



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112536074 A

(43) 申请公布日 2021.03.23

(21) 申请号 202011300947.6 *G01N 33/52* (2006.01)
(22) 申请日 2007.10.10 *G01N 33/53* (2006.01)
(30) 优先权数据 *G01N 33/533* (2006.01)
11/549,558 2006.10.13 US *G01N 33/542* (2006.01)
11/685,615 2007.03.13 US

(62) 分案原申请数据
200780037859.8 2007.10.10

(71) 申请人 拉布拉多诊断有限责任公司
地址 美国特拉华州

(72) 发明人 I·吉博恩斯 M·奥康奈尔

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100
代理人 郭辉

(51) Int. Cl.
B01L 3/00 (2006.01)

权利要求书4页 说明书10页 附图6页

(54) 发明名称
减少流体装置中的光干扰

(57) 摘要

此发明属于医疗设备领域。具体地,本发明提供允许实时检测来自生物流体的分析物的便携医疗设备。方法和设备对于为多种医疗应用提供即时检测尤其有用。具体而言,该医疗设备减少了对指示体液样本中存在分析物的光信号的干扰。

1. 一种用于检测体液样本中的分析物的系统,该系统包括:
 - 样本收集单元,被配置为接收体液样本;
 - 与样品收集单元流体连通的测定组件,该测定组件包括试剂室、反应位点和将试剂室与反应位点连接的流体通道;
 - 与测定组件流体连通但与之间隔开的废料室;和
 - 读数组件,其包括控制器、检测组件和致动元件,该致动元件被配置为实现样品收集单元、测定组件和废料室之间的运动,其中,这些运动包括:
 - 将样品通过样品收集单元移动到测定组件,以使样品与固定在反应位点的反应物反应;
 - 将未反应的反应物从测定组件移至废液室;和
 - 通过流体通道将试剂从试剂室移至反应位置,
 - 其中,测定组件被配置为产生指示样品中分析物存在的光信号;和
 - 其中,检测组件被配置为通过检测光信号来检测样品中的分析物。
2. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述致动元件包括泵和阀中的一个或多个。
3. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述检测组件包括数字照相机、电荷耦合器件(CCD)、光电倍增器或光电管中的一个。
4. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述反应物包括与所述分析物反应的抗体。
5. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述体液样本包括血液。
6. 权利要求1的系统,其中,所述试剂包含酶偶联物和酶底物中的一个。
7. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述样品收集单元、所述测定组件和所述废料室在流体装置中,所述流体装置被配置为插入所述读数组件中,并且所述读数组件还包括标识检测器和通信组件。
8. 根据权利要求7所述的系统,其中,所述识别检测器被配置为:
 - 检测流体装置的标识符;和
 - 将标识符传输到通信组件,并
 - 其中,通信组件被配置为:
 - 从外部设备接收基于标识符在流体装置上执行的协议。
9. 一种流体装置,其具有壳体,并且构造成测定用于检测所述壳体内的体液样品中的分析物,所述流体装置包括:
 - 样本收集单元,被配置为接收体液样本;
 - 与样品收集单元流体连通的测定组件,该测定组件包括试剂室、反应位点、将样品收集单元连接到测定组件的第一流体通道、将测定组件连接到废料室的第二流体通道、以及将试剂室与反应位点连接的第三流体通道;和
 - 与测定组件流体连通但与之间隔开的废料室,
 - 其中,测定组件被配置为:
 - 从样品收集单元接收样品,其中,样品通过第一流体通道从样品收集单元移动到测定组件;
 - 使样品与固定在反应位点的反应物反应,其中,未反应的反应物通过第二流体通道移至废料室;

使试剂室中的试剂在反应位点反应,其中,试剂通过第三流体通道从试剂室移至反应位点;和

产生指示样品中分析物存在的荧光信号。

10. 根据权利要求9所述的流体装置,其中,所述样品收集单元、所述测定组件和所述废料室之间的运动是通过致动元件的泵或阀中的至少一个来实现的。

11. 根据权利要求9所述的流体装置,其中,所述反应物包括与所述分析物反应的抗体。

12. 根据权利要求9所述的流体装置,其中,体液样本包括血液。

13. 根据权利要求9所述的流体装置,其中,所述试剂包括酶偶联物和酶底物中的一个。

14. 如权利要求9所述的流体装置,其特征在于,所述样品中的分析物通过数码相机、电荷耦合装置(CCD)、光电倍增管或光电管中的一个通过荧光信号进行检测。

15. 一种使用流体装置检测体液样品中分析物的方法,所述流体装置包括样品收集单元、测定组件和废料室,所述方法包括:

通过将样本移动通过流体装置的样本收集单元来在流体装置的检测组件中提供体液样本,其中,样本收集单元与测定组件流体连通,其中,通过由控制器控制的致动元件产生运动,其中,所述测定组件还包括试剂室、反应位点和将所述试剂室与所述反应位点连接的流体通道;

使样品与结合在反应位点的反应物反应;

通过所述致动元件将未反应的反应物移动到所述废料室,所述废料室与所述测定组件流体连通,但与所述测定组件间隔开;

通过致动元件通过流体通道将试剂从试剂室移动到反应位点,其中,测定组件被配置为产生指示样品中分析物存在的荧光信号;和

通过检测荧光信号来检测样品中的分析物。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中,所述致动元件包括泵和阀中的一个。

17. 根据权利要求15所述的方法,还包括:将所述流体装置插入容纳有检测所述荧光信号的检测器的读数组件,其中,所述检测器包括数字照相机、电荷耦合装置(CCD)、光电倍增管和光电管中的一个。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中,所述读数组件还包括识别检测器和通信组件,其中,所述识别检测器被配置为:

检测流体装置的标识符;和

将标识符传输到通信组件,并

其中,通信组件被配置为:

从外部设备接收基于标识符在流体装置上执行的协议。

19. 一种用于检测体液样品中分析物的系统,该系统包括:

流体装置,包括:

样本收集单元,被配置为接收体液样本;

与样品收集单元流体连通的测定组件,该测定组件包括试剂室、反应位点和将试剂室与反应位点连接的流体通道;和

与测定组件流体连通但与之间隔开的废料室;

读数组件;

