



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680031421.4

[43] 公开日 2008年8月27日

[11] 公开号 CN 101253407A

[22] 申请日 2006.6.27

[21] 申请号 200680031421.4

[30] 优先权

[32] 2005.6.27 [33] US [31] 60/694,604

[86] 国际申请 PCT/US2006/024955 2006.6.27

[87] 国际公布 WO2007/002657 英 2007.1.4

[85] 进入国家阶段日期 2008.2.27

[71] 申请人 比纳克斯公司

地址 美国缅因州

[72] 发明人 A·H·戴维斯 R·N·皮亚西奥

W·J·帕林 E·R·皮亚西奥

B·C·雷恩曼

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘健 刘玥

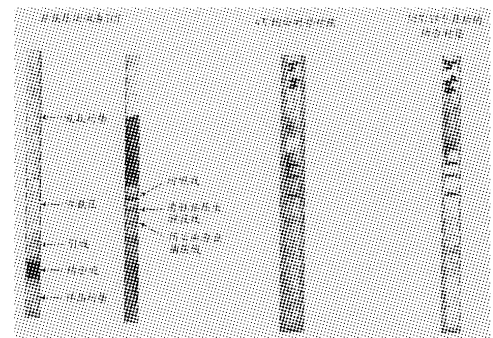
权利要求书3页 说明书11页 附图2页

[54] 发明名称

用于保护生物学活性分子和缀合标记物的非糖类有机化合物及其方法

[57] 摘要

本发明提供了如下方法，其包括使用非糖类有机相容溶质保护和保持生物学活性分子和缀合标记物活性。所述方法特别适用于与免疫测试相关的方面，例如免疫层析测试试验，并且可以结合入任何测试方法中，其中在所述测试方法中使用干燥的测试带作为沉积可迁移和/或固定化的生物学活性分子和/或缀合标记物的载体。



- 1、一种方法，其包括：
 - a) 将一种或多种生物学活性分子沉积到一个表面上；
 - b) 将一种或多种非糖类有机相容溶质沉积到所述表面上；和
 - c) 干燥所述表面上沉积的一种或多种生物学活性分子和沉积的一种或多种非糖类有机相容溶质，其中所述一种或多种非糖类有机相容溶质在干燥和重组状态下保持了所述一种或多种生物学活性分子的活性。
- 2、权利要求 1 的方法，其中同时将所述一种或多种生物学活性分子和所述一种或多种非糖类有机相容溶质沉积到所述表面上。
- 3、权利要求 2 的方法，其中每一种所述一种或多种生物学活性分子中均选自：抗体、标记的抗体、抗体片段和标记的抗体片段，并且所述一种或多种非糖类有机相容溶质包含单氨基酸。
- 4、权利要求 2 的方法，其中每一种所述一种或多种生物学活性分子均选自：抗体、标记的抗体、抗体片段和标记的抗体片段，并且所述一种或多种非糖类有机相容溶质包含约 1 到约 10 个氨基酸的单氨基酸链。
- 5、权利要求 3 的方法，其中每一种所述一种或多种生物学活性分子均选自：固定化的抗体、固定化的抗体片段、可迁移的标记抗体和可迁移的标记抗体片段，并且所述表面包含测试带部分。
- 6、权利要求 5 的方法，其中所述测试带是免疫层析性的。
- 7、权利要求 5 的方法，其中所述测试带部分是结合衬垫。
- 8、权利要求 5 的方法，其中所述测试带部分是检测区。
- 9、权利要求 5 的方法，其中所述免疫层析带包含有横向流动装置。
- 10、权利要求 2 的方法，其中所述一种或多种生物学活性分子选自：抗体、标记的抗体、抗体片段和标记的抗体片段，并且所述一种或多种非糖类有机相容溶质包含一种或多种胺。
- 11、权利要求 2 的方法，其中所述一种或多种生物学活性分子选自：抗体、标记的抗体、抗体片段和标记的抗体片段，并且所述一种或多种非糖类有机相容溶质包含渗透调节物质或其它相容的溶质。
- 12、一种方法，其包括：
 - a) 提供一个样品；

b) 提供至少一部分包含一种或多种生物学活性分子和一种或多种非糖类有机相容溶质的测试带, 其中所述一种或多种非糖类有机相容溶质在干燥和重组状态下保护和保持了所述一种或多种生物学活性分子的活性;

c) 将所述样品与所述测试带接触; 和

d) 检测样品中分析物的存在或者测定其量, 其中所述一种或多种非糖类有机相容溶质在干燥和重组状态下保护和保持了所述一种或多种生物学活性分子的活性。

13、权利要求 12 的方法, 其中所述测试带部分是结合衬垫。

14、权利要求 12 的方法, 其中所述测试带部分是检测区。

15、权利要求 12 的方法, 其中所述测试带是免疫层析性的。

16、权利要求 12 的方法, 其中所述测试带包含有横向流动装置。

17、权利要求 12 的方法, 其中所述一种或多种非糖类有机相容溶质各自选自: 甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、脯氨酸、谷氨酸钠、赖氨酸、氨基丁酸、牛磺酸、胺、甜菜碱、肌氨酸、N-氧化三甲胺、2-萘酚、ectoine、hydroxyectoine、甘油、脱氧核糖核酸、单磷酸腺苷、PCR 引物、精胺、亚精胺、BnJ5 8、聚乙烯亚胺、聚组氨酸、polythymadilic acid、乙酰-L-肉碱和 L-瓜氨酸。

