



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2017-0029603  
(43) 공개일자 2017년03월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/00 (2017.01) G01N 27/327 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C12Q 1/004 (2013.01)  
C12Q 1/006 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2017-7003941  
(22) 출원일자(국제) 2015년07월16일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2017년02월13일  
(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/066354  
(87) 국제공개번호 WO 2016/009018  
국제공개일자 2016년01월21일  
(30) 우선권주장  
14/333,552 2014년07월17일 미국(US)

(71) 출원인  
라이프스캔 스코트랜드 리미티드  
영국 인버니스 아이브이2 3이디 비치우드 파크 노스  
(72) 발명자  
카도시 마르코  
영국 인버니스 아이브이2 5에프피 크로이 히스필드 21  
필립스 레베카  
영국 인버니스-셔 아이브이2 3이디 인버니스 비치우드 파크 노스  
맥피 개빈  
영국 인버니스-셔 아이브이2 5이에스 인버니스 콜로텐 무어 서니사이드 49  
(74) 대리인  
장훈

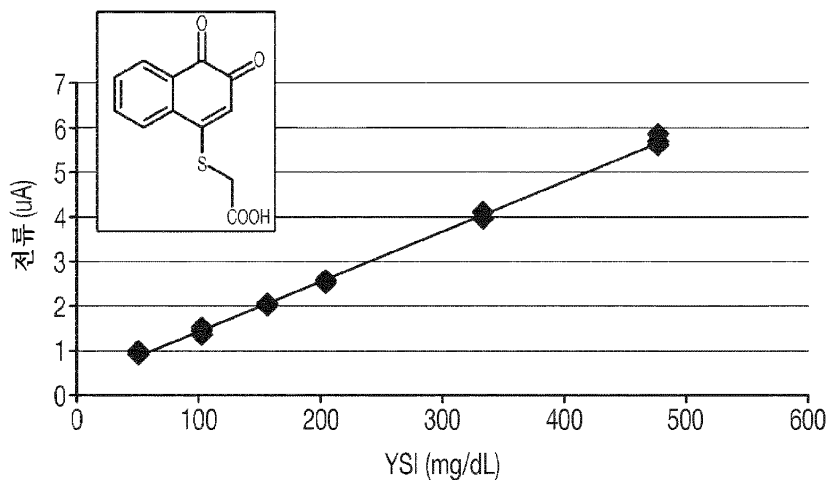
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 나프토크논계 매개체 및 FAD-GDH를 함유하는 효소 시약 층을 갖는 전기화학-기반 분석 검사 스트립

**(57) 요약**

체액 샘플 내의 분석물 (예컨대, 포도당)의 판정을 위한 전기화학-기반 분석 검사 스트립은 전기 절연 베이스 층, 전기 절연 베이스 층 상에 배치되고 하나 이상의 전극을 포함하는 전기 전도성 층, 하나 이상의 전극 상에 배치된 효소 시약 층, 패터닝된 스페이서 층 및 상부 층을 포함한다. 더욱이, 효소 시약 층은 하나 이상의 나프토크논계 매개체 및 FAD-GDH 효소를 포함한다. 나프토크논계 매개체는, 예를 들어, 2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및 2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) 중 하나 이상일 수 있다.

**대표도** - 도3



(52) CPC특허분류  
*G01N 27/327* (2013.01)

---

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

체액 샘플 내의 분석물(analyte)의 판정을 위한 전기화학-기반 분석 검사 스트립(electrochemical-based analytical test strip)으로서, 상기 전기화학-기반 분석 검사 스트립은

전기 절연 베이스 층;

상기 전기 절연 베이스 층 상에 배치되고 하나 이상의 전극을 포함하는 전기 전도성 층;

상기 하나 이상의 전극 상에 배치된 효소 시약 층;

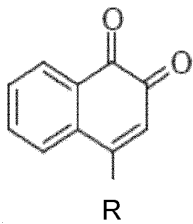
패턴화된 스페이서(spacer) 층; 및

상부 층

을 포함하며,

상기 효소 시약 층은

하기 형태:



(상기 식에서, R은 유기 치환체임)의 하나 이상의 나프토퀴논계 매개체(mediator); 및

FAD-GDH 효소

를 포함하는, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 하나 이상의 나프토퀴논계 매개체는 하기 매개체들 중 하나 이상인, 전기화학-기반 분석 검사 스트립:

1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및

1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산).

**청구항 3**

제2항에 있어서, 상기 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) 중 하나 이상은 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산)인, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 4**

제3항에 있어서, 상기 효소 시약 층은

pH 7로 완충된 건조된 인산염 수용액;

계면활성제; 및

증점제

를 추가로 포함하는, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 5**

제3항 또는 제4항에 있어서, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산)은 상기 전기화학-기반 검사 스트립에 도포되는 동안 대략 0.175 mM의 농도로 존재하는, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 6**

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 효소 시약 층은 스크린 인쇄 기술을 사용하여 도포되고 대략 5 마이크로미터 내지 15 마이크로미터의 범위의 두께를 갖는, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 7**

제2항에 있어서, 상기 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) 중 하나 이상은 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)인, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 상기 효소 시약 층은 계면활성제; 및 증점제를 추가로 포함하는, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 9**

제7항 또는 제8항에 있어서, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)은 상기 전기화학-기반 검사 스트립에 도포하는 동안 대략 40 mM의 범위의 농도로 존재하는, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 10**

제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 효소 시약 층은 잉크젯 기술을 사용하여 도포되고 0.1 마이크로미터 내지 5.0 마이크로미터의 범위의 두께를 갖는, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 체액 샘플은 전혈(whole blood) 샘플이고, 상기 분석물은 포도당인, 전기화학-기반 분석 검사 스트립.

