



**요약**

다층 시약 시험 스트립은 여기에 적용된 액체 샘플 속의 분석물의 농도를 측정한다. 샘플은 스트립을 따라 배열되어 있는 다수의 분석 영역으로 인도되어, 여기서 분석물은 색을 변화시키는 시약과 반응할 수 있다. 각각의 분석 영역은 또한 색 변화 반응용 억제제를 포함한다. 억제제 농도는 연속 분석 영역에서 증가하고, 따라서 색이 변하는 영역의 수는 분석물 농도의 척도이다. 시험 스트립은 특히 전혈 샘플 속의 글루코스를 측정하는 데 적합하다. 바람직한 양태에 있어서, 샘플은 막의 선택된 영역을 파쇄함으로써 형성된 경로를 따라서 분석 영역으로 인도되고, 분석 영역은 막의 파쇄되지 않은 영역이다.

**대표도**

도 1

**명세서**

**도면의 간단한 설명**

- 도 1은 본 발명의 직접 판독 시약 시험 스트립의 매트릭스의 투시도이다.
- 도 2는 본 발명의 직접 판독 시약 시험 스트립의 샘플 측의 부분 절단된 하부 평면도이다.
- 도 3은 부분 절단된 도 2의 시험 스트립 내부의 단편적인 확대 투시도이다.
- 도 4는 도 2의 라인(4-4)을 따라서 수득한 스트립의 단면도이다.
- 도 5는 도 2의 시험 스트립의 하부 평면도이다.
- 도 6은 도 5의 시험 스트립의 시험 측을 나타내는 상부 평면도이다.
- 도 7은 샘플이 스트립에 적용된 후의 도 6의 스트립이다.
- 도 8은 도 2의 시험 스트립의 또 다른 양태의 부분 절단된 투시도이다.
- 도 9는 도 8의 시험 스트립의 하부 평면도이다.
- 도 10은 도 8의 시험 스트립의 상부 평면도이다.
- 도 11은 도 10의 라인(11-11)을 따라서 수득한 스트립의 단면도이다.

**발명의 상세한 설명**

**발명의 목적**

**발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술**

본원은 1995년 3월 27일에 출원된 제411,238호와 1995년 5월 15일에 출원된 제442,035호의 부분 연속 출원으로 포기된, 1995년 8월 3일에 출원된 제528,511호의 연속 출원으로 1996년 11월 1일에 출원된 공개류중인 미국 특허원 제08/743,432호의 부분 연속 출원이다.

본 발명은 생물학적 유체 속의 분석물의 농도를 측정하기 위한 무수 시험 스트립, 보다 구체적으로 계량기를 필요로 하지 않고 직접 농도를 측정하는 시험 스트립에 관한 것이다.

생물학적 유체 속의 특정 분석물의 농도를 측정하기 위해서 다수의 시각 시험 장치가 개발되었다. 이들 장치들은, 예를 들면, 혈액, 뇨 또는 타액 속의 글루코스, 콜레스테롤, 단백질, 케톤, 페닐알라닌 또는 효소를 측정한다.

효소계 조성물을 혼입한 무수 상 시약 스트립은 생물학적 유체 샘플을 글루코스 농도에 대해 시험하는 임상 실험실, 의원, 병원 및 가정에서 광범위하게 사용된다. 사실, 시약 스트립은 다수 나라의 수백만 당뇨병 환자들을 위한 일상 필수품이 되었다. 당뇨병은 혈액 화학에서 위험한 이상을 초래할 수 있으므로, 이는 시각 상실, 신부전증 및 기타 심각한 의학적 결과의 원인이 될 수 있다. 이들 결과의 위험을 최소화하기 위해서, 대부분의 당뇨병 환자들은 주기적으로 스스로 시험한 다음, 예를 들면, 식이 조절 및/또는 인슐린 주사를 통해 글루코스 농도를 조정해야 한다. 몇몇 환자들은 하루에 4회 이상 자주 자신의 혈액의 글루코스 농도를 시험해야 한다.

당 섭취량을 조절하기 위해서 식이를 조절하고/하거나 인슐린 주사를 투여해야 하는 당뇨병 환자 및 혈액 글루코스 농도를 빈번하게 시험하도록 인도되어야 하는 당뇨병 환자가 신속하고 저렴하며 정확한 글루코스 측정용 시약 스트립을 갖는 것은 특히 중요하다.

스트립에 적용된 생물학적 유체 속의 글루코스의 농도에 따라서 다양하게 색조가 변하는 지시약을 함유하는 시약 스트립이 공지되어 있다. 이들 스트립의 몇몇은 환원 화학을 사용하지만, 보다 통상적으로 이들은 산화 가능한 염료 또는 염료 커플을 포함한다. 이들 스트립의 몇몇은 글루코스를 글루콘산과 과산화수소로 산화시킬 수 있는 글루코스 옥시다제와 같은 효소를 포함한다. 이들은 또한 산화 가능한 염료와, 과산화수소의 존재하에 산화 가능한 염료의 산화를 선택적으로 촉매할 수 있는 과산화적 활성을 갖는 물질을 함유한다[참조: 1994년 4월 26일에 카이저(Kiser) 등에게 허여된 미국 특허 제 5,306,623호].

미국 특허 제3,964,871호(1976년 6월 22일에 호흐슈트라쎄(Hochstrasser)에게 허여)에는 생물학적 유체 속의 글루코스 와 같은 물질을 직접 측정하기 위한 일회용 지시약 스트립이 기재되어 있다. 이 지시약은, 물질과 반응하는 경우에 산화되어 색이 변하는 지시약 시약과 몇가지 방식으로 완전히 소모될 때까지 산화된 지시약의 축적을 방지하는 길항제를 포함함으로써 물질의 농도를 지시한다.

팔머(Palmer) 등은 1989년 5월 24일에 공개된 유럽 특허 공보 제0 317 070호[참조: 1991년 7월 30일에 허여된 미국 특허 제 5,036,000호]에서 글루코스 와 기타 분석물용 "디지털" 정량 분석 시스템을 기재하고 있다. 이 시스템은 먼저 기질 특이성 옥시다제 효소로 화합물을 산화시켜 과산화수소를 제조함으로써 생물학적 유체 속의 유기 화합물의 농도를 측정한다. 이 시스템은 과산화수소의 환원제인 색소원과 보다 큰 환원 전위를 갖는 공기-안정한 과산화수소 환원제를 포함한다. 보다 큰 환원 전위는 공기-안정한 제1 과산화수소 환원제가 소모될 때까지 색소원에 의한 검출 가능한 색 변화를 지연시킨다. 따라서, 측정될 과산화수소가 공기-안정한 과산화물 환원제의 농도에 상응하는 예비 측정된 양보다 적은 경우, 색 변화는 일어나지 않는다. 그 결과, 이 시스템은 색 변화 강도에 관계없이 농도를 정량적으로 측정한다.

앵글만(Englemman)[1988년 4월 19일에 허여된 미국 특허 제4,738,823호]은 스트립에 적용된 과량의 샘플을 제거하기 위해 흡수성 재료가 위치하고 있는 지지체 부재를 갖는 분석물 측정용 시험 스트립을 기재하고 있다. 이 스트립은 또한 샘플을 유입할 수 있는 개구부를 포함하는 커버를 포함할 수 있다.

버크하트(Burkhardt)[1989년 3월 7일에 허여된 미국 특허 제4,810,470호] 등은 액체 샘플 속의 분석물 농도 측정용 장치를 기재하고 있다. 이 장치는 액체 불침투성 피막 또는 필름에 의해 덮힌 하나 이상의 흡수성 매트릭스를 포함한다. 샘플을 흡수성 매트릭스 부분에 부착시키고 매트릭스 크로마토그래피로 계량한다. 흡상 작용에 의해 샘플은 분석물용 시험 시약을 함유하고 있는 분석 영역으로 이동한다.

다퍼(Daffern)[1991년 2월 19일에 허여된 미국 특허 제4,994,238호] 등은 흡수성 층, 방수성 차단 층 및 일정한 용적의 시약 층을 포함하는 화학적 분석 시험 장치를 기재하고 있다. 위에 위치하는 흡수성 층와 차단 층에 정렬된 호울을 통해 샘플을 시약 층에 적용시킨다.

### 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

시험이 가정, 의원, 진료소 또는 병원에서 수행되든지간에 글루코스 측정의 정확성과 재현성은 극도로 중요하다. 색 지시 시약 스트립의 경우, 색 변화가 뚜렷하고 글루코스 이외의 생물학적 유체 중의 성분 변화에 민감하지 않은 것이 바람직하

다. 시각적 판독 시약 스트립의 경우, 제공된 포장에서 흡광도의 변화에 의해 나타나는 색 변화가 계량 판독 스트립의 정확도에 중요하지만, 시각이 손상되었을 수 있는 당뇨병 환자가 글루코스 농도에 따라 상당한 색 변화를 나타내는 스트립을 갖는 것이 특히 중요하다.

색 변화가 일련의 화학적 반응을 포함하기 때문에, 색 변화는 즉시 발생하지는 않는다. 따라서, 사용자는 반응이 일어나는 일정 시간, 통상적으로 1분 이하를 기다려야 한다. 계량기가 스트립을 판독하는 경우, 타이머 회로는 반응이 종결되었음을 나타내는 신호를 제공할 수 있다. 그러나, 스트립을 계량기 없이 시각적으로 판독하는 경우, 사용자는 필요한 시간을 작게 추정하고 스트립을 조기 판독하여, 부정확한 결과를 수득할 수 있다. 또한, 사용자는 반응 종결을 확실히 하기 위해 스트립을 판독하기 전에 과도한 시간을 기다릴 필요를 느껴, 불필요한 지연 및 사용자 불만을 유발할 수 있다. 따라서, "화학적" 타이머, 즉 샘플 속의 글루코스(또는 기타 분석물)의 농도에 관계없이 색이 변하지만 충분한 시간이 경과하여 샘플과의 색 형성 반응이 종결된 후에만 색이 변하는 스트립에 대한 부재가 필요하다.

