

(此處由本局於收  
文時黏貼條碼)**發明專利說明書** 200530582

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

分割案

※申請案號：9411880 (由87120205分案)

※申請日期：87年12月04日

※IPC分類：G01N 33/48

**一、發明名稱：**

(中) 改良之電化學生物感知試條

(英) Improved electrochemical biosensor test strip

**二、申請人：(共 1 人)**

1. 姓名：(中) 羅氏診斷公司

(英) ROCHE DIAGNOSTICS CORPORATION

代表人：(中) 1. 史帝夫 歐德漢

(英) 1. OLDHAM, STEVE A.

地址：(中) 美國印地安納州印地安納玻里哈格路九一一五號

(英) 9115 Hague Road, Indianapolis, IN 46250, U.S.A.

國籍：(中英) 美國 U.S.A.

**三、發明人：(共 10 人)**

1. 姓名：(中) 威廉 克里摩

(英) CRISMORE, WILLAM F.

國籍：(中) 美國

(英) U.S.A.

2. 姓名：(中) 尼格 蘇里吉

(英) SURRIDGE, NIGEL

國籍：(中) 英國

(英) UNITED KINGDOM

3. 姓名：(中) 丹尼爾 麥克明

(英) MCMINN, DANIEL R.

國籍：(中) 美國

(英) U.S.A.

4. 姓名：(中) 艾力克 迪柏

(英) DIEBOLD, ERIC R.

國籍：(中) 美國

(英) U.S.A.

5. 姓名：(中) 理查 包登史丁納  
(英) BODENSTEINER, RICHARD J.  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

6. 姓名：(中) 厄爾 戴克  
(英) DELK, R. DALE  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

7. 姓名：(中) 大衛 柏克  
(英) BURKE, DAVID W.  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

8. 姓名：(中) 何嘉宏  
(英) HO, JIAXIONG JASON  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

9. 姓名：(中) 羅伯 伊爾  
(英) EARL, ROBERT KITCHEL  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

10. 姓名：(中) 布萊恩 海德  
(英) HEALD, BRIAN A.  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

#### 四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利  主張國際優先權：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國 ; 1997/12/05 ; 08/985,840  有主張優先權

(英) U.S.A.

5. 姓名：(中) 理查 包登史丁納  
(英) BODENSTEINER, RICHARD J.  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

6. 姓名：(中) 厄爾 戴克  
(英) DELK, R. DALE  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

7. 姓名：(中) 大衛 柏克  
(英) BURKE, DAVID W.  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

8. 姓名：(中) 何嘉宏  
(英) HO, JIAXIONG JASON  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

9. 姓名：(中) 羅伯 伊爾  
(英) EARL, ROBERT KITCHEL  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

10. 姓名：(中) 布萊恩 海德  
(英) HEALD, BRIAN A.  
國籍：(中) 美國  
(英) U.S.A.

#### 四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利  主張國際優先權：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國 ; 1997/12/05 ; 08/985,840  有主張優先權

## 九、發明說明

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於生物感知器及其於偵測流體中的電解質方面之使用。

### 【先前技術】

以前的技術包括用以測定流體中之電解質量的試條，包括電化學生物感知試條。

這樣的試條特別用以測體人體血液中的葡萄糖。這樣的試條可供糖尿病患者及保健從業者來偵測其血液中的葡萄糖量。此試條被設計用於染料的光偵測時，此試條常與測定光反射值的儀表併用，或者，設計用以偵測電活性化合物時，其可用以測定一些電力性質（如：電流）。

但是，個人使用者使用以前製造的試條有一些問題存在。例如，試條相當小，視力受損的糖尿病患者將血液樣品適當地加至試條的樣品添加區域中有很大的困難。將試條製成視力受損者容易將樣品添加在試條上者有其效用。

試條是毛細管充填設計時，當試條的化學反應區是一個毛細空間時，平順地及足量地以欲測試的樣品填充此區時會發生特別的問題。因為毛細空間和用以製造試條的材料組成少，試驗樣品進入毛細管反應區中時可能會停頓。此外，引至毛細管反應區中的樣品量可能會不足，因此會產生不正確的測試結果。若能儘量減少這樣的問題將會非常有用。

(2)

最後，大量製造試條，特別是糖尿病患者用以測試的血液葡萄糖量用的試條。用以製造這些試條的方法（如：機械打孔）可能會使試劑在測試區域表面上而乾掉破裂或破碎，因此造成試劑損失或試劑未能位於試條的適當位置上。設計使得測試試劑能夠忍受加工步驟（如：機械打孔）也會非常有用。

本發明的電化學生物感知試條提出解決以前的試條的這些前述問題的方法。

#### 【發明內容】

本發明是一種改良之電化學生物感知試條，其有四個新穎且非常有利的特點。

第一個新的特點是：順著試條的一邊有凹痕狀，容易辨視樣品施用點，以便於視力受損的人或於無亮光或光亮條件欠佳時使用。

此試條具有毛細測試區，測試區頂部包括此生物感知試條的第二個新特點。此第二個新特點是一種透明或半透明視窗，以“充填於此處”線的方式操作，藉此辨別是否有足量的測試樣品（液體樣品，如：血）被加至此測試區中，以準確地進行測試。此視窗定出準確測試所須的最少樣品量，因此，降低因為在試條上的施用量不足而造成誤判的可能性。

視窗的長和寬比毛細測試區的長和寬來得短。視窗的尺寸和位置使其覆於生物感知試條之工作電極的整個寬度

上及覆於平衡或參考電極的至少約 10% 寬度上。較佳情況中，環繞視窗的頂部區域被著色，使得使用者在透過視窗觀察時，樣品有良好的顏色對比性，且頂部區域環繞著視窗以便於辨認試條的足夠添加量。

此試條的第三個新特點是在樣品施用區處有一或多個缺口。在第一個隔絕底質和試條頂部都有一個缺口。這些缺口的尺寸和位置使得它們在試條中互相交疊。這些缺口減少所謂的“施用遲疑”。樣品加至無缺口試條的樣品施用區時，樣品進入毛細測試區時會有停頓的情況。此“施用遲疑”會延長測試時間。試條包括缺口時，施用遲疑情況減少。此外，在第一個絕緣底質和頂部皆有缺口者，使得試樣能能夠以寬變化角度朝樣品施用區前進。若只有頂部有缺口，此試樣的前進角度受到的限制會比較大。

最後，此試條的第四個新特點是試劑包括平均分子量約 100,000 道耳吞至約 900,000 道耳吞、濃度由約 0.2%（重量：重量）至約 2%（重量：重量）的聚氧化乙烯，此使得乾燥的試劑更具親水性也更結實。含括聚氧化乙烯，此試劑更能忍受在試條組合時的機械打孔及使用試條時的機械操作。此外，經乾燥的試劑包括約 1.75%（重量：重量）至約 17.5%（重量：重量）的聚氧化乙烯，在含水試樣加至試條區時，容易再度溶解或再度懸浮。

