



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102947439 A

(43) 申请公布日 2013. 02. 27

(21) 申请号 201180019396. 9

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(22) 申请日 2011. 02. 15

代理人 刘辛 李炳爱

(30) 优先权数据

61/338, 303 2010. 02. 16 US

12/965, 258 2010. 12. 10 US

(51) Int. Cl.

C12M 1/34(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 10. 16

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/024852 2011. 02. 15

(87) PCT申请的公布数据

W02011/103074 EN 2011. 08. 25

(71) 申请人 生化诊断系统公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 J. 埃斯范迪亚里

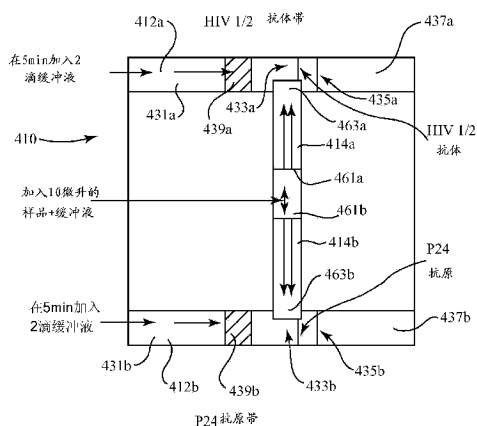
权利要求书 2 页 说明书 13 页 附图 9 页

(54) 发明名称

检测抗体和抗原的免疫测定装置

(57) 摘要

一种第四代免疫测定装置,其包括第一、第二、第三和第四吸收性或吸水性材料,所述材料限定第一、第二、第三和第四水平流动通道。所述第一和第二流动通道用于第一和第二缀合物的迁移,而所述第三和第四流动通道用于液体样品的迁移。用于检测一种或多种不同抗体的存在的第二测试区域位于第一和第三流动通道的接合处,用于检测一种或多种不同抗原的存在的第二测试区域位于第二和第四流动通道的接合处。任选向吸收性材料提供壳体,其具有用于接收样品的开口,以及一个或多个用于接收缓冲溶液或缀合物-缓冲液亚复合物的开口。所述壳体还可在测试区域上具有视窗。



1. 一种用于检测样品的免疫测定装置,包括:

第一、第二、第三和第四吸收性或吸水性材料,其限定第一、第二、第三和第四水平流动通道,所述第一和第二流动通道用于第一和第二缀合物的迁移,所述第三和第四流动通道用于样品的迁移,其中用于检测样品中一种或多种不同抗体的存在的第一测试区域位于第一和第三流动通道的接合处,用于检测样品中一种或多种不同抗原的存在的第二测试区域位于第二和第四流动通道的接合处。

2. 根据权利要求1的测定装置,进一步包括:

包含所述第一、第二、第三和第四吸收性或吸水性材料的壳体,所述壳体具有用于接收样品的第一开孔,以及用于接收引起所述第一和第二缀合物迁移的液体的至少一个第二开孔。

3. 根据权利要求2的免疫测定装置,其中:

所述至少一个第二开孔是单个第二开孔。

4. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第一和第二吸收性或吸水性材料彼此整合在一起。

5. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第三和第四吸收性或吸水性材料彼此整合在一起。

6. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第一、第二、第三和第四吸收性或吸水性材料布置成“H”形状和“A”形状中的一种。

7. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第一测试区域包括多个检测线,用于检测多种不同抗体的存在。

8. 根据权利要求7的免疫测定装置,其中:

所述第二测试区域包括多个检测线,用于检测多种不同抗原的存在。

9. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第一吸收性或吸水性材料具有第一孔径,所述第二吸收性或吸水性材料具有第二孔径,并且所述第二孔径比所述第一孔径大。

10. 根据权利要求9的免疫测定装置,其中:

所述第三吸收性或吸水性材料具有第三孔径,并且所述第三孔径比所述第二孔径大。

11. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第一测试区域包括含有 HIV 抗原的第一测试线,所述第二测试区域包括含有 HIV 抗体的第二测试线。

12. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第一测试区域包括含有 IgM 抗体的第一测试线,和含有 IgG 抗体的第二测试线,并且所述第一缀合物含有带标记物的登革热抗原。

13. 根据权利要求12的免疫测定装置,其中:

所述第二测试区域包括含有抗登革热抗体的第三测试线。

14. 根据权利要求1的免疫测定装置,其中:

所述第一测试区域包括含有 HIV 抗原或合成肽的第一测试线,和含有 TB 抗原的第二测试线,并且所述第二测试区域包括含有 HIV 抗体的第三测试线和含有脂阿拉伯甘露聚糖

(LAM) 抗体的第四测试线。

15. 根据权利要求 14 的免疫测定装置, 其中:

所述第二缀合物包含与第一标记物缀合的抗 - HIV. P24 单克隆或多克隆抗体, 和与第二标记物缀合的 LAM 抗体的缀合物的混合物。

检测抗体和抗原的免疫测定装置

[0001] 发明背景

1. 现有和相关申请

本申请要求 2009 年 2 月 16 日提交的美国临时申请号 61/338, 303 和 2010 年 12 月 10 日提交的美国序列号 12/965, 258 的优先权。

[0002] 2. 发明领域

本发明广泛地涉及免疫测定装置及其使用方法。更具体而言,本发明涉及用于检测体液中的配体的快速层析测试条带。甚至更具体地,本发明涉及“第四代检测”,其可以用于临床诊断目的同时检测抗原和抗体。

[0003] 3. 现有技术

已有多种配体-受体测定法被应用于检测体液,如血液、尿液或唾液中是否存在通常称为配体的各种物质。这些测定法涉及抗原抗体反应,包含放射性、酶、荧光或肉眼可见的聚苯乙烯或金属溶胶标记在内的合成缀合物,以及专门设计的反应室。在所有这些测定法中,都具有受体,例如对所选配体或抗原具特异性的抗体,以及用于检测所述配体-受体反应产物是否存在、一些情况下检测其含量的工具。一些测试设计成用来进行定量测定,但在多数情况下所需要的只是阳性/阴性的定性指示。这种定性测定法的实例包括血型检测、大多数种类的尿检、验孕、以及 AIDS 检测。对于这些测试来说,优选肉眼可见的指示物,例如存在凝集现象或者颜色改变。

[0004] 即使是定性测定也必须非常灵敏,因为通常测试流体中感兴趣的配体的浓度很小。假阳性也很麻烦,特别是利用凝集反应和其它快速检测法例如浸渍条(dipstick)和变色测试的情况下。由于这些问题,人们已经开发出了所谓的“夹心”测定法和采用金属溶胶或其它种类有色颗粒的其它灵敏检测机制。

[0005] 在“夹心”测定法中,目标分析物例如抗原“夹在”标记抗体和固定在固相载体上的抗体之间。通过观察结合抗原-标记抗体复合物的存在和/或含量读取所述测定结果。在“竞争性”免疫测定法中,将结合到固相表面上的抗体与含有未知量抗原分析物的样品以及相同种类的标记抗原相接触。然后测定结合到固相表面上的标记抗原含量以提供对样品中抗原分析物含量的间接测定结果。

[0006] 由于这些和其它测定法既可检测抗体也可检测抗原,故其通常称为免疫化学配体-受体测定法或者简称为免疫测定法。

[0007] 固相免疫测定装置,无论是夹心还是竞争型的,均可提供对生物流体样品,如血液、尿液或唾液中的分析物的灵敏检测。固相免疫测定装置包括固相载体,其结合有配体-受体对的一个成员,通常是抗体、抗原或半抗原。固相载体的早期通用形式有平板、试管、或聚苯乙烯珠,它们是放射性免疫测定和酶免疫测定领域公知的。近十年来,采用了许多多孔材料作为固相载体,例如尼龙、硝酸纤维素、醋酸纤维素、玻璃纤维以及其它的多孔聚合物。

[0008] 已经记载了许多利用多孔材料作为免疫化学成分,如抗原、半抗原或抗体的固相载体的设备齐全的(self-contained)免疫测定试剂盒。这些试剂盒通常设计成浸渍式、流

通式、或者迁移式。

[0009] 在浸渍条测定的更通用形式中,典型的有家用怀孕和排卵检测试剂盒,是将免疫化学成分,例如抗体结合在固相上。将该测定装置“浸入”怀疑含有未知抗原分析物的样品中以进行孵育。然后同时或者在孵育一段时间之后加入酶标记抗体。然后洗涤该装置并插入含有所述酶的底物的第二种溶液。如果存在的话,酶标记与所述底物相互作用,引起有色产物形成,它们要么作为沉淀物沉积到所述固相上,要么在所述底物溶液中产生可见的颜色变化。

[0010] 流通(flow-through)式免疫测定装置设计成无需进行浸渍条测定法相关的大量孵育步骤和繁琐的洗涤步骤。Valkris 等人的美国专利 US 4632901 中公开了一种装置,其包括结合到施加液态样品的多孔膜或滤片上的抗体(对目标抗原分析物有特异性)。随着液体流过所述膜,目标分析物与抗体结合。加入样品后接着加入标记抗体。对标记抗体的可见检测提供样品中目标抗原分析物是否存在的指示。

[0011] Korom 等人的 EP-A0299359 公开了一种流通装置的变形方式,其中用作试剂输送系统的膜中加入了标记抗体。

[0012] 浸渍条和流通式免疫测定装置对于多个加样和洗涤步骤的需要增加了低训练程度的个人和家庭用户得到错误测定结果的可能性。

[0013] 在迁移式测定中,用需要进行测定的试剂浸渍膜。设置分析物检测区,在其中结合有标记的分析物并读取测定标记。例如,参见 Tom 等人的美国专利 US 4366241 和 Zuk 等人的 US 4596275。然而,由于样品中存在或形成了不希望有的固体成分,其阻断了标记分析物通往检测区的通道,因而经常降低了迁移式测定的灵敏度。

[0014] 迁移式测定装置内通常包含已连接到有色标记上的试剂(即缀合物),从而可以不用添加其它的物质就能够可见性地检测到测定结果。例如,参见 Bernstein 的美国专利 US 4770853。这些标记有金溶胶颗粒,例如 Leuvering 在美国专利 US 4313734 中所述,染色溶胶颗粒,如 Gribnau 等人在美国专利 US4373932 中所述,染色乳胶,如 May 等人的 WO 88/08534 中所述,以及脂质体包裹的染料,如 Campbell 等人的 US 4703017 中所述。这些有色标记通常受到合适固定方法的限制。而且,它们需要相对大量的配体分子并涉及昂贵的试剂,因而增加了成本。

[0015] 最近,引入了“第四代”快速检测免疫测定装置。所述“第四代”装置旨在同时检测具体疾病的抗原和抗体。然而,所述“第四代”装置面临着与前述装置相同的问题。

[0016] 发明简述

本发明提供了一种第四代快速检测免疫测定装置,其中所述分析物沿着与携带缀合物的缓冲液不同的路径迁移。本发明的免疫测定装置是高灵敏度的并且使用小体积样品也可提供准确结果。本发明的装置可用于不同种类的体液并且可与多种不同疾病的检测联合使用。

[0017] 上述这些目的在下文将进行详细论述,据此提供了干燥和液态缀合物免疫测定装置系统。本发明的系统包括测试单元,所述测试单元具有接收缓冲溶液的第一缓冲液接收部位;和第一吸收性材料,其限定第一缓冲溶液的第一水平流动通道;第二吸收性材料,其限定不同于所述第一水平流动通道的第二水平流动通道,用于提供给第一缓冲液接收部位或第二缓冲液接收部位的相同或不同缓冲溶液;第三吸收性材料,其限定用于样品接收部

