



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104619418 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 13

(21) 申请号 201380046764. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 07. 17

B01L 3/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 33/543(2006. 01)

61/673, 156 2012. 07. 18 US

G01N 33/558(2006. 01)

13/802, 036 2013. 03. 13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 03. 09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/050952 2013. 07. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/015076 EN 2014. 01. 23

(71) 申请人 SYMBOLICS 有限责任公司

地址 美国加利福尼亚州尔湾市

(72) 发明人 布伦丹·奥法雷尔

托马斯·C·蒂森

(74) 专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理

有限公司 11129

代理人 吴泳历

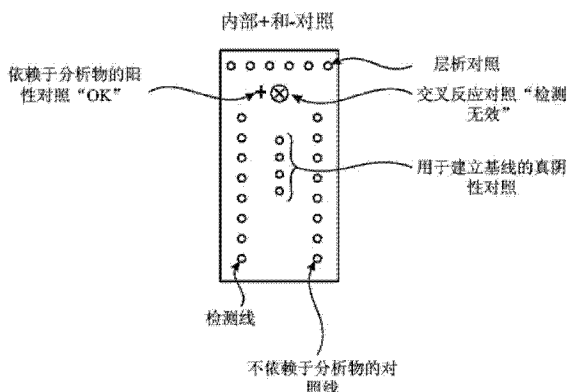
权利要求书2页 说明书25页 附图4页

(54) 发明名称

运用二维特征的侧向层析检测

(57) 摘要

本发明涉及运用二维特征, 优选均一的二维检测和对照特征的新型侧向层析装置, 提供层析对照信息、作为内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。本发明还涉及利用所述侧向层析装置提供层析对照信息、作为内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息的方法。



1. 一种检测装置,所述装置包括基质上的多个试剂点,其中至少两个所述试剂点不重叠且彼此充分间隔,以便当液体沿着所述基质侧向层析时,朝向、经过和 / 或围绕所述两个试剂点中一个的所述液体的流动基本上不影响朝向、经过和 / 或围绕所述另一个试剂点的所述液体样品的流动,所述两个试剂点中的每一个既不是在垂直于所述液体层析方向的方向上横跨所述基质整个宽度的试剂线,也不是环绕所述检测装置的中心或样品 / 液体施加位点的试剂线组成的完整的圆,并且在液体沿所述检测装置侧向层析并通过所述至少两个试剂点后,在所述至少两个试剂点处形成检测信号,从而提供层析对照信息,作为内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。

2. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,为所述检测装置提供层析对照信息。

3. 根据权利要求 3 所述的检测装置,所述层析对照信息允许在所述检测装置内为检测结果中的波动内部校准,所述波动由侧向穿过所述层析区域的表面和 / 或沿着所述层析区域的长度的流速或层析模式的变化造成。

4. 根据权利要求 1 所述的检测装置,所述检测装置进一步包括用于指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点。

5. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和 / 或相对于所述液体层析方向成预定角度的线。

6. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点中的一个或多个点上形成所述检测信号,作为所述检测装置的内部对照。

7. 根据权利要求 6 所述的检测装置,其中在单个试剂点上形成所述检测信号,作为所述检测装置的内部对照。

8. 根据权利要求 6 所述的检测装置,其中在多个试剂点上形成所述检测信号,作为所述检测装置的内部对照。

9. 根据权利要求 6 所述的检测装置,其中所述内部对照是用于交叉反应或干扰物质的内部对照、内部阳性对照和 / 或内部阴性对照。

10. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,为所述检测装置提供内部校准信息。

11. 根据权利要求 10 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处所述检测信号的形成不依赖于液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量。

12. 根据权利要求 10 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包含与所述分析物的标记结合试剂结合的试剂,优选与所述分析物的标记结合试剂特异性结合的试剂。

13. 根据权利要求 10 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,为所需的分析物检测范围提供内部校准信息。

14. 根据权利要求 10 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和 / 或相对于所述液体层析方向呈预定角度的线。

15. 根据权利要求 10 所述的检测装置,其中所述检测装置不包括指示液体样品中分析

物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点,并且在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,为所述检测装置提供内部校准信息。

16. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其中所述检测装置不包括指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点,并且所述至少两个试剂点包括用于产生相对于彼此的特定信号强度或不同水平的绝对信号强度的信号的结合试剂

17. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其中形成所述检测信号,从而提供层析对照信息、作为内部对照并为所述检测装置提供内部校准信息

18. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其中所述基质的一部分,在所述至少两个试剂点的上游,包含干燥的标记试剂,所述标记试剂能够被液体或液体样品迁移至所述至少两个试剂点和 / 或检测位点处,从而产生检测信号。

19. 一种方法,所述方法包括:

a) 用权利要求 1 所述的检测装置接触液体,其中将所述液体施加到位于所述至少两个试剂点上游的所述检测装置的位点;

b) 向所述至少两个试剂点输送标记试剂;并

c) 在所述至少两个试剂点上估测由所述标记试剂产生的信号的出现、不出现、量和 / 或图案,从而提供层析对照信息、作为内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。

20. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述液体和所述标记试剂被预先混合形成混合物,将所述混合物施加至所述检测装置。

21. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述检测装置包含使用前干燥的标记试剂并且所述干燥的标记试剂被溶解或重新悬浮,并通过所述液体运送至所述至少两个试剂点。

22. 根据权利要求 19 所述的方法,其中在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,提供或发挥下述功能中的至少两项:

1) 提供层析对照信息;

2) 作为内部对照;以及

3) 为所述检测装置提供内部校准信息

23. 根据权利要求 19 所述的方法,所述方法进一步包括在液体样品中检测分析物。

运用二维特征的侧向层析检测

I. 相关申请的交叉引用

[0001] 本申请请求了 2012 年 7 月 18 日提交的名称为“运用二维特征的侧向层析检测”的美国临时申请 61/673, 156 和 2013 年 3 月 13 日提交的名称为“运用二维特征的侧向层析检测”的美国发明专利申请 13/802, 036 的优先权。通过引用将上述申请的内容全部并入本文。

II. 技术领域

[0002] 本发明涉及运用二维特征, 优选均一的二维检测和对照特征的新型侧向层析装置, 提供层析对照信息、充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。本发明还涉及利用所述侧向层析装置提供层析对照信息、充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息的方法。

III. 本发明的背景技术

[0003] 侧向层析检测已经被开发并被用于各种用途。有必要使侧向层析检测具有改善的或更完整的对照和 / 或校准特征。本发明解决了这个必要以及现有技术中的相关需求。

IV. 本发明的公开内容

[0004] 一方面, 本发明的公开内容提供了一种检测装置, 所述装置包含基质上的多个试剂点, 其中至少两个所述试剂点不重叠且彼此充分间隔, 以便当液体沿着所述基质侧向层析时, 朝向、经过和 / 或围绕所述两个试剂点中一个的所述液体的流动基本上不影响朝向、经过和 / 或围绕所述另一个试剂点的所述液体样品的流动, 所述两个试剂点中的每一个既不是在垂直于所述液体层析方向的方向上横跨所述基质整个宽度的试剂线, 也不是环绕所述检测装置的中心或样品 / 液体施加位点的试剂线组成的完整的圆, 并且在液体沿所述检测装置侧向层析并通过所述至少两个试剂点后, 在所述至少两个试剂点上形成检测信号从而提供层析对照信息, 充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。

[0005] 另一方面, 本发明的公开内容提供了一种方法, 所述方法包含: a) 用上述检测装置接触液体, 其中将所述液体施加到位于所述至少两个试剂点上游的所述检测装置的位点; b) 向所述至少两个试剂点输送标记试剂; 和 c) 在所述至少两个试剂点上估测由所述标记试剂产生的信号的出现、不出现、量和 / 或图案, 从而提供层析对照信息, 充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。

[0006] 在一些实施例中, 本检测装置可以进一步包含指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点, 并且可将本方法用于进一步指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量。任何适合的设计或装置, 包括在 2011 年 1 月 18 日提交的美国临时申请 61/461, 499, 2012 年 1 月 4 日提交的美国专利申请 13/343, 681, 和 2012 年 1 月 17 日提交的国际专利申请 PCT/US2012/021586 中公开和 / 或请求保护的设计或装置, 可以与本设计或装置组合形成用于提供层析对照信息、充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息的装置, 并用来指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量。同样, 本方法也可以与在 2011 年 1 月 18 日提交的美国临时申请 61/461, 499, 2012 年 1 月 4 日提交的美

国专利申请 13/343,681 和 2012 年 1 月 17 日提交的国际专利申请 PCT/US2012/021586 中公开和 / 或请求保护的方法结合, 来提供层析对照信息, 内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息, 用于指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量。

[0007] 本检测装置和方法的原理可被应用或适用于现有技术中公知的侧向层析检测装置和分析。例如, 本检测装置和方法的原理可被应用或适用于美国专利 3,641,235, 3,959,078, 3,966,897, 4,094,647, 4,168,146, 4,299,916, 4,347,312, 4,366,241, 4,391,904, 4,425,438, 4,517,288, 4,960,691, 5,141,875, 4,857,453, 5,073,484, 4,695,554, 4,703,017, 4,743,560, 5,075,078, 5,591,645, 5,656,448, RE 38,430E, 5,602,040, 6,017,767, 6,319,676, 6,352,862, 6,485,982, 5,120,643, 4,956,302, RE 39,664E, 5,252,496, 5,514,602, 7,238,538B2, 7,175,992B2, 6,770,487B2, 5,712,170, 5,275,785, 5,504,013, 6,156,271, 6,187,269, 6,399,398, 7,317,532, EP 0,149,168A1, EP 0,323,605A1, EP 0,250,137A2, GB 1,526,708 和 W099/40438 中公开和 / 或请求保护的侧向层析检测装置和分析。

V. 附图说明

[0008] 图 1A、1B 和 1C 示出了运用层析对照特征的一些示例性检测。如图 1A、1B 和 1C 所示, 沿着、横跨和 / 或位于层析区域的依赖于分析物的对照特征能说明该区域内检测性能的机械的变化。在一些实施例中, 结合的特征也可以是依赖于分析物的对照特征。在两个示例中, 可以在实际检测运行时设置或绘制所述对照特征, 并且可以在检测的读数时间评估所述对照特征的信号。或者, 也可以使用动力学测量。

[0009] 图 2 示出了运用预期的阳性或阴性对照特征的示例性检测。如该图所示, 所述示例性检测包括真阴性对照特征、用于交叉反应的对照特征、和依赖于分析物的阳性对照特征。

[0010] 图 3A-1 和 3A-2 示出了运用依赖于分析物的校准特征的若干示例性检测。所述校准特征可用于读数器校准。所述校准特征可以是顶部示例 (图 3A-1) 所示的相对完整的曲线, 或是底部示例 (图 3A-2) 所示的已知结合特性的相对简单的特征。

[0011] 图 3B-1 和 3B-2 示出了运用依赖于分析物的校准特征的若干示例性检测。顶部示例 (图 3B-1) 示出了依赖于分析物的校准曲线, 其中可以使用过量的分析物进行层析, 并且信号强度可以通过增加校准曲线中的结合试剂的浓度来调整。底部示例 (图 3B-2) 示出了包括恒定水平的结合试剂的依赖于分析物的校准曲线。采用不同水平的结合试剂, 分析物可在多个装置上层析, 从而在所述检测装置的整个所需范围建立不同的结合模式。

VI. 本发明的详细描述

A. 定义

[0012] 除非另有定义, 本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域普通技术人员通常理解的涵义相同的涵义。本文涉及的所有专利、专利申请 (公布的或未公布的), 和其它出版物通过引用将其全部内容并入本文。如果列于本部分中的定义与通过引用并入本文的所述专利、申请、公布的申请和其它出版物中记载的定义相反或不一致, 以本部分列出的定义为准。

[0013] 如本文所用, “a” 或 “an” 意思是 “至少一个” 或 “一个或多个”。

[0014] 如本文所用, “与液体层析方向基本平行的线” 意思是所述线和液体层析方向之间

的角度至少小于 45 度或大于 135 度。在一些具体的实施例中,所述线和液体层析方向之间的角度大约是 40、35、30、25、20、15、10、5、4、3、2 或 1 度,或者所述线完全平行于液体层析方向。在其它的具体实施例中,所述线和液体层析方向之间的角度大约是 140、145、150、155、160、165、170、175、176、177、178 或 179 度,或者所述线完全平行于液体层析方向。

[0015] 如本文所用,“线与液体层析方向基本垂直”意思是所述线和液体层析方向之间的角度至少大于 45 度或小于 135 度。在一些具体的实施例中,所述线和液体层析方向之间的角度大约是 50、55、60、65、70、75、80、85、86、87、88 或 89 度,或者所述线完全垂直于液体层析方向。在其它的具体实施例中,所述线和液体层析方向之间的角度大约是 130、125、120、115、110、105、100、95、94、93、92 或 91 度,或者所述线完全垂直于液体层析方向。

