

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/543

G01N 33/558

G01N 33/58

G01N 33/538



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03808096.6

[43] 公开日 2005 年 7 月 27 日

[11] 公开号 CN 1646913A

[22] 申请日 2003. 4. 10 [21] 申请号 03808096. 6

[30] 优先权

[32] 2002. 4. 10 [33] US [31] 10/120,774

[32] 2002. 6. 3 [33] US [31] 10/162,138

[86] 国际申请 PCT/CA2003/000539 2003. 4. 10

[87] 国际公布 WO2003/087822 英 2003. 10. 23

[85] 进入国家阶段日期 2004. 10. 10

[71] 申请人 反应生物医学公司

地址 加拿大不列颠哥伦比亚省

[72] 发明人 瓦利·K·丰

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 7 页 说明书 34 页

[54] 发明名称 敏感性免疫色原图像测试

[57] 摘要

公开了在液体样品中定量测量需要的分析物的量的方法和在该方法中利用的试剂盒。这些方法包括提供具有膜的固相仪器，膜上具有加载的点，样品捕获带，和对照捕获带，其中样品捕获区域是在接触区和对照捕获带之间；和提供具有分析物结合颗粒的群体或分析物包衣颗粒的群体的样品回收仪器。在这些实验中，在样品回收仪器中导入液体样品，在膜的加载点上加载得到的混合物。液体允许通过毛细管作用家将测试的成分运输到或通过样品捕获带，随后加载到和通过对照捕获带。液体样品中分析物的量涉及了(例如，直接或逆转地)相关的颗粒的量，这可以令人确定为样品捕获带中的颗粒的量的比例和对照的捕获带中的颗粒的量。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 定量测定液体样品中需要的分析物的量的方法，包括：

a)提供包括具有加载点，样品捕获条带和对照捕获带的膜条带的固相仪器，其中样品捕获条带是在接触的区域和对照捕获条带之间；

b)提供含有分析物结合颗粒的群体的样品回收仪器，其中分析物结合颗粒是用分析物结合试剂包衣的；

c) i)在样品回收仪器中导入液体样品，产生混合的液体样品，随后在混合液体样品中导入缓冲液； ii)在样品回收仪器中导入缓冲液，随后导入液体样品；或 iii)通过在缓冲液中导入固体形成液体样品，随后在样品回收仪器中导入液体样品，从而产生包括接触分析物结合颗粒的缓冲，混合液体样品；

d)在膜条带的加载点加载缓冲，混合液体样品；

e)在允许液体通过毛细作用运输接触分析物结合颗粒通过条带到和通过样品捕获带，样品捕获带具有在其上固定的样品捕获试剂，并且允许接触的分析物结合颗粒结合样品捕获试剂的条件下保养膜条带；

f)进一步在允许样品中的液体运输接触的分析物结合颗粒通过毛细作用通过条带到和通过对照捕获带，对照捕获带具有在其上固定的对照捕获试剂，和允许接触分析物结合颗粒结合对照捕获试剂的条件下进一步保养膜条带；

g)在允许样品中的液体通过在毛细作用运输任何接触的分析物结合颗粒不结合样品捕获试剂或对照捕获试剂通过对照捕获带的条件下保养膜条带；

h)确定样品捕获带中的接触分析物结合颗粒的量 and 对照捕获带中的接触分析物结合颗粒的量;

i)确定样品捕获带中的分析物结合颗粒的量中的准确的分析物结合颗粒的量 and 对照捕获带中的分析物结合颗粒的量, 其中液体样品中的需要的分析物的量是直接与准确的分析物结合颗粒的量相关的。

2. 权利要求 1 所述的方法, 其中以样品捕获带中的分析物结合颗粒的量与对照捕获带中的分析物结合颗粒的量的比例确定准确的分析物结合颗粒的量。
3. 权利要求 1 所述的方法, 其中作为样品捕获带中分析物结合颗粒的量与对照捕获带中分析物结合颗粒的量和样品捕获带中的分析物结合颗粒的量的总和的比例确定准确的分析物结合颗粒的量。
4. 权利要求 1 所述的方法, 其中分析物和分析物结合试剂是结合对的成员。
5. 权利要求 1 所述的方法, 其中分析物结合试剂是选自包括: 抗体, 抗体片断, 半抗原, 药物共轭物和受体的组。
6. 权利要求 5 所述的方法, 其中分析物结合试剂是抗体。
7. 权利要求 6 所述的方法, 其中样品捕获试剂是选自包括: 直接抗体与分析物结合颗粒的抗体相同的表位的抗体, 和直接抗和分析物结合颗粒上的抗体的不同的表位的抗体的组的抗体。

8. 权利要求 1 所述的方法，其中在步骤(g)中，样品中的液体通过毛细作用运输任何不结合的接触分析物结合颗粒到样品捕获试剂或到对照捕获试剂，并且沿着对照捕获带进入灯芯垫。
9. 权利要求 1 所述的方法，其中分析物结合颗粒的群体是蒸发干燥的，真空干燥和或冷冻干燥的。
10. 定量测定液体样品中需要的分析物的量的方法，包括：
 - a)提供固相仪器，其中包括膜条带，包括加载点，样品捕获带和对照捕获带，其中样品捕获带是在接触区和对照捕获带之间；
 - b)提供样品回收仪器，其中含有分析物包衣的颗粒的群体，其中分析物包衣颗粒是用分析物或分析物的类似物包衣的；
 - c) i)在样品回收仪器中导入液体样品，产生混合的液体样品，随后在混合的液体样品中导入缓冲液； ii)在样品回收仪器中导入缓冲液，随后导入液体样品；或 iii)通过在缓冲液中导入固体形成液体样品，随后在样品回收仪器中导入液体样品，从而产生缓冲的，混合的包括分析物包衣颗粒的液体样品；
 - d)将缓冲的，混合的液体样品加载到膜条带的加载点；
 - e)在允许液体通过毛细作用运输分析物包衣颗粒通过条带和通过样品捕获带，样品捕获带具有在其上固定的样品捕获试剂；和允许分析物包衣颗粒结合样品捕获试剂的条件下保养膜条带；
 - f)在允许样品中的液体通过毛细作用运输分析物包衣颗粒通过条带和通过对照捕获带，对照捕获带具有在其上固定

对照捕获试剂和允许分析物包衣颗粒结合对照捕获试剂的条件下保养膜条带；

g)进一步在允许样品中的液体通过毛细作用在对照捕获带下运输不结合样品捕获试剂或对照捕获试剂的任何分析物包衣颗粒；

h)确定样品捕获带中的分析物包衣颗粒的量 and 对照捕获带中的分析物包衣颗粒的量；

i)确定来自样品捕获带中的分析物包衣颗粒的量和对照捕获带中的分析物包衣颗粒的量的准确的分析物包衣颗粒的量，

其中在液体样品中的需要的分析物的量是与准确的分析物包衣颗粒的量成反比的。

11. 权利要求 10 所述的方法，其中将准确的分析物包衣颗粒的量确定为样品捕获带中分析物包衣颗粒的量与对照捕获带中分析物包衣颗粒的量的比例。
12. 权利要求 10 所述的方法，其中将准确的分析物包衣颗粒的量确定为样品捕获带中的分析物包衣颗粒的量与对照捕获带中的分析物包衣颗粒的量和样品捕获带中的分析物包衣颗粒的量的总和的比例。
13. 权利要求 10 所述的方法，其中分析物和样品捕获试剂是结合对的成员。
14. 权利要求 10 所述的方法，其中样品捕获试剂是选自包括：抗体，抗体片断，半抗原，药物共轭物；和受体的组。
15. 权利要求 14 的方法，其中样品捕获试剂是抗体。

16. 权利要求 10 所述的方法，其中在步骤(g)中，样品中的液体通过毛细作用沿着灯芯垫中的对照捕获带运输没有与样品捕获试剂或对照捕获试剂结合的任何分析物包衣颗粒。
17. 权利要求 10 所述的方法，其中分析物包衣颗粒的群体是蒸发干燥的，真空干燥的或冷冻干燥的。
18. 权利要求 1 或权利要求 10 所述的方法，其中膜条带是硝酸纤维素或玻璃纤维制成的。
19. 权利要求 1 或权利要求 10 所述的方法，其中颗粒是乳汁小珠。
20. 权利要求 1 或权利要求 10 所述的方法，其中颗粒被标记的。
21. 权利要求 20 所述的方法，其中标记选自包括，色度，荧光，磷光，发光，化学发光和酶联分子的组的标记。
22. 权利要求 4 或权利要求 13 所述的方法，其中结合对的一个成员选自包括孢子，蛋白质，激素，酶，糖蛋白，肽，小分子，聚糖，凝集素，抗体，抗体片断，核酸，药物，药物共轭物，毒素，病毒，病毒颗粒，细菌，细胞壁的一部分，半抗原和受体的组。
23. 权利要求 6 或权利要求 15 的方法，其中对照捕获试剂是抗免疫球蛋白抗体。
24. 权利要求 1 或权利要求 10 的方法，其中液体样品选自包括：全血，血浆，血清，脉，脊椎液，唾液，精液，角膜液和滑液的组。

25. 权利要求 1 或权利要求 10 的方法，其中液体样品包括悬浮的固体。
26. 权利要求 25 所述的方法，其中固体选自包括，微粒样品，粉末样品，土壤样品和孢子的组。
27. 权利要求 16 的方法，其中孢子包括炭疽杆菌或球杆菌的孢子。
28. 权利要求 1 或权利要求 10 的方法，其中液体样品选自包括：水，地下水，污水和废水的组。
29. 权利要求 1 或权利要求 10 的方法，其中需要的分析物选自包括肌红蛋白，蓖麻蛋白，C 反应蛋白质，b-利尿肽，CK-MB，肌钙蛋白 I 和 PSA 的组。
30. 权利要求 1 或权利要求 10 所述的方法，其中需要的分析物选自包括弗朗西斯菌；Claustridia 或由此产生的毒素，和天花(小痘)病毒或其他痘病毒的组。
31. 权利要求 1 或权利要求 10 所述的方法，其中在步骤(d)中，混合的液体样品通过加载垫加载到加载点。
32. 权利要求 1 或权利要求 10 的方法，其中样品回收仪器选自包括吸管和吸管尖的组。
33. 一种试剂盒，包括：具有膜条带，包括加载点，样品捕获带和对照捕获带的固相仪器，其中样品捕获带是在接触区和对照捕获带之间，和含有分析物结合颗粒的样品回收仪器。