**청구항 12**

전기화학-기반 분석 검사 스트립에 사용하기 위한 효소 시약으로서, 상기 효소 시약은 하기 형태:  
1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산), 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)의 하나 이상의 매개체; 및 FAD-GDH 효소를 포함하는, 효소 시약.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 상기 하나 이상의 매개체는 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산); 및

1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)

중 하나 이상인, 효소 시약.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 상기 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) 중 하나 이상은 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산)인, 효소 시약.

**청구항 15**

제14항에 있어서,  
 pH 7로 완충된 인산염 수용액;  
 계면활성제; 및  
 증점제  
 를 추가로 포함하는, 효소 시약.

**청구항 16**

제14항 또는 제15항에 있어서, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산)은 대략 175 mM의 농도로 존재하는, 효소 시약.

**청구항 17**

제13항에 있어서, 상기 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) 중 하나 이상은 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)인, 효소 시약.

**청구항 18**

제17항에 있어서,  
 pH 7로 완충된 인산염 수용액;  
 계면활성제; 및  
 증점제  
 를 추가로 포함하는, 효소 시약.

**청구항 19**

제17항 또는 제18항에 있어서, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)은 대략 40 mM의 농도로 존재하는, 효소 시약.

**청구항 20**

제12항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 소포체를 추가로 포함하는, 효소 시약.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 일반적으로 의료 장치에 관한 것이며, 특히, 전기화학-기반 분석 검사 스트립 및 그에 사용하기 위한 효소 시약에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 유체 샘플 내의 분석물(analyte) 또는 유체 샘플의 특성의 판정 (예를 들어, 검출 및/또는 농도 측정)은 의료 분야에서 특별한 관심 대상이다. 예를 들어, 소변, 혈액, 혈장 또는 간질액(interstitial fluid)과 같은 체액의 샘플 내의 포도당, 케톤체, 콜레스테롤, 지질단백질, 트라이글리세라이드, 아세트아미노펜, 헤마토크릿

(hematocrit) 및/또는 HbA1c 농도를 판정하는 것이 바람직할 수 있다. 그러한 판정은 예를 들어 시각적, 광도 측정적 또는 전기화학적 기술을 기반으로 하는 분석 검사 스트립을 사용하여 달성될 수 있다. 종래의 전기화학-기반 분석 검사 스트립은, 예를 들어 미국 특허 제5,708,247호 및 제6,284,125호에 기재되어 있으며, 이들 미국 특허의 각각은 본 명세서에 전체적으로 참고로 포함된다.

**도면의 간단한 설명**

[0003] 본 명세서에 포함되고 본 명세서의 일부를 구성하는 첨부 도면은 본 발명의 현재 바람직한 실시 형태를 예시하며, 상기에 제공된 개괄적인 설명 및 하기에 제공된 상세한 설명과 함께 본 발명의 특징을 설명하는 역할을 한다.

도 1은 본 발명의 일 실시 형태에 따른 전기화학-기반 분석 검사 스트립의 단순화된 분해 사시도이고;

도 2는 그의 길이방향 축을 따라 취해진 도 1의 전기화학-기반 분석 검사 스트립의 일부분의 단순화된 측단면도 (축척에 맞지 않음)이고;

도 3은 본 발명의 일 실시 형태에 따른 효소 시약에 대한 선형성 성능(linearity performance)의 그래프이고;

도 4는 본 발명의 일 실시 형태에 따른 효소 시약에 대한 요산 감도의 그래프이고;

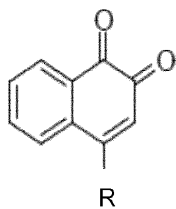
도 5는 본 발명의 일 실시 형태에 따른 다른 효소 시약에 대한 선형성 성능의 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0004] 하기의 상세한 설명은 도면을 참조하여 읽어야 하며, 도면에서 여러 도면 내의 동일한 요소는 동일한 도면 부호로 지시된다. 반드시 일정한 축척으로 작성되지는 않은 도면은 단지 설명의 목적으로 예시적인 실시 형태를 도시하며, 본 발명의 범주를 제한하도록 의도되지 않는다. 상세한 설명은 본 발명의 원리를 제한이 아닌 예로서 예시한다. 이러한 설명은 명백하게 당업자가 본 발명을 제조 및 사용하는 것을 가능하게 할 것이고, 현재 본 발명을 수행하는 최선의 모드(mode)로 여겨지는 것을 포함하는, 본 발명의 몇몇 실시 형태, 개조, 변형, 대안 및 사용을 기재한다.

[0005] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 임의의 수치 값 또는 범위에 대한 용어 "약" 또는 "대략"은 구성요소 또는 구성요소들의 집합이 본 명세서에 기재된 바와 같은 그것의 의도된 목적으로 기능할 수 있게 하는 적합한 허용오차(tolerance)를 나타낸다.

[0006] 본 발명의 실시 형태에 따른, 체액 샘플 내의 분석물 (예컨대, 포도당)의 판정을 위한 전기화학-기반 분석 검사 스트립은 전기 절연 베이스 층, 전기 절연 베이스 층 상에 배치되고 하나 이상의 전극을 포함하는 전기 전도성 층, 하나 이상의 전극 상에 배치된 효소 시약 층, 패턴화된 스페이서(spacer) 층 및 상부 층을 포함한다. 더욱이, 효소 시약 층은 하나 이상의 나프토크논계 매개체 및 FAD-GDH 효소를 포함한다. 나프토크논계 매개체는 하기 형태의 것일 수 있다:



[0007]

상기 식에서, R은 유기 치환체이다.

