装置上进而也可以在光源的光路 L 上设置分光单元，由此获得特定波长的光照。

作为使用上述生物传感器及生物传感器用测定装置可以判定的样品特性，可以举出：样品颜色、粘度以及悬浮固体物含量 (包括不溶物)。通过判定这些特性，就能够测定样品中的特定成分。例如，如果能检测到样品的颜色差异，就能够将例如血糖自测器工作评价用的标准液跟血液区分开。  
20

## 25 产业上的可利用性

综上所述，本发明能够提供一种可以不受样品物理属性影响地在短时间内简便而高精度地测定样品中特定成分的生物传感器用测定装置及特定成分的测定方法。

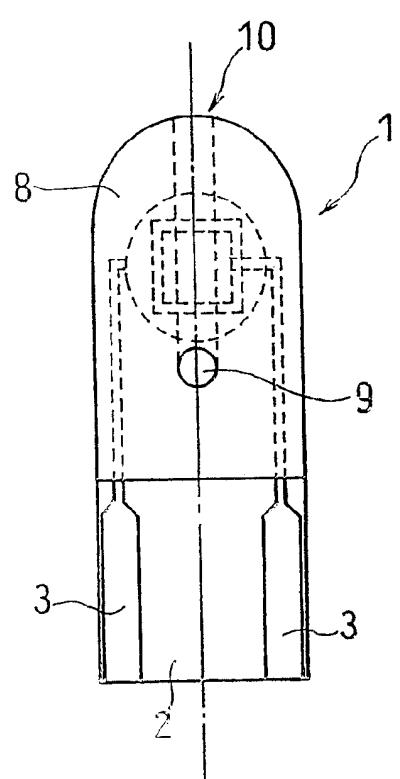


图 1

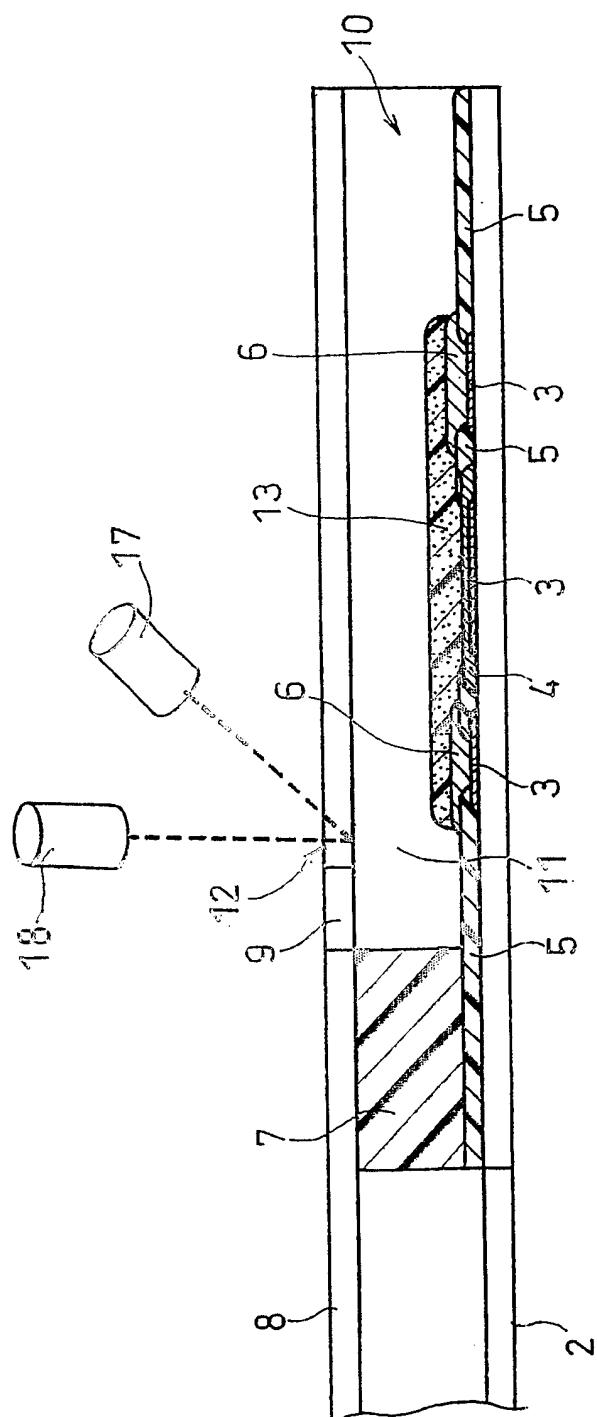


图 2

