



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101896618 B

(45) 授权公告日 2015.04.22

(21) 申请号 200880120025.8

EP 1486778 A2, 2004.12.15, 全文.

(22) 申请日 2008.12.10

US 2005183953 A1, 2005.08.25, 全文.

(30) 优先权数据

61/007,126 2007.12.10 US

Yueh-Hui Lin 等.Reduction of the interferences of biochemicals and hematocrit ratio on the determination of whole blood glucose using multiple screen-printed carbon electrode test strips.《Anal Bioanal Chem》.2007,第389卷(第5期),1624-1625.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010.06.10

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/086214 2008.12.10

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/076433 EN 2009.06.18

审查员 刘超

(73) 专利权人 拜尔健康护理有限责任公司

地址 美国纽约

(72) 发明人 埃米·H·楚 卡伦·L·马尔福瑞特

布伦达·图多尔

玛莉·埃伦·沃凯-温德姆 朱伯儒

(74) 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理

有限责任公司 11290

代理人 梁兴龙 王维玉

(51) Int. Cl.

C12Q 1/00(2006.01)

C12Q 1/54(2006.01)

(56) 对比文件

EP 1293547 A2, 2003.03.19, 说明书2-7页.

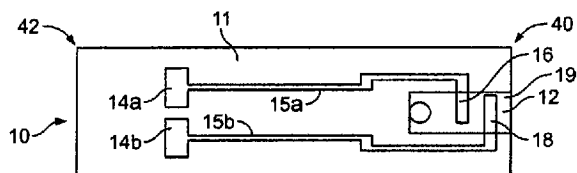
权利要求书2页 说明书15页 附图9页

(54) 发明名称

检测分析物的试剂和方法

(57) 摘要

本发明公开了一种用于检测分析物的试剂,其包含黄素蛋白酶、诸如吩噻嗪介体等介体、至少一种表面活性剂、聚合物和缓冲剂。该试剂可用于包括多个电极的电化学测试传感器。



1. 一种用于检测分析物的试剂,所述试剂包含:
黄素蛋白酶;
3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体;
至少一种表面活性剂;
聚合物;以及
缓冲剂,
其中介体和缓冲剂中的至少一种包括无机盐,总无机盐与介体的比例小于3:1。
2. 如权利要求1所述的试剂,其中所述总无机盐与介体的比例小于2:1。
3. 一种用于检测流体样品中分析物的试剂,所述试剂包含:
活性0.1~10U/ μ L的FAD-葡萄糖脱氢酶;
浓度5~120mM的3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体;
浓度0.05~0.5wt.%的表面活性剂;
浓度0.1~4wt.%的羟乙基纤维素聚合物;以及
缓冲剂,
其中介体和缓冲剂中的至少一种包括无机盐,总无机盐与介体的比例小于2:1。
4. 如权利要求3所述的试剂,其中所述试剂包含活性0.5~2.5U/ μ L的FAD-葡萄糖脱氢酶、浓度30~60mM的3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体、浓度0.1~0.4wt.%的庚酰基-N-甲基葡萄糖酰胺表面活性剂和浓度0.2~0.5wt.%的羟乙基纤维素聚合物。
5. 一种电化学测试传感器,其包括:
具有表面的工作电极;
具有表面的反电极;以及
涂布所述工作电极的至少一部分表面和所述反电极的至少一部分表面的试剂,所述试剂包含黄素蛋白酶、3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体、缓冲剂、至少一种表面活性剂和聚合物,其中介体和缓冲剂中的至少一种包括无机盐,总无机盐与介体的比例小于3:1。
6. 一种用于帮助测定流体试样中的至少一种分析物浓度的测试传感器,所述测试传感器包括:
工作电极和反电极;
试剂,所述试剂包含:
黄素蛋白酶;
3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体;
至少一种表面活性剂;以及
缓冲剂,以及
从所述测试传感器的测试端延伸到所述试剂的毛细通道,
其中使用所述测试传感器测定的分析物浓度的偏差%小于 $\pm 10\%$,其中介体和缓冲剂中的至少一种包括无机盐,总无机盐与介体的比例小于3:1。
7. 如权利要求6所述的测试传感器,其中所述试剂还包含至少一种聚合物。
8. 如权利要求6所述的测试传感器,其中使用所述测试传感器测定的分析物浓度的偏

差%小于 $\pm 4\%$ 。

9. 如权利要求 6 所述的测试传感器,其中使用所述测试传感器测定的分析物浓度的偏差%小于 $\pm 2\%$ 。

检测分析物的试剂和方法

技术领域

[0001] 本发明总体上涉及用于测量分析物的试剂、方法和装置。更具体地说,本发明涉及用于测量血液样品中的葡萄糖的试剂、方法和装置。

背景技术

[0002] 体液中分析物的定量测定对于某些生理身体状况的诊断和维护非常重要。例如,在某些个体中应该监测乳酸、胆固醇和胆红素。特别地,糖尿病人经常检查其体液中的葡萄糖水平以规范他们的饮食中葡萄糖的摄取是十分重要的。这种测试结果能够用来测定应该给予的胰岛素或其他药物(如果有的话)。在一种类型的血糖测试系统中,使用测试传感器来测试血液样品。

[0003] 测试传感器包含与例如血糖发生反应的生物传感或试剂材料。传感器的测试端适于放置在被测试流体内(例如,在某人的手指刺破后积聚在手指上的血液)。流体可以通过毛细作用被抽取到在传感器中从测试端延伸到试剂材料的毛细通道,使得足量的被测试流体被抽取到传感器中。通常使用光学或电化学测试方法进行测试。

[0004] 电化学测试传感器基于相关分析物参与的酶催化的化学反应。在葡萄糖监测的情况下,相关的化学反应是葡萄糖氧化成葡糖酸内酯或其相应的酸。这种氧化被各种酶催化,其中的一些可以使用诸如烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(磷酸盐)(NAD(P))等辅酶,而另一些可以使用诸如黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)或吡咯并喹啉醌(PQQ)等辅酶。

[0005] 在测试传感器应用中,在葡萄糖氧化过程中产生的氧化还原等效物被输送到电极表面,从而产生电信号。电信号的幅度与葡萄糖浓度相关。氧化还原等效物从酶中的化学反应位点转移到电极表面是使用电子转移介体完成的。

[0006] 以前使用的电子转移介体FAD-葡萄糖脱氢酶(FAD-GDH)包括铁氰化钾、吩嗪-硫酸甲酯(PMS)、甲氧基吩嗪-硫酸甲酯、吩嗪甲基硫酸盐和二氯靛酚(DCIP)。然而,这些化合物已被证实极易受包括温度和湿气在内的环境条件的影响,这会导致测试传感器试剂的稳定性低。例如,在保存期间,可以从被氧化的介体和酶系之间的相互作用产生被还原的介体。介体或酶的量越大,产生的被还原的介体的量越大。由于被还原的介体的高浓度,随着时间推移而增加的背景电流朝着传感带的保存期结束一般会增加。增加的背景电流可能会降低测试传感器的测量精确度和准确性,因此,测试传感器的保存期有限。

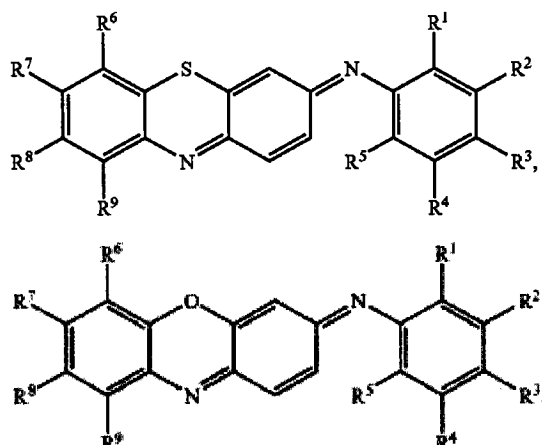
[0007] 与现有测试传感器相关的另一缺点是相对较慢的填充速率。希望获得快的传感器填充速率,这样试剂的再水合可以更快更均匀。因此,更快的填充速率一般会导致更精确、更稳定的测试传感器,并且变化更小。

[0008] 因此,希望具有能够解决这些缺点中的一个或多个的试剂。

发明内容

[0009] 根据本发明的一个方面,一种用于检测分析物的试剂,所述试剂包含黄素蛋白酶以及选自下式或其组合的介体,

[0010]



[0011] R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸ 和 R⁹ 可以相同或不同,并且独立地选自:氢、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环基、杂环基、卤素、卤代烷基、羧基、羧烷基、烷氧羰基、芳氧羰基、芳香族酮基、脂肪族酮基、烷氧基、芳氧基、硝基、二烷基氨基、氨烷基、磺酸基、二羟基硼及其组合。所述试剂还包含至少一种表面活性剂、聚合物和缓冲剂。表面活性剂和缓冲剂中的至少一种包括无机盐,其中总无机盐与介体的比例小于约 3 : 1。

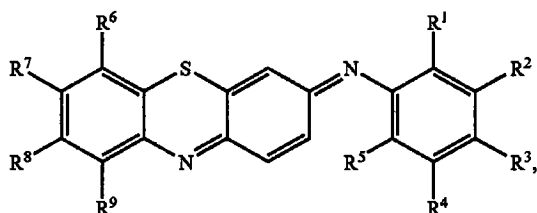
[0012] 根据本发明的另一个实施方案,一种用于检测流体样品中分析物的试剂包含活性约 0.1 ~ 10U/μL 的 FAD- 葡萄糖脱氢酶。所述试剂还包含浓度约 5 ~ 120mM 的 3-(2', 5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪介体。所述试剂还包含浓度约 0.05 ~ 0.5wt. % 的表面活性剂。所述试剂还包含浓度约 0.1 ~ 4wt. % 的羟乙基纤维素聚合物和缓冲剂。表面活性剂和缓冲剂中的至少一种包括无机盐,其中总无机盐与介体的比例小于约 3 : 1。