-
34. 权利要求 33 的试剂盒，其中样品回收仪器选自包括吸管和吸管尖的组。
 35. 权利要求 33 的试剂盒，其中分析物结合颗粒的群体是蒸发干燥，冷冻干燥或真空干燥。
 36. 权利要求 35 所述的试剂盒，另外包括：关于标准曲线的信息，批次信息，和/或关于吸管尖中的分析物结合颗粒的输出日期。
 37. 权利要求 33 的试剂盒，另外包括缓冲液和一种或多种缓冲液容器。
 38. 权利要求 33 的试剂盒，另外包括样品回收工具。

敏感性免疫色原图像测试

涉及的申请

本申请要求 2002 年 6 月 3 日递交的美国申请号 10/162,138 的优先权并是其的部分继续申请, 而该申请是 2002 年 3 月 10 日递交的美国申请 10/120,774 的部分继续申请, 它们的整个内容都通过在此引述而合并于本文。

发明背景

在身体样品中, 特别是身体体液样品中的细胞和分析物的定量分析经常提供医生和患者的关键的诊断和治疗信息。定量的免疫测试利用了抗原(Ag) - 抗体(Ab)检测和定量样品中 Ag 或 Ab 的量的反应的特异性。在固相免疫测试中, 一个试剂(例如, Ag 或 Ab)附着于固相表面, 简化从游离的试剂或分析物分离结合试剂或分析物的过程。将固相与结合 Ag 或 Ab 的分析物的样品接触; 定量这一结合的程度, 提供样品中分析物的浓度的措施。但是, 将结合事件转导成可检测的信号是受许多限制的影响的, 包括将颗粒运动限制于固相上, 这也影响了定量的免疫测试的特异性和应用。

发明概述

本发明涉及利用固体相测试(例如, 一个三明治免疫测试或抑制免疫测试)测量液体样品中的需要的分析物的量, 其中需要的

分析物和捕获试剂可以用作特异的结合对的部分，本发明还涉及在这一方法中利用的试剂盒。

在本发明的方法中，提供了固相仪器，包括具有应用点的膜条带，样品捕获带和对照捕获带；样品捕获带是在接触区域和对照捕获带之间的。样品捕获试剂(例如，结合需要的分析物的试剂，如结合需要的分析物的抗体)固定在样品捕获带中。将对照捕获试剂(例如，结合分析物结合颗粒，如抗免疫球蛋白抗体的试剂)固定在对照捕获带中。同样提供的是含有颗粒群体，如储存在固定形式中的脂质体，胶质金，或有机多聚体乳汁颗粒的样品回收仪器。

在本发明的“三明治”免疫测试中，颗粒是用与需要的分析物结合的试剂(例如，抗体)的“分析物结合”颗粒。在“竞争”或“抑制”实验中，颗粒是用需要的分析物包衣的“分析物包衣”颗粒。在实验类型中，可以利用色度计，荧光，免疫荧光，化学发光，或其他适当的标记来标记颗粒，简化检测。

在这些方法的一个实施方案中，将用于需要的分析物中待评估的液体样品导入样品回收仪器，随后在混合的液体样品中导入一种缓冲液。在这些方法的另一个实施方案中，在样品回收仪器中导入缓冲液，随后导入用于需要的分析物中待评估的液体样品。在这些方法的第三个实施方案中，通过在缓冲液中导入，形成液体样品，随后在样品回收仪器中导入液体样品。在这些实施方案中的任何一个中，产生了含有颗粒的缓冲的，混合的液体样品。

在三明治实验中，存在于样品中的需要的分析物与分析物结合颗粒反应，导致在混合液体样品中接触分析物结合颗粒。将缓冲的，混合液体样品加载到固相仪器的膜条带的加载点上。然后，

在足以允许液体的毛细作用运输到和通过样品捕获带的条件下保养固相仪器。

样品捕获试剂与接触的分析物结合颗粒反应，导致在样品捕获带中捕获颗粒。液体的毛细作用另外固定了接触的分析物，不仅将颗粒结合到和通过样品捕获带，而且结合到并且通过对照捕获带，其中它们结合了对照捕获试剂。液体的毛细作用连续地固定剩余的未结合的颗粒，通过对照捕获带(例如，灯芯垫)。然后确定在样品捕获带，和在对照捕获带中捕获的分析物结合颗粒的量。

然后，确定液体样品中需要的分析物的量。例如，可以确定液体样品中需要的分析物的量，比例在 1)在样品捕获带中捕获的分析物结合颗粒的量，和 2)在对照捕获带中的分析物结合颗粒的量之间。或者，在液体样品中的需要的分析物的量可以被确定，比例在(1)在样品捕获带中捕获的分析物结合颗粒的量，和 2)在对照捕获带中分析物结合颗粒的量和在样品捕获带中捕获的分析物结合颗粒的量之间的比例。

在测试的竞争或抑制类型中，在固相仪器的膜条带的加载点加载缓冲的，混合的液体样品。然后，在足以允许毛细液体作用运输颗粒到和通过样品捕获带的条件下维持。

样品捕获试剂与分析物包衣颗粒反应；样品捕获试剂和分析物包衣颗粒的相互反应导致在样品捕获带中捕获分析物包衣颗粒。由于在样品捕获带中样品捕获试剂上结合位点的样品中的分析物包衣颗粒和分析物(如果存在)之间的竞争，在样品捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量是便于样品中的分析物的量成反比的。液体的毛细作用进一步不仅将分析物包衣颗粒固定在样品捕获带，而且固定在对照捕获带上，在捕获带中它们结合了对照捕

获试剂。然后，确定在样品捕获带和在对照捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量。

然后，确定在液体样品中的需要的分析物的量。例如，在液体样品中的需要的分析物的量涉及下面的一个反比，1)在样品捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量，和2)对照捕获带中的分析物包衣颗粒的量之间的比例。或者，在液体样品中的需要的分析物的量涉及下面的一个反比，1)在样品捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量，和2)在对照捕获带中的分析物包衣颗粒的量和在样品捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量之间的比例。

通过在这样的定量测试中的固体相的液体流对测试的动力学特性有作用：与颗粒结合的分析物的量，以及在固相上与位置相关的颗粒的定位是在流中。固相反应剂的结构以及液体样品的黏度和其他因子从而可以对在测试的特异性的限制有作用。本发明的方法减少了对测试的动力学特性的一些约束，从而允许在溶液中更准确地确定需要的分析物的量。例如，在三明治测试中，由于将带测试需要的分析物的液体样品在加载到膜上之前与分析物结合颗粒混合，在发生在膜中的捕获反应之前需要的分析物结合分析物结合颗粒需要更长时间。另外，由于在需要的分析物和分析物结合颗粒之间的反应发生在液体相中，由于更大的颗粒迁移力，需要比在固相仪器的膜的基质中的需要的分析物和分析物结合颗粒之间的相同的反应更快速和更有效的结合。在三明治测试和抑制(竞争)测试中，增加利用的颗粒的体积而不过度加载膜是可能的，从而增加测试的敏感性。另外，以连续的方式，颗粒通过液体的毛细作用通过捕获带，而不是通过在液体前沿的冠羽上的快速的波，允许更有效地捕获颗粒，从而增强测试的敏感性。

发明的详细说明

本发明涉及利用实验，特别是定量的免疫色原测试和其试剂盒定量测定分析物的量的方法。

一个“实验”，如本文所用指确定一个或多个分析物的存在，没有或量的样品的分析的体外方法。分析物和分析物结合试剂是特定的“结合对”的成员，其中结合对(例如，分析物)的第一个成员特定地与第二个成员(例如，结合试剂)反应。结合对的一个或两个成员可以是抗体。例如，结合对的第一个成员(例如，需要的分析物)可以是抗体，结合对的第二个成员(例如，结合试剂)可以是抗免疫球蛋白抗体；或者，结合对的第一个成员(例如，分析物)可以是抗原，结合对的第二个成员(例如，结合试剂)可以是抗体。

在一个实施方案中，测试是利用抗体作为方法的成分的“免疫测试”。在一个优选的实施方案中，免疫测试是“三明治”测试，是分析物的一个测试，其中将待评估分析物的存在或没有，或量的液体样品与用分析物结合试剂，如抗分析物的抗体包衣的颗粒接触，将得到混合物加载到膜上，随后通过膜通过毛细作用随后运动。通过检测在膜的捕获带中的分析物和分析物结合试剂包衣颗粒之间的相互作用表明了阳性结果，在捕获带中的分析物结合试剂包衣颗粒的分析物的量与液体样品中的分析物的量相关。在另一个优选的实施方案中，免疫测试是“抑制”或“竞争”测试，这是一个分析物的测试，其中待评估分析物的存在或没有或量的液体测试样品是与分析物包衣的颗粒接触的，得到的混合物加载到膜上，随后通过膜毛细作用与该系统而运动。通过检测膜的捕获带中的分析物结合试剂和分析物包衣颗粒之间的相互作用表明阳性的结果，在捕获带中的分析物包衣颗粒的量与液体样品中的分析物的量成反比。