[0016] 如本文所用,“试剂点具有基本相同的尺寸或直径”意思是最大斑点和最小斑点之间尺寸或直径的差额不多于一倍或小于试剂点的尺寸或直径的平均值或中间值的 50%。在一些具体的实施例中,最大斑点和最小斑点之间尺寸或直径的差额在试剂点的尺寸或直径的平均值或中间值的 45%、40%、30%、20%、10%、5% 或 1% 的范围内。在其它的具体的实施例中,试剂点具有相同的尺寸或直径。

[0017] 如本文所用,“试剂点之间的距离基本相同”意思是试剂点之间或之内,通常相邻的试剂点之间或之内的距离,在试剂点或相邻试剂点之间或之内的平均或中值距离的 50% 的范围内变化。在一些具体的实施例中,试剂点或相邻的试剂点之间或之内的距离在试剂点或相邻的试剂点之间或之内的平均或中值距离的 45%、40%、30%、20%、10%、5% 或 1% 的范围内变化。在其它的具体实施例中,试剂点之间或之内的距离是相等的。这样的间隔或距离可以通过任何合适的方法测量。在一些具体的实施例中,测量试剂点或相邻试剂点的边缘之间或之内的间隔或距离作为试剂点之间或之内的间隔或距离。在其它的具体实施例中,测量试剂点或相邻试剂点的中心或有效中心之间或之内的间隔或距离作为试剂点之间或之内的间隔或距离。

[0018] 如本文所用,“结合试剂”指,任何以期望的亲亲和性 / 或特异性结合靶标或分析物的物质。结合试剂的非限制性示例包括细胞、细胞器、病毒、颗粒、微粒、分子,或其聚合物或复合物,或分子的聚合物或复合物。典型的结合试剂可以是氨基酸、肽、蛋白,例如,抗体或受体、核苷、核苷酸、寡核苷酸、核酸,例如 DNA 或 RNA、维生素、单糖、寡糖、碳水化合物、脂质、适体及其复合物。

[0019] 如本文所用,“抗体”不仅包括完整的多克隆或单克隆抗体,还包括其片段(例如 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链(ScFv)、双特异抗体、由抗体片段形成的复合特异性抗体、其突变体、包含抗体部分的融合蛋白,以及包含所需特异性抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其它修饰结构。抗体包括任何种类的抗体,例如 IgG、IgA 或 IgM(或其亚类),并且所述抗体不必是任何特定种类。

[0020] 如本文所用,“单克隆抗体”指,从基本同源的抗体群中获得的抗体,即,包含所述抗体群的所述抗体是相同的,除了少量存在的可能自发产生的突变外。如本文所用,“单克隆抗体”进一步指的是单克隆抗体的功能片段。

[0021] 如本文所用,术语“特异性结合”指,结合试剂,例如抗体,的特异性,因此它优选地与特定的分析物或靶标结合。在其它潜在靶标或干扰物质存在的情况下,结合试剂或抗体对特定分析物或靶标的识别是这种结合的一个特征。在一些实施例中,特异性结合分析物

或靶标的结合试剂避免结合待测样品中其它干扰部分或组成部分。

[0022] 本文使用的术语“避免结合”指的是特定结合试剂,例如抗体或抗体片段,的特异性。避免结合于特定组成部分的结合试剂、抗体或抗体片段通常包含特异性,因此,很大比例的特定组成部分不会被这样的结合试剂、抗体或抗体片段结合。该比例通常处于利用定向检测特定靶标的结合试剂或抗体的检测中与干扰部分的可接受的交叉反应率的范围内。通常,本发明公开的所述结合试剂、抗体或抗体片段避免结合约 90% 以上的干扰部分,但是,显然考虑和首选更高比例。例如,本发明公开的结合试剂、抗体或抗体片段避免结合约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99%,以及约 99% 或更多的干扰部分。偶尔,本发明公开的结合试剂、抗体或抗体片段避免结合高于约 70%,或高于约 75%,或高于约 80%,或高于约 85% 的干扰部分。

[0023] 如本文所用,“哺乳动物”指任何哺乳动物类物种。这里使用的术语“哺乳动物”通常指人、人类受试者或人类患者。

[0024] 如本文所用,术语“受试者”不局限于具体物种或样品类型。例如,术语“受试者”可以指患者,并且通常是人类患者。然而,这个术语不局限于人类,因此包括多种哺乳动物物种。

[0025] 如本文所用,术语“样品”指,可能包含需要分析物检测的分析物的任何物质。所述样品可以是生物样品,例如生物液体或生物组织。生物液体的实施例包括尿、血液、细胞质、血清、唾液、精液、粪便、痰、脑脊髓液、泪液、粘液、羊水或类似物。生物组织是细胞的聚合体,通常是与它们的细胞间质一起形成人类、动物、植物、细菌、真菌或病毒结构的结构材料之一的特定种类的细胞的聚合体,包括结缔组织、上皮组织、肌肉组织和神经组织。生物组织的实施例还包括器官、肿瘤、淋巴结、动脉和单个细胞。

[0026] 如本文所用,核酸杂交反应的“严格性”是容易被本领域普通技术人员确定的,并且通常是取决于探针长度、洗涤温度和盐浓度的经验计算。一般而言,更长的探针要求的合适的退火温度更高,而更短的探针需要的温度更低。当互补链存在于低于它们解链温度的环境中时,杂交通常取决于变性核酸序列的再退火的能力。探针和杂交序列之间所需的同源性程度越高,可以使用的相对温度也越高。因此,越高的相对温度将使反应条件更加严格,而越低的相对温度则相反。更多关于杂交反应严格性的描述和解释,参见《分子生物学实验指南》Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., Wiley Interscience Publishers, 1995);《分子克隆实验指南》Molecular Cloning: A Laboratory Manual (J. Sambrook, E. Fritsch, T. Maniatis eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1989); Wood et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 1585-1588 (1985)。

[0027] 本文所用的术语“分离的”指的是从其原始环境中除去材料,并且改变了其天然状态。例如,分离的多肽可以与载体偶联,并且仍然是“分离的”,因为该多肽不在其原始环境中。

[0028] 如本文所用,“测试物(或候选化合物)”指,化学上定义的化合物(例如,有机分子、无机分子、有机/无机分子、蛋白、肽、核酸、寡核苷酸、脂类、多糖、糖类,或这些分子的混合物如糖蛋白等)或化合物的混合物(例如,测试化合物库、天然提取物或培养上清液等),其对靶标的作用通过本文公开和/或请求保护的方法确定。

[0029] 如本文所用,高通量筛选 (HTS) 指的是测试大量样品,例如具有多种对抗疾病

靶标的化学结构的样品,从而鉴定出“符合者”的程序(参见,例如 Broach, et al., High throughput screening for drug discovery, Nature, 384:14-16 (1996); Janzen, et al., High throughput screening as a discovery tool in the pharmaceutical industry, Lab Robotics Automation:8261-265 (1996); Fernandes, P. B., Letter from the society president, J. Biomol. Screening, 2:1 (1997); Burbaum, et al., New technologies for high-throughput screening, Curr. Opin. Chem. Biol., 1:72-78 (1997))。HTS 操作是高度自动化和计算机化地进行样品制备、试验程序及后续大量数据处理。

[0030] 如本文所用,“植物”指的是植物界能进行光合作用的各种真核多细胞生物中的任何一种,其特征是产生种胚、包含叶绿体、具有纤维素细胞壁及无法移动。

[0031] 如本文所用,“动物”指的是动物界多细胞生物,特点是具有运动能力、非光合作用的新陈代谢、明显的应激反应、有限的生长和固定的身体结构。动物的非限制性示例包括鸟类例如鸡、脊椎动物例如鱼和哺乳动物如小鼠、大鼠、兔、猫、狗、猪、奶牛、公牛、绵羊、山羊、马、猴子和其它非人类灵长类动物。

[0032] 如本文所用,“细菌”指,具有无分隔的环状 DNA 及约 70S 的核糖体的小原核生物(线性尺寸约 1 微米)。细菌蛋白合成不同于真核生物的蛋白合成。许多抗细菌的抗菌素干扰细菌蛋白合成而不影响感染的寄主。

[0033] 如本文所用,“真细菌”指,除古细菌外的细菌的主要分支。大部分革兰氏阳性细菌、蓝细菌、支原体、肠杆菌、假单胞菌及叶绿体是真细菌。真细菌的细胞质膜包含酯连接的脂质;在细胞壁(如果有)中含有肽聚糖;并且真细菌中没有发现内含子。

[0034] 如本文所用,“古细菌”指的是除真细菌外细菌的主要分支。古细菌有三个主要类别:极端嗜盐菌、产甲烷古菌和硫依赖型极端嗜热菌。古细菌在核糖体结构、(某些情况)具有内含子以及其它包含膜成分在内的特征上不同于真细菌。

[0035] 如本文所用,“病毒”指,活的,但非细胞性质的,由 DNA 或 RNA 和蛋白包被组成的专性胞内寄生物。病毒直径在约 20nm 至约 30nm 的范围内。I 类病毒(巴尔的摩分类)具有双链 DNA 作为它们的基因组;II 类病毒具有单链 DNA 作为它们的基因组;III 类病毒具有双链 RNA 作为它们的基因组;IV 类病毒具有正义单链 RNA 作为它们的基因组,所述基因组本身起 mRNA 的作用;V 类病毒具有作为 mRNA 合成模板的反义单链 RNA 作为它们的基因组;以及 VI 类病毒具有正义单链 RNA 基因组,但在复制和 mRNA 合成过程中都具有 DNA 中间体。多数病毒通过它们在植物、动物和原核生物中引起的疾病得到识别。原核生物的病毒叫做噬菌体。

[0036] 如本文所用,“真菌”指,不规则聚集生长的,无根、茎或叶,并且缺乏叶绿素或其它能进行光合作用的色素的真核生物的分支。每种生物(叶状体)从单细胞的到细丝状的,并具有被含葡聚糖和/或壳质的细胞壁包围的分支体结构(菌丝),且含有真正的细胞核。

B. 运用二维特征的侧向层析装置

[0037] 一方面,本发明的公开内容提供了一种检测装置,所述装置包含基质上的多个试剂点,其中至少两个所述试剂点不重叠且彼此充分间隔,以便当液体沿着所述基质侧向层析时,朝向、经过和/或围绕所述两个试剂点中一个的所述液体的流动基本上不影响朝向、经过和/或围绕所述另一个试剂点的所述液体样品的流动,所述两个试剂点中的每一个既不是在垂直于所述液体层析方向的方向上横跨所述基质整个宽度的试剂线,也不是环绕所

述检测装置的中心或样品 / 液体施加位点的试剂线组成的完整的圆,并且在液体沿所述检测装置侧向层析并通过所述至少两个试剂点后,在所述至少两个试剂点上形成检测信号,从而提供层析对照信息,充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。

[0038] 在一些实施例中,所述检测信号在所述至少两个试剂点上形成,为所述检测装置提供层析对照信息。本装置可被用于提供任何适当的层析对照信息。例如,所述层析对照信息可以允许在所述检测装置内为检测结果的不稳定内部校准,所述不稳定是由于侧向穿过所述层析区域的表面和 / 或沿着所述层析区域的长度的流速或层析模式的变化造成的。

[0039] 在一些实施例中,本检测装置可以进一步包含指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点。任何适合的设计或装置,包括在 2011 年 1 月 18 日提交的美国临时申请 61/461,499,2012 年 1 月 4 日提交的美国专利申请 13/343,681,和 2012 年 1 月 17 日提交的国际专利申请 PCT/US2012/021586 中公开和 / 或请求保护的设计或装置,可以与本设计或装置组合形成用于提供层析对照信息、充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息的装置,并用来指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量。

[0040] 在一些实施例中,本检测装置可以进一步包括基质上的多个试剂点,其中至少两个所述试剂点不重叠且彼此充分间隔,以便当所述液体样品沿着所述基质侧向层析时,朝向、经过和 / 或围绕所述两个试剂点中的一个的所述液体样品的流动基本上不影响朝向、经过和 / 或围绕所述其它试剂点的所述液体样品的流动,所述两个试剂点中的每一个既不是在垂直于所述液体层析方向的方向上横跨所述基质整个宽度的试剂线,也不是环绕所述检测装置的中心或样品 / 液体施加位点的试剂线组成的完整的圆,并且在液体样品沿所述检测装置侧向层析并通过所述至少两个试剂点后,所述至少两个试剂点形成预定图案指示所述液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量。

