

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2013년 12월 5일 (05.12.2013)



(10) 국제공개번호
WO 2013/180528 A1

- (51) 국제특허분류:
G01N 27/30 (2006.01) G01N 33/66 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/004838
- (22) 국제출원일: 2013년 5월 31일 (31.05.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2012-0059327 2012년 6월 1일 (01.06.2012) KR
- (71) 출원인: 주식회사 아이센스 (I-SENS, INC.) [KR/KR];
139-845 서울시 노원구 월계4동 465-14, Seoul (KR).

- (72) 발명자: 이명호 (LEE, Myeong Ho); 121-872 서울시 마포구 염리동 63-3, Seoul (KR). 김문환 (KIM, Moon Hwan); 130-860 서울시 동대문구 제기동 134-19 302호, Seoul (KR). 이웅기 (LEE, Ung Ki); 406-840 인천시 연수구 송도동 30-3 호 센트로드 씨동 1601호, Incheon (KR). 박한비 (PARK, Han Be); 220-041 강원도 원주시 명륜1동 동성아파트 102동 1507호, Gangwon-do (KR). 정성권 (JUNG, Sung-Kwon); 406-759 인천시 연수구 송도동 20-22 푸루지오 월드마크 101동 502호, Incheon (KR). 남학현 (NAM, Hakhyun); 142-742 서울시 강북구 번3동 133-1 한양아파트 101동 206호, Seoul (KR). 차근식 (CHA, Geun Sig); 120-100 서울시 서대문구 홍은동 9-78, Seoul (KR).

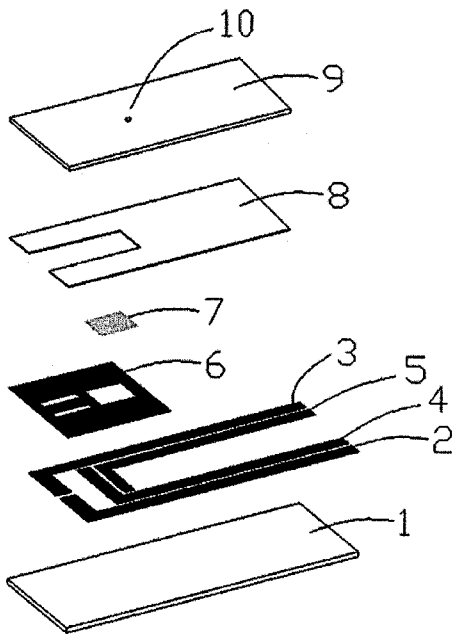
- (74) 대리인: 이원희 (LEE, Won Hee); 135-080 서울시 강남구 역삼동 642-16 성지하이츠 2차 8층, Seoul (KR).

- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR WITH IMPROVED ACCURACY

(54) 발명의 명칭 : 정확도가 향상된 전기화학적 바이오센서



(57) Abstract: The present invention relates to an electrochemical biosensor for measuring blood glucose concentration with improved accuracy in the measurement of hematocrit. The electrochemical biosensor according to the present invention comprises: a first electrode unit for correcting a hematocrit measurement value; a second electrode unit for measuring glucose concentration; and an insulation cover thinner than an operating electrode and an auxiliary electrode, so as to not only enable a first operating electrode and a first auxiliary electrode of the first electrode unit exposed to a blood sample to have the same area, but also maintain a constant spacing between the first operating electrode and the first auxiliary electrode. Further, an electrode area and electrode spacing can be kept constant by means of the insulation cover even when a location error may occur during electrode printing, and therefore the accuracy of a hematocrit measurement value may be improved, and the accuracy of a measurement value of a blood glucose concentration in which the hematocrit measurement value is used for a correction may be further improved.

(57) 요약서: 본 발명은 적혈구용적률 측정 정확도가 향상된 혈당 측정용 전기화학적 바이오센서에 관한 것으로, 본 발명에 따른 적혈구용적률 측정값 보정을 위한 제1 전극부 및 글루코스 농도를 측정하기 위한 제2 전극부를 포함하는 전기화학적 바이오센서는, 작동전극 및 보조전극의 두께보다 얇은 절연커버를 구비함으로써 혈액시료에 노출되는 제1 전극부의 제1 작동전극 및 제1 보조전극의 면적이 동일해질 뿐만 아니라, 상기 제1 작동전극 및 제1 보조전극의 간격이 일정해지고, 전극 인쇄시 위치 오차가 발생하더라도 상기 절연커버에 의해서 항상 일정한 전극 면적과 전극 간격이 유지되므로, 적혈구용적률 측정값의 정확도가 향상되고, 상기 측정값을 보정에 이용하는 혈중 글루코스 농도

측정값의 정확도를 보다 향상시킬 수 있는 효과가 있다.

WO 2013/180528 A1



SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

【명세서】

【발명의 명칭】

정확도가 향상된 전기화학적 바이오센서

5 【기술분야】

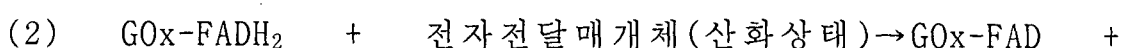
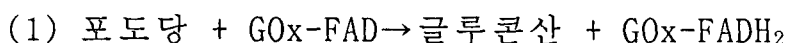
본 발명은 전기화학적 바이오센서에 혈액시료의 특성, 특히 헤마토크릿의 영향을 보정할 수 있는 기능을 부여하여 측정의 정확도를 향상시킨 바이오센서에 관한 것이다.

10 【배경기술】

최근 당뇨병을 진단하고 예방하는데 있어서 혈액 내의 포도당(혈당: blood glucose)의 양을 주기적으로 측정해야 할 필요성이 증대되고 있다. 이러한 혈당 측정은 손에 찔 수 있는 휴대용 계측기를 이용하여 손쉽게 측정할 수 있으며, 구체적으로 환자
15 각자가 스트립 형태의 바이오 센서를 사용하여 손쉽게 측정할 수 있다. 이러한 혈당 측정을 위한 바이오 센서의 작동원리는 비색 방법 또는 전기화학적 방법에 기초하고 있다.

이 중 전기화학적 방법은 하기 반응식 1에 의해 설명되어지며,
20 가장 큰 특징으로 전자전달매개체를 사용하는 것이다. 상기 전자전달매개체로는 페로센(ferrocene), 페로센 유도체; 퀴논(quinones), 퀴논 유도체; 전이금속함유 유기 및 무기물(헥사아민 루테튬, 오스뮴 함유 고분자, 포타슘 페리시아나이드 등); 및 유기 전도성 염(organic conducting salt), 비오로젠(viologen)과 같은
25 전자전달 유기물 등을 사용한다.

[반응식 1]



전자전달매개체(환원상태)

(상기 반응식 1에서,

GOx는 당산화효소(Glucose oxidase)를 나타내고, GOx-FAD 및 GOx-FADH₂는 각각 당산화효소의 활성부위인 FAD(flavin adenine
5 dinucleotide)의 산화상태 및 환원상태를 나타낸다)

상기 반응식 1에서 보는 바와 같이, (1) 먼저 혈액내의 포도당은 당산화효소의 촉매작용에 의해 글루콘산으로 산화되게 된다. 이때 당산화효소의 활성 부위인 FAD가 환원되어 FADH₂로 된다. (2)
10 그 후 환원된 FADH₂는 전자전달매개체와의 산화환원반응을 통하여 FADH₂는 FAD로 산화되고, 전자전달매개체는 환원되게 된다. 이렇게 형성된 환원상태의 전자전달매개체는 전극표면까지 확산되는데, 이때 작동 전극표면에서 환원상태의 전자전달매개체의 산화전위를 인가하여 생성되는 전류를 측정하여 혈당의 농도를 측정하게 된다.

15 종종 혈액시료 중 산소의 영향을 줄여야 할 필요가 있는 경우에는 GOx-FAD의 당산화효소 대신 GDH-FAD와 같은 당탈수소화 효소를 사용하기도 한다. 효소 종류의 차이가 있어도 전체적인 반응은 상기 반응식 1의 과정을 따른다.

상기와 같은 전기화학적 방법을 작동원리로 하는 바이오센서를
20 전기화학적 바이오센서라 한다. 이러한 전기화학적 바이오센서는 종래의 비색 방법에 의한 바이오센서와는 달리 산소에 의한 영향을 줄일 수 있고, 시료가 혼탁하더라도 시료를 별도 전처리 없이 사용 가능하다는 장점을 갖는다.

25 이러한 전기화학적 바이오센서는 혈당 양을 감시하고 제어하는데 일반적으로 편리하게 사용되지만, 센서의 정확성은 혈액시료에 존재하는 산화되기 쉬운 아스코르브산(ascorbic acid), 아세트아미노펜(acetaminophene) 및 요산(uric acid)과 같은 다양한 방해 종들에 의해 큰 영향을 받는다.

또한, 전기화학적 바이오센서의 측정 정확도에 심각한 오차를 유발하는 요인으로 적혈구용적률(적혈구가 전체 혈액에서 차지하는 부피의 비율; Hematocrit)이 중요하게 작용한다. 일회용 바이오센서 스트립을 사용하여 그들의 혈당 수준을 규칙적으로 측정하는 사람들에게 있어서, 적혈구용적률 수준에 큰 영향을 받는 바이오센서는 그 측정 결과에 있어서 틀린 판단을 가져오게 되고, 이러한 결과로 인해 심지어는 사용하는 사람들의 생명에 대한 위험을 초래할 수 있다.

10

따라서, 전기화학적 바이오센서에서 적혈구용적률 감지의 정확도는 결국 혈중 글루코스 농도의 측정 정확도에 직접적으로 영향을 주므로, 적혈구용적률 측정 정확도가 매우 중요하다.

15

특허문헌 1 및 2에서는 적혈구를 분리하거나, 시약층 상에 적혈구를 제거하는 층을 도포하는 방법에 대하여 개시하고 있다.

20

특허문헌 3에서는 규소충진물(silica filler)을 포함하여 스크린 인쇄가 가능한 시약/혈구분리 일체형 기능을 갖는 감응막을 사용하는 방법을 개시하고 있다.

25

특허문헌 4에서는 적용 전위를 두 번 인가하여(the double excitation potentials) 나온 결과를 수학적으로 처리(chemometric method)하는 교정 방법을 개시하고 있다.

한편, 적혈구용적률을 전기전도도 또는 저항으로 직접 측정하는 전극을 효소 반응을 측정하는 전극과 별도로 구비하여 적혈구용적률을 따로 측정하고 이 결과를 이용하여 효소반응 측정 전극에서 얻어진 글루코즈 농도를 보정하여 측정의 정확도를 높일 수 있다.

적혈구용적률을 모세관형 시료셀에 장착된 작동전극과 보조전극을 갖춘 일회용 센서의 전도도로 측정할 수 있는 방법에 대하여는 이미 기존의 기술로 제시된 바 있고(특허문헌 5), 이를 혈당측정용 바이오센서에 적용한 예(특허문헌 6)도 있다.