18、一种测试带, 其限定了一个流路并且包含:

一个干燥形式的多孔元件, 其包含:

用于结合分析物的标记的结合试剂, 和

至少一种非糖类有机相容溶质,

一个与所述多孔元件分隔但液体接触的多孔带, 所述多孔带包含检测区, 和

沿着流路设置的结合试剂, 其是用来结合分析物和/或分析物与标记的结合试剂的复合物:

其中所述结合试剂是在包含分析物的液体使标记的结合试剂发生移动时用来在检测区中捕获分析物和/或分析物与标记的结合试剂的复合物, 并且

所述非糖类有机相容溶质选自甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、脯氨酸、谷氨酸钠、赖氨酸、氨基丁酸、牛磺酸、胺、甜菜碱、肌氨酸、N-氧化三甲胺、2-萘酚、ectoine、hydroxyectoine、甘油、脱氧核糖核酸、单磷

酸腺苷、PCR 引物、精胺、亚精胺、BnJ5 8、聚乙烯亚胺、聚组氨酸、
polythymadilica cid、乙酰-L-肉碱和 L-瓜氨酸。

用于保护生物学活性分子和缀合标记物的 非糖类有机化合物及其方法

相关申请

本申请要求了 2005 年 6 月 27 日登记的美国临时专利申请 60/694,604 的优先权，因此全文引入该申请作为参考。

发明领域

本申请涉及试验。

发明背景

多种与蛋白关联使用的缓冲剂和稳定剂都是可以商购获得的。这些溶剂和缓冲剂可以用在多种方法和测试中，其中包括免疫测试。在干燥的免疫层析测试试验条件下，许多可以使用的缓冲剂和稳定剂在保护和保持生物学活性分子和缀合标记物的活性方面都会失效。一些免疫层析测试试验材料的保存期限非常短，并且由于在干燥条件下的存储期间分子活性的退化，其经常在短时期内就会丧失效力或者变得完全失效。虽然已经出现了生产更有效且更持久的免疫层析测试试验材料的趋势，但是仍然期望能进一步改善活性分子和缀合标记物活性的效力和持续性。

发明简述

本发明提供了使用非糖类有机相容溶质保护和保持生物学活性分子和缀合标记物活性方法。我们已经发现当与一种或多种非糖类有机相容溶质一起沉积时，沉积在免疫层析测试 (ICT) 试验干燥载体上的生物学活性分子的活性可以保持、保护和持续保持更长的时间。非糖类有机相容溶质可以用在与免疫测试例如 ICT 测试相关的地方，还可以用在需要例如在溶液相、在干燥状态或者在重组状态中保护和保持生物学活性分子和缀合标记物活性的任何应用中。非糖类有机相容溶质可以与任何测试方法相结合，在所述测试方法中使用干燥的测试带作为沉积可迁移和/或固定化的生物学活性分子和/或缀合标记物的载体。

附图说明

图 1 表明 2% w/v 的 ecotine、L-组氨酸、牛磺酸和 L-苏氨酸组合物对用于疟疾 ICT 装置的不含蔗糖的结合衬垫干燥缓冲剂具有稳定作用。虽然在干燥衬垫缓冲剂配方中不含蔗糖，但对于在 40°C 和 55°C 两种温度下储存的结合衬垫观测到相同的灵敏性。

图 2 图解了 4% w/v 的单独的 L-组氨酸没有使用于疟疾 ICT 装置的不含蔗糖的结合衬垫干燥缓冲剂具有稳定性。

发明详述

1、介绍

当与一种或多种非糖类有机相容溶质一起沉积时，特别是当沉积到免疫层析测试试验的干燥载体上时，生物学活性分子的活性通常可以保持、保护和持续保持更长的时间。

在一方面，提供了一种方法，其包括：

- a) 将一种或多种生物学活性分子沉积到一个表面上；
- b) 将一种或多种非糖类有机相容溶质沉积到该表面上；和
- c) 干燥所述表面上沉积的一种或多种生物学活性分子和沉积的一种或多种非糖类有机相容溶质；其中所述一种或多种非糖类有机相容溶质在干燥和重组状态下保护和保持了所述一种或多种生物学活性分子的活性。

在另一方面，提供了一种方法，其包括：

- a) 提供一个样品；
- b) 提供至少一部分包含一种或多种生物学活性分子和一种或多种非糖类有机相容溶质的测试带，其中所述一种或多种非糖类有机相容溶质在干燥和重组状态下保护和保持了所述一种或多种生物学活性分子的活性；

c) 将样品与测试带接触；和

d) 检测样品中所关心分析物的存在或者测定其量。

在另一方面，提供了一种方法，其包括：

- a) 提供一种或多种生物学活性分子；和
- b) 提供一种或多种非糖类有机相容溶质；其中所述一种或多种非糖类有机相容溶质保持了所述一种或多种生物学活性分子的活性。

