

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4773428号  
(P4773428)

(45) 発行日 平成23年9月14日 (2011.9.14)

(24) 登録日 平成23年7月1日 (2011.7.1)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 27/416 (2006.01)

GO 1 N 27/46 3 3 8

GO 1 N 27/327 (2006.01)

GO 1 N 27/30 3 5 3 R

GO 1 N 27/26 (2006.01)

GO 1 N 27/30 3 5 3 Z

GO 1 N 27/26 3 7 1 A

請求項の数 18 (全 34 頁)

(21) 出願番号 特願2007-513447 (P2007-513447)  
 (86) (22) 出願日 平成17年5月16日 (2005.5.16)  
 (65) 公表番号 特表2007-537456 (P2007-537456A)  
 (43) 公表日 平成19年12月20日 (2007.12.20)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/017009  
 (87) 国際公開番号 W02005/114164  
 (87) 国際公開日 平成17年12月1日 (2005.12.1)  
 審査請求日 平成20年4月18日 (2008.4.18)  
 (31) 優先権主張番号 60/571,388  
 (32) 優先日 平成16年5月14日 (2004.5.14)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 503106111  
 バイエル・ヘルスケア・エルエルシー  
 アメリカ合衆国ニューヨーク州10591  
 タリータウン・ホワイトプレインズロード  
 555  
 (74) 代理人 100089705  
 弁理士 社本 一夫  
 (74) 代理人 100140109  
 弁理士 小野 新次郎  
 (74) 代理人 100075270  
 弁理士 小林 泰  
 (74) 代理人 100080137  
 弁理士 千葉 昭男  
 (74) 代理人 100096013  
 弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生物学的分析物を分析検査するボルタンメトリーシステム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプル中の分析物の濃度を決定する方法であって、  
 前記サンプルに順方向スキャンと逆方向スキャンとを有する非サイクリックスキャンを  
 印加するステップと、  
 順方向スキャンと逆方向スキャンとにตอบสนองして、変化する電圧を印加するステップと、  
 変化する電圧の関数として電流を測定するステップと、そして  
 電流から前記サンプル中の前記分析物の濃度を決定するステップと、  
 を含む前記方法。

【請求項 2】

順方向スキャンが、逆方向スキャンが終了する電圧とは異なる電圧で開始される、請求  
 項1に記載の方法。

【請求項 3】

非サイクリックスキャンが、以下のもの：  
 電流ピークを逆方向スキャンよりも多く含む順方向スキャン；  
 電流ピークを順方向スキャンよりも多く含む逆方向スキャン；  
 酸化還元対の式量電位E°'から最大±20 mV離れた点で開始する順方向スキャン；  
 酸化還元対の酸化ピークおよび還元ピークを実質的に排除する順方向スキャンおよび逆  
 方向スキャン；  
 の少なくとも1つを含む、請求項1または2に記載の方法。

10

20

## 【請求項 4】

非サイクリックスキャンが、酸化還元対の定常状態領域内に、ともに10～200 mVのスキャン範囲を有する順方向スキャンと逆方向スキャンとを含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 5】

非サイクリックスキャンが、少なくとも25 mVの定常状態領域を含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 6】

スキャンの定常状態領域が、最大±10%の電圧に関する電気化学電流の変化を含む、請求項4または5に記載の方法。

10

## 【請求項 7】

非サイクリックスキャンが、25～400 mVの定常状態領域が提供されるように選択される反転点を含む、請求項4～6のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 8】

非サイクリックスキャンが、反転点から負側に50～500 mVの電位で終了される逆方向スキャンを含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 9】

非サイクリックスキャンが、逆方向スキャンの電流が定常状態電流から少なくとも25%偏移する場合に終了させる逆方向スキャンを含む、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。

20

## 【請求項 10】

接点と、

前記接点と電気接続した状態の電子回路と、

を備える、サンプル中の分析物の濃度を決定するための、測定デバイスであって、

前記電子回路は、電気接続した状態の、電気充電器およびプロセッサとを備え、前記プロセッサは、コンピュータ読み取り可能記憶媒体に電気接続し、

ここで

コンピュータ読み取り可能記憶媒体は、コンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードを含み、前記コンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードは、前記プロセッサによって実行されると、前記接点から測定される電流からサンプル中の分析物の濃度を決定し、そして

30

コンピュータ読み取り可能記憶媒体は、別のコンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードを含み、前記別のコンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードは、前記プロセッサによって実行されると、電気充電器が非サイクリックスキャンを接点を介して印加するようにし、

非サイクリックスキャンは、変化する電圧を印加する順方向スキャンと逆方向スキャンとを有し、そして

ここで前記プロセッサが変化する電圧の関数として接点からの電流を測定する、前記測定デバイス。

## 【請求項 11】

40

順方向スキャンが、逆方向スキャンが終了する電圧とは異なる電圧で開始される、請求項10に記載のデバイス。

## 【請求項 12】

非サイクリックスキャンが、以下のもの：

電流ピークを逆方向スキャンよりも多く含む順方向スキャン；

電流ピークを順方向スキャンよりも多く含む逆方向スキャン；

酸化還元対の式量電位 $E^{\circ}$ から最大±20 mV離れた点で開始する順方向スキャン；

酸化還元対の酸化ピークおよび還元ピークを実質的に排除する順方向スキャンおよび逆方向スキャン；

の少なくとも1つを含む、請求項10または11に記載のデバイス。

50

## 【請求項 13】

非サイクリックスキャンが、酸化還元対の定常状態領域内に、ともに10～200 mVのスキャン範囲を有する順方向スキャンと逆方向スキャンとを含む、請求項10～12のいずれか1項に記載のデバイス。

## 【請求項 14】

非サイクリックスキャンが、少なくとも25 mVの定常状態領域を含む、請求項10～13のいずれか1項に記載のデバイス。

## 【請求項 15】

スキャンの定常状態領域が、最大±10%の電圧に関する電気化学電流の変化を含む、請求項13または14に記載のデバイス。

10

## 【請求項 16】

非サイクリックスキャンが、25～400 mVの定常状態領域が提供されるように選択される反転点を含む、請求項13～15のいずれか1項に記載のデバイス。

## 【請求項 17】

非サイクリックスキャンが、反転点から負側に50～500 mVの電位で終了される逆方向スキャンを含む、請求項10～16のいずれか1項に記載のデバイス。

## 【請求項 18】

非サイクリックスキャンが、逆方向スキャンの電流が定常状態電流から少なくとも25%偏移する場合に終了させる逆方向スキャンを含む、請求項10～17のいずれか1項に記載のデバイス。

20

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

(関連出願の相互引用)

本出願は、2004年5月14日に出願され、参照によりその全体が組み込まれる、「Methods for Using Linear or Cyclic Voltammetry in Assaying Glucose and Other Biological Analytes」という名称の米国仮出願第60/571,388号の利益を主張する。

## 【背景技術】

## 【0002】

30

生物学的流体中の分析物の定量的測定は、生理学的異常の診断および処置において有用である。たとえば、血液などの生物学的流体中のグルコース濃度を決定することは、自分の食事および/または薬を調節するために、自分の血糖値を頻繁にチェックしなければならない糖尿病の個人にとって重要である。

## 【0003】

こうした目的で、電気化学的方法が使用されてきた。電気化学バイオセンサは、全血サンプル中のグルコースの酸化を触媒するために、グルコースオキシダーゼまたはグルコース・デヒドロゲナーゼなどの分析物に特異的な酵素を使用する場合がある。酵素による触媒的酸化中に、酵素の酸化還元中心は分析物から電子を受け取る。

## 【0004】

40

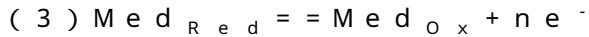
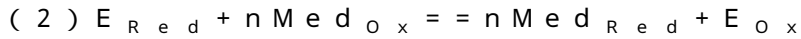
この酸化還元中心は、グルコースオキシダーゼのフラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)、または、グルコース・デヒドロゲナーゼ用のピロロキノリンキノン(PQQ)などの酵素の補因子であってよい。酵素によって取得された電子は、次に、メディエーターによって電極に移動することができ、メディエーターは、酵素の酸化によって、還元形態に変換される。最終的に、フェリシアニド/フェロシアニド酸化還元対のフェロシアニド種などの、還元形態のメディエーターは、電極において酸化されて、測定可能電流が生成される。

## 【0005】

このプロセスは、以下の式で表すことができる。

(1) グルコース + E<sub>ox</sub> = E<sub>red</sub> + 生成物

50



ここで、 $E_{Ox}$  および  $E_{Red}$  は、それぞれ、酵素の酸化還元対の酸化形態および還元形態であり、一方、 $Med_{Ox}$  および  $Med_{Red}$  は、それぞれ、メディエーターの酸化形態および還元形態である。酵素反応の生成物は、グルコン酸またはグルコノラクトンであってよい。

#### 【0006】

生物学的流体中の分析物を定量するのに使用されてきた1つの電気化学的方法は、クーロメトリーである。たとえば、Heller他は、米国特許第6,120,676号において、全血グルコース測定のためのクーロメトリー法を述べた。クーロメトリーにおいて、分析物（グルコース）濃度は、小容積内で分析物を完全に酸化させ、酸化期間にわたって電流を積分して、分析物濃度を表す電荷を生成することによって、定量される。換言すれば、クーロメトリーは、センサストリップ内にグルコースの全量を捕捉する。

10

#### 【0007】

クーロメトリーの重要な態様は、電荷対時間の積分曲線の終わりに向かって、電荷が変化する速度が、比較的一定になって、定常状態条件が生じることである。クーロメトリー曲線のこの定常状態部分は、曲線の比較的平坦なプラトー領域を形成し、そのため、対応する電流の正確な決定が可能になる。しかし、クーロメトリー法では、分析物の全容積の完全な変換を必要とする。結果として、この方法は、時間がかかり、グルコース監視製品などの電気化学デバイスのユーザが要求する迅速な結果を提供しない。クーロメトリーに関する別の問題は、センサセルの小容積が、正確な結果を提供するために、制御されなければならないことであり、これは、大量生産式デバイスに関して難しい場合がある。

20

#### 【0008】

生物学的流体中の分析物を定量するのに使用されてきた別の電気化学的方法は、アンペロメトリーである。アンペロメトリーにおいて、一定電位（電圧）の期間の終わりに、センサストリップの作用電極と対向電極にまたがって電流が測定される。電流を使用して、生物学的サンプル中の分析物が定量される。アンペロメトリーは、電気化学的に活性な種、したがって、分析物が、酸化されるか、または、還元される速度を測定する。バイオセンサのためのアンペロメトリー法の多くの変形形態は、たとえば、米国特許第5,620,579号、第5,653,863号、第6,153,069号、および第6,413,411号に述べられた。アンペロメトリー法は、分析物の拡散速度およびバルク濃度に比例する電流を測定することによって、電極表面の近くの分析物濃度をサンプリングする。

30

#### 【0009】

アンペロメトリー法の欠点は、電位印加後に電流が非定常状態になる性質である。時間に対する電流変化速度は、最初は非常に速く、分析が進むにつれて、底流にある拡散プロセスが変化する性質のために、ゆっくりになる。電極表面における還元されたメディエーターの消費速度が、拡散速度に等しくなるまで、定常状態電流を得ることができない。そのため、非定常状態期間中に電流を測定することは、定常状態期間に行われる測定と比べて、より大きな不正確さを伴う場合がある。

#### 【0010】

40

全血サンプル中の分析物を測定する1つの重要な態様は、ヘマトクリットの影響である。ヘマトクリットは、全血サンプル中の赤血球細胞（RBC）の容積のパーセンテージとして表されたRBCの容積である。全血サンプルについてのヘマトクリット値は、約20～60%の範囲にあり、通常、約40%である。

#### 【0011】

試薬バイオセンサは、電気化学反応によって血液標本内のグルコースを検出することができる任意のシステムを含む。試薬バイオセンサの例は、インディアナ州エルクハート（Elkhart, Indiana）のBayer HealthCare, LLCから入手可能なAscensia AUTODISC（登録商標）およびElite（登録商標）バイオセンサ；イリノイ州アボット公園（Abbott Park, Illinois）のAbbottから入手可能なPrecision（登

50

録商標) バイオセンサ; インディアナ州インディアナポリス (Indianapolis, Indiana) のロッシュから入手可能な Accucheck (登録商標) バイオセンサ; およびカリフォルニア州ミルピタス (Milpitas, California) のLifescanから入手可能な OneTouch Ultra (登録商標) バイオセンサを含む。

【0012】

典型的な電気化学センサストリップは、作用電極、対向電極、および任意選択の第3電極を含む。基準電位は、適切に構成される場合、対向電極によって、または、任意選択の第3電極によって、システムに供給されてもよい。グルコースオキシダーゼまたはグルコース・デヒドロゲナーゼなどの酵素、および、フェリシアニドまたはルテニウムヘキサミンなどのメディエーターを有する試薬層は、バインダとしてのポリマーによって、作用電極上に、または、作用電極と対向電極上に印刷されるか、または、堆積される。

10

【0013】

試薬のバインダとして使用されるポリマーの例は、CMC (カルボキシルメチルセルロース) およびPEO (酸化ポリエチレン) を含む。試薬に対する、種々のタイプおよび分子量のポリマーの添加によって、赤血球細胞のろ過が補助され、赤血球細胞が電極表面を被覆することを防止することができる。

【0014】

好ましくは、センサストリップは、米国特許第6,531,040号、第5,798,031号、および第5,120,420号に記載される技法などの複数の技法を使用して、絶縁基材上に電極を印刷することによって作られる。試薬は、グルコースオキシダーゼなどのグルコース酸化酵素、フェリシアニドなどのメディエーター、酸化ポリエチレン (PEO) などの親水性ポリマー、およびクエン酸緩衝液などの適切な緩衝液の混合物によって、作用電極と対向電極上に共に印刷されることができる。

20

【0015】

あるいは、異なる試薬の化学物質を、2003年10月24日に出願された米国仮特許出願第60/513,817号に記載される方法を使用して、作用電極と対向電極上に、別々に、印刷するか、または、微小堆積することができ、作用電極上の試薬は、酵素、メディエーター、ポリマーを含み、対向電極上の試薬は、メディエーターと同じか、または、異なることができる可溶性酸化還元種およびポリマーを含む。一実施形態では、微小堆積において使用されるポリマーは、カルボキシルメチルセルロースである。

30

【0016】

本発明による試薬バイオセンサを読み取り取るのに使用されてもよい適した卓上電気化学機器の例は、インディアナ州ウェストラファイエット (West Lafayette, Indiana) のBAS Instrumentsから入手可能なBAS 100B分析器; テキサス州オースチン (Austin, Texas) のCH Instrumentsから入手可能なCHインスツルメント分析器; カンザス州ローレンス (Lawrence, Kansas) のCypress Systemsから入手可能なCypress電気化学ワークステーション; およびニュージャージー州プリンストン (Princeton, New Jersey) のPrinceton Research Instrumentsから入手可能なEG&G電気化学機器を含むが、それに限定されない。可搬型機器の例は、Bayer CorporationのAscensia Breeze (登録商標) およびElite (登録商標) メータを含む。

40

【0017】

グルコース用バイオセンサは、酵素とメディエーターが、電極上に堆積されていてもよい。このセンサがグルコースを測定する能力は、RBCが血液サンプル中で関連する試薬の拡散を阻止するときに影響を受ける。アンペロメトリー電流は、還元形態のメディエーターの拡散に直接比例するため、ヘマトクリットは、グルコース測定の精度に著しい影響を及ぼすことになる。全血サンプル中のヘマトクリットレベルに依存して、RBCはグルコースの読み取り値に偏移をもたらす。

【0018】

得られるグルコース測定値に対する全血のヘマトクリットの影響を低減しようとする試みにおいて、種々の方法および技法が提案されてきた。たとえば、米国特許第6,475

50

、372号においてOhara他は、電気化学的グルコース測定におけるヘマトクリットの影響を補償するために、順方向と逆方向の電位パルスからの電流比を使用する方法を開示した。米国特許第5,708,247号および第5,951,836号においてMcAleer他は、電極表面からRBCをろ過し、それによって、ヘマトクリットの影響を低減するための、シリカ粒子を使用した試薬処方を開示した。米国特許第5,628,890号において、Carter他は、ヘマトクリットの影響のために、血液サンプルを分散させるため、メッシュ層と組み合わせて、電極の広い間隔配置を使用する方法を開示した。

