

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680048409.4

[43] 公开日 2009年1月7日

[11] 公开号 CN 101341407A

[22] 申请日 2006.1.10

[21] 申请号 200680048409.4

[86] 国际申请 PCT/US2006/000894 2006.1.10

[87] 国际公布 WO2007/081330 英 2007.7.19

[85] 进入国家阶段日期 2008.6.20

[71] 申请人 因韦尔尼斯医药瑞士股份有限公司

地址 瑞士楚格 CH - 6300 伯恩赫夫大街 28 号

[72] 发明人 高 飞 吴淑江 陈惠康 熊登峰

林继南 詹目斯·麦克米那梅

[74] 专利代理机构 浙江杭州金通专利事务所有限公司

代理人 徐关寿

权利要求书 4 页 说明书 16 页 附图 3 页

[54] 发明名称

免疫检测的装置和方法

[57] 摘要

本发明提供一种检测流体样本中被分析物质存在的检测装置，方法和试剂盒。本发明提供一种检测装置包括一个被一种不透明可移动的材料覆盖的阳性对照区域，该不透明可移动的材料覆盖，例如一种墨水，染料或其它材料，通过体的流动，该不透明材料被流体移动从而显示出被覆盖在下面的阳性对照区域。通过颜色信号的阳性对照区域和被分析物质结合区域的组合，一个可以被识别的符号出现在检测装置上来表示检测结果。

1. 一种检测样本中是否存在被分析物质的检测装置包括：一种可以支持流体样本在上流动的基质，在该基质上包括一个样本接受区域，带有符号的检测区域，一个或多个包括检测所需试剂的试剂区域，其中，所述检测区域的至少一部分被一种不透明可移动的材料覆盖。
2. 如权利要求 1 所述的检测装置，其特征在于：所述的检测区域包括一个阳性对照区域和被分析物结合区域。
3. 如权利要求 1 所述的检测装置，其特征在于：所述的不透明可移动材料为水溶性墨水。
4. 如权利要求 2 所述的检测装置，其特征在于：所述的基质为硝酸纤维素膜试剂条，同时所述的阳性对照区域以负号的形状被沿着试剂条的纵向设置。
5. 如权利要求 4 所述的检测装置，其特征在于：被分析物结合区域包括两个位于阳性对照区域两旁的区域，同时该被分析物结合区域包括一种特异结合分子，该分子可以结合被分析物或结合另一种结合在被分析物上的分子。
6. 如权利要求 2 所述的检测装置，其特征在于：当样本中存在被分析物的时候，所述的阳性对照区域和被分析物结合区域可以形成一个可以被识别的符号。
7. 如权利要求 6 所述的检测装置，其特征在于：所述的符号为正号。
8. 如权利要求 5 所述的检测装置，其特征在于：所述的不透明可移动的材料为水溶性墨水，并且该墨水覆盖阳性对照区域。
9. 如权利要求 5 所述的检测装置，其特征在于：所述的特异结合分子为抗体或抗体片段，所述的不透明可移动的材料为水溶性墨水。
10. 如权利要求 9 所述的检测装置，其特征在于：所述的被分析物为人绒毛膜促性腺激素。
11. 如权利要求 5 所述的检测装置，其特征在于：所述的阳性对照区域由多孔材料上一个或多个带有颜色的区域组成，并且该阳性对照区域不包括特异结合分子对任何一个分子。
12. 如权利要求 5 所述的检测装置，其特征在于：所述的被分析物结合区域还包括一个可以特异结合所述的被分析物的分子，和一个提供检测信号的标记物质。

13. 如权利要求 12 所述的检测装置，其特征在于：所述的标记物质为带有颜色的颗粒。
14. 如权利要求 13 所述的检测装置，其特征在于：所述的带有颜色的颗粒为右旋糖苷颗粒。
15. 如权利要求 2 所述的检测装置，其特征在于：所述的被分析物结合区域包括一个沿着试剂条横向轴设置的部件，同时还包括一种特异结合分子，该分子可以结合被分析物或结合另一种结合在被分析物上的分子。
16. 如权利要求 15 所述的检测装置，其特征在于：所述的被分析物结合区域和阳性对照区域组成一个可以识别的符号。
17. 如权利要求 15 所述的检测装置，其特征在于：所述的阳性对照区域由两个分别设置在被分析物结合区域两旁的区域组成，该阳性对照区域和被分析物结合区域组成一个可以被识别的符号。
18. 一种检测流体样本中是否存在被分析物的方法，包括：

把流体样本施加到一个检测装置中，该检测装置包括一个可以支持流体样本流动的基质，在该基质上包括一个接受流体样本的样本接受区域，带有符号的检测区域，一个或多个包括检测所需试剂的试剂区域，其中，所述检测区域的至少一部分被一种不透明可移动的材料覆盖；

让流体流过该基质并通过所述的一个或多个试剂区域，当样本中存在被分析物质的时候，存在试剂区域上的试剂就会和样本反应产生一个可以被检测的反应产物；

让流体流过检测区域，该检测区域的一部分被一种不透明可移动的材料覆盖，这样，流体洗脱掉这种不透明可移动的材料从而暴露出阳性对照区域，其中，当样本流过检测区域的时候，样本中的被分析物质被被分析物结合区域捕获；

观察检测装置的检测区域来判断流体样本中是否存在被分析物质。
19. 如权利要求 18 所述的方法，其特征在于：所述的检测区域包括一个被分析物结合区域，该区域包括一种可以结合被分析物的特异结合分子。

20. 如权利要求 19 所述的方法，其特征在于：所述的特异结合分子为抗体或抗体片断，所述的不透明可移动的材料为水溶性墨水。
21. 如权利要求 20 所述的方法，其特征在于：当流体样本流过检测区域的时候，该流体洗脱掉所述的水溶性墨水从而暴露出阳性对照区域。
22. 如权利要求 18 所述的方法，其特征在于：所述的基质为包括多孔材料的试剂条；阳性对照区域以一个负号的形状沿着试剂条的纵轴线方向设置；所述的被分析物结合区域包括两个位于阳性对照区域两旁的区域；阳性对照区域和被分析物结合区域组成一个可以识别的符号。
23. 如权利要求 22 所述的方法，其特征在于：所述的被分析物结合区域包括一个沿着试剂条横向方向设置的部件，同时该被分析物结合区域包括一个特异结合分子，该分子可以结合带有标记物质的被分析物。
24. 如权利要求 23 所述的方法，其特征在于：所述的阳性对照区域包括两个分别位于被分析物结合区域两旁的部件，该阳性对照区域和被分析物结合区域组成一个可以被识别的符号。
25. 一种试剂盒包括：
一种检测流体样本中是否存在被分析物的检测装置，该装置包括一个可以支持流体样本在上流动的基质，在该基质上包括一个接受流体样本的样本接受区域，一个带有符号的检测区域以及一个或多个包括检测所需试剂的试剂区域，其中阳性对照区域的一部分被一种不透明可移动的材料覆盖；和
使用该装置的说明书。
26. 如权利要求 25 所述的试剂盒，其特征在于：所述的检测区域包括被分析物结合区域和阳性对照区域，该阳性对照区域以负号的形状沿着试剂条的纵向方向设置，所述的不透明可移动的材料为水溶性墨水。
27. 如权利要求 26 所述的试剂盒，其特征在于：所述的被分析物结合区域包括两个分别位于阳性对照区域两旁的区域，同时该被分析物结合区域包括一个特异结合分子，该分子可以结合被分析物或结合被分析物上的另一个分子；当样本中存在被