#### 【實施方式】

本發明之生物感知器的較佳實施例之構件示於附圖 1

、2、4 和 5。此生物感知器包括第一個絕緣底質 1，其有第一個表面 22 和第二個表面 23。絕緣底質 1 可製自任何可資利用的絕緣材料。基本上，塑膠（如：乙烯聚合物、聚醯亞胺、聚酯和苯乙烯類提供所欲的電力和結構性質。第一個絕緣底質 1 另包含凹痕 2、缺口 3 和輸出孔 4。因為附圖 1 所示的生物感知器要以材料卷大量製造，所以必須選擇柔軟度足以用於捲筒加工且韌度足以使最終生物感知器具有用韌度的材料，特別佳的第一個絕緣底質 1 是 7 密耳厚的 MELINEX329 塑料，其是由 ICI Films (3411 Silverside Road, PO Box 15391, Wilmington, Delaware 19850) 提供的聚酯。

如附圖 1 所示者，導電軌 5 和 6 貼在第一個絕緣底質 1 的第一個表面 22 上。軌 5 可以是工作電極，由導電材料（如：鈮、鉑、金、碳和鈦）製成。軌 6 可以是平衡電極，由導電材料（如：鈮、鉑、金、銀、含銀合金、鎳—鉻合金、碳、鈦和銅）製成。以貴金屬為佳，因為它們提供更穩定的可再製電極表面。鈮因為比貴金屬更不容易被氧化且因其為相當低廉的材料，所以是特別佳者。

較佳情況中，導電軌 5 和 6 附著在絕緣墊片（如：聚醯亞胺或聚酯）上，以降低在拿取或製造試條期間內撕裂電極材料的可能性。這樣的導電軌的例子是在 UPILEX 聚醯亞胺墊片上之表面電阻低於 5 歐姆／平方鈮塗層（由 Courtaldis-Andus Performance Films, Canoga Park, California 提供）。

導電軌 5 和 6 代表生物感知試條的電極。這些電極的距離必須足夠，使得發生於一個電極上的電化學情況不會干擾到另一電極上的電化學情況。電極 5 和 6 之間的較佳距離約 1.2 毫米。

附圖 1 所示的試條中，導電軌 5 是工作電極，導電軌 6 是平衡電極或參考電極。軌 6 如果是由典型的參考電極材料（如：銀／氯化銀）製得時，可以是參考電極。較佳實施例中，軌 5 是鈮製的工作電極，軌 6 是亦製自鈮的平衡電極且實質上與工作電極具相同尺寸。

也可以配備有三種電極，其中，試條包括額外的導電軌位於導電軌 6 和輸出孔 4 之間。在三個電極排列時，導電軌 5 是工作電極，軌 6 是平衡電極而介於導電軌 6 和輸出孔 4 之間的第三個電極是參考電極。

覆於導電軌 5 和 6 上的是第二個絕緣底質 7。第二個絕緣底質 7 製自與第一個絕緣底質 1 類似或相同（以相同為佳）的材料。底質 7 有第一個表面 8 和第二個表面 9。第二個表面 9 以黏合劑（如：熱熔膠）附於底質 1 的表面和導電軌 5 和 6 上。此膠的一個例子是 DYNAPOLS-1358 膠，得自 Hüls America, Inc., 220 Davidson Street, PO Box 6821, Somerset, NJ 08873。底質 7 亦可包括第一個開口 10 和第二個開口 11。第一個開口 10 使導電軌 5 和 6 外露以與儀表（在試樣與試條的試劑混合之後，測定試樣的一些電力性質）作電力連接。第二個開口 11 使不同部分的導電軌 5 和 6 外露以使試劑 12 施用在軌 5 和 6 的這些

外露表面上。(附圖 1 中，導電軌 5 和 6 的整個寬度因開口 11 而外露。但是，也可以僅使作為平衡電極或參考電極之用的導電軌 6 的一部分寬度外露，只要至少約 10% 的寬度由開口 11 外露即可。)此外，第二個絕緣底質 7 包括凹痕 19，其與附圖 1 所示的凹痕 2 相符。

試劑 12 是使試條進行測試的特定試劑。試劑 12 可施用在由第二個開口 11 定出範圍中之導電軌 5 和 6 的整個外露表面上。也可以將試劑 12 施用於此區域中。例如，若試條的此區域中的導電軌 6 具參考電極構造(如：銀/氯化銀)，則試劑 12 僅須覆蓋此區域中的工作電極 5 外露表面。此外，不須以試劑蓋住電極的整個外露表面，只要電極的指定及可再製表面被試劑蓋住即可。

蓋住第一個表面 8 和第二個開口 11 的一部分的是頂部 13。頂部 13 包括凹痕 14 和缺口 15。凹痕 14 和缺口 15 的形狀和位置使得它們直接覆於凹痕 2 和 19 及缺口 3 上。頂部 13 可製自塑膠材料(如：約 2 密耳至約 6 密耳厚的透明或半透明聚酯膜)。頂部 13 有第一個表面 16 和第二個表面 17。頂部 13 的第二個表面 17 藉適當的黏合劑(如：3M 9458 丙烯酸物，得自 3M, Identification and Converter Systems Division, 3M Center, Building 220-7W-03, St. Paul, MN 55144)附著於第二個絕緣底質 7 的第一個表面 8 上。

較佳情況中，頂部 13 另包括透明或半透明視窗 18。視窗 18 的大小和位置使得頂部 13 附於第二個絕緣底質 7

，此視窗覆蓋導電軌 5 的整個寬度和導電軌 6 的至少約 10 % 寬度。

頂部 13 的第二個表面、開口 11 的邊緣及絕緣底質 1 的第一個表面 22 (及附於底質 1 的第一個表面 22 上的導電軌 5 和 6) 定義出毛細測試區。以開口 11 的長度和寬度定出此毛細區的長度和寬度，以第二個絕緣底質 7 的厚度定出此區的高度。

較佳的試條可以附圖 3a-3i 所示的程序製造。絕緣底材板 21 (MELINEX 239, 7 密耳厚, 得自 ICI) 的一面以熱熔黏合劑 (DYNAPOL S-1358, 得自 Hüls) 塗覆 (附圖 3a)。板 21 延線 24 切割, 藉此形成有黏合劑覆於第一個表面 22 上的第一個絕緣底質 1 及有黏合劑覆於第二個表面 9 上的第二個絕緣底質 7。(附圖 3b 和 3c) 以沖模打孔機在底質 7 上形成第一個開口 10 和第二個開口 11。(附圖 3d) 之後, 在 Upilex 墊片 (得自 Courtaulds-Andus Performance Films) 上之鈹製的導電軌 5 和 6 自捲軸上先被切成約 1.5 毫米寬並覆於底質 1 的表面 22 上, 使得 Upilex 墊片與表面 22 相鄰。將底質 7 的表面 9 覆於鄰近於底質 1 的表面 22 及鄰近於導電軌 5 和 6 處, 藉此形成附圖 3e 所示的三明治結構。熱封此三明治結構。

之後, 使試劑 12 分散於開口 11 中並加以乾燥。(附圖 3f) 在試劑 12 乾燥之後, 以沖模打孔機形成輸出孔 4。(附圖 3g) 之後, 包括親水塗層 25 和視窗 18 的頂部 13 覆於開口 11, 其覆蓋方式使得視窗 18 覆於導電軌 5 的

整個寬度及導電軌 6 的約一半寬度上。如附圖 3h 所示者由脫模襯墊脫下頂部 13 並黏合固定於表面 8 上。

最後，如附圖 3i 所示者，以沖模打孔機在各個試條上打孔。此沖模打孔機可以在有或無缺口 15 的試條打孔。若含括缺口 15，則頂點較佳角度是  $105^\circ$ 。其他角度（如約  $45^\circ$  至約  $105^\circ$ ）亦可用於缺口 15。此外，缺口 15 可以是單一缺口或多重缺口。

