



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102006823 A

(43) 申请公布日 2011.04.06

(21) 申请号 200980113767.2

A · 范登贝尔赫

(22) 申请日 2009.02.23

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

(30) 优先权数据

08151818.5 2008.02.22 EP

代理人 康健 林晓红

61/030,653 2008.02.22 US

(51) Int. Cl.

(85) PCT申请进入国家阶段日

A61B 5/00 (2006.01)

2010.10.19

A61B 5/07 (2006.01)

(86) PCT申请的申请数据

PCT/NL2009/050081 2009.02.23

(87) PCT申请的公布数据

WO2009/104967 EN 2009.08.27

(71) 申请人 H · M · 皮内多

地址 荷兰荷属安的列斯

申请人 R · A · 克拉伊耶恩哈根

屯特大学

(72) 发明人 H · M · 皮内多

R · A · 克拉伊耶恩哈根

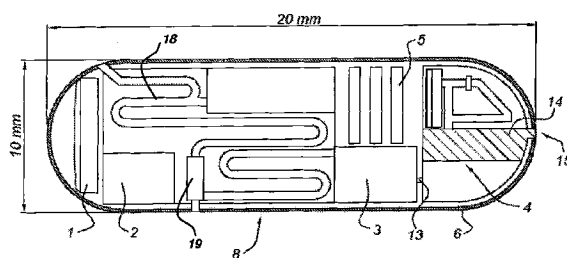
权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图 2 页

(54) 发明名称

检测医学状况和疾病的装置

(57) 摘要

本发明涉及一种囊体或者芯片或者传感器及其应用,所述囊体或者芯片或者传感器包含与医学状况/疾病的发生相关的标记/检测器和信号装置/方法。这种 In Situ Lab On a Chip Signalling 装置 (ISLOGS 装置) 用于原位或者在体内 (在机体内部) 检测所述医学状况/疾病,例如通过将其吞咽以在消化道内检测,或者将其置于阴道、口腔或者鼻腔中。所有反应均在机体内发生,且当检测结果是“阳性”时,该装置通过使被检体液或者生物材料 (例如粪便、尿液或者唾液) 或者所述装置自身着色而告知对象。当所述生物材料或者 ISLOGS 装置离开机体时,在机体外进行检测。



1. 一种检测对象中的医学状况或者疾病的装置,其中该装置能进入对象,且包含能在对象的体液或者生物材料中在原位特异性反应并检测与所述医学状况或者疾病相关的标志物的检测器,所述装置包含其中接受可显示物质的腔室,所述装置进一步具有设置并构建为在检测到所述标志物时从所述腔室释出所述可显示物质进入体液中的信号单元,所述可显示物质在所述对象体外是可见的。

2. 权利要求 1 的装置,其中所述装置包含用于进入对象的可吞咽外包物。

3. 权利要求 1 或者 2 的装置,其中所述装置包含用于离开对象的外包物。

4. 权利要求 1-3 任一项的装置,其中所述检测器包含自动化微型分析系统。

5. 权利要求 1-4 任一项的装置,其中所述信号单元包含释放机构以在检出时释放所述物质。

6. 权利要求 5 的装置,其中所述染料具有对应特异性标志物的检出的预定颜色。

7. 权利要求 1-6 任一项的装置,其中所述检测的显示见于已经与所述装置接触的被检体液或者生物材料的着色中或者所述装置自身的着色中。

8. 权利要求 1-7 任一项的装置,其中所述装置另外包含提取单元和 / 或纯化单元,以提取和 / 或纯化所述标志物。

9. 权利要求 1-8 任一项的装置,其中一旦所述装置离开所述对象则不加入任何其它物质地进行检测。

10. 权利要求 1-9 任一项的装置,其中所述检测器能在对象的消化道中特异性反应。

11. 权利要求 1-10 任一项的装置,其中所述检测器能在对象的阴道中特异性反应。

12. 权利要求 11 的装置,其中所述装置是可摄取的装置和 / 或优选对在消化道内发生的降解具有抗性。

13. 权利要求 1-10 或者 12 任一项的装置,其中所述装置通过他的 / 她的肛管离开对象。

14. 权利要求 1-10、12-13 任一项的装置,其中所述医学状况或者疾病是消化道的医学状况或者疾病和 / 或在消化道内可检测的医学状况或者疾病。

15. 权利要求 14 的装置,其中所述消化道的医学状况或者疾病是癌症,优选结肠癌或者胃癌。

16. 权利要求 1-9 或者 11 任一项的装置,其中所述医学状况或者疾病是阴道的医学状况或者疾病和 / 或在阴道中可检测的医学状况或者疾病。

17. 权利要求 16 的装置,其中所述阴道的医学状况或者疾病是癌症,优选 HPV 癌。

18. 权利要求 1-17 任一项的装置,其中所述对象是人。

19. 权利要求 1-18 任一项的装置,其中所述可显示物质是染料。

20. 权利要求 1-19 任一项的装置,其中所述腔室的体积为 1-100 微升。

21. 权利要求 1-20 任一项的装置,其中所述装置包含针对不同标志物的两或更多个检测器。

22. 权利要求 1-21 任一项的装置,其中所述装置包含两或更多个腔室,其中所述腔室接受不同的可显示物质。

23. 权利要求 21 和 22 的装置,其中在通过特异性检测器检测到标志物时,从所述腔室中释出特定的可显示物质。

24. 权利要求 21 的装置,其中在检测到标志物组合时,所述信号单元释出所述可显示物质。

25. 权利要求 1-24 任一项的装置,其中所述检测器包含控制电路以及与所述控制电路连接的检测元件,所述检测元件的电学性质在检测到标志物的情况下发生改变。

26. 权利要求 25 的装置,其中所述检测元件包含纳米导线。

27. 权利要求 25 或者 26 的装置,其中所述控制电路包含参数存储器,所述参数代表改变的电学性质的阈值。

28. 权利要求 25-27 任一项的装置,其中所述电学性质是阻抗。

29. 检测对象中的医学状况或者疾病的方法,其中使用权利要求 1-29 任一项的装置。

30. 检测对象中的医学状况或者疾病的装置,其中所述装置能进入对象并包含检测器,所述检测器包含能在对象的体液或者生物材料中在原位特异性反应并通过具有可改变的电学性质而检测与所述医学状况或者疾病相关的标志物的检测元件,其中所述检测器包含与所述检测元件连接的控制电路以测量电学性质,所述装置包含设置并构建为在检测到所述标志物时发射信号的信号单元。

