



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102105790 A

(43) 申请公布日 2011.06.22

(21) 申请号 200980126745.X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009.07.10

G01N 33/537(2006.01)

(30) 优先权数据

61/129,688 2008.07.11 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011.01.10

(86) PCT申请的申请数据

PCT/IB2009/006688 2009.07.10

(87) PCT申请的公布数据

WO2010/004436 EN 2010.01.14

(71) 申请人 环球生物医疗感测器私人有限公司

地址 澳大利亚维多利亚罗维尔企业大道 1 号 3178

(72) 发明人 普莱特·丹尼斯 哈吉斯·亚拉戴尔

(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司 44245

代理人 陈燕娴

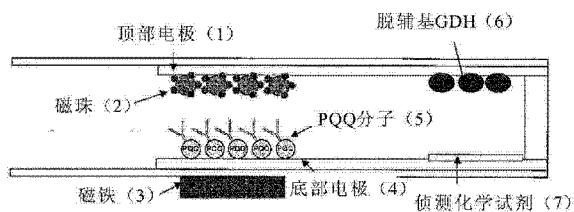
权利要求书 3 页 说明书 20 页 附图 4 页

(54) 发明名称

增强之免疫测定传感器

(57) 摘要

本发明揭示用于侦测标的分析物存在于流体样本中之装置。该生物传感器装置可包含至少一反应室及一侦测室。该装置可包含放大机构以存在于该流体样本中之标的分析物分子可导致多重侦测剂分子之产生 / 活化及因此放大之信号。本发明亦揭示制造及使用该生物传感器装置之方法。



1. 一种用于侦测流体样本中之标的分析物之装置,该装置包含:
反应室,其中该反应室包含内部表面、结合剂及探针剂,该探针剂包含结合伴及载体,其中该结合伴系与该载体结合,其中于该流体样本中之标的分析物可与该结合剂或该结合伴反应;
侦测室;及
介于该反应室与侦测室之间之流体通道,
其中该装置系适于经由毛细作用将该经反应之流体样本从该反应室经该流体通道移动至该侦测室,且
其中该标的分析物以一浓度存在于该流体样本中导致伴随该经反应之流体样本移动至该侦测室之探针剂之量改变,其中该改变可于该侦测室中侦测且取决于至少该浓度之阈值。
2. 如申请专利范围第 1 项之装置,该装置进一步包含填充室,其中该填充室包含内部表面。
3. 如申请专利范围第 1 或 2 项之装置,其中该内部表面包含内壁。
4. 如申请专利范围第 1 或 2 项之装置,其中该内部表面包含至少一支持材料之表面。
5. 如申请专利范围第 1 或 2 项之装置,其中该反应室包含接通大气之开口。
6. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该反应室包含阻断剂,其中该阻断剂能防止蛋白质或脂质颗粒与该反应室之内部表面之非专一性结合。
7. 如申请专利范围第 2 项之装置,其中该填充室包含阻断剂,其中该阻断剂能防止蛋白质或脂质颗粒与该填充室之内部表面之非专一性结合。
8. 如申请专利范围第 6 或 7 项之装置,其中该阻断剂包含选自界面活性剂或阻断蛋白质之至少一者。
9. 如申请专利范围第 8 项之装置,其中该阻断蛋白质包含牛血清白蛋白。
10. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该结合剂及该探针剂系与该反应室之不同内部表面结合。
11. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该结合剂包含至少一种磁珠。
12. 如申请专利范围第 11 项之装置,该装置进一步包含用于限制该反应室中之结合剂之磁场。
13. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该载体包含至少一份活化剂。
14. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该载体包含约 10 至约 100000 份之活化剂。
15. 如申请专利范围第 13 或 14 项之装置,其中该活化剂系封装于该载体内。
16. 如申请专利范围第 15 项之装置,其中该载体包含至少一种脂质颗粒。
17. 如申请专利范围第 13 或 14 项之装置,其中该活化剂系与该载体结合。
18. 如申请专利范围第 17 项之装置,其中该载体包含至少一种聚合物。
19. 如申请专利范围第 18 项之装置,其中该聚合物系树枝状聚合物。
20. 如申请专利范围第 13 或 14 项之装置,其中未活化剂系固定于该反应室中,其中该未活化剂可与未经结合或未经封装之活化剂结合。
21. 如申请专利范围第 20 项之装置,其中该未活化剂包含至少一种磁珠。
22. 如申请专利范围第 13 或 14 项之装置,其中该侦测室包含释放剂,其中该释放剂可

将该活化剂自该载体释放。

23. 如申请专利范围第 22 项之装置,其中该释放剂包含至少一种选自温和清洁剂、裂解肽、酶、加热、冷却、超音波作用或与纳入该载体中之光化学活化裂解剂组合之光源之剂。

24. 如申请专利范围第 23 项之装置,其中该温和清洁剂包含选自正辛基 -B-D- 哌喃葡萄糖苷、聚山梨醇酯 20、聚氧乙烯月桂醚 35(brij 35) 或曲拉通 X-100(triton X-100) 之清洁剂。

25. 如申请专利范围第 23 项之装置,其中该裂解肽包含选自蜂毒肽、磷脂酶类型之一或补体系统之成分之肽。

26. 如申请专利范围第 23 项之装置,其中该酶包含选自蛋白酶或胰蛋白酶之酶。

27. 如申请专利范围第 13 或 14 项之装置,其中该活化剂包含酶之辅助因子。

28. 如申请专利范围第 27 项之装置,其中该侦测室包含可被该辅助因子活化之脱辅基酶。

29. 如申请专利范围第 27 项之装置,其中该酶包含葡萄糖氧化酶。

30. 如申请专利范围第 29 项之装置,其中该辅助因子包含黄素腺嘌呤二核苷酸。

31. 如申请专利范围第 30 项之装置,其中该侦测室包含脱辅基葡萄糖氧化酶。

32. 如申请专利范围第 27 项之装置,其中该酶包含葡萄糖去氢酶。

33. 如申请专利范围第 32 项之装置,其中该辅助因子包含吡咯并喹啉醌。

34. 如申请专利范围第 33 项之装置,其中该侦测室包含脱辅基葡萄糖去氢酶。

35. 如申请专利范围第 32 项之装置,其中该辅助因子包含黄素腺嘌呤二核苷酸。

36. 如申请专利范围第 27 项之装置,其中该侦测室另包含酶受质。

37. 如申请专利范围第 36 项之装置,其中该酶受质包含可氧化之受质。

38. 如申请专利范围第 37 项之装置,其中该可氧化之受质包含选自半乳糖、麦芽糖、木糖或乙酸之受质。

39. 如申请专利范围第 37 项之装置,其中该酶受质包含葡萄糖。

40. 如申请专利范围第 27 项之装置,其中该侦测室另包含至少一种媒介物。

41. 如申请专利范围第 40 项之装置,其中该媒介物包含一种选自二氯酚靛酚、吩嗪乙基硫酸酯、铁氰化物、二环戊二烯亚铁、或过渡金属与含氮杂原子体之复合物之物质。

42. 如申请专利范围第 27 项之装置,其中该装置另包含能调整该样本之 pH 之缓冲剂。

43. 如申请专利范围第 42 项之装置,其中该缓冲剂包含选自磷酸盐、柠檬酸盐、柠檬酸盐、苯六甲酸盐、三羟甲基胺基甲烷 (tris)、哌嗪二乙磺酸 (pipes)、2-(N- 吗啉代) 丙磺酸 (mops)、羟乙基呱嗪乙烷磺酸 (hepes)、酞酸盐或咪唑之物质。

44. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该探针剂之结合伴系适于与该结合剂结合。

45. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该探针剂之结合伴系适于与该标的分析物结合。

46. 如申请专利范围第 45 项之装置,其中该标的分析物系与该结合剂结合。

47. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中在该侦测室之远程有一通气孔。

48. 如申请专利范围第 47 项之装置,其中藉由刺穿该装置之外层可打开该通气孔。

49. 如申请专利范围第 47 项之装置,其中藉由移除该装置之外层之一部分可打开该通气孔。

50. 如申请专利范围第 1 项之装置,其中该侦测室包含至少二个用于侦测该侦测室中之电化学反应之电极。

51. 如申请专利范围第 50 项之装置,其中至少一个电极系自导电层形成,且进一步其中在该导电层中有一裂隙,该裂隙系用于界定该侦测室中之该电极之至少一边缘。

52. 如申请专利范围第 50 项之装置,其中至少一个电极包含钨、铂、金、铌、碳、与结合剂混合之碳、氧化钨、氧化锡或彼等之混合物。

53. 如申请专利范围第 50 项之装置,其中该侦测室中之探针剂之量之变化可藉由侦测室中之电化学反应侦测。

54. 一种侦测流体样本中之标的分析物之方法,该方法包含:

递送该流体样本至装置,其中该装置包含反应室及侦测室,该反应室包含结合剂与探针剂,该探针剂包含结合剂及载体;

令该结合剂与探针剂之反应于该反应室内进行,其中该标的分析物以一浓度存在于该流体样本中导致于该反应室内结合之探针剂之量及未结合之探针剂之量的改变,其中该改变系取决于该标的分析物之浓度;

藉由毛细作用将该经反应之样本流体自该反应室移动至该侦测室以使该未结合之探针剂移动至该侦测室;及

经由侦测剂侦测该探针剂存在于该侦测室中。

55. 如申请专利范围第 54 项之方法,该递送该样本至该装置包含将该样本经由该装置之填充室递送至该反应室。

56. 如申请专利范围第 55 项之方法,其中递送该样本流体至该填充室包含毛细作用。

57. 如申请专利范围第 54 项之方法,其中该侦测剂包含脱辅基酶。

58. 如申请专利范围第 54 项之方法,其中该载体包含至少一份活化剂,其中一份该活化剂可活化至少一份侦测剂。

59. 如申请专利范围第 54 项之方法,其中将该样本自该反应室移动至该侦测室包含打开通气孔。

60. 如申请专利范围第 54 项之方法,该方法另包含定量从该侦测室接收之电子信号,其中该电子信号之幅度系取决于该样本流体中之标的分析物之浓度。

增强之免疫测定传感器

技术领域

[0001] 相关申请案及参照纳入

本申请案主张美国临时申请案序号 61/129,688 (标题「增强之免疫测定传感器」,2008 年 7 月 11 日提出申请,代理人案号 0089500-008PR0)的优先权。本申请案主张为美国申请案序号 11/284,097 (标题「生物传感器装置及使用方法」,2005 年 11 月 21 日提出申请,代理人案号 0089500-004US0)之部分连续申请案的优先权,该美国申请案序号 11/284,097 又主张为美国申请案序号 10/105,050 (「直接免疫传感器测定」,2002 年 3 月 21 日提出,代理人案号 0089500-002US0)及 10/830,841 (标题「免疫传感器」,2004 年 4 月 22 日提出申请,代理人案号 0089500-001US1)之部分连续申请案的优先权。所有前述申请案皆以参考方式分别整体纳入本文。

[0002] 美国申请案序号 11/284,097 于 2006 年 6 月 22 日以公开号 US 2006/0134713 予以公布。美国申请案序号 10/105,050 于 2003 年 9 月 25 日以公开号 US 2003/0180814 予以公布。美国申请案序号 10/830,841 于 2004 年 10 月 14 日以公开号 US 2004/0203137 予以公布。

[0003] 下列参考文献分别以参考方式整体纳入:(1) EPO 0300628;(2) JP 7227298;(3) US 4622294;(4) US 2006226008;(5) US 2007131549;(6) W002012885;(7) W00240058A2;(8) W00207635;(9) W002082078;(10) W0 02082078;(11) W0 03097863;(12) W0 03101427;(13) W004041774;(14) W0 05000902;(15) W005116654;(16) W0 06035431;(17) W01992003730;(18) W02000062351;(19) W02004046717;(20) W0 2006046524;(21) W0 2006096619;(22) W0 2006127167;(23) W0 9203730;(24) W0 9203730A1;(25) W0 9820332;(26) W0 96024062;(27) W0 98004743;(28) W0 99010743;及(29) Thomas R. DeCory, Richard A. Durst, Scott J. Zimmerman, Linda A. Garringer, Gary Paluca, Heleen H. DeCory, and Richard A. Montagna. "Development of an Immunomagnetic Bead-Immunoliposome Fluorescence Assay for Rapid Detection of Escherichia coli O157:H7 in Aqueous Samples and Comparison of the Assay with a Standard Microbiological Method." Appl. Environ Microbiol. 2005, 71:1856-1864。所有前述参考文献皆以参照方式分别整体纳入此处。

