



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101918837 A

(43) 申请公布日 2010.12.15

---

(21) 申请号 200880117373.X

(22) 申请日 2008.12.01

(30) 优先权数据

60/991,098 2007.11.29 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.05.17

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/085209 2008.12.01

(87) PCT申请的公布数据

W02009/070812 EN 2009.06.04

(71) 申请人 阿莱瑞士股份有限公司

地址 瑞士楚格

(72) 发明人 陶军 黄·海伦·格雷

(74) 专利代理机构 浙江杭州金通专利事务所有

限公司 33100

代理人 徐关寿

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

权利要求书 3 页 说明书 13 页 附图 8 页

---

(54) 发明名称

分析

(57) 摘要

本发明涉及一种检测装置,特别地,涉及一种检测液体样品中被分析物质的检测装置;同时,本发明提供一种使用该检测装置来检测液体样品中被分析物质的方法,用该装置和方法可以定性或定量的检测样品中一种或多种被分析物质。

1. 一种检测液体样品中被分析物质的检测装置,包括:支持液体样品在上流动的载体;该载体包括:

(a) 一阻挡区域包括一个固定其上的阻挡结合物质;其中所述的液体样品中的被分析物质和包括有被分析物质的拟态物质的共轭物质竞争结合阻挡结合物质,其中拟态物与阻挡结合物质之间的亲和力大于被分析物质与阻挡结合物质之间的亲和力;

(b) 一检测区域包括固定在其上的检测结合物质,检测结合物质特异结合包括有拟态物质的共轭物质。

2. 根据权利要求1的检测装置,其中共轭物质包括一个可被检测的标记物和被分析物质的拟态物质,其中标记物质和拟态物质通过一个连接试剂连接。

3. 根据权利要求1的检测装置,其中阻挡区域包括多个不同的阻挡结合物质,其中每一个阻挡结合物质特异结合样品中不同的被分析物质。

4. 根据权利要求1的检测装置,其中检测区域包括多个不同的检测结合物质,其中每一个检测结合物质特异结合样品中不同的共轭物质。

5. 根据权利要求4的检测装置,其中每一个共轭物质包括一个可被检测的标记物和被分析物质的拟态物质,其中标记物质和拟态物质通过一个连接试剂连接;另外,其中每一个共轭物质之间因为下列组分的一个或多个不同而不同:不同的连接试剂、不同的被分析物质的拟态物质或不同的检测标记物质。

6. 根据权利要求3的检测装置,其中所述的每个多个不同的阻挡结合物质被固定在独立的区域中。

7. 根据权利要求4的检测装置,其中所述的每个多个不同的检测结合物质被固定在独立的区域中。

8. 根据权利要求5的检测装置,其中可被检测的标记物质包括颜色颗粒。

9. 根据权利要求2的检测装置,其中连接试剂选自于下列试剂中的一种或几种:锁眼贝蓝血蛋白(KLH)、牛球蛋白(BGG)、牛血清蛋白(BSA)、牛甲状腺球蛋白(BTG)、蛋清蛋白(HEL)、卵清蛋白(OVA)、豚香鲸肌雪素(SWM)、破伤风毒素(TT)、甲基化牛血清蛋白(mBSA)和兔血清蛋白(RSA)。

10. 根据权利要求1的检测装置,阻挡试剂和/或检测结合试剂为抗体。

11. 根据权利要求1的检测装置,载体包括一个可移动的区域,所述的可移动区域包括共轭物质,该共轭物质具有一个可被检测的标记物质和被分析物质的拟态物质,其中共轭物质可被液体样本移动。

12. 根据权利要求11的检测装置,所述的可移动区域包括多个不同的共轭物质,其中组成多个不同共轭物质的成员特异结合不同的阻挡区物质和/或检测结合物质。

13. 根据权利要求1的检测装置,所述载体为多孔薄膜。

14. 根据权利要求1的检测装置,其中,通过测定亲合常数,拟态物与阻挡区域上的阻挡结合物质之间的亲和力至少大于被分析物质与阻挡区域上的阻挡结合物质之间的亲和力一倍。

15. 一种检测液体样品中被分析物质的检测装置,包括:支持液体样品在上流动的载体;该载体包括:

(a) 阻挡区域,包括一个固定其上的阻挡结合物质;其中阻挡结合物质包括固定在阻

挡区域上的被分析物质的拟态物质,其中所述的液体样品中的被分析物质和被分析物质的拟态物质竞争结合共轭物质,其中,拟态物与阻挡结合物质之间的亲和力大于被分析物质与阻挡结合物质之间的亲和力;

(b) 检测区域,包括固定在其上的检测结合物质,检测结合物质特异结合所述的共轭物质。

16. 根据权利要求 15 的装置,其中,共轭物质包括一个可被检测的标记物质和一个半簇,该半簇特异结合所述的被分析物质和被分析物质的拟态物质,所述的标记物质和一个半簇通过连接试剂连接。

17. 根据权利要求 15 的装置,其中,所述的阻挡区域包括多个不同的被分析物质的拟态物质,每一个拟态物质表现出特异结合样品中的不同的共轭物质。

18. 根据权利要求 15 的装置,其中,检测区域包括多个独立的检测结合物质,其中每一个检测结合物质特异结合样品中不同的共轭物质。

19. 根据权利要求 18 的装置,其中,每个不同的共轭物质包括一个可被检测的标记物质和一个半簇,所述的标记物质和一个半簇通过连接试剂连接;其中这些不同的共轭物质之间因为下列组分的一个或多个不同而不同:不同的连接试剂、不同的半簇或不同的检测标记物质。

20. 根据权利要求 17 的装置,其中,每个不同的半簇物质被固定在不同的区域上。

21. 根据权利要求 18 的装置,其中,所述的每个不同的检测结合物质被固定在不同的区域上。

22. 根据权利要求 16 的装置,其中,可被检测的标记物质包括颜色颗粒。

23. 根据权利要求 16 的装置,其中,其中连接试剂选自于下列试剂中的一种或几种:锁眼贝蓝血蛋白 (KLH)、牛球蛋白 (BGG)、牛血清蛋白 (BSA)、牛甲状腺球蛋白 (BTG)、蛋清蛋白 (HEL)、卵清蛋白 (OVA)、豚香鲸肌雪素 (SWM)、破伤风毒素 (TT)、甲基化牛血清蛋白 (mBSA) 和兔血清蛋白 (RSA)。

24. 根据权利要求 15 的装置,其中,半簇或检测结合物质为抗体。

25. 根据权利要求 15 的装置,其中,载体包括可移动区域,该移动区域包括共轭物质,该共轭物质包括一个可被检测的标记物质和一个半簇;其中共轭物质随着施加的样品可被移动。

26. 根据权利要求 15 的装置,其中,载体为多孔薄膜。

27. 根据权利要求 25 的装置,其中,可移动区域包括多个不同的共轭物质,组成多个不同共轭物质的成员特异结合不同的被分析物质,不同的拟态物质和 / 或不同的检测结合物质。

28. 根据权利要求 15 的装置,其中,拟态物与共轭物质之间的亲和力至少大于被分析物质与共轭物质之间的亲和力的一倍。

29. 一种检测液体样品中被分析物质的方法,包括:

(a) 施加液体样品到权利要求 15 上的装置上去,让被分析物质和共轭物质竞争结合阻挡结合物质;

(b) 确定结合在阻挡结合物质和 / 或检测结合物质上的共轭物质,从而检测液体样品中是否存在被分析物质。

30. 根据权利要求 29 的方法,其中确定步骤包括测量结合在阻挡结合物质和 / 或检测结合物质上的共轭物质的数量,从而定量检测液体样品中是否存在被分析物质。

31. 根据权利要求 29 的方法,其中确定步骤包括测量结合在检测结合物质上的共轭物质的数量。

32. 根据权利要求 29 的方法,其中确定步骤包括测量结合在阻挡结合物质上的共轭物质的数量。

33. 根据权利要求 29 的方法,其中还包括确定阻挡区域上不同共轭物质的存在,从而确定样品中不同的被分析物质的存在。

34. 根据权利要求 33 的方法,其中,不同共轭物质被在不同的区域上被检测。

35. 根据权利要求 29 的方法,其中,载体包括可移动区域,该移动区域包括共轭物质,其中共轭物质随着施加的样品可被移动。

36. 根据权利要求 29 的方法,其中,在向检测装置施加液体样品之前,共轭物质被施加到液体样品中。

37. 一种检测液体样品中被分析物质的方法,包括:

(a) 施加液体样品到权利要求 1 上的装置上去,让被分析物质和共轭物质竞争结合阻挡结合物质;

(b) 确定结合在阻挡结合物质和 / 或检测结合物质上的共轭物质,从而检测液体样品中是否存在被分析物质。

38. 根据权利要求 37 的方法,其中,确定步骤包括测量结合在阻挡结合物质和或检测结合物质上的共轭物质的数量,从而定量检测液体样品中是否存在被分析物质。

39. 根据权利要求 37 的方法,其中,其中确定步骤包括测量结合在检测结合物质上的共轭物质的数量,从而检测液体样品中是否存在被分析物质。

40. 根据权利要求 37 的方法,其中,确定步骤包括测量结合在阻挡结合物质上的共轭物质的数量,从而定量检测液体样品中是否存在被分析物质。

41. 根据权利要求 37 的方法,其中,其中还包括确定阻挡区域上不同共轭物质的存在,从而确定样品中不同的被分析物质。

42. 根据权利要求 41 的方法,其中,不同共轭物质被在不同的区域上被检测。

43. 根据权利要求 37 的方法,其中,载体包括可移动区域,该移动区域包括共轭物质,其中共轭物质随着施加的样品可被移动。

44. 根据权利要求 37 的方法,其中,在向检测装置施加液体样品之前,共轭物质被施加到液体样品中。

## 分析

### [0001] 交叉引用

[0002] 本申请主张美国临时申请, 号码 60/991, 098, 申请日为 2007 年 11 月 29 日的优先权日, 该临时申请的全部内容作为本申请的参考。

### 背景技术

[0003] 分析可以被执行来同时或分别检测一个或多个样品中被分析物。分析可以是定量检测来提供一个被分析物质存在样品中的数量。或者, 分析可以是定性检测来提供被分析物是否存在样品中。