5

본 발명은 센서의 대량 생산시 정확히 전도도를 측정할 수 있는 센서의 제작에 초점을 두고 있는데, 혈액의 전기전도도(G)는 다음과 같은 공식 (1)에 기반한다.

$$G = \sigma A/L \quad (1)$$

10 상기 공식 (1)에서 G 는 단위가 Ω^{-1} 인 전기전도도, σ 는 단위가 $\Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 인 혈액의 전도도계수, A 는 단위가 cm^2 인 전극의 면적이며, L 은 단위가 cm 인 전극간의 거리를 나타낸다. 따라서, 일정한 전극간의 거리와 전극의 면적은 정확한 전도도측정을 위해서 중요하다.

그러나 선행기술들에서는 대량생산형 바이오센서에서
15 헤마토크릿의 측정을 위한 전도도 측정 전극의 면적과 전극간의 거리를 어떻게 일정하게 조절할 수 있는지에 대하여는 개시한 바가 없다.

전기화학적 바이오센서에서 전극은 인쇄방법을 통해 구성되는 경우가 많은데, 전극을 인쇄함에 있어서 그 구성물질에 따라 원하는 대로 정확하게 인쇄되지 않고 모서리 사면이 미세하게 흘러내리는 경향이 있어 전극의 면적과 전극간의 거리에 편차가 발생하는 경향이 있고, 인쇄된 전극이 두꺼워질수록 전극의 모서리 사면에서 일어나는 반응이 전체 측정에 미치는 영향 또한 커지게 된다. 또한, 전극을
25 인쇄할 경우 작은 오차라도 발생하면 작동전극과 보조전극의 면적이 크게 달라지는 문제가 있다. 이러한 전극 면적의 불균일성은 효소전극에서의 반응에서보다 직접 교류전류를 사용하여 전도도를 측정하는 전극에서 훨씬 크게 확대되어 나타나는 경향이 있고, 이러한 영향은 적혈구용적률을 보정인자로 사용하는 혈당 측정의 정확도 및

정밀도를 낮추게 만든다.

이에, 본 발명자들은 보다 향상된 적혈구용적률 측정 정확도를 갖는 전기화학적 바이오센서에 대하여 연구하던 중, 적혈구용적률 측정값 보정을 위한 제1전극부 및 글루코스 농도를 측정하기 위한 제2전극부를 포함하는 전기화학적 바이오센서에서, 작동전극 및 보조전극의 두께보다 얇은 절연커버를 구비함으로써 혈액시료에 노출되는 제1전극부의 제1작동전극 및 제1보조전극의 면적이 동일해질 뿐만 아니라, 전극 인쇄시 위치 오차가 발생하더라도 상기 절연커버에 의해서 항상 동일한 전극 면적이 유지되므로, 적혈구용적률 측정값의 정확도가 향상되는 것을 알아내고 본 발명을 완성하였다.

특허문헌 1: JP 2000338076 A

특허문헌 2: US 5658444 A1

15 특허문헌 3: US 6241862 B1

특허문헌 4: WO 01/57510 A2

특허문헌 5: US 4301412 A1

특허문헌 6: US 20110139634 A1

20 【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

본 발명의 목적은 적혈구용적률 측정 정확도가 향상된 혈당 측정용 전기화학적 바이오센서를 제공하는 것이다.

25 본 발명의 다른 목적은 상기 바이오센서를 이용하여 적혈구용적률 수치를 검정하여 혈중 글루코스 농도를 정밀하게 측정하는 방법을 제공하는 것이다.

【기술적 해결방법】

상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
하판;

상기 하판 상에 형성되는 제1작동전극 및 제1보조전극을
포함하는 제1전극부;

5 상기 하판 상에 형성되는 제2작동전극 및 제2보조전극을
포함하는 제2전극부;

상기 제2작동전극 또는 제2보조전극에 형성되는
전자전달매개체를 포함하는 시약층;

10 제1작동전극에 위치하는 제1반응부, 제1보조전극에 위치하는
제2반응부 및 제2작동전극과 제2보조전극에 위치하는 제3반응부에
대응하는 영역이 각각 동공되어 구역을 구분하는 절연커버;

상기 제1전극부 및 제2전극부로 순차적으로 혈액시료를
유도하는 미세유로 시료셀부가 구비되는 중간기관; 및

상판;을 포함하되,

15 상기 절연커버에 의해서 제1반응부 및 제2반응부에서 노출되는
제1작동전극 및 제1보조전극의 면적과 전극 간격이 일정한 것을
특징으로 하는 혈당 측정용 전기화학적 바이오센서를 제공한다.

또한, 본 발명은 상기의 바이오센서를 이용하여,

20 미세유로 시료셀부로 혈액시료를 유입하는 단계(단계 1);

제1전극부에서 혈액시료의 전기전도도를 측정하여 적혈구용적률
수치를 계산하는 단계(단계 2);

제2전극부에서 신호를 측정하여 글루코스 농도를 계산하는
단계(단계 3); 및

25 상기 제2전극부에서 계산한 글루코스 농도를—상기
제1전극부에서 계산한 적혈구용적률 수치를 반영하여 보정하는
단계(단계 4);를 포함하는 적혈구용적률 수치를 반영하여 혈중
글루코스 농도를 정밀하게 측정하는 방법을 제공한다.

【유리한 효과】

본 발명에 따른 적혈구용적률 측정값 보정을 위한 제1전극부 및
 글루코스 농도를 측정하기 위한 제2전극부를 포함하는 전기화학적
 바이오센서는, 작동전극 및 보조전극의 두께보다 얇은 절연커버를
 5 구비함으로써 혈액시료에 노출되는 제1전극부의 제1작동전극 및
 제1보조전극의 면적이 동일해질 뿐만 아니라, 상기 제1작동전극 및
 제1보조전극의 간격이 일정해지고, 전극 인쇄시 위치 오차가
 발생하더라도 상기 절연커버에 의해서 항상 일정한 전극 면적과 전극
 10 간격이 유지되므로, 적혈구용적률 측정값의 정확도가 향상되고, 상기
 측정값을 보정에 이용하는 혈중 글루코스 농도 측정값의 정확도를
 보다 향상시킬 수 있는 효과가 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 실시예 1에 따른 전기화학적 바이오센서에서
 15 혈액시료에 노출되는 제1작동전극 및 제1보조전극이 혈액이 유입되는
 방향에 직각으로 위치하고 있으며, 이들 전극의 면적과 이들 전극간의
 거리가 절연커버(6)에 의하여 동일하게 유지되는 평면형 전기화학적
 바이오센서의 분해 사시도이다.

도 2는 도 1에서 전극부분을 확대한 그림이다.

20 도 3은 본 발명의 비교예 1에 따른 전기화학적 바이오센서에서
 혈액시료에 노출되는 제1작동전극 및 제1보조전극이 절연커버에
 의하여 면적이 규정되지 않은 것을 나타내는 확대도이다.

도 4는 본 발명의 비교예 2에 따른 전기화학적 바이오센서에서
 혈액시료에 노출되는 제1작동전극 및 제1보조전극이 혈액이 유입되는
 25 방향에 대하여 순차적으로 위치하는 평면형센서를 나타내는
 확대도이다.

도 5는 도 1에서 제1작동전극 및 제1보조전극의 모서리 사면을
 설명하기 위한 예시도이다.

도 6은 도 2에서처럼 전극의 일부가 절연커버에 의하여 규정된

부분을 현미경으로 본 사진이다.

도 7은 3에서처럼 전극이 절연커버에 의하여 규정되지 않은 부분을 현미경으로 본 사진이다.

도 8은 실시예 1에서 제작한 센서를 사용하여 적혈구용적률에 대하여 전기전도도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(여기서, “%Hct”는 %적혈구용적률을 의미한다).

도 9는 비교예 1에서 제작한 센서를 사용하여 적혈구용적률에 대하여 전기전도도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(여기서, “%Hct”는 %적혈구용적률을 의미한다).

도 10은 비교예 2에서 제작한 센서를 사용하여 적혈구용적률에 대하여 전기전도도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(여기서, “%Hct”는 %적혈구용적률을 의미한다).

[부호의 설명]

- 1: 하판
- 2: 제1작동전극
- 3: 제1보조전극
- 4: 제2작동전극
- 5: 제2보조전극
- 6: 절연커버
- 7: 시약층
- 8: 중간기판
- 9: 상판
- 10: 공기배출구

【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은,

하판;

상기 하판 상에 형성되는 제1작동전극 및 제1보조전극을 포함하는 제1전극부;

상기 하판 상에 형성되는 제2작동전극 및 제2보조전극을 포함하는 제2전극부;

상기 제2작동전극 또는 제2보조전극에 형성되는 전자전달매개체를 포함하는 시약층;

제1작동전극에 위치하는 제1반응부, 제1보조전극에 위치하는 제2반응부 및 제2작동전극과 제2보조전극에 위치하는 제3반응부에 대응하는 영역이 각각 동공되어 구역을 구분하는 절연커버;

상기 제1전극부 및 제2전극부로 순차적으로 혈액시료를 유도하는 미세유로 시료셀부가 구비되는 중간기관; 및

상판;을 포함하되,

상기 절연커버에 의해서 제1반응부 및 제2반응부에서 노출되는 제1작동전극 및 제1보조전극의 면적과 전극 간격이 일정한 것을 특징으로 하는 혈당 측정용 전기화학적 바이오센서를 제공한다(도 1 및 도 2 참조).

본 발명에 따른 바이오센서에 있어서, 상기 하판은 바이오센서의 기관 역할을 한다. 이때, 상기 하판의 소재로는 세라믹, 유리판 또는 고분자 재료를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 폴리에스테르, 폴리비닐클로라이드(polyvinyl chloride) 및 폴리카보네이트(polycarbonate) 등의 유기 고분자 재료를 사용할 수 있다.

본 발명에 따른 바이오센서에 있어서, 상기 제1전극부는 혈액시료의 전기전도도를 측정하여 적혈구용적률(hematocrit) 수치를 검정하는 역할을 한다.

일반적으로, 당뇨병 환자의 처방을 위해서는 매우 정확한 혈중 글루코스 농도 측정이 필요한데, 환자의 혈중 적혈구용적률 수치에 따라서 글루코스 농도의 측정값에 오차가 발생하기 때문에 이를 보정하는 작업이 필요하다.

- 5 구체적으로, 상기 제1전극부는 제1작동전극 및 제1보조전극을 포함하여 구성되며, 1 kHz 이상의 교류전압(AC) 등을 인가하여 측정되는 전기전도도로 혈액시료 중 적혈구용적률 수치를 검정하고, 이 측정값으로 혈액시료 중 글루코스 농도를 보정하여 보다 정확한 혈중 글루코스 농도를 측정할 수 있게 한다.

10

본 발명에 따른 바이오센서에 있어서, 상기 제2전극부는 혈액시료의 글루코스 농도를 측정하는 역할을 한다.

- 구체적으로, 상기 제2전극부는 제2작동전극 및 제2보조전극을 포함하여 구성되며, 직류전압(DC) 등을 인가하여 혈액시료 중
15 글루코스 농도를 측정한다.

