



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110726835 A

(43)申请公布日 2020.01.24

(21)申请号 201910994073.X

(22)申请日 2014.12.29

(62)分案原申请数据

201410833035.3 2014.12.29

(71)申请人 张红

地址 300191 天津市南开区红旗南路251号

(72)发明人 张红

(74)专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322

代理人 鲁兵

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

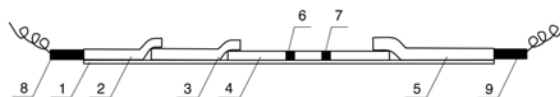
权利要求书2页 说明书10页 附图4页

(54)发明名称

一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法及装置

(57)摘要

本发明公开了一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法及装置,装置包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极与样品垫的上游外侧端部连接,下游驱动电极与吸水垫的下游外侧端部连接。本发明的方法采用电极产生的强大与均匀的外驱力作为“动力源”对生物标记物的涌动进行外驱动,从而大幅提升了现有各种免疫侧向层析技术的精密性、准确性及检测速度,并在此基础上通过促进生物标记物释放提高检测敏感性。



1. 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法,其特征在于,包括如下步骤:

1) 在免疫侧向层析试纸的结合垫(3)中固定生物标记物,所述生物标记物为生物活性分子与标记物的偶联物,且所述标记物具有电特性,优选为荧光颗粒或顺磁颗粒;

2) 在免疫侧向层析试纸的结合垫(3)中固定的生物标记物上游设置上游驱动电极(8),在吸水垫(5)的上表面或其外侧端部设置下游驱动电极(9);

3) 向样品垫(2)上加上待检测样品,对上游驱动电极(8)和下游驱动电极(9)通电,用肉眼或用仪器对分析膜(4)上的检测带(6)和质控带(7)进行判读,得到待检测样品中检测靶标的定性或/和定量检测结果;所述检测靶标是中性的。

2. 根据权利要求1所述的免疫侧向层析检测方法,其特征在于,所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,或上游驱动电极(8)通过上游驱动电极(8)的下表面设置在样品垫(2)的上表面或结合垫(3)的上表面;所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部、或下游驱动电极(9)通过下游驱动电极(9)的下表面设置在吸水垫(5)的上表面。

3. 根据权利要求1或2所述的免疫侧向层析检测方法,其特征在于,所述上游驱动电极(8)和下游驱动电极(9)的通电量为10V,通电时间为3min。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的免疫侧向层析检测方法,其特征在于,所述检测靶标为甲基苯丙胺。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的免疫侧向层析检测方法,其特征在于,所述标记物为荧光颗粒,以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸为量子点免疫侧向层析试纸。

6. 根据权利要求5所述的免疫侧向层析检测方法,其特征在于,所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部;或

所述上游驱动电极(8)通过其下表面设置在样品垫(2)的上表面,所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部;或

所述上游驱动电极(8)通过其下表面设置在样品垫(2)的上表面,所述下游驱动电极(9)通过其下表面设置在吸水垫(5)的上表面;或

所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,所述下游驱动电极(9)通过其下表面设置在吸水垫(5)的上表面;或

所述上游驱动电极(8)通过其下表面设置在结合垫(3)的上表面,所述下游驱动电极(9)通过其下表面设置在吸水垫(5)的上表面。

7. 根据权利要求1-4中任一项所述的免疫侧向层析检测方法,其特征在于,所述标记物为顺磁颗粒;所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部。

8. 对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,用于权利要求1-7中任一项所述的免疫侧向层析检测方法中,所述对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置包括由底衬(1)、样品垫(2)、结合垫(3)、分析膜(4)和吸水垫(5)组成的免疫侧向层析试纸,所述分析膜上设置有检测带(6)和质控带(7),还包括上游驱动电极(8)和下游驱动电极(9),所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,或上游驱动电极(8)通过上游驱动电极(8)

的下表面与样品垫(2)的上表面或结合垫(3)的上表面连接;所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接、或下游驱动电极(9)通过下游驱动电极(9)的下表面与吸水垫(5)的上表面连接;

所述生物标记物固化在结合垫(3)中,为生物活性分子与标记物的偶联物,且所述标记物具有电特性,优选为荧光颗粒或顺磁颗粒。

9. 根据权利要求8所述免疫侧向层析装置,其特征在于,所述标记物为荧光颗粒,以荧光颗粒作为生物标记物的免疫侧向层析试纸为量子点免疫侧向层析试纸;

所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接;或

所述上游驱动电极(8)通过其下表面与样品垫(2)的上表面连接,所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接;或

所述上游驱动电极(8)通过其下表面与样品垫(2)的上表面连接,所述下游驱动电极(9)通过其下表面与吸水垫(5)的上表面连接;或

所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,所述下游驱动电极(9)通过其下表面与吸水垫(5)的上表面连接;或

所述上游驱动电极(8)通过其下表面与结合垫(3)的上表面连接,所述下游驱动电极(9)通过其下表面与吸水垫(5)的上表面连接。

10. 根据权利要求8所述的免疫侧向层析装置,其特征在于,所述标记物为顺磁颗粒,所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接。

## 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法及装置

[0001] 本申请为申请日2014年12月29日、申请号201410833035.3、发明名称“一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置及方法”的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明属于体外诊断中的生物检测技术领域,涉及一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法及装置。

### 背景技术

[0003] 免疫侧向层析是体外诊断技术领域一种最为经典的现场快速检测方法。免疫侧向层析试纸的物理构成包括三类物质:生物活性分子、标记物、固相耗材。其具体的构成要素与功能如下:

