



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 01804836.6

[45] 授权公告日 2005 年 7 月 6 日

[11] 授权公告号 CN 1209621C

[22] 申请日 2001.12.11 [21] 申请号 01804836.6

[30] 优先权

[32] 2000.12.13 [33] JP [31] 378323/2000

[86] 国际申请 PCT/JP2001/010866 2001.12.11

[87] 国际公布 WO2002/048703 日 2002.6.20

[85] 进入国家阶段日期 2002.8.12

[71] 专利权人 松下电器产业株式会社

地址 日本国大阪府

[72] 发明人 谷池优子 池田信 南海史朗

审查员 高桂莲

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

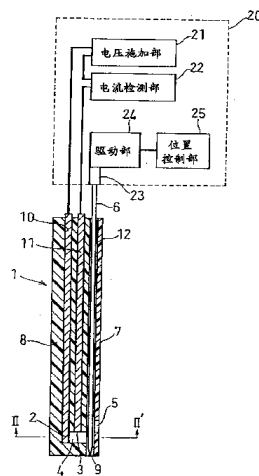
代理人 胡 焯

权利要求书 1 页 说明书 13 页 附图 9 页

[54] 发明名称 分析元件、使用了该元件的测定器及基质的定量方法

[57] 摘要

本发明提供一种分析元件，其特点是在测定过程中试样不蒸发，对微量试样也能进行高精度的基质定量分析，而且在测定中和测定后试样不会飞散，卫生方面情况良好。还提供了使用了该分析元件的测定器及基质定量方法。该分析元件具备储存试样的空腔、暴露于前述空腔内的工作电极和配极、设于前述空腔内或其近旁的至少含有氧化还原酶的试剂层、与前述空腔连通的开口部及覆盖前述开口部的部件。



1. 分析元件，其特征在于，具备在前端部近旁的侧面具有储存试样的凹部、由配有暴露于该凹部内的工作电极和配极的绝缘部件构成的棒状元件主体，可覆盖元件主体的具有前述凹部的面、在面向前述凹部的部分具有沿前述元件主体的长度方向形成的沟的盖板，在前述凹部内或其近旁形成的至少含有氧化还原酶的试剂层，以及在前述沟内沿元件主体的长度方向移动、从元件主体的前端突出穿刺被检体的穿刺部件；元件主体的前端部和盖板之间形成了连通前述凹部的试样供给用开口部，盖板上的与前述凹部相对应的位置或其上方的位置上形成了空气孔，穿刺部件能够覆盖前述凹部。

2. 分析元件，其特征在于，具备元件主体、在给料通道内形成的至少含有氧化还原酶的试剂层及上盖板；前述元件主体由设有包含工作电极和配极的电极系统的绝缘性基板，以及覆盖该基板、与基板一起在它们之间形成通向前述电极系统的给料通道的盖板部件构成；前述给料通道从元件主体前端的给料口与设于盖板部件的空气孔连通，上盖板沿垂直于元件主体的方向滑动籍此与元件主体相连，在与元件主体粘合时前述给料口及空气孔紧锁。

3. 测定器，其特征在于，具备权利要求 1 或 2 所述的分析元件、在工作电极和配极间施加电压的电压施加装置、对施加了电压的工作电极和配极间的电信号进行检测的信号检测装置，通过电化学方法对待检试样中所含基质与氧化还原酶的反应量进行检测，籍此对基质进行定量。

4. 如权利要求 3 所述的测定器，其中，覆盖分析元件的开口部的部件可随意装卸。

5. 基质的定量方法，其特征在于，包括以下步骤：准备权利要求 1 或 2 所述的分析元件的步骤，将待检试样供给前述分析元件使待检试样中所含基质与氧化还原酶反应的步骤，塞紧开口部的步骤，在工作电极和配极之间施加电压的步骤，以及检测工作电极和配极之间因施加电压而产生的电信号的变化情况的步骤；前述分析元件具备储存试样的空腔，暴露于前述空腔内的工作电极和配极、设于前述空腔内或其近旁的至少含有氧化还原酶的试剂层、与前述空腔连通的开口部及覆盖前述开口部的部件。

分析元件、使用了该元件的测定器及基质的定量方法

5 技术领域

本发明涉及一种迅速、高精度定量分析试样中所含基质的方法、该方法所用的分析元件及测定器。

背景技术

10 作为蔗糖、葡萄糖等糖类的定量分析方法，现已开发出旋光度测定法、比色法、还原滴定法及各种色谱法等。但是，这些方法对糖类测定的特异性不高，所以精度都较差。其中的旋光度测定法虽然操作简便，但受操作时温度的影响较大。因此，旋光度测定法不能供普通人在家里自己进行简易的糖类定量分析。

15 但是，近年来开发了许多利用了酶的特异性催化作用的生物传感器。

下面以葡萄糖的定量分析方法为例对试样中基质的定量分析方法进行说明。作为电化学定量分析葡萄糖的方法，众所周知的是使用葡糖氧化酶 (EC1.1.3.4; 以下简称为 GOD) 和氧电极或过氧化氢电极来进行分析的方法，(例如，铃木周一编，《生物传感器》，讲谈社)。

20 GOD 作为传递氧的电子传递体，可选择性地将 β -D-葡萄糖氧化成 D-葡糖酸- δ -内酯。在氧存在下的利用 GOD 的氧化反应过程中，氧被还原为过氧化氢。所以，可通过氧电极检测氧的减少量，或通过过氧化氢电极检测过氧化氢的增加量。由于氧的减少量和过氧化氢的增加量都与试样中的葡萄糖含量成正比，所以可从氧的减少量或过氧化氢的增加量定量分析葡萄糖。

25 在前述方法中，利用酶反应的特异性，可以高精度地进行试样中的葡萄糖的定量分析。但是正如从反应过程可推测的那样，该方法存在着测定结果受试样中所含氧浓度影响较大的缺点，试样中无氧存在时不能进行测定。

因此，开发了不用氧作为电子传递体而用铁氰化钾、二茂铁衍生物、醌衍生物等有机化合物和金属络合物等作为电子传递体的新型葡萄糖传感器。这种
30 传感器可使酶反应生成的电子传递体的还原体在工作电极上氧化，由氧化电流求量求得试样中所含葡萄糖的浓度。此时，在配极上电子传递体的氧化体被还

原，进行电子传递体还原体的生成反应。用前述有机化合物和金属络合物代替氧作为电子传递体，可以使已知量的 GOD 及电子传递体在稳定状态下精确地担载于电极上，形成试剂层，而且不受试样中氧浓度的影响，从而能够高精度地定量分析葡萄糖。另外，在此情况下，因为可以使试剂层在接近干燥的状态下与电极系统一体化，所以基于该技术的一次性葡萄糖传感器近年来越来越多地引起了人们的广泛关注。其代表例子就是第 2517153 号专利公报所揭示的生物传感器。在一次性葡萄糖传感器中，只需将试样导入连接于测定器上的可随时吸附解吸的传感器中，便可很容易通过测定器测定出葡萄糖浓度。这种方法不限于葡萄糖的定量，还可用于试样中其他基质的定量分析。

