

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. C12Q 1/25 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년03월22일 10-0560183 2006년03월06일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호 (22) 출원일자	10-2003-0050151 2003년07월22일	(65) 공개번호 (43) 공개일자	10-2005-0011166 2005년01월29일
------------------------	--------------------------------	------------------------	--------------------------------

(73) 특허권자 재단법인서울대학교산학협력재단
 서울특별시 관악구 봉천동 산 4-2

(72) 발명자 김희찬
 서울 강동구 명일동 44 신동아아파트 1-1302

 정택동
 경기 과천시 별양동 52 주공아파트 625-406

 정관아
 서울특별시성북구동선동3가249-1

 황재운
 서울특별시종로구연건동28

 주세경
 서울특별시종로구연건동28

 박세진
 서울특별시종로구연건동28

 강선길
 서울특별시종로구연건동28

 이원용
 서울특별시서대문구신촌동134

(74) 대리인 김진학

심사관 : 조경주

(54) 비효소 전극을 이용한 백그라운드 전류의 직접측정에기초하여 1회의 혈중 글루코즈 측정으로 투-포인트 보정을가능케하는 생체이식형 전류계 혈당센서를 위한 생체내보정 방법 및 이를 위한 시스템

요약

비효소 전극을 이용하는 생체이식형 전류계 혈당센서를 위한 생체내 보정 방법 및 이를 위한 시스템이 제공된다. 상기 생체 이식형 혈당센서를 위한 보정방법은 백그라운드 전류에 의한 보정을 수행하는 단계를 포함하며, 상기 백그라운드 전류가 외부로부터의 글루코즈 주입없이 비효소 전극에 의해 직접 측정되는 것을 특징으로 한다. 상기한 방법에 사용되는 시스템은 2개의 전극을 포함하고, 상기 2개의 전극 중 1개의 전극은 효소 전극이고, 나머지 한 개의 전극은 효소가 포함되지 아니한다는 조건하에 상기 효소 전극과 같은 성분 및 조직을 갖는 비효소 전극이고, 상기 비효소 전극에 의한 백그라운드 전류의 직접 측정에 의해 생체내 혈당을 정량화하기 위한 보정이 수행된다. 상기한 보정 방법 및 시스템에 따르면, 종래의 원-포인트 보정방법의 편리함과 투-포인트 보정의 정확성이 동시에 성취되었다.

대표도

도 4

명세서

도면의 간단한 설명

도 1a는 피하조직 및 혈관(귀동맥)에서 글루코즈 농도를 측정하기 위한 생체내 실험 셋업을 보여준다.

도 1b는 무선 데이터 전송을 위한 원격측정 시스템의 블록 다이어그램을 보여준다.

도 2는 혈당 센서의 생체내 평가의 결과를 도시한 그래프로서, (a) 상용 혈당계에 의한 참조 측정, (b) 귀동맥에 이식된 센서의 전류반응, 및 (c) 피하조직에 이식된 두 개의 센서의 출력, 여기서, 위쪽 곡선은 정상적 센서이고, 아래쪽 곡선은 효소층을 갖지 않는 센서의 것으로서 화살표 I_0 로 표시되어 있다.

도 3은 센서 표면의 조직 변화를 보여주는 주사전자현미경 이미지로서, (a) 이식전, (b) 이식후이다. 이식 부위는 피하조직이었다.

도 4는 혈당센서의 생체 내 평가에 있어서 측정치에 대한 오류격자분석을 보여주는 그래프로서, 전체 수치의 88%가 영역 A에 속하고, 12%가 영역 B에 속하며, 여기서 □, ◆는 각각 귀동맥 및 피하조직에서의 측정치에 해당한다. 상기 오류격자 분석을 위한 데이터는 도 2(b) 및 도 2(c)와 같이 5회의 독립된 실험에서 샘플링된 전류치로부터 계산하였다.

도 5는 PBS 용액 내에서 글루코즈 농도가 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 mM일 때, 본 발명에 따른 원격측정 시스템에 의해 측정된 혈당 센서의 전류 출력의 스텝 반응을 보여주는 그래프이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 혈중 글루코즈 농도를 연속적으로 정량화하기 위한 보정 방법 및 이를 위한 시스템에 관한 것이다. 보다 구체적으로는 비효소 전극을 이용하는 생체이식형 전류계 혈당센서를 위한 생체내 보정 방법 및 이를 위한 시스템에 관한 것이다.

전류계 효소 전극에 기초한 생체 이식형 혈당 센서를 개발하기 위한 많은 연구가 보고되었다: V. Thome-Duret et al., 1996; V. Thome-Duret et al., 1998; Moatti-Sirat et al., 1992; W. K. Ward et al., 2002; J. Wang and X. Zhang, 2001; S. J. Updike et al., 2000. 최근의 보고(C. Choleau et al., 2002a)에 따르면, 당뇨병 환자의 피하조직에 7일 동안이나 이식된 혈당 센서가 개발될 정도로 기술적 진보가 이루어지고 있다. 그러나, 센서 시스템의 생체내 보정이라는 하나의 중대한 이슈가 미해결된 채 여전히 잔존하고 있다. 시스템의 보정은 센서의 전류 출력과 대응되는 혈중 글루코즈 농도 사이의 관계를 설명하는 변수를 결정하기 위한 절차이다. 이들 변수를 결정하는 두 개의 전형적 방법은 한번의 혈중 글루코즈 측정에 기초한 원-포인트 보정(one-point calibration)과 두 번의 측정에 기초한 투-포인트 보정(two-point calibration)이다. 투-포인트 보정(two-point calibration) 절차는 두 개의 다른 글루코즈 농도에서 반응(response)을 얻