[0004] 固相耗材:为多种微孔材料,可以作为免疫侧向层析试纸的样品垫、结合垫、分析膜、吸水垫、粘性底衬;其一方面为生物活性分子的固化与生物识别提供固相支撑,另一方面通过微孔结构的毛细虹吸作用为整个层析的发生提供动力。

[0005] 生物活性分子:为多种具有特异性生物识别能力的生物大分子,可以固定在分析膜上作为检测带与质控带、与标记物偶联并固定于结合垫中作为生物标记物;其是免疫检测过程中实现特异生物识别的探针。

[0006] 标记物:为具有光、电、磁、颜色等特性的颗粒(包括纳米、亚微米等)或化学大分子(包括有机、无机等),可以与生物活性分子偶联并固定于结合垫中作为生物标记物;其自身的光、电、磁、颜色等特性,可对微观进行的生物活性分子与检测靶标之间特异性生物识别予以宏观展示。

[0007] 如图1所示,示出了现有技术中的免疫侧向层析试纸的结构示意图,其包括在衬底1上从左到右叠设的样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5,其中在分析膜4上设置有检测带6和质控带7。样品垫2用于滴加待检样品,样品中含有检测靶标(如图11中A所示),结合垫3上固化有由生物活性分子(如图11中C所示)和标记物(如图11中B所示)偶联的生物标记物(如图11中B+C所示),检测带6中固定有能与检测靶标A特异性结合的物质(如图11中A'所示),质控带7中固定有能与生物活性分子C特异性结合的物质(如图11中C'所示)。在免疫侧向层析试纸检测过程中生物活性分子C、标记物B、检测靶标A、能与检测靶标A特异性结合的物质A'和能与生物活性分子C特异性结合的物质C'之间的关系具体体现如下:如图11所示,示出了现有技术中免疫侧向层析的反应过程,图11中a幅为向样品垫11上滴加待检液体样品之前的状态图;根据图11中b幅所示,样品垫11中滴加的待检液体样品渗透至结合垫3,样品中的检测靶标“A”与“B+C”接触发生特异识别反应,形成了结合体“(B+C)-A”;根据图11中c幅所示,伴随毛细作用对液体的牵引,结合体“(B+C)-A”涌流进入分析膜4,同时,固定在结合垫3上过量的“B+C”也有一部分进入分析膜4,但由于结合垫3微孔材料的截留、吸附效果,结合垫3中依然有部分结合体“(B+C)-A”和“B+C”的残留;根据图11中d幅所示,进入分析膜4

的结合体“(B+C)-A”流经检测带6,被检测带6上能与检测靶标A特异性结合的物质A'捕获,形成检测复合体“[(B+C)-A-A']”,该检测复合体会显示出颜色或者光电信号,通过检测带的颜色或者光电信号强弱展示被捕获至检测带复合体的量,检测复合体的量越大颜色越深或者信号越强,而检测复合体的量与该复合体中A的量正相关,从而能推算出检测靶标A的浓度;同时,进入分析膜的“B+C”越过检测带6到达质控带7,被质控带7上能与生物活性分子C特异性结合的物质C'捕获,形成质控复合体“[(B+C)-C']”,该质控复合体会显示出颜色或者光电信号,通过对质控带颜色或者光电信号的判读获取生物标记物“B+C”的背景,同样,质控带的颜色深浅及信号强弱与被捕获至质控带的质控复合体的量正相关。未被检测带6和质控带7捕获的结合体“(B+C)-A”和生物标记物“B+C”会继续向前涌动进入吸水垫5。

[0008] 可见,在免疫侧向层析试纸检测过程中生物活性分子、标记物和固相耗材之间的关系具体体现如下,在固相耗材的毛细虹吸动力下,固相材料(结合垫)中预先存储的生物标记物在液体样品的作用下被释放,随样品一起涌动至固相材料(分析膜)上预先固定的生物活性分子(检测带和质控带)处,并在该处发生“生物标记物上偶联的生物活性分子”、“检测靶标”、“检测带上固定的生物活性分子”之间特异的生物识别,这种生物识别会通过生物标记物中的生物活性分子改变该处标记物的量,从而借助标记物的光、电、磁、颜色等特性对生物识别予以定性或定量的展示。

[0009] 生物活性分子的特异性识别是客观存在的事实,在生物活性分子特性(亲和性、特异性)明确的情况下,免疫侧向层析技术就是对生物活性分子特异性识别的事实予以客观、直观展示的载体。作为一种展示载体,免疫侧向层析技术在实际使用过程中主要存在两方面的问题,其一是识别展示的敏感性、量化能力,其二是识别展示的精密性、准确性。

[0010] 就敏感性、量化能力而言,主要与标记物自身特性有关,即标记物光、电、磁、颜色等特性的易辨识性及可量化性,现有技术的各种免疫侧向层析方法,如胶体金免疫侧向层析、荧光免疫侧向层析、顺磁颗粒免疫侧向层析都是集中在对各种示踪物进行筛选与优化,从而提高免疫侧向层析的检测敏感性并实现检测靶标量化。

[0011] 而就精密性、准确性而言,主要与生物标记物在固相耗材毛细作用下的涌动状态有关,即固相耗材自身微观孔径及其产生毛细虹吸作用的均匀性,对生物标记物涌动速度与均匀性的影响。然而,免疫侧向层析固相耗材生产工艺决定了其微观孔径与分布状态必然存在极大的不均匀性,由此也导致了目前层析产品均面临检测结果变异较大的问题;同时微弱的毛细虹吸力也使得侧向层析所需时间相对较长(10-15分钟左右)。

## 发明内容

[0012] 本发明的目的是克服现有技术的不足,提供一种精密性高、准确性好及检测速度快的对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法。

[0013] 本发明的第二个目的是提供一种结构简单的对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置。

[0014] 本发明的技术方案概述如下:

[0015] 本发明的一个方面提供一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法,包括如下步骤:

[0016] 1) 在免疫侧向层析试纸的结合垫(3)中固定生物标记物,所述生物标记物为生物

活性分子与标记物的偶联物,且所述标记物具有电特性,优选为荧光颗粒或顺磁颗粒;

[0017] 2) 在免疫侧向层析试纸的结合垫(3)中固定的生物标记物上游设置上游驱动电极(8),在吸水垫(5)的上表面或其外侧端部设置下游驱动电极(9);

[0018] 3) 向样品垫(2)上加上待检测样品,对上游驱动电极(8)和下游驱动电极(9)通电,用肉眼或用仪器对分析膜(4)上的检测带(6)和质控带(7)进行判读,得到待检测样品中检测靶标的定性或/和定量分析结果;所述检测靶标是中性的。

[0019] 上述免疫侧向层析检测方法中,所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,或上游驱动电极(8)通过上游驱动电极(8)的下表面设置在样品垫(2)的上表面或结合垫(3)的上表面;所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部、或下游驱动电极(9)通过下游驱动电极(9)的下表面设置在吸水垫(5)的上表面。

[0020] 上述免疫侧向层析检测方法中,所述上游驱动电极(8)和下游驱动电极(9)的通电量为10V,通电时间为3min。

[0021] 上述免疫侧向层析检测方法中,所述检测靶标为甲基苯丙胺。

[0022] 上述免疫侧向层析检测方法中,所述标记物为荧光颗粒,以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸为量子点免疫侧向层析试纸。

[0023] 上述免疫侧向层析检测方法中,所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部;或所述上游驱动电极(8)通过其下表面设置在样品垫(2)的上表面,所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部;或所述上游驱动电极(8)通过其下表面设置在样品垫(2)的上表面,所述下游驱动电极(9)通过其下表面设置在吸水垫(5)的上表面;或所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,所述下游驱动电极(9)通过其下表面设置在吸水垫(5)的上表面;或所述上游驱动电极(8)通过其下表面设置在结合垫(3)的上表面,所述下游驱动电极(9)通过其下表面设置在吸水垫(5)的上表面。

[0024] 上述免疫侧向层析检测方法中,所述标记物为顺磁颗粒;所述上游驱动电极(8)设置在样品垫(2)的上游外侧端部,所述下游驱动电极(9)设置在吸水垫(5)的下游外侧端部。

[0025] 本发明的另一方面提供一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,用于上述的免疫侧向层析方法中,所述对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置包括由底衬(1)、样品垫(2)、结合垫(3)、分析膜(4)和吸水垫(5)组成的免疫侧向层析试纸,所述分析膜上设置有检测带(6)和质控带(7),还包括上游驱动电极(8)和下游驱动电极(9),所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,或上游驱动电极(8)通过上游驱动电极(8)的下表面与样品垫(2)的上表面或结合垫(3)的上表面连接;所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接、或下游驱动电极(9)通过下游驱动电极(9)的下表面与吸水垫(5)的上表面连接;

[0026] 所述生物标记物固化在结合垫(3)中,为生物活性分子与标记物的偶联物,且所述标记物具有电特性,优选为荧光颗粒或顺磁颗粒。

[0027] 上述标记物为荧光颗粒,以荧光颗粒作为生物标记物的免疫侧向层析试纸为量子点免疫侧向层析试纸;所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接;或所述上游驱动电极(8)通过其下表面与样品垫(2)的上表面连接,所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接;或所述

上游驱动电极(8)通过其下表面与样品垫(2)的上表面连接,所述下游驱动电极(9)通过其下表面与吸水垫(5)的上表面连接;或所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,所述下游驱动电极(9)通过其下表面与吸水垫(5)的上表面连接;或所述上游驱动电极(8)通过其下表面与结合垫(3)的上表面连接,所述下游驱动电极(9)通过其下表面与吸水垫(5)的上表面连接。

[0028] 上述标记物为顺磁颗粒,所述上游驱动电极(8)与样品垫(2)的上游外侧端部连接,所述下游驱动电极(9)与吸水垫(5)的下游外侧端部连接。

[0029] 本发明的优点:

[0030] 本发明的方法,克服了现有技术将免疫侧向层析固相耗材同时作为生物识别的“载体”与“动力源”时,固相耗材微孔结构不均一、毛细虹吸力微弱造成“动力源”带动下生物标记物涌动不均匀、速度较慢,从而导致的检测结果精密性差、检测速度慢等问题。基于本发明,免疫层析固相耗材的功能只被定位为生物识别的“载体”,而采用电极产生的更为强大与均匀的外驱力作为“动力源”对生物标记物的涌动进行外驱动,从而大幅提升了现有各种免疫侧向层析技术的精密性、准确性及检测速度,并在此基础上通过促进生物标记物释放提高检测敏感性。最终,一方面满足了用户对于免疫侧向层析试纸更优良技术性能的需求,另一方面也减小了生产企业质量控制的难度。

## 附图说明

[0031] 图1为现有技术的免疫侧向层析试纸;

[0032] 图2为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之一。

[0033] 图3为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之二。

[0034] 图4为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之三。

[0035] 图5为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之四。

[0036] 图6为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之五。

[0037] 图7为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之六。

[0038] 图8为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之七。

[0039] 图9为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之八。

[0040] 图10为本发明的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置之九。

[0041] 图11为现有技术中免疫侧向层析试纸的使用动态变化图;其中图11中a幅为向样品垫中滴加含有检测靶标的待测样品时的状态图;图11中b幅为检测靶标在结合垫中与生物标记物特异性结合;图11中c幅为检测靶标与生物标记物的结合体以及生物标记物在分析膜上的移动;图11中d幅为检测靶标与生物标记物的结合体特异性结合在检测带上,生物标记物特异性结合在质控带上。