如前述者，試劑 12 分散於試條上之以開口 11 定義出的區域中。前述製法中，希望在施用試劑 12 之前，先使用電暈處理開口 11。電暈處理用以提高表面 22 部分及因開口 11 而外露的導電軌 5 和 6 的表面能量，使得試劑 12 均勻分佈及預先潔淨因開口 11 而外露的導電軌 5 和 6 部分。已經發現到預先潔淨導電軌 5 和 6 可大幅改善試條的效能。電暈處理係於瓦特密度由約 20 至約 90 瓦特／公分／秒、弧間隔約 1 密耳（0.040 英吋）的條件下進行。

較佳方法中，此電暈處理以前述瓦特密度以全體形式施用在附圖 3 e 所示的表面上。施用此處理之後的 5 分鐘之內施用試劑 12 最為有效，基本上是在 45 秒鐘之內施用試劑 12。

比較有利的狀況是：降低電暈處理於表面 8 上的作用，以確保試劑 12 完全留在開口 11 中且與表面 8 的親和力不會比與表面 22 部分及與因開口 11 而外露的導電軌 5 和 6 的親和力來得大。電暈消散程序（用以選擇性地降低全面電暈處理程序的效果）用以降低在開口 11 的網區（經

加工的試條片)的處理效果。此電暈消散程序包括施用離子水薄膜，使得水與表面 8 接觸，但不會與開口 10 和 11 接觸。水薄膜(以約 1.5 微米至約 3.0 微米厚(約 9.1 克水/平方米)為佳)之施用可藉芯墊、橡皮版印刷或他種常用的塗覆法來進行。之後，在施用試劑 12 之前，使用強迫對流或紅外光線法，使水薄膜自表面乾燥。此處理的淨效果是：在施用試劑 12 之前，表面 8 的表面能量有效地降低至低於 62 達因，且開口 11 內區域表面維持其電暈處理後的表面能量。

在較佳實施例中，試劑 12 經調配用以測定人體血液樣品中的葡萄糖。使用酵素醌蛋白質(含吡咯基-喹咯啉(PQQ))葡萄糖去氫酶和氧化還原介質氰化物製備一升較佳葡萄糖試劑的文獻如下：Quinoprotein glucose dehydrogenase is Enzyme Commission No.1.1.99.17。

步驟 1：製備 NATROSOL 的去離子水溶液。在攪拌速率不低於 250rpm 且攪拌時間不少於 30 分鐘的情況下，將 0.45 克 NATROSOL-250M(微晶狀羥基乙基纖維素，得自 Aqualon)加至 414 克去離子水中，可達到此目的。最好是使用三或四片渦輪型螺旋槳的頂部旋轉扇葉來達到混合的目的。螺旋槳尺寸和構造之選擇大部分以所用混合容器半徑為基礎。所選用的螺旋槳基本上半徑大於混合容器半徑的 75%。

步驟 2：在混合速率不低於 570rpm 且攪拌時間不少於 60 分鐘的情況下，在得自步驟 1 的溶液中，逐漸添加

AVICEL RC-591F (一種微晶狀纖維素，得自 FMC corp.)，而使 5.6 克的 AVICEL 分散於此溶液中。

步驟 3：在混合速率不低於 690rpm 且攪拌時間不少於 45 分鐘的情況下，在得自步驟 2 的混合物中，逐漸添加 8.4 克聚乙烯化氧 (平均分子量 300,000 道耳吞)。

步驟 4：將 12.1 克一鹼價磷酸鉀 (無水) 和 21.3 克二鹼價磷酸鉀 (無水) 加至 450 克去離水中，形成緩衝溶液。

步驟 5：自步驟 4 的製劑中移出 50 克緩衝溶液。在此 50 克緩衝溶液中，添加 12.5 毫克的輔酶 PQQ (得自 Fluka)。攪拌此溶液直到輔酶完全溶解。(製備酵素製劑時以使用磁攪拌棒和磁攪拌器為佳。)

步驟 6：在得自步驟 5 的溶液中，逐漸添加 1.21 百萬單位的醜蛋白質葡萄糖去氫酶，添加時在磁攪拌器上於低速 (低於 400rpm) 攪拌以免起泡。所得溶液混合不超過 2 小時，使得酵素和輔酶的關係穩定，藉此形成醜蛋白質葡萄糖去氫酶溶液。

步驟 7：在得自步驟 4 的緩衝溶液中，添加 59.1 克的氰化鉀。之後，添加 6.2 克丁二酸鈉。所得溶液混合直到溶質完全溶解。溶解之後，評估溶液的 pH，其值應約  $6.76 \pm 0.05$ 。

步驟 8：得自步驟 7 的溶液逐漸摻入得自步驟 3 的混合物中，摻入時的混合速率不低於 190rpm。

步驟 9：在得自步驟 8 的混合物中，添加 520 克海藻

糖，添加時的混合速率不低於 190rpm，時間不少於 10 分鐘。

步驟 10：0.35 克 TRITON X-100 界面活性劑（得自 Boehringer Mannheim Biochemicals）加至得自步驟 9 的混合物中，添加時的混合速率不低於 190rpm，時間不少於 5 分鐘。

步驟 11：得自步驟 6 的酵素溶液加自得自步驟 10 的混合物中，此新的完整試劑於不低於 190rpm 的混合速率下混合，混合時間不少於 30 分鐘。

步驟 12：現視製造設備所需地藉由與濾經 100 微米過濾袋或濾經與抽氣系統連接之 100 微米濾器的方式過濾此試劑。

前述醌蛋白質葡萄糖去氫酶的去輔基酶蛋白質得自德國的 Boehringer Mannheim GmbH（Boehringer Mannheim GmbH 編號 1464221）。或者，此去輔基酶蛋白質得自下列文獻：Duine 等人，FEBS Letters, 108(2), 443-46。

乙酸鈣不動桿菌（*Acinetobacter Calcoaceticus*）在摻有 0.02M 丁二酸鈉或 0.10M 乙醇的無機鹽介質中於 22°C、氧氣供應良好的情況下生長。在對數生長期（logarithmic phase）終了時收集此細胞，濕細胞產量約 4 克／升。

經冷凍的細胞（10 克）解凍並與 15 毫升 36mM Tris／39mM 甘胺酸緩衝液混合。添加 6 毫克的溶菌酶之後，懸浮液於室溫攪拌 15 分鐘並於 48000 重力加速度離心 10

分鐘。丟棄上層清液，萃出物以含有 1% TRITON X-100 界面活性劑的 36mM Tris / 39mM 甘胺酸緩衝液萃取兩次。合併離子步驟上層清液並立刻使用。

將不含細胞的萃出液加至已經以含有 1% TRITON X-100 界面活性劑的 36mM Tris / 39mM 甘胺酸緩衝液平衡過的 DEAE-Sephacel 管柱 (13×2.2 公分) 中，管柱並以相同緩衝液清洗。此酵素不會黏在管柱材料上，合併的活性餾份以 2M 醋酸滴定至 pH6.0。立刻將此溶液加至已經以 5mM 磷酸鉀平衡過的 CM-Sephacrose CL-6B (5×1 公分) 中。管柱以相同緩衝液清洗直到無 TRITON X-100 界面活性劑存在於沖出液中為止，此酵素以 0.1M 磷酸鉀 (pH7.0) 沖提。