- 본 발명에 따른 바이오센서에 사용되는 전극의 재료는 도전성 물질이면 특별히 제한되지 아니한다. 도전성 물질의 예로는 은 에폭시, 팔라듐, 구리, 금, 백금, 이리듐, 은/염화은, 탄소 및 특정한 산화-
20 환원쌍 또는 기타 첨가제가 보강된 변형된 탄소 등을 들 수 있다. 상기 작동전극, 보조전극은 도전성 물질을 기판상에 스크린프린팅, 물리적 증기착상 또는 에칭하거나, 도체 테이프의 부착 등에 의해 형성될 수 있다.

- 25 본 발명에 따른 바이오센서에 있어서, 상기 전자전달매개체를 포함하는 시약층은 산화환원효소를 더 포함할 수도 있다.

 이때, 상기 산화환원효소는 측정하고자 하는 글루코스와 반응하여 환원되는 것으로, 상기 환원된 효소는 전자전달매개체와 반응하여 글루코스를 정량하게 된다. 산화환원효소의 예를 들면,

플라빈아데닌디뉴클레오티드-글루코스탈수소효소(flavin adenine
dinucleotide-glucose dehydrogenase, FAD-GDH),
니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드-글루코스탈수소효소(nicotinamide
adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase, NAD-GDH),
5 파이롤로퀴놀린 퀸-글루코스탈수소효소(Pyrroloquinoline quinone-
glucose dehydrogenase, PQQ-GDH), 당산화효소(glucose oxidase; GOx)
등을 사용할 수 있다.

또한, 상기 전자전달매개체는 글루코스와 반응하여 환원된
10 효소와 산화환원반응하여 환원되게 되며, 이렇게 형성된 환원상태의
전자전달매개체는 산화전위가 인가된 전극표면에서 전류를 발생시키는
역할을 수행한다.

이때, 상기 전자전달매개체로는 금속함유 착물과 티오닌 또는
15 이의 유도체를 함께 혼합하여 사용할 수 있으나, 종래에 사용된
염화헥사아민루세늄(III)(hexaammineruthenium(III)chloride),
포타슘페리시아나이드(potassium ferricyanide),
포타슘페로시아나이드(potassium ferrocyanide),
디메틸페로센(dimethylferrocene(DMF)), 페리시니움(ferricinium),
20 페로센모노카르복실산(ferrocene monocarboxylic acid(FCOOH)),
7,7,8,8,-테트라시아노퀴노디메탄(7,7,8,8-tetracyanoquino-
dimethane(TCNQ)), 테트라티아풀발렌(tetrathia fulvalene(TTF)),
니켈로센(nickelocene(Nc)), N-메틸아시디니움(N-methyl
acidinium(NMA+)), 테트라티아테트라센(tetrathiatetracene(TTT)), N-
25 메틸페나지니움(N-methylphenazinium (NMP+)),
하이드로퀴논(hydroquinone), 3-디메틸아미노벤조산(3-
dimethylaminobenzoic acid(MBTHDMAB)), 3-메틸-2-
벤조티오조리논하이드라존(3-methyl-2-benzothiozolinone hydrazone),
2-메톡시-4-알릴페놀(2-methoxy-4-allylphenol), 4-아미노안티피린(4-

aminoantipyrin(AAP)), 디메틸아닐린(dimethylaniline), 4-아미노안티피렌(4-aminoantiprene), 4-메톡시나프톨(4-methoxynaphthol), 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(3,3',5,5'-tetramethyl benzidine(TMB)), 2,2-아지노-디-[3-에틸-벤즈티아졸린
 5 술포네이트] (2,2-azino- di-[3-ethyl-benzthiazoline sulfonate]), o-디아니지딘(o-dianisidine), o-톨루이딘(o-toluidine), 2,4-디클로로페놀(2,4-dichlorophenol), 4-아미노페나존(4-amino phenazone), 벤지딘(benzidine), 프루시안 블루(prussian blue), 바이피리딘-오스뎀 복합체 화합물 등을 사용할 수 있다.

10

일반적으로, 적혈구용적률 수치를 검정할 경우에 작동전극과 보조전극의 면적을 동일하게 구비하는 것이 정확한 측정을 위한 중요
 요소로 작용한다. 그러나, 대량생산용으로 바이오센서에 전극을
 인쇄할 경우 그 구성물질(예를 들면, 탄소전극)에 따라 원하는 대로
 15 정확하게 인쇄되지 않고 전극의 모서리 사면 부분이 미세하게
 흘러내리는 경향이 있으며, 평면형 전극에서 인쇄된 전극이
 두꺼워질수록 전극의 모서리 사면 면적이 늘어나, 특정되지 않은
 면적에서 일어나는 반응이 커져 전극모서리 효과(edge effect)가
 커지게 된다. 따라서, 적혈구용적률 수치 측정값의 정밀성 및
 20 신뢰성이 떨어지는 문제점이 있다.

상술한 문제점을 해결하기 위하여 본 발명에서는 도 1 및 도
 2에 나타난 바와 같이, 절연커버를 사용하여 혈액시료에 노출되는
 제1작동전극 및 제1보조전극의 면적이 최대한 일정하고 이들 전극간의
 25 거리가 일정하게 구비되도록 하여, 측정오차를 줄인다.

더욱 구체적으로, 상기 절연커버의 두께는 하판의 상면으로부터
 제1작동전극 및 제1보조전극의 상면까지 측정되는 두께보다 얇게
 형성되어 인쇄 시 흘러내리는 현상에 의한 전기전도도 측정값 오차를

최소화할 수 있다(도 5 참조).

절연커버의 두께를 상기 전극의 두께보다 얇게 형성시키는 바람직한 일례로, 소수성 절연 잉크로 인쇄하는 방법을 사용할 수 있다. 여기서, 상기 소수성 절연 잉크로는 폴리 아크릴, 에폭시, 5 세라믹계열 등의 소수성 잉크를 사용할 수 있다.

또한, 상기 절연커버에 의해서 구역이 규정되는 제1작동전극에 위치하는 제1반응부와 제1보조전극에 위치하는 제2반응부는 미세유로 시료셀부로 혈액이 유입되는 길이방향에 직각인 선상에서 각각 적어도 일부가 겹쳐지는 형태로 위치할 수 있다.

10

이때, 상기 제1작동전극에 위치하는 제1반응부와 제1보조전극에 위치하는 제2반응부는 서로 동일한 형태인 것이 바람직하고, 직사각형, 정사각형, 원형, 타원형 등의 형태로 구비될 수 있으나, 제조과정의 편의상 직사각형 또는 정사각형이 바람직하다.

15 더욱 바람직하게, 제1작동전극에 위치하는 제1반응부와 제1보조전극에 위치하는 제2반응부는 미세유로 시료셀부로 혈액이 유입되는 길이방향에 직각인 선상에서, 길이방향 중앙선을 기준으로 하여 데칼코마니 형태로 위치할 수 있다.

20 한편, 도 3에 나타난 방법처럼 제1작동전극과 제1보조전극 사이에 절연커버를 구성하지 않을 경우, 작동전극과 보조전극의 면적이 크게 달라지는 문제가 있다.

본 발명에 따른 바이오센서에 있어서, 상기 중간기판은 25 미세유로 시료셀부가 구비되어 제1전극부 및 제2전극부로 혈액시료가 순차적으로 유입되도록 하는 역할과 그 양면에 접착제가 코팅되어 상판과 하판을 접착시키는 역할을 한다.

이때, 상기 미세유로 시료셀부의 사이즈는 0.5-2 mm의 너비와, 50-250 μm 의 높이를 갖는 미세유로가 형성되는 것이, 혈액시료의

도입을 용이하게 한다는 관점에서 바람직하다.

본 발명에 따른 전기화학적 바이오센서에 있어서, 상기 상판은 공기배출구가 구비되어 상술한 미세유로 시료셀부를 통해 혈액시료가 모세 현상으로 잘 유입되도록 하는 역할과 바이오센서의 마감재 역할을 한다.

또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 상기 바이오센서를 이용하여 적혈구용적률 수치를 반영하여 혈중 글루코스 농도를 정밀하게 측정하는 방법을 제공한다:

미세유로 시료셀부로 혈액시료를 유입하는 단계(단계 1);

제1전극부에서 혈액시료의 전기전도도를 측정하여 적혈구용적률 수치를 계산하는 단계(단계 2);

제2전극부에서 신호를 측정하여 글루코스 농도를 계산하는 단계(단계 3); 및

상기 제2전극부에서 계산한 글루코스 농도를 상기 제1전극부에서 계산한 적혈구용적률 수치를 반영하여 보정하는 단계(단계 4).

이하, 본 발명에 따른 방법을 단계별로 상세히 설명한다.

본 발명에 따른 방법에 있어서, 상기 단계 1은 미세유로 시료셀부로 혈액시료를 유입하는 단계이다.

이때, 환자로부터 혈액시료를 채취할 때의 고통을 최소화하면서 채혈하기 위한 시료의 바람직한 양은 0.1-0.7 μl 이며, 이들 시료가 전처리 과정없이 도입된다. 본 발명의 측정방법에 사용되는 바이오센서를 사용하면 상기 소량의 혈액시료로부터도 정확하고 빠르게 혈당을 측정할 수 있게 된다. 이는 상기 바이오센서의 미세유로 시료셀부에는 0.5-2 mm의 너비와, 50-250 μm 의 높이를 갖는

미세유로가 형성되어 있어 혈액시료의 도입을 용이하게 하기 때문이다.

본 발명에 따른 방법에 있어서, 상기 단계 2는 제1전극부에서 혈액시료의 전기전도도를 측정하여 적혈구용적을 수치를 계산하는 단계이고, 상기 단계 3은 제2전극부에서 신호를 측정하여 글루코스 농도를 계산하는 단계이다.

구체적으로, 제1전극부 및 제2전극부의 작동전극과 보조전극 사이에 직류, 저주파 또는 고주파 교류, 고임피던스 또는 다양한 형태의 펄스, 바람직하게는 직사각형파, 삼각파, 반정현파, 가우스파 등을 사용하여 전체 측정 과정을 조절할 수 있다.

일례로, 본 발명에 따른 바이오센서가 이의 측정기에 삽입되면, 제1전극부 및/또는 제2전극부의 작동전극과 보조전극 사이에 미리 예정된 일정한 교류전압이 걸리게 된다. 이때 걸어주는 작동전극과 보조전극에 가해진 전압은 독립적이며, 전체 회로는 개방회로(open circuit)를 형성한다. 시료 주입에 의한 전기적 변화가 개방회로 상태에서 전위차로 나타나게 되고, 상기 전위차 신호를 바이오센서의 측정 과정의 시작 신호로 사용하게 된다.