位处的样品的第三水平流动通道,所述第三水平流动通道不同于所述第一和第二水平流动通道,用于样品接收部位处的样品的第四流动通道,所述第四水平流动通道不同于所述第一、第二和第三水平流动通道;位于第一和第三吸收性材料接合处的第一测试区具有固定抗原或抗体之一的第一测试线或测试部位;以及位于第二和第四吸收性材料接合处的第二测试区具有固定抗原或抗体的另一种的第二测试线或测试部位。用于本发明的目的,当术语“不同的”与词语“流动通道”或“迁移路径”结合使用时,应被理解是指“没有液体流通,除非(i)经由测试区,或者(ii)在缓冲液接收或样品接收部位”。

[0018] 在本发明的测试单元设置在一壳体中的情况下,所述壳体具有邻近所述第一缓冲液接收部位的第一开口和邻近所述样品接收部位的样品接收开口。当采用第二缓冲液接收部位时,所述壳体具有邻近所述第二缓冲液接收部位的第二缓冲液接收开口。在第一测试线上方的壳体上设有第一视窗,在第二测试线上方的壳体上设有第二视窗。

[0019] 在本发明的优选实施方式中,所述第三吸收性材料和第四吸收性材料是连接在一个样品接收垫上的分开件。可替代性地,如果需要,所述第三和第四吸收性材料可以彼此整合在一起。在本发明的优选实施方式中,所述第一吸收性材料和第二吸收性材料也可以是连接在相同缓冲液接收垫或两个不同缓冲液接收垫上的分开件。然而,如果需要,在采用一个缓冲液接收垫的实施方式中,所述第一和第二吸收性材料可以彼此整合在一起。在优选的实施方式中,具有与每个测试部位相邻的对照线或部位。

[0020] 在本发明的一种实施方式中,所述第一、第二、第三和第四吸收性材料的材质、厚度和长度可以进行选择以调节液态样品和液态缓冲液到达所述测试部位的时间。

[0021] 在本发明的干燥缀合物系统中,第一干燥缀合物设置在第一开口和测试部位之间。所述第一干燥缀合物载于所述第一吸收性材料的上面或内部,使得当缓冲液加入第一开口时,第一吸收性材料将缓冲液芯吸到第一缀合物上,然后由缓冲液携带到第一测试部位。所述第二干燥缀合物同样载于所述第二吸收性材料的上面或内部,使得当缓冲液加入第一或第二(如果有)开口时,所述第二吸收性材料将缓冲液芯吸到第二缀合物上,然后由缓冲液携带到第二测试部位。在本发明的液态缀合物系统中,设置有第一缓冲液-缀合物液态子系统,将其施加到第一开口。然后所述第一吸收性材料将第一缓冲液-缀合物子系统芯吸到第一测试部位。设置有第二缓冲液-缀合物液态子系统,将其施加到第二开口。然后所述第二吸收性材料将第二缓冲液-缀合物子系统芯吸到第二测试部位。

[0022] 应当明白的是,本发明的系统可以与不同种类的样品,例如血液、尿液、唾液以及粪便联合使用,并可用于测试任何配体的存在。在应用血液、唾液或粪便的情况下,可以在将其加入样品接收开孔之前先将所述血液、唾液或粪便进行稀释或与缓冲液混合。或者,在一些情况下,可以将所述样品加入样品接收开孔,然后再将稀释液加入同一孔中。

[0023] 本发明的测试单元优于现有技术,因为本发明的测试单元克服了缀合物和样品中的分析物之间的聚集/凝集问题,这在针对较大分析物如细菌或聚合病毒的传统层析免疫测定中是个大问题。特别是在传统的层析免疫测定中,细菌和缀合抗体之间的复合物难以迁移到测试线并容易滞留在测试条带的底部或衬垫内。本发明中在样品到达测试部位之前分析物和缀合物之间没有复合物结合,因为所述分析物是通过其自身的通道施加到测试部位的,而缀合物也独自迁移。这样,本发明的系统极其灵敏和具有特异性。

[0024] 对于本领域技术人员来说,参考详细说明并结合所提供的附图,本发明的其它目

的和优点将更加显而易见。

[0025] 附图简述

图 1 是本发明第一种实施方式的顶视图。

[0026] 图 1A 是图 1 的第一种实施方式的抗体测试部分的示意图。

[0027] 图 1B 是图 1 的第一种实施方式的抗原测试部分的示意图。

[0028] 图 2 是包含在壳体内的本发明的第一种实施方式的顶视图。

[0029] 图 3 是本发明第二种实施方式的顶视示意图。

[0030] 图 4 是包含在壳体内的本发明的第二种实施方式的顶视图。

[0031] 图 5 是适用于测试登革热抗体和抗原并且包含在壳体内的本发明的第二种实施方式的顶视图。

[0032] 图 6 是适用于测试艾滋病毒和结核抗体和抗原并且包含在壳体内的本发明的第二种实施方式的顶视图。

[0033] 图 7 是适用于测试多个抗体和抗原并且包含在壳体内的本发明的第二种实施方式的顶视图。

[0034] 优选实施方式详述

现参见图 1、1A 和 1B, 提供了第四代免疫测定测试装置 410。测试装置 410 被示为用于测试 HIV 1/2 抗体和 P24 抗原的测试装置 (即, 其为 HIV 检测装置), 但如下文相对于图 5-7 所讨论的, 使用本发明, 可以提供许多其它类型的抗体 / 抗原测试。如所示, 测试装置 410 包括限定第一、第二、第三和第四水平流动通道的第一吸收性或吸水性材料 412a、第二吸收性或吸水性材料 412b、第三吸收性或吸水性材料 414a 和第四吸收性或吸水性材料 414b。第一吸收性材料 412a 优选地包括最少两个且优选地三个或四个区域并且可以由数种材料制成。第一区域 431a (有时称为过滤区) 位于条带 412a 的第一端并且延伸至位于与第二吸收性材料 414a 的接合处的第二区域 433a (有时称为测试区)。第一区域 431a 可以由附接的过滤器 (未示出) 组成或具有附接的过滤器, 并且可以具有含所需抗原 (例如蛋白质 A) 的缀合物 439a, 并且附接的有色标记物沉积并固定于其上或者沉积并固定在其所附接的缀合物垫 (未示出) 上。第一吸收性材料可以由吸收性或吸水性材料的薄膜组成, 所述吸收性或吸水性材料的薄膜一般由硝化纤维与塑料背衬 (未示出) 制成。第一区域 431a 适用于接收缓冲溶液, 以使缓冲溶液接触该缀合物, 从而使该缀合物移动, 并且将携带缀合物的缓冲溶液芯吸至第二区域 433a。第二 (测试) 区域 433a 包括该薄膜的第二部分, 该第二部分优选地被印有测试线 450a (图 1A), 所述测试线 450a 具有固定在该膜上的如本领域熟知的抗原。包括薄膜的第三部分的任选的第三区域 435a (有时称为对照区) 也可以被印有对照线 460a (图 1A), 所述对照线 460a 一般含有如本领域熟知的缀合物抗原的抗体。如果需要, 则可以提供任选的第四区域 437a (有时称为储液区) 作为也如本领域熟知的芯吸储液库。第四区域 437a 可以包括相对较厚的吸收性纸 (未示出)。优选地, 所有区域的底层和 / 或覆盖物是具有将吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄的、优选透明的塑料膜或卡片 (未示出)。该卡片可以在条带 412a 的端部被切割出开口以使得其不阻断液体进入第一吸收性条带 412a。

[0035] 第二吸收性材料 412b 同样优选地包括至少两个且优选地三个或四个区域并且同样可以由数种材料制成。第一区域 431b (有时称为过滤区) 位于条带 412b 的第一端并且

延伸至位于与第二吸收性材料 414b 的接合处的第二区域 433b（有时称为测试区）。第一区域 431b 可以由附接的过滤器（未示出）组成或具有附接的过滤器，并且可以具有含所需抗体的缀合物 439b，并且附接的有色标记物沉积并固定于其上或者沉积并固定在其所附接的缀合物垫（未示出）上。第一吸收性材料可以由吸收性或吸水性材料的薄膜组成，所述吸收性或吸水性材料的薄膜一般由硝化纤维与塑料背衬（未示出）制成。第一区域 431b 适用于接收缓冲溶液，以使缓冲溶液接触该缀合物，从而使该缀合物移动，并且将携带缀合物的缓冲溶液芯吸至第二区域 433b。第二（测试）区域 433b 包括该薄膜的第二部分，该第二部分优选地被印有测试线 450b（图 1B），所述测试线 450b 具有固定在该膜上的如本领域熟知的 P24 抗体。包括薄膜的第三部分的任选的第三区域 435b（有时称为对照区）也可以被印有对照线 460b（图 1B），所述对照线 460b 一般含有如本领域熟知的抗小鼠抗体（如果缀合物 439 使用小鼠抗体）。如果需要，则任选的第四区域 437b（有时称为储液区）可以被提供作为也如本领域熟知的芯吸储液库。第四区域 437b 可以包括相对较厚的吸收性纸（未示出）。优选地，所有区域的底层和/或覆盖物是具有将吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄的、优选透明的塑料膜或卡片（未示出）。该卡片可以在条带 412b 的端部被切割出开口以使得其不阻断液体进入第一吸收性条带 412b。

[0036] 第三吸收性材料 414a 也可以由数种材料制成并且优选地包括两个区域 461a、463a。第一区域 461a（有时称为过滤区）可以包括过滤器或衬垫（未示出）以及一般由硝化纤维与背衬（未示出）制成的薄膜或吸收性或吸水性材料的第一部分。第一区域 461a 旨在在其第一端处接收样品并且第一区域延伸至第二区域 463a。第二区域 463a 包括与第一吸收性材料 412a 的第二区域 433a 接触的薄膜的第二部分。如图 1 和 1A 表明，第一吸收性材料 412a 和第三吸收性材料 414a 被布置成使得所述膜彼此接触（它们形成接合部），使得测试线 450a 有效地位于所述膜之间（而非背衬接触所述膜或彼此接触）。因此，测试线 450a 可以印在第三吸收性材料 414a 的第二区域 463a 上，而非第一吸收性材料 412a 的第二区域 433a 上；或者在第一吸收性材料 412a 的第二区域 433a 以外，测试线 450a 还印在第三吸收性材料 414a 的第二区域 463a 上。如果需要，可以使用具有将第三吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄塑料膜或卡片（未示出）。

[0037] 第四吸收性材料 414b 也可以由数种材料制成并且优选地包括两个区域 461b、463b。第一区域 461b（有时称为过滤区）可以包括过滤器或衬垫（未示出）以及一般由硝化纤维与背衬（未示出）制成的薄膜或吸收性或吸水性材料的第一部分。第一区域 461b 旨在在其第一端处接收样品并且第一区域延伸至第二区域 463b。第二区域 463b 包括与第二吸收性材料 412b 的第二区域 433b 接触的薄膜的第二部分。如图 1 和 1B 表明，第二吸收性材料 412b 和第四吸收性材料 414b 被布置成使得所述膜彼此接触（而非背衬接触所述膜或彼此接触），并且使得测试线 450b 有效地位于所述膜之间。因此，测试线 450b 可以印在第四吸收性材料 414b 的第二区域 463b 上，而非第二吸收性材料 412b 的第二区域 433b 上；或者在第二吸收性材料 412b 的第二区域 433b 以外，测试线 450b 还印在第四吸收性材料 414b 的第二区域 463b 上。如果需要，可以使用具有将第三吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄塑料膜或卡片（未示出）。

