



(43)申请公布日 2018.12.21

权利要求书3页 说明书9页 附图4页

1. 一种选择用于基于电化学适体的生物传感器(“EAB传感器”)的适体的方法,所述EAB传感器配置用于汗液感测装置,所述方法包括:

为所述EAB传感器定义至少一个性能参数;

在定义所述至少一个参数时,考虑目标分析物的尺寸;

在定义所述至少一个参数时,考虑所述目标分析物的汗液浓度范围;

在定义所述至少一个参数时,考虑汗液样本pH的影响;

在定义所述至少一个参数时,考虑汗液样本盐度的影响;以及

使用所述至少一个参数来选择所述目标分析物的适体。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述参数是以下之一:所述目标分析物的特异性;所述目标分析物的灵敏度;相对于不是所述目标分析物的分子的交叉选择性;线性检测范围;适体恢复时间。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述至少一个参数针对以下因素之一进行优化:目标分析物尺寸;所述目标分析物的汗液浓度范围;汗液样本pH;以及汗液样本盐度。

4. 权利要求1的方法,其特征在于,还包括考虑所述适体对不是目标分析物的分子的交叉选择性。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述尺寸是以下之一:100至1000Da;1至10k Da;10至1000kDa;大于1000kDa。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述浓度范围是以下之一:mM、 μ M、pM和fM。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述适体是以下之一:DNA适体;RNA适体;XNA寡核苷酸;左手适体;镜像适体;肽适体;Affimer;以及改良适体。

8. 一种汗液感测装置,能够测量汗液样本中的分析物浓度,并且配置为放置在装置穿戴者的皮肤上,所述汗液感测装置包括:

至少一个分析物特定的EAB传感器,以提供在汗液样本中的至少一个目标分析物的一个或多个测量值,其中所述传感器具有相对于所述汗液样本流的上游侧,以及相对于所述汗液样本流的下游侧;

至少一个次级传感器;

微流体部件,与所述穿戴者的皮肤和所述至少一个传感器流体连通;以及

微流体泵,与所述微流体部件流体连通。

9. 根据权利要求8所述的汗液感测装置,其特征在于,所述次级传感器是以下中的至少一种:离子选择性电极传感器;参比电极;温度传感器;皮肤阻抗传感器;电容皮肤接近传感器;加速计;体积汗液率传感器;汗液传导传感器;以及皮肤电反应传感器。

10. 根据权利要求8所述的汗液感测装置,其特征在于,所述至少一个次级传感器测量汗液样本pH。

11. 根据权利要求8所述的汗液感测装置,其特征在于,所述至少一个次级传感器测量汗液样本盐度。

12. 根据权利要求8所述的汗液感测装置,其特征在于,还包括至少一个汗液样本浓缩器,能够相对于目标分析物浓缩所述汗液样本,其中所述样本浓缩器接收含有第一摩尔浓度的目标分析物的未浓缩汗液样本;并且其中当所述汗液样本朝向所述至少一个EAB传感器移动时,所述样本浓缩器浓缩所述汗液样本,使浓缩的所述汗液样本含有第二摩尔浓度

的所述目标分析物,该第二摩尔浓度比第一摩尔浓度高至少2倍。

13.根据权利要求12所述的汗液感测装置,其特征在于,所述汗液样本浓缩器包括水能够渗透但是所述目标分析物不能够渗透的选择性渗透膜,并且所述膜具有与汗液样本相邻的第一侧和与所述汗液样本相对的第二侧。

14.根据权利要求12所述的汗液感测装置,其特征在于,还包括选择性渗透膜,所述选择性渗透膜位于所述至少一个EAB传感器的所述下游侧附近。

15.根据权利要求8所述的汗液感测装置,其特征在于,还包括选择性渗透膜,所述选择性渗透膜位于所述至少一个EAB传感器的所述上游侧附近。

16.根据权利要求15所述的汗液感测装置,其特征在于,所述选择性渗透膜保护所述至少一个EAB传感器免受酶的影响。

17.根据权利要求15所述的汗液感测装置,其特征在于,所述选择性渗透膜保护目标分析物免受酶的影响。

18.根据权利要求15所述的汗液感测装置,其特征在于,所述选择性渗透膜配置成从所述汗液样本中去除对目标分析物具有交叉选择性的分子。

19.根据权利要求15所述的汗液感测装置,其特征在于,所述选择性渗透膜具有以下性质之一:疏水性;亲水性;疏脂性;以及亲脂性。

20.根据权利要求15所述的装置,其特征在于,所述选择性渗透膜是基于电荷的过滤器。

21.根据权利要求8所述的汗液感测装置,其特征在于,还包括电磁屏蔽部件,以减少由所述至少一个EAB传感器记录的电噪声。

22.根据权利要求8所述的汗液感测装置,其特征在于,还包括能够再生所述至少一个EAB传感器的再生部件。

23.根据权利要求22所述的汗液感测装置,其特征在于,所述再生部件向所述至少一个EAB传感器供热。

24.根据权利要求22所述的汗液感测装置,其特征在于,所述再生部件包括:含有中性pH流体的小体积流体贮存器,所述中性pH流体位于最邻近所述EAB传感器的上游侧的位置;以及用于释放所述中性pH流体的微流体阀,使得当所述微流体阀打开时,所述中性pH流体流过所述EAB传感器。

25.一种使用权利要求8所述的汗液感测装置来检测汗液样本中的目标分析物的方法,包括:

设定信号阈值,其中所述信号阈值考虑以下因素中的至少一个:装置应用的预测值;所述目标分析物的尺寸;所述汗液样本中的所述目标分析物的汗液浓度范围;所述汗液样本的pH;以及所述汗液样本的盐度;

检测所述目标分析物;

确定是否达到所述信号阈值;以及

报告是否达到所述信号阈值。

26.根据权利要求25所述的方法,其特征在于,还包括:

确定序时保证的汗液采样率,其中所述汗液采样率至少部分地基于EAB传感器恢复时间。

27. 根据权利要求25所述的方法, 其特征在于, 还包括:

确定所述汗液样本中的目标分析物浓度, 其中所述汗液感测装置考虑以下因素中的至少一个: 所述目标分析物的尺寸; 所述汗液样本中的所述目标分析物的汗液浓度范围; 所述汗液样本的pH; 以及所述汗液样本的盐度。

用于检测汗液分析物的EAB生物传感器

[0001] 关于联邦政府资助的研究或开发的声明

[0002] 本发明是在美国政府的任何支持之外做出的。

[0003] 相关申请的交叉引用

[0004] 本申请的说明书基于2016年4月25日提交的第62/327420号美国临时申请,以及2016年10月23日提交的PCT/US16/58356,它们的公开内容通过引用整体并入本文。