本发明进一步的优点和优点将随着说明的进行而得以显现。为了获得对本发明范围的完整的理解，应当进一步地认识到，可以将本发明的多个方面结合以产生合意的发明实施方式。

除非另有定义，本文所使用的所有技术和科学术语的含义都与本发明所属领域普通技术人员通常理解的含义相同。当术语以单数提供时，发明人同时也考虑到了该术语的复数。本文所使用的命名法和如下所述的操作步骤是本领域公知且常用的。

术语“氨基酸”意图包括所有分子，无论是天然的还是合成的，所述分子同时包括氨基官能团和酸官能团二者并且能够被包括到天然存在的氨基酸的聚合物中。示例性的氨基酸包括天然存在的氨基酸；其类似物、衍生物和同系物；具有派生侧链的氨基酸类似物；以及所有上述物质中的任意一种的全部立体异构体。在本文中依照 IUPAC-IUB 的建议对天然氨基酸的名称进行了缩写。

术语“抗体”是指免疫球蛋白，其保持有特异性结合能力的衍生物，以及具有与免疫球蛋白结合功能区一致或大体一致的结合功能区的蛋白。这些蛋白可以由天然来源获得，或者可以部分或完全地通过合成来制备。抗体可以是单克隆或多克隆的。抗体可以是任意免疫球蛋白类别中的成员，包括任意的人类类别：IgG、IgM、IgA、IgD 和 IgE。在示例性的实施方式中，与本文所描述的方法和组合物一起使用的抗体是 IgG 类的衍生物。

术语“抗体片段”是指抗体的任何小于全长的衍生物。在示例性的实施方式中，抗体片段至少保持了使全长抗体具有特异性结合能力的重要部分。抗体片段的例子包括，但不限于，Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、Fv、dsFv 双功能抗体和 Fd 片段。抗体片段可以通过任何方式产生。例如，抗体片段可以通过完整抗体的裂解作用由酶或化学方法产生，其还可以由基因编码部分抗体序列而重组产生，或者其可以完全或部分地通过合成产生。抗体片段可以任选地为单链抗体片段。或者，所述片段可以包含连接在一起的多个链，例如通过二硫化物连接基连接的。所述片段也可以任选地为多分子复合物。功能性抗体片段一般包含至少约 50 个氨基酸，更一般地包含至少约 200 个氨基酸。

术语“生物学活性分子”是指为活性有机体的一部分的任何活性有机分子，其可以是天然的、合成的或者是它们的组合。

术语“包含”和“含有”是以包括、开放的含义使用的，其意思是指可能包括其它元素。

本文所使用的术语“包括”意思是指“包括但不限于”。“包括”和“包括但不限于”可以互换使用。

术语“标记”或“标记的”是指将可检测的标示物任选共价或非共价地结合或附着到分子中，所述分子例如是多肽，如抗体。标记多肽的各种方法是本领域所公知的，并且是可以使用的。用于多肽的标记的例子包括，但不限于，以下物质：放射性同位素、荧光标记、重原子、酶标记或指示基因、化学发光基团、生物素基团、通过二级指针辨认的预先确定的多肽表位（例如，亮氨酸拉链对序列、二级抗体的结合位点、金属结合功能区、抗原表位标签）。在一些实施方式中，标记物附着有各种长度的隔离臂以减少潜在的位阻。

术语“非糖类有机相容溶质”是指非糖并且能溶解于有机溶液中的任何分子。

术语“测试带”是指可以在其之上进行试验的色谱样介质。

术语“样品”是指可能含有分析物的任何液体样品。

2、在干燥和重组状态下保持生物学活性分子活性的方法

本发明提供了非糖类有机相容溶质在保护和保持生物学活性分子和缀合标记物的活性方面的用途。下述方法适用于具有多孔载体的免疫层析测试带，例如硝化纤维测试带，所述测试带是本领域公知的。

本发明提供了一种在干燥和重组状态下保持生物学活性分子活性的方法，其包括将一种或多种生物学活性分子沉积在一个表面上。可以使用任何合适的方法将所述的一种或多种生物学活性分子沉积在所述表面上。所述的一种或多种生物学活性分子可以是任何合适的生物学活性分子，例如，能够特异性结合一种或多种所关心的分析物的生物学活性分子。本发明的合适的分子包括，例如，多克隆或单克隆的抗体或抗体片段。所述表面可以是适于进行免疫测试的任何类型的表面，例如，硝化纤维测试带。

在某些实施方式中，所述表面或测试带是横向流动（lateral flow）装置的一部分。在横向流动装置中，将含有所关心的目标分析物的样品加入到横向流动装置的施加孔中。测试样品沿着测试带或所述表面向含有可迁移结合试剂的区域流动，所述的可迁移结合试剂设置在干燥状态

的区域中，例如，设置在衬垫中。当样品前沿到达该区域时，可迁移的标记的结合试剂从衬垫中释放出来，然后与可能存在于测试样品中的目标分析物进行相互作用。样品中的目标分析物与可迁移的结合试剂结合并且继续向检测区流动。检测区包含固定化的未标记的特异性结合试剂，例如，在衬垫上，以用于结合分析物/可迁移结合试剂复合物。样品中分析物的存在是通过观测标记的结合试剂/分析物复合物在检测区域中结合的程度（如果有的话）而确定的。结果可以通过观测色度的方式进行视觉评定，颜色的强度与测试样品中目标分析物的浓度成正比。在一个实施方式中，标记的试剂、分析物（如果存在）和固定化的未标记的特异性结合试剂在“夹层”反应中共同作用。其结果是，如果样品中存在分析物，则标记的试剂就被结合在检测区域中。两种结合试剂必须对分析物上不同的表位具有特异性。

