



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101878428 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 09

(21) 申请号 200880117966. 6

(22) 申请日 2008. 12. 10

(30) 优先权数据

61/012, 739 2007. 12. 10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 05. 27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/086162 2008. 12. 10

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/076402 EN 2009. 06. 18

(73) 专利权人 拜尔健康护理有限责任公司

地址 美国纽约

(72) 发明人 朱伯儒

(74) 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理

有限责任公司 11290

代理人 梁兴龙 武玉琴

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101058824 A, 2007. 10. 24, 权利要求 1-3.

US 2007135698 A1, 2007. 06. 14, 说明书 139 到 144 页.

WO 2006132294 A1, 2006. 12. 14, 说明书 4-6 页, 25-27 页, 图 1-3, 实施例 1, 7.

CN 1150764 A, 1997. 05. 28, 全文.

US 2007071789 A1, 2007. 03. 29, 全文.

审查员 杨冀川

权利要求书2页 说明书19页 附图5页

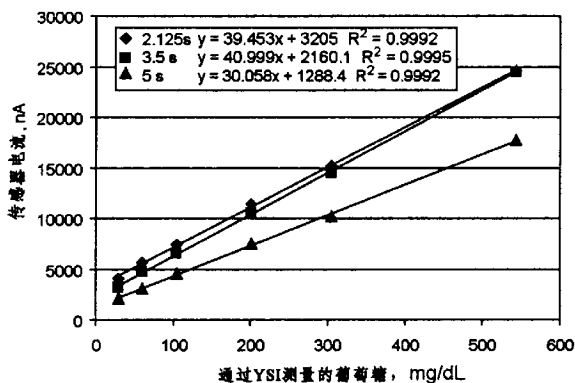
(54) 发明名称

用于生物传感器的多孔颗粒试剂组合物、装置和方法

(57) 摘要

本发明公开了一种用于生物传感器传感带的试剂组合物,其可以在干燥后快速再水合。该组合物包括多孔颗粒并优选形成胶状悬浮液。包括多孔颗粒的干燥试剂组合物可以在比从利用固体颗粒的干燥试剂组合物所观察到的更短时间内从传感带提供可用于分析的输出。来自多孔颗粒组合物的输出信号可以在约 2 秒内与样品的分析物浓度相关。按此方式,可以在比包括传统组合物的传感带更少的时间内获得对样品中的分析物浓度的精确浓度测定。包括多孔颗粒的干燥试剂组合物还允许试剂和分析物之间的氧化还原反应在比从传统传感带所观察到的更短时间内达到最大动力学性能。

CN 101878428 B



1. 一种用于测量样品中的分析物浓度的试剂组合物,其包括:
约 1% ~ 30%(w/w) 的约为 20% ~ 50%(w/w) 的多孔颗粒悬浮液,所述多孔颗粒具有 0.05 ~ 10 微米的平均直径和至少 20%(v/v) 的空隙体积;
约 0.1% ~ 3%(w/w) 的至少一种聚合物材料;以及
每微升试剂组合物约 0.1 ~ 10 活性单位的至少一种酶系。
2. 如权利要求 1 所述的组合物,还包括约 0.5% ~ 10%(w/w) 的至少一种介体。
3. 如权利要求 1 所述的组合物,还包括约 0.01% ~ 1%(w/w) 的至少一种表面活性剂。
4. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述多孔颗粒具有约 0.5 ~ 1 毫升/克的平均孔体积。
5. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述多孔颗粒具有约 100 ~ 200 平方米/克的平均表面积。
6. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述多孔颗粒由氧化硅形成并且在水中具有阴离子表面电荷。
7. 如权利要求 1 所述的组合物,其具有约 4.5 ~ 7.5 的 pH 值。
8. 如权利要求 1 所述的组合物,还包括至少一种载液,其中所述组合物是胶状悬浮液。
9. 如权利要求 8 所述的组合物,其中所述胶状悬浮液对于絮凝是稳定的。
10. 一种用于生物传感器的电极,其包括:
至少一个导体;以及
布置在所述导体上的至少一种试剂组合物,所述试剂组合物包括:
平均直径为 0.05 ~ 10 微米和空隙体积为至少 20%(v/v) 的多孔颗粒;
约 0.5% ~ 10%(w/w) 的至少一种介体;
至少一种聚合物材料;以及
至少一种酶系。
11. 如权利要求 10 所述的电极,其中所述试剂组合物通过从试剂组合物的胶状悬浮液干燥水而形成。
12. 如权利要求 10 所述的电极,其中所述试剂组合物还包括约 0.01% ~ 1%(w/w) 的至少一种表面活性剂。
13. 如权利要求 10 所述的电极,其中所述多孔颗粒具有约 0.5 ~ 1 毫升/克的平均孔体积。
14. 如权利要求 10 所述的电极,其中所述多孔颗粒具有约 100 ~ 200 平方米/克的平均表面积。
15. 一种用于测量样品中的分析物浓度的方法,其包括:
将包括至少一种分析物的含水样品引入至试剂组合物,所述试剂组合物包括:
平均直径为 0.05 ~ 10 微米和空隙体积为至少 20%(v/v) 的多孔颗粒以及至少一种聚合物材料;
用所述含水样品使所述试剂组合物再水合;
将输入信号施加到所述含水样品;
在将所述含水样品引入至所述试剂组合物的约 0.4 ~ 5 秒内测量至少一个输出信号电流值;以及

从所述至少一个输出信号电流值测量所述含水样品中的至少一种分析物的浓度。

16. 如权利要求 15 所述的方法,包括在将所述含水样品引入至所述试剂组合物的约 1.7 ~ 2.7 秒内测量至少一个输出信号电流值。

17. 如权利要求 15 所述的方法,其中所述分析物包括葡萄糖,所述含水样品包括全血,在样品的葡萄糖浓度为约 50 ~ 550mg/dL 时测量至少两个输出信号电流值,并且当与参考葡萄糖浓度值相关联时,所述至少两个输出信号电流值的 R^2 线性值至少为 0.90。

18. 如权利要求 15 所述的方法,还包括在所述试剂组合物和所述至少一种分析物之间的氧化还原反应的最大动力学性能期间测量至少一个输出信号电流值,其中利用具有至少 5 个工作循环的门控电流脉冲序列测定所述最大动力学性能,并且其中

工作循环的每个激励的持续时间为 0.4 秒,

工作循环的每个弛豫的持续时间为 1 秒,

通过开路提供所述弛豫,

在每个激励期间测量至少 3 个输出电流值,

所述激励具有 250mV 的基本恒电位,以及

样品温度为 23° C。

19. 如权利要求 18 所述的方法,包括在将所述含水样品引入至所述试剂组合物的约 1.7 ~ 2.7 秒内测量至少一个输出信号电流值。

20. 如权利要求 18 所述的方法,还包括在电流衰变期间测量至少一个输出信号电流值

21. 如权利要求 15 所述的方法,其中所述试剂组合物还包括至少一种介体和至少一种酶系。

22. 如权利要求 15 所述的方法,其中所述多孔颗粒具有约 0.5 ~ 1 毫升 / 克的平均孔体积。

23. 如权利要求 15 所述的方法,其中所述多孔颗粒具有约 100 ~ 200 平方米 / 克的平均表面积。

24. 如权利要求 15 所述的方法,还包括在至多 5 秒内将所述至少一种分析物的测定浓度输出到显示器。

25. 如权利要求 15 所述的方法,还包括在至多 3 秒内将所述至少一种分析物的测定浓度输出到显示器。

用于生物传感器的多孔颗粒试剂组合物、装置和方法

[0001] 相关申请的参考

[0002] 本申请要求 2007 年 12 月 10 日提交的题目为“用于生物传感器的多孔颗粒试剂组合物、装置和方法”的美国临时申请 No. 61/012, 739 的优先权, 在此引入它的全部内容作为参考。

背景技术

[0003] 生物传感器提供对诸如全血、血清、血浆、尿液、唾液、间质或细胞内液等生物流体的分析。通常, 生物传感器具有用来分析存放在传感带上的样品的测量装置。样品通常是液态, 并且除了生物流体外, 也可以是生物流体的衍生物, 如提取物、稀释物、滤出物或复水的沉淀物。生物传感器执行的分析可以测量出一种或多种诸如生物流体中的醇、葡萄糖、尿酸、乳酸盐、胆固醇、胆红素、游离脂肪酸、甘油三酸酯、蛋白质、酮、苯基丙氨酸或酶等分析物的存在和 / 或浓度。这种分析对于诊断和治疗生理异常是有用的。例如, 糖尿病患者可使用生物传感器来测定全血中的葡萄糖水平以调整饮食和 / 或用药。

[0004] 生物传感器可以被设计成分析一种或多种分析物, 并且可以使用不同的样品体积。一些生物传感器可以分析一滴全血, 例如体积为 0.25-15 微升 (μL) 的全血。生物传感器可以利用台式、便携式和类似测量装置来实施。便携式测量装置可以是手持式的, 并且可以对样品中的一种或多种分析物进行识别和 / 或量化。便携式测量装置的例子包括: 可得自 Tarrytown, New York 的 Bayer HealthCare 的 Ascensia Breeze[®] 和 Elite[®] 测量仪; 而台式测量装置的例子包括: 可得自 Austin, Texas 的 CHI Instruments 的电化学工作站。具有更短的分析时间、同时具有所希望的准确度和 / 或精确度的生物传感器为使用者提供了巨大的好处。

[0005] 在电化学生物传感器中, 通过当输入信号施加到样品时分析物或响应于分析物的物质的氧化 / 还原反应或氧化还原反应产生的电信号来测量分析物的浓度。输入信号可以单脉冲或多脉冲、序列或循环的形式来施加。可以在样品中添加诸如酶或类似物质等氧化还原酶以增强在氧化还原反应过程中电子从第一种物质向第二种物质的转移。酶或类似物质可以与一种分析物发生反应, 从而对所产生的输出信号的一部分提供了特异性。

[0006] 电化学生物传感器通常包括测量装置, 而测量装置具有与传感带中的电导体连接的电触点。无论哪种情况, 传感带可以在活有机体的体外、体内或部分体内使用。当在活有机体体外使用时, 将生物流体的样品引入传感带中的样品储集器内。可在引入样品之前、之后或期间将传感带放在测量装置中以进行分析。当在活有机体体内或部分体内时, 可连续地将传感带浸入样品中, 或可间歇地将样品引入传感带中。传感带可以包括部分地隔离一定体积的样品或向样品开放的储集器。类似地, 样品可连续地流经传感带或被中断以进行分析。