识别检测器；
通讯组件；
控制器；
检测组件；和
致动元件

其中，流体装置被配置为插入读数组件中，

其中，所述识别检测器被配置为：

检测流体装置的标识符；和

将标识符传输到通讯组件，

其中，通信组件被配置为：

从外部设备接收基于标识符在流体装置上执行的协议，

其中，所述致动元件被配置为在所述流体装置中的所述样品收集单元、所述测定组件和所述废料室之间进行运动，其中，所述运动包括：

将样品通过样品收集单元移动到测定组件，以使样品与固定在反应位点的反应物反应；

将未反应的反应物从测定组件移至废料室；和

通过流体通道将试剂从试剂室移至反应位点，

其中，测定组件被配置为产生指示样品中分析物存在的荧光信号，和

其中，检测组件被配置为通过检测荧光信号来检测样品中的分析物。

20. 根据权利要求19所述的系统，其中，所述通信组件还被配置为：响应于将所述标识符传输到所述外部设备，从所述外部设备接收所述协议。

21. 根据权利要求19所述的系统，其中，所述致动元件包括泵和阀中的一个。

22. 根据权利要求19所述的系统，其中，所述检测组件包括数字照相机、电荷耦合器件(CCD)、光电倍增管或光电管中的一个。

23. 根据权利要求19所述的系统，其中，所述反应物包括与所述分析物反应的抗体。

24. 根据权利要求19所述的系统，其中，所述废料室包括淬灭位点和淬灭剂，所述淬灭剂抑制所述试剂和第二试剂之间的酶促反应，从而减少对所述荧光信号的干扰。

25. 根据权利要求24所述的系统，其中，所述淬灭位点还包括吸收剂材料。

26. 根据权利要求25所述的系统，其中，所述吸收剂材料被所述淬灭剂饱和。

27. 根据权利要求26所述的系统，其中，所述吸收材料选自玻璃纤维、二氧化硅、纸、聚丙烯酰胺凝胶、琼脂糖和琼脂。

28. 一种用于检测样本中的分析物的系统，包括：

一种流体装置，所述流体装置包括

测定组件，所述测定组件被配置成产生指示所述分析物存在的光信号；以及

与所述测定组件流体连通的猝灭组件，其中所述猝灭组件适于减少对所述光信号的干扰；以及

用于检测所述光信号的检测组件。

29. 一种用于检测样本中的分析物的方法，包括：

使疑似包含所述分析物的样本与流体装置中包含的至少一种反应物反应，所述流体装

置包括：

测定组件，所述测定组件被配置成产生指示所述分析物存在的光信号；以及
与所述测定组件流体连通的猝灭组件，其中所述猝灭组件适于减少对所述光信号的干扰；以及

检测所述光信号从而检测所述样本中的分析物。

30. 一种制造具有猝灭组件的流体装置的方法，包括：

提供所述流体装置的多个层；

将所述层固定在一起以在样本收集单元、至少一个试剂室、至少一个反应位置、以及至少一个猝灭组件之间提供流体网络。

减少流体装置中的光干扰

[0001] 本申请是国际申请号为PCT/US2007/080917,国际申请日为2007年10月10日的PCT国际申请进入中国国家阶段后的申请,申请号为200780037859.8,发明名称为“减少流体装置中的光干扰”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明属于医疗设备领域,具体地,本发明提供允许实时检测来自生物流体的分析物的便携医疗设备。所述方法和设备对于为多种医疗应用提供即时检测尤其有用。具体而言,该医疗设备减少了对指示体液样本中存在分析物的光信号的干扰。

背景技术

[0003] 大量的疾病生物标记的发现和小型流体系统的建立已经打开了设计用于在即时检验(point-of-care)设置中预测、诊断以及监控疾病治疗的方法和系统的新途径。即时检验是尤其合乎需要的,因为它迅速将结果传递给患者和医疗从业者,而且允许患者与保健供应者之间的会诊更快。早期诊断允许医疗从业者较早开始治疗,从而避免被忽视的患者状况恶化。对诸如生物标记水平和治疗剂浓度之类的适当参数的频繁监控能认识药物治疗的有效性或能给被治疗伤害的病人提供早期提醒。即时检验分析的示例包括测试葡萄糖、凝血酶原时间、药物滥用、血清胆固醇、妊娠、以及排卵。

[0004] 流体装置能采用多种不同的测定来检测来自受检者的体液样本中的所关心的分析物。在ELISA测定中(用于临床测定尤其是在即时检验背景下的优选技术),如果诸如酶-抗体偶联物和酶底物之类的测定试剂在测定完成之后残留在流体装置上,则未与测定反应表面结合的试剂或过量的试剂——如果它们被收集在同一流体装置中——会相互反应而产生一种信号,该信号会干扰测定过程产生的所关心信号。与测量例如吸收性或荧光性的测定对比,在其中测定试剂产生光的发光测定中尤其会出现这种情况。许多发光测定使用酶来产生发光从而经由被测物质的放大来改善测定灵敏度。此外,在将所有测定组件,包括废料洗涤物包含在小外壳中的测定系统中,发光废料存在的可能性进一步被增强。在这样的测定方式下,过量的或未结合的酶标记的试剂会与酶底物反应,从而产生不想要的干扰信号。

[0005] 某些流体装置部件可将干扰信号问题减轻至某种程度。例如,流体装置的主体可以是不透明的而且与不期望的发光光学地隔离,或者检测系统可被配置成反射并非来自流体装置内的反应位置的光。然而,这些减轻部件不能充分地消除干扰,因为光仍可穿过流体装置的透明元件传播并干扰所关心的信号。在其中从测定产生的信号之间的比例仅表示总信号产生试剂的小部分——例如小于万分之一——的需要高灵敏度的测定中尤其存在这种情况。

[0006] 因此,迫切需要设计改进的流体装置,尤其是即时检测装置,以最小化光信号干扰。

发明内容

[0007] 本发明的一个方面是一种用于检测体液样本中的分析物的流体装置。该流体装置包括：样本收集单元，其适于将体液样本提供到流体装置中；与样本收集单元流体连通的测定组件，其中该测定组件适于产生指示体液样本中分析物存在或量的光信号；以及与所述测定组件流体连通的猝灭组件，其中该猝灭组件适于减少光信号的干扰。

[0008] 在某些实施方式中，测定组件包括：包括在测定中使用的试剂的试剂室；以及包括与分析物结合的反应物的至少一个反应位置。试剂可以是酶偶联物和酶底物。

[0009] 猝灭组件可包括与反应位置流体连通的猝灭位置和在猝灭位置处的猝灭剂。猝灭组件还可包括吸收材料，其可以是例如玻璃纤维、二氧化硅、纸、聚丙烯酰胺 (polyacrylamide) 凝胶、琼脂糖、或琼脂。

[0010] 吸收材料可用猝灭剂浸渍。猝灭剂可适于使来自测定的至少一种试剂失活从而减少对光信号的干扰。在某些实施方式中，猝灭剂是4-氨基-1,1-偶氮苯-3,4-二磺酸。

[0011] 在某些实施方式中，测定组件适于进行免疫测定，其可以是化学发光测定。猝灭组件可适于显著消除干扰。

[0012] 在某些实施方式中，流体装置具有废料室，其中该废料室包括猝灭位置。

[0013] 本发明的另一方面是一种用于检测样本中的分析物的系统。该系统包括流体装置，该流体装置具有：测定组件，其被配置成产生指示分析物存在的光信号；和与所述测定组件流体连通的猝灭组件，其中所述猝灭组件适于减少所述光信号的干扰；以及用于检测所述光信号的检测组件。

[0014] 在某些实施方式中，该系统还包括用于将所述光信号发送给外部装置的通信组件。

[0015] 在某些实施方式中，测定组件包括试剂室，该试剂室具有在测定中使用的至少一种试剂和包括与分析物结合的反应物的至少一个反应位置。至少一种试剂可包括酶偶联物和酶底物。

[0016] 在某些实施方式中猝灭组件包括与反应位置流体连通的猝灭位置和在猝灭位置处的猝灭剂。猝灭组件可包括诸如玻璃纤维、二氧化硅、纸、聚丙烯酰胺凝胶、琼脂糖、或琼脂之类的吸收材料。吸收材料可用猝灭剂浸渍，该猝灭剂可适于使来自所述测定的至少一种试剂失活，从而减少对所述光学信号的所述干扰。猝灭剂可以是例如4-氨基-1,1-偶氮苯-3,4-二磺酸。

[0017] 在该系统的某些实施方式中，测定组件适于进行免疫测定，其还可以是化学发光测定。

[0018] 猝灭组件可适于显著消除干扰。

[0019] 在该系统的某些实施方式中存在废料室，其中该废料室包括猝灭位置。

[0020] 本发明的一个方面是一种用于检测样本中的分析物的方法。该方法包括：使疑似包含分析物的样本与流体装置中包含的试剂反应，该流体装置具有被配置成产生指示分析物存在的光信号的测定组件和与所述测定组件流体连通的猝灭组件，其中所述猝灭组件适于减少所述光信号的干扰；以及检测所述光信号从而检测样本中的分析物。

[0021] 本发明的一个方面是一种制造具有猝灭组件的流体装置的方法。该方法包括：提供流体装置的多个层；将所述层固定在一起以在样本收集单元、至少一个试剂室、至少一个

反应位置、以及至少一个猝灭组件之间提供流体网络。

[0022] 在某些实施方式中,所述固定操作包括将这些层超声焊接在一起。

[0023] 通过引用的结合

[0024] 在此说明书中涉及的所有出版物和专利申请通过引用整体结合到本文中,就好像指出各个单独的出版物或专利申请被特别地和单独地通过引用结合在本文中。

附图说明

[0025] 本发明的新颖特征在所附权利要求中具体陈述。通过参考陈述了其中利用本发明原理的说明性实施方式的本发明和附图的以下详细说明可获得对本发明的特征和优点的更好理解,其中:

[0026] 图1和2示出示例性流体装置的俯视图和仰视图,示出流体连通性。

[0027] 图3和4分别示出本发明的示例性流体装置的俯视图和仰视图。

[0028] 图5示出示例性流体装置的不同组件和层。

[0029] 图6示出本发明的示例性系统。

[0030] 图7示出两步测定。

[0031] 图8描述示例性化学发光测定。

具体实施方式

[0032] 流体装置

[0033] WSGR Docket No.30696-715.201分子量的聚乙烯、聚偏氟乙烯、乙烯-乙酸乙烯酯、聚四氟乙烯、苯乙烯-丙烯腈、聚砜、聚碳酸酯、葡聚糖、干交联葡聚糖、聚邻苯二甲酸酯(polythalate)、二氧化硅、玻璃纤维、或类似于本文中包含的那些材料的其它材料。此外,吸收材料可以是本文中所描述的材料中的任意组合。

[0034] 一般而言吸收材料是高吸收性的,而且吸收材料的空气体积率一般是约10-70%。吸收材料帮助吸收测定中使用的废液从而防止流体从流体装置泄漏,因为可能需要防止与流体装置结合使用的用来检测光信号的检测装置上或检测装置中的污染。

[0035] 在某些实施方式中,吸收材料包括至少一种猝灭剂,该猝灭剂与来自所述测定的至少一种试剂反应以减少对指示样本中分析物存在的光信号的干扰。猝灭剂能抑制试剂之间的结合,或在优选实施方式中猝灭剂能使会产生干扰光信号的至少一种试剂,更优选所有试剂失活。

[0036] 与猝灭组件中的猝灭剂反应以减少干扰的一种试剂或多种试剂可以是例如但不限于未结合的酶和/或未结合的底物。与猝灭剂反应以减少干扰的试剂一般不如干扰本身的减少重要。猝灭组件中的猝灭剂可根据在流体装置中进行的测定的类型而不同。较佳地,猝灭剂使干扰光信号减少至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%,至少约90%,或减少的程度更高。在优选实施方式中,猝灭剂使干扰光信号减少约99%。在另一优选实施方式中,猝灭组件使光干扰减少至少约99.5%。在更优选的实施方式中,猝灭剂使光干扰减少至少约99.9%。

[0037] 以此方式,猝灭组件可根据想要的特定测定或多个测定被制造,且可包括将令人满意地减少干扰信号的猝灭剂。

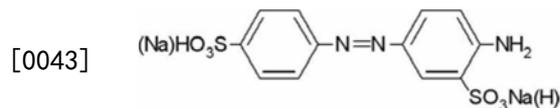
[0038] 在某些实施方式中,猝灭剂可以是不挥发强酸之类的化学物质,例如三氯乙酸或其盐三氯乙酸钠。该物质也可以是诸如氢氧化钠之类的强碱。根据本发明还可使用其它不挥发强酸和强碱。

[0039] 在某些实施方式中,猝灭剂通过抑制酶减少光干扰。例如在ELISA中,猝灭剂可干扰酶使底物转变以产生发光信号的能力。示例性的酶抑制剂包括:乳糖,其抑制 β -半乳糖苷酶对发光半乳糖苷的作用;和磷酸盐,其抑制磷酸酶。

[0040] 在某些实施方式中,猝灭剂可通过使酶变性减少干扰。通过使酶变性,酶不能实现它的酶促作用,光干扰被抑制或减少。示例性的变性剂包括十二烷基硫酸钠(SDS)之类的洗涤剂、乙酸汞之类的重金属盐、或EDTA之类的螯合剂,它们能掩蔽对某些酶如碱性磷酸酶的活性非常重要的金属离子。可使用所有类型的表面活性剂,包括阳离子型(CTMAB)和阴离子型(SDS)。

[0041] 在某些实施方式中,猝灭剂可以是与酶活性不相容的非变性化学物质。示例性的化学物包括可将pH改变到某个值的缓冲剂等等,在该pH值时酶变得惰性从而不能催化干扰信号的产生。

[0042] 在其它实施方式中,猝灭剂可以是例如有机电荷转移分子,包括7,7,8,8-四氰基喹啉并二甲烷(TCNQ)、2,3,5,6-四氟-7,7,8,8-四氰基喹啉并二甲烷(TFTCNQ)、碳纳米管、媒染黄10(MY)以及4-氨基-1,1-偶氮苯-3,4-二磺酸(AB)。在优选实施方式中,偶氮苯化合物是MY和AB,因为它们比TCNQ、TFTCNQ以及碳纳米管的水溶性更高。AB的结构如下所示:



[0044] 在某些实施方式中,猝灭剂可以是诸如碘之类的重原子,其通过猝灭用来增强化学发光信号的荧光物质而减少干扰。在其它实施方式中猝灭剂可以是有机化合物,该有机化合物的吸收光谱与用来增强化学发光信号的荧光物质的荧光发射光谱重叠。在某些实施例中这样的猝灭剂是一种深色猝灭剂,例如碳颗粒(例如炭黑,木炭)的分散体。碳能通过吸收活性物质而使化学发光失活,它还是基本不能发射荧光的非常好的猝灭剂。

[0045] 在某些实施方式中,猝灭剂可以是抗氧化剂,其可通过使化学发光反应中断来减少干扰。可在本发明的某些实施方式中使用的猝灭剂包括但不限于水溶性维生素E(Trolox)、丁基化羟基甲苯(BHT)、抗坏血酸、柠檬酸、视黄醇、类胡萝卜素萜类、非类胡萝卜素萜类、酚酸及其酯类、以及生物类黄酮(bioflavonoid)。

[0046] 在其它实施方式中,猝灭剂可以是单态氧猝灭剂,其可通过使化学发光反应中断来减少干扰。一些单态氧猝灭剂包括但不限于1,4-二氮杂二环[2,2,2]辛烷、诸如甲硫氨酸或半胱氨酸之类的含硫醇的化合物、以及诸如番茄红素之类的类胡萝卜素。

[0047] 用来浸渍或饱和吸收材料的物质优选是高浓度的,通常在摩尔上大大超过测定试剂。

[0048] 通常猝灭组件具有期望的某些性质,现在将举例描述其中的某些性质。在其中猝灭组件包括吸收材料的实施方式中,优选废液的吸收相对于测定持续时间而言较快。在优选实施方式中,废液的吸收在几分钟内发生,更优选在几秒钟内发生。

[0049] 优选吸收材料基本吸收流体装置中所有的废液。在优选实施方式中,废料室中的

超过99%的液体被吸收。除减少光干扰之外,这有助于防止液体在测定完成之后从流体装置泄漏,其又有助于防止可能与在本文中所描述的流体装置一起使用的检测装置受到污染。

[0050] 优选猝灭组件对酶活性的抑制应当是迅速的,通常在几分钟内,更优选在几秒钟内。

[0051] 抑制的酶反应应当尽可能完全以确保干扰被尽可能减少。在优选实施方式中,在可与本文中所描述的流体装置一起使用的任何检测机构检测到指示样本中存在分析物的光信号之前,酶反应的失活应当完成超过99%。

[0052] 在优选实施方式中,猝灭组件包括吸收材料,因而其中嵌入的失活物质优选在吸收材料中是稳定的。此外,猝灭剂优选在接触废液的数秒到数分钟内溶解。

[0053] 在某些实施方式中,猝灭组件包括废料室。废料室一般是与测定组件流体连通的室或池,在测定之后未结合到测定组件的反应位置的测定试剂和样本被收集到该室中。因为废液在测定之后残留在流体装置上,所以废液室一般是流体装置中未结合或过量的试剂和样本在测定之后被收集的区域。在其中猝灭组件包括吸收材料的实施方式中,吸收材料可适于被放置在废料室中。吸收材料可以填满或不填满整个废料室,而且当流体进入废料室时可膨胀。

[0054] 猝灭组件还可包括适于将吸收材料稳定或固定在流体装置中的稳定部件。例如,适于容纳吸收材料的废料室还可包括突出废料室顶部以接触和稳定或固定吸收垫的插针或桩。

