



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103282124 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 04

(21) 申请号 201180063850. 0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011. 12. 01

B01L 3/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C12M 1/34 (2006. 01)

61/419, 489 2010. 12. 03 US

G01N 33/53 (2006. 01)

G01N 33/543 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013. 07. 02

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/062843 2011. 12. 01

(87) PCT申请的公布数据

W02012/075256 EN 2012. 06. 07

(71) 申请人 雅培医护站股份有限公司

地址 美国新泽西

(72) 发明人 C·J·米勒

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 李程达

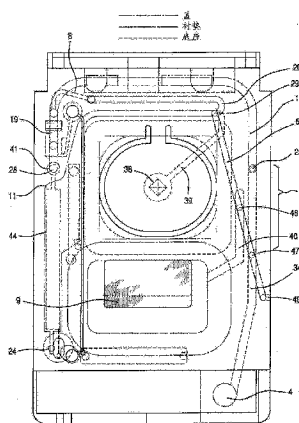
权利要求书2页 说明书19页 附图10页

(54) 发明名称

具有整合的样品稀释的样品计量装置和测定装置

(57) 摘要

在一个实施方式中, 本发明涉及样品计量装置, 包含定向于样品进入端口和样品提取单元之间的样品保持室, 其中一部分的所述提取单元限定计量体积的样品。稀释剂可以经过和 / 或通过提取单元转运以形成用于样品分析的稀释的样品。在另一个实施方式中, 本发明涉及用于通过多种测定迅速确定液体样品中的分析物的设备和方法, 所述测定包括引入了样品稀释部件的免疫测定, 其能够用于医疗点诊断现场。本发明的装置和方法优选良好地适用于高范围样品稀释。



1. 样品计量装置,其包含:

定向于样品进入端口和样品提取单元之间的样品保持室,其中所述样品提取单元的一部分限定计量体积的样品。

2. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元的远端部分限定所述计量体积的所述样品。

3. 权利要求 1 的装置,其中所述样品选自血液、血浆、血清、尿、间隙液和脑脊髓液。

4. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括多孔性亲水材料。

5. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括纤维素材料。

6. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括硝酸纤维素。

7. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括棉花纤维。

8. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括纸。

9. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括玻璃填充的纸。

10. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括横向过滤材料。

11. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括多孔外涂层。

12. 权利要求 1 的装置,其中所述提取单元包括裂解剂。

13. 权利要求 12 的装置,其中所述裂解剂包括脱氧胆酸钠。

14. 权利要求 12 的装置,其中所述裂解剂包括皂苷。

15. 用于感应样品中的至少一种分析物的传感器盒,其包含:

分析导管中的至少一个传感器;

样品进入端口和样品提取单元之间的样品室;

包含稀释剂的稀释剂包;

配置为用于将稀释剂从稀释剂包运输至样品提取单元的稀释剂导管;和

配置为用于将所述稀释剂通过所述稀释剂导管、经过和 / 或通过所述样品提取单元转移并进入所述分析导管的泵。

16. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元的远端部分限定计量体积的所述样品。

17. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括多孔性亲水材料。

18. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括纤维素材料。

19. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括硝酸纤维素。

20. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括棉花纤维。

21. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括纸。

22. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括玻璃填充的纸。

23. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括横向过滤材料。

24. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括多孔外涂层。

25. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述提取单元包括裂解剂。

26. 权利要求 25 的传感器盒,其中所述裂解剂包括脱氧胆酸钠。

27. 权利要求 25 的传感器盒,其中所述裂解剂包括皂苷。

28. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述稀释剂导管限定计量体积的稀释剂。

29. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述盒具有折叠在一起的相对的表面。

30. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述盒是一次性使用的盒。

31. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述传感器是免疫传感器。
32. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述传感器选自离子传感器、代谢物传感器、酶学传感器、酶活性传感器和核苷酸传感器。
33. 权利要求 15 的传感器盒,其中所述盒配置为以大约 50:1 至大约 50,000:1(v/v 稀释剂:样品)的稀释率稀释所述样品。
34. 进行样品中的分析物测定的方法,所述方法包括步骤:
将样品导入盒的样品室,其中所述样品室终止于样品提取单元;
将所述样品装入所述提取单元;
使用来自稀释剂导管的一定体积的稀释剂洗涤来自提取单元的所述样品的一部分以形成稀释的样品;和
就分析物分析所述稀释的样品。
35. 权利要求 34 的方法,其中所述体积的稀释剂是计量体积的稀释剂。
36. 权利要求 34 的方法,进一步包括:
将所述稀释的样品运输至传感器;和
在所述传感器上进行分析物测定。
37. 权利要求 34 的方法,其中稀释的样品具有大约 50:1 至大约 50,000:1(v/v 稀释剂:样品)的稀释率。

具有整合的样品稀释的样品计量装置和测定装置

[0001] 要求优先权

[0002] 本申请要求 2010 年 12 月 3 日提交的美国临时申请号 61/419, 489 的优先权, 其内容和公开内容通过引用并入本文。

发明领域

[0003] 本发明总体上涉及用于通过多种测定技术迅速测定液体样品中的分析物的装置和方法, 所述测定技术包括引入了样品稀释部件的免疫测定, 其优选适合于高范围样品稀释。装置优选能够在医疗点诊断现场使用, 包括例如在事故所在地点、急诊室, 在手术中、重症监护室中使用以及还有在非医疗环境中使用。本发明还涉及用于此种装置和方法的新的样品计量装置。

[0004] 发明背景

[0005] 对生物样本执行针对所关注的分析物的多种实验室免疫测定测试, 以便尤其进行诊断、筛检、疾病分期、法医分析、验孕和药物测试。虽然几种定性测试(如验孕)已简化到患者家用的简单试剂盒, 但是大多数定量测试仍需要受过技能训练的专家在实验室环境中使用精细的仪器来进行。实验室测试增加了分析的成本和拖延患者接收结果。在许多情况中, 这种拖延对于患者的状况或预后是有害的, 例如对指示心肌梗塞和心力衰竭的标记物的分析。在这些和类似紧急情况中, 在医疗点准确、低成本且最小延迟地执行此类分析是有利的。

[0006] 已描述了多种类型的免疫测定装置和过程。例如, Davis 等在美国专利号 7, 419, 821 中公开了一种用于通过在血液中进行免疫测定来测量分析物的一次性感测装置, 该专利通过引用方式全文并入本文。此装置采用读取仪器和配装在读取仪器中以用于测量分析物浓度的盒。此类一次性装置的潜在问题是, 由于制造容差或机器磨损导致盒与盒之间的流体测试参数的变动性。Zelin 的美国专利号 5, 821, 399 公开了克服此问题的多种方法, 其使用读取仪器控制的自动流动补偿, 该读取仪器具有设在盒内的电导测定传感器, 该专利通过引用方式全文并入本文。

[0007] 电化学检测也已被应用于免疫测定, 在该电化学检测中, 分析物的结合直接或间接地导致与电极邻近的电活性物质的活性变化。有关电化学免疫测定的早期综述, 参见 Laurell 等, *Methods in Enzymology*, vol. 73, "Electroimmunoassay", Academic Press, New York, 339, 340, 346-348 (1981)。

[0008] 在电化学免疫传感器中, 分析物与其同源抗体的结合导致电极处的电活性物质的活性变化, 对电极施加适合的电化学电势导致电活性物质的氧化或还原。有许多满足这些条件的布置。例如, 可以将电活性物质直接连接到分析物, 或可以将抗体共价连接到酶, 这由无电活性基质产生电活性物质或破坏电活性基质。有关电化学免疫传感器的综述, 参见 M. J. Green (1987) *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 316:135-142。已将磁组件与电化学免疫测定集成。参见例如 Forrest 等的美国专利号 4, 945, 045、4, 978, 610 和 5, 149, 630。再者, Davis 等的共同拥有的美国专利号 7, 419, 821 (如上文引用) 和 Miller

等的 7, 682, 833 和 7, 723, 099 教导了电化学免疫感应装置和方法。

[0009] 微制造技术（例如，光刻和等离子沉积）对于在受限空间中构造多层化传感器结构是具有吸引力的。在 Cozette 等的美国专利号 5, 200, 051 中公开了用于在例如硅基质上微制造电化学免疫传感器的方法，所述专利的全部内容通过引用全部并入本文。这些包括分配方法，用于将生物试剂（例如，抗体）附着于包含光形成的层和微粒乳胶的表面的方法，以及用于执行电化学测定的方法。

[0010] 在美国专利号 4, 946, 795 中，Gibbons 等人公开了依赖于流体静力压的样品稀释盒。Widrig 等人共同拥有的美国专利号 6, 750, 053 教导了基于具有毛细挡块部件的保持腔的样品计量，该专利的全部内容通过引用方式并入本文。

[0011] 虽有上述文献，仍然需要具有更大范围的分析物检测、包括例如以低水平存在的分析物例如心肌肌钙蛋白 I 和以高水平存在的分析物例如 CRP 的改进的免疫传感装置。用于计量样品、尤其是用于医疗点分析物测试的改善的装置和方法同样存在此需要。这些和其他需要通过本发明得到满足，这将在本发明所属领域的技术人员阅读以下公开内容后变得更加清晰。

发明内容

[0012] 本发明涉及免疫传感装置和使用引入了样品稀释部件的免疫传感器进行免疫测定的方法，所述样品稀释部件优选适合于高范围稀释，例如大于大约 50:1 (v/v 稀释剂：样品) 的稀释，以提供多样化实时或接近实时的分析物分析。在其他实施方式中，本发明涉及用于计量用于分析的生物样品的新的计量装置。

[0013] 在一个实施方式中，例如，本发明涉及样品计量装置，其包含定向于样品进入端口和样品提取单元之间的样品保持室，其中所述提取单元的一部分限定计量体积的样品。优选地，所述提取单元的远端部分限定所述计量体积的所述样品。样品可广泛变化，可以选自例如血液、血浆、血清、尿、间隙液和脑脊髓液。

[0014] 在另一个实施方式中，本发明涉及用于感应样品中的至少一种分析物的传感器盒，其包含：分析导管中的至少一个传感器，例如免疫传感器；样品进入端口和样品提取单元之间的样品室；包含稀释剂的稀释剂包；配置为用于将来自稀释剂包的稀释剂运输至样品提取单元的稀释剂导管；和配置为用于将所述稀释剂通过所述稀释剂导管、经过和 / 或通过所述样品提取单元转移并进入所述分析物导管的泵。提取单元的远端部分优选限定计量体积的样品。任选地，稀释剂导管限定计量体积的稀释剂，优选地，传感器选自免疫传感器、离子传感器、代谢物传感器、酶学传感器、酶活性传感器和核苷酸传感器。所述盒优选配置为以大约 50:1 至大约 50, 000:1 (v/v 稀释剂：样品) 的稀释率稀释所述样品。

[0015] 在另一个实施方式中，本发明涉及进行样品中的分析物测定的方法，所述方法包括步骤：将样品导入盒例如上文所述的盒的样品室，其中所述样品室终止于样品提取单元；将所述样品装入所述提取单元；使用来自稀释剂导管的一定体积的稀释剂洗涤来自提取单元的所述样品的一部分以形成稀释的样品；和，就分析物分析所述稀释的样品。该方法优选进一步包括步骤：将所述稀释的样品运输至传感器，例如使用泵来运输；和在所述传感器上进行分析物测定。任选地，该方法还包括表征稀释率的步骤，例如使用可存在于样品提取单元中的、在被导入盒之前加入到样品中的或在分析过程中掺入样品中的稀释决定簇标志

物 (dilution determinant marker) 来进行。

[0016] 在这些实施方式的每一个中,样品提取的形式也可以变化。优选地,样品提取单元包括多孔亲水性材料。适合于提取单元的材料实例包括纤维素材料,硝酸纤维素,棉花纤维,纸,玻璃填充的纸,或横向过滤材料。提取单元优选具有多孔外涂层。在一个方面,提取单元包括裂解剂,例如脱氧胆酸钠或皂苷,并且提取单元可包括稀释决定簇标志物,优选适合于验证样品的稀释水平。在一个方面,提取单元包括反应物例如二茂铁单羧酸。

[0017] 本发明的上述概述不是意在描述本发明的每个例示的实施方式或每种执行方式。以下的附图和详细描述更具体地例示了这些实施方式。

附图说明

[0018] 在下面的具体实施方式的详细描述中描述了本发明的这些和其他目标、特征和优点并且在下列附图中进行了例示,其中:

[0019] 图 1A 和 1B 分别是根据本发明的一个实施方式的免疫传感器盒的盖 (cover) 的等距顶视图和底视图。

[0020] 图 2 是根据本发明的一个实施方式的免疫传感器盒的带衬垫 (tape gasket) 的布局的顶视图。

[0021] 图 3 是根据本发明的一个实施方式的免疫传感器盒底座 (base) 的等距顶视图。

[0022] 图 4 是根据本发明的一个实施方式的免疫传感器盒的立体图。

[0023] 图 5 是根据本发明的一个实施方式的具有整合的样品分离单元的免疫传感器盒的布局图解。

[0024] 图 6 是根据本发明的一个实施方式的具有整合的样品分离单元的免疫传感器盒的流体和空气路径的流程图。

[0025] 图 7 例示了根据本发明的一个实施方式的可折叠的盒罩 (housing)。

[0026] 图 8 是根据本发明的一个实施方式的具有整合的固定的样品提取单元的免疫传感器盒的布局的图解。

[0027] 图 9 是根据本发明的一个实施方式的具有整合的固定的样品提取单元的免疫传感器盒内的流体和空气路径的流程图。

[0028] 图 10A 是本发明的免疫传感器盒的一个实施方式的侧视图,图 10B 显示了其中的溶血检测装置的放大的详细图。

[0029] 图 11 例示了电化学免疫传感器的操作原理。

[0030] 图 12 是具有抗体标记的颗粒 (未按比例绘制) 的电化学免疫传感器的构建侧视图。

[0031] 图 13 是根据本发明的一个实施方式的用于免疫传感器盒的电导测定和免疫传感器电极的掩模设计的顶视图。

[0032] 发明详述

[0033] 本发明涉及装置,即一次性使用的测定盒,以及使用此种装置测定液体样品中分析物的存在或浓度的方法。本发明特别可适用于进行多样化实时或接近实时的分析物测定。在具体实施方式中,本发明涉及配置为使用电化学免疫传感器或其它基于配体/配体受体的生物传感器的用于生物样品(例如血液、血浆、血清、尿、间隙液和脑脊髓液)以及稀释的样品中的分析物的控制的计量稀释的装置。