이때, 전자전달매개체를 포함하는 시약층은 제2작동전극 또는 제2보조전극 중 어느 하나의 전극에만 형성되어 있고, 상기 전극간 간격은 20 μm 내지 2 mm의 범위로 배열되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 전극 간격을 80 μm 내지 0.5 mm의 범위로 배열할 수 있다. 나아가, 상기 시약층은 산화환원효소를 더 포함할 수 있고, 지방산과 4차 암모늄염을 부가적으로 더 포함할 수도 있다.

여기서, 상기 산화환원효소로는 플라빈아데닌디뉴클레오티드-글루코스타탈수소효소(flavin adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase, FAD-GDH), 니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드-

글루코스탈수소효소(nicotinamide adenine dinucleotide-glucose dehydrogenase, NAD-GDH), 파이롤로퀴놀린 퀸-글루코스탈수소효소(Pyrroloquinoline quinone-glucose dehydrogenase, PQQ-GDH), 당산화효소(glucose oxidase; GOx) 등을 사용할 수 있다.

5

또한, 상기 전자전달매개체로는 금속함유 착물과 티오닌 또는 이의 유도체를 함께 혼합하여 사용할 수 있으나, 종래에 사용된 염화헥사아민루세늄(III)(hexaammineruthenium(III)chloride),

포타슘페리시아나이드(potassium ferricyanide),

10 포타슘페로시아나이드(potassium ferrocyanide),

디메틸페로센(dimethylferrocene(DMF)), 페리시니움(ferricinium),

페로센모노카르복실산(ferrocene monocarboxylic acid(FCOOH)),

7,7,8,8,-테트라시아노퀴노디메탄(7,7,8,8-tetracyanoquino-

dimethane(TCNQ)), 테트라티아폴발렌(tetrathia fulvalene(TTF)),

15 니켈로센(nickelocene(Nc)), N-메틸아시디니움(N-methyl

acidinium(NMA+)), 테트라티아테트라센(tetrathiatetracene(TTT)), N-

메틸페나지니움(N-methylphenazinium (NMP+)),

하이드로퀴논(hydroquinone), 3-디메틸아미노벤조산(3-

dimethylaminobenzoic acid(MBTHDMAB)), 3-메틸-2-

20 벤조티오조리논하이드라존(3-methyl-2-benzothiozolinone hydrazone),

2-메톡시-4-알릴페놀(2-methoxy-4-allylphenol), 4-아미노안티피린(4-

aminoantipyrin(AAP)), 디메틸아닐린(dimethylaniline), 4-

아미노안티피렌(4-aminoantipyrene), 4-메톡시나프톨(4-

methoxynaphthol), 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(3,3',5,5'-

25 tetramethyl benzidine(TMB)), 2,2-아지노-디-[3-에틸-벤즈티아졸린

술포네이트] (2,2-azino- di-[3-ethyl-benzthiazoline sulfonate]),

o-디아니지딘(o-dianisidine), o-톨루이딘(o-toluidine), 2,4-

디클로로페놀(2,4-dichlorophenol), 4-아미노페나존(4-amino

phenazone), 벤지딘(benzidine), 프루시안 블루(prussian blue),

바이피리딘-오스몐 복합체 화합물 등을 사용할 수 있다.

본 발명에 따른 방법에 있어서, 상기 단계 4는 상기 제2전극부에서 계산한 글루코스 농도에 상기 제1전극부에서 계산한 적혈구용적률 수치를 반영하여 보정하는 단계이다. 이때, 제1전극부 및 제2전극부의 측정 순서는 제한하지 않는다.

구체적으로, 제1전극부에서 측정된 전도도 측정값을 이용하여 측정기에 미리 입력된 적혈구용적률 보정식을 통해 측정된 적혈구용적률을 구하고, 제2전극부에서 측정된 혈당측정값을 미리 입력된 각 적혈구용적률 보정식을 이용하여 적혈구용적률의 영향이 보정된 값으로 계산해주어, 정확한 측정값을 나타내게 된다.

상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 적혈구용적률 측정값 보정을 위한 제1전극부 및 글루코스 농도를 측정하기 위한 제2전극부를 포함하는 전기화학적 바이오센서는, 작동전극 및 보조전극의 두께보다 얇은 절연커버를 구비함으로써 혈액시료에 노출되는 제1전극부의 제1작동전극 및 제1보조전극의 면적이 동일해질 뿐만 아니라, 상기 제1작동전극 및 제1보조전극의 간격이 일정해지고, 전극 인쇄시 위치 오차가 발생하더라도 상기 절연커버에 의해서 항상 일정한 전극 면적과 전극 간격이 유지되므로, 적혈구용적률 측정값의 정확도가 향상되고, 상기 측정값을 보정에 이용하는 혈중 글루코스 농도 측정값의 정확도를 보다 향상시킬 수 있는 효과가 있다.

【발명의 실시를 위한 형태】

이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1> 적혈구용적률 측정을 위한 작동전극 및 보조전극의

면적이 절연커버에 의해 일정하게 규정된 평면형 바이오센서의 제조 1
 평면형 바이오센서의 일례로서 도 1에 나타낸 것과 같이 평균값
 0.5 μl 시료도입부를 가진 평면형 바이오센서를 제조하였다. 본
 평면형 바이오센서를 제조하는 상세한 방법은 대한민국 특허출원 10-
 5 2003-0036804호, 대한민국 특허출원 10-2005-0010720호, 대한민국
 특허출원 10-2007-0020447호, 대한민국 특허출원 10-2007-0021086호,
 대한민국 특허출원 10-2007-0025106호, 대한민국 특허출원 10-2007-
 0030346호, E. K. Bauman et al., *Analytical Chemistry*, vol 37, p
 1378, 1965; K. B. Oldham in "Microelectrodes: Theory and
 10 Applications," Kluwer Academic Publishers, 1991. 등에 공지된
 방법을 참조하여 제조하였다.

도 1에서,

1은 작동전극 및 보조전극이 형성되는 폴리에스테르로 만든
 15 하판이고,

2 내지 5는 탄소/그래파이트를 스크린 프린트하여 만든
 전극이 되, 2는 제1작동전극이고, 3은 제1보조전극이며, 4는
 제2작동전극이고, 5는 제2보조전극이며,

6은 제1전극부와 제2전극부를 규정하고, 상기 제1전극부의
 20 제1작동전극과 제1보조전극의 면적을 동일하게 규정하는 절연커버이고,

7은 산화환원효소 및 전자전달매개체를 포함하는 시약층이며,

8은 미세유로 시료셀부가 구비되어 제1전극부 및 제2전극부로
 순차적으로 혈액시료가 유입되도록 유도하고, 그 양면에 접착제가
 코팅되어 있어 하판과 상판을 접착시키는 역할을 하는 0.10 mm 두께의
 25 중간기판이고,

9는 혈액이 미세유로 시료셀부 안으로 스며들도록 하기 위한
 공기배출구를 구비한, 폴리에스테르로 제조한 상판이며,

10은 공기배출구이다.

<비교예 1> 적혈구용적률 측정을 위한 작동전극 및 보조전극의 면적이 규정되지 않은 평면형 바이오센서의 제조 1

도 3에 나타낸 바와 같이, 실시예 1에서와 동일한 방법으로 바이오센서를 제조하되, 절연커버(6)가 제1작동전극과 제2작동전극 사이에 위치하지 않은 평면형 바이오센서를 제조하였다.

<비교예 2> 적혈구용적률 측정을 위한 작동전극 및 보조전극의 면적이 규정되지 않은 평면형 바이오센서의 제조 2

도 4에 나타낸 바와 같이, 실시예 1에서와 동일한 방법으로 바이오센서를 제조하되, 절연커버(6)가 제1작동전극과 제2작동전극이 혈액이 유입되는 방향에 대하여 순차적으로 위치하며 이들 전극이 절연커버에 의하여 규정되지 않은 평면형 바이오센서를 제조하였다.

<실험예 1> 적혈구용적률에 대한 전도도 측정

실시예 1 및 비교예 1-2에서 제조한 바이오센서의 적혈구용적률 측정 정확도를 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.

구체적으로, 제1 전극부에 AC 주파수 2.5 kHz, Peak-to-Peak 전압 81 mV를 인가하여 적혈구용적률이 0, 10, 20 30, 40, 50, 60 및 70%가 되도록 제조한 혈액의 전도도를 5회씩 측정하였다. 그 결과를 하기 표 1, 도 8 내지 도 10에 나타내었다.

【표 1】

	실시예 1	비교예 1	비교예 2
표준편차의 평균 ($\overline{SD}$)	0.00056	0.00291	0.00251
기울기 (S_G)	-0.00080	-0.00110	-0.00120
$\overline{SD}/S_G$	-0.703	-2.648	-2.094

도 8은 실시예 1에서 제작한 센서를 사용하여 적혈구용적률에 대하여 전기전도도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(여기서, “%Hct”는 %적혈구용적률을 의미한다).

도 9는 비교예 1에서 제작한 센서를 사용하여 적혈구용적률에 대하여 전기전도도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(여기서, “%Hct”는 %적혈구용적률을 의미한다).

도 10은 비교예 2에서 제작한 센서를 사용하여 적혈구용적률에 대하여 전기전도도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(여기서, “%Hct”는 %적혈구용적률을 의미한다).

도 8-10에 나타난 바와 같이, %적혈구용적률당 전도도의 기울기는 실시예 1의 경우 ‘-0.0008’이고, 비교예 1의 경우에는 ‘-0.0011’로 측정되었는데, 이는 제1작동전극과 제1보조전극간의 거리(d1)가 비교예 1에서의 거리(d2)보다 길기 때문이다(배경기술에서 공식 (1) 참조).

표 1에 나타난 바와 같이, 표준편차의 평균을 기울기로 나눈 값[$\overline{SD}/S_G$]을 살펴보면, 실시예 1의 경우에는 ‘-0.703’이고 비교예 1의 경우에는 ‘-2.648’로 나타나므로 실시예 1의 바이오센서가 대략 3.8배[$(-2.648)/(-0.703)$] 더 정밀한 성능을 보이는 것을 알 수 있다. 또한, 비교예 2의 경우 표준편차의 평균을 기울기로 나눈 값[$\overline{SD}/S_G$]이 ‘-2.094’로 나타나므로 실시예 1의 바이오센서가 대략 4.1배[$(-2.904)/(-0.703)$] 더 정밀한 성능을 보이는 것을 알 수 있다. 아울러, 비교예 2의 경우 측정에 필요한 혈액의 양이 많아짐으로 사용자의 편리성측면에서 바람직한 구조가 아니다.

이러한 결과는 도 5에서 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 절연커버는 탄소/그래파이트 전극보다 두께에 있어서 두 배 이상 얇아서 더욱 정확한 면적을 규정하는 데 효과적임을 나타낸다. 또한, 도 7에 나타난 바와 같이, 탄소/그래파이트 전극을 프린트한 모서리 사면은 둥그스름하여 면적을 섬세히 규정하기 어려우나, 실제로 탄소/그래파이트 전극에 절연커버를 프린트한 도 6을 보면, 탄소/그래파이트 전극의 모서리 사면을 직각에 가깝게 규정할 수 있는

것을 알 수 있다.