[0007] 对于电化学生物传感器, 导体可以由诸如固体金属、金属膏、导电碳、导电碳膏和导电聚合物等导电物质制成。电导体通常与延伸到样品储集器中的工作电极、反电极、参比电极、和 / 或其他电极连接。一个或多个电导体也可以延伸到样品储集器中以获得电极不

能提供的功能。

[0008] 可以利用诸如美国专利 No. 6, 531, 040、5, 798, 031 和 5, 120, 420 等中所描述的多项技术通过在绝缘基体上放置或印刷电极来形成传感带。可以通过在一个或多个导体上放置一种或多种试剂组合物来形成电极。例如,当工作电极和反电极由同种组合物涂布时,超过一个的导体可以由同种试剂组合物涂布。不同的试剂组合物可以布置在导体上。因而,工作电极的试剂组合物可以包含酶、介体和粘合剂,而反电极的试剂组合物则可以包含与工作电极相同或不同的介体以及粘合剂。

[0009] 试剂组合物可以包括用于促进分析物氧化或还原的诸如氧化还原酶等电离剂以及有助于分析物和工作电极之间的电子转移的任何介体或其他物质。除了用于将试剂粘合在一起之外,例如,粘合剂可以帮助红血球的过滤、避免红血球在导体表面的涂布以及氧化还原酶的稳定。

[0010] 对于本领域技术人员已知的多项技术可以用于将试剂组合物布置在传感带上。试剂组合物可以布置在导体上,然后干燥。当样品被引入传感带时,试剂组合物开始再水合。试剂组合物再水合的越快,从中可以获得样品中的分析物浓度的输出信号也越快。从用于对分析物浓度进行精确测量的传感带获得输出信号越快,分析完成的就越快。因而,包括具有更短分析时间的试剂组合物同时可以提供所希望的准确度和 / 或精确度的生物传感器为使用者提供了巨大的好处。

发明内容

[0011] 本发明公开了一种用于生物传感器传感带的试剂组合物,其可以在干燥后快速再水合。所述组合物包括多孔颗粒并优选形成胶状悬浮液。所述干燥试剂组合物可以在比从利用固体颗粒的干燥试剂组合物所观察到的更短时间内从传感带提供可用于分析的输出。来自多孔颗粒组合物的输出信号可以在约 3 秒内、优选在约 2 秒以下内与样品的分析物浓度相关。

[0012] 本发明公开了一种用于测量样品中的分析物浓度的试剂组合物,其包括:约 1%~30% (w/w) 的约为 20%~50% (w/w) 的多孔颗粒悬浮液,所述多孔颗粒具有 0.05~10 微米的平均直径和至少 20% (v/v) 的空隙体积;约 0.1%~3% (w/w) 的至少一种聚合物材料;以及每微升试剂组合物约 0.1~10 活性单位的至少一种酶系。

[0013] 本发明公开了一种用于生物传感器的电极,其包括:至少一个导体;以及布置在所述导体上的至少一种试剂组合物,所述试剂组合物包括:平均直径为 0.05~10 微米和空隙体积为至少 20% (v/v) 的多孔颗粒;约 0.5%~10% (w/w) 的至少一种介体;至少一种聚合物材料;以及至少一种酶系。

[0014] 本发明公开了一种用于测量样品中的分析物浓度的生物传感器传感带,其包括:至少部分地被盖子覆盖的传感器基部;由所述传感器基部形成的至少一个储集器,其中所述至少一个储集器封住设置在所述基部上的至少两个导体;在形成工作电极的至少一个导体上的至少一种试剂组合物,所述至少一种试剂组合物包括:每微升至少一种试剂组合物约 0.1~10 活性单位的至少一种酶系;约 0.5%~10% (w/w) 的至少一种介体;以及至少一种聚合物材料,其中所述储集器和所述至少一种试剂组合物在将引入样品至所述传感带的小于约 3 秒内提供分析物与所述至少一种试剂组合物的氧化还原反应的最大动力

学性能,并且其中利用具有至少 5 个工作循环的门控电流脉冲序列测定所述最大动力学性能,并且其中工作循环的每个激励的持续时间为 0.4 秒,工作循环的每个弛豫的持续时间为 1 秒,通过开路提供所述弛豫,在每个激励期间测量至少 3 个输出电流值,所述激励具有 250mV 的基本恒电位,以及样品温度为 23°C。

[0015] 本发明公开了一种用于测量样品中的分析物浓度的生物传感器系统,其包括:用于支撑至少 2 个导体的支撑部件;用于在分析物上选择性进行氧化还原反应的反应部件,其中所述反应部件包括至少一种聚合物材料;用于测量分析物的氧化还原速率的测量部件,其中所述测量部件包括至少 2 个导体;以及其中所述测量部件在将引入样品至所述反应部件的小于约 3 秒内测量最大动力学性能下的氧化还原反应速率,以及其中利用具有至少 5 个工作循环的门控电流脉冲序列测定所述最大动力学性能,并且其中工作循环的每个激励的持续时间为 0.4 秒,工作循环的每个弛豫的持续时间为 1 秒,通过开路提供所述弛豫,在每个激励期间测量至少 3 个输出电流值,所述激励具有 250mV 的基本恒电位,以及样品温度为 23°C。

[0016] 本发明公开了一种用于测量样品中的分析物浓度的方法,其包括:将包括至少一种分析物的含水样品引入至试剂组合物,所述试剂组合物包括:平均直径为 0.05 ~ 10 微米和空隙体积为至少 20% (v/v) 的多孔颗粒以及至少一种聚合物材料;用所述含水样品使所述试剂组合物再水合;将输入信号施加到所述含水样品;在将所述含水样品引入至所述试剂组合物的约 0.4 ~ 5 秒内测量至少一个输出信号电流值;以及从所述至少一个输出信号电流值测量所述含水样品中的至少一种分析物的浓度。

[0017] 通过考察附图和详细的说明,本发明的其他系统、方法、特征和优点对于本领域技术人员将变得显而易见。所有这些额外的系统、方法、特征和优点均意图包括在本说明书和本发明的保护范围之内,并被所附权利要求书保护。

附图说明

[0018] 结合下面的附图和说明可以更好地理解本发明。附图中的组成部分不必依照比例绘制,而是重点在于解释本发明的原理。

[0019] 图 1A 为经装配的传感带的立体图。

[0020] 图 1B 为移除了盖子的传感带的俯视图。

[0021] 图 2 为图 1B 的传感带的端视图。

[0022] 图 3 为利用包括固体粘土颗粒的试剂组合物从生物传感器的传感带得到的输出信号。

[0023] 图 4 为利用包括多孔氧化硅颗粒的试剂组合物从生物传感器的传感带得到的输出信号。

[0024] 图 5 为剂量响应图,显示在将血液样品引入传感带的约 2 秒内由多孔颗粒试剂组合物提供的基本上线性的剂量响应。

[0025] 图 6 代表用于测定与多孔颗粒试剂组合物接触的样品中分析物的存在和 / 或浓度的电化学分析方法。

[0026] 图 7 描绘了利用门控电流输入信号测量生物流体的样品中的分析物浓度的生物传感器的示意图。

具体实施方式

[0027] 本发明公开了一种用于生物传感器传感带的试剂组合物,其可以在干燥后快速再水合。所述组合物包括多孔颗粒并优选形成胶状悬浮液。多孔颗粒具有 0.05 ~ 10 微米的平均直径和至少 20% (v/v) 的空隙体积,并且优选由氧化硅构成。包括多孔颗粒的干燥试剂组合物可以在比从利用固体颗粒的干燥试剂组合物所观察到的更短时间内从传感带提供可用于分析的输出。包括多孔颗粒的干燥试剂组合物还允许试剂和分析物之间的氧化还原反应在比从利用固体颗粒的干燥试剂组合物所观察到的更短时间内达到最大动力学性能。

[0028] 来自包括多孔颗粒的试剂组合物的输出信号可以在约 2 秒内与样品的分析物浓度相关。相对于试剂组合物中利用粘土和其他固体颗粒的传统传感带而言,这是很大的改进,传统传感带可能需要超过 4 秒来提供与样品的分析物浓度相关的输出信号。

[0029] 图 1A 和图 1B 描述了传感带 100。图 1A 是包括传感器基部 110 的经装配的传感带 100 的立体图,传感带基部至少部分地被包括通风口 130、样品覆盖区 140 和输入端开口 150 的盖子 120 覆盖。部分封闭的储集器 160 在基部 110 和盖子 120 之间形成。还可以使用其他传感带设计。

[0030] 可以通过将液体引入开口 150 而将用于分析的液体样品转移到储集器 160 中。液体填充在储集器 160 中,同时通过通风口 130 排出先前含有的空气。储集器 160 可以包含帮助液体样品保留在储集器中的保留组合物(图未示)。保留组合物的例子包括诸如羧甲基纤维素和聚乙二醇等水膨胀性聚合物和诸如右旋糖苷和聚丙烯酰胺等多孔聚合物基质。

[0031] 图 1B 为移除了盖子 120 的传感带 100 的俯视图。导体 170 和 180 可以在介电层 190 下面从测量装置接口 155 分别连至工作电极 175 和反电极 185。工作电极 175 和反电极 185 可以大体在同一平面上,如图所示,或者在不同平面上(图未示)。工作电极 175 和反电极 185 可以与盖子 120 的上部隔开至少 100 μm 。介电层 190 可以部分地覆盖电极 175 和 185,并且可以由诸如绝缘聚合物等任何合适的介电材料制成。

[0032] 反电极 185 可以支持传感带 100 的工作电极 175 处的电学活性。通过从惰性物质(诸如碳)形成反电极 185 且使可溶性氧化还原物质(诸如铁氰化物介体)包括在储集器 160 内而将支持工作电极 175 处的电学活性的电位提供给传感器系统。在反电极 185 处的电位可以通过从氧化还原对(诸如 Ag/AgCl)形成反电极 185 而获得的参考电位,从而提供组合的参考-反电极。可选择地,传感带 100 可以设有第三导体和电极(图未示),以向传感器系统提供参考电位。