[0008]

[0009] 예를 들어, R은  $-S-(CH_2)_n-X$ 일 수 있으며, 여기서, n은 1 내지 6, 전형적으로 2 내지 3이고, X는  $-SO_3H$  또는  $-COOH$ 이다. 그러한 나프토크논계 매개체는, 예를 들어, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설포산) 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)일 수 있다.

[0010] 효소 시약 층은 계면활성제, 증점제, 및 선택적으로, pH 7로 완충된 건조된 인산염 수용액을 추가로 포함할 수 있다. 나프토크논계 매개체는 전기화학-기반 분석 검사 스트립에 도포되는 동안 대략 0.1 mM 내지 대략 200 mM, 대략 0.175 mM, 대략 175 mM 또는 대략 40 mM의 범위의 농도로 존재할 수 있다. 구체적으로, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설포산)은 전기화학-기반 분석 검사 스트립에 도포되는 동안 대략 0.175 mM 또

는 대략 175 mM의 농도로 존재할 수 있다. 대안적으로, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)은 전기 화학-기반 검사 스트립에 도포되는 동안 대략 40 mM의 농도로 존재할 수 있다.

- [0011] 효소 시약 층은 스크린 인쇄 기술 또는 잉크젯 기술을 사용하여 도포될 수 있다. 효소 시약 층의 두께는 대략 0.1 마이크로미터 내지 대략 15 마이크로미터, 대략 0.1 마이크로미터 내지 대략 5 마이크로미터 또는 대략 5 마이크로미터 내지 대략 15 마이크로미터의 범위일 수 있다. 전형적으로, 효소 시약 층은 스크린 인쇄 기술을 사용하여 도포되고 대략 5 마이크로미터 내지 대략 15 마이크로미터의 범위의 두께를 갖거나, 또는 효소 시약 층은 잉크젯 기술을 사용하여 도포되고 대략 0.1 마이크로미터 내지 대략 5.0 마이크로미터의 범위의 두께를 갖는다.
- [0012] 체액 샘플은 전혈(whole blood) 샘플일 수 있고, 분석물은 포도당일 수 있다.
- [0013] 본 발명의 실시 형태에 따른 전기화학-기반 분석 검사 스트립은, 하나 이상의 나프토크논계 매개체 (예를 들어, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) 중 하나 이상)와 FAD-GDH 효소의 조합이, 생화학적으로 효율적이며 (예를 들어, 매개체가 2 전자 수용체(2 electron acceptor)이고, 자유 라디칼 경로를 통해 진행되지 않는 효소 반응을 야기하고, 1차 속도 상수(rate constant)가, 일부 나프토크논계 매개체의 경우, 통상적인 FAD-GDH 매개체인 페리시안화칼륨보다 큼) 요산, 아세트아미노펜, 글루타티온 및 아스코르브산으로부터의 간섭에 민감하지 않은 효소 시약 층을 생성한다는 점에서 유익하다.
- [0014] 본 발명에 따른 전기화학-기반 분석 검사 스트립에 사용하기 위한 효소 시약은, 예를 들어, (i) 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산) 및 (ii) 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) 중 하나 이상과 같은, 하나 이상의 나프토크논계 매개체; 및 본 명세서에서, FAD-GDH 효소로 약칭되는, 플라빈 아데닌 다이뉴클레오티드 의존성 포도당 탈수소효소를 포함한다. 그러한 효소 시약은, 생화학적으로 효율적이며 (즉, 매개체가 2 전자 수용체이고 효소 반응이 자유 라디칼 경로를 통해 진행되지 않음) 요산, 아세트아미노펜, 글루타티온 및 아스코르브산으로부터의 간섭에 민감하지 않은 효소 시약 층을 생성한다는 점에서 유익하다. 더욱이, 효소 시약은 잉크젯 인쇄 및 스크린 인쇄와 같은 통상적인 기술을 사용하여 전기화학-기반 분석 검사 스트립의 제조 동안 도포될 수 있다.
- [0015] 효소 시약은 pH 7로 완충된 인산염 수용액, 계면활성제 및 증점제를 포함할 수 있다. 효소 시약은 소포제를 포함할 수 있다.
- [0016] 나프토크논계 매개체는 대략 20 mM 내지 대략 200 mM, 대략 175 mM 또는 대략 40 mM의 농도로 존재할 수 있다. 구체적으로, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설펜산)은 대략 175 mM의 농도로 존재할 수 있다. 대안적으로, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산)은 대략 40 mM의 농도로 존재할 수 있다.
- [0017] 도 1은 본 발명의 일 실시 형태에 따른 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)의 단순화된 분해 사시도이다. 도 2는 도 1의 관점에서 세로축을 따라 취해진 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)의 일부분의 단순화된 측면면도 (축척에 맞지 않음)이다. 도 3은 본 발명의 일 실시 형태에 따른 효소 시약에 대한 선형성 성능의 그래프이다. 도 4는 본 발명의 일 실시 형태에 따른 효소 시약에 대한 요산 감도의 그래프이다. 도 5는 본 발명의 다른 실시 형태에 따른 효소 시약에 대한 선형성 성능의 그래프이다.
- [0018] 도 1 내지 도 5를 참조하면, 체액 샘플 (예를 들어, 전혈 샘플) 내의 분석물 (예컨대, 포도당)의 판정을 위한 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)은 전기 절연 베이스 층(102), 패턴화된 전기 전도성 층(104), 패턴화된 절연 층(106), 효소 시약 층(108), 패턴화된 스페이서 층(110), 및 친수성 서브층(114)과 상부 테이프(116)로 이루어진 상부 층(112)을 포함한다.
- [0019] 도 1 및 도 2의 실시 형태에서, 적어도 패턴화된 스페이서 층 및 상부 층이 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100) 내에 샘플-수용 챔버(118)를 형성한다 (특히, 도 2 참조).
- [0020] 전기 절연 베이스 층(102)은, 예를 들어 나일론 베이스 층, 폴리카르보네이트 베이스 층, 폴리이미드 베이스 층, 폴리비닐 클로라이드 베이스 층, 폴리에틸렌 베이스 층, 폴리프로필렌 베이스 층, 글리콜화 폴리에스테르 (PETG) 베이스 층, 또는 폴리에스테르 베이스 층을 포함하는, 당업자에게 알려진 임의의 적합한 전기 절연 베이스 층일 수 있다. 전기 절연 베이스 층은 예를 들어 약 5 mm의 폭 치수, 약 27 mm의 길이 치수 및 약 0.5 mm의 두께 치수를 포함하는 임의의 적합한 치수들을 가질 수 있다.
- [0021] 전기 절연 베이스 층(102)은 취급의 용이함을 위해 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)에 구조물을 제공하고, 또한 후속 층들 (예를 들어, 패턴화된 전기 전도성 층 및 본 명세서에 기재되고 본 발명에 따른 효소 시약의 임