[0055] 图1和2分别示出在装置已被组装之后的示例性流体装置的俯视图和仰视图。设计和固定了不同层以构成三维的流体通道网络。样本收集单元4提供来自患者的体液样本。如下文中将进一步具体描述地,读数组件包括致动元件(未示出),该致动元件能操纵流体装置启动并引导体液样本和测定试剂在流体装置中的流动。在某些实施方式中,致动元件首先使流体装置2中的样本从样本收集单元4向反应位置6流动,使样本在流体装置中从点G'向上移动至点G,然后移至吸收材料9被收纳的废料室8。致动元件然后启动试剂从试剂室10分别流动到点B'、点C'、以及点D',然后向上到点B、C、以及D,接着到点A,向下到点A',然后以与样本相同的方式到废料室8。当样本和试剂进入废料室8时,它们遭遇猝灭组件9。

[0056] 为确保在反应位置处产生的给定光子数与样本中所关心的分析物的精确浓度相关,优选在检测光子之前校准流体装置。在制造的时候校准流体装置例如可能不足以保证确定精确的分析物浓度,因为流体装置在使用前可能被运输和承受例如温度变化,因此在制造时进行的校准对流体装置或其中包含的试剂的结构中的任意后续变化不起作用。在本发明的一个优选实施方式中,流体装置具有在部件和设计上模仿测定组件的校准组件,除样本未被引入校准组件之外。参考图1和2,校准组件大约占据流体装置2的一半,且包括试剂室32、反应位置34、废料室36、流体通道38、以及吸收材料9。类似于该测定组件,试剂室和反应位置的数量可根据在流体装置上执行的测定和被检测的分析物数量而不同。

[0057] 图3是流体装置的另一示例性实施方式的俯视图。示出了多种吸收材料9。图4示出图3的实施方式的仰视图。

[0058] 图5示出图3和4中所示的示例性流体装置的多个层。相对于流体装置的其它组件和层示出了吸收材料9的位置。

[0059] 然后如图6所示的检测组件检测指示样本中存在分析物的光信号,接着检测到的信号可用来确定样本中分析物的浓度。图6示出可用来检测指示样本中存在所关心的分析物的来自流体装置的光信号的示例性检测组件的位置。基于例如要进行的测定类型和要采用的检测机制,检测组件可位于流体装置之上或之下,或相对于流体装置处于不同取向。

[0060] 在优选实施方式中,光检测器用作检测装置。非限制性例子包括光电倍增管(PMT)、光电二极管、光子计数检测器、或电荷耦合器件(CCD)。某些测定可能产生如本文中所述的发光。在某些实施方式中检测到化学发光。在某些实施方式中,检测组件可包括连接到CCD检测器或连接到PMT阵列的作为一束的多个光纤电缆。光纤束可以由分立的光纤或由熔合到一起而形成实心束的多根小光纤构成。这样的实心束是可买到的而且容易连接到CCD检测器。

[0061] 在2006年3月24日提交的美国专利申请S/N 11/389,409中描述了可与流体装置一起使用的示例性的检测组件,该专利申请通过引用整体结合在本文中。

[0062] 在本文中描述的干扰或光干扰一般表示在流体装置中产生的光信号,该光信号干扰由结合反应物产生的指示存在所关心的分析物的光信号。通常,这样的干扰信号在未结合至反应位置的试剂累积并相互遭遇的废料室中产生。例如,当在测定中用来增强测定灵敏度的酶与未结合底物反应时,废液的累积会产生这样的干扰,从而产生干扰由结合反应物产生的光信号的光信号。

[0063] 使用方法

[0064] 本发明的另一方面是一种检测样本中的分析物的方法。该方法包括:使疑似包含分析物的体液样本与流体装置中包含的反应物反应,该流体装置具有被配置成产生指示分析物存在的光信号的测定组件以及适于减少对所述光信号的干扰的猝灭组件;以及检测所述光信号从而检测样本中的分析物。

[0065] 疑似包含所关心的分析物的任意体液样本可与本系统或装置一起使用。通常利用的体液包括但不限于血液、血清、唾液、尿、胃液和消化液、泪液、粪便、精液、阴道分泌物、来自肿瘤组织的组织液、以及脑脊髓液。在某些实施方式中,体液在不经过进一步处理的情况下被直接提供到流体装置。然而,在某些实施方式中,体液可在利用本流体装置进行分析之前被预处理。预处理的选择将取决于所使用的体液类型和/或要研究的分析物的本质。例如,当分析物在体液样本中呈现低浓度时,样本可通过任意常规方法被浓缩以使分析物富集。当分析物是核酸时,它可根据Sambrook等人(“分子克隆:实验室指南(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)”)所陈述的程序利用各种裂解酶或化学溶液来提取,或按照制造商所提供的所附指令利用核酸结合树脂来提取。当分析物是细胞上或细胞内存在的分子时,可利用裂解剂进行提取,所述裂解剂包括但不限于:诸如SDS之类的变性洗涤剂,或诸如Thesit®、脱氧酸钠(sodium deoxylate)、triton X-100、和吐温(tween)-20之类的非变性洗涤剂。

[0066] 体液可按照多种方式从患者提取和带入流体装置,这些方式包括但不限于切缝、注射、或吸取等。在某些实施方式中,刺血针刺皮肤并利用例如重力、毛细管作用、抽吸、或真空力将样本吸取到流体装置中。在不需要主动机构的另一实施方式中,病人能简单地将体液提供给流体装置,例如在血液或唾液样本的情况下出现。所收集的流体可被放置在流体装置内的样本收集单元中,在此流体装置能自动地检测要在测定中使用的所需样本容

量。在又一实施方式中,流体装置包括刺穿皮肤的至少一个微针头。微针头可与流体装置单独使用,或可在流体装置被插入读数组件之后刺穿皮肤。在2006年3月24日提交的美国专利申请S/N 11/389,409中描述了可在本文中使用的样本收集技术,该专利通过引用整体结合在本文中。

[0067] 在某些实施方式中,可通过本文中描述的任一方法首先将体液样本提供给流体装置。然后可如图6所示将流体装置插入读数组件。在读数组件内收纳的标识检测器可检测流体装置的标识并将该标识传送给通信组件,优选该通信组件被收纳在读数组件内。然后通信组件将该标识发送给外部装置,该外部装置基于该标识将在流体装置上运行的协议发送给通信组件。优选在读数组件内收纳的控制器控制致动元件,该致动元件包括至少一个泵和一个阀门,所述泵和阀门与流体装置相互作用以控制和引导装置内的流体运动。在2006年3月24日提交的美国专利申请S/N 11/389,409中完整地描述了图6中所示的读数组件及其部件,该专利申请通过引用整体结合在本文中。

[0068] 优选最初利用校准组件对流体装置进行校准,具体的做法是使将在测定中使用的相同试剂运行通过校准反应位置,然后通过检测装置检测来自反应位置的光信号,接着该信号用于校准流体装置。在2006年3月24日提交的美国专利申请S/N 11/389,409中可以找到可在本文中的流体装置中使用的校准技术,该专利申请通过引用整体结合在本文中。包含分析物的样本被引入流体通道中。样本可被稀释、混合、和/或利用过滤器被进一步分离为血浆或其它所需组分。然后样本流过反应位置,而样本中存在的分析物将与结合在反应位置上的反应物结合。然后样本流体被冲出反应池到废料室中。根据所进行的测定,合适的试剂通过通道被引导通过反应位置以进行测定。在包括校准步骤的各个步骤中使用的任意清洗缓冲剂和其它试剂被收集在至少一个废料室中。然后通过本文中所描述的任何检测方法检测在反应位置产生的信号。

[0069] 在根据本发明的流体装置中可进行多种测定以检测样本中所关心的分析物。

[0070] 检测测定依赖于发光,具体而言是化学发光。在一个实施方式中,测定采用酶偶联物,包括例如与酶偶联的蛋白质。酶可与底物反应以产生发光信号。构想测定可以是直接测定或竞争性测定,其中未与分析物结合的反应物接触包含与酶偶联的分析物分子的试剂。此外,荧光化合物可配合地使用或与化学发光反应耦合,以将反应的信号输出线性放大。