[0038] 在吸收性材料 412a、412b、414a、414b 由标准型硝化纤维膜与背衬制成的情况下，期望样品迁移和缓冲液缀合物迁移膜具有不同的孔径。例如，如果条带 412a（用于缀合物

迁移)具有 3μ 的孔径,并且膜414a(用于样品迁移)具有 15μ 的孔径,则施加于膜414a的样品将倾向于迁移并停留在样品膜414a中并且将不倾向于迁移至缀合物膜412a中。此外,可能期望的是膜412a和412b具有不同的孔径。因此,例如,携带抗体缀合物的膜可能大于携带抗原缀合物的膜。

[0039] 如图1中所见,四种吸收性材料呈现出“H”形,其中第一和第二吸收性材料形成“H”的两侧,而第三和第四吸收性材料形成“H”的中间横臂。应了解,四种吸收性材料可以以其它排列方式来布置。

[0040] 参见图2,应了解,图1、1A和1B的测试装置410可以被设置在壳体470的内部。壳体470具备用于接收样品(和缓冲液,如果需要的话)的样品接收开孔471和两个缓冲液接收开孔472a、472b。开孔471直接位于吸收性条带414a、414b的第一区域461a、461b上方,使得沉积在开孔471中的样品将流动至吸收性条带414a和414b上。同样地,开孔472a和472b直接位于吸收性条带412a、412b的第一区域431a、431b上方,使得沉积在开孔472a、472b中的缓冲液将流动至各自吸收性条带412a、412b上。另外,壳体470具备窗口475a、475b。窗口475a、475b分别位于测试线450a、450b上方,使得测试线可以透过所述窗口可见。如果需要,则所述窗口可以由透明塑料组成。在提供了第三区域435a、435b的情况下,窗口475a、475b优选地延伸至各自对照线460a、460b上方。

[0041] 应理解,因为将向吸收性材料414a、414b提供相同样品,所以吸收性材料414a、414b任选地可以由单片(整片)材料制成。如果需要,则可以提供样品接收垫(未示出)以接收该样品并将该样品提供给组成吸收性材料414a和414b的单片材料或各片材料。

[0042] 图1的免疫测定410优选地按以下使用。首先,可能含有抗体和/或抗原的所需量的样品(例如10微升,未示出)被提供至第三和第四吸收性材料414a、414b(通过开孔471,如果使用壳体470的话)并且被允许通过第三和第四吸收性材料414a、414b而迁移至其各自的第二区域463a、463b,所述第二区域463a、463b分别与第一和第二吸收性材料412a、412b的第二区域433a、433b接触。任选地,在将样品提供至第三和第四吸收性材料之后,可以将优选被测的量的液体例如缓冲溶液加入(通过开孔471,如果使用壳体470的话)以帮助样品的迁移。所加缓冲液的量可能取决于所用样品的类型(例如血液、尿液、唾液等等)。无论如何,样品到达测试线450a、450b,所述测试线450a、450b被印在第一和第二吸收性材料的第二区域433a、433b的顶上或者被输注于其中。在所需量的时间之后,此时样品中的HIV抗体(如果存在)有机会与固定在测试线450a上的HIV抗原结合以及样品中的HIV抗原(如果存在)有机会与固定在测试线450b上的HIV P24抗体结合,将优选被测的量的液体例如缓冲溶液(未示出)加入第一和第二吸收性材料412a、412b(通过开孔472a、472b,如果使用壳体470的话)。应注意,可以通过各个开孔添加不同类型的缓冲溶液,从而允许优化该系统的敏感度。在足以允许缀合物439a、439b迁移至测试部位450a、450b(和对照部位460a、460b,如果提供的话)的另一段时间之后,检查(通过窗口475a、475b,如果使用壳体470的话)测试部位450a、450b(和对照部位460a、460b,如果提供的话)以便确定样品是否为“阳性”。通常,当测试部位450a和对照部位460a均显示有色的线时,获得指示样品中存在HIV1或HIV2抗体的“阳性”测试。当仅对照部位460a显示有色的线时,获得指示样品中缺少抗体存在的“阴性”测试。类似地,在测试部位450b和对照部位460b均显示有色的线的情况下获得指示样品中存在HIV P24抗原的“阳性”测试,而

当仅对照部位 460b 显示有色的线时获得指示样品中缺少 P24 抗原存在的“阴性”测试。

[0043] 通过向壳体 470 提供编号和 / 或字母来指示开孔 471 是用于接收样品 (和任选地某些缓冲液) 且将被首先使用, 以及指示开孔 472a、472b 是用于接收缓冲溶液且将被其次地使用, 可以促进本发明的方法。

[0044] 本领域技术人员将理解免疫测定 410 起到以下作用。因为测试线 450a 具有固定在膜上的抗原, 所以如果测试样品含有该抗原的抗体, 则该抗体将在测试线上使其自身与抗原结合。此后, 当使含有与有色标记物连接的抗体的抗原的缀合物 439a 迁移至测试线时, 如果测试样品含有目前保持在测试线 450a 上的抗体, 则该缀合物的抗原将使其自身与抗体结合并且该有色标记物将导致在测试部位 450a 处显现有色线。如果测试样品不含有抗体, 则该缀合物将不具有用于在测试线 450a 处结合的抗体, 并且在测试部位 450a 处将没有有色线显现。另一方面, 因为对照线 460a 具有抗体, 该缀合物的抗原将总是与对照线 460a 中的抗体结合, 从而如果缀合物到达对照部位 460a 处则导致在对照部位 460a 处显现有色线。因此, 如果向测试单元提供足够缓冲溶液, 则应该总是在对照部位 460a 处显现有色线, 从而提供用于该测试的对照。类似地, 因为测试线 450b 具有固定在膜上的抗体, 所以如果测试样品含有该抗体的抗原, 则该抗原将在测试线 450b 上使其自身与抗体结合。此后, 当使含有与有色标记物连接的该抗原的抗体的缀合物 439b 迁移至测试线时, 如果测试样品含有目前保持在测试线 450b 上的抗原, 则该缀合物 439b 的抗原将使其自身与抗原结合并且该有色标记物将导致在测试部位 450b 处显现有色线。如果测试样品不含有抗原, 则该缀合物将不具有用于在测试线 450b 处结合的抗原, 并且在测试部位 450b 处将没有有色线显现。另一方面, 因为对照线 460b 具有经选择与该缀合物中抗体类型相同的所选抗体 (例如小鼠抗体), 所以该缀合物的抗体将总是在对照线 460b 中与所选抗体结合, 从而如果该缀合物到达对照部位 460b 处则导致在对照部位 460b 处显现有色线。因此, 如果向测试单元提供足够缓冲溶液, 则应该总是在对照部位 460b 处显现有色线, 从而提供用于该测试的对照。

[0045] 根据本发明的其它实施方式, 而未在测试单元中 (例如在吸收性材料 412a、412b 上) 提供具有连接有色标记物的所需抗原或抗体的干燥缀合物沉积物 439a、439b, 该测试单元完全不包括干燥缀合物。相反, 使用 (湿) 缓冲液缀合物子系统。因此, 在样品已沉积在吸收性材料 414a、414b 上之后, 第一缓冲液 - 缀合物子系统 (采用与抗原的缀合物加缓冲液) 被沉积在吸收性材料 412a 上并被允许迁移至测试线 450a, 而第二缓冲液 - 缀合物子系统 (采用含抗体的缀合物加缓冲液) 被沉积在吸收性材料 412b 上并且被允许迁移至测试线 450b。

[0046] 根据本发明的另一实施方式, 在壳体的底部提供窗口, 而非将视窗提供在壳体的顶部中。

[0047] 现转到图 3, 参见本发明的另一实施方式。如所示, 测试装置 510 包括限定第一、第二、第三和第四水平流动通道的第一吸收性或吸水性材料 512a、第二吸收性或吸水性材料 512b、第三吸收性或吸水性材料 514a 和第四吸收性或吸水性材料 514b。第一吸收性材料 512a 优选地包括最少两个且优选地三个或四个区域并且可以由数种材料制成。第一区域 531a (有时称为过滤区) 位于条带 512a 的第一端并且延伸至位于与第二吸收性材料 514a 的接合处的第二区域 533a (有时称为测试区)。第一区域 531a 可以由附接的过滤

器（未示出）组成或具有附接的过滤器，并且可以具有含所需抗原（例如蛋白质 A）的缀合物 539a，并且附接的有色标记物沉积并固定于其上或者沉积并固定在其所附接的缀合物垫（未示出）上。第一吸收性材料可以由吸收性或吸水性材料的薄膜组成，所述吸收性或吸水性材料的薄膜一般由硝化纤维与塑料背衬（未示出）制成。第一区域 531a 适用于接收缓冲溶液，以使缓冲溶液接触该缀合物，从而使该缀合物移动，并且将携带缀合物的缓冲溶液芯吸至第二区域 533a。第二（测试）区域 533a 包括该薄膜的第二部分，该第二部分优选地被印有测试线 550a（图 4），所述测试线 550a 具有固定在该膜上的如本领域熟知的抗原。包括薄膜的第三部分的任选的第三区域 535a（有时称为对照区）也可以被印有对照线 560a（图 4），所述对照线 560a 通常含有如本领域熟知的缀合物抗原的抗体。如果需要，则任选的第四区域 537a（有时称为储液区）可以被提供作为也如本领域熟知的芯吸储液库。第四区域 537a 可以包括相对较厚的吸收性纸（未示出）。优选地，所有区域的底层和 / 或覆盖物是具有将吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄的、优选透明的塑料膜或卡片（未示出）。该卡片可以在条带 512a 的端部被切割出开口以使得其不阻断液体进入第一吸收性条带 512a。

[0048] 第二吸收性材料 512b 同样优选地包括至少两个且优选地三个或四个区域并且同样可以由数种材料制成。第一区域 531b（有时称为过滤区）位于条带 512b 的第一端并且延伸至位于与第二吸收性材料 514b 的接合处的第二区域 533b（有时称为测试区）。第一区域 531b 可以由附接的过滤器（未示出）组成或具有附接的过滤器，并且可以具有含所需抗体的缀合物 539b，并且附接的有色标记物沉积并固定于其上或者沉积并固定在其所附接的缀合物垫（未示出）上。第一吸收性材料可以由吸收性或吸水性材料的薄膜组成，所述吸收性或吸水性材料的薄膜一般由硝化纤维与塑料背衬（未示出）制成。第一区域 531b 适用于接收缓冲溶液，以使缓冲溶液接触该缀合物，从而使该缀合物移动，并且将携带缀合物的缓冲溶液芯吸至第二区域 533b。第二（测试）区域 533b 包括该薄膜的第二部分，该第二部分优选地被印有测试线 550b（图 4），所述测试线 550b 具有固定在该膜上的如本领域熟知的 P24 抗体。包括薄膜的第三部分的任选的第三区域 535b（有时称为对照区）也可以被印有对照线 560b（图 4），所述对照线 560b 通常含有如本领域熟知的抗小鼠抗体。如果需要，则任选的第四区域 537b（有时称为储液区）可以被提供作为也如本领域熟知的芯吸储液库。第四区域 537b 可以包括相对较厚的吸收性纸（未示出）。优选地，所有区域的底层和 / 或覆盖物是具有将吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄的、优选透明的塑料膜或卡片（未示出）。该卡片可以在条带 512b 的端部被切割出开口以使得其不阻断液体进入第一吸收性条带 512b。