[0041] 在所述至少两个试剂点上的检测信号能以任何适当的方式形成。例如,在所述至少两个试剂点上检测信号的形成不依赖于液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量。在一些实施例中,所述至少两个试剂点中的每一个可以包括与用于所述分析物的标记结合试剂相结合的试剂,并且可以用所述试剂点在所述至少两个试剂点上不依赖液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量地形成检测信号。在其它实施例中,所述至少两个试剂点中每一个上的试剂可以包括分析物或分析物类似物,并且可用所述分析物或分析物类似物在所述至少两个试剂点上不依赖液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量地形成检测信号。

[0042] 在另一个实施例中,在所述至少两个试剂点上形成检测信号可以取决于液体样品中所述分析物或非分析物物质的存在、不存在和 / 或量。在一些实施例中,所述至少两个试剂点中的每一个可以包括与所述分析物结合的试剂,并且可用所述试剂在依赖于液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的试剂点上形成检测信号。在其它实施例中,所述至少两个试剂点中的每一个可以包括与所述非分析物物质结合的试剂,且可用所述试剂在依赖于液体样品中所述非分析物物质的存在、不存在和 / 或量的试剂点上形成检测信号。

[0043] 所述试剂点能形成任何适当的图案提供层析对照信息,充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。在一些实施例中,所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和 / 或与所述液体层析方向呈预定角度的线。

[0044] 在一些实施例中,所述至少两个试剂点中的每一个包括相同或不同的试剂。在其它实施例中,所述至少两个试剂点中的每一个包括等量的所述试剂。仍然在其它实施例中,所述至少两个试剂点包括不同量的所述试剂。

[0045] 在一些实施例中,在所述至少两个试剂点中的一个或多个上形成所述检测信号作为所述检测装置的内部对照。例如,在单个试剂点上可以形成所述检测信号作为所述检测装置的内部对照。在另一个实施例中,在多个试剂点上可以形成所述检测信号作为所述检测装置的内部对照。

[0046] 在所述至少两个试剂点中的一个或多个上可以形成所述检测信号作为任何适当类型的内部对照。在一些实施例中,所述内部对照可以是交叉反应或干扰物质的内部对照、内部阳性对照、和 / 或内部阴性对照。在其它实施例中,所述内部对照可以是交叉反应或干扰物质的内部对照。

[0047] 可用任何适当的试剂作为交叉反应或干扰物质的内部对照。在一些实施例中,作为交叉反应或干扰物质的所述内部对照的所述试剂点包括与检测样品中已知或可能存在的分析物类似物或干扰物质结合的试剂。

[0048] 所述检测信号可以形成指示检测样品中交叉反应或干扰物质的存在和 / 或量的预定图案。在一些实施例中,多个所述试剂点作为交叉反应或干扰物质的所述内部对照。在其它实施例中,单个试剂点作为交叉反应或干扰物质的所述内部对照。

[0049] 在一些实施例中,所述内部对照是内部阳性对照。可以以任何适当的方式在所述至少两个试剂点上形成所述检测信号。例如,所述试剂点上所述检测信号的形成可以取决于液体样品中所述分析物和 / 或非分析物物质的存在和 / 或量。可以用任何适当的试剂作为所述内部阳性对照。例如,作为所述内部阳性对照的所述试剂点可以包括与分析物或非分析物物质结合的试剂。

[0050] 在一些实施例中,所述检测信号能形成指示检测样品中所述分析物或非分析物物质的预定图案。在其它实施例中,多个试剂点作为所述内部阳性对照。可将所述多个试剂点用于任何适当的用途。例如,在所述多个试剂点上的所述信号可以包括在不同位置的恒定强度或不同强度。

[0051] 在一些实施例中,所述内部对照是内部阴性对照。可以以任何适当的方式形成内部阴性对照。例如,除了与分析物结合的试剂不被施加到所述试剂点,所述试剂点可与检测位点等同处理,作为内部阴性对照。

[0052] 在一些实施例中,多个试剂点可以作为内部阴性对照。

[0053] 在一些实施例中,在所述至少两个试剂点上形成所述检测信号,为所述检测装置提供内部校准信息。可以任何适当的方式形成所述检测信号,为所述检测装置提供内部校准信息。在一些实施例中,在所述至少两个试剂点上所述检测信号的形成可以不依赖于液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量。例如,所述至少两个试剂点中的每一个可以包括与所述分析物的标记结合试剂相结合的试剂,并且可使用所述试剂在所述试剂点上不依赖于液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量地形成所述检测信号。在另一实施例中,所述至少两个试剂点中的每一个上的试剂可以包括分析物或分析物类似物,并且可用所述试剂在所述试剂点上不依赖于液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量地形成所述检测信号。

[0054] 在一些实施例中,在所述至少两个试剂点上形成所述检测信号,为所需的分析物检测范围提供内部校准信息。

[0055] 所述试剂点可形成任何适当的图案,为所述检测装置提供内部校准信息。在一些实施例中,所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和/或与所述液体层析方向呈预定角度的线。在其它实施例中,在所述试剂点上的所述检测信号在由所述试剂点组成的线的方向上形成梯度的信号强度。

[0056] 在一些实施例中,所述检测装置不包括指示液体样品中分析物的存在、不存在和/或含量的检测位点,并且在所述至少两个试剂点上形成所述检测信号,为所述检测装置提供内部校准信息。可以以任何适当的方式形成所述检测信号,为所述检测装置提供内部校准信息。在一些实施例中,在所述至少两个试剂点上所述检测信号的形成取决于校准液体中所述分析物的存在和/或量。例如,所述至少两个试剂点中的每一个可以包括与所述分析物结合的试剂,并且可用所述试剂点提供内部校准信息。

[0057] 在一些实施例中,可以在所述至少两个试剂点上形成所述检测信号,为所需的分析物检测范围提供内部校准信息。

[0058] 所述试剂点能形成任何适当的图案,为所述检测装置提供内部校准信息。在一些实施例中,所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和/或与所述液体层析方向呈预定角度的线。在其它实施例中,在所述试剂点上的所述检测信号在由所述试剂点组成的线的方向上形成梯度的信号强度。

[0059] 在一些实施例中,所述至少两个试剂点中的每一个包括与所述分析物结合的试剂,并且所述试剂的量在所述试剂点的线的方向上形成梯度。在所述试剂点上的所述检测信号可以与校准液体中的分析物的预定水平相同。

[0060] 在一些实施例中,所述检测装置不包括用来指示液体样品中分析物的存在、不存在和/或量的检测位点,并且所述至少两个试剂点包括用以产生相对于彼此的特定信号强度或不同水平的绝对信号强度的信号的结合试剂。所述试剂点可以形成任何适当的图案,为所述检测装置提供内部校准信息。在一些实施例中,所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和/或与所述液体层析方向呈预定角度的线。

[0061] 在一些实施例中,在所述至少两个试剂点上形成所述检测信号,提供或发挥下述功能中的至少两项:1) 提供层析对照信息;2) 充当内部对照;以及3) 为所述检测装置提供内部校准信息。在其它实施例中,形成所述检测信号提供层析对照信息、作为内部对照和为所述检测装置提供内部校准信息。

[0062] 为了使所述检测装置确保所述试剂点不重叠且彼此充分间隔,以便所述液体朝向、经过和/或围绕一个试剂点或一组试剂点流动基本上不影响所述液体朝向、经过和/或围绕另一试剂点或其它组试剂点流动,需要考虑多个可变因素。并且同时,所述检测装置应当包括足够数量的可被用于产生读出信号的所述试剂点,所述读出信号提供层析对照信息、作为内部对照和/或为所述检测装置提供内部校准信息,并且有时用来指示所述液体样品中所述分析物的存在、不存在和/或含量。在制造所述检测装置过程中可以被考虑和/或被调整的示例性的可变因素包括试剂点的数量、所述试剂点的尺寸和/或形状,如,是否用绝对尺寸或相对于所述基质大小的相对尺寸,位于所述试剂点的所述试剂的种类和用

量,所述检测装置上部分或全部试剂点之间或之内的间隔,如,是否用所述间隔的绝对尺寸或相对于所述基质大小的间隔的相对尺寸和/或在所述基质上所述试剂点的数量,所述试剂点相对于所述液体层析方向的朝向或位置,所述试剂点之间的尺寸和/或形状的均一性或变异性和所述基质的性质,如,基质的材料和/或多孔性,和/或使所述试剂呈斑点状的溶液的性质或成分。可以测试、调整或确定这些可变因素中的部分或全部,使检测装置符合预期的检测性能,如,符合预定或所需的检测灵敏度和/或特异性。

[0063] 在一些具体的实施例中,可以确定试剂点重叠并且彼此没有充分间隔而导致液体朝向、经过和/或围绕一个试剂点或一组试剂点流动阻止或阻碍了所述液体朝向、经过和/或围绕另一试剂点或其它组试剂点的流动。可以随后调整这些可变因素中的一些或全部,以便将所述液体层析的阻挡效应降低至少10%,且优选降低至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在其它具体的实施例中,如果给出了特定的结构,那么可以确定所述液体朝向、经过和/或围绕另一试剂点或其它组试剂点流动。可以随后调整这些可变因素中的一些或全部,从而使朝向、经过和/或围绕另一试剂点或其它组试剂点的所述液体的流动被提高至少10%,且优选至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在其它的实施例中,可以随后调整这些可变因素中的一些或全部以使朝向、经过和/或围绕另一试剂点或其它组试剂点的所述液体的流动被提高1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍,或更多。

[0064] 所述检测装置可以包含任何合适数量的试剂点。在一个实施例中,所述检测装置包含两个试剂点。在另一个实施例中,所示检测装置包含多于两个的试剂点,例如至少3、4、5、6、7、8、9、10、50、100、500、1,000、5,000、10,000或更多的试剂点。

[0065] 所述检测装置中任何合适数量的、部分或全部的所述试剂点可以彼此充分间隔。例如,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点不重叠且彼此充分间隔,以便当所述液体沿着所述基质侧向层析时,所述液体朝向、经过和/或围绕所述试剂点中的一个的流动基本上不影响所述液体朝向、经过和/或围绕所述其它试剂点的流动。

[0066] 在所述试剂点处形成的预定图案可以采用任何形式、形状和/或图案。例如,预定图案可以是线条、多线条、符号、几何形状和字母数字形状、规则形状,或不规则形状,或其组合。典型的规则形状可以是线条、圆形、杆状、正方形、三角形和矩形。典型的字母数字形状可以是字母、单词、数字或其组合。

[0067] 当预定图案是线条或多线条的形式时,所述线条可以位于相对于所述液体层析方向的任何合适的取向或位置。在一个实施例中,所述线条基本平行于所述液体层析方向。在另一个实施例中,线条基本垂直于所述液体层析方向。仍在另一个实施例中,所述预定图案是多线条的形式。所述多线条可以包含至少基本平行于所述液体层析方向的线条和至少基本垂直于所述液体层析方向的线条。在一些实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一的线条基本平行于所述液体层析方向。在其它实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一的线条基本垂直于所述液体层析方向。

[0068] 所述检测装置可以用于检测液体中单一分析物或靶标或多种分析物或靶标。在一个实施例中,所述检测装置中的所述多个试剂点包含不同试剂并且所述检测装置用于检测液体中的多种分析物或靶标。在另一个实施例中,所述检测装置中的所述多个试剂点包含

相同的试剂并且所述检测装置用于检测液体中单一分析物或靶标的量。

[0069] 所述检测装置中的所述试剂点可以包含任何合适的试剂量。在一个实施例中，所述多个试剂点包含等量的试剂。在另一个实施例中，所述多个试剂点包含不等量的试剂。

[0070] 所述检测装置中的所述试剂点可以具有任何合适的尺寸。在一个实施例中，所述试剂点中的至少一个具有大约 0.1-1 μ m、1-10 μ m、10-50 μ m、51-100 μ m、101-200 μ m、201-300 μ m、301-400 μ m、401-500 μ m 和 501-1000 μ m 的直径。在另一个实施例中，至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点具有大约 0.1-1 μ m、1-10 μ m、10-50 μ m、51-100 μ m、101-200 μ m、201-300 μ m、301-400 μ m、401-500 μ m 或 501-1000 μ m 的直径。仍在另一个实施例中，所述试剂点中的至少一个具有通过膜的宽度和长度计算得到的所述基质的长度、宽度或表面积的大约 10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、0.01%、0.001% 的直径或表面积或更小的直径或表面积。仍在另一个实施例中，至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点具有所述基质的长度、宽度或表面的大约 10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、0.01%、0.001% 的直径或表面积或更小的直径或表面积。

[0071] 可以用任何合适的液滴体积产生具有合适或所需尺寸的斑点。在典型的实施例中，用于在层析膜上产生一系列斑点尺寸的液滴体积的范围可以是在大约 30-200 μ L、201-500 μ L、501 μ L-1.001 μ L、1.001 μ L to 5.0 μ L、5.1-25 μ L、21.1-100 μ L 或 100.1-500 μ L 的范围内。下面的表 1 显示的是位于上述液滴范围内的多种液滴尺寸的球形或半球形直径。