[0033] 图 2 为图 1B 的传感带的端视图,显示了工作电极 175 和反电极 185 的层结构。导体 170 和 180 可以直接设置在基部 110 上。表面导体层 270 和 280 任选地可以分别设置在导体 170 和 180 上。表面导体层 270、280 可以由与导体 170、180 相同或不同的材料制成。

[0034] 用于形成导体 170、180 和表面导体层 270、280 的材料可以包括任何电导体。优选的电导体为非电离的,使得材料在样品分析过程中不会发生净氧化或净还原。导体 170 和 180 优选包括诸如金、银、铂、钯、铜或钨等的金属膏或金属的薄层。表面导体层 270 和 280 优选包括碳、金、铂、钯或其组合。如果导体上不存在表面导体层,那么导体优选由非电离材料制成。

[0035] 表面导体材料可以通过与传感带操作兼容的任何常规方式沉积在导体 170 和 180 上,这些沉积方式包括箔沉积、化学气相沉积、浆料沉积等等。在浆料沉积的情况下,如美国专利 No. 5, 798, 031 中所述,可以油墨形式将混合物涂布在导体 170、180 上。

[0036] 试剂层 275 和 285 可以分别设置在导体 170 和 180 的附近和 / 或其上。术语“在…上 (on)”被定义为“在…上面”并且是相对于所描述的方向而言的。例如,如果第一组件沉积在第二组件的至少一部分之上,则写成“第一组件沉积在第二组件上”。在另一例子中,如果第一组件位于第二组件的至少一部分上面,则写成“第一组件在第二组件上”。使用术语“在…上”时并不排除在所描述的上部组件与下部组件之间还存在着物质。例如,第一组件可以在其顶面上具有涂层,而第一组件及其顶部涂层的至少一部分上面的第二组件可以写成“在第一组件上”。因此,使用术语“在…上”可以表示有关的两个组件进行物理接触或不进行物理接触。

[0037] 试剂层 275 和 285 由包括试剂和粘合剂的至少一种试剂组合物形成。粘合剂包括基本不溶于水的多孔颗粒和基本溶于水的至少一种聚合物材料。多孔颗粒为聚合物材料提供了额外的物理结构。粘合剂在被样品水合时可以形成凝胶或凝胶状物质。可选层 290 可以设置在导体 170 和 / 或表面导体层 270 上。可选层 290 可以缺乏试剂层 275 的一种或多种成分。

[0038] 试剂层 275 和 285 可以包括相同或不同的试剂。当包括的试剂相同时,试剂层 275 和 285 可以是同一层。当包括的试剂不同时,在第一试剂层 275 中的试剂可以选用为工作电极 175,而在第二试剂层 285 中的试剂可以选用为反电极 185。例如,试剂层 285 中的试剂可以包括可促进电子在样品和导体 180 之间自由流动的介质。同样,试剂层 275 中的试剂可以包括可促进分析物反应的酶系和可选介质。

[0039] 试剂层 275 可以包括对分析物具有特异性的酶系,该酶系可促进分析物的反应,同时增强传感器系统对分析物的特异性,尤其在复杂生物样品中。该酶系可以包括一种或多种参与分析物的氧化还原反应的酶、辅因子和 / 或其他部分。例如,醇氧化酶可用于提供对样品中醇的存在敏感的传感带。该系统可适用于测量血醇浓度。在另一例子中,葡萄糖脱氢酶或葡萄糖氧化酶可用于提供对样品中葡萄糖的存在敏感的传感带。例如,该系统可用于测量已知或疑似患有糖尿病的患者中的血糖浓度。

[0040] 试剂层 275 和 285 可通过诸如印刷、液体沉积或喷墨沉积等任何便利方式来沉积。诸如所使用材料的粘度以及筛网尺寸和乳液组合等因素可能影响试剂层 275 和 285 的厚度。当优选较薄的试剂层时,可使用印刷之外的沉积法,诸如微量吸管法、喷墨法或针销沉积法。这些沉积法一般产生诸如 1-10 μm 的微米或亚微米厚度的干试剂层。例如,针销沉积法可提供约 1 μm 平均厚度的试剂层。由针销沉积法所产生的试剂层的厚度,例如,可以由包括在试剂组合物中的聚合物材料和多孔颗粒的量所控制,粘合剂的量越高试剂层越厚。

[0041] 在传感带上沉积后,试剂组合物经干燥形成试剂层 275 和 285。在干燥过程中,多孔颗粒被认为保持了悬浮液各成分之间的空间并且减小了组合物引起密集结构的倾向,因而形成了与海绵的物理特征类似的结构。经再水合,水和诸如葡萄糖等分析物可以快速进入孔中,从而对组合物进行再水合。可以认为,颗粒中的孔为水提供了可比使用非孔颗粒更快地进入干燥组合物的内部区域。因而,干燥试剂组合物的物理结构和成分会影响含水样品对传感带的一个或多个试剂层进行再水合的速率。

[0042] 除了提供通过干燥试剂组合物的通道外,这些孔还可以大幅增加最初接触样品的一种或多种试剂成分的表面积。例如,通过颗粒的全部孔来吸附介体可以使介体比通过在固体颗粒外部干燥介体更快地接触样品。

[0043] 可以认为,无论是通过包括多孔颗粒的干燥试剂组合物的试剂的通道和/或其增加的表面积接触都可以提高试剂组合物的试剂再水合而提供与样品的分析物浓度相关的输出信号的速度。此外,由于减少了一些试剂组合物成分的分离,因而多孔颗粒可以延长传感带的保存期。这种成分分离的减少被认为能够更好地稳定活性酶系,因而减小了变性。

[0044] 优选的试剂组合物可以通过混合基本上不可溶的多孔颗粒、聚合物材料、缓冲剂、表面活性剂、介体和酶系来提供。优选的试剂组合物也可以通过不包括介体和酶系中的一种或两种来提供。然后,加入水形成具有所希望的稳定性的胶状悬浮液。试剂组合物可以包括很少或额外的成分。

[0045] 试剂组合物优选包括约 1%~30% (w/w) 的约为 20%~50% (w/w) 的多孔颗粒在水中的悬浮液。更优选地,组合物包括约 2%~15% (w/w) 的约为 20%~35% (w/w) 的多孔颗粒在水中的悬浮液。目前,特别优选的试剂组合物包括约 4%~8% (w/w) 的约为 23%~28% (w/w) 的多孔颗粒在水中的悬浮液。优选地,多孔颗粒悬浮液和聚合物材料之间的比例保持在约 1:10 (w/w)。其他的比例可用于为试剂组合物提供不同的粘度。可以认为,通过改变多孔颗粒与聚合物材料的比例而产生的胶体形态的改变可以归因于氢键作用。

[0046] 包含在试剂组合物中的优选多孔颗粒包括平均粒径优选为 0.05~10 微米 (μm)、更优选 0.1~5 μm 的多孔颗粒。目前,多孔颗粒的特别优选的平均粒径为 0.1~0.5 μm 。例如,平均直径为 0.1~1 μm 的多孔颗粒的混合物是目前特别优选的,其中混合物的平均直径为 0.3 μm 。多孔颗粒由一种或多种材料制成。粒径可以利用激光散射来测量,例如使用来自 Irvine, CA 的 Horiba Instruments 的 LA930 仪器。

[0047] 优选地,包含在试剂组合物中的多孔颗粒的空隙体积至少为 20% (v/v),更优选至少 40% (v/v)。目前,特别优选的多孔颗粒的空隙体积至少为 65% (v/v)。多孔颗粒的空隙体积可以通过测量与颗粒体积相关的颗粒孔内所保持的体积来测定,例如可以通过气体吸附(例如 BJK 氮气测孔仪)或水银测孔仪来测量。

[0048] 颗粒的平均孔体积可以为约 0.5~1 毫升/克 (mL/g),更优选为约 0.65~0.85 mL/g。优选地,至少为约 0.5 立方厘米/克 (cc/g),更优选至少为约 0.7 cc/g 或 0.9 cc/g 的孔体积是孔径为 600 埃(\AA)或更小的孔。衍生于粘度的孔体积可以根据例如美国专利 No. 6,841,609 中所描述的来测量。目前,特别优选的多孔颗粒其孔体积至少 80% 是孔径小于 300 \AA 的孔。多孔颗粒的平均表面积可以为约 100~200 平方米/克 (m^2/g),更优选约 140~180 m^2/g 。目前,特别优选的是平均表面积约 155~175 m^2/g 的多孔颗粒,例如来自 Columbia, MD 的 Grace Davison 的氧化硅多孔颗粒浆料 SYLOJET 733A (阴离子) 或 733C (阳离子)。

[0049] 虽然制成多孔颗粒的材料可以是基本上不溶于水溶液并与沉积和分析兼容的任何材料,但是由诸如氧化硅和沸石等无机物制成的颗粒是目前优选的。氧化硅是目前更优选的。能够使多孔颗粒在水介质中支持电荷的材料是优选的。诸如氧化硅等材料能够提供负电荷,诸如沸石等材料能够提供正电荷。氧化硅也可以经修饰而提供负电荷,如 ζ 电位

可达至少 +20mV 或更优选至少 +40mV。优选地,当颗粒悬浮在水中时,平均直径和制成多孔颗粒的材料用于形成胶体。除了无机物之外,也可以使用在水中基本不溶的有机物、陶瓷和其他材料。

[0050] 不同于试剂组合物的其他诸如基本溶于水的聚合物、缓冲剂、表面活性剂、水溶性介体和酶系等成分,多孔颗粒基本上不溶于水。不同于胶状悬浮液,溶液在溶解的分子和溶剂之间缺乏明确的界面。在溶液中,溶解的分子和溶剂直接接触,而在胶状悬浮液中,颗粒表面与载液直接接触。因而,载液不溶解构成胶体的多孔颗粒;相反,载液“承载”颗粒。通过承载颗粒形成悬浮液。

[0051] 悬浮的多孔颗粒和它们保留在其中的载液或液体混合物之间的界面在测量形成试剂组合物的胶状悬浮液的行为和能力中占主导作用。如果形成胶体的颗粒是分散的或抗絮凝的,例如不会团聚或絮凝,那么胶状悬浮液可被认为是稳定的。通常,关于胶状悬浮液的术语稳定性是指悬浮液对随时间而变化的抵抗性。