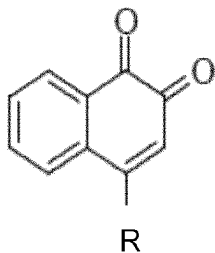
크젯 인쇄 또는 스크린 인쇄에 의해 형성된 효소 시약 층)의 도포 (예를 들어, 인쇄 또는 침착)를 위한 베이스로서의 역할을 한다.

[0022] 패턴화된 전기 전도성 층(104)은 전기 절연 베이스 층(102) 상에 배치되고, 제1 전극(104a), 제2 전극(104b) 및 제3 전극(104c)을 포함한다. 제1 전극(104a), 제2 전극(104b) 및 제3 전극(104c)은, 각각, 예를 들어 상대/기준 전극, 제1 작업 전극 및 제2 작업 전극으로서 구성될 수 있다. 따라서, 제2 및 제3 전극은 또한 본 명세서에서 작업 전극(104b, 104c)으로 지칭되고, 제1 전극은 상대 전극(104a)으로 지칭된다. 비록, 단지 설명의 목적을 위해, 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)이 총 3개의 전극을 포함하는 것으로 도시되지만, 본 발명의 실시 형태를 포함하는 전기화학-기반 분석 검사 스트립의 실시 형태는 임의의 적합한 개수의 전극을 포함할 수 있다.

[0023] 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)의 제1 전극(104a), 제2 전극(104b) 및 제3 전극(104c)을 포함하는 패턴화된 전기 전도성 층(104)은, 예를 들어, 탄소 잉크를 포함하는 전기 전도성 탄소계 재료를 포함하는 임의의 적합한 전도성 재료로 형성될 수 있다. 본 발명의 실시 형태에 따른 전기화학-기반 분석 검사 스트립에 이용되는 패턴화된 전기 전도성 층은 임의의 적합한 형상을 취할 수 있으며, 예를 들어 금속 재료 및 전도성 탄소 재료를 포함하는 임의의 적합한 재료로 형성될 수 있음에 유의해야 한다.

[0024] 특히 도 1 및 도 2를 참조하면, 제1 전극(104a), 제2 전극(104b) 및 제3 전극(104c)과 효소 시약 층(108)의 배치는 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)이 샘플 수용 챔버(118)를 충전한 체액 샘플 (예컨대, 전혈 샘플) 내의 분석물 (예컨대, 포도당)의 전기화학적 반응을 위해 구성되도록 하는 것이다. 그러한 전혈 충전 방향이 도 2에서 화살표 표시된 "S"에 의해 도시되어 있다.

[0025] 패턴화된 전기 전도성 층(104)의 적어도 일부분 상에 효소 시약 층(108)이 배치된다 (도 1 및 도 2 참조). 효소 시약 층(108)은 하나 이상의 나프토퀴논계 매개체 및 FAD-GDH 효소를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "나프토퀴논계 매개체"는 하기 형태의 매개체를 지칭한다:

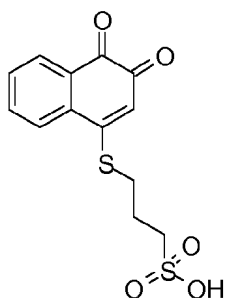


[0026]

[0027] 상기 식에서, R은 임의의 적합한 유기 치환체이다.

[0028] 본 발명의 실시 형태에 사용하기에 적합한 나프토퀴논계 매개체의 특히 유익한 예는 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설폰산) [본 명세서에서 화합물 A로도 지칭됨] 및 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) [본 명세서에서 화합물 B로도 지칭됨]이다. 그러나, 일단 본 발명을 알게 되면, 당업자는 일상적인 실험을 이용하여, 유익한 반응 속도, 적합한 수용해도를 갖고 간섭 효과에 민감하지 않은 다른 나프토퀴논계 매개체를 생성하기에 적합한 유기 치환체 (즉, 적합한 "R" 기)를 선택할 수 있다. 이와 관련하여, 적합한 R 기는, 예를 들어, 매개체에 적합한 수용해도를 부여하기에 충분히 친수성일 수 있다.