表 1

液滴体积	球形直径 (μ m)	半球形尺寸 (μ m)
1 μ L	12.4	15.3
10	26.7	33.8
100	58	72
500	98	124
1 nL	124	156
2.08	158	199
5	212	268
10	266	337
20	336	423
50	457	577
100	575	725
500	982	1243

膜上试剂液滴的实际扩展的斑点尺寸可能更大，例如，大约比半球形液滴直径大 10-25%。具有上述范围的不同液滴体积的球形和半球形尺寸在上面表 1 中显示。

[0072] “直径”的含义通常由斑点的形状决定。例如，如果所述斑点是圆形，那么圆形的直径是任何经过圆心并且端点在圆周上的直线段。直径的长度也称为直径。对于平面中的凸形，直径被定义为可以在与其边缘相切的两条相对平行线之间形成的最大距离。“直径”的使用不限制所述斑点形状是圆形或其它规则形状。在一些具体的实施例中，当斑点具有不规则形状时，“直径”可以测算成表明斑点长度或宽度的参数，例如，测算成所述斑点上两点之间的最大距离。

[0073] 所述检测装置中的所述试剂点可以具有相同的或不同的尺寸或直径。在一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点具有基本相同的尺寸或直径。在另一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点具有基本不同的尺寸或直径。

[0074] 所述检测装置中的所述试剂点可以具有任何合适的形状,例如,任何合适的规则或不规则的形状。在一个实施例中,所述试剂点中的至少一个具有线形、圆形、杆形、正方形、三角形、矩形或不规则形的形状。在另一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点具有线形、圆形、杆形、正方形、三角形、矩形或不规则形的形状。所述检测装置中的所述试剂点可以具有相同或不同的形状。在一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点具有相同的形状。在另一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点具有不同的形状。

[0075] 所述试剂点可以具有所述斑点之间或之内任何合适的间隔或距离。在一个实施例中,所述试剂点之间或之内的距离大约是 1-10um、10-50um、51-100um、101-200um、201-300um、301-400、401-500 或 501-600um。所述试剂点之间或之内的间隔或距离可以相同或不同。在一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点之间的间隔或距离基本相同。在另一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部试剂点之间的间隔或距离不同。可以用任何合适的方法测量这样的间隔或距离。在一些具体的实施例中,试剂点之间或之内的所述间隔或距离被测算成所述试剂点或相邻试剂点的边缘之间或之内的间隔或距离,例如,限定了试剂的低阻力层析路径的斑点边缘之间或之内的距离。在其它具体的实施例中,试剂点之间或之内的所述间隔或距离被测算成所述试剂点或相邻试剂点的中心或有效中心之间或之内的间隔或距离。

[0076] 所述试剂点可以位于所述基质的任何合适的位置或面上。在一个实施例中,所述检测装置包含单层的多个试剂点。在另一个实施例中,所述检测装置包含多层,例如 2、3、4、5、6、7、8、9、10 层或更多层的多个试剂点。仍在另一个实施例中,所述检测装置包含在所述基质单面上的至少一层的多个试剂点层。而在另一个实施例中,所述检测装置包含在所述基质双面上的至少一层的多个试剂点层。

[0077] 所述试剂点上的信号可以通过任何合适的反应产生,例如包含分析物、靶标、位于所述试剂点上的试剂、加入至所述液体样品和 / 或其它液体中的试剂,和 / 或使用前在所述检测装置上干燥并被所述液体样品或其它液体运送至试剂点的其它试剂在内的化学反应、生物化学反应、电化学反应,和 / 或结合反应。

[0078] 在一些实施例中,所述试剂点处的所述信号在包含分析物或靶标、位于所述试剂点上的试剂、加入至所述液体样品和 / 或其它液体中的试剂,和 / 或使用前在所述检测装置上干燥并被所述液体样品或其它液体运送至试剂点的其它试剂在内的结合反应的基础上产生。在一个实施例中,所述试剂点中的至少一个包含能够与分析物或靶标或另一种能结合分析物或靶标的结合试剂相结合的试剂。优选地,所述试剂能够与分析物、靶标、或另一种能结合分析物或靶标的结合试剂特异性结合。此外,优选地,所述试剂避免与所述检测样品或液体中的干扰部分或组成部分结合。在另一个实施例中,至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的试剂点包含能够与分析物、靶标、或另一种能结合分析物或靶标的结合试剂相结合的试剂。优选地,所述试剂能够与分析物、靶标或另一种能结合分析物或靶标的结

合试剂特异性结合。

[0079] 位于所述试剂点处的所述试剂可以是任何合适的物质。例如,所述试剂可以是无机分子、有机分子或其复合物。典型的无机分子可以是离子,例如钠、钾、镁、钙、氯、铁、铜、锌、锰、钴、碘、钼、钒、镍、铬、氟、硅、锡、硼或砷离子。典型的有机分子可以是氨基酸、肽、蛋白例如抗体或受体、核苷、核苷酸、寡核苷酸、核酸例如 DNA 或 RNA、维生素、单糖、寡糖、碳水化合物、脂质及其复合物。

[0080] 典型的氨基酸可以是 D- 或 L- 氨基酸。典型的氨基酸也可以是天然存在的肽和蛋白的任何组成部分,包括 Ala (A)、Arg (R)、Asn (N)、Asp (D)、Cys (C)、Gln (Q)、Glu (E)、Gly (G)、His (H)、Ile (I)、Leu (L)、Lys (K)、Met (M)、Phe (F)、Pro (P)、Ser (S)、Thr (T)、Trp (W)、Tyr (Y) 和 Val (V)。

[0081] 可以用任何合适的蛋白或肽作为所述检测装置上的所述试剂。例如,可以使用酶、转运蛋白例如离子通道和离子泵、营养或贮存蛋白、收缩或能动蛋白例如肌动蛋白和肌球蛋白、结构蛋白、防御蛋白或调节蛋白例如抗体、激素和生长因子。也可以使用蛋白抗原或肽抗原。

[0082] 可以用任何合适的核酸,包括单链、双链和三链的核酸,作为所述检测装置上的所述试剂。这类核酸的示例包括 DNA,例如 A-、B- 或 Z- 形式的 DNA,以及 RNA,例如 mRNA, tRNA 和 rRNA。

[0083] 可以用任何合适的核苷作为所述检测装置上的所述试剂。这类核苷的示例包括腺苷、鸟苷、胞苷、胸苷和尿苷。可以用任何核苷酸作为所述检测装置上的所述试剂。这类核苷酸的示例包括 AMP、GMP、CMP、UMP、ADP、GDP、CDP、UDP、ATP、GTP、CTP、UTP、dAMP、dGMP、dCMP、dTMP、dADP、dGDP、dCDP、dTDP、dATP、dGTP、dCTP 和 dTTP。

[0084] 可以用任何合适的维生素作为所述检测装置上的所述试剂。例如,可以使用水溶维生素例如硫胺素、核黄素、烟酸、泛酸、维生素 B6、生物素、叶酸、维生素 B12 和抗坏血酸。类似地,可以使用脂溶性维生素例如维生素 A、维生素 D、维生素 E 和维生素 K。

[0085] 任何合适的单糖,无论 D- 或 L- 单糖并且无论醛糖或酮糖,都可以用来作为所述检测装置上的所述试剂。单糖的示例包括丙糖例如甘油醛、四糖例如赤藓糖和苏糖、戊糖例如核糖、果糖、木糖、来苏糖和核酮糖、己糖例如阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖和果糖,以及庚糖例如景天庚糖。

[0086] 可以用任何合适的脂质作为所述检测装置上的所述试剂。脂质的示例包括三酰甘油例如硬脂酸甘油酯、棕榈酸甘油酯和三油酸甘油酯,蜡,磷酸甘油酯例如磷脂酰乙醇胺、卵磷脂、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇和心磷脂,鞘脂类例如鞘磷脂、脑苷脂、神经节苷脂,固醇例如胆固醇和豆甾醇以及固醇脂肪酸酯。脂肪酸可以是饱和脂肪酸例如月桂酸、豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸和二十四烷酸,或者可以是不饱和脂肪酸例如棕榈油酸、油酸、亚油酸、亚麻酸和花生四烯酸。

[0087] 在一个具体的实施例中,待检测的所述分析物或靶标包含或是抗原,所述检测装置上的所述结合试剂包含或是抗体。优选地,所述抗体与所述分析物或靶标特异性结合。在一个实施例中,所述检测装置被用于夹心检测形式中,其中,用结合试剂,例如抗体,作为所述试剂点处的试剂,并且还用另一种具有检测标记的结合试剂在所述试剂点处形成“被标记的结合试剂-分析物-结合试剂或抗体”夹心从而产生读出信号。或者,用结合试剂作

为所述试剂点处的试剂,并且还用以具有检测标记的抗体在所述试剂点处形成“被标记的抗体-分析物-结合试剂”夹心从而产生读出信号。在一个实施例中,夹心试验使用两种抗体,一个作为捕获试剂而另一个作为标记试剂。

[0088] 所述检测装置也可以用于竞争检测形式中。在一个实施例中,用结合试剂,例如抗体,作为所述试剂点处的捕获试剂。加入液体中的或之前在所述检测装置上干燥并被液体再溶解或再悬浮的具有检测标记的分析物或分析物类似物,将与样品或液体中的分析物或靶标竞争结合所述试剂点处的捕获试剂。在另一个实施例中,用分析物或分析物类似物作为所述试剂点处的捕获试剂。具有检测标记的结合试剂,例如抗体,被加入液体中或事先在所述检测装置上干燥并被液体再溶解或再悬浮。样品中的分析物将与所述试剂点处的分析物、分析物类似物或靶标竞争结合结合试剂,例如具有检测标记的抗体。

[0089] 所述基质可以具有任何合适的结构。在一个实施例中,所述基质可以具有多孔结构。所述基质可以包含任何合适的材料。例如,可以使用多孔塑料材料,例如聚丙烯、聚乙烯(优选非常高的分子量的)、聚偏二氟乙烯、乙烯醋酸乙烯酯、丙烯腈和聚四氟乙烯。参见例如,美国专利号 6,187,598。在制造过程中用表面活性剂预处理所述膜是有利的,因为这可以减小所述膜中任何固有的疏水性并因此增强它快速有效地吸取和运送湿润液体的能力。所述基质也可以由纸或其它纤维质材料制成。在一些实施例中,所述基质包含硝化纤维或玻璃纤维或由硝化纤维或玻璃纤维制成。

[0090] 在另一个实施例中,所述基质可以具有非多孔的结构,例如,塑性固体表面。在一些实施例中,所述基质可以具有其它结构例如通道或其它引导流体通路。在另一个实施例中,所述基质包括塑料、具有亲水表面的基质薄膜,或与样品液体具有控制接触角的材料。

[0091] 而在另一个实施例中,所述检测装置可以包括至少一组围绕所述样品或液体施加位置形成圆的所述试剂点,并且所述液体呈放射状地移动通过这组试剂点。而在另一个实施例中,所述检测装置可以进一步包括经过装置部分的流体。

[0092] 所述基质可以具有任何合适的形式或形状。例如,所述基质可以是条状或环状形式。所述基质还可以具有适当数量的元件。例如,所述基质可以由单个元件构成或可以包括多个元件。

[0093] 所述检测装置可以进一步包括位于所述基质上游的与所述基质液体相通的液体或样品施加元件。所述液体或样品施加元件可以由任何合适的材料制成,例如硝化纤维,玻璃纤维,聚丙烯,聚乙烯(优选非常高的分子量),聚偏二氟乙烯,乙烯醋酸乙烯酯,丙烯腈或聚四氟乙烯。所述基质和所述液体或样品施加元件可以包括相同或不同的材料。

[0094] 所述检测装置可以进一步包括位于所述基质下游的与所述基质液体相通的液体吸收元件。所述液体吸收元件可以由任何合适的材料制成,例如纸或纤维素材料。

[0095] 在一些实施例中,用固体背衬支撑至少一部分所述基质。在其它实施例中,用固体背衬支撑二分之一、多于二分之一或全部的所述基质。所述固体背衬可以用任何合适的材料制成,例如固体塑料。如果所述检测装置包括电极或其它电气元件,那么所述固体背衬一般应当包含绝缘材料。

[0096] 在一些实施例中,标记试剂可以在所述检测装置上干燥且所述干燥的标记试剂可以被液体例如样品液体和/或另外的液体重新溶解或重新悬浮,并且被横向运送通过所述检测装置从而产生读出信号、对照信号和/或其它信号。例如,所述基质的一部分,在所述