[0034] 在第一实施方式中,装置和方法特别适用于生物样品的低范围稀释,例如小于大约 50:1(v/v 稀释剂:样品)的稀释。在该方面,样品在样品稀释室中被计量以形成计量的样品,稀释剂(其可以是计量的或可以不是计量的)被加入到计量的样品中以形成稀释的样品,稀释的样品可进行生物分析,例如在一个或多个电极上进行免疫测定。

[0035] 在第二实施方式中,装置和方法特别适用于高范围稀释,例如大约 50:1 或更大(v/v 稀释剂:样品),通常为 50:1 至 50,000:1 的稀释。在该方面,一部分样品在固定的样品提取单元中被分离,样品提取单元优选为芯吸材料。然后,稀释剂通过和/或经过固定的样品提取单元的全部或部分从而其将定体积的小部分样品提取进入稀释剂。然后,得到的高度稀释的样品可进行生物学分析。本领域技术人员将认识到,精确的稀释率(在该稀释率时,存在适用于低范围稀释的第一实施方式向适用于相对高范围稀释的第二实施方式的转化)可根据参数变化,所述参数包括精确的装置几何学、制造材料和样品类型。

[0036] I. 传感器盒

[0037] A. 低范围稀释盒的构建

[0038] 虽然本发明广泛适用于测定系统,但是其在如本文引用的共同拥有的在审专利申请和授权专利中描述的 **i-STAT®** 免疫测定系统 (Abbott Point of Care Inc., Princeton, New Jersey, USA) 的情况下得以最佳理解。

[0039] 适合于样品稀释的本发明的装置例如盒的具体形式可广泛变化。根据本发明的第一(低范围)稀释实施方式的示例性的盒的设计显示于图 1-6,包括盖 1(图 1A 和 1B),底座 3(图 3)和置于盖 1 和底座 3 之间的薄膜粘着性衬垫 21(图 2)。盒还包括柔性的、例如涂橡胶的泵膜 9,如图 4 所示,其图解了盒的立体图。图 5 图解了示例性盒的组成图,其重叠了盖、底座和衬垫的部件。图 6 图解了根据本发明的一个实施方式的适合于低范围样品稀释的具有整合的样品分离单元的免疫传感器盒内的流体和空气路径的概念化流程图。

[0040] 如图 1A 所示,盒的盖 1 由坚硬材料优选塑料组成,其能够重复变形而不在柔性铰合区 10 破裂。盖 1 还包括桨 7,其相对于盖 1 的主体是可移动的,通过柔性铰合区 10 连接于主体。泵开口 6 位于盖 1 的中心区域,提供了凹陷的泵膜区 5,优选在盖的底面,如图 1B 所示,用于接收泵膜 9。泵膜 9 可使用粘合剂固定于泵膜区 5,其应当形成气密性密封以允许泵膜 9 在抽吸操作中反复变形。在其它实施方式中(未显示),膜可固定于盖 1 的外表面。盖的底面优选还包括如图 1B 所示和下文描述的多个导管和流体流通部件。

[0041] 如图 3 所示的底座 3 包括通过其远端的叉连接于底座的主体的关闭部件 2。关闭部件的一个非限制性实施例描述于共同拥有的美国专利号 7,682,833,其公开内容通过引用方式并入本文。底座的主要部件包括泵腔 43,稀释剂腔 42,样品进入端口 4,和如图 3 所示和下文描述的多个导管和流体流通部件。如图 2 所示的衬垫置于盖和底座之间,包括多个允许流体在盖子中的导管和底座中的导管之间通过的开口。

[0042] 在操作中,生物样品,例如全血、尿等,被导入样品进入端口 4,优选进入样品保持室 34(如图 3 所示),通过毛细作用被动地进行。保持室 34 从样品进入端口 4 延伸至毛细挡块 25。如图所示,毛细挡块 25 由衬垫(图 2)内的洞构成,其将底座中的保持室 34 与盖子中的分析导管 15 隔开,虽然在其它实施方式中(未显示),毛细挡块可由盒的底座或盖子中的导管中的缢缩构成。毛细挡块是样品分离单元的一个实例,在本文中定义为能够分离装置的特定导管或区域中的样品的任何部件。在另一个实施方式中,样品分离单元可由海

绵或芯吸材料构成,其发挥保持样品的作用。

[0043] 导入样品之后,可以将关闭部件 2 固定,例如可滑动地固定于样品进入端口 4 的入口以阻止样品泄露。然后将盒插入读取仪器中,其中样品优选通过致动器自动操作以检测所关注的分析物。因此盒优选适应于插入读取仪器,因此具有多个适用于此目的的机械和电连接。明显的是,盒的部分人工操作是可能的。当通过读取仪器内的泵设备开动时,泵膜 9 对气囊(由腔 43 组成,腔被泵膜 9 覆盖)内的空气施加一个力,以使盒的导管内的流体移位。当通过第二泵部件操作时,浆 7 施加一个力于衬垫 21,由于其中切开的裂缝 22,衬垫可变形。(在未显示的备选实施方式中,第二泵膜可替代浆 7)。衬垫 21 继而施加压力于含有流体的袋或包 57,优选含有稀释剂流体的箔包,其被置于腔 42 内。因此,在将盒插入读取仪器后,读取仪器内的致动机构施加压力于衬垫,将压力传递至腔 42 内的流体包 57 上(流体包中装有例如大约 20 至 200 μ l 例如大约 160 μ l 稀释剂),在钉 38 上刺破流体包 57,并将稀释剂排入导管 39,通过衬垫 21 中的孔 29,进入盖子中的稀释剂导管 53。稀释剂在稀释剂导管 53 中运输,任选地在稀释剂计量室中计量,稀释剂计量室是导管 53 内的、在孔 48(空气导入端口)和孔 47(稀释剂导入端口)之间的区域。优选地,孔 48 和 47 足够小以致稀释剂导管 53 内包含的稀释剂的表面张力抑制或阻止稀释剂过早通过其中。如下文描述,膜 9 上的后续抽吸作用允许空气通过孔 48 进入稀释剂导管 53,并排出稀释剂,优选计量量的稀释剂,通过孔 47 并进入样品稀释室 52。然后,随着得到的样品/稀释剂混合物通过持续抽吸作用经由毛细挡块 25 被排出并进入分析导管 15,稀释剂被动地与稀释室 52 中的样品混合。

[0044] 在优选实施方式中,稀释剂还作为洗涤液发挥作用,并且可以单独被运输至盒中的一个或多个电极,以便在形成夹心物之后从电极区洗涤未结合的物质(例如未结合的分析物和信号抗体)。在图 5 所示的实施方式中,稀释剂导管 53 连接于洗涤导管 20 以实现稀释剂(作为洗涤液)至导管 20 的运输,最终到达分析导管 15 中的电极以进行洗涤目的。如所显示的,洗涤导管 20 通过介入导管 8 连接于分析导管 15,如图 5 所示。导管 20、8 和 15 的长度和定向以及稀释室 52 优选设计为使得,稀释剂与样品混合并使得到的样品/稀释剂混合物经过电极,以形成夹心物,然后将单独的稀释剂流(作为洗涤液)导至电极以从其洗涤未结合的物质。

[0045] 在一些实施方式中(未显示),施用于盒的分析仪机构可用于将一个或多个空气区段在分析导管内的控制的位置注射进入源自导管 20 的稀释剂(当稀释剂用作洗涤液时)。这些区段可用于辅助洗涤传感器表面和周围的导管(使用最少的流体)。盖可例如进一步包含为此目的被柔韧薄膜覆盖的孔。在操作时,施加于膜的压力将一个或多个空气区段通过衬垫中的小孔 28 排入导管 20。见例如美国专利号 7,723,099,其全部内容通过引用方式并入本文。

[0046] 参见图 1B,盒盖子的下表面进一步包含洗涤导管 11、分析导管 15 和稀释剂导管 53。这些导管中的一个或多个中的可选的涂层可提供疏水表面,其可辅助控制导管 11、20 和 15 之间的流体流动。底座中的凹陷 40 提供了空气的路径:从泵腔 43 进入衬垫中的孔 48、进入盖子中的导管 53、通过衬垫中的孔 47(稀释剂导入端口),进入底座中的样品稀释室 52(在样品室 34 内)。在操作时,衬垫中的孔 48 和孔 47(稀释剂导入端口)之间的区域中的导管 53 中包含的稀释剂被推着通过孔 47 并进入稀释室 52(样品室 34 内的一个区

域),其含有计量的样品。通过这种方式,稀释剂与计量的样品混合(随着两种成分同时被推着通过毛细挡块 25(或其它样品分离单元)并进入分析导管 15 以形成夹心物并进行分析)。

[0047] 如图 2 所示,薄膜衬垫 21 包含多个孔和裂缝以促进底座和盖内的导管之间的流体转移,并允许衬垫在压力下(当需要时)变形。孔 122 允许流体流入样品进入端口 4 并进入样品保持室 34。孔 24 允许流体从导管 11 流入废液室 44。毛细挡块 25 在样品稀释室 52 和分析导管 15 之间包含开口。孔 28 允许流体从导管 19 通过可选的可闭合的阀门 41 流入废液室 44。孔 30 和 33 允许分别安放于缺口 35 和 37 内的多个电极与分析导管 15 中的流体接触。在具体实施方式中,缺口 37 中安放了接地电极,和 / 或反 - 参比电极,缺口 35 中安放至少一个分析物传感器和可选地,电导测定传感器。应该注意,虽然根据附图描述的导管各式各样地横贯衬垫,但是在其它实施方式中,导管可以基本上定向在同一平面内,不横贯衬垫;或者可以以不同于图 1-5 所示方式横贯衬垫。

[0048] 参见图 3,样品保持室 34 从样品进入端口 4 延伸至毛细挡块 25。样品稀释室 52(图 5)置于样品室 34 内,具体地在孔 47 和毛细挡块 25 之间。如所显示的,底座包括通风口 49,其促进稀释导管 53 的载入。具体地,随着稀释剂被动地进入稀释剂导管 53,包含于稀释剂导管内的空气通过衬垫中的孔 31(置于通风口 49 之上)离开稀释剂导管。孔 47(稀释剂导入端口)和毛细挡块 25(或其它样品分离单元)之间的样品部分限定用于稀释的计量体积的样品。在示例性实施方式中,计量的样品(稀释前)具有 $0.5\ \mu\text{L}$ 至 $5\ \mu\text{L}$,例如 $0.1\ \mu\text{L}$ 至 $10\ \mu\text{L}$,或 $0.05\ \mu\text{L}$ 至 $20\ \mu\text{L}$ 的体积。

[0049] 根据上述描述,在一个实施方式中,本发明涉及样品计量装置,其包含定位于样品进入端口和样品分离单元之间的样品保持室,并具有置于其中的稀释剂导入端口以用于将稀释剂导入样品保持室。在该实施方式中,稀释剂导入端口和样品分离单元之间的样品保持室内的体积限定用于分析的计量体积的样品。

[0050] 在本发明的其它实施方式中(未显示),使用多个包含流体的包。在一些此类实施方式中,每个包含流体的包包含不同的流体,例如稀释剂,洗涤液,和 / 或一种或多种试剂流体。空气气囊或气囊由凹陷 43 组成,在其上表面被泵膜 9 密封。气囊是泵部件的一个实施方式,被施加于膜 9 的压力致动,其使导管 40 中的空气移位,从而将稀释剂从稀释剂导管 53(任选地在稀释剂计量室中计量)转移进入样品稀释室 52,在那里发生样品稀释,并最终将稀释的样品通过毛细挡块 25 转移并进入分析导管 15。适合用于本发明的其它类型的泵包括但不限于柔性膈,活塞和筒,电动泵,和振动泵(sonic pump)。

[0051] 稀释剂从导管 53 进入样品稀释室(例如衬垫孔 47)的区域与毛细挡块 25 之间的区域一起限定预先确定的或计量体积的样品稀释室。当气囊或泵被压缩时,对应于该体积的量的样品以及来自稀释剂导管 53 的稀释剂一起被移入分析导管 15。因此,这种布置是用于将计量的最初未计量的样品递送进入盒的导管的计量部件的一个实施方式。

[0052] 计量将是有利的,例如,如果需要分析物被定量的话。在其它实施方式中,例如当仅测定分析物的存在时,无需计量。为从导管排出的样品和 / 或流体提供了废液室 44,以防止污染盒的外表面。还提供了通风口 45(其将废液室 44 连接至外部空气)以有助于流体进入废液室 44。本发明的一个实施方式的盒的特征在于,一旦载入样品,可以在操作者或其它人不接触样品的情况下完成分析并丢弃盒。