10 在前述现有的生物传感器中，因为试样导入生物传感器后，其一部分会暴露在外面，所以部分试样会在测定过程中蒸发，结果可能导致试样中的基质浓度发生变化。现有生物传感器虽然可测定微升级的试样，但人们迫切希望能开发出可测定更微量试样的生物传感器。现有的生物传感器都有可能因试样的微量化而出现基质浓度的微小变化导致测定值出现偏差的现象。

15 因此，本发明的目的就在于提供一种能防止测定中试样蒸发、可对微量试样中的基质进行高精度的定量分析、还能防止测定中及测定后试样飞散、在卫生方面性能优异的分析元件。

本发明的目的还在于提供一种装配有这种分析元件的测定器和基质定量分析方法。

20

发明的揭示

本发明的分析元件的特征的是具备可储存试样的空腔、暴露于前述空腔内的工作电极和配极、设于前述空腔内或其近旁的至少含有氧化还原酶的试剂层、与前述空腔连通的开口部及覆盖前述开口部的部件。

25 本发明的测定器中除了前述分析元件之外，还具备在前述分析元件中的前述工作电极和配极间施加电压的施加电压装置，以及对施加了电压的前述工作电极和配极间的电信号进行检测的信号检测装置，所以通过电化学方法对待检试样中所含基质与前述氧化还原酶的反应量进行检测，便可定量分析出基质含量。

30 本发明的基质定量分析方法包括以下步骤：前述分析元件的准备步骤，将待检试样供给前述分析元件使待检试样中所含基质与前述氧化还原酶反应的

步骤，塞紧前述开口部的步骤，在前述工作电极和配极之间施加电压的步骤，检测前述工作电极和配极之间因施加电压而产生的电信号的变化情况的步骤。

5 对附图的简单说明

图 1 是本发明实施方式中的测定器的结构示意图。

图 2 是图 1 的 II-II' 线的放大剖面图。

图 3 是表示本发明实施方式中的分析元件中的穿刺部件的工作情况的纵剖面图。

10 图 4 是本发明另一实施方式中的除去了试剂层和表面活性剂层的分析元件的纵剖面图。

图 5 是本发明又一实施方式中的除去了试剂层和表面活性剂层的分析元件的纵剖面图。

图 6 是上述分析元件的柱状部件的正面图。

15 图 7 是本发明另一实施方式中的除去了试剂层和表面活性剂层的分析元件的纵剖面图。

图 8 是本发明另一实施方式中的分析元件的纵剖面图。

图 9 是上述分析元件除去试剂层和表面活性剂层后的分解立体图。

图 10 是本发明又一实施方式中的分析元件的立体图。

20 图 11 是本发明又一实施方式中的分析元件和测定器的结构示意图。

实施发明的最佳方式

本发明的分析元件具备可储存试样的空腔、暴露于前述空腔内的工作电极和配极、设于前述空腔内或其近旁的至少含有氧化还原酶的试剂层、与前述空腔连通的开口部及覆盖前述开口部的部件。该分析元件在供给试样之后，因为可以通过覆盖开口部的部件紧锁开口部，使空腔内的试样不暴露于空气，所以可以防止试样的蒸发。尤其是可以提高测定微量试样时的测定精度。另外，因为还能够在测定中和测定后防止试样飞散到外部，所以即使在使用了血液等感染性试样的情况下，也能提供在卫生方面性能优异的分析元件。覆盖开口部的部件如果与分析元件做成一体，便可确保与外部的隔断。

覆盖开口部的部件只要能覆盖与储存试样的空腔连通的开口部的一部分

即可，但最好是将开口部全部覆盖。

本发明的理想的分析元件中，在由绝缘部件构成的元件主体上设有储存试样的空腔和暴露于该空腔内的工作电极及配极。空腔的一端为给料口，另一端为空气孔，利用毛细管的作用将试样从给料口导入空腔内。覆盖空腔开口部的部件能够将前述给料口和空气孔都实质性地紧锁。在其他形式的理想的分析元件中，空腔由设在元件主体的凹部、连接凹部的给料口和空气孔组成。在此分析元件中，如果要想让酶反应在前述凹部进行，则覆盖空腔开口部的部件只要覆盖前述凹部的入口侧即可。

覆盖开口部的部件的材质只要具有隔断外部空气的特性以抑制试样的蒸发就可以。具体包括聚乙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚酰胺、饱和聚酯树脂等热塑性树脂，尿素树脂、三聚氰胺树脂、酚醛树脂、环氧树脂、不饱和聚酯树脂等热固性树脂，不锈钢、银、铂等金属或碳材等。

对覆盖开口部的部件的形状没有特别的限定，可以使用与开口部形状相适应的形状。覆盖开口部的部件最好是穿刺部件。这样的话，试样采集和测定可以在一个元件上完成，采集的试样可以确保能用于测定，同时还可以缩短采样和测定的时间。另外，还可能使分析元件实现小型化，使测定所需试样更微量，这样还可以减少部件的数量和制造工艺。

覆盖开口部的部件最好是透明的。这样用目视法就能够很容易地确认试样是否确实导入了分析元件内。覆盖开口部的部件也可以是不透明，尤其是测定血液时，因为从外部看不见，所以可以获得减轻被检者恐怖心理的效果。

以上的覆盖开口部的部件相对于分析元件主体最好是滑动的。这样被检者就能容易地进行操作。

覆盖开口部的部件可兼作为工作电极或配极。这样分析元件就可以实现小型化，测定所需试样也可进一步微量。

覆盖开口部的部件上也可具备试剂层。这样可以很容易把多种试剂分开存放在分析元件内，可提高分析元件的储存稳定性。

本发明的理想实施方式中的分析元件包括在前端部近旁的侧面具有储存试样的凹部、由配有暴露于该凹部内的工作电极和配极的绝缘部件构成的棒状元件主体，可覆盖元件主体的具有前述凹部的面、在面向前述凹部的部分具有沿前述元件主体的长度方向形成的沟的盖板，在前述凹部内或其近旁形成的至少含有氧化还原酶的试剂层，以及在前述沟内沿元件主体的长度方向移动、从

元件主体的前端突出穿刺被检体的穿刺部件。元件主体的前端部和盖板之间形成了连通前述凹部的试样供给用开口部。盖板上的与前述凹部相对应的位置或其上方的位置上形成了空气孔。穿刺部件最好能基本覆盖前述凹部。

5 穿刺部件可兼作为工作电极或配极。在此情况下，元件主体上可以设置配极或工作电极。

10 本发明另一理想的分析元件由元件主体、在给料通道内形成的至少含有氧化还原酶的试剂层和上盖板组成，元件主体由设有包含工作电极和配极的电极系统的绝缘性基板，覆盖该基板、与基板一起在它们之间形成通向前述电极系统的给料通道的盖板部件构成。前述给料通道从元件主体端部的给料口连到设于盖板部件的空气孔。上盖板沿垂直于元件主体的方向滑动籍此与元件主体相

15 连，在与元件主体粘合时，前述给料口和空气孔紧锁。工作电极及/或配极也可以设置于盖板部件侧。试剂层设置于基板及/或盖板上，暴露于前述给料通道中。

20 如前所述，本发明的测定器中除了前述分析元件之外，还具备在前述分析元件中的前述工作电极和配极间施加电压的施加电压装置，以及对施加了电压的前述工作电极和配极间的电信号进行检测的信号检测装置，通过电化学方法对待检试样中所含基质与分析元件所载氧化还原酶的反应量进行检测，便可对前述基质进行定量分析。