[0013] 根据本发明的另一个实施方案,一种电化学测试传感器包括具有表面的工作电极。所述测试传感器还包括具有表面的反电极。所述测试传感器还包括涂布所述工作电极的至少一部分表面和所述反电极的至少一部分表面的试剂。所述试剂包含黄素蛋白、吩噻嗪介体或吩噻嗪介体、缓冲剂、至少一种表面活性剂和聚合物。表面活性剂和缓冲剂中的至少一种包括无机盐,其中总无机盐与介体的比例小于约 3 : 1。

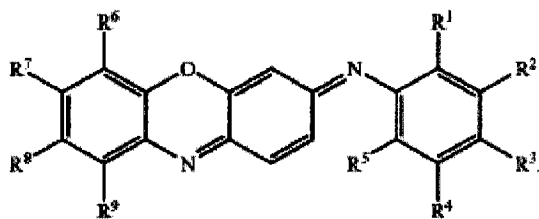
[0014] 根据本发明的一种方法,一种用于检测流体样品中分析物的方法,所述分析物发生化学反应,所述方法包括提供电极表面的步骤。所述方法还包括使用表面活性剂促使流体样品流到所述电极表面的步骤。该方法还包括使用黄素蛋白酶催化所述化学反应的步骤。所述方法还包括通过所述化学反应产生氧化还原等效物的步骤。所述方法还包括使用吩噻嗪或吩噻嗪介体将所述氧化还原等效物转移到所述电极表面的步骤。最大动力学性能小于约 3 秒。

[0015] 根据另一种方法,检测流体样品中的分析物,所述方法包括提供电极表面。提供包含黄素蛋白酶、介体、至少一种表面活性剂和缓冲剂的试剂,所述介体选自下式或其组合,

[0016]



[0017]



[0018] 其中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 可以相同或不同, 并且独立地选自: 氢、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环基、杂环基、卤素、卤代烷基、羧基、羧烷基、烷氧羰基、芳氧羰基、芳香族酮基、脂肪族酮基、烷氧基、芳氧基、硝基、二烷基氨基、氨烷基、磺酸基、二羟基硼及其组合; 所述试剂与所述电极表面接触。使流体样品与所述试剂接触。测定分析物的浓度。最大动力学性能小于约 3 秒

[0019] 本发明的上述内容并不意图代表本发明的每个实施方案或每个方面。本发明的其他特征和优点从下面的详细说明和附图中是显而易见的。

附图说明

[0020] 图 1a 是根据一个实施方案的测试传感器。

[0021] 图 1b 是图 1a 的测试传感器的侧视图。

[0022] 图 2 是绘制电流测量对葡萄糖浓度的线状图。

[0023] 图 3 是比较包含庚酰基-N-甲基葡萄糖酰胺 (MEGA 8) 表面活性剂的传感器和不含 MEGA 8 表面活性剂的传感器的填充时间的柱状图。

[0024] 图 4 是比较包含 MEGA 8 表面活性剂的传感器和不含 MEGA 8 表面活性剂的传感器的背景电流的柱状图。

[0025] 图 5 是测试传感器的填充时间对包含和不含表面活性剂的不同制剂的柱状图。

[0026] 图 6 是在包含表面活性剂的制剂中测量的电流值对时间的示图。

[0027] 图 7 是使用 50mg/dL 的葡萄糖、不同硫酸盐浓度和不同磷酸盐缓冲剂浓度的介体的峰值时间的柱状图。

[0028] 图 8 是使用 100mg/dL 的葡萄糖、不同硫酸盐浓度和不同磷酸盐缓冲剂浓度的介体的峰值时间的柱状图。

[0029] 图 9 是使用 400mg/dL 的葡萄糖、不同硫酸盐浓度和不同磷酸盐缓冲剂浓度的介体的峰值时间的柱状图。

[0030] 图 10a 和图 10b 是在具有不同无机盐浓度的制剂中测量的电流值对时间的示图。

[0031] 图 11 是低盐试剂溶液和高盐试剂溶液的 CV% 的图表。

[0032] 虽然可以对本发明做出各种变化和替代形式, 但是在附图中以举例方式示出了具体实施方案, 并且在本文中进行了详细说明。然而, 可以理解的是, 本发明并不意图限于所披露的具体形式。相反, 本发明覆盖落入本发明的精神和范围内的所有变化、等同物和替代物。

具体实施方式

[0033] 本发明涉及用于分析物测量的试剂、方法和装置。更具体地说, 本发明涉及用于

检测分析物的测试传感器试剂,所述试剂包含:(1) 黄素蛋白酶、(2) 吩噻嗪或吩噻嗪介体、(3) 缓冲剂、(4) 表面活性剂或表面活性剂混合物、和 / 或 (5) 纤维素类聚合物。

[0034] 这里所描述的试剂可用于帮助测定流体样品中的分析物浓度。根据本发明监测的分析物的性质是不受限制的,只要分析物可发生被黄素蛋白酶催化的化学反应。可以收集和分析的分析物类型的一些例子包括葡萄糖、血脂全套(例如,胆固醇、甘油三酸脂、LDL 和 HDL)、微白蛋白、血红蛋白、A_{1c}、果糖、乳酸酯或胆红素。可以预期的是,可以测定其他分析物浓度。分析物可以在例如全血样品、血清样品、血浆样品、其他体液(如 ISF(间质液))、尿和非体液中。

[0035] 这里所描述的测试传感器是电化学测试传感器。用于电化学测试传感器的测量仪可以具有用于检测校准信息的光学方面和用于测定与流体样品的分析物相关的信息(例如,分析物浓度)的电化学方面。图 1a 显示了电化学测试传感器的一个非限制性例子。图 1a 显示了包括基部 11、毛细通道和多个电极 16 和 18 的测试传感器 10。区域 12 所示为限定毛细通道的区域(例如,将盖子放在基部 11 上后)。所述多个电极包括反电极 16 和工作电极 18。电化学测试传感器还可包括至少 3 个电极,例如工作电极、反电极、触发电极或用来检测流体样品中的干扰物质(例如,血细胞比容、抗坏血酸盐、尿酸)的其他电极。在根据本发明实施方案的电化学传感器中使用的工作电极可以改变为合适的电极,包括但不限于碳、铂、钯、金、钨、铑及其组合等。

[0036] 电极 16 和 18 与多个导线 15a,b 相连接,在所示实施方案中,该导线终止于被称作测试传感器接触部 14a, b 的较大区域。毛细通道一般位于流体接收区 19 内。电化学测试传感器的例子,包括其操作,可以参见例如 Bayer Corporation 的美国专利 No. 6, 531, 040。可以预期的是,其他电化学测试传感器可以用于本发明的实施方案。

[0037] 流体接收区 19 包含至少一种试剂,用于将流体样品(例如,血液)中的相关分析物(例如,葡萄糖)转化成根据利用电极图案的部件所产生的电流而可电化学测量的化学物质。试剂通常包含与分析物和电子受体反应而产生可由电极检测的电化学可测量物质的分析物特异性酶。试剂包含有助于电子在分析物和电极之间转移的介体或其他物质、将酶和介体保持在一起的粘结剂、其他惰性成分或其组合。

[0038] 流体样品(例如,血液)可应用到流体接收区 19。流体样品与至少一种试剂反应。在与试剂反应并且与多个电极结合后,流体样品产生有助于测定分析物浓度的电信号。导线 15a, b 将电信号返输到测试传感器 10 的相对的第二端 42,在那里测试传感器接触部 14a, b 将电信号转移到测量仪。

[0039] 参照图 1b,示出图 1a 的测试传感器 10 的侧视图。如图 1b 所示,图 1b 的测试传感器 10 还包括盖子 20 和隔离件 22。基部 11、盖子 20 和隔离件 22 可以由各种材料制成,如聚合物材料。可以用来形成基部 11、盖子 20 和隔离件 22 的聚合物材料的非限制性例子包括聚碳酸酯、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚萘二甲酸乙二醇酯(PEN)、聚酰亚胺及其组合。可以预期的是,其他材料也可用于形成基部 11、盖子 20 和 / 或隔离件 22。

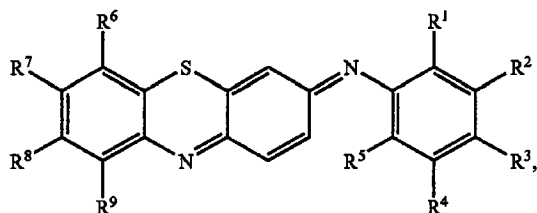
[0040] 为了形成图 1a 和图 1b 的测试传感器 10,基部 11、隔离件 22 和盖子 20 可以使用例如粘合剂或热封剂连接。当基部 11、盖子 20 和隔离件 22 被粘附时,形成了流体接收区 19。流体接收区 19 提供了用于将流体样品引入测试传感器 10 的流体通道。流体接收区 19 形成在测试传感器 10 的第一端或测试端 40。本发明实施方案中的测试传感器可由基部和

盖子形成,而没有隔离件,其中流体接收区直接形成在基底和 / 或盖子内。

[0041] 根据本发明的黄素蛋白包括任何具有黄素因子的酶。黄素蛋白的一些非限制性例子包括 FAD- 葡萄糖氧化酶 (EC (酶分类号) No. 1. 1. 3. 4)、黄素 - 己糖氧化酶 (EC No. 1. 1. 3. 5) 和 FAD- 葡萄糖脱氢酶 (EC No. 1. 1. 99. 10)。根据本发明使用的其他氧化酶包括但不限于乳酸氧化酶、胆固醇氧化酶、醇氧化酶 (例如, 甲醇氧化酶)、d- 氨基酸氧化酶、胆碱氧化酶和其 FAD 衍生物。根据本发明使用的优选黄素蛋白是 FAD- 葡萄糖脱氢酶 (FAD-GDH)。