背景技术

[0004] 习知之生物学传感器(包括免疫测定基底系统)已被用于报告广泛种类分析物之存在及/或浓度。免疫测定通常被分成两大类:竞争测定及三明治测定。在竞争测定中,测试样本中之抗原系与抗原探针复合体(通常被称为报告物复合体)混合且该混合物接着竞争与抗体之结合。在三明治免疫测定中,测试样本中之抗原与抗体结合,然后第二个抗体-探针复合体与该抗原结合。在该些习知技艺之测定方法中,通常需要一或多次清洗步骤。该清洗步骤可造成该测定程序之复杂性,且能可产生具生物危险性之液体废弃物。

[0005] 免疫测定通常提供使用者得到定性结果(例如「是/否之结果」),最常见系利用

简单目测法(例如颜色改变),或定量结果诸如抗原之浓度。大部分之定量方法关系到昂贵之设备诸如闪烁计数器(用于监测放射活性)、光谱仪、荧光光谱仪(参见例如美国专利号 5, 156, 972)、表面电浆共振仪(参见例如美国专利号 5, 965, 456)及该类似物。因此发展并不昂贵且简单使用之免疫测定以适用于家庭或实地用途系具有好处的。该生物传感器较佳系不需要离心、稀释、量吸、清洗或计时步骤,且将产生最少量之废弃物。

发明内容

[0006] 本发明之一些实施态样包含一种用于侦测流体样本中之标的分析物之装置,该装置包含:反应室,其中该反应室包含内部表面、结合剂及探针剂,该探针剂包含结合伴及载体,其中该结合伴系与该载体结合,其中于该流体样本中之标的分析物可与该结合剂或该结合伴反应;侦测室;及介于该反应室与侦测室之间之流体信道,其中该装置系适于经由毛细作用将该经反应之流体样本从该反应室经该流体通道移动至该侦测室,且其中该标的分析物以一浓度存在于该流体样本中导致伴随该经反应之流体样本移动至该侦测室之探针剂之量改变,其中该改变可于该侦测室中侦测且取决于至少该浓度之阈值。该装置可进一步包含填充室,其中该填充室包含内部表面。该反应室及该填充室之内部表面可包含内壁,及/或至少一支持材料之表面。该反应室可包含接通大气之开口。

[0007] 该反应室及/或该填充室可包含阻断剂,其中该阻断剂能防止蛋白质或脂质颗粒与该反应室之内部表面之非专一性结合。该脂质颗粒可包含脂质体、囊胞、细胞胞器及该类似物。该阻断剂可包含选自界面活性剂或阻断蛋白质之至少一者。该阻断蛋白质可包含牛血清白蛋白。

[0008] 该结合剂分子及该探针剂分子可与该反应室之不同内部表面结合。

[0009] 该结合剂可包含至少一种磁珠。该装置可包含用于限制该反应室中被涂覆在磁珠上之结合剂之磁场。

[0010] 该探针剂分子之载体可包含至少一份活化剂。该载体可包含约 10 至约 100000 份之活化剂。该活化剂可被封装于载体内,该载体可包含至少一种脂质颗粒。脂质颗粒可包含脂质体、囊胞、细胞胞器及该类似物。该活化剂可与该载体以表面结合,该载体可包含至少一种聚合物。该聚合物可包含树枝状聚合物。

[0011] 该探针剂之结合伴可适于与该结合剂或该标的分析物结合,该标的分析物系与该结合剂结合或不与该结合剂结合。

[0012] 该反应室可包含固定于该反应室中之未活化剂,其中该未活化剂可与未经结合或未经封装之活化剂结合。该未活化剂可包含至少一种磁珠,且可藉由磁场被限制在该反应室内。

[0013] 该填充室及/或该反应室可包含缓冲剂,该缓冲剂能调整该流体样本之 pH。该缓冲剂可包含选自磷酸盐、柠檬酸盐、柠檬酸盐、苯六甲酸盐、三羟甲基胺基甲烷(tris)、哌嗪二乙磺酸(pipes)、2-(N-吗啉代)丙磺酸(mops)、羟乙基呱嗪乙烷磺酸(hepes)、酞酸盐或咪唑之物质。

[0014] 该侦测室可包含释放剂,其中该释放剂可将该活化剂自该载体释放。该释放剂可包含至少一种选自温和清洁剂、裂解肽、酶、加热、冷却、超音波作用或与纳入该载体中之光化学活化裂解剂组合之光源之剂。该温和清洁剂可包含选自正辛基-B-D-哌喃葡萄糖苷、

聚山梨醇酯 20、聚氧乙烯月桂醚 35 (brij 35)或曲拉通 X-100 (triton X-100)之清洁剂。该裂解肽可包含选自蜂毒肽、磷脂酶类型之一或补体系统之成分之肽。该酶包含选自蛋白酶或胰蛋白酶之酶。该释放剂可包含物理方式,诸如举例来说冷却、加热、超音波作用,或物理及化学方式之组合,诸如举例来说由指向传感器中之光源所起之光化学反应。

[0015] 该活化剂可包含酶之辅助因子。该侦测室可包含可被该辅助因子活化之脱辅基酶。该酶可包含葡萄糖氧化酶。该辅助因子 / 脱辅基酶对可包含黄素腺嘌呤二核苷酸及脱辅基葡萄糖氧化酶。该酶可包含葡萄糖去氢酶。该辅助因子 / 脱辅基酶对可包含吡咯并喹啉醌(PQQ)及脱辅基葡萄糖去氢酶(GDH)。该侦测室可另包含酶受质。该酶受质可包含可氧化之受质。该可氧化之受质可包含选自半乳糖、麦芽糖、木糖或乙酸之受质。该酶受质可包含葡萄糖。该侦测室可另包含至少一种媒介物。该媒介物可包含至少一种选自二氯酚靛酚、吩嗪乙基硫酸酯、铁氰化物、二环戊二烯亚铁、或过渡金属与含氮杂原子体之复合物之物质。

[0016] 该侦测室之远程可包含一通气孔。藉由贯穿该装置之外层,或藉由移除该装置之外层之一部分可打开该通气孔。

[0017] 该侦测室可包含至少二个用于侦测该侦测室中之电化学反应之电极。至少一个该电极可自导电层形成。该侦测室之导电层中可包含一裂隙,该裂隙可用于界定该侦测室中之该电极之至少一边缘。至少一个该电极可包含钯、铂、金、铱、碳、与结合剂混合之碳、氧化钨、氧化锡或彼等之混合物。该侦测室中之探针剂之量之变化可藉由侦测室中之电化学反应侦测。

[0018] 本发明之一些实施态样包含一种侦测流体样本中之标的分析物之方法,该方法包含:递送该流体样本至装置,其中该装置包含反应室及侦测室,该反应室包含结合剂与探针剂,该探针剂包含结合伴及载体;令该结合剂与探针剂之反应于该反应室内进行,其中该标的分析物以一浓度存在于该流体样本中导致于该反应室内结合之探针剂之量及未结合之探针剂之量的改变,其中该改变系取决于该标的分析物之浓度;藉由毛细作用将该经反应之样本流体自该反应室移动至该侦测室以使该未结合之探针剂移动至该侦测室;及经由侦测剂侦测该探针剂存在于该侦测室中。该样本可藉毛细作用经由该装置之填充室递送至该装置。该侦测剂可包含脱辅基酶。该载体可包含至少一份活化剂,其中一份该活化剂可活化至少一份侦测剂。将该样本自该反应室移动至该侦测室可包含打开通气孔。该侦测可包含定量从该侦测室接收之电子信号,其中该电子信号之幅度可取决于该样本流体中之标的分析物之浓度。

[0019] 【图式简单说明】

图 1A 说明示范性 U 型生物传感器。部分 8 系该反应及该侦测可发生之处;

图 1B 说明示范性树型生物传感器。部分 8 系该反应及该侦测可发生之处;

图 2 系此处所揭示之生物传感器之一实施态样之上视图;

图 3 系图 2 之生物传感器沿线 2-2 的横断面图;

图 4 系此处所揭示之生物传感器的另一实施态样之上视图;

图 5A 系图 4 之生物传感器沿线 4A-4A 的横断面图;

图 5B 系图 4 之生物传感器沿线 4B-4B 的横断面图;

图 5C 系图 4 之生物传感器沿线 4C-4C 的横断面图;及

图 5D 系图 4 之生物传感器沿线 4D-4D 的横断面图；

图 6 系此处所揭示之生物传感器的另一实施态样之上视图；

图 7 系图 4 或 6 之生物传感器的横断面图，以说明该化学物之位置。

[0020]

【实施方式】

本发明之详细说明

以下详细讨论各种示范性实施态样，包括一较佳之实施态样。虽然讨论特定之实施方式，应了解该讨论仅供说明目的。该相关领域之技艺人士可知悉此处所提供之系统、方法及特征可被使用而不背离本发明之精神及范围。另外，任何及所有此处所引述之参考文献应以参照方式被纳入此处。

[0021] 葡萄糖去氢酶 (GDH) 是一种吡咯并喹啉醌 (PQQ)，其可包含二种商业上可取得之含有及不含其 PQQ 辅助因子之重组形式的细菌性酶。

[0022] 在一示范性实施态样中，生物传感器可包含电化学细胞，该电化学细胞使用能测量每分钟 1 微安培变化之恒电位器，因此预估被添加至全血之 1 微克 / 毫升 GDH 可利用预先在该室内干燥之含有铁氰化钾的葡萄糖溶液而被电化学侦测。铁氰化钾可作为从该受质传送电子至该电极之媒介物。若在该生物传感器之该室中亦可额外干燥第二种媒介物，诸如可使该转移过程更为有效之吩嗪乙基硫酸酯 (PES)，使用该相同之恒电位器能可靠地侦测低至 50 奈克 / 毫升之 GDH。

[0023] 在一示范性实施态样中，若 GDH 能以同时维持该抗体之结合活性及该 GDH 之活性的方式与抗体偶合，接着使用如上述之电化学侦测系统，可侦测 50 奈克 / 毫升之与 GDH 大小相同之抗原，或以莫耳表示之 500 皮莫耳。对许多抗原而言，例如 C 反应蛋白及 D 二聚物，这能有效地被用来测量该些抗原在示范性病患族群中之全范围浓度。

[0024] 然而，也有许多抗原之有效临床范围可低于前述范围。该些抗原包括例如许多细胞介素、荷尔蒙诸如甲状腺刺激素 (TSH) 及心肌梗塞标记诸如肌钙蛋白 I 及 Pro BNP。在示范性实施态样中，该些抗原可以极低之浓度存在，例如 1 至 10 皮莫耳或次皮莫耳之范围。

[0025] 在一示范性实施态样中，本发明可提供一种能快速侦测该些较低量之抗原之方法。该方法可使用与美国申请案序号 11/284,097 类似之型式，但可将该型式与该细菌性 GDH 酶之二种额外特性组合。在示范性实施态样中，首先需要的是辅助因子 PQQ 之活性，第二是该未活化之脱辅基酶可在正常之 pH 条件下与 PQQ 再组合以形成安定之活性酶。

[0026]

机构

如上所述，本实施态样可被应用至可弃式或非可弃式生物医学长条或感测装置，该长条或装置可经由诸如举例来说结合反应而被用于报告广泛种类之分析物的存在及 / 或浓度。此处所使用之结合反应系指任何涉及至少两种物种结合在一起之反应。该反应可包含竞争结合测定、取代结合测定、双抗体三明治测定或该类似测定。