따라서, 본 발명에 따른 전기화학적 바이오센서는 절연커버에 의해서 제1반응부 및 제2반응부에서 노출되는 제1작동전극 및 제1보조전극의 면적과 전극 간격이 최대한 일정해짐으로써, 측정의 정확도가 현저히 향상되는 효과 있으므로, 전기화학적 바이오센서에 유용할 수 있다.

【산업상 이용가능성】

본 발명에 따른 적혈구용적률 측정값 보정을 위한 제1전극부 및 글루코스 농도를 측정하기 위한 제2전극부를 포함하는 전기화학적 바이오센서는, 작동전극 및 보조전극의 두께보다 얇은 절연커버를 구비함으로써 혈액시료에 노출되는 제1전극부의 제1작동전극 및 제1보조전극의 면적이 동일해질 뿐만 아니라, 상기 제1작동전극 및 제1보조전극의 간격이 일정해지고, 전극 인쇄시 위치 오차가 발생하더라도 상기 절연커버에 의해서 항상 일정한 전극 면적과 전극 간격이 유지되므로, 적혈구용적률 측정값의 정확도가 향상되고, 상기 측정값을 보정에 이용하는 혈중 글루코스 농도 측정값의 정확도를 보다 향상시킬 수 있는 효과가 있으므로, 전기화학적 바이오센서의 제조에 유용할 수 있다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

하판;

상기 하판 상에 형성되는 제1작동전극 및 제1보조전극을
5 포함하는 제1전극부;

상기 하판 상에 형성되는 제2작동전극 및 제2보조전극을
포함하는 제2전극부;

상기 제2작동전극 또는 제2보조전극에 형성되는
전자전달매개체를 포함하는 시약층;

10 제1작동전극에 위치하는 제1반응부, 제1보조전극에 위치하는
제2반응부 및 제2작동전극과 제2보조전극에 위치하는 제3반응부에
대응하는 영역이 각각 동공되어 구역을 구분하는 절연커버;

상기 제1전극부 및 제2전극부로 순차적으로 혈액시료를
유도하는 미세유로 시료셀부가 구비되는 중간기판; 및

15 상판;을 포함하되,

상기 절연커버에 의해서 제1반응부 및 제2반응부에서 노출되는
제1작동전극 및 제1보조전극의 면적과 전극 간격이 일정한 것을
특징으로 하는 혈당 측정용 전기화학적 바이오센서.

20 【청구항 2】

제1항에 있어서,

상기 절연커버는 제1반응부에서 노출되는 제1작동전극의 적어도
하나의 모서리 사면 및 제2반응부에서 노출되는 제1보조전극의 적어도
하나의 모서리 사면을 덮고 있는 것을 특징으로 하는 전기화학적

25 바이오센서.

【청구항 3】

제1항에 있어서,

상기 절연커버의 두께는 전극의 두께보다 얇은 것을 특징으로

하는 전기화학적 바이오센서.

【청구항 4】

제1항에 있어서,

5 상기 절연커버는 소수성 절연 잉크로 인쇄되는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

【청구항 5】

제4항에 있어서,

10 상기 소수성 절연 잉크는 폴리아크릴계, 에폭시계 및 세라믹계로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

【청구항 6】

15 제1항에 있어서,

 상기 제1작동전극에 위치하는 제1반응부와 제1보조전극에 위치하는 제2반응부는 미세유로 시료셀부로 혈액이 유입되는 길이방향에 직각인 선상에서 각각 적어도 일부가 겹쳐지는 형태로 위치하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

20

【청구항 7】

제1항에 있어서,

 상기 제1작동전극에 위치하는 제1반응부와 제1보조전극에 위치하는 제2반응부는 서로 동일한 형태인 것을 특징으로 하는
25 전기화학적 바이오센서.

【청구항 8】

제1항에 있어서,

 상기 제1작동전극에 위치하는 제1반응부와 제1보조전극에

위치하는 제2반응부는 미세유로 시료셀부로 혈액이 유입되는 길이방향에 직각인 선상에서, 길이방향 중앙선을 기준으로 하여 데칼코마니 형태로 위치하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

5

【청구항 9】

제1항에 있어서,

상기 제1작동전극 및 제1보조전극에는 시약층이 없는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

10

【청구항 10】

제1항에 있어서,

상기 시약층은 산화환원효소를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

15

【청구항 11】

제1항에 있어서,

상기 제1전극부는 혈액시료의 전기전도도를 측정하여 적혈구용적률을 계산하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

20

【청구항 12】

제1항에 있어서,

상기 제2전극부는 혈액시료 중의 글루코스 산화환원반응에 따른 전류를 측정하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

25

【청구항 13】

제1항에 있어서,

상기 제1전극부에는 교류전압(AC)를 인가하여 전기전도도를 측정하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

【청구항 14】

제1항에 있어서,

상기 제2전극부에는 직류전압(DC)를 인가하여 글루코스 산화환원반응에 따른 전류를 측정하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

【청구항 15】

제1항에 있어서,

상기 제1전극부 또는 제2전극부는 유동감지전극을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 전기화학적 바이오센서.

【청구항 16】

제1항의 바이오센서를 이용하여,

미세유로 시료셀부로 혈액시료를 유입하는 단계(단계 1);

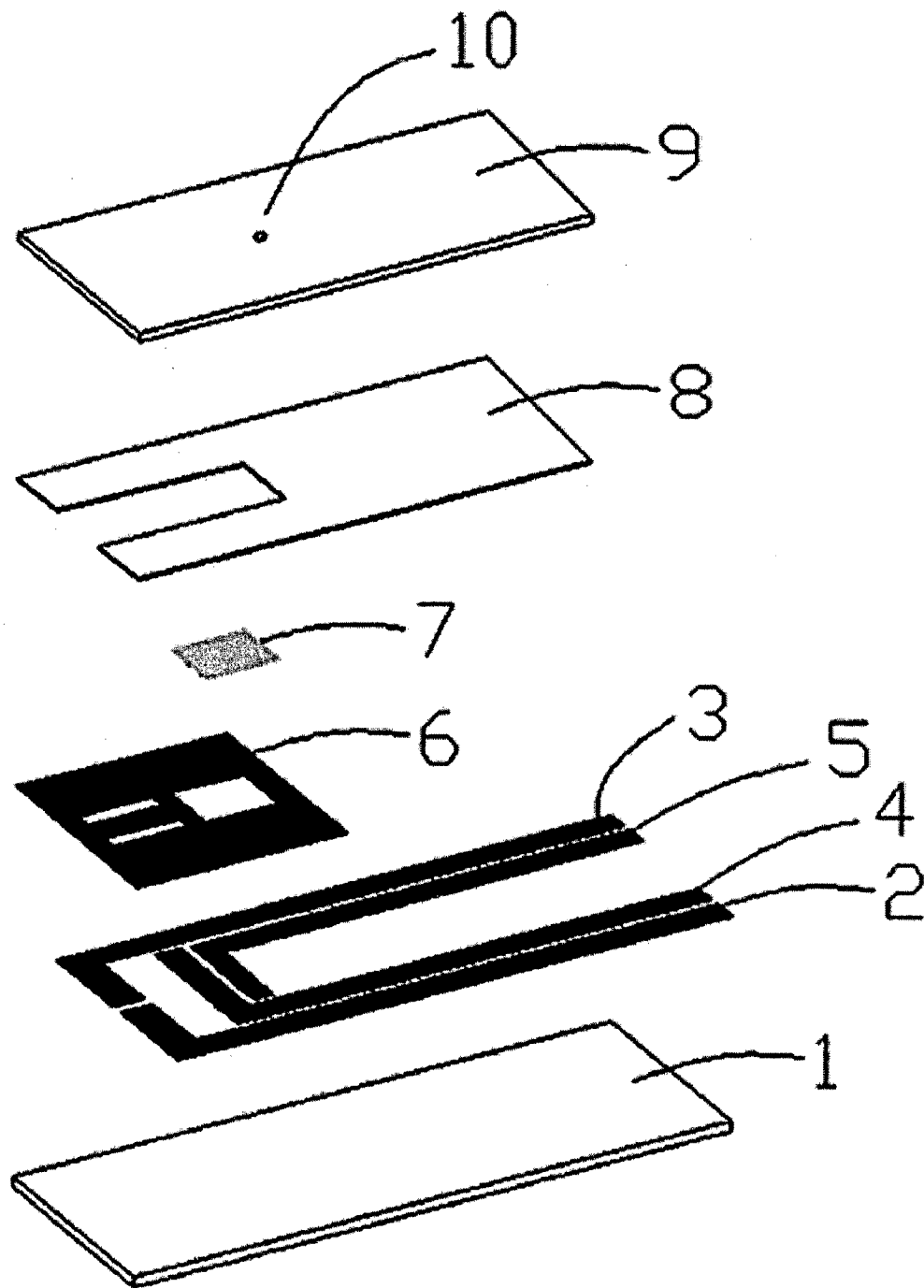
제1전극부에서 혈액시료의 전기전도도를 측정하여 적혈구용적률 수치를 계산하는 단계(단계 2);

제2전극부에서 신호를 측정하여 글루코스 농도를 계산하는 단계(단계 3); 및

상기 제2전극부에서 계산한 글루코스 농도를 상기 제1전극부에서 계산한 적혈구용적률 수치를 반영하여 보정하는 단계(단계 4);를 포함하는 적혈구용적률 수치를 반영하여 혈중 글루코스 농도를 정밀하게 측정하는 방법.