该类横向流动装置的例子公开于 Davis 等人的 U.S. 6,352,862 中，在此将其全文引入作为参考。

所述方法还可以包括将一种或多种非糖类有机相容溶质沉积在一个表面上。所述一种或多种生物学活性分子和一种或多种非糖类有机相容溶质在载体表面或表面上的沉积，可以以任何合适的方式进行，所述方式例如同时或分别沉淀。本发明的一种或多种非糖类有机相容溶质可以是适于本发明目的的任何非糖类有机相容溶质，所述目的就是在不存在一种或多种非糖类有机相容溶质时有效地使一种或多种生物学活性分子的活性保持、保护较长的时间。本发明的一种或多种非糖类有机相容溶质包括，例如，氨基酸如甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、脯氨酸、谷氨酸钠、赖氨酸、氨基丁酸（aminobutric acid）、牛磺酸，胺例如甜菜碱、肌氨酸、N-氧化三甲胺，或渗透调节物质（osmolytes）或者其它合适的溶质例如 2-萘酚、ectoine、hydroxyectoine、甘油、脱氧核糖核酸、单磷酸腺苷、PCR 引物、精胺、亚精胺、Brij58、聚乙烯亚胺、聚组氨酸、polythymadilic acid、乙酰-L-肉碱、L-carline、氨基乙基亚磺酸和阿魏酸。

所述方法还可以包括对表面上沉积的一种或多种生物学活性分子和沉积的一种或多种非糖类有机相容溶质进行干燥。本领域已知的任何合适的干燥方法都可以用来干燥所述沉积的一种或多种生物学活性分子和一种或多种非糖类有机相容溶质。

所述方法的一个重要的方面是一种或多种非糖类有机相容溶质在

干燥和重组状态下保护和保持一种或多种生物学活性分子的活性的能力。

3、检测样品中所关心分析物的存在或测定其量的方法

本发明进一步提供了非糖类有机相容溶质在保护和保持生物学活性分子和缀合标记物的活性方面的用途及其方法。本文所提供的方法适用于具有多孔载体的免疫层析测试带例如硝化纤维测试带，例如横向流动装置，如先前部分所详细描述，所述测试带数目众多、工艺不同并且是本领域公知的。

例如，通常，用于测定样品中所关心的分析物的存在或数量的免疫测试装置包括，一个样品施加元件，其与结合衬垫液体相通，所述结合衬垫与具有测试结果区和对照区的硝化纤维测试带液体相通。免疫测试装置还可以在与样品施加衬垫反方向的末端包括一个末梢接收器，用于在测试完成之后吸收任何过量的液体。

所述样品施加衬垫是一个多孔的衬垫，其能够吸收待测样品并将吸收的样品通过毛细管作用转移到结合衬垫处。结合衬垫包括一种或多种干燥的标记的分子或试剂例如抗体，其能够与一种或多种所关心的分析物进行特异性地结合从而形成分析物标记的试剂复合物。结合衬垫还可以包括一种或多种稳定化化合物，其能够对由湿度和温度所引起的条件变化感发热稳定性以及稳定性。结合衬垫是一种多孔衬垫，其能够吸收从样品施加衬垫处转移来的样品并且通过毛细管作用将所述样品转移到硝化纤维带上。硝化纤维带能够吸收来自结合衬垫的样品并且通过毛细管作用将所述样品向下游转移到测试结果区和对照区。免疫测试装置的测试结果区包括一种或多种固定化分子或试剂，例如抗体，其能够与一种或多种所关心的分析物或分析物标记的试剂复合物的任意部分进行特异性地结合。免疫测试装置的对照区包括一种或多种固定化分子或试剂，例如抗体，其能够与一种或多种标记的试剂进行特异性地结合。

当将液体试样施加到装置的样品施加衬垫上时，所述样品通过毛细管作用穿过样品施加衬垫、结合衬垫和硝化纤维衬垫。当样品穿过结合衬垫时，所述样品溶解了干燥的标记分子或试剂，并且如果样品中存在所关心的分析物，则所溶解的标记分子或试剂就会与所关心的分析物结合从而形成分析物标记的试剂复合物，相反，如果样品中不存在所关心的分析物，则没有复合物形成。然后，将正试验情况中的分析物标记的

试剂复合物，或负试验情况中的单独的标记试剂，迁移到并且穿过硝化纤维带，接着经过装置的测试结果区和对照区。如果样品中存在所关心的分析物，则分析物标记的试剂复合物与测试结果区的固定化试剂相结合从而形成可检测的线，而如果样品中不存在所关心的分析物，则没有分析物标记的试剂复合物形成，因此在测试结果区就不发生结合。无论样品中是否存在用于形成复合物的所关心的分析物，标记的试剂都会与对照区的固定化试剂相结合从而形成可检测的线，表示测试已经完成。任何过量的液体样品在测试完成后均可以被所述装置的末梢接收器吸收。