分析物质的时候，所述的阳性对照区域和被分析物结合区域形成一个识别符号。

28. 如权利要求 27 所述的试剂盒，其特征在于：所述的符号为一个正号。
29. 如权利要求 26 所述的试剂盒，其特征在于：特异结合分子为抗体或抗体片断，不透明可移动的材料为可溶性墨水。
30. 如权利要求 27 所述的试剂盒，其特征在于：所述的被分析物质选自于人绒毛膜促性腺激素(hCG)或黄体生成素(LH)。

免疫检测的装置和方法

技术领域

本发明直接属于一种检测被分析物质的检测装置，它以一个可识别的符号显示检测的结果。

发明背景

下面的发明背景用于帮助读者理解本发明，而不能被认为是现有技术。

包括有阳性对照和阴性对照来实现某种检测或化验是分析化验装置的一个重要部件。在很多化验检测形式中，有很多方法被运用到对照检测中去。例如，在免疫检测形式中，对照检测就是利用一个被分析物质被结合到对照控制区域上的对照线上来实现的。这样，被标记的控制物质被结合到对照线上，一条颜色线条就会出现在控制区域上。这种或其它形式的对照检测用来确认化验检测装置的功能是正常的。但是，他们同时也会增加这种检测装置的制造和使用成本，特别地，当一些特异结合分子被运用到对照检测中地时候，生产和使用成本更高。另外，这样地对照检测让一些没有受过专业训练地人有时候感觉迷惑，从而导致不能正常地解释检测结果。这样，就需要一种更好更有效地检测装置和方法来检测样本。

发明内容

本发明提供一种检测流体样本中被分析物质的存在，并具有可以识别的符号向使用者显示被分析是否存在的装置，方法和试剂盒。在一种实施方式中，本发明提供一种带有样本接受区域，试剂区域和检测区域的试剂条。在检测区域上包括阳性对照区域，阴性对照区域和被分析物结合区域。该阳性对照区域被一个带颜色的符号描绘，在该实施方式中为负号。被分析物质结合区域靠近阳性对照区域并与之相互作用。被分析物质结合区域包括结合物质，该结合物质可以捕获带有标记物质的被分析物。在一个方式中，阳性对照区域或者部分检测区域，或者是全部检测区域，被一种不透明可移动的材料覆盖，例如一种染料或墨水。在开始检测的时候，在流体样本到达检测区域之前，阳性对照区域被不透明的并可以被移动的材料覆盖而不可见。当流体样本流过检测区域的时候，这种不透明的并且可移动的材料被洗脱掉从而让阳性对照区域变得可以看见。

如果没有被分析物质存在流体样本中，相关的阳性对照区域显示一个负号，同时被分析物质结合区域没有颜色出现表示为阴性检测结果。相反，如果被分析物质存在于样本中，带有标记物质的被分析物质就被结合到结合区域上。阳性对照区域和被分析物质结合区域相互组合向使用者形成一个可见的正号。本发明还提供使用本检测装置的方法和带有该检测装置的试剂盒。

一方面，本发明提供一种检测流体样本中是否存在被分析物质的装置。该装置包括一个可以支撑流体在上流动的基质，基质上包括接受样本的样本接受区域，带有符号的检测区域。该检测区域（和这个符号）至少部分被一种不透明的并且可以被移动的材料覆盖而不可看见。一个或多个包括完成反应所需试剂的试剂区域存在于基质上。利用本发明可以检测很多中被分析物质，例如人绒毛膜促性腺激素(hCG)，黄体生成素(LH)，卵巢刺激素(FSH)，特异蛋白或非特异蛋白，血液或血液成分，抗体，毒品或毒品滥用物质，尿素，亚硝酸盐或戊二醛。

在一个具体的实施方式中，检测区域包括一个被分析物质结合区域和一个阳性对照区域。基质可以是多孔材料，不透明可以移动的材料是一种水溶性墨水。例如，基质是硝酸纤维素膜试剂条，阳性对照区域以负号(-)的形式位于试剂条的纵轴上。在一个相近的实施例子中，被分析物质结合区域由分别位于阳性对照区域的两旁的部分组成，在被分析物结合区域上包括一个特异结合被分析物质的分子，或特异结合一种结合在被分析物质上的另一种分子。当样品中存在被分析物质的时候，这个阳性对照区域和被分析物结合共同相互作用组成一个可以直观识别的符号。在很多具体的实施方式中，这个可以直观识别的符号可以是正号(+)，负号(-)，X号或者其他在现有技术中已知的符号或者代表某种特定意义的符号。在一个具体的实施方式中，这个不透明的，可以移动的材料是一种水溶性油墨，该墨水覆盖住阳性对照区域。这个特异结合分子可是一种抗体或者抗体片断。在一个具体的实施方式中，被分析物质为人绒毛膜促性腺激素(HCG)。

在一些相关的具体实施方式中，基质上的阳性对照区域可以是一个或多个具有颜色的区域但不包括一个特异结合分子对。被分析物质可以被标记一个带有能被检测信号的标记物质，该标记物质可以是带有颜色颗粒或乳胶颗粒。被分析物质结合区域还可以是一个位于试剂条横轴上的一个部件，也可以包括一个特异结合被分析物质的分子或特异结合一个结合在被物质上的分子。

在另一个实施方式中，标记物质和阳性对照区域具有相同的颜色。这样的装置还可以包括位于装置一端的样品接受垫，检测区域位于试剂条的中间，标记垫位于样品接受垫和检测区域之间。

另一方面，本发明还提供利用本装置检测流体样本中是否存在被分析物质的方法。该方法包括向本发明描述的装置上的样品接受区域加流体样本，让流体样本流过基质同时经过一个或多个试剂区域，当流体样本中存在被分析物质时，让试剂区域上的试剂和流体样本进行反应形成一个可以被检测的产物，让流体流过检测区域，该检测区域至少部分被一种不透明的，可以移动的材料所覆盖，这样流体就会冲洗掉这种不透明的材料让阳性对照区域暴露出来，同时，存在样本中的被分析物质就被被分析物结合区域所捕获，观察装置上的检测区域来判定流体样本中是否存在被分析物质。