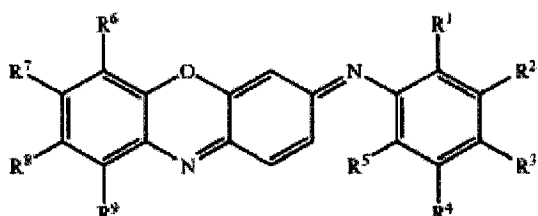
[0042] 根据本发明的介体包括下式的吩噻嗪,

[0043]



[0044] 和下式的吩噻嗪,

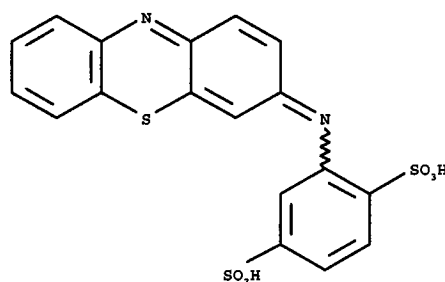
[0045]



[0046] 其中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 可以相同或不同,并且独立地选自: 氢、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环基、杂环基、卤素、卤代烷基、羧基、羧烷基、烷氧羰基、芳氧羰基、芳香族酮基、脂肪族酮基、烷氧基、芳氧基、硝基、二烷基氨基、氨烷基、磺酸基、二羟基硼及其组合。可以预期的是,还可以形成它们的异构体。

[0047] 已经制备出来并发现具有作为 NADH 介体的适当性能的吩噻嗪的一个优选例子下式的 3-(2', 5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪的水溶性钠盐或铵盐,

[0048]



[0049] 3-(2', 5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪与特别低的背景电流有关,从而导致信噪比的提高。已经制备出来并发现具有作为 NADH 介体的适当性能的另一个优选的例子是 3-(3', 5'-二羧基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体。发现这些吩噻嗪的背景电流远小于先前使用的介体。

[0050] 已经发现具有作为 NADH 介体的适当性能的其他吩噻嗪和吩噻嗪是: 3-(4'-氯-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪; 3-(4'-二乙基氨基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪; 3-(4'-乙基-苯基

亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-三氟甲基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-甲氧羰基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-硝基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-甲氧基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;7-乙酰基-3-(4'-甲氧羰基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;7-三氟甲基-3-(4'-甲氧羰基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'- ω -羧基-正丁基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-氨基甲基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-(2''-(5''-(p-氨基苯基-1,3,4-噁二唑基)苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'- β -氨基乙基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;6-(4'-乙基苯基)氨基-3-(4'-乙基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;6-(4'-[2-(2-乙醇氧基)乙氧基]-乙氧基苯基)氨基-3-(4'-[2-(2-乙醇氧基)乙氧基]乙氧基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-[2-(2-乙醇氧基)乙氧基]乙氧基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪硼酸;3-(3',5'-二羧基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(4'-羧基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(3',5'-二羧基-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪;3-(2',5'-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪二磺酸;和3-(3'-苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪磺酸。

[0051] 在一个实施方案中,通过将吩噻嗪(1.53摩尔,1.1当量,306g)搅拌下溶解于6.0L四氢呋喃(THF)中,然后冷却至0°C,制备3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体。将苯胺2,5-二磺酸(1.38摩尔,350g)溶解于7.0L水中,并在搅拌下加入1M的氢氧化钠(NaOH)(128ml)。在约2小时内将苯胺2,5-二磺酸溶液缓慢加到吩噻嗪溶液中,得到白色浑浊的悬浮液。吩噻嗪/苯胺悬浮液处在约0~4°C的温度下。将过硫酸钠(5.52摩尔,4当量,1314g)溶解在4.0L水中,形成过硫酸钠溶液。

[0052] 在3小时内将过硫酸钠溶液滴加到温度为约0~3°C的吩噻嗪/苯胺悬浮液中,产生深黑色溶液。使用冰浴将该深黑色溶液保持冷却,并搅拌过夜。然后,将内容物转移到Buchi旋转蒸发仪中,在约2小时内,在低于35°C的温度下去除四氢呋喃。蒸发后,将残留溶液转移到25L分离器中,并用乙酸乙酯反向洗涤。残留溶液被反向洗涤3次,每次使用乙酸乙酯2L。反应流体在丙酮/CO₂浴中搅拌下冷却至-3°C。在同一天内,通过两个24cm的Buchner漏斗上的两块布过滤沉淀的固体。沉淀的固体留在漏斗内干燥过夜,然后转移至含有2L乙腈的烧瓶内,并在室温下搅拌约1小时。为了去除残留的水,过滤样品并用更多的乙腈洗涤。介体在35°C的真空烘箱内干燥至恒重。

[0053] 由于使用具有3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体的试剂实现了低背景电流,因此相同的试剂制剂可应用于电化学测试传感器的工作电极和反电极。将相同的试剂应用于工作电极和反电极简化了制造工艺,也因而降低了相关的成本。此外,低背景电流有助于获得精确的葡萄糖读数,尤其是使用葡萄糖浓度低的样品,这对于分析新生儿的血糖化验特别重要。

[0054] 本发明实施方案的试剂还包含表面活性剂或表面活性剂混合物和/或纤维素类聚合物。表面活性剂或表面活性剂混合物促进传感器的血液填充速率和干燥试剂的再水合。为在约20%~70%的血细胞比容范围内实现快速化验(例如,小于5秒的化验),希望血液填充速率和试剂再水合速率较快。

[0055] 表面活性剂优选选自生物相容性的表面活性剂,包括糖类表面活性剂或磷酸胆碱类表面活性剂。糖类表面活性剂的一个非限制性例子是庚酰基-N-甲基葡萄糖酰胺(来自Sigma-Aldrich of St.Louis, MO的MEGA 8)。诸如MEGA 8等表面活性剂有助于提高测试

传感器的热稳定性。此外,即使对于高血细胞比容水平的血液样品,诸如 MEGA 8 等表面活性剂也有助于快速填充速率。在试剂制剂中使用诸如 MEGA 8 等表面活性剂和其他惰性成分(例如,羟乙基纤维素聚合物和/或中性 pH 缓冲剂)提供了具有高稳定性的传感器,甚至在高温下。磷酸胆碱类表面活性剂的非限制性例子包括 Lipidure 系列(NOF Corporation, Japan)。

[0056] 表面活性剂还可以选自传统的中性表面活性剂,如乙氧基化油醇(来自 Cranbury, NJ 的 Rhodia Inc. 的 Rhodasurf ON870)。表面活性剂还可以选自阴离子表面活性剂,如甲基椰油酰基牛磺酸钠(来自 Rhodia Inc. 的 Geropon TC-42)和烷基酚乙氧基化磷酸酯(来自 Chicago, IL 的 Akzo-Nobel Surface Chemistry LLC 的 Phospholan CS131)。可以预期的是,其他表面活性剂也可用于形成所述试剂。

[0057] 可选择地或者此外,本发明实施方案的试剂包含聚合物。所述试剂可以包含纤维素类聚合物,如羟乙基纤维素聚合物。在一些实施方案中,纤维素类聚合物是低至中等分子量的纤维素类聚合物。诸如纤维素类聚合物等聚合物有助于为试剂提供增大的稳定性和足够的粘度,从而使得当被干燥时试剂在传感器基底上留在初始位置。可以预期的是,可以使用其他聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。

[0058] 所述试剂也可以包含缓冲剂(例如,磷酸盐缓冲剂)和/或其他惰性成分。适合的缓冲剂溶液的非限制性例子包括但不限于 Good 的缓冲剂(例如,HEPES(即,N-2-羟基乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸)、MOPS(即,3-(N-吗啉基)丙磺酸)、TES(即,N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸))、McIlvaine 的缓冲剂或其组合等。

[0059] 为了提供所希望的化验精度、热稳定性和最大动力学性能,无机盐与介体的比例应小于约 3 : 1。无机盐的来源可以来自缓冲剂和/或介体。再更优选的是无机盐与介体的比例小于约 2 : 1 或者甚至小于约 1.5 : 1。

[0060] 根据本发明的一个实施方案,所述试剂包括 FAD-GDH、低背景的吩噻嗪介体、表面活性剂或表面活性剂混合物、纤维素类聚合物和用于提高传感器性能和稳定性的缓冲剂。所述试剂可用于测定诸如血液、血浆、血清或尿等生物样本中的葡萄糖浓度。在一个实施方案中,吩噻嗪介体是 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪。在另一个实施方案中,表面活性剂是 MEGA 8,聚合物是羟乙基纤维素。在一个实施方案中,试剂包括活性约 0.1 ~ 10U/ μ L 的 FAD-GDH、约 5 ~ 120mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体、约 0.05 ~ 0.5wt. % 的 MEGA 8 表面活性剂、约 0.1 ~ 4wt. % 的羟乙基纤维素和 pH 值约 4 ~ 8 的约 25 ~ 200mM 的缓冲剂。在另一个实施方案中,试剂包括活性约 0.5 ~ 2.5U/ μ L 的 FAD-GDH、约 30 ~ 60mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体、约 0.1 ~ 0.4wt. % 的 MEGA 8 表面活性剂、0.01 ~ 0.1% 的 Geropon TC-42、约 0.2 ~ 0.5wt. % 的羟乙基纤维素和 pH 值约 6 ~ 7 的约 50 ~ 150mM 的缓冲剂。