[0071] 在图7所示的示例性两步测定中,包含分析物(“Ag”)的样本首先流过包含抗体(“Ab”)的反应位置。抗体与样本中存在的分析物结合。在样本通过表面之后,含有高浓度的与标记偶联的分析物(“标记的Ag”)的溶液流过表面上。偶联物使还未与分析物结合的任何抗体饱和。在达到平衡和预结合的未标记的分析物的任意替代出现之前,高浓度的偶联物溶液被冲洗掉。然后通过适当的技术测量与表面结合的偶联物量,测得的偶联物与样本中存在的分析物的量成反比例。

[0072] 用于两步测定的示例性测量技术是如图8所示的化学发光酶免疫测定。如本领域所公知,标记可以是诸如二氧杂环丁烷-磷酸盐(dioxetane-phosphate)之类的可商购的标记,它不是发光的但在通过例如碱性磷酸酶水解之后变得发光。诸如碱性磷酸酶之类的酶接触偶联物以引起底物发光。在某些实施方式中,可以为底物溶液补充增强剂,所述增强剂的例子包括但不限于混合胶束中的荧光素、可溶性聚合物、或PVC,它们能比单独的发光基团产生更亮的信号。只要干扰被减小足够的量,则对本发明的功能而言猝灭组件起作用而

减小干扰的机制不是关键的。

[0073] ELISA是另一种示例性的测定,对于它而言光猝灭剂可用来去除由反应物对反应位置产生的干扰信号。在典型的ELISA中,包含所关心的抗原的样本通过反应位置,样本中的所关心的分析物将由于被吸附到反应位置的抗体分子(涉及所述抗原)而结合至反应位置。接着,酶标记的抗体偶联物(涉及抗原而且被选择以使结合至反应位置的抗体不会阻挡偶联物的结合)通过反应位置上,允许结合然后被底物替代。酶使底物产生光信号。在废料室中结束的未结合试剂同样能产生干扰信号。

[0074] 在某些实施方式中,标记剂根据本领域公知的方法直接或间接地与待检测的分子如产物、底物、或酶偶联。如上所述,可以使用各种标记剂,标记剂的选择取决于需要的灵敏度、化合物偶联的容易程度、稳定性需要、可用的设备、以及处理规定。非辐射性标记剂通常通过间接手段被附着。一般而言,配体分子与聚合物共价结合。然后配体与本身可检测的反配体(anti-ligand)分子结合,或者与共价结合了信号体系如可检测酶或化学发光化合物的反配体分子结合。可使用多种配体和反配体。当配体具有天然的反配体时,例如生物素、甲状腺素、以及皮质醇,它可与标记的反配体一起使用。或者,任意的半抗原或抗原化合物可与抗体组合使用。

[0075] 在某些实施方式中,例如,标记剂还可通过与酶偶联而与信号发生化合物直接偶联。作为标记剂的所关心的酶主要是水解酶,具体是磷酸酶、酯酶、以及糖苷酶、或氧化还原酶,特别是过氧化物酶。化学发光的化合物包括诸如鲁米诺(luminol)、二氧杂环丁烷、以及吡啶鎓酯之类的荧光素和2,3-二氢酞嗪二酮。

[0076] 检测标记剂的方法对本领域普通技术人员是公知的。可利用诸如数字照相机、电荷耦合器件(CCD)或光电倍增管以及光电管、或其它检测设备之类电子检测器完成检测。类似地,可通过为酶提供适当的底物和检测所得的反应产物来检测酶标记剂。最后,通常可简单地通过观察与标记剂相关的颜色来检测简单的比色标记剂。例如,共轭金(conjugated gold)通常呈现出粉色,而各种共轭小粒呈现出小粒的颜色。

[0077] 合适的化学发光源包括通过化学反应被电子激发而且随后发射作为可检测信号的光的化合物。已经发现各种类型的化合物在各种条件下提供化学发光。一类化合物是2,3-二氢-1,4-酞嗪二酮。经常使用的化合物是鲁米诺,它是5-氨基化合物。该类的其它成员包括5-氨基-6,7,8-三甲氧基-和二甲基氨基[ca]苯类。可通过碱性过氧化氢或次氯酸钙以及碱使这些化合物发光。另一类化合物是2,4,5-三苯基咪唑类化合物,其中洛粉碱作为母体产物(parent product)的俗名。化学发光类似物包括对-二甲基氨基和-甲氧基取代物。化学发光还可在碱性条件下利用草酸盐实现,所述草酸盐通常是草酰活性酯,例如对-硝基苯基和诸如过氧化氢之类的过氧化物。还已知的其它有用的化学发光化合物包括-N-烷基吡啶鎓酯和二氧杂环丁烷。或者,荧光素可结合荧光素酶或光泽精一起使用以提供生物发光。

[0078] 在某些实施方式中,免疫测定在流体装置上进行。虽然本领域公知的竞争性结合测定可在某些实施例中进行,但在某些实施方式中使用两步方法,其可消除在将混合物接触抗体之前混合偶联物和样本的需要,这在样本的量非常少和使用了偶联物时是需要的,如同在本发明的流体装置中。当与本文中描述的流体装置一起使用时,两步测定具有超过竞争性结合测定的另外的优点。它结合了夹心(竞争性结合)免疫测定的易用性和高灵敏度

以及测定小分子的能力。

[0079] 已在本文中描述了图8中所述的示例性两步测定,其具有用于两步测定的示例性测量技术——如图8所示的化学发光酶免疫测定。

[0080] 根据本发明的术语“分析物”包括但不限于药物、前药、药用试剂、药物代谢物、诸如表达蛋白质和细胞标记之类的生物标记、抗体、血清蛋白、胆固醇、多聚糖、核酸、生物分析物、生物标记、基因、蛋白质、或激素、或其任意组合。在分子水平上,分析物可以是多肽、蛋白质、糖蛋白、多聚糖、脂质、核酸及其组合。

[0081] 在2006年3月24日提交的美国专利申请S/N 11/389,409中包括了可利用本文中所描述的流体装置和方法检测的分析物的更完整清单,该专利文献通过引用整体纳入本文中。

[0082] 本发明的一个方面是一种制造具有猝灭组件的流体装置的方法。该方法包括:提供流体装置的多个层;将所述层固定在一起以在样本收集单元、至少一个试剂室、至少一个反应位置、以及至少一个包括猝灭组件的废料室之间提供流体网络。

[0083] 在某些实施方式中,流体装置的不同层中的至少一个层可由聚合物基材构成。聚合物材料的非限制性例子包括聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚丙烯、聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚氨酯、聚氯乙烯(PVC)、聚甲基丙烯酸甲酯以及聚砜。

[0084] 可通过本领域公知的任意微制造技术实现流体通道的制造。例如,可在利用诸如光刻刻蚀、等离子体刻蚀或湿法刻蚀之类的半导体制造工业中公知的方法制造例如玻璃、石英、或硅基材中任选地采用光刻技术。或者,可任选地采用诸如激光钻孔、微研磨等等之类的微加工方法。同样,对于聚合物基材,还可使用公知的制造技术。这些技术包括:注塑;压印模制和压花方法,其中利用例如滚动模具任选地制造大量的基材以制造大量的微尺寸基材薄板;或聚合物微铸造技术,其中基材在微加工的模具内聚合。还可使用染料铸造。

[0085] 在优选实施方式中,流体装置的不同层根据本领域已知的方法通过超声波焊接在一起。这些层还可利用其它方法连接在一起,这些方法包括但不限于压印、热接合、粘合,或在例如玻璃、或半刚性和非刚性聚合基材的特定基材情况下利用两种成分之间的天然粘附力结合在一起。

[0086] 图5示出本发明的一个实施方式,其中流体装置2由多个不同材料层组成。例如,所示部件在聚合基材中切割而成,以使这些层在组装时适当定位而形成流体网络。在某些实施方式中,更多或更少层可用来构造实现本发明目的的流体装置。