음으로써 센서 민감도(sensitivity, "S")와 백그라운드 전류(background current, " I_0 ")를 결정하는 것이다. 이론적 우월성에도 불구하고, 상기한 투-포인트 보정은 두 번의 측정에 따른 시간적 소모 및 측정 오류에 대한 쉬운 노출이라는 단점을 가지고 있다. Choleau 등은 그들의 임상적 셋업을 위한 투-포인트 보정이 S와 I_0 사이의 네가티브 연관과 때때로 음의 I_0 를 제공하였다고 보고하고 있다(C. Choleau et al., 2002a). 반면, 상기 원-포인트 보정은 I_0 의 시간에 따른 변화와 전기활성종에 의한 간섭이 무시할 만하다고 가정하고 있다. 그래서, 측정된 전류(I)/글루코스 농도(G)의 비가 단순히 민감도(S)를 결정한다. 비록 상기 원-포인트 보정이 단순한 방법이고 몇몇 임상적 응용에 있어서 그 유용성이 증명되었지만(C. Choleau et al., 2002b), I_0 를 무시함에 따라 현저한 논점이 미해결된 채 남아있다. W. K. Ward 등은 생체 이식된 비효소 전극으로부터의 I_0 가 외삽된 I_0 (extrapolated I_0)와 기본적으로 유사한 결과를 제공하였다고 보고함으로써 투 포인트 보정법이 충분한 정확도를 가지고 있음을 증명하였다(W. K. Ward et al. 2000). 그러나 같은 연구 논문에서 직접 측정된 I_0 는 시간에 따라 변화함도 역시 관찰하였음을 보고하였다. I_0 의 변화의 원인에 대해서는 아직 뚜렷이 밝혀진 바 없으나 생체 이식 과정이나 이식 후 생체 내부에서 막이 입게 되는 기계적 손상과 글루코스 이외에 생체 내에 존재하는 전기화학적 활성종(electroactive species)의 산화 반응, 그리고 혈액이나 세포 간 액(interstitial fluid)에 존재하는 다양한 무기염류 및 단백질들의 점착 등에 기인할 것으로 추정된다. 아울러 생체 내부의 면역반응과 혈당 조절 메카니즘으로부터 비롯된 복잡한 요인들이 이식된 혈당 센서의 I_0 에 더욱 예측하기 어려운 영향을 미침을 보여준다. 이러한 문제점은 신체이상 정보 시스템으로서 연속적 혈당 모니터링을 위한 이식형 전류계 센서의 신뢰도를 감소시키는 심각한 오류원이 될 수 있다. 따라서 투-포인트 보정법이 설혹 이들이 주장한 바와 같이 실제 값을 충실히 반영하고 있다고 하더라도 인체에 적용할 수 있을 만큼의 높은 신뢰도를 확보하기 위해서는 이런 방식을 사용하는 한 충분히 자주 보정해야만 한다는 새로운 문제점이 발생한다. 또한 투-포인트 보정법은 인체의 혈당치가 안정화되는 특정한 시간대에 특정한 조건을 만든 뒤 외부로부터의 글루코스나 인슐린 등의 투입을 요하므로 소요 시간이 매우 길고 불편하여 자주 행할 수 있는 보정법이 아니다. 따라서, 투-포인트 보정법의 장점인 정확도를 살리면서 동시에 원-포인트 보정법의 간편함을 누릴 수 있는 새로운 방법이 요구된다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명에 따르면, 한번의 혈중 글루코스 측정에 의한 투-포인트 보정을 가능케 하는, 피하조직에 이식된 비효소 전극을 이용한 백그라운드 전류(I_0)의 직접 측정에 기초한 새로운 보정방법이 제시된다. 즉, 본 발명의 목적은 비교적 단시간의 생체내 평가에 있어서 비효소 전극을 이용한 투-포인트 보정 방법의 유용성을 증명하는 것이다. 상기한 목적은 혈당을 정량화하기 위해 생체내 보정을 수행함에 있어서, 외부로부터의 글루코스 주입없이 피하조직에 이식된 비효소 전극에 의한 백그라운드 전류의 직접 측정에 의해 상기 생체내 보정을 수행함에 의해 성취될 수 있다.

본 발명의 다른 목적은 상기한 보정 방법에 근거한 혈당 센서 시스템을 제공하는 것이다. 상기 혈당 센서 시스템은 2개의 전극을 포함하고, 상기 2개의 전극 중 1개의 전극은 효소 전극이고, 나머지 한 개의 전극은 효소가 포함되지 아니한다는 조건 하에 상기 효소 전극과 같은 성분 및 조직을 갖는 비효소 전극이고, 상기 비효소 전극에 의한 백그라운드 전류의 직접 측정에 의해 혈당을 정량화하기 위한 생체내 보정이 수행된다. 본 발명에 따른 시스템은 외부로부터의 글루코스 주입 없이 1회의 측정만으로 투-포인트 보정이 가능하다.

본 발명은 또한 상기한 보정 방법에 근거한 혈당을 정량화하는 방법이 제공된다.