[0052] 诸如范德华力等远距离的吸引力被认为是将颗粒聚到一起的力。当胶体颗粒聚到一起时,胶状悬浮液变得不稳定。这种不稳定通常称作团聚或絮凝,并且会导致团聚的颗粒从胶状悬浮液中沉淀下来。可选择地,库仑力、空间位阻和其他排斥相互作用被认为可以使胶体颗粒相互排斥。如果颗粒不能团聚在一起,胶状悬浮液的稳定性就会增加,同时絮凝会减少。当至少 90% (w/w) 的颗粒可以被观察到是个体而不是团聚成两个或更多个颗粒的团聚体时,胶状悬浮液对于絮凝是稳定的。这种测量是通过将悬浮液稀释至 1ppm 颗粒,再将稀释的悬浮液放到载物片上,然后用光学显微镜进行观察来完成的。

[0053] 优选地,通过改变多孔颗粒在水中的量,使试剂组合物形成为胶状悬浮液。更优选地,使试剂组合物形成为对于絮凝稳定的胶状悬浮液。应该被加入以形成胶状悬浮液并产生所希望的试剂组合物粘度的颗粒的优选量由颗粒的性质、载液的极性和在试剂组合物的 pH 值下颗粒携带的电荷决定。除了颗粒的加入量和其他试剂组合物成分的量 and 性质外,形成颗粒的材料也可能改变,从而在相似体积量下引起更小或更大的稳定性,这取决于载液。

[0054] 试剂组合物优选包括约 0.1 ~ 10% (w/w) 的聚合物材料,更优选约 0.8 ~ 3% (w/w)。目前,特别优选的试剂组合物包括约 1 ~ 1.5% (w/w) 的聚合物材料。用作粘合剂的合适的基本上溶于水的聚合物材料可以包括:聚环氧乙烷 (PEO)、羧甲基纤维素 (CMC)、聚乙烯醇 (PVA)、羟甲基纤维素 (HEC)、羟丙基纤维素 (HPC)、乙基羟乙基纤维素、羧甲基乙基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、聚氨基酸(例如聚赖氨酸)、聚苯乙烯磺酸酯、明胶、丙烯酸、甲基丙烯酸、顺丁烯二酸酐、其盐、其衍生物及其组合。聚合物材料包括单体、预聚物和其他形成或具有重复单元的材料。其他聚合物材料也可使用。

[0055] 在这些聚合物材料中,PEO、PVA、CMC 和 HEC 是优选的,PVA 是目前更优选的。对于 PVA,重均分子量 (M_w) 为约 8,000 ~ 1,000,000 是优选的, M_w 为 15,000 ~ 250,000 是更优选的。目前, M_w 为约 30,000 ~ 50,000 的 PVA 是特别优选的。

[0056] 试剂组合物优选包括约 0.01 ~ 1% (w/w) 的表面活性剂,更优选约 0.01 ~ 0.5% (w/w)。目前,约 0.03 ~ 0.2% (w/w) 的表面活性剂是特别优选的。表面活性剂可以是有助于形成具有所希望的粘度和稳定性的胶状悬浮液并且与沉积方法和分析兼容的任何表面活性剂。目前,诸如 N-辛酰基-N-甲基-D-葡萄糖胺(作为 MEGA 8 出售,可从 DOJINDO, Gaithersburg, MD 获得)等糖类表面活性剂是优选的。例如,这种表面活性剂每分子包

括大约 8 个氧化乙烯单元。其他优选的表面活性剂是乙氧基化物系的中性表面活性剂, 如 PEG-30 四甲基癸炔二醇表面活性剂 (例如, 从 Air Products, Allentown, PA 得到的 SURFYNOL 485)。能够提高传感带的样品填充率和 / 或有助于稳定酶系的表面活性剂是优选的。

[0057] 试剂组合物优选包括保持胶状悬浮液的 pH 值为约 4.5 ~ 7.5 的缓冲剂, 更优选约 5 ~ 7。可以选择试剂组合物的优选 pH 值和缓冲剂以保持酶活性。虽然柠檬酸盐系缓冲剂是目前优选的, 但是其他的也可使用。引入到试剂组合物中的缓冲剂的浓度可以为约 10 ~ 100 毫摩尔 (mM)。缓冲剂溶液也可使用其他浓度。

[0058] 试剂组合物可以包括基本溶于水的单或双电子介体。基于它们的电化学活性, 介体可以分成两类。单电子转移介体是在电化学反应的条件下能够获取一个额外电子的化学基团, 而双电子转移介体是在反应的条件下能够获取两个额外电子的化学基团。当使用诸如铁氰化物等单电子转移介体时, 优选约 0.5 ~ 10% (w/w), 更优选约 1.5 ~ 2.5% (w/w)。单电子转移介体的例子包括诸如 1,1'-二甲基二茂铁、亚铁氰化物和铁氰化物以及六胺合钌 (III) 和六胺合钌 (II) 等化合物。

[0059] 尽管可以使用其他介体, 但双电子转移介体是优选的, 因为与单电子转移介体相比, 在相同介体摩尔量的情况下, 其能够将大约 2 倍的电子从酶系转移至工作电极。因而, 与单电子转移介体相比, 在试剂组合物中可以使用更少量的双电子转移介体。

[0060] 双电子转移介体的例子包括有机醌和对苯二酚, 例如菲啉醌; 吩噻嗪和吩噻嗪衍生物; 3-(苯基氨基)-3H-吩噻嗪; 吩噻嗪; 以及 7-羟基-9,9-二甲基-9H-吖啶-2-酮及其衍生物。优选的双电子转移介体包括 3-苯基亚氨基-3H-吩噻嗪 (PIPT) 和 3-苯基亚氨基-3H-吩噻嗪 (PIPO)。更优选的双电子介体包括吩噻嗪衍生物的羧酸或盐, 例如铵盐。目前, 特别优选的双电子介体包括 (E)-2-(3H-吩噻嗪-3-亚基氨基) 苯-1,4-二磺酸、(E)-5-(3H-吩噻嗪-3-亚基氨基) 间苯二甲酸、(E)-3-(3H-吩噻嗪-3-亚基氨基)-5-羧基苯甲酸铵及其组合。其他双电子介体的例子包括美国专利 No. 5,393,615、5,498,542 和 5,520,786 中所述的电活性有机分子。

[0061] 试剂组合物也可包括基本溶于水的酶系, 其具有由制造商指定的每微升 (μL) 试剂组合物约 0.1 ~ 10 活性单位的单位活性, 更优选每 μL 试剂组合物约 1 ~ 2 活性单位。由于提供特定单位活性所需的酶的固体重量基本上会因配制批次和制造商改变, 因而制造商对于干燥酶组合物的特定重量所提供的单位活性优选被用于测定加入量。

[0062] 用于试剂组合物的酶系中的优选酶包括: 醇脱氢酶、乳酸脱氢酶、 β -羟基丁酸脱氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、葡萄糖脱氢酶、甲醛脱氢酶、苹果酸脱氢酶和 3-羟基类固醇脱氢酶。优选的酶系是不依赖氧的, 因此基本上不被氧所氧化。

[0063] 一种不依赖氧的酶系为葡萄糖脱氢酶 (GDH)。使用不同辅酶或辅因子, GDH 可以不同方式由不同介体所介导。根据它们与 GDH 的缔合情况, 诸如黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD) 等辅因子可由主酶紧固, 例如 FAD-GDH 的情况; 或诸如吡咯并喹啉醌 (PQQ) 等辅因子可与主酶共价连接, 例如 PQQ-GDH 的情况。在这些酶系中的每一个中的辅因子可由主酶或辅酶固定, 脱辅酶可在将酶系添加至试剂组合物之前重构。辅酶也可独立地加入试剂组合物中的主酶基团中以促进主酶的催化功能, 例如在烟碱酰胺腺嘌呤二核苷酸 NAD/NADH⁺ 或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 NADP/NADPH⁺ 的情况下。

[0064] 用于生物传感器传感带的传统试剂组合物已经使用了多种类型不溶于水的固体颗粒以调整组合物的流变性或粘性。传统试剂组合物已经使用了表面经修饰以提供亲水和疏水特性的固体氧化硅颗粒,如美国专利 No. 5, 951, 836 中所述的。具有亲水性内部和经修饰的疏水性外部的固体颗粒破裂后会暴露出亲水性内部。这些固体颗粒,无论完整或破裂的,可以直接与先前所述的多孔颗粒相比,后者包括为颗粒提供内部空间的孔并且不需要利用疏水性增强剂来修饰。

[0065] 与固体颗粒不同,多孔颗粒允许试剂组合物的小的、水溶性成分进入到孔结构中,同时排斥较大的水溶性成分,例如酶和聚合物材料。因而,在试剂组合物悬浮液的形成过程中,水溶性介体可以进入孔中。干燥时,介体、缓冲剂和表面活性剂被认为保留在颗粒的孔中,而较大的聚合物材料和酶系留在颗粒的孔的外部。

[0066] 酶和聚合物材料通常具有超过 5 纳米 (nm) 的尺寸范围,而葡萄糖和铁氰化物分子的尺寸通常小于 1nm。因而,多孔颗粒的优选孔径小于约 5nm。根据至少部分地排斥聚合物材料和酶同时允许介体和分析物进入的要求,其他孔径也可应用。

[0067] 图 3 为从包括葡萄糖浓度为 100 或 400mg/dL 的血液样品的生物传感器传感带得到的输出信号。用于传感带的试剂组合物的粘合剂包括固体粘土颗粒。粘土是有机 / 粘土四烷基铵膨润土,例如从 NL Chemicals, Brussels, Belgium 作为 BENTONE EW 得到。通过测量装置输入至传感带的信号是门控电流脉冲序列,该信号包括由 4 个弛豫间隔的 5 个脉冲激励,例如美国专利申请公开 2008/0173552 中所述的。激励的持续时间约为 1 秒,弛豫的持续时间约为 0.5 秒。每个激励过程中记录 8 个输出电流值。

[0068] 为将来自输入信号的输出电流值与样品的分析物浓度相关联,来自激励的初始电流值优选大于衰变过程中的值。图 3 中来自传感带的输出信号没有显示出初始高电流值,该电流值直到血液样品引入至传感带后约 3 秒才衰变。因而,在对应于 400mg/dL 样品的输出电流 310 和对应于 100mg/dL 样品的输出电流 315 中可以观察到具有高初始电流值,然后是衰变电流值的第一输出电流。