#### 【0019】

ヘマトクリットの影響に起因する偏移を低減するこれらの従来の技法は、(a)ヘマトクリットの影響を最小にするためのポリマーの同時堆積、(b)ポリマー層についてのろ過作用を実施するための種々の種類の溶融シリカの添加、(c)順方向と逆方向の電位パルスからの電流比に基づく補償係数、および(d)全血サンプルの既存の溶液抵抗を利用することによる自己補償を含む。これらの方法は有用である場合があるが、従来のグルコースセンサは、ヘマトクリットの影響に起因する著しい分析偏移を示し続ける。

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0020】

したがって、ヘマトクリットの影響による偏移を低減する、生物学的流体中の分析物、特に、全血のグルコース内容物を定量するシステムを提供することが、望ましいはずである。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0021】

一態様では、本発明は、サンプルに非サイクリックスキャンを適用するステップと、サンプル中の分析物の濃度を決定するステップとを含む、サンプル中の分析物の濃度を決定する方法を提供する。

#### 【0022】

別の態様では、本発明は、サンプル中の分析物の濃度を決定するための、手持ち式分析物測定デバイスを提供する。分析物測定デバイスは、センサストリップを受け取るようになっている非サイクリックスキャン式測定デバイスを含む。非サイクリックスキャン式測定デバイスは、電気回路によって、ディスプレイに電気接続する少なくとも2つのデバイス接点を含む。センサストリップは、導体によって、作用電極と対向電極に電気接続した、少なくとも、第1センサストリップ接点と第2センサストリップ接点を含み、第1試薬層は、電極のうちの少なくとも1つの電極上にあり、第1層は、オキシドレダクターゼおよび酸化還元対の少なくとも1つの種を含む。非サイクリックスキャン式測定デバイスとリニア走査式測定デバイスの両方が提供される。

#### 【0023】

別の態様では、本発明は、サンプル中の分析物の濃度を決定する方法を提供し、方法は、サンプルにボルタンメトリー順方向リニアスキャンを適用するステップと、得られる電流を測定するステップと、測定された電流にデータ処理を適用するステップと、サンプル中の分析物の濃度を決定するステップとを含む。

#### 【0024】

別の態様では、本発明は、サンプル中の分析物の濃度を決定するための、手持ち式測定デバイスを提供し、デバイスは、センサストリップを受け取るようになっている。デバイスは、接点と、少なくとも1つのディスプレイと、接点とディスプレイとの間の電気接続を確立する電子回路要素とを含む。電子回路要素は、電気接続した状態の、電気充電器およびプロセッサとを備え、プロセッサは、コンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードを含むコンピュータ読み取り可能記憶媒体に電気接続する。コンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードは、プロセッサによって実行されると、プロセッサが、準積分、微分、および/または準微分データ処理、ならびに/またはボルタンメトリー走査を実施するようにさせる。

## 【 0 0 2 5 】

本明細書および特許請求の範囲の、明瞭でかつ一貫した理解を可能にするために、以下の定義が設けられる。

用語「メディエーター」は、酸化されるか、または、還元されてもよく、1つまたは複数の電子を移動させてもよい物質として定義される。メディエーターは、電気化学分析における試薬であり、対象の分析物ではないが、分析物の間接測定を可能にする。簡単なシステムでは、メディエーターは、分析物の酸化および還元に応答して酸化還元反応を受ける。酸化されるか、または、還元されたメディエーターは、次に、作用電極において反対の酸化還元反応を受け、その元の酸化数に再生される。

## 【 0 0 2 6 】

10

用語「酸化還元反応」は、第1の種から第2の種への少なくとも1つの電子の移動を含む2つの種の間の化学反応として定義される。そのため、酸化還元反応は、酸化と還元を含む。反応の酸化半電池(half-cell)は、第1の種による少なくとも1つの電子の喪失を含み、一方、還元半電池は、第2の種に対する少なくとも1つの電子の付加を含む。酸化される種のイオン電荷は、移動する電子数に等しい量だけ、正側でより大きくなる。同様に、還元される種のイオン電荷は、移動する電子数に等しい量だけ、正側でより小さくなる。

## 【 0 0 2 7 】

用語「酸化還元対」は、異なる酸化数を有する化学物質の2つの共役種として定義される。酸化数の高い種の還元は、酸化数の低い種を生成する。あるいは、酸化数の低い種の酸化は、酸化数の高い種を生成する。

20

## 【 0 0 2 8 】

用語「酸化数」は、原子などの化学種の式量イオン電荷として定義される。たとえば( $\text{III}$ )などの、より高い酸化数は、正側でより大きく、( $\text{I}$ )などの、より低い酸化数は、正側でより小さい。

## 【 0 0 2 9 】

用語「可逆性酸化還元対」は、準積分の順方向スキャンと逆方向スキャンとの間の分離が、 $s_{\text{is}}$  遷移の半分の高さで最大30 mVにある酸化還元種の対として定義される。たとえば、図3Bでは、 $s_{\text{is}}$  遷移高さに加えて、フェリシアニド/フェロシアニド酸化還元対についての順方向準積分スキャンと逆方向準積分スキャンが示される。半分の高さの  $s_{\text{is}}$  遷移線が、順方向スキャン線と逆方向スキャン線に交差する線において、線間の分離は、29 mVであり、示すスキャン速度におけるフェリシアニド/フェロシアニド酸化還元対の可逆性が確立される。

30

## 【 0 0 3 0 】

用語「擬可逆性酸化還元対」は、準積分の順方向スキャンと逆方向スキャンとの間の分離が、酸化還元対についての  $s_{\text{is}}$  遷移の半分の高さで30 mVより大きい酸化還元対として定義される。

## 【 0 0 3 1 】

用語「定常状態」は、電圧に対する電気化学電流が、 $\pm 10\%$ 内または $\pm 5\%$ 内など比較的一定であるときとして定義される。

40

用語「反転点」は、順方向スキャンが停止し、逆方向スキャンが開始されるときサイクリックスキャンまたは非サイクリックスキャンにおける点として定義される。

## 【 0 0 3 2 】

用語「リニアスキャン」は、たとえば、1.0 Vスキャン範囲を設けるために、-0.5 Vから+0.5 Vまでなどで、単一の「順」方向に一定のスキャン速度で電圧が変わるスキャンとして定義される。リニアスキャンは、一連の電位の増分変化により近似することもできる。増分が時間上で非常に接近して起こる場合、増分は連続リニアスキャンに相当する。そのため、リニアな変化を近似する電位変化を適用することは、リニアスキャンと考えてもよい。

## 【 0 0 3 3 】

50

用語「サイクリックスキャン」は、スキャン範囲が酸化還元対の酸化ピークと還元ピークを含むような、リニア順方向スキャンとリニア逆方向スキャンの組み合わせとして定義される。たとえば、 $-0.5\text{ V}$  から  $+0.5\text{ V}$  へ、そして、 $-0.5\text{ V}$  へ戻るように、サイクリックに電位を変えることは、酸化ピークと還元ピークが共にスキャン範囲に含まれる、グルコースセンサで使用されるフェリシアニド/フェロシアニド酸化還元対のためのサイクリックスキャンの例である。

【0034】

用語「非サイクリックスキャン」は、順方向電流ピークまたは逆方向電流ピークを他方の電流ピークよりも多く含むスキャンとして、一態様において定義される。たとえば、 $-0.5\text{ V}$  から  $+0.5\text{ V}$ 、そして、 $+0.25\text{ V}$  に戻るなど、逆方向スキャンが停止する電圧と異なる電圧で順方向スキャンが開始するような、順方向リニアスキャンと逆方向リニアスキャンを含むスキャンは、非サイクリックスキャンの例である。別の例では、スキャンが、酸化還元対の式量電位  $E^0$  から最大  $\pm 20\text{ mV}$ 、 $\pm 10\text{ mV}$ 、または  $\pm 5\text{ mV}$  離れた点で開始するとき、非サイクリックスキャンは実質的に同じ電圧で開始し、終了してもよい。別の態様では、非サイクリックスキャンは、酸化還元対の酸化ピークと還元ピークを実質的に排除する順方向リニアスキャンと逆方向リニアスキャンを含むスキャンとして定義される。たとえば、スキャンは、酸化還元対の定常状態領域内で、開始し、反転し、終了してもよく、したがって、対の酸化ピークと還元ピークが排除される。

【0035】

用語「高速スキャン」および「高速スキャン速度」は、電圧が、最小  $176\text{ mV/秒}$  の速度で変化するスキャンとして定義される。好ましい高速スキャンは、 $200$ 、 $500$ 、 $1000$ 、または  $2000\text{ mV/秒}$  より大きな速度である。

【0036】

用語「低速スキャン」および「低速スキャン速度」は、電圧が、最大  $175\text{ mV/秒}$  の速度で変化するスキャンとして定義される。好ましい低速スキャンは、 $150$ 、 $100$ 、 $50$ 、または  $10\text{ mV/秒}$  より低い速度である。

【0037】

用語「手持ち式デバイス」は、人の手で保持されてもよい、可搬型であるデバイスとして定義される。手持ち式デバイスの例は、Bayer HealthCare (インディアナ州エルクハート (Elkhart, IN)) から入手可能な Ascensia (登録商標) Elite 血液グルコース監視システムを連想させる測定デバイスである。

【0038】

用語「上に (on)」は、「上方に (above)」として定義され、述べられる向きを基準にする (relative to)。たとえば、第1要素が、第2要素の少なくとも一部分を覆って堆積される場合、第1要素は、第2要素の「上に堆積される」と言われる。別の例では、第1要素が、第2要素の少なくとも一部分の上方に存在する場合、第1要素は、第2要素の「上に」とあると言われる。用語「上に」の使用は、述べられている上側要素と下側要素の間における物質の存在を排除しない。たとえば、第1要素は、その上部表面を覆って皮膜を、さらに、第1要素の少なくとも一部分を覆って第2要素を有してもよく、その上部皮膜は、第1要素の「上」にあるとして述べることができる。そのため、用語「上に」の使用は、関連する2つの要素が、互いに物理的に接触していることを意味してもよく、意味しなくてもよい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0039】

電気化学分析システムは、全血のグルコース濃度などの、生物学的流体中の分析物の濃度を決定する。システムは、生物学的サンプルを含むセンサストリップに、ボルタンメトリリニアスキャン、サイクリックスキャン、または非サイクリックスキャンを適用してもよい。ボルタンメトリスキャンは、ストリップに印加される電位 (電圧) を時間に対してリニアに変えながら、センサストリップからの電流 (アンペア) を測定する。デバイスは、得られる電流および電圧データを比較して、サンプル中の分析物の濃度を決定し、



一方、特定の血液サンプルのヘマトクリット含有量の変動について結果を補正する。デバイスはまた、ボルタンメトリーデータを比較し、補正するために、準積分、微分、および準微分に基づく処理を含む、1つまたは複数のデータ処理を適用してもよい。

#### 【0040】

システムは、一般に、全血サンプル中のグルコースの濃度を決定する文脈で述べられる。しかし、システムには、コレステロール、トリグリセリン、乳酸、ピルビン酸、アルコール、ビリルビン、尿酸、NAD(P)H、および一酸化炭素などの分析物が、血漿、尿素、唾液、および間質液を含む生物学的流体中で見出される他の用途がある。

#### 【0041】

##### システム概要

分析物濃度を決定するシステムは、サンプルを含むセンサストリップと、1つまたは複数の走査技法および1つまたは複数のデータ処理を実施する測定デバイスとを含んでもよい。一態様では、本発明は、1つまたは複数のセンサストリップと、分析物の濃度を出力するための、走査技法およびデータ処理を実施する手持ち式電子デバイスとを含むキットであってよい。

#### 【0042】

センサストリップは、作用電極と対向電極とを含んでもよく、任意選択で、参照電極または第3電極を含んでもよい。一態様では、作用電極および対向電極は、Ascensia（登録商標）AUTODISCセンサにおいてなどで、共に印刷/共に堆積することによって、単一試薬層で被覆されてもよい。別の態様では、各電極は、試薬層がその上に存在する電極について最適化された試薬層で被覆されてもよい。作用電極の試薬層は、血液サンプル中のグルコースを酸化する酵素、および、グルコースを酸化することによって還元された後の酵素を再酸化させる酸化還元化合物などのメディエーターを含む。グルコース酸化の酵素反応によって電極に電子を運ぶ、還元されたメディエーターは、作用電極の表面において再酸化する。

#### 【0043】

この再酸化によって、電極およびセンサストリップの導体を通る電子の通過が生じる。センサストリップの導体は、電極間に電圧差を印加する測定デバイスに電気接続する。デバイスは、血液サンプルのグルコース含有量の尺度として、センサを通過する電流を記録してもよい。

#### 【0044】

全血サンプルは、センサストリップに塗布され、血液内のグルコースは、試薬層内の、または、試薬層に非常に接近した酵素と反応する。サンプルから作用電極までの還元されたメディエーターの拡散速度は、作用電極と対向電極との間を通過する電流を制限することがある。

#### 【0045】

##### 走査技法

一定電圧を印加し、一方、時間の関数として電流を測定する従来のアンペロメトリーおよびクーロメトリーと違って、ボルタンメトリー走査は、固定速度(V/秒)で電極にまたがって電位(電圧)を印加すること、および、印加された電位の関数として電流を測定することを含む。ボルタンメトリー走査は、リニア方式、サイクリック方式、または、非サイクリック方式で実施することができる。サイクリックボルタンメトリー走査は、一般に、「サイクリックボルタンメトリー」と呼ばれる。

#### 【0046】

リニアスキャン中に、作用電極の電流を測定し、その間、作用電極の電位は、一定の速度で時間と共に直線的に変化する。 $-0.5\text{ V} \sim +0.5\text{ V}$ などのスキャン範囲は、1つの状態から他の状態への遷移が起こるように、酸化還元対の還元状態と酸化状態をカバーしてもよい。作用電極で測定される電流は、3つの成分、すなわち、平衡電流、拡散電流、および表面電流を有するものと考えることができる。電極上で吸収された任意の種から引き出される可能性がある表面電流は、概して小さく、無視することもできる。平衡電流

10

20

30

40

50

と拡散電流は、得られるボルタモグラムで示される主要成分である。

【 0 0 4 7 】

リニアスキャン・ボルタモグラム（電流対電圧のプロット）は、平衡電流で開始し、ピーク電流に達し、スキャン中に低い電流レベルに減衰するプロットを特徴としてもよい。初期ピーク電流後、測定電流は減衰し、定常状態領域に近づき、定常状態では、電極表面における還元されたメディエーターの酸化は、拡散によって制限された最大速度に達する。そのため、スキャンのこのプラトー領域における定常状態電流は、電極を通過する、拡散によって制限された電流を意味し、拡散によって制限された電流は、血液サンプルのグルコース含有量の尺度として使用することができる。

【 0 0 4 8 】

サイクリックスキャンまたは非サイクリックスキャンについて、順方向スキャンの終了後に、順方向スキャンと実質的に同じスキャン速度で、逆方向電位リニアスキャンが適用される。サイクリックスキャン、場合によっては、非サイクリックスキャンは、印加された電位に関連して、または、電極表面に対する酸化還元種の拡散速度に関連して、還元状態から酸化状態へ（また、その逆）の酸化還元種の遷移を調べてもよい。

【 0 0 4 9 】

リニアスキャンに関連して、サイクリックスキャンおよび非サイクリックスキャンは、スキャンの定常状態（拡散で制限された）部分のよりよい表現を提供する場合がある。サイクリックスキャンおよび非サイクリックスキャンの利点は、高速スキャン速度における擬可逆性酸化還元対による定常状態電流を定量するのに特に有利である場合がある。リニアおよびサイクリックスキャンボルタンメトリーに関するさらなる情報は、A.J. BardおよびL.R. Faulknerによる「Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications」（1980）に見出されてもよい。

【 0 0 5 0 】

非サイクリックスキャンは、サイクリックスキャンに比べて、スキャン時間が短いことおよび測定可能な状態に電気化学的に変換されるメディエーターの量が実質的に少ないことを含む、複数の利点を有することができる。そのため、メディエーターが、分析物にตอบสนองして還元され、測定中に、電気化学的に酸化される場合、酸化されたメディエーターが電気化学的に還元される前に逆方向スキャンを終了させることは、分析物にตอบสนองせずに、サンプル中の還元されたメディエーターの量を減らす。スキャン時間を減らすことによって、分析時間の短縮、ユーザにとっての著しい利益が可能になる場合がある。