### 발명의 구성 및 작용

따라서, 본 발명에 있어서,

샘플 수용용 관통 호울을 갖는 하부 층(a),

샘플 층이 하부 층과 대면하고 그 반대편이 시험 층이고 비흡수성 영역에 의해 분리된 다수의 별개 흡수성 분석 영역이 길이를 따라 배열되어 있고, 막이 분석물과 반응하여 색 변화를 일으킬 수 있는 시약을 함유하며, 시약이 분석물과 상호작용하여 과산화수소를 형성시키는 제1 성분(i), 과산화수소와 상호작용하여 색 변화를 일으키는 제2 성분(ii) 및 제2 성분의 색 변화를 억제하는 제3 성분(iii)을 포함하는 막 층(b),

하부 층과 막 층 사이의 중간 층(c) 및

막 표면 위의 샘플을 흡수성 분석 영역으로 인도하기 위해 중간 층에 형성되어 있는 유체 수송 채널을 포함하고 스트립을 따라 샘플을 분산시키는 계량 수단(d)을 포함하는, 스트립에 적용된 생물학적 유체 샘플 속의 분석물의 농도를 측정하기 위한 가늘고 긴 다층 시약 시험 스트립으로서, 억제제의 농도는 예정된 방식으로 스트립 제1 말단으로부터의 거리에 따라 증가하므로 색 변화를 수행하는 경우, 농도가 상응하게 증가하는 분석물이 샘플 속에 함유되어 있음은 분명하며, 이에 의해 샘플이 스트립에 적용되는 경우, 하나 이상의 분석 영역이 색을 변화시킬 수 있고 제1 말단으로부터 가장 원거리의 색 변화 영역이 샘플 속의 분석물의 농도를 나타낸다.

작동시 생물학적 유체 샘플 속의 분석물 농도의 측정방법은 샘플 수용용 관통 호울을 갖는 하부 층(i), 샘플 층이 하부 층과 대면하고 있고, 예정된 양 이상, 즉 스트립의 제1 말단에 근접한 분석 영역의 색 변화를 일으키는 분석물의 양 이상의 분석물을 함유하는 유체와 접촉하는 경우 각각 색을 변화시키는 다수의 흡수성 분석 영역을 포함하는 막 층(ii) 및 예정된 비흡수성 경로를 따라서 관통 호울로부터 각각의 분석 영역으로 샘플을 분산시키는 계량 수단(iii)을 포함하는 시약 시험 스트립에 샘플을 적용시키는 단계(a)와 색이 변하고 스트립의 제1 말단으로부터 가장 원거리에 있는 분석 영역을 관찰함으로써 분석물 농도를 측정하는 단계(b)를 포함한다.

본 발명의 스트립은 스트립의 "샘플 층"에 적용된 생물학적 유체에 함유되어 있는 분석물의 농도를 시각적으로 지시하는 유형의 스트립이다. 시각적 지시는 스트립의 "반대(또는 "시험") 층에 나타난다.

시험 스트립의 화학적 조성은 물론 측정되는 분석물/생물학적 유체에 좌우된다. 시험 스트립은 혈액, 뇨 및 타액과 같은 생물학적 유체 뿐만 아니라 물 속의 글루코스 또는 기타 당, 알콜, 콜레스테롤, 단백질, 케톤, 요산, 페닐알라닌 또는 효소와 같은 분석물을 검출하도록 고안될 수 있다. 편리하고 간단하게, 본 명세서에 가장 상세하게 기재되어 있는 시약 시험 스트립은 혈액 속의 글루코스를 검출한다. 당해 분야의 숙련인은 기타 분석물/생물학적 유체 혼합물을 검출하기 위해서 본원에 기재된 정보를 쉽게 적합화시킬 수 있다.

본 발명의 시험 스트립은 측정되지 않은 혈액 샘플 속의 글루코스 농도를 비교적 간단하고 신속하게 측정하도록 한다. 스트립은 다공성 매트릭스의 샘플 층(이의 반대 측은 시험 층이다)에 샘플을 유입할 수 있는 호울을 갖는 하부 층을 포함한다. 매트릭스는 일반적으로 막이고, 두가지 용어는 본 명세서와 특허청구의 범위에서 서로 교환하여 사용된다. 시험 시약을 매트릭스에 적용시키고, 보다 크거나 작은 범위로 매트릭스의 기공에 함침시킨다. 간략하게, 본 명세서와 특허청구의 범위에서 매트릭스 위의 시약을 "피막"이라고 하며, 시약 피막은 매트릭스를 관통하는 것으로 이해한다.

중간층은 하부 층과 매트릭스 층 사이에 위치한다. 하나의 양태에 있어서, 중간층 속의 컷아웃(cutout)은 막의 비흡수성 영역에 정렬하여 스트립을 따라서 배열되어 있는 일련의 흡수성 분석 영역으로 샘플을 인도한다. (본 명세서와 특허청구의 범위에서 사용되는 "흡수성(bibulous)"이란 흡수성(absorbent)을 의미하는 것으로 이해한다.) 중간 층 속의 일련의 노치(notch)는 분석 영역의 공간 주위와 위를 둘러싸고 있어서 샘플의 이들 영역으로의 유동을 강요한다. 또 다른 양태에 있어서, 중간 층 속의 가늘고 긴 실질적으로 직사각형 슬롯은 비흡수성 영역에 의해 분리된 연속되는 흡수성 영역으로 샘플을 인도한다.

따라서, 고정된 용량의 샘플, 통상적으로 적혈구와 글루코스를 포함하는 전혈은 일련의 분석 영역 각각에서 막의 샘플 층으로 향하고 있다. 매트릭스의 다공성은, 예를 들면, 모세관 현상에 의해 유체를 샘플 층으로부터 시험 층으로 통과시킨다. 따라서, 시험 시약은 혈액 속의 글루코스와 반응하여 시험 층에서 또는 근처에서 색 변화를 일으킨다. 강한 색상의 적혈구는 색 변화의 검출을 보다 어렵게 하기 때문에, 매트릭스는 바람직하게는 이방성이고, 기공 크기는 점차적으로 샘플 층에서는 큰 기공으로부터 시험 층에서는 보다 작은 기공으로 변화하여, 시험 층으로부터 방출되는 적혈구를 포획한다. 각종 재료가 본 발명의 시험 스트립과 타이머의 각종 성분으로 사용될 수 있다. 이들 재료 중 몇몇은 각각 카이저 등에게 1994년 4월 26일에 허여된 미국 특허 제5,306,623호와 1995년 5월 23일에 허여된 제5,418,142호에 기재되어 있으며, 이들 문헌은 본원에 참조로 인용되어 있다.

시험 시약은 글루코스 옥시다제와 같은, 글루코스를 과산화수소로 전환시키는 성분, 샘플 속에 존재하는 글루코스로부터 생성된 과산화수소를 검출하는 하나 이상의 성분 및 억제제를 포함한다. 과산화수소를 검출하는 성분은 반응 동안에 색을 변화시키는 "지시약"과 함께 퍼옥시다제, 바람직하게는 호스래디쉬 퍼옥시다제일 수 있다. 지시약은 산화가능한 염료 또는 염료 커플일 수 있다. 퍼옥시다제는 과산화수소의 존재하에 지시약의 산화를 촉매한다. 시약의 최종 요소는 지시약의 색을 변화시키는 산화를 지연시키는 억제제이다.

스트립은 인접한 막 세그먼트가 상이한 억제제 농도를 갖도록 길이를 따라서 분할된다. 각각의 세그먼트는 충분한 글루코스가 존재하여 먼저 모든 억제제가 소모된 다음, 지시약을 산화시켜 특정 색 변화를 일으키는 경우에만 색을 변화시키는 흡수성 분석 영역을 갖는다. 따라서, 특정 영역에서의 색 변화는 원래 혈액 샘플 속의 글루코스 한계 농도를 명시한다. 스트립을 따라서, 특정 방향으로 각각의 연속 세그먼트는 억제제의 농도가 단계적으로 증가하고, 이는 글루코스 한계 농도의 단계적인 증가에 상응한다. 지시약 농도는 모든 세그먼트에 대해 동일하다. 원칙적으로, 기타 다양한 억제제/지시약의 균형이 또한 가능하다.

세그먼트의 억제제 농도가 특정 시험 샘플의 적합한 범위에 있는 경우, 인접한 분석 영역은 분석물과 반응하여 하나의 영역이 착색되고 인접한 영역은 착색되지 않는다. 이러한 결과는 샘플 속의 글루코스 농도가 하나의 영역의 색을 변화시키는 데 요구되는 한계 농도와 적어도 동일하지만 인접한 영역의 색을 변화시키는 데 요구되는 농도만큼 크지는 않다는 것을 나타낸다.

혈액 글루코스 모니터링을 위해, 임의의 타이머 세그먼트 피막은 글루코스 이외에 지시약 스트립 요소, 즉 시험 시약이 그 위에 피복되어 있는 다공성 매트릭스를 포함한다. 무수 상태에서, 시약 화학은 글루코스에 의해 활성화되지는 않지만, 샘플이 스트립에 적용되는 경우에 타이머 피막은 수화되고 예정된 시간 후에 피막 속의 글루코스는 지시약이 색을 변화시키도록 한다. 바람직하게는, 글루코스는 억제제를 극복하는 데 요구되는 양을 초과하는 양으로 타이머 속에 존재한다. 이러한 경우, 요구되는 시간은 보다 많은 양 또는 보다 적은 양의 억제제가 존재하느냐에 따라 보다 길어지거나 보다 짧아진다. 스트립에서의 색 변화와 타이머에서의 색 변화는 눈으로 직접 관찰하거나 반사율의 변화를 검출하는 광학 장치에 의해 관찰할 수 있다.

본 발명은 생물학적 유체 속의 분석물의 농도를 측정하기 위한 직접 판독 시약 시험 스트립이다. 이러한 시험 스트립의 중요한 요소는 스트립에 적용되는 생물학적 유체 샘플 속의 분석물과 반응시 색 변화를 일으키는 시험 시약을 혼입시킨 다공성 매트릭스이다.