在本发明的测试的另一个实施方案中，分析物或结合试剂是抗体：例如，结合对的第一个成员可以是一个配体，结合对的第二个成员可以是一个受体；或者，结合对的第一个成员可以是凝集素，结合对的第二个成员可以是糖。仍然在另一个实施方案中，结合对的第二个成员可以是核酸(例如，DNA，RNA)，结合对的第二个成员可以是特异地与结合对的第一个成员杂交的核酸。如本文所用，“特异的杂交”是指第一个核酸与第二个核酸杂交的能力，方式是第一个核酸不与任何核酸杂交，而与第二个核酸(例如，当第一个核酸与第二个核酸，比进行杂交的样品中的任何其他核酸具有更高的相似性)。杂交的“严格条件”是技术术语，指温育和洗涤条件，例如，温度和缓冲液浓度的条件，允许特定的核酸与第二个核酸杂交；第一个核酸可以是完全与第二个互补的(即，100%)，或第一个和第二个可以共享一些程度的互补，接近完全(例如，70%，75%，80%，85%，90%，95%)。例如，可以利用一些高度严格的条件，从那些更少的互补区别完美的互补核酸。核酸杂交的“高度严格条件”，“中度严格条件”，和“低严格条件”解释在现代分子学方案中的 2.10.1-2.10.16 和 6.3.1-6.3.6 页上(Ausubel, F.M.等人., “现代分子学方案”，John Wiley & Sons, (1998)，整个内容引入作为参考)。确定杂交的严格度的准确条件不仅依赖于离子强度(例如，0.2XSSC, 0.1XSSC)，温度(例如，室温，42℃，68℃)，和去稳定试剂的浓度，如甲醛或变性剂，如 SDS，而且依赖于因子，如核酸序列的强度，碱基组成，在杂交序列之间的错配的百分数，和在其他非相同的序列内该序列的亚系出现的频率。所以，通过改变一个或几个这些参数可以确定等当的条件，而同时维持了两个核酸分子之间的同一性或相似性的相似程度。

不管分析物和结合试剂的组成，这两个成分不管形成特异的结合对，其中第一个成员与第二个成员特异地反应。在结合对的

成员之间的特异的相互作用表明，结合对的第一个成员优选地与结合对的第二个成员结合或相互作用，优选地排除测试中的另一个化合物的任意结合。

如本文所用，术语“分析物”或“需要的分析物”是指如上所述的结合对的第一个成员。分析物是量待测量的分子或化合物。分析物可以是固体形式，如干的物质(例如，粉末，颗粒，孢子，或其他颗粒)，或可以是液体的形式(例如，已经溶解或悬浮液液体，或其他液体样品中的如上所述的固体)。分析物的例子包括孢子，蛋白质，如激素或酶；糖蛋白；肽；小分子；聚多糖；抗体；核酸；药物；毒素(例如，环境毒素)；病毒或病毒颗粒；细菌；其他感染剂或感染剂的产物；细胞壁部分；和其他化合物。在优选的实施方案中，分析物是“免疫原性的”，表明可以产生抗体(如下所述)抗分析物，或抗结合载体的分析物(例如，半抗原-载体共轭物，对此抗原可以产生抗半抗原的)。在一些代表性实施方案中，需要的分析物可以是肌红蛋白；CK-MB；肌钙蛋白 I；PSA；地高辛；茶碱；蓖麻蛋白；C-反应蛋白质；或 b-排钠利尿剂肽。在其他代表性实施方案中，需要的分析物可以是激素(例如，T-3 或 T-4)或 abuse 的一个药物(LSD, THC, 巴比妥盐等等)。在仍然其他的代表性实施方案中，需要的分析物可以是感染剂或感染剂的产物，如 *Francisella tularensis*(tularemia 的成因剂)；*Claustidia* 或由此产生的毒素(*botulinum* 毒素)；*Variola*(天花)病毒或其他痘病毒(例如，牛痘，猴痘)；或一个杆菌类型的孢子，如炭疽柑橘(炭疽)或克虏伯氏芽孢杆菌。需要的分析物可以是液体样品；或者需要的分析物可以是干(非液体)样品(例如，固体，如颗粒样品，粉末样品或土壤样品)。

在本发明的方法中，评估液体样品中需要的分析物的存在或没有或量。液体样品可以是湿润膜物质的液体；支持需要的分析物和分析物结合试剂如抗体/抗原反应(即，不干扰抗体/抗原相互作用)之间的反应；并且具有足够低允许通过毛细作用运动液体的黏度。在优选的实施方案中，液体是水溶液(如体液)。液体样品可以是具有相对少成分的液体，例如含有需要的分析物的水溶液；或者液体样品可以是具有许多成分的液体，如复合物环境样品(例如，污水，废水，地下水，和其他水样品)，或复合物生物液体(例如，整个血液，血浆，血清，尿，脊椎液，唾液，精液，透明的液体，滑液，或其他生物液体)。在优选的实施方案中，其中液体是生物液体，液体是整个血液，血浆，或血清。如果需要，液体样品可以稀释；例如，如果利用复合生物液体作为液体样品，可以用溶液稀释(例如，水溶液)。

如果需要的分析物不是在溶液中(例如，需要的分析物是在干或固体样品中，如上所述)，可以将它萃取，悬浮，或溶解于液体样品中。例如，如果需要的分析物是核酸，可以从需要的细胞中萃取到溶液中(例如，水溶液，如下所述的缓冲液)；在另一个例子中，如果需要的分析物是粉末或特别的物质(例如，粉末，颗粒，固体样品，或孢子)，可以悬浮或溶解溶液中(例如，水溶液，如下所述的缓冲液)，如通过得到干物质的样品(例如，利用棉拭或其他仪器)，并且将干物质的样品放置于溶液中。所以，“液体样品”可以不仅指大批评估需要的分析物的液体样品，而且可以指液体样品，其中萃取固体物质(待评估需要的分析物)，悬浮或溶解。

如本文所用，“分析物结合试剂”指如上所述的结合对的第二个成员。分析物结合试剂是特异地结合分析物(结合对的第一个成员)的化合物，如抗体，半抗原或药物共轭物，受体，或另

一个结合伙伴。在一个优选的实施方案中，分析物结合试剂是抗需要的分析物的抗体。

三明治测试

本发明的“三明治”测试利用了固相仪器。固相仪器包括具有加载点的膜条带，样品捕获条带，和对照捕获条带。固相仪器或者可以包括在控制捕获条带下的灯芯垫，和与之邻接或覆盖应用点的样品电。膜条带可以制成具有下面特征的物质：足够多空以致允许液体沿着它的表面和通过它的内部的毛细作用；有能力允许包衣颗粒(例如，分析物结合颗粒，如下所述)，或颗粒复合物和需要的分析物(例如，接触的分析物结合颗粒，如下所述)通过毛细作用(即，它不阻断颗粒或颗粒的复合物和需要的分析物)运动；和通过含有分析物的液体湿润的能力(例如，水溶液的亲水性，有机溶剂的疏水性)。膜的疏水性可以通过如美国专利号，4,340,482，或美国专利号 4,618,533 中所述的那些的方法使膜亲水，可用于水溶液而改变，这些专利中叙述了将亲水表面转化成疏水表面。膜物质的例子包括：纤维素，硝酸纤维素，纤维素乙酸，玻璃纤维，尼龙，聚电解质离子交换膜，丙烯酸共聚物/尼龙，和聚醚磺。在一个优选的实施方案中，膜条带是硝基纤维素制成的(例如，具有 Mylar 回硝基纤维素膜)。

“应用点”是可以加载液体的膜的位置。“加载垫”或者也可以利用；加载垫其余在膜上，非常邻接或覆盖加载点。当应用到垫上，应用到膜上的加载点时，加载垫可以制成递送液体样品的吸附物质。代表性的物质包括纤维素，硝基纤维素，乙酸纤维素，尼龙，聚电解质离子交换膜，丙烯酸共聚物/尼龙，聚醚磺，或玻璃纤维。在一个实施方案中，垫是 Hemasep® - V 垫(Pall 公司)。在另一个实施方案中，垫是玻璃纤维垫。如果存在灯芯垫，可以相似地从这样的吸附物质中制成。

“样品捕获带”指膜条带上的点，在膜条带上固定了“样品捕获试剂”（例如，包衣在和/或渗透通过膜）。样品捕获试剂是分析物结合试剂，如上所述的那些。样品捕获试剂不需要如上所述的相同的分析物结合剂；但是，样品捕获试剂也与需要的分析物形成了结合试剂；因为它特异地和优选地结合需要的分析物。在一个优选的实施方案中，样品捕获试剂是直接抗分析物的抗体；它可以直接抗分析物的相同的表位，如抗来自结合用作包衣在颗粒上的分析物结合试剂的抗体的表位的分析物的不同的表位。

仪器另外包括固定在“对照捕获带”中的“对照捕获试剂”。对照捕获试剂是与分析物结合颗粒反应，单与带测试的分析物不反应的试剂，例如，对照捕获试剂可以与分析物结合试剂包衣颗粒上的分析物结合试剂反应；可以与颗粒上的另一个物质；或与颗粒本身反应。例如，如果分析物结合试剂是抗体，对照捕获试剂可以是抗免疫球蛋白的抗体。在优选的实施方案中，分析物结合试剂是抗体，对照的捕获试剂是抗免疫球蛋白的抗体。对照的捕获试剂是固定于对照捕获带的膜上（包衣在和/或渗透在膜上）的。

定位对照捕获带，使样品捕获带在加载点和对照捕获带之间。在优选的实施方案中，对照捕获带是非常接近样品捕获带的，以致该测试成分的毛细作用的动力学在对照捕获带和样品捕获带中是相似的（例如，基本相同）。虽然它们非常接近，但对照捕获带和样品捕获带也足够间隔开，以致在各个带中捕获的颗粒可以个别定量（例如，没有交联）。另外，在一个优选的实施方案中，样品捕获带是从加载点通过一个大距离的间隔从加载点分离，这个距离与样品捕获带和对照捕获带之间的小距离有关。毛细前沿的速度（通过毛细作用通过膜的液体运动的边界）是与来自液体的