[0027] 仅为方便之目的，该生物传感器如何运作之机构系描述为具有两室 (一反应室及一侦测室) 之生物传感器，该生物传感器可被用于侦测流体样本中之标的抗原之存在及 / 或浓度。应了解的是，这仅是为了说明之目的，而非企图限制本发明之范围。

[0028] 该生物传感器之反应室可包含拮抗该标的抗原之抗体。该抗体可被固定于该反

应室内。该反应室可包含能与该固定抗体及 / 或该标的抗原结合之探针剂分子。因为该标的抗原存在于该流体样本中而未与该固定抗体结合之该探针剂分子可随着该流体样本移动至该侦测室。每个探针剂分子可包含多份活化剂。该侦测室可包含能被该活化剂活化之侦测剂分子。该经活化之侦测剂可产生信号, 该信号可在侦测室中被测量, 且该结果可定性及 / 或定量显示该流体样本中该标的抗原之存在及 / 或浓度。该反应室及侦测室可经安排以使该流体样本可以受控制之方式自该反应室流至该侦测室中。

[0029] 流体样本可进入该反应室, 其中该流体样本之成分可进行免疫反应。举例来说, 一标的抗原可与一固定之抗体及 / 或一探针剂分子结合。当该免疫反应于该反应室中发生之后, 至少若干探针剂分子可伴随该经反应之流体样本被转移至该侦测室。流入该侦测室中之该探针剂分子之量可取决于该流体样本中该标的抗原之存在及 / 或浓度。一探针剂分子可包含多份活化剂。若一活化剂分子可活化一侦测剂分子且产生一单位之信号, 那么流入该侦测室中之该探针剂分子可产生多单位之信号。这可增加该测定之敏感性及 / 或正确性及 / 或速率。该信号可经过测量及处理以产生显示该标的抗原之存在及 / 或浓度之结果。

[0030] 在一示范性实施态样中, 该结合反应可发生在任何二个彼此结合之物种之间。该探针剂可为任何可在该侦测室中导致可侦测之信号产生之剂。

[0031] 为了帮助了解特定示范性实施态样, 一示范例使用包含抗体之结合剂、包含可与该结合剂结合之抗原的标的分析物及包含抗原之探针剂, 该抗原可与该结合剂结合但其结合亲和性相较于该标的分析物为低。该抗体可藉由涂覆在磁珠上且该磁珠受磁场限制在该反应室中而被固定。该探针剂可包含经封装之吡咯并喹啉醌(PQQ) 葡萄糖去氢酶(GDH) 之酶辅助因子。该辅助因子可于该侦测室中与该脱辅基 GDH 酶组合, 该组合可导致电子信号之产生。若经封装之颗粒包含例如 100 或更多个 PQQ 分子, 且每个 PQQ 分子皆可结合及活化 1 个脱辅基 GDH 分子, 那么抑制单一个抗体-PQQ-脂质体与该磁珠结合可导致活化 100 或更多个 GDH 分子。以此方式, 若每个脂质体举例来说含有 100 个 PQQ 分子, 则可侦测举例来说低至 5 皮莫耳之抗原, 或若各含有 1000 个 PQQ 分子则可侦测 500 飞莫耳之抗原。

[0032] 然而应清楚明白的是, (1) 该结合剂及 / 或该标的分析物及 / 或该探针剂可为举例来说任何能互相结合之物种, (2) 该探针剂可为举例来说任何能在该侦测室中导致可侦测信号之剂, 其中该探针剂可在该侦测室中活化多重信号产生剂分子, 及 (3) 该信号侦测方法可为任何适当之方法, 诸如电化学法及 / 或光吸收法及 / 或荧光法。

[0033]

生物传感器

该装置可包含一室, 其中该反应及该侦测可在该相同之室中发生。该装置可包含两室, 一反应室及一侦测室。该装置可包含多于两室。仅供举例说明, 该装置除了该反应室及该侦测室之外可包含一填充室。该装置可包含一反应室及两侦测室, 以使超过一个之信号可在一测定中基于该相同或不同之侦测机构而被侦测。该信号可经由诸如举例来说平均之方式加以处理, 以增进该结果之正确性。显示不同参数之信号可于一测定中被侦测。仅供举例说明, 与心血管疾病有关之不同发炎细胞介素可于一测定中同时被测量, 如此可提供更为正确地预测及 / 或监测该疾病之状态。如果该装置含有两或多室, 任何成对之该两室可为互相直接流体相通。此处所使用之「直接」系指该成对之两室可连续连接及 / 或可直接交换流体, 不需经过第三室。若干室可平行连接及 / 或可经第三室交换流体。成对之两室之

间可具有流体信道,该流体样本可经该信道从一室流至另一室。通过该流体通道之流动可藉由诸如举例来说毛细作用、气压、外力或该类似物或任何彼等之组合之力平衡加以控制。

[0034] 该生物传感器可具有诸如举例来说大致呈V型(如图1A所示)、树状构型(如图1B所示)、矩形构型(如图2至7所示)或该类似之形状。在图1A及B中,部分8可为该反应室及/或侦测室所在之处。

[0035] 图2系生物传感器之示范性例证。传感器20可包含反应室22、侦测室28及介于该室22及28之间的样本信道38。通气孔30可位于该侦测室28之远程。反应室22可包含在该反应室22之近端24且在传感器20之边缘37上的入口25。接触区域66可位于传感器20之一端,且可电连接该传感器至量计(未显示)。反应室22可包含可接通至大气之通气孔26,因此能让被流体样本移置之空气逸散。流体样本可被吸入至反应室22直到该反应室被填满至该反应室之通气孔26,该填充可随之停止。该反应室22之体积系经选择以至少等于且较佳地大于该侦测室28之体积。

[0036] 图3系图2之生物传感器沿线2-2的横断面图。该传感器20之中层36具有一界定反应室22及侦测室28之侧壁的孔径。中层36被包夹于一或多个额外层32、34之间,该额外层32及34具有仅对应反应室22之孔径。在侦测室28方面,层32及34可界定该室之端壁60、62(意即顶及底表面)。该侦测室之端壁60及62包含电极54及52,该电极54及52可经连接工具电连接至测量电路。反应室22可包含被固定在一内部表面上之结合剂分子44,及在相对内部表面上之探针剂分子50。侦测室28可包含电极54及52、涂覆在至少一内部表面上之试剂诸如酶受质64,及该室远程之通气孔30。该外层42及46沿传感器20之纵向延伸,且一开始未经贯穿。层46之一部分可于56被移除以打开该通气孔30。通气孔56可以多种方式打开,包括例如贯穿该装置之外层、移除该装置之外层之一部分,及/或撕开该装置之一部分。

[0037] 图4系生物传感器120之另一实施态样的上视图。传感器120可包含填充室107、反应室122及侦测室128。该三室在该流体沟通上系呈连续连接。刮痕106可位于靠近该侦测室128之近端。通气孔130可位于该侦测室128之远程。电接触区域101、102及103可电连接该传感器至量计。

[0038] 图5A系图4之生物传感器沿线4A-4A的横断面图。填充室107可藉由移除下层134及间隔层136之区段但保留完整的上层132及密封层142以形成。密封层142可与层134之外表黏合,且加上层134及136之切除区段之侧边与层132可用于形成能藉由毛细作用将样本吸入其中之毛细通道。

[0039] 图5B系图4之生物传感器沿线4B-4B的横断面图。通气孔130可藉由移除上层132(或下层134)之区段或刺穿上层132(或下层134)以被纳入侦测室128中。层146可被迭合至该长条之上表面以密封该开口。或者,若下层134之一部份被移除,密封层142可被贯穿/移除以打开通气孔30。

[0040] 图5C系图4之生物传感器沿线4C-4C的横断面图。在该上及下层132、134上之导电膜的部份提供电极152、154以进行电化学反应。密封层142可被黏合至层134之外表。未被层142覆盖之层134底表面之部份可提供电接触区域,该区域可电连接该传感器至量计。反应室122及侦测室128可藉由移除间隔层136之部份但保留完整的上132及下层134以形成。

[0041] 图 5D 系图 4 之生物传感器沿线 4D-4D 的横断面图。填充室 107 可藉由移除下层 134 及间隔层 136 之区段但保留完整的上层 132 及密封层 142 以形成。密封层 142 可与层 134 之外表黏合。反应室 122 可藉由移除间隔层 136 之区段但保留完整的上层 132 及下层 134 而加以界定。接触区域 103 可藉由移除下层 134 及间隔层 136 之区段形成,以使上层 132 之导电表面被暴露。

[0042] 图 6 系生物传感器之示范性实施态样。该传感器可包含填充室(1)、反应室(2)及侦测室(3)。该三室在该流体沟通上系呈连续连接。刮痕(4)可位于靠近该侦测室(3)之近端。通气孔(5)可位于该侦测室(3)之远程。该生物传感器可包含相对电极(6)。

[0043] 图 7 系图 4 或 6 之生物传感器的横断面图,以说明该化学之位置。该反应室可包含被固定在该上方内部表面上之结合剂分子,及在该底部内部表面上之探针剂分子。该顶部内部表面可为顶部电极(1),该顶部电极可延伸至该侦测室内。该底部内部表面可包含底部电极(4),该底部电极可延伸至该侦测室内。该结合剂可包含抗原,该抗原可被涂覆在磁珠(2)上。该磁珠可藉由在该传感器底部之磁铁(3)被限制在该反应室内。该探针剂可包含封装于脂质体内之 PQQ 分子(5)及结合伴。该侦测室可包含在该顶部内部表面上之脱辅基 GDH (6) 及在该底部内部表面上之其它侦测化学试剂(7)。

[0044] 使用该生物传感器之测定可使用少于约 100 毫升、或少于约 50 毫升、或少于约 20 毫升、或少于约 10 毫升、或少于约 5 毫升、或少于约 3 毫升、或少于约 2 毫升、或少于约 1 毫升、或少于约 500 微升、或少于约 200 微升、或少于约 100 微升、或少于约 50 微升、或少于约 10 微升、或少于约 1 微升、或少于约 0.5 微升、或少于约 0.3 微升、或少于约 0.1 微升之流体样本。

[0045] 该生物传感器可包含至少一个反应室。该反应室可具有近端及远程。流体样本可自该近端进入该反应室,且可自该远程经由流体通道离开该反应室及 / 或流入该侦测室。

[0046] 该反应室可包含至少一壁,该壁可界定该反应室之外部及 / 或内部。该反应室之至少一壁可包含物质,诸如举例来说聚酯、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚烯、聚对苯二甲酸乙二酯、或彼等之混合物。该反应室之至少一壁可包含填料,诸如举例来说二氧化钛、碳、硅石、玻璃及彼等之混合物。

[0047] 该反应室可包含具有体积之内部空间,至少部分之内部空间为该流体样本可到达的。该体积可为少于约 100 毫升、或少于约 50 毫升、或少于约 20 毫升、或少于约 10 毫升、或少于约 5 毫升、或少于约 3 毫升、或少于约 2 毫升、或少于约 1 毫升、或少于约 500 微升、或少于约 200 微升、或少于约 100 微升、或少于约 50 微升、或少于约 10 微升、或少于约 1 微升、或少于约 0.5 微升、或少于约 0.3 微升、或少于约 0.1 微升。该反应室之内部空间可包含正方形、矩形、环形、卵形、三角形、菱形、梯形或该类似之横断面形状。横断面可垂直该流体样本在该反应室内整体流动之方向。该横断面之大小及 / 或形状可沿着该整体流动之方向呈现一致。该横断面可沿着该整体流动之方向呈现变化。仅供举例说明,该横断面可沿着该整体流动之方向渐缩。

[0048] 该反应室可包含毛细距离 h_1 。该毛细距离系指该反应室及 / 或其横断面之尺寸,该尺寸能决定对该流体样本之毛细张力的幅度。该毛细距离可为该反应室之内部空间的最小尺寸。该毛细张力之幅度可与该毛细距离呈负相关。该毛细距离可为少于约 1 公分、或少于约 5 毫米、或少于约 2 毫米、或少于约 1 毫米、或少于约 500 微米、或少于约 200 微米、