[0029] 화합물 A는 분자식  $C_{13}H_{12}S_2O_5$ , 312.36의 분자량, 및 하기 구조를 갖는다:



[0030]

[0031] 화합물 A는, 실온에서 염기 및 중성 인산염 완충제에 용해성인, 주황색 무정형 고체이다. 화합물 A는 하기의

유익한 전기화학적 특징을 갖는다:

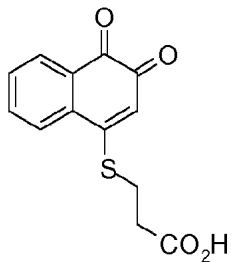
[0032]  $E_0 = 0.086 \text{ V vs Ag/AgCl (0.1 M KCl)}$

[0033]  $k_{cat} = 900 \text{ s}^{-1}$

[0034] 여기서,  $E_0$ 은 (페리시아나화물에 대한 0.25 V와 비교한) Ag/AgCl 대비 형식 산화환원 전위이고  $k_{cat}$ 은 매개체 (즉, 화합물 A)와 효소 보조인자 FAD 사이의 균일한 전자 전달에 대한 속도 상수이다. 페리시아나화물에 대한  $E_0$ 은 0.25 V이고 페리시아나화물에 대한  $k_{cat}$ 는  $230 \text{ s}^{-1}$ 임에 유의한다. 화합물 A는 페리시아나화물보다 유익하게 더 낮은  $E_0$ 을 가질 (따라서, 간섭에 덜 민감하게 될) 뿐만 아니라 페리시아나화물보다 유익하게 더 높은  $k_{cat}$ 를 갖는다. 더욱이, 화합물 A는 섭씨 40도에서 26일 동안 보관 후에도 포도당 감도의 감소를 나타내지 않았다.

[0035] 화합물 A는 하기와 같이 합성하였다. 1,2-나프토크논-4-설포산 소듐 염 (10 mmol)을 증류수 (100 ml)에 첨가하고 맑은 용액이 나타날 때까지 교반하였다. 3-메르캅토-1-프로판설포산 모노소듐 염 (10 mmol)을 한꺼번에 첨가하여 암갈색 용액을 생성하였다. 용액을 12시간 동안 정치하고, 그 후에, 맑은 갈색 용액을 증발시켜 건조하여 암황색 고체를 수득하였다. 암황색 고체를 클로로포름으로 세척하고 진공 하에 건조하여 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토-1-프로판 설포산) (1.48 g, 47%)을 주황색 고체로서 수득하였다. 질량 스펙트럼 분석에 의해 조성이 확인되었다. 그러나, 일단 본 발명을 알게 되면, 당업자는 화합물 A를 합성하는 다른 방법을 개발할 수 있다.

[0036] 화합물 B는 분자식  $C_{13}H_{10}S_2O_4$ , 262.28의 분자량 및 하기 구조를 갖는다:



[0037]

[0038] 화합물 B는, 실온에서 염기 및 중성 인산염 완충제에 용해성인, 주황색 무정형 고체이다. 화합물 A는 하기의 유익한 전기화학적 특징을 갖는다:

[0039]  $E_0 = 0.016 \text{ V vs Ag/AgCl (0.1 M KCl)}$

[0040]  $k_{cat} = 100 \text{ s}^{-1}$

[0041] 여기서,  $E_0$ 은 (페리시아나화물에 대한 0.25 V와 비교한) Ag/AgCl 대비 형식 산화환원 전위이고  $k_{cat}$ 은 매개체 (즉, 화합물 A)와 효소 보조인자 FAD 사이의 균일한 전자 전달에 대한 속도 상수이다. 페리시아나화물에 대한  $E_0$ 은 0.25 V이고 페리시아나화물에 대한  $k_{cat}$ 는  $230 \text{ s}^{-1}$ 임에 유의한다. 화합물 B는 페리시아나화물보다 유익하게 더 낮은  $E_0$ 을 가질 (따라서, 간섭에 덜 민감하게 될) 뿐만 아니라 페리시아나화물보다 더 낮지만 여전히 적합한  $k_{cat}$ 를 갖는다. 더욱이, 화합물 B는 섭씨 40도에서 26일 동안 보관 후에도 포도당 감도의 감소를 나타내지 않았다.

[0042] 화합물 B는 하기와 같이 합성하였다. 1,2-나프토크논 (10 mmol)을 메탄올 (50 ml)에 첨가하고 얼음 중에서 5분 동안 교반하였다. 3-메르캅토프로피온산 (10 mmol)을 첨가하였고, 5분 이내에 용액이 맑아졌고, 용액을 증발시켜 건조하였다. 암갈색 고체를, 에틸 아세테이트를 용리액으로서 사용하여 실리카 겔에서 정제하여, 1,2-나프탈렌다이온-4-(3-메르캅토프로피온산) (1.19 g, 51%)을 수득하였다. 질량 스펙트럼 분석에 의해 조성이 확인되었다. 그러나, 일단 본 발명을 알게 되면, 당업자는 화합물 B를 합성하는 다른 방법을 개발할 수 있다.