[0069] 为将来自输入信号的输出电流值与样品的分析物浓度相关联,不同的样品分析物浓度在各输出信号电流值之间也优选显示出基本上恒定的差值。因而,图 3 中 100 和 400mg/dL 的葡萄糖样品之间的电流差应该是基本相同的,400mg/dL 样品的电流值更高。然而,来自图 3 的传感带的输出信号直到 6 ~ 7 秒过去对于葡萄糖浓度为 100 和 400mg/dL 的血液样品仍没有显示出电流值之间的基本上恒定的差值。当将 400mg/dL 样品的初始电流值 (320、330 和 340) 与 100mg/dL 样品的初始电流值 (325、335 和 345) 相比时,可以看出这一点。从图 3 中可以看出,电流值 330 和 335 之间的电流差大于电流值 320 和 325 之间的电流差,因而确定了这些输出电流值与样品的分析物浓度的相关性会导致不准确。将样品引入至传感带后直到 6 ~ 7 秒过去,才观察到输出信号电流值 340 和 345 之间的基本上恒定的差值。

[0070] 优选地,与样品的分析物浓度相关的输出电流值也从包括反映传感带最大动力学性能的电流数据的衰变中获得。产生输出电流的氧化还原反应的动力学受多种因素的影响。这些因素可以包括试剂组合物再水合的速率、酶系与分析物反应的速率、酶系转移电子至介体的速率和介体转移电子至电极的速率。在以上这些和其他影响输出电流的动力学因子中,试剂组合物再水合的速率被认为具有最大的影响。

[0071] 在门控电流脉冲序列的激励过程中,当具有衰变电流值的激励的初始电流值是从

多个激励获得的最大初始电流值时,可以达到传感带的最大动力学性能。优选地,当从具有衰变电流值的激励获得的电流终值是从多个激励获得的最大电流终值时,可以达到传感带的最大动力学性能。更优选地,在从具有衰变电流值的激励的初始电流值是从多个激励获得的最大初始电流值时起至从同一激励获得的电流终值是从多个激励获得的最大电流终值时的时间段内,可以达到传感带的最大动力学性能。

[0072] 用于测量传感带的最大动力学性能的门控电流脉冲序列包括至少 5 个工作循环,其激励的持续时间为 0.4 秒,弛豫的持续时间为 1 秒,包括通过样品的零电流并且通过开路提供。在每个激励期间测量至少 3 个输出电流值。输入至传感带的电位保持基本不变,为 250mV,样品温度为 23°C。

[0073] 在图 3 中,对于使用固体粘土颗粒的试剂组合物并包括 100mg/dL 葡萄糖样品的传感带,在从将样品引入至传感带开始的 3 至 4 秒之间,在包括输出电流 315 的激励衰变过程中输出电流达到最大动力学性能。因为在输出电流 315 中同时存在从具有衰变电流值的激励获得的最大初始电流值和最大电流终值,因而确定了这一点。

[0074] 然而,对于图 3 中包括 400mg/dL 葡萄糖的传感带,从具有衰变电流值的激励获得的最大电流终值是输出电流 310 中的电流值 321,而最大初始电流值是来自之后的激励衰变的电流值 330。因而,对于图 3 中更高的 400mg/dL 葡萄糖浓度的样品而言,从将样品引入至传感带直到约 4 秒至约 5 秒之间的时间过去并没有达到最大动力学性能。由于来自具有衰变电流值的激励的最大初始电流值不是电流值 320,而是之后观察到的电流值 330,因此直到从将样品引入至传感带的 3 秒过去后的一段时间反应没有达到最大动力学性能。同样,由于电流终值 322 不是从具有衰变电流值的激励观察到的最大值,因此在将样品引入至传感带 5 秒后反应即刻经过最大动力学性能的点。

[0075] 与图 3 中来自固体粘土配方的输出信号相比,图 4 显示得自以下实施例 1 的使用包括多孔氧化硅颗粒的试剂组合物的生物传感器传感带的输出信号。通过测量装置输入至传感带的信号是包括由 7 个弛豫隔离的 8 个激励的门控电流脉冲序列,例如美国专利申请公开 2008/0173552 中所述的。通过第 8 个激励的持续时间约为 0.4 秒,通过第 7 个弛豫的持续时间约为 1 秒。在通过第 8 个激励的持续时间内记录 3 个输出电流值。

[0076] 对于输出电流值 410(300mg/dL) 和 415(100mg/dL),在 2 秒内观察到在包括 60% 血细胞比容 (v/v) 的葡萄糖浓度为 100 和 300mg/dL 的血液样品之间的基本上恒定的差值,从而允许在约 3 秒或更少的时间内测定样品的葡萄糖浓度。此外,将样品引入至传感带后约 125 毫秒 (ms) 记录到的初始电流值是分散的,较高浓度 300mg/dL 样品的初始电流值 420 大于 100mg/dL 样品的初始电流值 425。激励电流值也从第一个激励开始减小,有效地消除了图 3 中分析的第一个 2 秒,在此期间,来自前两个激励的输出电流值增加。因而,来自图 4 中多孔颗粒试剂组合物的输出信号提供了用于与将样品引入至传感带约 2 秒后血液样品的葡萄糖浓度相关的电流值。

[0077] 将得自图 4 中包括多孔颗粒的试剂组合物的结果与得自图 3 中包括固体颗粒的试剂组合物的结果相比,在图 3 中输出信号的第 1 秒期间,100 和 400mg/dL 样品的输出电流值几乎相同。这一结果表明,在葡萄糖分析物、图 3 中包括固体颗粒的试剂组合物的酶系和介质之间的氧化还原反应直到将样品引入至传感带后约 2 秒还没有任何实质性程度的开始。多孔颗粒试剂组合物的这种增强的性能被认为是源于由多孔颗粒提供的试剂对样品的增

强可用性。

[0078] 关于包括多孔颗粒试剂组合物的传感带的最大动力学性能,图 4 中的输出电流值确定了在将样品引入至传感带的约 2 ~ 2.2 秒内对于 100 和 300mg/dL 葡萄糖样品均可获得最大动力学性能。因为电流值 430 包括了 300mg/dL 样品的最大初始电流值和最大电流终值,电流值 440 包括了 100mg/dL 样品的最大初始电流值和最大电流终值,所以确定了这一点。

[0079] 与图 3 中固体粘土颗粒的试剂组合物不同,对于 100 和 300mg/dL 葡萄糖两种样品,在从引入样品起基本上相同的约 2 ~ 2.2 秒内,图 4 中的多孔颗粒试剂组合物提供了最大动力学性能。因而,多孔颗粒试剂组合物在样品引入的小于约 3 秒内提供了传感带的最大动力学性能,优选在样品引入的小于约 2.5 秒内。更优选地,在将样品引入至传感带的约 2 ~ 2.5 秒内观察到最大动力学性能。多孔颗粒试剂组合物的额外优点在于,观察到反应的最大动力学性能的时间基本上不依赖于样品的分析物浓度,图 3 中观察到的固体粘土颗粒试剂组合物就是这种情况。

[0080] 图 5 为剂量响应图,显示在将血液样品引入传感带的约 2 秒时间内由多孔颗粒试剂组合物提供的基本上线性的剂量响应。通过从具有相同血型的两男两女抽取血液放入预先在约 23-25℃ 下培养约 24±2 小时的含肝素钠的管中,制备血液样品。培养后,合并血液,将血细胞比容水平调整至约 41-43%。然后将血液分成 6 等份,20% 的葡萄糖储备液用来在每一等份中产生不同的葡萄糖浓度。

[0081] 将 6 等份中的每一等份引入至 10 个传感带,来自 10 个传感带的每个等份的输出电流值被平均,并根据对于每个等份测量的参考葡萄糖浓度在图 5 中绘制出来。使用参考仪器获得参考浓度值,例如得自 YSI Inc., Yellow Springs, Ohio 的 YSI 2300STAT PLUS™。传感带使用以下实施例 1 的包括多孔氧化硅颗粒的试剂组合物。通过测量装置输入至传感带的信号是门控电流脉冲序列,如先前结合图 4 所描述的。选定用于平均的输出电流是在约 2.125、3.5 和 5 秒的激励时第一次记录的。从每个直线的 R^2 值中可以看到,在 2.125 秒时从约 50 ~ 550mg/dL 葡萄糖样品获得的葡萄糖浓度值的线性在 R^2 为 0.999 时与不同葡萄糖浓度下在 3 和 5 秒时测定的葡萄糖浓度值的线性基本上相同。

[0082] 因而,使用包括多孔氧化硅颗粒的试剂组合物的传感带在将样品引入至传感带的约 2.2 秒或更少的时间内提供了与样品的分析物浓度相关的电流值。获得与样品的分析物浓度相关的输出电流值的优选时间段是将样品引入至传感带后的小于约 5 秒,更优选小于约 3 秒。目前,优选在将样品引入至传感带后的约 0.4 ~ 5 秒内获得与样品的分析物浓度相关的输出电流值,更优选在将样品引入至传感带后的约 1.7 ~ 2.7 秒内。优选地,对于全血中的葡萄糖分析,从约 50 ~ 550mg/dL 葡萄糖测量的浓度值其 R^2 相关值为至少 0.85,更优选至少 0.90。

[0083] 图 6 代表用于测定与包括多孔颗粒的试剂组合物接触的样品中分析物的存在和 / 或浓度的电化学分析方法。在 610 中,将样品引入至包括多孔颗粒试剂组合物的生物传感器。在 620 中,样品中的一部分分析物发生氧化还原反应。在 630 中,任选地将电子从分析物转移至介体。在 640 中,可测量物质被输入信号电化学激励。在 650 中,产生输出信号并测量。在 660 中,样品经历弛豫,在 670 中,输入至少一个额外的激励脉冲。在 680 中,从输出信号测量样品的存在和 / 或浓度,在 690 中,浓度可以被显示、储存等等。

[0084] 在 610 中,将样品引入生物传感器的传感器部分,例如传感带。传感带包括至少一个工作电极和至少一个反电极。各电极包括一个或多个试剂层,至少一个试剂层由包括多孔颗粒的试剂组合物形成。相同的试剂组合物可以用在工作电极和反电极上,或者不同的试剂组合物可以用来使电极的操作便利。例如,工作电极上的试剂组合物能够有助于分析物的反应,例如酶系和介体,而在反电极上的试剂组合物有助电子在样品和电极表面之间自由流动,例如还原性物质。