발명의 구성 및 작용

종래기술에서 언급한 바와 같이, 생체내 혈당을 연속적으로 정량화하기 위해서는 백그라운드 전류에 의한 보정이 요구된다. 본 발명은 상기 백그라운드 전류를 외삽으로 구하는 것이 아니라 피하조직에 이식된 비효소 전극에 의한 백그라운드 전류의 직접 측정에 얻어진다. 구체적으로는, 피하조직에 이식된 효소 전극으로부터의 전류출력을 측정하여 생체내 혈당을 정량화하는 방법에 있어서, 상기 방법은, 외부로부터의 글루코스 주입없이, 효소가 포함되지 아니한다는 조건하에 상기 효소 전극과 같은 성분 및 조직을 갖는 피하조직에 이식된 비효소 전극에 의해 측정된 백그라운드 전류에 의해 생체내 보정을 수행하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

본 발명은 또한 상기 방법에 사용되는 혈당 센서 시스템에 관한 것으로서, 상기 시스템은 2개의 전극을 포함하고, 상기 2개의 전극 중 1개의 전극은 효소 전극이고, 나머지 한 개의 전극은 효소가 포함되지 아니한다는 조건하에 상기 효소 전극과 같은 성분 및 조직을 갖는 비효소 전극이고, 상기 효소 전극과 비효소 전극은 피하조직 이식용이며, 상기 비효소 전극에 의

한 백그라운드 전류의 직접 측정에 의해 생체내 혈당을 정량화하기 위한 보정이 수행된다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기한 시스템은 생체내 혈당을 연속적으로 정량화하는데 유용하였으며, 또한 외부로부터 어떠한 글루코즈 주입도 요구되지 아니하였다.

본 발명에 따른 혈당 센서 시스템에 사용되는 효소 전극은 금속 와이어에 효소층을 형성하고, 상기 효소층의 보호막으로서 생체 적합성을 갖는 외부막(outer membrane)의 구성을 가지며, 비효소 전극은 효소층이 형성되지 아니하였다는 조건하에, 상기 효소 전극과 동일한 성분 및 조직을 갖는다. 상기 두 개의 전극은 MEMS(microelectromechanical system) 기술에 의해 하나의 본체 내에 통합될 수 있으며, 이것은 두 개의 전극을 따로 피하조직에 이식하는 불편함을 해소한다. 또한 본 발명에 따른 시스템은 피하조직에 이식되는 비효소전극에 의해 백그라운드 전류가 직접 측정됨에 따라 기존의 투-포인트 보정이 요구하는 식사 직후 채혈 및 혈당 측정 과정이 불필요하다는 장점을 갖는다. 보정을 위해 별도로 식사나 공복 등 체내 혈당치를 인위적으로 변화시켜야 하는 과정이 필요 없으므로 특별한 음식물 섭취나 격렬한 운동 등 급격한 혈당 변화 요인이 발생한 직후를 제외하고는 사용자가 원할 때는 언제든지 보정이 가능하다. 따라서 사용자의 보정 작업에 대한 부담이 대폭 경감되어 보다 빈번한 보정을 유도할 수 있기 때문에 이식형 혈당 센서의 안전성을 실질적으로 제고하는 효과가 있다.

이하, 첨부된 실시예 등을 참조하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

1. 실시예

1.1 효소 전극의 제작 및 생체의 테스트

본 발명에 있어서, 혈당 센서의 제작은 이전의 보고(Chung et al., 2001)에 기재된 절차에 따라 수행하였다. 요약하면, 기 세정된 백금 와이어를 글루코즈 산화효소(GOx), 글루타르알데히드, 폴리-L-라이신 및 1,3-디아미노벤젠(1,3-PD)을 함유하는 인산완충식염수(PBS - Phosphate buffer saline) 용액에 침시켰다. 0.2 V와 1.0 V 사이에서 순환하는 전위에 의한 전기중합으로 자가 제어된 약 20 nm의 두께를 갖는 얇은 효소층을 형성시켰다. Kel-F(상표명) 필름을 글루코즈 분산-제한막 뿐만 아니라 산소-풍부한 외부막으로 사용한 최근의 실험에 근거하여, 상기 전극을 20% Kel-F 오일, 30% 과불소 테트라플루오로에틸렌(PTEE - perfluorinated tetrafluoroethylene), 20% Kel-F 오일 및 1.5% 나피온(Nafion)에 순차적으로 약 5초간 담가 상기 효소층 위에 외부막을 형성시켰다. 그런 후, 상기 전극을 30°C의 온도에서 1시간 동안 진공 챔버(Lab-line, model 3606-1CE)에서 건조시켰다. 모든 생체의 평가는 워터 자켓이 장착된 PBS 15 ml를 함유하는 셀(pH 7.4, 37°C)에서 수행되었다. 상기 온도는 항온조(Ultra-Thermostat NB 5, Colora)로부터 워터-자켓으로 공급되는 순환수에 의해 주의깊게 조절되었다. 모든 화학 시약은 알드리치사로부터 구입하였으며, 전처리 없이 이용하였다.

1.2 생체내 보정

투-포인트 보정(C. Choleau et al., 2002a)은 측정된 전류(I)를 아래의 전형적 절차에 따라 예상치 글루코즈 농도(G)로 전환시키는 것이다. 생체내 민감도(S)는 혈중 글루코즈 농도의 변화량에 따른 전류의 증가량의 비에 의해 결정된다.

$$\text{수학식 1} \\ S = (I_2 - I_1) / (G_2 - G_1)$$

본 발명에서, I_1 은 백그라운드 전류(I_0)에 대응되며, 이것은 비효소 전극으로부터 직접 측정되었다. 따라서, G_1 은 비효소 전극이 글루코즈에 거의 반응하지 않는다는 조건하에 영(zero)으로 간주하였다. 그리고, I_2 는 글루코즈의 주입전에 이식된 효소 전극의 안정화된 초기 전류(I_1)로부터 얻어졌다. 글루코즈를 주입하기 전에 샘플링한 혈액을 이용한 생체의 분석에 의해 G_2 값인 G_1 를 측정했다. I_1 및 I_0 는 평형상태에서 글루코즈 농도에 따른 전류 반응이다.

$$\text{수학식 2} \\ S = (I_1 - I_0) / G_1$$

민감도 및 백그라운드 전류로부터, 혈중 글루코즈 농도, 즉 G가 아래의 간단한 수학식 3에 의해 정량화될 수 있다.