[0053] 在本发明的一些实施方式中,在分析导管和废液室之间提供了可闭合的阀门。见例如,共同拥有的美国专利号 7,419,821 中描述的材料,其在上文中被引用并通过引用方式全文并入本文。在一个实施方式中,阀门由被不透性物质涂覆的干燥海绵物质构成。在操作时,海绵物质与样品或其它流体的接触导致海绵膨胀以充满腔,从而实质上阻断流体进一步流入废液室。浸湿的阀门还阻断分析导管与废液室之间的空气流动,这允许连接于样品稀释室的第一泵部件使洗涤导管内的流体转移,流体从洗涤导管内转移进入分析导管内(按照下列方式)。样品暴露于传感器持续一个受控的时间段之后,样品被移动进入分析后导管,在那里其可被试剂修正。然后样品可被移回传感器,可以进行另一个反应时间段。或者,分析后导管可仅发挥将样品区段从传感器分离的作用。该分析后导管内有单一的可闭合阀门,其将分析导管的空气通风口与膈空气泵连接。当该阀门闭合时,样品被锁在分析后导管内,不能被移回传感器芯片。本发明内包括对于该阀门的几种不同设计实例。一些设计通过机械方式激活,其它的在与液体接触后激活。本发明内包括的其它类型的可闭合阀门包括但不限于:被可溶性胶或凝胶化聚合物保持在开启位置的柔性片状物,所述可溶性胶或凝胶化聚合物在与流体或样品接触后溶解或膨胀,从而引起片状物关闭,或者,在一个具体实施方式中,插在导管与废液室或环境空气之间的多孔纸或类似材料的薄层,当干燥时,所述纸对于空气是透性的,但是当浸湿时,是不透性的。在后一种情况下,可闭合阀门无需被插在导管与废液室之间,因为阀门在闭合之前通过极少的液体或不通过液体。但是,当置于导管与盒周围的环境空气之间时,阀门被正确放置。在实际构建中,将一张滤纸置于待控制的流体路径中的带衬垫中的开口。空气可容易的通过该介质移动以允许流体通过流体路径移动。当流体被推动经过该滤纸时,滤纸介质被流体充满,通过流体路径的进一步运动被阻止。随着滤纸被充满,需要增加的压力来使流体通过滤纸的孔。通过滤纸的气流也最小化或被阻止。这种阀门实施方式需要极少的液体来开动阀门,并且开动是迅速的且可靠的。将阀门材料、尺度、多孔性、可湿性、膨胀特性和相关参数选择为,在阀门与样品首次接触后一秒内提供迅速闭合,或比这缓慢的时间,例如多达 60 秒。在本发明的一些实施方式中,可闭合阀门是机械阀门。在一个实施方式中,乳胶膈被置于特别构建的孔上的气囊底部。所述孔包含两个开口,它们流体地连接空气通气孔至样品导管。随着分析仪活塞推至气囊的底部,其压在乳胶膈上,乳胶膈是背胶的,将两个孔之间的连接密封。这阻断了样品空气通气孔并将样品锁在原地。

[0054] 图 6 是根据本发明的一个实施方式的免疫传感器盒内的流控示意图。区域 R1-R8 代表具体的免疫传感器盒组分,C1-C6 代表组分之间的流体连接。W1 代表通风口,例如芯吸通风,其促进从 R4 至 R3 的稀释剂流体运动。具体地,R1 是样品进入端口和与运输样品至 W1 相关的组分;R2 是泵(例如气囊),用于将稀释剂从稀释剂导管(任选地,稀释剂计量室)转移至计量体积的样品以进行稀释;R3 代表样品稀释室,其终止于样品分离单元 IU(例如毛细挡块);R4 是稀释剂导管(任选地,包含稀释剂计量室);R5 代表稀释剂包,可包括稀释剂计量室;R6 代表可选的试剂包。R6 代表可选的用于试剂或废液的保持室,其可以例如到达导管 20。导管 20 在一些实施方式中可以被试剂涂覆,所述试剂溶解进入从 R5 和/或 R6 释放的流体。在该试剂在 R4 中的稀释流体中的存在对于该测定不是理想情况的实施方式中,试剂修正流体从而流体可更好地作为洗涤/分析流体。在本发明的替代性实施方式中,C2 可任选地将 R4 与 R6 直接连接,例如通过 T 连接。R7 代表分析导管和相应的电极;R8 是

废液室。

[0055] 如图 7 所示,在本发明的一些实施方式中,免疫传感器盒适应于共同拥有的名称为“Foldable Cartridge Housings for Sample Analysis”的申请日为 2009 年 12 月 18 日的美国专利申请 61/288,189 中描述的可折叠盒设计类型,该专利申请的全部内容通过引用方式并入本文。

[0056] 虽然在样品计量室中使用毛细挡块是已知的,但是使用包含多孔材料(例如多孔亲水性或疏水性材料、纤维素材料、硝酸纤维素、棉花纤维、纸、玻璃填充的纸、芯吸材料、基质材料或其它多孔材料)的样品分离单元以形成计量的样品在此之前是未知的。

[0057] 因此,在一个实施方式中,本发明涉及样品计量装置,其包含罩,所述罩包含位于样品进入端口和样品分离单元之间的样品室,其中进入端口与样品分离单元之间的体积限定定量体积的用于分析的样品,并且其中所述样品分离单元包含多孔材料。虽然由此形成的计量样品可用于本发明的稀释实施方式,但是使用包含多孔材料的样品分离单元不限于本文讨论的稀释实施方式,可适用于不形成稀释的样品的免疫传感器装置和方法。

[0058] B. 高范围稀释盒构建

[0059] 在本发明的第二稀释实施方式中,以高稀释率稀释样品,例如大于大约 50:1。根据本发明的该实施方式的装置例如盒的具体形式可广泛变化。根据本发明的第二稀释实施方式(高范围稀释)的示例性盒设计显示于图 8 和 9。图 8 显示了根据本发明的一个实施方式的示例性盒的组成图,其重叠了盖、底座和衬垫的部件,图 9 提供了根据本发明的一个或多个实施方式的具有整合的固定的样品提取单元的免疫传感器盒内的流体和空气路径的流程图。在各实施方式中,可以进行大约 50:1 至大约 50,000:1,例如 100:1 至 1,000:1,或 5,000:1 至 25,000:1 的稀释。

[0060] 在很多方面,用于高范围稀释实施方式的装置和方法与低范围稀释实施方式是相似的。主要区别将是本文强调的那些,但是盒优选基本上如上文就低范围稀释实施方式所描述。例如,在高范围稀释实施方式中,计量比低范围稀释实施方式中小得多的量的样品。另外,计量本身以不同的方式进行。在高范围稀释实施方式中,计量在固定的样品提取单元中进行,优选在其远端进行,而不是在限定样品稀释室(52)的两个开口(图 5 的 47 和 25)间形成的计量的样品。此外,在高范围稀释实施方式中,稀释剂经过和/或通过固定的样品提取单元的全部或一部分,引起包含于其中的样品被提取进入稀释剂,从而形成高度稀释的样品。

[0061] 作为具体实例,可以使用“芯洗(wick wash)”或固定的提取过程设计来进行高范围稀释。在本发明的该实施方式中,样品被导入装置并允许流动,例如通过毛细作用被动地流动,直至其到达固定的样品提取单元。与流体样品接触之后,提取单元优选变得被样品饱和,并抑制或阻止样品的进一步流动。提取单元的远端部分优选限定计量体积的样品以进行稀释。在该实施方式中,非常小的可重复的量的样品(例如 100pL 至 2 μ L, 2nL 至 1 μ L, 或 50nL 至 0.5 μ L)从固定的样品提取单元中被提取,以形成稀释的样品。

[0062] 如图 8 所示,免疫传感器盒包括样品进入端口 4,样品导入室 68 和固定的样品提取单元 58。在提取单元 58 的远端是样品稀释室 61,主要在那里形成稀释的样品。如所显示的,样品导入室 68 定向于底座,样品稀释室定位于盒的盖子中,虽然在其它实施方式中,这两个室可定向于盖或底座。稀释室 61 优选定向于靠近即邻近固定的样品提取单元 58,从而

随着样品从固定的样品提取单元 58 被稀释剂提取,其到达样品稀释室以进行被动混合 61。如所显示的,固定的样品提取单元 58 定向于底座。在其它实施方式中(未显示),固定的样品提取单元 58 定向于盖或底座和盖(在它们之间延伸)。样品提取单元 58 中载入样品,并限定计量体积的样品以进行稀释。可以在邻近固定的样品提取单元 58 处提供通风口 60(例如通风口芯),以促进空气去除(随着提取单元 58 中载入样品)。

[0063] 包含分析物响应性表面并定位于盒的盖子上的分析导管 62(基本上与低范围稀释实施方式中的分析导管 15 相似)与样品稀释室 61 流体地连接。免疫传感器盒进一步包括洗涤导管 63 用于保持用于在形成夹心物之后洗涤或处理传感器的稀释剂。洗涤导管 63 通过底座中的介入导管 8 连接至分析导管 62,如图 8 所示。稀释导管 59 连接至洗涤导管 63。在流体包 57 刺在钉 38 上之后从流体包 57 释放稀释剂。然后释放的稀释剂通过导管 39 被转移,经过衬垫中的孔 29,并进入稀释剂导管 59。在一些实施方式中(未显示),流体包包括多个单一的流体包(例如可破裂箔袋)。在该方面,每个单一的流体包可包含不同的流体组成,而在其它实施方式中,多个袋中的一个或多个可包含相同的流体组成。每个包可具有其自身的相关泵部件或可共享泵部件。

[0064] 在操作时,样品使固定的样品提取单元 58 饱和之后,稀释剂包 57 破裂,从而允许稀释剂流入稀释剂导管 59,如上文所述。稀释剂在稀释剂导管 59 内流动直至其到达膜开口 65(稀释剂导入端口),其任选地包含毛细挡块。这时,泵膜 9 被启动,使得空气通过导管 64 被递送并通过孔 66 进入稀释剂导管 59。进入稀释剂导管的空气使得包含于稀释剂导管 59(具体为孔 66 和开口 65 之间)内的稀释剂(例如计量的稀释剂)通过开口 65(稀释剂导入端口)并与固定的样品提取单元 58 接触。在与提取单元 58 接触之后,稀释剂从中提取小体积的样品,得到的稀释的样品、优选高度稀释的样品被允许进入样品稀释室 61。然后,稀释的样品进入分析导管 62。将认识到,可通过在稀释导管与固定的样品提取单元接触的地方控制并通过控制稀释剂的体积、例如稀释剂室中的计量的稀释剂的体积来获得需要的稀释率。优选地,从固定的样品提取单元 58 洗涤或提取的部分是非常小的,例如小于与稀释剂接触前的固定的样品提取单元 58 中包含的总样品的 2vol.%,小于 0.2vol.%,或小于 0.01vol.%。

[0065] 除了稀释样品之外,稀释剂优选发挥洗涤液的作用,如在上文讨论的低范围稀释实施方式中一样。在这些实施方式中,在稀释剂包 57 破裂之后,一些稀释剂被允许流经孔 29 并进入洗涤导管 63(洗涤导管 63 显示为与稀释剂导管 59 流体连通)。洗涤导管 63 通过介入导管 8 与分析导管 62 流体连通,以允许作为洗涤液的稀释剂从电极的区域洗涤任何未结合的成分。

[0066] 在本发明的一些实施方式中,本发明涉及用于高范围稀释的固定的样品提取方法,包括:将样品载入固定的样品提取单元,其中所述固定的样品提取单元紧邻样品稀释室;使用来自稀释剂导管的稀释剂、优选计量体积的稀释剂从提取单元洗涤(例如提取)一部分样品,以形成稀释的样品;将稀释的样品转运至传感器;和在传感器进行分析物测定。

[0067] 在另一个实施方式中,固定的样品提取方法进一步包括:将稀释决定簇标志物加入样品;测定样品中的稀释决定簇标志物浓度,然后导入所述样品至样品稀释室;测定从提取单元洗涤的一部分样品中的稀释决定簇标志物浓度;将导入样品至样品稀释室之前的样品中的稀释决定簇标志物浓度与从提取单元洗涤的一部分样品中的稀释决定簇标志物

浓度进行比较 ;和计算稀释率。在其它实施方式中,固定的样品提取方法包括下列步骤 :将稀释决定簇标志物加入提取单元 ;测定从提取单元洗涤的一部分样品中的稀释决定簇标志物浓度 ;和计算稀释率。

[0068] 图 9 是根据本发明的一个实施方式的具有整合的固定的样品提取单元的免疫传感器盒内的流控示意图。区域 R1, R2 和 R4-R8 代表具体的免疫传感器盒组分, C1-C6 代表组分之间的流体连接, W1 代表用于高范围稀释的控制的稀释装置 (例如固定的样品提取单元)。具体地, R1 是样品导入室 ;R2 是泵 (例如气囊), 其用于将稀释剂从稀释剂导管 R4 (例如稀释剂计量室) 转移至计量体积的样品以进行稀释 ;R5 是稀释剂包 ;R6 代表可选的试剂包 ;R7 包含分析导管 ;R8 是废液室。在备选实施方式中, C2 可任选地直接将 R6 与 R4 连接, 例如通过 T 连接。

[0069] C. 样品分离单元和固定的样品提取单元的组成

[0070] 根据本发明的一些方面, 构成低范围稀释实施方式中的固定的样品提取单元或样品分离单元的材料优选被选择为用作有效的流体转运部件。示例性的材料包括可适合配置为显示可接受的转运动力学的任何材料。为了确保从样品分离单元或固定的样品提取单元可靠地提取分析物, 优选应用亲水性材料或涂覆物。在一些实施方式中, 整个基质由亲水性材料组成, 而在其它实施方式中, 仅导管接触边缘和导管壁是如此组成的。用于固定的样品提取单元或样品分离单元的示例性材料包括纤维素、硝酸纤维素、棉花纤维、纸和玻璃填充的纸 (例如 **Leukosorb®**, Pall Corporation, Port Washington, NY, USA)。在本发明的其它实施方式中, 免疫传感器装置的该区域可以在组装过程中被处理以促进亲水性。亲水性材料的使用确保了稀释剂中形成的气泡不在样品分离单元上或固定的样品提取单元上被捕获, 从而阻碍分析物转移。在一些实施方式中, 特别是在低稀释范围实施方式中, 如上文所讨论, 样品分离单元可包含毛细挡块并且可不包含多孔性或基质类型的材料。