加载点的毛细前沿的距离相关的。因为颗粒捕获是这一测试中的速度限制步骤，当毛细前沿达到样品捕获带时，在接触区(其中毛细前沿固定了分析物结合颗粒)和捕获带(其中捕获颗粒)之间的距离必须足以延迟毛细前沿的速度到有关足够慢以致允许捕获颗粒的速度。另外，该距离必须足够大以致迁移的总时间(通过这个膜的毛细前沿的运动)足够长以致能允许在液体样品中的游离分析物结合分析物结合颗粒。在膜条带的成分之间的最佳距离是可以确定的，和利用常规实验调节的。

定量测试另外利用了有关样品回收仪器。如本文所用，“样品回收仪器”指可以用于回收液体样品和仪器，或在其中回收液体样品可以存储或储存的仪器。样品回收仪器是可以含有分析物结合颗粒的任何仪器，如下所述，并且可以是加入测量的液体样品的体积的仪器。代表性样品回收仪器包括样品管，测试管，小瓶，吸管，或吸管尖，针筒。在一个优选的实施方案中，样品回收仪器是吸管或吸管尖。

样品回收仪器含有用分析物结合试剂包衣的“分析物结合颗粒”的群体。颗粒的群体柑橘颗粒的大小和组成，固相仪器的膜的组成，测试的敏感性的水平而改变。群体通常的范围约在 1×10^3 和 1×10^9 之间，尽管如果需要可以利用更少或更多。在一个优选的实施方案中，群体是约 2×10^8 个颗粒。

分析物结合颗粒是可以用分析物结合试剂(结合对的第二个成员)包衣的颗粒。在一个优选的实施方案中，分析物结合颗粒是脂质体，胶质金，有机多聚物乳汁颗粒，有机荧光颗粒或磷光颗粒。在一个优选的实施方案中，颗粒是聚苯乙烯乳汁小珠，最优选地，是在没有表面活性剂，如无表面超活性均一甲醛/硫酸乳汁时已经制备的聚苯乙烯乳汁小珠(Interfacia 动力公司, Portland, OR)。

颗粒的大小涉及膜的多孔性(用于液体样品的分析物)和涉及需要的分析物的大小(例如,对于颗粒分析物):颗粒必须足够小以便能沿着膜,通过液体的毛细作用运输,同时(对于固体,例如颗粒分析物),对于接触分析物结合颗粒的复合物足够小,如下所述,以便能通过毛细作用沿着膜运输。可以标记颗粒简化检测。通过不明显影响颗粒的物理特性的方法可以标记颗粒;例如内部标记颗粒(即,该标记包括在颗粒中,如在脂质体中或在聚苯烯乳汁小珠中)。代表性标记包括荧光标记;化学发光标记;磷光标记;酶联标记;化学标记,如电活性试剂(例如,铁氰酸);和颜色标记,如染料或荧光标记。在一个实施方案中,利用了荧光标记。在另一个实施方案中,利用了磷光颗粒,特别地是“上转换”磷光颗粒,如美国专利号 5,043,265 中所述。

用是结合对的第二个成员的分析物结合试剂包衣颗粒。如上所述,分析物结合试剂(结合对的第二个成员)特异地和优选地结合需要的分析物(结合对的第一个成员)。代表性分析物结合试剂包括抗体(或其片断);半抗原,药物共轭物,受体,或群体结合伙伴。在一个优选的实施方案中,分析物结合试剂是需要的分析物的抗体。抗体可以是单克隆抗体或多克隆抗体。如本文所用,术语“抗体”也指足以结合需要的分析物的抗体片断。或者,在另一个实施方案中,也可以利用特异地结合需要的分析物的分子,如具有分析物结合位点的工程化蛋白质(Holliger, P. and H. R. Hoogenbloom, 生物技术趋势, 13: 7 - 9(1995); Chamow, S.M. 和 A.Ashkenazi, 生物技术趋势, 14: 52 - 60: 1996)。在仍然另一个实施方案中,如果需要的分析物是药物,半抗原或群体药物共轭物可以用作分析物结合试剂。或者,在其他的实施方案中,可以利用结合分析物的受体(例如,如果需要的分析物是配体)。如果分析物是已知特异性的抗体,那么颗粒可以用抗分析物抗体的抗原包衣,或可以用抗分析物抗体的抗体包衣。另外,因为分

析物和分析物结合试剂形成结合对，如上所述的化合物和分子代表性分析物也可以用作分析物结合试剂，那些叙述作为代表性分析物结合试剂可以相似地作为分析物，如本文所述。

在样品回收仪器中含有的分析物结合颗粒储存以稳定的形式储存在样品回收仪器中。在本文使用的术语“稳定形式”表示了一个形式，其中颗粒不明显在储存过程中的化学状态或物理状态中改变。稳定形式可以是液体，凝胶和固体形式。在优选的实施方案中，在样品回收仪器内包含的分析物结合颗粒是蒸发性干燥；冷冻干燥的；和/或真空干燥的。

在特别优选的实施方案中，样品回收仪器是吸管尖，其中是真空干燥分析物结合颗粒。

为了进行测试，利用了如上所述的评估需要的分析物的存在的液体样品。在一个实施方案中，在样品回收仪器中导入(拉出，注入，或放置于)液体样品。例如，在一个实施方案中，将液体样品拉出注入具有吸管尖的样品回收仪器。在样品回收仪器中导入液体样品导致将液体样品与分析物结合颗粒混合，形成“混合液体样品”。如果分析物结合颗粒是挥发性的，冷冻的，或真空干燥的，在样品回收仪器中导入液体样品可以导致液体样品中分析物结合颗粒的再水化和悬浮。缓冲液(例如，对于稀释)也导入混合的液体样品，形成“缓冲的，混合的液体样品”。缓冲的，混合的液体样品可以通过将混合的液体样品分散进含有缓冲液的“缓冲液容器”(例如，测试管)中混合液体样品，或通过导入液体样品之前在样品回收仪器中导入缓冲液形成。或者，如果需要的分析物是固体(例如，如上所述的粉末，颗粒，孢子，或其他颗粒)，可以通过在缓冲液容器中导入固体来制备如上所述的液体样品，在这样实施方案中，缓冲的，混合的液体样品是通过在样品回收仪器中导入液体样品(含有缓冲液)来形成的。在另

一个实施方案中，在样品回收仪器中导入缓冲液，接着在样品回收仪器中导入液体样品。

缓冲液可以是支持需要的分析物和分析物结合试剂(例如，不干涉抗体/抗原相互反应)之间的反应，和具有足够低的黏度以致允许通过毛细作用运动液体的水液体。在一个实施方案中，缓冲液含有一个或几个下面的成分：缓冲试剂(例如，磷酸)；盐(例如，NaCl)；蛋白质稳定剂(例如，BSA，酪蛋白，血清)；和/或去垢剂，如非离子去垢剂或表面活性剂(例如，通常在表面活性剂试剂工具试剂盒中可得的一个或多个下面的试剂：NINATE 411, Zonyl FSN 100, Aerosol OT 100%, GEROPON T-77, BIO - TERGE AS - 40, STANDAPOL ES - 1, Tetronic 1307, Surfnyol 465, Surfynol 485, Surfynol 104PG-50, IGEPAL CA 210, TRITON X-45, TRITON X-100, TRITON X305, SILWET L7600, RHODASURF ON -870, Cremophor EL, TWEEN 20, TWEEN 80, BRIJ 35, CHEMAL LA-9, Pluronic L64, SURFACTANT 10G, SPAN 60, CREL)。或者，如果需要，缓冲液可以含有增稠剂。缓冲液的这样的成分是商业可得的。代表性的缓冲液包括，例如，盐，或 50mM Tris-HCl, pH7.2。或者，水可以在缓冲溶液中利用，如本文所用，术语“缓冲液”指缓冲溶液或水。

为了进一步将分析物结合颗粒分散在液体样品中，如果需要，可以搅拌(例如，涡旋，振摇，抽吸，等等)，液体样品和缓冲液已经导入其中的样品回收仪器，或已经导入混合液体样品的缓冲液容器。

在一个优选的实施方案中，样品回收仪器含有在它的尖内具有真空干燥分析物结合颗粒的吸管尖；液体样品是吸进吸管中的，从而再水化分析物结合颗粒，形成混合的液体样品。在一个特别优选的实施方案中，在缓冲液容器中导入混合液体样品，得

到缓冲液混合液体样品；利用样品回收仪器抽吸缓冲容器中的缓冲的混合液体样品，从而进一步分散分析物结合颗粒。如果在缓冲的，混合液体样品中存在需要的分析物，结合则存在于分析物和分析物结合颗粒之间。分析物与分析物结合颗粒的“结合”表明，包衣到颗粒上的分析物结合剂是与(例如，结合)需要的分析物相互作用的。本文中，将已经在允许液体(如果需要)中的分析物结合固定在接触区域中的分析物结合颗粒的条件下保养(温育)的分析物结合颗粒称为“接触分析物结合颗粒”。根据是否液体样品中存在分析物，或是否分析物结合了分析物结合颗粒上的分析物结合剂，已接触的分析物结合颗粒可以或可以没有与分析物结合剂结合的分析物。因为在分析物结合颗粒上存在多个分析物结合位点，分析物结合分析物结合颗粒的存在和浓度改变了；结合分析物结合颗粒的分析物的浓度成比例地随着液体样品中存在的分析物的量增加，并且待在样品捕获带(如下所述)中捕获的分析物结合颗粒的可能性同样地随着结合分析物结合颗粒的分析物的量的增加而增加。所以，接触的分析物结合颗粒的群体可以含有具有与分析物结合剂结合的各种量的分析物的颗粒，以及没有与分析物结合剂结合的分析物的颗粒(正如分析物结合颗粒最初没有与分析物结合剂结合的分析物)。另外，结合的程度随着条件的时间因子的增加而增加：结合的大部分存在于1分钟(例如，60秒，优选地少于60秒(例如，45秒，30秒，或更少)，另外温育(例如，超过1分钟(2分钟，5分钟，10分钟，15分钟)产生了其他的结合。