31. 组合权利要求 2-29 任一项特征的权利要求 30 的装置。

32. 权利要求 30 的装置,其中所述信号单元包含其中接受染料液体的腔室,且所述信号单元在检出时释出所述染料液体进入体液中。

检测医学状况和疾病的装置

技术领域

[0001] 本发明涉及一种囊体 (capsule) 或者芯片或者传感器及其应用,其包含与医学状况 / 疾病的发生相关的标记 / 检测器以及信号装置 / 方法。

[0002] 发明背景

[0003] 近十年来关于检测和影响疾病进程的医疗知识显著增加。先进的诊断技术使得可以更早地诊断以及提供更早的且在理论上更有效的治疗选择。尽管大多数新的先进诊断方法可用于确诊高危个体,但是不幸地是其通常太昂贵和 / 或具有侵入性和 / 或不方便和 / 或特异性不足 (导致假阳性结果、医疗化 (medicalization) 以及医疗费用增加) 而不能为一般的危险人群提供早期诊断和筛选。因此,越来越需要可以简化诊断程序同时保持高水平灵敏性、特异性、最小假阳性结果和不太昂贵的新方法。另外,为了改善筛选条件下诊断测试的可行性 (以选择进一步 (及更侵入性) 测试对其有用的个体),它们需要是迎合客户 / 患者的,便宜的及容易使用的。进行测试的每种障碍,如需要访问实验室或医学中心,将影响参与率并且是 (在费用上) 低效的。给个体提供可以在家中容易及安全使用的并且只有需要进一步的行为时才发信号的值得信赖的装置是有用及有效的。

[0004] WO-A-2007/113838 揭示了一种可吞咽的装置,用以在体内检测疾病的存在。该装置包括盛有少量染料的纳米容器。作为检测状况的直接结果,纳米容器的少部分内容物被释放且可观测到局部着色。

[0005] 发明详述

[0006] 本发明人的想法是组合在近二十年报道的不同技术以检测和表明对象中医学状况或者疾病的存在,其中使用自动化微型分析系统组合发信号方法,所述系统也称作 lab-on-a-chip (LOC) 系统或者 “smart pill”,如果检测结果是 “阳性的” (即异常) 则告知对象。所述组合形成 “In Situ Lab On a Chip Signalling (ISLOCS) 装置”。所述 ISLOCS 装置足够小,可以安全地置于体内与对象接触 (例如与胃肠道或者阴道接触),在原位自动分析样品,且如果检测到 “阳性” 结果则告知对象。

[0007] 通用定义

[0008] 在本发明中,本发明的装置足够小,可以安全地置于对象体内。所述装置的优选规格依赖于所用装置的类型。例如,对于吞咽的装置,优选的规格是与药丸的规格相当。更优选地,吞咽的装置的规格范围在大约 5mm 和大约 20mm 之间,如图 2 所示。更优选地,吞咽的装置的规格范围在 1-30mm 之间,更优选在 5mm 至 20mm 之间。在另一个优选的实施方案中,当将装置导入阴道中时规格可以在大约 20mm 至大约 50mm 之间。更优选地,当将装置导入阴道中时,规格可在 20mm 至 50mm 之间。在本申请书中,所述装置例如可以与卫生棉塞连接,如果检测结果是 “阳性的”,则该棉塞着色 (即蓝色)。

[0009] 在本发明中,“检测” 医学状况或者疾病优选涉及对医学状况或者疾病进行诊断、分期、监测、预后或者确定患病倾向。

[0010] 在本发明中,所述对象优选是人或者动物。更优选地,所述对象是人。

[0011] 在本发明中,“原位” 是指在对象中或者在体内。

[0012] 装置

[0013] 第一方面,本发明提供了检测对象医学状况或者疾病的装置。所述装置能进入对象体内。所述装置包括一个检测器,其能在对象体内原位特异性反应并检测与所述医学状况或者疾病相关的标志物。所述检测是在已经进入对象机体内的条件下进行。所述检测器安置及构建为在所述装置进入对象机体后检测标志物。所述装置接受对象的体液或者生物材料。在此所述检测器将开始“搜索”所述标志物,且如果存在所述标志物则进行检测。所述装置优选包含信号单元,以释出可显示物质,如着色染料。足够量的可显示物质的排出使得体液着色,在所述体液排出机体时可以在机体外部观测所述标志物的检测。

[0014] 在检测所述标志物之后,信号单元将释出可显示物质。所述可显示物质可以是使得体液着色的着色剂,如果所述体液离开机体,所述着色可以为使用者或者对象观测到。所述检测是通过例如测试的体液或者生物材料(例如粪便、尿液或者唾液)或者所述装置自身的着色进行观测,告知对象。随着所述可显示物质离开对象,所述观测可由局外人观测。原位检测的测试结果是在对象体外观测获得。所述可显示物质可以由体液和/或生物材料转运的物质。

[0015] 所述可显示物质可以是着色染料。所述染料在检测标志物时被释放。所述装置可具有一个、两个或者多个腔室以接受一或多种不同颜色的染料。所述颜色可以与预定标志物相应。与检测的标志物相应的染料在检测时被释放。这样使得可以使用一个装置检测不同的标志物。

[0016] 在一个实施方案中,所述装置包含至少1微升至100微升的接受可显示物质的腔室或者贮液室。如此小量足以在对象体外观测。

[0017] 在一个实施方案中,所述信号装置包含一个纳米泵,该纳米泵与所述腔室连接及用以从所述腔室中喷射所述可显示物质。合适的纳米泵系统从Böhm, S., et al. (2000) 中获知。

[0018] 本发明第一方面的装置在下文更详细描述,也描述了其更优选的实施方案(用以检测结肠直肠癌)。

[0019] 第一方面,本发明提供了检测对象医学状况或者疾病的装置,所述装置包含一个检测器,该检测器在对象的体液或者生物材料中能原位特异性反应以及检测与所述医学状况或者疾病相关的标志物。所述检测器可以将启动信号发送至信号单元。所述信号单元在收到启动信号时发射并优选喷射出可观测信号。所述信号单元可以安置及构建为释出可显示物质如具有预定颜色的染料。所述检测器在检测时可以将(检测)信号、优选电信号发送至信号装置。所述检测器和信号装置是电子连接的。通过使所述检测器或者多个检测器与信号单元分离,信号单元可以由于一或多个条件而激活或者例如在检测后延迟激活。可以进行进一步多重检测,信号仅在检测一定数量的状况或者状况的组合之后发出。

[0020] 在一个实施方案中,所述可显示物质包含检测的标志物的代表。在一个实施方案中,所述装置能检测多个不同标志物。特定标志物的检测导致特定可显示物质的释出。然后发出的颜色表示检测数据。可以获得多种颜色。这样使得可以在对象体外观察、观测特定检测。所述装置可包含多个腔室,其中接受具有不同光学性质的不同的可显示物质。在检测特定标志物时,特定的可显示物质被释放。

[0021] 在一个实施方案中,所述可显示物质可以使所述装置或者其一部分着色,一旦所

述装置离开机体则可观测到所述着色。在优选的实施方案中,着色的物质使可以离开对象的体液或者生物材料着色。

[0022] 本发明实施方案的装置包含用于进入对象体内的外包物 (house)。这样使得所述检测器在原位反应以检测标志物。此外,这个外包物使得观测标志物检测的单位活化。所述外包物可以是囊体。

[0023] 优选地,所述装置包含离开对象的外包物。这样使得可以回收所述装置。在所述装置上也可以加载观测单元,表示标志物是否被检测。

[0024] 所述装置可包含电子电路。所述装置可以是微型的。所述装置可以通过使用常用于生产集成电路的方法组装,如照相平板印刷术、反应离子蚀刻或者电子束蒸发。

[0025] 在一个实施方案中,检测标志物的检测器包含纳米导线。作为检测标志物的结果,纳米导线的电学性质如阻抗性可以改变。所述纳米导线可以与具有电能源的控制电路连接。所述纳米导线和控制电路组成所述装置的检测器的一部分。所述控制电路可以确定纳米导线的电学性质,如阻抗性或者电阻 (resistance)。所述控制电路安置为在检测时输出启动信号。