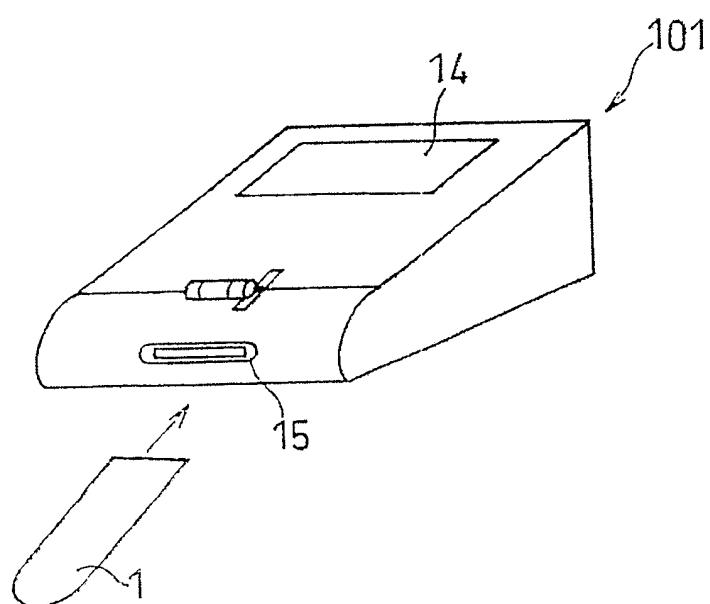


图 3

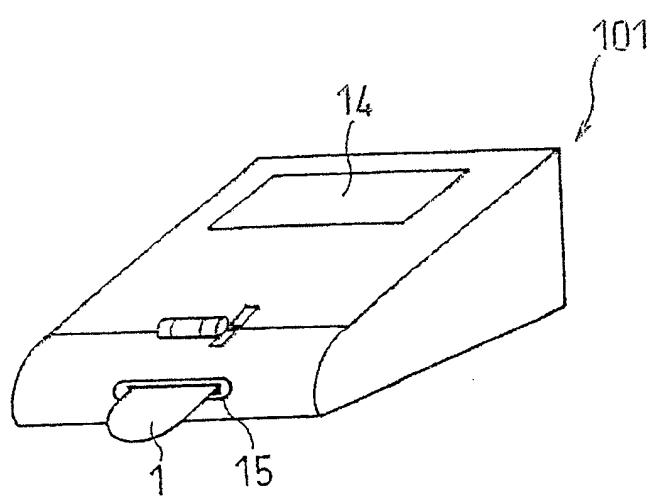


图 4

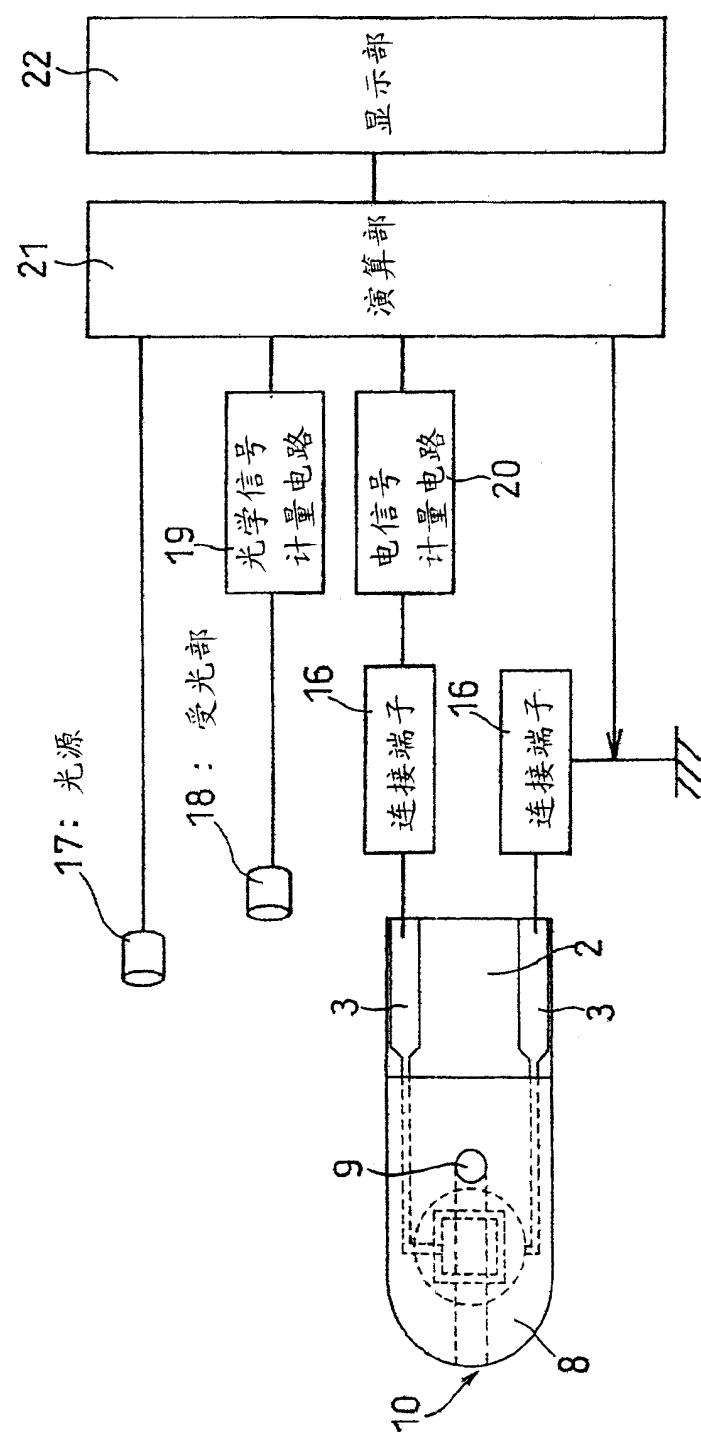


图 5

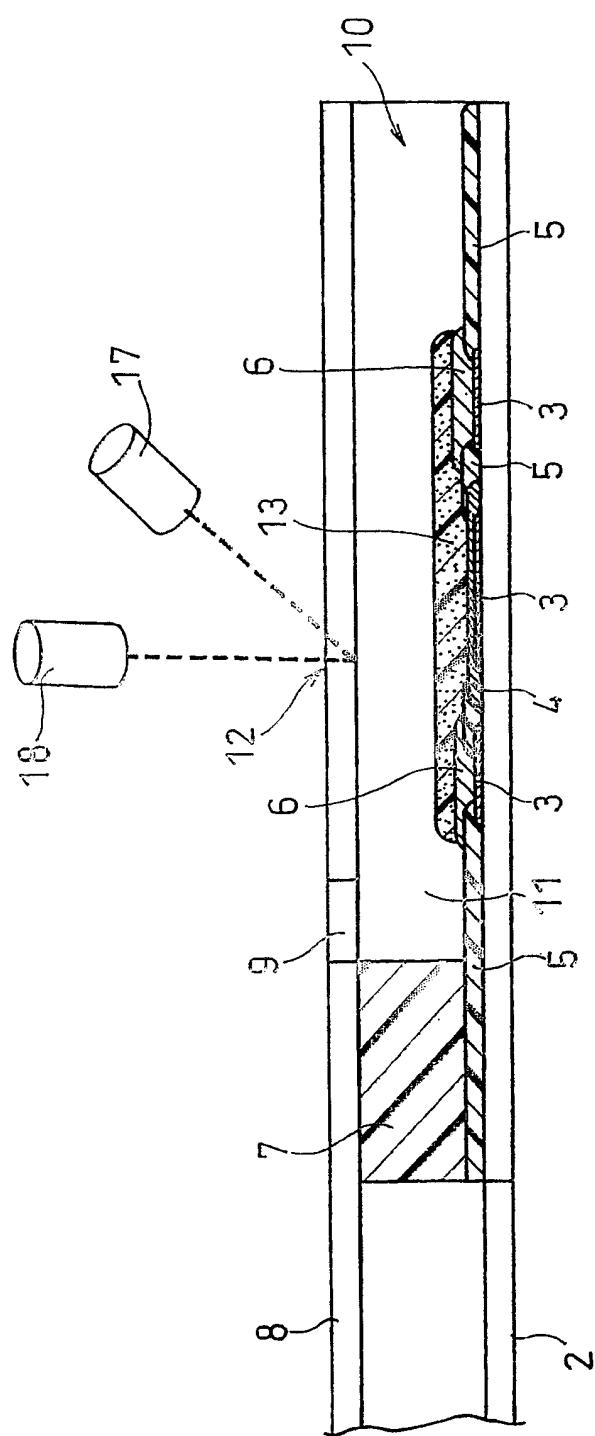


图 6