[0085] 在 620 中,样品中存在的一部分分析物被化学或生物化学地氧化或还原,如被氧化还原酶氧化或还原。随着样品使多孔颗粒试剂组合物中的试剂水合而发生这种情况。经氧化或还原,在 630 中电子任选地可以在分析物和介体之间转移。因而,从诸如分析物或介体形成电离的可测量物质。

[0086] 在 640 中,作为在 620 中带电荷的分析物或在 630 中带电荷的介体的可测量物质被输入信号电化学激励(被氧化或被还原)。输入信号可以是在固定序列中产生脉动或打开和关闭的电信号,例如电流或电位。输入信号是由弛豫间隔的激励脉冲的序列。在电流脉冲中,激励期间施加的电位在整个持续时间内优选是基本上恒定的电压和极性。将其与一些传统激励直接相对比,在传统激励的数据记录期间,电压变化或“扫描”通过多个电压电位和/或极性。

[0087] 输入信号可以具有一个或多个脉冲间隔。脉冲间隔是构成工作循环的脉冲和弛豫的总和。每个脉冲都具有幅值和宽度。幅值指示电信号的电位或电流等的强度。幅值可以变化或基本恒定,例如在电流分析期间或在脉冲期间。脉冲宽度是脉冲的持续时间。输入信号中的脉冲宽度可以变化或基本相同。每个弛豫都具有弛豫宽度,即弛豫的持续时间。输入信号中的弛豫宽度可以变化或基本相同。

[0088] 通过调整工作循环的激励和弛豫的宽度,门控输入信号可以提高分析的准确度和/或精确度。优选的输入信号包括在小于 2、3 或 5 秒时间内施加的至少 2、3、4 或 8 个工作循环。更优选地,至少 2 个工作循环在 3 秒内施加。优选地,每个激励脉冲的宽度从 0.1 和 2 秒之间独立地选择,更优选从 0.2 和 1 秒之间独立地选择。目前,特别优选的输入信号脉冲宽度从 0.3 和 0.8 秒之间独立地选择。优选的脉冲间隔在小于 3、2.5 或 1.5 秒的范围内。目前,脉冲宽度为 0.3 ~ 0.5 秒且脉冲间隔为 0.7 ~ 2 秒的输入信号是特别优选的。输入信号可以具有其他脉冲宽度和间隔。

[0089] 在 650 中,生物传感器响应于可测量物质和输入信号产生输出信号。输出信号,例如一个或多个电流值,可以连续或间隔地测量,并且可以作为时间的函数记录下来。适当的输出信号可以包括达到稳态的信号和瞬时的信号。当电流变化随时间基本恒定时观察到稳态电流值,例如变化在 ± 10 或 $\pm 5\%$ 之内。瞬时电流值随时间衰变。

[0090] 在 660 中,样品经历弛豫。测量装置可以通过传感带打开电路,因而允许弛豫。在弛豫 660 期间,在激励 640 期间存在的电流基本上减少至少一半,优选减少一个数量级,更优选减至零。优选地,零电流状态由开路或本领域技术人员所知的其他方法来达成,以提供基本上零电流流动。优选地,在弛豫 660 期间没有记录输出信号。

[0091] 在 670 中,生物传感器在需要时间内连续地将脉冲从输入信号施加至工作电极和反电极。可以重复包括激励 640 和弛豫 660 的工作循环,或者可以施加具有不同脉冲宽度和/或间隔的工作循环。

[0092] 在 680 中, 通过将一或多个电流值与样品的分析物浓度相关联, 生物传感器分析输出信号电流值。优选地, 在 610 中将样品引入至传感带的小于约 3 秒内从来自初始电流值大于之后的衰变电流值的激励记录与样品的分析物浓度相关的输出电流值。更优选地, 在 610 中将样品引入至传感带的小于约 3 秒内获得与样品的分析物浓度相关的输出电流值, 并且该输出电流值是从激励记录的第一电流值, 在该激励中第一电流值之后的电流值减小。再更优选地, 在 610 中将样品引入至传感带的小于约 3 秒内获得与样品的分析物浓度相关的输出电流值, 该输出电流值是从激励记录的第一电流值, 在该激励中第一电流值之后的电流值减小, 并且在传感带的最大动力学性能期间获得该输出电流值。也可以分析额外的电流、时间和 / 或其他值。在 690 中, 分析物浓度值可以被显示、储存以供将来参考和 / 或用于其他计算。

[0093] 图 7 描绘了利用门控电流输入信号测量生物流体的样品中的分析物浓度的生物传感器 700 的示意图。生物传感器 700 包括可以在任何分析仪器中实施的测量装置 702 和传感带 704, 包括台式装置、便携式装置或手持式装置等。生物传感器 700 可用来测量分析物浓度, 包括葡萄糖、尿酸、乳酸盐、胆固醇、胆红素等。虽然显示了生物传感器 700 的特定构造, 但它可具有其他构造, 包括具有额外部件的构造。

[0094] 传感带 704 具有形成样品储集器 708 和具有开口 712 的通道 710 的基底 706。储集器 708 和通道 710 可被具有通风口的盖子所覆盖。储集器 708 限定了部分封闭的容积。储集器 708 可含有帮助保持液体样品的组分, 例如水膨胀性聚合物或多孔状聚合物基质。可将试剂沉积在储集器 708 和 / 或通道 710 中。用来形成工作电极 704 的试剂组合物包括多孔颗粒并且可以包括一种或多种酶系、介体等物质。可以使用相同或不同的试剂组合物形成反电极 705, 优选使用缺乏酶系的试剂组合物。传感带 704 还可以具有设置在储集器 708 附近的样品接口 714。样品接口 714 可以部分或完全地环绕在储集器 708 周围。传感带 704 可具有其他构造。

[0095] 样品接口 714 具有与工作电极 704 和反电极 705 相连接的导体 709。各电极可以基本在同一平面上或者在多于一个的平面上。电极 704 和 705 可以设置在形成储集器 708 的基底 706 的表面上。电极 704 和 705 可以延伸或突出至储集器 708 内。介电层可部分地覆盖导体 709 和 / 或电极 704 和 705。样品接口 714 可以具有其他电极和导体。

[0096] 测量装置 702 包括与传感器接口 718 和显示器 720 相连接的电路 716。电路 716 包括与信号发生器 724、可选的温度传感器 726 和存储介质 728 相连接的处理器 722。

[0097] 信号发生器 724 响应于处理器 722 将电输入信号提供给传感器接口 718。电输入信号可由传感器接口 718 传输至样品接口 714, 以将电输入信号施加至生物流体的样品。电输入信号可以是电位或电流, 并且可以多脉冲、序列或循环方式施加。信号发生器 724 也可作为发生器 - 记录器记录来自传感器接口的输出信号。

[0098] 可选的温度传感器 726 测量处于传感带 704 的储集器中的样品的温度。样品温度可以被测量, 可以从输出信号计算, 或者假定与环境温度或实施生物传感器系统的装置的温度相同或相似。可以使用热敏电阻计、温度计或其他温度感测装置来测量温度。其他技术可用来测量样品温度。

[0099] 存储介质 728 可以是磁存储器、光学存储器或半导体存储器、其他存储装置等。存储介质 728 可以是固定存储装置、诸如存储卡等可移动存储装置或远程访问的存储装置

等。

[0100] 处理器 722 利用储存在存储介质 728 中的计算机可读软件代码和数据来实施分析物分析和数据处理。处理器 722 可以响应于传感器接口 718 处传感带 704 的存在、将样品应用到传感带 704 上、响应于使用者的输入等而开始分析物的分析。处理器 722 指示信号发生器 724 向传感器接口 718 提供电输入信号。处理器 722 可以从可选的温度传感器 726 接收样品温度。处理器 722 从传感器接口 718 接收输出信号。该输出信号是响应于储集器 708 中的分析物的氧化还原反应而产生的。

[0101] 优选地,处理器 722 测量输出信号,以在将样品引入至传感带 704 的小于约 3 秒内从来自初始电流值大于之后的衰变电流值的激励获得电流值。更优选地,处理器 722 测量输出信号,以在将样品引入至传感带 704 的小于约 3 秒内获得电流值,并且该处理器获得从激励记录的第一电流值,在该激励中第一电流值之后的电流值连续减小。再更优选地,处理器 722 测量输出信号,以在将样品引入至传感带 704 的小于约 3 秒内获得电流值,获得从激励记录的第一电流值,在该激励中第一电流值之后的电流值连续减小,并且在传感带的最大动力学性能期间获得电流值。

[0102] 利用处理器 722 中的一个或多个相关方程式可以将一个或多个获得的电流值与样品的分析物浓度相关联。分析物分析的结果可以被输出至显示器 720 并可以储存在存储介质 728 中。优选地,分析物分析的结果可以在将样品引入至传感带的至多 5 秒内被输出至显示器 720,更优选地,结果可以在将样品引入至传感带的至多 3 秒内被输出至显示器 720。

[0103] 可以图形方式、数学方式、其组合或类似方式来表示使分析物浓度与输出电流值相关的相关方程式。可通过储存在存储介质 728 中的程序号码分配 (PNA) 表、另一种查询表等来表示相关方程式。可由储存在存储介质 728 中的计算机可读软件代码来提供与分析物分析的实施有关的指令。代码可以是目标代码或者描述或控制本文所述功能的任何其他代码。可在处理器 722 中对来自分析物分析的数据进行一种或多种数据处理,包括测定衰变速率、K 常数和比例等。

[0104] 传感器接口 718 具有与传感带 704 的样品接口 714 中的导体 709 连接或电连通的接触点。传感器接口 718 将电输入信号从信号发生器 724 通过接触点传输至样品接口 714 中的导体 709。传感器接口 718 也将输出信号从样品通过接触点传输至处理器 722 和 / 或信号发生器 724。

[0105] 显示器 720 可以是模拟型或数字型的。该显示器可以是适合显示数值读数的 LCD。

[0106] 在使用中,通过将样品引入开口 712 而将用于分析的样品转移至储集器 708 内。该样品流经通道 710,填入储集器 708 内,同时排出之前所含有的空气。样品与沉积在通道 710 和 / 或储集器 708 中的试剂发生化学反应。优选地,样品是流体,更优选地,是液体。