或少于约 100 微米、或少于约 50 微米。若该生物传感器系由能产生外力以将该流体样本转移至该装置之不同室之间或之中的使用者及 / 或器具所使用, 该装置及 / 或彼之室可包含更大尺寸。仅供举例说明, 该装置可包含少于约 100 公分、或少于约 50 公分、或少于约 20 公分、或少于约 10 公分、或少于约 5 公分、或少于约 1 公分之特征长度。此处所使用之特征长度系指能将该反应室之整个横断面表面包围之最小环的直径。

[0049] 该反应室之内部空间可包含至少一内部表面。该(等)内部表面可包含内壁, 该 / 该等内壁可界定该反应室之内部空间的横断面形状及 / 或体积。该(等)内壁可包含但不限于固体材料、纤维材料、大孔材料、粉状材料或该类似物或任何彼等之组合。该(等)内部表面可包含在该反应室内至少一独立支持之该 / 该等内部表面。适当之支持可包含但不限于固体材料、网状材料、纤维材料、孔状材料、粉状材料或珠状材料或彼等之混合物。该网状材料可包含例如聚合物诸如聚烯、聚酯、尼龙、纤维素、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚砜、或彼等之混合物。该纤维材料可包含例如聚合物诸如聚烯、聚酯、尼龙、纤维素、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚砜、或彼等之混合物。该孔状材料可包含例如烧结粉末、或大孔膜。该大孔膜可包含例如聚合物材料诸如聚砜、聚偏二氟乙烯、尼龙、乙酸纤维素、聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、或彼等之混合物。该珠状材料可被选择以提供试剂诸如举例来说结合剂适当之支持。适当之珠可包含该些由挪威奥斯陆戴诺生物科技(Dynal Biotech)所贩卖之 DYNABEADS. RTM。该珠可包含例如磁珠。该支持可具有至少一项下列优点。首先, 其可增加该反应室内该试剂诸如举例来说结合剂、探针剂可接触, 及 / 或该结合反应可发生之表面积。此可减少该反应时间及 / 或非所欲过程(例如污染、结块等)发生之机会。第二, 其藉由减少该反应室之毛细距离可增加对该流体样本之毛细张力。该反应室可包含接通至大气之通气孔, 因此能让被该样本移置之空气逸散。该流体样本可被吸入至反应室直到该反应室被填满至该反应室之通气孔, 该填充可随之停止。该侦测室之体积可经选择以大约等于且较佳地小于该反应室之体积。该侦测室之体积可为该反应室体积之约 100%、或约 95%、或约 90%、或约 85%、或约 80%、或约 75%、或约 70%、或约 60%、或小于约 50%。

[0050] 该反应室可包含结合剂及探针剂。该结合剂及探针剂之相对量可被选择以使该结合剂相较于该探针剂稍微过量。在本文中, 稍微过量可被定义为当与该流体样本中所欲侦测之标的分析物的量比较时, 该过量系少的。举例来说, 该过量可包含少于约 40%、或少于约 30%、或少于约 25%、或少于约 20%、或少于约 15%、或少于约 10%、或少于约 5%、或少于约 3%、或少于约 2%、或少于约 1% 之预期该流体样本中该标的分析物之平均量。可预估举例来说具有及 / 或不具标的病理状况之感兴趣族群之该标的分析物之平均量。

[0051] 该结合剂可被固定在该反应室内之至少一内部表面上, 以使该结合剂及在反应期间与该结合剂结合之物种可在测定期间留在该反应室中。该探针剂可被支持在该反应室内之至少一内部表面上。未与该固定之结合剂分子直接或间接结合之探针剂分子可随该流体样本移动至该侦测室。此处所使用之「直接」系指该探针剂之部分与该结合剂分子之部份结合, 例如结合部位; 然而「间接」系指该探针剂与其它剂结合, 例如与该固定之结合剂直接或间接结合之该标的分析物。

[0052] 该结合剂可藉化学键被吸附或以其它方式固定在该反应室之至少一内部表面上。该结合剂可被涂覆在微珠上, 该微珠在测定期间可被限制在该反应室中。仅供举例说明, 该微珠可为磁珠, 且该生物传感器可包含磁场以将具有结合剂涂层之磁珠限制在该反

应室中。举例来说,在该反应室下方之磁铁可防止磁珠及任何可与该磁珠直接或间接结合之物种转移,诸如涂覆在该磁珠上之结合剂及与该结合剂分子结合之探针剂分子。因此在示范性实施态样中,未与该磁珠结合之探针剂分子可在该侦测室中被测量。举例来说,该流体样本中标的分析物之量及 / 或浓度可与可被释放至该侦测室中之该探针剂的量 / 浓度有关。

[0053] 该探针剂可包含结合伴及载体。该结合伴可与该载体之表面结合。该载体可包含至少一份活化剂。该结合伴可帮助探针剂分子与固定之结合剂分子、或未与固定之结合剂分子结合之游离标的分析物、或与固定之结合剂分子结合之标的分析物结合。该至少一份活化剂可为表面涂覆在该载体上或封装于该载体内。

[0054] 该探针剂分子可被支持在该反应室之至少一内部表面上。该反应室之内部表面及涂覆该探针剂分子之方法可经选择以使该探针剂分子与该内部表面之间只存在微弱键结。如此当该内部表面被该样本弄湿时,该探针剂分子可被释放至该样本中。该探针剂分子从该内部表面溶解之速率可经选择以使得在该样本充满该反应室所需之时间内所发生之溶解量最小。以此方式,该探针剂分子在充满后可均匀地遍布在该反应室之区域。支持该探针剂之内部表面可与固定该结合剂分子之表面相同或不同。

[0055] 在一些实施态样中,在流体样本充满该反应室且溶解该探针剂分子之前,该探针剂分子可与该结合剂分子分开及 / 或不与该结合剂分子结合。在一些实施态样中,在被该反应室中之流体样本溶解之后,该探针剂分子可与固定之剂分子结合,但是结合亲和性相较于该标的分析物为低以形成竞争测定。该探针剂分子经由其结合伴与固定之结合剂分子之结合亲和性较低可因为至少一项下列因素。首先,探针剂分子相较于该标的分析物可具有较大之体积,这是因为载体连接至该探针剂分子之结合伴,及 / 或该结合伴本身之体积大于该标的分析物。第二,该探针剂分子之结合伴可为该标的分析物经化学或其它方式修饰之版本以使该探针剂分子可透过该结合伴而与该固定之结合剂分子结合,但结合亲和性较低。该探针剂分子之内部结合动力学亦可来自于该探针剂分子到达该固定之结合剂分子所需之时间相较于该流体样本中之标的分析物为长,因为该探针剂分子必须先被该流体样本溶解,及 / 或因为其体积大于该标的分析物因此在该流体样本中移动较慢之故。以此方式,该流体样本中之标的分析物的量 / 浓度可与释放至侦测室之该探针剂的量 / 浓度呈正相关,其中该探针剂可经定性及 / 或定量测量。在其它实施态样中,当探针剂分子在反应室中被流体样本溶解之后,该探针剂分子可与该标的分析物结合且形成三明治测定或竞争结合测定。当探针剂分子可在标的分析物与经固定之结合剂分子结合之后与该标的分析物结合,可形成三明治测定。以此方式,该流体样本中之标的分析物的量 / 浓度可与释放至侦测室之该探针剂的量 / 浓度呈负相关,其中该探针剂可经定性及 / 或定量测量。若探针剂分子在被反应室中之流体样本溶解后可与游离之标的分析物以相较于其与固定之结合剂分子结合更高之结合亲和性结合,可形成竞争结合测定。此处所使用之游离标的分析物系指未与固定之结合剂分子结合之标的分析物。以此方式,该流体样本中之标的分析物的量 / 浓度可与释放至侦测室之该探针剂的量 / 浓度呈正相关,其中该探针剂可经定性及 / 或定量测量。

[0056] 在一些实施态样中,该探针剂分子可在该生物传感器制造时及 / 或在使用该生物传感器测试流体样本之前被结合至固定之结合剂分子。该探针剂分子之结合伴可包含伪

分析物、经修饰之分析物或该类似物。此处所使用之伪分析物可包含可与该固定之结合剂分子结合但不若标的分析物强之物。仅供举例说明,若该标的分析物系人蛋白质,则适当之伪分析物可包含动物版本之该相同蛋白质,诸如犬蛋白质或猪蛋白质。经修饰之分析物可包含经化学或其它方式修饰以使对该结合剂分子之结合亲和性降低之物。该探针剂分子经由该结合伴对该固定之结合剂分子之结合亲和性相较于该标的分析物之结合亲和性可更低。探针剂分子经由其结合伴对固定之结合剂分子较低之结合亲和性可因为至少一项下列原因。首先,探针剂分子相较于该标的分析物可具有较大之体积,这是因为载体连接至该探针剂分子之结合伴,及/或该结合伴本身之体积较大。第二,该探针剂分子之结合伴可为该标的分析物经化学或其它方式修饰之版本或不同版本(例如动物版本之人分析物)以使该探针剂分子可透过该结合伴而与该固定之结合剂分子结合,但结合亲和性较低。当探针剂分子在反应室中被流体样本溶解之后,该探针剂分子因为结合亲和性较低故可被标的分析物从该结合剂分子上取代。以此方式,该流体样本中之标的分析物的量/浓度可与被取代及释放至侦测室之该探针剂分子的量/浓度呈正相关,其中该探针剂分子可经定性及/或定量测量。

[0057] 探针剂分子可包含载体。在一些实施态样中,该载体可包含至少一标示分子,诸如举例来说放射性同位素、发色团、或荧光团。该载体可包含至少约 10 个标示分子、或至少约 50 个标示分子、或至少约 100 个标示分子、或至少约 200 个标示分子、或至少约 500 个标示分子、或至少约 1,000 个标示分子、或至少约 5,000 个标示分子、或至少约 10,000 个标示分子、或至少约 50,000 个标示分子、或至少约 100,000 个标示分子。该(等)标示分子可被涂覆在该载体之表面上,或封装于该载体内。该载体可包含脂质颗粒。该(等)标示分子可被封装于该脂质颗粒内。该脂质颗粒可包含一选自脂质体、囊泡、细胞胞器及该类似物之颗粒。该载体可包含聚合物。该活化剂分子可与该聚合物之表面结合。该聚合物可包含树枝状聚合物或该类似物。

[0058] 在其它实施态样中,该载体可包含至少一份活化剂。该载体可包含复数份之活化剂。该载体可包含至少约 5 份、或至少约 10 份、或至少约 50 份、或至少约 100 份、或至少约 200 份、或至少约 500 份、或至少约 1,000 份、或至少约 5,000 份、或至少约 10,000 份、或至少约 50,000 份、或至少约 100,000 份之活化剂。该活化剂分子可被涂覆在该载体之表面上,或封装于该载体内。该载体可包含脂质颗粒。该活化剂分子可被封装于该脂质颗粒内。该脂质颗粒可包含一选自脂质体、囊泡、细胞胞器及该类似物之颗粒。该载体可包含聚合物。该活化剂分子可与该聚合物之表面结合。该聚合物可包含树枝状聚合物或该类似物。

[0059] 活化剂分子可活化侦测室中之侦测剂分子以使信号可被产生及侦测。仅供举例说明,该侦测剂可包含酶,且该活化剂可包含可活化该酶之辅助因子。在一更具体之实施例中,该侦测剂可包含脱辅基酶,且该活化剂可包含该对应之辅助因子。该脱辅基酶及辅助因子对可包含脱辅基葡萄糖氧化酶及黄素腺嘌呤二核苷酸。该脱辅基酶及辅助因子对可包含脱辅基葡萄糖去氢酶及 PQQ。