[0043] 화합물 B를 포함하는 본 발명에 따른 효소 시약의 예시적이지만 비제한적인 예는 하기 성분을 포함한다:

[0044] 10 ml의 pH 7로 완충된 0.1 M 인산염 수용액, 상기 수용액에는 하기 성분이 첨가된다:

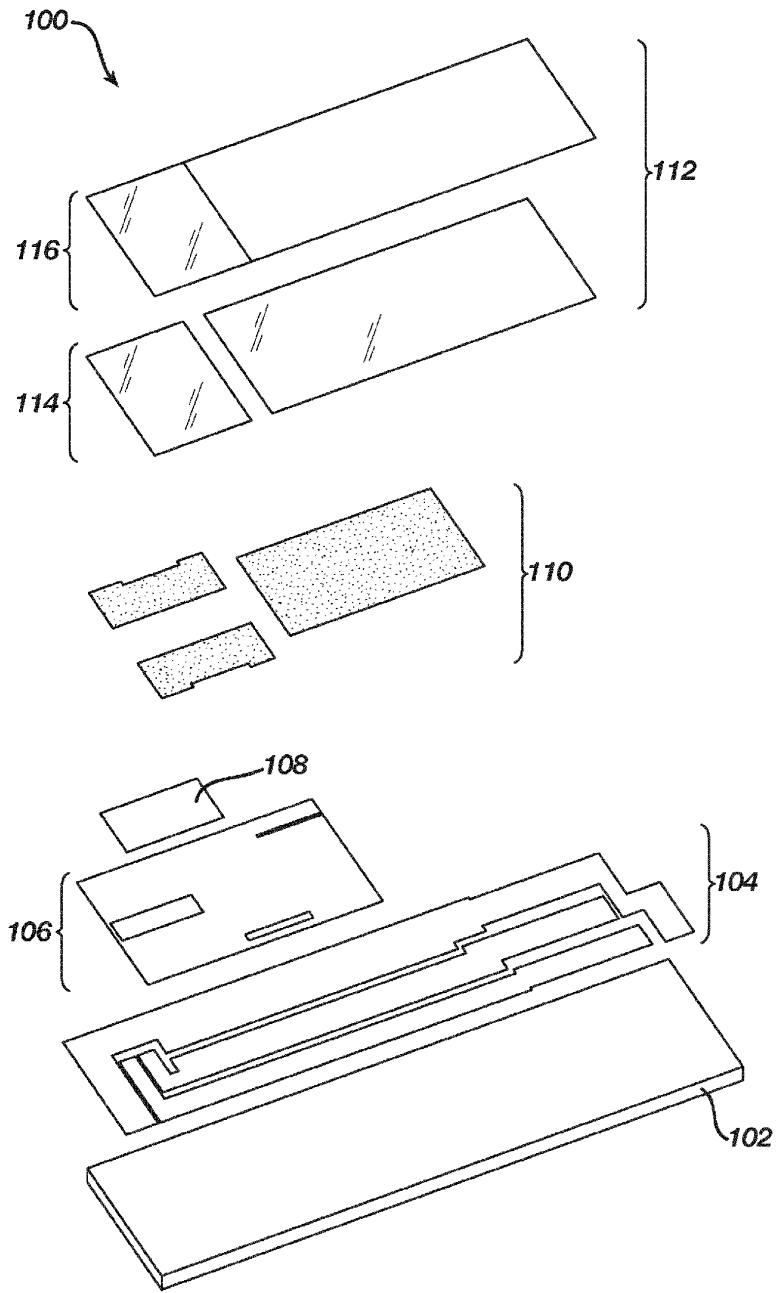
- [0045] 1% (w/v) 플루로닉(Pluronic) 103, 1차 하이드록실 기로 종결된 2작용성 블록 공중합체 계면활성제
- [0046] 2.5% (w/v) 하이드록시에틸 셀룰로오스, 증점제;
- [0047] 최종 농도로서 40 mM의 화합물 B
- [0048] 0.05 g의 FAD-GDH.
- [0049] 이러한 효소 시약은 본 명세서에서 "화합물 B 효소 시약"으로 또한 지칭된다.
- [0050] 본 발명에 따른 효소 시약의 다른 예시적이지만 비제한적인 예는 하기와 같이 화합물 A를 포함한다:
- [0051] 100 ml의 pH 7로 완충된 0.01 M 인산염 수용액, 상기 수용액에는 하기가 첨가된다:
- [0052] 1% (w/v) 실리카
- [0053] 1% (w/v) 플루로닉 103
- [0054] 5 방울의 다우 코닝 안티폼(Dow Corning Antifoam) 1500 (영국 소재의 브이더블유알 인터내셔널(VWR International)로부터 구매가능함)
- [0055] 5% 하이드록시에틸 셀룰로오스.
- [0056] 오비탈 혼합 후에, 하기를 첨가하였다.
- [0057] 175 mM 최종 농도의 화합물 A
- [0058] 아마노 엔자임 차이나 리미티드(Amano Enzyme China Ltd)에 의해 공급되는 0.33 g의 FAD-GDH.
- [0059] 이러한 효소 시약은 본 명세서에서 "화합물 A 효소 시약"으로 또한 지칭된다.
- [0060] 특히 도 3 및 도 4를 참조하면, 화합물 B 효소 시약을 이용하는 분석 검사 스트립은, 잉크젯 기술을 사용하여 제조 동안 도포되는 효소 시약을 사용하여 제조하였다. 그러한 잉크젯 기술은 전형적으로 대략 0.1 마이크로미터 내지 5 마이크로미터의 범위의 최종 건조 효소 층 두께를 가져온다. 생성되는 분석 검사 스트립의 검사 결과가 도 3 및 도 4에 도시되어 있으며, 이는 본 발명의 실시 형태에 따른 분석 검사 스트립의 유의한 선형성 및 요산으로부터의 간섭의 결여를 나타낸다.