[0107] 传感带 702 与测量装置 702 邻近设置。邻近包括样品接口 714 与传感器接口 718 电连通的位置。电连通包括输入和 / 或输出信号在传感器接口 718 中的接触点与样品接口 714 中的导体 709 之间的有线或无线传输。

[0108] 下面提供的实施例描述了本发明的一个或多个优选的实施方案。在本发明的范围内可以对下面的实施例做出多种变化。

[0109] 实施例

[0110] 用于混合形成以下试剂组合物的各组分从多种来源获得。通常, PVA、柠檬酸、

K_2HPO_4 、铁氰化钾和 MEGA8 表面活性剂从 Sigma-Aldrich, St. Louis, MO 获得。Surfynol 485 表面活性剂从 Air Products, Allentown, PA 获得。酶系从 Amano Enzymes, Nagoya, Japan 获得。多孔颗粒氧化硅浆料从 Grace Davison, East Chicago, IN 获得。

[0111] 实施例 1: 试剂组合物 I

[0112] 通过在 38.67g 水中混合下表 I 的各组制备试剂组合物。多孔颗粒浆料包括约 25.3% 的多孔颗粒, pH 值为 7.5, 混合物中颗粒的平均直径约为 $4\mu m$ (利用 Horiba LA-910 的 D99.9 测量), 每个颗粒的平均孔体积约为 0.74mL/g (N_2 吸附), 每个颗粒的平均表面积约为 $163\text{m}^2/\text{g}$ (N_2 吸附)。对于实施例 2-9, 浆料包括约 29.9% 的多孔颗粒, pH 值为 4, 混合物中颗粒的平均直径约为 $1.20\mu m$ (利用 Horiba LA-910 的 D99.9 测量), 每个颗粒的平均孔体积约为 0.70mL/g (N_2 吸附)。

[0113] 表 I

[0114]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 ($M_w = 30,000-50,000$, $\sim 87\%$ 水解)	0.6
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 25% w/w)	6
100mM 柠檬酸盐缓冲液, pH = 5	50
MEGA8 (水中 10% w/w)	2
铁氰化钾	1.98
FAD-GDH 酶系 (单位活性约 1.5 单位 / μL 试剂组合物)	0.75 (从制造商获得时的固体重量)

[0115] 实施例 2: 试剂组合物 II 通过在 26.92g 水中混合下表 II 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0116] 表 II

[0117]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 ($M_w = 30,000-50,000$, $\sim 87\%$ 水解)	0.5
羟基亚乙基纤维素 ($M_w = 300,000$)	0.2
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	6
柠檬酸	0.14
K_2HPO_4	0.26

SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0118] 实施例 3:试剂组合物 III

[0119] 通过在 29.18g 水中混合下表 III 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0120] 表 III

[0121]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 ($M_w = 30,000-50,000, \sim 87\%$ 水解)	0.1
羟基亚乙基纤维素 ($M_w = 300,000$)	0.15
聚丙烯酸钠 ($M_w = 7,000$)	0.15
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	2
柠檬酸	0.14
K_2HPO_4	0.26
SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0122] 实施例 4:试剂组合物 IV

[0123] 通过在 27.42g 水中混合下表 IV 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0124] 表 IV

[0125]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 ($M_w = 30,000-50,000$)	0.05
羟基亚乙基纤维素 ($M_w = 300,000$)	0.15
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	1
柠檬酸	0.14
K_2HPO_4	0.26
SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0126] 实施例 5:试剂组合物 V

[0127] 通过在 27.37g 水中混合下表 V 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0128] 表 V

[0129]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 ($M_w = 30,000-50,000$)	0.1
羟基亚乙基纤维素 ($M_w = 300,000$)	0.15
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	1
柠檬酸	0.14
K_2HPO_4	0.26
SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0130] 实施例 6:试剂组合物 VI

[0131] 通过在 26.37g 水中混合下表 VI 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0132] 表 VI

[0133]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 ($M_w = 30,000-50,000$)	0.1
羟基亚乙基纤维素 ($M_w = 300,000$)	0.15
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	2
柠檬酸	0.14
K_2HPO_4	0.26
SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0134] 实施例 7:试剂组合物 VII

[0135] 通过在 27.28g 水中混合下表 VII 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0136] 表 VII

[0137]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 (Mw = 30,000-50,000)	0.15
羟基亚乙基纤维素 (Mw = 300,000)	0.15
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	2
柠檬酸	0.14
K ₂ HPO ₄	0.26
SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0138] 实施例 8 :试剂组合物 VIII

[0139] 通过在 26.28g 水中混合下表 VIII 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0140] 表 VIII

[0141]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 (Mw = 30,000-50,000)	0.15
羟基亚乙基纤维素 (Mw = 300,000)	0.15
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	3
柠檬酸	0.14
K ₂ HPO ₄	0.26
SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0142] 实施例 9 :试剂组合物 IX

[0143] 通过在 29.13g 水中混合下表 IX 的组分制备缺少酶系的试剂组合物。

[0144] 表 IX

[0145]

试剂组合物的组分	重量 (克)
聚乙烯醇 (Mw = 30,000-50,000)	0.15
羟基亚乙基纤维素 (Mw = 300,000)	0.15

聚丙烯酸钠 (Mw = 7,000)	0.15
多孔氧化硅颗粒浆料 (水中 30% w/w)	2
柠檬酸	0.14
K ₂ HPO ₄	0.26
SURFYNOL 485	0.01
铁氰化钾	0.96

[0146] 尽管已经描述了本发明的各种实施方案,但是本领域技术人员显然可以在本发明的范围做出其他实施方案和实施方式。因而,除了根据所附权利要求书及其等同物的约束之外,本发明并不受限制。