背景技术

[0005] 尽管与其他生物流体相比,汗水(汗液)具有许多人体工学优势(特别是在“可穿戴”装置中),但与已建立的生物流体(血液、尿液和唾液)相比,汗液仍然是未充分利用的生物标记分析物来源。与其他非侵入性生物流体进行更密切的比较后,其优势甚至可能超出人体工程学:汗液可能提供优越的分析物信息。然而,在历史上许多挑战一直阻止汗液在优选的临床生物流体中占据一席之地。这些挑战包括非常低的样本体积(nL至 μ L)、由于蒸发引起的未知浓度、大分析物的过滤和稀释、新旧汗液的混合以及来自皮肤表面的污染的可能性。最近,“可穿戴”汗液采样和感测装置的快速发展解决了一些历史挑战。然而,最新的进展也限于在例如运动应用中发现的高出汗率($>1\text{ nL/min/gland}$)中取样的高浓度分析物(μM 至 mM)。因为汗液生物感测趋向于大的、低浓度分析物(nM 至 pM 和更低),因此进展将变得更具挑战性。

[0006] 特别地,用于检测较大分子的许多已知传感器技术不适合用于可穿戴汗液感测,这需要允许在穿戴者皮肤上连续使用的传感器。这意味着需要复杂的微流体操作、添加试剂、有限保质期成分(例如抗体)的使用,或设计用于单次使用的传感器的传感器形态不足以用于汗液感测。所需要的是稳定,可靠的生物电传感器,其对汗液中的目标分析物敏感,同时在传感器的寿命期间能够进行多个分析物捕获事件。该问题的一个解决方案是使用基于电化学适体(“EAB”)的传感器技术,例如在第7,803,542号和第8,003,374号美国专利中公开的。然而,EAB传感器具有使其在可穿戴汗液感测装置中的使用具有相当大的挑战的性能。因此,所公开的发明提供了允许在这种装置中有效使用EAB传感器的装置和方法。

[0007] 通过以某种方式创建化学品、材料、传感器、电子、微流体、算法、计算、软件、系统和其他特征或设计的新颖和先进的相互作用,可以解决成功的汗液传感器开发的许多其他挑战,该方式经济地、有效地、方便地、智能地或可靠地为传感器和样本制备或浓缩子系统带来汗液。通过这样的发明,汗液感测可以作为生物感测平台而成为更加引人注目的范例。

发明内容

[0008] 所公开的发明提供了一种汗液感测装置,该汗液感测装置配置为使用EAB传感器来检测汗液样本中的目标分析物。所公开的发明还包括用于选择在EAB传感器中使用的适体的方法,所述EAB传感器配置用于可穿戴的汗液感测装置。

附图说明

- [0009] 通过考虑以下详细描述和附图,将进一步理解本发明的目的和优点,其中:
- [0010] 图1A和图1B表示本发明的适体感测元件;
- [0011] 图2描绘了所公开的发明的实施例;
- [0012] 图3描绘了所公开的发明的实施例,其进一步包括用于EAB感测的汗液样本处理部件;
- [0013] 图4是传感器电流输出根据分析物浓度而变化的EAB响应曲线的视图;
- [0014] 图5是传感器电流输出根据pH而变化的EAB响应曲线的视图。
- [0015] 定义
- [0016] “连续监测”是指装置提供由连续或多次收集确定的汗液的至少一个测量值并且感测该测量值或随时间提供汗液的多个测量值的能力。
- [0017] “汗液采样率”是来自汗腺或来自皮肤或组织的新汗液或汗液溶质到达测量汗液或其溶质的性质的传感器的有效速率。在某些情况下,汗液采样率可能远比汗液产生率复杂。
- [0018] “汗液刺激”是由任何外部刺激产生汗液的直接或间接原因,外部刺激被用于刺激汗液。汗液刺激的一个示例是施用汗液刺激剂,例如,匹鲁卡品(Pilocarpine)。如果慢跑是为了刺激汗液而慢跑,那么刺激汗液的慢跑仅是汗液刺激。
- [0019] “汗液产生率”是由汗腺自身产生汗液的速率。汗液产生率通常通过来自每个汗腺的流速(nL/min/gland)来测量。在某些情况下,测量值将乘以来自被采样的汗液的汗腺数量。
- [0020] “序时保证”是指保证以对从身体排出的新汗液分析物进行测量的速率来测量汗液中的分析物的采样率或采样间隔。序时保证还可以包括确定对于一个或多个测量值的传感器功能,具有先前产生的分析物、其他流体的潜在污染,或其他测量污染源的影响。序时保证可能具有对身体内时间延迟的补偿(例如,组织液中出现的血液中的分析物之间的已知5至30分钟的滞后时间),但是由此产生的(下面定义的)采样间隔不依赖于滞后时间,此外,该滞后时间在身体内,因此,对于如上定义并在此解释的序时保证,该滞后时间不适用。
- [0021] “分析物特定的传感器”是指对特定于分析物的传感器并执行分析物存在或浓度的特定化学识别(例如,离子选择性电极、酶传感器、基于电化学适体的传感器等)。例如,感测流体(例如,汗液)的阻抗或电导的传感器被排除在“分析物特定的传感器”之外,因为感测阻抗或电导将汗液中的全部离子的测量值合并(即,传感器不是化学选择性的;它提供了间接测量)。传感器也可以是光学的、机械的、或者使用特定于单个分析物的其他物理/化学方法。此外,多个传感器可以各自特定于多个分析物中的一个。
- [0022] “汗液传感器数据”是指由一个或多个汗液系统传感器收集并经由系统传送到用户或数据聚集位置的所有信息。
- [0023] “相关聚合汗液传感器数据”是指已经收集在数据聚集位置并且与外部信息(例如,时间、温度、天气、位置、用户概要、其他汗液传感器数据或任何其他相关数据)相关联的汗液传感器数据。
- [0024] “测量的”可以意味准确或精确的定量测量,并且可以包括更广泛的含义,例如,测量某物的相对变化量。测量的也可以意味二元测量,例如“是”类型或“否”类型测量。
- [0025] “汗液体积”是可以以多种方式限定的空间中的流体体积。汗液体积可以是存在于

传感器与汗液的产生点之间或移入或移来自身体或其他来源的汗液的溶质的产生点之间的体积。汗液体积可以包括在以下位置之间由汗液占据的体积：皮肤上的采样位置与皮肤上的传感器之间，其中传感器在其与皮肤之间没有中间层、材料或部件；或皮肤上的采样位置和皮肤上的传感器之间，其中皮肤上的传感器与采样位置之间存在一个或多个层、材料或部件。