25 如果将分析元件和覆盖开口部的部件做成互相分离的样子，则可降低分析元件的制造成本。

覆盖开口部的部件最好随时能装卸于分析元件主体，这样可以只清洗覆盖开口部的部件，提供在卫生方面性能优异的测定器。

30 本发明的另一理想的分析元件由元件主体和将元件主体固定于其内部的筒状外罩组成。该元件主体由设有包含工作电极和配极的电极系统的绝缘性基板，以及覆盖该基板、与基板一起在它们之间形成通向前述电极系统的给料通道的盖板部件构成。元件主体的给料通道从元件主体前端的给料口与设于盖板部件的空气孔相连。外盖板上具有与前述空气孔连通的空气孔。测定器包括具有连通外盖板的空气孔和元件主体的空气孔的空气孔、在外盖板和元件主体之间可沿外盖板的长度方向滑动的内盖板，从外盖板内向被检体突出的穿刺部件，在分析元件的工作电极和配极之间施加电压的电压施加装置，以及对施加电压后的工作电极和配极之间产生的电信号进行信号检测的装置。

该测定器还具备驱动前述穿刺部件的针驱动装置，控制针的位置的针位置控制装置，驱动前述内盖板的内盖板驱动装置，以及控制内盖板位置的内盖板位置控制装置。在采样之前，内盖板不覆盖元件主体的给料口和空气孔，它们都处于开放的位置，从给料口采集试样后，内盖板将外盖板移到前端遮盖外盖板的空气孔和元件主体的空气孔之间的部分，同时内盖板的前端部形成曲封锁闭给料口。这些内盖板的动作都按照来自位置控制装置的信号来启动驱动装置而完成。

本发明的基质定量分析方法包括前述分析元件的准备步骤，将待检试样供给前述分析元件使待检试样中所含基质与分析元件中的氧化还原酶反应的步骤，塞紧分析元件的开口部的步骤，在前述工作电极和配极之间施加电压的步骤，以及检测前述工作电极和配极之间因施加前述电压而产生的电信号的变化情况的步骤。

施加于工作电极和配极之间的电压通常以工作电极为正。因此，酶反应生成的电子传递体的还原体在工作电极上被氧化。工作电极和配极之间的电信号变化作为电子传递体的氧化电流量被检出，由此电流量可求得试样中所含基质的浓度。也可不测定电流，而改用电压值。

本发明中，因为分析元件的空腔内的试样不暴露于外部空气中，所以可以防止试样蒸发，特别是能提高微量试样的测定精度。另外，因为测定中和测定后试样都不会飞散到外部，所以即使是使用血液等感染性试样的情况下，卫生情况也特别好。

在氧化电子传递体时，用于本发明分析元件的工作电极是其自身不会被氧化的导电性材料。作为配极可以使用钨、金、铂、碳等常用的导电性材料。电绝缘性材料的表面也可以用这些导电性材料来覆盖。

所用氧化还原酶应与试样中所含的作为测定对象的基质相对应。例如，果糖脱氢酶、葡糖氧化酶、葡糖脱氢酶、乙醇氧化酶、乳酸氧化酶、胆固醇氧化酶、黄嘌呤氧化酶、氨基酸氧化酶等。

作为穿刺部件，只要是具有耐穿刺强度的材料即可。例如，由不锈钢、金、铂等金属和碳材制得的针。以穿刺部件作为工作电极或配极的情况下，既可使用金、铂、碳等导电性材料，也可以用这些导电性材料来覆盖绝缘材料的表面。

作为本发明分析元件的测定对象的试样，可以是含各种基质的溶液，也可以要求采集量极微的体液。体液包括全血、血浆、血清、间质液、唾液等。

但本发明的测定对象并不限于这些。

以下，参照表示相应实施例的附图对本发明进行详细说明。这里所用的结构图多是为便于理解而画的简图，各要素的相对大小和位置关系未必准确。在以下的实施例中，对葡萄糖定量分析所用的分析元件、测定器和定量分析方法进行了说明，但并不是把基质仅限定为葡萄糖。

实施例 1

图 1 是本实施例所用的测定器示意图，图中的分析元件是除去了试剂层及表面活性剂层的纵剖面图。图 3 是表述分析元件中的穿刺部件的纵剖面图。图 4~5 表示本实施例的分析元件中的其他电极形状，也是除去了试剂层及表面活性剂层的纵剖面图。

图 1 所示的测定器由分析元件 1 和装置主体 20 构成。分析元件 1 由穿刺部件 6、柱状部件 8 及盖板 7 组成。柱状部件 8 具有储存试样的空腔 4、暴露在该空腔 4 内的工作电极 2 和配极 3 及保持在空腔 4 内的试剂层(图中未显示)。盖板 7 与柱状部件 8 相结合覆盖空腔 4，具有引导穿刺部件 6 的沟 12 以及在空腔 4 的近旁开口的空气孔 5。沟 12 下方的开口部是通过毛细管作用将试样导入空腔 4 的给料口 9。在图 1 的状态下，空腔 4 的开口部实质上通过穿刺部件 6 关闭。

柱状部件 8 中通过电绝缘性合成树脂的插入成型埋入了由长度 30mm 的导电材料构成的工作电极导线 10 和长度 29mm 的导电材料构成的配极导线 11。这些导电部件的剖面是 0.5mm×1mm 的四方形。暴露于空腔 4 内的导线 10 和 11 的前端部分别成为工作电极 2 和配极 3。空腔 4 的大小为 1mm×1mm×1mm。穿刺部件 6 是直径 1.0mm，长 40mm 的圆柱。

把含有作为氧化还原酶的 GOD 及作为电子传递体的铁氰化钾的水溶液滴入空腔 4 后，干燥形成试剂层。另外，以稳定供给试样为目的，在试剂层上及空腔 4 到给料口 9 间形成含有作为表面活性剂的卵磷脂的表面活性剂层。

如上所述，形成了试剂层和表面活性剂层的柱状部件 8 以内包穿刺部件 6 的形式与盖板 7 粘接，组成分析元件 1。

装置主体 20 具备在分析元件 1 的工作电极 2 和配极 3 间施加一定电压的电压施加部 21，检测流入工作电极 2 和配极 3 间电流的电流检测部 22，上下驱动穿刺部件 6 的驱动部 24 以及控制穿刺部件 6 的位置的位置控制部 25。穿

刺部件 6 通过基座 23 与驱动部 24 连接。工作电极导线 10 和电压施加部 21 连接，配极导线 11 和检测部 22 连接。

使用前述本实施例的测定器，进行试样液中的 β -D-葡萄糖浓度的定量分析。首先，分别调制 β -D-葡萄糖浓度不同的多种试样溶液。如图 3(c)所示，
5 使用位置控制部 25 和驱动部 24 将穿刺部件 6 移到不堵住空气孔 5 和给料口 9 的位置后，使试样溶液与给料口 9 接触。因为空气孔 5 与空腔 4 连通，所以导入给料口 9 的试样溶液藉毛细管现象浸透到内部，供给空腔 4。然后，将穿刺部件 6 保持在图 3(c)所示的位置，或者如图 3(d)所示，将穿刺部件 6 移到可堵住空气孔 5 和给料口 9 的位置后，以配极 3 为基准，通过电压施加部 21 对
10 工作电极 2 施加 500mV 的电压，再用电流检测部 22 测定此时流入工作电极 2 的电流值。测定时的湿度分别为 30%和 100%两种情况，对测定结果进行比较。