至少两个试剂点的上游,可以包含干燥的标记试剂,所述标记试剂能够被液体样品和 / 或更多液体迁移至所述至少两个试剂点和 / 或对照位置从而产生检测信号。所述干燥的标记试剂可以位于所述检测装置上任何合适的位置。在一个实施例中,所述干燥的标记试剂位于所述检测装置上样品或液体施加位置的下游。在另一个实施例中,所述干燥的标记试剂位于所述检测装置上样品或液体施加位置的上游。所述标记试剂的类型可以根据预期的检测形式而定。例如,如果要用所述检测装置进行夹心试验,那么所述标记试剂应当能结合,并且优选地能够特异性结合所述分析物或靶标,或与所述分析物或靶标结合的另一物质。也可以用相同的标记试剂进行特定的竞争结合检测。对于其它类型的竞争结合检测,所述标记试剂应当是连接着检测标记的分析物或分析物类似物。

[0097] 在一些实施例中,所述检测装置可以进一步包括,所述至少两个试剂点上游的,包含干燥的标记试剂的结合元件,所述标记试剂能够被液体样品和 / 或更多液体迁移至所述至少两个试剂点和 / 或对照位置从而产生检测信号。所述结合元件可以位于所述检测装置上液体或样品施加位置的下游。所述结合元件也可以位于所述检测装置上液体或样品施加位置的上游。在一些实施例中,所述标记试剂与所述液体样品中的分析物或靶标结合。在其它实施例中,所述标记试剂与所述液体样品中的分析物或靶标在所述至少两个试剂点处竞争结合所述分析物或靶标的结合试剂。

[0098] 可以使用任何合适的标记。所述标记可以是可溶的标记,例如比色标记、放射性标记、酶标记、发光标记或荧光标记。所述标记也可以是颗粒或微粒标记,例如微粒直接标记,或有色颗粒标记。典型的颗粒或微粒标记包括胶体金标记、乳胶颗粒标记、纳米粒子标记和量子原子团标记。取决于具体的结构,所述标记例如比色标记、放射性标记、酶标记、发光标记或荧光标记,可以是可溶标记或颗粒或微粒标记。

[0099] 在一些实施例中,所述标记试剂在稳定所述标记试剂,促进所述标记试剂在液体中的溶解或重新悬浮,和 / 或提高所述标记试剂的迁移率的材料存在的情况下被干燥。可以使用任何合适的材料。例如,所述材料可以是蛋白,例如,偏可溶性蛋白 (meta-soluble protein)、肽、多糖、糖例如蔗糖、多聚物、凝胶或去污剂。参见,例如,美国专利号 5, 120, 643 和 6, 187, 598。

[0100] 本检测装置可以与任何合适的液体一起使用。在一个实施例中,使用单独的样品液体将所述分析物、所述靶标和 / 或所述标记试剂运送至所述至少两个试剂点。在另一个实施例中,用显色液将所述分析物、所述靶标和 / 或所述标记试剂运送至所述至少两个试剂点。仍在另一个实施例中,使用样品液体和显色液将所述分析物、所述靶标和 / 或所述标记试剂运送至所述至少两个试剂点。

[0101] 在一些实施例中,所述检测装置可以进一步包含覆盖至少一部分所述检测装置的壳体,其中所述壳体包含允许从或朝着所述至少两个试剂点的上游施加样品或液体的样品或液体施加口以及允许在所述至少两个试剂点上进行信号检测的围绕所述至少两个试剂点的观察口。所述观察口可以以任何合适的方式实现。例如,所述观察口可以简单地是一个敞开的空间。或者,所述观察口可以是透明的盖子。

[0102] 在其它实施例中,所述壳体可以覆盖整个检测装置。仍在其它实施例中,所述基质的样品接收部分或所述样品施加元件的至少一部分不被壳体覆盖,并且样品或液体在所述壳体外被施加至所述基质的所述样品接收部分或所述样品施加元件的一部分,然后被运送

至所述至少两个试剂点。所述壳体可以包含任何合适的材料。例如,所述壳体可以包含塑料材料、生物可降解材料或纤维质材料。在另一个实施例中,所述壳体,无论部分或它的全部,可以包含不透明的、半透明的和 / 或透明的材料。

[0103] 在一些实施例中,本发明提供一种检测装置,其中所述液体或样品已经沿着所述检测装置侧向移动从而在所述至少两个试剂点处产生检测信号。

C. 使用具有二维特征的侧向层析装置检测分析物的方法

[0104] 另一方面,本发明提供了一种方法,所述方法包括 a) 用如上述 B 部分所述的检测装置接触液体,其中所述液体被施加在所述至少两个试剂点上游的所述检测装置的位置上 ;b) 运送标记试剂至所述至少两个试剂点 ;以及 c) 在所述至少两个试剂点处测定由所述标记试剂产生的信号的出现、不出现、量和 / 或图案,从而提供层析对照信息、作为内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。

[0105] 在典型的实施例中,所述试剂点处的所述信号可以通过包含所述分析物或靶标和位于所述试剂点的所述试剂,以及添加至所述液体中的或使用前在所述检测装置上干燥并被所述液体样品或其它液体运送至所述试剂点的标记试剂的结合反应产生。例如,所述方法包括 a) 用上述检测装置接触液体,其中所述液体被施加在所述至少两个试剂点上游的所述检测装置的位置上 ;b) 运送分析物或靶标,如果液体中存在的话,以及标记试剂至所述至少两个试剂点 ;以及 c) 在所述至少两个试剂点处测定信号,例如在所述至少两个试剂点处由所述标记试剂产生的信号,的出现、不出现、量和 / 或图案,用来提供层析对照信息、作为内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息,和 / 或确定所述液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量。

[0106] 在一些实施例中,所述液体和所述标记试剂被预先混合形成混合物并将该混合物施加至所述检测装置。例如,所述标记试剂可以被提供或贮存在液体中,然后可以与液体预先混合形成混合物并将该混合物施加至所述检测装置。在另一个实施例中,所述标记试剂可以在与所述检测装置液体不相通的位置或容器中干燥,例如,在检测管或检测孔例如微孔板的孔中。在使用中,可以将所述样品液体加入容器例如检测管或检测孔中,从而形成混合物并且可以随后将该混合物加入所述检测装置。

[0107] 在其它实施例中,所述检测装置包含使用前干燥的标记试剂并且所述干燥的标记试剂被溶解或重新悬浮,并通过所述液体样品和 / 或其它液体运送至所述至少两个试剂点。所述干燥的标记试剂可以位于所述检测装置上任何合适的位置。例如,所述干燥的标记试剂可以位于所述样品或液体施加位点的下游,并且所述干燥的标记试剂可被溶解或重新悬浮,并通过所述液体样品和 / 或其它液体运送至所述至少两个试剂点。在另一个实施例中,所述干燥的标记试剂可以位于所述样品或液体施加位点的上游,并且所述干燥的标记试剂可被溶解或重新悬浮,并通过另一种液体运送至所述至少两个试剂点。

[0108] 在一些实施例中,所述标记试剂可以被溶解或重新悬浮,并仅通过所述液体样品被运送至所述至少两个试剂点。在其它实施例中,所述分析物、靶标和 / 或标记试剂可以被溶解或重新悬浮,并通过另一种液体被运送至所述至少两个试剂点。仍在其它实施例中,所述分析物、靶标和 / 或标记试剂可以被溶解或重新悬浮,并通过所述样品液体和另一种液体,如显色液,被运送至所述至少两个试剂点。

[0109] 在一些实施例中,在所述至少两个试剂点处形成检测信号,提供或发挥下述功能

中的至少两项：1) 提供层析对照信息；2) 充当内部对照；以及 3) 为所述检测装置提供内部校准信息。在其它实施例中，形成所述检测信号，从而提供层析对照信息、作为内部对照和为所述检测装置提供内部校准信息。

[0110] 在一些实施例中，本发明的方法进一步包括在液体样品中检测分析物。本发明的方法还可以与在 2011 年 1 月 18 日提交的美国临时申请 61/461,499, 2012 年 1 月 4 日提交的美国专利申请 13/343,681 和 2012 年 1 月 17 日提交的国际专利申请 PCT/US2012/021586 中公开和 / 或请求保护的方法结合，来提供层析对照信息，内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息，用于指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量。

[0111] 可用本检测装置接触和 / 或检测任何合适的样品液体中的分析物。在一些实施例中，所述液体样品可以是体液样品，例如全血、血清、血浆、尿液样品或唾液。这类体液样品可以直接取用或在使用前加工，例如富集、纯化或稀释。在其它实施例中，所述液体样品可以是来源于固体或半固体生物材料例如噬菌体、病毒、细菌细胞、真核细胞、真菌细胞、哺乳动物细胞、培养细胞、细胞或亚细胞结构、细胞聚集体、组织或器官的液体提取物、悬浮液或溶液。在具体的实施例中，所述样品液体从哺乳动物或人类资源中获得或提取。仍在其它实施例中，所述液体样品是来自生物的、法医的、食物、生物战或环境资源的样品。在其它实施例中，所述样品液体是临床样品，例如人或动物的临床样品。仍在其它实施例中，所述样品液体是人造样品，例如用于质量控制或标准化用途的标准样品。

[0112] 可以用本检测装置检测任何合适的样品液体中分析物的存在、不存在和 / 或含量。在一些实施例中，用本检测装置检测任何合适的样品液体中分析物的存在或不存在，即提供是或否的答案。在其它实施例中，本检测装置用于定量或半定量液体样品中分析物的含量。

[0113] 可以用本检测装置检测任何合适的样品液体中单一分析物的存在、不存在和 / 或含量。或者，可以用本检测装置检测液体样品中多种分析物的存在、不存在和 / 或含量。仍在其它实施例中，可以用本检测装置定量或半定量液体样品中多种分析物的含量。

[0114] 可以用本检测装置检测样品液体中任何合适的分析物的存在、不存在和 / 或含量。典型的分析物包括无机分子、有机分子或其复合物。典型的无机分子可以是离子例如钠、钾、镁、钙、氯、铁、铜、锌、锰、钴、碘、钼、钒、镍、铬、氟、硅、锡、硼或砷离子。典型的有机分子可以是氨基酸、肽、蛋白、核苷、核苷酸、寡核苷酸、核酸例如 DNA 或 RNA 分子或其混合物、维生素、单糖、寡糖、碳水化合物、脂质及其复合物。在一些实施例中，分析物是细胞、病毒或分子。在其它实施例中，分析物是 hCG、hLH、hFSH、hTSH、疾病或紊乱标记，例如，心脏病生物标记、传染性微生物的抗原、传染性微生物的抗体，等等。

[0115] 本发明的方法可被用于任何合适的用途。例如，本方法可用于临床诊断、预测、风险评估和预测、分层和治疗监测以及调整。在另一个实施例中，本方法可用于多种研究目的，例如基础研究、候选药物筛选、动物研究以及临床试验。仍在另一个实施例中，本方法可用于标准制订、质量控制、违禁药物筛选、食品安全、环境安全、工业安全，污染、生物战试剂的检测、筛选药物或药品，以及使用生物反应器监控生产质量寻找不必要的分子等的试验中。本检测装置和方法可用于任何合适的环境中，例如在实验室、诊所、医院、医生的办公室、家里、自然环境、战争场地和现场急救者环境，例如火灾、护理人员、警察行动的环境中的试验。

D. 具体实施方式

[0116] 在某些实施例中,本发明涉及用于以在衬底内或衬底上产生试剂点(“像素”)阵列的方式侧向层析检测一系列分析物的方法和装置,所述衬底被设计用来在快速检测装置内运送液体并穿过所述像素阵列,本发明还涉及按方向组合这些用户能理解的各种符号和形式产生指示检测结果的信号的像素阵列的方法。所述捕获试剂以高度可控的方式进行分配,目的在于让系统中迁移的分析物及偶联物与每个被分配的特征(“像素”)发生反应而不在所述系统中产生层析模式的干扰,这种干扰阻止分析物及偶联物与任何后续特征之间的相互作用。

[0117] 在层析区域产生特征的能力允许在所述检测中产生对照特征,所述对照特征反过来允许多种高级功能,包括层析对照、用于检测的内部阳性和阴性对照、以及内部校准曲线。

[0118] 层析对照:在流率从原点距离非线性地和成反比地下降的情况下,所述层析区域内的特征允许在所述检测条内为结果中的波动内部校准,所述波动由横跨所述表面和沿着所述层析区域长度的流率或层析模式的变化所导致。流率的这种变化可能对检测的动力学产生影响,并且在要求定量的情况下可能是重要的。