[0060] 该反应室可包含除了该结合剂及该探针剂之外之其它剂,诸如举例来说阻断剂、未活化剂或任何彼等之组合。

[0061] 该阻断剂可阻断剂与该固定之结合剂、该探针剂及/或该反应室之内部表面之非专一性结合。该剂可包含至少一存在于该流体样本中欲被测试之剂,诸如举例来说蛋白

质或脂质颗粒。该脂质颗粒可为至少一选自脂质体、囊泡、细胞胞器及该类似物之颗粒。该阻断剂可包含至少一选自阻断蛋白质及界面活性剂之剂。该阻断蛋白质可包含例如牛血清蛋白质。非离子型界面活性剂亦可被用来作为该剂,例如由美国宾州费城罗门哈斯公司制造之曲拉通 X-100,或由德拉瓦州威明顿 ICI Americas 公司制造之 TWEEN。在一些实施态样中,该经选择之非离子型界面活性剂不使蛋白质变性。该阻断剂可被涂覆在该反应室之任何内部表面之上,包含该结合剂分子所固定之处,及 / 或该探针剂分子被支持之处,及 / 或该结合剂分子或该探针剂分子均未涂覆之处。该阻断剂及与彼等结合之剂可在测试期间被限制于该反应室中。这可藉由任何结合剂分子可藉以被固定在该反应室中之方法达成。仅供举例说明,该结合剂可被吸附在该反应室之孔状内部表面之上。

[0062] 该未活化剂可与未经结合或未经封装之活化剂结合。这可防止未经结合或未经封装之活化剂以不依赖该标的分析物存在于该流体样本中之方式移动至该侦测室且活化侦测剂,这将破坏测试之正确性及 / 或有效性。此处所使用之「未经结合」或「未经封装」系指当该载体(及该探针剂)位于该反应室之内时及 / 或该载体(及该探针剂)随着该经反应之流体样本移动至该侦测室之前,未与该载体结合、未封装于该载体内或未以其它方式为该载体所不可或缺。这可来自在制造、储存或特定条件(诸如 pH、温度等)下之测试期间变得渗漏、或断裂或脱附活化剂分子之该探针剂之载体。该未活化剂可包含任何可与该未经结合或未经封装之活化剂结合之剂。举例来说,若该活化剂包含可与脱辅基酶结合之辅助因子,该未活化剂可包含该脱辅基酶。该未活化剂分子可被固定于该反应室之内部表面上。因此,与彼等结合之该活化剂分子可在测试期间被限制在该反应室中。这可减少以不依赖该流体样本中该标的分析物之存在及 / 或量的方式而可移动至该侦测室之未经结合或未经封装的活化剂分子之量。该未活化剂分子可藉由任何结合剂分子可藉以被固定在该反应室中之方法被固定。仅供举例说明,该未活化剂分子可藉由将彼等与磁珠结合而被固定在该反应室内,且该磁珠可藉由磁场被限制在该反应室内。

[0063] 该反应室可包含缓冲剂,该缓冲剂能在例如该反应室中调整该流体样本之 pH。该缓冲剂可在制造及 / 或储存期间安定该反应室中之至少一试剂。该缓冲剂可包含选自磷酸盐、柠檬酸盐、柠檬酸盐、苯六甲酸盐、三羟甲基胺基甲烷(tris)、哌嗪二乙磺酸(pipes)、2-(N-吗啉代)丙磺酸(mops)、羟乙基哌嗪乙烷磺酸(hepes)、酞酸盐或咪唑之物质。

[0064] 该反应室中之反应可花费约 0.1 秒至约 60 分钟、或约 1 秒至约 30 分钟、或约 10 秒至约 25 分钟、或约 20 秒至约 20 分钟、或约 30 秒至约 15 分钟、或约 1 分钟至约 10 分钟、或约 2 分钟至约 8 分钟、或约 3 分钟至约 5 分钟。

[0065] 该装置可包含至少一侦测室。该侦测室可具有近端及远程。待流体样本完成在该反应室内之反应之后,自该反应室之远程离开该反应室的该经反应之流体样本可经由该样本信道自该侦测室之近端进入该侦测室。该侦测室可经配置以使其可以依赖该转移至该侦测室之探针剂分子的存在及 / 或量之方式侦测在该侦测室中所产生的信号。

[0066] 该侦测室可包含至少一壁,该壁可界定该侦测室之外部及 / 或内部。该侦测室之至少一壁可包含填料。该侦测室之至少一壁及填料之设计可与该反应室类似。

[0067] 该侦测室可包含具有体积之内部空间,至少部分之内部空间为该流体样本可到达的。该体积可为少于约 100 毫升、或少于约 50 毫升、或少于约 20 毫升、或少于约 10 毫升、

或少于约 5 毫升、或少于约 3 毫升、或少于约 2 毫升、或少于约 1 毫升、或少于约 500 微升、或少于约 200 微升、或少于约 100 微升、或少于约 50 微升、或少于约 10 微升、或少于约 1 微升、或少于约 0.5 微升、或少于约 0.3 微升、或少于约 0.1 微升。该侦测室之内部空间可包含正方形、矩形、环形、卵形、三角形、菱形、梯形或该类似之横断面形状。横断面可垂直该流体样本在该侦测室内整体流动之方向。该横断面之大小及 / 或形状可沿着该整体流动之方向呈现一致。该横断面可沿着该整体流动之方向呈现变化。仅供举例说明, 该横断面可沿着该整体流动之方向渐缩。

[0068] 该侦测室可包含毛细距离 h_2 。该毛细张力之幅度可与该毛细距离呈负相关。该毛细距离可为少于约 1 公分、或少于约 5 毫米、或少于约 2 毫米、或少于约 1 毫米、或少于约 500 微米、或少于约 200 微米、或少于约 100 微米、或少于约 50 微米。该侦测室之毛细距离 h_2 可小于该反应室之毛细距离 h_1 。若该生物传感器系由能产生外力以将该流体样本转移至该装置之不同室之间或之中的使用者及 / 或器具所使用, 该装置及 / 或彼之室可包含更大尺寸。此处所使用之外力不包括由使用者所产生以打开侦测室之通气孔之力。仅供举例说明, 该装置可包含少于约 100 公分、或少于约 50 公分、或少于约 20 公分、或少于约 10 公分、或少于约 5 公分、或少于约 1 公分之特征长度。此处所使用之特征长度系指能将该侦测室之整个横断面表面包围之最小环的直径。

[0069] 该侦测室之内部空间可包含至少一内部表面。该(等)内部表面可包含内壁, 该 / 该等内壁可界定该侦测室之内部空间的横断面形状及 / 或体积。该(等)内部表面可包含在该侦测室内至少一独立支持之该 / 该等内部表面。该侦测室之内壁及 / 或独立支持可与该反应室类似。

[0070] 该侦测室可包含可接通至大气之通气孔。该通气孔可位于该侦测室之远程。示范性构型系如图 2 之通气孔 30 及图 4 之通气孔 130 所示。该通气孔刚开始可被关闭。如此, 当该反应室在填充流体样本时, 至该侦测室之样本信道可被困在该侦测室内之空气所产生的气压阻挡。该气压可实质地防止该流体样本填充该侦测室。从该样本第一次接触至该侦测室之样本信道直到该样本接触该样本信道之远程的该段时间内, 小量之样本可进入该侦测室。当该样本已使至侦测室之样本信道完全潮湿时, 可停止填充该侦测室。该反应室之体积可经选择以至少等于且较佳地大于该侦测室之体积。藉由打开该侦测室至大气之通气孔, 样本可被转移以填充该侦测室。该通气孔可藉由诸如举例来说贯穿该装置, 及 / 或移除外层, 及 / 或撕开该装置之部分(意即沿着穿孔撕开)以打开。仅供举例说明, 该通气孔可利用由使用者控制之针或连接至该装置之量计中之螺线管打开。打开该通气孔可让被该样本移置及困在该侦测室内之空气逸散, 因此可降低该防止该流体样本填充该侦测室之气压。该装置可经配置以使该侦测室中对该流体样本之毛细张力高于存在于该反应室中之毛细张力。该增加之毛细张力可藉由适当涂覆该反应室及该侦测室之内部表面, 及 / 或藉由选择该侦测室之毛细距离 h_2 小于该反应室之毛细距离 h_1 而予以提供。如此, 该流体样本仅藉由打开该通气孔即可被吸入该侦测室中, 而不需要任何其它由使用者或由外部装置诸如举例来说帮浦或针筒所产生之外力。在其它实施态样中, 该(经反应之)流体样本填充该侦测室可被由使用者或外部装置诸如举例来说帮浦、针筒或任何彼等之组合所产生之外力控制。外力亦可被提供以作为除了毛细张力之外自该反应室移动该流体样本至该侦测室之补强力。此处所使用之外力不包括由使用者所产生以藉由例如刺穿以打开侦测室之通气孔

之力。

[0071] 该探针剂分子可随该经反应之流体样本转移至该侦测室。该探针剂分子存在于该侦测室中可藉由标示分子诸如举例来说放射性同位素、发色团、或荧光团所产生之信号定性及 / 或定量侦测。该侦测室之至少一壁可被该标示分子所产生之信号穿透。仅供举例说明,至少一侦测室壁可透过由放射性同位素所发射或吸收之放射线,且该放射线可显示该探针剂分子存在或不存在于该侦测室中。

[0072] 该探针剂分子存在于该侦测室中可藉由电化学反应定性及 / 或定量侦测。在该实施态样中,该侦测室可包含电化学细胞,该电化学细胞可包含至少两个相对电极、至少一个感测 / 工作电极及至少一个对极 / 参考电极。决定该探针剂分子存在于该经反应之流体样本中之步骤可包含:在该电化学细胞之感测 / 工作电极与该对极 / 参考电极之间施加电位;及测量电流,其中该电流可为该侦测室中经反应之流体样本中该探针剂之定量及 / 或定性指标,该探针剂可为该流体样本中该标的分析物之定量及 / 或定性指标。

[0073] 该感测电极可对抗氧化状况中经还原之氧化还原剂或氧化状况中经氧化之氧化还原剂的量敏感。在其中该感测电极之电位系表示所存在之分析物的量之电位传感器之例中,至少一其它电极可作为参考电极以提供参考电位。在其中该感测电极电流系表示该样本中分析物之量的电流传感器之例中,至少一其它电极可作为对极电极以完成该电路及 / 或作为参考电极。或者,该对极电极及该参考电极可为二个分开之电极。

[0074] 至少一电极可包含导电材料诸如举例来说铝、铜、镍、铬、钢、不锈钢、钨、铂、金、铌、碳、与结合剂混合之碳、氧化钨、氧化锡、导电聚合物或彼等之混合物。在该电化学细胞中之阴极可包含导电材料诸如举例来说铝、铜、镍、铬、钢、不锈钢、钨、钨、碳、与结合剂混合之碳、氧化钨、氧化锡、混合之钨 / 锡氧化物、金、银、铌、导电聚合物、或该类似物、或彼等之混合物。该导电聚合物可包含诸如举例来说聚吡咯或聚乙炔、或该类似物、或彼等之组合。在该电化学细胞中之阳极及 / 或在装置制造或储存期间能与氧化物物质接触之电极可包含至少一导电材料,诸如举例来说钨、钨、碳、与结合剂混合之碳、氧化钨、氧化锡、混合之钨 / 锡氧化物、金、银、铌、导电聚合物、或该类似物、或彼等之混合物。该导电聚合物可包含诸如举例来说聚吡咯或聚乙炔、或该类似物、或彼等之组合。适合用来作为电极之材料可与存在于该装置中之试剂兼容,也就是说彼等在经选择之电位及 / 或在传感器构制及 / 或储存及 / 或使用期间不与该试剂起化学反应。该相对电极可包含相同之导电材料或不同材料。