在一个具体的实施方式中，当流体样本经过检测区域的时候，流样本冲洗掉水溶性油墨，这样就让阳性对照区域暴露出来。在另一个具体实施方式中，阳性对照区域可是由位于被分析物质结合区域两旁的两部分组成，阳性对照区域和被分析物质结合区域组成一种可以识别的符号。

另一方面，本发明提供一种试剂盒，该试剂盒包括本发明提供的检测装置和如何使用该装置的使用说明书。在一种试剂盒中，该操作说明书是为了该装置的使用来检测流体样本中是否存在被分析物质。

本发明还包括其它任何可以利用的形式，这些都会有详细的描述。这些发明的特点或方式可以通过本发明所描述的生产工艺和成分来实现。参照本发明所揭示的内容，很容易认识到其它类似于本发明所揭示的其它形式都可以结合本发明所解释的具体实施方式来产生。另外，其它任何形式和具体实施方式都在本发明里有详细的描述。

以上描述的本发明的介绍并不详尽，本发明的其它特征和优点将在以下的描述和声明中会详细阐述。

附图说明

图1为本发明检测装置的一个具体实施方式的俯视示意图，该检测装置包括一个试剂条10，样本接受区域15，试剂区域17，检测区域12，阴性对照区域19，阳性对照区域11和被分析物检测区域13。箭头表示样本流动的方向。

图 2 为一个实施方式中的检测装置在被使用前的示意图，当整个检测区域被一种不透明的，可以移动的材料 20 覆盖后，阳性对照区域 11 位于这种不透明的，可以移动的材料 20 之下。

图 3 为另一个实施方式中的检测装置在被使用前的示意图，当仅仅只有部分检测区域被一种不透明的，可以移动的材料 20 覆盖后，阳性对照区域 11 位于这种不透明的，可以移动的材料 20 之下，阴影的部分表示阳性对照区域 11。

图 4 表示，当样本从图 3 所示的检测装置上的样本接受区域流到试剂条的另一端后，如果样本不存在被分析物质，在该具体实施方式中，阳性对照区域以负号（-）的形式出现。

图 5 表示，当样本从图 1 所示的检测装置上的样本从样本接受区域流到试剂条的另一端后，如果样本存在被分析物质，在该具体实施方式中，阳性对照区域和被分析物质结合区域共同组成一个正号（+）。

图 6 所示的一个实施例子中，正号是由被分析物质结合区域 13 和阳性对照区域 11 组合而成，该阳性对照区域位于被分析物结合区域之下而有部分重叠。

图 7 所示的一个实施例子中，正号是由阳性对照区域 11 和被分析物质结合区域 13 组合而成，该阳性对照区域位于被分析物结合区域之上而有部分重叠。

在图 8 所示的另一个实施例子中，阳性对照区域是由多个排列的阳性对照区部分组成，该阳性对照部分与被分析物质结合区域相邻而组合而成一个正号。

在图 9 所示的另一个实施例子中，被分析物质结合区域 13 是由多个排列的被分析物结合部分组成，该被分析物质结合部分和阳性对照区域 11 相邻而组合成一个正号。

在图 10 所示的另一个具体实施方式中，被分析物结合区域 13 和阳性对照区域 11 结合形成一个大“X”符号，被分析物结合区域和阳性对照区域与液体流动的方向呈一定的夹角。

图 11 为另一具体的实施方式中的示意图，在该实施方式中，被分析物结合区域和阳性对照区域形成大写“Y”型符号。

详细描述

在下面的详细描述中，图例附带的参考文字是这里的一个部分，它以举例说明本发

明可能实行的特定具体方案的方式来说明。我们并不排除本发明还可以实行其它的具体方案和在不违背本发明的使用范围的情况下改变本发明的结构

检测装置

本发明所描述的检测装置可以利用试剂条来检测流体样本中被分析物质的存在。这样的检测装置使用阳性对照区域和被分析物质结合区域形成带颜色的信号，提供一个可以识别的符号来显示检测结果。图 1-3 为本发明的一个具体实施方式的示意图。一个试剂条 10 包括一个可以支持流体在上流动的基质。该装置包括一个接受流体样本的样本接受区域 15，试剂区域 17 和检测区域 12。试剂区域 17 包括一些用来完成分析或化验所必须的试剂，基于一些检测的特殊需要，可以不止一个试剂区域存在检测装置上。检测区域包括阳性对照区域 11，一个被分析物质结合区域 13（或一个测试区域）和一个阴性对照区域 19。流体流动的方向如图箭头所示的方向。样本接受区域可以包括缓冲试剂来融解样本，或者仅仅是基质上的一个部分用来接受样本，它也可以是包括其它试剂来参与检测。样本接受区域还可以就是一个试剂区域。样本除了作为液态的形式被施加上到检测装置上之外，样本还可以是以干的形式被保持在试剂条上，然后通过施加水，缓冲液体或其它试剂来溶解样本使之成为液态来进行检测。当然，样本本身也可能是就是液态形式，或者是可以被溶解的固态形式或其它处理过的液态形式的样本。在试剂区域上的试剂可以被移动。一些试剂可以被标记并且可以结合样本中的被分析物质，从而形成一个被标记的被分析物质。样本接受区域和，或试剂区域还可以包括一个缓冲试剂来溶解样本或调节反应的 PH 值，或者其它因为特殊检测要求而需要的试剂。通常，试剂条是由多孔的材料作为基质来支持流体样本在上流动。“基质”是指那些可以支持流体流动的材料。在一个具体的实施方式中，基质材料为多孔材料。流体在检测装置中的流动可以是因为毛细吸附作用而流动。在一个方式中，基质可以是由同种材料组成的试剂条，在另一个不同的方式中，基质可以是由不同的多孔材料组成的试剂条，每个不同的多孔材料相互处于液体流通状态。”吸水的”材料是指那些可以稳定地吸收水分并使水分在其中通过毛细血管运动作用运输的物质。吸水材料的例子包括硝化纤维，滤纸，玻璃纤维，聚酯和其它合适的物质。

符号

可识别符号是由装置中的阳性对照区和被分析物结合区相互作用形成的。阳性对照区可以是符号的一部分，该部分和被分析物结合区域结合形成符号，或者该部分还以固定的形式来形成阳性对照区域。这个符号或符号的一部分可以通过现有技术的方法来固定形成阳性对照区域，如图所示的方法，即印或者涂在基质形成阳性对照区，或者通过粘有色微粒蛋白粘到基质上面、下面或者中间形成这个符号（或者符号的一部分）。