[0026] 在实验室环境中,纳米导线可以通过确定表示检测靶标 DNA 分子的阈值而校准。这个阈值可以被编程在控制电路中,例如在存储器中。如果在运行期间测量所述阈值,则控制电路可以提供、输出启动信号。

[0027] 在本发明中,所述医学状况或者疾病是指已知在指定对象中发生的任何疾病或者医学状况,对其可以开发特定的检测系统并掺入 LOC 中,所述疾病或者医学状况可以在其中导入装置的原位检测。优选的疾病是癌症,例如胃肠道癌症,口腔 / 咽 / 唾液腺癌症,泌尿生殖器癌症,或者人乳头状瘤病毒感染,其可以是子宫颈感染和肠道感染。在优选的实施方案中,特别是当使用可摄取装置时,所述医学状况或者疾病是消化道和 / 或在消化道中可检测的医学状况或者疾病。更优选地,所述消化道医学状况或者疾病是有或无幽门螺旋杆菌 (*H. Pylori*) 感染的胃和十二指肠溃疡,胃癌及结肠直肠癌。

[0028] 在另一优选的实施方案中,所述医学状况或者疾病是阴道和 / 或在阴道中可以检测的医学状况或者疾病。这种阴道医学状况或者疾病优选是癌症、优选 HPV 癌和 / 或感染,或者其它感染性疾病。

[0029] 首先将所述装置导入口腔中 / 吞咽或者在体内置于与对象的体液或者生物材料接触。在优选的实施方案中,所述装置是可摄取的装置如药丸。在这个优选的实施方案中,所述装置被摄取对象的胃肠道中,且所述装置的检测器能在对象的消化道中特异性反应。在另一优选的实施方案中,所述装置被设计为安全地导入对象的阴道中。在这个优选的实施方案中,装置中存在的检测器能在对象的阴道中特异性反应。在其它实施方案中,所述装置被设计为安全地导入对象的肛管、口腔、鼻腔、耳或者眼睛中。可以通过口腔诊断的疾病例如是口腔癌、粘膜白斑病 (leukoplakie)、龋齿或者牙周炎 (paradontitis)。可以通过鼻腔诊断的疾病例如是鼻咽癌。例如也可以检测和观测金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus Aureus*) 的存在。本发明的装置非常有吸引力,因为其不需要医生进行疾病或者医学状况的检测。所述装置非常便于使用,可以由对象在家中使用。只要检测结果是正常的,就不需要看医生或者去医院。

[0030] 一旦所述装置在体内与对象接触,可能需要装置对于在原位可发生的降解是抗性

的。优选地,当所述装置是可摄入装置时,该装置对于在消化道内可发生的降解是抗性的。例如,所述装置可以对胃酸性 pH 是抗性的。一些肠衣已经为本领域已知且用于药物的配制中。可以存在于所述装置上的肠衣例如可包含凝胶和 / 或淀粉和 / 或纤维素和 / 或角叉藻聚糖和 / 或聚合物。也可以使用修饰形式的淀粉和 / 或纤维素。举例的聚合物是无通透性的硬聚合物如聚丙烯和 / 或聚四氟乙烯。

[0031] 在优选的实施方案中,本发明的装置包含 :a) 提取单元和 / 或纯化单元,用以提取和 / 或纯化标志物或者对象体内存在的成分,b) 检测器以及 c) 将信号传递至外部的工具,例如包含发射器。检测的信号通过喷射着色物质而可以转变为可观测信号。使在所述装置的贮存室内容纳的喷射的着色物质与体液混合并分散于其中,该体液可以从机体排出并使得可以在机体外观测对其进行观测。所述装置的这些元件中的每一个均在下文详细描述。

[0032] 在优选的实施方案中,所述装置包含提取和 / 或纯化标志物或者对象体内存在的成分的工具,其被检测出表示某状况或者疾病被诊断。在优选的实施方案中,提取和 / 或纯化工具存在于所述装置的分隔室内。分隔室表示这种元件与该装置的其它元件物理分离。这可以通过使用惰性膜实现。优选的被提取和 / 或纯化的成分是 DNA。更优选的提取和 / 或纯化 DNA 的工具包括泵、混合工具、与提取自对象的样品混合的液体,以及提取柱和 / 或第二种不同的液体。优选的泵是微型机械装置的电化学驱动泵,能精确地给予纳升量的取自对象的液体样品。这个泵由微型机械装置的通道结构组成,通过硅的反应离子蚀刻实现 (16)。液体可以促进检测的标志物和 / 或成分的提取和 / 或纯化。优选的液体是高盐溶液。优选大约 5-6M 的盐溶液。特别优选的是 5-6M 的盐溶液。更优选地,所述盐是离液盐,如碘化钠、高氯酸钠和硫氰酸胍。从对象中提取的样品中存在的化合物或者标志物可以用本发明的装置中存在的液体稀释。随后,可以通过将稀释的对象样品经过提取柱进行纯化。在玻璃或者硅中微型机械装置的提取柱优选是设计为保留待检测的标志物和 / 或成分的柱。随后通过使用不同的第二种液体,可以使保留的标志物和 / 或成分从柱中释放。第二种液体可具有比使用的第一种液体之一低的盐浓度。释放的标志物和 / 或成分优选直接从提取柱进入检测器中。在更优选的实施方案中,取样肠液、稀释以及所有游离 DNA 在最初的步骤中变性。基于 DNA 在存在高浓度 (大约 5 和 6M, 或者在 5-6M 之间) 离液盐溶液的条件下结合二氧化硅的事实进行纯化,所述离液盐如碘化钠、高氯酸钠和硫氰酸胍。然后从所述柱和系统中洗去这些离液盐。随后从所述柱中释放或者洗脱附着的 DNA, 使用含有 10mM-100mM 盐的缓冲溶液或者水进行。优选的柱是二氧化硅柱。这种柱可商购自 Promega 公司。

[0033] 离心方法可进一步用于从变性的蛋白质中分离标志物。随后将获得的上清输送至如本文所述提取柱。乙醇沉淀也可以用作提取方法的一部分。

[0034] 检测器是所述装置中的另一个元件。检测器能在对象原位特异性反应,用以检测从该对象提取和 / 或纯化的样品中存在的标志物或者成分。检测器是根据待检测的医学状况或者疾病特别设计的。通过检测器检测的标志物已知与所述医学状况或者疾病相关。例如且作为优选的实施方案,当检测癌症时,可以检测与这种癌症相关的特定基因产物的存在与否:例如癌基因的存在和 / 或已知是肿瘤抑制物的基因的不存在。在这个优选的实施方案中,检测器包含探针或者引物,其能特异性识别这种基因产物如 mRNA 或者蛋白质或者与其杂交。更优选地,检测器能特异性检测某些类型的疾病或者医学状况。甚至更优选地,检测器能特异性检测某些类型的癌症。作为甚至更优选的实施方案,检测器能特异性检测