[0049] 应了解，第一和第二吸收性材料 512a、512b 经成型具有使得它们可以相接的曲线或角度。如下文所述，这允许缓冲液（或缓冲液加缀合物的亚复合体）被加入单个位置，而非如参考图 1 和图 2 描述的两个位置。因此，吸收性材料 514a、514b 任选地由单片（整片）材料制成。

[0050] 第三吸收性材料 514a 也可由数种材料制成并且优选地包括两个区域 561a、563a。第一区域 561a（有时称为过滤区）可以包括过滤器或衬垫（未示出）以及一般由硝化纤维与背衬（未示出）制成的薄膜或吸收性或吸水性材料的第一部分。第一区域 561a 旨在在其第一端处接收样品并且第一区域延伸至第二区域 563a。第二区域 563a 包括与第一吸收性

材料 512a 的第二区域 533a 接触的薄膜的第二部分。如图 3 表明,第一吸收性材料 512a 和第三吸收性材料 514a 被布置成使得所述膜彼此接触(而非背衬接触所述膜或彼此接触),并且使得测试线 550a 有效地位于所述膜之间。因此,测试线 550a 可以被印在第三吸收性材料 514a 的第二区域 563a 上,而非印刷在第一吸收性材料 512a 的第二区域 533a 上;或者在第一吸收性材料 512a 的第二区域 533a 之外,测试线 550a 还印在第三吸收性材料 514a 的第二区域 563a 上。如果需要,可以使用具有将第三吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄塑料膜或卡片(未示出)。

[0051] 第四吸收性材料 514b 也可以由数种材料制成并且优选地包括两个区域 561b、563b。第一区域 561b(有时称为过滤区)可以包括过滤器或衬垫(未示出)以及一般由硝化纤维与背衬(未示出)制成的薄膜或吸收性或吸水性材料的第一部分。第一区域 561b 旨在在其第一端处接收样品并且第一区域延伸至第二区域 563b。第二区域 563b 包括与第二吸收性材料 512b 的第二区域 533b 接触的薄膜的第二部分。如图 1 和 1B 表明,第二吸收性材料 512b 和第四吸收性材料 514b 被布置成使得所述膜彼此接触(而非背衬接触所述膜或彼此接触),并且使得测试线 550b 有效地位于所述膜之间。因此,测试线 550b 可以印在第四吸收性材料 514b 的第二区域 563b 上,而非第二吸收性材料 512b 的第二区域 533b 上;或者在第二吸收性材料 512b 的第二区域 533b 之外,测试线 550b 还可以印刷在第四吸收性材料 514b 的第二区域 563b 上。如果需要,可以使用具有将第三吸收性材料保持在适当位置的粘附剂的薄塑料膜或卡片(未示出)。

[0052] 在吸收性材料 512a、512b、514a、514b 由标准型硝化纤维膜与背衬制成的情况下,期望样品迁移和缓冲液缀合物迁移膜具有不同的孔径。例如,如果条带 512a(用于缀合物迁移)具有 3μ 的孔径,并且膜 514a(用于样品迁移)具有 15μ 的孔径,则施加于膜 514a 的样品将倾向于迁移并停留在样品膜 514a 中并且将不倾向于迁移至缀合物膜 512a 中。

[0053] 如图 3 中所见,四种吸收性材料呈现出“A”形,其中第一和第二吸收性材料形成“A”的两侧,而第三和第四吸收性材料形成“A”的中间横臂。应了解,四种吸收性材料可以以其它排列来布置。

[0054] 参见图 4,应了解图 3 的测试装置 510 可以被设置在壳体 570 内部。壳体 570 具备用于接收样品(和缓冲液,如果需要的话)的样品接收开孔 571 和单个缓冲液接收开孔 572。开孔 571 直接位于吸收性条带 514a、514b 的第一区域 561a、561b 上方,使得沉积于开孔 571 中的样品将流动至吸收性条带 514a 和 514b 上。同样地,开孔 572 直接位于吸收性条带 512a、512b 的第一区域 531a、531b 上方,使得沉积于开孔 572 中的缓冲液流动至各自吸收性条带 512a、512b 上。另外,壳体 570 具备窗口 575a、575b。窗口 575a、575b 分别位于测试线 550a、550b 上方,使得该测试线可以透过所述窗口可见。如果需要,则所述窗口可以由透明塑料组成。在提供了第三区域 535a、535b 的情况下,窗口 575a、575b 优选地延伸至各自对照线 560a、560b 上方。

[0055] 应理解,因为将向吸收性材料 514a、514b 提供相同样品,所以吸收性材料 514a、514b 任选地可以由单片(整片)材料制成。如果需要,则可以提供样品接收垫(未示出)以接收该样品并将该样品提供给组成吸收性材料 514a 和 514b 的单片材料或各片材料。

[0056] 图 3 的免疫测定 510 优选地按以下使用。首先,可能含有抗体和/或抗原的所需量的样品(例如 10 微升,未示出)被提供至第三和第四吸收性材料 514a、514b(通过开孔

571, 如果使用壳体 570 的话) 并且被允许通过第三和第四吸收性材料 514a、514b 而迁移至其各自的第二区域 563a、563b, 所述第二区域 563a、563b 分别与第一和第二吸收性材料 512a、512b 的第二区域 533a、533b 接触。任选地, 在将样品提供至第三和第四吸收性材料之后, 可以将优选被测的量的液体例如缓冲溶液加入(通过开孔 571, 如果使用壳体 570 的话) 以帮助样品的迁移。所加缓冲液的量可能取决于所用样品的类型(例如血液、尿液、唾液等等)。无论如何, 样品到达测试线 550a、550b, 所述测试线 550a、550b 被印在第一和第二吸收性材料的第二区域 533a、533b 的顶上或者被输注于其中。在所需量的时间之后, 此时样品中的 HIV 抗体(如果存在) 有机会与固定在测试线 550a 上的 HIV 抗原结合, 以及样品中的 HIV 抗原(如果存在) 有机会与固定在测试线 550b 上的 HIV P24 抗体结合, 将优选被测的量的液体例如缓冲溶液(未示出) 加入至第一和第二吸收性材料 512a、512b (通过开孔 572, 如果使用壳体 570 的话)。在足以允许缀合物 539a、539b 迁移至测试部位 550a、550b (和对照部位 560a、560b, 如果提供的话) 的另一段时间之后, 检查(通过窗口 575a、575b, 如果使用壳体 570 的话) 测试部位 550a、550b (和对照部位 560a、560b, 如果提供的话) 以便确定样品是否为“阳性”。通常, 当测试部位 550a 和对照部位 560a 均显示有色的线时, 获得指示样品中存在 HIV1 或 HIV2 抗体的“阳性”测试。当仅对照部位 560a 显示有色的线时, 获得指示样品中缺少抗体存在的“阴性”测试。类似地, 在测试部位 550b 和对照部位 560b 均显示有色的线的情况下获得指示样品中存在 HIV P24 抗原的“阳性”测试, 而当仅对照部位 560b 显示有色的线时获得指示样品中缺少 P24 抗原存在的“阴性”测试。

[0057] 通过向壳体 570 提供编号和 / 或字母来指示开孔 571 是用于接收样品(和任选地某些缓冲液) 且将被首先使用, 以及指示开孔 572 是用于接收缓冲溶液且将被其次地使用, 可以促进本发明的方法。

[0058] 本领域技术人员应当明白, 本发明的实施方式可以采用许多不同的材料实现。例如, 通常包括非常薄的惰性薄膜、条带、片层或膜层的吸收性材料(一种或多种) 可以由硝化纤维、滤纸、二氧化硅制成, 或者由例如, 微孔或微粒的纺织或无纺纤维或其组合物制成。多种合适的材料及其组合记载于 Gordon 等人的美国专利 #4960691, Zuk 等人的美国专利 #4956275 中, 这里均引入全文作为参考。通常, 硝化纤维或其它吸收性材料设有如上所述的薄的非多孔性惰性塑料背衬层。

[0059] 因此, 根据本发明的其它一些实施方式, 第一、第二、第三和第四吸收性材料的材质、厚度和长度可加以选择以调节液态样品和液态缓冲液(或缓冲液 - 缀合物子系统) 到达测试部位的时间。通过对样品 / 分析物以及缓冲液或缓冲液 - 缀合物子系统设置单独的迁移通道, 还可以选择材料以提高系统的灵敏度。

[0060] 在类似的方式中, 应当明白的是吸收性材料可以以任何方式成型, 并可采取如本领域所知的任何尺寸。因此, 为了帮助加速芯吸, 所述吸收性材料可以呈钥匙形, 其中所述条带在接收缓冲液的开孔以及测试部位和对照部位处具有较小的宽度, 而在储液区具有较大的宽度。这种设置在 Charlton 等人的美国专利 #5989921 中所示, 这里引入其全文作为参考。在任何情况下, 一般来说, 测试条带长度显著大于宽度, 并且宽度显著大于厚度。事实上, 在本发明的至少某些实施方式中, 所述条带在测试区域应当很薄(例如 1mm 厚) 并且基本上透明, 这样测试线和对照线可以很容易通过测试条带看到。

[0061] 此外, 所述壳体和吸收性材料可以整合在开放式的测流平台上, 该平台上设有具

有微柱的注模聚合物,所述微柱通过改变柱高度、直径、形状和 / 或间距能够精确控制流动。这种平台主要采用与壳体和吸收性芯吸材料相同的材料,并由 Uppsala, Sweden 的 Amic AB 出售,参见例如, www.amic.se。由于注模的聚合物通常可以是透明的,故整个壳体都可以看作“视窗”,通过它可以观察测试线 / 部位和对照线 / 部位。

[0062] 应当明白的是,根据所构建的测试类型(例如验孕、HIV、结核(TB)、朊病毒、尿液分析 / 药检、心肌标记物、癌标记物、Chagas 病、衣原体、口腔细菌(SM/LC)、流感病毒 A、流感病毒 B、腺病毒、轮状病毒、链球菌 A、其它细菌或病毒等等,甚至是兽医应用例如 CPV (犬细小病毒)、FIV (猫免疫缺陷病毒)、FeLV (猫白血病病毒)、以及心丝虫病),感兴趣的抗体和抗原将有所不同,因而在测试条带中使用的抗原和抗体需要与之相适应。同样,所述缀合物的抗原或抗体也需要与之相适应。在一些情况下(例如 HIV),测试条带中可以采用与缀合物中相同的抗原,因为 HIV 抗体的结合位点会在测试部位处结合 HIV 抗原,其仍具有另外的 HIV 抗体结合位点用以结合抗原-缀合物,而在其它情况下,可能需要不同的抗原。类似地,应当明白根据所构建的测试类型,如果具有对照部位的话也需要与之相适应。因此,例如在 HIV 抗体检测实验中,测试区识别的配体为 HIV1 和 / 或 HIV2 抗体,则测试区的抗原可以是肽 HIV1 (例如 gp41/gp120) 和肽 HIV2 (gp36) 的混合物和 / 或重组抗原。缀合物可以是缀合到蛋白 A、蛋白 A/G、抗人 IgG/IgM、肽或重组抗原的有色乳胶或胶体金。