在各种具体方案中，“可识别符号”可以是加号，减号，破折号，一长条状物，“X”，或者另一种专业技术上或者口头上可以传达试验结果的特殊意义的符号。任何有意义的符号都可以使用，例如罗马字母表的字母，数字，数学的运算符，科学符号，或者另一种语言或字母表系统的字母，例如汉字，日语字母，或者阿拉伯字母。例如，减号便于表示阴性结果，因为它是一个有意义的并且容易识别的符号，同时也容易被分析物质结合区域形成正号。其它符号，例如“X”，“O”，零，“Y”，“N”，“Z”，或者箭头也可以使用。这些符号能够被容易读取和被未受训练的使用者理解。当可以被检测的标记物质和阳性对照区都使用同一种颜色时，得到一个阳性结果时，阳性对照区和被分析物结合区相互作用就形成了可识别符号。当符号是一个减号的时候，它的边缘可以是直角的，也可以是圆形的。

阳性对照区域

本装置的检测区域包括阳性对照区、阴性对照区和被分析物结合区。阴性对照区位于检测区内，但可以即不是阳性对照区一个部分，也不是被分析物结合区的一个部分。如果在阴性对照区内能够被检测到带有检测型号的标记物质，说明因为产生了错误的阴性对照，从而该检测结果是无效的。在一些具体的方案中，检测区是吸水基质上的一个长方形或者正方形区，包围着阳性对照区和被分析物结合区，沿着试验条的经度（纵向）方向分布，进一步被试验条边缘所包围。

阳性对照区可以被描绘成装置上的一个或者多个带颜色的区域，在一些具体的方案中，它可以不包括一种特异结合分子对。如图4所示的具体方案中，阳性对照区采用颜色标记形式粘到检测区上，这样，一个“-”负号就沿着试剂条的纵向排列。“纵向”表示和样品流动方向平行的方向，通常沿着基质长度方向。染料或墨水粘着在阳性对照区的基质上或粘着在位于基质下面的结构上。例如，在那些使用支持物的具体方案中，

染料、墨水或其他描绘阳性对照区的材料粘着在支持物的上面或下面。阳性对照区一般置于试验片的下面的检测装置的结构之上，例如，位于基质材料和检测装置壳体之间。这种结构可以是一块塑料或其他带有标记的材料。阳性对照区可以标记在装置壳体的框架上，也可以不标出。用来描绘阳性对照区的适用的染料或墨水包括，但不限于，3132 快红 2R，4230 孔雀蓝，连接 BSA 的带颜色的乳胶颗粒，金标记的 IgG。当然许多其他未包括在这样例子中的染料，墨水或有色材料都可以用来染色。

透明，可移动的材料

在这些实施方式中，这些不透明但可移动的材料仅仅覆盖阳性对照区域（如图 3），但是在另外一些实施方式中，这些不透明但可移动的材料可以覆盖整个检测区域（如图 2），或者覆盖一部分检测区域，或覆盖整个阳性对照区域和一部分检测区域，或者是覆盖非检测区域外的一部分区域。一种“不透明可移动的材料”是这样一种材料，在普通的室内情况下，他们不能被一定的光穿透而可以看到覆盖在下面的符合，但是它可以被流过或者穿过基质的液体溶液移动。这样，当液体流过或穿过基质的时候，被覆盖在不透明可移动的材料下的符号就显示出来并可见。在一些具体实施方式中，这些符号被完全覆盖，在另外一些实施方式中，一些其它的光可以穿过这些不透明的物质而可以隐约看得见下面得符号，但是并不能影响本检测装置得使这用。这样，在这些实施方式中，这些符号并不能被容易看见，但无论如何不能被清楚地辨认出来。

在附图中，阳性对照区域以阴影形式出现，但是在实际的检测装置中，阳性对照区域被不透明但可以移动的物质覆盖而不能见，或者透过这些不透明可移动地材料来看阳性对照区域，阳性对照区域不清楚或显得很模糊。在一个具体的实施方式中，可移动的材料可以被溶解在水溶液中。可“溶解”意思是指水溶液样本在通过检测区域示可以让被不透明可移动的材料覆盖的符号显露出来，可移动的材料被从符号上洗脱掉或被移动掉。这样，该符号就被肉眼在室内光线下清晰可见。

当可被溶解的染料被用来作为不透明可移动的材料时，任何那些不透明但可以被溶解的染料都可以被使用。很多带颜色的移动染料也可以被使用。Ponceau 4R 和绿色颜料（中国上海染料研究所），来自中国上海 Marine 印刷材料公司地玫瑰红（批号为 020811）和），水溶颜料成分和一些食用色素也可具有号的效果。在一个具体实施方式中，这种不透明的，可移动的材料可以示白色染料。一种白色的食品附着试剂二阳化钛

(TiO₂) 能够被使用。当这种染料覆盖阳性对照区的时候, 在检测前, 检测装置上的检测区域上没有任何符号可以让使用者可以看见, 并且这种颜色和基质上其它部位的颜色一致。当然, 其它颜色的不透明可移动的材料因为一些特殊考虑也可以被使用在检测装置中。不透明可移动的材料可以被喷, 涂抹或印刷或借助其它机器设备被施加在阳性对照区域上。在其它实施方式中, 这种不透明可移动的材料可以示这样一类物质, 例如乳胶颗粒或其它类似物质, 只要这些物质能够被流动的流体从阳性对照区域上移动开就可以了。

在一个具体的实施方式中, 这些不透明可移动的材料的颜色可以和阳性对照区域上地颜色不同, 这样当这些物质被从阳性对照区域上移动走后, 一个不同于先前颜色的符号显示出来, 该符号可以和被分析结合区域上的颜色结合。

被分析物结合区域

被分析物结合区位于基质上并可以和阳性对照区域结合, 因此当液体样品中含有目标被分析物的时候, 它可以和阳性对照区相互作用产生一个可识别符号。试剂区上的标记物质可以结合(直接地或者间接地)目标被分析物, 从而在样品流过基质时, 被分析物质就被标记上了可以检测地标记物质。被分析物结合区还包含可以结合被分析物相关位点的试剂。这种位点物质可能是被分析物自身的或者结合被分析物的一种试剂(例如, 一种试剂可以在被分析物通过试剂区时与被分析物结合)的一种免疫学上的抗原决定基。在各种具体方案中, 和被分析物结合的试剂可以是一种抗体, 一种抗体的片断或者部分, 一种和结合到被分析物结合区的抗体不同种类的抗体的衍生物(或者其中的片断), 或者特异性结合对的另一个成分, 例如, 抗生物素蛋白, 链霉菌抗生物素蛋白, 或者可以和结合被分析物的半体相结合的生物素。

在另一个具体方案中, 被分析物结合区是一沿着试验条纵轴的纬度方向分布的条状物, 其中包含一种被分析物的特异性结合分子, 或者是结合被分析物的分子复合物。被分析物结合区可以由位于阳性对照区的两侧的部位组成, 因此当样品中含有被分析物时, 带有标记物质的被分析物就被保留在了被分析物结合区。被分析物结合区和阳性对照区的颜色相互作用形成了可识别的符号。在一些具体方案中, 标记是一种有色颗粒, 可能是右旋糖苷颗粒, 金溶胶或者其它被标记的颗粒, 这些标记可以是提供可检测的信号的任何合适的标记。