매트릭스는 균일한 조성물이거나 피복된 기판일 수 있고, 등방성 또는 이방성일 수 있다. 이는 샘플이 적용되는 샘플 층과 색 변화가 관찰되는 시험 층을 갖고 있다. 바람직하게는, 매트릭스는 이방성 막, 보다 바람직하게는 기공 크기의 범위가 광범위한 이방성 막이다. 예를 들면, 약 0.1 $\mu\text{m}$  내지 약 150 $\mu\text{m}$ 의 기공 크기 구배는 막을 통해서 확대될 수 있다. 큰 기공 층에서, 기공 크기는 바람직하게는 약 30 $\mu\text{m}$  내지 약 40 $\mu\text{m}$ 이다. 기공이 가장 작은 막 층에서, 기공 용적은 비교적 작으며 막의 재료는 통상적으로 막의 두께의 20% 이하를 구성할 수 있는 층 내에 매우 밀집해 있다. 이러한 층 속에서, 기공 크기는 바람직하게는 약 0.1 $\mu\text{m}$  내지 약 0.8 $\mu\text{m}$ 인데, 공칭 기공 크기는 바람직하게는 약 0.3 $\mu\text{m}$ 이다. 생물학적 유체를 샘플 층에 적용시키는 경우, 샘플은 막을 통과함에 따라 점차적으로 보다 작은 기공과 만난다. 결국, 적혈구와 같은 고체는 더 이

상 통과할 수 없는 막의 위치에 도달한다. 용해된 글루코스를 여전히 함유하는 잔여량의 샘플은 시험 측으로 통과한다. 막의 이방성 및/또는 분리 성분의 사용(다음에 논의)으로 고체를 여과시키는 동안에도 비교적 빠른 유속으로 막을 통과시킨다.

샘플이 매트릭스를 통과함에 따라 시약과의 반응이 광 흡수 염료가 시험 측 근처의 공극 용적 속에서 형성되거나 분해되도록 하여 실질적으로 매트릭스로부터의 반사율에 영향을 미친다.

폴리설펜과 폴리아미드(나일론)는 적합한 매트릭스 재료의 예이다. 유사한 특성을 갖는 기타 중합체를 사용할 수도 있다. 중합체는 충전된 구조물을 제공하는 기타 작용성 그룹을 유입하도록 변형되어 매트릭스의 표면은 중성, 양성 또는 음성일 수 있다.

매트릭스를 형성하는 다공성 재료의 바람직한 제조방법은 지지하는 코어없이 중합체를 캐스팅하는 것이다. 이러한 매트릭스는, 예를 들면, 시판되고 있는 이방성 폴리설펜[공급원: Memtec, Inc., Timonium, MD]이다. 두께가 약 200 $\mu\text{m}$  미만인 매트릭스가 통상적으로 사용되는데, 약 115 내지 155 $\mu\text{m}$ 가 바람직하다. 특히 매트릭스가 나일론 또는 이방성 폴리설펜인 경우, 두께는 약 130 내지 140 $\mu\text{m}$ 가 가장 바람직하다.

막을 성분의 혼합물에 침지시켜 막을 포화시킴으로써 시험 시약으로 처리할 수 있다. 바람직하게는, 성분들 중 적어도 몇몇은 순차적으로 막에 적용된다. 과량의 시약은, 예를 들면, 에어 나이프, 닥터 블레이드 또는 유리 막대와 같은 기계적 수단으로 제거할 수 있다. 그 다음, 막을 건조시킨다. 시약은 막의 작은 기공(시험) 측 근처에 농축되는 경향이 있다.

시험 시약은 글루코스를 과산화수소로 전환시키는 성분(i), 과산화수소를 검출하는 성분(ii) 및 과산화수소를 검출하는 성분을 억제하는 성분(iii)을 포함한다. 시약은 또한 적혈구 세포와 같은 고체를 매트릭스에 포획하여 생물학적 유체로부터 고체를 효과적으로 제거하는 분리 성분을 임의로 포함할 수 있다. 다음에 실시예에서 언급되는 바와 같이 부가적인 성분을 포함할 수도 있다.

글루코스를 과산화수소로 전환시키는 바람직한 성분은 통상적으로 아스페르길루스 니거(*Aspergillus niger*) 또는 페니실륨(*Penicillium*)으로부터 수득되는 효소인 글루코스 옥시다제를 포함한다. 글루코스 옥시다제는 글루코스와 산소와 반응하여 글루코놀락톤과 과산화수소를 생성시킨다. 글루코스 옥시다제의 최적 농도는 지시약 시스템의 조성에 좌우된다. 예를 들면, 지시약 시스템이 MBTHSB-ANS(다음에 기술함)인 경우, 약 500 내지 10,000U/mL 범위의 글루코스 옥시다제가 적합하고, 보다 바람직하게는 약 700 내지 2000U/mL, 가장 바람직하게는 약 1000U/mL이다. 일반적으로, 글루코스 옥시다제의 농도가 보다 높은 경우에 반응이 보다 신속하게 진행되고, 농도가 낮은 경우에 덜 신속하게 진행된다.

이렇게 생성된 과산화수소는 과산화수소와 지시약 사이의 반응을 선택적으로 촉매하는 퍼옥시다제를 포함하는, 과산화수소 검출용 성분과 반응한다. 퍼옥시다제는 과산화수소를 각종 기질로부터 수소원자를 제거할 수 있는 산화제로서 사용한다. 적합한 퍼옥시다제는 식물로부터 수득되는 페리프로토포피린, 즉 적색 헤민을 함유할 수 있다. 동물, 예를 들면, 동물의 갑상선으로부터 수득한 퍼옥시다제가 또한 적합하다. 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRPO)는 특히 과산화수소 검출용 성분의 구성성분으로서 바람직하다.

바람직하게는 퍼옥시다제에 의해 촉매된 과산화수소는 직접 또는 간접적으로 반응하여 예정된 과장 범위에서 광을 흡수하는 지시 염료를 형성하거나 분해시킨다. 바람직하게는, 지시 염료는 시험 시약이 강하게 흡수하는 과장과 상이한 과장에서 강하게 흡수한다. 산화된 형태의 지시약은 착색되거나 희미하게 착색되거나 무색의 최종 생성물일 수 있는데, 이는 매트릭스의 시험 측의 색 변화를 명시한다. 즉, 시험 시약은 표백된 착색 영역에 의해 또는 색을 전개하는 무색 영역에 의해 샘플 속의 분석물의 존재를 나타낼 수 있다.

본 발명에 사용될 수 있는 지시약에는 3-디메틸아미노벤조산(DMAB)과 배합된 3-메틸-2-벤조티아졸리논 하이드라존 하이드로클로라이드(MBTH)(a), 3,5-디클로로-2-하이드록시벤젠-설펜산(DCHBS)과 배합된 MBTH(b), 4-아미노안티피렌(4-AAP) 및 5-옥소-1-(p-설포페닐)-2-피라졸린-3-카복실산(OPSP)(c), 4-AAP 및 N-(m-톨릴)-디에탄올아민(NDA)(d), 2,2'-아지노-디(3-에틸벤조티아졸린)설펜산(ABTS)(e), 4AAP 및 4-메톡시나프톨(f), 피로갈롤 레드(PGR)(g), 브로모피로갈롤 레드(BPR)(h), 애시드 그린 25(AG)(i) 또는 8-아닐리노-1-나프탈렌 설펜산 암모늄(ANS)과 배합된 [3-메틸-2-벤조티아졸리논 하이드라존] N-설포닐 벤젠설포네이트 일나트륨(MBTHSB)(j)이 있다. MBTHSB-ANS가 바람직하다. MBTHSB-ANS에 대한 추가의 정보는 본원에서 참조하고 있는 1996년 10월 8일에 허여된 미국 특허 제5,563,031호에 기재되어 있다.

억제 성분은, 예를 들면, 과산화수소를 환원시키거나 산화된 지시약을 환원시킴으로써 과산화수소와 지시약 사이의 반응을 지연시킨다. 원칙적으로, 지시약에 대한 몇가지 상이한 작동 방식이 있다. 첫째, 억제제는 지시약과 경쟁하여 지시약이 색 변화를 일으키는 속도를 늦출 수 있다. 둘째, 억제제는 비경쟁적이어서 실질적으로 모든 억제제는 지시약의 실질적인 색 변화가 일어나기 전에 소모된다. 억제제의 다른 작동 방식도 가능하다. 바람직하게는, 본 발명의 억제제는 비경쟁적이다.

적합한 억제제의 범위 중에는 2,3,4-트리하이드록시벤조산, 프로필 갈레이트, 3,4-디하이드록시 신남산, 3,4-디하이드록시 벤즈알데히드, 갈산, 5,6-디아미노우라실, 아스코르브산 및 이소아스코르브산이다. 아스코르브산이 바람직하지만, 아스코르브산은 용액 속에서 산화하므로 시약을 피복시키기 위해서 안정화시켜야 한다. 바람직한 안정화제는 에틸, 메틸 또는 프로필 알콜과 같은 1차 알콜이다. 에틸 알콜이 바람직하고, 특히 농축된 용액, 즉 50% 이상의 에탄올 용액이 바람직하다.

바람직한 매트릭스인 이방성 막이 적혈구를 여과하고 이들을 시험 측으로부터 떨어져 있도록 하지만, 임의의 시험 시약은 또한 분리 성분을 함유할 수 있다. 분리 성분은 매트릭스에서 적혈구를 격리시킴으로써 적혈구를 함유하는 유체, 예를 들면, 전혈로부터 비교적 투명한 무색의 유체를 생성시킬 수 있어야 한다. 본 발명에 사용하기 위한 분리 성분은 pH가 약 4.0 내지 8.0인 폴리에틸렌 글리콜, 폴리(메틸비닐 에테르/말레산) 무수물, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리스티렌 설포산, 폴리아크릴산, 폴리비닐 알콜 및 폴리비닐 설포산을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 매트릭스에 존재하는 이러한 분리 성분의 양은 이들의 전하 및 분자량, 매트릭스에 매봉되어 있는 기타 성분, 매트릭스 pH 및 기공 크기, 및 건조시킨 후에 매트릭스에 잔류하는 수분에 따라서 변할 수 있다. 이러한 변수는 당해 분야의 숙련인들에게는 쉽게 결정 가능하다. 예를 들면, 폴리프로필렌 글리콜을 분리 성분으로서 사용하는 경우(예: PPG-410, 공급원: BASF, Wyandotte, MI), 바람직하게는 약 2 내지 30%중량/용량(w/v), 보다 바람직하게는 8 내지 10w/v%로 존재한다. 기타 분리 성분을 또한 약 2 내지 30w/v(%)의 농도로 사용할 수 있다. 중합체성 분리 성분을 매트릭스에 함침시키거나 매봉시킬 수 있거나 제조 동안 막에서 캐스트할 수 있다.