在穿刺部件 6 处于图 3(d)所示位置时，在任意湿度下都可观察到与试样液中的葡萄糖浓度成比例的电流响应。在 100%湿度的环境中进行测定时，因为空腔 4 内的试样不蒸发，所以即使如图 3(c)所示穿刺部件 6 不塞紧空气孔 5
15 和给料口 9，当穿刺部件 6 调到图 3(d)所示的位置时，也能得到同等的响应。但是，在 30%的湿度环境下进行测定的情况下，当穿刺部件 6 处于图 3(c)所示位置时，所得到的响应移到 100%湿度环境下所得测定值的正侧。另一方面，在穿刺部件 6 调到图 3(d)所示的位置时，得到与 100%湿度环境下所得测定值非常一致的响应。可以认为，穿刺部件 6 抑制了测定过程中空腔 4 内的试样溶
20 液的蒸发。

使用本实施例的测定器测定生物体成分中的基质浓度的方法如下所述。首先，将穿刺部件 6 设定在图 3(a)所示的位置，用分析元件 1 按住被检体，使给料口 9 与皮肤相接触。然后如图 3(b)所示，用穿刺部件 6 刺破被检体的皮肤，通过这一方法，使体液从皮肤渗出。接着如图 3(c)所示，把穿刺部件 6 移到空
25 气孔 5 开口的位置，并固定在此位置上，将体液导入空腔 4。从穿刺开始一定时间之后，如图 3(d)所示，塞紧空气孔 5 和给料口 9，且移动穿刺部件 6，使穿刺部件 6 的前端处于不从给料口 9 突出到分析元件 1 之外的位置。然后，使用电压施加部 21，以配极 3 为基准，把 500mV 电压加于工作电极 2 上，再用电流检测部 22 测定此时流入工作电极 2 的电流值，据此，测定体液中基
30

质的浓度。

工作电极 2 和配极 3 不限于图 1 所示的配置。例如，如图 4 所示，工作电极 2 和配极 3 也可以处于从两侧夹住空腔 4 的对向位置上。这样，电极表面的电流密度比较均匀，故测定灵敏度可以提高。

- 5 另外，如图 5 和图 6 所示，工作电极 2 和配极 3 也可配置在同一平面。在此实施例中，通过接合电绝缘性树脂形成的部件 8a 和 8b 构成前述柱状部件 8。现说明该分析元件的制作方法。首先，把由贵金属例如钯箔构成的两个部件，即工作电极 2b 及其导线部 10b 和配极 3b 及其导线部 11b 接合在部件 8a 的表面。具备这些电极及其导线部的部件 8a 与具有形成空腔 4 的孔的部件 8b 接合。
- 10 最后，在同一平面形成了电极 2b 和 3b 的柱状部件与前述盖板 7 接合，构成分析元件。

- 不用前述金属箔构成的电极及其导线部，而是在部件 8a 的表面溅射贵金属例如钯，形成导电层，然后用激光修剪的方法分别分离出工作电极及其导线部和配极及其导线部也可以形成电极。这样，可同时形成工作电极 2 和配极 3，
- 15 制造过程比较简单。

另外，如图 7 所示，由导电材料构成的穿刺部件 6 也可以兼作配极 3。这样，因为部件数减少，便可实现小型化，测定所需试样也可更微量化。

实施例 2

- 20 参考图 8 和图 9 对本实施例的测定器进行说明。图 8 是表示本实施例的分析元件的纵剖面图。图 9 是上述分析元件除去试剂层和表面活性剂层后的分解立体图。

- 首先，通过丝网印刷法在聚对苯二甲酸乙二醇酯形成的电绝缘性基板 31 上刷银糊，形成工作电极导线 32 和配极导线 33。然后，把含有树脂粘接剂的导电性碳糊刷在基板 31 上，形成工作电极 34。该工作电极 34 与工作电极导线 32 接触。另外，在此基板 31 上刷绝缘糊，形成绝缘层 36。绝缘层 36 覆盖工作电极 34 的外周部，这样使工作电极 34 的暴露部分面积保持一定。接着，把含有树脂粘接剂的导电性碳糊刷到基板 31 上，使其与配极 33 接触，形成配极 35。
- 25

- 30 将含有作为氧化还原酶的 GOD 及作为电子传递体的铁氰化钾的水溶液滴到工作电极 34 和配极 35 上后，干燥形成试剂层 38。然后，在试剂层上形成含

有作为表面活性剂的卵磷脂的表面活性剂层 39。

接着，如图 9 中点划线所示的位置关系连接基板 31、具备空气孔 45 的中盖板 42 及间隔部件 40。

5 夹在基板 31 和中盖板 42 之间的间隔部件 40 具有狭缝 41。该狭缝 41 成为基板 31 和中盖板 42 之间的试样溶液供给通道。因为，中盖板 42 上的空气孔 45 与此试样溶液供给通道连通，所以如果在狭缝 41 的释放端形成的给料口 49 与试样接触，则试样会利用毛细管现象很容易到达处于试样溶液供给通道上的表面活性剂层 39 和试剂层 38。

10 最后安装上部盖板 44。该上部盖板 44 的周边，除后端外都有下垂的垂下部 46。在此垂下部 46 上具有与设在基板 31 上的突片 37 嵌合的突片 47，以及与设于基板侧的凹部 50 嵌合的突出部。上部盖板 44 还具有嵌合在中盖板 42 空气孔 45 中的筒部 48。因此，上盖板 44 相对于基板 31、间隔部件 40 和中盖板 42 的装配体，可以沿垂直于电极印刷面的方向移动。

15 使用具有前述构造的分析元件，对含有一定量葡萄糖的试样溶液中的葡萄糖浓度进行测定。如图 8 所示，把上盖板 44 移到上方，将试样从给料口 49 导入试样溶液供给通道后，使上盖板 44 滑到下侧塞住给料口 49 和空气孔 45。此时，把上盖板 44 的突片 47 挂在基板 31 的突片 37 上，将上盖板 44 固定在基板侧，这样就可防止上盖板 44 在测定过程中移动。经过一定时间后，以配极 35 为基准，把 500mV 电压加于工作电极 34 上，施加电压后测定流入工作电极 20 34 和配极 35 间的电流值，观察与葡萄糖浓度相对应的电流响应。在测定时的湿度分别为 30%和 100%时，分为测定时上部盖板上的给料口 49 和空气孔 45 被覆盖和不被覆盖两种情况进行了测定，其结果与实施例 1 相同。