[0026] “微流体部件”是聚合物、纺织品、纸或微流体领域中已知的其他部件的通道，用于引导流体的移动或至少部分地容纳流体。

[0027] “平流运输”是由流体的整体运动引起的流体的物质或保守性质的运输机制。

[0028] 如本文所用，“扩散”是物质从高浓度区域到低浓度区域的净移动。这也称为物质在浓度梯度下的移动。

[0029] “流速感测部件”是测量汗液感测或收集装置的至少一部分中的汗液的流速的任何一个或多个部件。

[0030] “分析物”是指由汗液感测装置测量的物质、分子、离子或其他物质。

[0031] “寡核苷酸”是指短核酸聚合物。

[0032] “选择性”是指传感器响应目标分析物的能力。

[0033] “灵敏度”是指被测量的参数的每单位变化引起的传感器的输出的变化。该变化在传感器的范围内可以是恒定的（线性的），或者可以变化（非线性的）。

[0034] “EAB传感器”是指基于电化学适体的生物传感器，其包括多个适体感测元件，其产生指示目标分析物捕获的信号，以及哪个信号可以添加到其他这样的感测元件的信号中，从而信号阈值可以到达指示目标分析物的存在。

[0035] “适体”是指当分析物结合分子时经历构象变化的分子，其满足本文所述的感测方法的一般操作原理。这些分子是例如天然的或修改的DNA、RNA或XNA寡核苷酸序列、镜体适体、肽适体和Affimer。修改可以包括用非天然核酸碱基替换适体序列内的天然碱基、用非天然序列替换天然序列、或改善传感器功能的其他合适的修改。

具体实施方式

[0036] 用于连续汗液感测的基于电化学适体的传感器配置为提供稳定的传感器响应，该传感器响应具有足够长的生命周期以用于多个分析物结合和释放周期。这种传感器包括多个单独的适体感测元件，如图1A所示，其可以通过在目标分析物与适体接触时捕获和释放目标分析物来重复地检测分子目标物的存在。感测元件包括分析物捕获复合物140，其具有与硫分子（硫醇）120共价键合的第一末端，硫分子（硫醇）120又与金电极基底130共价键合。在其他实施例（未图示）中，分析物捕获复合物可以通过乙二胺四乙酸（EDTA）菌株与电极结合，以改善在例如汗液等的困难感测环境中的粘附性。感测元件还包括氧化还原部位150，其可以与适体140共价键合或通过连接部分与适体140结合。在不存在目标分析物的情况下，适体140处于第一配置，并且氧化还原部位150相对于电极130处于相应的第一位置。当装置使用例如方波伏安法（SWV）询问感测元件时，感测元件产生第一电信号。

[0037] 参考图1B，选择适体140以与目标分析物160特定地相互作用，使得当适体捕获目标分析物分子时，适体经历构象变化，该构象变化部分地破坏第一配置，并形成第二配置。因此，目标分析物160的捕获使氧化还原部位150相应地相对于电极130移动到第二位置。现

在当生物流体感测装置询问感测元件时,感测元件产生可与第一电信号区分的第二电信号。在纳秒、毫秒、秒或更长的时间间隔(“恢复间隔”)之后,适体释放目标分析物,并且适体将返回到第一配置,其将在感测元件被询问时产生相应的第一电信号。

[0038] 参考图2,描绘了配置为与EAB传感器一起使用的汗液感测装置2。该装置包括汗液不可渗透的基底270(例如,聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)或聚酰亚胺薄膜(Kapton)),其携带与皮肤12流体连通的微流体芯或通道280,并且用于将汗液样本运送穿过至少一个EAB传感器222、224和一个或多个次级传感器226。通过粘合剂层(未图示)将该装置放置在皮肤12上。粘合剂可以是压敏的、液体的、粘性的水凝胶,其促进与皮肤的稳固的电的、流体的和离子电渗入的接触。芯可以由例如纸、人造丝(Rayon)、纺织品、丝网印刷的亲水性纳米纤维素或其他合适的材料制成。在一些实施例中,芯可以替代地是从汗液不可渗透材料切割的微流体通道(未图示)。芯与泵230流体连通,这有利于汗液样本的芯吸流或渗透流流动到传感器、穿过传感器并离开传感器。泵230材料是水凝胶、织物、盐、干燥剂或其他合适的材料。该装置包括至少一个EAB传感器222、224和一个或多个次级传感器226。这种次级传感器226用于改进EAB传感器的分析,并且包括以下中的一个或多个:离子选择性电极传感器、参考电极、温度传感器、皮肤阻抗传感器、电容皮肤接近传感器、加速度计、体积汗液率传感器、汗液传导率传感器和电流皮肤响应传感器。

[0039] 虽然所公开的实施例对于存在于较高浓度的汗液中的某些分析物(例如皮质醇)可能是足够的,然而,以存在于低浓度的汗液中的分析物使EAB传感器提供可靠的连续感测的能力大大复杂化。潜在目标分析物的浓度范围从皮质醇的mM到其他激素的 μM ,到较大的蛋白质的pM甚至fM范围。当目标分析物浓度较低时,EAB传感器自然会有较少的捕获机会,需要更高的灵敏度以确保充分利用减少的捕获机会。

[0040] 因此,参考图3,描绘了允许用于具有EAB传感器的汗液感测装置的样本浓度的实施例。装置3包括不可渗透汗液的基底370,其承载浓缩通道380、至少一个EAB传感器322、浓缩膜390、泵330、可选的次级传感器324、可选的传感器后膜392、可选的传感器前膜394和可选的保护性覆盖物332。该装置通过粘合剂层(未图示)放置在皮肤12上。当汗液样本14进入装置并流入浓缩通道380时,水以及在一些情况下的非目标溶质被抽吸通过浓缩膜390,并进入泵330。这样的样本操作使目标分析物离开浓缩通道380,并且有效地相对于目标分析物浓缩汗液样本。

[0041] 浓缩膜是透析膜,或者是离子能够渗透而对小分子和蛋白质不能够渗透的渗透膜,或者可以是至少水能够渗透而目标分析物不能够渗透的膜。例如,具有12kDa分子量截止值的膜将保留高于12kDa的溶质,例如人血清白蛋白(其为66.5kDa)。泵330中的材料可以促进芯吸流或渗透流,并且是水凝胶、织物、盐、聚电解质溶液或干燥剂,例如 MgSO_4 。在一些实施例中,泵330具有比浓缩通道380显著更大的体积,以促进汗液样本的pH和盐度缓冲。取决于应用,目标分析物可以浓缩至比其在汗液中的初始浓度高至少10倍、100倍或1000倍。