몇몇 수용성 염이 또한 혈액 분리를 수행할 수 있다. 혈액 성분을 분리하는 데 적합한 염들은 시트레이트, 포르메이트 및 설포네이트일 뿐만 아니라 아미노산, 시트르산, 피트산 및 말산과 같은 특정 산을 함유한다[참조: 1971년 1월 5일에 엠. 씨. 페터에게 허여된 미국 특허 제3,552,928호]. 분리 성분을 포함하는 잇점은 적혈구와 같은 고체가 생물학적 유체로부터 거의 제거됨으로써 시험 시약에 의해 생성된 착색의 변화를 불분명하게 하는 시험 부위의 바탕색이 덜 진하다는 것이다.

기타 성분을 매트릭스에 매봉시켜 시약 스트립의 착색과 판독을 개선시키고 매트릭스의 균일성과 일체성을 보존할 수 있다. 예를 들면, 시험 시약은 매트릭스 속에서 염료의 분리를 보조하는 염 및/또는 완충제를 포함할 수 있다. 이러한 완충제는, 예를 들면, 용액에 존재하는 시트레이트를 약 0.01M 내지 약 1.0M, 바람직하게는 약 0.1M로 함유할 수 있다. 기타 완충제를 또한 사용할 수 있다.

매트릭스를 친수성이 되도록 하는 화합물과 가수분해된 단백질과 같이 안정화제로서 작용할 수 있는 화합물을 또한 사용할 수 있다. 이러한 화합물에는, 예를 들면, 소의 혈청 알부민, 폴리펩타이드 및 크로테인 에스피에이(Crotein SPA)에서 시판하는 저분자량 단백질이 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 이러한 화합물은, 예를 들면, 약 1mg/mL 내지 약 100mg/mL의 농도로 사용한다. 크로테인의 경우, 약 30mg/mL가 바람직하다.

기타 안정화제와 방부제가 또한 매트릭스용 피막에 포함될 수 있다. 예를 들면, 에틸렌 디아민 테트라아세트산(EDTA), 디에틸렌 트리아민 펜타아세트산(DTPA) 및 관련 화합물을, 예를 들면, 약 0.01mg/mL 내지 약 10mg/mL의 농도로 사용할 수 있다. 방부제의 용도에는 억제제를 안정화시키는 것을 돕는 역할이 있다.

지시약의 몇몇(예: BPR)은 매트릭스에서 이동하는 바람직하지 않은 성향을 갖는다. 이러한 지시약을 사용하는 경우, 이온 쌍형성제(ion pairing agent)를 포함하여 이러한 이동을 방지한다. 예를 들면, 폴리콰트(H)(공급원: Henkel, Inc., Ambler, PA)로서 시판되고 있는 폴리에틸렌 글리콜 유도체는 지시약과 기타 매트릭스 치환체간의 이온 쌍형성을 촉진시키는 능력에 있어서 특히 유용하다.

분석물의 존재가 색형성(예: MBTHSB-ANS)에 의해 지시되는 경우, 계면활성제를 가하여 색을 밝게 하고 착색되지 않은 주변과의 대조를 향상시킬 수 있다.

유기 용매를 또한 본 발명의 실행시에 사용할 수 있고 매트릭스용 시험 시약의 제형시에 포함할 수 있는데, 단 물론 이들은 매트릭스와 시험 시약 조성물과 혼화 가능하다. 잠재적으로 적합한 유기 용매에는 클로로포름, 아세톤, 알콜, 메틸렌 클로라이드, 디에틸 및 석유 에테르, 아세토니트릴 및 이들의 혼합물이 있다. 본 발명의 실행시, 물 속의 70% 에탄올이 특히 바람직하다.

매트릭스 상에 피복하고 매트릭스에 함침된 시험 시약은 시험 스트립의 표면 위에서 균일하지 않다. 대신에, 시약은 일련의 평행한 스트립 속의 매트릭스 또는 스트립의 좁은 치수를 교차하여 연장되어 있는 "세그먼트"에 도포되는 것이 바람직하다. 서로 인접하고 있는 세그먼트의 조성은 억제제 농도를 단계적으로 증가시킨다. 각각의 세그먼트는 흡수성 분석 영역을 갖는다. 이 분석 영역에서, 글루코스 농도가 분석 영역에서의 억제제 농도를 극복할 정도로 큰 경우, 시험 시약은 혈액 속의 임의의 글루코스와 반응하여 색 변화를 일으킨다. 따라서, 각각의 연속되는 분석 영역은 영역에서의 색 변화를 일으키기 위해서 샘플 속의 글루코스 농도를 단계적으로 증가시킬 것을 요구한다.

임의로, 분석 영역 중 하나는 타이머로서 작용시켜 시작이 각각의 분석 영역에서 글루코스와 반응하는데 충분한 시간이 경과하였음을 지시하는데 적합화시킨다. 매트릭스의 타이머 세그먼트는 글루코스 이외에 시험 시약으로 이루어진 조성물로 피복시키거나 함침시킨다. 시험 시약의 목적이 글루코스에 대한 반응시 색을 변화시키는 것이기 때문에, 색 변화를 일으키지 않으면서 2개를 합하는 데는 몇가지 주의를 요한다. 타이밍 작용에 필요한 양 이상의 양으로 억제제가 존재하여 이러한 효과를 상쇄해야 한다. 타이머 세그먼트가 건조되는 속도는 글루코스 함유 용액을 적용시킨 후 조절한다. 실제로, 막을 먼저 완충제, 안정화제 및 효소를 함유하는 용액으로 피복시키고 피막을 건조시켜 제1 층을 형성시킨다. 그 다음, 제2 피막을 지시약, 억제제 및 글루코스를 함유하는 용액으로 통과시킨다. 웹 속도, 오븐 온도 및 기류와 같은 변수와 부착된 피복 용액의 양은 억제제 및/또는 글루코스 농도에 대해 미리 적합하게 조정하여 고정시킬 수 있다. 제2 피막을 직접 도포하는 대신에, 덜 바람직하지만 또 다른 방법에는 분리 웹에 제2 피막을 형성시킨 다음, 제1 층 위에 위치시키는 방법이 있다.

샘플을 스트립에 적용시키는 경우, 타이머 세그먼트 조성물의 수화로 색 형성 반응이 진행된다. 타이머 세그먼트가 색을 변화시키는 데 걸리는 시간은 온도와 시험 시약의 특성, 특히 억제제 농도, 글루코스의 양 및 수화 및 산소 확산 속도에 의해 결정된다.

타이머 색 변화 시간은 샘플 속의 글루코스 농도에 좌우되도록 또는, 다르게는 농도와 무관하도록 만들 수 있다. 매우 과량의 글루코스를 타이머에 혼입시킴으로써, 시간은 샘플의 글루코스 농도에 실질적으로 거의 무관하게 된다. 보다 적은 글루코스를 타이머에 흡입시킴으로써, 시간은 샘플 속의 글루코스에 좌우되게 되는데, 즉, 타이머는 샘플 속의 글루코스의 농도가 보다 높은 경우, 색을 더 빨리 변화시킬 것이다. 바람직하게는, 타이머 속의 글루코스 농도는 약 1500mg/dL 이상인데, 이는 타이머를 약 40 내지 400mg/dL의 농도 범위인 샘플 글루코스과 실질적으로 무관하도록 한다. 타이머 세그먼트 조성물은 글루코스를 과산화수소로 전환시키는 성분(예: 글루코스 옥시다제)과 글루코스를 과량으로 포함한다. 이어서, 타이머 조성물은 억제제를 적어도 억제제 농도가 가장 높은 최종 세그먼트(가장 높은 글루코스 관독에 상응)만큼 많이 또는 그 이상을 포함해야 한다.

타이머는 또한 시험 스트립이 수분의 노출에 의해 손상되는 경우, 이를 분명히 함으로써 중요한 품질 조절 기능을 한다. 시험 스트립은 글루코스를 과산화수소로 전환시키는 성분(일반적으로 효소)이 수분에 노출시 분해되는 경향이 있기 때문에, 이들 성분이 사용될 때까지 무수 상태로 유지되어야 한다. 따라서, 스트립이 수분에 조기 노출되는 경우, 이는 손상될 것이다. 그러나, 시험 스트립의 손상은 사용자에게는 명백하지 않고, 따라서 사용자는 이러한 스트립을 사용하여 잘못된 결과를 얻는다. 그러나, 스트립이 타이머 세그먼트를 포함하는 경우, 수분에 대한 노출은 타이머가 색 변화를 일으키고, 이는 사용자에게 스트립이 손상되어 사용해서는 안된다는 것을 경고한다.

타이머에 관한 추가의 정보는 본원에서 참조하고 있는 1996년 9월 3일에 출원된 공개특허인 미국 특허원 제08/706,753 호에 제시되어 있다.

시약 함유 매트릭스 이외에, 본 발명의 스트립은 매트릭스를 지지하는 하부 층을 포함한다. 하부 층은 바람직하게는 열가소성 시트, 보다 바람직하게는 폴리에스테르이고, 일반적으로 두께는 약 0.05 내지 0.2mm이며, 샘플이 통과하여 매트릭스의 샘플 측에 적용될 수 있는 호울을 갖는다. 샘플 호울로부터 혈액 샘플은 매트릭스의 길이를 따라서 분산된다. 하부 층이 일반적으로 불투명한 경우, 하나 이상의 투명한 창 부분이 샘플 호울로부터 적합한 거리에 위치할 수 있고, 창(들)에서의 샘플의 외관은 적합한 샘플이 스트립에 적용되었음을 확인시켜 준다.