[0004] 典型的横向流动分析装置包括多孔的样品接受垫, 与接受垫处于液体流通的共轭物质垫和与共轭物质垫液体流通的测试试剂条。有时候, 共轭物质垫包括干的共轭物质, 它包括被颗粒标记的被分析物质的抗体。测试试剂条具有检测区域, 它包括以固定形式存在的结合被分析物质或被分析物质的拟态物质的物质。使用检测装置的时候, 液体样品被施加在样品接受垫上。样品移动到包含有干的共轭物质的共轭物质垫上。样品和可移动的共轭物质一起移动到试剂条上的检测区域上, 这样液体样品中的被分析物质是否存在就可以被检测。例如美国专利号 5, 451, 504, 5, 707, 818, 6, 121, 008, 6, 699, 722, 和 7, 393, 697。

### 发明内容

[0005] 运用传统的检测装置和方法来横向流动分析并不能特异地来适应检测的浓度的变化。特别的, 传统的检测装置和方法来检测高浓度的时候而不能获得准确的检测结果, 例如 HOOK 效应的影响。

[0006] 在一个具体的实施方式中, 本发明提供一种检测液体样品中被分析物质的检测装置。优选的, 该装置包括: 支持液体样品在上流动的载体; 该载体包括: (a) 阻挡区域, 包括一个固定其上的阻挡结合物质; 其中, 所述的液体样品中的被分析物质和包括有被分析物质的拟态物质的共轭物质竞争结合阻挡结合物质, 其中拟态物与阻挡结合物质之间的亲和力大于被分析物质与阻挡结合物质之间的亲和力; (b) 检测区域, 包括固定在其上的检测结合物质, 检测结合物质特异结合包括有拟态物质的共轭物质。

[0007] 一方面, 共轭物质包括包括可被检测的标记物质和被分析物质的拟态物质, 其中标记物质和拟态物质通过一个连接试剂连接。任何想获得的, 连接试剂选自于下列试剂中的一种或几种: 锁眼贝蓝血蛋白 (KLH)、牛球蛋白 (BGG)、牛血清蛋白 (BSA)、牛甲状腺球蛋白 (BTG)、蛋清蛋白 (HEL)、卵清蛋白 (OVA)、豚香鲸肌雪素 (SWM)、破伤风毒素 (TT)、甲基化牛血清蛋白 (mBSA) 和兔血清蛋白 (RSA)。

[0008] 另一方面, 通过结合常数的测定, 拟态物与阻挡结合物质之间的亲和力至少 1, 2, 3, 4, 5, 10, 50, 100 倍大于被分析物质与阻挡结合物质之间的亲和力。

[0009] 另一方面, 阻挡区域包括多个不同的阻挡区结合物质, 每一个单独的阻挡结合物质能够特异结合存在于样品中的不同的被分析物。

[0010] 另一方面, 检测区域包括多个不同的检测结合物质, 每一个不同的检测结合物质

特异结合存在于样品中的不同的共轭物质。可选的,每一个不同的共轭物质包括一个可以被检测的标记物质和被分析物质的拟态物质。其中,标记物质和被分析物质的拟态物质通过连接试剂连接。进一步,共轭物质之间的不同是由于组成共轭物质的一个或多个成员的不同而不同,例如不同的连接试剂,不同的被分析拟态物质或不同的可被检测的标记物质。

[0011] 在一些方面,各个不同的阻挡结合物质被固定在不同的区域上。

[0012] 在一些方面,各个不同的检测结合物质被固定在不同的区域上。

[0013] 可选择的,可被检测的标记物质包括颜色颗粒。阻挡结合物质和 / 或检测结合物质可以为抗体。

[0014] 本发明的一个示范性的例子,装置包括具有可移动区域的载体,可移动区域包括共轭物质,该共轭物质包括可检测的标记物质和被分析物质的拟态物,其中共轭物质被施加的液体样品移动。可移动区域包括多个不同的共轭物质,每一个不同的阻挡结合物质能够特异结合存在于阻挡区域上不同的阻挡结合物质或 / 和检测区域上不同的检测结合物质。载体可以是多孔薄膜。

[0015] 在另一个,但是相关的方式中,本发明提供一个检测液体样品中被分析物质的检测装置。该检测装置包括一个支持液体在上流动的载体,其中载体包括 (a) 阻挡区域包括一阻挡结合物质;其中所述的阻挡结合物质包括有固定不动的被分析物质的拟态物质,其中液体样品中的被分析物质,如果存在,就和拟态物质竞争结合共轭物质,其中拟态物与共轭物质之间的亲和力大于被分析物质与共轭物质之间的亲和力;(b) 检测区域包括固定在其上的检测结合物质,检测结合物质特异该共轭物质。

[0016] 一方面,该共轭物质包括一个可被检测的标记和一个半簇,该半簇具有特异结合被分析物质和被分析物质的拟态物质,其中可被检测的标记通过一个连接试剂与该半簇连接。

[0017] 另一方面,阻挡区域包括多个不同的被分析物质的拟态物质,每一个单独不同的被分析物质的拟态物质特异结合不同的存在于样品中的不同的共轭物质。可选的,检测区域包括多个不同的检测结合物质,每一个单独不同的检测结合物质特异结合存在于样品中的不同的共轭物质。

[0018] 在另一方面,每个不同的共轭物质包括一个可被检测的标记和一个半簇,其中可被检测的标记通过一个连接试剂与该半簇连接,其中每个共轭物质之间的不同是由于一个或多个组成共轭物质的成员的不同而形成,例如不同的连接试剂,不同的被分析拟态物质或不同的可被检测的标记物质。

[0019] 在另一个方面,这些不同的被分析物质的拟态物质被固定在不同的区域上。

[0020] 在一些方面,各个不同的检测结合物质被固定在不同的区域上。可选择的,可被检测的标记物质为颜色颗粒物质。

[0021] 可选的,任何想获得的,用于本设计的连接试剂选自于下列试剂中的一种或几种:锁眼贝蓝血蛋白 (KLH)、牛球蛋白 (BGG)、牛血清蛋白 (BSA)、牛甲状腺球蛋白 (BTG)、血清蛋白 (HEL)、卵清蛋白 (OVA)、豚香鲸肌雪素 (SWM)、破伤风毒素 (TT)、甲基化牛血清蛋白 (mBSA) 和兔血清蛋白 (RSA)

[0022] 可选择的,半簇和 / 或检测结合物质可以为抗体。

[0023] 本发明的一个示范性的例子,装置包括具有可移动区域的载体,可移动区域包括

共轭物质,该共轭物质包括可检测的标记物质和半簇物,其中共轭物质可被施加的液体样品移动。拟态物与共轭物质之间的亲和力至少 1,2,3,4,5,10,50,100 倍大于被分析物质与共轭物质之间的亲和力。

[0024] 本发明还提供一种检测液体样品中被分析物质的方法。该方法优选的包括:(a) 施加液体样品到本发明的装置上去,让被分析物质和共轭物质竞争结合阻挡结合物质;和 (b) 确定结合在阻挡结合物质和或检测结合物质上的共轭物质,从而检测液体样品中是否存在被分析物质。

[0025] 一方面,在确定步骤中,包括测量结合在阻挡结合物质和或检测结合物质上的共轭物质的数量,从而定量检测液体样本中的被分析物质。另一方面,在确定步骤中,包括测量结合在检测结合物质上的共轭物质的数量。在另一方面,在确定步骤中,包括测量结合在阻挡结合物质上的共轭物质的数量。该方法也可以包括确定多个不同的结合在阻挡结区域上的共轭物质的数量,从而确定存在于液体样品中的多个不同被分析物质。可选的,不同的共轭物质被在不同的区域上检测到。载体包括可移动区域的,可移动区域包括该共轭物质,其中该共轭物质被施加的液体样品可移动。可选的,共轭物质在液体样品被施加到检测装置前被施加到液体样品中。

[0026] 在另一个方式中,本发明还提供一种检测液体样品中被分析物质的方法。该方法优选的包括:(a) 施加液体样品到本发明的装置上去,让被分析物质和共轭物质竞争结合阻挡结合物质;和 (b) 确定结合在阻挡结合物质和或检测结合物质上的共轭物质,从而检测液体样品中是否存在被分析物质。

[0027] 一方面,在确定步骤中,包括测量结合在阻挡结合物质和或检测结合物质上的共轭物质的数量,从而定量检测液体样本中被分析物质。另一方面,在确定步骤中,包括测量结合在检测结合物质上的共轭物质的数量。在另一方面,在确定步骤中,包括测量结合在阻挡结合物质上的共轭物质的数量。该方法也可以包括确定多个不同的结合在阻挡结区域上的共轭物质的数量,从而确定存在于液体样品中的多个不同被分析物质。任何其他被提及的方法都可以被运用到本发明中来。

[0028] 参考文件的利用

[0029] 所有本发明提及的公开出版物和专利申请都可以单独和本发明所描述的方式结合处理,除非每一个单独的公开出版物和专利申请被特别说明单独使用外。

## 附图说明

[0030] 图 1 为横向流动装置的结构示意图。

[0031] 图 2A 为横向流动装置上的共轭物质的示意图。

[0032] 图 2B 为不存在被分析物质的时候,横向流动装置上的共轭物质的示意图。

[0033] 图 2C 为存在被分析物质的时候,横向流动装置上的共轭物质的示意图。

[0034] 图 3 为含有被分析物质的拟态物质,连接试剂和标记物质的共轭物质的示意图。

[0035] 图 4 为一个示范性的横向流动检测装置,其中在第一捕获区域上的一个接收分子和标记的配合物质之间的亲合力比接收分子与被分析物质之间的亲合力要小。

[0036] 图 5 为一个示范性的横向流动检测装置,其中在第一捕获区域上的一个接收分子和标记的配合物质之间的亲合力比接收分子与被分析物质之间的亲合力要大。

[0037] 图 6 为一个示范性的横向流动检测装置来检测分析吗啡 (MOR)。

[0038] 图 7 为一个示范性的横向流动检测装置来检测分析可卡因 (COC)。

[0039] 图 8 为一个示范性的横向流动检测装置来检测分析四氢大麻醇 (THC), 可卡因 (COC) 和吗啡 (MOR)。

[0040] 图 9 为一个示范性的横向流动检测装置来检测分析可卡因 (COC) 或吗啡 (MOR)。

[0041] 图 10 为一个示范性的横向流动检测装置来检测分析 THC, COC 和 MOR, 其中在第一捕获区域上包括抗体。

[0042] 图 11 为一个示范性的横向流动检测装置来检测分析可卡因 (COC), 其中在第一捕获区域上包括分析物质的类似物质。

[0043] 图 12 为一个示范性的横向流动检测装置来检测分析 COC 和 MOR, 其中在第一捕获区域上包括分析物质的类似物质。

[0044] 图 13 为 THC 和 THC 的代谢产物。

[0045] 详细描述

[0046] 分析来检测样品中的一个或多个被分析物质被本发明所描述。然而, 本发明只是描述了一些优选的实施方式和例子, 对于本领域的一般技术人员所熟悉的, 这些方式只是例证性的说明。本发明的装置或 / 和方法可以单独或与其它本领域内的公开的装置、方法或和系统结合来检测样品中的被分析物质。