## 具体实施方式

[0042] 下面结合附图和具体实施例对本发明作进一步的说明。

[0043] 实施例1

[0044] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以有色颗

粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的胶体金免疫侧向层析试纸,所述分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,所述上游驱动电极与样品垫的上游外侧端部连接,所述下游驱动电极与吸水垫的下游外侧端部连接。如图2所示。

[0045] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0046] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,肉眼对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0047] 实施例2

[0048] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,所述分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极与样品垫的上游外侧端部连接,下游驱动电极与吸水垫的下游外侧端部连接。如图2所示。

[0049] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0050] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0051] 实施例3

[0052] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光大分子作为标记物的免疫侧向层析试纸中的Cy5荧光免疫侧向层析试纸,所述分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极与样品垫的上游外侧端部连接,下游驱动电极与吸水垫的下游外侧端部连接。如图2所示。

[0053] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0054] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0055] 实施例4

[0056] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以顺磁颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的顺磁颗粒免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极与样品垫的上游外侧端部连接,下游驱动电极与吸水垫的下游外侧端部连接。如图2所示。

[0057] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0058] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用磁性分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0059] 实施例5

[0060] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合

垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极通过上游驱动电极的下表面与样品垫的上表面连接;下游驱动电极与吸水垫的下游外侧端部连接。如图3所示。

[0061] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0062] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0063] 实施例6

[0064] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极通过上游驱动电极的下表面与样品垫的上表面连接;下游驱动电极通过下游驱动电极的下表面与吸水垫的上表面连接。如图4所示。

[0065] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0066] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0067] 实施例7

[0068] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极通过上游驱动电极的下表面与样品垫的上表面连接;下游驱动电极通过下游驱动电极的下表面与质控带下游的分析膜的上表面连接。如图5所示。

[0069] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0070] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0071] 实施例8

[0072] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极通过上游驱动电极的下表面与样品垫的上表面连接;下游驱动电极通过下游驱动电极的下表面与质控带下游的分析膜和吸水垫的上表面连接。如图6所示。

[0073] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0074] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0075] 实施例9

[0076] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极与样片垫的上游外侧端部连接;下游驱动电极通过下游驱动电极的下表面与吸水垫的上表面连接。如图7所示。

[0077] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0078] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0079] 实施例10

[0080] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极通过上游驱动电极的下表面与结合垫的上表面连接;下游驱动电极通过下游驱动电极的下表面与吸水垫的上表面连接。如图8所示。

[0081] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0082] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0083] 实施例11

[0084] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极通过上游驱动电极的下表面与检测带上游的分析膜的上表面连接;下游驱动电极通过下游驱动电极的下表面与吸水垫的上表面连接。如图9所示。

[0085] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测:

[0086] 向样品垫2上加上待检测样品,分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电,采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0087] 实施例12

[0088] 一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置,包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸,所述免疫侧向层析试纸为属于以荧光颗粒作为标记物的免疫侧向层析试纸中的量子点免疫侧向层析试纸,分析膜上设置有检测带6和质控带7,还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9,上游驱动电极通过上游驱动电极的

下表面与样品垫、结合垫、检测带上游的分析膜的上表面连接；下游驱动电极通过下游驱动电极的下表面与吸水垫的上表面连接。如图10所示。

[0089] 用本实施例的一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析装置对尿液中甲基苯丙胺进行检测：

[0090] 向样品垫2上加上待检测样品，分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电，采用光学分析仪器对分析膜4上的检测带6和质控带7进行结果判读。

[0091] 实验例1：对不同试纸的生物标记物进行外驱动的效果比较

[0092] **【实验操作】：**

[0093] 1. 胶体金免疫侧向层析试纸与实施例1的装置驱动效果比对实验：

[0094] 胶体金免疫侧向层析试纸：将含有甲基苯丙胺1500ng/ml、1000ng/ml、500ng/ml、100ng/ml、50ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫上，静置观察结果；每个浓度测试3次；

[0095] 实施例1的装置：将含有甲基苯丙胺1500ng/ml、1000ng/ml、500ng/ml、100ng/ml、50ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫2上，分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电（通电量是10V），静置观察结果；每个浓度测试3次；见表1。

[0096] 2. 量子点免疫侧向层析试纸与实施例2的装置驱动效果比对实验：

[0097] 量子点免疫侧向层析试纸：将含有甲基苯丙胺100ng/ml、50ng/ml、10ng/ml、5ng/ml、2.5ng/ml、1ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫上，静置，光学分析仪分析结果；每个浓度测试3次；

[0098] 实施例2的装置：将含有甲基苯丙胺100ng/ml、50ng/ml、10ng/ml、5ng/ml、2.5ng/ml、1ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫2上，分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电（通电量是10V），静置，光学分析仪分析结果；每个浓度测试3次；见表1。

[0099] Cy5荧光免疫侧向层析试纸驱动效果比对实验：

[0100] Cy5荧光免疫侧向层析试纸：将含有甲基苯丙胺100ng/ml、50ng/ml、10ng/ml、5ng/ml、2.5ng/ml、1ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫上，静置，光学分析仪分析结果；每个浓度测试3次；

[0101] 实施例3的装置：将含有甲基苯丙胺100ng/ml、50ng/ml、10ng/ml、5ng/ml、2.5ng/ml、1ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫2上，分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电（通电量是10V），静置，光学分析仪分析结果；每个浓度测试3次；见表1。