샘플 호일로부터의 혈액을 분석 영역에 분산시키기 위해서 하부 층과 막 사이에 위치하고 임의로 이들 둘 모두에 부착되어 있는 중간 층을 포함한다. 중간 층은 바람직하게는 열가소성 시트, 보다 바람직하게는 폴리에스테르이고, 일반적으로 두께는 약 0.05 내지 0.2mm이다. 하나의 양태에 있어서, 중간 층 속에 있는 컷아웃은 막에 있는 비흡수성 경로를 따라서 스트립의 길이 하부의 샘플을 각각의 분석 영역으로 인도한다. 중간 층 속의 노치는 분석 영역을 따라 정렬하고 있어서 각각의 분석 영역은 중간 층의 벽에 의해 실질적으로 둘러싸여 있다. 또 다른 양태에 있어서, 중간 층은 샘플을 막 표면을 가로질러 분석 영역으로 인도하는 가늘고 긴, 실질적으로 직사각형 슬롯을 갖는다. 슬롯의 폭은 일반적으로 약 0.5 내지 3mm이다

막에 있는 비흡수성 경로의 바람직한 구조는 막 기공 구조를 붕괴시킴으로써 형성된다. 이는 직접 가열하거나 레이저 또는 초음파를 사용하여, 바람직하게는 압력을 포함하여 수행될 수 있다. 그러나, 바람직한 방법은 파쇄이다. 따라서, 막을 파쇄하여 분석 영역 이외의 모든 영역에서 이를 비흡수성(그러나 여전히 친수성)이도록 한다. 본 발명의 하나의 양태에 있어서, 막을 편평한 플레이트 사이에서 파쇄하는데, 단 다이는 분석 영역이 파쇄되지 않도록 한다. 압력은 약 6ton/in<sup>2</sup>(80,000kPa) 이상이 바람직하다. 임의로, 플레이트를 약 110°C 이상으로 가열할 수 있다. 바람직한 압력과 온도는 물론 파쇄 메카니즘 및 체류 시간 뿐만 아니라 막 변수에 좌우된다. 최적 값은 통상의 시험을 통해서 결정할 수 있다. 막이 이런 식으로 파쇄되는 양태는 하부 층으로 연장되고 다음에 논의되는 바와 같이 노치형 중간 층과 함께 사용되는 분석 영역을 수득한다.

정밀한 측정을 위해서, 각각의 분석 영역으로 제공되는 혈액의 용량은 바람직하게는 재현 가능하다. 그 다음, 노치가 분석 영역을 완전히 에워싸는 경우, 하부 층 및 파쇄된 막 모두와 중간 층 사이의 액체-밀봉을 가정하면 각각의 분석 영역은 벽이 중간 층에 의해 형성되고 말단이 막과 하부 층에 의해 형성된 밀폐된(원통형) 용적과 관련될 수 있다. 그러나, 분산 채널은 스트립을 따라서 형성되고 샘플을 각각의 분석 영역으로 공급한다. 바람직하게는, 하부 층은 채널과 분석 영역을 균일하게 충전시키는 것을 촉진하는 분석 영역과 일직선으로 통기 호일을 갖고 있다. 높은 정확도는 분산 채널이 각각의 분석 영역에 대한 고정된 용량의 샘플을 제공하지만 혈액을 적용시킨 후 약 90초부터 시작하여 측정의 시간 프레임 - 약 1분 또는 2분 내에서 더 이상, 전혀 제공하지 않는 것을 요구한다. 초기 샘플 용량은 다양하기 때문에, 바람직하게는 막의 각각의 말단에는 분산 채널 말단으로부터의 과량의 샘플을 수용하는 흡수성 층이 있다. 채널의 말단에 있는 흡수성 층은 또한 스트립의 길이를 따라 샘플의 흡상을 향상시킨다. 당해 분야에 익히 공지되어 있는 부직포는 바람직한 흡수성 층을 형성한다.

본 발명의 또 다른 양태에 있어서, 막과 커버 시트는 롤러로 압축시킨다. 커버 시트는 분석 영역을 수용하도록 위치된 호일을 갖고, 이들 영역은 호일로 연장되어 있고 파쇄되지 않은 채로 존재한다. 이러한 양태에 있어서, 다이는 필요하지 않으며, 바람직하게는 롤러에 의해 인가된 힘 약 1000lb(4,450N) 이상으로 파쇄한다. 이러한 양태에 있어서 분석 영역은 위에서 언급한 양태의 분석 영역과 반대 방향으로 연장되어 있음을 주목한다. 샘플이 외부로 개방되어 있는 상부 층을 향해서 연신되기 때문에, 통기 호일은 하부 층에서 사용되지 않는다. 이러한 양태는 샘플을 분석 영역으로 인도하는 실질적으로 직사각형 슬롯을 갖는 중간 층을 함께 사용된다. 이러한 양태는 "고-글루코스" 분석 영역을 갖는 스트립의 말단 근처에 위치하는 샘플 호일을 갖기 때문에, 스트립의 반대편 말단 근처에 있는 단일 흡수성 층만을 사용한다.

시험 샘플 속의 글루코스에 의해 일어나는 색 변화는 막의 시험 측에서 나타난다. 분석 영역이 하부 층으로 연장되어 있는 양태에 있어서, 막의 시험 측을 호일이 분석 영역을 따라 정렬되어 있는 상부 층 위에 위치시키는 것이 편리하다. 호일은 색 변화를 가시적으로 만들고, 산소가 반응 부위에 도달하도록 한다. 분석 영역이 반대 방향으로 연장되는 경우, 상부 층에 있는 호일은 위에서 언급한 바와 같이 파쇄 공정 동안 분석 영역을 한정한다. 두가지 경우에 있어서, 상부 층은 바람직하게는 열가소성 시트, 보다 바람직하게는 폴리에스테르이고, 일반적으로 두께는 약 0.05 내지 0.2mm이다. 상부 층은, 예를 들면, 접착제에 의해 막에 부착시킬 수 있다. 접착제가 글루코스 측정 반응을 저해하는 경우에 접착제는 막의 비흡수성 영역에 한정되는 것이 바람직하다. 그러나, 접착제가 반응을 저해하지 않는 경우, 이의 배치는 덜 중요하다.

분석 영역이 바람직한 시약을 함유하는 경우, 이들은 광 또는 산소에 노출될 때 느리게 색을 변화시키고 임의의 타이머가 수분에 민감하기 때문에, 스트립은 밀봉된 호일 랩과 같은 불투명한 산소- 및 수분-불침투성 싸개로 포장하는 것이 바람직하다. 스트립이 개별적으로 포장되는 경우, 스트립은 사용 동안 벗겨진 개방 랩 속에 있을 수 있다.

이제 본 발명은 도면을 참고로 하여 추가로 설명될 것이다. 도 1은 생물학적 유체 속의 분석물의 양을 측정하기 위한 본 발명의 매트릭스(10)를 나타낸다. 아치형 위치로 나타내고 있지만, 매트릭스(10)는 유연하며, 일반적으로 사용할 때에는 평면이다. 매트릭스는 생물학적 유체 샘플이 적용되는 샘플 측(12)과 시험 측(14)(이 위에서나 근처에서의 색 변화는 분석물의 존재를 나타낸다)을 포함한다. 색 변화는 분석물과 기공(16)에 함침되어 있는 시약과의 상호작용에 의해 일어난다.

바람직하게는, 혈액 속의 글루코스의 농도를 측정하기 위해서 기공 크기는 샘플 층(12) 근처에서 비교적 크고 시험 층(14)에 근접할수록 줄어든다. 기공 크기 변화는 샘플 층(12) 근처에서 적혈구를 포획하는 역할을 하여, 이의 색은 분석물의 존재를 나타내는 색 변화를 가시화하는 능력을 방해하지 않는다.

3개의 평행 세그먼트(a), (b) 및 (c)를 도식적으로 나타낸다. 각각의 연속되는 세그먼트는 단계적으로 앞의 것보다 더 많은 억제제를 갖는다. 바람직한 양태에 있어서, 나타난 바와 같이, 시약을 평행한 세그먼트에 있는 막에 적용시킨 후, 막을 분석 영역을 제외한 모든 영역에서 과쇄하는데, 여기서 분석물-시약 반응이 일어난다. 흡수성 분석 영역, 즉 평행 세그먼트 각각에 위치하고 있는 단일 영역과 과쇄된 비흡수성 영역의 양상의 하나의 양태를 도 2의 평면도와 도 3의 단편적인 확대 투시도로 제시한다.

도 2는 중간 층(24)과 하부 층(26)이 위에 위치하는 막(10)의 샘플 층(12)과 흡수성 층(20, 22)의 부분 절단된 하부 평면도이다. 막(10)과 흡수성 층(20, 22)은 바람직하게는 도식되어 있지는 않지만 상부 층에 의해 지지된다. 흡수성 층(20, 22)은 바람직하게는 막의 말단(접선 A와 B 너머)에 위치하여 측정용으로 필요한 것보다 과량으로 존재하는 혈액 샘플을 흡수한다. 분석 영역 각각에 공급하기에 충분한 용량이어야 하며, 타이머 영역이 존재하는 경우에도 마찬가지다. 일반적으로, 분석 영역이 보다 적은 스트립은 많은 샘플을 필요로 하지는 않지만, 보다 작은 글루코스 값 및/또는 보다 낮은 정밀도를 제공한다. 도 2는 8개의 분석 영역(번호 1 내지 8)과 타이머(T)로 표시한 9개의 흡수성 영역을 나타내는데, 이는 허용되지 않는 큰 용량의 샘플을 요구하지 않으면서 적합한 범위와 정밀도를 제공한다. 중간 층(24)은 노치(28)를 가지며, 이는 하부 층(26)내에 샘플 호울(30)과 정렬되어 있다. 샘플을 샘플 호울(30)을 통해 유입하고, 모세관 작용에 의해 중간 층(24)의 중심 채널(32)을 따라서 각각의 분석 영역과 타이머 영역으로 인도하는데, 과량의 샘플은 흡수성 층(20, 22)에 흡수된다. 임의의 투명한 창(34, 35)을 통한 샘플의 외관은 충분한 샘플이 측정용으로 제공되었음을 확인시켜 준다. 바람직하게는, 중간 층(24)은 막의 샘플 층(12)과 밀봉부를 형성하여, 샘플은, 예를 들면, 인접한 분석 영역들 사이를 직접 유동할 수 없다.

도 3은 하부 층(26)을 통해 보이고 중간 층(24)의 평거에 의해 분리되어 있는 3개의 분석 영역(6, 7 및 8)을 나타내는 단편적인 확대 투시도이다. 임의의 접촉제 층(24a)은 중간 층(24)을 하부 층(26)과 막(10)에 접합시킨다. 층(26)에서 통기 호울(40)은 샘플이 스트립으로 유동하는 것을 용이하게 한다. 상부 층(36)에서 호울(38)은 흡수성 영역과 일직선이고, 흡수성 층에서의 임의의 색 변화를 가시화시키며, 색 변화 반응에 필요한 산소를 또한 유입되도록 한다. 임의의 접촉제 층(36a)은 상부 층(36)을 막(10)의 시험 층에 접합시킨다.