[0047] 本发明所说的分析化验, 例如那些对生物样品中的药物滥用的确定。在这里, 如果没有特别的指明, 这里的术语“分析”或“化验”都可以包括分析装置或分析方法。

[0048] 如果没有特别指明的话, 在说明书里和权利要求中所要求的单数词语“一个”或“这个”包括复数个。

[0049] 在一个实施方式中, 这些分析是横向流动分析。代表性的, 这些横向流动分析装置具有一个流动路径, 它包括第一个阻挡捕获区域和每一个被分析物质被检测的检测区域。在操作中, 液体样品被施加在装置的流动路径上。液体首先沿着位于流动路径上的一个或多个阻挡捕获区域 (一个或多个阻挡区域) 流动, 然后再流到一个或多个检测捕获区域上 (一个或多个检测区域)。如果被分析物质存在于液体样本中, 在检测区域上, 几乎很少, 甚至没有可被检测的标记物质被捕获。如果被分析物质不存在于液体样本中, 可被检测的标记物质被捕获。这样, 在检测区域上可被检测的标记物质的是否存在表示样品中被分析物质的是否存在。

[0050] 在一个方式中, 检测样品中被分析物质的装置包括一个载体, 该载体包括一个阻挡区域和检测捕获区域。阻挡区域或阻挡捕获区域包括固定在阻挡区域上或中的阻挡结合物质。阻挡结合物质具有与分析物质和分析物质的拟态物质的亲合力。分析物质和分析物质的拟态物质表现出竞争性的或竞争性地结合阻挡结合物质。阻挡结合物质与分析物质的拟态物质的亲合力强于或大于阻挡结合物质与分析物质之间的亲合力。

[0051] 载体可以为多孔渗水或非渗水表面。多孔渗水表面可以为薄膜, 例如检测试剂流动的吸水性材料。纸或纸浆产品, 玻璃纤维, 聚合物, 例如硝酸纤维, 尼龙都可以被用来作为本装置的吸水材料。在一个方式中, 被吸水的材料也可以被用做载体。非吸水性材料可以用于在两个表面之间产生毛细作用让流体沿着检测装置流动。

[0052] 载体可以提供检测装置上多个区域之间的流体交换。这些区域可以是可移动的区域。

域,阻挡去区域和或检测区域。这些区域可以被设置在检测装置的一些面板上,也可以被设置在检测装置的一边之上或/和下面的位置。例如,移动区域可以位于阻挡捕获区域之上,阻挡捕获区域可以被设置在检测区域一边。任何三维结构安排这些区域都可以被运用到本发明描述的装置中来。

[0053] 图 1 和图 2A-C 为本发明的一个具体事实例子中的检测装置 500,包括样品接受垫 502,共轭物质垫 504 和流动条 506。共轭物质垫 504 包括共轭物质 507,在未使用装置前,共轭物质优选的作为干的状态存在于装置 500 上。流动条 506 包括含有结合物质 510 的第一捕获区域 508 和含有结合物质 516 的检测捕获区域 514。结合物质 510 可以结合共轭物质 507 和被分析物质。这样,共轭物质 507 和与共轭物质 507 对应的被分析物质竞争结合结合物质 510。结合物质 516 也可以结合共轭物质 507。结合物质 516 可以几乎没有或很少具有对于分析物质的亲合力。

[0054] 流动条 506 允许让液体流动,也允许让结合物质 510 和结合物质 516 固定在其上。优选的,流动条 506 由多孔渗水材料组成,例如硝酸纤维素薄膜。

[0055] 参考图 1,接受垫 502 用于接受液体样本。优选的,接受垫 502 由多孔渗水材料组成,例如玻璃纤维。

[0056] 共轭物质垫 504 包括共轭物质 507,在未使用装置前,共轭物质垫优选的作为干的状态;共轭物质垫允许液体样本移动共轭物质 507。被移动的共轭物质和样品一起沿着检测装置 500 上的流动路径流动到流动条 506 上。优选的,共轭物质垫 504 由多孔渗水材料组成,例如玻璃纤维。

[0057] 结合物质 510 可以特异结合共轭物质 507(通过结合被分析物质的拟态物质 530)和具有相应的结合与共轭物质 507 对应的被分析物质的能力。特异性的结合意思是样品中的其他物质不能影响共轭物质 507 和相应的与结合物质结合的被分析物质的竞争结合。在一个优选的方式中,结合物质 510 包括抗体,该抗体可以识别被分析物质的拟态物质 530 和相应的被分析物质。例如,拟态物质 530 和相应的被分析物质可以都包括一个抗原决定基,它可以被同一抗体识别和结合。这样抗体可以结合被分析物质和该被分析物质的拟态物质。

[0058] 结合物质 510 可以同时结合被分析物质和共轭物质 507。结合物质至少部分通过被分析物质的拟态物质来结合共轭物质 507。在一个优选的方式中,结合物质 510 结合共轭物质 507 的结合亲合力要高于与被分析物质的拟态物质对应的分析物质与共轭物质 507 之间的亲合力。优选的,结合物质 510 结合共轭物质 507 的亲合力要高于结合物质 510 结合被分析物质的亲合力。

[0059] 作为结合物质的抗体可以是本领域内知晓的任何抗体。抗体可以是免疫球蛋白分子或部分抗原特定位点的免疫球蛋白分子,例如那些具有抗原结合位点的分子能够特异(被免疫)结合被分析物质,被分析物质的拟态物质或配体。抗体也包括人工合成的杂交抗体或者经过修饰过的抗体或抗体分子片段,包括,但不局限于,抗体片段和 Fv 片段。具有结合抗原功能的抗体上具有自然发生的抗体上的一些片段。一个结合片段或抗体片段包括,但不局限于,(i) Fab 片段,它包括 VL, VH, CL 和 CH1 区域;(ii) Fd 片段,它包括 VH 和 CH1 区域 (iii) Fv 片段,它包括抗体的一个单链上的 VL 和 VH 区域;(iv) dAb 区域 (Ward et al., Nature 341 :544-546 (1989),它包括 VH 区域;(v) 一个独立的决定簇 (CDR);(vi) 一个

F(ab')<sub>2</sub> 片段,一个二价片段包括两个通过二硫化物在铰链区连接的 Fab 片段。

[0060] 另外,虽然这 Fv 片段上的两个区域是不同的基因编码所决定,人工合成的连接试剂可以让他们形成单一的蛋白链(已知的单一 Fv(scFv) 链)(Bird et al., Science 242: 423-426(1988);和 Huston et al., PNAS 85:5879-5883(1988))。蛋白片段包括那些可以交联结合他们的目标抗原的片段,例如二价片段,如 F(ab')<sub>2</sub> 片段。可选的,那些不能自我交联结合目标抗原的蛋白片段也可与第二抗体一起来结合目标抗原。

[0061] 如图 3,共轭物质 507 包括被分析物质的拟态物质 530,连接试剂 532 和标记物质 534。在结合试剂和共轭物质 507 之间的结合通过共结合轭物质 507 上的拟态物质 530 来实现的。

[0062] 结合被分析物质的共轭物质或结合共轭物 507 可以被第一捕获区域 508 上的结合试剂 510 捕获,这种捕获通过被分析物质的拟态物质和结合试剂 510 之间的结合实现。然而,结合试剂 510 与共轭物质 507 之间的亲合力大于结合试剂 510 与共轭物质对应的被分析物质之间的亲合力。被分析物质的拟态物质 530 可以和结合试剂 510(例如抗体)形成复合物,被分析物质也可以和结合试剂 510 形成复合物。

[0063] 在一些方式中,被分析物质的拟态物质也可以是被分析物质本身(例如拟态物质 530 可以是上面讨论的毒品相关的物质)。例如,在分析大麻产品中,被分析物质的拟态物质和被分析物质都可以是大麻 THC,分析可卡因中都为苯(甲)酰芽子碱(benzoyl-ecgonine),分析吗啡中都为吗啡硫酸盐,安非他明中都为安非他明。

[0064] 可选的,对于毒品或毒品代谢物中,被分析物质的拟态物质 530 可以是被分析物质的类似物质,它可以和抗体形成复合物,该抗体也可以和被分析物质形成复合物。例如,被分析物质的拟态物质 530 可以是被分析物质的一个片段,该片段具有被分析物质上的一个抗原决定位点。

[0065] 连接试剂 532 连接被分析物质的拟态物质 530 和标记物质 534。代表性的,连接试剂 532 具有都不存在于被分析物质,拟态物质和标记物质上的一个结合位点。例如,连接试剂上的结合位点可以是被抗体识别的一个位点,该抗体既不识别被分析物质,也不识别拟态物质 530 和标记物质 534。在一些方式中,连接试剂上的结合位点可以被一个抗体识别,但该抗体也不识别其他连接试剂上的位点。例如,这样的连接试剂可以是选自于下列试剂中的一种或几种:锁眼贝蓝血蛋白(KLH)、牛球蛋白(BGG)、牛血清蛋白(BSA)、牛甲状腺球蛋白(BTG)、蛋清蛋白(HEL)、卵清蛋白(OVA)、豚香鲸肌雪素(SWM)、破伤风毒素(TT)、甲基化牛血清蛋白(mBSA)和兔血清蛋白(RSA)。

[0066] 标记物质 534 可以让共轭物质被检测到。在一些方式中,标记物质 534 是颗粒(例如乳胶颗粒,金属可以或胶质的颗粒)。当被沉淀在检测区域上的时候,这样的颗粒可以形成颜色。在一些方式中,标记物质 534 可以是酶标记,这样的酶可以和底物发生反应生成可被检测的产物,例如颜色产物。其它的标记物质也可以被用到,例如放射性标记物质。

[0067] 任何类型的样品都能够用本发明的装置进行试验,包括体液(例如,尿液和其它体液,以及临床样品)。液体样品可能源自生物体内样品(例如尿液,唾液或得自全血、血清或血浆的血液样品)。样品可以是固体的或者半固体。这些固体的和半固体的样品可以通过任何适合的方法转变成液体样品。液体样品包括缓冲溶液。