[0061] 实施例 1

[0062] 如图 2 所示,通过对传感器产生葡萄糖剂量-响应曲线来分析 4 个传感器批次的化学反应性,该传感器包括活性约 1.75U/ μ L 的 FAD-GDH 酶、约 40mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体、约 0.2wt. % 的 MEGA 8 表面活性剂、约 0.25wt. % 的羟乙基纤维素和 pH 值约 6.5 的约 100mM 的磷酸盐缓冲剂。使用约 40% 血细胞比容水平的全血样品测试传感器。血液样品的血糖浓度为约 0mg/dL、38mg/dL、67mg/dL、112mg/dL、222mg/dL。

dL、339mg/dL 和 622mg/dL。对于每个血液样品,对于每个传感器批次收集 10 个复制品。如图 2 所示,对于每个传感器批次,绘制各样品的平均电流对使用 Yellow Springs Glucose Analyzer (YSI, Inc., Yellow Springs, Ohio) 测量的样品葡萄糖浓度 (mg/dL) 的示图。剂量响应线的斜率为约 20nA/mg/dL,这表明测试传感器的灵敏度相对较高。 y - 截取相对接近于 0nA,这表明背景噪音水平低。这些结果表明,使用包括本文所述试剂的测试传感器可以获得精确的读数。

[0063] 对于用来产生图 2 示图的传感器批次的 10 个复制品中的每一个,测定变异系数。下表 1 显示了 4 个传感器批次的平均变异系数的百分数 (CV%)。

[0064] 表 1

[0065] 葡萄糖浓度

[0066] 38mg/dL 67mg/dL 112mg/dL 222mg/dL 339mg/dL 622mg/dL

[0067] CV% 3.1 2.1 3.4 2.5 2.1 1.2

[0068] 由于包含本发明实施方案的试剂的传感器的低背景噪音,平均化验 CV% 小于 3.5%,甚至对于具有低葡萄糖浓度的样品。因此,CV% 值不足 5%,这通常被认为是标准允许限度。这种低 CV% 表明测试传感器的精确度高。此外,低 CV% 与测试传感器之间的低变异相关,这对于获得一致性测试结果是优选的。

[0069] 实施例 2

[0070] 图 3 示出了 MEGA 8 表面活性剂对使用 60% 血细胞比容全血的传感器填充速率的影响。图 3 中使用的测试传感器包括活性约 1U/ μ L (约 192U/mg) 的 FAD-GDH、约 4wt. % (约 120mM) 的铁氰化钾介体、约 1.6 ~ 4wt. % 的羟乙基纤维素和 pH 值约 5.0 的约 35mM 的柠檬酸盐缓冲剂。铁氰化钾介体用于测试不含 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪介体的 MEGA 8 表面活性剂是否对测试传感器具有所希望的影响。将包含约 0.2wt. % 的 MEGA 8 表面活性剂的 30 个测试传感器组的填充速率与不含 MEGA 8 表面活性剂的 30 个测试传感器对照组进行比较。对每一组的 10 个传感器的初始填充速率进行测量。然后,将每一组的 10 个传感器放置在约 -20℃ 的温度下约两周。最后,将每一组的 10 个传感器放置在约 50℃ 的温度下约两周。对测试传感器的每个组和分组的平均填充时间进行计算并显示在图 3 中。使用具有表面活性剂的试剂和 60% 血细胞比容的全血样品,血液在小于 0.3 秒内填充测试传感器的反应室。如图 3 所示,包含 MEGA 8 表面活性剂的传感器的填充速率比不含 MEGA 8 表面活性剂的传感器的填充速率快至少 2 倍,高达约 4 倍。

[0071] 实施例 3

[0072] 将包含 MEGA 8 表面活性剂的热应激传感器的背景电流与不含 MEGA 8 表面活性剂的热应激传感器的背景电流进行比较。图 4 中使用的测试传感器包括活性约 1U/ μ L 的 FAD-GDH、约 50mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪介体、约 0.75wt. % 的羟乙基纤维素和 pH 值约 7 的约 50mM 的缓冲剂。第一组 40 个测试传感器不含 MEGA 8 表面活性剂。第二组 40 个测试传感器包含约 0.2wt. % 的 MEGA 8 表面活性剂。第一组和第二组都包括 2 个分组:第一个分组包括具有来自 Amano Enzyme Inc. (Nagoya, Japan) 的 FAD-GDH 的 20 个测试传感器,第二个分组包括具有来自 Toyobo Co. (Osaka, Japan) 的 FAD-GDH 的 20 个测试传感器。将每个分组的 10 个测试传感器在约 50℃ 下保存约两周。其余的测试传感器在约 -20℃ 下保存约两周。然后,使用葡萄糖浓度约 0mg/dL 的 40% 血细胞比容的全血

样品测试传感器的背景电流。收集每个样品的 10 个复制品。图 4 显示了 10 个复制品的平均传感器背景电流。如图 4 所示,与不含 MEGA 8 表面活性剂的测试传感器相比,包含 MEGA 8 表面活性剂的测试传感器具有非常低的传感器背景电流变化,这表明当将 MEGA 8 表面活性剂加到试剂中时试剂更稳定。

[0073] 实施例 4

[0074] 对根据本发明实施方案的测试传感器的热稳定性也进行了测试。在该实施例中使用的测试传感器包括活性约 $2\text{U}/\mu\text{L}$ 的 FAD-GDH、约 40mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪介体、约 0.2wt. % 的 MEGA 8 表面活性剂、约 0.25wt. % 的羟乙基纤维素和 pH 值约 6.5 的约 100mM 的缓冲剂。第一组测试传感器在约 50°C 下保存约两周。第二组测试传感器在约 -20°C 温度下保存约两周。然后,使用葡萄糖浓度约 $50\text{mg}/\text{dL}$ 、约 $100\text{mg}/\text{dL}$ 和约 $400\text{mg}/\text{dL}$ 的 40% 血细胞比容的全血样品评价各组中的传感器的性能。收集每个样品的 10 个复制品。计算在 50°C 下保存的测试传感器和在 -20°C 下保存的测试传感器之间的葡萄糖浓度的平均差,并与几种不同类型的自测血糖监测系统进行比较。根据本发明实施方案的测试传感器的葡萄糖化验偏差可以忽略不计。因此,即使在将传感器在相对极端温度下保存两周后,葡萄糖化验结果也没有明显变化。相比而言,比较用的市售测试传感器的葡萄糖化验偏差一般为约 5%~12%。因此,本发明实施方案的测试传感器的热稳定性明显优于现有的测试传感器。

[0075] 实施例 5

[0076] 使用测试传感器进行测试以测定高血细胞比容的血液样本的填充速率。具体地说,如图所示 5,对没有表面活性剂的配方(配方 1)和具有表面活性剂的配方(配方 2-7)进行了测试。配方列于下表 2 中。

[0077] 表 2

[0078]

	配方	配方	配方	配方	配方	配方	配方
	1	2	3	4	5	6	7
介体 (mM)	60	60	60	60	60	50	90
缓冲剂 (mM)	75	75	75	75	75	100	112
FAD-GDH($\text{U}/\mu\text{L}$)	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	1.25	3.75
聚合物 (HEC) (%)	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.63	0.60
MEGA 8(wt. %)		0.10	0.05				0.225
Rhodasurf(wt. %)				0.10	0.05		
两性洗涤剂 312(wt. %)						0.30	
Phospholan CS 131(wt. %)							0.10

[0079] 介体 = 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪

[0080] 缓冲剂 = 磷酸盐,除了配方 6 使用 TES

[0081] TES = (N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸)

[0082] HEC = 羟乙基纤维素

[0083] 具体地说,配方 2 和配方 3 包含表面活性剂 MEGA 8,配方 4 和配方 5 包含表面活性剂 Rhodasurf。配方 6 包含表面活性剂两性洗涤剂,配方 7 包含表面活性剂 MEGA 8 和 Phospholan(硫环磷)CS 131d。配方 1-7 在两种不同条件下进行应激。具体地说,配方 1-7 在 -20℃ 的温度下受应激 2 周和在 50℃ 的温度下受应激 2 周。

[0084] 在这些条件下应激之后,将配方 1-7 沉积在测试传感器的电极上。使用 60-70% 血细胞比容的全血在垂直 (90) 位置对传感器进行测试。填充期间对传感器进行录像,并测量时间。对于配方 1-7,将高血细胞比容的血液填充到整个传感器反应室内所需的时间示于图 5 中。对于在 -20℃ 和 50℃ 下保存 2 周的传感器,配方 1(没有表面活性剂)的传感器 - 填充时间分别为约 0.6 秒和 0.7 秒。一方面,对于在 -20℃ 和 50℃ 下保存 2 周的传感器,配方 2-7 中的传感器 - 填充时间均为约 0.5 秒以下。对于在 -20℃ 和 50℃ 下保存 2 周的传感器,配方 2-7 中的大多数配方的传感器 - 填充时间为约 0.4 秒以下,有几个小于约 0.3 秒。因此,与不含表面活性剂的配方 1 相比,含有表面活性剂的配方 2-7 大大改善了填充时间。

[0085] 实施例 6

[0086] 对试剂进行测试以测定其最大动力学性能。该试剂包括 40mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H-吩噻嗪、50mM 的磷酸盐缓冲剂、2.00U/ μ l 的 FAD-GDH、0.25wt. % 的羟乙基纤维素 (HEC) 和 0.20wt. % 的表面活性剂 MEGA 8。

[0087] 图 6 示出了具有葡萄糖浓度为 400mg/dL 和 70% 血细胞比容的血液样品的测试传感器的输出信号。通过测量装置输入到传感带的信号是包括由 7 个弛豫隔开的 8 个脉冲激励的门控电流脉冲序列,例如美国专利申请公开 No. 2008/0173552 中所描述的。激励的持续时间小于 1 秒。在每个激励期间记录 3 个输出电流值。