25 实施例 3

图 10 是本实施例使用的分析元件的立体图。

本实施例的分析元件包括与实施例 2 的基板 31 同样结构的基板 51、隔板 54、覆盖此隔板的中盖板 56、上盖板 58 及挡板 57。隔板 54 具有在两侧面和下面开放的凹部 55，该凹部与基板 51 一起形成储存试样的空腔。凹部 55 的隔板侧面上的开口部 55a 和 55b 的一方起到给料口的作用，另一方起到空气孔的作用。基板 51 具有分别与导线 52 和 53 相连的工作电极和配极。这些电极都 30 暴露在隔板 54 的凹部 55 中。上部盖板 58 沿着设于挡板 57 的沟可平行于基板

51 的电极印刷面移动。

将试样从开口部 55a 和 55b 导入凹部 55 后，滑动上部盖板 58，通过锁闭凹部 55 两侧面的开口部，可以防止试样溶液的蒸发。使用本实施例的分析元件可以得到与实施例 1 同样的结果。另外，因为上部盖板 58 隐藏在挡板 57 内，所以能够防止血液等试样附着在上部盖板 58 外侧。

实施例 2 和 3 所述为将电极系统配置在基板上，即配置成同一平面的结构，但并不限于此。例如，可以采用电极对向配置的结构等构成对向型电极系统。如图 8 所示，也可以将工作电极设在基板 31 上，配极设在中盖板 42 的下面。

10 另外，上部盖板的形状并不限于图示形状。只要具有堵住给料口和空气孔的效果即可。

实施例 4

15 参考图 11 对本实施例进行说明。图 11 是本实施例使用的分析元件和测定器结构的示意图。

本实施例中的分析元件 70 除了没有设置作为覆盖开口部的部件的上部盖板之外，其他结构都与实施例 2 使用的分析元件相同。测定器具备电压施加部 71、电流检出部 72、可在托架 79 上自由装卸的针 76、针驱动部 77、针位置控制部 78、第 1 内盖 62、连接内盖 62 和内盖驱动部 74 的连接部 73、与第 1 内盖 62 的前端连接的第 2 内盖 64、内盖驱动部 74、内盖位置控制部 75 以及外盖 60。在使用的时候，如图 11 所示，把分析元件 70 装载于测定器上，固定在外盖 60 内，然后进行测定。

25 在将分析元件 70 装在测定器上的状态下，测定器的第 1 内盖 62 和外盖 60 在与分析元件的空气孔 45 对向的位置上分别设置了空气孔 63 和空气孔 61。第 2 内盖 64 可以与第 1 内盖 62 连接的连接部 65 作支点弯曲。

以下说明作为覆盖开口部的部件的内盖的工作原理。

30 试样导入分析元件 70 内后，第 1 内盖 62 和第 2 内盖 64 向外盖 60 的开口侧挤出。此时，第 2 内盖 64 与向外盖 60 的内侧延伸的开口边缘接触。因此，第 2 内盖 64 以连接部 65 为中心折弯，覆盖分析元件 70 的给料口 49。同时，用第 1 内盖 62 覆盖分析元件 70 的空气孔 45 和外盖 60 的空气孔 61 间的部分。因为装载于测定器中的内盖几乎盖住了分析元件的给料口 49 和空气孔 45，所

可以防止试样在测定过程中蒸发。另外，由第 1 内盖 6、连接部 65 及第 2 内盖 64 构成的内盖可拆卸，很容易洗净，所以可能提供卫生的测定器。另外，因为测定器内装有采集试样用针 76，所以可确保极微量的试样导入分析元件内，此外，内盖可防止试样的蒸发，实现试样的微量化。

- 5 图 11 所示测定器中不包括针、基座、针驱动部及针位置控制部。另外，空气孔 63 和 61 的位置不限于图 11 所示的位置，可以根据分析元件的形状设在适当的位置上。

在以上的实施例 5 中，施加于工作电极的电压定为 500mV，但并不限于此电压。

- 10 另外，分析元件中的空气孔位置也并不限于图示位置，只要是与储存试样的空腔连通、与给料口分别位于空腔的两侧的位置即可。

另外，在前述实施例 10 中，通过涂覆和干燥含有氧化还原酶的溶液形成了试剂层，但并不限于此，也可采用通过喷射的方式将含有试剂的溶液涂覆在空腔内的方法。这样，可准确控制微量试剂涂覆的位置。另外，也可以使含有试剂的溶液浸入玻璃滤纸中，加以干燥，使试剂负载于玻璃滤纸上，再把它装入空腔内。试剂的负载位置最好是在电极上，但不限于此，如果配置在可与试样相接的位置上，在空腔内的电极以外的场所也可以。

在本发明中，为了形成工作电极、配极及其导线部，可以采用以下方法。包括用绝缘性合成树脂对导电性材料做成的导线、箔等进行铸模的方法，在绝缘体的支撑体上刷上导电糊的方法，在绝缘体的支撑体上通过溅射形成导电层、再通过激光修剪等方法分离工作电极和配极的方法。

形成支撑工作电极和配极的基板材料只要是具有电绝缘性、在保存和测定时具有足够的刚性的材料即可。例如，聚乙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚酰胺、饱和聚酯树脂等热塑性树脂或尿素树脂，三聚氰胺树脂，酚醛树脂，环氧树脂，不饱和聚酯树脂等热固性树脂。其中，从与电极的粘附性方面来看，以聚对苯二甲酸乙二醇酯为佳。

形成间隔部件、中盖板和上盖板的材料只要是具有电绝缘性、在保存和测定时具有足够的刚性的材料即可。例如，聚乙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚酰胺、饱和聚酯树脂等热塑性树脂或尿素树脂，三聚氰胺树脂，酚醛树脂，环氧树脂，不饱和聚酯树脂等热固性树脂。