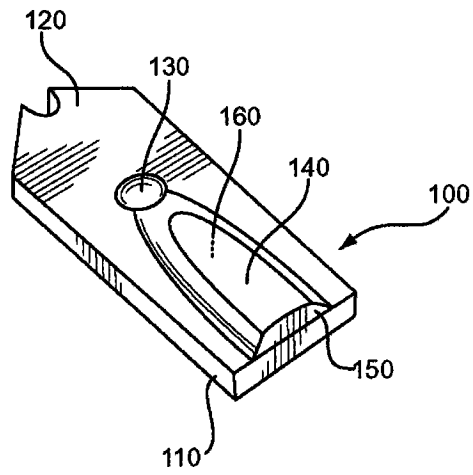


图 1A

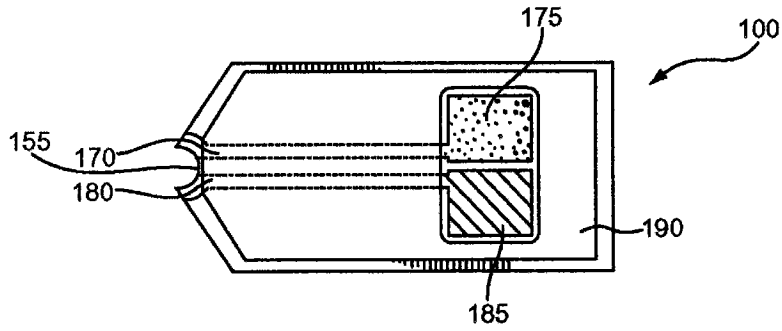


图 1B

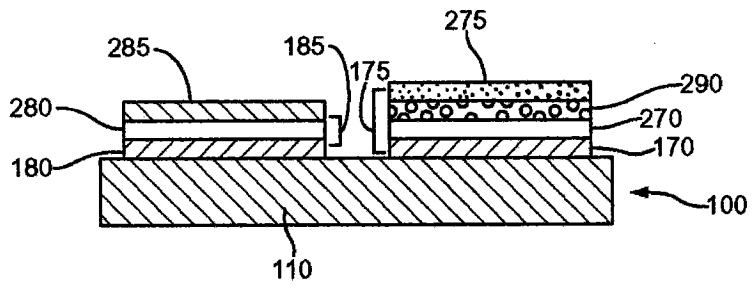


图 2

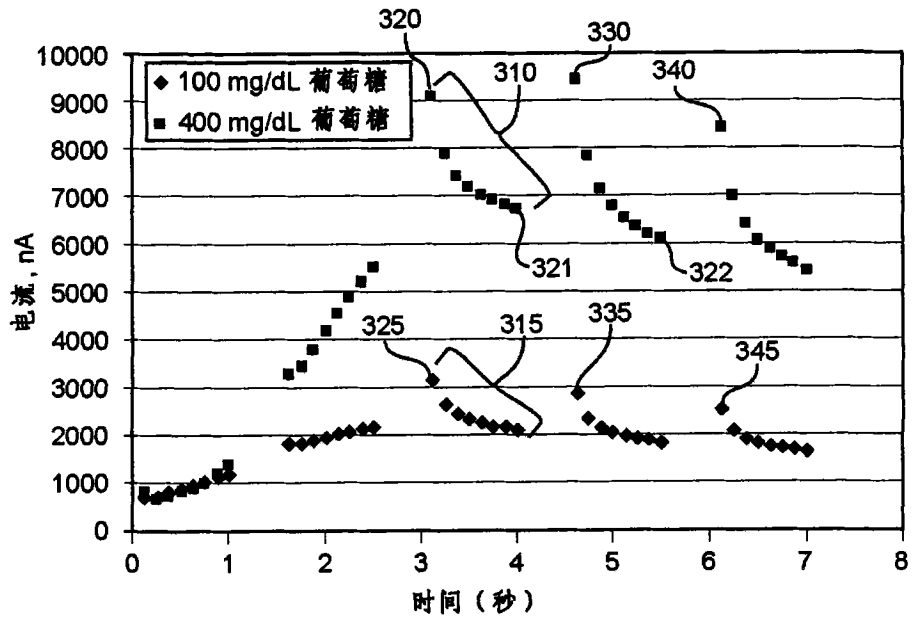


图 3

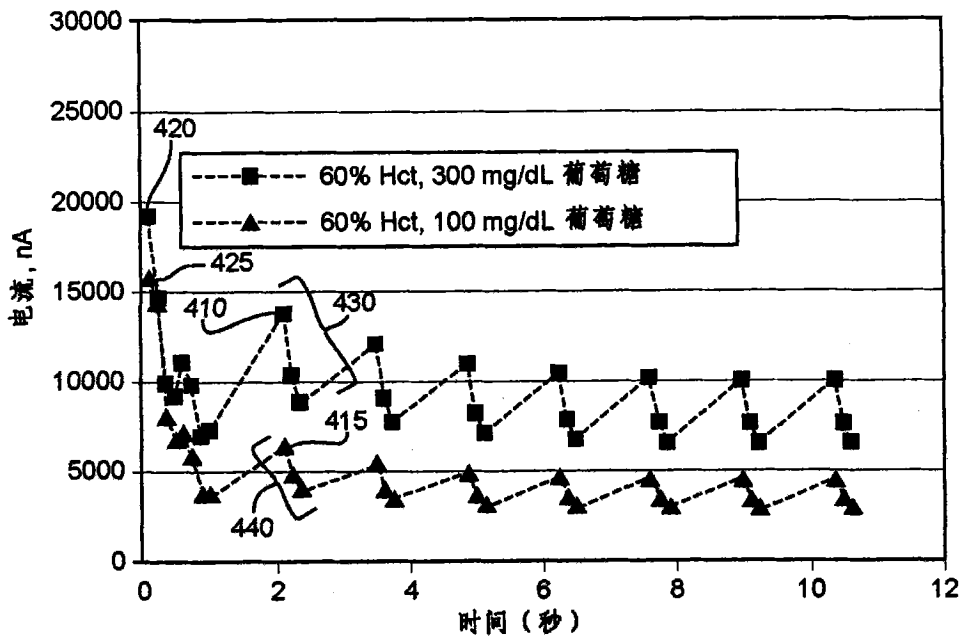


图 4

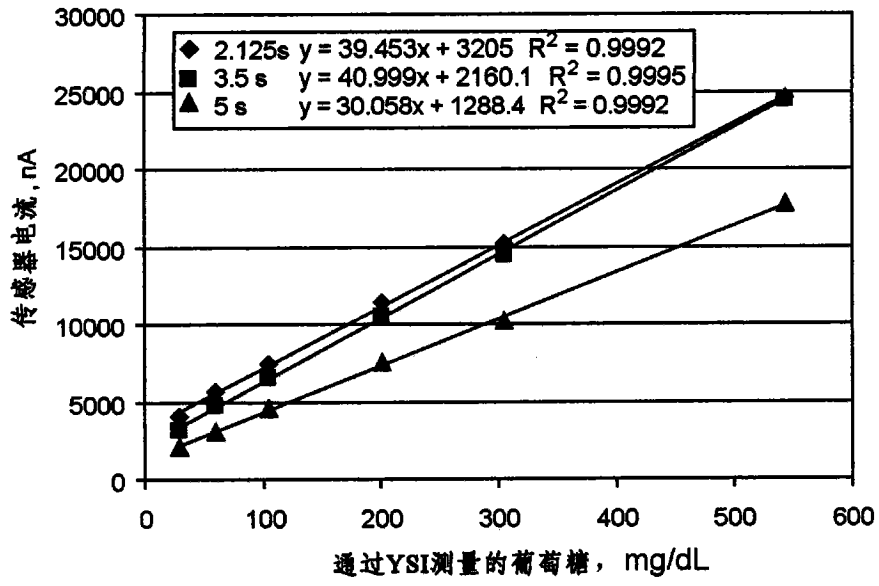


图 5

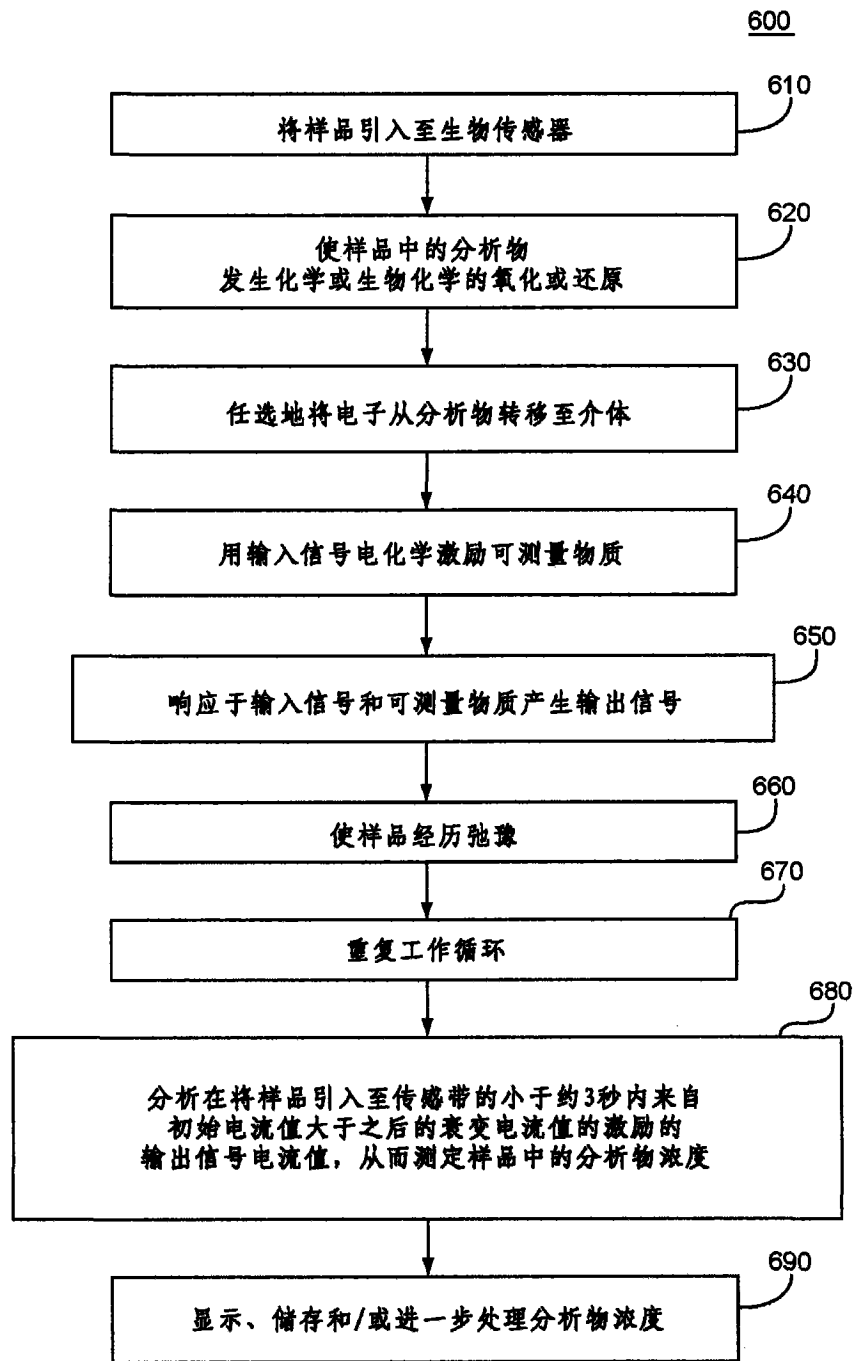


图 6

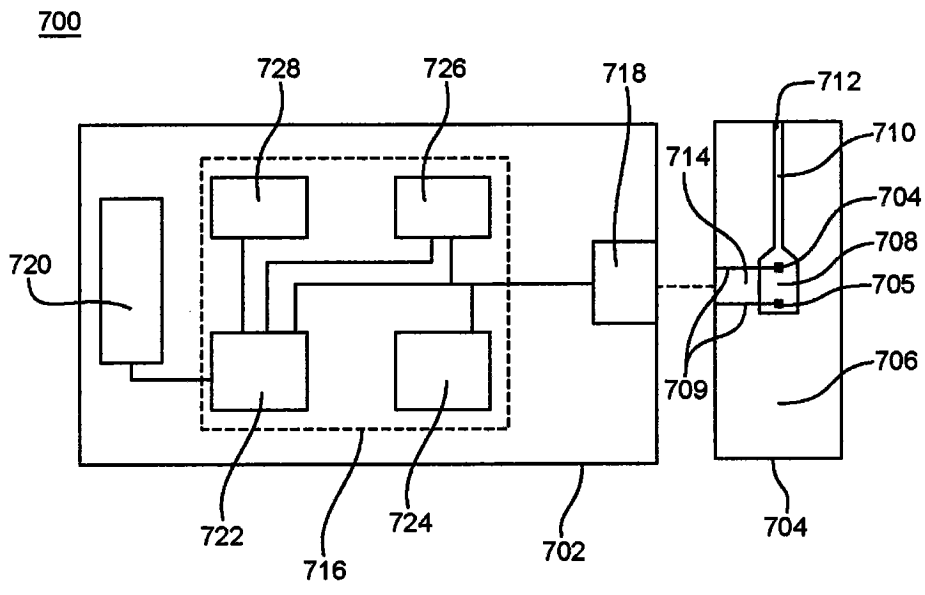


图 7

专利名称(译)	用于生物传感器的多孔颗粒试剂组合物、装置和方法		
公开(公告)号	CN101878428B	公开(公告)日	2014-07-09
申请号	CN200880117966.6	申请日	2008-12-10
[标]申请(专利权)人(译)	拜尔健康护理有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	拜尔健康护理有限责任公司		
当前申请(专利权)人(译)	拜尔健康护理有限责任公司		
[标]发明人	朱伯儒		
发明人	朱伯儒		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	C12Q1/002 G01N33/5438 C12Q1/26 C12Q1/006 C12N11/14 C12Q1/004 C12Q1/54 G01N27/3272 G01N27/3273		
代理人(译)	梁兴龙 武玉琴		
优先权	61/012739 2007-12-10 US		
其他公开文献	CN101878428A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种用于生物传感器传感带的试剂组合物，其可以在干燥后快速再水合。该组合物包括多孔颗粒并优选形成为胶状悬浮液。包括多孔颗粒的干燥试剂组合物可以在比从利用固体颗粒的干燥试剂组合物所观察到的更短时间内从传感带提供可用于分析的输出。来自多孔颗粒组合物的输出信号可以在约2秒内与样品的分析物浓度相关。按此方式，可以在比包括传统组合物的传感带更少的时间内获得对样品中的分析物浓度的精确浓度测定。包括多孔颗粒的干燥试剂组合物还允许试剂和分析物之间的氧化还原反应在比从传统传感带所观察到的更短时间内达到最大动力学性能。

