



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105143852 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 09

(21) 申请号 201480023212. X

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

(22) 申请日 2014. 04. 04

代理人 李洋 青炜

(30) 优先权数据

10-2013-0044971 2013. 04. 23 KR

10-2014-0039299 2014. 04. 02 KR

(51) Int. Cl.

G01N 21/00(2006. 01)

G01N 21/01(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 10. 23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2014/002914 2014. 04. 04

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/175577 KO 2014. 10. 30

(71) 申请人 秀根科技株式会社

地址 韩国大田

(72) 发明人 柳承范 金银京 李东奎 吴尚勋

孙美进

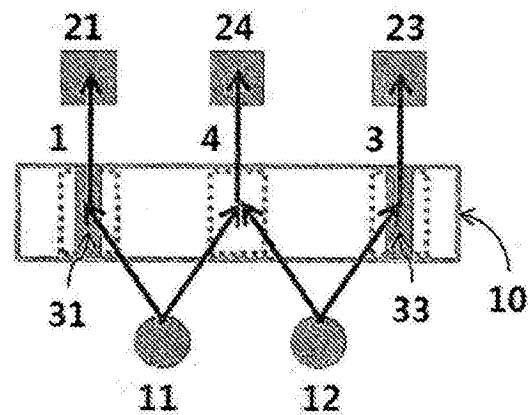
权利要求书2页 说明书11页 附图9页

(54) 发明名称

用于检测样本内分析物的器件及方法

(57) 摘要

本发明涉及用于检测样本内分析物的器件：其包括：(a) n 个光源部，其包括产生光(light)的光源；(b) 反应带，其包括 (i) 被照射(illumination) 来自上述光源部的光并包括与上述分析物反应的物质的检查区域、(ii) 被照射来自上述光源部的光并包括对照物质的对照区域、以及 (iii) 被照射来自上述光源部的光的背景区域，上述检查区域和背景区域被照射相同的一个光，上述对照区域和背景区域被照射相同的一个光，上述检查区域及对照区域共享上述背景区域；照射于上述检查区域和背景区域的光和照射于上述对照区域和背景区域的光相同或者不同；以及 (c) 最少 n+1 个受光部，其检测分别由上述反应带的检查区域、对照区域及背景区域发射(emitting) 的光。



1. 一种用于检测样本内分析物的器件,包括:
 - (a) n 个光源部,其包括产生光 (light) 的光源;
 - (b) 反应带,其包括 (i) 被照射 (illumination) 来自所述光源部的光并包括与所述分析物反应的物质的检查区域、(ii) 被照射来自所述光源部的光并包括对照物质的对照区域、及 (iii) 被照射来自所述光源部的光的背景区域,所述检查区域和背景区域被照射相同的一个光,所述对照区域和背景区域被照射相同的一个光,所述检查区域及对照区域共享所述背景区域,照射于所述检查区域和背景区域的光与照射于所述对照区域和背景区域的光相同或者不同;以及
 - (c) 最少 n+1 个受光部,其检测分别由所述反应带的检查区域、对照区域及背景区域发射 (emitting) 的光,并与所述检查区域、对照区域及背景区域分别对应 (corresponding) 地排列 (arrangement)。
2. 根据权利要求 1 所述的器件,其特征在于,

所述样本为血液、血浆、血清、尿液、淋巴液、骨髓液、唾液、牛奶、眼球液、精液、脑提取物、脊髓液、关节液、胸腺液、腹水、羊膜液、细胞组织液、缓冲液、自来水、污水、河水或者地下水。
3. 根据权利要求 1 所述的器件,其特征在于,

与所述检查区域的所述分析物反应的物质是与分析物结合的捕获剂。
4. 根据权利要求 3 所述的器件,其特征在于,

所述捕获剂是选自由抗体、受体 (receptor)、链霉亲和素、抗生物素蛋白、适配体 (aptamer)、凝集素、DNA、RNA、配体、辅酶 (coenzyme)、无机离子、酶辅因子 (cofactor)、糖及脂质构成的群的捕获剂。
5. 根据权利要求 1 所述的器件,其特征在于,

所述检查区域或背景区域是两个以上,或者检查区域及背景区域是两个以上。
6. 根据权利要求 5 所述的器件,其特征在于,

在两个以上的所述检查区域中,一个检查区域和所述对照区域共享所述背景区域。
7. 根据权利要求 1 所述的器件,其特征在于,

所述器件还包括如下处理:在所述检查区域和对照区域发生反应之前,利用在所述受光部检测的值 (初始值) 将在与所述背景区域对应的受光部检测的值以相同值补正,并利用所述背景区域的反应前补正值和在与所述检查区域和对照区域对应的受光部检测的值,获得所述检查区域和对照区域的反应前补正值。
8. 根据权利要求 7 所述的器件,其特征在于,

所述处理还实施如下过程:在所述检查区域和对照区域发生反应之后,利用所述背景区域的反应前补正值或者反应后补正值、和在与所述检查区域和对照区域对应的受光部反应后检测出的值,获得所述检查区域和对照区域的反应后补正值。
9. 根据权利要求 8 所述的器件,其特征在于,

所述处理还实施如下过程:将利用所述检查区域和对照区域的反应前补正值及反应后补正值的方程式 (equation) 的值决定为所述检查区域和对照区域的最终测定值。
10. 根据权利要求 9 所述的器件,其特征在于,

所述处理还实施如下过程:将最终测定值与预定 (predetermined) 截止值进行比较而

定性决定所述样本内分析物的存在与否。

11. 根据权利要求 9 所述的器件,其特征在于,

所述处理还实施如下过程:将最终测定值代入预先计算的定量曲线中而定量分析所述样本内分析物。

12. 根据权利要求 1 所述的器件,其特征在于,

所述光源部还包括光分配器。

13. 根据权利要求 1 所述的器件,其特征在于,

所述器件是对分析物的定性或者定量检测用器件。

14. 根据权利要求 5 所述的器件,其特征在于,

所述器件是用于检测样本内多个分析物的多重检测用器件。

15. 根据权利要求 1 所述的器件,其特征在于,

照射于所述检查区域和背景区域的光和照射于所述对照区域和背景区域的光是相同光。

16. 一种样本内分析物的分析方法,其中,

包括如下步骤:

(a) 将样本使用于所述权利要求 1 至 15 中任一项所述的器件的步骤;

(b) 由在所述器件的最少 $n+1$ 个受光部检测的光,决定所述检查区域和对照区域的最终测定值的步骤;以及

(c) 由所述最终测定值,决定所述样本内所述分析物的存在与否或者量的步骤。

用于检测样本内分析物的器件及方法

技术领域

[0001] 本发明是涉及用于检测样本内分析物的器件及分析方法。

[0002] 相关专利申请

[0003] 本专利申请要求于 2013 年 4 月 23 日在大韩民国特许厅提出的大韩民国专利申请第 10-2013-0044971 号及于 2014 年 4 月 2 日在大韩民国特许厅提出的大韩民国专利申请第 10-2014-0039299 号的优先权,本说明书作为参照而引用上述专利申请的公开内容。

背景技术

[0004] 基于光学方法的物质分析利用吸光 (absorbance)、荧光 (fluorescence)、磷光 (phosphorescence)、化学发光 (chemiluminescence)、反射率 (reflectance)、浊度 (turbidity)、折射率 (refraction)、散射 (scattering) 等原理,为了使用这些光学原理来进行活体物质分析,大多情况下,使用放射线物质、酶、荧光物质、化学发光物质、金纳米粒子、碳黑、乳胶粒子 (Latex Particle)、量子点 (quantum dot) 等标记物。对于由标记物显示出的光学现象的检测,根据其检测方法也可以用肉眼判断反应与否,若为了获得更具定量性的结果,则应使用分析装置。在活体物质的光学测定中,根据活体物质的浓度,信号 (signal) 的强度显示得不同,这种信号大部分设定相对于噪波 (noise) 而言的基准而测定,只有这样有效测定信号与噪波之比 (signal-to-noise) 才能提高准确度。为了信号与噪波之比的测定,一般将发生反应前的初始值补正 (initial calibration) 或背景补正 (background calibration) 等方法单独使用或者混合使用。

[0005] 作为利用如上所述的原理的活体物质的分析方法,有放射免疫分析法 (radioimmunoassay)、酶联免疫分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay)、粒子凝集分析法 (particle agglutination assay)、化学发光免疫分析法 (chemiluminescent immunoassay)、实时聚合酶链反应 (real-time polymerase chain reaction)、流式细胞术 (flow cytometry)、免疫层析法 (immunochromatography) 等,这些并不局限于物质的分析,还被利用于疾病检查或诊断等。这种物质分析方法可大致分为仅在溶液相 (solution phase) 中进行反应的均相分析法 (homogeneous assay) 和分析物质或标记物以固相 (solid phase) 被分离的异相分析法 (heterogeneous assay)。用于异相分析法的固相,有聚苯乙烯材质的塑料板或微粒 (microparticle)、硝化纤维等膜 (membrane)、磁性粒子 (magnetic particle)、玻璃载片 (glass slide) 等。

[0006] 在免疫层析法中,作为固相使用多孔膜,作为标记物使用金纳米粒子或乳胶粒子等而进行反应之后,以标记物通过抗原-抗体反应积累在检查线的方式测定反应。这种免疫层析法操作简单,根据标记物可以用肉眼容易观察,因此在怀孕或排卵的自行测定、药物滥用检查、糖化血红蛋白检查、心血管疾病检查、感染性疾病检查等中多元化使用。免疫层析除了检查抗原-抗体反应的检查区域之外,还包括能够验证反应是否正常进行的对照区域,若样本的量少或者反应没有正常进行,则对照区域中可能会不显示信号;在样本内的分析物质的浓度高的情况下,由于前带现象 (prozone phenomenon),对照区域