在固相仪器的膜条带的加载点，或如果需要加载垫加载缓冲的，混合的液体样品。在将膜条带与缓冲的，混合的液体样品接触，在允许液体通过毛细作用运动到和通过膜的条件维持膜条带。接触的分析物结合颗粒运动通过膜，作为结果，来自缓冲的，混合的液体样品的液体，和已接触的分析物结合颗粒的毛细作用

的结果沿着膜运动和通过膜上的“样品捕获带”，随后运动到和通过“对照捕获带”。在允许接触的分析物结合颗粒通过毛细作用沿着膜运动到和通过样品捕获带，随后运动到对照捕获带，随后沿着捕获带(例如，进入灯芯垫)，从而从捕获带除去任何非结合颗粒的条件(例如，足够的时间和液体体积)下保养膜条带。

通过将接触的分析物结合颗粒与样品捕获试剂在样品捕获条带中结合，随后通过一些接触的分析物结合颗粒与对照捕获带中的对照捕获试剂结合捕获一些接触的分析物结合颗粒的运动。在一个优选的实施方案中，分析物结合试剂是需要的抗原的抗体，对照的捕获试剂可以是抗没有球蛋白种类的抗体，从这些免疫球蛋白种类中派生的分析物结合试剂。在这一实施方案中，免疫球蛋白的抗体应该是与样品的其他成分非交叉地反应的：例如，如果人样品是待测试的，那么与人免疫球蛋白不反应的抗体可以用作对照捕获试剂。

通过与结合接触分析物结合颗粒上的分析物结合试剂的分析物结合，样品捕获试剂结合了接触分析物结合颗粒。如本文所用，术语“样品-试剂-颗粒复合物”是指样品捕获试剂的复合物，和接触分析物结合颗粒。由于已接触的分析物结合颗粒通过分析物与样品捕获带中的样品捕获试剂的捕获，接触分析物结合颗粒是在样品捕获带中捕获的，形成了样品-试剂-颗粒复合物。

对照捕获试剂通过结合接触分析物结合颗粒上的分析物结合试剂，结合已接触的分析物结合颗粒。如本文所用，术语“对照-试剂-颗粒复合物”指对照捕获试剂和接触的分析物结合颗粒的复合物。由于通过分析物结合颗粒与对照捕获带中的对照捕获试剂相互作用，捕获已接触的分析物结合颗粒，已接触的分析物结合颗粒是在对照捕获带中捕获的，形成对照-试剂-颗粒复

合物。如上所述，对照捕获试剂与分析物结合颗粒相互作用(例如，与分析物结合试剂 - 包衣颗粒上的分析物结合试剂，或颗粒上的另一个物质，或与颗粒本身)，但不与分析物本身相互作用。

毛细作用随后运动任何已接触的分析物结合颗粒，这些颗粒已经在样品捕获带或对照捕获带中捕获，沿着这些带，从而除去已经捕获的任何颗粒。在一个优选的实施方案中，液体运动任何已经捕获的已接触的分析物结合颗粒，进跟随对照捕获带的灯芯垫。

如果需要，可以利用第二个洗涤步骤。在缓冲的，混合的液体样品已经浸泡在膜中或浸泡在加载垫中后，在加载点上可以加载缓冲液(例如，如上所述的缓冲液)。在任何时间点可以利用第二个洗涤步骤，然后，假如它不稀释缓冲的，混合的液体样品。当接触分析物结合颗粒时，如下所述，第二个洗涤步骤可以起作用减少背景信号。

然后，在样品捕获带(样品 - 试剂 - 颗粒复合物)中捕获的分析物结合颗粒的量可以用在分析物结合颗粒上利用的标记的类型的适当的方法来检测。在一个优选的实施方案中，通过光学方法检测量，如通过测量分析物结合颗粒的标记的荧光的量。或者，可以利用点导或介电(容量)可以检测样品 - 试剂 - 颗粒复合物的量。或者，可以利用如 Hayes 等人 (Analytical Chem. 66:1860-1865(1994))所述的释放的电话性试剂的电化学检测(如，铟，铋，镓或碲离子)或如 Roberts 和 Durst (Analytical Chem. 67:482-491(1995))提出的亚铁氰化物。例如，如果利用脂质体，可以在捕获带中加入一滴去垢剂释放包囊在脂质体内的亚铁氰化物，和用电化学检测释放的亚铁氰化物 (Roberts and Durst, id)。如果利用螯合剂 - 蛋白质共轭物螯合金属离子，在捕获带中加入一滴酸将能释放离子，允许通过阳极条带伏安法定量 (Hayes 等

人, id)。同样, 以和样品捕获带中的分析物结合颗粒的量相同的方法检测对照捕获带中捕获的分析物结合颗粒的量。

在一个实施方案中, 利用直接涉及沿着固相(例如, 膜条带)的位置存在的标记的量的曲线倒闭分析物结合颗粒的检测的量。例如, 在膜条带上的各个位置的颗粒的检测量(例如, 在样品捕获带和对照捕获带中和在其中或邻接样品捕获带和对照捕获带之间的区域, 和/或膜条带的其他区域)可以确定, 并且作为沿着膜条带的位置的距离的函数画图。然后, 可以作为曲线下的面积的函数计算颗粒的量, 该量涉及存在的标记的量。

然后, 确定相关的分析物结合颗粒的量, 然后利用适当的计算, 从相关的分析物结合颗粒量确定分析物的量。准确的分析物结合颗粒的量是根据在样品捕获带和对照捕获带中捕获的分析物结合颗粒的量。例如, 在一个实施方案中, 作为在样品捕获带中存在的分析物结合颗粒量与对照捕获带中存在的分析物结合颗粒量的比例(R)来确定准确的分析物结合颗粒的量。然后, 从准确的分析物结合颗粒量(比例), 利用标准曲线确定存在的分析物的量。通过制备一系列在带检测分析物的液体(例如, 去除分析物的血清)中含有已知浓度的需要的分析物的对照样品, 产生标准曲线。在对照样品系列上进行测试, 各个对照样品检测 R 值; 以对照样品中包含的分析物的浓度的函数作划 R 值。通过检测测试样品的 R 值测试含有未知量的分析物(“测试样品”)的样品, 通过作标准曲线确定测试的样品中的分析物的浓度。如上所述, 可以产生一个标准曲线, 用于一个批次的所有测试样品(例如, 用于利用测试试剂的特异的制备的所有测试样品); 对各个测试样品再生标准曲线是不需要的。在另一个实施方案中, 以存在于样品捕获带中的分析物结合颗粒的量的量与对照捕获带中存在的分析物结合颗粒的量和样品捕获带中存在的分析物结合颗粒的

量的总量的比例确定准确的分析物结合颗粒的量。然后，可以利用标准曲线，从准确的分析结合颗粒量(比例)确定存在的分析物的量。或者，也可以利用其他比例和/或标准曲线确定样品中的分析物的量。另外，如果需要，可以在计算比例(R)之前从存在于样品捕获带中存在的分析物结合颗粒的量和和存在于对照捕获带中存在的分析物结合颗粒的量中减去背景中存在的标记的量。

“竞争”或“抑制”实验

本发明的“竞争”或“抑制”测试实验，像“三明治”实验，利用了包括如上所述的膜条带的固相仪器，包括加载点，样品捕获带，对照捕获带。膜条带可以或者在加载点之前，在对照捕获带和样品垫之后包括灯芯垫。正如以前，“加载点”是在加载液体样品的膜上的位置。用于竞争(抑制)实验的样品回收以前含有用需要的分析物包衣(在用分析物结合试剂包衣的场所，如“三明治”测试所述)或用需要的分析物包衣的“分析物包衣颗粒的群体。如本文所用，分析物的“类似物”是具有如分析物相似的结合特征的化合物，因为那是用如上所述的分析物结合试剂形成的结合对。分析物或分析物的类似物可以直接包衣在颗粒上，或可以间接结合到颗粒上。如下所述，术语“分析物包衣的颗粒”可以指用需要的分析物或用需要的分析物的类似物包衣的颗粒。如上关于三明治测试中所述，颗粒的群体可以根据颗粒的大小和组成，固相仪器的膜的组成和测试的敏感性的水平而改变。

如上所述，样品捕获带指固定样品捕获试剂的膜条带上的一个点。样品捕获试剂是分析物结合试剂，如上所述。样品捕获试剂不需要如上所述的相同的分析物结合试剂；但是样品捕获试剂也与需要的分析物形成了结合对，因为它特异地和优选地结合需要的分析物。如上所述，在一个优选的实施方案中，样品捕获试

剂是抗分析物的抗体；它可以直接抗如或抗来自结合用作颗粒上包衣的分析物结合试剂的抗体的表位的分析物的不同表位的分析物的相同表位。

仪器另外包括对照捕获试剂，如上所述，可以与分析物包衣的颗粒反应，而不与待测量的分析物反应：例如，对照捕获试剂可以与颗粒上的另一个物质(例如，结合颗粒上的分析物的载体；一种抗体)，或与颗粒本身反应。在一个优选的实施方案中，样品捕获试剂和对照捕获试剂是抗体。对照捕获试剂是固定在对照捕获带中的膜上的(包衣在和/或渗透在膜中)。

竞争测试的成分以关于“三明治”测试方法的如上所述的相似的方法定位。例如，在优选的实施方案中，对照捕获带接近邻接到样品捕获带，以致测试方法的成分的毛细作用的动力学在对照捕获带和样品捕获带中是相似的(例如，基本相同)；并且仍然对照捕获带和样品捕获带也足够间隔开，以致在各个带中捕获的颗粒可以分别定量。另外，在优选的实施方案中，为了保证毛细前沿的速度足以慢到允许颗粒的捕获，迁移的总时间足够长以致允许分析物与样品捕获试剂的结合，通过一个在样品捕获带和对照捕获带之间与小距离相关的大距离的间隔的加载点可以分离样品捕获带。