[0075] 该感测 / 工作电极与该对极 / 参考电极可位于该侦测室之至少一内部表面。在该侦测室充满该流体样本之前,该相对电极可为彼此电绝缘。该绝缘可藉由以电绝缘材料分开该二个相对电极,或藉由在导电层或膜上产生裂隙以达成。该相对电极位于该侦测室之相同内部表面或不同内部表面上。该相对电极可分开约 5 微米、或约 10 微米、或约 15 微米、或约 20 微米、或约 25 微米、或约 30 微米、或约 35 微米、或约 40 微米、或约 45 微米、或约 50 微米、或约 75 微米、或约 100 微米、或约 125 微米、或约 150 微米、或约 175 微米、或约 200 微米、或约 250 微米、或约 300 微米、或约 350 微米、或约 400 微米、或约 450 微米、或约 500 微米、或约 600 微米、或约 700 微米、或约 800 微米、或约 900 微米、或约 1 毫米、或大于约 2 毫米、或大于约 3 毫米、或大于约 4 毫米、或大于约 5 毫米。就相对位置而言,该相对电极可为平行相对关系,或并列关系,或平行但偏移关系,或共面关系。该相对电极可具有相同或实质上类似之尺寸,或可为不同尺寸及 / 或不同形状。

[0076] 该装置可包含两个以上之电极。仅供举例说明,该装置可包含可为对极/参考电极之第三电极。该两个对极/参考电极可为电相连。该第三电极可与该感测/工作电极形成回路以侦测该反应室及/或该侦测室之填充。仅供举例说明,以此方式侦测该反应室之填充可作为活化计时装置之信号,以使该反应时间可被控制,及/或测试之后续步骤诸如举例来说将该经反应之流体样本转移至该侦测室可在预先决定之时间后被触发。在另一实施例中,若该装置包含两个侦测室,各侦测室可包含一个对极/参考电极,且该两个侦测室可共享一个延伸至两个侦测室中之感应/工作电极。在该等实施态样中,一个测试可得到两个电信号。

[0077] 在电极构型、间距及建构或构制中之其它变异将属于本揭示之范围内。

[0078] 至少部份之该侦测室之一内部表面可包含导电层或膜,该导电层或膜可电连接至电极但延伸超过电极。该延伸之导电层或膜可被用来作为接触区域,该装置藉由该处电连接至其它装置,诸如举例来说量计。在特定实施态样中,该侦测室可包含两个内部表面,该两个内部表面含有导电膜及/或为电连接至该相对电极,但对彼此为电绝缘。此处所使用之「实质上」系指该两个内部表面中任一之至少约 30%、或至少约 40%、或至少约 50%、或至少约 60%、或至少约 70%、或至少约 80%、或至少约 90%、或至少约 95% 系经导电材料之涂覆。各导电膜可为连续的或有图案。举例来说,该图案化之导电膜可形成两个彼此导电之电极;或一电极及一接触区域,其中该接触区域可电连接该电极至外部装置,诸如举例来说量计。

[0079] 在该侦测室之至少一个内部表面上可有一刮痕。示范性例证可为图 4 中之刮痕 106。该刮痕可在该侦测室内之导电膜中产生裂隙。该裂隙可藉由当导电膜被放下时图案化该膜或藉由在制造期间产生裂隙而被影响。刮痕 106 可藉由刻刮该膜、将该膜之部份刮除、化学蚀刻该导电层或膜、雷射剥蚀该导电层或膜或其它方法而被影响。在该导电层或膜中之刮痕 106 在某种程度上可藉由电分离该涂覆在侦测室与该反应室之导电层以作为界定该侦测室之活性电极区域。这是有好处的,因为其可防止任何否则可在该反应室之导电层或膜流动之电信号影响该测试结果。该刮痕可具有足够的宽度以可靠地中断该刮痕所在之层的电传导,但不致于宽至阻止流体诸如举例来说在毛细作用下横越该刮痕。该刮痕可为约 1 微米至 10 毫米,较佳约 10 微米至约 1 毫米,且最佳约 20 微米至约 200 微米。该刮痕与该侦测室近端间之距离可为约 1%、或约 5%、或约 10%、或约 15%、或约 20%、或约 25%、或约 30%、或约 35%、或约 40%、或约 45%、或约 50%、或大于 55% 之该侦测室之近端与远程间之距离。

[0080] 该侦测室之至少一内部表面可涂覆侦测剂。该侦测剂可被侦测室中之流体样本溶解及/或扩散在侦测室中之流体样本中,且可被涂覆在该侦测室之任何内部表面上。在一些实施态样中,该侦测剂无法被该流体样本溶解或扩散其中。该侦测剂可被涂覆在靠近该侦测可进之处。此处所使用之「靠近」系指侦测剂或彼等之衍生物可跨越而被诸如举例来说电极侦测之距离之内。该侦测剂之衍生物系指侦测剂与由探针剂携带至该侦测室之物种例如活化剂反应所产生及/或活化之物种。该侦测剂可包含酶,诸如举例来说葡萄糖氧化酶及葡萄糖去氢酶。该侦测剂可包含能被活化剂活化之物种,该活化剂经表面结合或封装在被该流体样本携带至该侦测室之探针剂分子内。该侦测剂与活化剂对可包含脱辅基酶与其辅助因子。仅供举例说明,该侦测剂与活化剂对可包含脱辅基葡萄糖氧化酶与黄素腺嘌呤二核苷酸;该侦测剂与活化剂对可包含脱辅基葡萄糖去氢酶与 PQQ。若一份存在该

流体样本中之标的分析物对应一个被转移至该侦测室之含有多份活化剂的探针剂分子,且一份活化剂可活化一个侦测剂分子以产生一单位之信号,那么一份标的分析物可对应多重单位之信号。这可增加该测试之敏感性及 / 或正确性及 / 或速率。

[0081] 该侦测室可包含释放剂,该释放剂可将活化剂分子自探针剂分子之载体释放,以使该活化剂分子可与侦测剂分子反应并活化该侦测剂分子。该释放剂可包含至少一种选自温和清洁剂、裂解肽、酶、加热、冷却、超音波作用或与光化学活化裂解剂组合之光源、或该类似物或任何彼等之组合之剂。该温和清洁剂可包含至少一种选自正辛基 -B-D- 吡喃葡萄糖苷、聚山梨醇酯 20、聚氧乙烯月桂醚 35 (brij 35)或曲拉通 X-100 (triton X-100)之清洁剂。该肽可包含至少一种选自蜂毒肽、磷脂酶类型之一或补系统之成分之肽。该酶可包含至少一种选自蛋白酶或胰蛋白酶之酶。该释放剂可包含将该活化剂分子自载体释放之物理方式。这可包含加热或冷却、超音波作用或物理及化学方式之组合,诸如举例来说由指向传感器中之光源所起之光化学反应。该释放剂可被侦测室中之流体样本溶解及 / 或扩散在侦测室中之流体样本中,且可被涂覆在该侦测室之任何内部表面上。

[0082] 若该侦测剂或其衍生物系酶,该侦测室可包含酶受质,该酶受质能与该侦测剂或其衍生物反应以产生可侦测之信号。示范性例证系图 3 中之酶受质 64。该酶受质可具有足够之量以使该存在之侦测剂或其衍生物与该酶受质反应之速率系由存在于该侦测室中之侦测剂或其衍生物的量决定。该酶受质可包含可氧化之受质。该可氧化之受质可包含选自半乳糖、麦芽糖、木糖或乙酸之受质。举例来说,若该侦测剂或其衍生物系葡萄糖氧化酶或葡萄糖去氢酶,该酶受质可包含葡萄糖。

[0083] 该侦测室可包含至少一种媒介物,该媒介物能与该侦测剂或其衍生物反应以产生可侦测之信号。该媒介物可具有足够之量以使该存在之侦测剂或其衍生物与该酶受质反应之速率系由存在于该侦测室中之侦测剂或其衍生物的量决定。在一使用电化学侦测系统之实施态样中,铁氰化物可为适当之媒介物。其它适当之媒介物可包含选自二氯酚靛酚或过渡金属与含氮杂原子体之复合物之媒介物。在特定实施态样中,该侦测室可包含二或多种能增加侦测反应之速率之媒介物。

[0084] 该侦测室可包含能在例如侦测室中调整该流体样本之 pH 的缓冲剂。该缓冲剂可在制造及 / 或储存期间安定该反应室中之至少一试剂。该缓冲剂可包含选自磷酸盐、柠檬酸盐、柠康酸盐、苯六甲酸盐、三羟甲基胺基甲烷(tris)、哌嗪二乙磺酸(pipes)、2- (N- 吗啉代) 丙磺酸(mops)、羟乙基哌嗪乙烷磺酸(hepes)、酞酸盐或咪唑之物质。

[0085] 该酶受质及 / 或该媒介物及 / 或该缓冲剂试剂可以足够之量存在,以使该侦测剂或其衍生物与该酶受质反应之速率系受限于存在于该侦测室中之侦测剂或其衍生物的量。

[0086] 成对之两室之间可具有样本信道,该流体样本可经该信道从一室流至另一室。举例来说,在该反应室与该侦测室之间可具有样本信道 38,如图 2 所示。通过该流体通道之流动可藉由诸如举例来说毛细作用、气压、外力或该类似物或任何彼等之组合之力平衡加以控制。该流体信道可包含一开放之通道。该流体信道可包含一实体。该实体可为半通透及 / 或可根据例如尺寸、电荷、渗透性或该类似参数或任何彼等之组合允许特定物种通过且阻挡其它物种。仅供举例说明,该实体可提供一机构以将特定物种限制于该反应室内。该样本信道可包含正方形、矩形、环形、卵形、三角形、菱形、梯形或该类似之横断面形状。横断面可垂直该流体样本从该反应室至该侦测室之整体流动的方向。该横断面之大小及 / 或形状

可沿着该整体流动之方向呈现一致。该横断面可沿着该整体流动之方向呈现变化。仅供举例说明,该横断面可沿着该整体流动之方向渐缩。该流体通道可包含毛细距离。该毛细距离可介于其所连接之两室的毛细距离之间。这可允许流体样本仅藉由毛细作用,也就是在无外力存在下经由该流体通道从一室流至另一室。此处所使用之外力不包括由使用者所产生藉由例如贯穿以打开侦测室之通气孔之力。举例来说,在一些实施态样中,藉由例如刺穿以打开在该侦测室远程之通气孔时可将该流体样本从一室转移至另一室。毛细张力可藉由例如填充室之至少一内部表面上之涂层加以操纵。若该生物传感器系经配置以使用由使用者或器具诸如举例来说帮浦、针筒或该类似物所产生之外力,该流体通道之毛细距离可大于或小于其所连接之任一室的毛细距离。

[0087] 该装置可包含填充室。示范性例证可为图 4 中之填充室 107。该填充室可包含至少一内部表面。该填充室可包含至少一壁,该壁可界定该反应室之外部及 / 或内部。该填充室可包含具有体积之内部空间,至少部分之内部空间为该流体样本可到达的。该体积可为少于约 100 毫升、或少于约 50 毫升、或少于约 20 毫升、或少于约 10 毫升、或少于约 5 毫升、或少于约 3 毫升、或少于约 2 毫升、或少于约 1 毫升、或少于约 500 微升、或少于约 200 微升、或少于约 100 微升、或少于约 50 微升、或少于约 10 微升、或少于约 1 微升、或少于约 0.5 微升、或少于约 0.3 微升、或少于约 0.1 微升。

[0088] 该填充室之内部空间可包含正方形、矩形、环形、卵形、三角形、菱形、梯形或该类似之横断面形状。横断面可垂直该流体样本在该填充室内整体流动之方向。该横断面之大小及 / 或形状可沿着该整体流动之方向呈现一致。该横断面可沿着该整体流动之方向呈现变化。仅供举例说明,该横断面可沿着该整体流动之方向渐缩。

[0089] 该填充室可包含毛细距离。流体样本可被吸入至该填充室。该毛细距离可大于反应室之毛细距离。这可允许流体样本仅藉由毛细作用,也就是在无外力存在下从该填充室流至该反应室。此处所使用之外力不包括由使用者所产生藉由例如刺穿以打开侦测室之通气孔之力。举例来说,在一些实施态样中,藉由例如刺穿以打开在该侦测室远程之通气孔时可将该流体样本从一室转移至另一室。毛细张力可藉由例如填充室之至少一内部表面上之涂层加以操纵。若该生物传感器系经配置以使用由使用者或器具诸如举例来说帮浦、针筒或该类似物所产生之外力,该填充室之毛细距离可小于反应室之毛细距离。