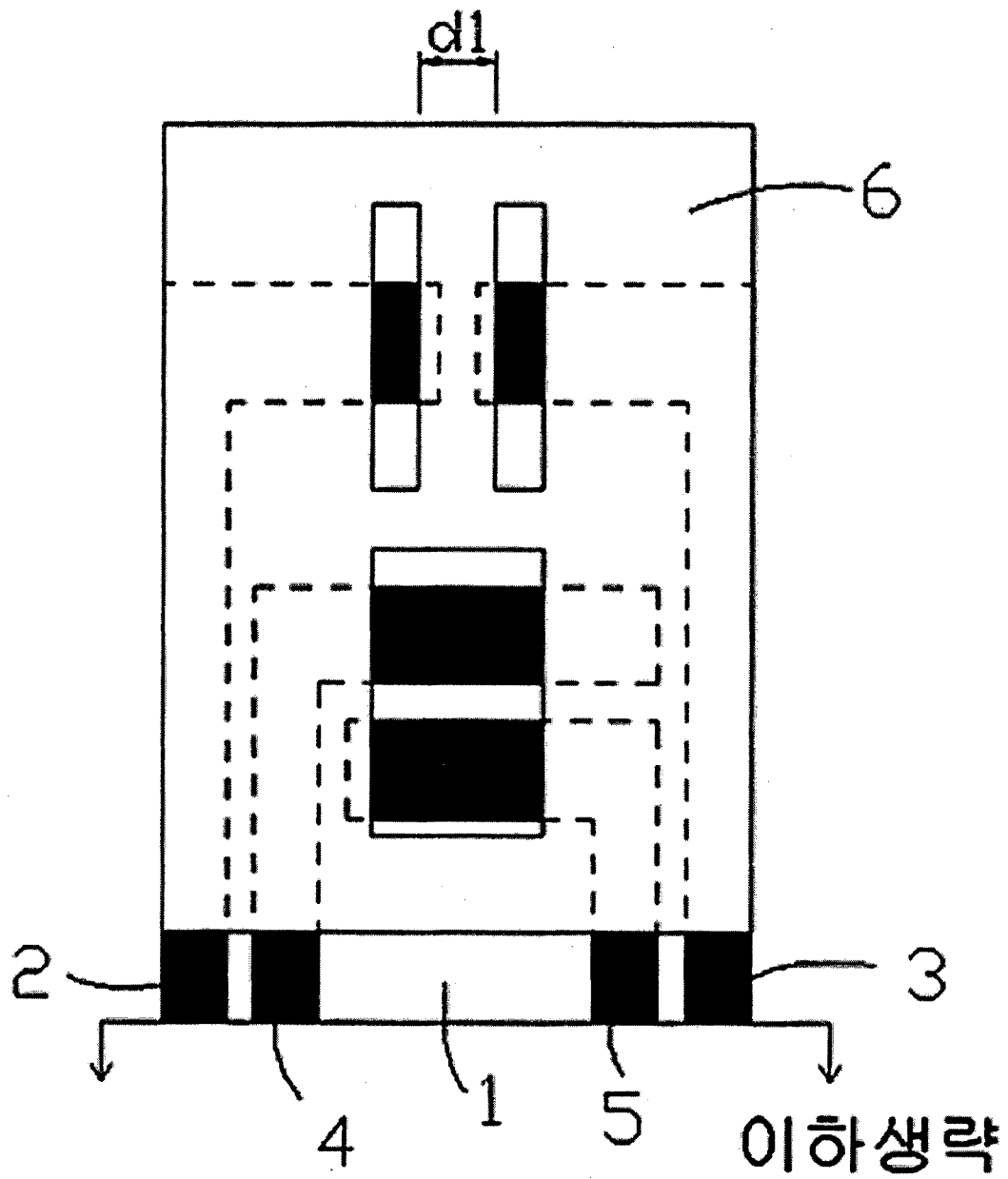
1/10

【도 1】



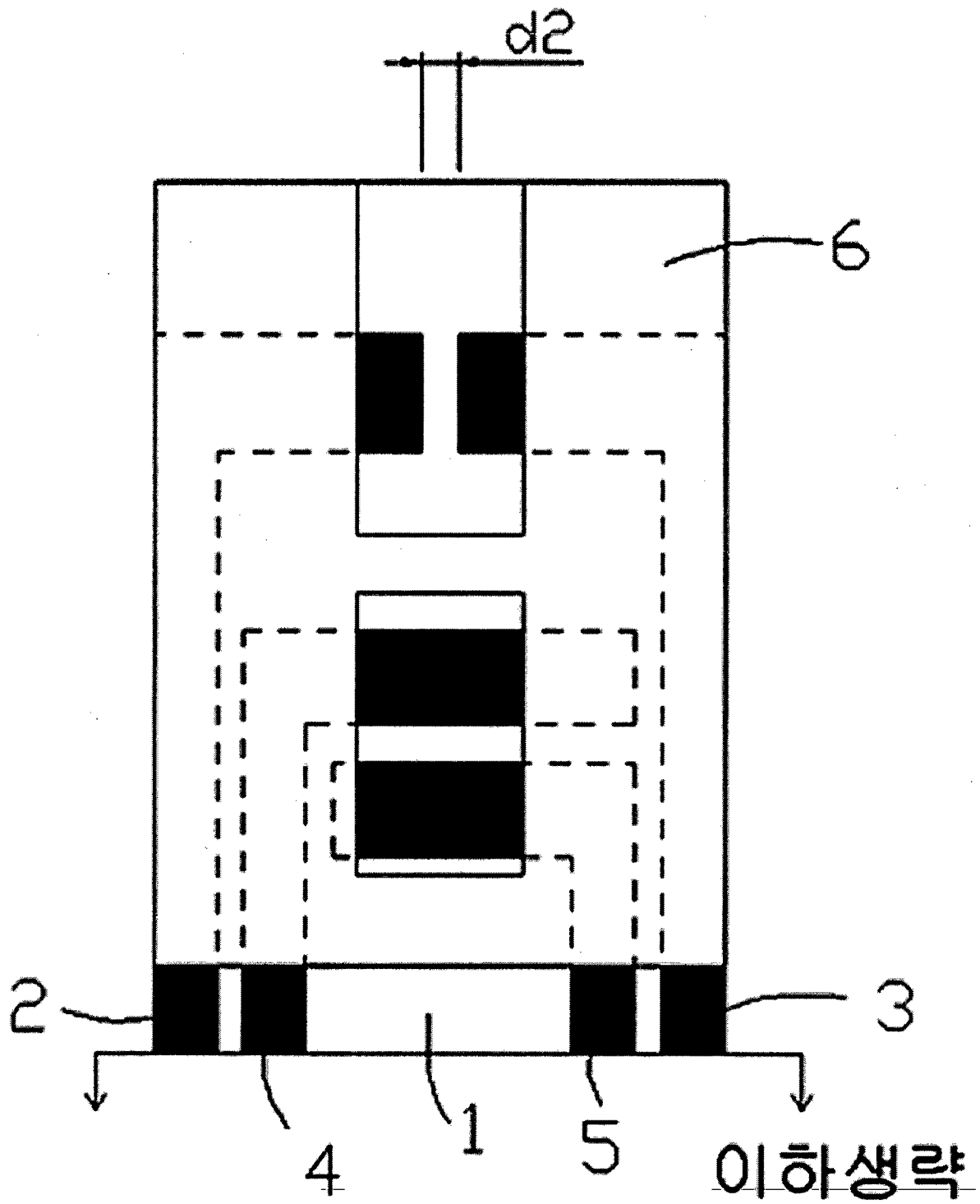
2/10

【도 2】



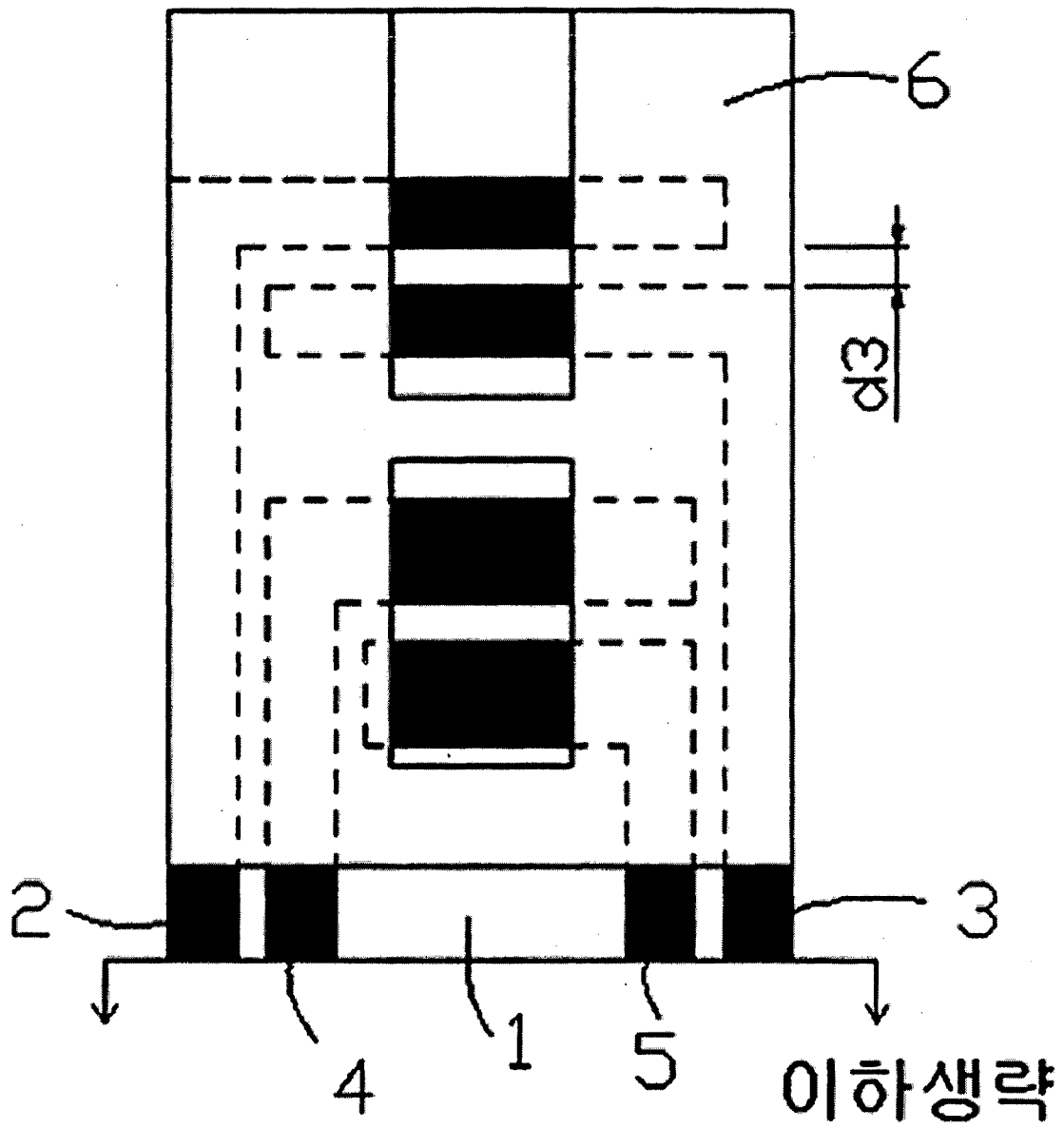
3/10

【도 3】



4/10

【도 4】



5/10

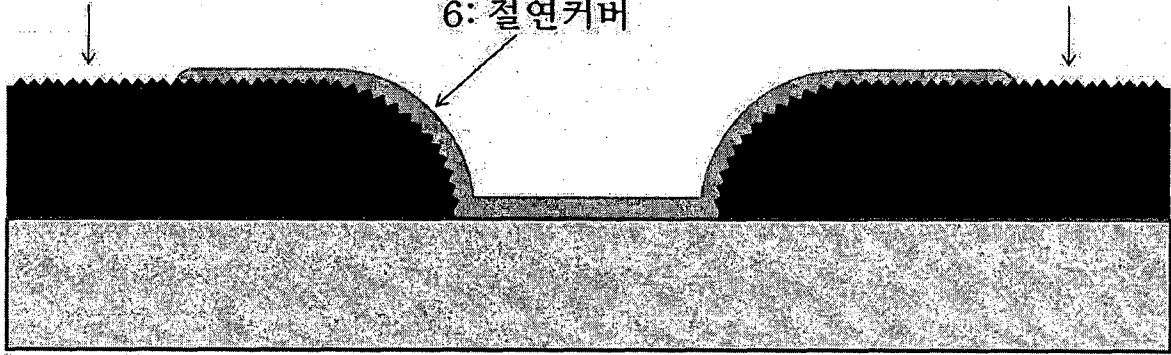
【도 5】

3: 제1보조전극

2: 제1작동전극

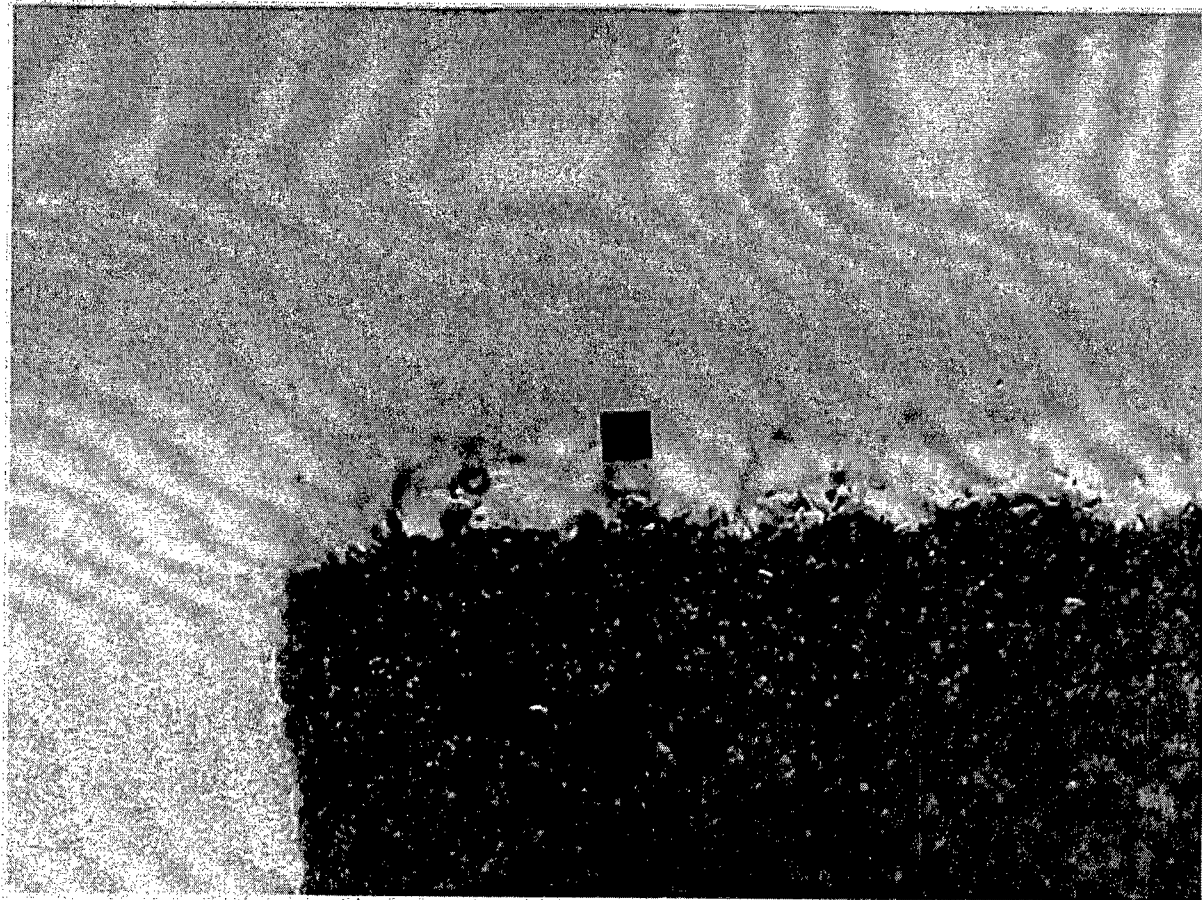
6: 절연커버

1: 하판



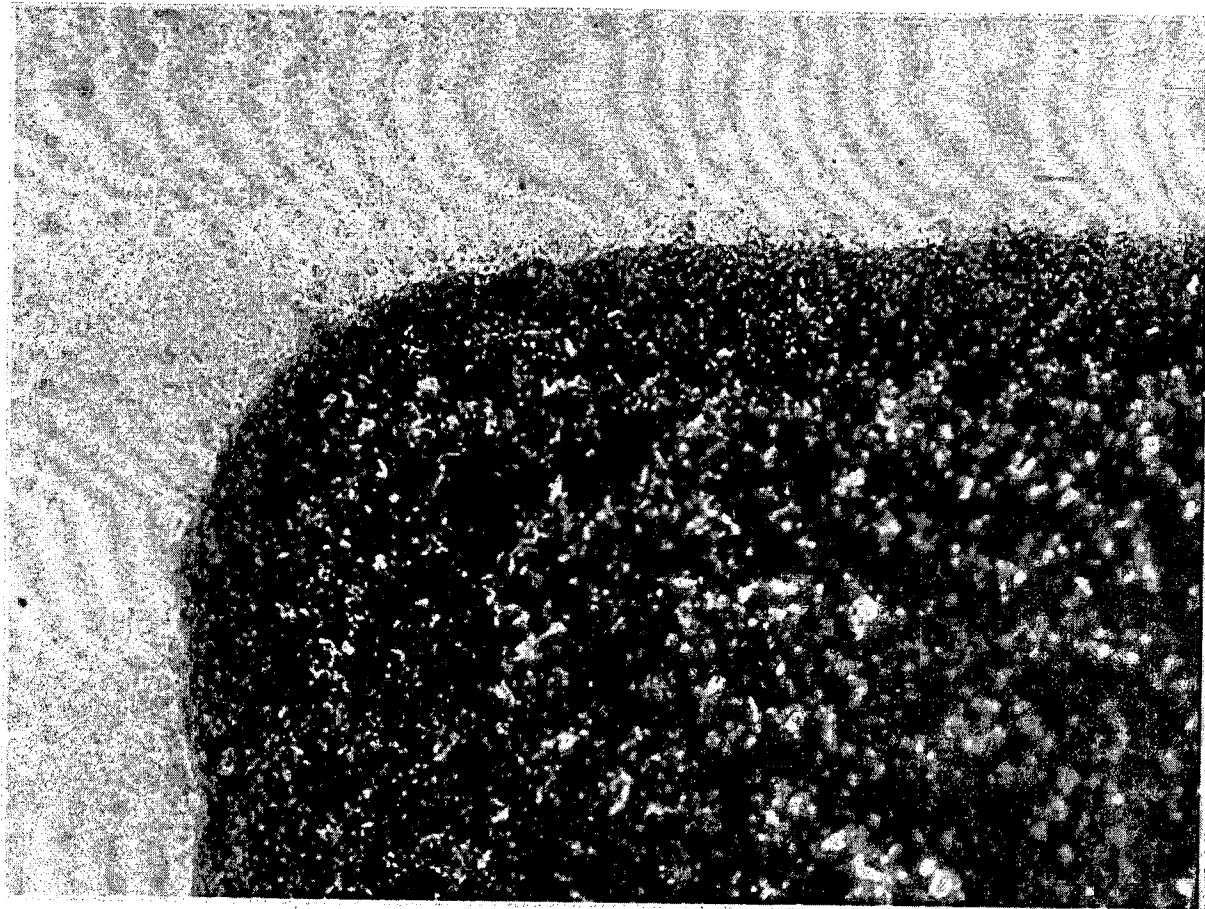
6/10

【도 6】



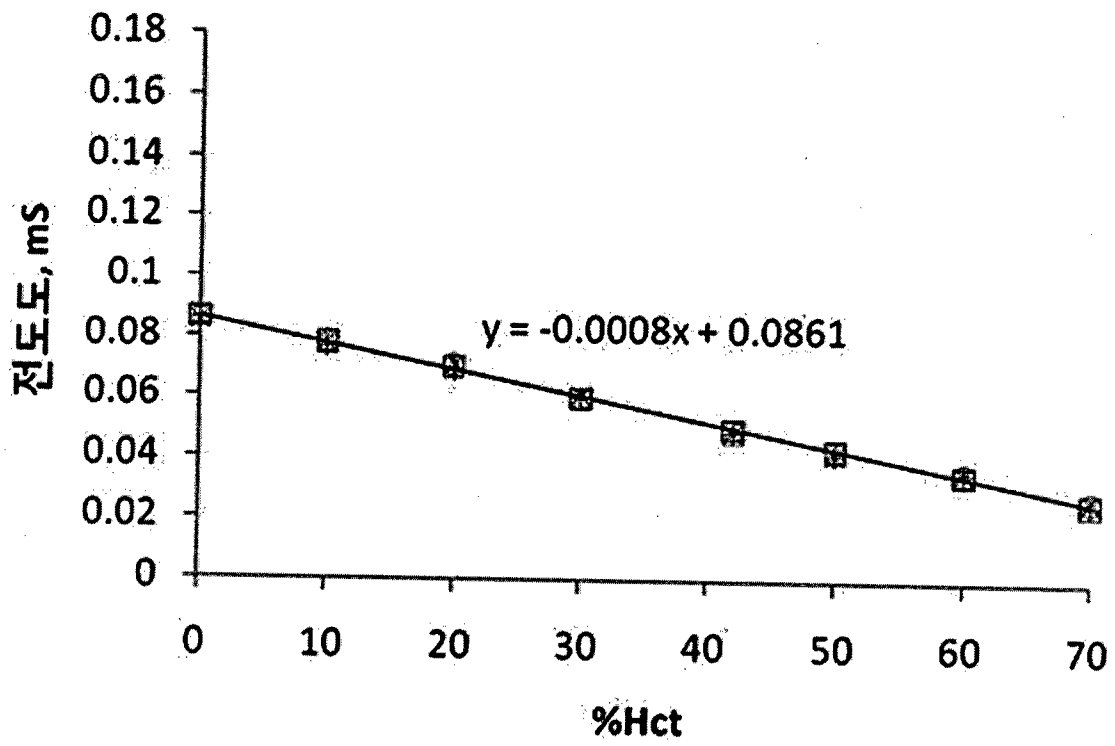
7/10

【도 7】



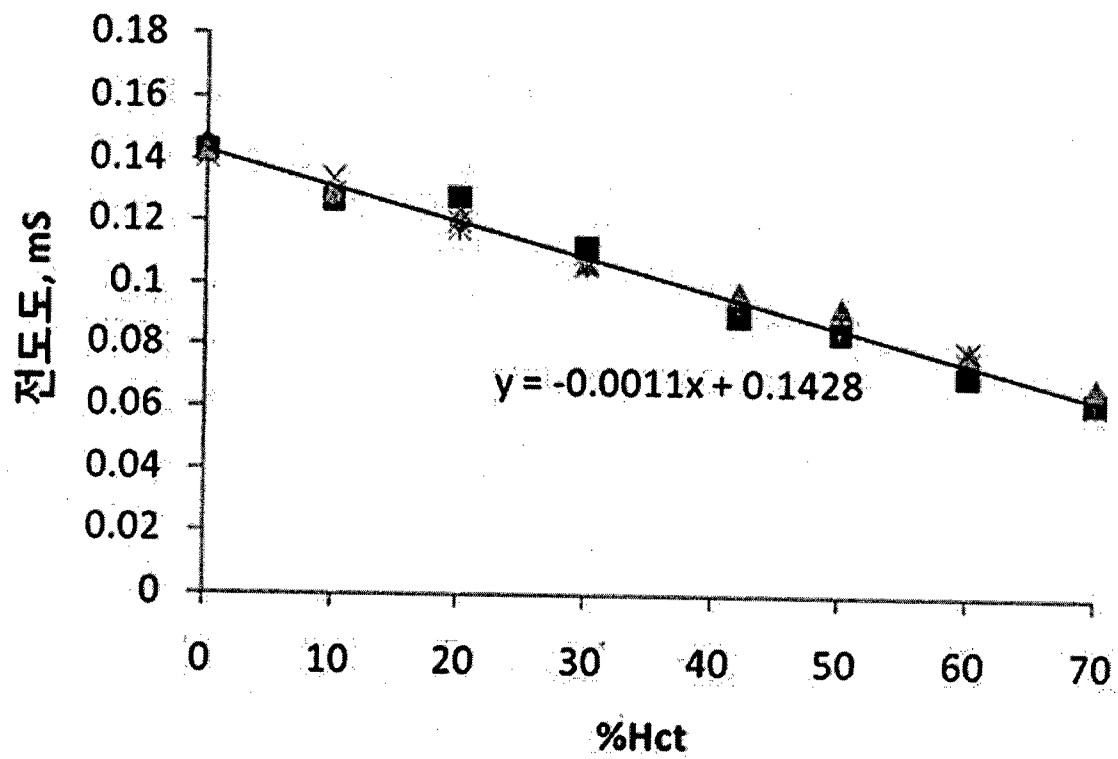
8/10

【도 8】



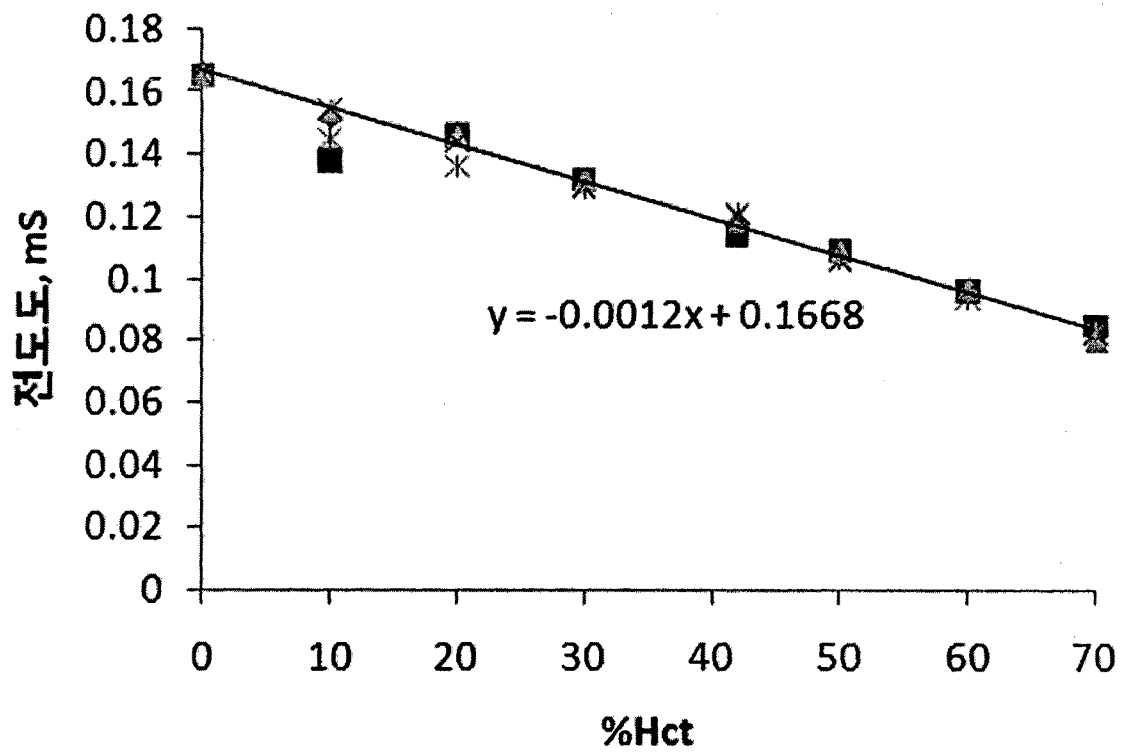
9/10

【도 9】



10/10

【도 10】



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/004838**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****G01N 27/30(2006.01)i, G01N 33/66 (2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 27/30; C12Q 1/00; G01N 27/00; G01N 27/26; G01N 27/327; C12M 1/34; G01N 33/66

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: blood sugar, biosensor, hematocrit, operation electrode, secondary electrode, reagent, insulation layer, substrate, area.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6287451 B1 (WINARTA, Handani et al.) 11 September 2001 See the entire document	1-16
A	US 2009-0056120 A1 (BHULLAR, Raghbir S. et al.) 05 March 2009 See the entire document	1-16
A	JP 2006-504096 A (ABBOT LABORATORIES) 02 February 2006 See the entire document	1-16
A	US 2010-0219084 A1 (BLYTHE, Stephen Patrick et al.) 02 September 2010 See the entire document	1-16
A	KR 10-0586832 B1 (INFOPIA CO., LTD.) 08 June 2006 See the entire document	1-16



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 AUGUST 2013 (19.08.2013)

Date of mailing of the international search report

19 AUGUST 2013 (19.08.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/004838