本发明提供了检测样品中所关心分析物的存在或测定其量的方法，其包括提供怀疑含有所关心分析物的样品的步骤。所述样品可以是任何样品，例如生物学液体或环境样品。所述方法还可以包括提供一种免疫层析测试带，所述测试带包含有一种或多种生物学活性分子和一种或多种非糖类有机相容溶质。

免疫层析测试带优选与如上所述的免疫测试式装置相连，所述装置是用于检测样品中所关心分析物的存在或测定分析物的数量的。本发明的方法还可以包括将怀疑含有所关心的分析物的样品与免疫层析测试带接触的步骤。

所述方法还可以包括检测所关心的分析物的存在或测定其量的步骤。对所关心分析物的存在的检测或对其数量的测定可以通过能够达到该目的的任何合适的方法进行，例如，使用标记的抗体或抗体片段，其中标记物包括一种或多种，例如，乳胶、染料、金溶胶、放射性或荧光标记物。

本发明的一个重要的方面包括一种或多种非糖类有机相容溶质在干燥和重组状态下保护和保持一种或多种生物学活性分子的活性的能力，所述干燥和重组状态特别是例如任何上述装置中的结合衬垫或含有可迁移且干燥的结合试剂以及检测区中的结合试剂的其它区域。本发明的一种或多种非糖类有机相容溶质可以选自，例如，氨基酸例如甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、脯氨酸、谷氨酸钠、赖氨酸、氨基丁酸 (aminobutric acid)、牛磺酸，胺例如甜菜碱、肌氨酸、N-氧化三甲胺，或渗透调节物质 (osmolytes) 或者其它合适的溶质例如 2-萘酚、ectoine、hydroxyectoine、甘油、脱氧核糖核酸、单磷酸腺苷、PCR 引物、精胺、亚精胺、Brij58、

聚乙烯亚胺、聚组氨酸、polythymadilic acid、乙酰-L-肉碱、L-瓜氨酸 (L-citrulline)、氨基亚磺酸和阿魏酸。

实施例

已经对本发明进行了一般性的描述，通过参照以下实施例可以更容易地理解本发明，包括这些实施例的目的仅仅是为了例证说明本发明实施方式的某些方面，其并不打算以任何方式限定本发明。除非另有说明，否则所有的标题都是为了方便读者，而不是用于限定标题后正文的含义。

实施例 1: RSC 的捕获

根据本实施例，建造并使用检测 RSV 抗原的 ICT 装置。含有 1.0 mg/ml 单克隆抗-RSV (Binax Inc., Portland ME) 和 8% (w/v) 牛磺酸 (Sigma, St Louis MO) (保护的)，或者只含有 1.0 mg/ml 单克隆抗-RSV (Binax Inc., Portland ME) (未保护的) 的捕获抗体溶液在制得之后就立即进行划线涂布。将所述捕获溶液划线涂布到层压在聚酯薄膜上的硝化纤维 (HFI IOUBBS, Millipore, Bedford, MA) 材料上，并在 48°C 下干燥两分钟。然后按照装置的一般设计用金标记的抗-RSV 构建所述装置。在随后的几天内 (时间零点) 对一部分完成的装置进行分析，将其余的装置密封在箔袋中并在 55°C 下存储。

将对 RSV 抗体呈阳性 (灵敏、低灵敏和中等灵敏) 和阴性的样品施加到装置的萃取衬垫上，15 分钟后对它们进行分析以检测 RSV 抗原。对于未稳定化和稳定化划线涂布捕获溶液二者的阳性对照来说，初始测试均产生了相似的响应。在所有情况下，阴性对照均未产生阳性信号。在 55°C 下经过一周以后，未保护的装置未能检测到灵敏对照。三周以后对于未保护的装置来说，低灵敏对照仅产生了微弱的信号，而保护的装置产生了几乎与该保护装置在第一周运行时相当的响应。最后，两个月后，未保护的装置对三种阳性对照几乎都没有反应。保护的装置仍能够检测到低和中等灵敏对照中的 RSV 抗原。

实施例 2: 肺炎链球菌的捕获

根据本实施例，建造并使用检测肺炎链球菌 (*S. pneumoniae*) 抗原

的 ICT 装置。含有 1.25 mg/ml 亲合纯化兔抗肺炎链球菌抗体 (Binax Inc., Portland ME) 和 5% (w/v) hydroxyectoine (Fluka Production, GmbH) (保护的), 或者仅含有 1.25 mg/ml 亲合纯化兔抗肺炎链球菌抗体 (Binax Inc., Portland ME) (未保护的) 的捕获抗体溶液在制得之后就立即进行划线涂布。将捕获溶液划线涂布到层压在聚酯薄膜上的硝化纤维 (SR, Millipore, Bedford, MA) 材料上, 并在 50°C 下干燥两分钟。然后按照装置的一般设计用金标记的兔抗肺炎链球菌抗体构建所述装置。在随后的几天内 (时间零点) 对一部分完成的装置进行分析, 将其余的装置密封在箔袋中并在 55°C 下存储。