[0090] 该填充室之至少一内部表面可具有阻断剂之涂层。在填充室中之阻断剂可类似反应室中之阻断剂。该填充室之至少一内部表面可具有缓冲剂之涂层。该缓冲剂可类似反应室及 / 或侦测室中之缓冲剂。

[0091] 该生物传感器可包含至少一密封层,该密封层可防止流体及 / 或电信号之渗漏。密封层之示范性材料可包含例如塑料(例如 PET、PETG、聚酰亚胺、聚碳酸酯及 / 或聚苯乙烯)、硅、陶瓷、玻璃及任何彼等之组合。密封层可包含或实质上由黏着剂形成。若该侦测室包含电化学细胞,密封层系置于邻近至少一电极及 / 或导电层或膜。密封层可被置于邻近该第一及第二导电层或膜之至少一者。该密封层可被置于该侦测室远程之通气孔之上以为预先形成之通气孔提供罩盖。在一些实施态样中,该密封层之一部份可藉由例如刺穿移除以产生通气孔,使受困空气可自该处从该生物传感器之室中逸散。密封层可经配置以使导电层或膜之一部份可被暴露以形成接触区域,该区域可电连接该生物传感器至量计。该构型可包含该密封层相较于导电层或膜可具有较小区域及 / 或该密封层可被放置以使其不

覆盖整个导电层或膜。

[0092]

制造方法

仅供方便之目的,此处所描述之制造生物传感器之方法系就数个示范性实施态样加以描述。然而,应了解其仅供说明目的,并非企图限制本发明之范围。

[0093] 图 2 及 3 所示之生物传感器 20 包含含有电化学细胞之侦测室 28 及含有经固定之结合剂分子及探针剂分子之反应室 22。该侦测室 28 及反应室 22 可藉由形成延伸经过电绝缘间隔材料层 36 之孔径加以制备。该孔径可被塑形以使其界定该反应室 22 及侦测室 28 之侧壁,及介于室 22、28 间之样本信道 38。藉由将该孔径从反应室 22 之近端 24 延伸至传感器 20 之边缘 37,可形成样本入口 25。在一实施态样中,该层 36 之厚度可界定反应室 22 及侦测室 28 之高度且该室可具有相同高度。根据该实施态样,该侦测室之毛细张力可大于该反应室之毛细张力。这可藉由修饰该反应室及 / 或侦测室之表面或藉由添加填充材料诸如此处所揭示者至该侦测室以达成。

[0094] 在另一实施态样中,反应室 22 之高度可大于侦测室 28 之高度。相较于侦测室 28 高度较高之反应室 22 可藉由例如将多个内层 32、34、36 及 / 或外部密封层 42、46 层迭在一起以制备。举例来说,在图 3 中该传感器 20 之中层 36 如上所述具有一界定反应室 22 及侦测室 28 之侧壁的孔径。接着中层 36 可被包夹于一或多个额外层 32、34 之间,该额外层 32 及 34 具有仅对应反应室 22 之孔径。在侦测室 28 方面,层 32 及 34 可界定该室之端壁 60、62 (意即顶及底表面)。在该实施态样中,该侦测室之端壁 60 及 62 包含电极 54 及 52,该电极 54 及 52 可经连接工具电连接至测量电路。该电极于下更详细说明。

[0095] 在一态样中,该电极 52 及 54 可透过连接端 66 被置于量计 (未显示) 之电连接中。该连接端可允许量计 (未显示) 与侦测室 28 中之电极 52 及 54 经导电轨 (未显示) 电沟通。该与连接区域 66 连接之量计可在侦测室 28 中之电极 52 及 54 之间施加电位且在电化学反应期间侦测所产生之电信号。

[0096] 图 4、5 及 7 所示之生物传感器 120 或图 6 所示之生物传感器包含三个室。该传感器除反应室 122 及侦测室 128 之外可包含填充室 107。传感器 120 可如上述自多层形成,包括例如密封层 142、下层 134、间隔层 136 及上层 132。在一态样中,各层可包含绝缘材料,然而上及下层 132、134 额外包括如下详细讨论之导电膜。藉由在该传感器之不同点移除多个层之部份,以形成填充室 107、反应室 122 及侦测室 128。此外,在上及下层 132、134 上之导电膜的暴露部分提供电极 152、154 以进行电化学反应且提供电接触区域 101、102、103 以供电连接该传感器至量计。

[0097] 供电接触携带下方导电膜之下层 134 的接触区域 101 可藉由延伸下层 134 超出间隔层 136 之末端及上层 132 以形成。接触区域 102 可藉由移除层 134 及 136 之区段以暴露上层 132 之区段而形成。接触区域 103 可类似地藉由移除下层 134 及间隔层 136 之区段形成,如图 5D 所示 (图 4 之 D-D' 横断面)。

[0098] 填充室 107 可藉由移除下层 134 及间隔层 136 之区段但保留完整的上层 132 及密封层 142 以形成。密封层 142 可与层 134 之外表黏合,且加上层 134 及 136 之切除区段之侧边与层 132 可用于形成能藉由毛细作用将样本吸入其中之毛细通道。该通道系如图 5A 所示 (图 4 之 A-A' 横断面)。

[0099] 反应室 122 可藉由移除间隔层 136 之区段但保留完整的层 134 及 132 以形成。这可形成毛细间隔,其中该毛细间隔之高度相较于填充室 122 之高度为小。这可允许藉由毛细作用自该填充室 122 将流体吸入该反应室 128。该反应室之小高度可允许该反应室中之成份相对快速地混合。在一态样中,反应室 122 可在长条之侧边打开,以使空气在流体充满该反应室时得以排出。

[0100] 侦测室 128 可以类似反应室 122 之方式藉由移除间隔层 136 之区段但保留完整之层 134 及 132 以形成。最初该侦测室 128 之一端可接通至该反应室 122 但无其它开口。

[0101] 通气孔 130 可藉由移除上层 132 (或下层 134) 之区段或刺穿上层 132 (或下层 134) 以被纳入侦测室 128 中。图 5B (图 4 之 B-B' 横断面) 中所示之层 146 可被迭合至该长条之上以密封该开口。或者,若下层 134 之一部份被移除,密封层 142 可被刺穿 / 移除以打开通气孔 30。

[0102] 在一态样中,该导电膜界定之电极 52、152、54、154 可利用黏着剂被黏合至该免疫传感器之表面。适当之黏着剂可包含例如热激活黏着剂、压力敏感性黏着剂、热硬化黏着剂、化学硬化黏着剂、热熔性黏着剂、热流性黏着剂、及该类似物。在替代态样中,该导电膜可藉由将电绝缘材料层涂覆(例如藉由溅射涂膜或网版印刷)适当之导电材料以制备,例如铂、钯、碳、氧化钨、氧化锡、混合之钨 / 锡氧化物、金、银、铱、钽等之混合物、或该类似物。适合用来作为电极之材料可与存在传感器 20、120 中之试剂兼容。适当之电绝缘材料包括例如聚酯、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚烯、彼等之混合物及该类似物。

[0103] 图 4 中之刮痕 106 代表界定上层 132 上之上方电极 154 的导电膜中之裂隙。该裂隙可藉由当导电膜被放下时图案化该膜或藉由在制造期间产生裂隙而被影响。刮痕 106 可藉由刻刮该膜、将该膜之部份刮除、化学蚀刻该膜、雷射剥蚀该膜或其它习知方法而被影响。

[0104] 制备多种类型之具有不同功能及小分子内含物之脂质体的方法为文献中广为周知。例如参见 *Liposomes: A Practical Approach* (Second Edition, Editors: VA Torchilin and V Weissig, Oxford University 2003)。可间接添加替代抗体。举例来说,生物素基脂质诸如生物素 DHPE (N-(生物素酰基)-1,2-二软脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺) 可被纳入至脂质体中,接着添加链霉抗生物素蛋白或抗生物素蛋白,最后形成生物素基抗体。此外,已知建构有小分子连接之聚合物之方法。例如参见“*In Vitro Targeting of Synthesized Antibody-Conjugated Dendrimer Nanoparticles*” by Thomas et al. (*Biomacromolecules*, 5 (6):2269-2274, November 8, 2004)。

[0105] 该生物传感器中所使用之试剂例如经固定之抗体 / 抗原、探针连接之抗原 / 抗体、缓冲剂、媒介物、酶受质及该类似物可被支持于该反应室 22、122 之壁上,或在室内、基质内所含有之独立支持,或可为自行支持。若该试剂系被支持于室之内壁或电极上时,该化学物可利用印刷技术施予,例如喷墨印刷、网版印刷、平版印刷及该类似技术。在替代之实施态样中,含有试剂之溶液可被涂敷至室之内部表面并使之干燥。试剂诸如举例来说经固定之结合剂及 / 或探针剂可被干燥在独立之支持材料上,接着该支持材料可被放置在该反应室中。或者,经固定之结合剂或探针剂之任一可被纳入至独立支持材料上,另一成分可被支持在反应室之一内壁上。该反应室之内壁可为孔状,经固定之结合剂及 / 或探针剂则被纳入其中。这可藉由例如使用大孔膜以形成反应室之内壁且绕着该反应室压缩该膜以防止

样本自该所欲区域渗漏出来而完成。该经固定之结合剂及 / 或探针剂可被支持在微珠上。该珠可包含可选择地嵌入磁性材料(诸如举例来说加玛 Fe₂O₃ 及 Fe₃O₄) 之聚合物材料, 例如琼脂、聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯。该珠状材料可被选择以为所欲连接之物种提供适当之支持。磁铁可被包括在该生物传感器中, 以将磁珠保留在反应室内, 并防止磁珠移动至侦测室。举例来说, 该经固定之结合位置可被放置在反应室内之磁珠上。

[0106]

使用方法

仅为了方便之目的, 此处所描述之使用生物传感器之方法系根据图 4 至 7 所示之实施态样加以说明。应了解此仅供说明之用, 并不意图限制本发明之范围。

[0107] 在使用时, 使用者可先将流体样本导入该填充室及 / 或反应室中。该样本可在毛细或芯吸作用之影响下被吸入至该填充室及 / 或反应室中。该样本可藉由装置诸如举例来说针筒及 / 或帮浦及 / 或使用者所产生之外力被吸入至该填充室及 / 或反应室中。该反应室可包含接通至大气之通气孔, 因此能让被样本移置之空气逸散。或以流体样本填充该填充室及 / 或反应室可将空气移置至侦测室。该反应室 122 之体积可经选择以至少等于且较佳地大于该侦测室 128 之体积。

[0108] 生物学样本诸如含有标的分析物例如抗原之全血进入该反应室可从一内部表面分散磁珠及从其它内部表面分散探针剂分子。该磁珠可涂覆结合剂分子。该结合剂可包含抗原。该探针剂可包含结合伴及载体。该结合伴可为抗体, 该抗体可与血液中之标的抗原结合, 且可与经固定之结合剂结合但是结合亲和力较低。该载体可包含例如封装在脂质体内之 PQQ, 或与聚合物诸如树枝状聚合物表面结合之 PQQ。每个脂质体可封装多份 PQQ。样本中标的分析物之存在可以剂量依赖之方式干扰探针剂分子与涂覆在磁珠上之结合剂分子之结合。

[0109] 经过给定时间后, 举例来说约 2 分钟, 可冲压出一通气孔, 该通气孔可让经反应之流体样本藉由毛细作用转移至侦测室。该侦测室可包含用于电化学测量酶活性之试剂。该侦测室被足量地填充, 也就是说足量之样本被转移至侦测室以使探针剂之存在可藉由所采用之侦测方法侦测及分析。

[0110] 在反应室下方之磁铁可防止磁珠及经由结合剂分子与磁珠结合之探针剂分子转移。因此在示范性实施态样中, 流体样本中标的分析物越多, 可与经固定之结合剂分子结合之探针剂分子越少, 且可移动至侦测室以在侦测室中侦测之探针剂分子越多。