试剂区域

结合目标被分析物的标记提供产生了被分析物结合区的可以观察到的检测信号,当样品中含有被分析物时它和阳性对照区相互作用形成可识别符号。被分析物的特异性结合分子携带有试剂区的标记。当特异性的结合分子捕获被分析物而且被标记了的被分析物在被分析物结合区被结合的时候,由于标记物在这里积聚这个区就可以观察到。“特异性的结合分子”是指和被分析物相结合并且不能和样品中的其它任何分子牢固结合的结合分子。被分析物的特异性的结合分子也可以和表明样品中被分析物的存在或者与被分析物的存在相关联的分子相结合。牢固结合是指结合达到改变试验结果或者使试验结果不明显的程度。在一些具体方案中,特异性的结合分子可能是一种抗体或者一种抗体片段(例如,一种抗体的 Fab 区),一种抗原,一种结合配体的受体或者受体的片段,或者生物素-链霉菌抗生物素蛋白结合对的一个成分或者其它类型的结合对。

这样试剂区就可以提供标记,当样品流过试剂区的时候,被分析物结合了可以产生可检测信号的标记。“标记区块”是指基质上含有标记样品中可能存在的被分析物的物质的部位。因此一个试剂区就是一个标记区块。“标记”可以是产生可检测信号的任何合适的标记。例如,标记可以是可溶性颗粒,荧光颗粒,化学发光颗粒,金属或者合金(例如,胶体金),或者囊,特别是包含可见染料的脂质体。疏水溶胶也是有用的,疏水的有机染料或者色素在水中不可溶或者只有很有限的一小部分可溶。标记还可以是聚合体颗粒,例如有色的聚苯乙烯颗粒(例如,球状的)。其它有用的颗粒状的标记包括铁蛋白,藻红蛋白,藻胆素-蛋白,沉淀的或者可溶性的金属或者合金,真菌,海藻,或者细菌的色素或衍生物,例如细菌的叶绿素或者其它的植物原料。在某些具体方案中,标记是有色颗粒,例如右旋糖苷颗粒。在其它的具体方案中,用作阳性对照的标记和染料选择相同的颜色,以加强两种信号在基质上或者基质内产生单一的明显的符号时的相互作用

在其它的具体方案中,标记可能是被分析物的一种被标记了的特异性结合分子(例如,一种抗体)。例如,在一个具体方案中,目标被分析物是人绒毛膜促性腺激素(hCG),结合 hCG 的标记是金溶胶标记的抗 hCG 抗体。当样品到达试剂区(或者标记区块)时,样品中的 hCG 被金溶胶标记的抗 hCG 抗体结合。标记抗体并不干扰被分析物结合区的捕获分子和标记的 hCG 相结合。例如,标记可以结合被分析物的一个部分,而捕获分

子可以结合被分析物的另一个部分或者结合标记。hCG-抗-hCG 抗体-金复合物移动到基质的下游。当复合物到达被分析物结合区时和捕获分子相结合形成金-抗-hCG 抗-hCG-抗-hCG 抗体。捕获分子可能是 hCG 的另一种特异性结合分子，或者是结合 hCG 被分析物的半体的特异性结合分子。当金-抗-hCG 特异性结合分子-hCG-抗-hCG 特异性结合分子复合物结合到被分析物结合区时，被分析物结合区被复合物上的金标记着色并且在被分析物结合区金标记变得肉眼可见。在一个具体方案中，特异性的结合分子是抗体或者抗体片段。标记和捕获结合分子能够结合被分析物上不同的抗原决定部位，在一个具体方案中，标记的特异性结合分子结合了 β -hCG，而捕获结合分子结合了 α -hCG。

“抗体”是指免疫球蛋白，无论是天然的还是部分或者全部合成的。这个术语还包括其中保持结合能力的抗体的衍生物，也包括任何含有与免疫球蛋白的结合域同源的或者很大程度上同源的结合域的蛋白质。这些蛋白质可能是源自天然物质，也可能是部分或者全部合成的。一种抗体可能是单克隆的或者是多克隆的。一种抗体可能是任何免疫球蛋白类型中的一员，包括任何人类的免疫球蛋白类型：IgG, IgM, IgA, IgD, IgG 和 IgE。“抗体片段”是抗体的衍生物或者抗体的小于全长的一部分。抗体片段能够保留至少一个全长抗体的结合能力的显著位点。抗体片断的例子包括 Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, Fv, dsFv 二聚体, 和 Fd 碎片，但是不仅仅包括以上这些。

抗体片段可以由任何方式生成。例如，抗体片段可以通过酶解或者化学裂解一个完整的抗体来生成，或者也可以通过从编码部分抗体序列的基因重组。换句话说，抗体片段可以部分地或者全部地重组产生。抗体片段可以是任意的单链抗体片段。换句话说，抗体片段可以包含多条相互联结的肽链，例如，通过二硫键相联结。抗体片段也可以是任意的一种多分子复合物。一个有功能的抗体片段通常包含至少大约 50 个氨基酸，而更多的抗体片段通常包含至少大约 200 个氨基酸。

单链 Fvs (scFvs) 是重组的抗体片段，它仅由可变轻链 (V_L) 和可变重链 (V_H) 相互以多肽链共价结合。V_L 和 V_H 中一方具有胺基端区域。多肽链长度和组成是可变的，其长度可以使两个可变域相互桥联并且对原子的排列没有严重影响。多肽链通常主要由甘氨酸和丝氨酸残基延伸构成，其中有一些谷氨酸和赖氨酸残基散在分布以增加其溶解度。“二聚体”是指单链 Fvs 的二聚物。二聚体的单体包含的肽链通常比大多数单链 Fvs 的短，并

且它们显示出形成二聚物的倾向。

“Fv”片段由一个 V_H 和一个 V_L 域以非共价相互连接组成。术语“dsFv”在这里是指包含一个稳定 V_H-V_L 对的分子间二硫键的 Fv。“F(ab')₂”片段是抗体的一个片段，本质上和用胃蛋白酶在 pH 4.0-4.5 时消化免疫球蛋白（通常是 IgG）得到的片段相同。这个片段也可以重组合成。“Fab'”片段是一种抗体片段，本质上和通过减少 F(ab')₂ 片段上的两条重链相互连接的双硫键得到的片段相同。Fab' 片段也可以重组合成。“Fab”片段是一种本质上和用木瓜蛋白酶消化免疫球蛋白（通常 IgG）得到的片段相同的抗体片段。Fab 片段也可以重组合成。Fab 片段上的重链片段是 Fd 碎片。

可被识别的符号由阳性对照区域被分析物质结合区域组合而成。这种组合可以通过很多方式来完成，如图 6-11 所示。这些并不是有意的去限制这些例子，其它形式的符号，例如圆形或方形，也是可以的。