[0071] 在本发明的涉及高范围稀释的实施方式中, 合适的材料的多孔性可小于适合于相对小的稀释的那些材料 (例如具有 $20\ \mu\text{m}$ 至 $0.1\ \mu\text{m}$, 例如 $10\ \mu\text{m}$ 至 $0.2\ \mu\text{m}$, 或 $5\ \mu\text{m}$ 至 $0.5\ \mu\text{m}$ 的多孔性, 如通过显微镜 (例如可见显微镜或扫描电镜) 所测定), 其效应为, 样品需要更长的时间通过固定的样品提取单元的基质到达提取表面。另外, 在本发明的一些实施方式中, 一般被认为是横向过滤材料 (例如, 具有多孔外涂层的 $0.2\ \mu\text{m}$ 水纯化过滤器, 多孔玻璃例如 **Vycor®**, (Corning Incorporated, Corning, NY, USA), 来自 American Filtrona Co. (Richmond, VA, USA) 的经处理的侧向流动材料, 来自 Millipore Corporation (Billerica, MA, USA) 的过滤介质, 来自 **Whatman®** Schleicher & **Schuell®** (Maidstone, Kent, UK) 的过滤介质等) 的材料可在侧向模式中用作提取单元材料。在这些高范围稀释实施方式中, 小的孔体积 (相对于相当大体积的稀释剂) 对于控制的稀释是有利的 (例如提取单元尺寸 (长、宽、高) 为 $2\text{mm} \times 2\text{mm} \times 100\ \mu\text{m}$ 相对于 $100\ \mu\text{l}$ 稀释剂)。在这个方面, 随着稀释剂洗过固定的样品提取单元, 仅有几百微升或更少的样品从过滤器边缘被提取进入稀释剂。被掺入稀释的样品中的样品的示例性体积可以是 50nL 至 $0.5\ \mu\text{L}$, 2nL 至 $1\ \mu\text{L}$, 或 100pL 至 $2\ \mu\text{L}$ 。

[0072] 分离单元或提取单元的多孔性可以被选择为 : 优先捕获或阻滞白细胞和红细胞的运动。参见, 例如, 共同拥有的美国专利号 5, 416, 026 中的描述, 该专利通过引用方式全文

并入本文。因此,在一些实施方式中,在稀释步骤中被稀释的样品可以是除了白细胞之外的血浆级份。在这样的实施方式中,分离单元或提取单元的形式为侧向流动元件,其中血液在一侧进入,血浆朝另一侧汇聚。该配置显示于图 10A 和 10B。在图 10B 的装置中,用于使全血样品接触干分离材料 102 的溶血检测装置样品口 101 位于紧邻血液进入端口 4(图 8)。血浆或血清级份沿着干分离材料 102 吸,从而与白细胞分离。在其它实施方式中,分离单元或提取单元还包括裂解剂,其仅裂解样品中的红细胞,或红细胞和白细胞。在一些实施方式中,合适的裂解剂可以干燥涂覆至分离单元上或提取单元上,以溶解进入样品。优选的裂解剂包括脱氧胆酸钠和皂苷。

[0073] D. 稀释验证

[0074] 根据本发明的一些实施方式,可以通过在将样品导入免疫传感器装置之前将一种或多种稀释决定簇标志物加入样品来确定或确认任何给定的盒设计的有效稀释率和可重复性。在一些实施方式中,将可测定浓度的铁氰化物例如 0.01 至 50, 0.1 至 10, 或 1 至 5mM 铁氰化物加入样品。适合用作稀释决定簇标志物的其它电化学物质包括钉六胺和二茂铁,例如二茂铁单羧酸。在一些示例性实施方式中,稀释决定簇标志物选自电化学物质,铁氰化物,钉六胺,二茂铁,二茂铁单羧酸,光学染料,荧光素,吖啶盐,亚甲蓝等。验证样品稀释的替代性方法包括使用光学染料稀释决定簇标志物(例如,荧光素,吖啶盐和亚甲蓝。在这些实施方式中,可以使用分光光度计来测定浓度的比率,从而确定稀释因子。在其它实施方式中,可以使用钠离子浓度稀释例如使用整合的钠离子传感器(在第二个盒中验证了最初的样品钠浓度)来确认稀释。

[0075] 在一个实施方式中,本发明涉及使用具有整合的样品稀释元件的盒进行液体样品中的分析物测定的方法,其中所述盒适合于插入读取仪器,所述方法包括:(a) 将液体样品导入具有样品稀释元件的盒的样品保持室,其中至少一部分所述稀释元件确定用于稀释的样品体积,并且其中所述稀释元件进一步包括预先确定的已知量的能够溶解进入所述样品的稀释决定簇标志物;(b) 将来自所述盒中的稀释室的计量体积的稀释剂抽入所述样品稀释元件以形成稀释的样品;(c) 将稀释的样品抽入所述盒的传感区域中的传感器;(d) 测定所述稀释的样品中的所述稀释决定簇标志物的浓度;和(e) 根据步骤(d)中的所述测定的浓度和步骤(a)的所述预先确定的已知量确定稀释的样品的稀释率。稀释的样品可以是大约 1:1 至 50:1 的稀释率(稀释剂:样品的体积份),或 50:1 至大约 50,000:1(稀释剂:样品的体积份)。步骤(e)中测定稀释率的值优选用于计算未经稀释的样品中的分析物的浓度。

[0076] 稀释决定簇标志物的预先确定的已知量可以是例如所述读取仪器中的嵌入值,例如编程入仪器软件算法中的值或系数,所述测定盒中的嵌入值,并通过所述读取仪器自动读取,例如所述测定盒上的并手动输入所述读取仪器中的条形码,2D 条形码,磁条,可见值,例如打印的数字或字母代码,或所述测定盒包上的并手动输入所述读取仪器中的可见值例如打印的数字或字母代码。

[0077] 在本发明的一个实施方式中,将干试剂例如二茂铁单羧酸加入至样品稀释室的部分中,设定参数以给出血液样品中已知溶解浓度的二茂铁,例如 0.1 至 10mM 或大约 1.0mM。在一些实施方式中,盒中的一个或多个传感器可用于检测夹心物形成步骤中稀释的样品的二茂铁信号。对于期望的百倍稀释,例如,信号可以等于 10 μ M 二茂铁。在因子校正过程中,

可以建立电流相对于浓度算法并嵌入仪器软件。不被理论限制,二茂铁产生外球电子转移反应,信号应该不依赖于电极催化活性。二茂铁单羧酸具有比用于检测夹心物的对氨基苯酚(PAP)约200mV更加阳性的半波电势,所以其不应提供物质信号,即使洗涤步骤留下残余物。

[0078] 在另一个实施方式中,样品被导入装置并进入样品分离单元,或在本发明的其它实施方式中,进入固定的样品提取单元。当稀释元件被启动、稀释的样品进入免疫传感器的检测区域时,在本发明的一些实施方式中,一部分稀释的样品可以人工被取出并使用电位计传感器或用于安培计测定的其它电化学分析系统、用于电位计电化学测试的电位计,或分光光度计来测试,以测定稀释决定簇标志物浓度。未稀释的样品中的稀释决定簇标志物浓度与所分析的部分的稀释的样品中的稀释剂决定簇标志物浓度之比提供了任何给定设计的稀释率,通过重复表征一组仪器,可以计算稀释方法的精确性和准确性。因此,本发明的实施方式提供了稀释系统设计的准确性和精确性的独立经验验证。稀释决定簇标志物的使用还可以作为本发明的免疫传感装置的实际使用时的对照测试。

[0079] 虽然一种测定理论上需要确定的靶稀释率(例如5,000:1),但是,在本发明的一些实施方式中,可以发现特定的样品分离单元或固定的样品提取单元稀释具有高度精确性但是不准确的(例如给出5,300:1的比率)。在一些实施方式中,调整测定系数(在该例中,调整至5,300:1的比率)而非重构造设计元件。本领域技术人员将认识到,对于使用单次使用的盒形式的实际测定开发,这是一个可行的方法。注意,虽然本发明为了方便使用整数比率,但是分数比率例如2:7, 2:7.1, 2:7.01也在本发明的范围内。

[0080] 在本发明的优选实施方式中,稀释剂流体是不存在分析物时的血浆的刺激物。在一些实施方式中,稀释剂流体是基于水的并包括电解质、缓冲液和血浆中通常以高浓度存在的蛋白质,例如白蛋白和免疫球蛋白。稀释剂液体也可包括裂解剂、稳定剂和抗细菌试剂,其是临床生化领域熟知的。

[0081] 关于与控制的稀释装置接触的稀释剂流体的渡越时间(例如洗涤或将一部分分析物提取出控制的稀释装置过程中),稀释剂流体的体积一般将被选择为大约 $5\mu\text{L}$ 至大约 $200\mu\text{L}$ 。在一些实施方式中,控制的稀释装置的跨表面(例如面或边缘)渡越时间可以是大约0.1秒至大约100秒(例如1秒至50秒或2秒至10秒)。

[0082] 在一些实施方式中,稀释剂流体以基本固定的流速例如 $10\mu\text{L/s}$ 被转运通过导管并跨过控制的稀释装置的表面。稀释剂流体移动越快,为从稀释装置提取分析物提供的时间越少。因此,流体流速是测定系统的控制参数。在一些实施方式中,可以通过仪器部件和软件控制流动,其控制泵元件的启动。控制流速的备选实施方式包括泵循环,其对于与控制的稀释装置的表面接触的一部分稀释剂流体具有固定的静止停留时间,以及振荡一部分稀释剂跨过控制的稀释剂装置的表面的泵循环。在这些实施方式中,可以利用一个或多个软件程序控制与泵元件相互作用的仪器部件。

[0083] 关于用于高水平稀释的固定的样品提取单元,在一些实施方式中,仪器软件包括延迟功能,从而仪器不会散开稀释剂,直至流逝了足够的时间。在优选实施方式中,仪器包括检测开关,其记录插入测试装置的时间,这作为测试循环的 $t=0$ 点。因此,如果固定的样品提取单元填充步骤从样品进入装置起需要15秒,则稀释剂激活被设定为在 $t>15$ (例如 $t=20$ 秒, $t=30$ 秒或 $t=60$ 秒)时启动。

[0084] II. 进行测定的方法

[0085] 本发明适用于使用引入了整合的样品稀释部件和样品计量装置的传感器盒进行测定的方法。本发明的方法适用于多种生物样品类型（例如血液、血浆、血清、尿、间隙液和脑脊髓液）。

[0086] 在一些实施方式中，传感器盒是离子传感器（例如针对 K, Na, Cl, Ca, NH₄ 等的电位计传感器）；代谢物传感器（例如针对葡萄糖、肌酐、胆固醇等的安培计酶学传感器）；酶活性传感器（例如对于肝测试，包括 ALT 和 AST）；和核苷酸传感器（例如，扩增的靶 ssDNA 与固定于传感器上的 ssDNA 和经信号部分例如酶或荧光物质表标记的其它互补性 ssDNA 形成夹心物）。

[0087] 在优选实施方式中，本发明可应用于下列一个或多个领域：免疫传感器，尤其是在医疗点诊断现场测试的情况下；电化学免疫测定；与免疫参比传感器联合的免疫传感器；全血免疫测定；基于单次使用的盒的免疫测定；和仅具有单一洗涤步骤的非连续免疫测定；和干试剂涂层。如本领域技术人员将认识到的，本文公开的一般性概念适用于很多免疫测定方法和平台。另外，本发明适用于多种免疫测定，包括夹心式和竞争式免疫测定。

[0088] 在控制的样品稀释和在免疫传感器上形成夹心物之后，根据本发明的多个实施方式，进行洗涤或应用稀释剂。稀释剂优选通过连接导管前进并通过由交替的空气和液体区段形成的一系列小的转移步骤跨过传感器。在一些实施方式中，通过仪器向与气囊和稀释剂包接触的致动器以交替顺序施加转移力而实现区段的形成。该过程有效地拖动一组空气和流体区段经过传感器。已经发现每个区段之间的弯月面是洗涤循环的最有效部分（以从盒的夹心物形成区或传感器区除去样品、未结合的分析物和未结合的信号抗体）。另外，一系列区段相对于单次经过传感器的相同体积的稀释剂而言提供了更彻底的传感器洗涤，虽然后者可以在非特异性结合不是显著问题的测定中使用。在优选实施方式中，空气和流体区段各具有大约 2 μ L 的体积，但是区段体积可以介于小于 1 μ L 至大于 20 μ L。在本发明的一些实施方式中，当分析导管具有大约 1-2mm³ 的横截面积时，每个液体区段通过大约 2-3mm 的空气间隙隔开。另外，在一些实施方式中，电导传感器可定位于分析导管中以监视流体-空气界面的位置并为用于泵启动的仪器软件提供反馈控制（参见，例如，共同拥有的美国专利号 7, 419, 821 中描述的材料，其在上文中被引用并通过引用方式全文并入本文）。

[0089] 在备选实施方式中，使用被动部件注射区段。通过带衬垫密封盒的底座中的孔。覆盖孔的带衬垫在任一末端具有两个小孔。一个孔是开启的，而另一个被过滤材料覆盖，所述过滤材料在与流体接触后变湿。孔中填充疏松的亲水材料，例如纤维素纤维、纸或玻璃纤维。亲水材料通过毛细作用将液体汲入底座中的孔，置换孔中原有的空气。空气通过带衬垫中的开口被排出，产生区段，其体积由孔的体积和疏松的亲水材料的体积确定。用于覆盖通向底座中的孔的入口之一的材料可以选择为计量流体填充孔的速率，从而控制区段注射进入盖子中的导管的速率。这种被动部件允许任意数目的控制的区段被注射于流体路径内的特定位置并需要极小的空间。

[0090] 在样品或流体的区段内，可以优先溶解修正物质并在区段的预先确定的区域浓缩。这通过控制区段的位置和移动来实现。因此，例如，如果区段的仅一部分例如前缘在修正物质上往复运动，则在靠近前缘的地方可形成高局部浓度的物质。或者，如果需要物质的均匀分布，例如，如果对于定量分析需要已知浓度的修正物质，则样品或流体的进一步往复

运动将产生混合和均匀分布。

[0091] 在本发明的多个实施方式中,组分、导管和 / 或控制的稀释装置的一个或多个部分可以被干试剂涂覆以修正样品或流体。样品或流体通过干试剂涂层至少一次以溶解它。用于修正盒内的样品或流体的试剂包括但不限于抗体 - 酶缀合物,针对靶分析物的信号抗体,或阻止测定化合物之间的特异性或非特异性结合反应的阻断试剂。在本发明的一些实施方式中也可以使用不可溶的但是辅助防止测定组分非特异性吸附至盒的内表面的表面涂层。