的信号可能会减弱或不显示。与免疫层析相关的技术已在美国授权专利 US5, 073, 484、US5, 591, 645、US5, 559, 041、US6, 485, 982 等多个文献中公开。除了使用多孔膜的免疫层析法之外,对塑料表面进行精细加工而可使溶液通过毛细现象移动的具有一定结构的微流控(microfluidics)方式也是可以在现场简单分析样本的方法。与此相关的示例记载在美国授权专利 US6, 767, 510、US8, 025, 854 等多个文献中。

[0007] 另外,作为标记物使用金纳米粒子或乳胶粒子等的情况下,还可以用肉眼确认反应。但是,在肉眼检查的情况下,得不到定量性结果,根据测定者的主观,检查结果可能会不同,由于检查者的错误引起的异常反应检测或准确检查时间的测定等较困难,因此根据能够分析这些的装置的需求,正在开发多种技术及产品。

[0008] 作为这种分析装置及分析方法的示例,有利用包括 CCD(Charge-Coupled Device, 电荷耦合器件)或 CMOS(Complementary metal-oxide-semiconductor, 互补金属氧化物半导体)等图像元件的分析装置,捕捉反应器件的图像之后,分析信号和噪波的分析装置及分析方法,并且已经有多个产品被商业化。但是这种分析装置及分析方法存在如下缺点:为了确保优质图像质量,在反应器件和摄像装置之间需要隔开一定距离,因此难以实现超小型化;为了图像元件及图像分析,电力消耗相对大且需要使用贵的部件。

[0009] 作为另一示例,还有在测定反应器件的反应时,以光源和受光部移动扫描的方式或者以固定光源和受光部的方式测定信号和噪波的分析装置及分析方法。光源和受光部扫描反应器件的方式,由于可以使用一个光源和一个受光部,具有可以减小由光源或受光部的偏差引起的误差的优点,但存在需要用于移动反应器件或光学部的驱动装置而难以实现超小型化,由于需要从扫描反应结果的图表中计算背景噪波,故其过程复杂且困难的缺点。相反地,固定光源和受光部及反应器件的方式,具有可以实现超小型化且测定简单的优点,但存在可以测定检查区域或对照区域和背景噪波的光源和受光部的结构不简单,只有解决了光源和受光部的部件偏差才能进行准确检查的缺点。

[0010] 美国授权专利 US5, 580, 794 和 US5, 837, 546 对通过 LED(light-emitting diode: 发光二极管)光源和受光部在带上由反射率检测反应的一次性分析装置进行了记载。但是在上述专利中并没有提及可以测定背景噪波的光学排列和方法,因此只能用初始值补正来计算结果值。在这种情况下,存在由血红蛋白或胆红素等带颜色的样本内的妨碍物质导致错误结果的可能性,因此可使用的范围非常有限。

[0011] 美国授权专利 US6, 235, 241 对通过 LED 光源和受光部在带上由透过率检测反应的分析装置进行了记载,但并没有提及可以有效补正光源和背景噪波的方法,在利用透过率的情况下,存在不能使用在一个平面上的印刷电路板(PCB, Printed circuit board)而变得复杂的缺点。

[0012] 美国授权专利 US7, 317, 532 对通过 LED 光源和受光部在带上由反射率检测反应的光学排列进行了记载。即,以如下方式构成:在 3 个排成一列的 LED 光源中,中间的 LED 光源照射在对照区域和检查区域之间的背景区域之后,在与对照区域和检查区域对应的两个受光部检测,与对照区域和检查区域对应的 LED 光源照射于带而将其结果发送至受光部之后,将信号和噪波补正而计算。但是,这种光学排列不使用对应于背景区域的受光部,而是使用检查区域和对照区域的受光部,因此在准确补正方面受限。

[0013] 美国授权专利 US7, 499, 170 对通过一个 LED 光源和两个受光部在带上设定背景区

域而由反射率检测反应的分析装置进行了记载,但存在如下缺点:由于未包括对照区域,只能在一个检查区域检测信号,故在用于检测检查错误或者多种检查时难以适用,只可以用于一个检查区域。

[0014] 在上文中提及的分析装置及方法除上述缺点之外,还存在没有将光源间的光亮强度和受光部以同等条件补正而缩小偏差的缺点。

[0015] 在本说明书的全文中参照了多篇论文及专利文献,并标注了其引用出处。所引用的论文及专利文献的公开内容的全部在本说明书中作为参照而引用,更加明确地说明本发明所属技术领域的水平及本发明的内容。

发明内容

[0016] 本发明人为开发将在分析或者检测样本内分析物的器件中产生的反应的信号以固定光源部和受光部的方式测定的超小型分析装置及分析方法做出了努力。最终,本发明人研究出了在空间上划分为检查区域、对照区域及背景区域而以光学方式显示反应的检查器件通过由 n 个光源部及最少 $n+1$ 个受光部构筑的分析装置可有效分析的方法,从而完成了本发明。

[0017] 因此,本发明的目的在于提供用于检测样本内分析物的器件。

[0018] 本发明的另一目的在于提供样本内分析物的分析方法。

[0019] 可以通过下述发明的详细说明、权利要求书及附图,进一步明确本发明的另一目的及优点。

[0020] 根据本发明的一个方式,本发明提供用于检测样本内分析物 (analyte) 且包括如下部分的器件:

[0021] (a) n 个光源部,其包括产生光 (light) 的光源;

[0022] (b) 反应带,其包括 (i) 被照射 (illumination) 来自上述光源部的光并包括与上述分析物反应的物质的检查区域、(ii) 被照射来自上述光源部的光并包括对照物质的对照区域、及 (iii) 被照射来自上述光源部的光的背景区域;上述检查区域和背景区域被照射相同的一个光,上述对照区域和背景区域被照射相同的一个光,上述检查区域及对照区域共享上述背景区域;照射于上述检查区域和背景区域的光和照射于上述对照区域和背景区域的光相同或者不同;以及

[0023] (c) 最少 $n+1$ 个受光部,其检测分别由上述反应带的检查区域、对照区域及背景区域发射 (emitting) 的光,并与上述检查区域、对照区域及背景区域分别对应 (corresponding) 地排列 (arrangement)。

[0024] 根据本发明的另一方式,本发明提供包括如下步骤的样本内分析物的分析方法:

[0025] (a) 在上述本发明的器件使用样本的步骤;

[0026] (b) 由在上述器件的最少 $n+1$ 个受光部检测的光,决定上述检查区域和对照区域的最终测定值的步骤;以及

[0027] (c) 由上述最终测定值,决定上述样本内上述分析物的存在与否或者量的步骤。

[0028] 本发明人为开发将在分析或者检测样本内分析物的器件中产生的反应的信号以固定光源部和受光部的方式测定的超小型分析装置及分析方法做出了努力。最终,本发明人研究出了在空间上划分为检查区域、对照区域及背景区域而以光学方式显示反应的检查

器件通过由 n 个光源部及最少 $n+1$ 个受光部构筑的分析装置可有效分析的方法,从而完成了本发明。

[0029] 本发明的器件包括 n 个光源部,包括检查区域、对照区域和背景区域的反应带,以及最少 $n+1$ 个受光部。 n 是 1 以上的整数。

[0030] 光源部包括产生光的光源。根据本发明,光源部光源包括本领域中公知的多种光源,例如 LED(light emitting diode,发光二极管)及激光器可以被用作光源。

[0031] 本发明的检查区域包括与存在于样本内的分析物反应的物质。与分析物的反应包括多种反应,根据一实现例,与分析物的反应是结合(binding)。

[0032] 根据本发明的一实现例,与检查区域的上述分析物反应的物质是与分析物结合的捕获剂。用于本发明的捕获剂的例子是蛋白质、基因、脂质、碳水化合物、维他命、药物或者将这些接合的物质。根据一实现例,捕获剂固定于检查区域,这种固定通过吸附、疏水性相互作用、氢键、离子结合及/或者共价结合(covalent bond)的方法实现。

[0033] 用于本发明的捕获剂的具体例子为抗体、受体(receptor)、链霉亲和素(或者抗生物素蛋白)、适配体(aptamer)、凝集素、DNA、RNA、配体、辅酶(coenzyme)、无机离子、酶辅因子(cofactor)、糖、脂质或者基质(substrate)。

[0034] 根据本发明的一实现例,在与上述检查区域所包括的分析物反应的物质为捕获剂的情况下,本发明的器件还包括与分析物结合的检测剂。例如,在上述捕获剂为捕获抗体的情况下,上述检测剂为检测抗体。在利用免疫层析的快速试剂盒(Rapid Kit)中,上述检测剂包含于接合垫(conjugated pad)。

[0035] 根据本发明的一实现例,上述检测剂在样本内存在分析物的情况下,结合有可产生表明(indicating)该分析物存在的光学信号的标记物(label)。标记物包括本领域中公知的多种标记物,例如包括酶(例如碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶、 β -葡萄糖苷酶及细胞色素 P450)、金粒子(例如,金纳米粒子)、银粒子(例如,银纳米粒子)、荧光物质(例如,荧光素(fluorescein)、FITC(fluorescein Isothiocyanate,异硫氰酸荧光素)、罗丹明 6G(rhodamine6G)、罗丹明 B(rhodamineB)、TAMRA(6-carboxy-tetramethyl-rhodamine,6-羧基四甲基罗丹明)、Cy-3、Cy-5、Texas Red(德克萨斯红)、Alexa Fluor、DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole,4,6二脒基-2-苯基吲哚)及 Coumarin(香豆素))、包括荧光染料或色素的乳胶粒子、化学发光物质及色素(例如,栀子色素、伊红、酚红、溴酚蓝、间甲酚紫(m-Cresol purple)及溴甲酚紫(Bromocresol purple))。

[0036] 本发明的对照区域是用于确认在本发明中反应是否正常进行的区域。对照区域可以以多种方式构成,例如在用夹心免疫分析方式检测分析物的情况下,可以以对标记-检测抗体(例如,金粒子-检测抗体复合体)具有结合能的抗体来构筑对照区域。与样本内分析物的存在与否无关地,若利用本发明的器件实施本发明的方法,则会在对照区域发生反应,若不发生这种反应,则检查区域中的结果被判断为错误。