[0068] 用本发明可以分析任何目标分析物质。能够用本发明检测的被分析物的例子包括

(但是不仅仅包括) 病毒抗原, 微生物抗原, 激素, 例如胰岛素, 卵巢刺激素 (FSH), 促甲状腺激素, 松弛激素, 生长激素, 促性腺激素, 酶, 免疫蛋白, 细胞活性激素, 毒品, 瘤抗原, 多聚糖, 核酸。被分析物质可以为艾滋抗体, 丙肝抗体或人绒毛膜促性腺激素 (hCG)。

[0069] 在一些方式中, 一个或多个被分析物质 (如果至少一个被检测) 为毒品相关 (毒品滥用)。检测存在被分析物质的样品来自那些和毒品相关的个人。例如, 被分析物质可以是毒品本身或其它毒品, 例如被分析物质为毒品的代谢产物。被分析物质的例子如  $\Delta 9$ -THC (大麻), 苯 (甲) 酰芽子碱 (可卡因), 吗啡硫酸盐 (吗啡), 安非他明 (安非他明)。被分析物质也可以为这里描述的某些分子的代谢产物。例如 THC 的代谢产物, 如图 13 所示。其它被分析物质可以用提供的方法和仪器来区分, 这是本领域一般技术人员所知晓的。在这里, THC 意识表示四氢大麻醇或四氢大麻酚以及它的相似物质, COC 表示古柯碱或可卡因以及它的类似物质, MOR 表示吗啡和它的类似物质。

#### [0070] 本发明装置的使用方法

[0071] 正如上面提到的, 本发明也提供一种使用一个或多个检测装置来检测液体样品中被分析物质的方法。该方法可以是定量或定性检测。在一个具体的方式中, 方法包括 (a) 施加液体样品到本发明的装置上去, 让被分析物质和共轭物质竞争结合阻挡结合物质; 和 (b) 确定结合在阻挡结合物质和 / 或检测结合物质上的共轭物质, 从而检测液体样品中是否存在被分析物质。

[0072] 作为一个示范性的例子, 横向流动分析提供阳性结果来显示样品中被分析物质的存在。样品被施加并经过三个区域 (移动区域, 阻挡区域和检测区域)。

[0073] 1). 移动区域: 共轭物质, 例如, 在移动区域上, 被颜色物质标记的配体, 该配体通过一种蛋白 (或酶, 氨基酸、半抗原或大分子蛋白) 与一种类似物质 (或被分析物质的拟态物质) 共轭形成颜色颗粒。

[0074] 2). 在阻挡区域, 抗类似物质的抗体被涂, 处理或包被在膜上, 该抗体结合被颜色标记的配体的亲合力大于该抗体结合被分析物质的亲合力。

[0075] 3). 在检测区域上, 一种抗该蛋白的抗体 (或者抗酶, 抗氨基酸, 抗半抗原或抗大分子的抗体) 被涂, 处理或包被在膜上。

[0076] 当施加阴性样品的时候 (不存在被分析物质), 被颜色标记的配体被抗类似物质的抗体在阻挡区域结合, 而不能到达检测区域, 因此在检测区域上没有颜色线条出现。

[0077] 当施加阳性样品的时候 (存在被分析物质), 抗类似物质的抗体在阻挡区域结合被样品中的被分析物质结合, 被颜色标记物质标记的配体能够流过阻挡区域然后被抗蛋白的抗体 (或者抗酶, 抗氨基酸, 抗半抗原或抗大分子的抗体) 在检测区域里捕获形成颜色线条。

[0078] 1). 可以被样品移动或带动的被颜色标记物质标记的配体与处理在阻挡区域膜上的抗类似物质的抗体之间的亲合系大于被分析物质与抗类似物质抗体之间的亲合系。

[0079] 2.) 毒品检测的检测阈值 (cut off level) 可以通过调节达到市场需要检测的水平, 这种调节可以通过选择那些抗类似物质的抗体, 他们具有高亲合力结合被标记的配体而低亲合力结合被分析物质。

[0080] 3. 这种检测可以检测那些, 但不局限于, 高浓度的被分析物质而没有勾状影响 (hook effect),

[0081] 结合说明书附图,样品接受垫 502,共轭物垫 504 和试剂条 506 被这样排列,当液体样品被施加在样品接受垫 502 上的时候,可以让液体沿着流体路径到达共轭物垫 504。这些前进的液体移动共轭物 507,然后和液体样品中的被分析物质(如果存在)沿着流动路径到试剂条 506 上的第一捕获区域 508。该前进的液体与第一捕获区域上的结合物质 510 相遇,被分析物质 540(如果存在)和共轭物 507 竞争结合结合物质 510 形成复合物。被分析物质或共轭物被结合物质捕获。在样品中的被分析物质的量增加,被结合物质 510 捕获的共轭物就会减少。

[0082] 该前进的液体继续沿着试剂条 506 流动并经过第一捕获区域 508 到达检测捕获区域 514。当液体经过检测捕获区域 514 的时候,剩余在液体样品中的共轭物 507 被结合物质 516 捕获结合。因为液体样品中被分析物质的增加会导致检测捕获区域 514 捕获共轭物 507 的数量增加。这样,分析装置 500 就成为阳性读取装置,当在检测区域上存在共轭物(或几倍于极限之上)的时候表明被分析物质的存在样品中;当在检测区域上不存在共轭物(或不存在几倍于极限之上)的时候表明被分析物质不存于样品中。

[0083] 可被检测的标记物质的存在可以被显示,例如在检测区域上形成颜色。在另一方面,如果存在的被分析物质低于某个水平或更本不存在,在检测区域上几乎没有可被检测的标记物质被捕获。在检测捕获区域上,被捕获的标记物质的量的减少(例如不存在)可以表示样品中被分析物质的减少(或不存在)。

[0084] 在一些实施方式中,该装置用上检测捕获区域上的标记物质的存在通过视觉检测(例如通过人类的肉眼观察)。该装置也可以通过视觉来决定颜色的多少来表示被分析物质的多少(例如被分析物质高于预先设置的水平)。没有颜色表示没有被分析物质(或者被分析物质低于预先设置的水平)。

[0085] 当共轭物检测区域被设计成通过结合连接试剂来捕获共轭物的时候,其他的实施方式是可行的。例如,一个共轭物可以包括一个结合成员,在检测捕获区域上,通过结合该成员来捕获共轭物而不捕获任何存在与液体样品中的被分析物质。

[0086] 在其它分析方法中包括向检测装置施加液体样品的步骤,该装置具有以下一个或多个特征:(a) 一个载体支持液体的流动,包括:包括阻挡结合物质的阻挡区域;其中所述的阻挡结合物质包括有固定不动的被分析物质的拟态物质,其中液体样品中的被分析物质,如果存在,就和拟态物质竞争结合共轭物质,其中拟态物与共轭物质之间的亲和力大于被分析物质与共轭物质之间的亲和力;(b) 检测区域包括固定在其上的检测结合物质,检测结合物质特异结合包括该共轭物质。

[0087] 被施加在移动区域的样品包括可移动的被标记的共轭物质,该共轭物质包括类似物质的抗体。被施加的液体样品让被分析物质和共轭物质竞争结合阻挡区域上的结合物质。

[0088] 一配体被固定在阻挡区域上,该配体与类似物质抗体的亲合力大于被分析物质与类似物质抗体的亲合力。当没有被分析物质的存在的情况下,所有的被标记的抗体移动到阻挡区域被固定的配体结合。当存在被分析物质的时候,被标记的抗体将会根据被分析物质的多少部分或全部结合被分析物质。一部分,或所有的被结合的类似物质的抗体不能在阻挡区域被结合,相反能够移动到检测捕获区域被检测捕获区域上的抗体或另外的结合物质结合。

[0089] 该方法还包括确定阻挡区域或检测区域上被结合的共轭物质的数量,从而确定液体样品中的被分析物质的存在或数量。

#### [0090] 实施例子

[0091] 下面并不是进一步限制性的实施例子。实施例子 1-7 描述了准备和检测阳性读取结果的吗啡分析装置。实施例子 8-12 描述了准备和检测阳性读取结果的可卡因分析装置。实施例子 13-17 描述了准备和检测阳性读取结果的多种被分析物质的 (THC/COC/MOR) 分析装置。实施例子 18 描述了准备和比吗啡抗体与吗啡以及吗啡抗体与连接有 BSA 的吗啡之间的亲合力。

#### [0092] 实施例 1:胶体金颗粒的准备

[0093] 1.64 毫升的 10% 的氯化金溶液 ( $\text{HAuCl}_4$  在 D 水中 ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) 被加入 1 升 D 水中 ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) 然后被加热到  $90^\circ\text{C}$ 。该溶液一直被搅拌并加热到沸腾。这时候,1 毫升的 23.6% 的柠檬酸 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ , 其中 D 水中 ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) 作为溶剂) 被加入到以上溶液中并被搅拌 5 分钟。

#### [0094] 实施例 2:吗啡胶体金共轭物颗粒的准备

[0095] 6.0 毫升的磷酸缓冲液体被滴加到 60 毫升并快速搅拌的实验 1 的胶体金中去。0.6 毫升的带有 BSA 的吗啡共轭物 (购买自英克隆) 用磷酸缓冲溶液 (0.1M, pH6.5) 稀释至 1mg/ml, 然后被快速的滴加到搅拌的胶体金溶液中 (750rpm)。然后,该溶液在室温下被逐渐慢速搅拌 (大约 200rpm) 大约 30 分钟。然后,0.6ml 的 10% 聚己二醇的 (PEG:MW15,000,  $\text{dH}_2\text{O}$  为溶剂) 被快速的添加到溶液中去。被该溶液在室温下再继续被慢速搅拌大约 30 分钟。然后胶体金颗粒在  $4^\circ\text{C}$  下以 30,000 克的转速被离心 30 分钟。去掉上层溶液,下层的颗粒被悬浮在 60ml 的磷酸缓冲溶液 (0.01M, pH6.5) 并含有 0.05% 的酪蛋白。该溶液被再次离心。并去掉上层溶液,下层的颗粒被悬浮在 0.6ml 的 PSC 缓冲溶液 (0.01M 磷酸溶液, pH7.0, 2.5% 蔗糖, 0.2% 酪蛋白) 获得共轭物溶液。