[0042] 在一些实施例中,可选的传感器后膜392由与用于浓缩膜的类似材料类型制成,其配置成使小于目标分析物的流体和溶质通过,并使目标分析物进一步集中在进行测量的EAB传感器322附近。在其他实施例中,传感器后膜392可以简单地基本上减慢汗液样本通过通道的流动,以帮助样本浓缩。可选的传感器前膜394也由与用于浓缩膜的类似材料类型制成,在汗液样本到达EAB传感器322之前从汗液样本中过滤掉不需要的溶质,例如大于目标

分析物的分子。

[0043] 当足够数量的EAB感测元件捕获目标分析物分子时,将积极地指示目标分析物的检测,并且当被装置询问时产生捕获信号。表示汗液样本中存在目标所需的信号强度称为信号阈值。信号阈值将根据应用而变化,并且将被设置为实现期望的预测值,其平衡假阳性指示和假阴性指示。一些应用,例如筛查一般人群的心脏状况,可能需要非常低的假阳性指示,并且因此需要具有更高的信号阈值,表示分析物存在的更大确定性。其他应用,例如在高危人群中对铅暴露进行初步筛查,可能不需要如此高的确定性,并且可能使用较低的信号阈值。在其他情况下,例如,EAB感测元件可以具有相对弱地结合目标分析物的适体,或者特定的汗液样本可以具有挑战性的pH或盐度特征,或者目标分析物可以非常小。在这些情况的每种情况下,信号阈值需要相对高于所有其他因素相同的相反的情况。

[0044] 与在低浓度汗液中发现的分析物一样,与较大的分析物相比,使用EAB传感器检测小分子分析物相对更难。潜在目标分析物的尺寸范围从激素的约300Da到微RNA分子的约7kDa到较大蛋白质的约600kDa到最大蛋白质的约1000kDa。其他因素相同,选择捕获较小分子的适体将具有比较大分子更低的内在特异性,因为较小分子具有相对较少的独特键合位点配置。而且,适体通常会与较大分子形成更强的键,因为这些分子上可用的键合位点数量更多。因此,与较大分子相比,小分子与其互补适体形成固有的较不稳定的键。此外,倾向于改变粘合强度(例如,pH和盐度)的汗液样本组成变化通常对小分子传感器的影响大于它们在较大分子传感器上的影响。另外,因为较小的分子具有较少的键合位点,所以对于这样的传感器来说,低浓度检测的困难甚至更加明显。因此,较小分子的信号阈值或信噪比将相对较高,以确保已经发生分析物捕获事件。

[0045] 与作为感测介质的血液相比,汗液对于适体感测具有某些优点,主要是因为它是更稀释的,并且因此是电噪声更小的感测环境。对于适体来说,汗液也是一种不那么恶劣的环境,因为可以攻击和降解适体的酶较少。然而,汗液也带来了血液感测环境无法呈现的挑战。例如,血液是相对均匀的溶液,但是汗液在溶质浓度和分布方面变化较大。与适体传感器在血液中的经历相比,这种可变性与pH和盐度值的范围相关。汗液的pH和盐度变化性对使用EAB传感器进行连续分析物监测提出了重大挑战。

[0046] 通过适体选择、传感器/装置配置和生理学算法可以减轻汗液介质对EAB生物传感的挑战,这些算法考虑(1)目标分析物尺寸、(2)潜在浓度范围、(3)汗液样本pH和(4)汗液样本盐度的影响。这些因素是核心的EAB传感器特性的重要决定因素,例如灵敏度、选择性、线性范围和恢复时间。

[0047] 作为第一顺序考虑,目标分析物尺寸可以极大地影响EAB传感器性能,尤其是与pH和盐度变化性组合。如上所述,适体通常会与较大分子形成更强的键,因为这些分子上可用的键合位点数量更多。该效应可能不适用于显著大于适体的分子,因为较大的分子可能需要适体经历显著的构象改变以实现键合,从而降低自由能增益并降低键合的自发性。因此,适体选择过程需要考虑适体对于较大与较小目标分子的固有键合强度。

[0048] 类似地,分析物尺寸也将影响EAB传感器恢复时间,这将影响装置的序时保证。作为参考,参见PCT/US2014/061098,其通过引用整体并入本文。例如,由于相对少量的键合位点,配置成检测小分子的适体感测元件将倾向于具有更短的恢复时间(几秒或更快),随着分析物浓度降低,该效果增强。因此,小分子EAB传感器在感测事件之间需要很少或没有恢

复时间或传感器再生。相比之下,对于大分子EAB传感器,适体和目标分子之间增加的键合强度将倾向于导致更长的传感器恢复时间,其可以达到小时范围或更长。亲水性/疏水性也会影响适体感测元件的恢复时间。例如,如果在适体的疏水腔中键合,则具有净疏水特性的分子将不太可能从适体中释放。因此,为了达到按时间确定的汗液采样率,不仅装置会考虑出汗率和出汗量,还必须考虑EAB传感器所需的恢复时间。幸运的是,大多数蛋白质(大分子)浓度在体内变化非常缓慢,并且在多个小时范围内的汗液采样间隔对于大多数应用是可接受的。

[0049] 对于那些需要较短采样间隔的应用,可能需要某种形式的传感器再生。例如,EAB再生可以通过将加热部件放置在传感器附近来实现,这将导致目标分析物从适体分离并返回溶液。另一种再生装置包括将流体引入EAB传感器,例如通过含有中性pH流体的小体积流体贮存器。流体贮存器可以位于EAB传感器的上游,并且当需要时,汗液传感器装置可以打开微流体阀以释放流体,其将通过芯吸压力被拉过适体感测元件,从而导致分析物从适体释放并返回溶液。

[0050] 其次,目标分析物的汗液样本浓度范围将影响EAB感测应用。当目标分析物浓度较低时,EAB自然地具有较少的捕获机会,需要更高的灵敏度以确保充分利用减少的捕获机会。因此,适体选择必须倾向于对低浓度分析物更高的灵敏度。此外,由于较小的分子具有较少的键合位点,低浓度的影响对于这些分析物更明显,并且适体传感器可能不具有对小的低浓度分析物起作用的亲和力。