[0119] 可以在所述层析的区域内以多个方向建立这些控制特征。它们可以包括点或其它与层析方向垂直和/或平行设置的,或在所述层析区域内随机设置的特征形式。

[0120] 用于检测的内部阳性和阴性对照:所述侧向层析系统被典型地设计成具有单一的可以依赖于或不依赖于分析物的内部对照线。该对照线主要作为层析对照,指示所述检测条已经适当地机械运行并指示在所述检测线上读出的结果可被视为有效。所述依赖于分析物的对照线提供同样的功能,但另外还提供如下功能:识别预计在应被施加至所述装置的所述样品基质中包含某些检测元素的所使用的样品。例如,可以用抗 α 淀粉酶识别已被施加至所述装置的真正的唾液样品。当这些代表了功能对照时,还有一些其它的可被有效地应用于侧向层析中的对照特征,它们通常应用于其它分析方法,但标准侧向层析设计不允许。

[0121] 这些可以用具体记载在2011年1月18日提交的美国临时申请61/461,499,2012年1月4日提交的美国专利申请13/343,681和2012年1月17日提交的国际专利申请PCT/US2012/021586中的像素化方法来实现。这些特征包括用于交叉反应或干扰物质的内部对照,在所述区域内各个位置恒定强度或变化强度的内部阳性对照,以及用于建立基线的内部真阴性对照。这些特征可以在重复或随机位置被建立成位于所述层析区域内的点、或可以是线或其它特征形式。

[0122] 内部校准曲线:所述侧向层析系统中的一个主要问题是获得任何定量程度都要求的相对复杂的校准系统。我们将首先考虑电子读数-解读分析系统,然而将相同的原理应用于操作者目测读数的检测。所述校准系统可以包括若干元件。其中一个元件就是光学发光的内部读数校准。

[0123] 另一个元件涉及湿的校准器,其是在所述装置的操作位点运行以保证所述系统处于校准之中的标准。就侧向层析来说,这些一般是在实际检测条上泳动并在所述读数仪中被评估的存在于缓冲液中的具有已知性能样品或标准溶液。

[0124] 还有另一个元件与校准标准有关：不变的校准物，例如读数仪针对其校准它的操作的灰度或固体白光芯片。这些可以是外部的，在所述读数仪中被周期性评估，或可以是所述读数仪内部的，在每次运行前或启动时被评估。对于荧光检测来说，这种类型的校准代表一个挑战，因为荧光会由于光褪色趋于淬灭，意味着所述校准标准随时间改变且必须经常被替换，或找到另一种溶液。读数仪供应商通过不同的途径解决了这一问题；例如 Qiagen Lake Constance 已经研发出具有聚合物涂层的包含稀土元素的系统来防止光褪色。LRE 正在研发一种使用可视校准方法的系统，并将其用于通过专有算法的荧光团操作。

[0125] 而另一个元件与程序校准有关。每批侧向层析条都典型地具有为它产生的将被测定的标准曲线。用于标准曲线的参数数量和使用的曲线拟合类型将随着检测的不同而改变。每批检测条的信息必须在所述检测获得的结果被分析之前传递给所述读数仪。以各种方式进行这种传递，包括在检测或包装上使用能被所述读数仪扫描的条形码和 RFID 标签，或在检测运行前人工输入校准数据至所述读数仪。

[0126] 在一些实施例中，本发明允许在所述侧向层析系统的层析区域内产生各种内部校准特征。这些包括利用依赖于分析物的结合特征的内部校准曲线，利用不依赖于分析物的结合特征的内部校准曲线和用于读数仪校准的内部校准点或特征。

[0127] 利用依赖于分析物的结合特征的内部校准曲线：这种形式可以被设置成具体校准条的所述层析区域内的一系列的点、线或更复杂的特征。当形成依赖于分析物的校准曲线时，不是用湿的校准器运行多个校准条，或用预先形成的固定强度的信号产生外部校准条，而可以用具有多个校准特征的单个检测条来说明层析效果和结合物的降解。因此能用单个检测条校准所述读数系统，消除了对测试多个检测条的需要以及产生内部不变的硬性校准物的困难。这对于难以建立这种不变标准的荧光或化学发光系统尤其有用。

[0128] 利用不依赖于分析物的结合特征的内部校准曲线：这种形式可以被设置成用于评估未知样品的实际校准条的所述层析区域内的一系列的点、线或更复杂的特征。将在所述层析区域形成利用实际的结合信号分子和不是结合于所述反应基质的分析物本身就是选择性试剂的不依赖于结合试剂的分析物的校准曲线。如上所述，可以将其与包括非特异性结合对照和流率对照在内的一系列其他对照特征组合。

[0129] 用于读数仪校准的内部校准点或特征：这些特征可以被包含在具有辅助读数仪校准的特殊目的的所述装置内。它们可以被设置成所述层析区域内已用特定结合试剂浸渍的点，它们被设计用来产生相对于彼此的特定强度或不同水平的绝对强度的信号。这些特征处信号强度的分析可以结合内部层析对照产生的信号强度，来抵消由顺着所述检测条向下或横跨所述检测条的流率导致的动力学的任何变化。这两组对照特征的分析消除了机械影响和标记相关的降解，因此实现了在实际检测运行时对读数仪性能的校准。

[0130] 通过下列具体实施例进一步阐明本发明：

[0131] 1. 一种检测装置，所述装置包括基质上的多个试剂点，其中至少两个所述试剂点不重叠且彼此充分间隔，以便当液体沿着所述基质侧向层析时，朝向、经过和 / 或围绕所述两个试剂点中一个的所述液体的流动基本上不影响朝向、经过和 / 或围绕所述另一个试剂点的所述液体样品的流动，所述两个试剂点中的每一个既不是在垂直于所述液体层析方向的方向上横跨所述基质整个宽度的试剂线，也不是环绕所述检测装置的中心或样品 / 液体施加位点的试剂线组成的完整的圆，并且在液体沿所述检测装置侧向层析并通过所述至少

两个试剂点后,在所述至少两个试剂点处形成检测信号,从而提供层析对照信息,充当内部对照和 / 或为所述检测装置提供内部校准信息。

[0132] 2. 根据实施例 1 所述的检测装置,其中所述检测信号在所述至少两个试剂点处形成,为所述检测装置提供层析对照信息。

[0133] 3. 根据实施例 2 所述的检测装置,其中所述层析对照信息允许在所述检测装置内为检测结果中的波动内部校准,所述波动由侧向穿过所述层析区域的表面和 / 或沿着所述层析区域的长度的流速或层析模式的变化造成。

[0134] 4. 根据实施例 2 或 3 所述的检测装置,所述检测装置进一步包括用于指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点。

[0135] 5. 根据实施例 4 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处所述检测信号的形成不依赖于液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量。

[0136] 6. 根据实施例 5 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包括与用于所述分析物的标记的结合试剂结合的试剂,优选与用于所述分析物的标记的特异性结合试剂结合的试剂。

[0137] 7. 根据实施例 6 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点中的每一个上的所述试剂包括分析物或分析物类似物。

[0138] 8. 根据实施例 4 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处所述检测信号的形成取决于液体样品中所述分析物或非分析物物质的存在和 / 或含量。

[0139] 9. 根据实施例 8 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包括与所述分析物结合的试剂,优选与所述分析物特异性结合的试剂。

[0140] 10. 根据实施例 8 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包括与非分析物物质结合的试剂,优选与非分析物物质特异性结合的试剂。

[0141] 11. 根据实施例 1-10 任一所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和 / 或与所述液体层析方向成预定角度的线。

[0142] 12. 根据实施例 11 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包括相同的试剂。

[0143] 13. 根据实施例 12 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包括等量的试剂。

[0144] 14. 根据实施例 12 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点包括不同含量的试剂。

[0145] 15. 根据实施例 1-4 任一所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点中 1 个或多个上形成所述检测信号,作为所述检测装置的内部对照。

[0146] 16. 根据实施例 15 所述的检测装置,其中在单个试剂点处形成所述检测信号,作为所述检测装置的内部对照。

[0147] 17. 根据实施例 15 所述的检测装置,其中在多个试剂点处形成所述检测信号,作为所述检测装置的内部对照。

[0148] 18. 根据实施例 15-17 任一所述的检测装置,其中所述内部对照是用于交叉反应或干扰物质的内部对照、内部阳性对照、和 / 或内部阴性对照。

[0149] 19. 根据实施例 18 所述的检测装置,其中所述内部对照是用于交叉反应或干扰物质的内部对照。

[0150] 20. 根据实施例 19 所述的检测装置,其中所述作为交叉反应或干扰物质的所述内部对照的所述试剂点包括结合检测样品中已知或可能存在的分析物类似物或干扰物质的试剂,优选特异性结合分析物类似物或干扰物质的试剂。

[0151] 21. 根据实施例 20 所述的检测装置,其中所述检测信号形成指示检测样品中交叉反应或干扰物质的存在和 / 或含量的预定图案。

[0152] 22. 根据实施例 19-21 任一所述的检测装置,其中多个所述试剂点作为交叉反应或干扰物质的所述内部对照。

[0153] 23. 根据实施例 18 所述的检测装置,其中所述内部对照是内部阳性对照。

[0154] 24. 根据实施例 23 所述的检测装置,其中在所述试剂点处所述检测信号的形成取决于液体样品中所述分析物和 / 或非分析物物质的存在和 / 或含量。

[0155] 25. 根据实施例 24 所述的检测装置,其中作为所述内部阳性对照的所述试剂点包括结合分析物或非分析物物质的试剂,优选特异性结合分析物或非分析物物质的试剂。

[0156] 26. 根据实施例 25 所述的检测装置,其中所述检测信号形成指示检测样品中所述分析物或非分析物物质的预定图案。

[0157] 27. 根据实施例 23-26 任一所述的检测装置,其中多个所述试剂点作为内部阳性对照。

[0158] 28. 根据实施例 27 所述的检测装置,其中在所述多个试剂点处的所述信号包括恒定强度或各个位置处的不同强度。

[0159] 29. 根据实施例 18 所述的检测装置,其中所述内部对照是内部阴性对照。

[0160] 30. 根据实施例 29 所述的检测装置,除了结合分析物的试剂未被施加至所述试剂点以外,对所述试剂点与检测位点进行相同处理,作为内部阴性对照。

[0161] 31. 根据实施例 29 或 30 所述的检测装置,其中多个所述试剂点作为内部阴性对照。

[0162] 32. 根据实施例 1-4 任一所述的检测装置,其中所述检测信号在所述至少两个试剂点处形成,为所述检测装置提供内部校准信息。

[0163] 33. 根据实施例 32 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处所述检测信号的形成不依赖于液体样品中所述分析物的存在、不存在和 / 或含量。

[0164] 34. 根据实施例 33 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点的每一个包含与所述分析物的标记结合试剂结合的试剂,优选与所述分析物的标记结合试剂特异性结合的试剂。

[0165] 35. 根据实施例 34 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点的每一个上的所述试剂包含分析物或分析物类似物。

[0166] 36. 根据实施例 32-35 任一所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,为所需的分析物检测范围提供内部校准信息。

[0167] 37. 根据实施例 32-36 任一所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和 / 或相对于所述液体层析方向呈预定角度的线。

[0168] 38. 根据实施例 37 所述的检测装置,其中所述试剂点处的所述检测信号在所述试剂点形成的线的方向上形成信号强度梯度。

[0169] 39. 根据实施例 32-38 任一所述的检测装置,其中所述检测装置不包括指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点,并且在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号为所述检测装置提供内部校准信息。

[0170] 40. 根据实施例 39 所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处所述检测信号的形成取决于校准液体中所述分析物的存在和 / 或含量。

[0171] 41. 根据实施例 40 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包括与所述分析物结合的试剂,优选与所述分析物特异性结合的试剂。

[0172] 42. 根据实施例 39-41 任一所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,为所需的分析物检测范围提供内部校准信息。

[0173] 43. 根据实施例 39-42 任一所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和 / 或相对于所述液体层析方向呈预定角度的线。

[0174] 44. 根据实施例 43 所述的检测装置,其中所述试剂点处的所述检测信号在所述试剂点形成的线的方向上形成信号强度梯度。

[0175] 45. 根据实施例 44 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点中的每一个包括与所述分析物结合的试剂,优选与所述分析物特异性结合的试剂,并且所述试剂的用量在所述试剂点形成的线的方向上形成梯度。

[0176] 46. 根据实施例 43 所述的检测装置,其中所述试剂点处的所述检测信号与校准液体中分析物的预定水平相同。

[0177] 47. 根据实施例 1-3 任一所述的检测装置,其中所述检测装置不包括指示液体样品中分析物的存在、不存在和 / 或含量的检测位点,并且所述至少两个试剂点包括用于产生相对于彼此的特定信号强度或不同水平的绝对信号强度的信号的结合试剂。

[0178] 48. 根据实施例 47 所述的检测装置,其中所述至少两个试剂点形成与所述液体层析方向基本平行的线,与所述液体层析方向基本垂直的线和 / 或相对于所述液体层析方向呈预定角度的线。