[0092] 如上文所述,免疫传感器盒可进一步包括含有稀释剂的单个的稀释剂包,和 / 或含有试剂流体的单个的试剂流体包。在一些实施方式中,这些包是可破裂袋的形式(例如箔袋)。可破裂袋的生产可以按照例如授予 Ade 等人的共同拥有的美国专利申请公开号 2010/0068097A1 或授予 Lauks 等人的共同拥有的美国专利号 5,096,669 中的描述来进行,这两篇文献通过引用方式全文并入本文。

[0093] 稀释剂的组成优选选择为包括 pH 缓冲剂,去污剂等以促进未结合的样品和非特异性结合的信号抗体的去除,而对于免疫传感器上形成的夹心物的稳定性无实质影响。免疫测定领域的技术人员将认识到此种稀释剂组成是熟知的,用于优化给定测定形式的方法也是熟知的。在本发明的一些实施方式中,稀释剂包中的稀释剂的体积选择为在大约 50 μ L 至大约 200 μ L 的范围内。

[0094] 检测或试剂流体的组成选择为包括酶底物, pH 缓冲剂,去污剂等以促进酶对于信号抗体的高效活性,而对于免疫传感器上形成的夹心物的稳定性无实质影响。试剂流体组成是免疫测定领域熟知的,用于优化给定测定形式的方法也是熟知的。在一些实施方式中,检测流体包中的检测流体的体积在大约 50 μ L 至大约 200 μ L 的范围内,并包含对氨基苯酚(PAP)磷酸盐作为碱性磷酸酶标记物的底物(在 pH9.8 的缓冲溶液中)。

[0095] III. 放射分析免疫测定

[0096] 鉴于所使用的抗体的相对灵敏性和某些蛋白分子(例如血红蛋白或白蛋白)的实际全血浓度,可能需要降低它们各自的浓度,例如降至大约 1 至 100ng/mL 的范围,大概为 500 至 5000 倍稀释。在这些实施方式中,精确的稀释不是关键的。相反,样品仅需要被稀释至传感器应答为准线性的分析物浓度范围。

[0097] 在一些实施方式中,用于低范围稀释的样品分离单元方法可用于进行血液样品中的放射分析测定。例如,在本发明的一个实施方式中,提供了进行血液样品中的放射分析测定的方法,包括:将血液样品导入盒的样品稀释室,其中稀释室定位于稀释剂导入端口和样品分离单元之间,并且其中稀释剂导入端口与样品分离单元之间的体积限定用于稀释的所述样品的计量体积。计量体积的样品经来自位于盒内的稀释剂导管的计量体积的稀释剂(如上文所描述)稀释,以形成稀释的样品。稀释的样品被抽入盒的传感区域(例如分析物导管)中的第一和第二传感器,第一传感器包括用于第一分析物的免疫传感器,第二传感器包括用于第二分析物的免疫传感器。在包含固定的第一分析物抗体、第一分析物和以信号传导部分标记的第一分析物抗体的第一传感器上形成第一夹心物,在包含固定的第二分析物抗体、第二分析物和以信号传导部分标记的第二分析物抗体的第二传感器上形成第二夹心物。然后从盒的传感区域洗涤稀释的样品,任选使用与稀释剂相同组成的洗涤液,将用于从信号传导部分产生信号的试剂导入盒的传感区域。检测并记录所述第一和第二传感器

上的信号,根据所述第一和第二传感器上的信号确定第一分析物相对于第二分析物的级份百分比。

[0098] 在一些实施方式中,用于高范围稀释的样品分离单元方法可用于进行血液样品中的放射分析测定。例如,在本发明的一个实施方式中,本发明涉及进行血液样品中的放射分析测定的方法,包括:将血液样品导入盒的样品导入室,其中导入室终止于固定的样品提取单元,并且其中所述提取单元的远端部分确定用于稀释的样品的计量体积。计量体积的样品经来自位于盒内的稀释剂导管的计量体积的稀释剂稀释,以形成稀释的样品,稀释的样品被抽入盒的传感区域中的第一和第二传感器,第一传感器包括用于第一分析物的免疫传感器,第二传感器包括用于第二分析物的免疫传感器。在包含固定的第一分析物抗体、第一分析物和以信号传导部分标记的第一分析物抗体的第一传感器上形成第一夹心物,在包含固定的第二分析物抗体、第二分析物和以信号传导部分标记的第二分析物抗体的第二传感器上形成第二夹心物。然后从盒的传感区域洗涤稀释的样品,将用于从信号传导部分产生信号的试剂导入盒的传感区域。检测并记录所述第一和第二传感器上的信号,根据所述第一和第二传感器上的信号确定第一分析物相对于第二分析物的级份百分比。

[0099] 在本发明的一些实施方式中,第一分析物包括血红蛋白,第二分析物包括血红蛋白 A1c。在该实施方式中,稀释室或控制的稀释装置优选包括能够溶解于样品、稀释剂或稀释剂的样品中的裂解剂(例如脱氧胆酸钠或皂苷)。在其它实施方式,即第一分析物包含白蛋白,第二分析物包含糖基化白蛋白的情况下,无需裂解剂。

实施例

[0100] 本发明将通过参考以下非限制性实施例所示的实施方式而更好地理解。可以使用低稀释形式检测的分析物的合适的非限制性实例有血红蛋白 A1c 和 C-反应蛋白。可以使用高稀释形式检测的分析物的合适的非限制性实例有血红蛋白、人血清白蛋白和免疫球蛋白例如 IgG 和 IgA。典型的疾病状态包括贫血和免疫力测定。另外, β 人绒毛膜促性腺激素(bHCG)可扩展至大约 50,000 至 500,000ng/mL 的范围。

[0101] 实施例 1. 安培计免疫测定

[0102] 图 11 显示了根据本发明的用于测定稀释的液体样品中的 C-反应蛋白(CRP)70(炎症标志物)的特定非限制性实施方式的安培计免疫测定。如上文所述(高范围或低范围稀释,但是用于 CRP 优选为后者)的根据本发明的稀释的样品(例如全血样品)与缀合分子 71 混合,缀合分子包含共价连接于多克隆抗-CRP 抗体(aCRP)72 的碱性磷酸酶(AP)。缀合物 71 特异性结合样品中的 CRP70,产生复合物,该复合物由结合于 AP-aCRP 缀合物 71 的 CRP70 组成。在捕获步骤中,该复合物结合连接于传感器表面或虽未连接但邻近传感器(例如金电极 74)的捕获抗体 aCRP 抗体 72。在一些实施方式中,电导传感器(未显示)用于监视一定体积的样品(例如样品区段)何时到达传感器。样品到达的时间可用于检测盒内的泄漏(例如到达信号的延迟为泄漏)。可使用流体样品的边缘作为标志物来主动控制分析导管内的样品区段的位置。随着样品/空气界面越过电导传感器,产生精确的信号,其可用作流体标志物,从中可进行控制的流体移动。样品区段优选在传感器 74 上从边缘至边缘地振荡,以将整个样品呈递至传感器表面。可以将第二试剂导入传感器外的分析导管,其在流体振荡过程中变为均匀分布。传感器芯片包含以针对目标分析物的抗体

涂覆的捕获区。这些捕获区由聚酰亚胺的疏水环或另一光刻产生的层确定。含有某种形式的抗体（例如结合至乳胶微球体）的微滴或几个微滴（尺寸为 5-40nL）分配于传感器的表面。光确定的环含有一个或多个水性小滴，允许抗体涂覆的区域定位于几微米的精度。在一些实施方式中，捕获区域的大小为 0.03mm^2 至 2mm^2 。该尺寸范围的上限在一些实施方式中由导管和传感器的尺寸限制，不是本发明的限制。

[0103] 因此，金电极 74 由包含共价结合的抗 -CRP 抗体的生物层 73 涂覆，CRP/AP-aCRP 复合物与其结合。因此，AP 靠近电极被固定，与最初存在于样品中的 CRP 的量成比例。除了特异性结合之外，酶 - 抗体缀合物可非特异性结合传感器。非特异性结合提供了来自传感器的背景信号，其为不希望的，优选使其最小化。如上文所述，润洗程序，特别是使用区段化的流体润洗传感器，提供了使该背景信号最小化的有效手段。在润洗步骤之后的第二步骤中，被例如碱性磷酸酶水解以产生电活性产物 76 的底物 75 被呈递至传感器。安培计电极被夹在固定的电化学电位，其足以氧化或还原水解的底物的产物而非直接氧化或还原底物，或者该电位扫过合适的范围一次或多次。任选地，第二电极可以在制造过程中以层（CRP/AP-CRP 的复合物在那里形成）涂覆，以用作参考传感器或用于测定的校正工具。

[0104] 在本实施例中，传感器包括用于检测从 4- 氨基苯基磷酸盐与酶标记的碱性磷酸酶的反应酶促产生的 4- 氨基苯酚的两个安培计电极。电极优选从以聚酰亚胺的光确定的层涂覆的金表面产生。绝缘的聚酰亚胺层中的规律间隔的开口限定了小的金电极的栅格，在那里 4- 氨基苯酚在 2 个电子 / 分子的反应中被氧化。

[0105] $\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH} \rightarrow \text{HN}=\text{C}_6\text{H}_4=\text{O}+2\text{H}^++2\text{e}^-$

[0106] 传感器电极进一步包括生物层，而参考电极可以从例如不含生物层的金电极构建，或者从银电极或其它合适的材料构建。不同的生物层可为每个电极提供传感不同分析物的能力。

[0107] 底物，例如对氨基苯酚 (PAP) 物质，可以被选择为使得底物和产物的 $E_{1/2}$ 具有实质差异。优选地，底物的 $E_{1/2}$ 显著高于产物。当满足该条件时，可以在存在底物的条件下选择性地电化学地测定产物。在具体的实施方式中，底物是磷酸化二茂铁，或更优选为磷酸化的 PAP。

[0108] 电极的尺寸和间隔在测定灵敏性和背景信号中具有重要作用。栅格中的重要参数为暴露的金属的百分率和活性电极之间的间隔。电极的位置可以紧挨着抗体捕获区在其下面，或偏离捕获区之下控制的距离。电极的实际的安培计信号取决于传感器相对于抗体捕获位点的定位和流体在分析过程中的移动。根据传感器附近的电活性产物的量记录电极上的电流。

[0109] 在该实例中，碱性磷酸酶活性的检测依赖于 4- 氨基苯酚氧化电流的测定。这在约 +60mV 相对于 Ag/AgCl 接地芯片的电位实现。所使用的检测的确切形式取决于传感器配置。在传感器的一种形式中，金微电极的阵列位于紧邻抗体捕获区在其之下。当稀释剂被拖过该传感器时，位于捕获位点上的酶在酶限制的反应中将 4- 氨基苯基磷酸盐转化为 4- 氨基苯酚。将 4- 氨基苯基磷酸盐的浓度选择为过量，例如 K_m 值的 10 倍。分析溶液是 0.1M，在二乙醇胺中，1.0M NaCl，缓冲至 pH 为 9.8。另外，分析溶液含有 0.5mM MgCl₂，其为酶的辅因子。

[0110] 在另一个电极几何学实施方式中，电极位于距离捕获区几百微米处。当新鲜的稀

释剂区段被拖过捕获区时,酶产物建立,没有因电极反应的损失。一定时间之后,溶液缓慢地从捕获区域被拖过检测电极,产生电流峰值,从中可确定酶活性。

[0111] 碱性磷酸酶活性的灵敏检测中的重要考虑是与金传感器上发生的背景氧化和还原相关的非 4-氨基苯酚电流。金传感器倾向于在这些电位下在碱性缓冲中产生显著的氧化电流。背景电流很大程度上依赖于缓冲液浓度、金电极的面积(暴露面积)、表面预处理和所用的缓冲液的性质。二乙醇胺是特别优良的用于碱基磷酸酶的激活缓冲液。在摩尔浓度,酶速率相对于非激活性缓冲液例如碳酸盐增加大约 3 倍。

[0112] 在替代性实施方式中,缀合于抗体或其它分析物结合性分子的酶是尿素酶,底物是尿素。在该实施方式中,通过使用铵敏感性电极检测由尿素水解产生的铵离子。铵特异性电极是本领域技术人员熟知的。合适的微制造的铵离子选择性电极公开于美国专利号 5,200,051,其在上文中引用并通过引用方式全文并入本文。与底物反应以产生离子的其它酶是本领域熟知的,如用于其中的其它离子传感器一样。例如,从碱性磷酸酶底物产生的磷酸盐可以在磷酸根离子选择性电极上被检测。

[0113] 现在参见图 12,显示了微制造的免疫传感器的实施方式的构建。优选地,提供了平面的非导电性底物 80,其上通过本领域技术人员已知的常规方式或微制造沉积了导电层 81。导电材料优选为贵金属,例如金或铂,虽然也可以使用其它非反应性金属例如铱,石墨、导电聚合物或其它材料的非金属电极也可以。还提供了电连接 82。生物层 83 沉积在电极的至少一部分上。在本公开中,生物层是指这样的多孔层:在其表面包含足够量的分子 84,分子 84 能够结合目标分析物,或通过产生能够测定的变化而响应于此分析物的存在。任选地,可以在电极与生物层之间插入选择通透性筛选层以筛选电化学干扰物,如美国专利号 5,200,051 中所描述,其在上文中引用并通过引用方式全文并入本文。

[0114] 在本发明的一些实施方式中,从 $0.001\ \mu\text{m}$ 至 $50\ \mu\text{m}$ 的比直径的乳胶珠子构建生物层。通过共价连接与生物层的上述定义一致性的任何合适的分子来修饰珠子。本领域有很多连接方法,包括提供胺反应性 N-羟基琥珀酰亚胺酯基团以容易地偶联赖氨酸或蛋白质的 N 末端氨基。在具体实施方式中,生物分子选自离子载体、辅因子、多肽、蛋白质、糖肽、酶、免疫球蛋白、抗体、抗原、凝集素、神经化学受体、寡核苷酸、多核苷酸、DNA、RNA 或合适的混合物。在更具体的实施方式中,生物分子是被选择为结合下列一种或多种的抗体:人绒毛膜促性腺激素、C-反应性蛋白、血红蛋白、血红蛋白 A1c、IgG、IgA、脑利钠肽(BNP)、肌钙蛋白 I、肌钙蛋白 T、肌钙蛋白 C、肌钙蛋白复合物、肌酸激酶、肌酸激酶亚基 M、肌酸激酶亚基 B、肌红蛋白、肌红蛋白轻链或这些项的修饰的片段。这样的修饰的片段是通过氧化,还原,至少一个氨基酸的缺失、添加或修饰、包括使用天然部分或使用合成的部分进行化学修饰而产生的。优选地,生物分子特异性结合分析物并具有约 10^7 至 10^{15}M^{-1} 的针对结合分析物配体的亲和常数。