$$\text{수학식 3} \\ G = (I - I_0) / S$$

1.3 생체내 평가

3.5-4.0 kg의 뉴질랜드산 흰토끼 5마리를 상기한 글루코즈 센서 이식용으로 사용하였다. 두 개의 동일한 효소 전극과, 효소를 포함하지 않는다는 조건 하에 상기 효소 전극과 동일한 구조 및 조성을 갖는 한 개의 효소 전극을 모든 테스트에 사용하였다. 두 개의 효소 전극 중 하나는 피하조직에 삽입하였고, 다른 하나는 케타민 40 mg/kg 및 자일라진 8 mg/kg으로 마취시킨 토끼의 귀동맥에 삽입하였다. 백그라운드 전류를 측정하기 위해, 상기 비효소 전극을 피하조직에 이식된 효소 전극으로부터 1 cm 이격된 곳에 이식시켰다. 두 개의 카테터를 양쪽 귀동맥에 삽입하여, 왼쪽 귀동맥은 센서 삽입용으로, 오른쪽 귀동맥은 혈액 샘플링용으로 이용하였다(도 1a 참조). 모든 혈액 샘플들은 상용 혈당계(Presicion PlusTM, Medisense)로 분석하였다. 효소 전극들로부터의 전류 신호가 정상상태에 도달했을 때, 50% 글루코즈 용액을 세 번째 카테터를 통해 오른쪽 귀동맥으로 주입하였다. 세 개의 전극들을 다채널 전위차기(potentiostat)(model cDAQ-1604, ELBIO Co., Seoul)에 연결하고, 센서 본체에 내장된 참조전극에 대하여 +0.4V의 바이어스 전압을 인가하였다. 비효소 전극으로부터의 백그라운드 전류는 피하조직에 이식된 효소 전극으로부터의 반응을 보정하기 위해 사용하였다. 생체내 모니터링은 일반적으로 약 3시간이 소요되었고, 생체내 모니터링이 종결되었던 후, 상기 센서들을 피하조직 및 혈관으로부터 제거하였다. 그런 후, 생체내 작동 전후에 민감도에 있어서 변화가 있었는지의 여부를 확인하기 위해 생체의 테스트를 수행하였다. 주사전자 현미경(SEM - scanning electron microscope)으로부터의 이미지를 통해, 상기 막표면의 표면 조직에 어떠한 변화가 있었는지에 대한 정보를 획득하였다.

1.4 원격측정 시스템

본 발명에서 사용된 무선 주파수(RF) 원격측정 시스템은 두 부분, 즉 송신기 및 수신기로 구성된다. 도 1b는 상기 시스템을 설명하는 블록도이다. 송신기(100)에서, 전위차기(101)에 의해 측정된 글루코즈 산화에 대한 전류 반응은 전압제어발전기(VCO)(102)에 의해 전압 신호로 전환되고, 이것은 전압에 비례하는 주파수를 갖는 디지털 펄스를 생성한다. 상기 디지털 펄스는 온-오프 키잉(on-off keying)으로 RF 송신 모듈(103)(TXM-433-LC-R, LINX Co.)의 캐리어 주파수를 변조하고, 송신 안테나(104)를 통해 전송된다. 수신기(200)에서, RF 수신 모듈(202)(RXM-433-LC-S, LINX Co.)은 수신 안테나(201)를 통해 전달된 신호를 수신하고, 상기 디지털 펄스를 복조한다. 위상고정루프(PLL)(203)는 이들 디지털 펄스를 고정하고, 입력 디지털 펄스의 주파수에 비례하는 출력 전압을 생성한다. PLL(203)의 출력 전압은 12 bit 아날로그-투-디지털 변환기(A/D converter)(204)에 의해 디지털 신호로 전환된다. 최종적으로, 상기 디지털 신호는, 컴퓨터에 기록된다. 송신기의 치수는 3 cm × 4 cm × 0.5 cm이다. 송신기와 수신기 사이의 최대 거리는 약 120m이다.

2. 결과 및 검토

2.1 효소 전극으로부터의 생체내 신호와 백그라운드 전류

도 2는 귀동맥으로부터 혈액 샘플링을 상용 혈당계를 이용하여 측정한, 그리고 본 발명에서 개발된 이식형 센서에 의해 측정된 혈중 글루코즈 농도의 스텝 증가(step increase)에 대한 전류 반응을 보여준다. 본 실험에서, 토끼의 혈중 글루코즈 농도는 글루코즈 용액의 정맥 주사를 통해 105 mg/dl에서 436 mg/dl로 증가시켰다(도 2a). 효소 전극으로부터의 전류출력은 글루코즈의 주입에 따라 급격히 상승하였고, 그런 후 정점을 지나 천천히 감소하였다. 귀동맥(도 2b) 및 피하조직(도 2c)에 이식된 센서로부터의 출력은 참조 온도 프로파일(도 2a)과 그 모양이 유사하였다. 피하조직에 이식된 효소 전극의 반응은, 혈중 글루코즈 농도와 비교할 때, 그 정점이 약 10분 정도 지연되었다. 이것은 플라즈마 글루코즈 농도가 증가함에 따라 글루코즈 키네틱스에 대한 푸시-풀 메카니즘(push-pull mechanism)이 상당한 영향을 미치는 것으로 믿어진다(V. Thome-Duret et al., 1996; B. Aussedat et al., 2000). 효소 전극으로부터의 출력과는 반대로, 피하조직에 이식된 비효소 전극으로부터의 백그라운드 전류(I_0)는 혈중 글루코즈 농도의 변화에 거의 반응을 나타내지 않았다.