特定状态的 DNA。在本文中,优选的特定状态 DNA 是高甲基化 DNA。基因启动子高甲基化是一些癌症发生的特定标志物((9)至(15))。为了检测高甲基化 DNA 的存在,检测器优选包含具有高表面积微型二氧化硅提取柱。“高表面积”是指多孔结构是在玻璃材料中制成。这可以使用常规的玻璃或者硅蚀刻溶液产生。如前文所述,这种柱可以商购。

[0035] 特别地,检测器可包含控制电路以通过对比检测结果进行分析。在一个实施方案中,所述控制电路测量并对比探针或者引物的电学性质,且如果该性质具有预定值,则确定所述标志物被检测,并输出启动或者检测信号至信号单元。

[0036] 本发明的装置可以在对象体内留置一段时间。所述留置时间应足够长以使得可以进行提取和/或纯化以及检测步骤。这段时间依赖于所述装置导入的原位位置以及该装置的使用条件。例如,如果通过摄取将该装置导入胃肠道中,则将该装置将在原位留置 1-3 天,直至其可以从粪便中排出。在这个优选的实施方案中,所述装置通过对象的肛管排出。对于任何其它类型的装置,例如阴道内装置,留置时间可以更短,可以在几分钟至几小时之间。对于这种类型的装置,对象自己导入和取出该装置。留置期间应足够长以使得可以进行提取和/或纯化以及检测步骤。

[0037] 一旦进行检测步骤,则启动信号单元。在一个实施方案中,将由检测器产生的检测信号转变为可观测信号的工具是所述装置中存在的另一个元件。信号单元可以设置并构建为释出可显示物质。在一个实施方案中,在检测高甲基化 DNA 时,所述可显示物质可以被释放。检测信号可以直接转变为可观测信号,即在一个步骤中转变。然而,在优选的实施方案中,通过电子界面的存在在两或更多步骤中实现这种转变,这样可以将检测信号翻译成电子信号,然后电子信号再翻译成可观测信号。可观测信号可以是检测的体液或者生物材料如粪便、尿液或者唾液的着色或者所述装置自身的着色,这种着色可以通过人眼检测。检测的体液或者生物材料的着色优选由于实践和卫生原因所致。例如,由于对所述标志物和/或成分的检测作出反应而从电子界面发出的电子信号产生的信号,从贮存室内吸出染料。可观测信号只有在所述装置、体液或者生物材料已经离开对象时才可观测。这不是强制性的。可观测信号可以是理论上可观测的信号,而所述装置仍在对象原位。然而,这种情况通常不发生,因为只有所述装置离开人体时才能用人眼观测。已经加入这种表达方式以澄清本发明的装置不是显影装置。

[0038] 在优选的实施方案中,所述装置是这样的装置,即进行检测而在其一旦离开对象则不用加入任何其它物质。

[0039] 本发明另一方面提供了检测对象的医学状况或者疾病的装置。所述装置能进入对象体内。所述装置包含检测器,其能在对象体内原位特异性反应,并检测与所述医学状况或者疾病相关的标志物。所述检测在已经进入对象体内的条件下进行。所述检测器被设置并构建为在所述装置进入对象体内后检测标志物。所述装置接受对象的体液或者生物材料。在此处,检测器开始“搜索”所述标志物,且如果所述标志物存在则对其检测。所述装置优选包含信号单元以将检测数据以某一形式传输至外部世界,如通过听觉、视觉或者射频信号或者着色染料形式。

[0040] 第二方面,本发明提供了检测对象的医学状况或者疾病的装置,其中所述装置包含能在对象的体液或者生物材料原位特异性反应的检测器,并检测与所述医学状况或者疾病相关的标志物。所述检测器包含控制电路。作为检测的结果,所述检测器元件的电学性

质、特别是阻抗性或者电阻发生改变。所述控制电路可以检测到所述改变。控制电路可以对比阈值的改变,例如得自与该控制电路连接的存储器的阈值对比。根据阈值和电学性质的对比,控制电路可以提供启动信号以发出检测到所述标志物的信号。根据本发明,所述启动信号是由于检测到检测器的电学性质改变而形成。优选地,所述检测器包含合适的纳米导线。

[0041] 信号单元与检测器连接且特别与控制电路连接。所述信号单元设置并构建为发射可检测信号,如听觉、视觉或者 RF 信号,或者释出可显示物质如具有预定颜色的染料,由此在对象体外观测到检测情况。RF 信号可以通过外部接收器检测,例如手机,以及可以自动传输至专家办公室。在一个实施方案中,一旦所述装置离开机体,则可以观测到听觉信号、视觉信号或者可显示物质。在另一实施方案中,着色物质可以使可离开对象的体液或者生物材料着色。

[0042] 在一个实施方案中,校准纳米导线以检测靶标 DNA 分子。校准的纳米导线可以与控制电路连接,所述控制电路具有存储器,记忆参数代表纳米导线阻抗值的阈值。如果在操作期间所述纳米导线的阻抗性改变且达到所述阻抗值,这是测量靶标 DNA 分子的鉴别。使用控制电路对比所述阈值与测量的纳米导线中的阻抗是检测标志物的一个有利的实施方案。

[0043] 在一个实施方案中,所述控制电路与包含声音发射单位的信号装置连接,用以在接受来自控制电路的启动信号之后发射声音,表示用纳米导线检测到靶标 DNA 分子。

[0044] 在一个实施方案中,与控制电路连接的信号单元包含电磁辐射源,优选光辐射源,如可见光辐射源,由于接受来自控制电路的启动信号,运行该光源可以发射电磁辐射。所述电磁发射器可以是射频发射器以发射遍及机体的检测信号。所述信号可以在体外的接收器中接收。在一个实施方案中,所述信号装置包含超声发射单位。

[0045] 在一个实施方案中,将不同校准的纳米导线集合收纳在囊体中以检测不同的 DNA 分子。DNA 分子的检测导致阻抗 / 电阻改变。

[0046] 在一个实施方案中,发射的信号可以包含鉴别靶标 DNA 分子的编码。控制电路发出代表检测的标志物 /DNA 分子的启动信号。信号装置发射包含代表检测的标志物 /DNA 分子的编码的信号。操作者能确定哪个靶标 DNA 分子被检测。这样使得可以在一次“运行”中检测多个不同的 DNA 分子。

[0047] 检测靶标 DNA 分子的纳米导线可以是所述装置上微芯片的一部分。这种微芯片从 Vrouwe (2005) 中获知。

[0048] 检测结肠直肠癌的优选 ISLOCS 装置

[0049] 在西方,结肠直肠癌的诊断情况代表的一些相关疾病的诊断,例如心血管疾病、糖尿病、肾病以及各种其它癌症,因此下文只是举例说明。结肠直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一,其在西方至少 5% 的人群中发生,且被认为是导致癌症相关死亡的原因之一 (1)。幸运地,这是一种具有相对较长的癌前病变潜伏期的疾病。这种病理生理学呈现出清晰的“机会窗”以早期检测和早期有效治疗该疾病。结肠镜检查术被认为是检测结肠直肠癌潜伏期的最有效的方法。然而,这种方法具有一些缺点,如大多数患者不适、严重并发症的可能性以及费用高。因此,一致认为结肠镜检查术应仅提供给具有高危结肠直肠癌个体。