[0063] 图 5-7 显示了不同类型的测试。图 5 显示了登革热(发热)的第四代检测。图 5 中描述的装置 610 是以与第二种实施方式(图 3)的测试装置 510 相同的方式构建的,具有与图 4 的实施方式中采用的类似的壳体 670,除了用于装置 610 所用的测试线和缀合物不同并且壳体上的标记物可以不同。更具体而言,装置 610 使用第一套测试线 650a1、650a2 用于检测样品中的登革热抗体(登革热 Ab)。测试线 650a1 具有抗人 IgM 抗体,而测试线 650a2 具有抗人 IgG 抗体。如本领域的技术人员所理解的,测试样品中的 IgM 和 IgG 抗体将分别在测试线 650a1 和 650a2 捕获,不管抗体是登革热抗体或是其它传染病抗体。然而,装置 610 中的第一缀合物是具有金标记物的重组登革热抗原,其仅与登革热抗体结合。结果是,仅当登革热 IgM 或登革热 IgG 抗体在测试线 650a1 和 650a2 捕获时,缀合物才被捕获,显示如图 5 所示的阳性测试。因为 IgM 抗体是早期标记物,其仅发生在感染的早期,而 IgG 通常在感染的后期开始出现,图 5 的登革热测试具有单独的测试线 650a1 和 650a2 以检测登革热 IgM 和 / 或登革热 IgG 抗体。然而,如果不需要区分,可采用具有重组登革热抗原的单一测试线,所述缀合物可以是与将在测试线被捕获的登革热 IgM 和登革热 IgG 抗体结合的任何所需缀合物。优选地,第一对照线 660a 设置在测试线 650a1、650a2 的下游。

[0064] 如图 5 所示,测试装置 610 还包括登革热抗原(登革热 Ag)检测测试线 650b。测试线 650b 具有抗登革热 NS1 (非结构性糖蛋白)单克隆抗体,其将捕获 NS1 抗原。用于装置 610 的第二缀合物优选是相同的或不同的针对 NS1 抗原的单克隆抗体,所述抗体与如金溶胶的标记物缀合。同样优选设置第二对照线 660b。

[0065] 图 6 显示了 HIV 和结核病(TB)的第四代检测。图 6 描述的装置 710 是以与第二种实施方式(图 3)的测试装置 510 相同的方式构建的,具有与图 4 的实施方式中采用的类似的壳体 770,除了用于装置 710 所用的测试线和缀合物不同并且壳体上的标记物可以不同,并且抗原检测与第一和第三吸收条带结合进行,而抗体检测与第二和第四吸收条带结合进行。更具体而言,装置 710 使用第一套测试线 750a1、750a2 用于检测样品中的 HIV1/2 和

TB 抗体。测试线 750a1 具有 HIV1 和 HIV2 重组抗原或合成肽,而测试线 750a2 具有重组 TB 抗原鸡尾酒或融合。用于抗体检测的第一缀合物优选是具有金溶胶的蛋白质 A 和 / 或抗人 IgM 缀合物。结果是,如果样品中有 HIV1 或 HIV2 抗体,所述抗体将在测试线 750a1 被抗原或合成肽捕获,如果样品中有 TB 抗体,则它们将在测试线 750a2 被抗原鸡尾酒或融合捕获。当缓冲液加入测试装置 710 中并且蛋白质 A 和 / 或抗人 IgM 缀合物迁移至测试线 750a1、750a2 处,所述缀合物如果在测试线 750a1 处存在,则其将被 HIV1 或 HIV2 抗体捕获,如果在测试线 750a2 处存在,则其将被 TB 抗体捕获。优选地,第一对照线 760a 设置在测试线 750a1、750a2 的下游。

[0066] 测试装置 710 还包括测试线 750b 1、750b2 用于分别检测 HIV. P24 抗原和 TB-LAM (脂阿拉伯甘露聚糖)抗原。更具体而言,测试线 750b 1 具有将捕获 p24 HIV 抗原的抗 HIV. P24 单克隆和 / 或多克隆抗体,而抗原测试线 750b2 具有将捕获 TB LAM 抗原的 LAM 抗体。在测试装置 710 中用于抗原检测的“第二缀合物”是缀合物的混合物,其包括抗 -HIV. P24 单克隆或多克隆抗体与如金溶胶的标记物缀合的缀合物、和 LAM 抗体与抗 -HIV. P24 单克隆或多克隆缀合物中使用的相同的或不同的标记物缀合的缀合物。如果 LAM 抗体缀合物使用不同的标记物,当 HIV 和 TB 抗原同时存在时,测试线 750b2 处显现的颜色可与测试线 750b 1 处显现的颜色不同。第二对照线 660b 同样优选设置。

[0067] 在图 7 中大概显示了用于多抗体和多抗原测试的第四代测试。测试装置 810 是以与第二种实施方式(图 3)的测试装置 510 相同的方式构建的,具有与图 4 的实施方式中采用的类似的壳体 870,除了用于装置 810 所用的测试线和缀合物不同并且壳体上的标记物可以不同。如图 7 所示,具有 5 条具有不同抗原的测试线 850a1、850a2、850a3、850a4、850a5 以检测不同的抗体,同时具有 5 条提供不同抗体的另外的测试线 850b1、850b2、850b3、850b4、850b5 以检测不同抗原。测试装置 810 可用于检测过敏或多种感染疾病。

[0068] 对于本发明的所有实施方式,本领域技术人员应当明白,缀合物的标记物可以采取多种形式,包括不同种类的金溶胶,有色乳胶,各种酶类等等。尽管本发明的优选实施方式提供了一种肉眼容易看见的检测信号,但应当明白本发明还包括可通过紫外线或其它技术如荧光镜来检测的其它标记物。因此,应当明白的是,可以提供一种能够通过诸如荧光镜或数字读取仪之类的自动读取装置读取的、采用本发明的测试单元的系统。

[0069] 本发明提高了灵敏度但不损害测试的特异性。灵敏度提高的主要原因是通过不同的迁移通道改进了样品到测试区的迁移,以及在缀合标记物与测试区复合物反应之前测试区中分析物与结合位点的有效结合。例如,在 HIV 测试的情况下,施加到第三吸收性条带上的血清样品中的 HIV 特异性抗体将迁移到第一测试区并与 HIV 测试线结合。血液中再没有其它的免疫球蛋白 G (IgG) 会结合到测试区中固定的 HIV 抗原上。当缓冲液加入第一吸收性条带,使蛋白 A 与乳胶或金的缀合物迁移到测试区时,所述蛋白 A 缀合物将与已在测试线处被 HIV 肽所捕获的 HIV 抗体的 FC 部分结合。由于蛋白 A 与 HIV 抗体的 FC 部分之间的结合非常牢固,仅需要提供少量的 HIV 抗体就能检测到。这样就与血液样品中所有人 IgG (包括 HIV 抗体)在迁移到测试线之前都要与蛋白 A 结合的传统测流层析 HIV 测试系统形成了鲜明对比,因为蛋白 A 会非特异性地结合所有的 IgG。因此,全部的蛋白 A、IgG、金 / 乳胶复合物都将迁移到含有 HIV 抗原的测试线处。而之后只有 HIV 抗体、蛋白 A、金 / 乳胶缀合物会与 HIV 抗原结合。然而,由于样品中有大量的非相关 IgG 和少量的 HIV 抗体存在,因而存

在没有足够的 HIV 抗体与蛋白 A 结合,故有色线不可见的风险。类似地,当血液血清样品中存在 HIV 特异性抗原时,在第四吸收条带中迁移的抗原将到达第二测试区,并将与含有 HIV P24 抗体的第二测试线结合。当缓冲溶液加入第二吸收条带引起抗体 / 标记物缀合物迁移至第二测试区时,缀合物中的抗体将与第二测试线中已捕获的抗原结合。

[0070] 本文已经记载和举例说明了多种免疫测定实施方式及其使用方法。尽管记载了本发明的具体实施方式,但并不意味着本发明仅限于此,其表示本发明的范围应大到本领域允许的程度,并且应该同样理解说明书。因此,尽管说明书中记载利用抗原 / 抗体反应进行配体结合,但也可以采用其它的配体结合机制,例如适配体结合、核酸结合、酶结合等等。同样,尽管记载该测试单元具有单条线用于检测一种配体,两条线用于检测两种配体,五条测试线用于检测五种配体,但应当明白可以采用不同数量的线来检测不同数量的抗体。此外,尽管所记载的测试单元在壳体顶壁具有开孔用于接收样品和缓冲液或者缓冲液 - 缀合物子系统,但应当明白也可以在所述壳体的端壁或侧壁设置一个或两个开孔。类似地,尽管记载的吸收性材料优选包括薄塑料背衬层,但应当明白也可以只在某些部位设置所述塑料背衬层或者根本不设置。在仅设置部分背衬层或不设背衬层的情况下,测试和对照部位可以位于所述吸收性材料的任何一侧或者两侧。而且,尽管所述测试区和对照区如所示包括测试线和对照线,但应当明白所述测试和对照部位也可以有不同的构造,例如环形、方形、椭圆形、虚线等等。事实上,测试部位和对照部位的构造可以互不相同。同样,尽管本发明描述采用相互垂直的吸收性材料,但应当明白所述壳体也可以不必相互垂直,只要为分析物 / 样品以及缓冲液 - 缀合物子系统提供不同的迁移通道。本领域技术人员还应当明白,所述壳体还可以有其它方式的改变以包括每条测试线的单独的窗口。同样,尽管本发明是结合使用加入缀合物迁移通道和可选择性的样品迁移通道的缓冲液进行说明的,但应当明白,可以根据需要选择一种或多种缓冲液,并根据要实施的一种或多种测试将其加入迁移通道。因此,通常使用例如磷酸盐缓冲液或 TRIS (三羟甲基氨基甲烷) 缓冲液的缓冲液。然而,本发明意在包括使用包括水在内的任何稀释液。此外,如果需要的话,所述稀释液可以在将样品加入到吸收性材料之前加入并混合到样品中,或者可以先将样品沉积之后加入稀释液。同样,可以采用任何能够使缀合物迁移的稀释液,并且可将其与缀合物在液态缀合物系统中进行预混合,或者将其提供到干燥缀合物系统中缀合物的迁移通道上。而且,应理解,本文所公开的测试和方法的方面可与前文引用的 U. S. 序列号 11/908,071 中包含的任何的方面和教导结合。因而本领域技术人员应当明白,在不偏离其要求保护的精神和范围的情况下,本发明还可以做出其它的改变。