#### [0096] 实施例 3:干的共轭物垫的准备

[0097] 0.5M 的磷酸盐 (pH7) 的溶液,包括 1% 罗达 (Rhodasurf)+1% PVP+0.1% 酪蛋白盐 (sodium casein)+0.02% 叠氮化钠 (sodium azide) 处理玻璃纤维垫 (0.6cmx30cm)。0.01 毫升的实验 2 的共轭物溶液中加入 1.19 毫升的 PSC 缓冲溶液。1.2 毫升的稀释共轭物溶液被涂在玻璃纤维垫上。处理好的玻璃纤维垫在  $44^\circ\text{C}$  下烘干 2 小时。然后储藏于带有干燥试剂的塑料袋里备用。

#### [0098] 实施例 4:带有第一捕获区域的测试条的准备

[0099] 抗吗啡的抗体被稀释成 1.88mg/ml 的 0.01M 的 PBS 溶液中,稀释好的抗体溶液被处理杂硝酸纤维素膜上 (Whatman GmbH),每根线条大约 1.5-2.2 毫米,总共为两根。

#### [0100] 实施例 5:带有检测区域区域的测试条的准备

[0101] 羊抗 BSA 的抗体 (1mg/ml, 购买自 Immunology Consultants Laboratory, Inc) 被处理在实验 4 中的膜上,处理的线条为一条 0.8-1.2 毫米宽。羊抗 BSA 的抗体被处理在距离实验 4 中捕获区域线条的远端。处理好的薄膜在  $37^\circ\text{C}$  的烘箱里放置 24 小时。

#### [0102] 实施例 6:样品垫的准备

[0103] 样品垫的处理溶液为:4 克的 PVP (Sigma, MW 10,000) 和 0.8 克的罗达素 (Rhodasurf) 被溶解在 0.01M 的磷酸缓冲溶液中,调节 pH 到 7,总体积为 100 毫升。然后用 3.5 毫升的溶液处理一个样品垫 (1.8x30cm 玻璃纤维, 8964 号, Ahlstrom)。处理好的垫被

放置在室温干燥。

[0104] 实施例 7 :阳性读取吗啡检测装置

[0105] 实施例 6 中的样品垫,实施例 3 中的共轭物垫,和实施例 5 中的膜条被首尾相连并相互叠加,样品垫的末端叠加在共轭物垫的一端,共轭物垫的另一端叠加在膜条的一端,并且,相比实施例 45 中的检测捕获区域,共轭物垫要更靠近实施例 4 中的第一捕获区域。一个吸水垫被设置在膜的另一端并靠近检测区域。一个纸板卡被用来保持试剂条上各个部件的位置。带有这些部件的卡被切割成条子,每一个条子都有样品垫,共轭物垫和膜条和吸水垫。每一个条子被装配在塑料盒子里。每一个塑料盒子在与样品垫对应的地方包括一个开口用于接收液体样品,在检测区域对应的地方包括一个开口用于读取测试结果,然而在在第一捕获区域上没有开口。

[0106] 在盒子中的每个试剂条的样品垫上施加 100 微升的样品溶液。样品溶液中混合有不同浓度的吗啡。样品移动并通过共轭物垫,并移动其上的干的共轭物。混和有共轭物的样品溶液移动到膜条上,并通过阻挡区域,然后穿过检测区域,最后到达吸水区域。在这些样品中,吗啡的浓度超过 300ng/ml,一条颜色线条出现在检测区域;吗啡的浓度小于 300ng/ml,在检测区域上不出现颜色线条。

[0107] 实施例 8 :可卡因胶体金共轭物颗粒的准备

[0108] 6.0 毫升的磷酸缓冲液体被滴加到 60 毫升并快速搅拌的实验 1 的胶体金中去。0.6 毫升的带有 BTG 的吗啡共轭物 (benzoylecgonine-BTG) (购买自英克隆) 用磷酸缓冲溶液 (0.1M, pH6.5) 稀释至 1mg/ml,然后被快速的滴加到搅拌的胶体金溶液中 (750rpm)。然后,该溶液在室温下被逐渐慢速搅拌大约 30 分钟。然后,0.6ml 的 2% 酪蛋白被快速的添加到溶液中去。该溶液在室温下再继续被慢速搅拌大约 30 分钟。然后胶体金颗粒在 4℃ 下以 30,000 克的转速被离心 30 分钟。去掉上层溶液,下层的颗粒被悬浮在 60ml 的并含有 0.05% 的酪蛋白的磷酸缓冲溶液 (0.01M, pH5.8)。该溶液被再次离心。并去掉上层溶液,下层的颗粒被悬浮在 0.6ml 的 PSC 缓冲溶液 (0.01M 磷酸溶液, pH7.0, 2.5% 蔗糖, 0.2% 酪蛋白) 获得共轭物溶液。

[0109] 实施例 9 :干的共轭物垫的准备

[0110] 0.5M 的磷酸盐 (pH7) 的溶液,包括 1% 罗达 (Rhodasurf) +1% PVP+0.1% 酪蛋白盐 (sodium casein)+0.02% 叠氮化钠 (sodium azide) 处理玻璃纤维垫 (0.6cmx30cm)。处理过的玻璃纤维垫烘干过夜。0.012 毫升的实验 8 的共轭物溶液中加入 1.188 毫升的 PSC 缓冲溶液。1.2 毫升的稀释共轭物溶液被涂在玻璃纤维垫上。处理好的玻璃纤维垫在 44℃ 下烘干 2 小时。然后储藏于带有干燥试剂的 COC- 金颗粒共轭物垫于塑料袋里备用。

[0111] 实施例 10 :带有第一捕获区域的测试条的准备

[0112] 抗 COC 类似物质的抗体 (来自 Omega) 被稀释成 1.8mg/ml 的 0.01M 的 PBS 溶液中,稀释好的抗体溶液被处理在硝酸纤维素膜上 (Whatman GmbH),每根线条大约 1.5-2.2 毫米宽,总共为两根。

[0113] 实施例 11 :带有检测区域的测试条的准备

[0114] 鼠抗 BTG 的抗体 (1mg/ml, 购买自 ABR-Affinity BioReagents Inc) 被处理在实验 10 中的膜上,处理的线条为一条 0.8-1.2 毫米宽。鼠抗 BTG 的抗体被处理在距离实验 4 中捕获区域线条的远端。处理好的薄膜在 37℃ 的烘箱里放置 24 小时。

**[0115] 实施例 12 :阳性读取可卡因检测装置**

[0116] 实施例 6 中的样品垫,实施例 9 中的共轭物垫,和实施例 10 中的膜条被首尾相连并相互叠加,样品垫的末端叠加在共轭物垫的一端,共轭物垫的另一端叠加在膜条的一端,并且,相比实施例 10 中的检测捕获区域,共轭物垫要更靠近实施例 9 中的第一捕获区域。一个吸水垫被设置在膜的另一端并靠近检测区域。一个纸板卡被用来保持试剂条上各个部件的位置。带有这些部件的卡被切割成条子,每一个条子都有样品垫,共轭物垫和膜条和吸水垫。每一个条子被装配在塑料盒子里。每一个塑料盒子在与样品垫对应的地方包括一个开口用于接收液体样品,在检测区域对应的地方包括一个开口用于读取测试结果,然而在在第一捕获区域上没有开口。

[0117] 在盒子中的每个试剂条的样品垫上施加 100 微升的样品溶液。样品溶液中混合有不同浓度的可卡因。样品移动并通过共轭物垫,并移动其上的干的共轭物。混和有共轭物的样品溶液移动到膜条上,并通过阻挡区域,然后穿过检测区域,最后到达吸水区域。在这些样品中,可卡因的浓度超过 50ng/ml,一条颜色线条出现在检测区域;可卡因的浓度小于 50ng/ml,在检测区域上不出现颜色线条。

**[0118] 实施例 13 :THC 胶体金共轭物颗粒的准备**

[0119] 6.0 毫升的磷酸缓冲液体被滴加到 60 毫升并快速搅拌的实验 1 的胶体金中去。0.6 毫升的带有 KLH 的大麻共轭物 (THC-keyhole limpethemocyaninconjugate) (购买自英克隆) 用磷酸缓冲溶液 (0.1M, pH6.5) 稀释至 1mg/ml,然后被快速的滴加到搅拌的胶体金溶液中 (750rpm)。然后,该溶液在室温度下被逐渐慢速搅拌大约 30 分钟。然后,0.6ml 的 2% 酪蛋白被快速的添加到溶液中去。当加入酪蛋白后,让溶液在室温度下再继续被慢速搅拌大约 30 分钟。然后胶体金颗粒在 4°C 下以 30,000 克的转速被离心 30 分钟。去掉上层溶液,下层的颗粒被悬浮在 60ml 的并含有 0.05% 的酪蛋白的磷酸缓冲溶液 (0.01M, pH7.2)。该溶液被再次离心。并去掉上层溶液,下层的颗粒被悬浮在 0.6ml 的 PSC 缓冲溶液获得共轭物溶液。

**[0120] 实施例 14 :干的共轭物垫的准备**

[0121] 向三种混合的金标记的共轭物中加入 1.166 毫升的 PSC 缓冲溶液;三种混合的金标记的共轭物分别为:0.012 毫升的实验 13 的 THC 金标记的共轭物;0.012 毫升的实验 8 的 COC 金标记的共轭物溶液;0.01 毫升的实验 2 的 MOR 金标记的共轭物。1.2 毫升的稀释混合共轭物溶液被涂在玻璃纤维垫上 (0.6cmx30cm),玻璃纤维垫的处理按照实施例 3 的方法处理。处理好的带有 THC,CO C 和 MOR 金标记的共轭物的玻璃纤维垫在 44°C 下烘干 2 小时。然后储藏于带有干燥试剂的塑料袋里备用。

**[0122] 实施例 15 :带有多个第一捕获区域的测试条的准备**

[0123] 抗 COC 类似物质的抗体,抗 THC 类似物质的抗体,抗 MOR 类似物质的抗体 (来自 Omega) 用 0.01M 的 PBS 溶液稀释成 1.8mg/ml 的中。每一个稀释好的抗体溶液被处理在硝酸纤维素膜上 (Whatman GmbH),每根线条大约 1.5-2.2 毫米宽,总共为两根。每一根线条相互分开。这些线条这样安排,当施加液体样本的时候,液体样品顺次通过 THC 类似物质的抗体,CO C 类似物质的抗体,最后通过 MOR 类似物质的抗体。

**[0124] 实施例 16 :带有多个检测获区域的测试条的准备**

[0125] KLH, BTG 和 BSA 的抗体分别用 0.01M PBS 的溶液稀释为 1.0mg/ml,每一种稀释溶

液被分别处理在实验 10 中的膜上,每个处理的线条为一条 0.8-1.2 毫米宽。这些线条这样安排,当施加液体样本的时候,液体样品顺次通过 KLH 的抗体(检测 THC),BTG 的抗体(检测 COC),最后通过 BSA 的抗体(检测 MOR)。处理好的膜在 37°C 下烘干 24 小时。