之後，此酵素以含有 3M 溴化鉀的 0.1M 醋酸鈉 (pH4.5) 於 4°C 滲析 72 小時。之後，此酵素以 0.02M 磷酸鉀 (pH7.0) 滲析 12 小時，得到去輔基酶蛋白質。

較佳的試條中，開口 11 是約 3.2 毫米至約 6.7 毫米。葡萄糖試條的較佳實施例中，4.5 微升由上述文獻製得的試劑加至開口 11。(請參考附圖 3f) 試劑量實質上蓋住開口 11 之導電軌 5 和 6 的外露部分。之後，試劑 12 於約 70°C 乾燥約 1 至 2 分鐘。

所得之較佳的乾燥葡萄糖試劑膜將含有約 2,000 至約 9,000 單位酵素活性 / 克試劑。較佳試劑中，每克試劑另含有下列組份：

62.2 毫克 聚乙 烯 化 氧

3.3 毫克 NATROSOL 250M

41.5 毫克 AVICEL RC-591F

89.4 毫克 一 鹼 價 磷 鉀

157.9 毫克 二 鹼 價 磷 鉀

437.3 毫克 氰 化 鉀

46.0 毫克 丁 二 酸 鈉

148.0 毫克 海 藻 糖

2.6 毫克 TRITON X-100 界 面 活 性 劑

重要地，前述用以提供試劑的濕試劑中，包括約 0.2 重量% 至約 2 重量% 分子量由約 100,000 道耳吞至約 900,000 道耳吞的聚乙 烯 化 氧，較佳的是含約 0.71 重量% 平均分子量為 300,000 道耳吞的聚乙 烯 化 氧，在乾燥之後，比試條加工步驟（如機械打孔）之前來得結實，比試條使用者施以機械力之前來得結實，並且在水性樣品（如：人體血液）添加之後，可再度溶解或再度懸浮。乾燥之後，聚乙 烯 化 氧的百分比由約 1.75%（重量：重量）至約 17.5%（重量：重量）。在較佳的乾燥試劑中，聚乙 烯 化 氧的百分比約 6.2%（重量：重量）。

此較佳之乾燥的葡萄糖試劑膜厚度使其具有試驗化學的內稟性質並減少改變分血器對試驗敏感度所造成的干擾。在本發明的此較佳實施例中，膜厚（以濕試劑分散體積與因開口 11 外露的表面積之比值估計）使得 4.5 微升的

試劑分散於約 22.5 平方毫米的面積（開口 11 的較佳面積）中。由人類血液樣品測定葡萄糖時，膜厚如上述且包括平均分子量約 100,000 道耳吞至約 900,000 道耳吞的聚乙烯化氧的膜，會使感知器加工時製得對於改變分血器之敏感度減少者。

試劑 12 在開口 11 中乾燥時，頂部 13 覆於開口 11 上並以前述方式黏合附著於表面 8 上。頂部 13 本身由根據下列步驟在獨立程序中製得。

較佳情況中，頂部 13 製自 5 密耳厚的 MELINEX 561 聚酯薄片，實質上不透明的墨水以圖案 27 印在第一個表面 16 上，使得視窗 18 為透明或半透明。此視窗的大小或位置使得頂部附於表面 8 上，如附圖 3h 所示者，它會與開口 11 排成一列。

在第二個表面 17 上，黏合系統層疊，使得頂部長久附於表面 8 上。此黏合系統可便利地為丙烯系黏合劑（如：許多市售品），但以 3M Inc 產品編號 9458 者為佳。

此外，將頂部置於表面 8 上，將一片經塗覆的透明或半透明塑膠片（以聚對酞酸乙二酯（PET）為佳，如：約 0.001 至約 0.004 英吋厚的 Melinex S 塑膠片）置於第二個表面 17 上的黏合系統上，並與視窗 18 尺寸外成一線。此經塗覆的塑膠片是親水性塗層 25。特別選定塗層 25 以使得毛細測試區的內表面具有親水本質，以有助於水性樣品（如：血液）流入測試區中。塗層 25 可選自多種設計用以展現親水性表面的塗層，但以 Adhesives Research Inc.

提供的 ACARE 8586 為佳。塗層 25 也可用以避免頂部黏合劑與試劑 12 直接接觸。

最後，將頂部 13 置於表面 8 上。（請參考附圖 3h）此時，如附圖 3h 中所示者，由頂部 13 沒有印刷墨水而定義出的透明或半透明的視窗 18 必須與開口 11 成一線。應選擇透明或半透明視窗 18 的尺寸，使得可由視窗 18 看到位於下方的毛細通道實質上一部分寬度（超過約 75%）。視窗 18 的矩形尺寸應使工作電極 5 的整個寬度外露。因此，將樣品（如：血液）引至毛細測試區中時，可以讓使用者經由樣品施用區 20 敏銳地以肉眼看出視窗是否完全被樣品所填滿。以此處所述者選擇視窗尺寸，能夠讓試條的使用者充份地填滿樣品。利用視窗由肉眼證實，可以完全確保有足夠的工作電極面積被樣品所覆蓋及平衡或參考電極 6 也有足夠的部分被覆蓋。要達到毛細充填電化學生物感知器的準確試驗性，重要的是要以試樣覆蓋電極。肉眼證實試條有足夠的施用量，使試條不會因為施用量不足而導致錯誤結果的保證。

完整試條 26 與在試樣加至樣品施用區 20 之後能夠測定一些試樣之電力性質的測定計連接。（請參考附圖 2）測定的電力性質可以是，如：電流、電動勢、電荷或電阻測。測量電動勢變化以進行分析試驗的一個例子述於美國專利案第 5,413,690 號，茲將其中所述者併入本文中以資參考。

測定電流以進行分析試驗的一個例子述於美國專利案

第 5,288,636 和 5,508,171 號，茲將其中所述者併入本文中以資參考。

一個較佳的實施例中，試條 26 和儀表（包括電源（電池））連接。這樣的儀表和生物感知系統之改善可參考美國專利案編號 4,999,632、5,243,516、5,366,609、5,352,351、5,405,511 和 5,438,271，茲將其中所述者併入本文中以資參考。

許多含電解質的流體可藉本發明的電化學試條分析。舉例言之，可以測定人體體液（如：全血、血清、尿液和腦脊髓流體）中的電解質。同樣地，可以測定發酵產品中和環境物質（原含有環境污染物者）中發現的電解質。

使用前述較佳的試條來測定人體血液中的葡萄糖濃度時，軌 5 和 6 是實質上尺寸相同的鈹，葡萄糖劑是前述試劑，血液樣品可加至樣品施用區 20。樣品會因毛細作用而被引至測試區中。一旦進入測試區，血液樣品會與試劑 12 混合。經過一段所欲時間（如：30 秒鐘）的培養之後，介於軌 5 和 6 之間的儀表的電源會有電動勢差。較佳實施例中，此電動勢差是 300 毫伏特。電動勢差為 300 毫伏特之後，在 0.5 秒之約 30 秒的任何時刻測定電流。測得的電流大小與血液樣品中的葡萄糖濃度有關。