在没有使用检测装置之前，被分析物结合区域对使用者是不可见的。在这样的实施方式中，基于样本中是否存在被分析物质，检测结果可以为正号或负号。图 4 为当被分析物质不存在于被样本中时的检测结果。因为覆盖在阳性对照区域上的不透明可移动的材料被流动的液体样本冲刷掉而显示出，从而显示出负号。图 5 表示当样本中存在被分析物质时的检测结果。被分析物质和标记物质反应，然后被位于在被分析物质结合区域上的物质结合。被分析物质结合区域与试剂条的横轴线统一方向。“通过横轴线”的方式表示和流过检测装置的液体流动方向垂直，或者和试剂条的长度方向垂直。阳性对照区域和被分析物质结合区域被设计在试剂条上，这样他们相互组合形成可以被识别的符号。在该实施方式中，符号为正号。在另一个具体实施方式中，被分析物质结合区域可以和阳性结合区域组合形成别的符号。

图 6 为另一个实施方式的示意图，正号为被分析结合区域在阳性对照区域之上而交错形成的。在该实施方式中，先让阳性对照区域位于试剂条的正下方，然后在把被分析物质结合区域位于阳性对照区域的正上面。在另一个方式中，这些区域可以交错或不交错。处理阳性对照区域上的墨水或染料的颜色可以和标记被分析物质的标记物质的颜色一样，当他们结合时，阳性对照区域和被分析物质结合区域将会形成单一颜色的符号。在该实施方式中，阳性检测结果为正号，阴性检测结果为负号。

图 7 为另一个实施方式的示意图，正号是由阳性对照区域和被分析物质结合区域形成

的，阳性对照区域可以位于被分析物质结合区域之上或没有向下关系。该实施方式和图 6 所示的实施方式现同，除了被分析物质结合区域先于阳性对照区域被处理在试剂条上。和前一实施方式相似，阳性检测检测结果为一正号，阴性检测结果为一负号。

在另一个实施方式中，阳性对照区域可以被后处理在试剂条上，被分析物结合区域沿着试剂条的横向处理。这样，阳性检测结果仍然位一正号，阴性检测结果为一负号。

图 8 和 9 为另一种让阳性对照区域和被分析物质结合区域组合成正号的方法。如图 8 所示，阳性对照区域为多个排列的区域（而不是一个区域），这些区域分布在被分析物结合区域的两侧而与被分析物质结合区域形成正号。在另一个方式种，被分析结合区域为多个排列的区域组成，这些区域分布在阳性对照区域的两侧与阳性对照区域形成正号。

图 10 为另一个实施方式的示意图，被分析物质结合区域和阳性对照区域形成大些“X”形状。阳性对照区域和被分析物质结合区域与试剂条的液体流动方向呈一定的夹角排列。图 11 为另一个实施方式的示意图，阳性对照区域和被分析物质结合区域形成“Y”形状。

被分析物的类型

能够用本发明稳定检测的被分析物的例子包括（但是不仅仅包括）人绒毛膜促性腺激素（hCG），黄体生成素（LH），卵巢刺激素（FSH），丙肝病毒（HCV），乙肝病毒（HBV），乙肝表面抗原，艾滋病病毒和任何滥用的药物。被分析物能够在任何的液体或者液化样品中检测到，例如尿液，唾液，口水，血液，血浆，或者血清。其它的被分析物的例子还有肌酐酸，胆红素，亚硝酸盐，蛋白质（非特异性的），血液，白细胞，血糖，重金属和毒素，细菌成分（例如，特定类型的细菌的特殊的蛋白质和糖分，例如大肠杆菌 0157:H7，金黄色葡萄球菌，沙门氏菌，产气荚膜梭菌，弯曲杆菌，单核增生李斯特菌，肠炎弧菌，或者腊状芽孢杆菌）。任何其它的适合侧流试验形式的被分析物都可以用本装置检测。

样本的类型

任何类型的样品都能够用本发明的装置进行试验，包括体液（例如，尿液和其它体液，以及临床样品）。液体样品可能源自固体的或者半固体的样品，包括粪，生物组织和食物样品。这些固体的和半固体的样品可以通过任何适合的方法转变成液体样品，例

如在一种适当的液体中混合，踩碎，浸软，孵育，溶解或者酶解固体样品（例如，水，磷酸盐缓冲液或者其它缓冲液）。“生物样品”包括源自活的动物、植物和食物的样品，也包括尿液、唾液、血液和血液成分、脑脊液、阴道拭子，精液、粪便、汗液、分泌物、组织、器官、肿瘤、组织和器官的培养物，细胞培养物和那里的条件介质，不管是人的还是动物的。食物样品包括加工过的食物成分和最后的产品，肉，奶酪，酒，牛奶和饮用水。植物样品包括源自任何植物、植物组织、植物细胞培养物和那里的条件介质的样品。“环境样品”是那些源自环境的样品（例如，湖水样品或者其它水体的样品，污水样品，土壤样品，地下水样品，海水样品，废物废水的样品）。污水和相关的废物也可以包含在环境样品中。

使用方法

该发明提供使用该检测装置来检测流体样本种是否存在被分析物质的方法。该方法包括把流体样本施加在检测装置的样本接受区域让流体沿着试剂条流动的步骤。流体样本能够通过一些常用的方式被施加到样本接受区域上，例如使用滴管。

参考附图 1，当流体或流体样本被施加到样本接受区域 15 上后，样本沿着基质流动而流过试剂条。当该样本进入试剂区域 17 上时，处理在试剂区域上的试剂或可以标记被分析物质的标记物质和样本进行反应，其中，一个被分析物质的抗体带有金标胶体颗粒标记物质。当然标记物质可以是其它任何形式的标记物质，例如金胶体颗粒，酶或乳胶颗粒。在开始检测时，检测区域 12 至少有一部分被不透明可移动的材料覆盖，其中不透明可移动的材料覆盖阳性对照区域 11。当样本流过检测区域的时候，流体样本的移动可以冲洗掉覆盖在阳性对照区域上的不透明可移动材料而让阳性对照区域显露出来。同时，样本中的被分析物质（此时被带有检测信号的标记物质所标记）被被分析物结合区域上的另一被分析物质的抗体结合，该抗体为特异结合被分析物质的分子对一个分子。

阳性对照区域 11 和可以被检测的标记物质可以是相同的颜色，这样带有标记物质的被分析物质被被分析物质结合区域 13 结合后，阳性对照区域和被分析物质结合区域结合形成一个可以识别的符号，例如“+”号。