도 4는 도 2에 제시된 층 이외에 상부 층(36)을 나타내는, 도 2의 라인(4-4)을 따라 수득한 단면도이다. 하부 층(26)에 있는 통기 호울(40)은 분석 영역과 타이머 영역과 일직선이고, 이들 영역 각각을 둘러싸고 있는 용적을 샘플 충전시키는 것을 용이하게 한다. 충전될 용적은 막(10), 중간 층(24) 및 하부 층(26)에 의해 경계가 이루어진다. 칼럼형 분석 영역(3)은 하부 층(26)으로 연장되어 있고, 분석 영역과 하부 층 사이의 최소한 분리 범위는 통상적으로 약 12 $\mu$ m임을 주목한다. 이 분리 부분은 축소 비율보다 크게 하여 명백하게 도시한다.

도 5는 샘플 호울(30)과 사용자가 이 호울을 통해 샘플을 유입하는 것을 나타내는 그래픽을 보여주는 본 발명의 스트립의 하부 평면도이다. 샘플을 투명한 창(34, 35)을 통해서 보는 경우, 이는 적합한 샘플이 스트립에 적용되었음을 확인시켜 준다.

도 6은 분석 영역을 글루코스 농도와 관련하여 교정한 스트립의 상부 층(36)의 평면도이다.

도 7은 혈액 샘플을 개구부(30, 도 2)에 적용시키고, 샘플을 중심 채널(32)을 따라 분산시키고, 샘플 속의 글루코스가 분석 영역에서 시약과 반응한 후의 도 6의 스트립을 나타낸다. 하부 분석 영역에 억제제가 가장 적기 때문에, 이 영역은 가장 먼저 색을 변화시킬 것이다. 그 다음, 제2 및 제3 영역의 색이 변한다. 상부 원은 샘플 속에 너무 적은 글루코스가 있기 때문에, 색이 변하지 않는다. 타이머 영역(42)의 색이 변하기에 충분한 시간이 경과했기 때문에, 스트립을 판독할 수 있다. 따라서, 도 7에 도시된 결과는 샘플 글루코스의 농도는 120mg/dL 이상 150mg/dL 미만임을 나타낸다. 타이머 영역(42)의 색이 변한 후 언제든지 판독할 수 있다. 도 7에서 글루코스와의 반응에 의해 일어나는 색 변화는 백색으로부터 착색됨을 주목한다. 그러나, 시스템은 글루코스 유도된 산화에 의해 파괴되는 지시약 염료와 대신 작동하여, 착색으로부터 백색으로 상응하는 색 변화를 갖을 수 있다.

도 8은 본 발명의 스트립의 또 다른 양태의 부분 절단된 투시도이다. 하부 층(126)은 혈액 샘플 유입용 샘플 호울(130)을 갖는다. 도 2의 양태와는 달리 샘플 호울(30)이 스트립의 중간(말단에서 말단까지) 근처에 위치하는 경우, 샘플 호울(130)은 높은 글루코스 농도를 나타내는 분석 영역을 갖는 스트립 말단과 임의의 타이머 근처에 위치하는 것이 바람직하다. 샘플 호울을 말단에 위치시키면 2가지 잇점이 있다. 첫째, 혈액이 "고 글루코스" 분석 영역(반응하는 데 가장 오래 걸린다)에 도달하는데 걸리는 시간의 단축에 의해 글루코스 측정에 필요한 시간이 단축된다. 둘째, 샘플이 필수적으로 타이머에 직접

적용되어 혈액이 타이머에 도달하는 시간에서 변수가 제거되기 때문에 타이머 변수가 줄어든다. 중간 층(124)은 일반적으로 샘플 호울(130)에 상응하고 호울에 일직선으로 존재하는 컷아웃으로부터 스트립의 길이 방향으로 펼쳐져 있는 가늘고 긴 슬롯(132)을 갖는다. 슬롯은 혈액 샘플을 막(110) 위의 스트립 길이를 따라 흡수성 층(120)으로 이동시킨다. 샘플이 막(110) 위를 통과함에 따라 샘플의 일부는 타이머(T')와 각각의 8개의 분석 영역(번호 101 내지 108)에 부착된다. 타이머와 분석 영역은 각각 상부 층(136)에서 이들과 일직선인 상응하는 호울을 통해서 관찰된다. 투명한 창(135)을 통해 보이는 혈액의 외관은 충분한 샘플이 측정용으로 제공되었음을 확인시켜 준다.

도 9는 사용자가 샘플을 하부 층의 호울(130)(중간 층에서 일직선인 호울(128))을 통해서 유입하는 그래픽(도 5에 도시된 바와 같음)이 생략된 도 8의 하부 평면도이다.

도 10은 타이머 그래픽 뿐만 아니라 분석 영역의 눈금을 나타내는 상부 층(136)의 평면도이다.

도 11은 상부 층(136), 막(110), 중간 층(124) 및 하부 층(126)을 나타내는 도 10의 라인(11-11)을 따라서 수득한 단면도이다. 화살표는 하부 층(126)의 호울(130)과 중간 층(124)에 함께 정렬된 호울(128)로의 샘플 유입 방향을 나타낸다. 칼럼형 타이머 영역(T')은 상향, 바람직하게는 타이머(T')와 일직선이고, 상응하는 타이머와 분석 영역과 일직선인 상부 층(136)의 9개의 호울 중의 하나인 상응하는 호울(138)로 연장되어 있다.

본 발명을 보다 잘 이해하기 위해서, 다음 실시예는 본 발명의 다양한 양태를 추가로 설명한다. 실시예는 어떤식으로 제한하려는 것은 아니다.

#### 실시예 1

BPR 지시약

다음 용액을 제조하였다:

증류수 83.5g

1%(w/w) EDTA Na<sub>2</sub> 23.8g

아코니트산 6.0g

NaOH(고체) 2.2g

크로테인 SPA 4.2g

이미다졸 0.6g

만니톨 3.0g

5중량/중량% 서팩톨 Q1 3.0g

pH 4.80으로 조정

에틸 알콜 40.0g

PPG-410 5.6g

효소 용액 28.0g

효소 용액

0.2M 아코니트산 27.0g

글루코스 옥시다제 165,000U

HRPO 340,000U

멤택 BTSH 55 막을 이 용액 속에서 침지 피복시키고, 과량은 유리 막대로 닦터링시켰다. 피복된 막을 부유 건조기 속에서 온화한 기류하에 180F에서 건조시키면 웹은 실질적으로 20초 이내에 거의 건조시켰다. 웹을 다음에 언급하는 제2 피막 용으로 제조시 스폐링시켰다.

다음 용액을 제조하였다:

아스코르베이트 (억제제) 원액 희석제

증류수 190g 370g

1% EDTA Na<sub>2</sub> 55g 107g

BPR 0.36g 0.71g

폴리콰트<sup>R</sup> H 6g 11.8g

PPG-410 14.2g 27.8g

아스코르브산 1.37g --

에틸 알콜 243g 477g

타이머 용액

희석제(상기 식에 대해) 120g

아스코르브산 0.885g

글루코스 용액\* 17.25g

\*글루코스 용액은 24시간 동안 변광 회전되고 냉장 보관된 물 속의 글루코스 용액 16.0g/dL이다.

원액을 다음과 같이 희석시켰다: 0.0405:1, 0.108:1, 0.236:1, 0.369:1, 0.569:1, 1.260:1. 억제제 농도에서의 이러한 단계적 증가는 분석 영역이 보고하는 단계적으로 증가된 글루코스 농도에 상응한다. 타이머 용액과 함께 이들 용액을 효소 하중된 막의 큰 기공 측에서 나란히 피복시켜 막 mm<sup>2</sup>당 약 1.2 x 10<sup>-4</sup>mL로 부착시킨다. 막을 효소 피복 단계에 대해서 위에서 언급한 바와 같은 동일한 건조 조건에 적용시키기 전에 약 15초 동안 습윤시킨다. 결과는 타이머가 약 70초 내에 반응함을 나타내는데, 약 95%의 결과는 64 내지 79초 사이였다.

실시에 2

MBTHSB-ANS 지시약

다음 용액을 제조하였다:

HPLC 물 1500mL

시트르산 16.92g

시트르산나트륨 20.88g

만니톨 15g

이나트륨 EDTA 1.26g

간트레즈(Gantrez) S95 6.75g

크로테인 SPA 36g

글루코스 옥시다제 1.69MU

HRPO 1.5MU

카보폴 910\* 75mL

시트르산이나트륨\*\* 225mL

\* 아세토니트릴 속의 11% 용액

\*\* 0.1M, pH 5.0

멤텍 BTS 35 막을 용기 속에서 피복시켜 기공이 큰 표면을 피복 용액과 접촉시켜 과량의 용액을 전과 같이 유리 막대로 제거하였다. 막을 실시예 1과 같이 건조시키고 스펀링시켰다.

다음 용액을 제조하였다:

용액 A(지시약)

7%(v/v) 에탄올 2819mL

MBTHSB 2.98g

(NH<sub>4</sub>)ANS 25.83g

용액 B 205mL

2% DTPA 51.25mL

용액 B(습윤제)

마포스(Maphos<sup>R</sup>) 60A 41g

70%(v/v) 에탄올 205mL

용액 C(아스코르베이트 원액)

물 115mL

아스코르브산 4.58g

에탄올 267mL

용액 D(타이머)

물 53mL

아스코르브산 8.75g

에탄올 123mL

70% 에탄올을 사용하여 용량이 175mL로 되도록 함.