[0126] 实施例 17:阳性读取多个被分析物质的检测装置

[0127] 实施例 6 中的样品垫,实施例 14 中的共轭物垫,和实施例 16 中的膜条被首尾相连并相互叠加,样品垫的末端叠加在共轭物垫的一端,共轭物垫的另一端叠加在膜条的一端,并且,相比实施例 16 中的检测捕获区域,共轭物垫要更靠近实施例 15 中的第一捕获区域。一个吸水垫被设置在膜的另一端并靠近检测区域。

[0128] 一个纸板卡被用来保持试剂条上各个部件的位置。带有这些部件的卡被切割成条子,每一个条子都有样品垫,共轭物垫和膜条和吸水垫。每一个条子被装配在塑料盒子里。每一个塑料盒子在与样品垫对应的地方包括一个开口用于接收液体样品,在检测区域对应的地方包括一个开口用于读取测试结果,然而在所述第一捕获区域上没有开口。

[0129] 在盒子中的每个试剂条的样品垫上施加 100 微升的样品溶液。样品溶液中混合有不同浓度的可卡因,大麻和吗啡。样品移动并通过共轭物垫,并移动其上的干的共轭物。混和有共轭物的样品溶液移动到膜条上,并通过阻挡区域,然后穿过检测区域,最后到达吸水区域。在这些样品中,可卡因的浓度超过 300ng/ml,一条颜色线条出现在检测区域;可卡因的浓度小于 300ng/ml,在检测区域上不出现颜色线条。在这些样品中,大麻的浓度超过 50ng/ml,一条颜色线条出现在检测区域;大麻的浓度小于 50ng/ml,在检测区域上不出现颜色线条。在这些样品中,吗啡的浓度超过 300ng/ml,一条颜色线条出现在检测区域;吗啡的浓度小于 300ng/ml,在检测区域上不出现颜色线条。

[0130] 实施例 18:吗啡抗体和 BSA-MOR 之间的亲合力与吗啡抗体和吗啡之间亲合力的比较。

[0131] 1. ELISA 酶标控(批号为 Lot# 002-91B),每个都包被有吗啡抗体(PN/LN:1020003802/P060308-2-0610,购买自基因克隆公司 Genclonn Inc)。

[0132] 2. 吗啡被分析物质:吗啡溶液的浓度为 1ug/ml,从标准品溶液稀释而成(PN/LN:018033/0606000472,来自 Alltech Applied Science Inc)。

[0133] 3. 吗啡-BSA 配体:5.22mg/ml 的 吗啡-BSA 溶液(PN/LN:1020001702/SM0060426-2-0623,来自 Genclonn Inc)被稀释成 100ug/ml。

[0134] 4. 标准抗体:BSA 抗体用 HRP 标记,浓度为 1mg/ml(来自 Immunology Consultants Laboratory Inc)

[0135] TMB 底物:(PN/LN 304176/060906 来自 Geogen Corp) ELISA 读数仪器:Spectra Max(Plus 384) 分子仪器(Molecular Device)

[0136] 方法:

[0137] 1. 标准 - 没有和吗啡进行竞争

[0138] 向包被有吗啡抗体的每个孔中加入吗啡-BSA 溶液,每个孔 100  $\mu$ l,浓度依次为 0nM,60nM,105nM,210nM 和 420nM。这些孔在室温下温浴 90 分钟然后用 0.01M PBS pH7.0 的溶液洗三次。向每个孔中加入 0.25  $\mu$ g/ml 的 HRP 标记的抗 BSA 的抗体 100  $\mu$ l;然后再在室温下温浴 90 分钟并如上再洗三次。再在每个孔中加入 100  $\mu$ l 的 TMB 底物,然后再在室温下温浴 10 分钟。最后用 50  $\mu$ l of 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的溶液终止反应。最后用酶标读数仪器在

450 纳迷读取颜色的浓度。

[0139] 2. 测试 - 吗啡 -BSA 和吗啡之间有竞争

[0140] 吗啡 -BSA 和吗啡混溶液, 每个成分的终浓度都为 402nM。混合溶液被加入到用抗吗啡抗体包被的孔中。这些孔在室温下温浴 90 分钟然后用 0.01M PBSpH7.0 的溶液洗三次。向每个孔中加入 0.25  $\mu$ g/ml 的 HRP 标记的抗 BSA 的抗体 100  $\mu$ l; 然后再在室温下温浴 90 分钟并如上再洗三次。再在每个孔中加入 100  $\mu$ l 的 TMB 底物, 然后再在室温下温浴 10 分钟。最后用 50  $\mu$ l of 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的溶液终止反应。最后用酶标读数仪器在 450 纳迷读取颜色的浓度然后再在室温下温浴 10 分钟, 最后用 50  $\mu$ l of 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的溶液终止反应。最后用酶标读数仪器在 450 纳迷读取颜色的浓度。

[0141] 实验结果:

[0142] 对照孔

[0143]

MOR-BSA 的浓度	0nM	60nM	105nM	210nM	420nM
OD 值	0.171	0.399	0.449	0.580	0.729

[0144] 竞争孔

[0145]

MOR-BSA 浓度	420nM
MOR 浓度	420nM
OD 值	0.708

[0146] 讨论

[0147] 如果吗啡抗体都以相等的亲合力来结合吗啡和吗啡 -BSA, 那么只有一半的吗啡 -BSA 和一半的吗啡有机会来结合抗体。在这种情况下, 我们假设在竞争孔里的 OD 值只有控制孔里的 OD 值的一半。在竞争孔里的 OD 值可以接近控制孔里的 210nM MOR-BSA 的 OD 值。

[0148] 如果吗啡抗体结合吗啡 -BSA 的亲合力大于吗啡抗体结合吗啡的亲合力, 那么高浓度的吗啡 -BSA 会结合到吗啡抗体上去。那么孔里的 OD 值可能更接近控制孔里的 420nM 的 OD 值。

[0149] 从以上实验结果可以看出, 竞争孔里的 OD 值 (OD 0.708) 非常接近控制孔里的 420nM of MOR-BSA 的 OD 值 (OD 0.729)。这就表明一些竞争结合发生在竞争孔里, 同时吗啡 -BSA 结合抗体的亲合力大于吗啡, 这是因为与控制相比, OD 值有所降低。

[0150] 结论

[0151] 通过这些有限的研究, 来自 Genclonn 的吗啡抗体相对吗啡具有更高的结合吗啡 -BSA 的亲合力。竞争孔里的 OD 值要比控制孔里 210nM 吗啡 -BSA 的 OD 值要高, 而比控制孔里 420nM 吗啡 -BSA 的 OD 值要低。