[0102] 顺磁颗粒免疫侧向层析试纸驱动效果比对实验：

[0103] 顺磁颗粒免疫侧向层析试纸：将含有甲基苯丙胺150ng/ml、100ng/ml、50ng/ml、10ng/ml、5ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫上，静置，磁性分析仪分析结果；每个浓度测试3次；

[0104] 实施例4的装置：将含有甲基苯丙胺150ng/ml、100ng/ml、50ng/ml、10ng/ml、5ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在试纸样品垫2上，分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电（通电量是10V），静置，磁性分析仪分析结果；每个浓度测试3次；见表1。

[0105] 结果分析：

[0106] 检测时间：从添加样品开始到出现明确阳性结果，所需的时间；

[0107] 敏感性：可以显示明确阳性结果的最低浓度为检测限，代表检测敏感性；

[0108] 精密性:检测限对应浓度的样品,三次测量结果的变异系数( $CV=SD/Mean$ ),代表精密性;

[0109] 准确性:检测限对应浓度的样品,测量结果与理论配置浓度的百分比(回收率=测量浓度/理论浓度),代表准确性;

[0110] 【结果与分析】:

[0111] 表1

[0112]

试纸类型	是否电极外驱	对应实施例	检测时间	检测限(敏感性)	变异系数(精密性)	回收率(准确性)
胶体金免疫侧向层析试纸	否	-	15min	1000ng/ml	定性检测	定性检测
	是	实施例1 图2	3min	100ng/ml	无精密性	无回收率
量子点免疫侧向层析试纸	否	-	15min	50ng/ml	13.2%	123%
	是	实施例2 图2	3min	2.5ng/ml	3.5%	103%
Cy5 荧光免疫侧向层析试纸	否	-	15min	50ng/ml	15.2%	135%
	是	实施例3 图2	3min	5ng/ml	4.1%	109%
顺磁颗粒免疫层析试纸	否	-	15min	100ng/ml	14.7%	125%
	是	实施例4 图2	3min	10ng/ml	3.9%	105%

[0113] 检测时间:添加电极外驱动后,无论何种试纸检测时间均由15min缩短至3min;

[0114] 敏感性:添加电极外驱动后,无论何种试纸检测敏感性均由显著提升,提升幅度最少10倍;

[0115] 精密性:添加电极外驱动后,定量检测试纸的检测精密性均显著提升;

[0116] 准确性:添加电极外驱动后,定量检测试纸的检测准确性均显著提升;

[0117] 实验例2:量子点免疫侧向层析试纸(荧光颗粒免疫侧向层析试纸)在不同位置设置电极的效果比较

[0118] 【实验操作】:

[0119] 分别将含有甲基苯丙胺10ng/ml、5ng/ml、2.5ng/ml、1ng/ml、0ng/ml的尿液100 $\mu$ l/条添加在实施例5-12之一的装置的样品垫2上;分别对上游驱动电极8和下游驱动电极9通电(通电量是10V),静置,光学分析仪分析结果见表2;每个浓度测试3次;

[0120] 结果分析:

[0121] 检测时间:从添加样品开始到出现明确阳性结果,所需的时间;

[0122] 敏感性:可以显示明确阳性结果的最低浓度为检测限,代表检测敏感性;

[0123] 精密性:检测限对应浓度的样品,三次测量结果的变异系数( $CV=SD/Mean$ ),代表精密性;

[0124] 准确性:检测限对应浓度的样品,测量结果与理论配置浓度的百分比(回收率=测

量浓度/理论浓度),代表准确性;

[0125] 【结果与分析】:见表2

[0126] 表2

[0127]

实施例	检测时间	检测限(敏感性)	变异系数(精密性)	回收率(准确性)
5	3min	2.5ng/ml	3.2%	104%
6	3min	2.5ng/ml	3.3%	102%
7	3min	2.5ng/ml	3.5%	104%
8	3min	2.5ng/ml	3.7%	102%
9	3min	2.5ng/ml	3.1%	102%
10	3min	2.5ng/ml	3.2%	105%
11	3min	2.5ng/ml	3.1%	104%
12	3min	2.5ng/ml	3.7%	102%

[0128] 检测时间:无论电极安装在哪个位置,3min内均可完成检测;

[0129] 敏感性:无论电极安装在哪个位置,检测敏感性均可达到2.5ng/ml;

[0130] 精密性:无论电极安装在哪个位置,精密性没有显著差别;

[0131] 准确性:无论电极安装在哪个位置,准确性没有显著差别;

[0132] 以上实施例与实验例均是对本发明的一种具体说明,并非对本发明技术内容的限制。上游驱动电极与下游驱动电极的位置可以任意组合,不限于上述列出的方式。对于磁颗粒免疫侧向层析试纸而言,驱动电极可换为磁铁对磁颗粒生物标记物进行驱动。

[0133] 在实际应用中,将含有被检测靶标的液体样品滴加在样品垫2上,样品渗透进入结合垫3并将其中固化的生物标记物带出;进而,液体样品与生物标记物混合物在固相材料毛细虹吸“动力源”的带动下在分析膜4上涌动,并在通过检测带6与质控带7时发生“生物标记物中的生物活性分子”、“被检测靶标”、“检测带上的生物活性分子”之间的特异性识别反应,从而将生物标记物固定在检测带6与质控带7上,而固定的生物标记物中的标记物就可以其独特的光、点、磁等特性对生物识别的发生予以定性或定量的展示。

[0134] 通过本发明,在免疫侧向层析试纸的上游与下游,分别连接上游驱动电极8与下游驱动电极9,可使生物标记物在试纸内部(尤其是分析膜上)的涌动更为均匀、快速,从而提高检测的准确性、精密性;而外驱力的作用也可使更多的生物标记物从结合垫中释放,进而增加检测的敏感性。