为了进行竞争实验，利用了如上所述的待评估需要的分析物的存在的液体样品。在一个实施方案中，在样品回收仪器中导入(拉进，注入，和其他的放入)液体样品。例如，在一个实施方案中，在含有吸管尖的样品回收仪器中注入液体样品。在样品回收仪器中导入液体样品导致液体样品与分析物包衣颗粒混合，形成了“混合的液体样品”。如果分析物包衣颗粒被蒸发地冷冻，和真空干燥，在样品回收仪器中导入液体样品可以导致液体样品中分析物结合颗粒的再水化和悬浮。缓冲液(例如，如上所述)也导

入了混合的液体样品，形成了“缓冲的，混合的液体样品”。缓冲的，混合的液体样品可以通过将混合的液体样品分散进含有缓冲液的“缓冲容器”（例如，测试试管），或通过导入液体样品之前在样品回收仪器中导入缓冲液来构成。在另一个实施方案中，缓冲液可以导入在样品回收仪器中，接着在样品回收仪器中导入液体样品。或者，如果需要的分析物是固体（例如，粉末，颗粒，孔，或其他颗粒，如上所述），可以通过在缓冲液如前中导入固体制备如上所述的液体样品；在这一实施方案中，通过在样品回收仪器中导入液体样品（含有缓冲液）形成缓冲的，混合的液体样品。

为了在液体样品中进一步分散分析物包衣的颗粒，如果需要，可以搅拌（例如涡旋，振摇，抽吸等等）已经导入液体样品和缓冲液的样品回收仪器，或已经导入混合液体样品的缓冲液容器。

在一个优选的实施方案中，样品回收仪器含有在它的尖含有真空干燥分析物包衣颗粒的吸管尖；在吸管中注入液体样品，从而在水化干燥的分析物包衣的颗粒，形成混合的液体样品。在一个特别优选的实施方案中，在缓冲液容器中导入混合的液体样品，导致缓冲的混合的液体样品；在缓冲的容器中的缓冲的混合液体样品是利用样品回收仪器抽吸的，从而进一步分散分析物包衣的颗粒。

在固相仪器的膜条带的加载点，或如果需要在加载垫上加载缓冲的，混合的液体样品。在膜条带与缓冲的，已混合的液体样品接触后，在允许液体通过毛细作用运动到和通过膜的条件下保养膜条带。分析物包衣颗粒（和分析物，如果存在于样品中）运动通过膜，作为来自缓冲，混合液体样品的液体的毛细作用到达和通过膜上的“样品捕获带”，随后达到和通过“对照捕获带”的

结果。在允许分析物包衣颗粒通过毛细作用沿着膜运动达到和通过样品捕获带和随后达到对照捕获带，随后沿着捕获带(例如，进入灯芯垫)，从而从捕获带除去任何非结合的颗粒的条件下(例如，足够的时间和液体体积)维持膜条带。

通过将样品捕获带中分析包衣颗粒与样品捕获试剂结合，随后在对照捕获带中将一些分析物包衣颗粒与对照捕获试剂结合终止一些分析物包衣颗粒的运动。分析物包衣颗粒与样品中的分析物(如果存在)竞争与样品捕获试剂的结合。通过结合分析物包衣颗粒上的分析物，样品捕获试剂结合分析物包衣颗粒。术语“样品-试剂-分析物-包衣-颗粒复合物”如本文所用，指样品捕获试剂和分析物包衣颗粒的复合物。在样品捕获带中捕获分析物包衣颗粒，由于颗粒上的分析物与样品捕获带中的样品捕获试剂相互作用捕获分析物包衣颗粒，形成了样品-试剂-分析物-包衣颗粒复合物。

除了分析物本身，通过结合分析物包衣颗粒的任何成分，对照捕获试剂结合分析物包衣颗粒。如本文所用，术语“对照-试剂-分析物-包衣颗粒复合物”指对照捕获试剂和分析物包衣颗粒的复合物。如上所述，在对照捕获带中捕获了分析物包衣颗粒，由于分析物结合颗粒与对照捕获带中的对照捕获试剂的相互作用捕获分析物包衣颗粒，形成了对照-试剂-分析物包衣颗粒复合物。

毛细作用随后在样品捕获带中或在对照捕获带中沿着对照捕获带已经停止的任何分析物包衣颗粒。在一个优选的实施方案中，液体运动了已经在追随对照捕获带的灯芯垫中的捕获带的任何接触的分析物包衣颗粒。

然后，检测样品捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量。对在分析物包衣颗粒上利用的标记类型，利用适当的方法检测分析物包衣颗粒。在一个优选的实施方案中，通过光学方法如通过检测分析物结合颗粒的标记的荧光的量检测分析物包衣颗粒的量。以样品捕获带中分析物包衣颗粒的量相同的方法检测对照捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量。在一个实施方案中，如上所述，通过直接涉及沿着固相(例如，膜条带)的位置存在的标记的量的曲线来表示分析物包衣颗粒的量。例如，在膜条带的各个位置上的颗粒的量(例如，在样品捕获带和对照捕获带，和/或在其中或邻接样品捕获带和对照捕获带中的区域，和/或膜条带的其他区域)是可以确定的，和作为沿着膜条带的位置的距离的函数来画图。然后，可以作为在曲线下的区域的函数计算颗粒的量，这个量是与存在的标记的量相关的。

确定相关的分析物包衣的颗粒的量，然后，利用适当的计算从准确的分析物包衣的颗粒的量确定分析物的量。准确的分析物包衣颗粒的量是基于在样品捕获带和在对照捕获带中捕获的分析物包衣颗粒的量。例如，在一个实施方案中，准确的分析物包衣颗粒的量是与样品捕获带中存在的分析物包衣颗粒的量与对照捕获带中存在的分析物包衣颗粒的量的比例(R)成反比。然后，可以利用标准的曲线，从准确的分析物包衣颗粒量(比例)确定存在的分析物的量。通过制备一系列在分析物待检测的液体(如耗尽分析物的血清)中含有已知浓度的需要的分析物的对照样品产生了标准曲线。然后，在对照样品系列上进行测试；以包括在对照样品中的分析物的浓度的函数对 R 值画图。通过检测测试样品的 R 值测试含有未知量的分析物的样品(“测试样品”)，通过画标准曲线确定在测试样品中的分析物的浓度。如上所述，可以产生一个标准曲线，并且在一个批次中对所有的测试样品使用(例如，利用测试试剂的特定的制备对所有的测试样品)；对各个测试样

品再生标准曲线是不必要的。在另一个实施方案中，准确的分析物包衣颗粒的量是与样品捕获带中存在的分析物包衣颗粒的量的量与存在于对照捕获带中的分析物包衣颗粒的量和存在于样品捕获带中存在的分析物包衣颗粒的量的总和的比例成反比。然后，利用标准曲线，从准确的分析物包衣颗粒的量确定存在的分析物的量(比例)。或者，也可以利用其他比例和/或标准曲线来确定样品中的分析物的量。另外，如果需要，可以在计算比例(R)之前从样品捕获带中存在的分析物包衣颗粒的量和存在于对照捕获带中的分析物包衣的颗粒的量中减去背景中存在的标记的量。

本发明的优点

当与测试比较时，本发明的方法提供了增强敏感性的测试，其中在固相仪器的膜内包埋了分析物结合颗粒。对于三明治测试，例如因为在加载到膜上之前，待测试需要的分析物的液体样品与分析物结合颗粒混合，在膜中存在捕获反应之前存在更长时间的需要的分析物与分析物结合颗粒的结合。另外，由于在需要的分析物与分析物结合颗粒之间的相互反应存在与液相中，由于更大的颗粒的迁移率允许比需要的分析物和固相仪器的膜的基质中的分析物结合颗粒之间相同的相互作用更有效。同样，关于三明治和竞争测试，许多颗粒可以包括在液体回收仪器中，而不是包埋在固相仪器中；数目越大越增强反应的敏感性。另外，因为分析物结合颗粒(或分析物包衣颗粒)在将缓冲的，混合的液体样品加载到固相的膜上之前是分散在缓冲的，混合的液体样品中的，颗粒以连续的方式通过捕获带，通过液体的毛细作用而不是快的波中与液体前沿的突起上。作为结果，颗粒的浓度越低，流过捕获带时间越长：所以，可以“捕获”的颗粒的时间有效地增加，而通过捕获带的颗粒的量有效地降低，从而避免了当颗粒

通过液体前沿的突起时，避免了存在的其他物质阻止一些颗粒的捕获。

尽管已经特别地在与免疫测试的关系中叙述了本发明的测试，该测试可以相似地如上所述用于其他结合对，(例如，核酸，受体配体，凝集素-糖)，利用了如上所述的相同的方法，和利用如分析物和分析物结合试剂的需要的成分。

本发明的试剂盒

本发明也包括在本文的方法中利用的试剂盒。试剂盒成分可以包括：特定的结合对的第一个和/或第二个成员，缓冲液和/或缓冲容器，液体回收方法，一个或多个固相仪器(或者包括一个加载垫和/或灯芯垫)，至少一个样品回收仪器，一个或多个缓冲容器，产生标准曲线和/或其他标准曲线信息的对照样品，分析物结合颗粒，分析物包衣颗粒，和/或多种颗粒，捕获试剂，抗体，辅助回收待评估样品的工具用于需要的分析物(例如，刷子)，可处置的仪器(例如，生物危害品袋)，和/或其他关于样品回收仪器的信息或指导(例如，批次信息，出品日期等等)。例如，在一个实施方案中，一个试剂盒至少包括在其中具有分析物结合颗粒的一个样品回收仪器，在一个优选的实施方案中，一个试剂盒至少包括一个具有蒸发干燥，真空干燥或冷冻干燥分析物结合颗粒的一个吸管尖。在另一个实施方案中，一个试剂盒至少包括如本文所述的一个固相仪器，和至少一个样品回收仪器。在另一个实施方案中，一个试剂盒至少包括一个吸管；至少具有蒸发干燥，真空干燥或冷冻干燥分析物结合颗粒达到一个或多个吸管尖和至少一个固相仪器。这些实施方案也或者含有关于标准曲线，批次信息和/或出品日期的信息，涉及吸管尖中的分析物结合颗粒。仍然在另一个优选的实施方案中，一个试剂盒至少包括一个样品回收仪器；至少具有干燥分析物结合颗粒的一个吸管尖；至少一个