[0037] 在本发明中利用检测剂的情况下,上述对照区域所包括的对照物质是与上述检测剂结合的物质。例如,在上述检测剂是检测抗体的情况下,上述对照物质是对检测抗体具有结合能的抗体。

[0038] 根据本发明的一实现例,本发明的背景区域具有与检查区域和对照区域的背景环境(即,在检查区域和对照区域中除用于反应的物质之外的环境)具有相同环境。例如,在

检查区域和对照区域构成在白色的硝化纤维膜上的情况下,背景区域构成在白色的硝化纤维膜上,可以不经另行处理而直接使用,或者可以为了非特异反应或溶液展开而在特别研制的溶液中浸湿硝化纤维膜整体后将其干燥而使用。根据本发明的具体的实施例,背景区域为了使光源部的光吸收最小化而使用白色。

[0039] 根据本发明,反应带包括来自于上述光源部的光所照射的背景区域;上述检查区域和背景区域被照射相同的一个光,上述对照区域和背景区域被照射相同的一个光,上述检查区域及对照区域共享上述背景区域;照射于上述检查区域和背景区域的光和照射于上述对照区域和背景区域的光可以相同或者不同。

[0040] 根据本发明的优选实现例,照射于上述检查区域和背景区域的光和照射于上述对照区域和背景区域的光相同。本说明书中的用语“相同光”具有不仅包括来自一个光源部的光源的光,还包括光学特性(例如,波长)相同的光的含义。

[0041] 包括上述检查区域、背景区域及对照区域的反应带,可以由硝化纤维等多孔膜、纤维纸、玻璃纤维、塑料及玻璃等多种材质制作。在反应带中,样本及检测剂的流动和反应可以通过色层分析、毛细现象、混合搅拌及扩散等多种方式执行。

[0042] 构成本发明的器件的最少 $n+1$ 个受光部检测分别由反应带的检查区域、对照区域及背景区域发射的光,与检查区域、对照区域及背景区域分别对应地排列。即,各个受光部检测分别由检查区域、对照区域及背景区域发射的光。

[0043] 本发明的最大特征在于利用 n 个光源部及最少 $n+1$ 个受光部,由于这种结构(configuration)特征会发生下述的多种技术上的优点。

[0044] 作为受光部可利用的,例如包括光电二极管(photodiode)、光电晶体管(phototransistor)及光敏电阻器(photoresistor)。

[0045] 本发明的器件可以良好地构筑将检查区域设为多个的多重检测用器件。另外,为了说明本发明的工作方式,若假定本发明为检测一种分析物的情况,即作为单一检测用器件构筑的情况,则反应带分别包括一个检查区域、对照区域及背景区域。在该情况下,光源部包括第一光源部及第二光源部,受光部包括第一受光部、第二受光部及第三受光部,来自第一光源部的光照射检查区域和背景区域,来自第二光源部的的光照射背景区域和对照区域,由检查区域、背景区域及对照区域发射的光分别在第一受光部、第二受光部及第三受光部检测(参照图1)。通过这种方式,检查区域及对照区域将共享背景区域,最终可以除去背景补正和背景噪声。

[0046] 本发明的器件的优点之一是可以良好地构筑将检查区域设为多个的多重检测用器件。根据本发明的一实现例,在本发明的器件中,检查区域或背景区域在两个以上,或者检查区域及背景区域在两个以上。在多重检测用器件的情况下,也可以利用一个对照区域充分实施。根据本发明的一实现例,在上述两个以上的检查区域中,一个检查区域和对照区域共享背景区域。

[0047] 只要不背离共享背景区域这一原则,包括多个检查区域的本发明的器件可以用多种方式制作(参照图3及图4)。

[0048] 如图3所示,本发明的器件可以由4个光源部、两个检查区域、两个背景区域、一个对照区域、5个受光部构成。第一检查区域和第二检查区域共享第一背景区域,第二检查区域和对照区域共享第二背景区域。

[0049] 在另一示例中,图 4 的本发明的器件可以由 3 个光源部、两个检查区域、一个背景区域、一个对照区域、4 个受光部构成。第二检查区域和对照区域共享背景区域。

[0050] 根据本发明的一实现例,本发明的器件还包括如下处理:在上述检查区域和对照区域中发生反应之前,利用在上述受光部检测的值(初始值)将在与上述背景区域对应的受光部检测的值补正为相同值,利用上述背景区域的反应前补正值和在与上述检查区域和对照区域对应的受光部检测的值获得上述检查区域和对照区域的反应前补正值。

[0051] 根据本发明的一实现例,上述处理还实施如下过程:在上述检查区域和对照区域中发生反应之后,利用上述背景区域的反应前补正值或者反应后补正值和在与上述检查区域和对照区域对应的受光部反应后检测出的值,获得上述检查区域和对照区域的反应后补正值。

[0052] 根据本发明的一实现例,上述处理还实施如下过程:将利用上述检查区域和对照区域的反应前补正值及反应后补正值的方程式(equation)的值决定为上述检查区域和对照区域的最终测定值。

[0053] 用于获得最终测定值的方程式可以任意设定,简单的方程式示例是“检查区域的最终测定值=检查区域的反应前补正值-检查区域的反应后补正值”,“检查区域的最终测定值=检查区域的反应前补正值/检查区域的反应后补正值”,“对照区域的最终测定值=对照区域的反应前补正值-对照区域的反应后补正值”,或者“对照区域的最终测定值=对照区域的反应前补正值/对照区域的反应后补正值”。

[0054] 根据本发明的一实现例,上述处理还实施如下过程:将最终测定值与预定(predetermined)截止值进行比较而定性决定上述样本内分析物的存在与否。

[0055] 根据本发明的一实现例,上述处理还实施如下过程:将最终测定值代入预先计算的定量曲线而定量分析上述样本内分析物。

[0056] 在下述实施例中,对本发明的补正方法和定性及定量分析方法进行详细说明。

[0057] 根据本发明的一实现例,上述光源部还包括光分配器。如图 2 所示,在使用光分配器的情况下,一个光源部可以在同等条件下照射检查区域、对照区域及背景区域。在本发明中,大致上,在光源部的个数是 n 个的情况下,受光部个数是 $n+1$ 个。另外,在本发明中利用光分配器的情况下,在光源部的个数是 n 个的情况下,受光部个数大于 $n+1$ 个。

[0058] 根据本发明的一实现例,本发明的器件除上述的光源部、反应带及受光部之外,还包括用于测定控制及计算的微控制器(microcontroller,例如包括 CPU(central processing unit)、闪存、ADC(analog-to-digital converter,模拟-数字转换器)及比较器(comparator)),电压调节器及/或者显示器(例如,LCD)。根据一实现例,本发明的器件还包括探测开关、电池及/或者串行编程接口。

[0059] 本发明可以用于对分析物的定性或者定量检测。

[0060] 本发明很好地用于检测样本内多个分析物的多重检测。

[0061] 在本发明中可利用的样本的示例为血液、血浆、血清、尿液、淋巴液、骨髓液、唾液、牛奶、眼球液、精液、脑提取物、脊髓液、关节液、胸腺液、腹水、羊膜液、细胞组织液、缓冲液、自来水、污水、河水、或者地下水。

[0062] 在本发明中作为分析对象物的分析物包括蛋白质、缩氨酸、核苷酸序列、基因、脂质、碳水化合物、维他命、药物、有机化合物、无机物及液化的气体,但不限于此。

[0063] 本发明可以用于疾病的诊断及预测、健康管理、亲子鉴定、体质确认、发酵工程、生命工程、食品安全性检查、环境分析、化妆品分析及化合物分析等多种领域中。

[0064] 本发明的特征及优点的简单描述如下：

[0065] (a) 本发明的最大特征在于利用 n 个光源部及最少 $n+1$ 个受光部。

[0066] (b) 根据本发明，能够有效地补正背景噪波而准确地测定分析物。

[0067] (c) 根据本发明，能够定性或者定量地分析样本内分析物。

[0068] (d) 本发明在用于分析样本内两种以上的分析物的多重检测（检查区域在两个以上）方面也显示出优异的工作性。

附图说明

[0069] 图1是关于本发明的器件的具体的实现例的简要图。1：检查区域，3：对照区域，4：背景区域，10：反应带，11：第一光源部，12：第二光源部，21：第一受光部，24：第二受光部，23：第三受光部，31：检查线，33：对照线。

[0070] 图2是关于利用光分配器的本发明器件的另一实现例的简要图。1：检查区域，3：对照区域，4：背景区域，10：反应带，11：光源部，21：第一受光部，24：第二受光部，23：第三受光部，31：检查线，33：对照线，40：光分配器。

[0071] 图3是关于具有两个检查区域、两个背景区域及一个对照区域的本发明器件的实现例的简要图。1：第一检查区域，2：第二检查区域，3：对照区域，5：第一背景区域，4：第二背景区域，10：反应带，11：第一光源部，12：第二光源部，13：第三光源部，14：第四光源部，21：第一受光部，25：第二受光部，22：第三受光部，24：第四受光部，23：第五受光部，31、32：检查线，33：对照线。

[0072] 图4是关于具有两个检查区域、一个背景区域及一个对照区域的本发明器件的实现例的简要图。1：第一检查区域，2：第二检查区域，3：对照区域，4：背景区域，10：反应带，11：第一光源部，12：第二光源部，13：第三光源部，21：第一受光部，22：第二受光部，24：第三受光部，23：第四受光部，31、32：检查线，33：对照线。

[0073] 图5是关于本发明器件的组件的具体的实现例的简要图。两个光源部分别与检查区域和对照区域对应而位于检查区域和对照区域的上部。10：反应带，11：第一光源部，12：第二光源部，21：第一受光部，24：第二受光部，23：第三受光部，31：检查线，33：对照线，50：器具部，51、52：隔壁。