将对肺炎链球菌抗体呈阳性 (灵敏, 低灵敏和中等灵敏) 和阴性的样品施加到装置的患者药签 (swab) 上, 接着加入追加溶液, 15 分钟后对它们进行分析以检测肺炎链球菌抗原。在所有情况下, 阴性对照均未产生阳性信号。在 55°C 下经过一周之后, 未保护的装置产生的信号是用 hydroxyectoine 稳定化的装置的一半。一个月后, 未保护的装置未能检测到低灵敏的对照, 而保护的装置仍能够检测到灵敏的对照。两个月之后的结果与一个月时的结果类似。

实施例 3: 丝虫的捕获

根据本实施例, 建造并使用检测 RSV 抗原的 ICT 装置。含有 1.5 mg/d 单克隆抗-*D. immitis* IgM (Binax Inc., Portland ME) 和 5% (w/v) 精胺 (Fluka Production, GmbH) (保护的), 或者仅含有 1.5 mg/ml 单克隆抗-*D. immitis* IgM (Binax Inc., Portland ME) (未保护的) 得捕获抗体溶液在制得之后就立即进行划线涂布。将捕获溶液划线涂布到层压在聚酯薄膜上的硝化纤维 (HFI IOUBBS, Millipore, Bedford, MA) 材料上, 并在 50°C 下干燥两分钟。然后按照装置的一般设计用金标记的抗-*D. immitis* 构建所述装置。在紧接下来的时间内 (时间零点) 对一部分完成的装置进行分析, 将其余的装置密封在箔袋中并且存储在 55°C 下。

将对 *D. immitis* 抗体呈阳性 (低和中等灵敏) 和阴性的全血样品施加到装置的萃取衬垫上, 15 分钟后对它们进行分析以检测 *D. immitis* 抗原。对于未稳定化和稳定化划线涂布捕获溶液二者的阳性对照来说, 初始测试均产生了相似的响应。在所有情况下, 阴性对照均未产生阳性信号。在 55°C 下经过一周以后, 未保护的装置未能检测到低灵敏的对照,

而稳定化的装置产生了与初始测试相当的信号。一个月以后，未保护的装置未能检测到低或中等灵敏的阳性对照，而保护的装置能够检测到低和中等灵敏的阳性对照。两个月以后，未保护的装置仍对阳性对照没有反应。保护的装置能够检测到中等灵敏对照中的 *D. immitis* 抗原。

实施例 4: RSV 的捕获

根据本实施例，建造并使用用于检测 RSV 抗原的 ICT 装置。将含有 1.0mg/ml 单克隆抗-RSV (Binax Inc., Portland ME) 和 1.25% (w/v) 单磷酸腺苷 (Sigma, St Louis, MO) (保护的) 的捕获抗体溶液在制备之后就立即进行划线涂布。将捕获溶液划线涂布到层压在聚酯薄膜上的硝化纤维 (HFI IOUBBS, Millipore, Bedford, MA) 材料上，并在 48°C 下干燥两分钟。然后按照装置的一般设计用金标记的抗-RSV 构建所述装置。在随后的几天内 (时间零点) 对一部分已经完成的装置进行分析，将其余的装置密封在箔袋中并且存储在 55°C 下。

将对 RSV 抗体呈阳性 (灵敏，低灵敏和中等灵敏) 和阴性的样品施加到装置的萃取衬垫上，15 分钟后对它们进行分析以检测 RSV 抗原。用具有稳定化 RSV 抗体的装置进行的初始测试在灵敏、低灵敏和中等灵敏三个阳性对照的每一个中均检测到了 RSV 抗原。在所有情况下，阴性对照均未产生阳性信号。在 55°C 下经过一周以后，每种对照类型所产生的信号都与初始测试的相同。在 55°C 下经过两个月之后，所述装置仍能够在灵敏、低灵敏和中等灵敏的对照中检测到 RSV 抗原。

实施例 5: 疟疾的免疫层析测试

使用非糖类有机相容溶质来稳定硝化纤维和金上的抗体。0.1% 的聚组氨酸浓度能够使醛缩酶重组体得到稳定化。在 30°C 下存储的样品显示具有至少 29 天的稳定性，但其以前仅能稳定 2 天。

实施例 6: 2% W/V 的 ectoineL-组氨酸、牛磺酸和 L-苏氨酸的混合物使含/不含蔗糖的结合衬垫干燥缓冲剂具有稳定性

按照 SOP 配方制备 5X 的结合干燥缓冲剂，除了不含 SOP 中的 25% w/v 的蔗糖。通过加入 5X 的干燥缓冲剂将对照、抗恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 和抗间日疟原虫 (*P. vivax*) 金颗粒的混合物调节到 1X，并

且使每种 ectoineL-组氨酸、牛磺酸和 L-苏氨酸达到 2% w/v。对 SOP 结合衬垫基质进行划线涂布、干燥并在干燥瓶中在 4°C 和 55°C 两种温度下存储 19 个月和 11 天。将瓶子移至室温下，达到平衡，并将各个温度下的衬垫插入到疟疾尿的浸量尺形式的装置中。在每个装置上均对相同的重组间日疟原虫抗原和组织培养悬浮恶性疟原虫抗原的混合物进行试验。无论干燥衬垫缓冲剂配制物中是否存在蔗糖，在 4°C 和 55°C 两种温度下存储的结合衬垫上观测到相等的灵敏度。