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 6287451 B1	11/09/2001	AT 273511 T	15/08/2004
		AU 2000-53212 A1	18/12/2000
		CA 2375092 A1	07/12/2000
		CA 2375092 C	06/12/2005
		DE 1212609 T1	28/11/2002
		DE 60012946 D1	16/09/2004
		DE 60012946 T2	05/01/2005
		EP 1212609 A2	12/06/2002
		EP 1212609 B1	11/08/2004
		ES 2177474 T1	16/12/2002
		ES 2177474 T3	16/03/2005
		JP 04-060078B2	12/03/2008
		JP 2003-501627 T	14/01/2003
		JP 2003-501627A	14/01/2003
		WO 00-73785 A2	07/12/2000
		WO 00-73785 A3	11/04/2002
US 2009-0056120 A1	05/03/2009	US 2005-103624 A1	19/05/2005
		US 2009-020502 A1	22/01/2009
		US 8287703 B2	16/10/2012
JP 2006-504096 A	02/02/2006	AU 2003-286597 A1	13/05/2004
		AU 2003-286597 A8	13/05/2004
		CA 2503086 A1	06/05/2004
		EP 1556689 A2	27/07/2005
		JP 04-695879B2	08/06/2011
		JP 2006-504096 T	02/02/2006
		US 2004-0079653 A1	29/04/2004
		US 2006-0201805 A1	14/09/2006
		US 2011-0031133 A1	10/02/2011
		US 2013-001101 A1	03/01/2013
		US 7501053 B2	10/03/2009
		US 7754093 B2	13/07/2010
		US 8163160 B2	24/04/2012
		WO 2004-038401 A2	06/05/2004
		WO 2004-038401 A3	17/06/2004
US 2010-0219084 A1	02/09/2010	AT 534901 T	15/12/2011
		EP 2080023 A1	22/07/2009
		EP 2080023 B1	23/11/2011
		ES 2375288 T3	28/02/2012
		HK 1133458 A1	31/08/2012
		US 8388821 B2	05/03/2013
		WO 2008-040982 A1	10/04/2008
KR 10-0586832 B1	08/06/2006	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 27/30(2006.01)i, G01N 33/66(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 27/30; C12Q 1/00; G01N 27/00; G01N 27/26; G01N 27/327; C12M 1/34; G01N 33/66

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 혈당, 바이오센서, 헤마토크릿, 작동전극, 보조전극, 시약, 절연층, 기관, 면적.

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 6287451 B1 (HANDANI WINARTA 외 4명) 2001.09.11 문서 전체 참조	1-16