[0111] 该侦测室可包含脱辅基 GDH 及释放剂, 该释放剂可自载体释放 PQQ 且允许 PQQ 与脱辅基 GDH 之交互作用。若一个载体包含例如 100 或更多个 PQQ 分子, 且每个 PQQ 分子皆可结合及活化 1 个脱辅基 GDH, 那么抑制单一个抗体-PQQ-脂质体探针剂与磁珠结合可导致活化 100 或更多个 GDH 分子。以此方式, 若每个脂质体举例来说含有 100 个 PQQ 分子, 则可侦测举例来说低至 5 皮莫耳之抗原, 或若各含有 1000 个 PQQ 分子则可侦测 500 飞莫耳之抗原。

[0112] 技艺人士将可从此处所描述之不同实施态样了解各种构型及特征之应用性。同样的, 上述各种构型及特征以及各个构型或特征之其它已知相等物可由该领域之一般技艺人士加以混合匹配, 以根据此处所描述之原则执行方法。应了解所描述之实施例仅供例证之用, 而非用于限制本发明之范围。

[0113] 此处所参照之所有专利、专利申请案、专利申请案出版物及其它材料诸如文章、书籍、说明书、出版品、文件、事物及 / 或该类似物藉此参照整体纳入此处以符合所有目的，但任何与本文件不一致或冲突之相同物、任何相同物之相关起诉档案历史，或可能对本文件目前或以后有关之最广范围之申请专利范围具有限制作用之任何相同物除外。举例来说，若任何纳入材料之相关说明、定义及 / 或用语之使用和本文件之相关说明、定义及 / 或用语之使用之间有任何不一致或冲突，则以本文件中之说明、定义及 / 或用语之使用为准。

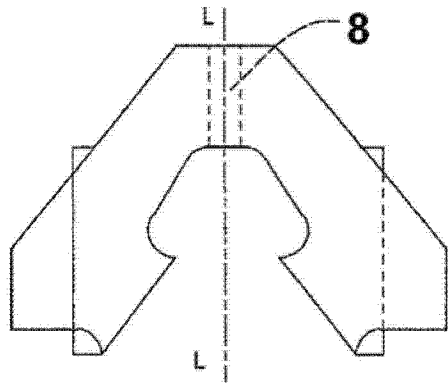


图1A

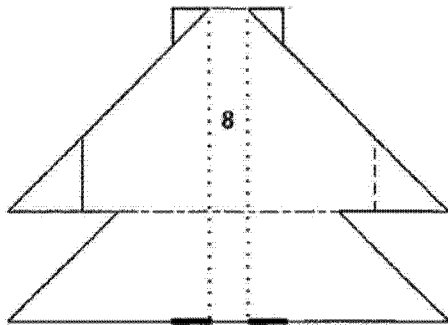


图1B

图 1

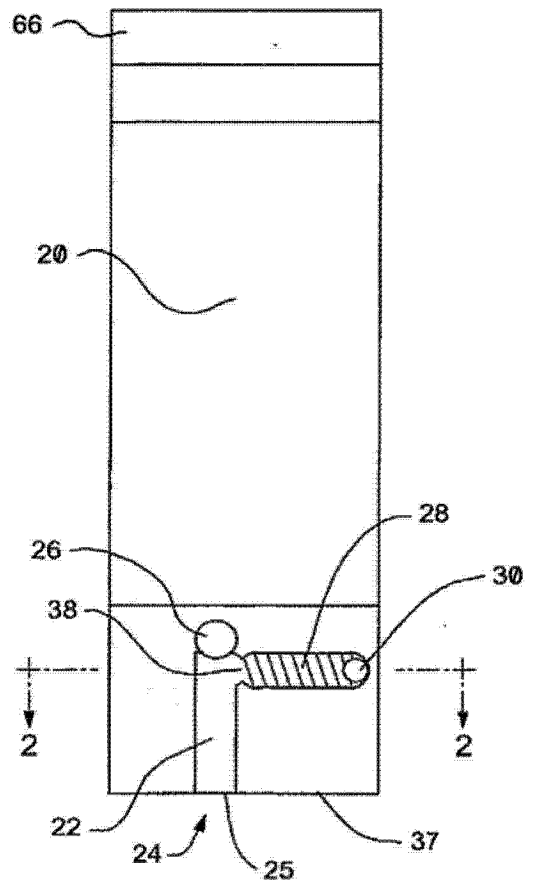


图 2

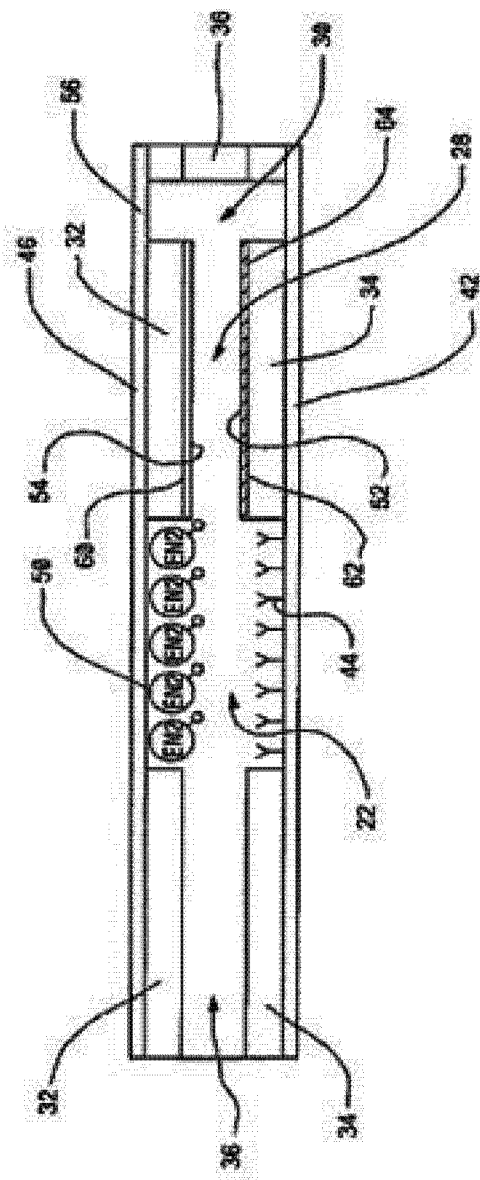


图 3

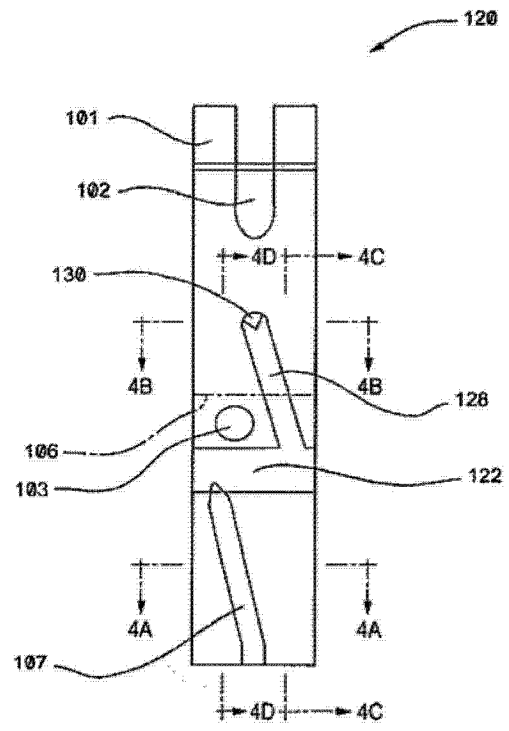


图 4

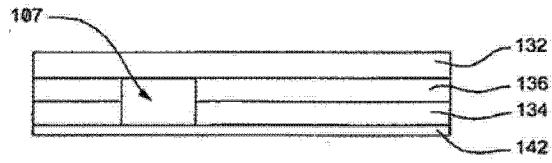


图5A

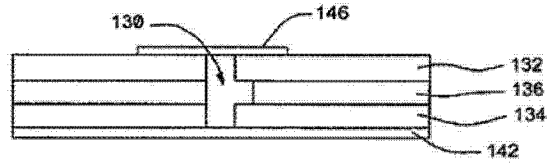


图5B

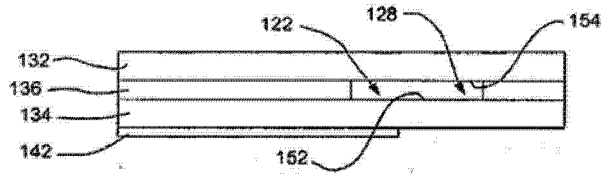


图5C

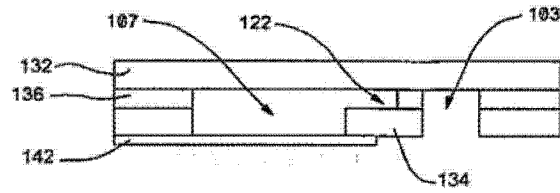


图5D

图 5

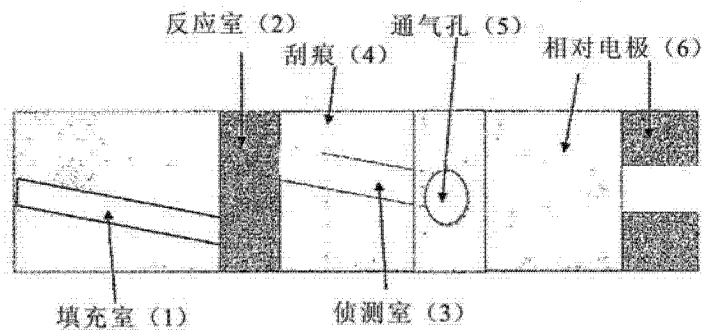


图 6

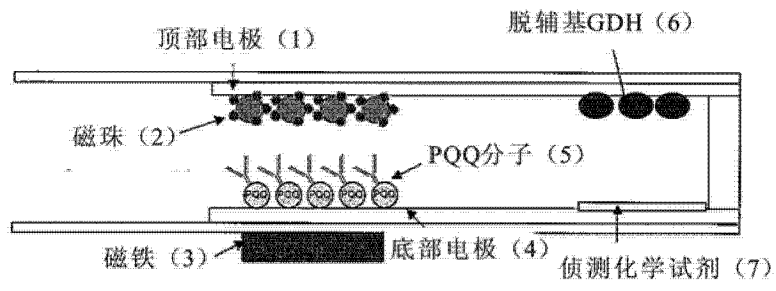


图 7

专利名称(译)	增强之免疫测定传感器		
公开(公告)号	CN102105790A	公开(公告)日	2011-06-22
申请号	CN200980126745.X	申请日	2009-07-10
[标]申请(专利权)人(译)	环球生物医疗感测器私人有限公司		
申请(专利权)人(译)	环球生物医疗感测器私人有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	环球生物医疗感测器私人有限公司		
[标]发明人	普莱特丹尼斯 哈吉斯亚拉戴尔		
发明人	普莱特·丹尼斯 哈吉斯·亚拉戴尔		
IPC分类号	G01N33/537		
CPC分类号	G01N33/5302 B01L2300/0645 C12Q1/005 B01L2300/087 C12Q1/004 G01N33/53 G01N33/538 B01L2200/10 B01L2200/0621 B01L3/5027 C12Q1/001 G01N33/54366 G01N33/537 G01N33/541 G01N33/581 G01N33/539 G01N33/66 B01L2400/0406 C12Q1/006 C12Q1/26 G01N33/5306 B01L2300 /0825 C12Q1/32 B01L2400/0694 G01N33/54393 G01N33/558		
优先权	61/129688 2008-07-11 US		
其他公开文献	CN102105790B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明揭示用于侦测标的分析物存在于流体样本中之装置。该生物传感器装置可包含至少一反应室及一侦测室。该装置可包含放大机构以使存在于该流体样本中之标的分析物分子可导致多重侦测剂分子之产生/活化及因此放大之信号。本发明亦揭示制造及使用该生物传感器装置之方法。