[0074] 图6是关于本发明器件的组件的其他实现例的简要图。3个光源部分别与检查区域、背景区域及对照区域对应而位于检查区域、背景区域及对照区域的上部。10：反应带，11：第一光源部，12：第二光源部，21：第一受光部，24：第二受光部，23：第三受光部，31：检查线，33：对照线，50：器具部，51、52：隔壁。

[0075] 图7是关于本发明器件的具体的实现例的构成及回路的简要图。61、62：LED，71、73、74：光晶体管 (Phototransistor)，101：探测开关 (detector Switch)，102：开始开关 (StartSwitch)，103：LCD (Liquid Crystal Display)，106：电压调节器 (regulator)，107：钱币型电池，108：微控制器 (Microcontroller)，109：串行编程接口 (Serial Programming Connector)。

[0076] 图8是根据本发明器件的具体的实现例的PCB (printed circuit board, 印刷电路

板)的简要图,在上部(A)设有LCD和开始开关,在下部(B)设有微控制器、电池、光源部及受光部。100:PCB,102:开始开关(StartSwitch),103:LCD(LiquidCrystalDisplay),106:电压调节器(Regulator),107:钱币型电池,108:微控制器(Microcontroller),109:串行编程接口。

[0077] 图9是根据本发明器件的具体的实现例的反应带壳体插入于器具部的状态下的PCB上部(A)及下部(B)的简要图,器具部位于PCB的下部。100:PCB,102:开始开关(Start Switch),103:LCD(Liquid Crystal Display),106:电压调节器(Regulator),107:钱币型电池,108:微控制器(Microcontroller),109:串行编程接口,114,115:器具部,200:反应带壳体,205:样本点滴部。

[0078] 图10是关于根据本发明器件的具体的实现例的反应带壳体(A)和带壳体被插入的测定仪器(B)的简要图。200:反应带壳体,201:检查线,203:背景区域,204:对照线,205:样本点滴部,300:测定仪器壳体,302:开始按钮,303:LCD,304:分离按钮。

[0079] 图10是示出根据本发明的器件的具体的实现例的关于黄体化激素(LH:Luteinizing hormone)检查带的简要图。其为示出利用黄体化激素而测定的结果的图。

[0080] 图11是示出根据本发明的器件的具体的实现例利用黄体化激素(LH:Luteinizing hormone)检查带而测定的结果的图。

具体实施方式

[0081] 下文中,通过实施例对本发明进行更详细的说明。这些实施例仅用于对本发明进行更详细的说明,根据本发明的主旨,本发明的范围并不限于这些实施例,这对于具有本领域中常规知识的人而言是显而易见的。

[0082] 实施例

[0083] 本发明的具体实施例如下:

[0084] 本发明的最大特征是受光部21、22、23、24、25比光源部11、12、13、14多排列一个以上。即,若使用n个光源部11、12、13、14,则受光部21、22、23、24、25最少由n+1个构成。根据本发明的器件的构成方式,一个光源部在同等条件下照射检查区域和背景区域或者对照区域和背景区域(图1及图3)或者两个检查区域(图4)。

[0085] 在使用光分配器40的情况下,一个光源可在同等条件下照射检查区域1、对照区域3及背景区域4(图2)。

[0086] 受光部21、22、23、24、25为了检测从光源部11、12、13、14照射的光的化学反应,应与检查区域1、2和对照区域3以1:1对应排列,与至少一个以上的背景区域4、5以1:1对应排列。

[0087] 在本发明中,器件的检查区域1、2、对照区域3及背景区域4、5可通过n个光源部11、12、13、14和n+1个以上的受光部21、22、23、24、25的初始值补正而被标准化。即,若对发生反应前的器件,光源在同等条件下照射检查区域1、2、对照区域3及背景区域4、5组合,则与各区域以1:1对应的受光部21、22、23、24、25将检测光,两个区域被一个光源以同等条件被照射,各光源部11、12、13、14共享共有区域,因此可进行标准化。

[0088] 图1是对这种分析方法的示例,在由一个检查线31和一个对照线33构成的免疫层析带10上,两个光源部11、12以同等条件照射检查区域1、对照区域3及背景区域4而由

3 个受光部 21、23、24 进行检测。此时,第一光源部 11 照射检查区域 1 和背景区域 4,并且由针对检查区域 1 的第一受光部 21 和针对背景区域 4 的第二受光部 24 进行检测。第二光源部 12 照射于对照区域 3 和背景区域 4 而由第二受光部 23 和第三受光部 24 进行检测。

[0089] 图 7 是关于利用本发明器件的具体的实现例所涉及的光源部和受光部的器件的构成及回路的简要图,图 8 是本发明器件的具体的实现例所涉及的 PCB(printed circuit board) 的上部和下部的简要图,图 9 是本发明器件的具体的实现例所涉及的反应带壳体插入于器具部的状态下的 PCB 的简要图,图 10 是关于本发明器件的具体的实现例所涉及的反应带壳体和带壳体被插入的测定仪器的简要图。根据本发明的具体的实现例,在 PCB100 设有光源部 61、62、受光部 71、73、74、微控制器 108、电池 107、LCD103、开关 101、103 等构成部件。光源部可使用红色、绿色、蓝色、或者三色等多种类型,在本发明的具体的实现例中使用了绿色 LED(Light-Emitting Diode)。受光部可以使用光电晶体管(photo transistor)或光电二极管(Photo diode),在本发明的具体的实现例中使用了光电晶体管(photo transistor)。光源部的光照射于检查器件而被反射后,受光部收到信号,信号的计算及反应的控制通过微控制器 108 实现。根据本发明的具体的实现例、微控制器可以实现低电力、并且可以由用于演算的中央处理装置(CPU:Central Processing Unit)、模拟-数字转换器(ADC:Analog-Digital Converter)、模拟比较器(Comparator)、闪存(Flash Memory)、LCD 驱动器、串行通信接口(Serial Communication Interface)等构成。根据本发明的具体的实现例,可以使用电压调节器 106 将电压维持在一定水平,由此获得稳定的结果。根据本发明的具体的实现例,若反应器件 200 插入于测定仪器,则探测开关 101 被按下去,从而回路被连接由电池 107 供应电源而打开 LCD103。LCD 可以使用多种文字或图形来构成,可以表示检查的进行、结果错误。对于光源部和受光部的工作,若通过探测开关接入电源,则可以以多种方法进行,根据本发明的具体的实现例,按下开始按钮 302 而打开开始开关 103 后进行工作。根据本发明的具体的实现例,可以通过串行编程接口 109 与计算机等外部仪器连接而分析反应。若按下分离按钮 304,则测定结束的检查器件被分离。

[0090] 发生反应前的器件带为白色的硝化纤维膜,并且在彼此同等的条件下接收光线,第一光源部 11 及第二光源部 12 在彼此通用的背景区域 4 被照射光,因此可以通过多种方式对两个测定值进行标准化。如上所述,使用对对照区域 3 的标准化方式,能够使对第一受光部 21 和第三受光部 23 的值标准化,因此各个光源和受光部虽然使用了彼此不同的部件,但可以在反应前都进行标准化而进行初始值补正。

[0091] 发生反应之后,检查区域 1 的检查线 31 通过标记物而确定信号的强度,对照线 33 根据反应是否正常进行而显示对标记物的信号。发生反应之后的带不处于彼此同等的状态,可以通过多种方式由对在发生反应之前测定的初始值补正将发生反应之后测定的值定量化。

[0092] 在下文中对本发明的进行补正的方法的一例进行说明。

[0093] 如下表 1 所示,在对利用图 1 的器件而获得的测定值进行定义后,以如下方式执行初始值补正及背景补正等:

[0094] 表 1

[0095]

光源部	受光部	反应前受光部测定值		反应后受光部测定值	
		补正前	补正后	补正前	补正后
11	21	T_0	T'_0	T_t	T'_t
	24	BT_0	BT'_0	BT_t	BT'_t
12	23	C_0	C'_0	C_t	C'_t
	24	BC_0	BC'_0	BC_t	BC'_t

[0096] (a) 在发生反应之前,若反映对初始值补正的常数 a,则用相同值补正 BC_0 和 BT_0 ,由此能够补正光源部,若对被这样补正的光源部反映常数 b 和 c,则能够将受光部全部补正。由此,计算检查区域 1 和对照区域 3 中的测定值的计算方式如下。

$$[0097] \quad a = BC_0/BT_0, b = BT_0/T_0, c = BC_0/C_0$$

$$[0098] \quad BT'_0 = BT_0 \times a, T'_0 = T_0 \times a \times b, C'_0 = C_0 \times c$$

[0099] (b) 在发生反应之后,反映光源部及受光部补正常数 a、b、c 而计算检查区域 1 和对照区域 3 中的测定值,该计算方式如下。

$$[0100] \quad BT'_t = BT_t \times a, T'_t = T_t \times a \times b, C'_t = C_t \times c$$

[0101] (c) 对于补正的值,可以利用发生反应之前和发生反应之后的差异或比例,计算检查区域 1 的最终测定值 TI 和对照区域 3 的最终测定值 CI,该计算方式如下。

$$[0102] \quad TI = T'_0 - T'_t \quad CI = C'_0 - C'_t$$

[0103] 或者

$$[0104] \quad TI = T'_t / T'_0 \quad CI = C'_t / C'_0$$

[0105] 在下文中对本发明的补正方法的另一示例进行说明。

[0106] 如上述表 1 所示,定义利用图 1 的器件获得的测定值之后,可以以如下方式执行初始值补正及背景补正等:

[0107] (a) 在发生反应之前,对 BC_0 和 BT_0 进行平均而以相同值补正,由此能够补正光源部,对这样补正的光源部可补正受光部。检查区域 1 和对照区域 3 的测定值的计算方式如下。

$$[0108] \quad BT'_0 = CT'_0 = (BT_0 + BC_0) / 2$$

$$[0109] \quad T'_0 = T_0 \times BT'_0 / BT_0, C'_0 = C_0 \times BC'_0 / BC_0$$

[0110] (b) 在发生反应之后,对光源部及受光部进行补正而计算检查区域 1 和对照区域 3 的测定值,该计算方式如下。

$$[0111] \quad BT'_t = CT'_t = (BT_t + BC_t) / 2$$

$$[0112] \quad T'_t = T_t \times BT'_t / BT_t, C'_t = C_t \times BC'_t / BC_t$$

[0113] (c) 被补正的值利用发生反应之前和发生反应之后的差异或比例,计算检查区域 1 的最终测定值 TI 和对照区域 3 的最终测定值 CI,该计算方式如下。

$$[0114] \quad TI = T'_0 - T'_t \quad CI = C'_0 - C'_t$$

[0115] 或者

$$[0116] \quad TI = T'_t / T'_0 \quad CI = C'_t / C'_0$$

[0117] 以上述方式计算的测定值可以根据预先定好的截止 (cutoff) 数值用于定性分

析,或者可以被代入预先计算的定量曲线而计算定量值。此时,在对照区域测定的值可以用于验证反应或者分析前带现象 (prozone phenomenon);为了缩小反应带的偏差,在输入特定值之后,根据在对照区域测定的值校正检查区域的值。

[0118] 图 11 是示出利用根据本发明制作的黄体化激素 (LH:luteinizing hormone) 检查带而得到的测定结果。通过在硝化纤维膜 (Millipore) 的检查线固定山羊抗 α -LH 抗体 (Arista Biologicals),在对照线固定山羊抗 μ -小鼠 IgG(Arista Biologicals) 而制造黄体化激素 (LH) 检查带。背景区域由白色的硝化纤维膜构成,可以不经过另行处理而直接使用,或者可以为了非特异反应或溶液展开而在特别研制的溶液中浸湿硝化纤维膜整体后将其干燥而使用。根据本发明的具体的实例,为了使光源部的光吸收最小化。背景区域优选使用白色。为了检测黄体化激素,使用小鼠抗 β -LH 胶体金接合体 (Arista Biologicals) 而将其点滴在接合体垫 (Millipore) 进行干燥。将样本垫 (Millipore)、接合体垫、硝化纤维膜、吸收垫 (Millipore) 彼此重叠后以 4mm 长度剪断,组装在壳体之后,将样本添加在壳体的样本点滴部进行检查。图 11 的第二幅图是在检查线及对照线均发生反应的情况,示出样本内 LH 以截止值以上的值存在。图 11 的第四幅图是仅在对照线发生反应的情况,示出样本内 LH 以截止值以下的值存在。通过光源部的光照射在带的检查区域、对照区域及背景区域而被反射后由受光部检测检查结果,根据预先设定的截止数值呈阳性的情况下在 LCD 示出 YES(图 11 的第一张图),呈阴性的情况下在 LCD 示出 NO(图 11 的第三张图)。

[0119] 在本发明中对各测定值进行了校正,因此可以利用对照线和检查线的相对显色差异而在不预先设定截止值的情况下判断结果。即,以对检查区域 1 的最终测定值 (TI) 和对照区域 3 的最终测定值 (CI) 进行比较的方式将截止值按 CI 值的比例设定而不进行预先设定。例如,若将截止值设定为 CI 的 90%,则可以设定成 TI 在截止值以上时判断为阳性,在小于截止值时判断为阴性。

[0120] 如上所述,在本发明中对照区域、检查区域及背景区域以同等条件接收光照射,在各区域须对应受光部,受光部被排列成总是比光源多一个以上。若使用这种方法,如图 3 和图 4 所示,由两个以上的检查区域构成的器件也能够通过校正来准确地测定分析物。

[0121] 以上,对本发明的特征部分进行了详细说明,但这种具体技术对于本领域技术人员而言是仅仅是一实现例,本发明的范围显然不限于此。因此,本发明的实质性范围应由所附加的权利要求书和其等同物定义。