[0051] 虽然分析物的尺寸和浓度将极大地影响EAB性能,但汗液样本环境的pH和盐度变化必须单独考虑,并且还必须告知分析物尺寸和浓度的影响。由于pH变化的相对尺寸-盐度范围从10到100mM ($\approx 4X$),而pH范围从4.5到7.0 ($\approx 300X$)-pH通常是更有影响的因素。pH主要通过产生指示分析物捕获的电信号的氧化还原部位的活性潜力影响EAB传感器性能。pH还通过指示分析物和适体内的氢键位点的质子化程度来影响适体和分析物的键合特性。使用较低pH的汗液样本(溶液中的 H^+ 更多),可以在适体和分析物之间建立更少的可能氢键,因为来自溶液的更多 H^+ 离子将填充开放的键合位点。较低的pH也会降低溶液中离子的迁移率,因此汗液样本中的较大分子更难以向EAB传感器移动。因此,例如,通过使用在预期的pH范围内具有稳定的氧化还原电位的氧化还原部位、适体选择、或通过控制EAB传感器附近的汗液样本的pH,就能减轻汗液pH的变化。

[0052] 盐度通过随机小分子键合影响EAB传感器性能。当EAB存在流体样本时,适体上的一定数量的键合位点将与溶液中的随机离子(例如, H^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+)键合。这些随机键合事件通过改变适体的分析物捕获特征以及展开和折叠的适体的结构来影响EAB性能。随机键合倾向于通过占据应与目标分析物键合的一些键合位点来抑制分析物捕获,使得适体与目标分析物的键较少,并且当捕获分析物时导致较弱的键。

[0053] 随机键合也改变EAB结构的形状。当适体未与目标分析物键合时,氧化还原分子处于相对于金电极的第一位置,并且当捕获目标分析物时,氧化还原分子移动到相对于电极的第二位置。随机键合事件改变氧化还原对的第一位置,从而改变由适体感测元件产生的起始信号。此外,当捕获目标分析物时,随机键合的小分子也会改变适体的折叠特性,导致适体折叠到没有随机键合离子的不同的第二位置。结果,其键合和未键合状态下时,由适体感测元件产生的信号差异可以相对较小、或者甚至可以以化合价逆转(reverse in

valence)。此外,高盐度汗液样本可能导致适体感测元件经历盐析,这是由于盐度导致较大蛋白质从溶液中脱落的状态。因此,必须针对由随机键合的小分子和盐析引起的适体污染校正EAB的捕获信号。

[0054] 例如,配置有用于目标分析物的EAB传感器的汗液感测装置可以从记录分析物捕获事件的适体感测元件的数量导出分析物浓度,分析物捕获事件是由传感器阵列产生的电信号的强度推断的。然而,在存在低pH汗液的情况下,随机键合事件将改变适体感测元件的折叠结构,从而减少阵列的电响应。如果不进行校正,这种降低的电响应将被解释为较低的分析物浓度。由于不能在响应适体感测元件的数量和由那些适体感测元件所经历的折叠程度之间进行电气地区分,因此可能需要校正pH和盐度以使用EAB传感器正确地解释分析物浓度。由随机键合事件引起的所需折叠结构变化难以预测地确定,因此在不同pH和盐度环境中的适体行为通常将通过实验得出。

[0055] 虽然单个适体对pH、盐度或其他因素的变化反应难以预测,但可以说明这种效应的类型和规模。参考图4,图示了pH变化对EAB卡那霉素传感器输出的影响。类似汗液的溶液掺杂有浓度增加的卡那霉素,这降低了溶液的pH。配置为检测卡那霉素的EAB传感器在溶液中显示出约0.45 μ A至约0.32mM卡那霉素的一致电流响应。然而,增加卡那霉素浓度首先会将电流输出提升至在1.25mM时达到0.6 μ A的峰值,并且然后对于高于10mM的浓度,输出降低至小于0.1 μ A。如果没有对pH进行校正,汗液感测装置可能会错误地将这些增加或减少的输出电流解释为指示分析物浓度。

[0056] 参考图5,进一步用pH表示卡那霉素EAB传感器输出的这种变化。如上图所示,只要pH在4.5保持恒定,传感器输出就保持相当稳定。然而,从约0.5mM的卡那霉素开始,pH和传感器输出开始增加,直到达到约4.8pH的峰值。然后,随着pH继续向7增加,EAB传感器输出急剧下降,直到输出电流低于0.1 μ A。如上述示例所示,pH可显著影响EAB传感器的有效范围。卡那霉素传感器显示出对浓度高于0.62mM的快速降解反应。盐度的增加可能同样影响EAB传感器的有用范围。然而,盐度主要作用于适体本身,而不是氧化还原部位,并且由于汗液中盐度变化的较小范围,预期对传感器响应的影响较小。

[0057] 如图所示,pH可对传感器输出电流产生显著影响。大多数观察到的pH对卡那霉素传感器的影响可归因于亚甲基蓝氧化还原部位,其作为其氧化还原反应的一部分经历质子转移。该反应的电位高度依赖于pH。由于汗液pH自然可以在4.5和7.0之间变化,因此其对EAB传感器的影响应通过氧化还原部位选择、适体选择和/或生理算法设计来解释。在2016年10月3日提交的美国临时申请号62/403,341中公开了pH非依赖性氧化还原部位的选择,其在此以其整体并入本文。

[0058] 除氧化还原部位选择外,EAB传感器的开发应考虑通过适体选择对pH和盐度的潜在影响。通过适体选择领域中已知的各种方法,主要是通过指数富集的配基系统进化(Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment,SELEX)技术,选择用于键合目标分析物的适体以可靠地检测浓度值的有意义的微小变化,并具有对超过汗液样本中目标分析物的预期范围的浓度变化的线性响应。有时,特定适体可能无法在整个预期分析物浓度范围内提供线性响应,并且因此可选择多个适体以覆盖浓度范围。还选择适体与目标分子的亲和力,以便可靠地捕获分子,使EAB具有所需的选择性和特异性,但目标不会如此紧密地结合以至于EAB具有缓慢的再生特性,其倾向于较低的序时保证的采样率。在

一些情况下,选择用于特定分析物或应用的适体可能与其他分子具有显著的交叉选择性,例如选择来捕获促黄体激素(“LH”)的适体也可捕获促卵泡激素(“FSH”)。为了改善性能,可以选择多个适体用于LH,每个适体具有与FSH不同的交叉选择性,允许装置校正FSH对LH测量的贡献。