이식 후 센서의 상태변형 가능성을 조사하기 위해, 피하조직 및 혈관에 이식한 효소 전극을 제거한 후 생체외에서 다시 테스트하였다. 표 1은 상기 결과를 정리한 것이다.

[표 1]

	민감도 ^a (nA/mM)	백그라운드 전류 ^b (nA/mm ²)
이식 전	3.01 ± 1.97	1.99 ± 0.37
외식 후	8.58 ± 2.30	7.38 ± 4.91

(^a 1-12 nM 농도 범위 이상, ^b 백그라운드 전류는 30분 이내에 안정화됨)

상기 통계값은 5회의 독립적 실험으로부터 계산함)

상기 표 1에서 알 수 있는 바와 같이, 민감도 뿐만 아니라 백그라운드 전류가 이식전에 비해 외식 후에 상당히 증가하였음이 명백하다. 이것은 외부층에서 균열이 생성되었고, 또는 상기 막조차도 부분적으로 벗겨졌음을 의미한다. 도 3은 주사전 자현미경에 의한 센서 표면의 조직 변화를 보여준다. 막의 조직이 이식전에는 깨끗하였고 균열이 거의 발생하지 아니하였다(도 3a). 반면에, 이식 후에는 표면 조직에 많은 균열이 생성되었고, 상기 층의 일부가 심각하게 손상되었다(도 3b). 이미 보고된 바와 같이, 나피온은 이식형 센서와 충분한 생체 적합성을 갖는다(F. Moussy et al., 1993). 그러나, 나피온 코팅의 황산기가 칼슘이온을 수용하고 있으며, 따라서 상기 필름은 소성화(calcination)에 쉽게 노출된다(T. I. Valdes and F. Moussy, 1999). 그러므로, 상당량의 칼슘 이온이 외부막에 존재함에 따라 제한적 범위의 표면 손상에 의해서도 소성화가 가속화되었다. 백그라운드 전류의 중요성은 이식 시간이 증대될수록 확대된다. W. K. Ward 등은 나피온 대신에 PTFE를 보호막으로서 사용하였고, 이식 시간이 증가할수록 백그라운드 전류가 증가하는 유사한 현상을 관측하였다(W. K. Ward et al., 2000). 결론적으로, 생체내에서 글루코즈 농도의 보다 신뢰성 있는 모니터링은 시간에 따라 변화하는 백그라운드 전류에 의한 보정을 요한다.

2.2 보정

원-포인트 보정 방법은 I_0 가 항상 일정하다는 것을 가정하고 있기 때문에, 바람직하지 않은 오류가 I_0 의 변화에 의해 야기될 수 있다. 그럼에도 불구하고, 종래의 투-포인트 보정이 성공적인 대안이라고 주장하기 곤란하다. 도 2에 도시된 바와 같이, 글루코즈의 외부 주입은, 피하조직에 이식된 센서에서는 상당한 시간 지연이 존재하지만 동맥에 이식된 센서의 전류 반응을 즉각적으로 상승시킨다. 복잡한 푸시-풀 키네틱스(push-pull kinetics)가 주입후 작용하고 글루코즈 농도가 계속적으로 변화하기 때문에, 도 2c의 피하층으로부터의 피크 전류가 혈중 글루코즈 농도를 제대로 반영하고 있다는 가정은 항상 불확실성이 존재한다. 그 결과로서, 외부로부터 글루코즈의 주입을 요하는 투-포인트 보정에 의한 민감도 및 외삽된 백그라운드 전류(intercept)는 잘못될 수 있다.

도 4는 본 연구에서 얻어진 데이터에 대한 오류 격자 분석(EGA - error grid analysis)의 그래프를 보여준다(W. L. Clarke et al., 1987; D. A. Gough 및 E. L. Botvinick, 1997). EGA는 글루코즈 농도가 자가 모니터링의 임상적 정확성을 평가하기 위해 사용된다. 영역 A에 속하는 수치들은 임상적으로 정확하고, 영역 B 값들은 참조와 실질적인 차이를 나타내나 예상치에 근거한 적당한 조치가 용인되고, 특별한 처치가 행해질 필요가 없음을 알려준다. 민감도(S) 및 글루코즈 농도(G)를 수학적 식 2 및 3을 사용하여 각각 예상하였다. 두 식에서, I_0 및 I_1 는 글루코즈의 외부적 투여를 하지 아니한 평형상태에서 얻어졌다. 이러한 전류는 혈중 글루코즈 농도를 정확히 반영하는 것으로 생각되는데, 그 이유는 혈액과 피하사이의 복잡한 키네틱스가 최소화되었기 때문이다. 동맥으로부터의 측정에 해당하는 모든 점들이 영역 A에 속하였다. 250 mg/dl 이상의 고농도에서의 몇몇 점들이 영역 B에 속한다는 것을 제외하고는, 피하층으로부터의 대부분의 점들이 영역 A에 속하였다. 요약하면, 모든 점들이 영역 A 및 B에 속하였다. 이 보정 방법은, 백그라운드 전류에 의한 보정을 수행한다는 점에서, 기본적으로 투-포인트 보정방법이다. 그러나, 상기 보정방법은 종래의 투-포인트 보정방법보다 가치가 향상된 장점을 갖는데, 그 이유는 단지 1회 측정으로 이루어지기 때문이다. 또한 외부로부터의 글루코즈 주입에 따른 복잡한 생리학적 키네틱스가 배제될 수 있기 때문에, 상기 S와 G 수치들은 글루코즈의 외부 주입에 의해 얻어진 것들에 비해 보다 정확한 것이다. 생체내로의 글루코즈 주입실험은 통상 정상 글루코즈 농도에서 시작하므로, 두 개의 점들은 고농도 영역에서 선택된다. 따라서, S가 과소평가될 수 있으며, 수학적 식 3에 따라 작은 S는 G 값을 과대하게 한다. 이것은 저혈당일 경우 특히 그러하다.