如果没有被分析物质存在样本中，当检测完成后，先前阳性对照区域所形成的负号

就在检测区域上形成一负号表示阴性的检测结果。

试剂盒

本发明还提供一个试剂盒,包括一个或多个本发明的检测装置和如何使用这些检测装置进行检测的操作说明书。按照不同消费者的要求可以被包装成不同的形式。

在一个实施方式中,试剂盒包括一个检测是否怀孕的试剂棒或笔形装置和一个用来检测尿液中 HCG 的操作说明书。该说明书说明如何进行检测和判读检测结果。例如,一个妇女把尿液淋到检测装置的吸收垫上,它可以把她的尿液转移到试剂条上。经过几分钟后,不透明可移动的材料被洗脱掉。如果检测结果为阴性,表明该妇女没有怀孕,一个负号就因不透明材料被洗脱掉而显示出来。如果检测结果为阳性,表示该妇女可能怀孕,一个正号就因不透明材料被洗脱掉而显示出来,同时带有标记物质的 HCG 被被分析物质结合区域结合,从而提供一个可以被识别的负号。

在另一个具体的实施方式中,该试剂盒包括 6, 7, 8, 9, 10, 11 或 12, 或者大于 3, 大于 4 或大于 5 个排卵检测装置或 1, 2, 3, 或更多的早孕检测装置和操作说明书。这些装置可以检测在月经期的 LH 水平。在该实施方式中,说明书用来说明如何使用这些检测装置来测试。在另一个实施方式中,说明书可以说明女性的激素和月经周期和如何确定排卵期。

在另一个具体实施方式中,本发明的试剂条可以被专业实验室来检测是否怀孕。该试剂盒包括一些检测装置和操作说明书。试剂盒可以包括 15 或 20 多个试剂条。这类试剂条可以被提供更多的数量来被用在临床检测。

试验一, 检测早孕 HCG 的检测装置和组装

这个例子用来说明检测 hCG 装置的构造和用途。这个例子利用一种绿色的食品添加剂作为不透明的有色物质来覆盖阳性对照区域。这个例子说明这个装置能正确的检测目标分析物 (hCG) 的存在, 并提供清楚明了的符号来说明阳性或阴性检测结果。

除了额外标出的地方, 可以通过现有技术所描述的方法制造 hCG 检测试剂条。首先由一个微处理器控制的微量调节注射器把羊抗鼠 IgG (1.3 mg/ml, 作为检测结果控制线) 处理到硝酸纤维素膜上, 然后再把鼠抗 α -hCG 的 IgG (浓度为 4.0 mg/ml) 处理到硝酸纤维素膜作为检测线, 作为被分析物结合区域。当样品中含有 hCG 时, 形成

阳性正号的垂直线。喷量都为 $1.1 \mu\text{l}/\text{cm}$ 。完成后，硝酸纤维素膜立即在 45°C 干燥（2 小时）来固定抗体试剂。

苹果绿染料（终浓度 1%，上海染料研究所有限公司，中国上海，lot 99031923）和金标羊抗鼠 IgG（最终 $\text{OD}_{520}=121$ ）溶于 Na_2HPO_4 缓冲液（终浓度为 50mM）制成一种溶液，这种溶液结合到硝酸纤维素膜上的阳性对照区域上，变成检测域的最早的可识别标记（一种“-”标记）。检测后出现这个标记表示阴性检测结果。这种溶液在喷量为 $0.8 \mu\text{l}/\text{cm}$ 使用，处理的长度为 10 毫米。也可以是处理 22-32 mm 长，然后被切成试剂条。处理好后立即把膜放在 55°C 过夜干燥。

等硝酸纤维素膜干燥后，试剂区域和样品接受区域可以被粘附在膜上。装置中的吸水纸用来促进液体的流动穿过装置。大的装配好的卡片可以被裁切形成大约 60 mm 长 \times 7.2 mm 宽的独立试剂条。独立的试验条被安装到检测装置中去，一个吸水片也可以被安装在该装置中。装置包装有两个窗口，一个用来显示检测结果，一个用来显示检测结果控制线的。使用前检测窗口含有一个绿色的负号标记，而控制窗口是空白的。

用分别含有 0 mIU/ml，25mIU/ml，和 100 mIU/ml hCG 的尿液样品 1 ml 来施加到 3 类不同型号的检测装置中，每类装置用 3 个，总共为 27 个检测装置。分别在 3 min，7 min，and 10 min 观察检测结果。当液体样品流过基质时，绿色的染料从检测窗口冲洗掉，露出下面的红色负（-）标记作为阳性对照区域。对 0 mIU/ml 的 hCG 样品的检测中，每一个装置在三个时间段都自己显示红色负（-）标记即作为阴性结果。

当那些含有 25 mIU/ml 或 100 mIU/ml of hCG 的样品流过装置的基质时候，hCG 被一种已被金标的抗体标记。当标记的 hCG 到达分析结合域，也是必经区域时，标记的 hCG 集中在分析结合域，导致分析结合域显示红色。化验结束后，观察装置的检测区。

含有 25 mIU/ml hCG 样品从检测开始到 10 min 之内，所有装置都有红色的阳性对照域和红色的被分析结合区域。阳性对照域和红色分析结合域一起在检测区呈现加号“+”标记。

装置检测含有 100 mIU/ml of hCG 样品时，所有类型的装置在开始检测 3 min 内均显示加号“+”，说明存在 hCG 即阳性结果。

本发明的装置和方法可以应用在许多方面。例如在专业实验室用来临床验孕，

或通过了解 LH 激素精确判断排卵时间。该检测装置也可以为了同样的目的作为家庭检测的设备。该装置可以被用来检测是否怀孕，当然还可以被用来检测其它流体样本中的任何被分析物质。试剂盒可以为了以上不同的目的来组装。

本文举例描述的发明在每个零件都具备的情况下就可以使用，它的限制在这里就不特别说明了。本文中用来描述装置的术语和表达方式并不是唯一不变的，并且我们没有任何意图使用这些术语和表达方式排除描述本装置的结构或者特征的任何相同意义的表达方式，我们认同在本发明声明的范围内的各种不同的表达方式。因此，我们认为尽管在本文中本发明已经用各种具体方案和任意的特征描述清楚地展示出来，但是改变本文中揭示的设计的表达方式还要求助于那些有经验的技术人士，并且这些改变要与本发明附带的声明一致。

文章、专利、专利应用和所有其它文档的内容以及本文中提到的和引证的有用的电子化信息是结合在一起的，必须作为一个完整的内容来参考，发表其中任何一个部分都要特别指明这一点。申请者具有将任何和全部的这些文章、专利、专利应用或其它文档的信息和材料合并入该申请书作为本专利说明书揭示的一部分的权利。