利用電流測定儀表的演算，分析來自流體樣品的電解質期間測得的電流與樣品中的電解質濃度有關。此演算可能是下列例子所列者：

[ 電解質 ] =  $Ci_{7.5} + d$  其中，[ 電解質 ] 代表樣品中

的電解質濃度（請參考附圖 6）， $i_{7.5}$  是電極間施用電動勢差後的 7.5 秒時測得的電流（毫安培）， $C$  是線 30 的斜率（附圖 6），而  $d$  是軸截線值（附圖 6）。

以已知電解質濃度測定而作出校正曲線 30（附圖 6）。此校正可儲存於儀錶的唯讀記憶體（ROM）中，可用於特定幾批試條中。附圖 6 中的線 31 和 32 代表兩個不同批試條的其他假想曲線。這些生物感知器批次之校正所得的  $C$  和  $d$  值通常與上述運算式的值略有不同。

由人類全血樣品分析葡萄糖的較佳方法中，在電極間已產生電動勢差之後的 2 秒至 9 秒期間內，每隔 0.5 秒鐘測定電流。

在此測定血液樣品中之葡萄糖的例子中，於不同時間（施用電動勢差之後的 3 秒至 9 秒）測定電流，而非在單一固定時間（如前述者）測定，結果運算比較複雜，可以用下列式子表示：

$$[\text{葡萄糖}] = C_1 i_1 + C_2 i_2 + C_3 i_3 + \dots \dots C_n i_n + d$$

其中， $i_1$  是於第一個測定時間（施用 300 毫伏特電動勢差之後 3 秒鐘）測得的電流， $i_2$  是於第二個測定時間（施用 300 毫伏特電動勢差之後 3.5 秒鐘）測得的電流， $i_3$  是於第三個測定時間（施用 300 毫伏特電動勢差之後 4 秒鐘）測得的電流， $i_n$  是於第  $n$  個測定時間（此例子中為第 13 次測定時間或施用 300 毫伏特電動勢差之後 9 秒鐘）測得

的電流， $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$  和  $C_n$  是係數，衍生自多變數回歸分析技巧（如：Principle Components Analysis or Partial Least Squares），而  $d$  是回歸截線值（其單位為葡萄糖濃度）。

或者，可以將點出電流值而形成的曲線加以積分（一段時間內（如：施用 300 毫伏特電動勢差之後 9 秒鐘）的電流積分），藉此得知測量期間內的總電荷轉移，以此測定樣品中的葡萄糖濃度。轉移的總電荷與測量的樣品中的葡萄糖濃度有關。

此外，可以由實際測量時的不同環境溫度和校正時的環境溫度來校正所測得的葡萄糖濃度。例如，如果葡萄糖測定時的校正曲線是在 23°C 的環境下作成的，則葡萄糖測定應使用下面的式子作校正：

$$[\text{葡萄糖}]_{\text{corrected}} = [\text{葡萄糖}]_{\text{measured}} \times (1 - K(T - 23^\circ\text{C})),$$

其中， $T$  是測定樣品時的環境溫度（單位是 °C）， $K$  是由下列回歸式得到的常數：

$$Y = K(T - 23),$$

其中，

$$Y = \frac{[\text{葡萄糖}] (\text{於 } 23^\circ\text{C} \text{ 測得者}) - [\text{葡萄糖}] (\text{於 } T^\circ\text{C} \text{ 測得者})}{[\text{葡萄糖}] (\text{於 } T^\circ\text{C} \text{ 測得者})}$$

爲了要計算 K 值，多種葡萄糖濃度於各種溫度 T 及於 23°C 測定（基礎情況）。之後，Y 於 T-23 作線性回歸。K 值是此回歸線的斜率。

本發明的其他特點可用於其他的電化學試條中，如：美國專利案編號 5,123,420、5,141,868、5,437,999、5,192,415、5,264,103 和 5,575,895，茲將其中所述者併入本文中以資參考。

#### 【圖式簡單說明】

附圖 1 是本發明之較佳實施例的外觀圖。

附圖 2 顯示完全組合的較佳試條。

附圖 3a-3i 說明製造本發明試條的較佳方法。

附圖 4 是圖 2 的試條貫穿線 28—28 之截面圖。

附圖 5 是圖 2 的試條貫穿線 29—29 之截面圖。

附圖 6 說明不同批試條的假想校正曲線。

#### 【主要元件符號說明】

- 1 第一個絕緣底質
- 2 凹痕
- 3 缺口
- 4 輸出孔
- 5 導電軌
- 6 導電軌

- 7 第二個絕緣底質
- 8 第一個表面
- 9 第二個表面
- 10 第一個開口
- 11 第二個開口
- 12 試劑
- 13 頂部
- 14 凹痕
- 15 缺口
- 16 第一個表面
- 17 第二個表面
- 18 視窗
- 19 凹痕
- 20 樣品施用區
- 21 絕緣底材
- 22 第一個表面
- 23 第二個表面
- 24 線
- 25 親水性塗層
- 26 試條
- 27 圖案
- 28 線
- 29 線
- 30 校正曲線

200530582

(21)

31 線

d 軸 截 線 值

### 五、中文發明摘要

發明之名稱：改良之電化學生物感知試條

一種具四個新特徵的電化學生物感知試條。此試條包括能觸知的凹痕，以定出試條樣品施用區的位置。樣品施用區導引至包括試劑的毛細測試區。濕試劑包括約 0.2 重量% 至約 2 重量% 平均分子量由約 100,000 道耳吞至約 900,000 道耳吞的聚乙稀化氧，此使得乾燥的試劑更具親水性且更耐得住試條加工步驟（如：機械打孔）及試條使用者所施的機械力。毛細測試區的頂部包括透明和半透明視窗，其作為“填滿此處”線，藉此確定是否有足夠量的試樣（液體樣品，如：血液）加至此測試區中以準確地進行試驗。此試條可進一步地包括位於樣品施用區處的缺口。此缺口減少所謂的“施用遲疑”的現象。

### 六、英文發明摘要

發明之名稱：  
Improved electrochemical biosensor test strip

An electrochemical biosensor test strip with four new features. The test strip includes an indentation for tactile feel as to the location of the strips sample application port. The sample application port leads to a capillary test chamber, which includes a test reagent. The wet reagent includes from about 0.2% by weight to about 2% by weight polyethylene oxide from about 100 kilodaltons to about 900 kilodaltons mean molecular weight, which makes the dried reagent more hydrophilic and sturdier to strip processing steps, such as mechanical punching, and to mechanical manipulation by the test strip user. The roof of the capillary test chamber includes a transparent or translucent window which operates as a “fill to here” line, thereby identifying when enough test sample (a liquid sample, such as blood) has been added to the test chamber to accurately perform a test. The test strip may further include a notch located at the sample application port. The notch reduces a phenomenon called “dose hesitation”.