[0179] 49. 根据实施例 1-48 任一所述的检测装置,其中所述检测信号在所述至少两个试剂点处形成以提供或发挥下述功能中的至少两项:

- 1) 提供层析对照信息;
- 2) 作为内部对照;以及
- 3) 为所述检测装置提供内部校准信息。

[0180] 50. 根据实施例 1-48 任一所述的检测装置,其中形成所述检测信号以提供层析对照信息,作为内部对照并为所述检测装置提供内部校准信息。

[0181] 51. 根据实施例 1-50 任一所述的检测装置,其中所述多个试剂点包含两个试剂点。

[0182] 52. 根据实施例 1-50 任一所述的检测装置,其中所述多个试剂点包含两个以上的试剂点。

[0183] 53. 根据实施例 1-50 任一所述的检测装置,其中所述多个试剂点包含至少 10、50、

100、500、1,000、5,000、10,000 个或更多试剂点。

[0184] 54. 根据实施例 1-53 任一所述的检测装置,其中至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的所述试剂点不重叠且彼此充分间隔,以便当所述液体或液体样品沿着所述基质侧向层析时,所述液体或液体样品朝向、经过和 / 或围绕所述试剂点中的一个的流动基本上不影响所述液体或液体样品朝向、经过和 / 或围绕其它所述试剂点的流动。

[0185] 55. 根据实施例 1-54 任一所述的检测装置,其中在所述至少两个试剂点处的所述检测信号形成预定图案。

[0186] 56. 根据实施例 55 所述的检测装置,其中所述预定图案选自自由线条、多线条、符号、几何形状和字母数字形状组成的组。

[0187] 57. 根据实施例 56 所述的检测装置,其中所述字母数字形状是字母、单词、数字或其组合。

[0188] 58. 根据实施例 1-57 任一所述的检测装置,其中至少两个试剂点包括等量的所述试剂。

[0189] 59. 根据实施例 1-57 任一所述的检测装置,其中至少两个试剂点包括不等量的所述试剂。

[0190] 60. 根据实施例 1-59 任一所述的检测装置,其中所述试剂点中的至少一个具有大约 0.1-1 μ m、1-10 μ m、10-50 μ m、51-100 μ m、101-200 μ m、201-300 μ m、301-400 μ m、401-500 μ m 和 501-1000 μ m 的直径,所述试剂点中的至少一个具有所述基质的长度、宽度或表面积的大约 10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、0.01%、0.001% 的直径或表面积或更小的直径或表面积。

[0191] 61. 根据实施例 60 所述的检测装置,其中至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的所述试剂点具有大约 0.1-1 μ m、1-10 μ m、10-50 μ m、51-100 μ m、101-200 μ m、201-300 μ m、301-400 μ m、401-500 μ m 或 501-1000 μ m 的直径,或至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的所述试剂点具有所述基质的长度、宽度或表面积的大约 10%、5%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、0.01%、0.001% 的直径或表面积或更小的直径或表面积。

[0192] 62. 根据实施例 60 所述的检测装置,其中至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的所述试剂点具有基本相同的尺寸或直径。

[0193] 63. 根据实施例 1-62 任一所述的检测装置,其中所述试剂点中的至少一个具有选自自由线形、圆形、杆形、正方形、三角形、矩形和不规则形状组成的组的形状。

[0194] 64. 根据实施例 63 所述的检测装置,其中至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的所述试剂点具有选自自由线形、圆形、杆形、正方形、三角形、矩形和不规则形状组成的组的形状。

[0195] 65. 根据实施例 63 所述的检测装置,其中至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的所述试剂点具有相同的形状。

[0196] 66. 根据实施例 1-65 任一所述的检测装置,其中所述试剂点中至少两个的边缘之间的距离是大约 1-10 μ m、10-50 μ m、51-100 μ m、101-200 μ m、201-300 μ m、301-400、401-500 或 501-600 μ m。

[0197] 67. 根据实施例 66 所述的检测装置,其中至少四分之一、三分之一、二分之一或全部的所述试剂点之间的所述距离基本相同。

- [0198] 68. 根据实施例 1-67 任一所述的检测装置,包括多层的所述多个试剂点。
- [0199] 69. 根据实施例 1-68 任一所述的检测装置,在所述基质的双面上都包括至少一层多个试剂点。
- [0200] 70. 根据实施例 1-69 任一所述的检测装置,其中所述试剂是无机分子、有机分子或其复合物。
- [0201] 71. 根据实施例 70 所述的检测装置,其中所述有机分子是选自由氨基酸、肽、蛋白质、核苷、核苷酸、寡核苷酸、核酸、维生素、单糖、寡糖、碳水化合物、脂质及其复合物组成的组。
- [0202] 72. 根据实施例 71 所述的检测装置,其中所述蛋白质是抗原或抗体。
- [0203] 73. 根据实施例 1-72 任一所述的检测装置,其中所述基质具有多孔结构。
- [0204] 74. 根据实施例 73 所述的检测装置,其中所述基质包括硝化纤维、玻璃纤维、聚丙烯、聚乙烯(优选非常高的分子量的)、聚偏二氟乙烯、乙烯醋酸乙烯酯、丙烯腈和/或聚四氟乙烯。
- [0205] 75. 根据实施例 1-72 任一所述的检测装置,其中所述基质具有非多孔结构。
- [0206] 76. 根据实施例 75 所述的检测装置,其中所述基质包括塑料、具有亲水表面的基质薄膜,或与样品液体具有控制接触角的材料。
- [0207] 77. 根据实施例 1-76 任一所述的检测装置,进一步包括经过装置部分的流动。
- [0208] 78. 根据实施例 1-77 任一所述的检测装置,其中所述基质是条状或圆形的形式。
- [0209] 79. 根据实施例 1-78 任一所述的检测装置,其中所述基质是单个元件或包括多个元件。
- [0210] 80. 根据实施例 1-79 任一所述的检测装置,其进一步包括位于所述基质上游并与所述基质液体相通的液体或样品施加元件。
- [0211] 81. 根据实施例 1-80 任一所述的检测装置,其进一步包括位于所述基质下游并与所述基质液体相通的液体吸收元件。
- [0212] 82. 根据实施例 1-81 任一所述的检测装置,其中用固体背衬支撑至少一部分所述基质。
- [0213] 83. 根据实施例 1-82 任一所述的检测装置,其中所述基质的一部分,在所述至少两个试剂点的上游,包含干燥的标记试剂,所述标记试剂能够被液体或液体样品迁移至所述至少两个试剂点和/或检测位点处,从而产生检测信号。
- [0214] 84. 根据实施例 83 所述的检测装置,其中所述干燥的标记试剂位于所述检测装置上液体或样品施加位置的下游。
- [0215] 85. 根据实施例 83 所述的检测装置,其中所述干燥的标记试剂位于所述检测装置上液体或样品施加位置的上游。
- [0216] 86. 根据实施例 1-85 任一所述的检测装置,其进一步包括,在所述至少两个试剂点上游的,包含干燥的标记试剂的结合元件,所述标记试剂能够被液体或液体样品迁移至所述至少两个试剂点和/或检测位点,从而产生检测信号。
- [0217] 87. 根据实施例 86 所述的检测装置,其中所述结合元件位于所述检测装置上液体或样品施加位置的下游。
- [0218] 88. 根据实施例 86 所述的检测装置,其中所述结合元件位于所述检测装置上液体

或样品施加位置的上游。

[0219] 89. 根据实施例 86-88 任一所述的检测装置,其中所述标记试剂与所述液体样品中的分析物或非分析物物质结合,优选地,所述标记试剂与所述液体样品中的分析物或非分析物物质特异性结合。

[0220] 90. 根据实施例 86-89 任一所述的检测装置,其中所述标记是可溶的标记。

[0221] 91. 根据实施例 86-89 任一所述的检测装置,其中所述标记是颗粒标记。

[0222] 92. 根据实施例 86-91 任一所述的检测装置,其中所述标记试剂在以下材料存在的情况下被干燥:a) 稳定所述标记试剂的材料;b) 促进所述标记试剂在液体中的溶解或重新悬浮的材料;和/或 c) 提高所述标记试剂的迁移率的材料。

[0223] 93. 根据实施例 92 所述的检测装置,其中所述材料选自自由蛋白质、肽、多糖、蔗糖、多聚物、凝胶和去污剂组成的组。

[0224] 94. 根据实施例 86-93 任一所述的检测装置,其中使用单独的样品液体将所述分析物和/或所述标记试剂运送至所述至少两个试剂点。

[0225] 95. 根据实施例 86-93 任一所述的检测装置,其中用显色液将所述分析物和/或所述标记试剂运送至所述至少两个试剂点。

[0226] 96. 根据实施例 1-95 任一所述的检测装置,其进一步包括覆盖至少一部分所述检测装置的壳体,其中所述壳体包含允许从或朝着所述至少两个试剂点的上游施加样品或液体的样品或液体施加口以及允许在所述至少两个试剂点上进行信号检测的围绕所述至少两个试剂点的视窗。

[0227] 97. 根据实施例 96 所述的检测装置,其中所述壳体覆盖整个检测装置。

[0228] 98. 根据实施例 96 所述的检测装置,其中所述基质的样品接收部分或所述样品或液体施加元件的至少一部分不被所述壳体覆盖,并且样品或液体在所述壳体外被施加至所述基质的所述样品或液体接收部分或所述样品或液体施加元件的一部分,然后被运送至所述至少两个试剂点。

[0229] 99. 根据实施例 96-98 任一所述的检测装置,其中所述壳体包括塑料材料、生物可降解材料或纤维质材料。

[0230] 100. 根据实施例 1-99 任一所述的检测装置,其中所述液体或样品已经沿着所述检测装置侧向移动,从而在所述至少两个试剂点处产生检测信号。

[0231] 101. 一种方法,所述方法包括:

a) 用实施例 1-100 任一所述的检测装置接触液体,其中所述液体被施加到位于所述至少两个试剂点上游的所述检测装置的位点;

b) 向所述至少两个试剂点输送标记试剂;并

c) 在所述至少两个试剂点上估测由所述标记试剂产生的信号的出现、不出现、量和/或图案,从而提供层析对照信息,作为内部对照和/或为所述检测装置提供内部校准信息。

[0232] 102. 根据实施例 101 所述的方法,其中所述液体和所述标记试剂被预先混合形成混合物并将该混合物施加至所述检测装置。

[0233] 103. 根据实施例 101 所述的方法,其中所述检测装置包含使用前是干燥的标记试剂并且所述干燥的标记试剂被溶解或重新悬浮,并通过所述液体运送至所述至少两个试剂点。

[0234] 104. 根据实施例 103 所述的方法,其中所述干燥的标记试剂位于所述样品或液体施加位点的下游,并且所述干燥的标记试剂被溶解或重新悬浮,并通过所述液体运送至所述至少两个试剂点。

[0235] 105. 根据实施例 103 所述的方法,其中所述干燥的标记试剂位于所述样品或液体施加位点的上游,并且所述干燥的标记试剂被溶解或重新悬浮,并通过另一种液体运送至所述至少两个试剂点。

[0236] 106. 根据实施例 103-105 任一所述的方法,其中所述液体是体液样品。

[0237] 107. 根据实施例 106 所述的方法,其中所述体液样品选自由全血、血清、血浆和尿液样品组成的组。

[0238] 108. 根据实施例 101-107 任一所述的方法,其中在所述至少两个试剂点处形成所述检测信号,提供或发挥下述功能中的至少两项:

- 1) 提供层析对照信息;
- 2) 作为内部对照;以及
- 3) 为所述检测装置提供内部校准信息。

[0239] 109. 根据实施例 101-107 任一所述的方法,其中形成所述检测信号,从而提供层析对照信息、作为内部对照和为所述检测装置提供内部校准信息。

[0240] 110. 根据实施例 101-109 任一所述的方法,其进一步包括在液体样品中检测分析物。

[0241] 本领域普通技术人员能认识到本发明可以并入任何数量的上述优选特征。

[0242] 鉴于具体实施方式的详细描述,当结合附图和权利要求一起考虑时,本发明进一步的特征和优势对本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0243] 包括上述实施例仅用于说明性用途,并不旨在限制本发明的范围。可以存在上述实施例的多种变型。既然对上述实施例的修改和变动对本领域技术人员来说将是显而易见的,本发明仅被限制在所附权利要求的范围内。