[0059] 进行适体选择以解释汗液样本pH和盐度变化的一种方法是在汗液状基质中进行SELEX或其他合适的方法。或者,适体选择的标准可以是汗液中对于预期的pH和盐度值范围的最佳EAB传感器性能,或适体选择可以解释在挑战性 or 最坏情况的pH和盐度条件下的EAB传感器性能。还应考虑适体对特定分析物和预计浓度范围的性能特征。此外,传感器的可能用例,例如运动应用的高出汗率,往往具有较低的盐度/较高的pH,也应该被表征,因为在低pH下选择用于最佳性能的适体可能在较高的pH汗液中具有改变的性能。

[0060] 除了明智的适体选择之外,EAB传感器可以配置为在表征应用和/或目标分析物的特定汗液感测环境中提供改进的性能。例如,一些目标分析物可以具有宽的浓度范围,因此可以使用多个适体感测元件,每个感测元件被选择为在浓度范围的一部分中的具有最佳性能。为了优化低浓度分析物的检测,EAB传感器可以进行电磁屏蔽,以减少电噪声的影响,从而使EAB传感器能够提高灵敏度。

[0061] 进一步参考图3,所描绘的实施例包括旨在减轻汗液介质中的pH和盐度变化的若干特征。所公开的发明的一些实施例可以使用浓缩膜390和泵330以在与一个或多个EAB传感器222接触时将汗液样本保持在一定pH或盐度水平。使用泵330中的适当材料,例如具有比汗液样本更高pH的聚电解质溶液可以调节通道380内的汗液样本pH。其他溶液(例如,具有非常低NaCl含量的水凝胶)可以根据需要降低汗液样本的盐度。一些实施例可以以用于pH缓冲的一种汲取溶液和用于盐度缓冲的单独汲取溶液为特征。在其他实施例中,通道380本身包含围绕EAB传感器222的中性pH或盐水流体,以实现最佳感测的条件。

[0062] 通过使用预过滤器394作为微流体过滤系统可以保护一个或多个EAB传感器222免受酶的影响,所述微流体过滤系统允许分子在目标分析物的尺寸范围内自由通过,并阻断酶尺寸范围的分子。可选地,可以通过选择左手定向适体来改善EAB传感器的鲁棒性,EAB传感器将较少遭受由于酶(例如RNA酶和DNA酶)而导致的降解。预过滤器394还可以通过从样本中除去它们来保护EAB传感器免受乙醇和其他醇的影响。

[0063] 对汗液样本的各种其他效果也可以通过使用用于浓缩膜、传感器后膜和传感器前膜的补充材料来实现。例如,一个膜可以是阴离子交换膜,例如,改性的聚(二氮杂萘酮砜酮(phthalazinon ether sulfone ketone)),另一个可以是阳离子交换膜,例如,全氟磺酸或聚(乙烯醇)-SiO₂,或膜可以全部是具有不同质量截止值的透析膜。一些实施例可以过滤掉汗液样本的内容物以允许短寿命分析物在汗液中存活并到达EAB传感器,例如,加压素检测可以受益于设计用于保持分析物在汗液中的过滤配置。这种过滤配置可以从汗液样本中除去竞争分子,例如,可以除去雌二醇以改善雌激素检测。其他过滤技术,例如基于电荷的过滤、疏水性、亲水性、疏脂性、亲脂性等,也可用于保护适体或目标分析物,以改善特定分析物或应用环境的EAB传感器性能。一些实施例可以包括用于每个EAB传感器的一个或多个预过滤器,从而可以为每个EAB传感器定制汗液样本。其他实施例包括多个预过滤器,以允许汗液样本分阶段过滤。

[0064] 可以校准EAB传感器以在具有不同盐度和pH的汗液样本中操作。作为这种校准过

程的第一步, EAB传感器性能的特征在于汗液样本盐度和pH的预期范围。例如, 性能表征至少包括在暴露于预期的目标分析物浓度范围时评估EAB传感器的电流输出。然后, EAB传感器的各种浓度水平的电流输出将在整个预期的盐度范围(10到100mM)和pH范围(4.5到7.0)内重复。在性能表征期间盐度和pH之间的关系可以反映在体内发现的预期相关性, 并且还可以包括所使用的适体的显著性能基准, 例如最佳(或最坏情况)pH和盐度。一旦EAB传感器的性能充分表征了预期的pH和盐度范围, 传感器的输出可以通过测量汗液样本的盐度和pH, 并应用适当的校正因子进行算法校正。使用放置在EAB传感器附近的离子选择性电极传感器可以容易地测量汗液样本盐度, 并且类似地, 可以通过放置在每个EAB传感器附近的pH传感器测量pH。