[0115] 在一个实施方式中,包含具有通过合适的分子共价修饰的表面的珠子的生物层通过下列方法附着于传感器。微分散针用于将小液滴、优选大约 0.4nL 修饰的珠子的悬浮液沉积于传感器表面上。允许液滴干燥,这在表面上产生珠子的涂层,在使用中抵抗置换。

[0116] 除了其中生物层相对于安培计传感器处于固定位置的免疫传感器之外,本发明还涉及这样的实施方式:其中生物层涂覆于移动的颗粒上。在一些实施方式中,盒可以包含能够与分析物相互作用的移动微颗粒,例如在捕获步骤之后定位于安培计电极的磁性颗粒,

其中磁力用于将颗粒聚集于电极以进行测量。参见,例如,共同拥有的美国专利申请系列号 12/815,132 和美国临时申请系列号 61/371,066;61/371,109;61/371,077; 和 61/371,085。这些专利申请中的每一个通过引用方式全文并入本文。本发明中的移动微颗粒的一个优点在于它们在样品或流体中的移动加速了结合反应,使得测定的捕获步骤更快。对于使用非磁性移动性微颗粒的某些实施方式,多孔过滤器用于将珠子捕获于电极处。

[0117] 现在参考图 13,显示了根据本发明的一个实施方式的单一底物上的数个电极的掩模设计。通过掩模和刻蚀技术,可以沉积独立的电极和导线。因此,以低成本在致密的区域中提供了多个免疫传感器 94 和 96,和电导测定传感器 90 和 92,以及它们的各自的连接片 91、93、95 和 97,用于实现与读取仪器的电连接。原理上,可以通过这种方式组装非常大的传感器阵列,每个对于不同的分析物敏感或作为对照传感器。

[0118] 在本发明的具体实施方式中,按照下述制备免疫传感器。热氧化硅晶片以形成具有大约 $1\mu\text{m}$ 厚度的绝缘氧化物层。将钛/钨层溅射至所述氧化物层上至优选 **100-1000 Å** 的厚度,然后是最优选 **800 Å** 厚的金层。接下来,将光致抗蚀剂旋涂于晶片上并干燥和适当烘焙。然后使用接触掩模、例如图 13 中显示的掩模使表面暴露。产生潜像,晶片暴露于金蚀刻剂。以光可界定的聚酰亚胺涂覆图案化的金层,适当烘焙,使用接触掩模暴露,显像,在 O_2 等离子体中清洁,优选在 350°C 亚酰胺化大约 5 小时。然后使用抗体涂覆的颗粒印刷表面。将液滴,优选大约 0.4nL 体积并含有 2% 固体内容物(在去离子水中)的液滴,沉积在传感器区域上,并在原地通过风干干燥。任选地,将抗体稳定试剂(例如 **StabilCoat®** SurModics, Inc., Eden Prairie, MN, USA) 过度涂覆至传感器上。颗粒的干燥使得它们以阻止溶解于样品或含有底物的流体中的方式粘附至表面上。该方法提供了可靠的和可重复的适合于以大体积制备传感器芯片的固定方法。

[0119] 实施例 2. 免疫传感装置和使用方法

[0120] 本实施例描述了使用本发明例示的盒的方法之一。在该实施方式中,盒包括可闭合的阀门,该阀门位于免疫传感器与废液室之间。对于 CRP 测定,首先将血液样品导入盒的样品室。在接下来的时间序列中,时间 0 ($t = 0$) 代表盒被插入盒读取装置中的时间。以分钟表示时间。在 $t = 0$ 与 $t = 1.5$ 之间,盒读取装置与传感器通过电接触片进行电接触,并进行几个诊断测试。盒的插入刺穿箔袋,将稀释剂导入洗涤导管,如上文所描述,也进入稀释剂导管。诊断测试使用导电性电极测定流体或样品是否存在于导管中,测定电短路是否存在于电极中,并确保传感器和接地电极(例如参比电极/反电极)在分析物测定之前热平衡至优选 37°C 。

[0121] 在 $t=0.5$ 和 $t=1.5$ 之间,泵装置从稀释剂导管将计量的稀释剂抽入稀释室,在那里稀释剂与计量部分的样品混合以形成稀释的样品。

[0122] 在 $t=1.5$ 和 $t=6.75$ 之间,稀释的样品,优选大约 $4\mu\text{L}$ 至大约 $200\mu\text{L}$,更优选大约 $4\mu\text{L}$ 至大约 $20\mu\text{L}$,最优选大约 $7\mu\text{L}$ 用于接触传感器。界定前部的边缘和稀释的样品的后缘在导电性传感器区域以优选 0.2 至 5.0Hz、最优选 0.7Hz 的频率往复移动。在该时间内,酶-抗体缀合物和珠子(例如移动的珠子或磁性敏感性珠子)溶解于样品中。涂覆至导管上的酶-抗体缀合物的量被选择为产生这样的浓度:当溶解时,优选为高于最高的预期的 CRP 浓度,最优选为样品中的最高的预期的 CRP 浓度的 6 倍。

[0123] $t=6.75$ 和 $t=10.0$ 之间,稀释的样品移动至免疫传感器以捕获珠子。如图 1-4 所示,样品通过可闭合阀门 41 移动进入废液室,浸湿可闭合阀门并引起该阀门关闭。由阀门 41 的关闭产生的密封允许第一泵部件用于控制从导管 11 至分析导管 15 的流体运动。阀门 41 关闭并且剩余的样品被锁定在分析后导管中之后,分析仪活塞从泵部件的柔性隔收缩,在分析导管中产生部分真空。这迫使稀释剂通过带衬垫 21 中的小孔并进入底座中的短的横切导管 8,然后向上通过衬垫 21 中的另一个孔并进入分析导管 15(在盖子 1 中)。然后稀释剂进一步被拖动,稀释剂的前缘(在此作为洗涤液)在免疫传感器芯片的表面振荡以在导管壁附近剪切样品。芯片上的导电性传感器用于控制该过程。

[0124] 洗涤的效率任选地通过将个或多个弯月面或空气区段导入流体中而进一步加强。空气区段可以通过主动或被动方式导入。然后,通过减小施加于泵膜 9 上的机械力而产生的部分真空,流体被迫朝着传感器芯片移动,引起横切导管 8 附近的分析导管 15 中充满稀释剂,作为洗涤液。分析导管的该区域任选地具有较高的通道高度,产生具有较小的曲率半径的弯月面。一个或多个传感器方向上的分析导管的区域任选地具有较小的导管高度。在一个方面,稀释剂被动地从邻近横切导管 8 的区域流向分析导管的该低高度区域,从而洗涤导管壁。这种被动芯吸效应允许进一步使用最小体积的流体有效洗涤分析导管,而不将附着于传感器的珠子移位。在该实施方式中,位于洗涤导管内的流体也可包含酶的底物。在其它实施方式中,可以使用洗涤导管内的干燥底物修正流体。

[0125] 流体的最后一个区段定位于传感器上之后,记录传感器应答的测量,测定分析物的浓度。具体地,通过迅速将新鲜部分的含有酶底物的流体置于传感器上来进行样品的至少一次传感器读数。迅速移位既洗掉了之前形成的产物,又为电极提供了新的底物。将重复性信号取平均值以产生更高精度的测定,还获得基线的更好的统计平均值,由替换传感器上的溶液后立即的电流来表示。

[0126] 本文描述和公开的本发明相对于之前的装置具有多个益处和优点。这些益处和优点包括但不限于,容易使用,大多数(如果不是全部的话)分析步骤的自动化,这消除了使用者在分析中造成的错误。虽然已经通过多个优选实施方式描述了本发明,但是本领域技术人员将认识到,可以不脱离本发明的精神作出多种修饰、替换、省略和改变。因此,本发明的范围仅由下列权利要求的范围所限定。