[0088] 为将来自输入信号的输出电流值与样品的分析物浓度相关联,来自激励的初始电流值优选大于衰变过程中的值。来自图 6 的传感带的输出信号显示出初始高电流值,该电流值在血液样品引入至传感带后约 2 秒才衰变。因此,在输出电流 110 中观察到具有高初始电流值,然后是衰变电流值的第一输出电流。

[0089] 为将来自输入信号的输出电流值与样品的分析物浓度相关联,不同的样品分析物浓度在各输出信号电流值之间也优选显示出基本上恒定的差值。优选地,与样品的分析物浓度相关的输出电流值也从包括反映传感带最大动力学性能的电流数据的衰变中获得。产生输出电流的氧化还原反应的动力学受多种因素的影响。这些因素可以包括试剂组合物再水合的速率、酶系与分析物反应的速率、酶系转移电子至介体的速率和介体转移电子至电极的速率。在以上这些和其他影响输出电流的动力学因子中,试剂组合物再水合的速率被认为对输出电流具有最大的影响。

[0090] 在门控电流脉冲序列的激励过程中,当具有衰变电流值的激励的初始电流值是从多个激励获得的最大初始电流值时,可以达到传感带的最大动力学性能。这也可称作传感器 - 峰值时间。优选地,当从具有衰变电流值的激励获得的电流终值是从多个激励获得的最大电流终值时,可以达到传感带的最大动力学性能。更优选地,在从具有衰变电流值的激

励的初始电流值是从多个激励获得的最大初始电流值时起至从同一激励获得的电流终值是从多个激励获得的最大电流终值时的时间段内,可以达到传感带的最大动力学性能。

[0091] 传感带的最大动力学性能优选小于约 3 秒,更优选小于约 2 秒。

[0092] 用于测量传感带的最大动力学性能的门控电流脉冲序列包括至少 7 个工作循环,其激励的持续时间为约 0.4 秒,弛豫的持续时间为 1 秒,包括通过样品的零电流并且通过开路提供。在每个激励期间测量至少 3 个输出电流值。输入至传感带的电位保持基本不变,为 250mV,样品温度为 23℃。在工作循环之前,施加 400mV 的脉冲 0.9 秒。

[0093] 在从将样品引入至传感带开始的 3 至 4 秒之间,在包括输出电流 120 和 125 的激励衰变过程中,图 6 中包含 400mg/dL 葡萄糖的传感带达到最大动力学性能。因为在包括输出电流 120 和 125 的循环中同时存在从具有衰变电流值的激励获得的最大初始电流值和最大电流终值,因而确定了这一点。将初始输出电流 120 与输出电流 110、130、140、150、160 和 170 进行比较,并且也将输出电流终值 125 与输出电流终值 115、135、145、155、165 和 175 进行比较。因此,即使对于 70%血细胞比容的血液样品,传感器在 3 至 4 秒之间也达到最大动力学性能。

[0094] 实施例 7

[0095] 图 7 ~ 图 9 表明,试剂配方也可影响具有不同血细胞比容水平的血液的最大动力学性能。首先参照图 7,在葡萄糖浓度为 50mg/dL 时,利用传感器 - 峰值时间的最大动力学性能随血细胞比容水平的增加而增加。包含较小硫酸盐百分比 (5%硫酸盐) 的介体在可比较的血细胞比容水平和缓冲剂浓度下通常具有更快的峰值时间。参见,例如,在使用 50mM 的磷酸盐缓冲剂 (将使用 5%硫酸盐的介体的 3.5 秒与使用 20%硫酸盐的介体的 7.5 秒进行比较) 时的血细胞比容水平 60%。试剂配方,如缓冲剂强度和介体的残留硫酸盐含量,对传感器反应的峰值时间有很大影响,尤其是对于高血细胞比容 (> 40%) 的样品。因此,传感器制剂中的高无机盐 (来自缓冲剂或来自介体,换算为硫酸盐浓度) 会增加传感器 - 峰值时间 (即,使传感器反应变慢)。图 8 显示了使用 100mg/dL 葡萄糖浓度的类似结果。使用 400mg/dL 的高葡萄糖浓度,图 9 显示了使用一般低于约 3 或 3.5 秒的传感器 - 峰值时间和一些传感器 - 峰值时间为 2 秒的最大动力学性能。在高血细胞比容水平时,含有 5%硫酸盐和 100mM 磷酸盐缓冲剂的介体使用约 4.5 或 5 秒的传感器 - 峰值时间具有最大动力学性能。

[0096] 因此,如在 50mg/dL 和 100mg/dL 葡萄糖浓度中所示的,为了对于高血细胞比容的样品实现快速的试剂再水合和葡萄糖反应,试剂配方中的盐含量必需降低。

[0097] 实施例 8

[0098] 在测试传感器在应激条件下保存后 (-20℃和 50℃ /4 周),对两种制剂的最大动力学性能进行了测试。图 10a 中的制剂包含 50mM 的磷酸盐缓冲剂和具有 5wt. %硫酸盐的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪。图 10b 中的制剂包含 100mM 的磷酸盐缓冲剂和具有 20wt. %硫酸盐的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪。该实施例中使用的门控电流脉冲序列与上述实施例 6 类似。

[0099] 如图 10a 所示,对于在 -20℃下应激 4 周的样品,最大动力学性能为约 2 秒。对于在 50℃下应激 4 周的样品,最大动力学性能为约 3.5 秒。参照图 10b,对于在 -20℃下应激 4 周的样品,最大动力学性能为约 3.5 秒,对于在 50℃下应激 4 周的样品则为约 5 秒。因此,

与具有较高无机盐含量的制剂（例如，图 10b）相比，具有较低无机盐含量的制剂（例如，图 10a）具有改善的最大动力学性能。

[0100] 另外，对图 10a 中使用的具有 2 秒传感器 - 峰值时间的制剂批次的化验偏差或偏差 % 进行了测试。葡萄糖浓度不大于 100mg/dL 的偏差 % 小于约 $\pm 2\%$ 。葡萄糖浓度为 400mg/dL 的偏差 % 为约 $\pm 4\%$ 。对图 10b 中使用的具有 3-4 秒传感器 - 峰值时间的制剂批次的化验偏差也进行了测试。葡萄糖浓度不大于 100mg/dL 的偏差 % 小于约 $\pm 3\%$ 。葡萄糖浓度为 400mg/dL 的偏差 % 为约 $\pm 10\%$ 。因此，具有 3-4 秒传感器 - 峰值时间的批次的化验偏差大于具有 2 秒传感器 - 峰值时间的批次。

[0101] 实施例 9

[0102] 参照图 11，显示了在不同葡萄糖浓度下使用 40% 血细胞比容的全血样品的变异系数 % (CV%)。葡萄糖浓度范围是 36 ~ 627mg/dL。将具有低盐含量批次的试剂溶液与具有高盐含量批次的试剂溶液进行比较。低盐批次包含 pH 值 6.5 的 50mM 的磷酸盐缓冲剂、2U/ μ l 的 FAD-GDH、具有 5wt. % 硫酸盐的 40mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪、0.25% 的羟乙基纤维素 -300k 和 0.2% 的 MEGA 8 表面活性剂。高盐批次包含 pH 值 6.5 的 100mM 的磷酸盐缓冲剂、2U/ μ l 的 FAD-GDH、具有 20wt. % 硫酸盐的 40mM 的 3-(2',5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪、0.25% 的羟乙基纤维素 -300k 和 0.2% 的 MEGA 8 表面活性剂。

[0103] 通过使用传感器 - 峰值时间获得平均最大动力学性能并除以这些传感器 - 峰值时间的标准偏差，计算出 CV%。将这一结果值乘以 100，得到 CV%。对于低盐试剂溶液和高盐试剂溶液，对总共 40 个样品进行了测试。

[0104] 低盐试剂溶液使用小于 3 秒的传感器 - 峰值时间达到最大动力学性能，从而与高盐试剂溶液相比，对于 40% 血细胞比容的全血样品获得了较好的 CV%。对于较低葡萄糖浓度的样品，低盐试剂溶液具有更好的 CV%。

[0105] 虽然本文提供的实施例涉及到根据本发明的测试传感器试剂的体外应用，但是可以预期的是，通过化学固定介体（例如，利用在芳香环的一个或多个取代基上的化学反应），并将固定的介体结合到可以皮下植入患者体内的装置中，这些试剂也适用于体内分析物的监测。这里描述的实施方案的试剂也可以用于连续分析物监测系统。

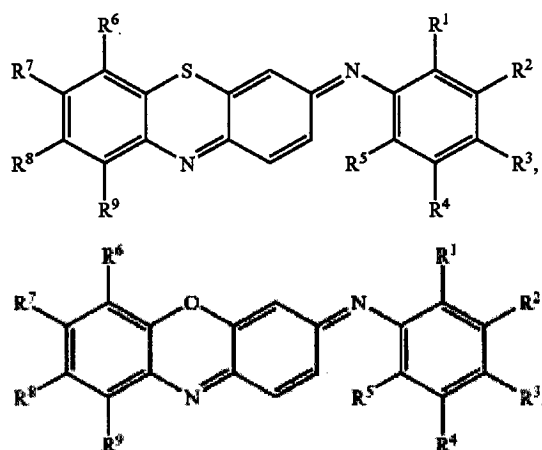
[0106] 可选实施方案 A

[0107] 一种用于检测分析物的试剂，所述试剂包含：

[0108] 黄素蛋白酶；

[0109] 选自下式或其组合的介体，

[0110]