A	US 2009-0056120 A1 (RAGHBIR S. BHULLAR 외 5명) 2009.03.05 문서 전체 참조	1-16
A	JP 2006-504096 A (ABBOT LABORATORIES) 2006.02.02 문서 전체 참조	1-16
A	US 2010-0219084 A1 (STEPHEN PATRICK BLYTHE 외 5명) 2010.09.02 문서 전체 참조	1-16
A	KR 10-0586832 B1 (주식회사 인포피아) 2006.06.08 문서 전체 참조	1-16

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2013년 08월 19일 (19.08.2013)

국제조사보고서 발송일

2013년 08월 19일 (19.08.2013)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

김상우

전화번호 +82-42-481-8384



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 6287451 B1	2001/09/11	AT 273511 T AU 2000-53212 A1 CA 2375092 A1 CA 2375092 C DE 1212609 T1 DE 60012946 D1 DE 60012946 T2 EP 1212609 A2 EP 1212609 B1 ES 2177474 T1 ES 2177474 T3 JP 04-060078B2 JP 2003-501627 T JP 2003-501627A WO 00-73785 A2 WO 00-73785 A3	2004/08/15 2000/12/18 2000/12/07 2005/12/06 2002/11/28 2004/09/16 2005/01/05 2002/06/12 2004/08/11 2002/12/16 2005/03/16 2008/03/12 2003/01/14 2003/01/14 2000/12/07 2002/04/11
US 2009-0056120 A1	2009/03/05	US 2005-103624 A1 US 2009-020502 A1 US 8287703 B2	2005/05/19 2009/01/22 2012/10/16
JP 2006-504096 A	2006/02/02	AU 2003-286597 A1 AU 2003-286597 A8 CA 2503086 A1 EP 1556689 A2 JP 04-695879B2 JP 2006-504096 T US 2004-0079653 A1 US 2006-0201805 A1 US 2011-0031133 A1 US 2013-0011101 A1 US 7501053 B2 US 7754093 B2 US 8163160 B2 WO 2004-038401 A2 WO 2004-038401 A3	2004/05/13 2004/05/13 2004/05/06 2005/07/27 2011/06/08 2006/02/02 2004/04/29 2006/09/14 2011/02/10 2013/01/03 2009/03/10 2010/07/13 2012/04/24 2004/05/06 2004/06/17
US 2010-0219084 A1	2010/09/02	AT 534901 T EP 2080023 A1 EP 2080023 B1 ES 2375288 T3 HK 1133458 A1 US 8388821 B2 WO 2008-040982 A1	2011/12/15 2009/07/22 2011/11/23 2012/02/28 2012/08/31 2013/03/05 2008/04/10
KR 10-0586832 B1	2006/06/08	없음	