(1)

## 十、申請專利範圍

1.一種電化學生物感知試條，包含：  
一毛細測試區，  
一樣品施用區(20)，及  
一透明或半透明視窗(18)，提供目測確認試條是否有足量的劑量，其中該透明或半透明視窗的至少三個邊有不透明邊緣。

2.一種電化學生物感知試條，包含：  
一毛細測試區，  
一樣品施用區(20)，及  
一透明或半透明視窗(18)，提供目測確認試條是否有足量劑量的測試樣品，其中該視窗的表面積比開口(11)的長和寬定出之該毛細測試區的面積來得小。

3.一種電化學生物感知試條，包含：  
一毛細測試區，  
一樣品施用區(20)，及  
一透明或半透明視窗(18)，用以辨別當有足量的測試樣品被加至該測試區中，而準確地進行測試，其中該視窗的表面積比開口(11)的長和寬定出之該毛細測試區的面積來得小。

4.如申請專利範圍第3項之生物感知試條，其中該視窗定義出準確測試所須的最少樣品量。

5.一種電化學生物感知試條，包含：  
一毛細測試區，

(2)

一 樣品施用區(20)，及

一 透明或半透明視窗(18)，透過此視窗可看到位於下方的毛細通道之實質部分寬度，其中該視窗的表面積比開口(11)的長和寬定出之該毛細測試區的面積來得小。

6.如申請專利範圍第1或2或3或5項之生物感知試條，其中樣品經由樣品施用區(20)引至毛細測試區中。

7.如申請專利範圍第1或2或3或5項之生物感知試條，另包含至少兩個導電軌(5,6)，且其暴露至該毛細測試區。

8.如申請專利範圍第7項之生物感知試條，其中該至少兩個導電軌延伸過該毛細測試區。

9.如申請專利範圍第8項之生物感知試條，包括試劑(12)，其覆蓋該導電軌的至少一部份。

10.如申請專利範圍第1或2或3或5項之生物感知試條，包括撓性絕緣底質(1)。

11.如申請專利範圍第1或2或3或5項之生物感知試條，其中視窗(18)的矩形尺寸使一工作電極(5)的整個寬度外露。

12.如申請專利範圍第11項之生物感知試條，其中該視窗覆蓋一平衡電極(6)寬度的至少約10%。

13.如申請專利範圍第1或2或3或5項之生物感知試條，其中該視窗包括在頂部(13)之內。

14.如申請專利範圍第1或2或3或5項之生物感知試條，其中該視窗提供試條是否有足量的測試樣品量之目

(3)

測回饋。

15.如申請專利範圍第 1 或 2 或 3 或 5 項之生物感知試條，其中該視窗的長和寬比該毛細測試區的長和寬來得短。

16.如申請專利範圍第 1 或 2 或 3 或 5 項之生物感知試條，其中試條是否有足量的劑量之目測確認係以充填於此處線的視窗操作來達成。

17.如申請專利範圍第 1 或 2 或 3 或 5 項之生物感知試條，包括一位於樣品施用區之缺口，以減少施用遲疑。

18.如申請專利範圍第 17 項之生物感知試條，其中該用以減少施用遲疑之缺口於試條的第一絕緣底質和頂部產生。

19.如申請專利範圍第 18 項之生物感知試條，其中該用以減少施用遲疑之缺口的尺寸和位置使得它們在試條中互相交疊。

20.如申請專利範圍第 10 項之生物感知試條，其中該頂部和絕緣底質形成毛細填充區的相對壁。

21.如申請專利範圍第 13 或 18 項之試條，包括含親水性塗層之頂部。

22.如申請專利範圍第 1 或 2 或 3 或 5 項之生物感知試條，包括順著試條一邊之凹痕狀，用於容易辨視樣品施用區(20)。

23.一種電化學生物感知試條，包含：

一毛細測試區，

(4)

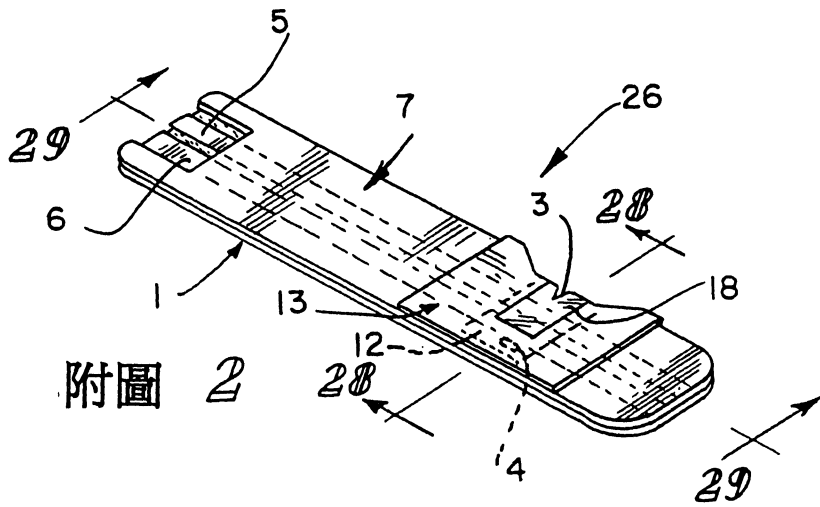
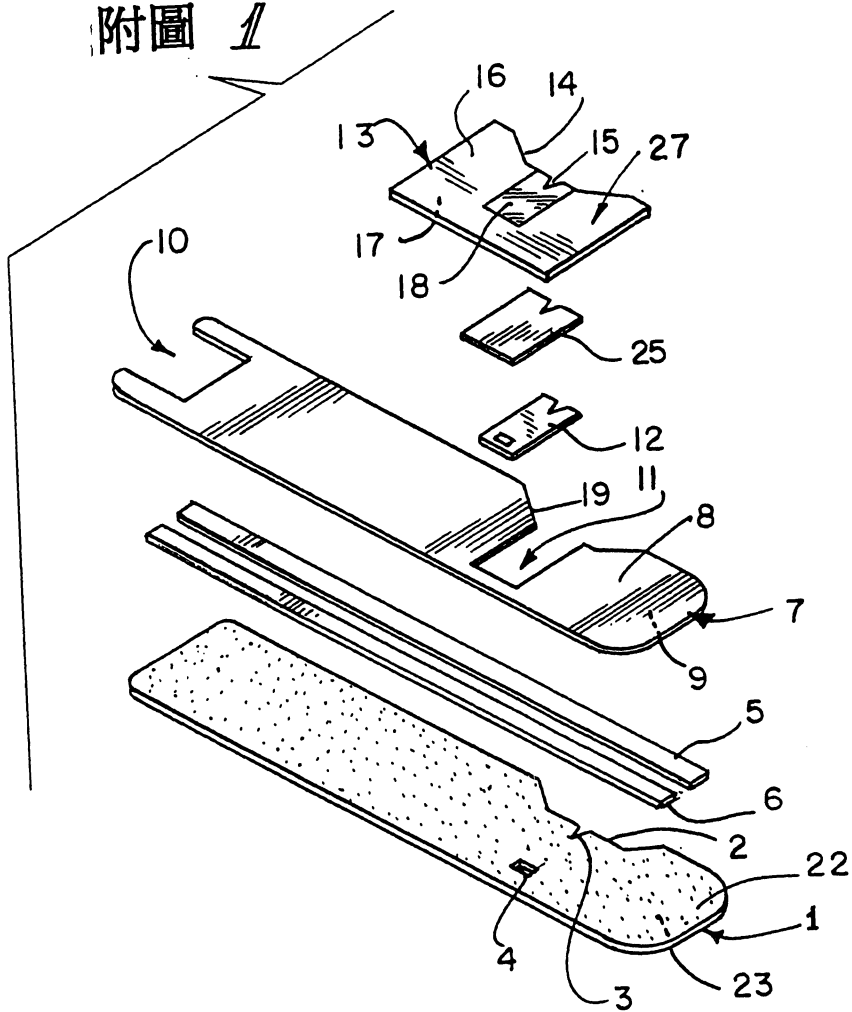
一 樣品施用區(20)，及