【 0 0 5 1 】

図 3 A は、フェリシアニド / フェロシアニド酸化還元対の  $25 \text{ mV} / \text{秒}$  サイクリックスキャンによるデータを、サイクリックボルタモグラムとして示す。ボルタモグラムは、フェロシアニドの酸化を示す  $-0.3 \text{ V}$  から  $+0.6 \text{ V}$  までの正側の電圧スキャン中の順方向スキャンピーク、および、フェリシアニドの還元を示す  $+0.6 \text{ V}$  から  $-0.3 \text{ V}$  までの負側の電圧スキャン中の逆方向スキャンピークが特徴である。順方向および逆方向のスキャンピークは、対向電極を基準とすると、フェロシアニド / フェリシアニド酸化還元対の式量電位  $E^{\circ}$  / ( $-0.05 \text{ mV}$ ) の周りに集中する。この態様では、対向電極の電位は、フェロシアニド、対向電極上に存在する主要な酸化還元種の還元電位によって実質的に決まる。図 3 B は、ボルタモグラムデータの準積分を提示し、このデータ処理方法が未処理データに及ぼす影響を示す。図 3 C は、匹敵する非サイクリックスキャンを示し、逆方向スキャンは、逆方向電流ピークの始動前に終了する。図 3 D は、非サイクリックスキャンの準積分を提示する。

【 0 0 5 2 】

走査プロセスは、電位が、式量電位  $E^{\circ}$  / に対して増加するにつれて、作用電極の近くでの電流を益々大きくする。同時に、電極表面における酸化は、空乏エリア、したがって、電極の近くでの濃度勾配を生成する。この濃度勾配は、さらなるメディエーターが、電極に向かって拡散する駆動力を作る。組み合わせると、これらの力は、分析物によって還元されたメディエーターまたはオキシドレダクターゼが、作用電極へ移動し、再酸化す

10

20

30

40

50

るにつれて、ボルタモグラムにおいて初期順方向ピークを提供する。スキャンが続くにつれて、電流は、減衰し、図 3 A の  $\sim 0.3 \text{ V}$  から  $\sim 0.6 \text{ V}$  の、定常状態領域に近づく。定常状態領域で測定された電流は、還元されたメディエーターの濃度、したがって、血液サンプルのグルコース含有量に関連付けられてもよい。

【 0 0 5 3 】

順方向スキャンおよび逆方向スキャンが開始する電位（スキャン範囲）は、酸化還元対の還元状態と酸化状態にまたがるように選択されてもよいが、スキャン範囲は、分析時間を短縮するように減らされてもよい。しかし、スキャン範囲は、好ましくは、酸化還元対について定常状態領域を含む。たとえば、 $25 \text{ mV} / \text{秒}$  のスキャン速度において、フェロシアニド / フェリシアニド可逆性酸化還元対の還元された [Red] 種および酸化された [Ox] 種の濃度ならびに得られる電極電位は、ネルンストの式によって以下のように記述される。

【 0 0 5 4 】

【数 1】

$$E = E^{\circ'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]} \xrightarrow{T=25^{\circ}C} E^{\circ'} + \frac{0.059}{n} \log \frac{[Ox]}{[Red]} \xrightarrow{n=1} E^{\circ'} + 0.059 \log \frac{[Ox]}{[Red]}$$

【 0 0 5 5 】

作用電極の電位が、それ自体の酸化還元電位を基準にすると、式量電位  $E^{\circ'}$  は、実質的にゼロになり、式は、元の形でなくなり、

【 0 0 5 6 】

【数 2】

$$E = 0.059 \log \frac{[Ox]}{[Red]} = 0.059 \log \frac{[Fe(CN)_6^{3-}]}{[Fe(CN)_6^{4-}]} \quad (1)$$

【 0 0 5 7 】

になる。式 (1) から、酸化されたメディエーターと還元されたメディエーターの比が、10 だけ変化すると、作用電極の電位は、約  $60 \text{ mV}$  だけ変化する。逆もまた真である。そのため、 $10 : 1$ 、 $100 : 1$ 、 $1000 : 1$ 、および  $10,000 : 1$  のフェリシアニド [Ox] とフェロシアニド [Red] の濃度比の場合、作用電極の電位は、ゼロ電位から、それぞれ、約  $60$ 、 $120$ 、 $180$ 、および  $240 \text{ mV}$  離れていることになる。

【 0 0 5 8 】

したがって、フェリシアニドとフェロシアニドの比が、 $\sim 1000 : 1$  であるときに、 $+180 \text{ mV} \sim -180 \text{ mV}$  のスキャン範囲が、作用電極における、還元された種の実質的に完全な酸化を提供するはずである。 $180 \text{ mV}$  において、酸化速度は、還元された形態のメディエーターが、電極表面にどれだけ速く拡散することができるかによって制限され、この電位から順方向に、拡散によって制限される定常状態電流領域が存在する。そのため、反転点が、ゼロ電位から  $\sim 400 \text{ mV}$  に設定される場合、定常状態の  $\sim 200 \text{ mV}$  が設けられてもよい。

【 0 0 5 9 】

可逆性システムの場合、 $400 \sim 600 \text{ mV}$  のスキャン範囲を設けること、したがって、酸化還元対の式量電位  $E^{\circ'}$  の両側に  $200$  から  $300 \text{ mV}$  まで走査することが望ましい場合がある。擬可逆性システムの場合、 $600 \sim 1000 \text{ mV}$  のスキャン範囲を設けること、したがって、酸化還元対の式量電位  $E^{\circ'}$  の両側に  $300$  から  $500 \text{ mV}$  まで走査することが望ましい場合がある。スキャンの定常状態部分が、スキャンのプラトー領域がそれほど広くないところで起こる場合があるため、擬可逆性システムの場合、より大きなスキャン範囲が好ましい場合がある。本質的に、擬可逆性である酸化還元対に加えて、高速スキャン速度によって、低速スキャン速度で可逆性である酸化還元対が、擬可逆性挙動を示す場合がある。そのため、高速スキャン速度における可逆性酸化還元対について、より大きな擬可逆性スキャン範囲を設けることが好ましい場合がある。

## 【 0 0 6 0 】

好ましくは、少なくとも 25、50、100、150、または 300 mV の定常状態領域は、選択されたスキャン範囲によって提供される。別の態様では、サイクリックスキャンまたは非サイクリックスキャンについての反転点は、25 ~ 400 mV、50 ~ 350 mV、100 ~ 300 mV、または 175 ~ 225 mV の定常状態領域が提供されるように選択される。可逆性システムの場合、サイクリックスキャンまたは非サイクリックスキャンについての反転点は、定常状態領域の 180 ~ 260 mV、または 200 ~ 240 mV が提供されるように選択される。擬可逆性システムの場合、サイクリックスキャンまたは非サイクリックスキャンについての反転点は、定常状態領域の 180 ~ 400 mV、または 200 ~ 260 mV が提供されるように選択される。

10

## 【 0 0 6 1 】

反転点が、所望の定常状態領域を提供するように選択されると、逆方向スキャンの継続時間が、非サイクリックスキャンについて選択されてもよい。図 3 E で見てわかるように、約 - 0.025 mV で、順方向スキャンを開始し、逆方向スキャンを終了させることは、逆方向電流ピークより順方向電流ピークを多く含んだ非サイクリックスキャンをもたらした。図 3 E の比較から、サイクリックスキャン (a) および非サイクリックスキャン (b) について得られたピーク電流は異なるが、スキャンの定常状態部分は、特に、逆方向スキャンについてほぼ同様であった。スキャンの準積分が、図 3 F においてプロットされると、逆方向スキャンのプラトー領域の定常状態電流の読み取りがさらに確立され、反転点から最大 50 mV において正確な電流の読み取りが可能になった。

20

## 【 0 0 6 2 】

別の態様では、逆方向スキャンは、図 3 C に示すように、逆方向電流ピークに達する前に終了してもよい。順方向スキャンが、図 3 C の - 0.05 mV などの、酸化還元対の電位範囲の中央に対して、図 3 C の - 0.3 mV などの、十分に負側の電位で開始したとき、順方向スキャンは、酸化還元対の酸化還元電位の全範囲を含んだ。そのため、たとえば、反転点から負側に、50 ~ 500 mV、150 ~ 450 mV、または 300 ~ 400 mV の電位で逆方向スキャンを終了させることによって、逆方向電流ピークは、フェリシアニド / フェロシアニド酸化還元対について排除される。

## 【 0 0 6 3 】

同様に、逆方向スキャン電流が、定常状態電流から所定値だけ偏移するときにスキャンを終了させることによって、逆方向電流ピークに達する前に、逆方向スキャンが、終了させられてもよい。最小 2 %、5 %、10 %、または 25 % の逆方向スキャン電流の変化が、逆方向スキャン電流ピークの開始を指示するのに使用されてもよい。

30

## 【 0 0 6 4 】

図 3 G は、酸化還元対の順方向酸化ピークと逆方向酸化ピークを排除する非サイクリックスキャンを高速サイクリックスキャンと比較する。非サイクリックスキャン速度は、速く (1 V / 秒)、200 mV の開始点と終了点、および 300 mV の反転点を有した。順方向酸化ピークと逆方向酸化ピークを排除する酸化還元対の定常状態領域内の非サイクリックスキャンについての好ましいスキャン範囲は、10 ~ 200 mV、より好ましくは、50 ~ 100 mV である。

40

## 【 0 0 6 5 】

グラフを見てわかるように、非サイクリックスキャンについて記録された電流値は、サイクリックスキャンの電流値より数値的に小さいが、バックグラウンド電流は、非サイクリックスキャンについて、より低い。この有益なバックグラウンド低減は、意外にも、サイクリックスキャンの還元ピーク部分において非サイクリックスキャンを始動させる必要なく得られる。そのため、酸化還元対の定常状態領域内における高速で、かつ、短い非サイクリックスキャンは、信号対バックグラウンド比の低減によって、分析物決定の精度を増加させる場合がある。

## 【 0 0 6 6 】

図 3 H は、図 3 G の 200 ~ 300 mV 非サイクリックスキャンについて準積分と記録

50

された電流値を示す。スキャンの減衰電流は、準積分データ処理によって、定常状態電流プラトーに変換される。準積分の定常状態部分、たとえば、300 mVの電流値は、サンプルの分析物濃度を決定するのに使用されてもよい。

【0067】

サイクリックスキャンおよび非サイクリックスキャンは、リニアスキャンに関して複数の利点を提供してもよい。一態様では、反転点から、逆方向電流ピークが開始する点までの逆方向スキャンの部分は、順方向スキャンの定常状態領域よりも、優れた定常状態領域の表現である場合がある。順方向スキャンが、明瞭な定常状態領域を示さない場合があるため、逆方向スキャンの定常状態領域は、擬可逆性酸化還元システムについて、または、高速スキャン速度において、分析物濃度のより正確な表現である場合がある。この現象は、たとえば、図10Cにおいて観察された。

10

【0068】

#### データ処理

リニア走査、サイクリックスキャン、または非サイクリックスキャンによって、サンプル中の分析物の濃度が決定されてもよい。さらに、分析物濃度測定に対するヘマトクリットの影響が、決定されてもよい。スキャンからのデータは、複数の方法で処理されて、この有用な情報および他の有用な情報が抽出されてもよいが、準積分、微分、および準微分技法が、今のところ好ましい。

【0069】

これらのデータ処理方法の概要が、グルコース分析に関連して以下で述べられるが、電気化学電流についてのこれらのデータ処理および関連するデジタルの実施についてのより徹底的な議論は、Bard, A.J., Faulkner, L.R. 「Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications」1980; Oldham, K.B. 「A Signal-Independent Electrochemical Method」Anal. Chem. 1972, 44, 196; Goto, M., Oldham, K.B. 「Semi-integral Electroanalysis: Shapes of Neopolarograms」Anal. Chem. 1973, 45, 2043; Dalrymple-Alford, P., Goto, M., Oldham, K.B. 「Peak Shapes in Semi-differential electroanalysis」Anal. Chem. 1977, 49, 1390; Oldham, K.B. 「Convolution: A General Electrochemical Procedure Implemented by a Universal Algorithm」Anal. Chem. 1986, 58, 2296; Pedrosa, J.M., Martin, M.T., Ruiz, J.J., Camacho, L. 「Application of the Cyclic Semi-Integral Voltammetry and Cyclic Semi-Differential Voltammetry to the Determination of the Reduction Mechanism of a Ni-Porphyrin」J. Electroanal. Chem. 2002, 523, 160; Klicka, R. 「Adsorption in Semi-Differential Voltammetry」J. Electroanal. Chem. 1998, 455, 253において見出される場合がある。

20

30

【0070】

#### 準積分

ボルタモグラムの準積分は、拡散によって制限された定常状態電流をヘマトクリットによって影響された平衡電流（初期ピーク）から分離してもよい。実験的に得られたボルタンメトリー電流  $i(t)$  の準積分は、以下の数学的形式を有する。

【0071】

40

【数3】

$$\frac{d^{-1/2}}{dt^{-1/2}} i(t) = I(t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \int_0^t \frac{i(u)}{(t-u)^{1/2}} du \quad (2)$$

【0072】

ここで、 $i(t)$  は、スキャン中に得られるボルタンメトリー電流の時間関数であり、 $I(t)$  は、変換および  $i(t)$  の準積分であり、 $u$  は、変換パラメータであり、 $d^{-1/2}/dt^{-1/2}$  は、準積分作用素である。

【0073】

50

十分に高い酸化電位において、定常状態準積分電流は、

$$I_{l i m} = n F A D^{1/2} C \quad (\text{クーロン/秒}^{1/2}) \quad (3)$$

によって与えられる。ここで、 $I_{l i m}$  は、酸化可能な種の表面濃度がゼロであるという条件下での、拡散によって制限された定常状態電流である。準積分電流の単位は、クーロン/秒<sup>1/2</sup>であり、クーロン/秒である、電流を表す従来の単位ではないことに留意されたい。

【0074】

単純にするために、 $I_{l i m}$  は、クーロン/秒<sup>1/2</sup>の単位を持つ、定常状態準積分電流 (S I) と呼ばれる。S I 電流 (クーロン/秒<sup>1/2</sup>) は、電流 (クーロン/秒) からの半ステップ積分に過ぎない。半ステップ積分は、基本的に、クーロメトリーと異なる。その理由は、クーロメトリーでは、電極を通過する全電荷を提供するために、全積分が、 $i-t$  曲線に適用されるためである。

【0075】

式 (2) は、準積分の理論的な定義を与えるが、デジタル処理の場合、 $i-t$  データは、 $t=0$  と  $t=N$  の間の、等間隔で配置された  $N$  個の時間間隔に分割されてもよい。1つのデジタル処理アルゴリズムは、式 (4)

【0076】

【数4】

$$I(k\Delta t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \sum_{j=1}^{j=k} \frac{i(j\Delta t - 1/2\Delta t)\Delta t^{1/2}}{\sqrt{k-j+1/2}} \quad (4)$$

【0077】

によって与えられる。ここで、 $t = k \Delta t$  であり、 $u = j \Delta t$  であり、 $i$  は、各間隔の中央点で決定される。

デジタル処理のための好ましいアルゴリズムは、

【0078】

【数5】

$$I(k\Delta t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \sum_{j=1}^{j=k} \frac{\Gamma(k-j+1/2)}{(k-j)!} \Delta t^{1/2} i(j\Delta t) \quad (5)$$

【0079】

によって与えられる。ここで、 $\Gamma(x)$  は、 $x$  のガンマ関数であり、 $\Gamma(1/2) = \sqrt{\pi}$ 、 $\Gamma(3/2) = \sqrt{\pi}/2$ 、 $\Gamma(5/2) = 3\sqrt{\pi}/4$  などである。

式 (3) から、定常状態準積分電流は、従来のアンペロメトリー法の時間依存因子を欠くことが見てわかる。そのため、準積分電流応答は、従来のアンペロメトリーから得られる連続して変化するアンペロメトリー電流の代わりに、一連のプラトー電流と考えられてもよい。準積分によって、定常状態電流の定量が可能になるため、ピーク電流が定量されるときよりも、より高速なスキャン速度が使用されてもよい。そのため、準積分と組み合わせた、リニア、サイクリック、または非サイクリックボルタンメトリーは、グルコース濃度に応答して定常状態電流を迅速に生成する。こうして、クーロメトリーの長い待ち時間、および、アンペロメトリーにおける電流の非定常状態の性質の欠点が低減される場合がある。