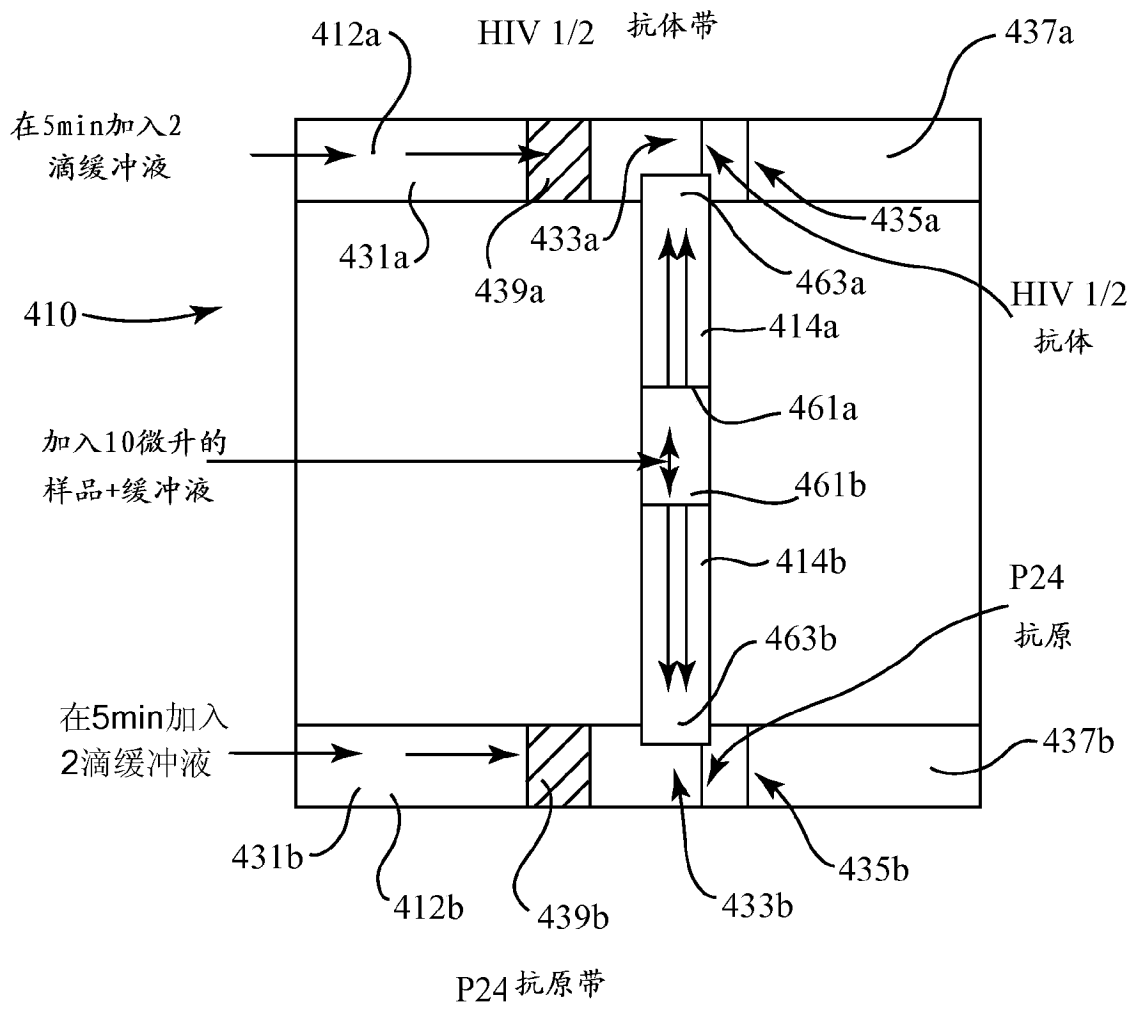


图 1

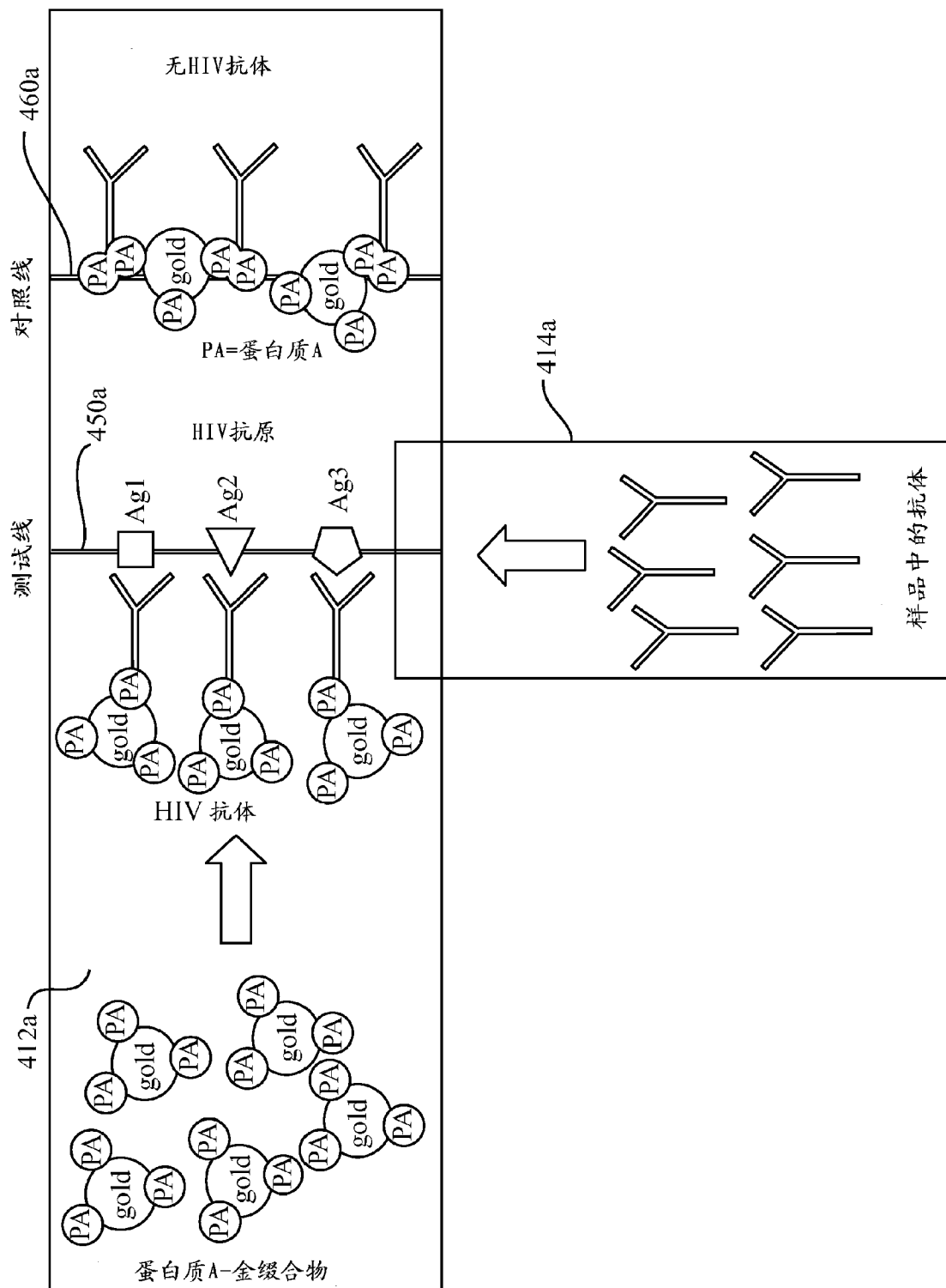


图 1A

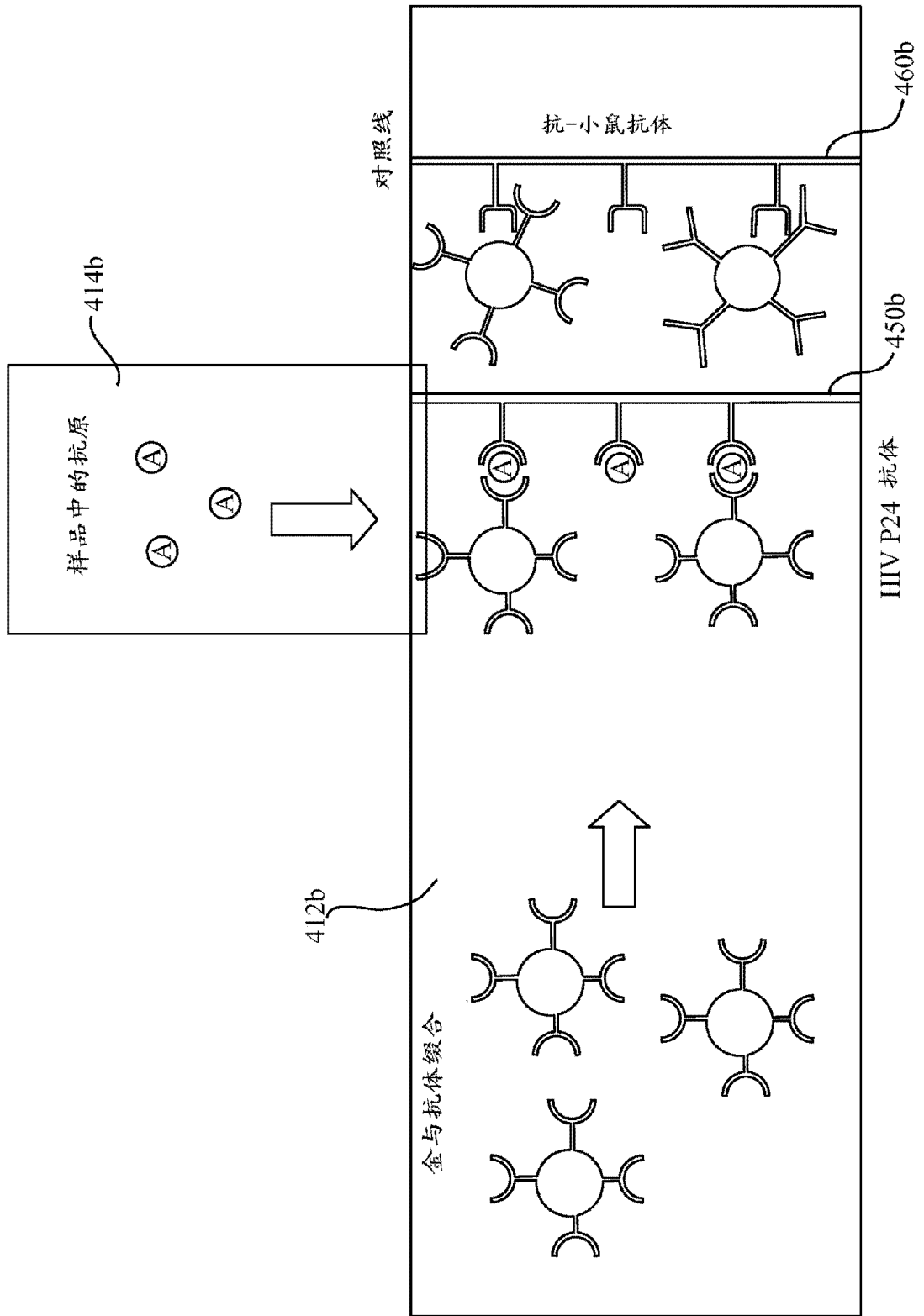


图 1B

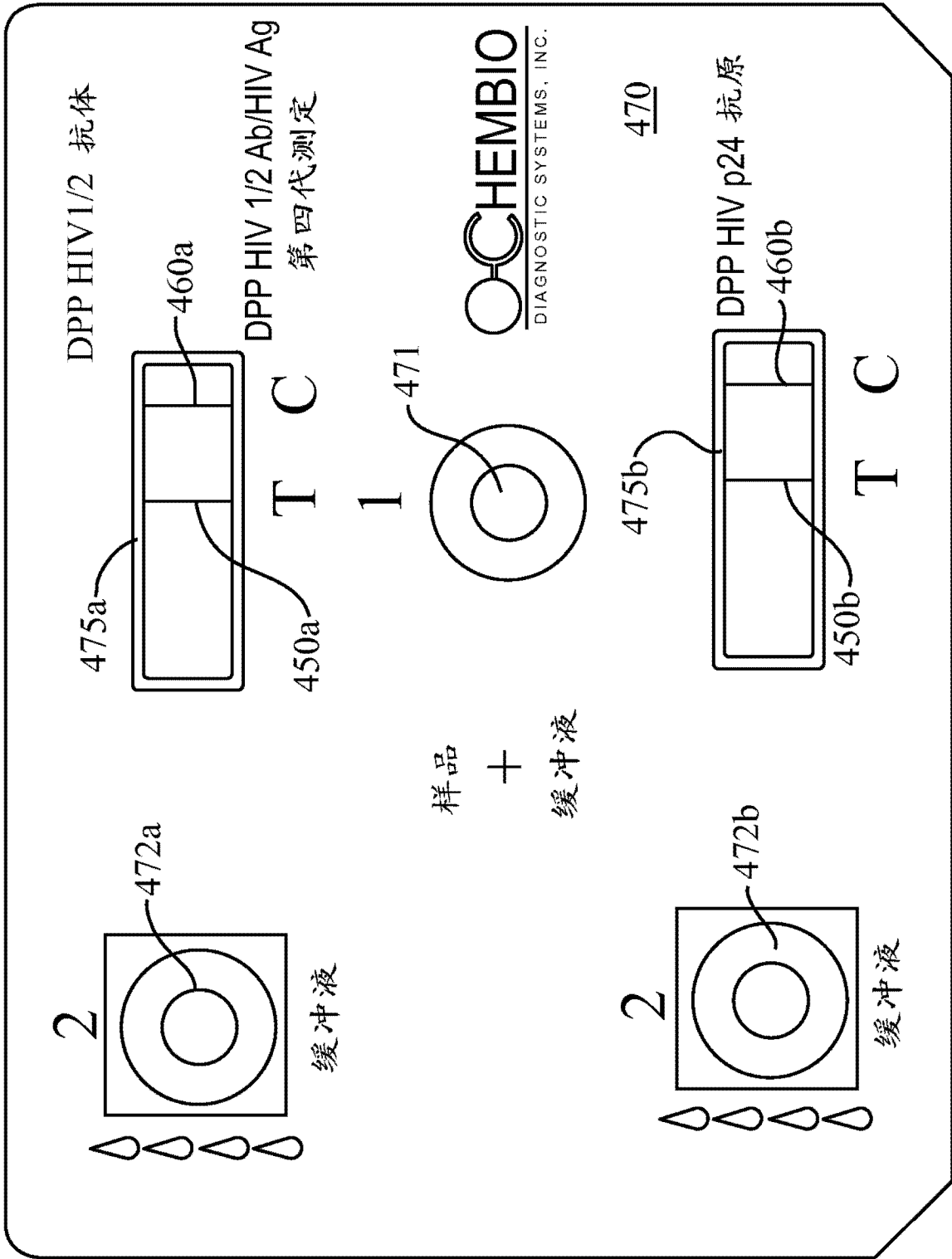


图 2

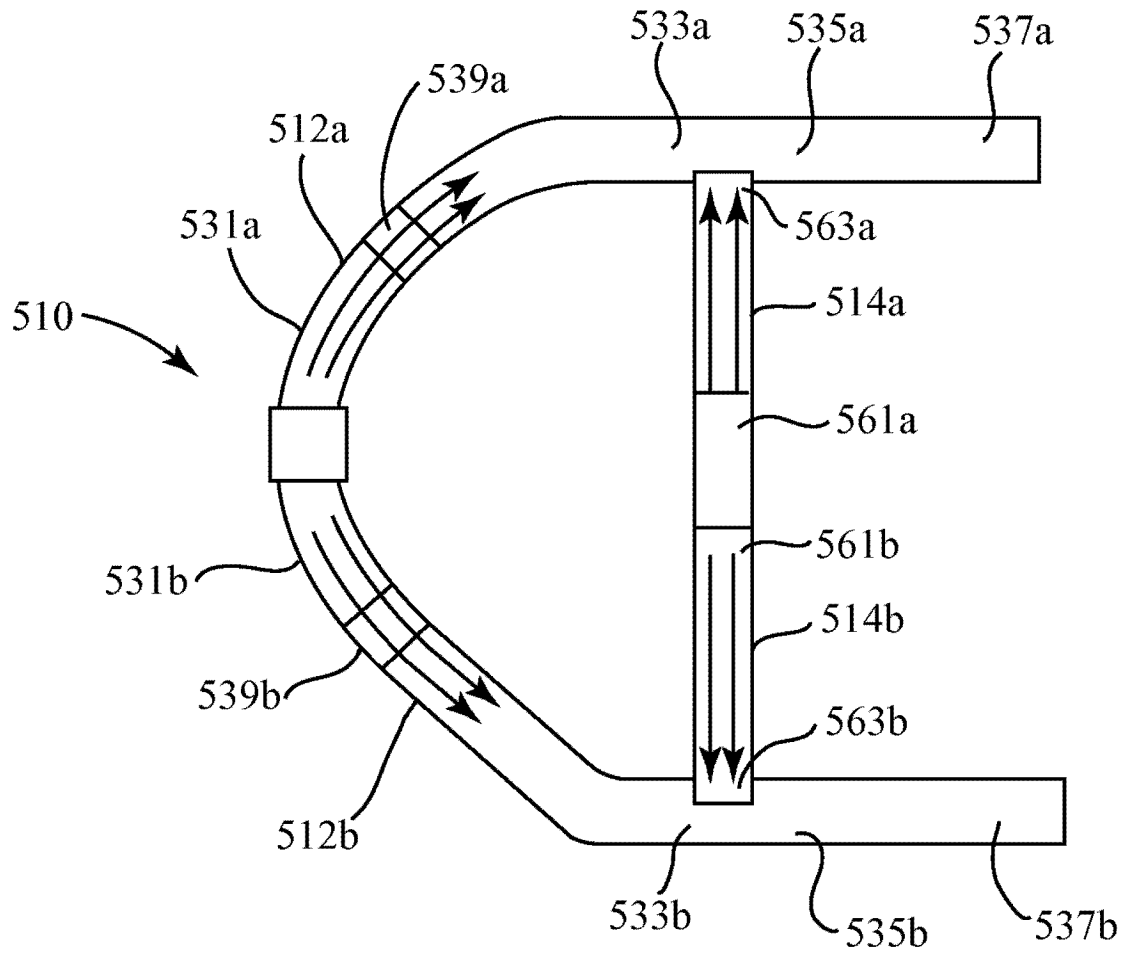


图 3

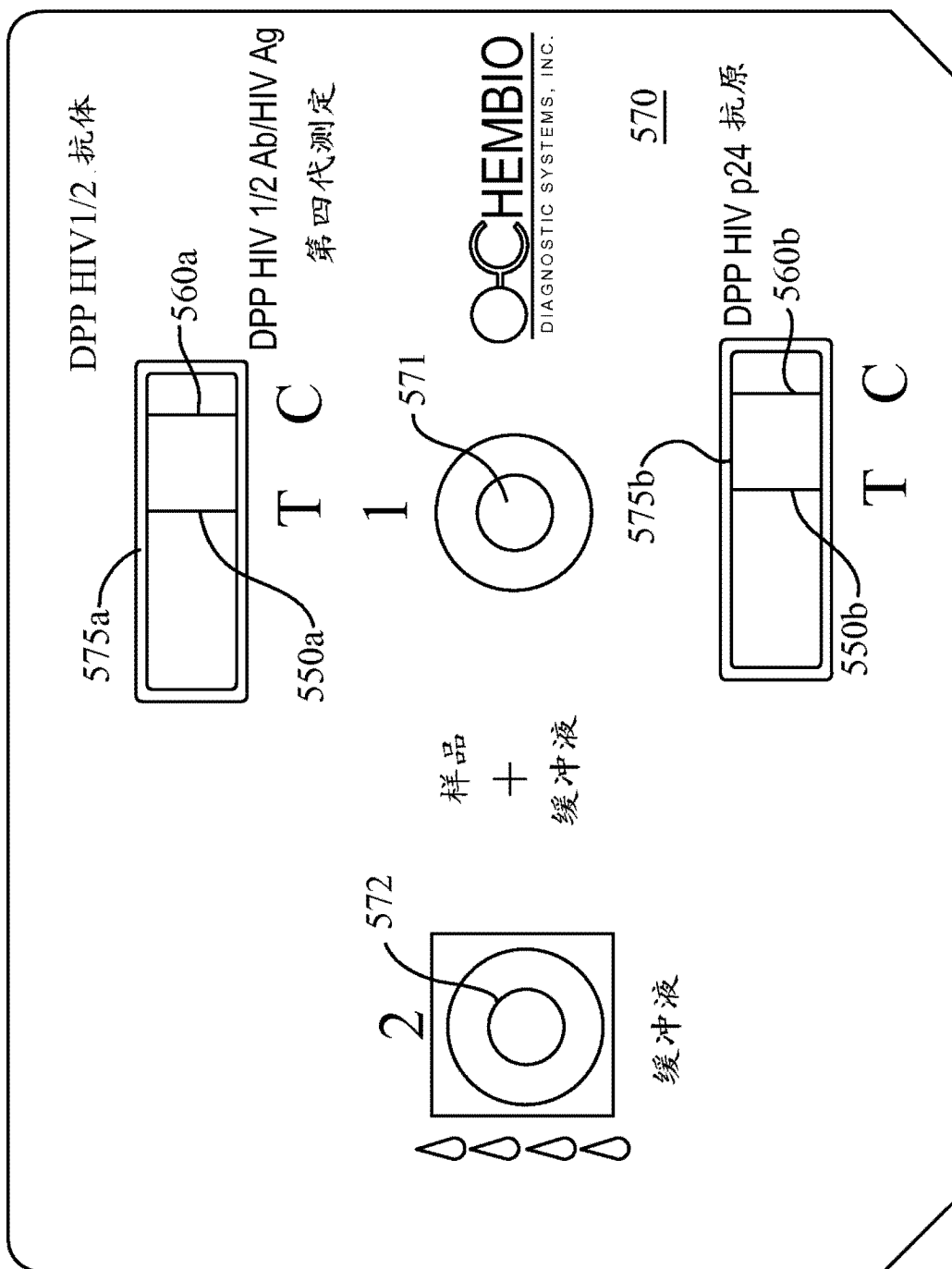


图 4

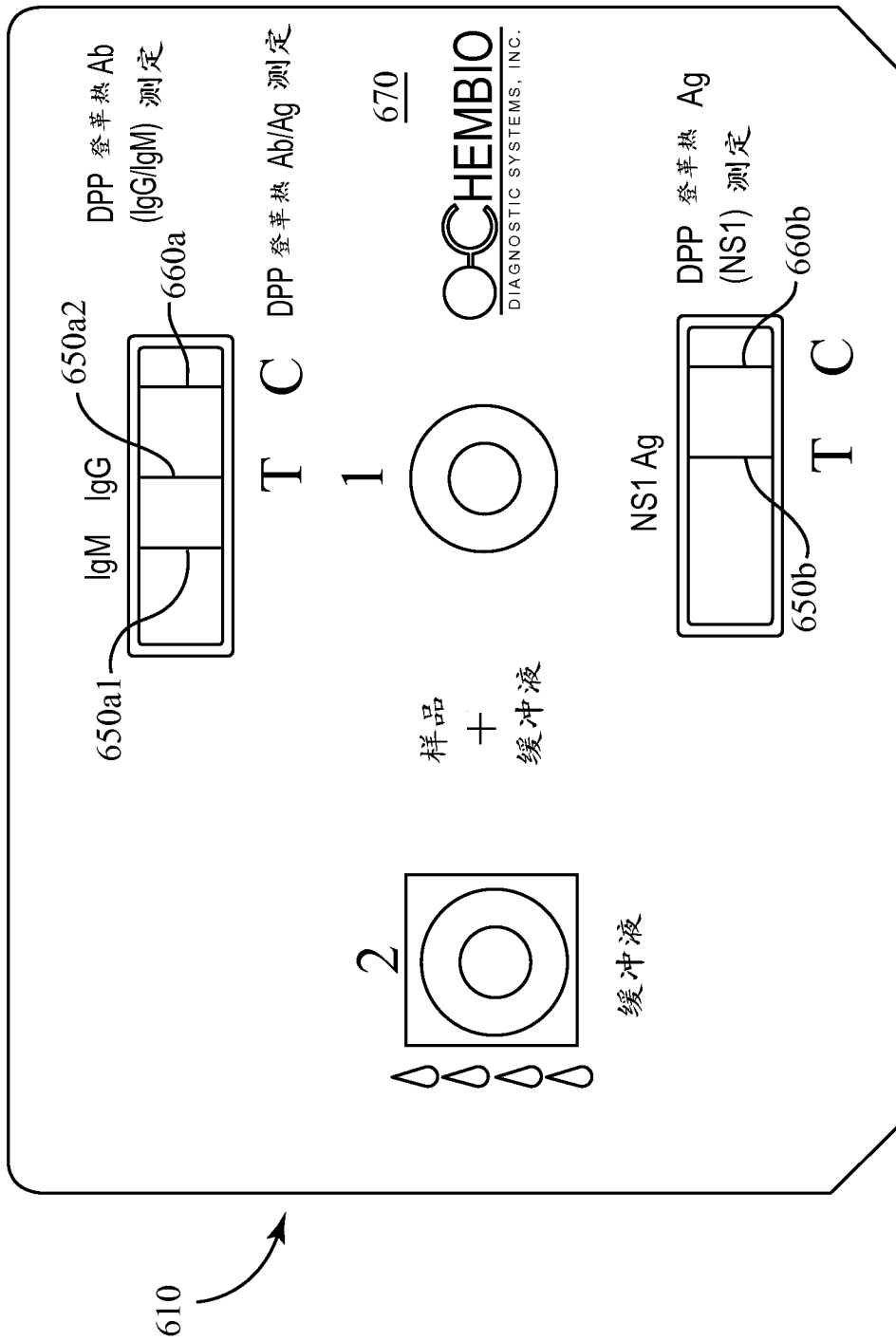


图 5

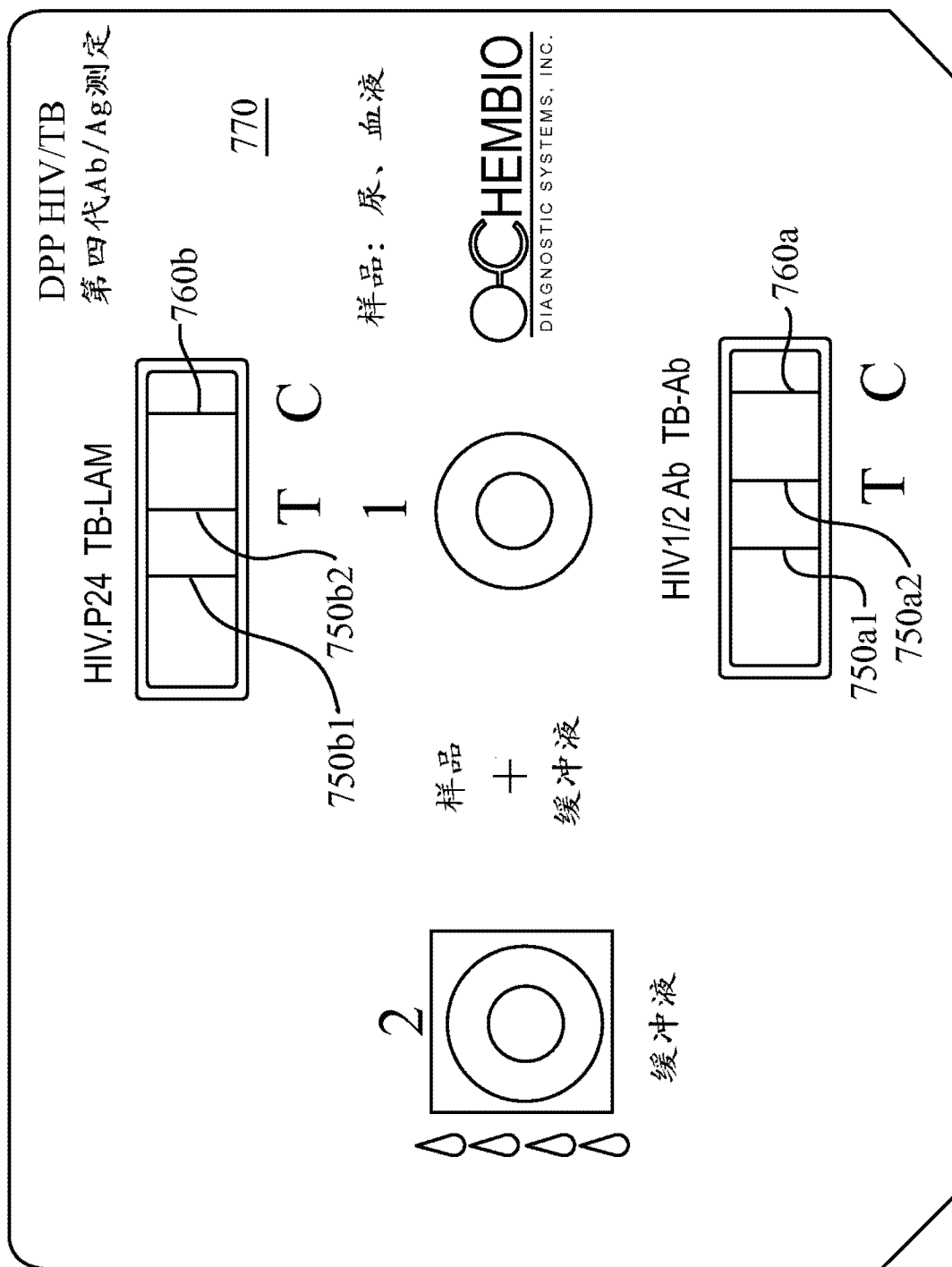