2.3 원격측정 시스템

이식형 글루코즈 센서의 생체내 평가 및 원격측정 시스템은 PBS 용액에서 행하였다. 원격측정 시스템은 40 nA 전류 반응의 한점에서 보정되었다. 도 5는 글루코즈 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 mM의 첨가에 의한 원격측정 시스템에 의해 측정된 센서의 전류반응을 나타낸다. 우선, 사소한 노이즈가 발생하였으나, 전류 반응은 즉시 안정화되었다. 결론적으로, 인위적 행동의 문제점을 완화한 연속적 생체내 혈당 모니터링을 위한 원격 모니터링 시스템이 제대로 작동함을 보여준다.

발명의 효과

본 발명은 새로운 생체이식형 전류계 글루코즈 센서를 위한 생체내 투-포인트 보정 방법을 제공하였고, 비교적 단시간의 동물 이식에 있어서의 유용성을 증명하였다. 가능한 오류원이 효소 전극과 동일한 막을 갖는 비효소 전극을 채용함으로써 실질적으로 감소하였다. 간단함과 편리함 때문에 현재까지 보고된 대부분의 이식형 글루코즈 센서가 원-포인트 보정방법을 채용한다. 그러나, 본 연구결과에 따르면, 효소 전극으로부터의 신호는 시간에 따라 변하는 백그라운드 전류(I_0)의 동시적 모니터링에 의해 정정되어야 한다. 하나의 부가적 비효소 전극은 보다 정확하고 안전한 데이터의 수집을 위한 여분의 장치로서 이식될 가치가 있다. 비효소 전극의 추가는, 마치 원-포인트 보정과 같이 어떠한 글루코즈 주입 없이, 두 개의 평형점에 근거한 보정을 가능케한다. 임상적 측면에서 보면, 2개의 전극을 하나의 센서 내에 통합하는 것이 바람직하다. 통합하더라도 크기가 많이 증대하지는 않는다. 이것은 MEMS(microelectromechanical system) 기술에 의해 성취된다.

결론적으로, 본 발명에서 제시되는 새로운 투-포인트 보정방법은 종래의 원-포인트 및 투-포인트 보정방법의 결점들을 개선한 것이다. 원-포인트 보정의 편리함과 투-포인트 보정방법의 정확성을 동시에 성취하였다. 효과적인 데이터 전달에 의한 원격측정 시스템은 상기 화학 센서의 개선된 실용화를 제공한다.

References

- Aussedat, B., Dupire-Angel, M., Gifford, R., Klein, J. C., Wilson, G. S., Reach, G., 2000. Interstitial glucose concentration and glycemia: implications for continuous subcutaneous glucose monitoring. *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab.* 278, E716-E728.
- Choleau, C., Klein, J. C., Reach, G., Aussedat, B., Demaria-Pesce, V., Wilson, G. S., Gifford, R., Ward, W. K., 2002a Calibration of a subcutaneous amperometric glucose sensor Part 1. Effect of measurement uncertainties on the determination of sensor sensitivity and background current. *Biosens. Bioelectron.* 17, 641-646.
- Choleau, C., Klein, J. C., Reach, G., Aussedat, B., Demaria-Pesce, V., Wilson, G. S., Gifford, R., Ward, W. K., 2002b Calibration of a subcutaneous amperometric glucose sensor implanted for 7 days in diabetic patients Part 2. Superiority of the one-point calibration method. *Biosens. Bioelectron.* 17, 647-654.
- Chung, T. D., Jeong, R-A., Kang, S. K., Kim, H. C., 2001. Reproducible Fabrication of Miniaturized Glucose Sensors: Preparation of Sensing Membranes for Continuous Monitoring. *Biosens. Bioelectron.* 16, 1079-1087.
- Clarke, W. L., Cox, D., Gonder-Frederick, L. A., Carter, W., Pohl, S. L., 1987. Evaluating clinical accuracy of systems for self-morning of blood glucose. *Diabetes Care.* 10(5), 622-628.
- Gough, D. A., Botvinick, E. L., 1997. Reservations on the use of Error Grid Analysis for the validation of blood glucose assays. *Diabetes Care.* 20(6), 1034-1036.
- Kang, S. K., Jeong, R. A., Park, S., Chung, T. D., Kim, H. C., *In vitro* and short-term *in vivo* characteristics of a Kel-F thin film modified glucose sensor. *Biosens. Bioelectron.* *submitted.*
- Matsumoto, T., Ohashi, A., Ito, N., Fujiwara, H., Matsumoto, T., 2001. A long-term lifetime amperometric glucose sensor with a perfluorocarbon polymer coating. *Biosens. Bioelectron.* 16, 271-276.
- Moatti-Sirat, D., Capron, F., Poutout, V., Reach, G., Bindra, D. S., Zhang, Y., Wilson, G. S., Thevenot, D. R., 1992. Towards continuous glucose monitoring: in vivo evaluation of a miniaturized glucose sensor implanted for several days in rat subcutaneous tissue. *Diabetologia.* 35, 224-230.