【0080】

式 (3) はまた、準積分と共に使用するために、可逆または擬可逆酸化還元対が好ましいことを示す。この理由は、可逆または擬可逆酸化還元対からの準積分は、還元状態から酸化状態への急峻な遷移 (および逆もまた同様)、および、広い定常状態領域を示すことができ、したがって、遷移をより容易に決定させるからである。フェリシアニド/フェロシアニドならびにルテニウムヘキサミンの +3 および +2 状態は、好ましい可逆挙動 (低速スキャン) または擬可逆挙動 (高速スキャン) を示す酸化還元対の例である。

【0081】

10

20

30

40

50

活性化の低い電極は、たとえ可逆または擬可逆酸化還元対の場合でも、許容可能な定常状態条件を提供しない場合がある。そのため、米国特許 5,429,735 に記載されるような電極活性化手順を使用して、好ましい電極活動が達成されてもよい。

【0082】

#### 準微分

準積分に加えて、ボルタモグラムの準微分もまた、準微分のピークを測定することによって、分析物を定量するのに使用されてもよい。実験的に得られたボルタンメトリー電流  $i(t)$  の準微分は、以下の数学的形式を有する。

【0083】

【数6】

$$\frac{d^{1/2}}{dt^{1/2}} i(t) \quad (6)$$

$$\frac{d^{1/2}}{dt^{1/2}} i(t) = \frac{dI(t)}{dt} = \frac{d}{dt} \left[ \frac{1}{\pi^{1/2}} \int_0^t \frac{i(u)}{(t-u)^{1/2}} du \right], (\text{coul/sec}^{3/2}) \quad (7)$$

【0084】

ここで、 $I(t)$  は、時間関数  $i(t)$  の準積分である。

準微分の一実施態様は、式(7)で先に示したように、準積分の全ステップ微分をとることである。準積分プロットにおいてボルタンメトリースキャンを表すピークおよび定常状態プラトー領域と違って、準微分プロットは、ボルタンメトリースキャンデータを酸化還元対の遷移を中心とするピークに変換する。図4Aは、20%ヘマトクリット全血サンプル中の16mMフェロシアニドの、サイクリックボルタンメトリー、準積分、および準微分を示す。この例では、センサストリップの作用電極は、酵素および酸化されたメディエーターを欠いた。図4Bは、順方向スキャンについてのピーク高さを示す、図4Aの準微分曲線の拡大図である。順方向または逆方向スキャンピーク高さは、サンプルの分析物濃度に関係付けられてもよい。

【0085】

#### ヘマトクリットの影響

ヒトについての標準的なヘマトクリット範囲(RBC濃度)は、20%~60%であり、40%のあたりを中心とする。ヘマトクリットの影響は、YSI Inc. (オハイオ州イエロースプリング (Yellow Spring, Ohio)) から入手可能な YSI 2300 STAT PLUS (商標) などの基準機器から得られる基準グルコース濃度読み取り値と、上述した方法から得られる実験的なグルコース濃度読み取り値との間の差(偏移)を指す。基準の読み取り値と実験的な読み取り値との差は、特定の全血サンプル間の変動するヘマトクリットレベルから生じる。

【0086】

全血サンプル中のグルコース濃度は、異なるヘマトクリットレベルについて同様であるが、アンペロメトリーなどの拡散ベースの分析方法では、ヘマトクリットが高くなればなるほど、測定されるアンペロメトリー電流が低くなる。20、40、および60%の全血ヘマトクリットレベルの場合、得られる電流の読み取り値は、同じグルコース濃度について、20% > 40% > 60%の順序で異なることになる。20%の電流の読み取り値と60%の電流の読み取り値との差は、全血サンプルについて得られるグルコースの読み取り値についてのヘマトクリット偏移スパンを構成する。各全血サンプルについてヘマトクリットレベルの変動によって導入されるグルコース決定の不正確さは、分析における主要な誤差源となる場合がある。

【0087】

たとえば、実験的に得られるグルコースの読み取りが、血漿内のグルコースについて得られる電流の読み取りを参照して行われ、較正法が、サンプル中の40%ヘマトクリット含有量を仮定する場合、20%ヘマトクリットを含む全血サンプルから得られるより高い

10

20

30

40

50

電流の読み取り値は、40%校正線に関して正側の偏移に変換されることになる。同様に、60%ヘマトクリットを含む全血サンプルから得られるより低い電流の読み取りは、40%校正線に関して負側の偏移に変換されることになる。

【0088】

#### ヘマトクリット低減

一態様では、全血をグルコース濃度について分析するときに、濃度決定についてのヘマトクリット偏移を低減するために、低速スキャン速度が、リニア走査、サイクリックスキャン、または非サイクリックスキャン、および準積分と組み合わせられてもよい。図10Aは、低い(25mV/秒)スキャン速度の場合、60%ヘマトクリット(線c)について、準積分の準方向スキャン部分において大きなピークが観察されるが、60%ヘマトクリット(線b)について、小さなピークが観察されることを示す。20%ヘマトクリット線(a)は、有意のピークを欠く。そのため、準積分プロットのピーク部分は、サンプルのヘマトクリット含有量に応答し、ピークの大きさは、ヘマトクリットレベルに定量的に関連してもよい。

10

【0089】

別の態様では、全血をグルコース濃度について分析するときに、濃度決定についてのヘマトクリット偏移を低減するために、リニアスキャン、サイクリックスキャン、または非サイクリックスキャンが、微分データ処理と組み合わせられてもよい。図15A~15Cは、図7A~7Cのサイクリックボルタモグラムの微分を示す。これらの微分プロットは、電圧が増加するときの電流の初期増加と、それに続く減少と、最後に、定常状態領域を示す。ヘマトクリットの影響は、図15A~15Cで、約0.1ボルトに位置する負側のピークにおいて見られてもよく、より高いRBC濃度が、より負側のピーク値として反映される。

20

【0090】

図15Bの微分プロットに示すような正側および負側の微分ピークの値は、濃度依存性であり、負側ピークと正側ピークとの比は、濃度依存性を相殺し、したがって、ヘマトクリット依存性である。この比(HI-DE R)は、濃度に依存せず、かつ、ヘマトクリット依存性であるため、サンプル中のパーセントヘマトクリットを示す。そのため、微分ピークのこの比は、以下でさらに述べるように、分析物決定のためのヘマトクリット補償式を決定するのに使用されてもよい。

30

【0091】

別の態様では、全血が、グルコース濃度について分析されるときに、濃度決定についてのヘマトクリット偏移を低減するために、リニアスキャン、サイクリックスキャン、または非サイクリックスキャンが、準微分データ処理と組み合わせられてもよい。図4C、4D、および4Eは、バックグラウンドボルタモグラムの減算後(0mg/dLグルコース)の、50、100、および40mg/dLグルコースにおける、図7A、7B、および7Cのサイクリックボルタモグラムの順方向リニアスキャン部分からの準微分曲線を示す。

【0092】

図4Fは、各ヘマトクリットレベルにおける基準グルコース濃度に対してプロットされた図4C、4D、および4Eからの準微分電流を示す。20%と40%のヘマトクリット線の重なりは、ヘマトクリットの影響が、より低い(20%)値において実質的になくなったことを立証する。40%ヘマトクリット線と60%ヘマトクリット線との間のヘマトクリット偏移はまた、ボルタモグラムからの不変データの定常状態部分またはボルタモグラムの準積分から得られるヘマトクリット偏移に対して低減された。そのため、準微分データ処理は、本質的に、グルコース決定についてのヘマトクリット補償を可能にする場合がある。

40

【0093】

図4Gは、ボルタモグラムの不変順方向スキャン(LS)、ボルタモグラムデータの準積分(si)、およびボルタモグラムデータの準微分(sd)の比較を示す。グルコース値は、40%ヘマトクリットレベルにおける校正曲線を使用して計算された。プロットを

50



見てわかるように、準微分データは、Y S I 基準機器から得られた線によく対応している。

【 0 0 9 4 】

準積分および準微分データ処理は、ヘマトクリットの影響によって影響を受けた電流スキップの部分の識別および定量を可能にする。そのため、これらのデータ処理は、普通なら、分析物濃度の決定に影響を及ぼすはずである、ヘマトクリット偏移の低減を可能にする。準微分データ処理は、以下でさらに議論するように、補償式がない状態では、普通なら、分析物濃度の決定に影響を及ぼすはずである、ヘマトクリット偏移の低減を可能にする場合がある。

【 0 0 9 5 】

別の態様では、図 1 0 B および 1 0 C の 5 0 0 および 1 0 0 0 m V / 秒のスキャン速度などの、高速スキャン速度は、ヘマトクリット偏移を低減し、全血のグルコース含有量を測定するために、リニア走査、サイクリックスキャン、または非サイクリックスキャン、および、準積分データ処理、微分データ処理、または準微分データ処理と組み合わせられてもよい。高速スキャン速度はまた、スキャン時間がより短いという利益、ユーザにとってのかなりの利益を提供する場合がある。

【 0 0 9 6 】

スキャンの全体の長さが、従来のアンペロメトリーまたは低速スキャンボルタンメトリーの場合と同様に、比較的長いとき、メディエーターの拡散および測定される電流は、サンプルの R B C 含有量によって著しく影響を受けることになる。逆に、スキャン速度が、5 0 0 m V / 秒などの高速である場合、- 2 0 0 m V 開始点から、4 0 0 m V 終了点に達するのに必要とされる時間は、1 . 2 秒である。同様に、1 0 0 0 m V / 秒スキャン速度で 0 . 6 秒後に、または、2 0 0 0 m V / 秒スキャン速度で 0 . 3 秒後に、4 0 0 m V 終了点に達してもよい。そのため、最大 3 秒、1 . 5 秒、1 秒、または 0 . 5 秒の総スキャン時間が、数学的に除去することなく、濃度測定に関するヘマトクリット偏移を低減する場合がある。

【 0 0 9 7 】

分析物濃度を決定すること

図 5 は、水溶液のグルコース濃度が増加するときの、サイクリックボルタモグラムに関する作用を示す。0 m g / d L のグルコース濃度を表す線 ( 線 a )、1 0 0 m g / d L のグルコース濃度を表す線 ( 線 b )、2 0 0 m g / d L のグルコース濃度を表す線 ( 線 c )、4 0 0 m g / d L のグルコース濃度を表す線 ( 線 d )、および 6 0 0 m g / d L のグルコース濃度を表す線 ( 線 e ) が示される。走査速度は、2 5 m V / 秒であった。図 6 は、準積分データ処理による準積分電流への変換後の、図 5 からのスキャンデータを提示する。そのため、各グルコース濃度の差は、図 6 の X 軸から明らかである。

【 0 0 9 8 】

サイクリックボルタモグラムの形状は、全血サンプルが走査されるにつれて変わることになる。サイクリックボルタモグラムは、ヘマトクリットおよびグルコース濃度と共に変わるボルタンメトリー電流、特に、定常状態部分 ( 図 7 A ~ 7 C の 0 . 3 ~ 0 . 4 V ) に近い電流の変位を示すことになる。変化は、図 7 A ~ 7 C において見ることができ、ボルタモグラムは、それぞれ、5 0 m g / d L ( 7 A )、1 0 0 m g / d L ( 7 B )、および 4 0 0 m g / d L ( 7 C ) のグルコース濃度について、また、同様に、グルコース濃度のそれぞれについて、2 0、4 0、および 6 0 % のヘマトクリット ( それぞれ、曲線 a、b、および c ) について示される。走査速度は、2 5 m V / 秒であった。ヘマトクリットの影響の観点から予想されるように、サンプル中のヘマトクリットのパーセンテージが高ければ高いほど、同じグルコース濃度についての読み取り値は大きい。サイクリックスキャンの対応する準積分プロットは、図 8 A ~ 8 C として示され、定常状態電流間の変位は、円で強調されている。図 7 D ~ 7 F および図 8 D ~ 8 F は、類似の非サイクリックスキャンについての、スキャンデータおよび対応する準積分を提示する。

【 0 0 9 9 】

走査は、 $-600\text{ mV} \sim +600\text{ mV}$ の範囲にわたって実施されてもよいが、好ましいスキャン範囲は、バイオセンサにおいて使用される酸化還元対（メディエーター）に依存する。概して、測定デバイスは、製造段階の間に、走査される範囲をプログラムされることになる。

#### 【0100】

図9A～9Cは、 $400\text{ mg/dL}$ のグルコースを含む血液サンプルについて、それぞれ、 $25\text{ mV/秒}$ 、 $500\text{ mV/秒}$ 、および $1000\text{ mV/秒}$ の走査速度についての結果を示す。スキャン速度が、図9Aの $25\text{ mV/秒}$ から、図9Bの $500\text{ mV/秒}$ および図9Cの $1000\text{ mV/秒}$ に増加するにつれて、最初にヘマトクリットによって影響を受けたピークが減少する。さらに、ピーク電流値は、サンプルのヘマトクリット値（aは20%、bは40%、cは60%ヘマトクリット）に関連し、ヘマトクリットのより大きなパーセントは、概して、低速スキャン速度におけるピーク電流からの速い減衰に関連付けられる。

10

#### 【0101】

図9A～9Cのボルタモグラムに対応する準積分プロットは、それぞれ、図10A～10Cに示される。 $25\text{ mV/秒}$ の図10Aのスキャンにおいて、円で囲んだ反転点を見てわかるように、20%、40%、および60%ヘマトクリット線の定常状態電流は、Y軸に関して分離された。スキャン速度は、図10Bの $500\text{ mV/秒}$ および図10Cの $1000\text{ mV/秒}$ に増加するにつれて、20%、40%、および60%ヘマトクリット線のY軸分離は減少する。そのため、スキャン速度が増加するにつれて、スキャンのヘマトクリットに影響を受けた部分が減少する。

20

#### 【0102】

図11A～11Cは、図9A～9Cの実験結果に基づく図10A～10Cの準積分線と、各サンプルの基準グルコース濃度との相関を示す。YSI機器からの基準グルコース濃度値（X軸）は、各ヘマトクリットパーセンテージについての準積分電流（Y軸）と比較された。予想されるように、図11Aの $25\text{ mV/秒}$ スキャンは、ヘマトクリットの影響に起因する最も大きな偏移を示し、一方、図11Bおよび11Cのより速い $500\text{ mV/秒}$ および $1000\text{ mV/秒}$ スキャンは、それぞれ、より小さい偏移を示す。

#### 【0103】

準積分プロットにおける、ピーク電流値と定常状態電流値との比は、ヘマトクリット指数（HI）を基準にしてもよい。ヘマトクリット指数（HI）は、図12に示すように、準積分電流ピーク（ $i_p$ ）を、準積分電流定常状態値（ $i_{ss}$ ）で割ったものとして定義されてもよい。計算されたヘマトクリット指数（HI）は、サンプルの実際の%-ヘマトクリット含有量に関係付けられて、図13Aに示す相関線を得られた。微分データ処理に関して先に議論したように、HI-DE R比はまた、相関線を得るのに使用されてもよい。

30

#### 【0104】

準積分データ処理について、図13Aに示すような、相関線の傾斜または切片と傾斜を記述する補償式が、次に、決定されてもよい。補償式が決定されると、ヘマトクリットの影響を補償された、サンプルのグルコース濃度は、定常状態電流値などの所望の電流値を式に引き入れることによって決定されてもよい。そのため、準積分データ処理についてのピーク電流値と定常状態電流値との比、または、微分データ処理についての負側ピークと正側ピークとの比は、ヘマトクリットの影響に起因する分析偏移を補正するのに使用されてもよい。

40

#### 【0105】

図13Bは、ヘマトクリット補償を使用した、固定電流における種々のグルコース濃度についての傾斜と%-ヘマトクリットとの相関を示す。グラフを見てわかるように、図13Aの曲線を記述するために決定された補償式は、WBサンプルの隠されたヘマトクリット含有量に無関係に、電流とグルコース濃度との実質的にリニアな相関を提供する。図14は、本発明のセンサシステムから得られた、複数の補償済みと未補償のグルコース読み