[0111] 其中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 可以相同或不同, 并且独立地选自: 氢、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环基、杂环基、卤素、卤代烷基、羧基、羧烷基、烷氧羰基、芳氧羰基、芳香族酮基、脂肪族酮基、烷氧基、芳氧基、硝基、二烷基氨基、氨烷基、磺酸基、二羟基硼及其组合;

[0112] 至少一种表面活性剂;

[0113] 聚合物; 以及

[0114] 缓冲剂。

[0115] 可选实施方案 B

[0116] 可选实施方案 A 的试剂, 其中所述黄素蛋白酶是 FAD- 葡萄糖脱氢酶。

[0117] 可选实施方案 C

[0118] 可选实施方案 A 的试剂, 其中所述介体包括 3-(2', 5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪。

[0119] 可选实施方案 D

[0120] 可选实施方案 A 的试剂, 其中所述表面活性剂包括糖类表面活性剂或磷酰胆碱类表面活性剂。

[0121] 可选实施方案 E

[0122] 可选实施方案 A 的试剂, 其中所述聚合物是纤维素类聚合物。

[0123] 可选实施方案 F

[0124] 可选实施方案 A 的试剂, 其中所述缓冲剂包括磷酸盐缓冲剂。

[0125] 可选实施方案 G

[0126] 一种用于检测流体样品中分析物的试剂, 所述试剂包含:

[0127] 活性约 $0.1 \sim 10 \text{ U}/\mu\text{L}$ 的 FAD- 葡萄糖脱氢酶;

[0128] 浓度约 $5 \sim 120 \text{ mM}$ 的 3-(2', 5'-二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪介体;

[0129] 浓度约 $0.05 \sim 0.5 \text{ wt. \%}$ 的庚酰基-N- 甲基葡糖酰胺表面活性剂; 以及

[0130] 浓度约 $0.1 \sim 4 \text{ wt. \%}$ 的羟乙基纤维素聚合物。

[0131] 可选实施方案 H

[0132] 可选实施方案 G 的试剂, 还包含磷酸盐缓冲剂。

[0133] 可选实施方案 I

[0134] 可选实施方案 H 的试剂, 其中所述磷酸盐缓冲剂的浓度为约 $25 \sim 200 \text{ mM}$ 和 pH 值为约 $4 \sim 8$ 。

[0135] 可选实施方案 J

[0136] 可选实施方案 I 的试剂,其中所述磷酸盐缓冲剂的浓度为约 50 ~ 150mM 和 pH 值为约 6 ~ 7。

[0137] 可选实施方案 K

[0138] 可选实施方案 G 的试剂,其中所述试剂包含活性约 0.5 ~ 2.5U/ μ L 的 FAD- 葡萄糖脱氢酶、浓度约 30 ~ 60mM 的 3-(2',5' - 二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪介体、浓度约 0.1 ~ 0.4wt. % 的庚酰基 -N- 甲基葡萄糖酰胺表面活性剂和浓度约 0.2 ~ 0.5wt. % 的羟乙基纤维素聚合物。

[0139] 可选实施方案 L

[0140] 一种电化学测试传感器,其包括:

[0141] 具有表面的工作电极;

[0142] 具有表面的反电极;以及

[0143] 涂布所述工作电极的至少一部分表面和所述反电极的至少一部分表面的试剂,所述试剂包含黄素蛋白、吩噻嗪或吩噻嗪介体、缓冲剂、至少一种表面活性剂和聚合物。

[0144] 可选实施方案 M

[0145] 可选实施方案 L 的传感器,其中所述黄素蛋白包括 FAD- 葡萄糖脱氢酶。

[0146] 可选实施方案 N

[0147] 可选实施方案 L 的传感器,其中所述吩噻嗪介体包括 3-(2',5' - 二磺酸基苯基亚氨基)-3H- 吩噻嗪。

[0148] 可选实施方案 O

[0149] 可选实施方案 L 的传感器,其中所述至少一种表面活性剂包括庚酰基 -N- 甲基葡萄糖酰胺。

[0150] 可选实施方案 P

[0151] 可选实施方案 L 的传感器,其中所述聚合物是纤维素类聚合物。

[0152] 可选方法 Q

[0153] 一种用于检测流体样品中分析物的方法,所述分析物发生化学反应,所述方法包括以下步骤:

[0154] 提供电极表面;

[0155] 使用至少一种表面活性剂促使流体样品流到所述电极表面;

[0156] 使用黄素蛋白酶催化所述化学反应;

[0157] 通过所述化学反应产生氧化还原等效物;以及

[0158] 使用吩噻嗪或吩噻嗪介体将所述氧化还原等效物转移到所述电极表面。

[0159] 可选方法 R

[0160] 可选方法 Q 的方法,其中所述电极表面包括工作电极和反电极,所述电极表面包括包含至少一种表面活性剂、黄素蛋白酶、吩噻嗪介体和缓冲剂的试剂。

[0161] 可选方法 S

[0162] 可选方法 R 的方法,其中所述试剂还包含聚合物。

[0163] 可选方法 T

[0164] 可选方法 S 的方法,其中所述聚合物是纤维素类聚合物。

[0165] 可选方法 U

[0166] 备选方法 R 的方法,其中所述缓冲剂包括磷酸盐缓冲剂。

[0167] 虽然可以对本发明做出各种变化和替代形式,但是在附图中以举例方式示出了具体实施方案和其方法,并且在本文中进行了详细说明。然而,可以理解的是,本发明并不意图限于所披露的具体形式或方法。相反,本发明覆盖落入本发明的精神和范围内的所有变化、等同物和替代物。