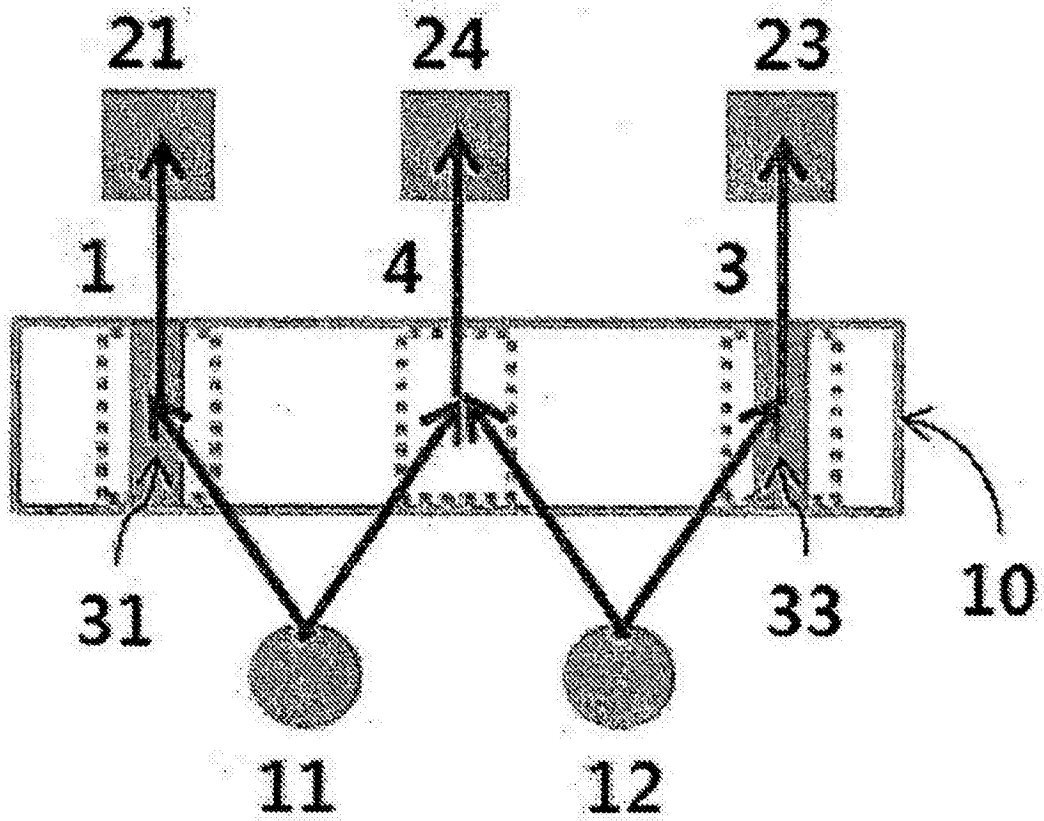


图 1

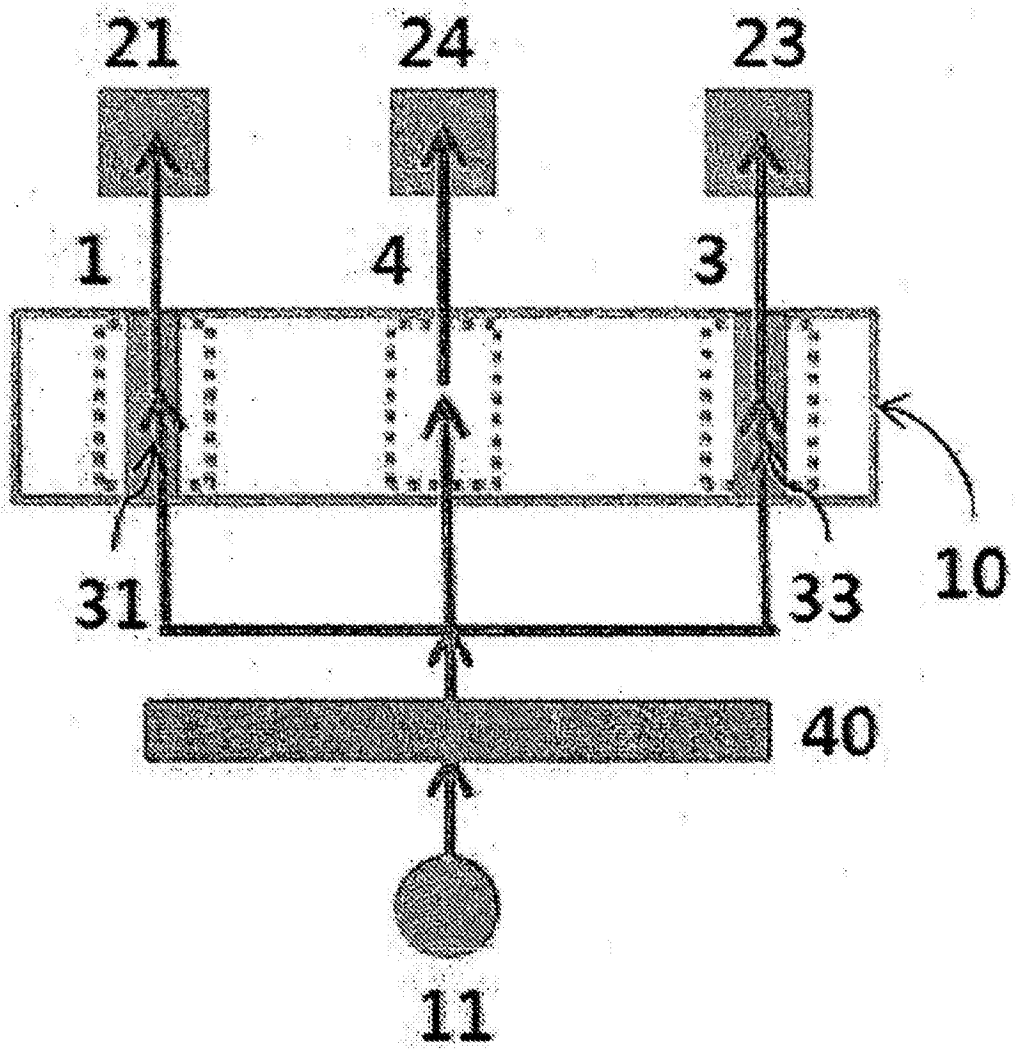


图 2

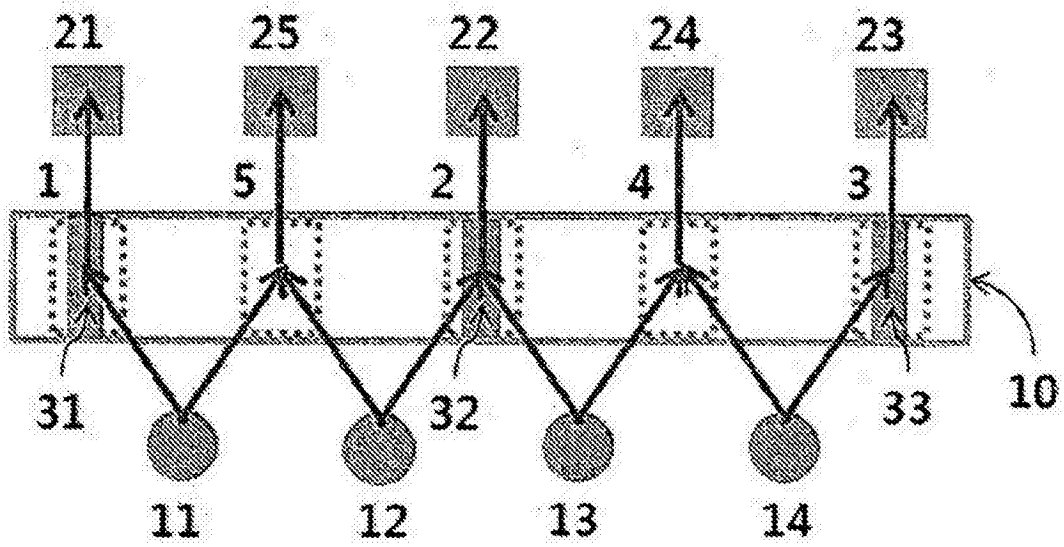


图 3

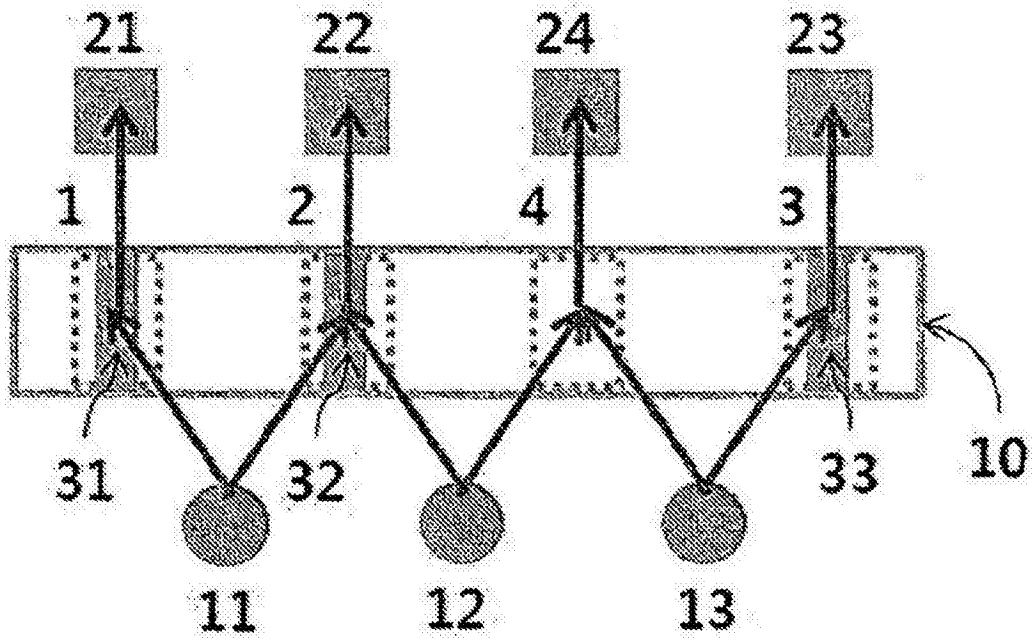


图 4

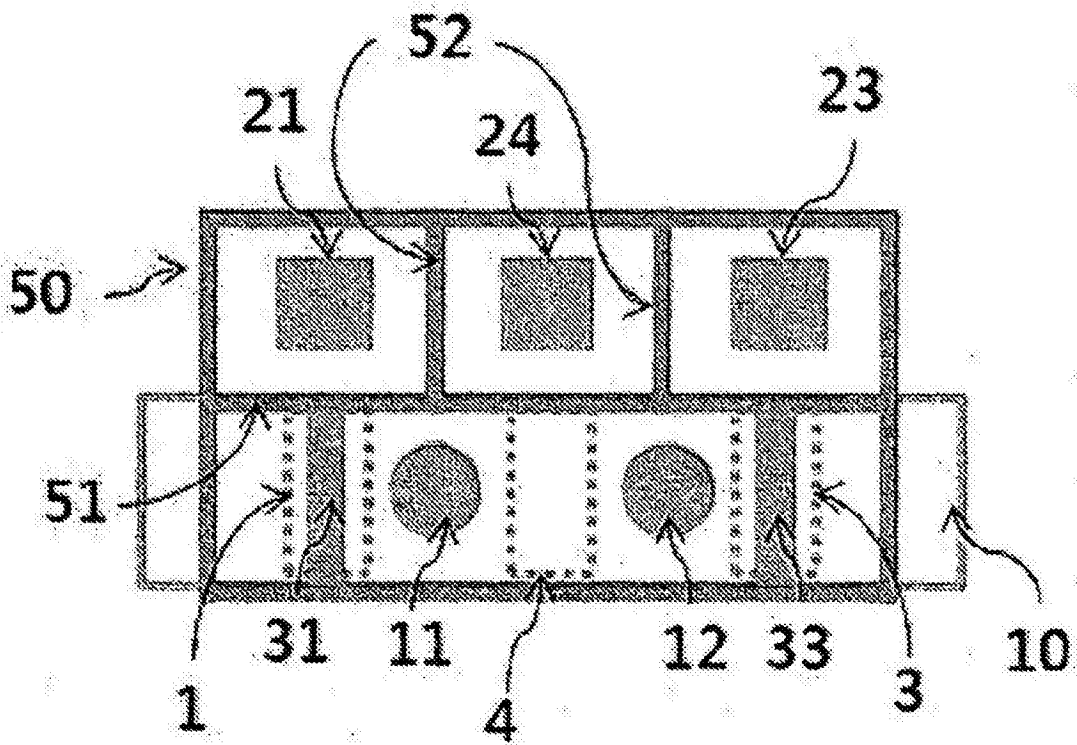


图 5

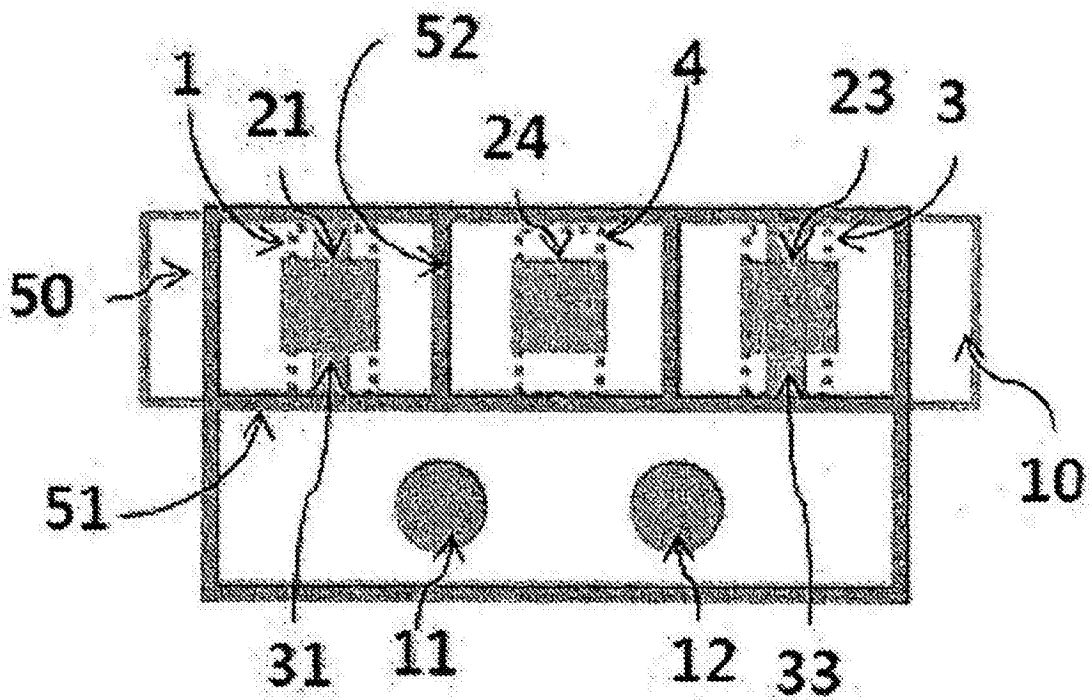


图 6

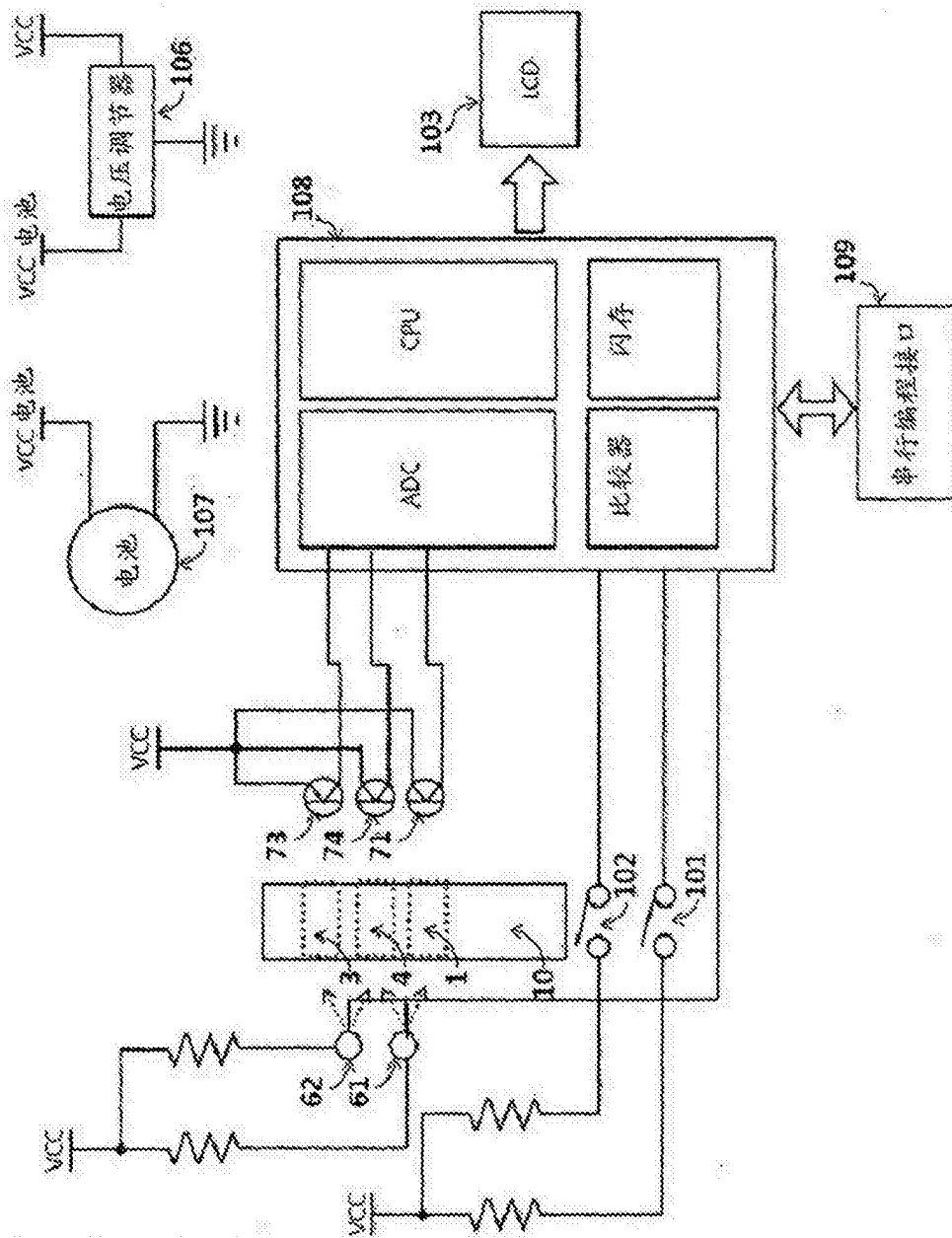


图 7

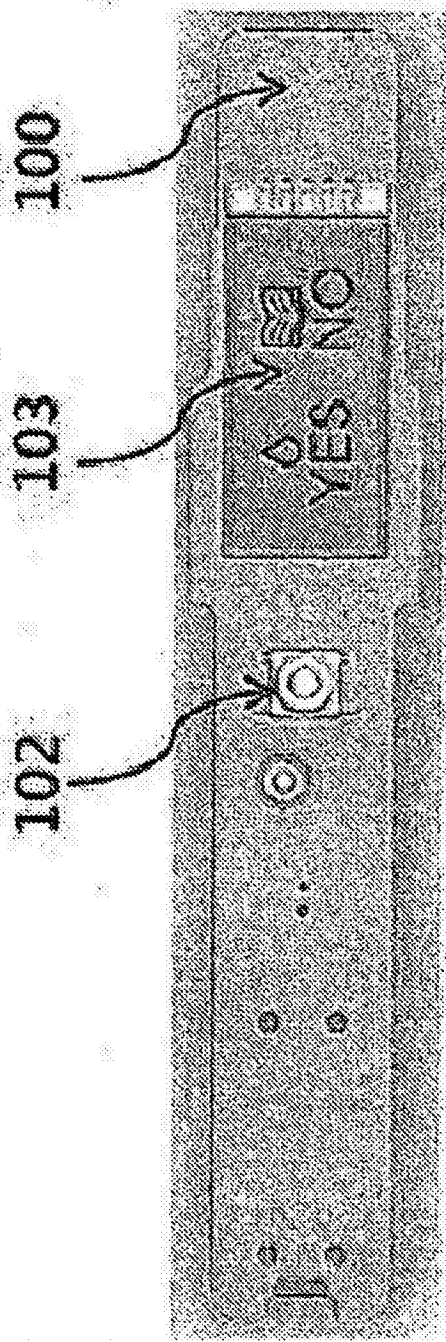


图 8a

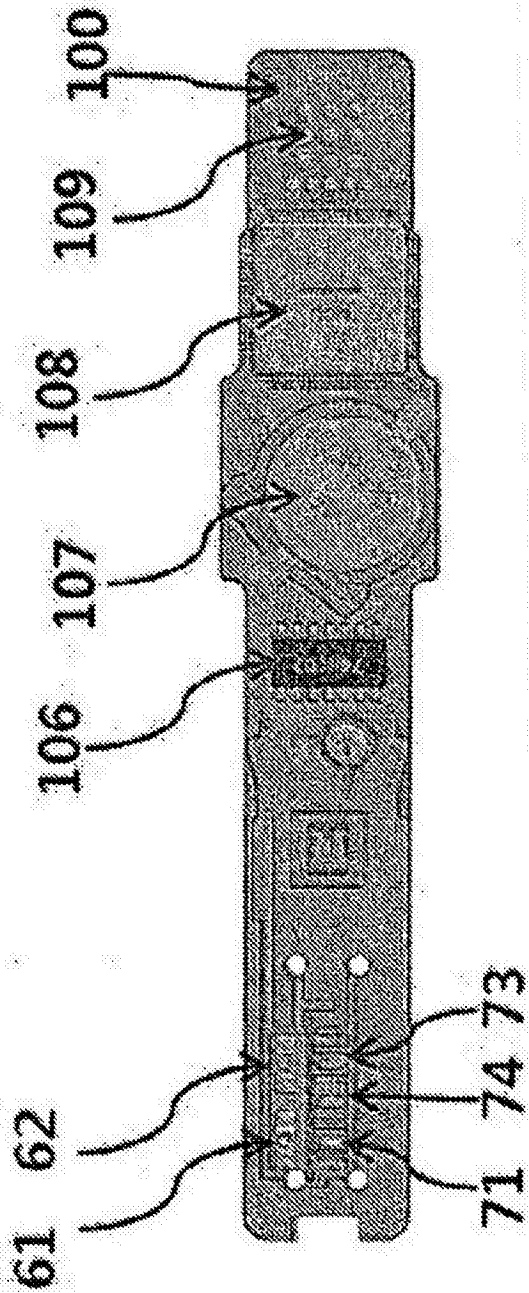


图 8b

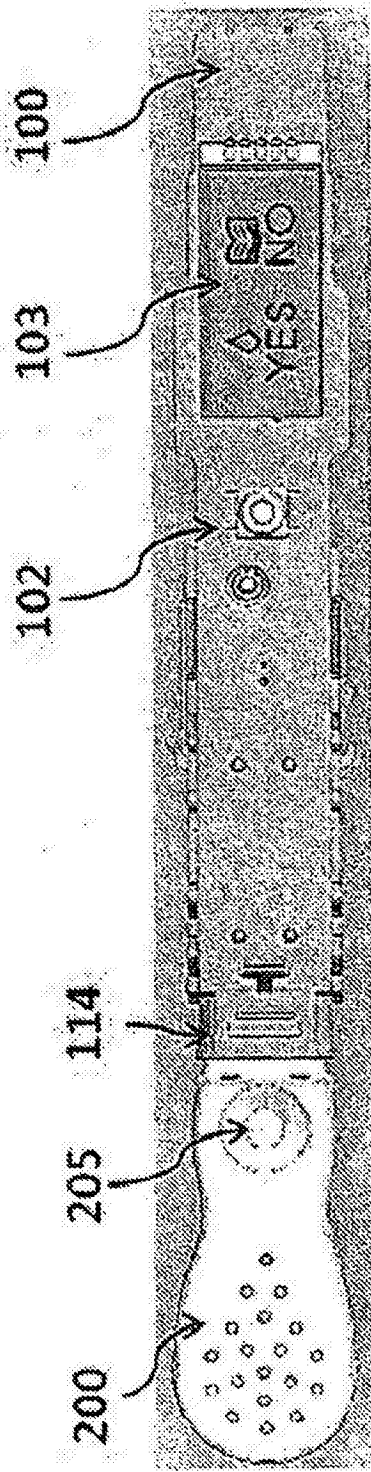


图 9a