[0087] 猝灭组件已在本文中进行了描述且在某些实施方式中可包括吸收材料。在这样的实施方式中,可通过将猝灭剂应用到吸收材料中来制造猝灭组件。这可通过本领域公知的任何技术来实现,诸如将液体移液到吸收材料上直到猝灭剂基本嵌入吸收材料中,或简单地使吸收材料吸收猝灭剂。吸收材料的饱和量可不同,只要足够量的猝灭剂被包含到吸收材料中以对至少一种测定试剂产生抑制效果。

[0088] 在猝灭剂被添加到吸收材料之后,使吸收材料干燥。干燥步骤可通过任何合适的技术进行,例如冷冻干燥、通过温度升高的流动气体的干燥、或简单地通过使吸收材料中的水蒸发的被动干燥。

[0089] 包含猝灭剂的吸收材料一旦干燥,便可如上所述地在制造过程期间被放置到流体装置中,在那里它可用来减少在流体装置内进行的测定中的光干扰。在流体装置内的放置

可以是任一已知技术,而且可以简单地手动放置到流体装置中。如上所述,优选吸收材料被放置在废料室中适于收集在流体装置内使用的未结合的液体。

[0090] 实施例

[0091] 1×0.5英寸的Whatman#32玻璃纤维垫(物品10 372 968)用50uL的15%w/v 4-氨基-1,1-偶氮苯-3,4-二磺酸(0.4M)的水溶液浸渍并在“干燥箱”中干燥。

[0092] 在利用碱性磷酸酶(来自牛肠)标记的试剂(在稀释的三羟甲基氨基甲烷(tris)缓冲液中浓度高达约10ug/mL的与半抗原或抗体偶联的AP酶)和如零售商所提供的Lumigen's Lumiphos™ 530或KPL Phosphoglow™ AP底物(两者均为二氧杂环丁烷且具有酶作用的酯化磷酸盐残基)(二氧杂环丁烷中的100uM)的测定中,其结果是废料室中约200uL的酶和200uL的底物,因此暴露给吸收材料。

[0093] 在38,550次计数/秒(通过将流体装置放置在Molecular Devices M5光度计中以使废料室被访问)的初始发光率之后,在添加吸收材料之后,强度在几秒内降低至约100次计数/秒(光度计的噪声水平为约100次计数/秒)。换言之,超过99%的光干扰被消除。

[0094] 偶氮苯以抑制方式作用在酶和底物上。酶通过试剂的酸度以及类似的其它机制失活。底物通过偶氮苯化学改性以使其不再是碱性磷酸酶的底物。

[0095] 虽然在本文中已经示出和描述了本发明的优选实施方式,但对本领域普通技术人员显而易见的是,这样的实施方式仅仅是作为示例而提供。本领域普通技术人员能想到不背离本发明的各种变化、改变、以及替换。应当理解在本文中描述的本发明各实施方式的各种替代方案可在实施本发明时采用。所附权利要求旨在限定本发明的范围,而且覆盖在这些权利要求的范围内的方法和结构及其等价物。