글루코스 용액 40.5mL

각각의 억제제 용액에 있어서, 용액 A의 용량을 263mL로 고정시켰다. 각종 분석 영역에 있어서, 70% EtOH:용액 C의 비를 58.9 내지 0.200으로 변화시켜 용액 A에 첨가된 70% EtOH + 용액 C의 용량이 모든 억제제 용액에 대해 87.5mL가 되도록 하였다. 각각의 용액 속의 억제제의 농도만 효과적으로 변화시켰다. 억제제의 농도가 단계적으로 증가하는 용액과 타이머 용액(용액 D)을 함유하는 용액을 막의 큰 기공 측에서 나란히 피복시켰다. 부착율은 막 mm<sup>2</sup>당 억제제 약 8 x 10<sup>-5</sup>mL가 되도록 조정하였다. 막을 위에서와 같이 건조시키는데, 단 피복과 건조 사이의 지연 시간은 약 1.6분이었다. 결과는 혈액 헤마토크리트 30 내지 55% 또는 글루코스 78 내지 420mg/dL로부터 거의 영향을 받지 않으면서 타이머가 약 60초 후에 반응함을 나타내었다.

당해 분야의 숙련인들은 위의 설명과 실시예가 본 발명의 실행을 예시한 것이지 제한하는 것은 아님을 이해할 것이다. 본원에 제시되어 있는 세부사항은 본 발명의 범위와 정신을 벗어남이 없이 변형될 수 있다.

### 발명의 효과

본 발명의 다층 시약 스트립은 적용된 생물학적 유체 샘플 속의 분석물의 농도를 보다 신속하고 정확하게 측정할 수 있다.

### (57) 청구의 범위

#### 청구항 1.

샘플 수용용 관통 호울을 갖는 하부 층(a),

샘플 층이 하부 층과 대면(對面)하고 있고 그 반대편이 시험 측이고, 비흡수성 영역에 의해 분리된 다수의 별개 흡수성 분석 영역이 길이를 따라 배열되어 있고, 막이 분석물과 반응하여 색 변화를 일으킬 수 있는 시약을 함유하며, 시약이 분석물과 상호작용하여 과산화수소를 형성시키는 제1 성분(i), 과산화수소와 상호작용하여 색 변화를 일으키는 제2 성분(ii) 및 제2 성분의 색 변화를 억제하는 제3 성분(iii)을 포함하는 막 층(b),

하부 층과 막 층 사이의 중간 층(c) 및

막 표면 위의 샘플을 흡수성 분석 영역으로 인도하기 위해 중간 층에 형성되어 있는 유체 수송 채널을 포함하고 스트립을 따라 샘플을 분산시키는 계량 수단(d)을 포함하는,

억제제의 농도가 예정된 방식으로 스트립 제1 말단으로부터의 거리에 따라 증가하여서 색 변화를 초래하는 경우, 농도가 상응하게 증가하는 분석물이 샘플 속에 함유되어 있음은 분명하고, 이에 의해 샘플이 스트립에 적용되는 경우, 하나 이상의 분석 영역이 색이 변화할 수 있고, 제1 말단으로부터 가장 원거리의 색 변화 영역이 샘플 속의 분석물의 농도를 나타내는,

스크립에 적용된 생물학적 유체 샘플 속의 분석물의 농도 측정용으로 가늘고 긴 다층 시약 시험 스트립.

**청구항 2.**

제1항에 있어서, 분석물이 글루코스인 스트립.

**청구항 3.**

제1항에 있어서, 생물학적 유체가 혈액인 스트립.

**청구항 4.**

제1항에 있어서, 하부 층이 열가소성 시트를 포함하는 스트립.

**청구항 5.**

제4항에 있어서, 하부 층이 폴리에스테르를 포함하는 스트립.

**청구항 6.**

제1항에 있어서, 하부 층이 분석 영역에 일직선으로 위치하는 다수의 관통 호울을 추가로 포함하는 스트립.

**청구항 7.**

제1항에 있어서, 하부 층이 샘플 수용 호울로부터 예정된 거리에 위치하고 있는 투명한 부분을 가짐으로써 적합한 샘플 크기를 확실케 하는 스트립.

**청구항 8.**

제1항에 있어서, 막 층이, 기공이 샘플 측 근처에서 보다 크고 시험 측 근처에서 보다 작은 이방성 다공성 막을 포함하는 스트립.

**청구항 9.**

제8항에 있어서, 생물학적 유체가 적혈구를 함유하는 전혈인 스트립.

**청구항 10.**

제9항에 있어서, 기공 크기가, 전혈 샘플의 적혈구가 막에 포획되도록 선택되는 스트립.

**청구항 11.**

제8항에 있어서, 막이 폴리설펜을 포함하는 스트립.

#### 청구항 12.

제1항에 있어서, 유체 수송 채널이 직사각형인 스트립.

#### 청구항 13.

제1항에 있어서, 제1 성분이 글루코스 옥시다제를 포함하는 스트립.

#### 청구항 14.

제1항에 있어서, 제2 성분이 퍼옥시다제와, 산화되는 경우, 색이 변하는 지시약 염료 또는 염료 커플을 포함하는 스트립.

#### 청구항 15.

제14항에 있어서, 퍼옥시다제가 호스래디쉬 퍼옥시다제인 스트립.

#### 청구항 16.

제14항에 있어서, 지시약 염료 또는 염료 커플이 8-아닐리노-1-나프탈렌 설펜산 암모늄(MBTHSB-ANS)과 배합된 [3-메틸-2-벤조티아졸리논 하이드라존] N-설포닐 벤젠설포네이트 일나트륨인 스트립.

#### 청구항 17.

제1항에 있어서, 제3 성분이 아스코르브산을 포함하는 스트립.

#### 청구항 18.

제1항에 있어서, 시약이 폴리에틸렌 글리콜, 폴리(메틸비닐 에테르/말레산) 무수물, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리스티렌 설펜산, 폴리아크릴산, 폴리비닐 알콜 및 폴리비닐 설펜산으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 분리 성분을 추가로 포함하는 스트립.

#### 청구항 19.

제1항에 있어서, 중간 층이 열가소성 시트를 포함하는 스트립.

#### 청구항 20.

제1항에 있어서, 중간 층이 폴리에스테르를 포함하는 스트립.



**청구항 21.**

제1항에 있어서, 흡수성 영역과 비흡수성 영역이 막 층의 파쇄되지 않은 영역과 파쇄된 영역을 각각 포함하는 스트립.

**청구항 22.**

제21항에 있어서, 파쇄되지 않은 흡수성 영역이 칼럼형이고, 각각 막에서의 베이스와, 베이스 반대편의 하부 층에 인접한 말단을 갖는 스트립.

**청구항 23.**

제21항에 있어서, 파쇄되지 않은 흡수성 영역이 칼럼형이고, 각각 막에서의 베이스와, 베이스 반대편의 상부 층에 인접한 말단을 갖는 스트립.

**청구항 24.**

제1항에 있어서, 막 층의 상부 표면과 접촉하고 있고 분석 영역과 일직선인 관통 호울을 갖는 상부 층을 추가로 포함하는 스트립.

**청구항 25.**

제24항에 있어서, 막 층이 상부 층에 부착되어 있는 스트립.

**청구항 26.**

제25항에 있어서, 막 층이, 막 층의 비흡수성 영역에 한정된 접착제에 의해 상부 층에 부착되어 있는 스트립.

**청구항 27.**

제1항에 있어서, 스트립의 제1 말단에 가장 근접한 막의 말단과 접촉하는 흡수성 층을 추가로 포함하는 스트립.

**청구항 28.**

제1항에 있어서, 막 층의 각각의 말단과 접촉하는 흡수성 층을 추가로 포함하는 스트립.

**청구항 29.**

제28항에 있어서, 샘플 수용용 관통 호울이 제1 말단으로부터 떨어진 스트립의 말단 근처에 위치하는 스트립.

**청구항 30.**

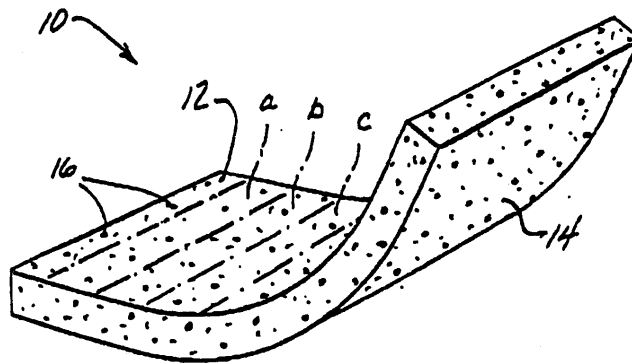
제1항에 있어서, 샘플이 적용된 후에, 분석 영역의 색을 예정된 시간 이내에 변화시키는 양의 글루코스를 시약 이외에 포함하는 분석 영역을 포함하는 타이머 부재를 추가로 포함하는 스트립.

**청구항 31.**

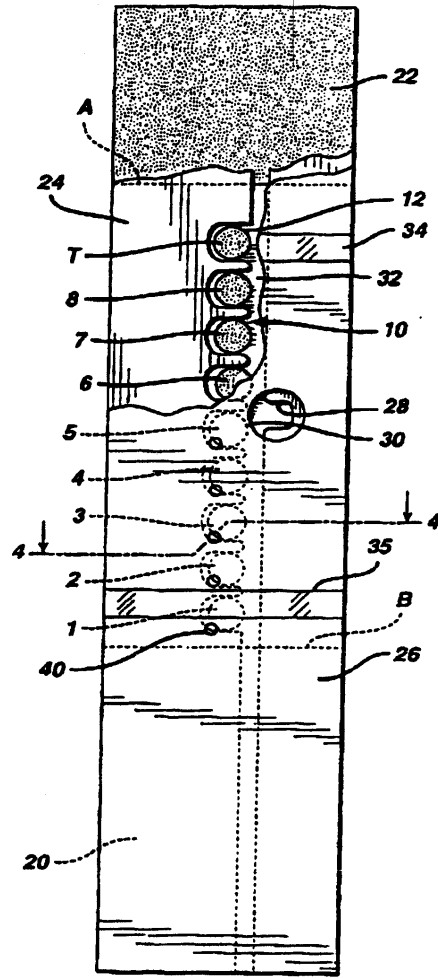
샘플 수용용 관통 호울을 갖는 하부 층(i), 샘플 측이 하부 층과 대면하고 있고 예정된 양 이상, 즉 스트립의 제1 말단에 근접한 분석 영역의 색 변화를 일으키는 분석물의 양 이상의 분석물을 함유하는 유체와 접촉하는 경우 각각 색을 변화시키는 다수의 흡수성 분석 영역을 포함하는 막 층(ii) 및 샘플을 예정된 경로를 따라서 관통 호울로부터 각각의 분석 영역으로 분산시키는 계량 수단(iii)을 포함하는 시약 시험 스트립에 샘플을 적용하는 단계(a)와 색이 변하고 스트립의 제1 말단으로부터 가장 원거리의 분석 영역을 관찰함으로써 분석물 농도를 측정하는 단계(b)를 포함하는, 생물학적 유체 샘플 속의 분석물의 농도 측정방법.