- [0061] 도 3의 데이터는 공칭 헤마토크릿 (즉, 38% 내지 42%의 범위)을 갖는 3명의 대표 공여자로부터의 스파이킹된 정맥 전혈을 사용하여 수집하였다. 도 4의 데이터는 본 검사 스트립의 성능을 구매가능한 전기화학-기반 분석 검사 스트립과 비교하며, 65 mg/dL의 YSI 혈장 포도당 농도를 갖는 단일 공여자 혈액을 사용하여 수행하였다. 요산을 22 mg/dL의 최종 농도로 혈액 내에 스파이킹하였다. YSI 혈장 포도당 수준에 대한 바이어스(bias) 값을 계산하였고, 스파이킹되지 않은 대조군에 대한 관련 검사 측정기 포도당 신호의 증가로서 플로팅하였다 (plotted). 도 4는 화합물 B 효소 시약을 이용하는 분석 검사 스트립에 대한 간섭 효과의 결여를 나타낸다. 본 명세서에 상세히 기재되지 않은 추가의 연구들이 아세트아미노펜, 글루타티온 및 아스코르브산으로부터의 간섭의 유사한 결여를 나타낸다.
- [0062] 특히 도 5를 참조하면, 화합물 A 효소 시약을 이용하는 분석 검사 스트립은, 스크린 인쇄 기술을 사용하여 제조 동안 도포되는 효소 시약을 사용하여 제조하였다. 그러한 스크린 인쇄 기술은 전형적으로 대략 5 마이크로미터 내지 15 마이크로미터의 범위의 최종 건조 효소 층 두께를 가져온다. 생성되는 분석 검사 스트립의 검사 결과가 도 5에 도시되어 있으며, 이는 본 발명의 다른 실시 형태에 따른 분석 검사 스트립의 유의한 선형성을 나타낸다. 도 5의 데이터는 공칭 헤마토크릿 (즉, 38% 내지 42%의 범위)을 갖는 3명의 대표 공여자로부터의 스파이킹된 정맥 전혈을 사용하여 수집하였다.
- [0063] 일단 본 발명을 알게 되면, 당업자는 화합물 A 및/또는 화합물 B와 FAD-GDH를 함유하는 다양한 적합한 효소 시약이 제형화될 수 있음을 인지할 것이다. 그러한 적합한 효소 시약은, 예를 들어, 시트르산삼나트륨, 시트르산, 폴리비닐 알코올, 하이드록실 에틸 셀룰로오스, 소포제, 건식 실리카 (소수성 표면 개질을 갖거나 갖지 않음), PVPVA, 및 물을 포함할 수 있다. 일반적인 시약 층들 및 일반적인 전기화학-기반 분석 검사 스트립들에 관한 추가의 상세 사항은 그 내용이 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함되는 미국 특허 제6,241,862호 및 제6,733,655호에 있다.
- [0064] 도 1 및 도 2를 참조하면, 패턴화된 절연 층(106)은 구매가능한 스크린 인쇄가능 유전체 잉크를 포함하는 임의