50

取り値を、Y S I 基準機器から得られた値と比較する。

【 0 1 0 6 】

以下の例は、本発明の 1 つまたは複数の好ましい実施形態を示すために提供される。本発明の範囲内に入る、いくつかの変形を以下の例に対して行うことができる。

【実施例 1】

【 0 1 0 7 】

センサストリップの調製

図 1 A ~ 1 B を参照すると、電気化学センサストリップ 1 0 を調製するために、電極 1 2 および 1 4 は、米国特許第 5 , 7 9 8 , 0 3 1 号および第 5 , 1 2 0 , 4 2 0 号に記載される技法を使用してなどで、絶縁材料の基板上に形成された。ポリカーボネートストリップ 1 6 上にスクリーン印刷することによって、銀ペースト 1 8 が堆積された。このペーストは、電極 1 2 および 1 4 の電気接点 2 0 a および 2 0 b ならびに下部層 1 8 を形成するために、あるパターンで印刷された。

10

【 0 1 0 8 】

図 1 B では、各電極の上部層、グルコースオキシダーゼ（または P Q Q - G D H グルコース・デヒドロゲナーゼ）およびメディエーターとしてのフェリシアニドの試薬層 2 6 および 2 8 を形成するために、導電性カーボンを含むインクおよびバインダが、パターン 2 2 および 2 4 でスクリーン印刷することによって塗布された。作用電極および対向電極 1 2 および 1 4 は、それぞれ、 $1 \text{ mm}^2$  および  $1.2 \text{ mm}^2$  の表面を有し、電極は、約 0 . 2 5 mm 離れている。図 2 A では、アクリレート修飾ポリウレタンを含む誘電体層 3 0 が、基板上に堆積された。電極の下部層は、次に、UV 放射によって硬化させられた。

20

【 0 1 0 9 】

図 2 B を参照すると、乾燥後に、基部は、蓋 3 2 に接合されて、センサストリップ 1 0 が形成された。蓋の構築は、米国特許第 5 , 7 9 8 , 0 3 1 号に記載されるように実施された。ポリウレタン水分散体の皮膜溶液が、ポリカーボネートストリップの一方の面上に塗られ、乾燥させられた。ストリップは、窪みエリア 3 4 を形成するためにエンボスすること、および、穴 3 6 を穿孔することによって、蓋内に形成された。蓋と基部とを位置合わせし、接触させることによって、蓋が基部に接合され、それに続いて、構造の周囲に沿う接触エリアに熱が加えられた。

【 0 1 1 0 】

完成した電気化学センサは、電極の活性を増加させるために、米国特許第 5 , 4 2 9 , 7 3 5 号に記載される手順を使用して活性化された。

30

【実施例 2】

【 0 1 1 1 】

分析の実施

図 2 C は、電気回路 2 1 0 およびディスプレイ 2 3 0 に電気接続した接点 2 2 0 を含む測定デバイス 2 0 0 の略図である。一態様では、測定デバイス 2 0 0 は、手で保持され、センサストリップを受け取るようになっている。別の態様では、測定デバイス 2 0 0 は、センサストリップを受け取り、ボルタンメトリー走査を実施するようになっている手持ち式測定デバイスである。別の態様では、測定デバイス 2 0 0 は、センサストリップを受け取り、非サイクリックスキャンを実施するようになっている手持ち式測定デバイスである。

40

【 0 1 1 2 】

接点 2 2 0 は、電気回路 2 1 0 、ならびに、図 1 A に示すセンサストリップ 1 0 の接点 2 0 a および 2 0 b などのセンサストリップの接点との電気接続を提供するようになっている。電気回路 2 1 0 は、電気充電器 2 5 0 、プロセッサ 2 4 0 、およびコンピュータ読み取り可能記憶媒体 2 4 5 を含んでもよい。電気充電器 2 5 0 は、ポテンショスタットなどであってよい。そのため、充電器 2 5 0 は、充電器 - 記録器として機能するために、得られる電流を記録しながら、接点 2 2 0 に電圧を印加してもよい。

【 0 1 1 3 】

50

プロセッサ 240 は、充電器 250、コンピュータ読み取り可能記憶媒体 245、およびディスプレイ 230 に電気接続してもよい。充電器が、電流を記録するようになっていない場合、プロセッサ 240 は、接点 220 の電流を記録するようになっていてもよい。

#### 【0114】

コンピュータ読み取り可能記憶媒体 245 は、磁気メモリ、光メモリ、半導体メモリなどのような任意の記憶媒体であってよい。コンピュータ読み取り可能記憶媒体 245 は、固定メモリデバイス、または、取り外し可能メモリカードなどの取り外し可能メモリデバイスであってよい。ディスプレイ 230 は、数値読み取り値を表示するようになっている、アナログまたはデジタルディスプレイ、一態様では、LCD ディスプレイであってよい。

10

#### 【0115】

サンプルを含むセンサストリップの接点が、接点 220 に電気接続すると、プロセッサ 240 は、サンプルにボルタンメトリースキャンを適用し、したがって、分析を開始するように、充電器 250 に指示してもよい。プロセッサ 240 は、たとえば、センサストリップの挿入、前に挿入されたセンサストリップに対するサンプルの適用、または、ユーザ入力に応答して分析を開始してもよい。

#### 【0116】

ボルタンメトリースキャンの実施に関する命令は、コンピュータ読み取り可能記憶媒体 245 に記憶されたコンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードによって提供される。コードは、オブジェクトコード、または、本アプリケーションで記述される機能を記述するか、または、制御する任意の他のコードであってよい。スキャンから得られるデータは、プロセッサ 240 で 1 つまたは複数のデータ処理を受け、分析物濃度などの結果が、ディスプレイ 230 に出力される。走査命令の場合と同様に、コンピュータ読み取り可能記憶媒体 245 に記憶されたコンピュータ読み取り可能ソフトウェアコードからのデータ処理は、プロセッサ 240 によって実施されてもよい。

20

#### 【実施例 3】

#### 【0117】

#### サイクリックボルタンメトリーおよび準積分

100 mg / dL 水性グルコース溶液は、Ascensia AUTODISC (登録商標) センサ内に導入された。25 mV / 秒のスキャン速度を有するサイクリックスキャンが、CH Instruments のポテンショスタットを使用してセンサストリップに適用された。サイクリックボルタモグラム (CV) が、図 3 A にプロットされ、一方、その準積分 (si) が、図 3 B としてプロットされた。データは、対向電極の電位 (フェリシアニド) に対する走査電位の関数としてプロットされた。図 3 B は、さらに、準積分プロットにおける定常状態電流のプラトーを示し、たとえば、0.2 V と 0.4 V と間の定常状態プラトー領域の差は、実質的にゼロであったが、-0.15 V における、定常状態プラトーと、順方向電流ピーク (sis) との差は、比較的大きかった。

30

#### 【0118】

この準積分データ処理、ならびに、どこか他で述べられる微分データ処理および準微分データ処理に使用される式は、CH Instruments の電気化学ワークステーション、model CHI 660 A を伴う、2004 年 4 月 26 日に改定された電気化学ワークステーションパッケージ version 4.07 によって実施された。

40

#### 【実施例 4】

#### 【0119】

#### 高いグルコース濃度の影響

図 5 では、それぞれ、a ~ e で表示された 0、100、200、400、および 600 mg / dL のグルコースを含む水性グルコース溶液を装填された Ascensia AUTODISC (登録商標) に、サイクリックスキャンが適用された。図を見てわかるように、各グルコース濃度についてのピークは、グルコース濃度が増加するにつれて、上昇し、より高電位にシフトした。図 6 は、図 5 のサイクリックボルタモグラムについての対応す

50

る準積分を示す。グルコース濃度がゼロにて、準積分電流は、実質的にゼロであった。

【実施例 5】

【0120】

WB サンプル中のグルコースのサイクリックボルタンメトリー、低速スキャン

2003 年 10 月 24 日に出願された米国仮特許出願第 60 / 513, 817 号に全体が記載されるように、作用電極と対向電極上に異なる試薬層を有するセンサストリップが構築された。約 22%  $K_3Fe(CN)_6$ 、0.7% ベントン、1.5% CMC から作られるが、活性成分を含まないフェリシアニド層が、対向電極上に堆積された。16.8 ユニット/ $\mu L$  PQQ - GDH、250 mM フェリシアニド、1.8% CMC、64 mM リン、および 64 mM NaCl の試薬溶液から作られた層が、作用電極上に堆積された。50 mg/dL グルコースおよび 20%、40%、または 60% ヘマトクリット (図 7 A ~ 7 C においてそれぞれ a ~ c で表示される) を含む全血サンプルが、センサストリップ内に導入された。

10

【0121】

60% ヘマトクリットサンプル (c) からのピーク電流は、最も高かったが、20% (a) および 40% (b) ヘマトクリットを含むサンプルとほぼ同じ定常状態電流に最も速く減衰した。50 mg/dL 濃度を含む 60% ヘマトクリット全血サンプルについての電流減衰プロセスは、それぞれ、100 および 400 mg/dL 濃度についての図 7 B および 7 C において観察された電流減衰プロセスと同様である。60% ヘマトクリット全血サンプルにおいて、グルコース濃度が増加すると、20% および 40% ヘマトクリットサン

20

【実施例 6】

【0122】

サイクリックボルタモグラムの準積分

サイクリック電流および非サイクリック電流は、サンプルのグルコース濃度を定量するのに直接使用されてもよいが、これらのボルタモグラムの準積分は、サンプルのグルコース濃度を表すための好ましい値を提供する。図 8 A、8 B、および 8 C に提示される準積分は、図 7 A、7 B、および 7 C から得られた。20% 全血サンプル (a) からの準積分は、実質的に平坦であり、プラトーにおいて事実上全くピークを持たないことに留意されたい。ヘマトクリットレベルが増加するにつれて、40% ~ 60% ヘマトクリット (b、c) からのピークが、益々顕著になった。同様に、グルコース濃度が増加するにつれて、20%、40%、および 60% ヘマトクリットの 3 つの定常状態電流は、さらに分離された。準積分から得られる 0.3 V での定常状態電流は、3 つのヘマトクリットについての較正曲線を構築するのに使用された。

30

【実施例 7】

【0123】

WB サンプル中のグルコースのサイクリックボルタンメトリー、高速スキャン

20%、40%、および 60% ヘマトクリットレベルの全血グルコースを使用して、高速スキャンサイクリックボルタンメトリーを行うのに、例 4 で述べたセンサストリップが使用された。図 9 A、9 B、および 9 C は、それぞれ、0.025 V/秒、0.5 V/秒、および 1 V/秒 スキャン速度における、400 mg/dL グルコースを含む全血のサイクリックボルタモグラムである。0.025 V/秒 スキャン速度におけるボルタモグラムについて、0.3 V のボルタンメトリー電流間に大きな偏移が存在したが、スキャン速度の増加に伴って、この偏移は減少した。これらのサイクリックボルタモグラムの準積分は、図 10 A、10 B、および 10 C に示される。同じグルコース濃度における、各ヘマトクリットパーセンテージについての定常状態電流は、スキャン速度が増加するにつれて、一緒に合流した。最初の電流ピークは、高速スキャン速度で実質的に減少した。

40

【実施例 8】

【0124】

WB サンプル中のグルコースの非サイクリックボルタンメトリー、高速の短いスキャン

50

400 mg / d L グルコースおよび 20、40、または 55 %ヘマトクリットを含む全血サンプルが、それぞれ、3つのセンサストリップに適用された。約 6 秒待った後に、高速 (1 V / 秒) 非サイクリックスキャンが、0.2 V から 0.3 V まで、そして、もとの 0.2 V まで適用された。図 3 H に関して先に述べたように、スキャンから準積分電流を決定した後、0.3 V における、非サイクリックスキャン電流値および対応する準積分電流値を使用して、3つの WB サンプルのそれぞれにおいてグルコース濃度が決定された。

【0125】

図 17 A ~ 17 B は、それぞれ、記録された電流値と準積分電流値についての適用量応答プロットを示す。記録された電流値に関連して、図 17 B の準積分データ処理は、ヘマトクリットの影響に起因する、20 % サンプルと 55 % サンプルとの間の分析偏移のわずかな低減を提供した。図 17 C は、非サイクリックスキャンから得られるグルコース濃度値の精度を、0.025 V / 秒の低速スキャン速度を有するサイクリックスキャンから得られるグルコース濃度値の精度と比較する。非サイクリックスキャンから得られる濃度値は、より長いサイクリックスキャンから得られる濃度値に比べて、基準 Y S I 機器から得られる濃度値により近い。

【実施例 9】

【0126】

異なるスキャン速度における  $s_i$  電流の校正曲線

20 %、40 %、および 60 %ヘマトクリット線からの準積分電流を使用して、図 11 A、11 B、および 11 C に示す、0.025 V / 秒、0.5 V / 秒、および 1 V / 秒のスキャン速度について、校正曲線が構築された。センサストリップは、例 4 のセンサストリップと同様である。0.025 V / 秒のスキャン速度では、図 11 A において試験された全血サンプルの 3 つのヘマトクリットについて、3 つの明瞭な線が観察された。スキャン速度が、0.025 V / 秒から 0.5 V / 秒 (図 11 B) へ増加するにつれて、3 つの校正曲線は、接近し、1 V / 秒 (図 11 C) において、ほぼ合流した。この例は、全血サンプル中のグルコース測定が、WB サンプルのヘマトクリットの影響を回避する場合があることを実証した。

【実施例 10】

【0127】

準積分からヘマトクリット指数を定義すること

図 8 A ~ 8 C から、ヘマトクリットレベルと電流ピークの高さとの間の関係が存在する。ピーク高さと定常状態電流 ( $s_i$ ) との比は、グルコース濃度に関係である。この特性を使用して、全血サンプルのヘマトクリットレベルが示されてもよい。

【0128】

図 12 は、準積分から得られる、ピーク電流と定常状態電流との比としてヘマトクリット指数 (HI) を定義する。以下の表は、50、100、および 400 mg / d L 全血グルコース、ならびに、20 %、40 %、および 60 %ヘマトクリットにおける、準積分のピーク電流とプラトー電流を記載する。

【0129】

10

20

30

【表 1】

ピーク電流及びプラトー電流 (si)						
WB グルコース	20%		40%		60%	
mg/dL	ピーク	プラトー	ピーク	プラトー	ピーク	プラトー
50	34.69	34.31	36.94	32.79	42.25	31.74
100	44.4	43.88	45.22	40.76	44.58	33.44
400	92.34	93.46	94.74	89.16	70.74	56.71
ヘマトクリット指数 (HI) : ピーク／プラトー比						
	20%	40%	60%			
50	1.01	1.13	1.33			
100	1.01	1.11	1.33			
400	0.99	1.06	1.25			
平均	1.00	1.10	1.30			
標準偏差	0.014	0.033	0.049			
%-CV	1.35	3.01	3.75			

## 【実施例 11】

## 【0130】

## WB グルコースについての測定偏移の補償

全血 % - ヘマトクリットは、図 13A に示すように、ヘマトクリット指数についての校正曲線として、ヘマトクリット指数 (HI) 値に対してプロットされた。同時に、図 11A からの 3 つのヘマトクリットレベルにおけるグルコース校正線の傾斜が、図 13B に示すように、WB % - ヘマトクリットに対してプロットされた。電流信号からグルコース値を計算するのに、40 %ヘマトクリットにおける単一の傾斜 (および切片) を使用する代わりに、% - ヘマトクリット依存曲線が使用された。これは、以下の方法で達成された。

(a) 図 12 からなど、準積分からのピーク電流およびプラトー電流が得られた後、ヘマトクリット指数 (HI) 値が計算された。

(b) この HI 値を使用して、WB サンプルの % - ヘマトクリット値が、図 13A から見出された。

(c) この % - ヘマトクリット値を使用して、ヘマトクリット依存である近似校正傾斜が、図 13B から決定された。同様な方法は、ヘマトクリット依存切片を見出すのに使用されてもよい。

(d) (c) からの傾斜 (および切片) を使用して、si 電流がグルコース値に変換された。

図 14 は、こうした補償手順の最終結果を示し、未補償グルコース読み取り値は、ダイヤモンドとして示され、一方、補償済みデータ点は、開いた四角形として示される。精度の改善は、特に、高いグルコース濃度において明らかである。