[0050] 基于目前的知识,Faeces Occult Blood Test (FOBT) 是选择高危个体的最认可的

方法。遗憾的是,使用 FOBT,筛选组中相当大比例的肿瘤未被发现。因此,需要进一步改良先于结肠镜检查术的选择方法。

[0051] 一种新的且令人兴奋的结肠直肠癌以及其它类型癌症的筛选技术是检测 DNA 的正常非甲基化 CpG 岛的异常甲基化或者高甲基化 (2,3)。已经证实使用 Southern 印迹杂交测定 (4) 以及甲基化特异性聚合酶链反应 (5) 的甲基化 DNA 区域的作图法。最近,已经报道使用微阵列形式灵敏性、高产量筛选患者样品的特异性 DNA 甲基化检测方法 (6)。

[0052] 遗憾地,这些实验室检测不具有 100% 精确性。结果,其优选用作预选方法以选择可用于进行进一步和通常更侵入性检测的那些个体。尤其在筛选设置中,所述检测需要尽可能是对于顾客/患者是无害的且易于使用的。每种障碍如访问进行该检测的实验室或者医疗中心均将影响参与率及(成本-)低效。在这种设置中,可以在家安全使用且只在检测结果异常时使用者才给出去看医生的信号 lab on a chip 装置是理想的。

[0053] 下文描述了本发明最优选的装置,用以检测对象消化道中结肠直肠癌。在摄取时,ISLOCS 装置或者 smart pill 经过肠道,其中肠液被输送至 ISLOCS 装置中,如前文所述该装置自动提取并纯化 DNA。纯化的 DNA 样品随后被转运至检测系统,在此其与特异于特定甲基化异常的探针寡核苷酸分子相互作用,所述探针直接固定在传感器表面上。如果 DNA 样品与探针杂交,表示阳性结果,这个事件被直接电子检测,从该装置中排出深颜色染料,覆盖和渗透进生物液体/生物材料中,当对象排便时观测到这个结果。这种类型的预警疾病检测方法可彻底变革甲基化相关的癌症诊断、治疗以及如果成功则将显著降低癌症导致的死亡。概念上 ISLOCS 装置可包含许多相互作用的成分,但是通过描述如下五个主要系统成分即可得以最佳描述:i) 样品提取和纯化,ii) DNA 检测,iii) 电子界面,iv) 给予染料阳性检测告示以及 v) 电源供给。关于每个成分的更详细的描述在实施例中提供。

[0054] 方法

[0055] 第二方面,本发明提供了检测对象的医学状况或者疾病的方法,其中使用前文描述的装置。术语“检测”、“医学状况或者疾病”以及“对象”在前文已经定义。本文所述方法是非常有吸引力的,因为其不是侵入性方法,可以由待诊断的对象自己进行。不需要收集排泄的生物液体/生物材料或者将其运送至实验室。

[0056] 在本文及在其权利要求书中,动词“包含”以其非限制性含义应用,是指包括在该术语之后的项目,但是不排除组合和/或未特别提及的项目。

[0057] 此外,动词“由……组成”可以代替“基本上由……组成”,是指所述装置、所述装置的一部分或一个单位或者所述装置中存在的工具可包含除了特别提及的成分之外的其它成分,所述其它成分不改变本发明的独特性质。

[0058] 单词“大约”当用于描述数值时(大约 10),优选是指该数值是制定值 10 以及大于或者小于该数值的 1% 的数值。

[0059] 此外,除非明确需要存在一个或者只是元件之一时,否则提及不定冠词“一个”时不排除存在多于一个元件。因此,不定冠词“一个”通常是指“至少一个”。

[0060] 本发明通过如下实施例进一步例证,所述实施例无限制本发明范围之意。

[0061] 附图简述

[0062] 图 1. 对象的示意图。

[0063] 图 2. 本发明的装置的第一个实施方案的示意图。

[0064] 图 3. 图 2 所示装置的输出信号的示意图。

[0065] 图 1 示出人对象 10。在图中, 示出人肠道 11 的分解图。对象 10 准备摄取 ISLOCS 装置。

[0066] 图 2 示出本发明的装置 8 的优选实施方案。所述装置 8 是 ISLOCS 装置。所述装置 8 包含 1 电池、样品提取和处理部分 2、检测部分 3、给料部分 4 和电子部分 5。所述装置包在外包物 (house) 6 中。所述装置 8 可以被吞咽。检测部分 3 与微射流系统连接, 所述微射流系统包含管 18 和微型泵 19, 使得可以提取少量体液进入所述装置的外包物 (house) 中并通过或者流向检测器。检测部分 3 与电子部分 5 连接, 电子部分 5 包含控制电路以测量检测部分的电学性质及可以对比测量值与阈值, 所述阈值例如包含于也存在于电子部分 5 中的存储器中。

[0067] 样品提取和处理部分 2、检测部分 3 以及电子部分 5 协作以取样和检测推定状况相关的可能的标志物的存在。

[0068] 根据本发明的一方面, 标志物的检测导致检测器的电学性质改变, 包括取样和处理部分 2、检测部分 3 以及电子部分 5。在一个实施方案中, 电子部分 5 包含可程序化存储器以及对比模块, 可以将当前检测部分例如包括纳米导线的电学性质与在存储器中程序化的阈值进行对比。如果电学性质如检测部分 3 的阻抗性达到阈值, 则表示所述标志物被检测。检测导致例如提供启动信号。

[0069] 在一个实施方案中, 检测器包含 1-1000 个纳米导线。所述检测器可以是微射流系统的一部分。泵出少量体液通过该系统并且沿着检测器及特别是纳米导线。

[0070] 给料部分 4 是举例的信号单元, 用以发出信号及特别观测检测状况。给料部分 4 可包含充填染料液体的腔室。如果检测部分 3 检测到标志物, 则电子部分 5 将输送启动信号至信号单元以触发包含例如微型泵的给料部分, 释放所述染料液体。在一个实施方案中, 所述染料液体从外包物 (housing) 6 中释出至环境中。如果装置 8 仍在对象体内, 则所述染料液体释放进体液中。例如如果对象 10 使用洗手间, 则着色的体液将为对象 10 观测到。在另一个实施方案中, 所述染料被释入外包物 6 中, 使其着色。当所述外包物离开对象 10 时, 将观测到着色的外包物 6。

[0071] 在另一实施方案中, 所述信号单元除了液体释放系统之外, 包含发射信号至外部世界的装置。在一个实施方案中, RF 信号在检测到所述标志物之后发送。在一个实施方案中, 装置 8 包含 (超) 声发射源。所述信号装置可以通过接受来自检测器的启动信号而触发。