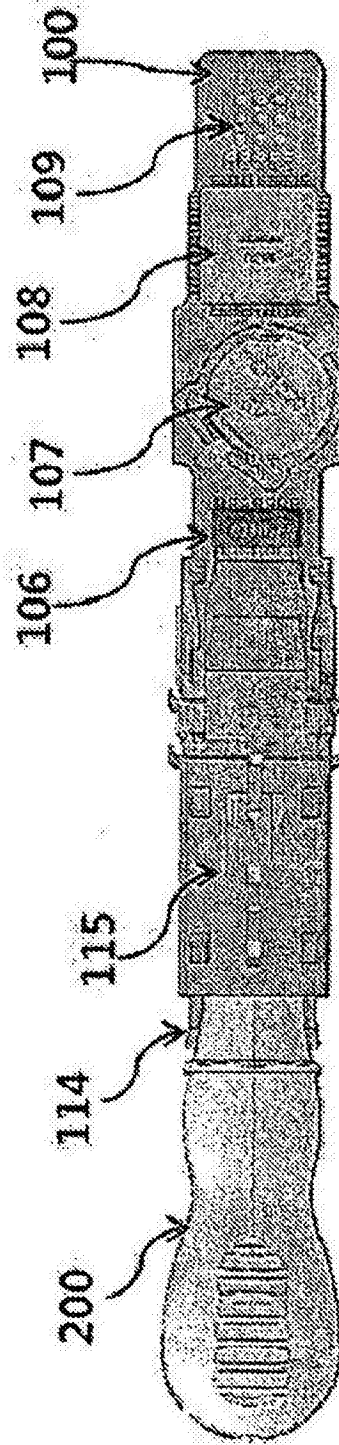


图 9b

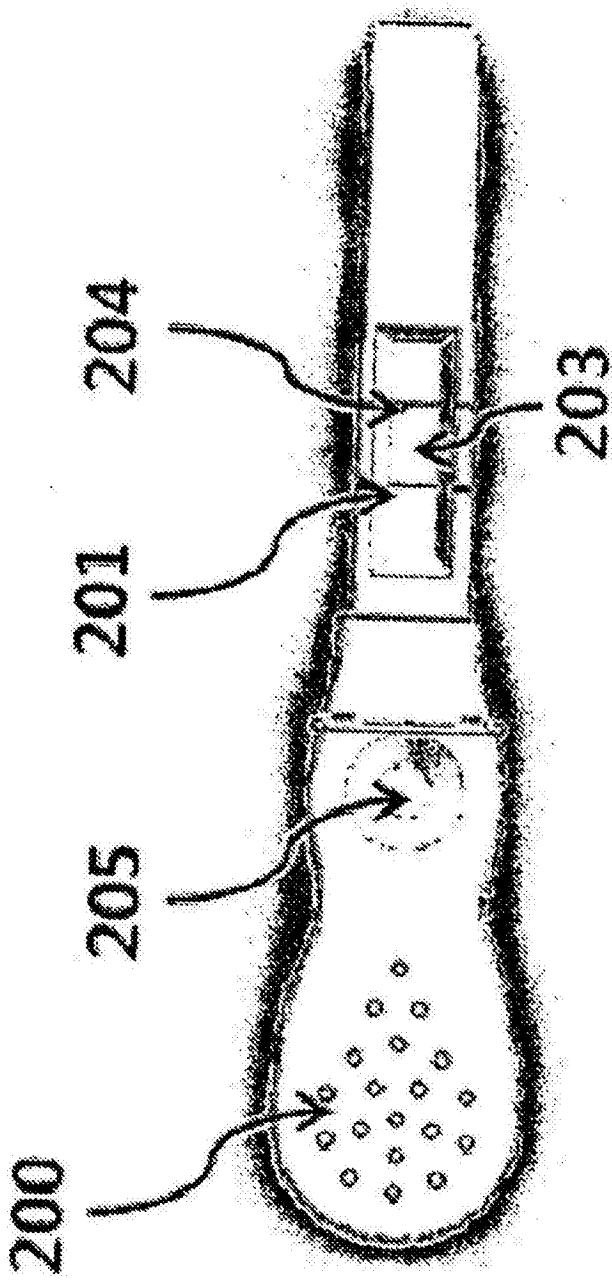


图 10a

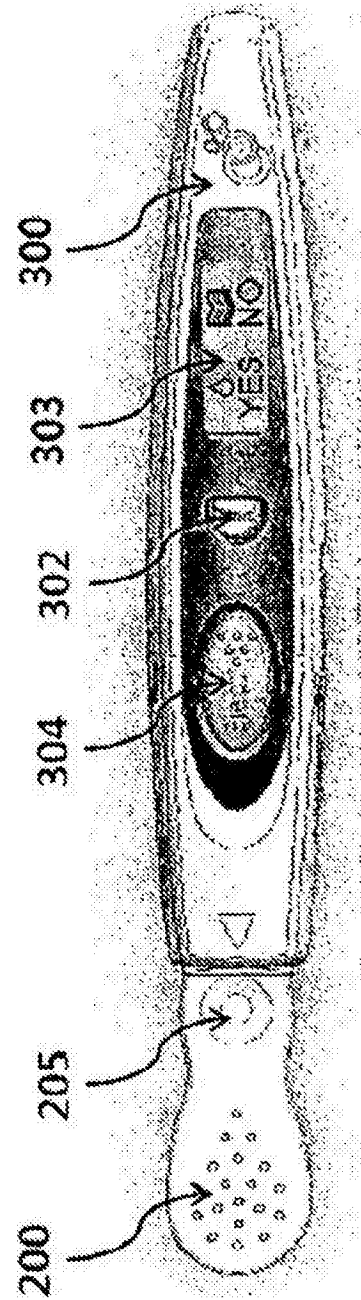


图 10b

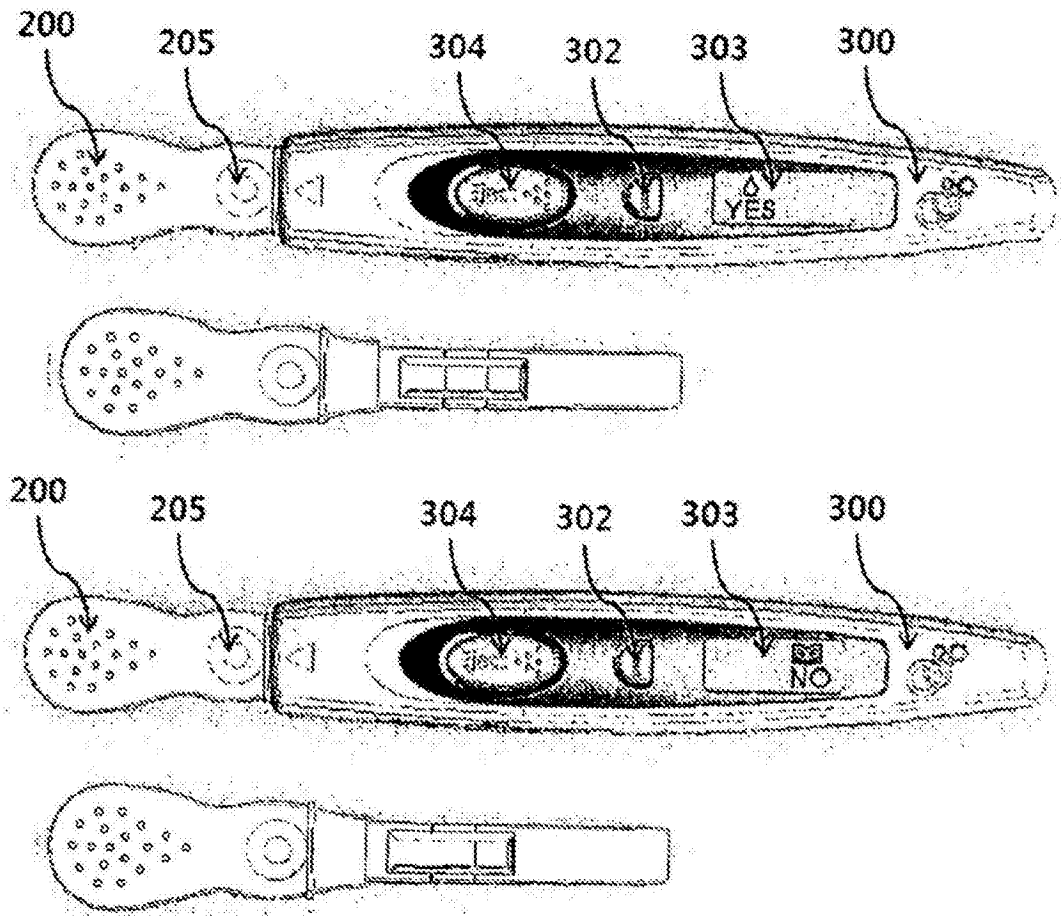


图 11

专利名称(译)	用于检测样本内分析物的器件及方法		
公开(公告)号	CN105143852A	公开(公告)日	2015-12-09
申请号	CN201480023212.X	申请日	2014-04-04
[标]申请(专利权)人(译)	秀根科技株式会社		
申请(专利权)人(译)	秀根科技株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	秀根科技株式会社		
[标]发明人	柳承范 金银京 李东奎 吴尚勋 孙美进		
发明人	柳承范 金银京 李东奎 吴尚勋 孙美进		
IPC分类号	G01N21/00 G01N21/01 G01N33/53		
CPC分类号	G01N21/75 G01N21/8483 G01N33/54366 G01N2201/062		
代理人(译)	李洋		
优先权	1020140039299 2014-04-02 KR 1020130044971 2013-04-23 KR		
其他公开文献	CN105143852B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及用于检测样本内分析物的器件：其包括：(a)n个光源部，其包括产生光(light)的光源；(b)反应带，其包括(i)被照射(illumination)来自上述光源部的光并包括与上述分析物反应的物质的检查区域、(ii)被照射来自上述光源部的光并包括对照物质的对照区域、以及(iii)被照射来自上述光源部的光的背景区域，上述检查区域和背景区域被照射相同的一个光，上述对照区域和背景区域被照射相同的一个光，上述检查区域及对照区域共享上述背景区域；照射于上述检查区域和背景区域的光和照射于上述对照区域和背景区域的光相同或者不同；以及(c)最少n+1个受光部，其检测分别由上述反应带的检查区域、对照区域及背景区域发射(emitting)的光。