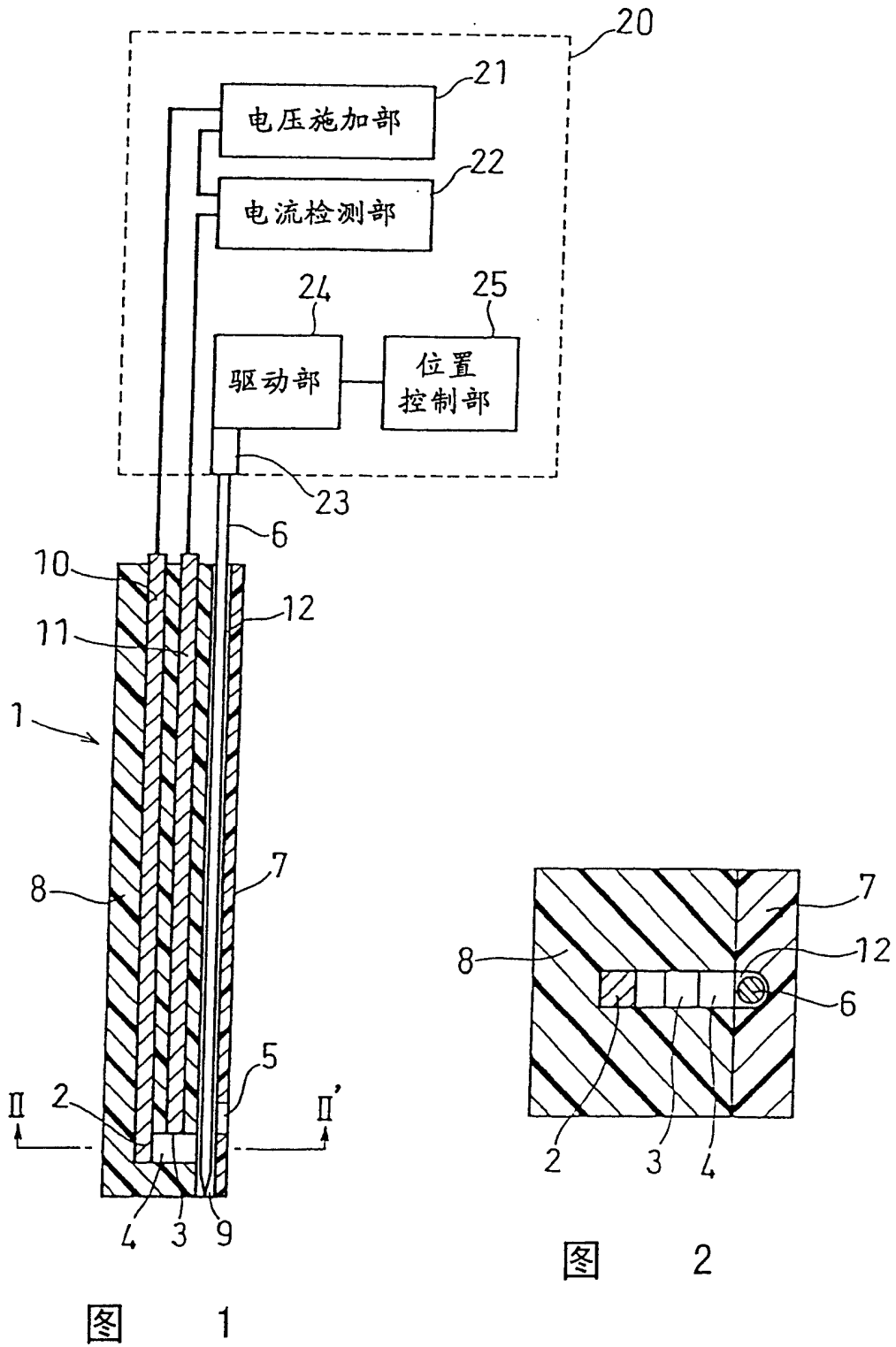
另外，通过在覆盖开口部的部件和分析元件的接触部分使用 O 形环等有弹

性的部件，可以提高覆盖开口部的部件和分析元件之间的粘附性，增强防止试样蒸发的效果，所以比较理想。

所用电子传递体包括铁氰化钾、对苯醌、吩嗪焦硫酸盐、亚甲蓝、二茂铁衍生物等。另外，在以氧为电子传递体的情况下也可以得到电流响应。电子传递体可以使用这些化合物中的一种或二种以上。

产业上利用的可能性

如上所述，本发明提供了分析元件、使用了该元件的测定器及基质的定量方法，该分析元件能防止测定过程中试样的蒸发，对于微量试样也能高精度地进行基质定量分析，而且还能防止测定中和测定后试样的飞散，且在卫生方面性能优异。