[0072] 在另一个实施方案中, 装置 8 包含与该装置分离的另一外包物部分。所述装置可以通过使用单独的插入体插入人体内, 例如插入阴道中。

[0073] 图 3 示出图 2 所示 ISLOCS 装置 8 的信号示意图。图 3 示出检测对象的 DNA 甲基化状态: a 表示高甲基化 DNA 信号, b 表示杂交的 DNA 信号, c 是纳米导线传感器, 其上可以杂交 DNA, d 是电子末端, e 表示通过 DNA 与纳米导线传感器的杂交诱导的信号改变。所述信号改变可以是你们导线电阻的改变, 通过在指定应用电位通过纳米导线的电流测量。应用电位可以是直流 (DC) 电压, 或者交流电 (AC), 频率为 0-1GHz。信号也可以是纳米导线和与 DNA- 样品溶液接触的另一个电极之间的界面电阻的改变。电阻可以用 DC 或者 AC 外施电压测量, 频率为 0-1GHz。使用本领域现有的显微技术和纳米技术的组合校准纳米导线, 所

述技术如照相平板印刷术、电子束光刻技术、激光束干涉光刻技术、纳米压印光刻技术、湿式和干式蚀刻、蒸发、阴极溅镀和电子束植入,以获得低价格、高质量、低接触电阻纳米导线装置。在检测后,使信号单元 4 开始显现标志物的检测,优选通过释放着色的物质 / 染料进行。

实施例

[0074] Blue Bolus smart pill 系统

[0075] Blue Bolus smart pill 是理想的 ISLOCS 应用,其中大多数需要的系统成分可以用常规技术方法实现。Blue Bolus(BB)smart pill 的基本操作从对象吞咽 pill 开始。当所述 smart pill 到达下位肠道时,所述 pill 开始取样肠液。样品液体与预先贮存的盐溶液混合以纯化样品 DNA,随后用微型提取柱捕获。然后捕获的 DNA 分子从柱中洗脱并转运至检测元件,所述检测元件含有附着于传感器表面的探针。当发生阳性检测事件时,集成电路命令蓝色的预先贮存的染料从 pill 中泵出进入肠道,这在排便后可易于观测到。所述 smart pill 的完整操作是自动化的且由该系统的“中枢”- 电子控制芯片 - 控制。吞咽所述 pill 的对象应无腹泻,但是在吞咽当天应服用粪便软化药物,直至在摄取所述 Smart Pill 之后 24-72 小时。从而保证在接下来的 3 天保持软便,并与泵出所述 pill 的染料充分混合。五个主要的 BB smart pill 系统概念在图 2 中示出。所述 smart pill 的主要功能包括样品提取和纯化、高甲基化 DNA 检测、电子界面、染料给予告知以及电源供给。现在更详细地描述每个这些系统成分。

[0076] 样品提取和纯化

[0077] 从摄取 smart pill 的外界环境中取肠液样。使用能抽取足够量的肠液的整合的泵系统(例如微型机械装置的电化学驱动泵,如(16)所述)进行肠液取样,并与高盐溶液(大约 5 和 6M 的离液盐溶液,如碘化钠、高氯酸钠和硫氰酸胍)混合。所述 ISLOCS 装置含有微型二氧化硅提取柱(得自 Promega 的二氧化硅柱),其具有高表面积以直接从稀释的样品中捕获 DNA。然后捕获的 DNA 通过用另一预先贮存的低盐溶液(浓度在大约 10mM-100mM 之间的与之前的盐相同的盐)流经所述柱而释放,并直接用于检测测定。

[0078] DNA 检测

[0079] 将纯化的 DNA 样品直接转运至检测系统,该系统由一排硅纳米导线(17)组成,在其表面附着寡核苷酸探针分子。针对特定的甲基化异常性设计所述探针分子,例如已经有关于针对结肠直肠癌的报道(7)。已经证实硅纳米导线对于由于 DNA/DNA 杂交和抗体/抗原结合所致表面电荷变化非常灵敏。然而,根据样品中包含的高甲基化 DNA 的量,需要使用整合的聚合酶链反应系统进行预浓缩步骤或者样品扩增步骤,其代价是复杂性增加。设计特定的聚合酶链反应系统以在人粪便 DNA 中特异性检测结肠癌(18,19)。图 3 示出在纳米导线传感器上的 DNA 杂交以及所得电子输出信号的动画示意图,这些可以由集成电路直接记录。最近已经组装了硅纳米导线并且在 Twente 大学的 BIOS Group 中进行电学检测(20)。使用常规的硅烷交联技术将所述探针分子固定在硅纳米导线的表面上。为此需要制备特异于特定甲基化异常性的探针分子以用于本发明中。

[0080] 电子界面

[0081] 通过常规测量技术,电子电路的前端执行纳米导线信号的获得。系统的“大脑”低

功率微控制器了解 pill 中各种功能如时机、子系统的功能检查及实际数据处理。输出电路由给料界面组成,所述界面根据所述纳米导线反应的微控制器评估而起始或者抑制实际的染料给予。纳米导线可以与包含对比单位的控制电路连接。对比单位可以将所述纳米导线的电学性质与设定阈值进行对比。如果所述电学性质有足够的改变,超出设定阈值,则发出信号表明所述标志物被检出。电学性质的改变是所述标志物与纳米导线化学反应的结果。所述阈值可以在控制电路中在可程序化存储器中提供。阈值可以作为预先进行的校准检测的结果提供。可以存在一或多个不同的纳米导线以检测不同的标志物。可以提供不同的阈值以检测不同的标志物。装置 8 中可以存在一或多个检测信号单元,每个单元通过电子部分 6 的不同启动信号启动,输送作为特异性检测结果的信号。

[0082] 给予染料的告知

[0083] 使用低能量电化学启动技术进行给予染料功能。在这个系统中,染料通过水的电解产生的压力离开贮存室,这是在 BIOS 组中 (8) 开发的经证实的技术。所述染料给予单位可包含连接于电源的纳米泵。在染料室中存在限量的染料液体。每个腔室的体积可以是直至 1ml。在一个实施方案中,可利用充填不同染料的多个腔室。

[0084] 电源

[0085] 进行样品提取、转运、检测、电子处理和染色的电源由商业性高能量密度电池提供,其可易于为所有高能和运行提供足够的能量。

[0086] 参考文献

[0087] 1. Jubb, A. M., et al. (2001) P. Methylation and colorectal cancer. J. Pathol. 195, 111-134.

[0088] 2. Bird, A. (1986) CpG-rich islands and the function of DNA methylation. Nature. 321, 209-213.

[0089] 3. Herman, J. G., et al. (1994) Silencing of the VHL tumor-suppressor gene by DNAmethylation in renal carcinoma. PNAS. 91, 9700-9704.

[0090] 4. Issa, J. P. et al. (1994). Methylation of the oestrogen receptor CpG island links ageing and neoplasia in human colon. Nature Genet. 7, 536-540.

[0091] 5. Herman, J. G., et al. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 9821-9826 (1996).

[0092] 6. Rauch, T., et al. (2006). MIRA-assisted microarray analysis, a new technology for the determination of DNA methylation patterns, identifies frequent methylation of homeodomain-containing genes in lung cancer cells. Cancer Res. 66, 7939-7947.

[0093] 7. Weber, M., et al. (2005). Chromosome-wide and promoter-specific analyses identify sites of differential DNA methylation in normal and transformed human cells. Nat Genet. 37, 853-862.

[0094] 8. Böhm, S., et al. (2000). A closed-loop controlled electrochemically actuated. J. Micromech. Microeng. 10, 1-7.