## 【実施例 12】

## 【0131】

## サイクリックボルタモグラムの微分

ヘマトクリット値は、スキャン中のピーク電流に続く場合がある電流減衰プロセスによって識別されてもよい。この特徴は、図 7A、7B、および 7C に示され、電流減衰は、60 %ヘマトクリット全血において最も速い。この特徴はまた、スキャンからのボルタメトリー電流の微分をとることによって表されてもよい。図 15A ~ 15C は、20 %、40 %、および 60 %ヘマトクリットパーセンテージに関して、50 mg / dL、100 mg / dL、および 400 mg / dL におけるサイクリックボルタモグラムの微分を示す

。微分曲線の最も大きな負側のピークは、図 7 A ~ 7 C のサイクリックボルタモグラムの最も速い電流減衰を表す。そのため、微分ダイアグラムのピーク高さを使用して、全血におけるヘマトクリットの影響による分析偏移が補償されてもよい。一態様では、準積分電流について、例 9 で議論された方法と同様の、図 1 6 A ~ 1 6 C に示す方法が使用された。

【 0 1 3 2 】

図 1 6 A は、20、40、および 60 % ヘマトクリットにおいて、グルコース濃度に対する 0.3 ボルトの定常状態領域での CV 電流のプロットを示す。これは、準積分について図 1 1 A と同様であり、ヘマトクリットの増加に伴う電流の発散 (divergence) を示す。図 1 6 B は、図 1 5 A ~ 1 5 C の % - ヘマトクリットに対する、負側ピークと正側ピークとの平均比のプロットを示す。この比は、この場合、準積分電流ではなく、電圧に対する電流の微分を使用した、ヘマトクリット指数の別の定義である。図 1 6 C は、% - ヘマトクリットに対して、図 1 6 A の曲線の傾斜を示す。準積分についての手順と同様の手順で、電圧に対する電流の微分が得られ、正側ピークに対する負側ピークを使用して、ヘマトクリット指数 (H I - D E R) が定義された。H I - D E R を使用して、図 1 6 B から % - ヘマトクリットが決定された。次に、図 1 6 C を使用して、% - ヘマトクリットについて、測定されたグルコース含有量が補正された。図 1 6 D は、ボルタンメトリーによって得られた電流の微分を使用した、ヘマトクリットの影響の補正を示した。

【 0 1 3 3 】

本発明の種々の実施形態が述べられたが、本発明の範囲内で、他の実施形態および実施態様が可能であることが、当業者には明らかになるであろう。したがって、本発明は、添付特許請求の範囲およびその等価物に照らして制限される以外には制限されない。

【図面の簡単な説明】

【 0 1 3 4 】

【図 1】図 1 A は、典型的なセンサストリップの作用電極と対向電極の平面図である。図 1 B は、典型的なセンサストリップの作用電極と対向電極の端面図である。

【図 2 A】図 1 A ~ 1 B のセンサストリップの外表面図である。

【図 2 B】図 1 A ~ 1 B のセンサストリップの外表面図である。

【図 2 C】測定手段の略図である。

【図 3 A】センサシステムからのサイクリックボルタモグラムを示すグラフである。

【図 3 B】図 3 A のサイクリックボルタモグラムに相当する準積分のグラフである。

【図 3 C】逆方向電流ピークが始動する前に逆方向スキャンが終了する、非サイクリックスキャンを示す図である。

【図 3 D】非サイクリックデータの準積分を示す図である。

【図 3 E】サイクリックスキャンを非サイクリックスキャンと比較する図であり、非サイクリックスキャンの順方向スキャンが、酸化還元対についての式量電位  $E^0$  の近くで開始したことを表している。

【図 3 F】図 3 E の準積分電流を比較する図である。

【図 3 G】非サイクリックスキャンが、定常状態領域で重なった状態のサイクリックスキャンを示す図である。

【図 3 H】図 3 G の非サイクリックスキャンについて、準積分と記録された電流値とを比較する図である。

【図 4 A】20 % ヘマトクリット全血サンプル中の 16 mM フェロシアニドのサイクリックボルタモグラム、準積分、および準微分を示す図である。

【図 4 B】図 4 A の準微分曲線の拡大図である。

【図 4 C】図 7 A のサイクリックボルタモグラムの順方向リニアスキャンからの準微分を示す図である。

【図 4 D】図 7 B のサイクリックボルタモグラムの順方向リニアスキャンからの準微分を示す図である。

【図 4 E】図 7 C のサイクリックボルタモグラムの順方向リニアスキャンからの準微分を



示す図である。

【図 4 F】図 4 C ~ 4 E からの準微分電流を示す図である。

【図 4 G】ボルタモグラムの不変順方向スキャン ( L S )、ボルタモグラムデータの準積分 ( s i )、およびボルタモグラムデータの準微分 ( s d ) からの計算されたグルコース値の比較を示す図である。

【図 5】水性溶液内の種々のグルコース濃度の影響を示す一組のサイクリックボルタモグラムである。

【図 6】図 5 のボルタモグラムの準積分電流を示す図である。

【図 7 A】全血内のヘマトクリットパーセンテージとグルコース濃度の変化の影響を示すサイクリックボルタモグラムである。

【図 7 B】全血内のヘマトクリットパーセンテージとグルコース濃度の変化の影響を示すサイクリックボルタモグラムである。

【図 7 C】全血内のヘマトクリットパーセンテージとグルコース濃度の変化の影響を示すサイクリックボルタモグラムである。

【図 7 D】全血内のヘマトクリットパーセンテージとグルコース濃度の変化の影響を示す非サイクリックボルタモグラムである。

【図 7 E】全血内のヘマトクリットパーセンテージとグルコース濃度の変化の影響を示す非サイクリックボルタモグラムである。

【図 7 F】全血内のヘマトクリットパーセンテージとグルコース濃度の変化の影響を示す非サイクリックボルタモグラムである。

【図 8 A】図 7 A の準積分電流を示す図である。

【図 8 B】図 7 B の準積分電流を示す図である。

【図 8 C】図 7 C の準積分電流を示す図である。

【図 8 D】図 7 D の準積分電流を示す図である。

【図 8 E】図 7 E の準積分電流を示す図である。

【図 8 F】図 7 F の準積分電流を示す図である。

【図 9 A】ヘマトクリットの影響に対する種々の走査速度の影響を示すサイクリックボルタモグラムである。

【図 9 B】ヘマトクリットの影響に対する種々の走査速度の影響を示すサイクリックボルタモグラムである。

【図 9 C】ヘマトクリットの影響に対する種々の走査速度の影響を示すサイクリックボルタモグラムである。

【図 10 A】図 9 A のサイクリックスキャンに相当する準積分電流を示す図である。

【図 10 B】図 9 B のサイクリックスキャンに相当する準積分電流を示す図である。

【図 10 C】図 9 C のサイクリックスキャンに相当する準積分電流を示す図である。

【図 11 A】図 9 A の実験結果に基づく図 10 A の準積分線と、各サンプルの基準グルコース濃度との相関を示す図である。

【図 11 B】図 9 B の実験結果に基づく図 10 B の準積分線と、各サンプルの基準グルコース濃度との相関を示す図である。

【図 11 C】図 9 C の実験結果に基づく図 10 C の準積分線と、各サンプルの基準グルコース濃度との相関を示す図である。

【図 12】ヘマトクリット指数を決定するのに使用されてもよい、準積分電流ピークおよび準積分電流定常状態値を示す図である。

【図 13】図 13 A は、全血のヘマトクリット含有量に関するヘマトクリット指数の相関を示す図である。図 13 B は、図 11 A から導出される % - ヘマトクリットに対する電流 / グルコース (  $\mu A / mg / dL$  ) の較正線の傾斜を示す図である。

【図 14】ヘマトクリット指数を使用して、ヘマトクリットについて、グルコース含有量 (  $mg / dL$  ) を補正する作用を示す図である。

【図 15 A】電圧に対してプロットされた図 7 A からの順方向スキャンの微分電流を示す図である。

10

20

30

40

50

【図 1 5 B】電圧に対してプロットされた図 7 B からの順方向スキンの微分電流を示す図である。

【図 1 5 C】電圧に対してプロットされた図 7 C からの順方向スキンの微分電流を示す図である。

【図 1 6 A】20、40、および60%ヘマトクリットにおける、グルコース濃度に対する0.3ボルトの電流のプロットである。

【図 1 6 B】図 1 5 に示す、負側ピークと正側ピークとの比に対する% - ヘマトクリットのプロットである。

【図 1 6 C】% - ヘマトクリットに対する図 1 6 A の曲線の傾斜のプロットである。

【図 1 6 D】微分電流を使用した、ヘマトクリットについてのグルコース含有量の補正の作用を示す図である。

10

【図 1 7 A】非サイクリックスキンの、それぞれ、記録された電流値と準積分電流値についての適用量応答プロットを示す図である。

【図 1 7 B】非サイクリックスキンの、それぞれ、記録された電流値と準積分電流値についての適用量応答プロットを示す図である。

【図 1 7 C】非サイクリックスキンから得られるグルコース濃度値の精度を、低速スキン速度を有するサイクリックスキンから得られるグルコース濃度値の精度と比較する図である。

【図 1 A】

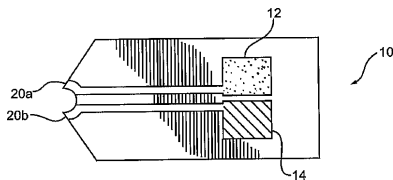


Fig.1A

【図 1 B】

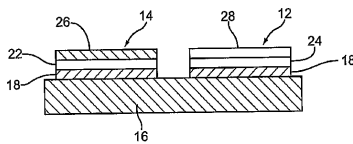


Fig.1B

【図 2 A】

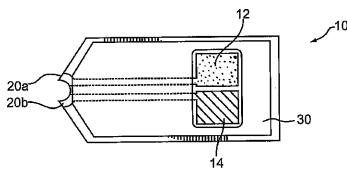


Fig.2A

【図 2 B】

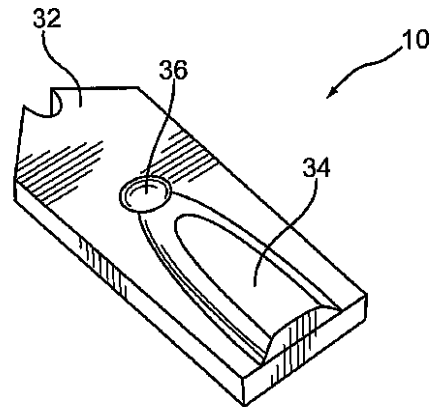
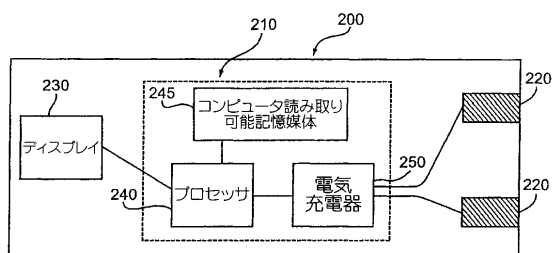
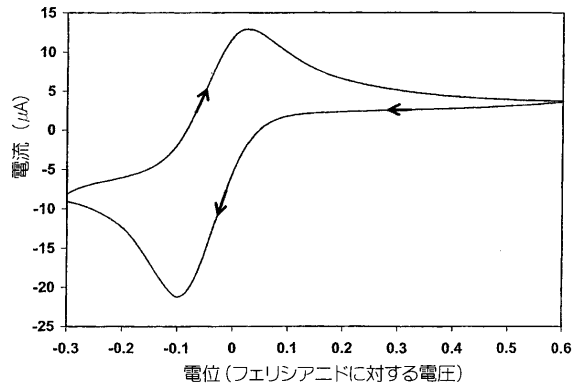