一 透明或半透明視窗(18)，其中該透明或半透明視窗的至少三個邊有不透明邊緣，且其尺寸使毛細測試區寬度的大於約 75%可由視窗(18)看見。

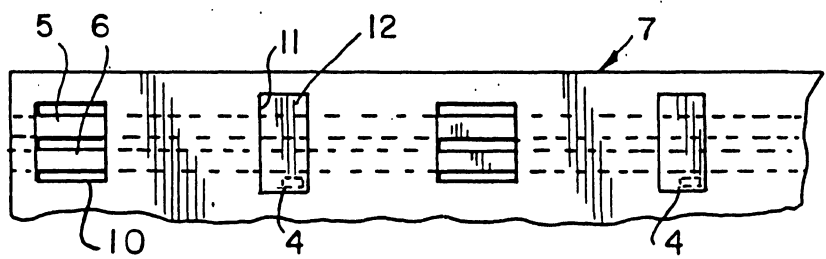
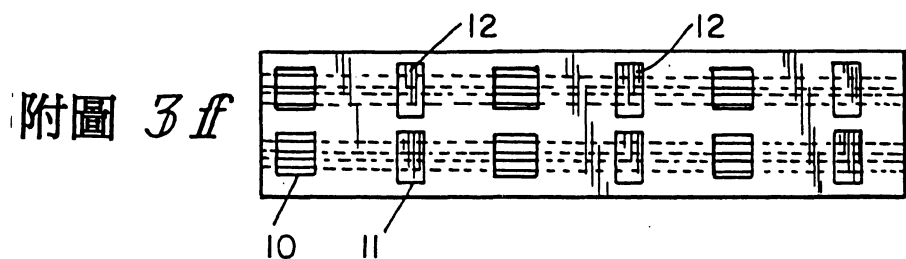
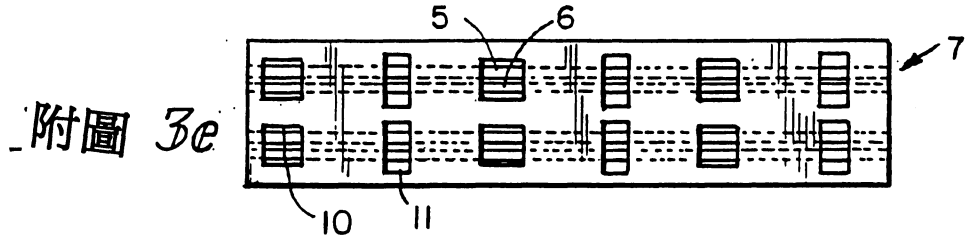
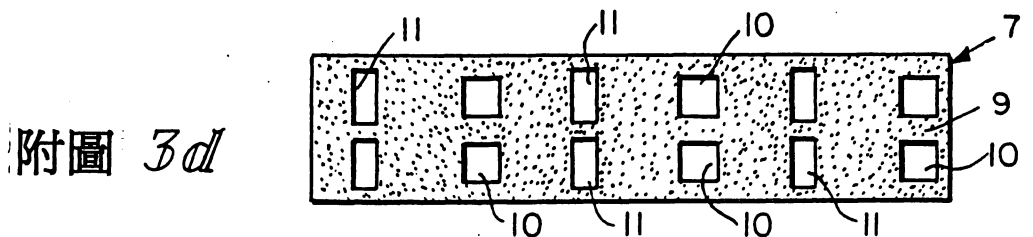
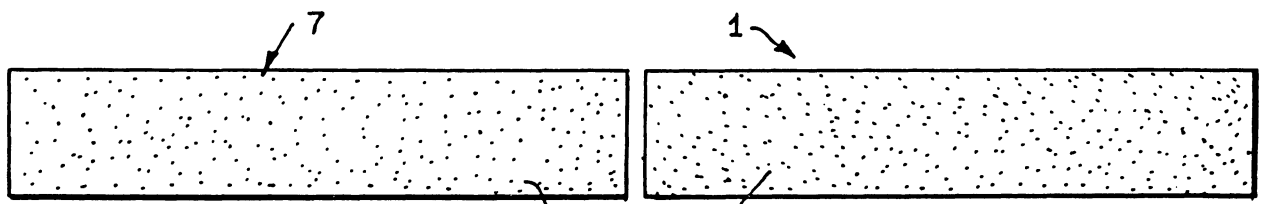
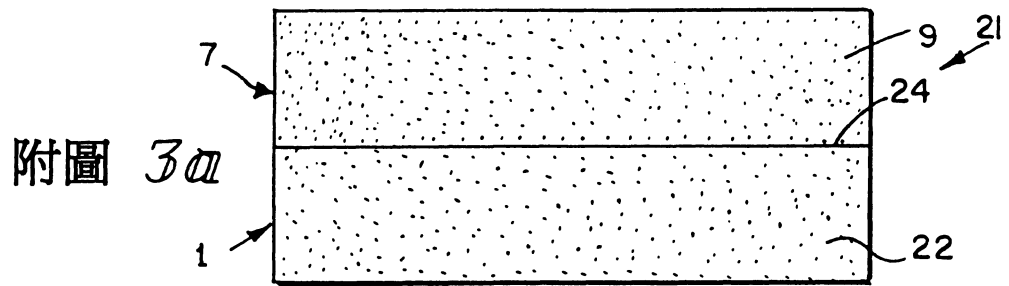
24.如申請專利範圍第 1 或 23 項之生物感知試條，其中該透明或半透明視窗的三個邊有不透明邊緣。