[0095] 9. Jubb AM, Bell SM, Quirke P. Methylation and colorectal cancer. J Pathol. 2005 ;195(1) :111-134

- [0096] 10. Kim YH, Petko Z, Dzieciatkowski S, Lin L, Ghiassi M, Stain S, Chapman WC, Washington MK, Willis J, Markowitz SD, Grady WM. CpG island methylation of genes accumulates during the adenoma progression step of the multistep pathogenesis of colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2006 ;45(8) :781-9.
- [0097] 11. Sato F, Meltzer SJ. CpG island hypermethylation in progression of esophageal and gastric cancer. *Cancer*. 2006 ;106(3) :483-93. Review.
- [0099] 12. Hoque MO, Begum S, Topaloglu O, Chatterjee A, Rosenbaum E, Van Criekinge W, Westra WH, Schoenberg M, Zahurak M, Goodman SN, Sidransky D. Quantitation of promoter methylation of multiple genes in urine DNA and bladder cancer detection. *J Natl Cancer Inst*. 2006 ;98(14) :996-1004.
- [0100] 13. Wisman GB, Nijhuis ER, Hoque MO, Reesink-Peters N, Koning AJ, Volders HH, Buikema HJ, Boezen HM, Hollema H, Schuuring E, Sidransky D, van der Zee AG. Assessment of gene promoter hypermethylation for detection of cervical neoplasia. *Int J Cancer*. 2006 May 30 ;[Epub ahead of print]
- [0101] 14. Perry AS, Foley R, Woodson K, Lawler M. The emerging roles of DNA methylation in the clinical management of prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2006 ;13(2) :357-77.
- [0102] 15. Hoque MO, Topaloglu O, Begum S, Henrique R, Rosenbaum E, Van Criekinge W, Westra WH, Sidransky D. Quantitative methylation-specific polymerase chain reaction gene patterns in urine sediment distinguish prostate cancer patients from control subjects. *J Clin Oncol*. 2005 ;23(27) :6569-75.
- [0103] 16. Böhm S et al, :An integrated micromachined electrochemical pump and dosing system. (1999), *Journal of Biomedical Microdevices*, 1 :121-130.
- [0104] 17. Jong-in Hahm et al, :Direct ultrasensitive electrical detection of DNA and DNA sequence variations using nanowire nanosensors. (2004), *Nano Letters*, 4 :51-54
- [0105] 18. Belshaw N J et al, :Use of DNA from human stools to detect aberrant CpG island methylation of genes implicated in colorectal cancer. (2004), *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 13 :1495-1501
- [0106] 19. Hongzhi Zou et al, :A sensitive method to quantify human long DNA in stool :relevance to colorectal cancer screening. (2006), *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 15 :1115-1119
- [0107] 20. Böhm S et al, :A closed-loop controlled electrochemically actuated micro-dosing system. (2000), *J. Micromech. Microeng.*, 10 :498-504
- [0108] 21. Vrouwe E. X., Luttge R., Olthuis W., van den Berg A. ;Microchip analysis of lithium in blood using moving boundary electrophoresis and zone electrophoresis (2005), *ELECTROPHORESIS*, 26 :3032-3042.
- [0109] 22. E. Carlen and A. van den Berg, *Nano Letters*, (2008) accepted.