图 6

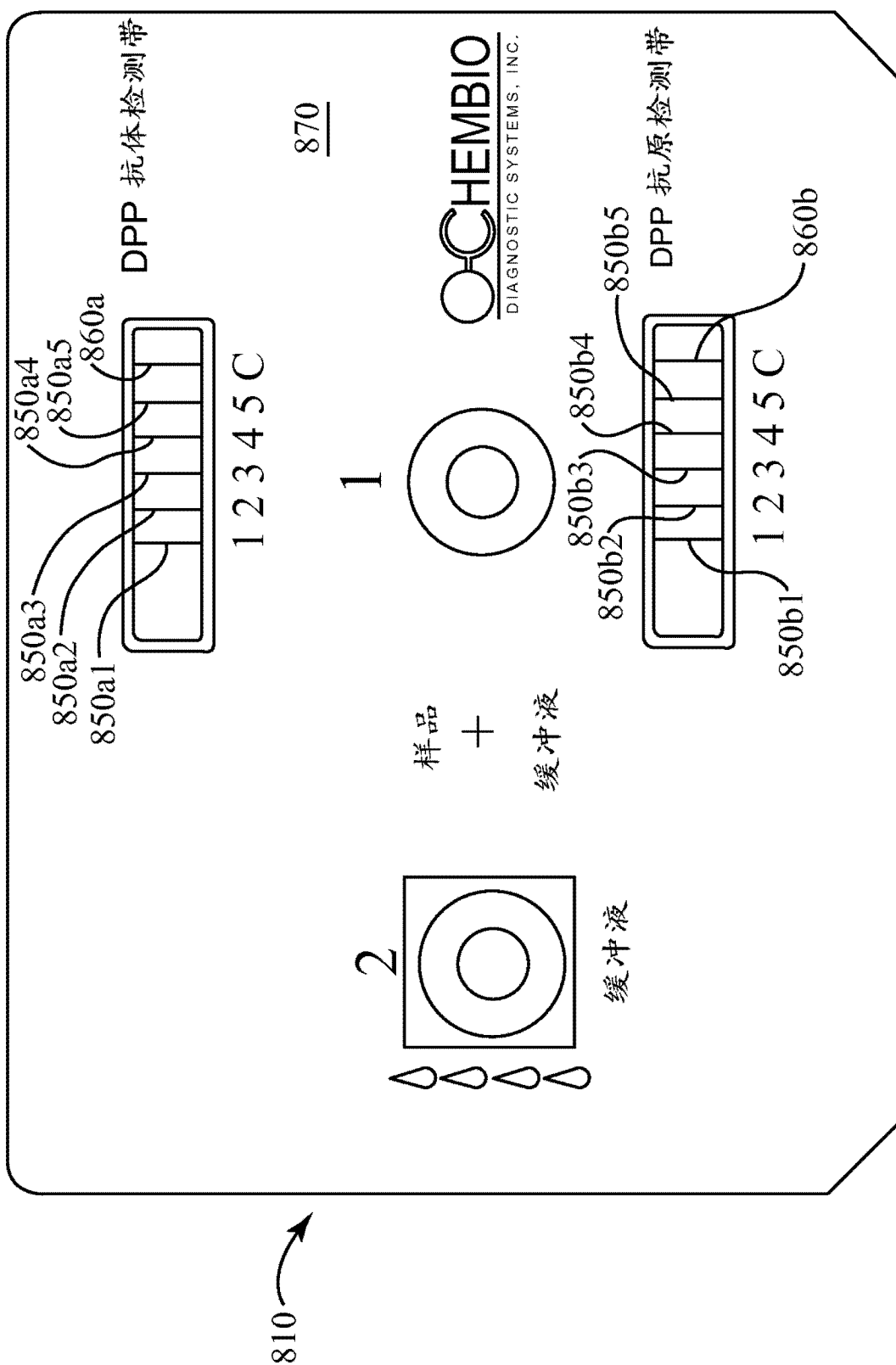


图 7

专利名称(译)	检测抗体和抗原的免疫测定装置		
公开(公告)号	CN102947439A	公开(公告)日	2013-02-27
申请号	CN201180019396.9	申请日	2011-02-15
[标]申请(专利权)人(译)	生化诊断系统公司		
申请(专利权)人(译)	生化诊断系统公司		
当前申请(专利权)人(译)	生化诊断系统公司		
[标]发明人	J 埃斯范迪亚里		
发明人	J.埃斯范迪亚里		
IPC分类号	C12M1/34 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/54386 G01N33/558 G01N33/56988 Y02A50/53		
代理人(译)	刘辛		
优先权	12/965258 2010-12-10 US 61/338303 2010-02-16 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种第四代免疫测定装置，其包括第一、第二、第三和第四吸收性或吸水性材料，所述材料限定第一、第二、第三和第四水平流动通道。所述第一和第二流动通道用于第一和第二缀合物的迁移，而所述第三和第四流动通道用于液体样品的迁移。用于检测一种或多种不同抗体的存在的第一测试区域位于第一和第三流动通道的接合处，用于检测一种或多种不同抗原的存在第二测试区域位于第二和第四流动通道的接合处。任选向吸收性材料提供壳体，其具有用于接收样品的开口，以及一个或多个用于接收缓冲溶液或缀合物-缓冲液亚复合物的开口。所述壳体还可在测试区域上具有视窗。