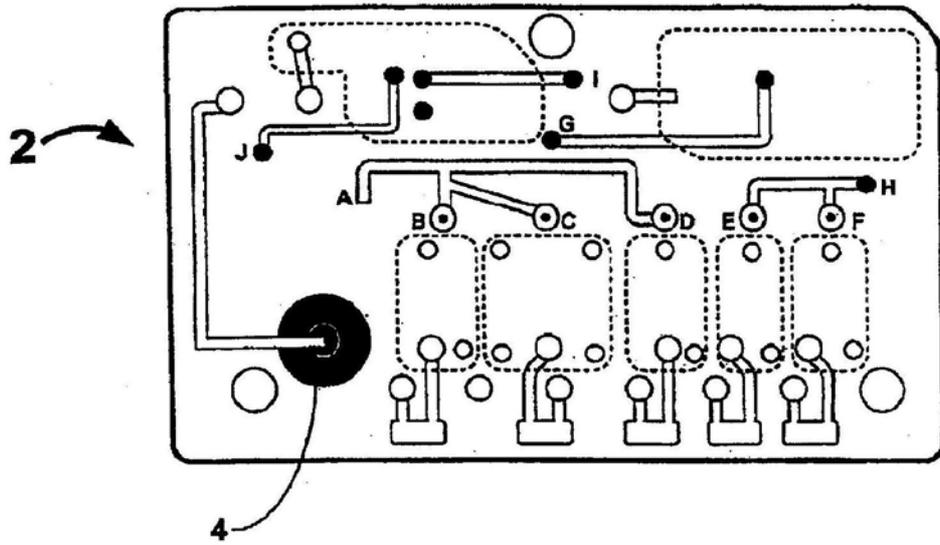


图1

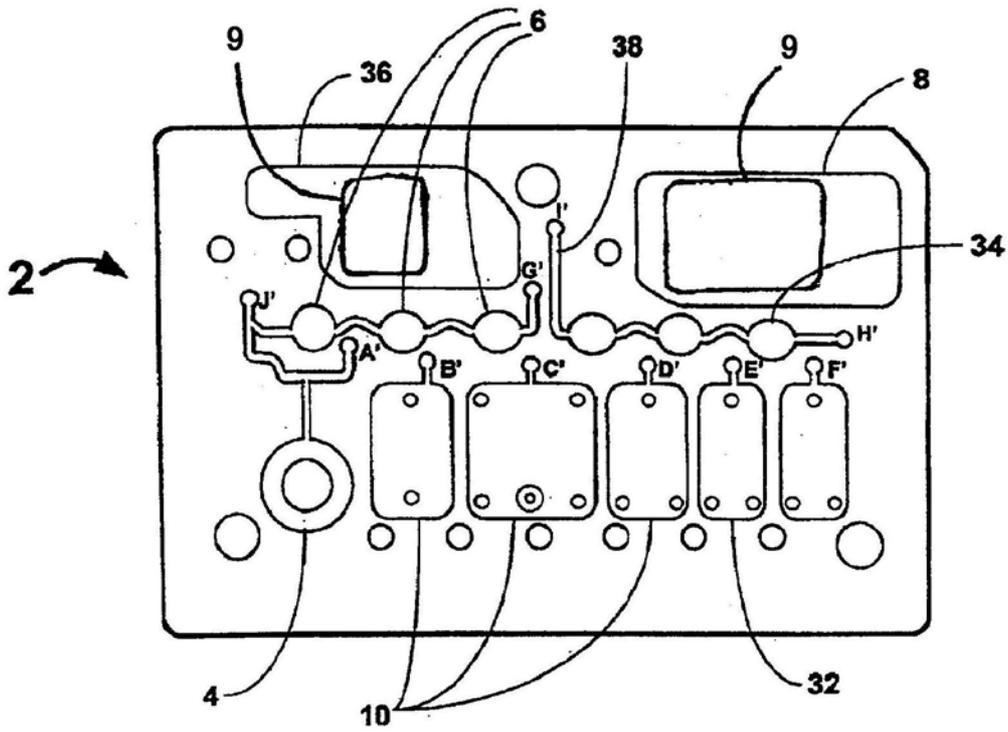


图2

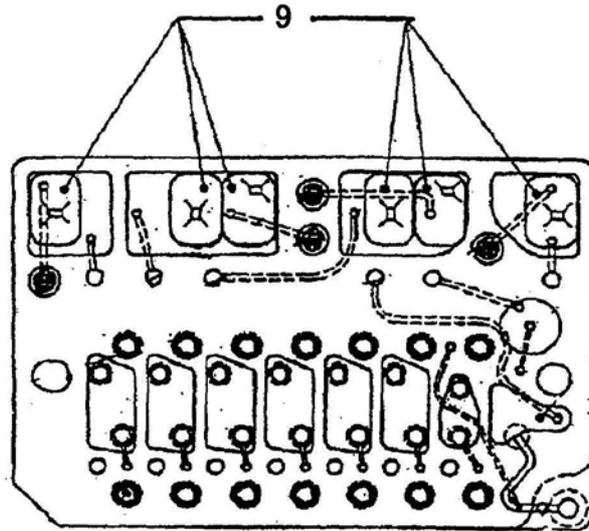


图3

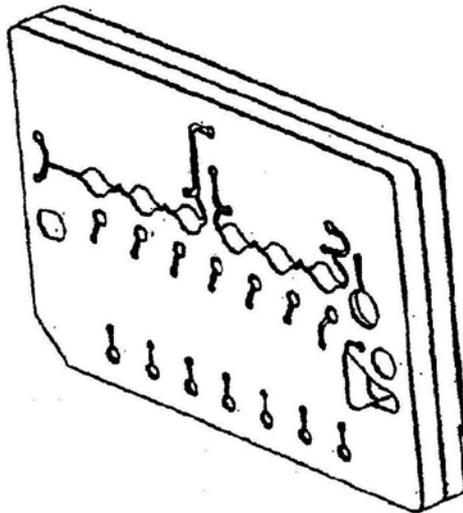


图4