实施例 7: 4% W/V 的单独的 L-组氨酸没有使含/不含蔗糖的结合衬垫干燥缓冲剂具有稳定性

按照 SOP 配方制备 5X 的结合干燥缓冲剂，除了不含 SOP 中的 25% w/v 的蔗糖。通过加入 5X 的干燥缓冲剂将对照、抗恶性疟原虫和抗间日疟原虫金颗粒的混合物调节到 1X，并且达到 4% w/v。将 SOP 结合衬垫基质划线涂布、干燥并在干燥瓶中在 4°C 和 55°C 两种温度下存储 19 个月和 11 天。将瓶子移至室温下，达到平衡，并将各个温度下的衬垫插入到疟疾尿的浸量尺形式的装置中。每个装置上对相同的重组间日疟原虫抗原和组织培养悬浮恶性疟原虫抗原的混合物进行试验。观测到存储在 4°C 下的结合衬垫比存储在 55°C 下的结合衬垫的灵敏度高许多。另外，大量的结合物在试验后仍保留在 55°C 材料的结合衬垫基质中。

等同形式

本领域技术人员将会认识到，或者仅使用常规试验就能够确定，本文所描述的本发明实施方式的多种等价形式。这样的等价形式也试图包括在下述权利要求内。

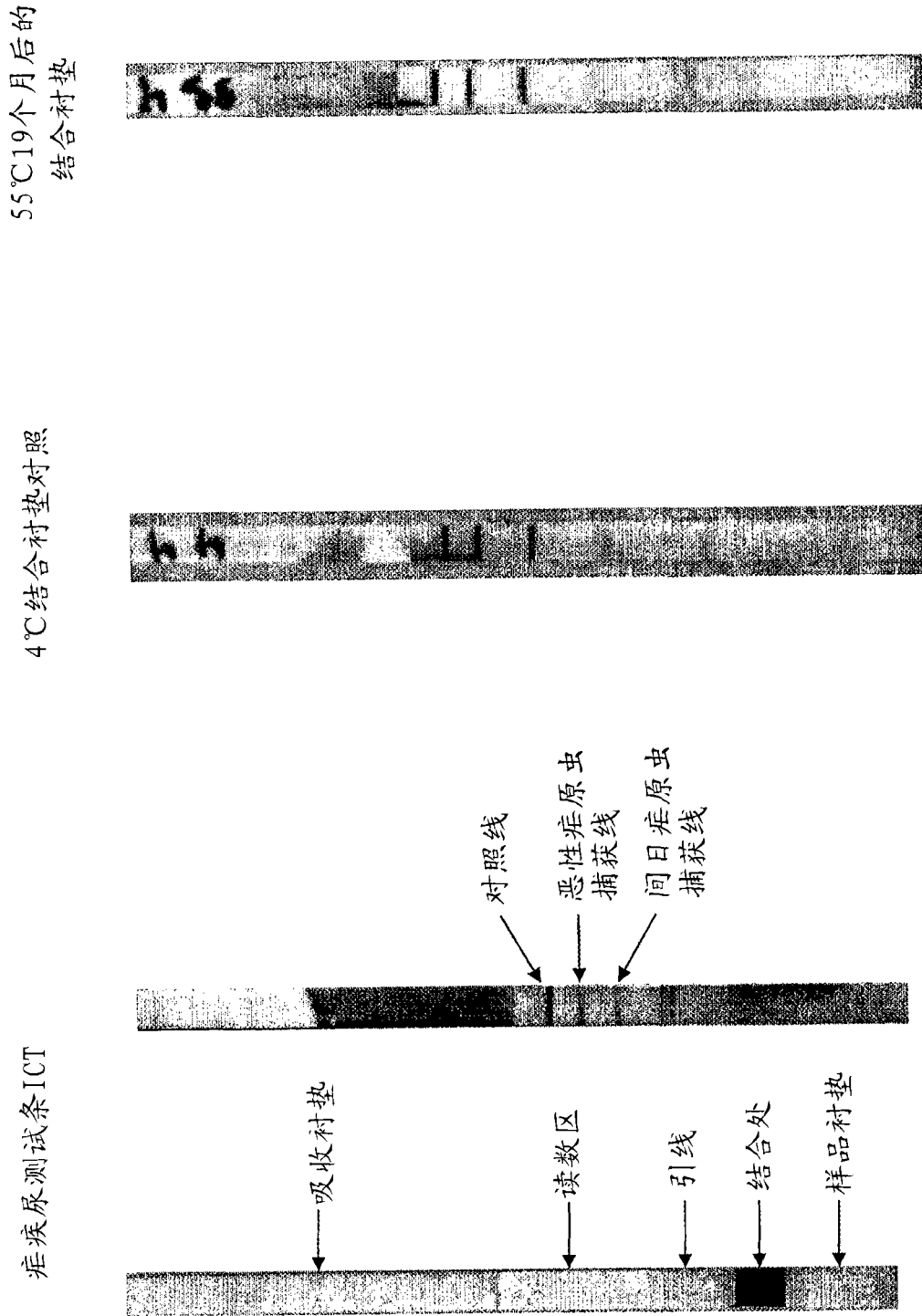


图 1

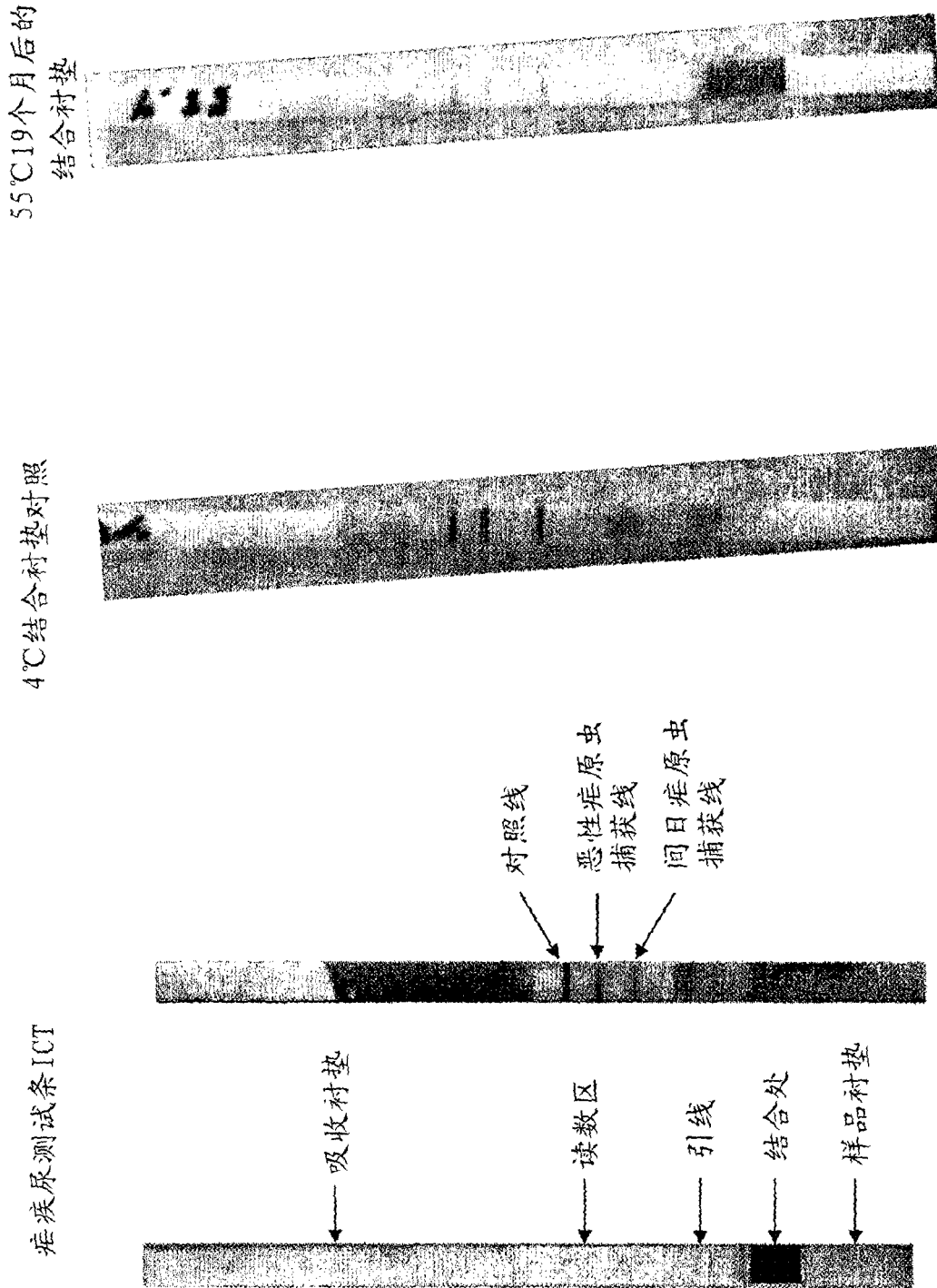


图 2

专利名称(译)	用于保护生物学活性分子和缀合标记物的非糖类有机化合物及其方法		
公开(公告)号	CN101253407A	公开(公告)日	2008-08-27
申请号	CN200680031421.4	申请日	2006-06-27
[标]申请(专利权)人(译)	比纳克斯公司		
申请(专利权)人(译)	比纳克斯公司		
[标]发明人	AH戴维斯 RN皮亚西奥 WJ帕林 ER皮亚西奥 BC雷恩曼		
发明人	A·H·戴维斯 R·N·皮亚西奥 W·J·帕林 E·R·皮亚西奥 B·C·雷恩曼		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/54393 Y10S435/805 Y10S435/97 Y10S436/81 Y10T436/10 Y10T436/108331		
代理人(译)	刘健 刘玥		
优先权	60/694604 2005-06-27 US		
其他公开文献	CN101253407B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了如下方法，其包括使用非糖类有机相容溶质保护和保持生物学活性分子和缀合标记物活性。所述方法特别适用于与免疫测试相关的方面，例如免疫层析测试试验，并且可以结合入任何测试方法中，其中在所述测试方法中使用干燥的测试带作为沉积可迁移和/或固定化的生物学活性分子和/或缀合标记物的载体。