[0244] 上述出版物或文件的引用不旨在承认任何前述内容是有关的现有技术,也不构成对于这些出版物或文件的内容或日期的任何承认。

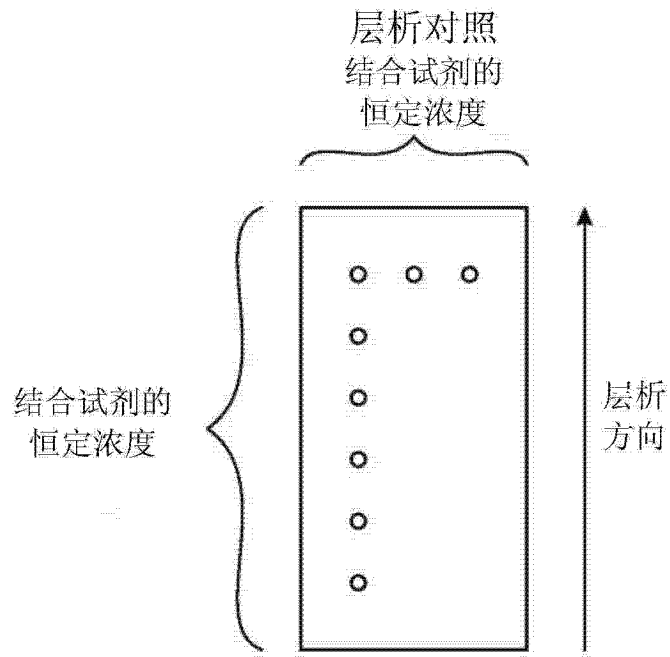


图 1A

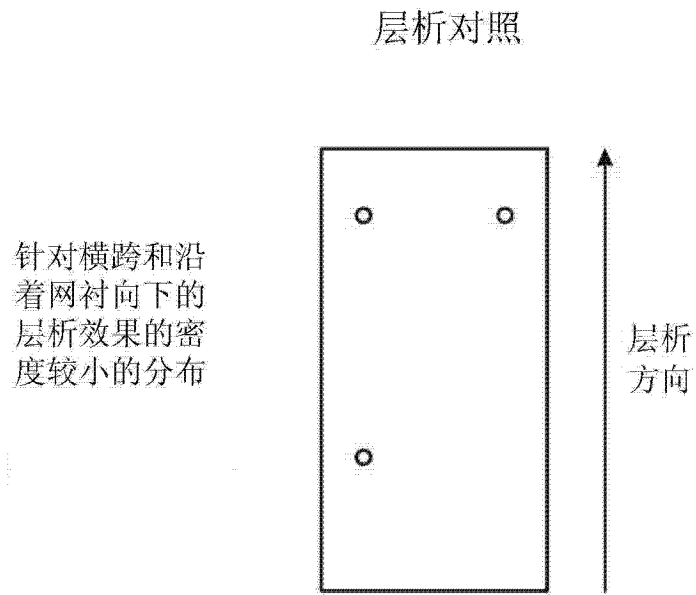


图 1B

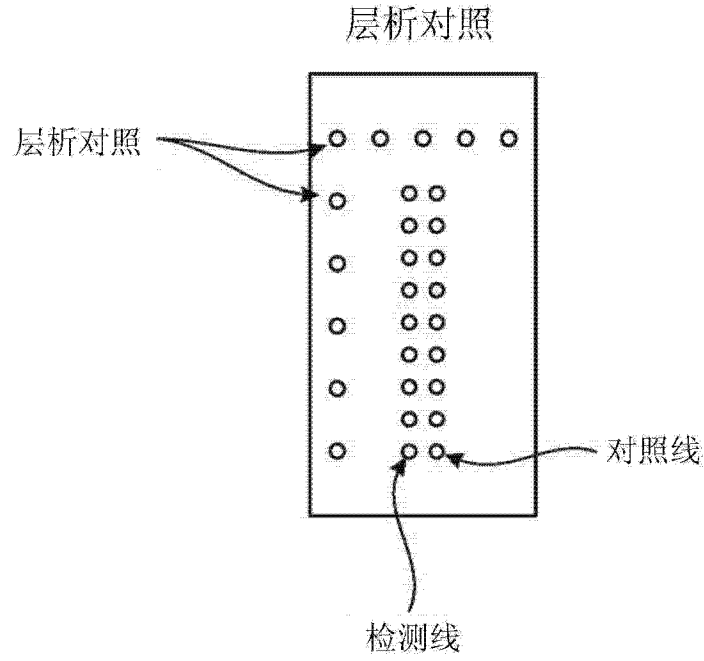


图 1C

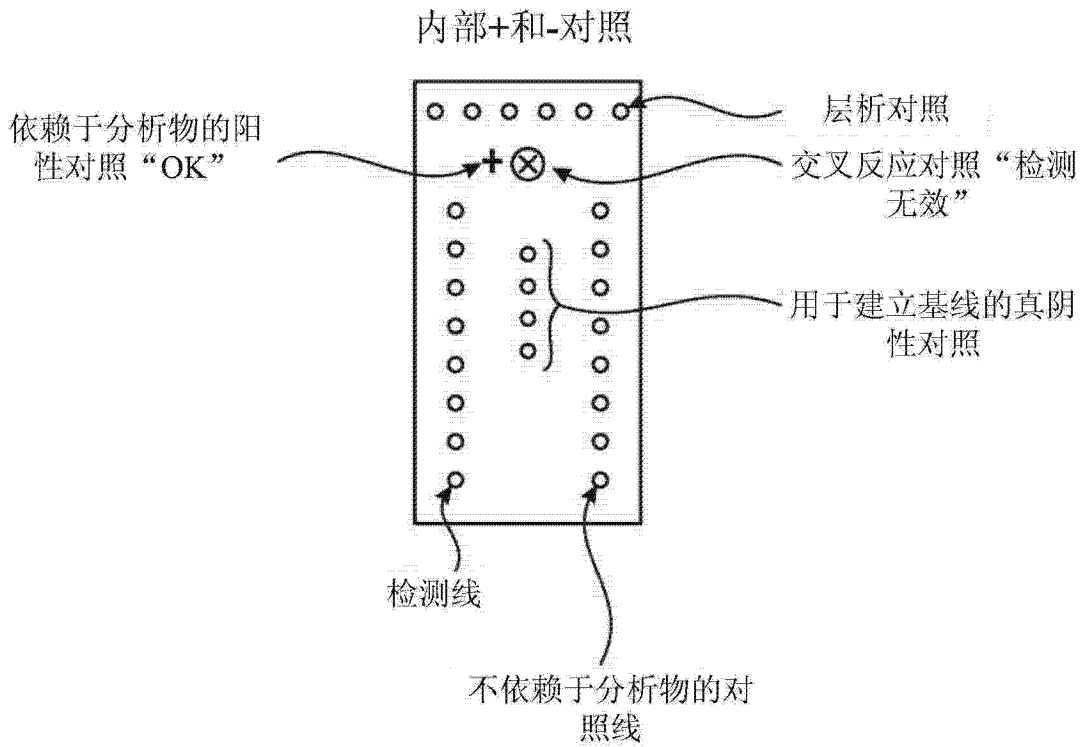


图 2

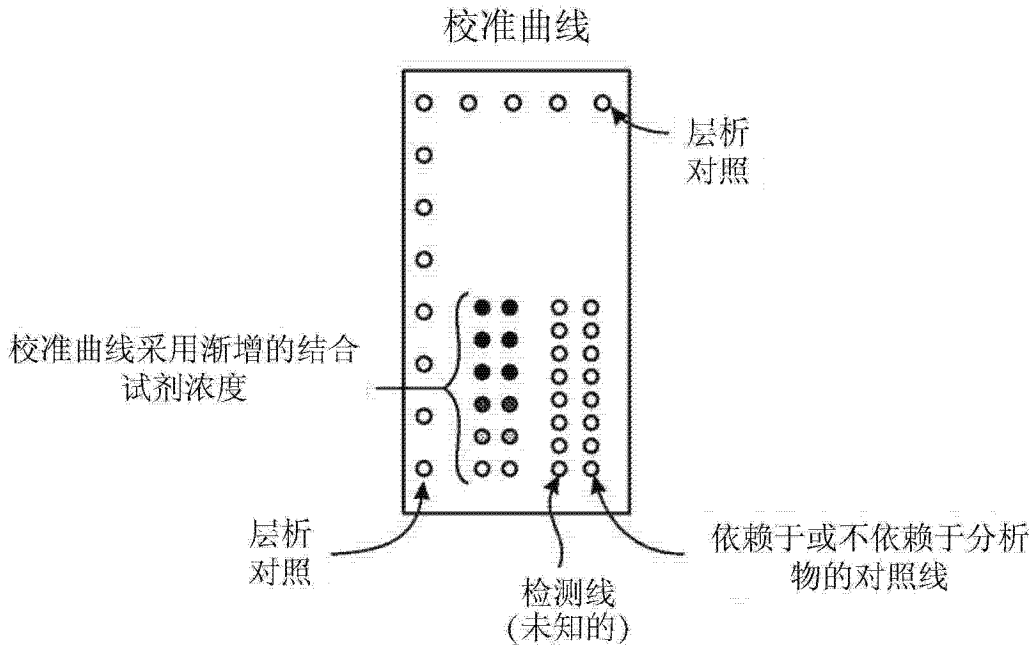


图 3A-1

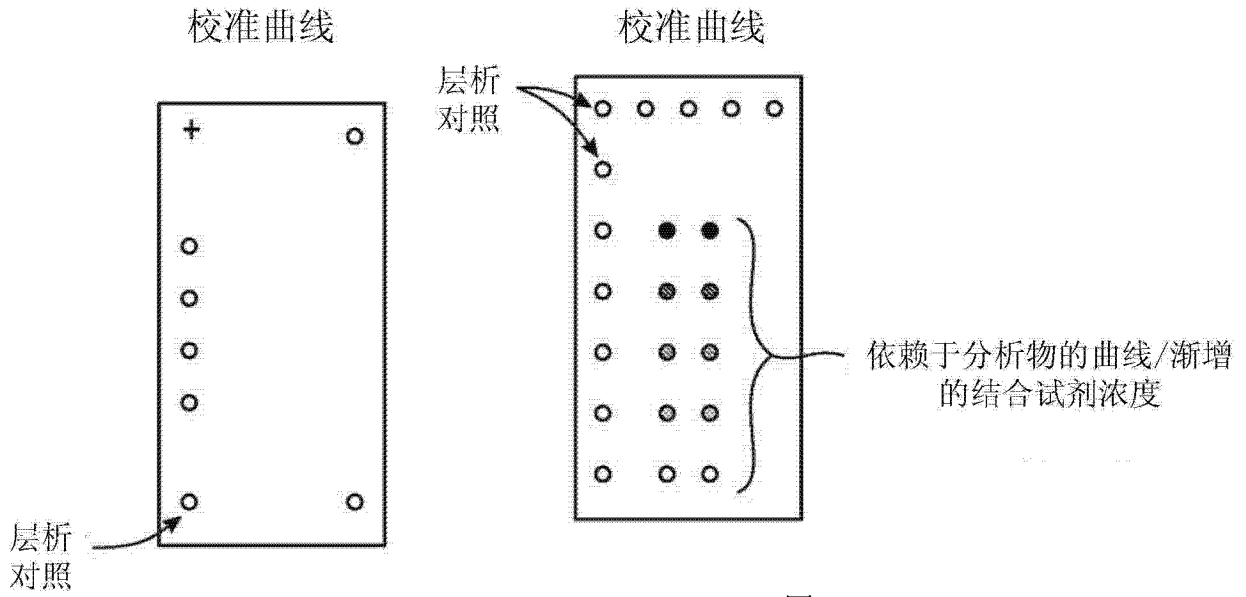


图 3B-1

图 3A-2

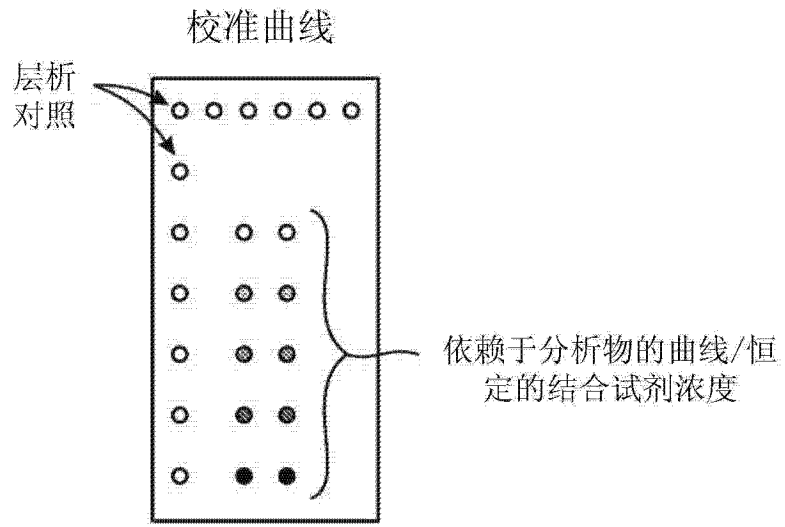


图 3B-2