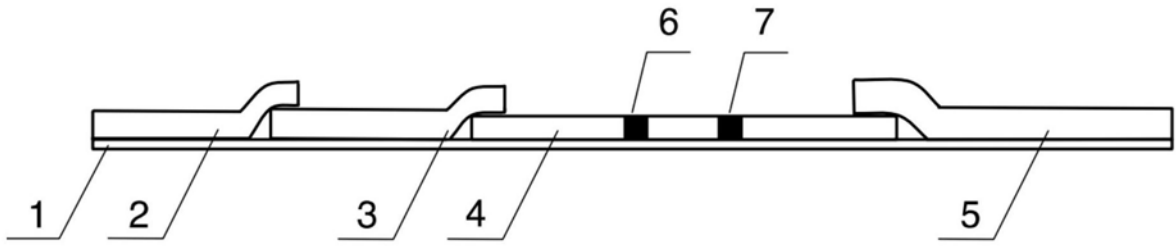


图1

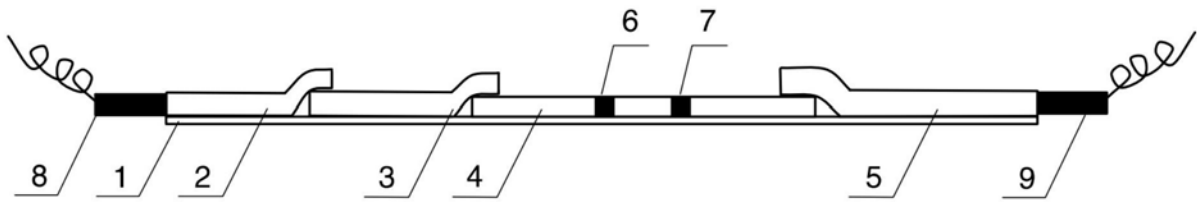


图2

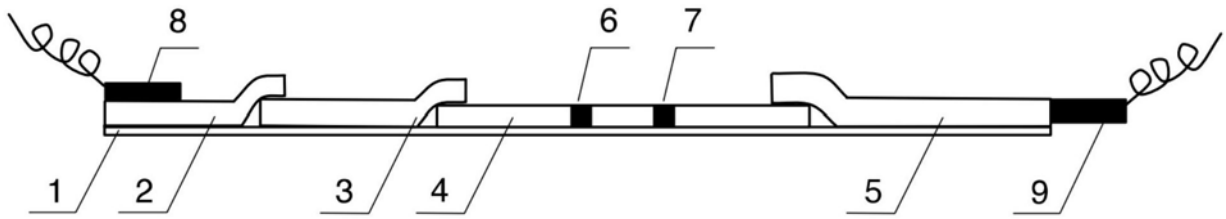


图3

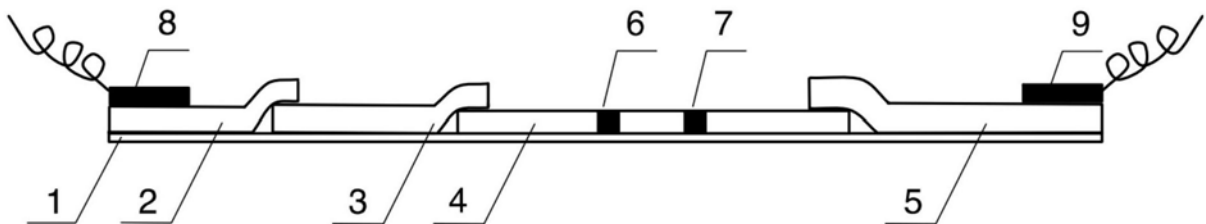


图4

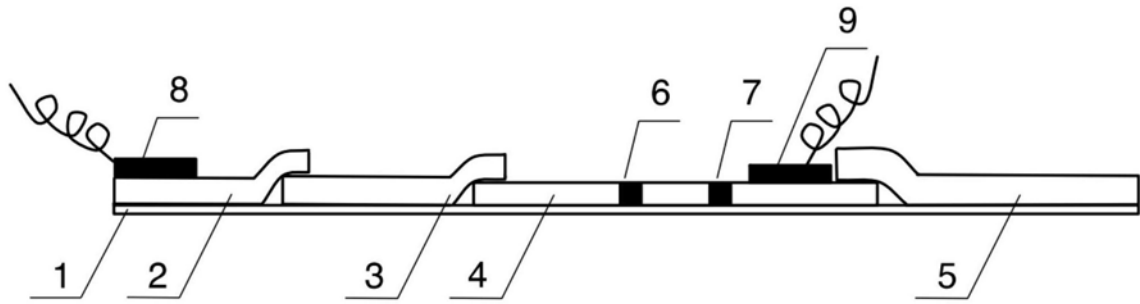


图5

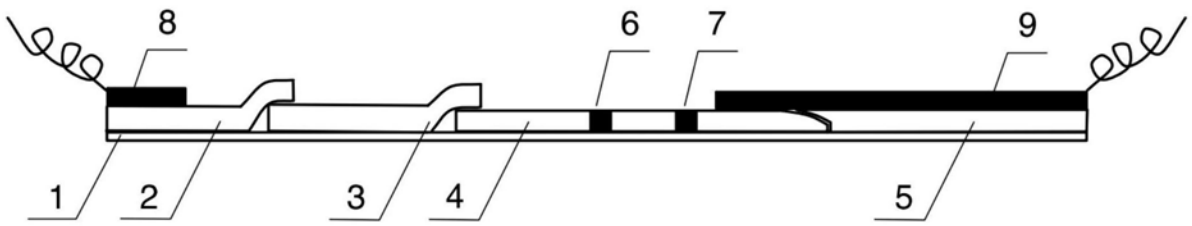