[0065] 这是对所公开的发明以及实施所公开的发明的优选方法的描述, 然而本发明本身应仅由所附权利要求限定。

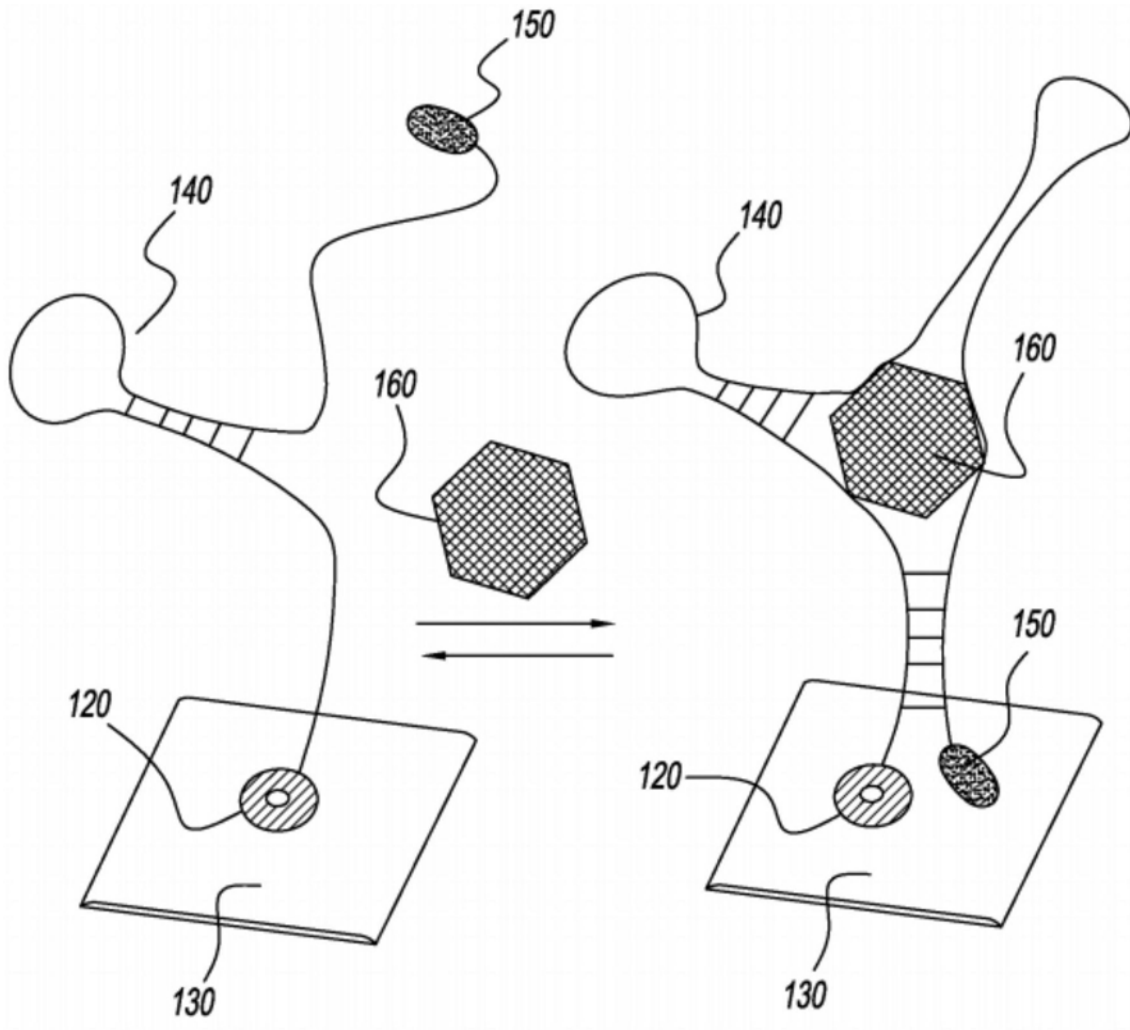


图 1A

图 1B

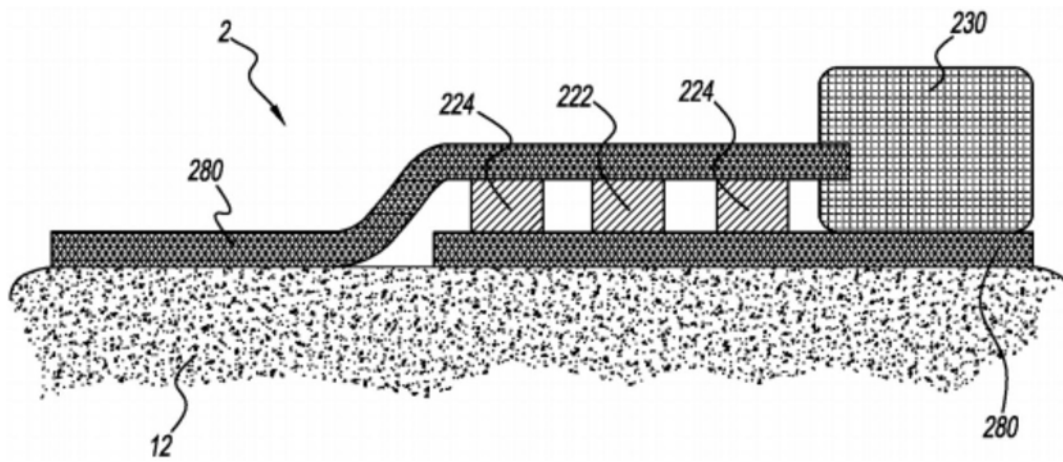


图2

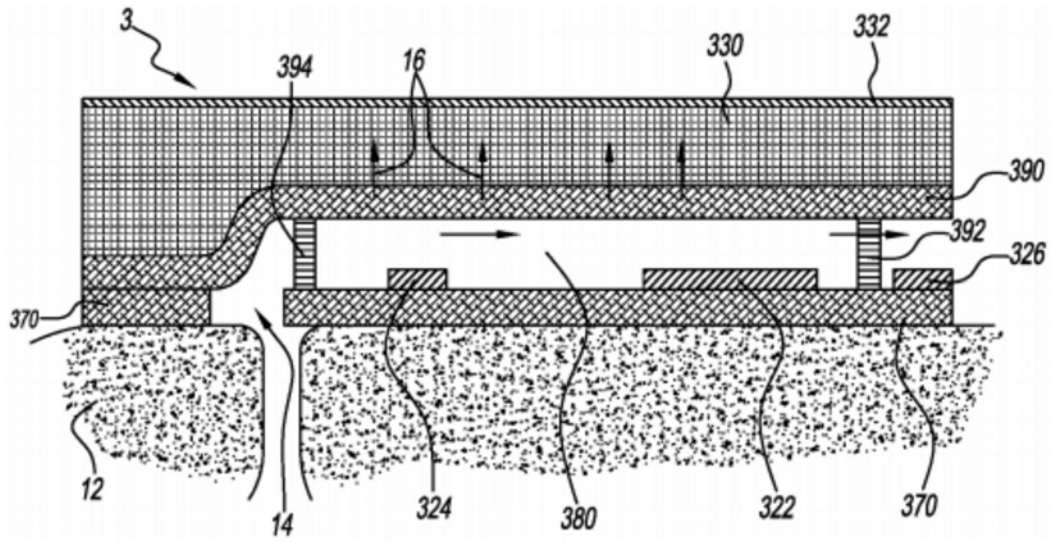


图3

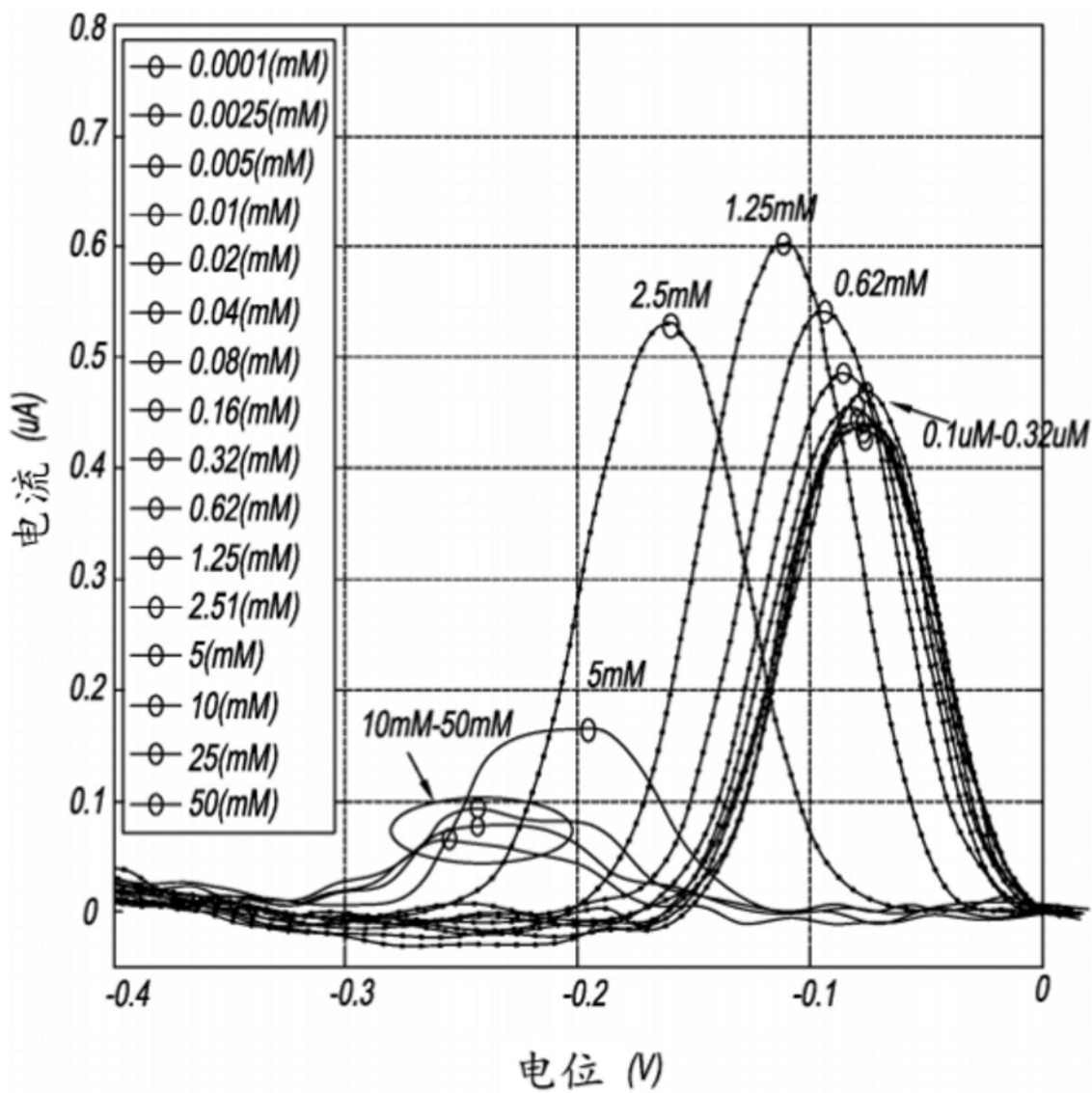


图4

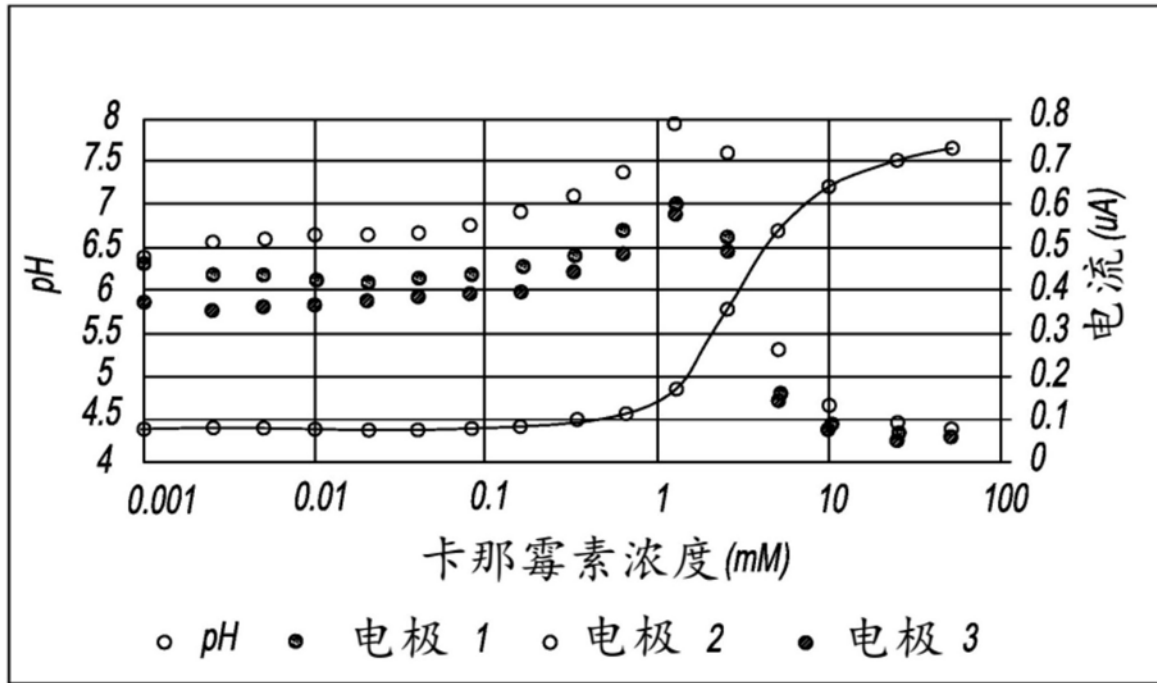


图5

专利名称(译)	用于检测汗液分析物的EAB生物传感器		
公开(公告)号	CN109068998A	公开(公告)日	2018-12-21
申请号	CN201780025345.4	申请日	2017-03-21
[标]发明人	雅各布 A 伯特兰 加维贝格特鲁普 利拉萨法扎德哈吉吉 詹森海根菲德		
发明人	雅各布·A·伯特兰 加维·贝格特鲁普 利拉·萨法扎德·哈吉吉 詹森·海根菲德		
IPC分类号	A61B5/00 A61B5/145 A61B5/05 C12Q1/68		
CPC分类号	A61B5/4266 C12Q1/6825 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/54366 C12Q2525/205 C12Q2527/119		
代理人(译)	刘培培		
优先权	62/327420 2016-04-25 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

通过考虑了(1)目标分析物尺寸、(2)潜在浓度范围、(3)汗液样本pH和(4)汗液样本盐度的影响的适体选择、传感器/装置配置和生理算法可以减轻汗液介质对EAB生物传感的挑战。所公开的发明包括用于EAB传感器的适体选择方法，该EAB传感器配置用于可穿戴汗液感测装置。所公开的发明还提供了一种汗液感测装置，所述汗液感测装置配置成使用EAB传感器来检测汗液样本中的目标分析物。