固相仪器；和至少一个缓冲容器。这一优选的实施方案可以或者在缓冲容器中含有缓冲液；和回收固体样品的工具(例如，刷)。

本发明另外可以通过下面的实施例说明，这不打算以任何方式加以限制。

实施例 1: 与对照条比较，将乳汁滴定进缓冲液

材料和方法

设定实验如下。为了制备固相仪器(“测试柱体”)，利用了预附着于 Mylar 背的硝酸纤维膜。在样品捕获带中的膜上应用特定的抗体(样品捕获试剂)，在对照捕获带中在膜上加载内部对照抗体(对照捕获试剂)。在加载抗体后，通过用聚乙烯醇(PVA)处理封闭了膜上的蛋白质结合位点，然后洗涤和干燥膜。然后，将膜切成 5mm 宽的条带，垂直于加载抗体的线。然后，将条带沿着两个垫组装成测试的柱体(固相仪器): a) 在作用为滤器的近末端的加载垫，分离血液细胞(如果利用了整个血液)，或者，一个玻璃纤维垫(作用为炭疽实验的样品保持垫)；和 b) 在玻璃纤维的远侧末端(沿着抗体线)的灯芯垫，以便作用为浸泡在液体中的吸收垫，通过从近侧末端的膜，其中在远侧末端加了样品。

压测试柱体，使其适合柱体中的一个开口和样品点上的一个“口”，压入垫中，以致保留液体样品直到它可以吸收入垫和膜。柱体底部具有一个“窗口”，其中接触了膜的较低的表面(Mylar 背部)，使可以在进行测试后读光学读数。在柱体中没有其他开口，尽管它没有密封。干燥柱体，然后用小的干燥囊封闭入铂囊中。

如下离心吸管尖(样品回收仪器): 将利用各种类型的自体吸管的可得的吸管尖在垂直方向放置它们的排上, 12 X 8 基质, 9mm 的中心。一个自动系统递送了 5 微升的在各个尖中的抗体包衣的, 染色的乳汁悬浮液。将悬浮液作为来自尖的小末端的约 1cm 的小滴(2mm)递送。悬浮液是在一种海藻糖(糖)溶液中, 以便使悬浮液黏稠, 以致它能停留在递送到尖的位置; 当它干燥时帮助稳定蛋白质; 和作为“胶”起作用, 以致干燥的点停留在位置上。然后, 在真空条件下干燥尖, 再次干燥, 在封闭之前作为柱体放置于相同的囊中。

如下构成缓冲液小瓶: 缓冲液小瓶具有一个密封的帽, 含有预测定量的稀释液。一旦稀释小瓶注满, 将它加帽并且放入测试试剂盒。缓冲液的量和组成对于各个不同类型的测试是不同的。调整量, 以致将样品稀释到一个适合各个试验的水平。例如, 肌红蛋白测试利用了 1: 10 的稀释度的血液, 肌原蛋白 I 试验利用了 1: 3 的稀释度的血液。炭疽实验在计算实验中的损失后, 利用了足够的缓冲液悬浮样品和乳汁。缓冲液可以是水基础的, 包括几个不同的盐, 缓冲液和去垢剂。例如, 代表性分析物的代表性缓冲液包括如下: 肌红蛋白, 包括 122mM PB, 100mM NaCl, 3.3%BSA, 1.1%Crephor EL, 0.05%ProClin 300, pH7.2 的缓冲液是可以利用的; 对于 CKMB, 可以利用包括 115mM PB, 115mM NaCl, 2.3%BSA, 0.25%Surfynol 104PG-50, 0.3%酪蛋白, 40mM Phe, 0.5%羊血清, 0.05%ProClin 300, pH7.2 是可以利用的; 对于 TnI, 可以利用包括 124mM PB, 124mM NaCl, 3.24%BSA, 0.76%表面活性剂 10G, 0.54%酪蛋白, 405mM MgCl_2 , 40mM Phe, 10%山羊血清, pH7.2。对于, 炭疽, 可以利用包括 138mM PB, 138mM NaCl, 3.6%BSA, 0.84%表面活性剂 10G, 0.6%酪蛋白, 0.05%高黏度甲基纤维素, 0.05%ProClin 300, pH7.2(缩写: PB = 磷酸缓冲液, NaCl=氯化钠, BSA = 小牛血清白蛋白, Phe=苯丙氨酸)。

为了进行血液样品的实验，接着下面的方法：

将血液的样品吸入缓冲小瓶中，可以用任何类型的吸管或带有乳汁点(样品回收仪器)的吸管尖。这是一个简单的液体转移操作。然后用点的吸管尖混合样品和缓冲液，重复抽吸液体至少 10 次。在这一混合操作过程中，液体与乳汁点接触，引起它再水化，变成悬浮于稀释的样品基质中。一旦悬浮，在乳汁上的抗体开始结合样品中的抗体(如果存在)。

然后，利用吸管(利用如上所述的相同的尖)转移一部分缓冲混合物到柱体中的相同的孔中。然后，将柱体放置于读数器中，其中：a)稀释液开始浸泡在保留血液孔的样品垫中。液体流过垫并且接触硝酸纤维膜。液体(利用悬浮的乳汁)利用沿着膜长度的毛细作用流到变得潮湿的吸附垫上。当乳汁达到测试线(样品捕获带)时，是否样品中存在的任何抗原将通过固定的抗体捕获(样品捕获试剂)。如果抗原也通过乳汁上的抗体结合，也将借助在两个抗体之间的三明治的抗原捕获乳汁。在继续流动的测试系和以后没有遇到内部对照抗体系(对照捕获带)没有捕获乳汁。这一抗体是指向乳汁本身的物质(抗体或其他物质)。由于这一捕获反应，乳汁部分是在内部对照系中捕获的。残留的液体和未结合的乳汁在条带的远端继续，并且保留在灯芯垫中。当垫是饱和的 OR，当样品完全吸收在样品垫中，液体流停止了，毛细压力得到了平衡。然后，读数确定了测试系中和内部对照系中的读数的量，通过与测试柱的批次中确定的标准的曲线比较，应用一个比例的方法确定样品中的抗原的量。

为了用特定的抗原进行样品的测试(即炭疽孔)，取样品如下。如果该物质是来自表面的样品(例如，桌子的顶部)，利用下面的方法：在缓冲液小瓶中导入刷子，淹没刷子尖；然后，利用刷子温和地刷待测试的表面；然后，刷子放回缓冲液小瓶中，旋转允

许将颗粒物质释放到稀释液中；除去刷子丢弃。然后接着上面的测试过程。如果待测试的物质是液体形式(例如，颗粒的液体悬浮液)，进行下面的步骤：在干的刷子 OR 上加载测试液体的样品(10 到 30 微升)，将干刷子浸没在测试液体中；然后，在稀释液体中浸没刷子，温和旋转释放颗粒；除去刷子并丢弃。测试过程如上。如果待测试物质是粉末和颗粒形式，进行如下步骤：通过将湿的或干的刷子尖与粉末接触，将小量的物质刷进小瓶 OR，在稀释液中加入小的粉末样品，然后将它放入稀释液的小瓶中。测试过程如上。

结果

利用如上所述的方法，利用在吸管尖中的干乳汁通过将乳汁颗粒滴定进缓冲液(稀释液)，比较得到的结果进行测试，在膜条带(在乳汁加载位点“LAS”)上包衣乳汁颗粒得到结果，并且允许样品的液体在运动之前通过毛细作用运动通过 LAS，通过样品捕获带和对照捕获带。样品是马血清标准和在基线(0)的血液 M5 和 0.5ng/ml TnI。缓冲液(稀释液)是 TnI 稀释液，其中有 200mMGHCl+10%山羊血清，0, 0.5x, 1x, 2x, 4x,或 8x 乳汁颗粒。结果表示在表 1。

表 1: 与膜条带上的 LAS 的乳汁颗粒比较, 在吸管中用
缓冲液滴定乳汁颗粒的效果

马血清标准 R10 值						
稀释液/条带	Conc	R10	SD	CV	S:B R10	S-B R10
有 LAS 条带的 对照	0	0.041	0.006	15.1%	1.32	0.003
	0.5	0.054	0.004	6.6%		
没有 LAS 条带 的 0.5x 乳汁	0	0.036	0.004	11.9%	1.98	0.030
	0.5	0.071	0.001	1.8%		
没有 LAS 条带 的 1x 乳汁	0	0.040	0.001	1.3%	1.90	0.031
	0.5	0.076	0.004	5.9%		
没有 LAS 条带 的 2x 乳汁	0	0.049	0.002	3.6%	1.83	0.032
	0.5	0.090	0.007	8.1%		
没有 LAS 条带 的 4x 乳汁	0	0.065	0.001	2.3%	1.71	0.035
	0.5	0.110	0.009	8.1%		
没有 LAS 条带 的 8x 乳汁	0	0.101	0.003	2.6%	1.39	0.034
	0.5	0.141	0.002	1.7%		
血液 M5R10 值						
稀释液/条带	Conc	R10	SD	CV	S:B R10	S-B R10
有 LAS 条带的 对照	0	0.040	0.007	16.8%	1.35	0.003
	0.5	0.054	0.004	7.4%		
没有 LAS 条带 的 0.5x 乳汁	0	0.029	0.001	5.0%	1.85	0.023
	0.5	0.054	0.001	1.3%		
没有 LAS 条带 的 1x 乳汁	0	0.033	0.001	4.4%	2.19	0.033
	0.5	0.073	0.005	6.4%		
没有 LAS 条带 的 2x 乳汁	0	0.049	0.006	13.3%	1.78	0.028
	0.5	0.087	0.004	4.5%		
没有 LAS 条带 的 4x 乳汁	0	0.082	0.010	12.7%	1.66	0.032
	0.5	0.135	0.011	8.5%		
没有 LAS 条带 的 8x 乳汁	0	0.158	0.006	3.8%	1.33	0.030
	0.5	0.210	0.016	7.4%		