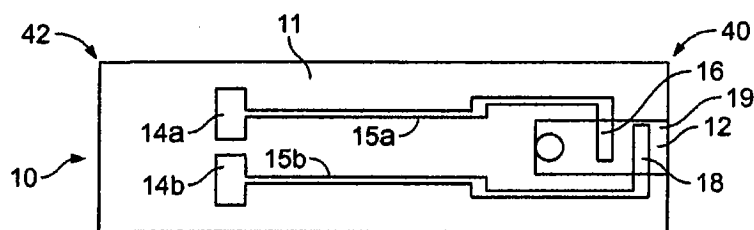


图 1A

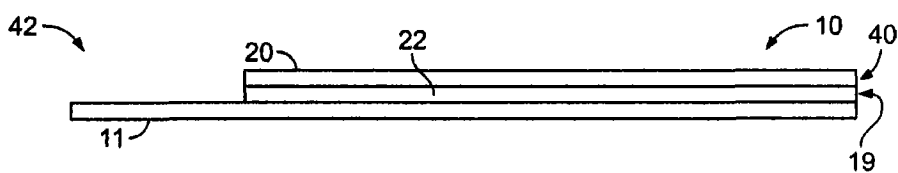


图 1B

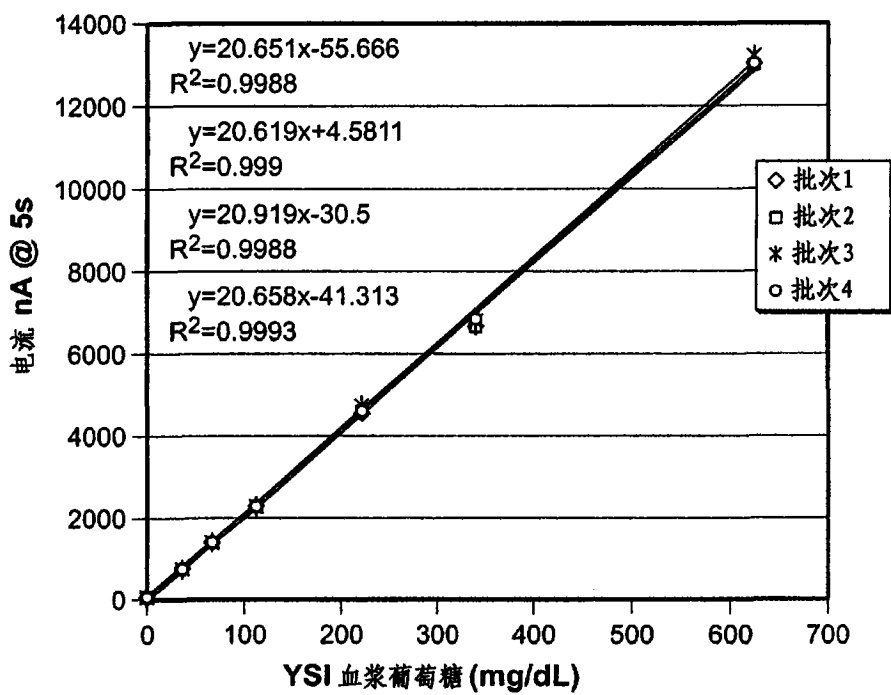


图 2

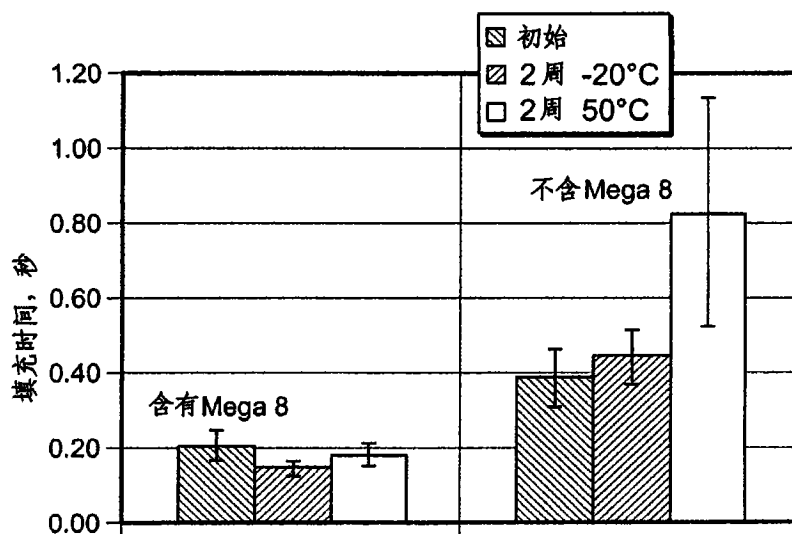


图 3

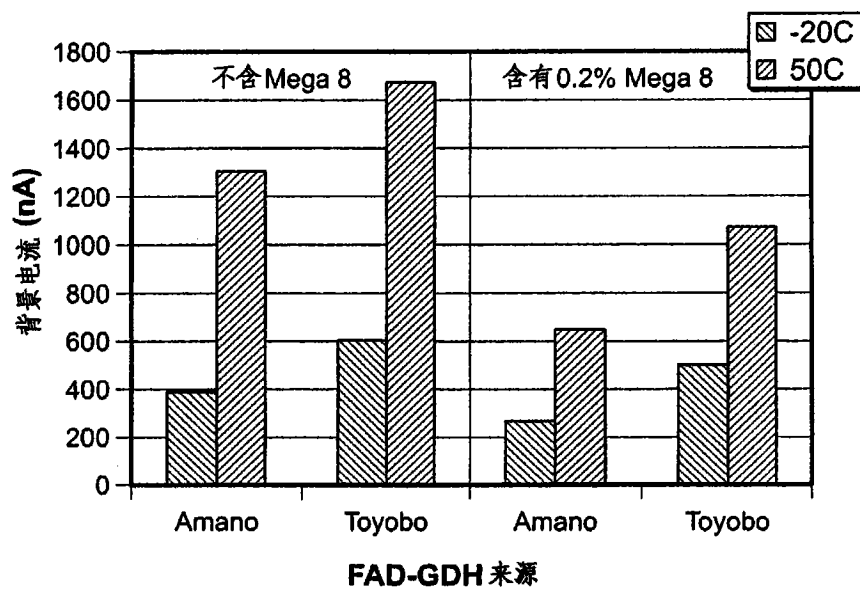


图 4

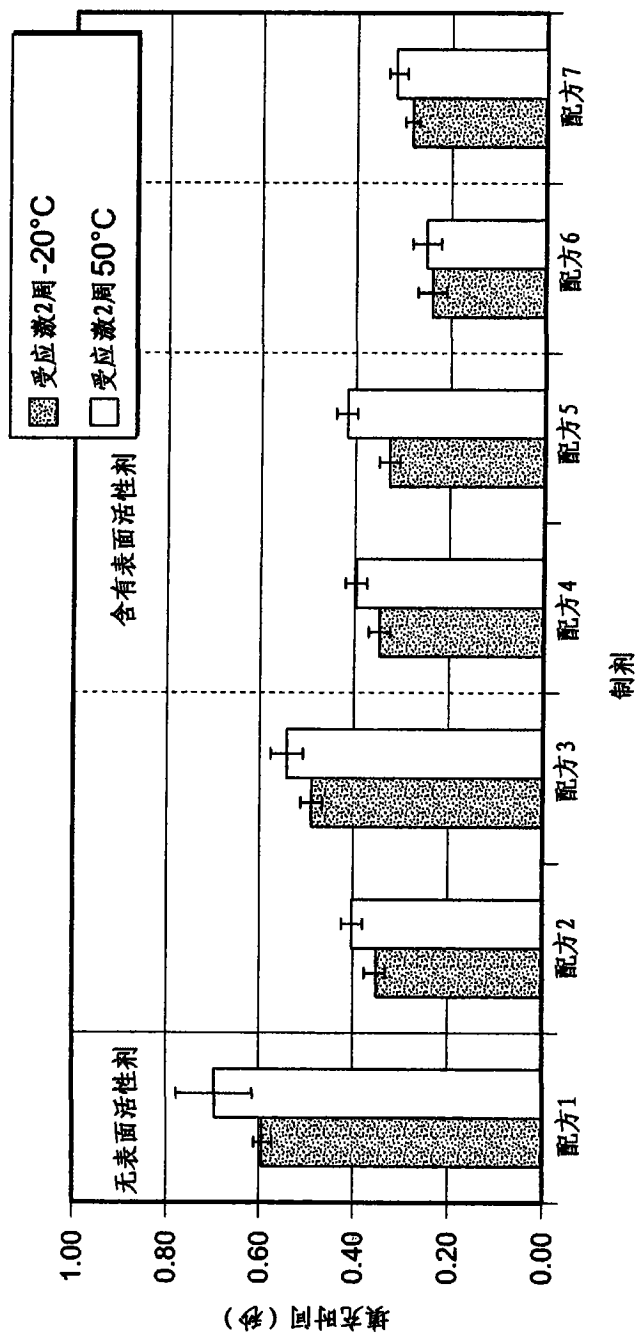


图 5

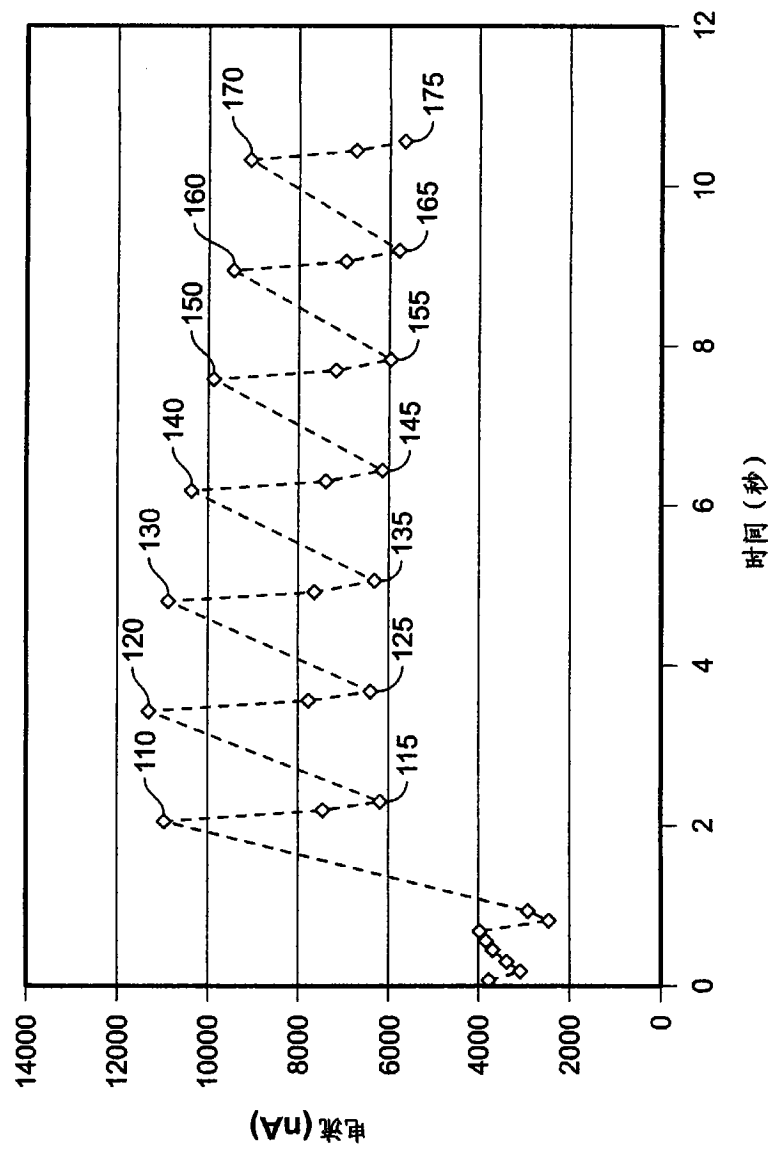


图 6

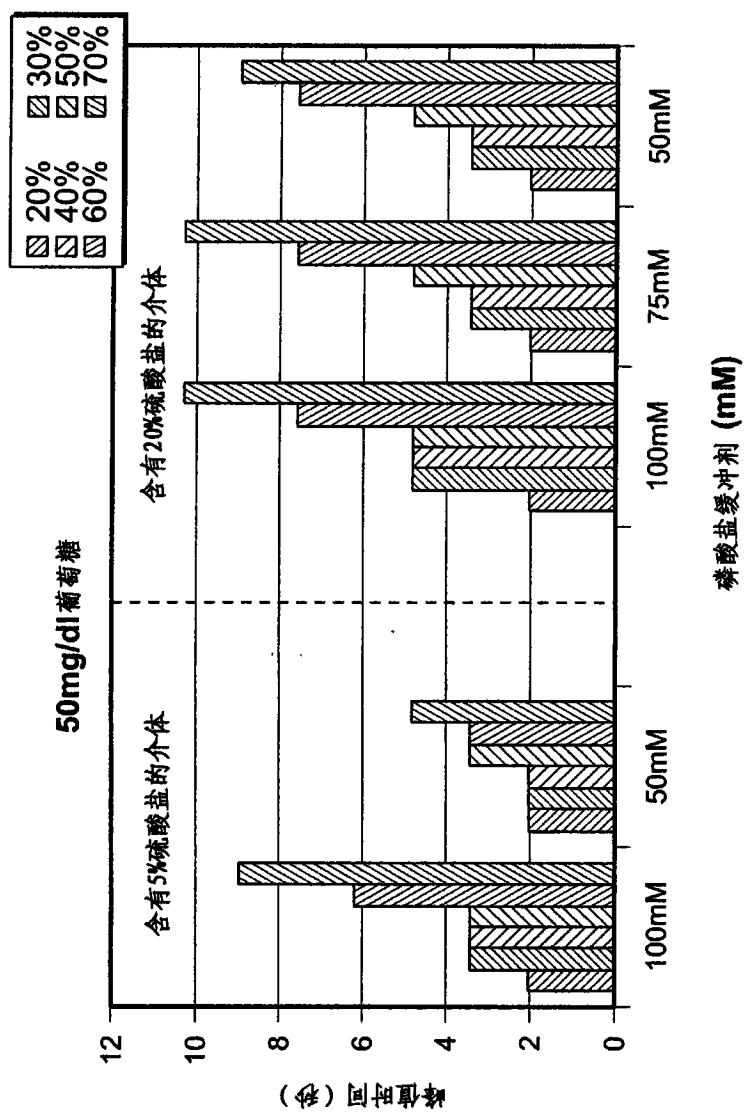