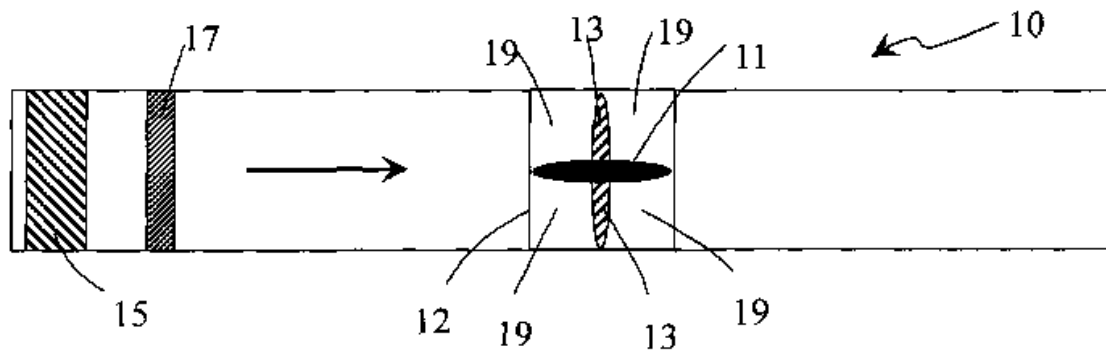


图 1

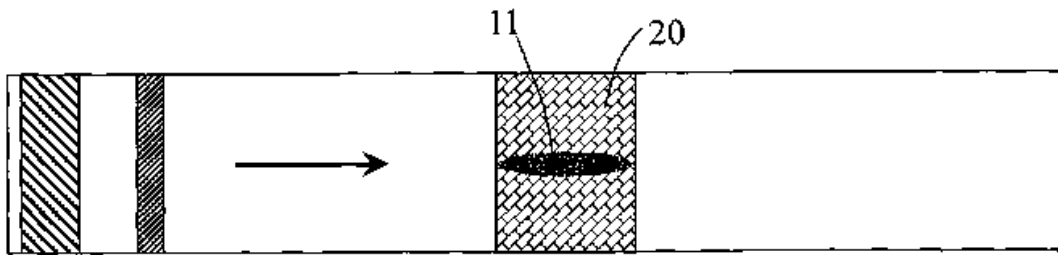


图 2

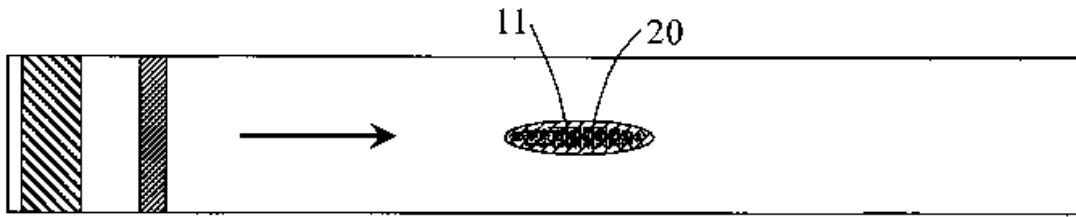


图 3

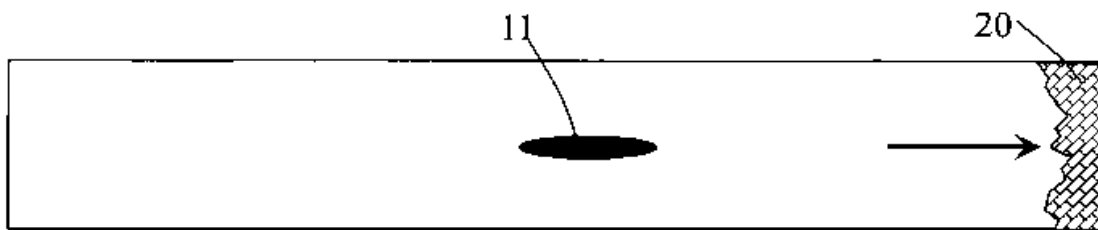


图 4

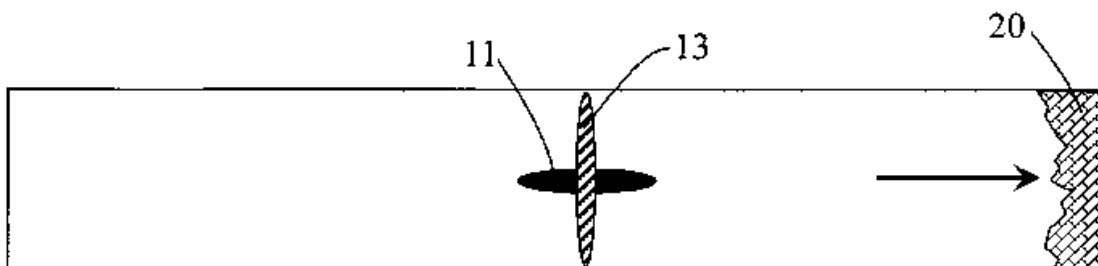


图 5

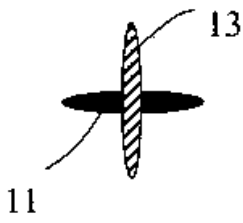


图 6

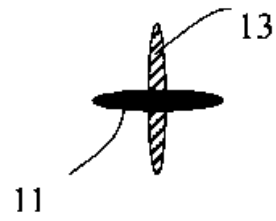


图 7

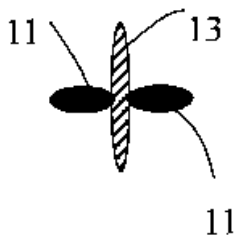


图 8

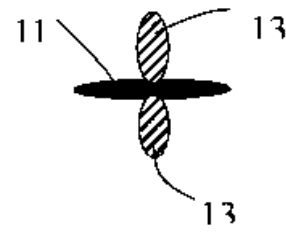


图 9

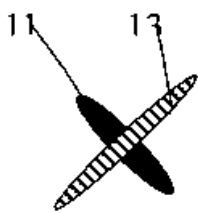


图 10

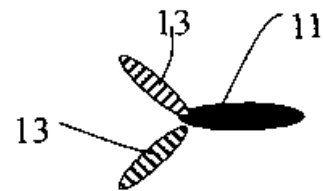


图 11

专利名称(译)	免疫检测的装置和方法		
公开(公告)号	CN101341407A	公开(公告)日	2009-01-07
申请号	CN200680048409.4	申请日	2006-01-10
申请(专利权)人(译)	因韦尔尼斯医药瑞士股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	因韦尔尼斯医药瑞士股份有限公司		
[标]发明人	高飞 吴淑江 陈惠康 熊登峰 林继南 詹目斯·麦克米那梅		
发明人	高飞 吴淑江 陈惠康 熊登峰 林继南 詹目斯·麦克米那梅		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/54366 G01N33/54386 G01N2333/59		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种检测流体样本中被分析物质存在的检测装置，方法和试剂盒子。本发明提供一种检测装置包括一个被一种不透明可移动的材料覆盖的阳性对照区域，该不透明可移动的材料覆盖，例如一种墨水，染料或其它材料，通过体的流动，该不透明材料被流体移动从而显示出被覆盖在下面的阳性对照区域。通过颜色信号的阳性对照区域和被分析物质结合区域的组合，一个可以被识别的符号出现在检测装置上来表示检测结果。