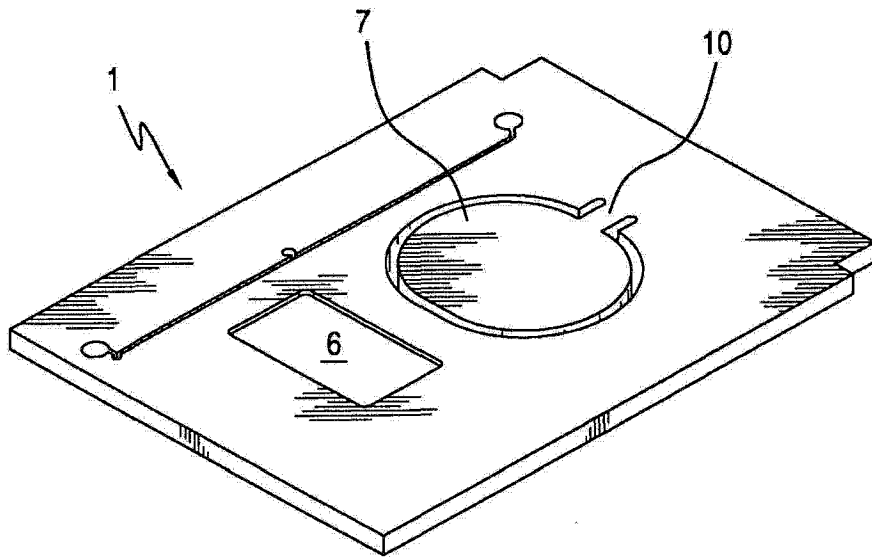


图 1A

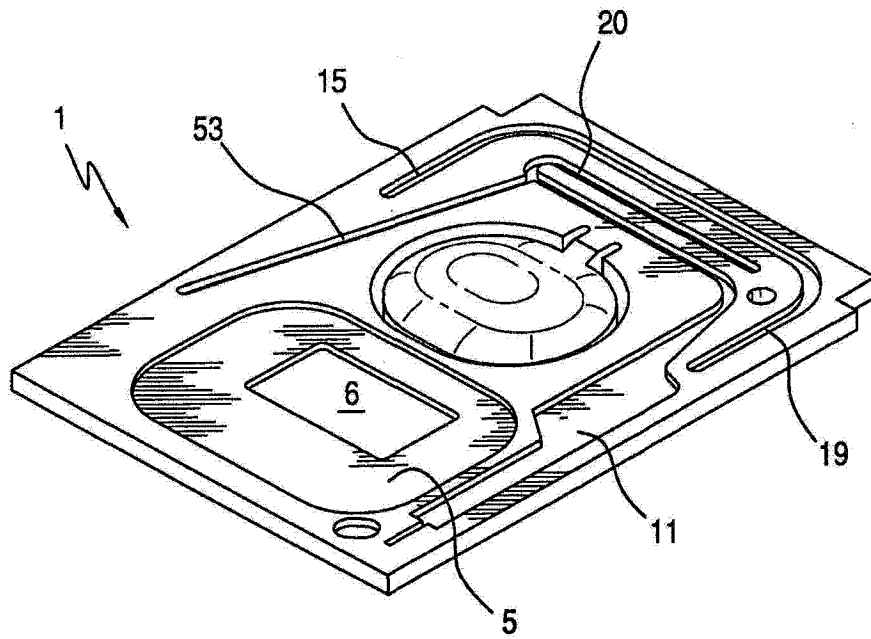


图 1B

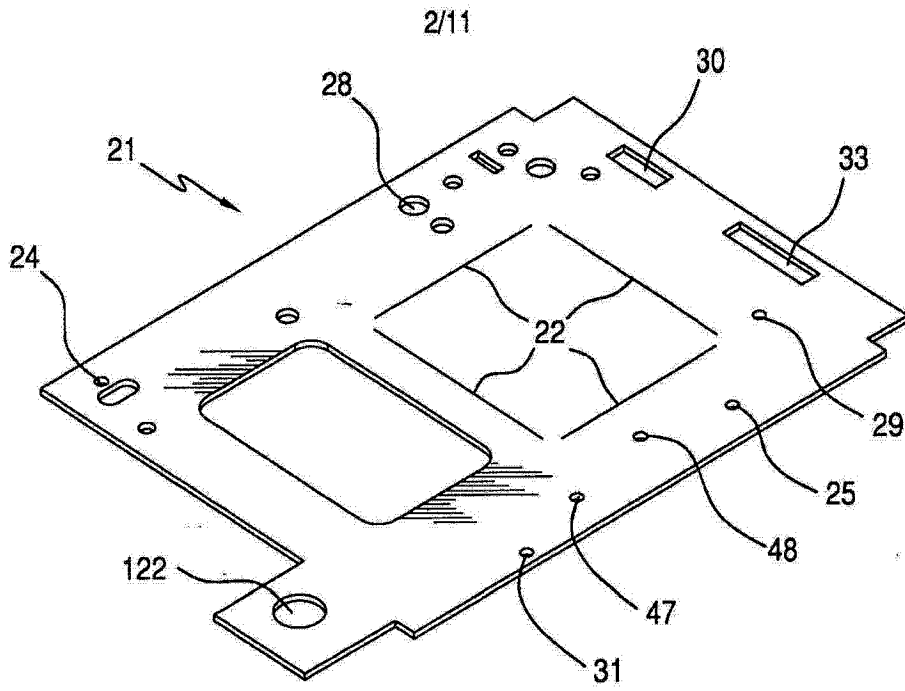


图 2

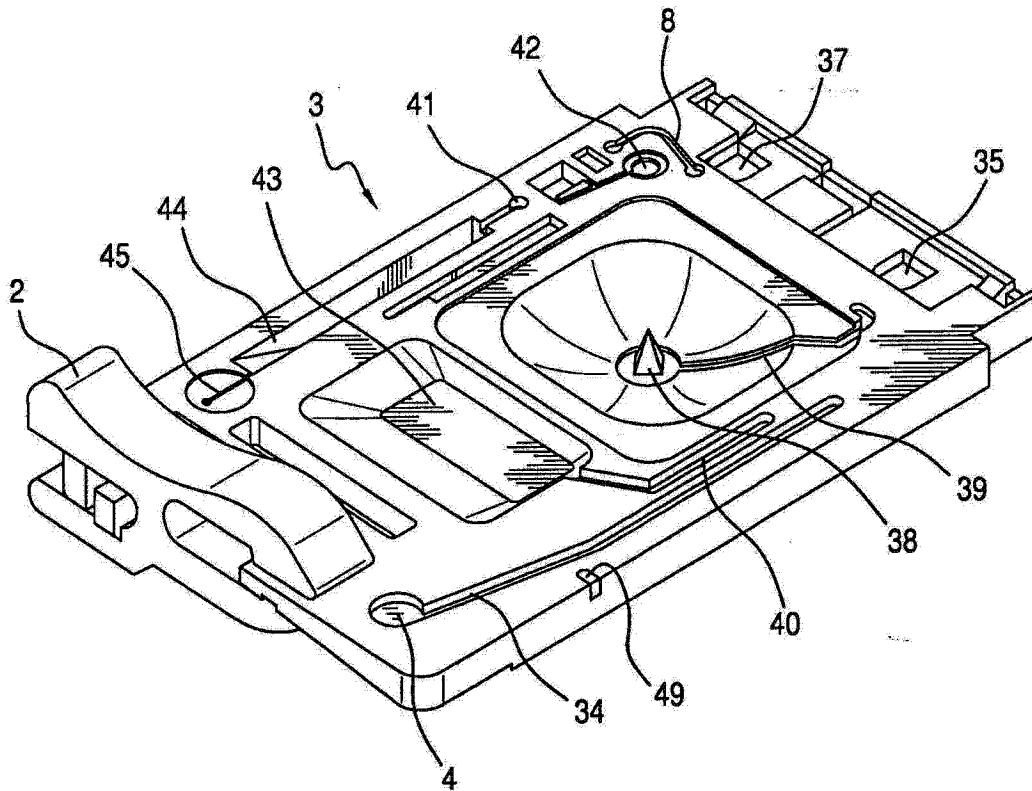


图 3

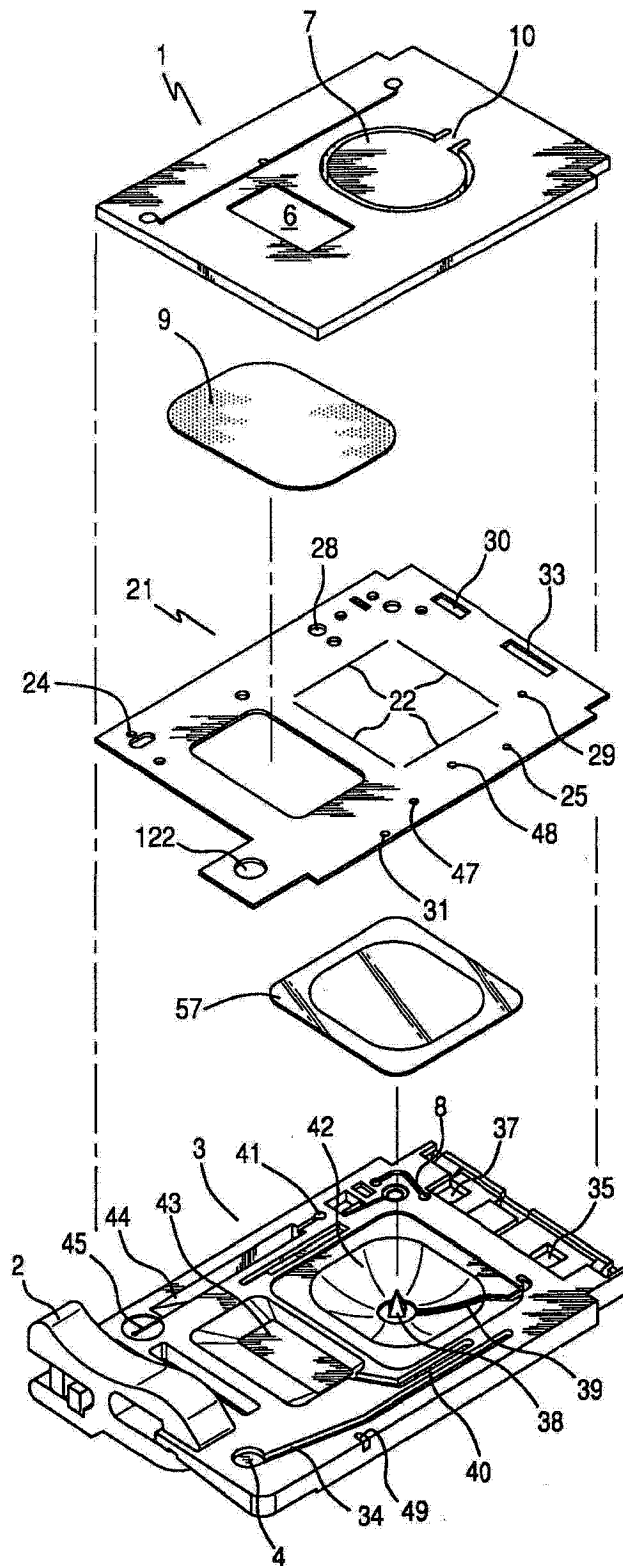


图 4

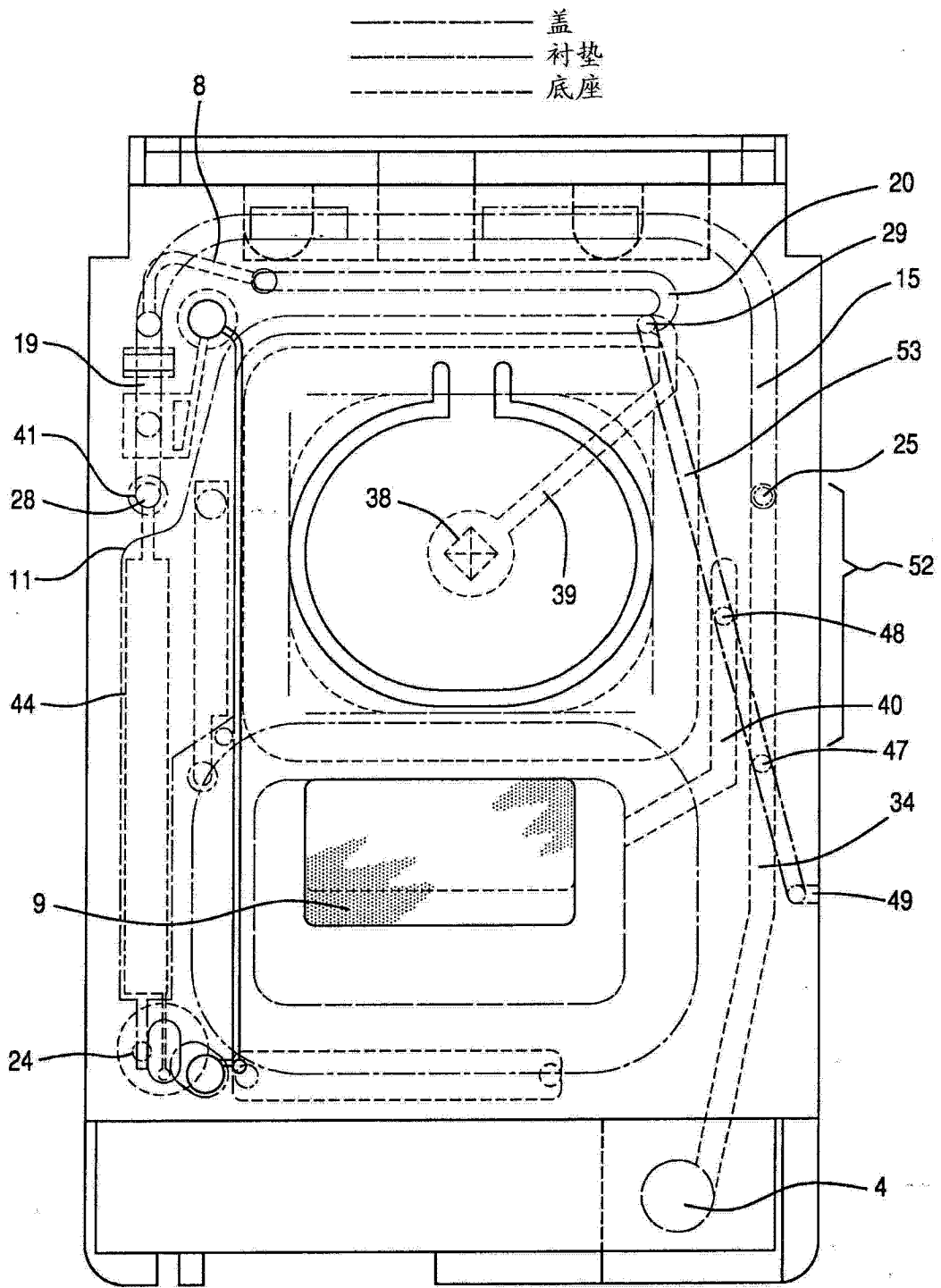


图 5

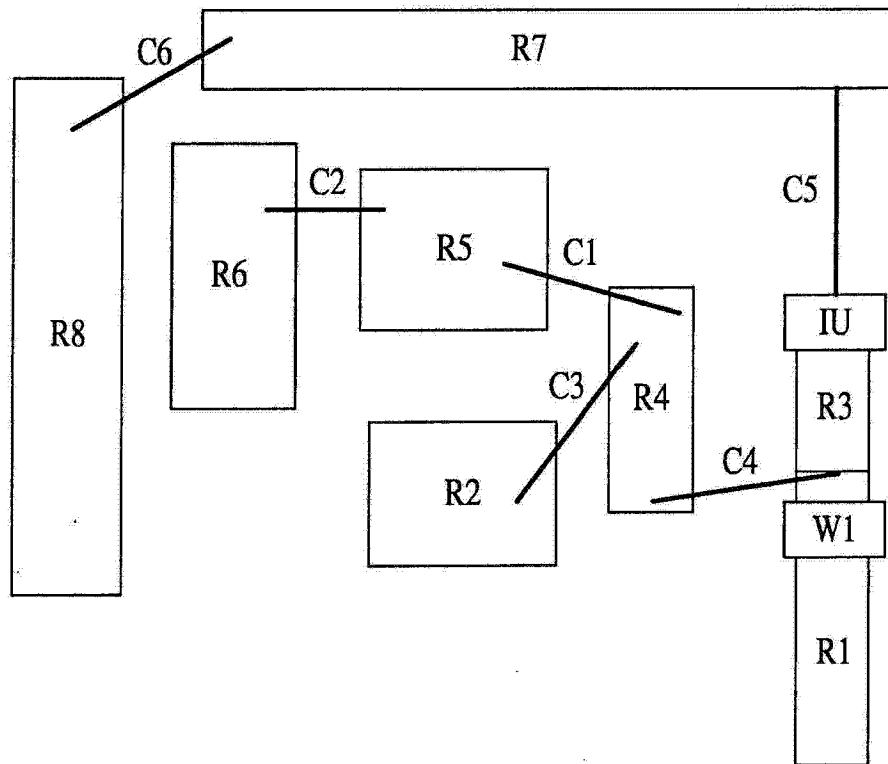


图 6

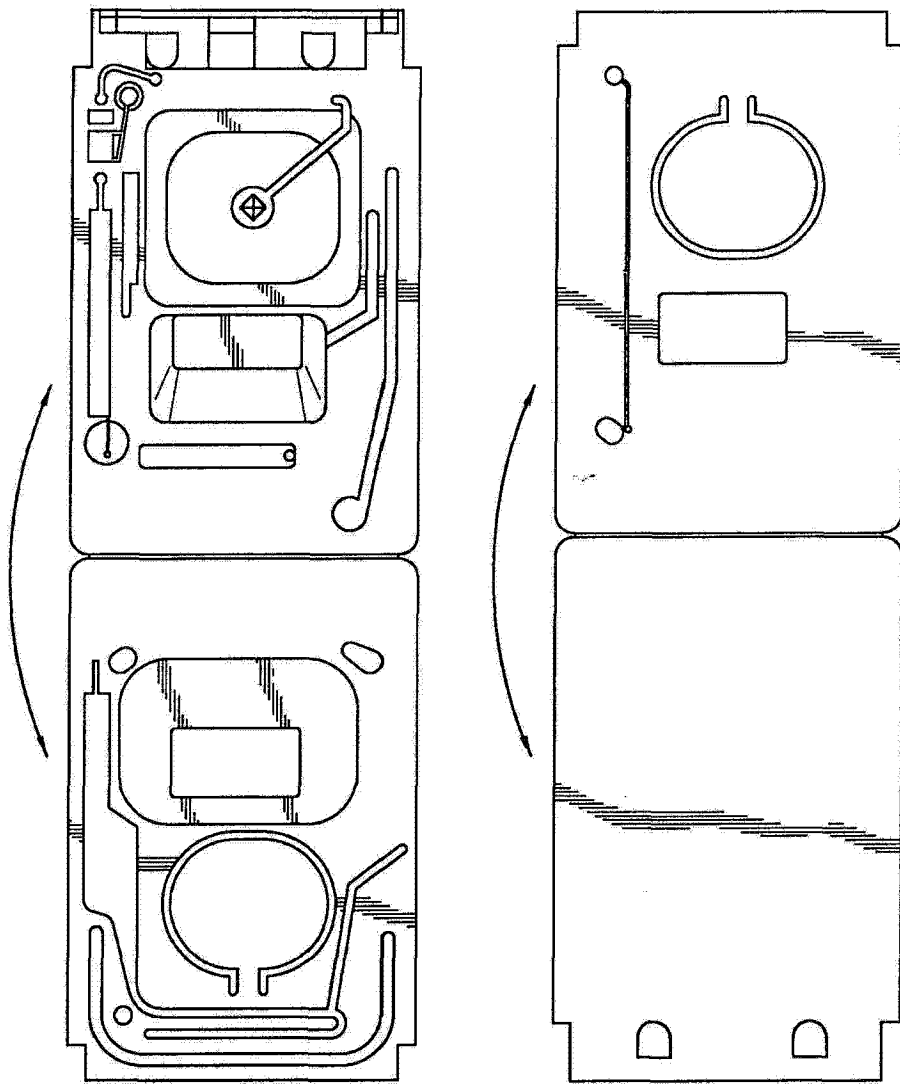


图 7

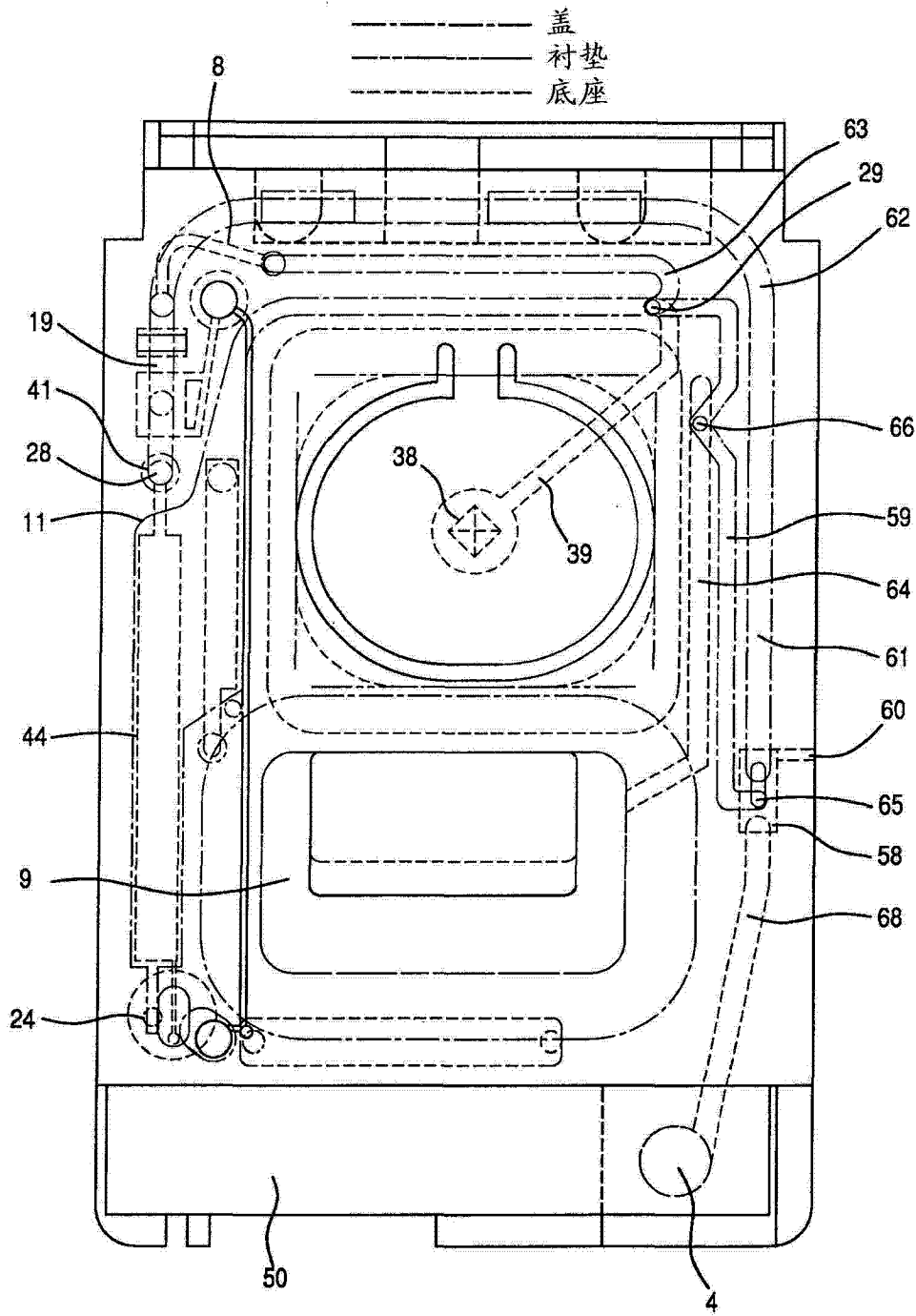


图 8

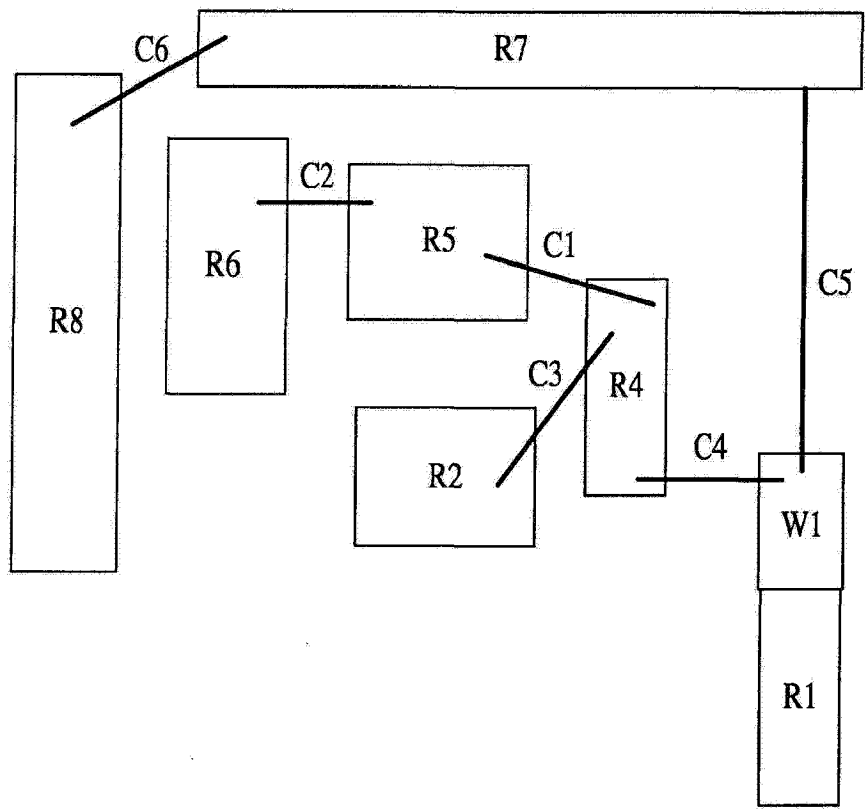


图 9

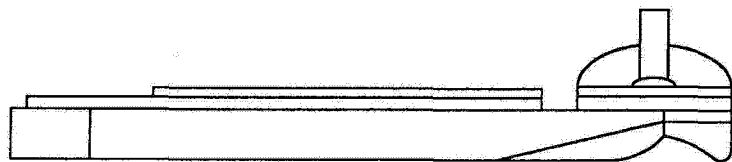


图 10A

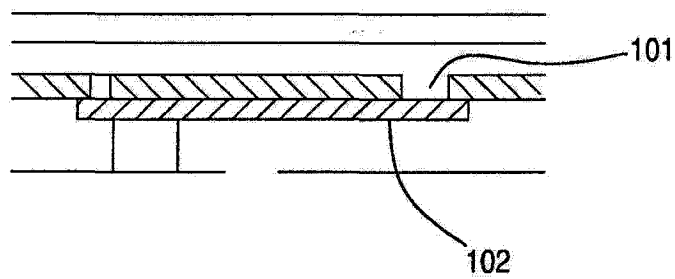


图 10B

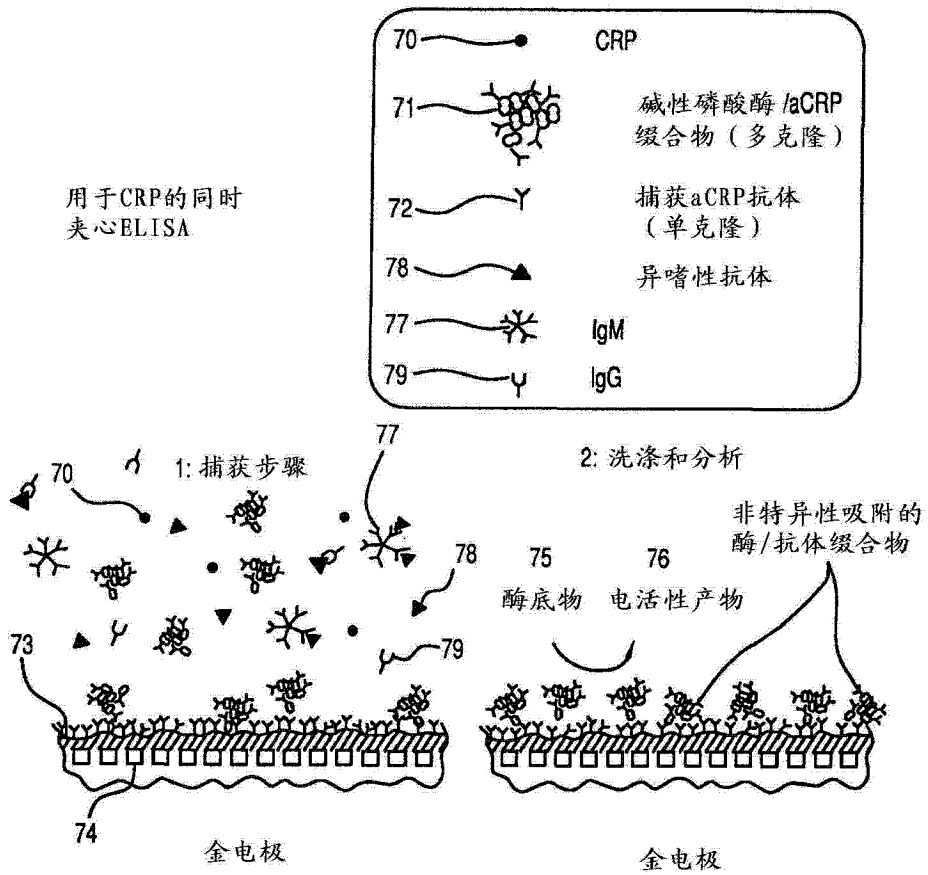


图 11

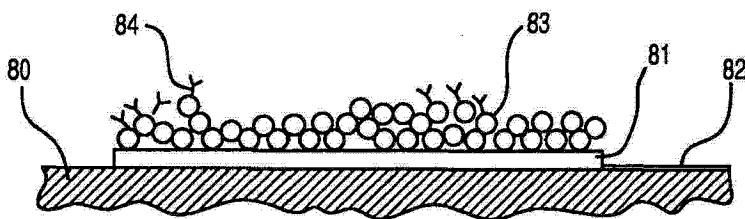


图 12

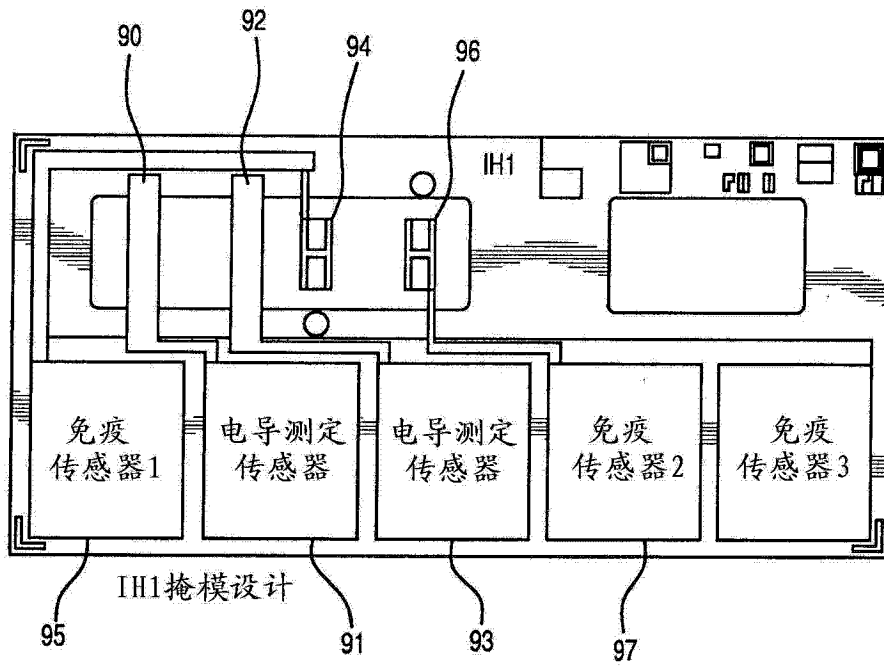


图 13

专利名称(译)	具有整合的样品稀释的样品计量装置和测定装置		