图 7

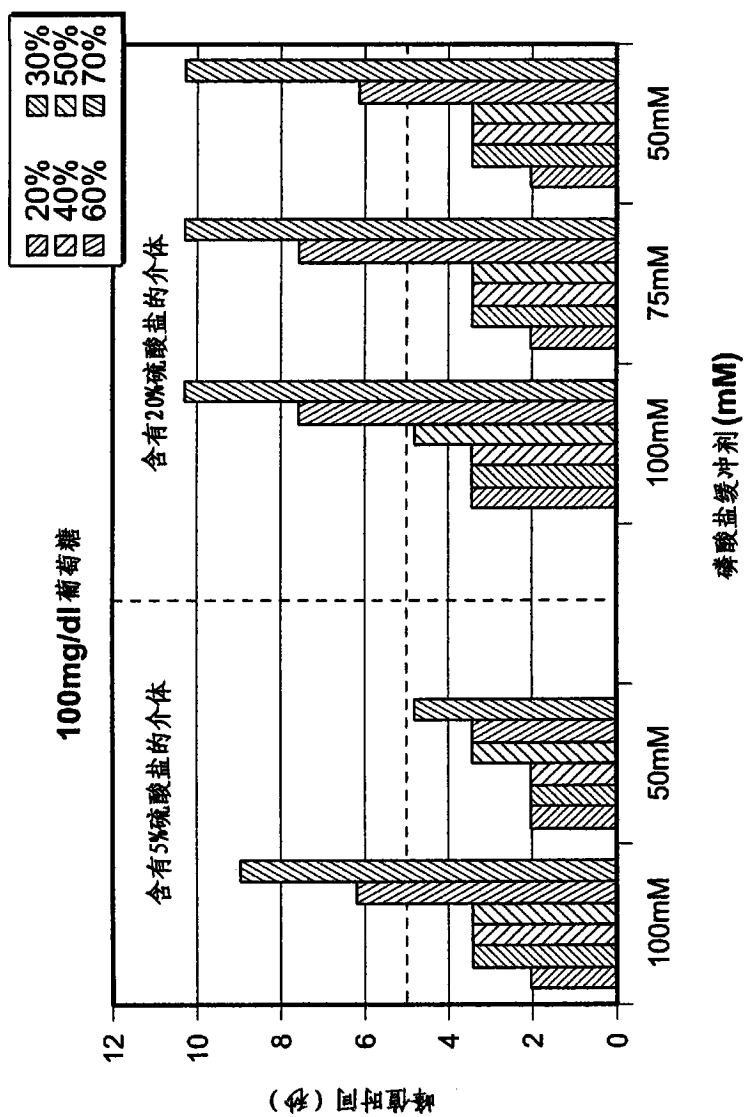


图 8

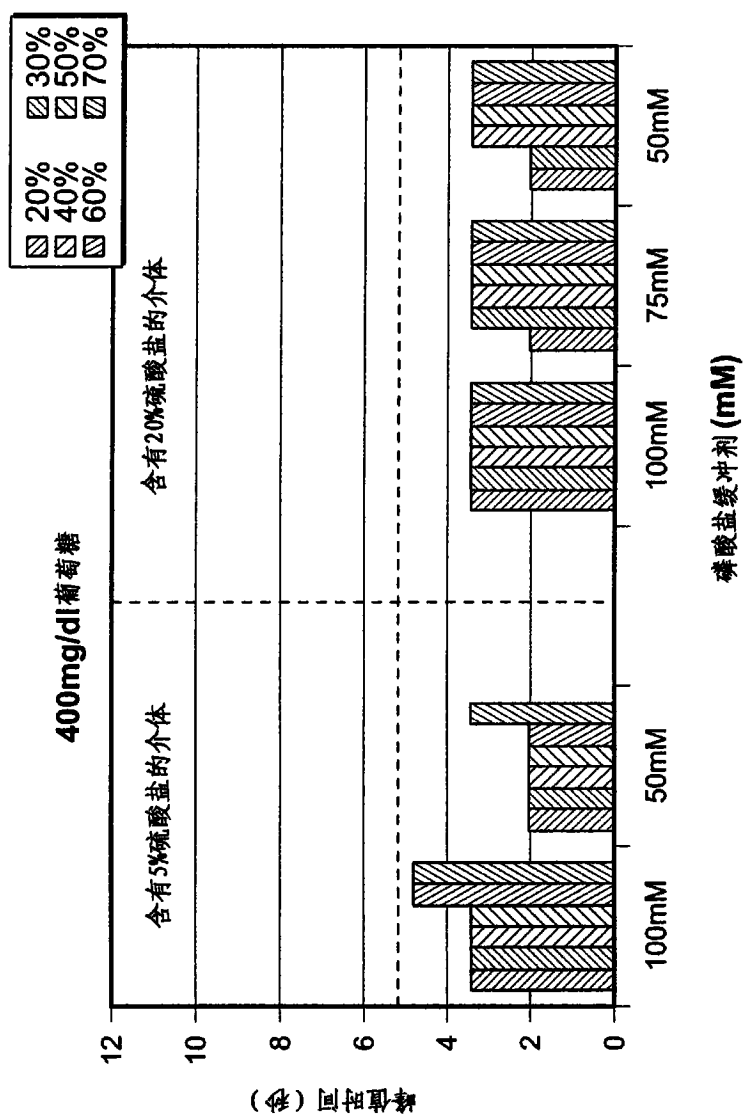


图 9

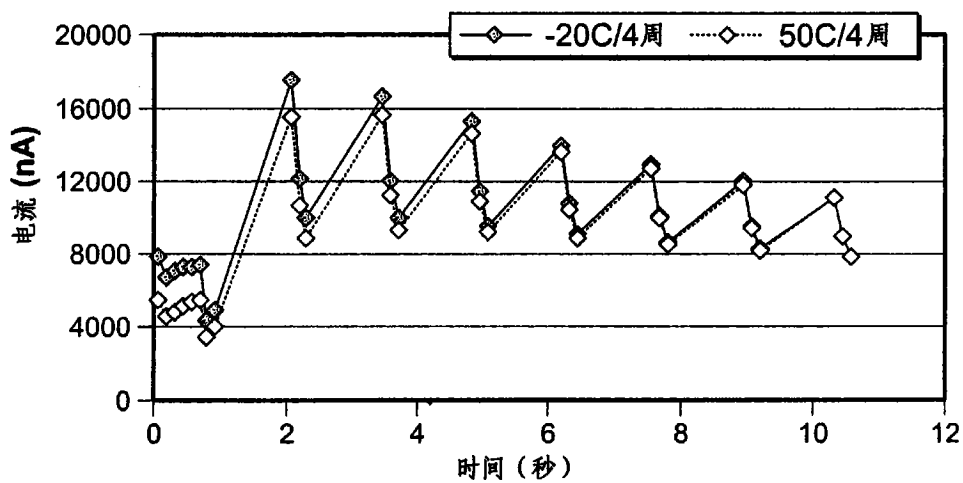


图 10A

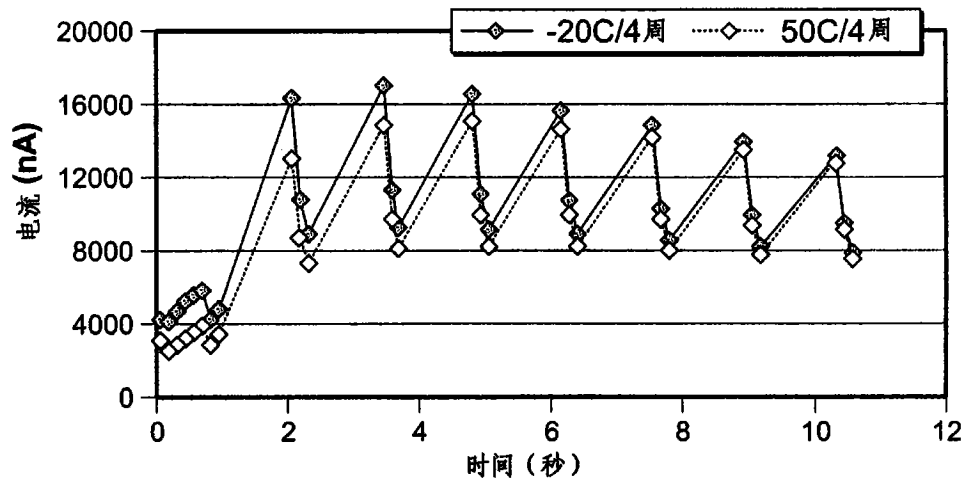


图 10B

	%CV , 40% Hct 全血					
传感器	36mg/dL	66mg/dL	110mg/dL	220mg/dL	330mg/dL	627mg/dL
低盐批次	1.4	2.7	2.1	1.4	1.8	2.1
高盐批次	5.5	4.9	4.3	5.0	1.8	2.1

图 11