- Moussy, F., Harrison, D. J., O'Brien, A. W., Rajotte, R. V., 1993. Performance of Subcutaneously Implanted Needle-type glucose sensors employing a novel trilayer coating. *Anal. Chem.* 65, 2072-2077.
- Thome-Duret, V., Aussedat, B., Reach, G., Gangnerau, M. N., Lemonnier, F., Klein, J. C., Zhang, Y., Hu, Y., Wilson, G. S., 1998. Continuous glucose monitoring in the free-moving rat. *Metabolism.* 47(7), 799-803.
- Thome-Duret, V., Reach, G., Gangnerau, M. N., Lemonnier, F., Klein, J. C., Zhang, Y., Hu, Y., Wilson, G. S., 1996. Use of a subcutaneous glucose sensor to detect decrease in glucose concentration prior to observation in blood. *Anal. Chem.* 68, 3822-3826.
- Updike, S. J., Gilligan, B. J., Shults, M. C., Rhodes, R. K., 2000. A subcutaneous glucose sensor with improved longevity, dynamic range, and stability of calibration. *Diabetes Care.* 23(2), 208-214.
- Valdes, T. I., Moussy, F., 1999. A ferric chloride pre-treatment to prevent calcification of Nafion membrane used for implantable biosensors. *Biosens. Bioelectron.* 14, 579-585.
- Wang, J., Zhang, X., 2001. Needle-type dual microsensor for the simultaneous monitoring of glucose and insulin. *Anal. Chem.* 73, 844-847.
- Ward, W. K., Jansen, L. B., Anderson, E., Reach, G., Klein, J-C., Wilson, G. S., 2002. A new amperometric glucose microsensor: in vitro and short-term in vivo evaluation. *Biosens. Bioelectron.* 17, 181-189.
- Ward, W. K., Wood, M. D., Troupe, J. E., 2000. Rise in background current over time in a subcutaneous glucose sensor in the rabbit: relevance to calibration and accuracy. *Biosens. Bioelectron.* 15, 53-61.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

혈중 글루코즈 농도를 정량화하는데 사용되는 혈당센서 장치에 있어서, 상기 혈당센서 장치는 2개의 전극을 포함하고, 상기 2개의 전극 중 1개의 전극은 효소 전극이고, 나머지 한 개의 전극은 효소가 포함되지 아니한다는 조건 하에 상기 효소 전극과 같은 성분 및 조직을 갖는 비효소 전극이고, 상기 비효소 전극에 의한 백그라운드 전류의 직접 측정에 의해 혈당을 정량화하기 위한 생체내 보정이 수행되어 외부로부터의 글루코즈 주입없이 1회의 측정으로 투-포인트 보정이 가능한 혈당센서 장치.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 효소 전극 및 비효소 전극이 모두 피하 이식용인 것을 특징으로 하는 혈당센서 장치.

청구항 3.

제1항에 있어서, 상기 혈당센서 장치가 무선 데이터 통신이 가능한 원격측정 시스템(telemetry system)인 것을 특징으로 하는 혈당센서 장치.

청구항 4.

제1항에 있어서, 상기 두 개의 전극이 다채널 전위차기(multichannel-potentiostat)에 의해 연결된 것을 특징으로 하는 혈당센서 장치.

청구항 5.

제1항에 있어서, 상기 두 개의 전극이 MEMS(microelectromechanical system)에 의해 통합된 것을 특징으로 하는 혈당 센서 장치.

청구항 6.

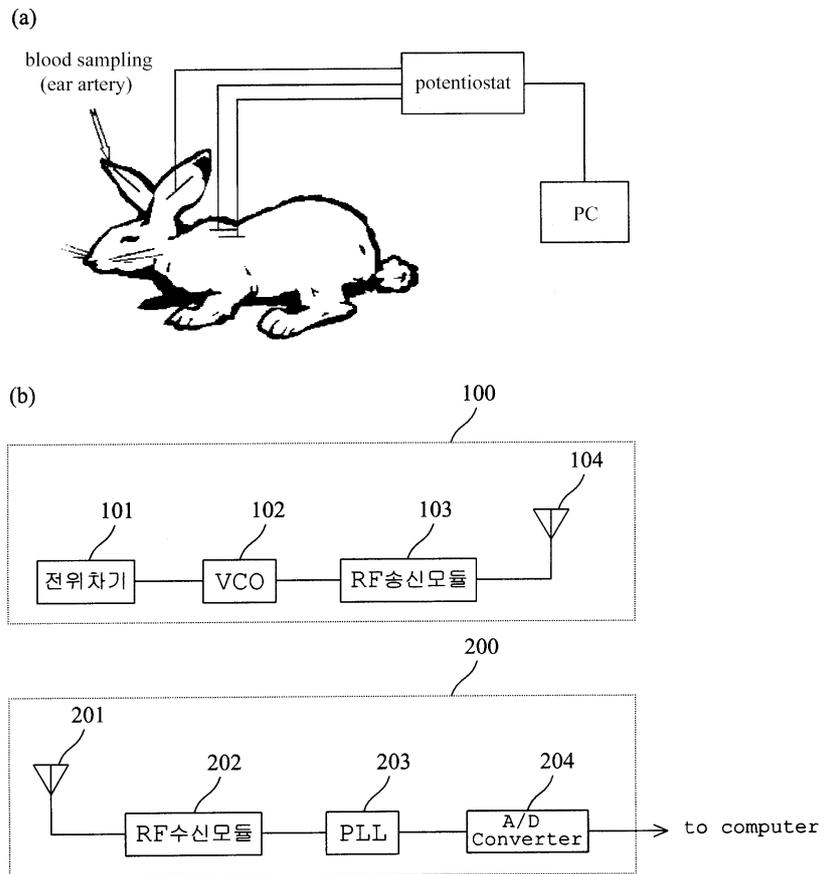
삭제

청구항 7.