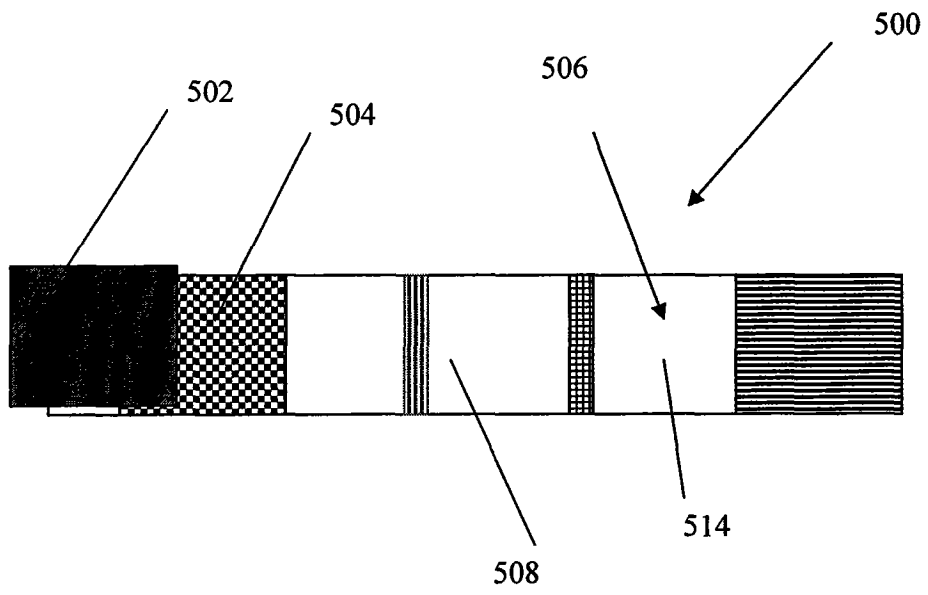


图 1

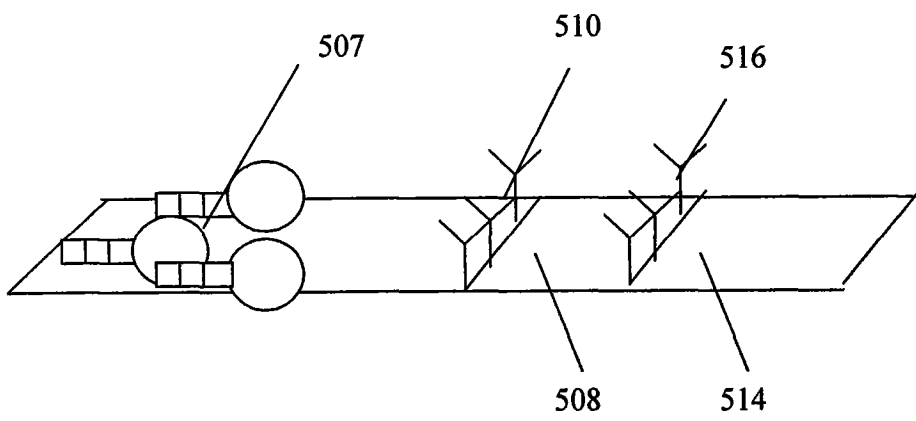


图 2A

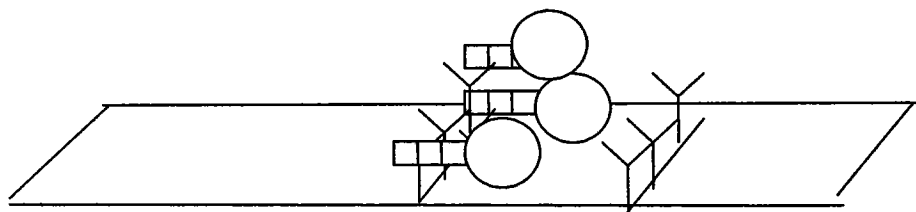


图 2B

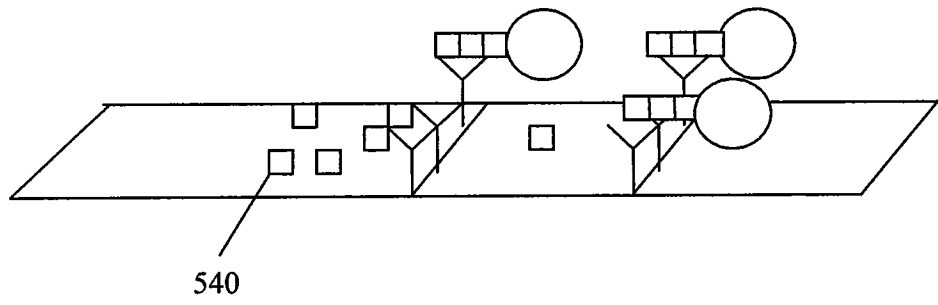


图 2C

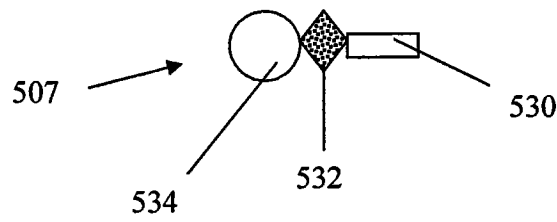
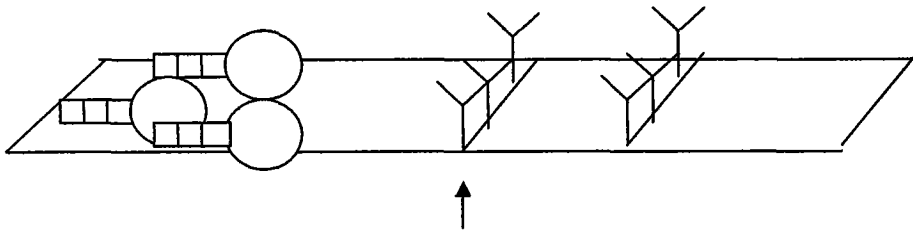