图6

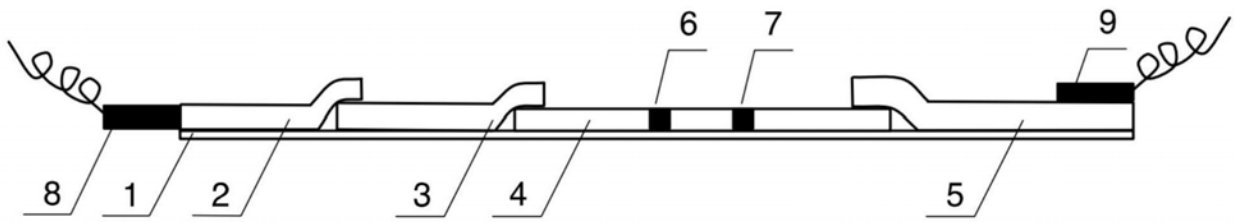


图7

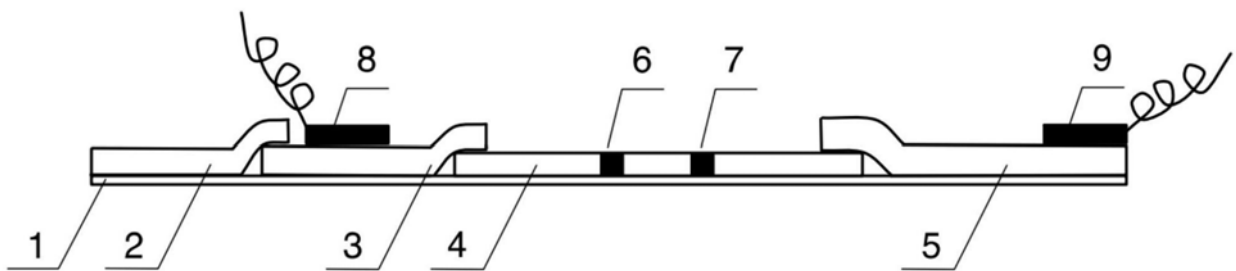


图8

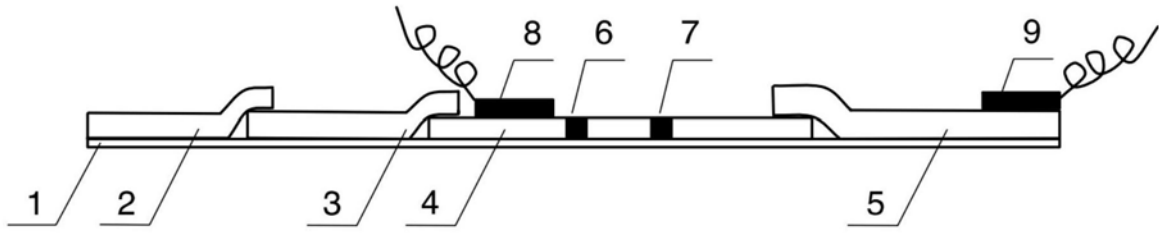


图9

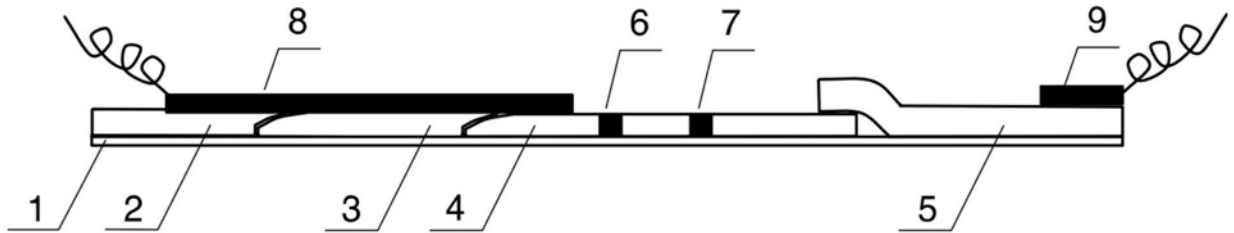
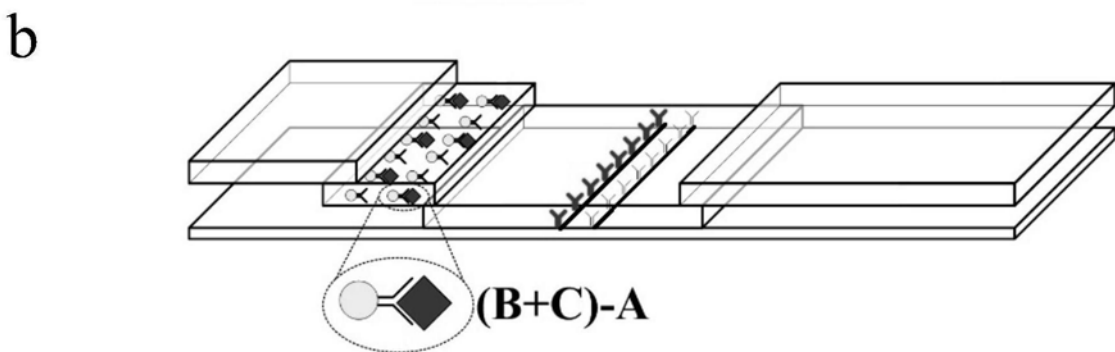
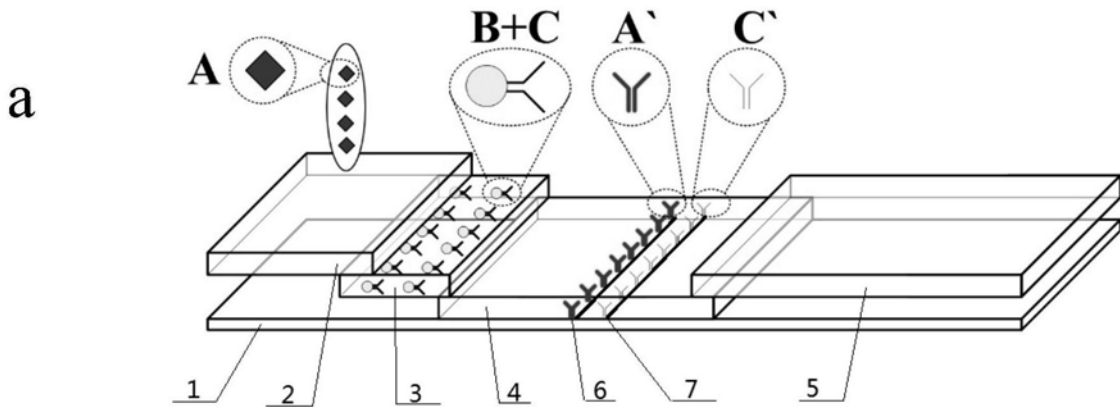