利用 0.5x, 1x, 2x, 和 4x 的乳汁稀释液得到了与对照 LAS 条带比较的, 信号: 背景(S:B)中的一个明显的增加。S:B 中的增加是由于阳性样品的特定的结合的和零样品的相似的背景中的增加。这导致了系统的敏感性中的增加。作为乳汁增加的量, 成排的 TL 和 ISL 信号逐步增加。1x 乳汁稀释液给出了与对照 LAS 条带可比较的 TL 和 ISL 信号。所以, 结论是, 乳汁稀释液给出了比 RAMP 测试中对照 LAS 条带的更高的敏感性。

实施例 2: 比较标准曲线中 1x 乳汁稀释液对 LAP 条带的比较

利用实施例 1 中所述的方法, 利用吸管尖中的干乳汁, 进行测试比较通过将乳汁颗粒滴定进缓冲液(稀释液)得到的结果, 结果是通过将乳汁颗粒包衣到如上所述的膜条带(乳汁加载位点“LAS”)得到的。样品是在 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1 和 3ng/ml 中突起的马血清标准和血液 M35。缓冲液(稀释液)是 TnI 稀释液, 其中有 180mM GHCl+10%的山羊血清, 有或没有 1X 乳汁颗粒。结果表示在表 2。

表 2: 利用 1X 乳汁颗粒稀释液
和全长膜条带的马血清和血液中的全标准曲线

没有 LAS 条带(全长)的 R10 值 - 1X 乳汁稀释液						
样品	Tnl Conc	R10	SD	CV	R10 S:B	R10 S-B
HS Stds	0.0	0.018	0.001	5.6%	-	-
	0.1	0.026	0.002	8.3%	1.45	0.005
	0.2	0.030	0.001	2.7%	1.66	0.010
	0.5	0.049	0.001	1.7%	2.72	0.029
	1.0	0.071	0.003	3.8%	3.92	0.049
	3.0	0.0164	0.013	8.0%	9.03	0.131
血液 M35	0.0	0.017	0.002	10.1%	-	-
	0.1	0.023	0.002	7.7%	1.37	0.003
	0.2	0.026	0.001	5.3%	1.55	0.006
	0.5	0.043	0.003	5.9%	2.50	0.021
	1.0	0.064	0.003	4.2%	3.74	0.042
	3.0	0.145	0.008	5.4%	8.55	0.119
Avg CV 5.7%						
R10 值 - 有对照条带(有 LAS)的对照稀释液(没有乳汁)						
样品	Tnl Conc	R10	SD	CV	R10 S:B	R10 S-B
HS Stds	0.0	0.034	0.001	2.5%	-	-
	0.1	0.044	0.002	4.7%	1.31	0.007
	0.2	0.42	0.004	10.0%	1.24	0.003
	0.5	0.054	0.005	8.3%	1.62	0.015
	1.0	0.063	0.008	12.1%	1.89	0.021
	3.0	0.106	0.010	9.5%	3.14	0.061
血液 M35	0.0	0.029	0.002	7.8%	-	-
	0.1	0.035	0.005	13.6%	1.19	-0.001
	0.2	0.033	0.003	9.8%	1.13	-0.002
	0.5	0.042	0.002	5.1%	1.46	0.009
	1.0	0.055	0.003	5.1%	1.89	0.021
	3.0	0.101	0.006	5.7%	3.50	0.064
			Avg CV	8.3%		

比较对照 LAS 条带,在稀释液和血液样品中整个标准曲线范围内 1X 乳汁稀释液得到了 S:B 的一致性的增加。不仅在更高的 S:B 中而且在血液中将 0.1ng/ml 的点与零的区别中,利用乳汁稀释液和 LAS 条带在更高的 S:B 中观察到更高的敏感性,而在零与 0.5ng/ml 中是没有明显的区别的。这些结果证明,利用乳汁稀释液在 RAMP 系统的敏感性中与 LAS 条带有明显的提高。

实施例 3: 乳汁稀释液与对照 LAS 条带的滴定

利用实施例 1 中如上所述的方法,进行测试比较利用吸管尖中干乳汁将乳汁颗粒滴定进缓冲液(稀释液)得到的结果和通过将乳汁颗粒包衣到如上所述的膜条带上(在乳汁加载位点“LAS”)得到的结果。样品是 0 和 2000ng/ml 的炭疽孢子(炭疽杆菌)。缓冲液(稀释液)是有或没有 1X, 3X 或 6X 乳汁颗粒的稀释液。结果表示在表 3。

表 3 利用乳汁颗粒稀释液和全长膜条带的炭疽的测试

BA 样品 R10 值						
稀释液/条带	Conc	R10	SD	CV	S:B R10	S-B R10
有 LAS 条带的对照稀释液(没有乳汁)	0	0.010	0.010	11.3%		
	2000	0.016	0.016	17.2%	1.54	0.002
没有 LAS 条带的 1X 乳汁稀释液	0	0.010	0.010	11.3%		
	2000	0.016	0.016	17.2%	2.46	0.030
没有 LAS 条带的 3X 乳汁稀释液	0	0.010	0.010	11.3%		
	2000	0.016	0.016	17.2%	3.28	0.036
没有 LAS 条带的 6X 乳汁稀释液	0	0.010	0.010	11.3%		
	2000	0.016	0.016	17.2%	3.30	0.040

观察到，利用 1X，3X 和 6X 的乳汁稀释液得到与炭疽测试的对照 LAS 条带比较 S: B 有明显的增加。S: B 对 3X 和 6X 乳汁稀释液比 1X 乳汁稀释液更高。这些结果证明，利用乳汁稀释液，在 RAMP 系统的敏感性比应用到炭疽测试的 LAP 条带有提高。

参考优选的实施方案已经特定地显示和叙述了本发明后，本领域的那些技术人员将理解，各种形式和细节的变化可以在不脱离附加的权利要求包括的本发明的范围时得到。

专利名称(译)	敏感性免疫色原图像测试		
公开(公告)号	CN1646913A	公开(公告)日	2005-07-27
申请号	CN03808096.6	申请日	2003-04-10
[标]发明人	瓦利K丰		
发明人	瓦利·K·丰		
IPC分类号	G01N21/78 G01N33/18 G01N33/24 G01N33/543 G01N33/545 G01N33/552 G01N33/558 G01N33/569 G01N33/58 G01N33/538		
CPC分类号	Y10S435/81 G01N33/558 G01N33/54386 Y10S435/805 Y10S435/97 G01N33/54313		
优先权	10/162138 2002-06-03 US 10/120774 2002-04-10 US		
其他公开文献	CN1646913B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

公开了在液体样品中定量测量需要的分析物的量的方法和在该方法中利用的试剂盒。这些方法包括提供具有膜的固相仪器，膜上具有加载的点，样品捕获带，和对照捕获带，其中样品捕获区域是在接触区和对照捕获带之间；和提供具有分析物结合颗粒的群体或分析物包衣颗粒的群体的样品回收仪器。在这些实验中，在样品回收仪器中导入液体样品，在膜的加载点上加载得到的混合物。液体允许通过毛细管作用将测试的成分运输到或通过样品捕获带，随后加载到和通过对照捕获带。液体样品中分析物的量涉及了(例如，直接或逆转地)相关的颗粒的量，这可以令人确定为样品捕获带中的颗粒的量的比例和对照的捕获带中的颗粒的量。

马血清标准 R10 值						
稀释液/条带	Conc	R10	SD	CV	S:B R10	S-B R10
有 LAS 条带的对照	0	0.041	0.006	15.1%	1.32	0.003
0.5	0.054	0.004		6.6%		
没有 LAS 条带的 0.5x 乳汁	0	0.036	0.004	11.9%		
0.5	0.071	0.001		1.8%	1.98	0.030
没有 LAS 条带的 1x 乳汁	0	0.040	0.001	1.3%		
0.5	0.076	0.004		5.9%	1.90	0.031
没有 LAS 条带的 2x 乳汁	0	0.049	0.002	3.6%		
0.5	0.090	0.007		8.1%	1.83	0.032
没有 LAS 条带的 4x 乳汁	0	0.065	0.001	2.3%		
0.5	0.110	0.009		8.1%	1.71	0.035
没有 LAS 条带的 8x 乳汁	0	0.101	0.003	2.6%		
0.5	0.141	0.002		1.7%	1.39	0.034
血液 MSR10 值						
稀释液/条带	Conc	R10	SD	CV	S:B R10	S-B R10
有 LAS 条带的对照	0	0.040	0.007	16.8%		
0.5	0.054	0.004		7.4%	1.35	0.003
没有 LAS 条带的 0.5x 乳汁	0	0.029	0.001	5.0%		
0.5	0.054	0.001		1.3%	1.85	0.023
没有 LAS 条带的 1x 乳汁	0	0.033	0.001	4.4%		
0.5	0.073	0.005		6.4%	2.19	0.033
没有 LAS 条带的 2x 乳汁	0	0.049	0.006	13.3%		
0.5	0.087	0.004		4.5%	1.78	0.028
没有 LAS 条带的 4x 乳汁	0	0.082	0.010	12.7%		
0.5	0.135	0.011		8.5%	1.66	0.032
没有 LAS 条带的 8x 乳汁	0	0.158	0.006	3.8%		
0.5	0.210	0.016		7.4%	1.33	0.030