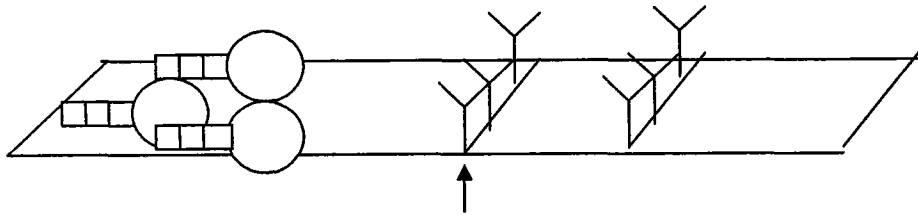
图 3



合被分析物的亲和力  
要低

抗体具有结合被标记的配体的亲和力低于抗体结  
=被标记的配体比被分析物资结合抗体的亲和系数

图 4



抗体具有结合被标记的配体的亲和力高于抗体结合被分析物的亲和力  
 =被标记的配体比被分析物资结合抗体的亲合系数要高

图 5

**I. 单个吗啡 (MOR) 阳性读取检测**

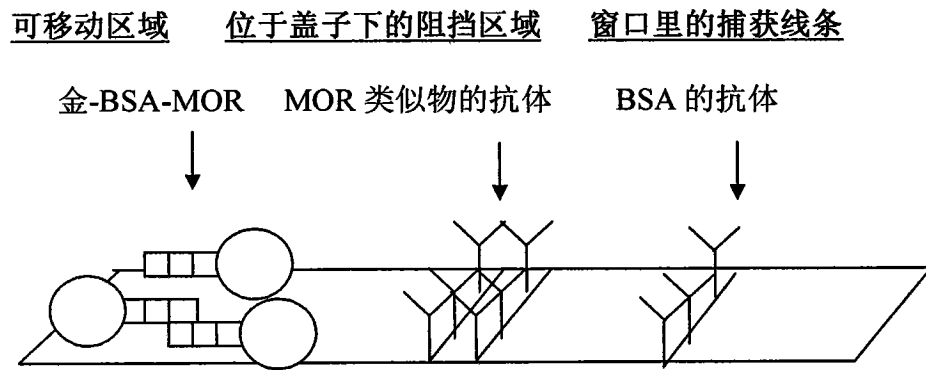


图 6

**II. 可卡因 (COC) 阳性读取检测**

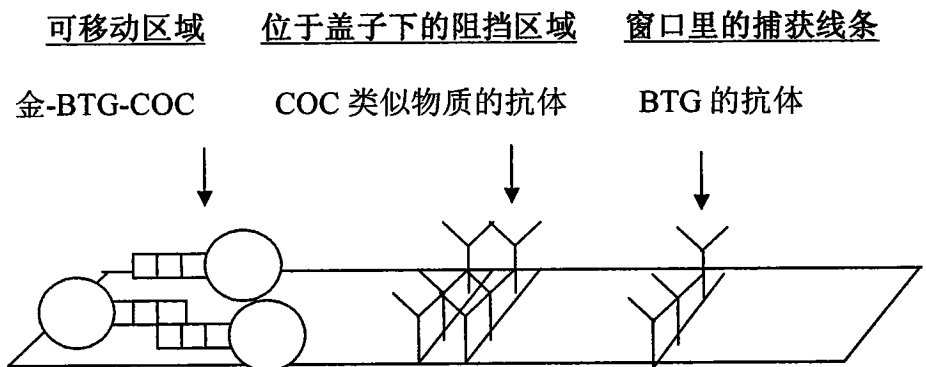


图 7

### III. 多个线条 (THC/COC/MOR) 的毒品阳性检测

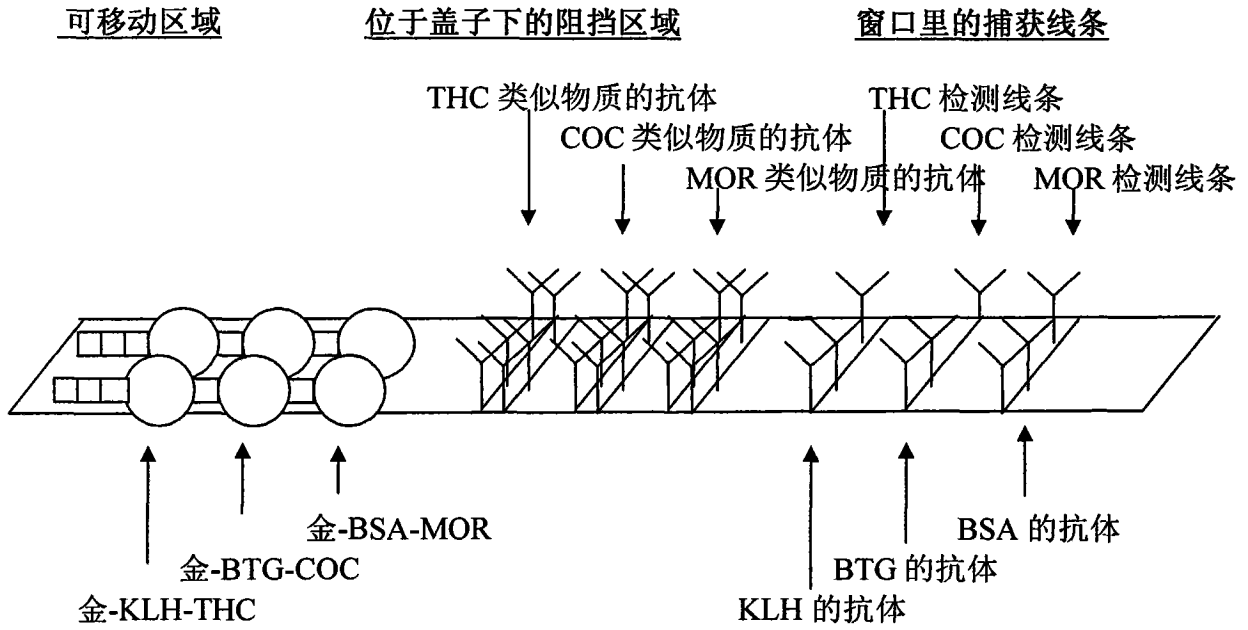


图 8



检测 THC/COC/MOR 的多条测试线条的试剂条子

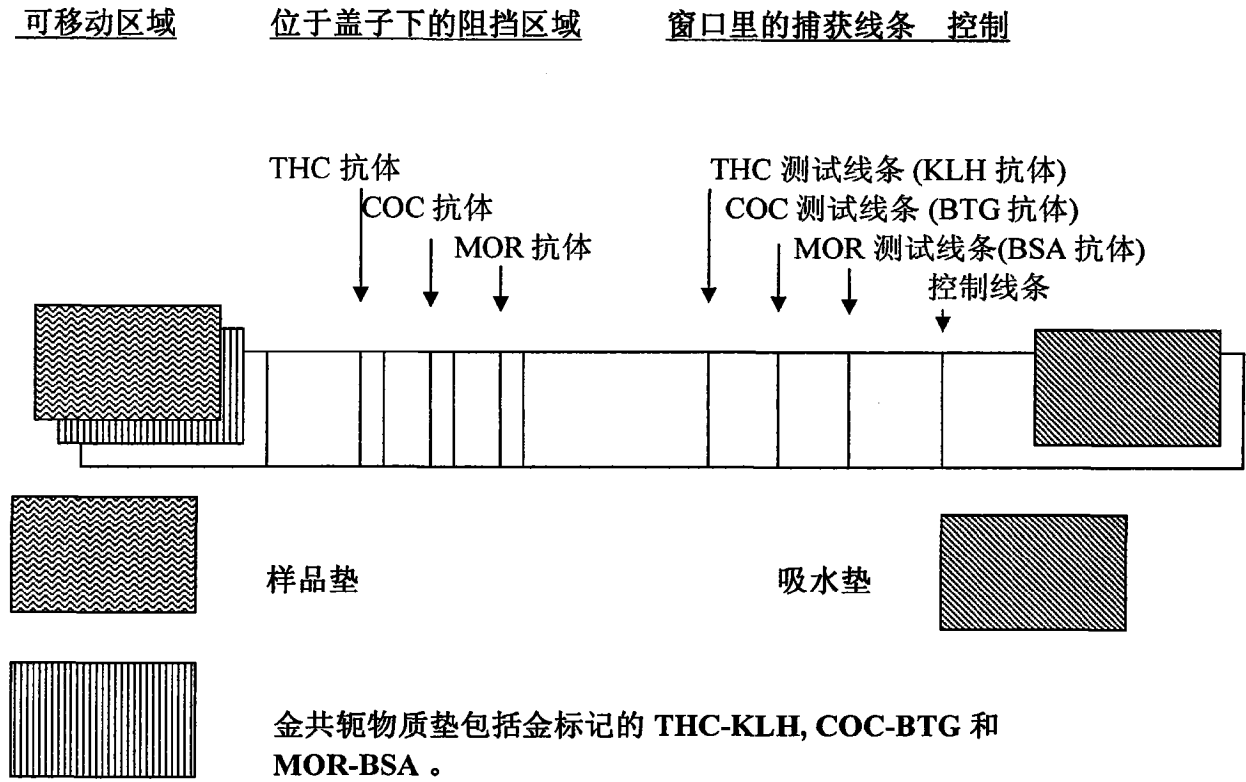


图 10

单个检测 COC 的试剂条子

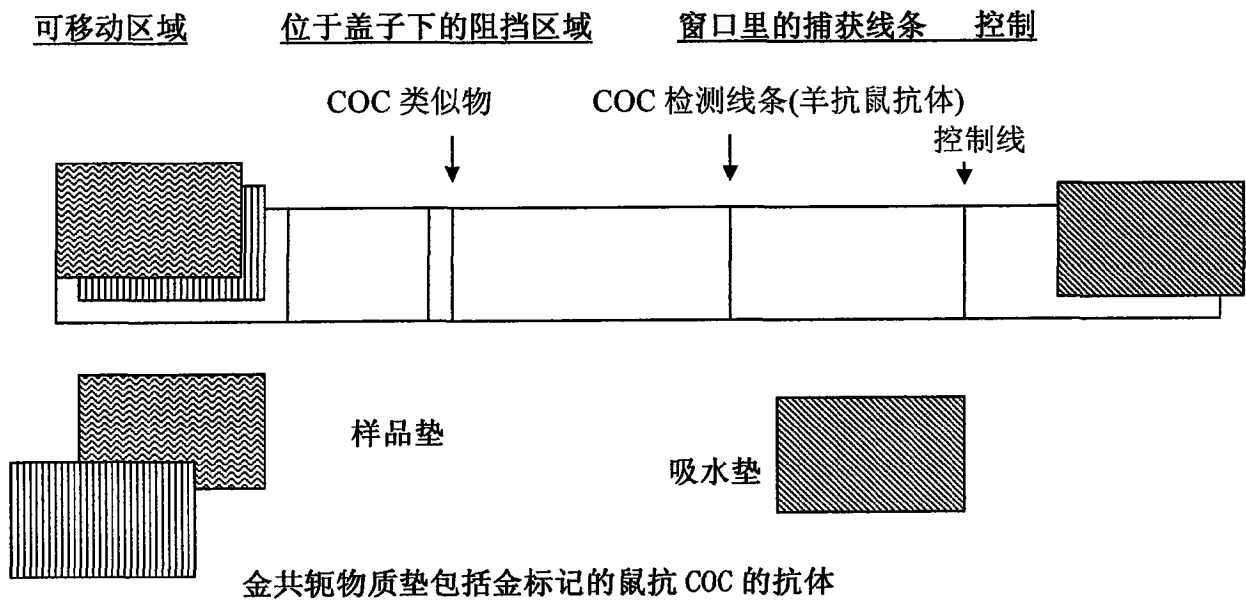


图 11

检测 MOR/COC 的多个测试线条的试剂条子

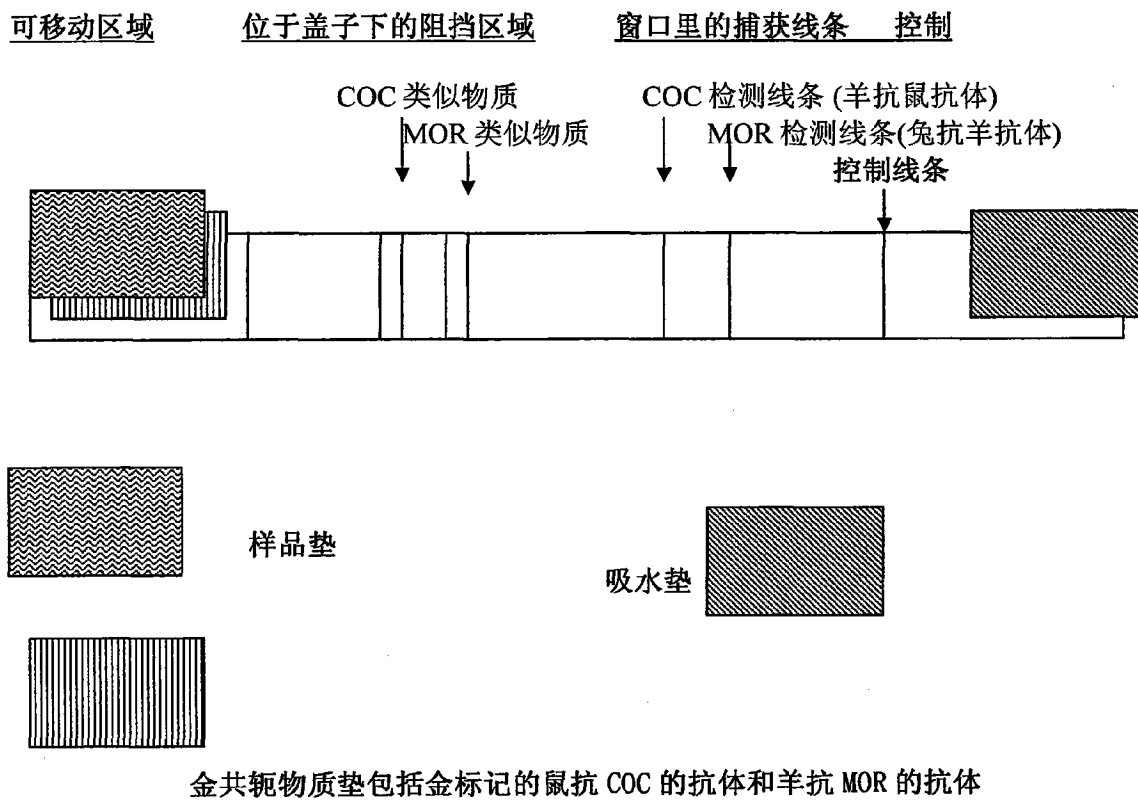


图 12

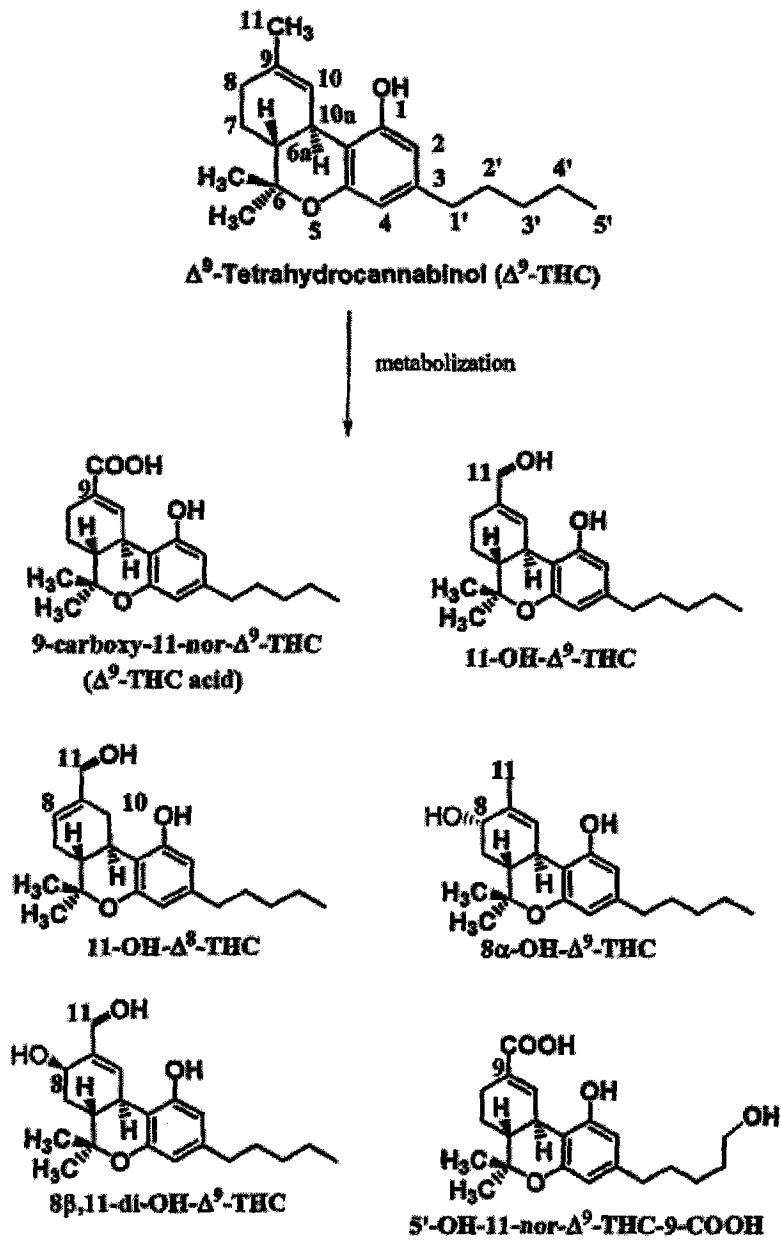


图 13

专利名称(译)	分析		
公开(公告)号	<a href="#">CN101918837A</a>	公开(公告)日	2010-12-15
申请号	CN200880117373.X	申请日	2008-12-01
[标]申请(专利权)人(译)	阿莱瑞士股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	阿莱瑞士股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	阿莱瑞士股份有限公司		
[标]发明人	陶军 黄海伦·格雷斯		
发明人	陶军 黄·海伦·格雷斯		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/558		
优先权	60/991098 2007-11-29 US		
其他公开文献	CN101918837B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种检测装置，特别地，涉及一种检测液体样品中被分析物质的检测装置；同时，本发明提供一种使用该检测装置来检测液体样品中被分析物质的方法，用该装置和方法可以定性或定量的检测样品中一种或多种被分析物质。