公开(公告)号	CN103282124A	公开(公告)日	2013-09-04
申请号	CN201180063850.0	申请日	2011-12-01
[标]申请(专利权)人(译)	雅培医护站股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	雅培医护站股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	雅培医护站股份有限公司		
[标]发明人	CJ米勒		
发明人	C·J·米勒		
IPC分类号	B01L3/00 C12M1/34 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	B01L3/52 B01L2200/0605 B01L2200/0631 B01L2200/16 B01L2300/0681 B01L2300/0816 B01L2300/126 G01N1/38 G01N2001/385 G01N2333/4737 Y10T436/25625		
优先权	61/419489 2010-12-03 US		
其他公开文献	CN103282124B		
外部链接	Espacenet	SIPO	

摘要(译)

在一个实施方式中，本发明涉及样品计量装置，包含定向于样品进入端口和样品提取单元之间的样品保持室，其中一部分的所述提取单元限定计量体积的样品。稀释剂可以经过和/或通过提取单元转运以形成用于样品分析的稀释的样品。在另一个实施方式中，本发明涉及用于通过多种测定迅速确定液体样品中的分析物的设备和方法，所述测定包括引入了样品稀释部件的免疫测定，其能够用于医疗点诊断现场。本发明的装置和方法优选良好地适用于高范围样品稀释。