Fig.2B

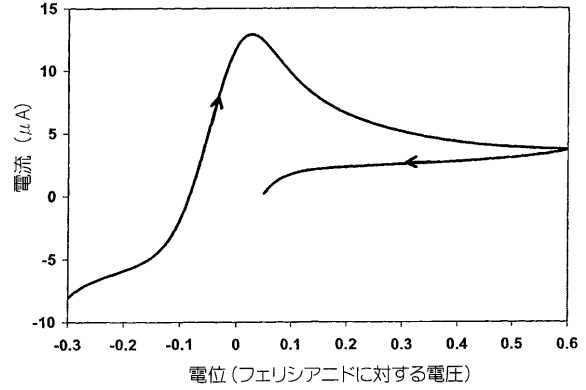
【図 2 C】



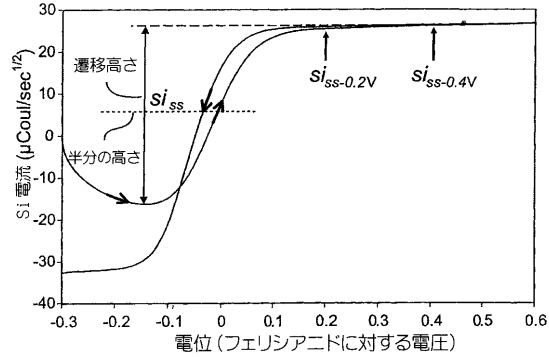
【図 3 A】



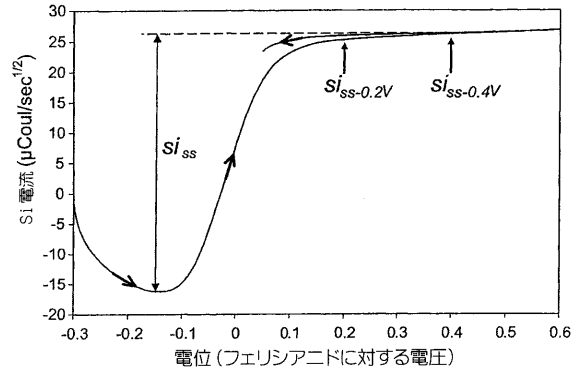
【図 3 C】



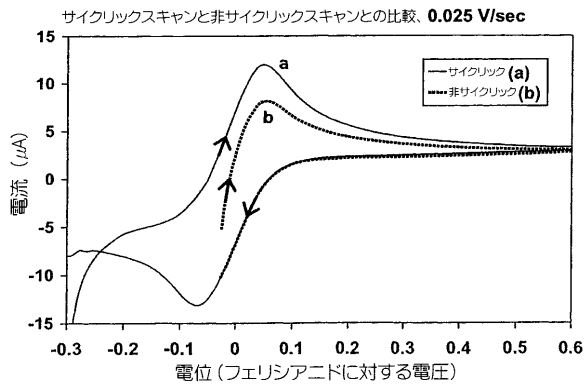
【図 3 B】



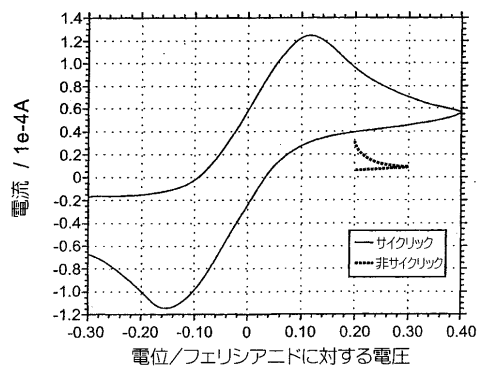
【図 3 D】



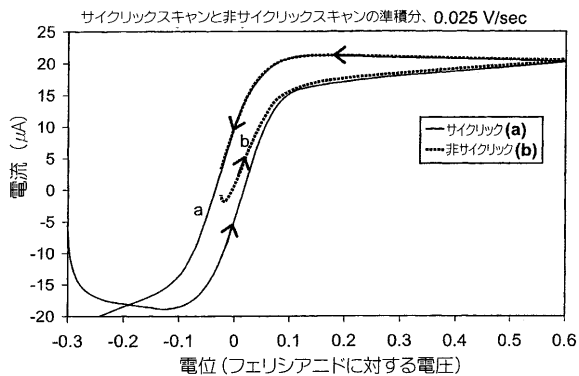
【図 3 E】



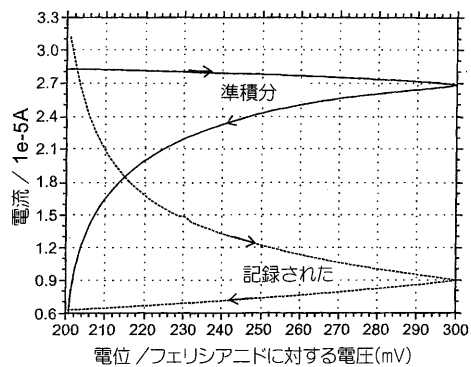
【図 3 G】



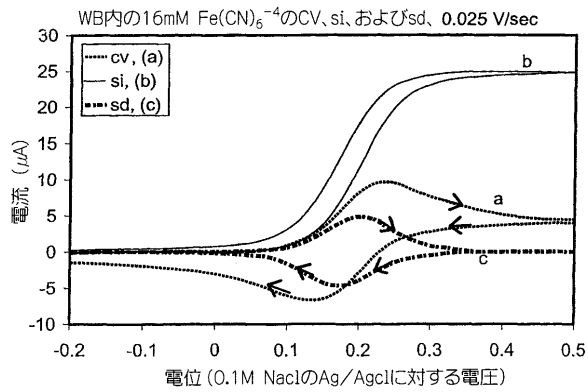
【図 3 F】



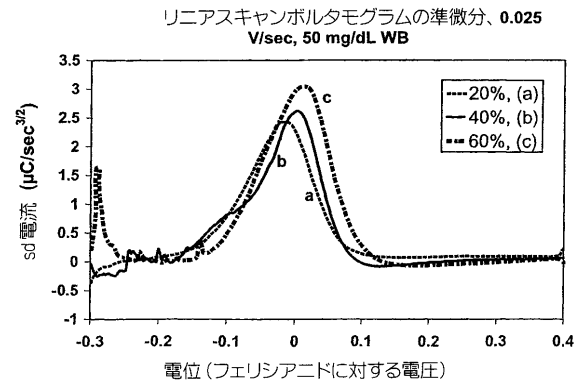
【図 3 H】



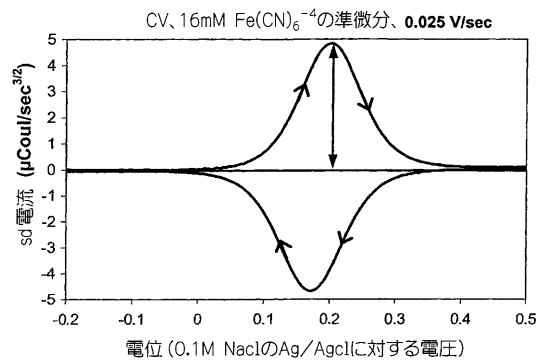
【図 4 A】



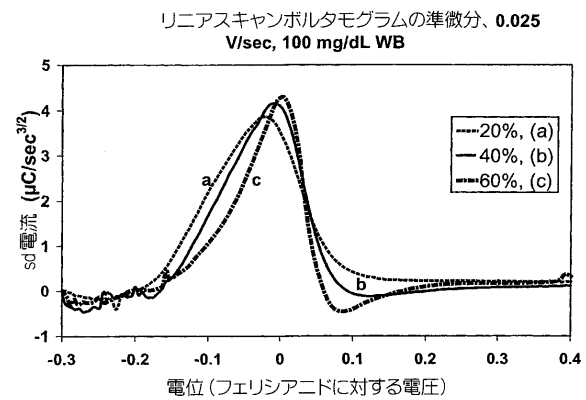
【図 4 C】



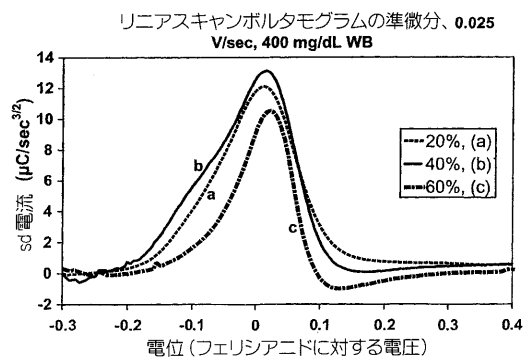
【図 4 B】



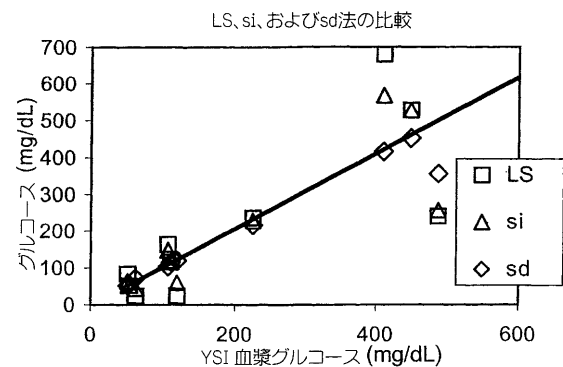
【図 4 D】



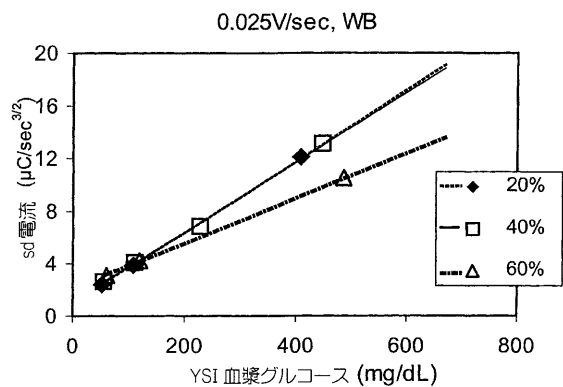
【図 4 E】



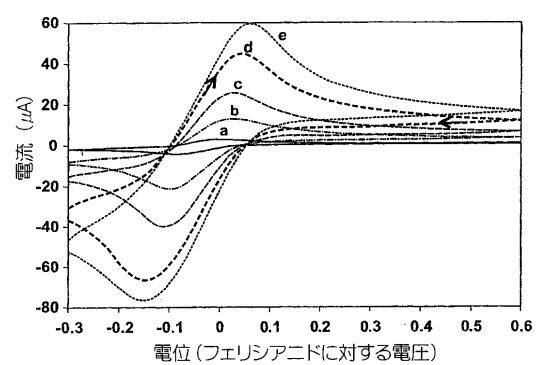
【図 4 G】



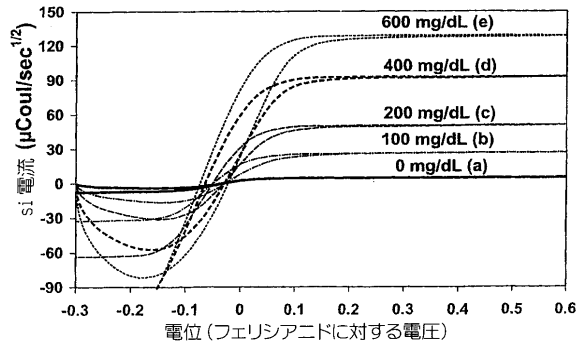
【図 4 F】



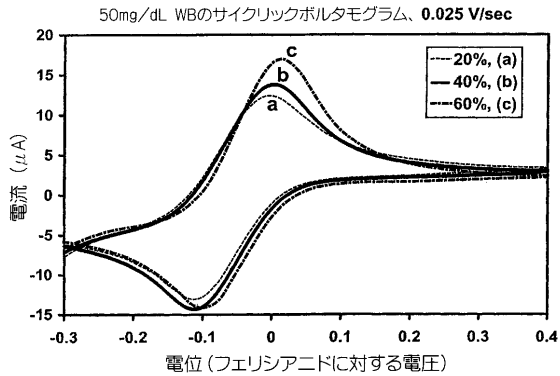
【図 5】



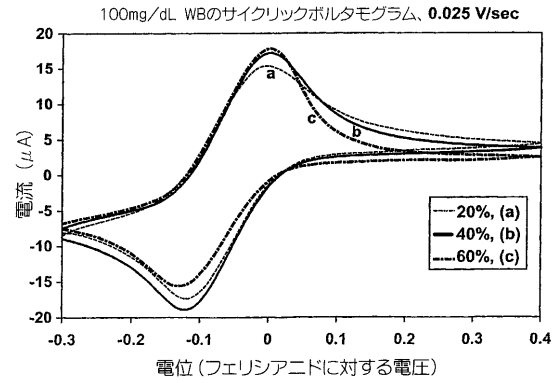
【図 6】



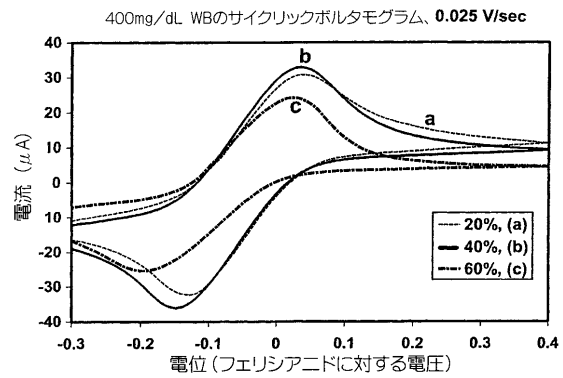
【図 7 A】



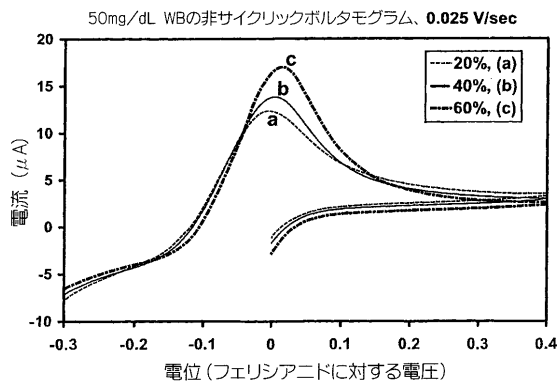
【図 7 B】



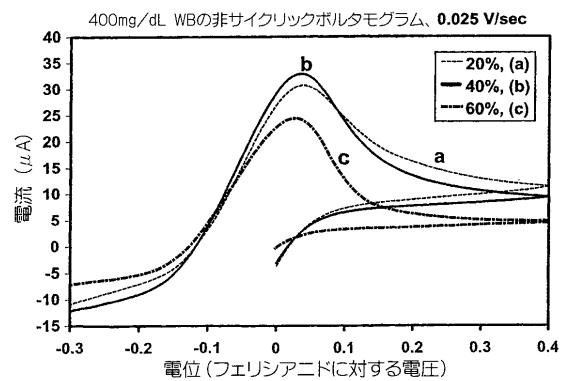
【図 7 C】



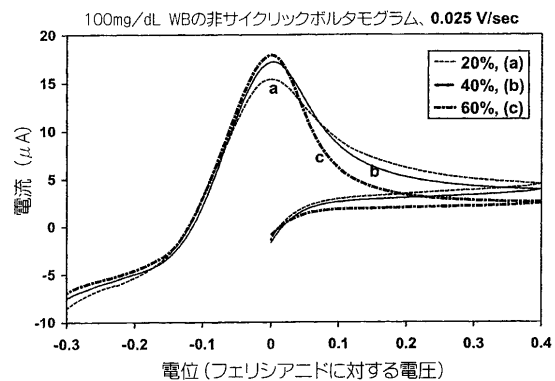
【図 7 D】



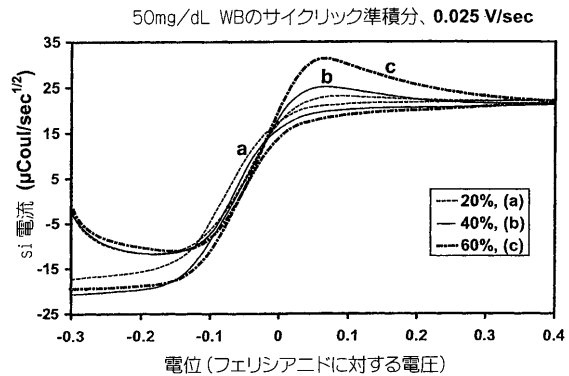
【図 7 F】



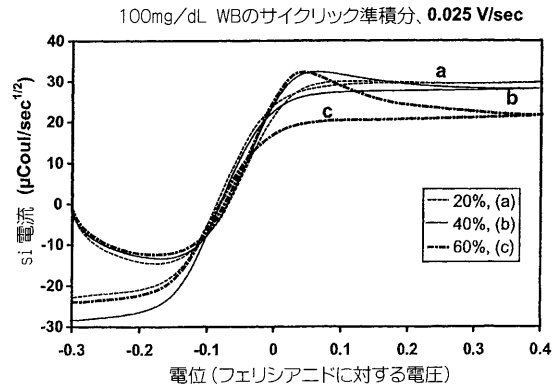
【図 7 E】



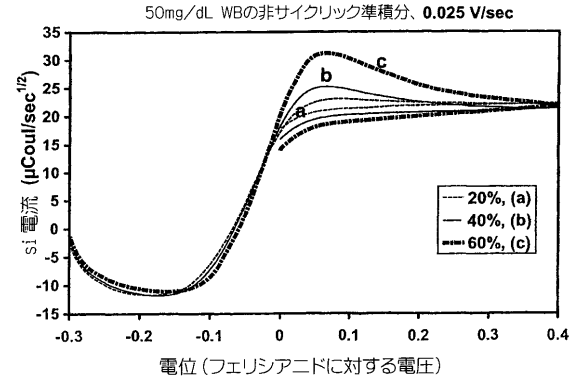
【図 8 A】



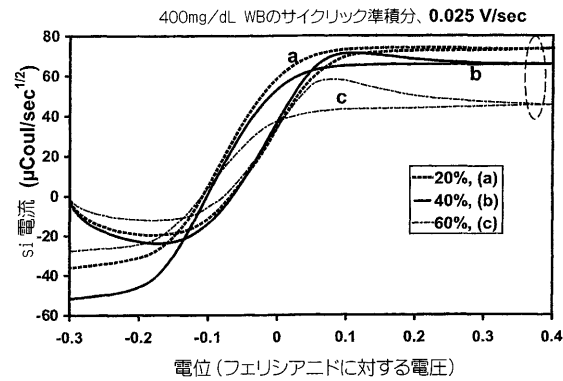
【図 8 B】



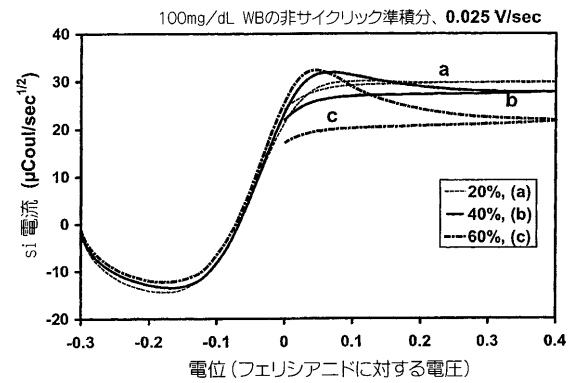
【図 8 D】



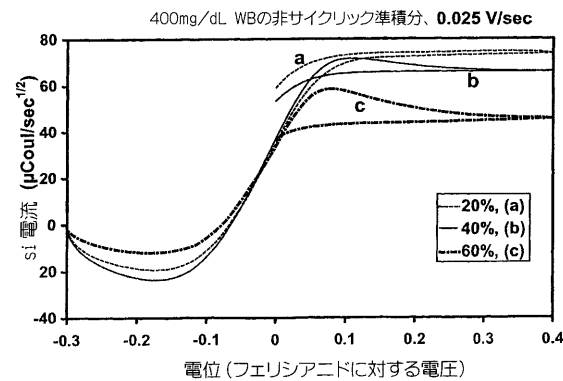
【図 8 C】



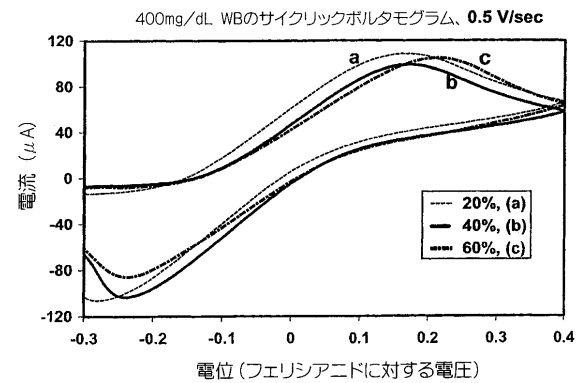
【図 8 E】