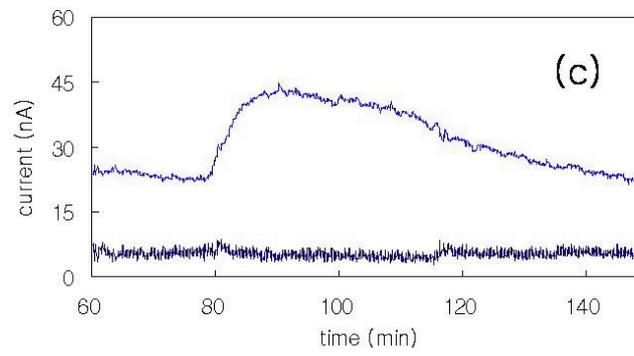
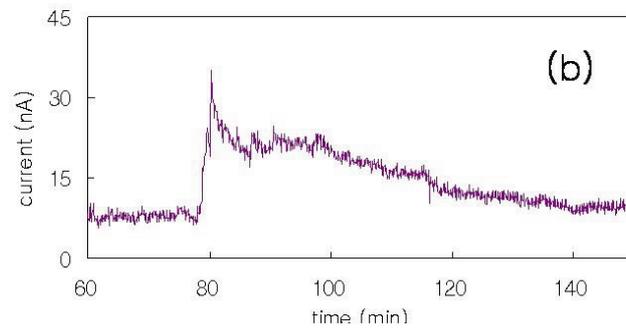
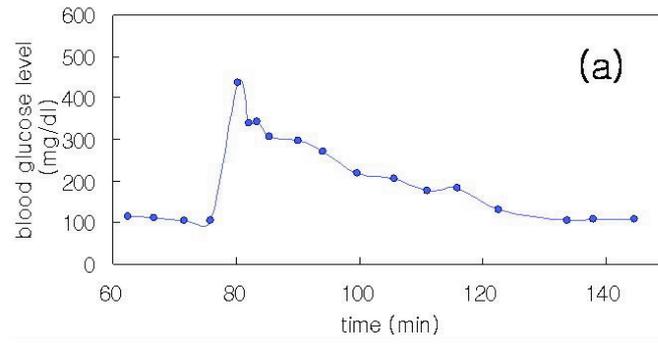
삭제

도면

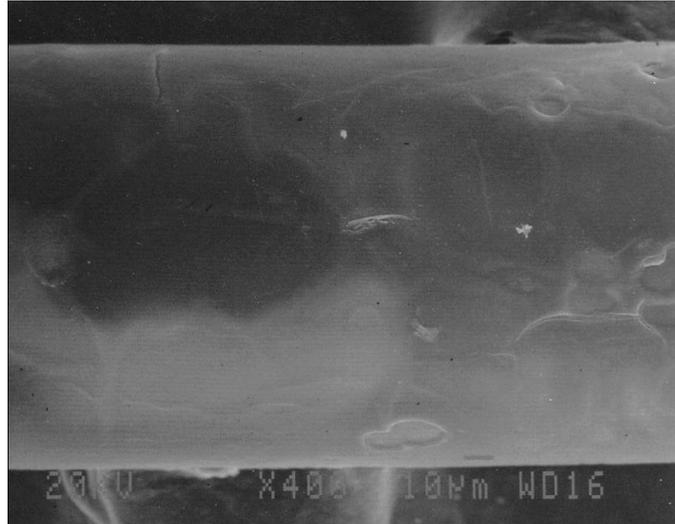
도면1



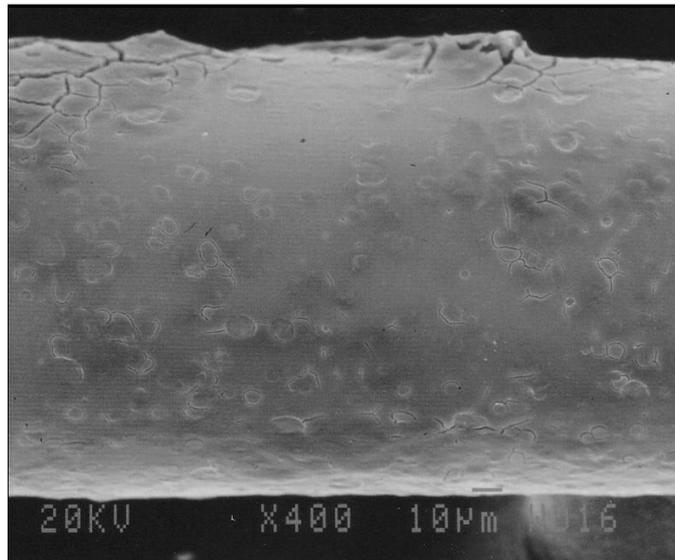
도면2



도면3

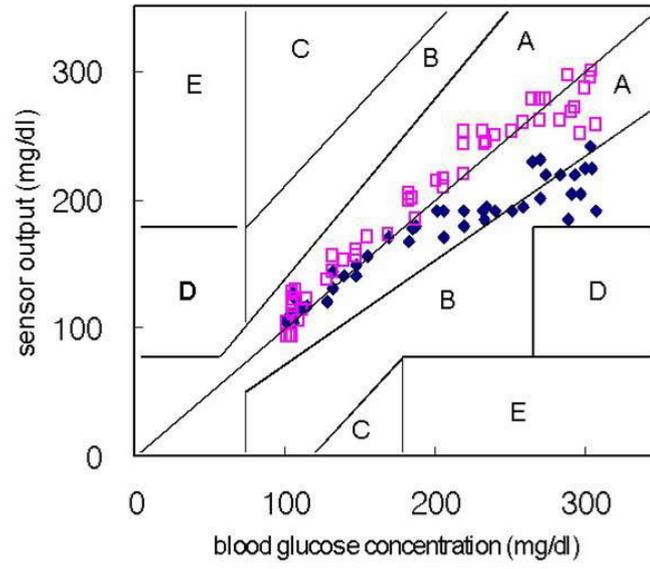


(a)



(b)

도면4



도면5