**도면**

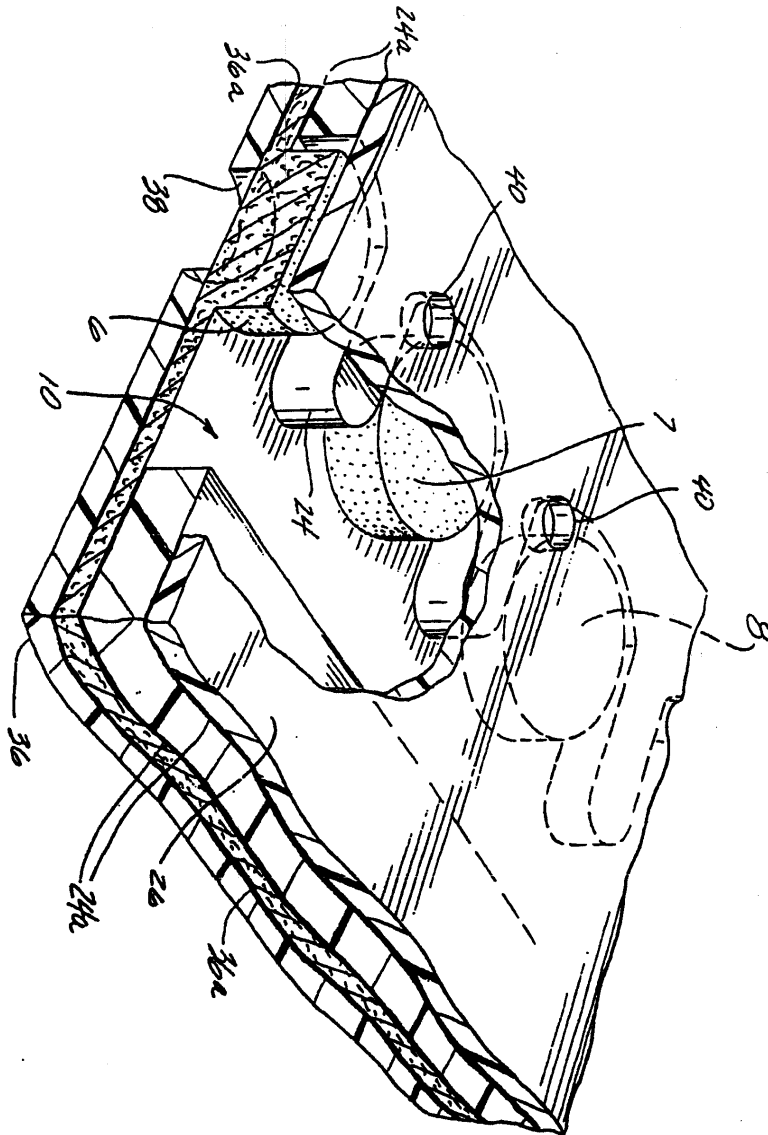
도면1



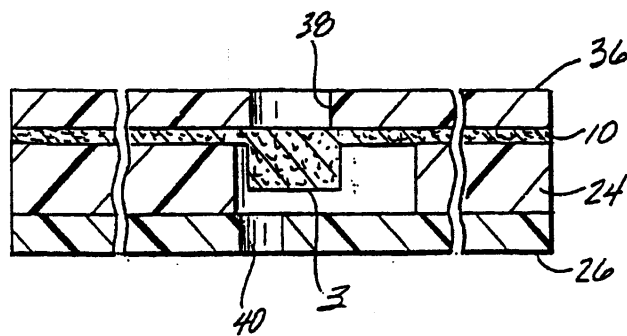
도면2



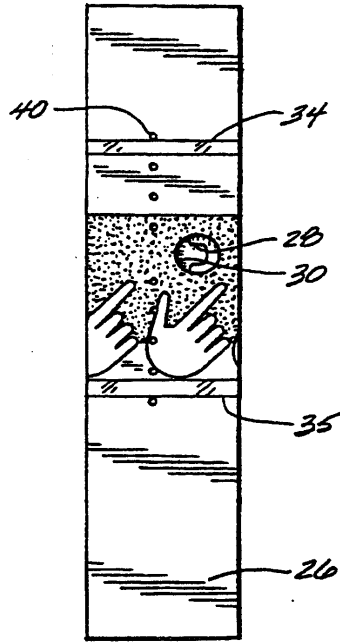
도면3



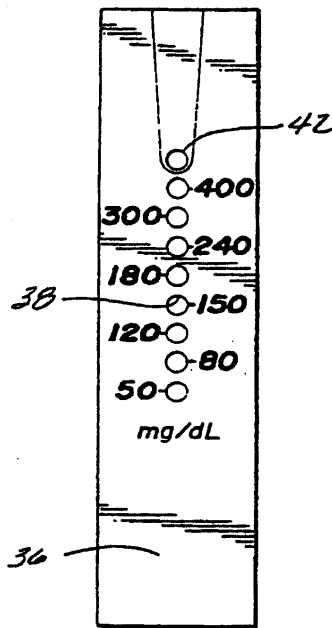
도면4



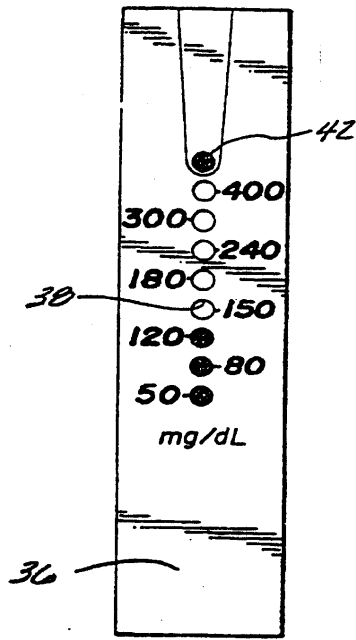
도면5



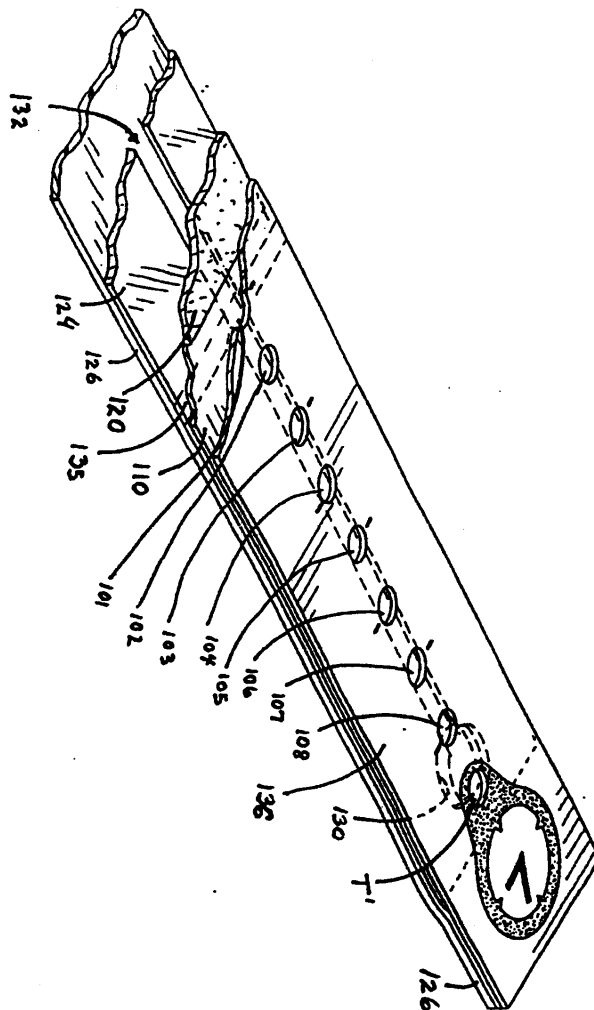
도면6



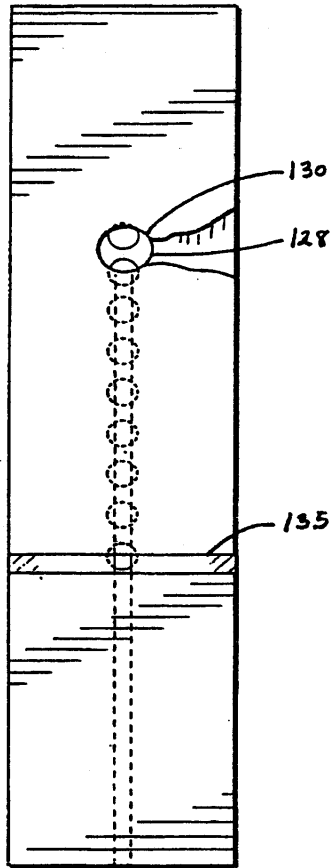
도면7



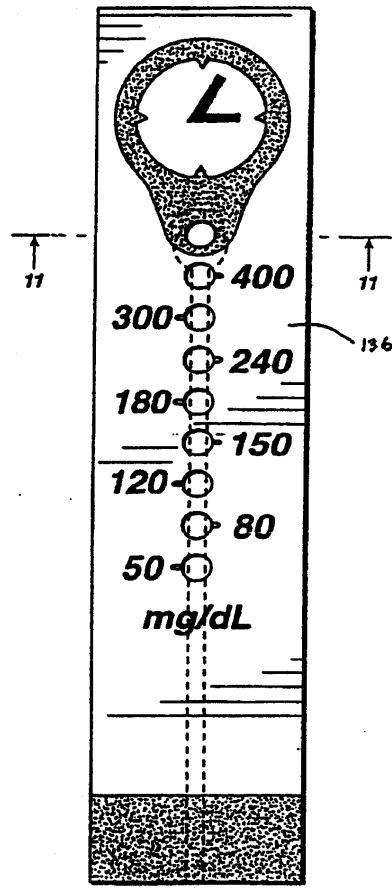
도면8



도면9



도면10



도면11