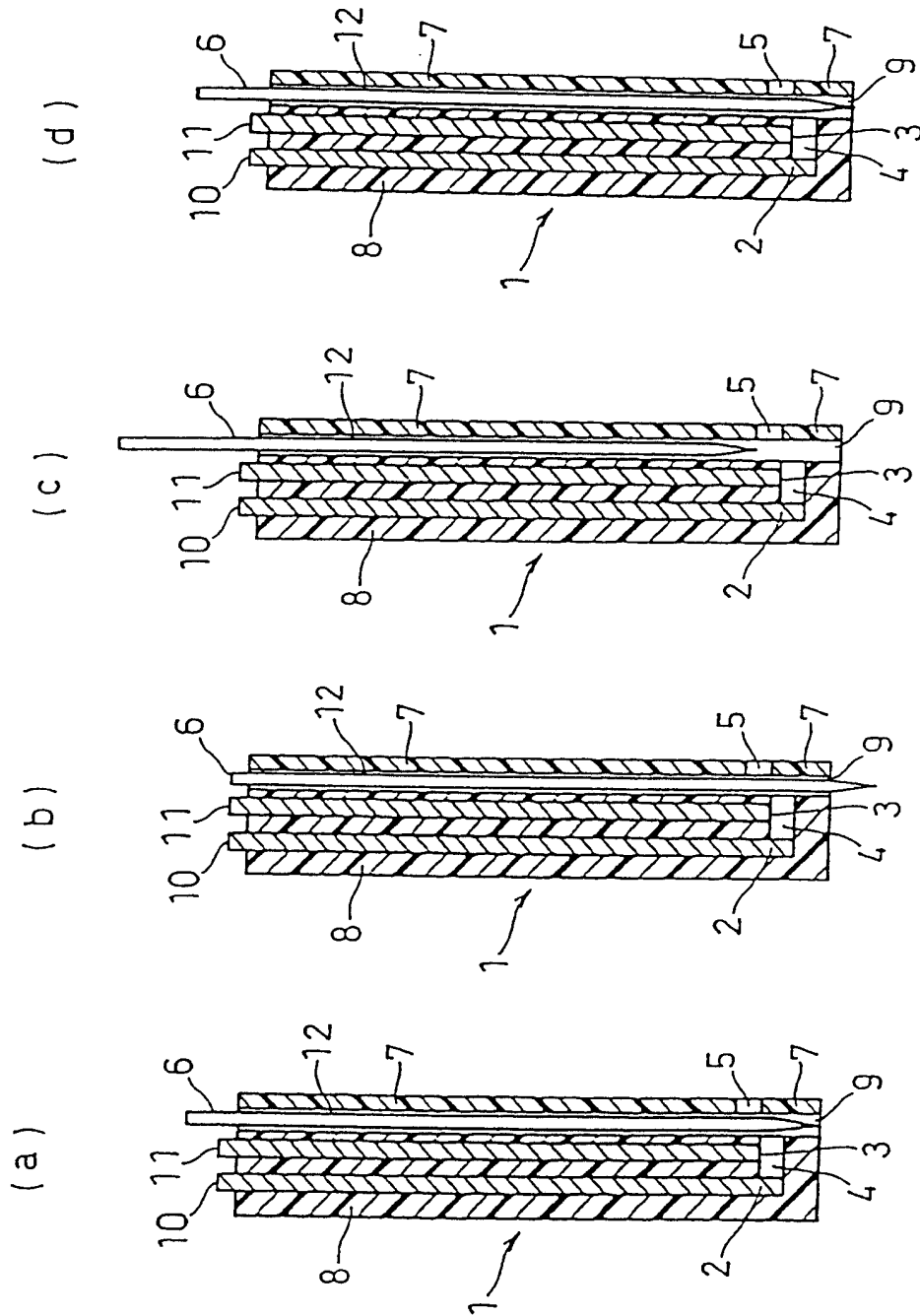


图 3

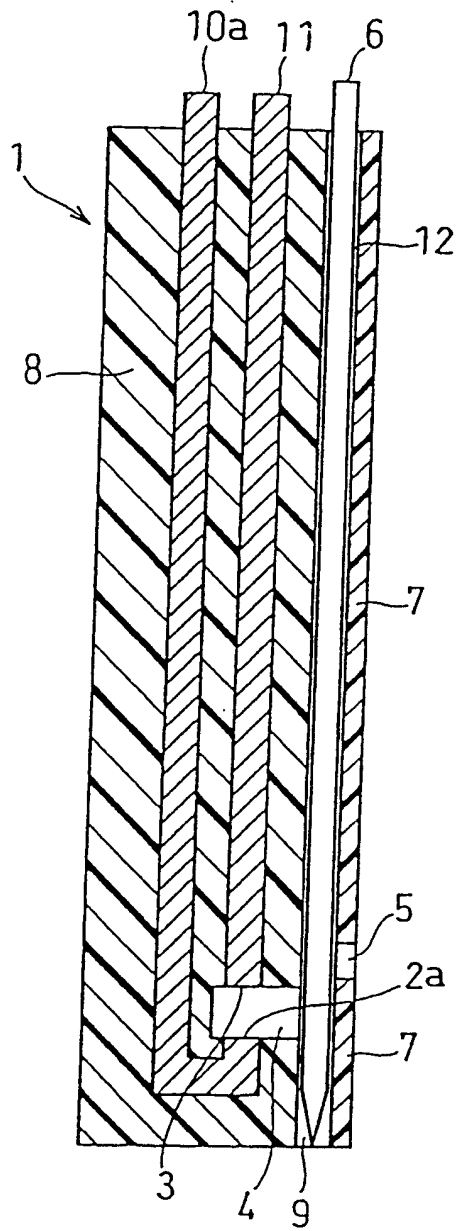


图 4

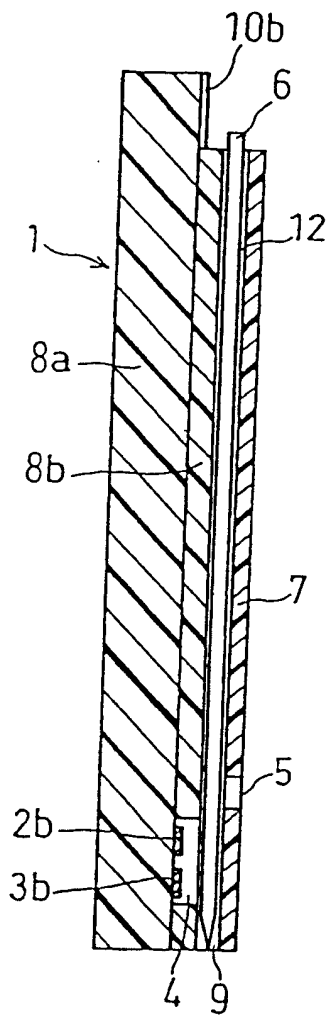


图 5

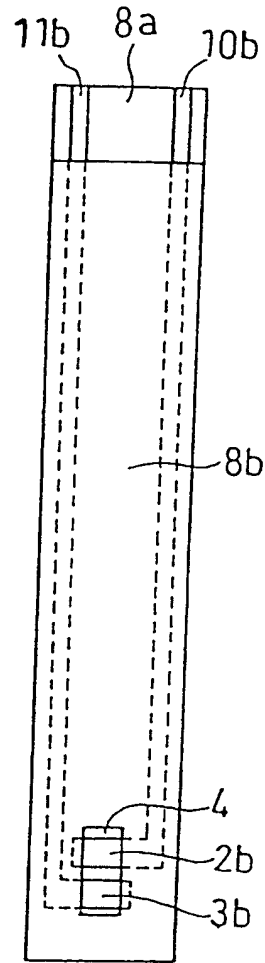


图 6