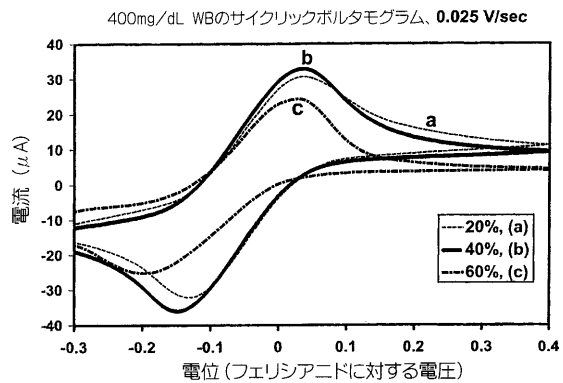
【図 8 F】



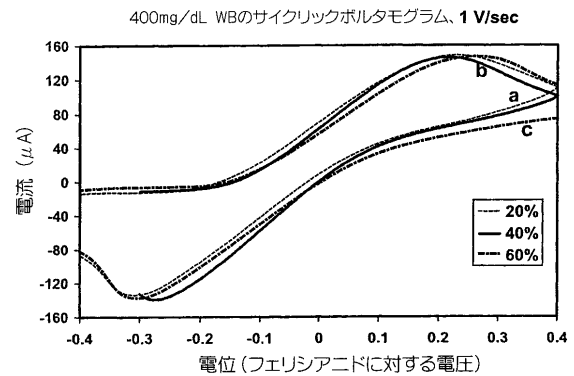
【図 9 B】



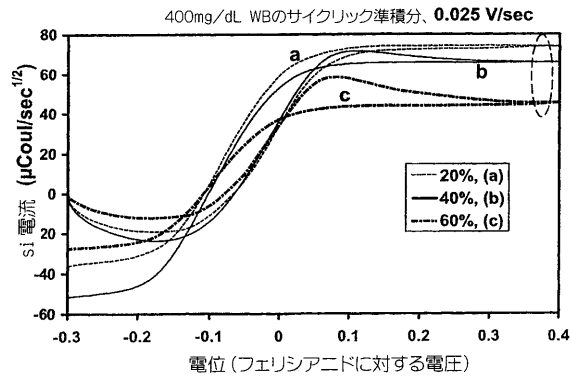
【図 9 A】



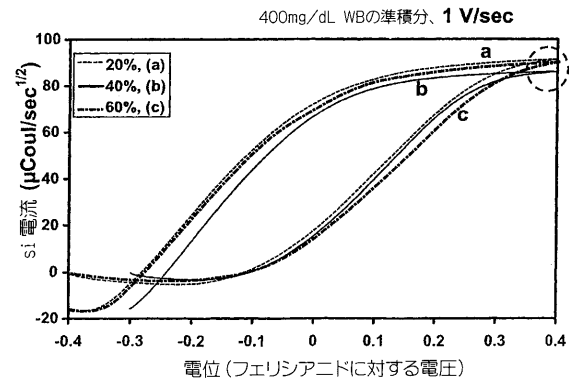
【図 9 C】



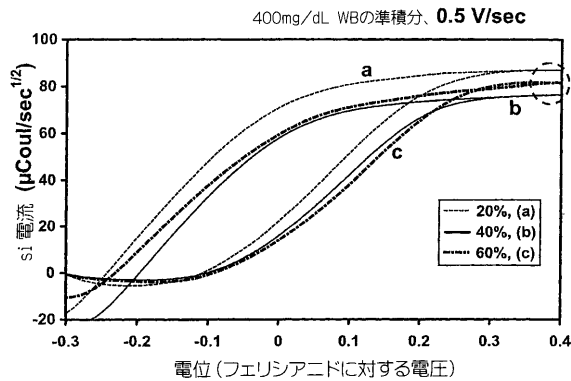
【図10A】



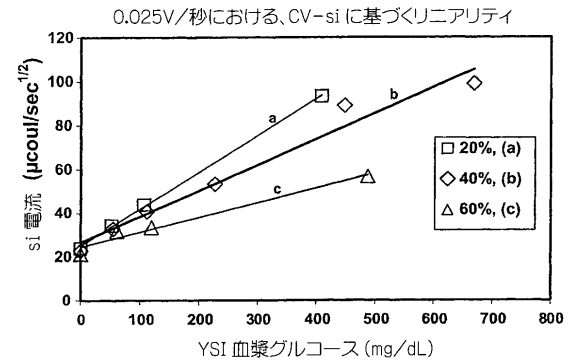
【図10C】



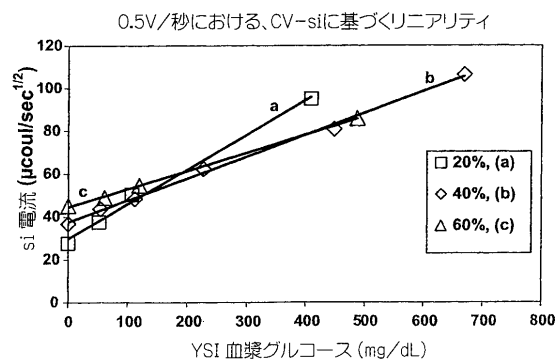
【図10B】



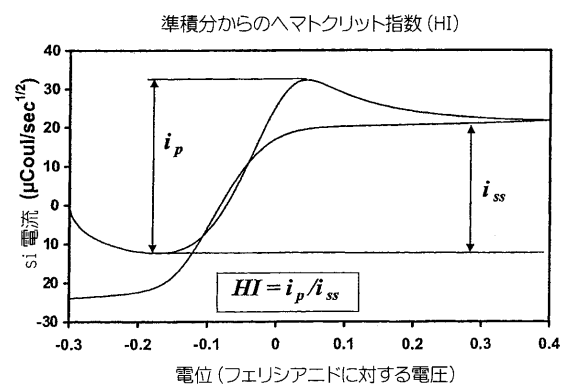
【図11A】



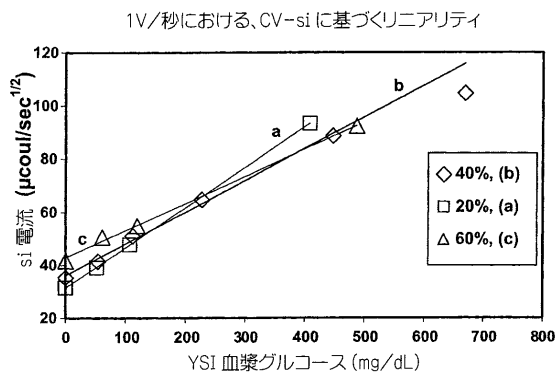
【図11B】



【図12】



【図11C】



【図13】

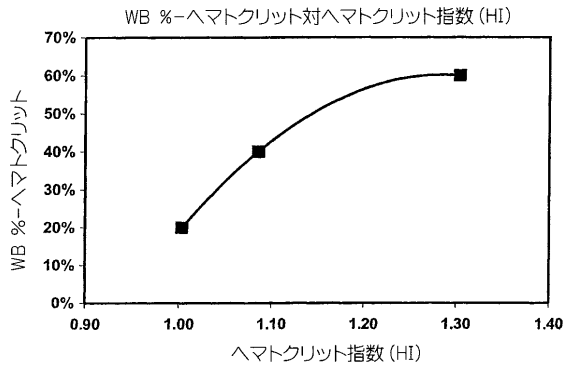


図. 13A

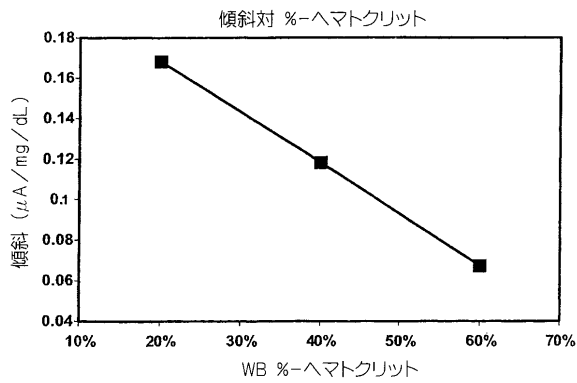
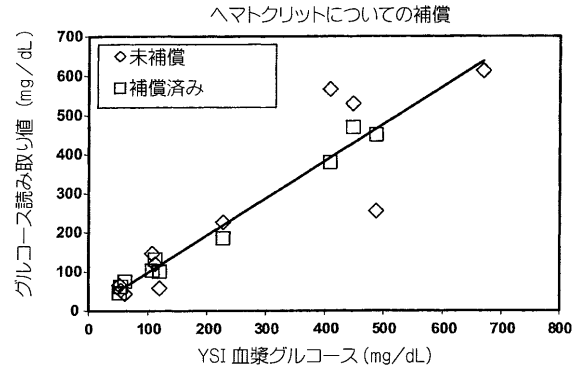
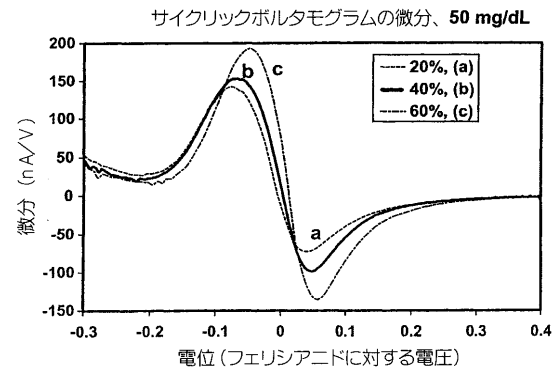


図. 13B

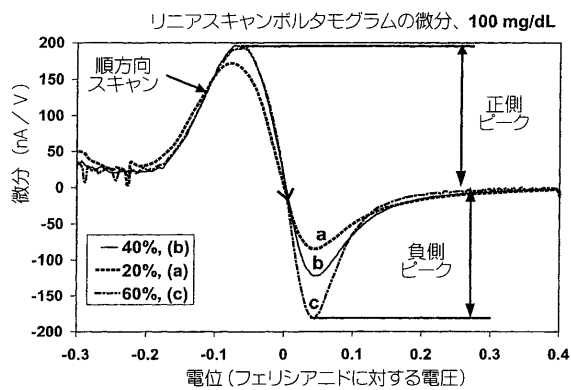
【図14】



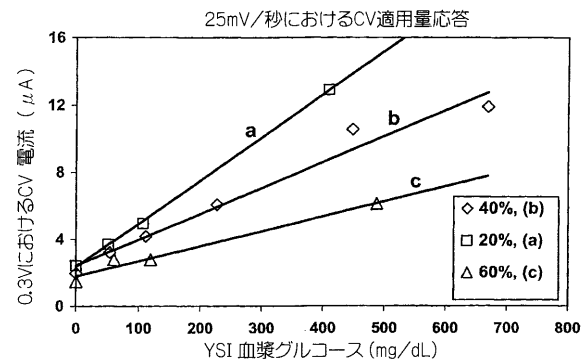
【図15A】



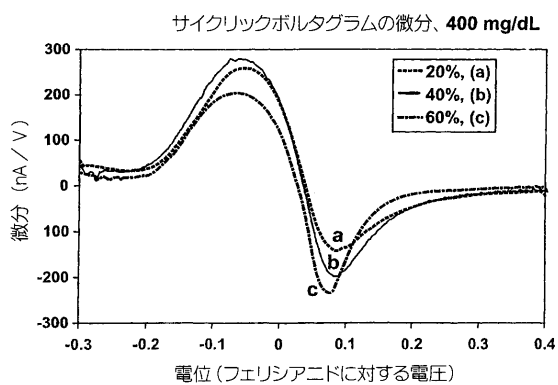
【図15B】



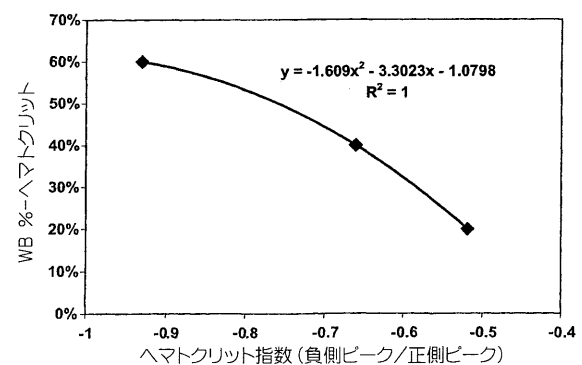
【図16A】



【図15C】

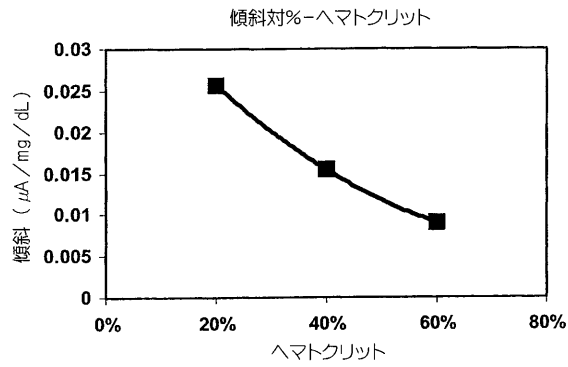


【図16B】

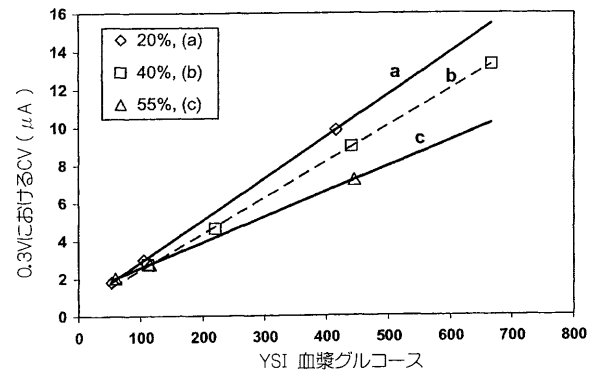




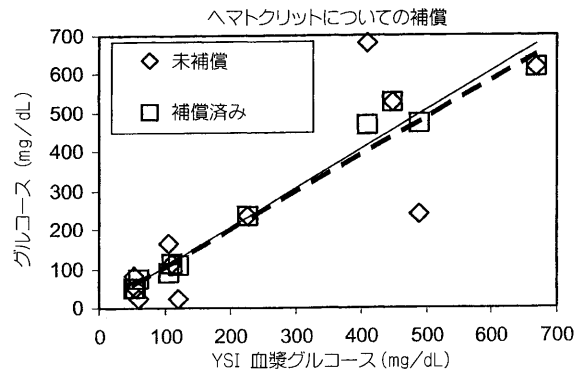
【図 16 C】



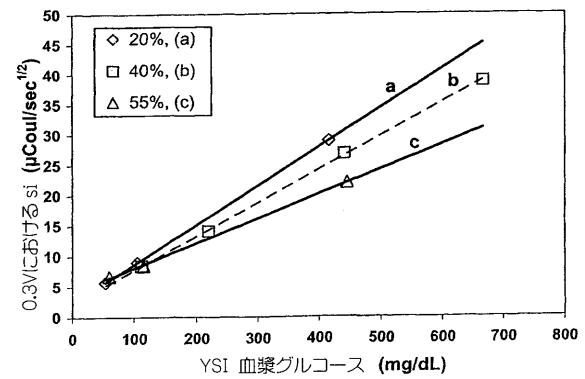
【図 17 A】



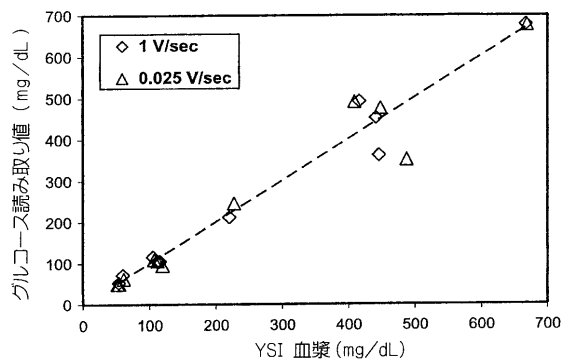
【図 16 D】



【図 17 B】



【図 17 C】



---

フロントページの続き

(72)発明者 ウー, フアン - ピン

アメリカ合衆国インディアナ州 4 6 5 3 0 , グレンジャー , ショアライン・ドライブ 1 4 3 7 4

審査官 柏木 一浩

(56)参考文献 特開 2 0 0 1 - 3 1 1 7 1 2 ( J P , A )

特開平 0 4 - 1 1 8 5 5 4 ( J P , A )

特開昭 6 3 - 1 7 1 3 5 7 ( J P , A )

特開平 0 1 - 0 0 3 5 5 4 ( J P , A )

国際公開第 0 2 / 0 1 8 6 2 7 ( W O , A 1 )

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N 27/416

G01N 27/26

G01N 27/327