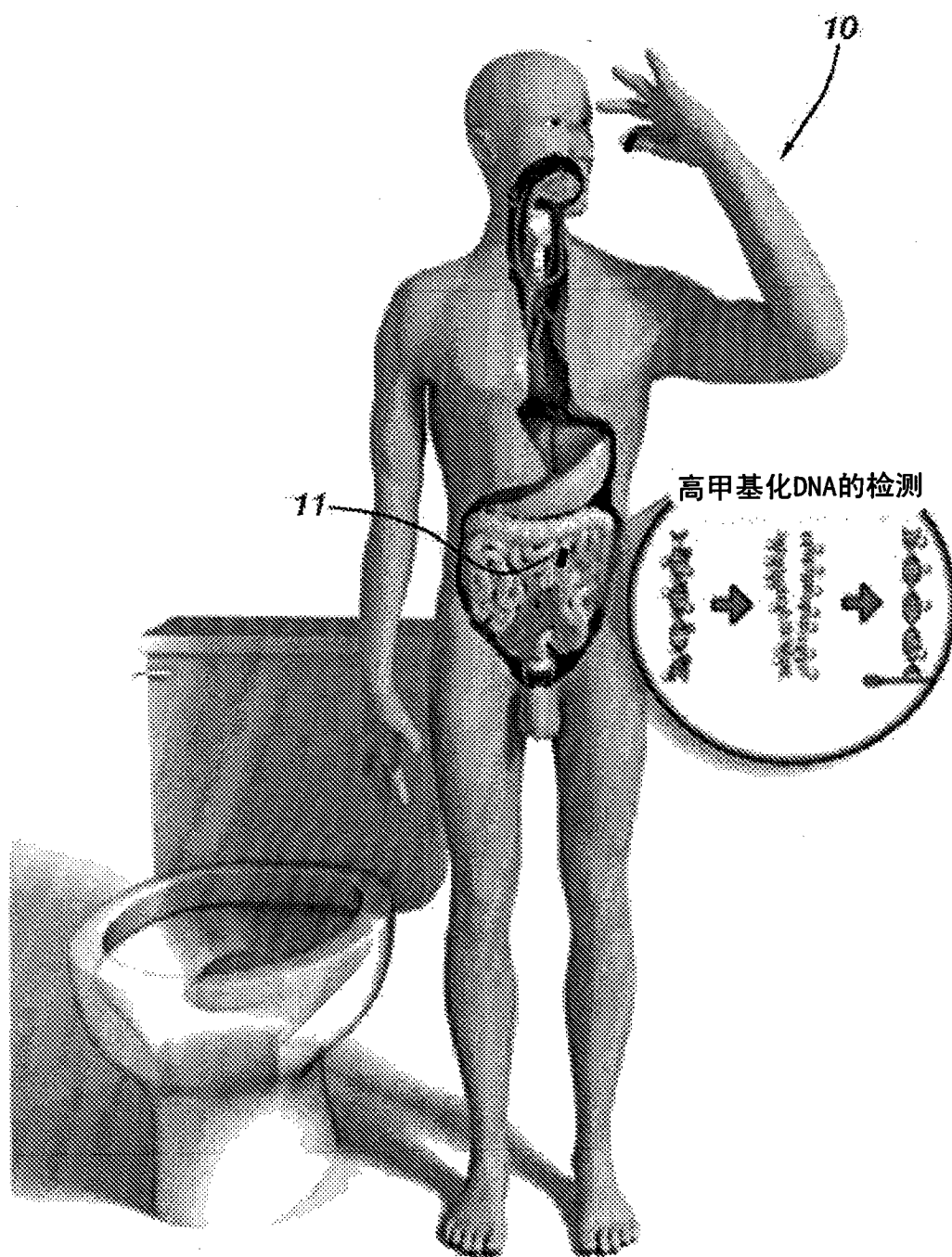


图 1

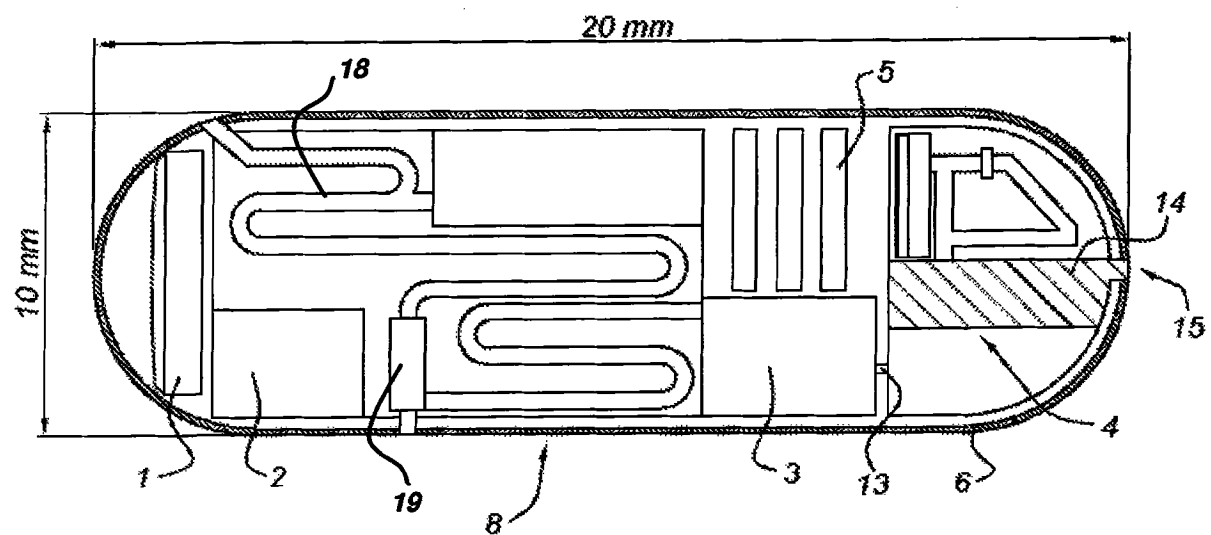


图 2

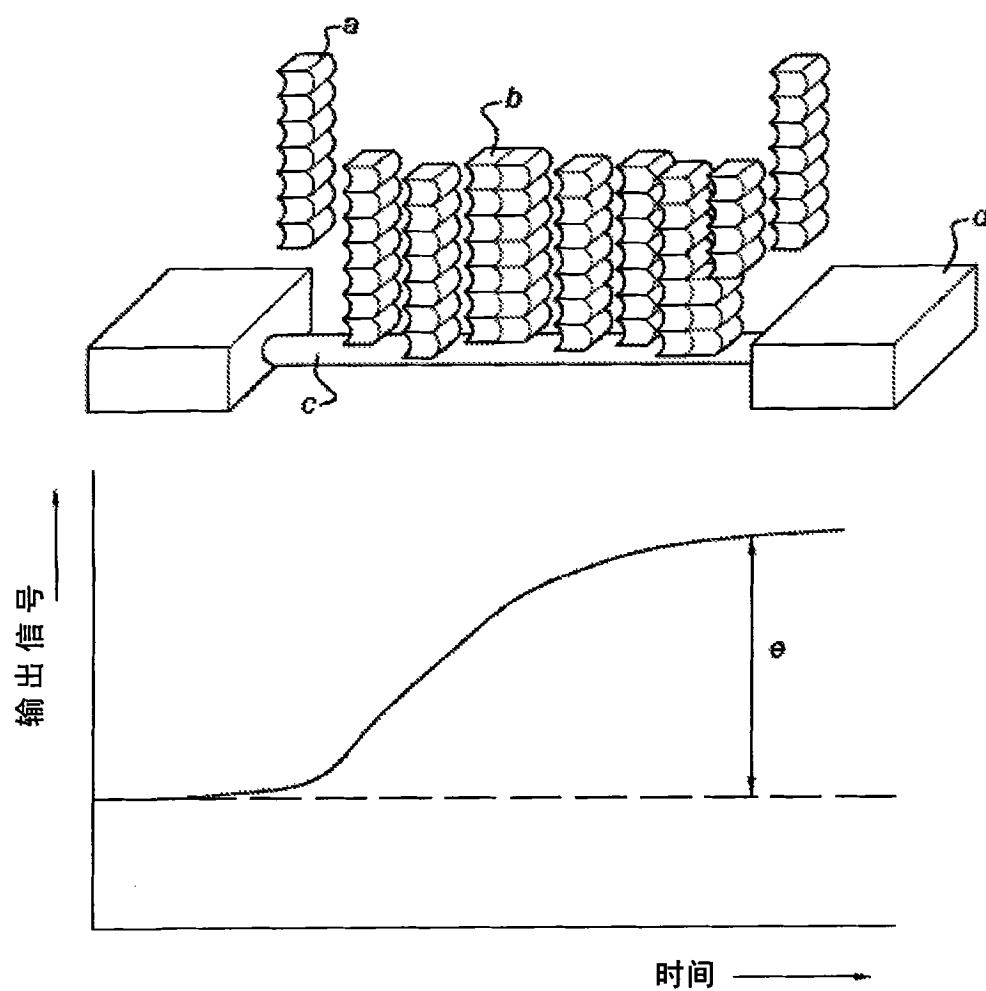


图 3

专利名称(译)	检测医学状况和疾病的装置		
公开(公告)号	CN102006823A	公开(公告)日	2011-04-06
申请号	CN200980113767.2	申请日	2009-02-23
[标]申请(专利权)人(译)	H·M·皮内多 R·A·克拉伊耶恩哈根 屯特大学		
申请(专利权)人(译)	H·M·皮内多 R·A·克拉伊耶恩哈根 屯特大学		
当前申请(专利权)人(译)	H·M·皮内多 R·A·克拉伊耶恩哈根 屯特大学		
[标]发明人	HM皮内多 RA克拉伊耶恩哈根 A范登贝尔赫		
发明人	H·M·皮内多 R·A·克拉伊耶恩哈根 A·范登贝尔赫		
IPC分类号	A61B5/00 A61B5/07		
CPC分类号	A61B2562/0285 A61B5/145 A61B10/0045 A61B5/07 A61B5/0002 A61B2010/0061 A61B5/14546		
代理人(译)	康健 林晓红		
优先权	2008151818 2008-02-22 EP 61/030653 2008-02-22 US		
其他公开文献	CN102006823B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种囊体或者芯片或者传感器及其应用，所述囊体或者芯片或者传感器包含与医学状况/疾病的发生相关的标记/检测器和信号装置/方法。这种In Situ Lab On a Chip Signalling装置(ISLOGS装置)用于原位或者在体内(在机体内部)检测所述医学状况/疾病，例如通过将其吞咽以在消化道内检测，或者将其置于阴道、口腔或者鼻腔中。所有反应均在机体内发生，且当检测结果是“阳性”时，该装置通过使被检体液或者生物材料(例如粪便、尿液或者唾液)或者所述装置自身着色而告知对象。当所述生物材料或者ISLOGS装置离开机体时，在机体外进行检测。