25.如申請專利範圍第 1 項之生物感知試條，其中視窗(18)提供目測確認工作電極與平衡或參考電極是否被液體測試樣品覆蓋而準確地進行測試。

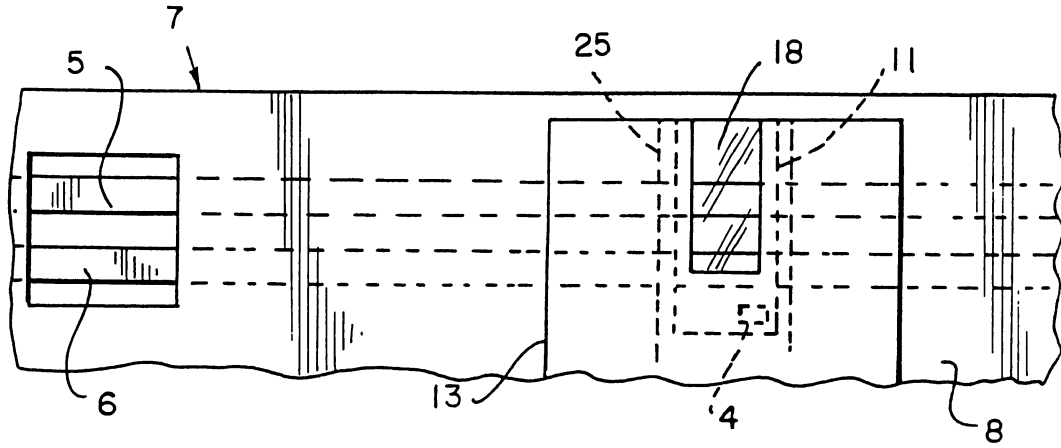
附圖 1



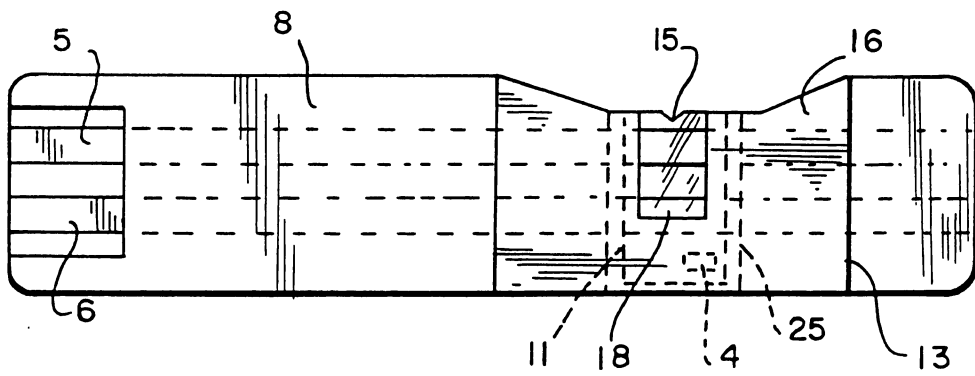
附圖 2



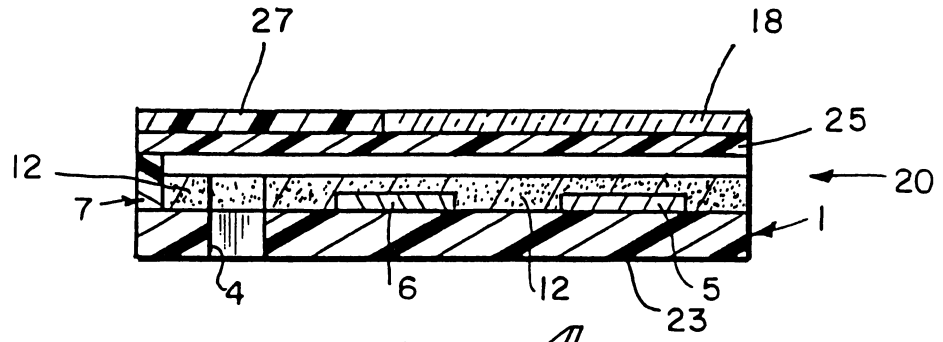
附圖 3g



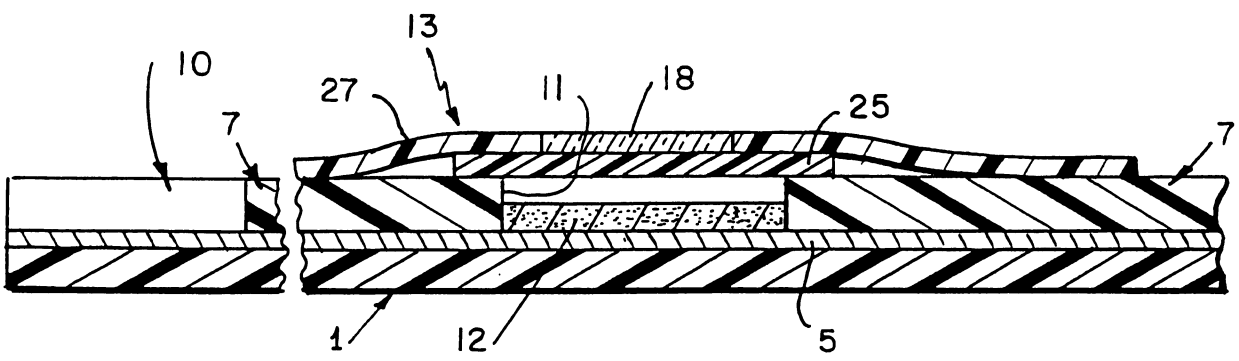
附圖 3h



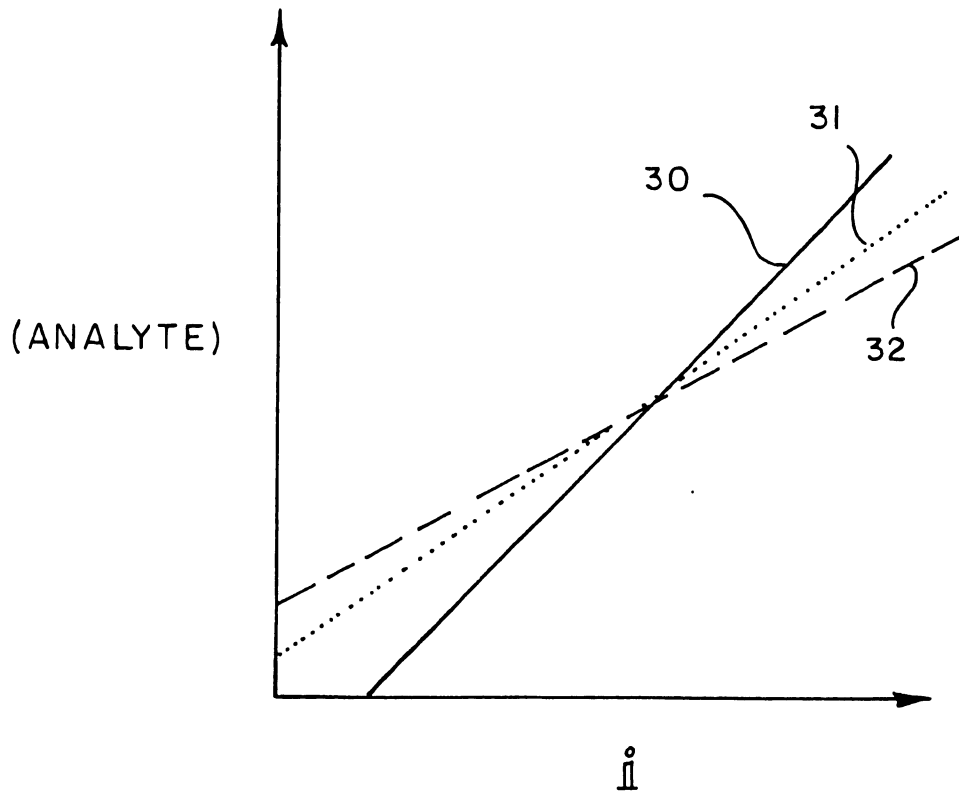
附圖 3i



附圖 4



附圖 5



附圖 6

七、指定代表圖：

(一)、本案指定代表圖為：第(1)圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

- |          |           |
|----------|-----------|
| 10 第一個開口 | 13 頂部     |
| 16 第一個表面 | 14 凹痕     |
| 15 缺口    | 27 圖案     |
| 17 第二個表面 | 18 視窗     |
| 25 親水性塗層 | 12 試劑     |
| 19 凹痕    | 11 第二個開口  |
| 8 第一個表面  | 7 第二個絕緣底質 |
| 9 第二個表面  | 5 導電軌     |
| 6 導電軌    | 2 凹痕      |
| 22 第一個表面 | 1 第一個絕緣底質 |
| 23 第二個表面 | 3 缺口      |
| 4 輸出孔    |           |

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：