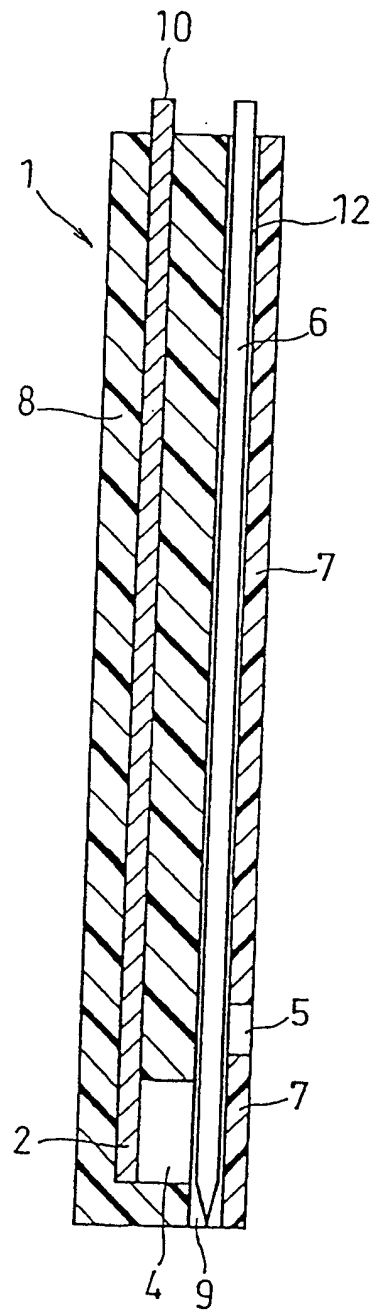


图 7

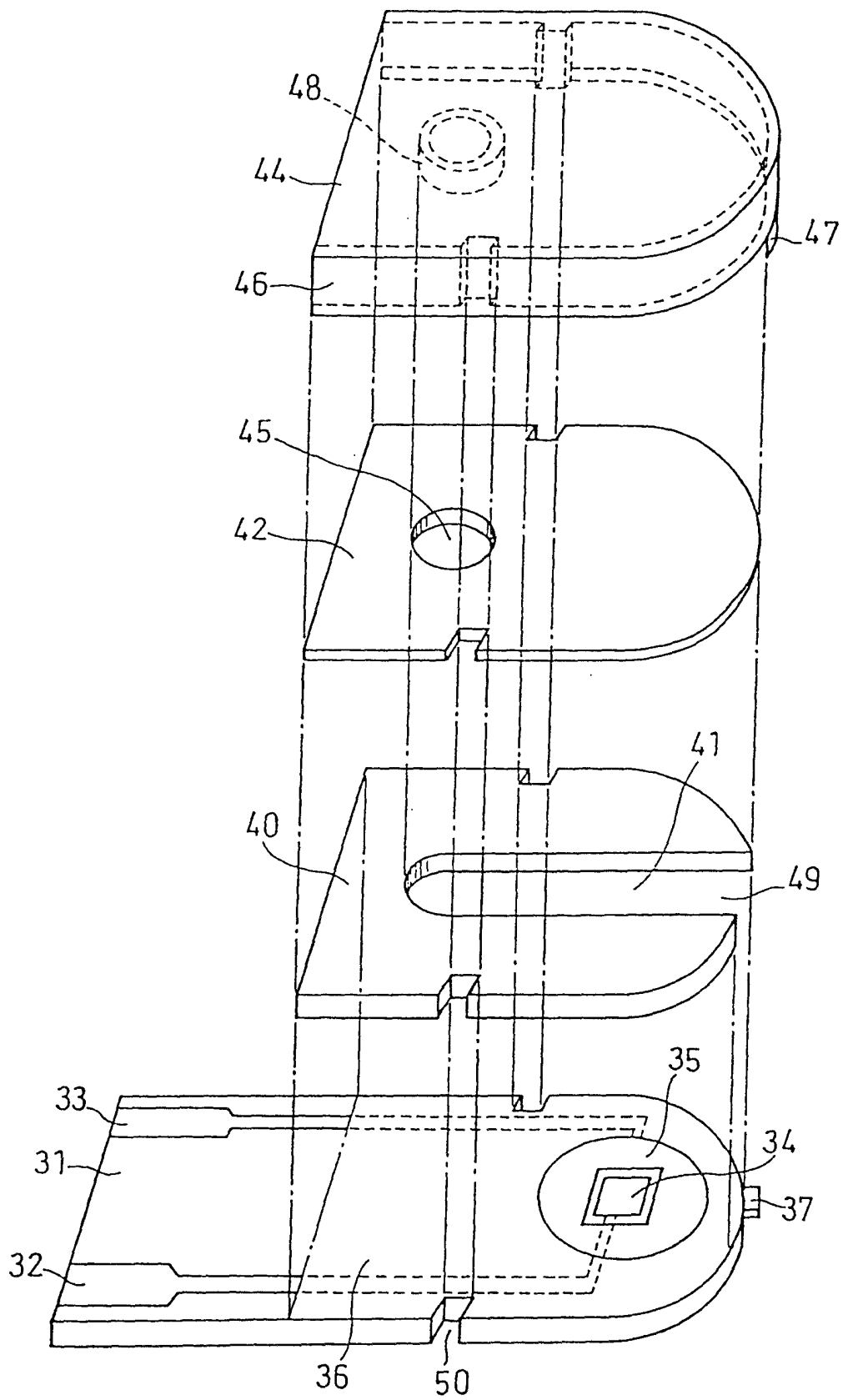


图 9

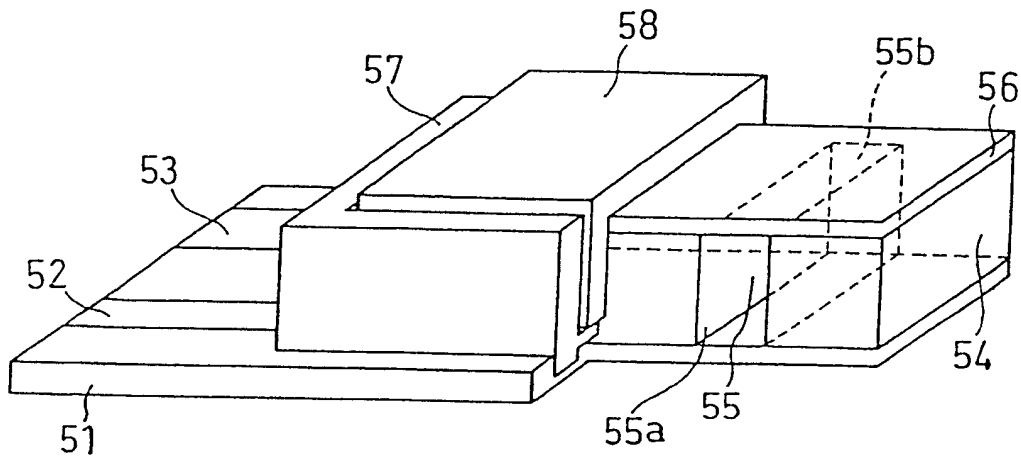


图 10

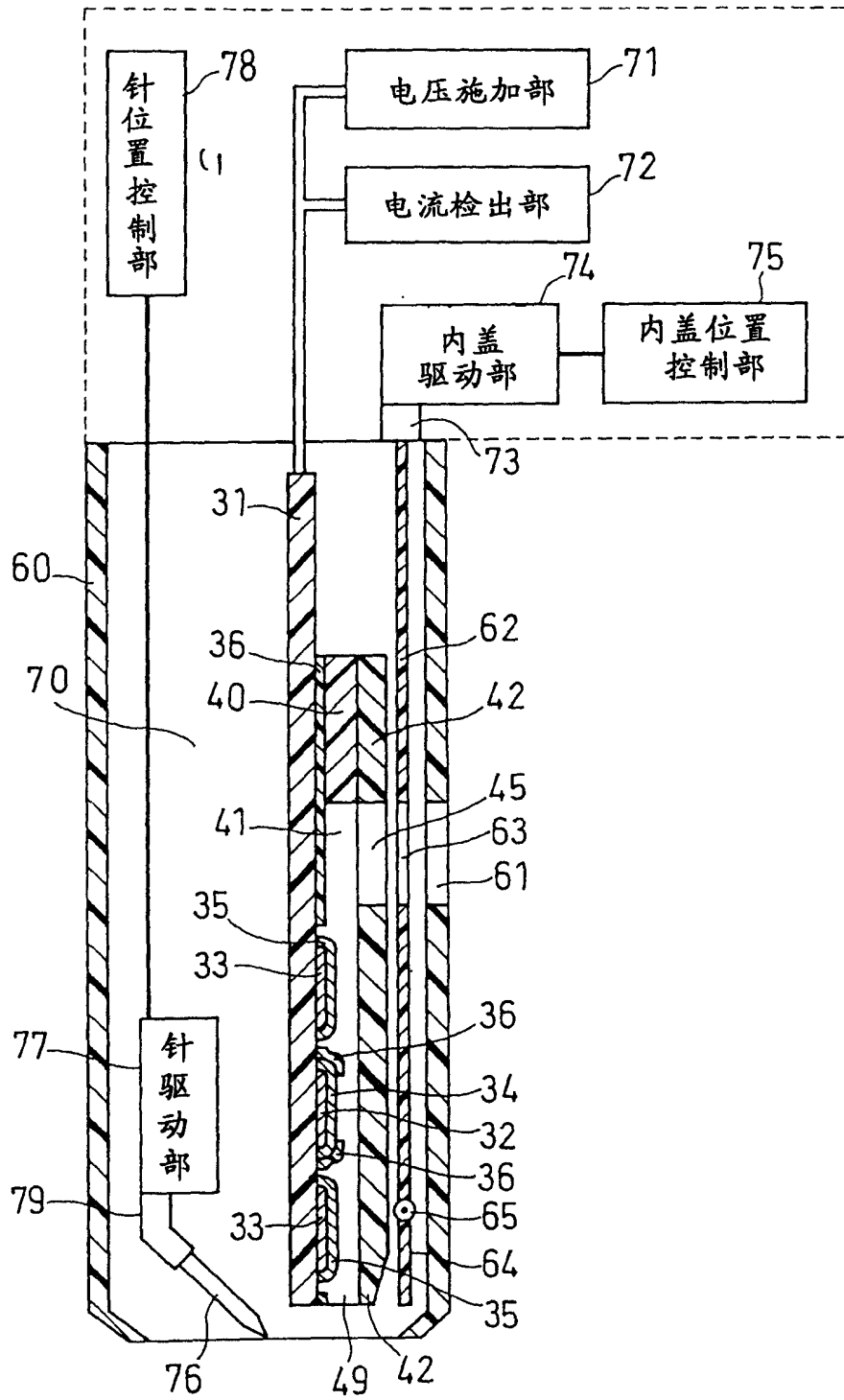


图 11