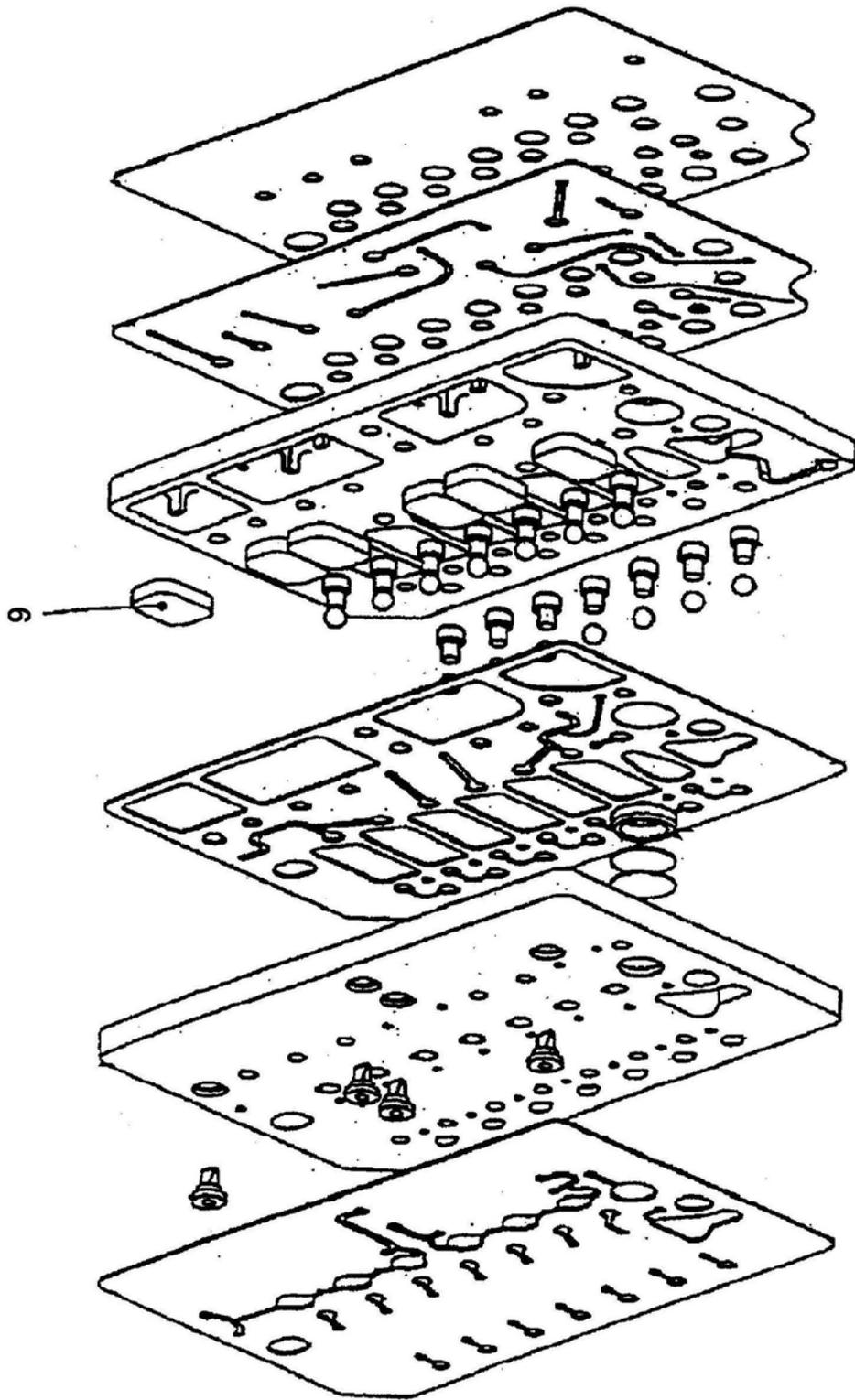


图5

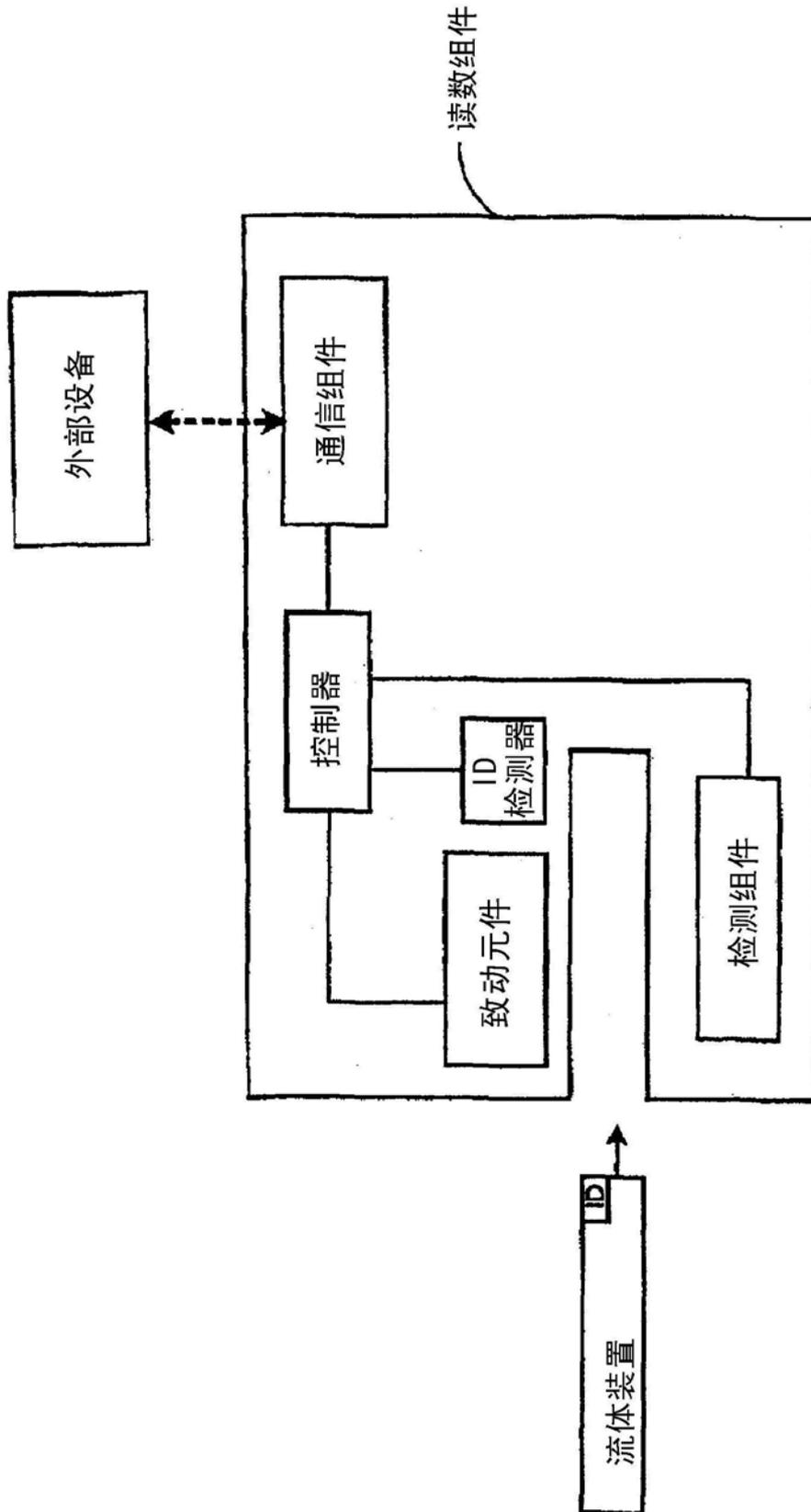


图6

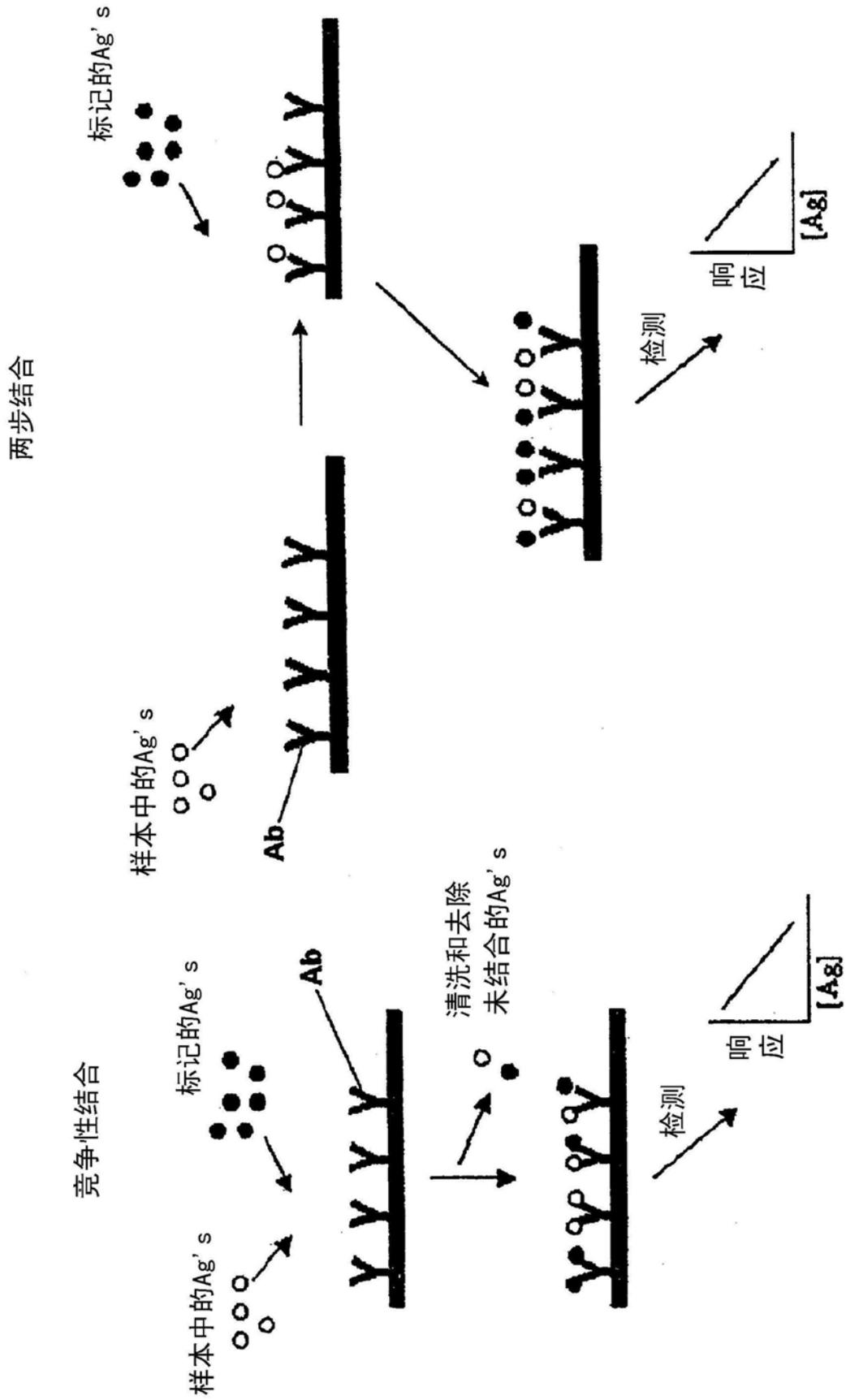


图7

化学发光酶免疫测定

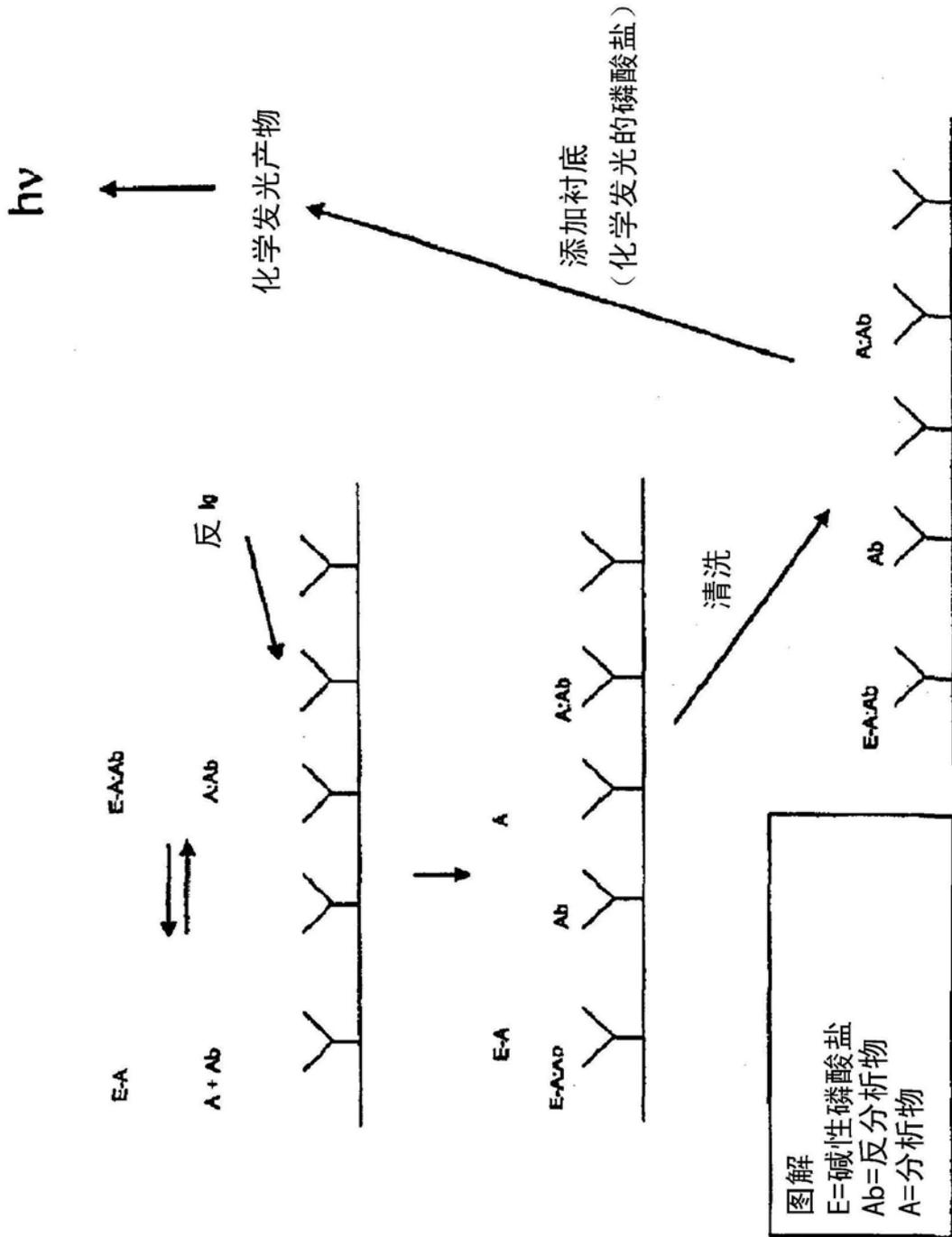


图8