의 적합한 전기 절연 유전체 재료로 형성될 수 있다.

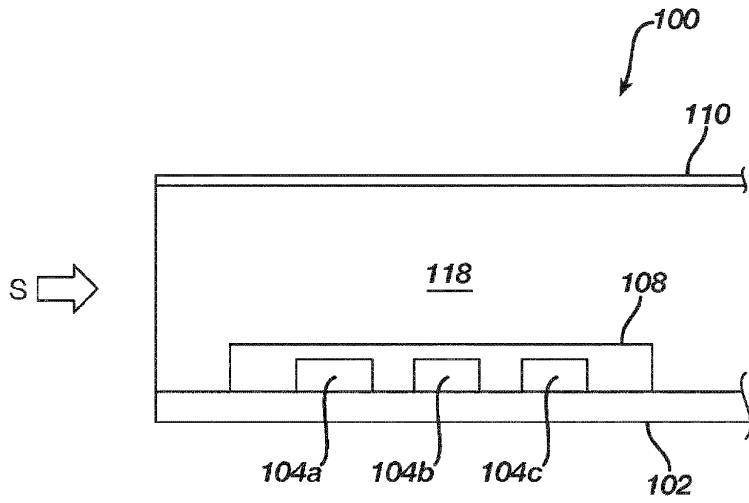
- [0065] 패턴화된 스페이서 층(110)은 예를 들어 영국 스탠퍼드셔주 탬워스 소재의 아폴로 어드히시브즈(Apollo Adhesives)로부터 구매가능한 스크린 인쇄가능 감압 접착제로부터 형성될 수 있다. 도 2의 실시예에서, 패턴화된 스페이서 층(110)은 샘플-수용 챔버(118)의 외측 벽을 형성한다. 패턴화된 스페이서 층(110)은 두께가, 예를 들어, 대략 110 마이크로미터이고, 전기적으로 비전도성이고, 상부 및 하부 층의 아크릴계 감압 접착제를 갖는 폴리에스테르 재료로 형성될 수 있다.
- [0066] 상부 층(112)은, 예를 들어 유체 샘플(예를 들어, 전혈 샘플)에 의한 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)의 습윤 및 충전을 촉진하는 친수성 특성을 갖는 투명 필름일 수 있다. 그러한 투명 필름은 예를 들어 미국 미네소타주 미니애폴리스 소재의 쓰리엠(3M) 및 코벴(Coveme)(이탈리아 산 라자로 디 사베나 소재)으로부터 구매가능하다. 상부 층(112)은 예를 들어 10도 미만의 친수성 접촉각을 제공하는 계면활성제로 코팅된 폴리에스테르 필름일 수 있다. 상부 층(112)은 또한 계면활성제 또는 다른 표면 처리로 코팅된 폴리프로필렌 필름일 수 있다. 그러한 상황에서, 계면활성제 코팅은 친수성 서브층(114)으로서의 역할을 한다. 상부 층(112)은 두께가, 예를 들어 대략 100  $\mu\text{m}$ 일 수 있다.
- [0067] 전기화학-기반 분석 검사 스트립(100)은, 예를 들어 패턴화된 전기 전도성 층(104), 패턴화된 절연 층(106), 효소 시약 층(108), 패턴화된 스페이서 층(110) 및 상부 층(112)의 순차적인 정렬된 형성에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어 스크린 인쇄, 잉크젯 인쇄, 포토리소그래피, 포토그라비아, 화학 증착 및 테이프 라미네이션 기술을 포함하는, 당업자에게 공지된 임의의 적합한 기술이 그러한 순차적인 정렬된 형성을 달성하는 데 사용될 수 있다. 그러나, 본 발명의 실시 형태에 따른 효소 시약은, 비교적 저비용이며 달리 통상적인 잉크젯 및 스크린 인쇄 기술에 적합한 수성 조성물로서 제형화될 수 있다는 점에서 특히 유익하다. 그러한 효소 시약을 이용하여, 예를 들어, 적어도 포도당 농도 700 mg/dL까지는, 전기화학적으로 발생하는 전류와 전혈 샘플 내의 포도당 농도 사이에 선형 반응을 갖는 효소 시약 층을 생성할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 바람직한 실시 형태가 본 명세서에 도시되고 기재되었지만, 그러한 실시 형태는 단지 예로서 제공된다는 것이 당업자에게 명백할 것이다. 이제 본 발명으로부터 벗어남이 없이 많은 변형, 변경, 및 대체가 당업자에게 고려될 것이다. 본 명세서에 기재된 본 발명의 실시 형태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시함에 있어서 이용될 수 있음을 이해하여야 한다. 하기의 청구범위는 본 발명의 범주를 한정하고, 이러한 청구범위 및 그의 등가물의 범주 내의 장치 및 물질 조성물이 그에 의해 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

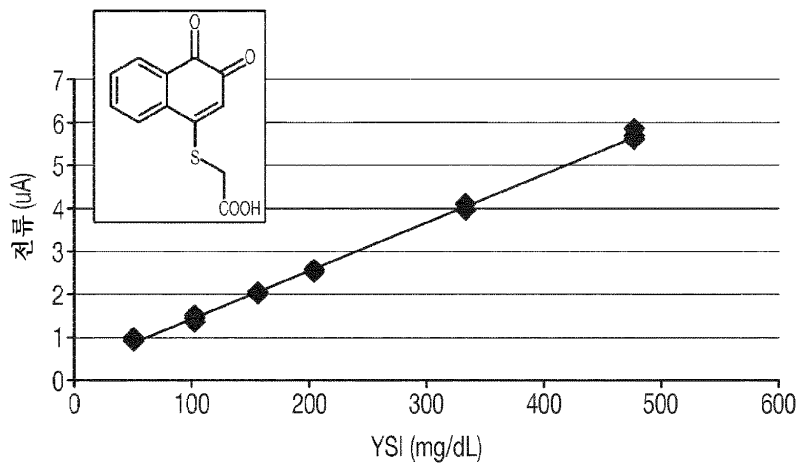
도면1



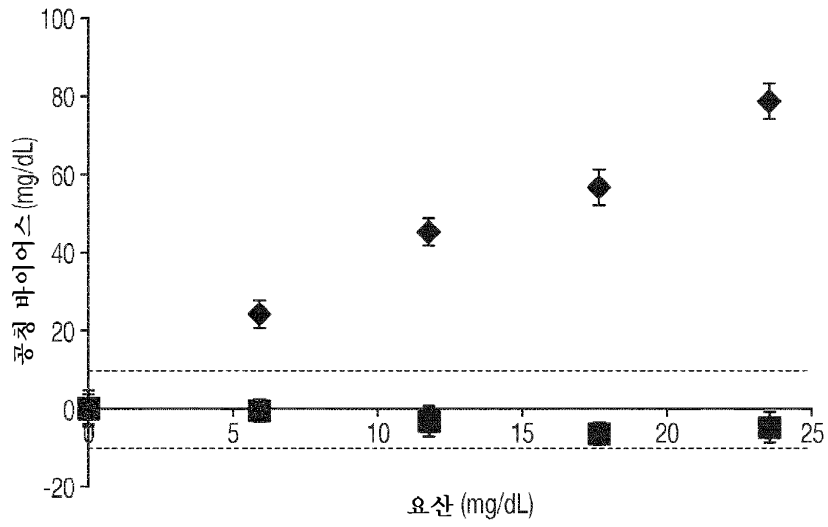
도면2



도면3



도면4



도면5