图10



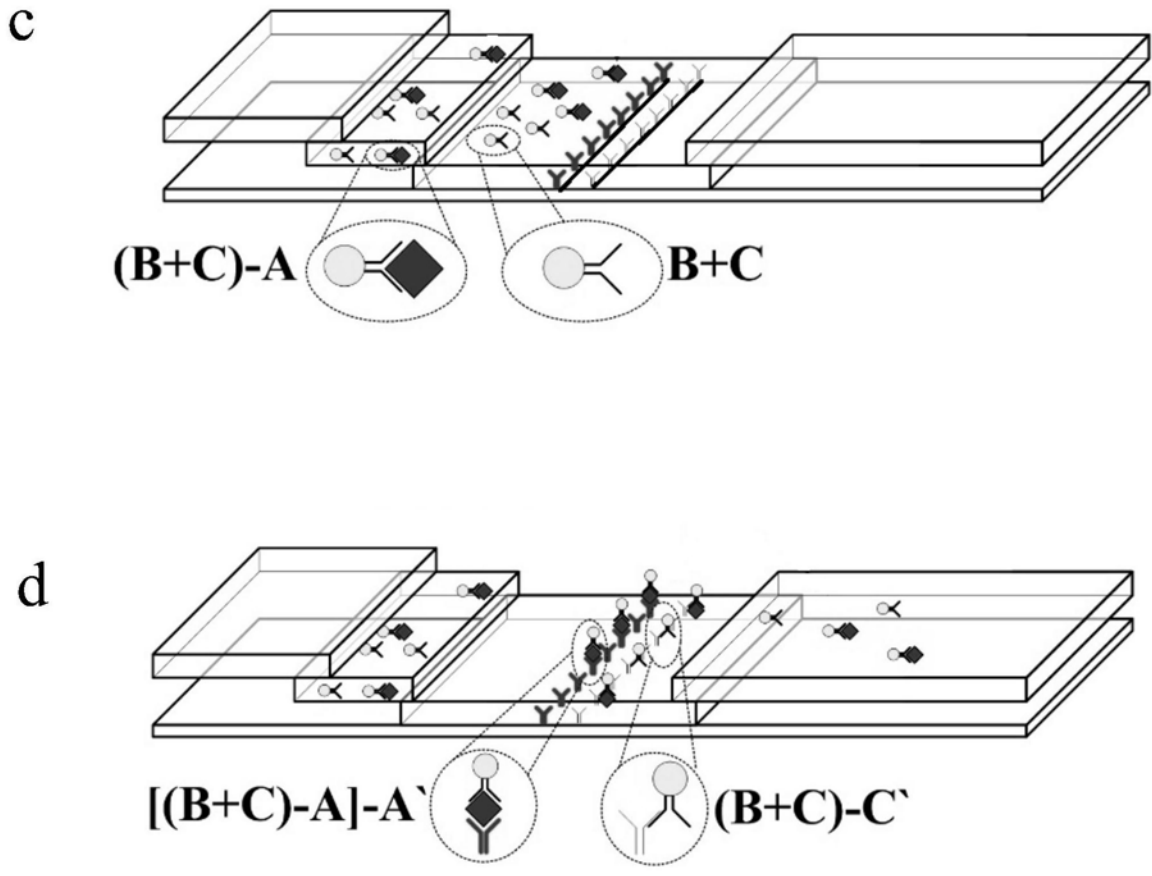


图11

专利名称(译)	一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法及装置		
公开(公告)号	<a href="#">CN110726835A</a>	公开(公告)日	2020-01-24
申请号	CN201910994073.X	申请日	2014-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	张宏		
申请(专利权)人(译)	张红		
当前申请(专利权)人(译)	张红		
[标]发明人	张红		
发明人	张红		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/543 G01N33/558		
代理人(译)	鲁兵		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种对生物标记物进行外驱动的免疫侧向层析检测方法及装置，装置包括由底衬1、样品垫2、结合垫3、分析膜4和吸水垫5组成的免疫侧向层析试纸，所述分析膜上设置有检测带6和质控带7，还包括上游驱动电极8和下游驱动电极9，上游驱动电极与样品垫的上游外侧端部连接，下游驱动电极与吸水垫的下游外侧端部连接。本发明的方法采用电极产生的强大与均匀的外驱力作为“动力源”对生物标记物的涌动进行外驱动，从而大幅提升了现有各种免疫侧向层析技术的精密性、准确性及检测速度，并在此基础上通过促进生物标记物释放提高检测敏感性。

