

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 9/30

G01N 33/53

G01N 33/58



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02829039.9

[43] 公开日 2005 年 7 月 13 日

[11] 公开号 CN 1639557A

[22] 申请日 2002.4.11 [21] 申请号 02829039.9

[86] 国际申请 PCT/US2002/011620 2002.4.11

[87] 国际公布 WO2003/087827 英 2003.10.23

[85] 进入国家阶段日期 2004.11.26

[71] 申请人 伯斯坦技术公司

地址 美国加利福尼亚州

共同申请人 长冈实业株式会社

[72] 发明人 约翰·F·戈登

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所

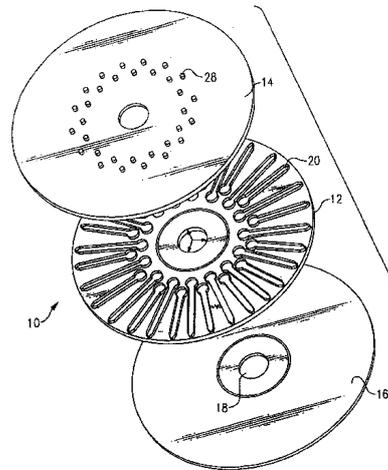
代理人 范 莉

权利要求书 13 页 说明书 15 页 附图 7 页

[54] 发明名称 包括分析盘的多参数化验以及涉及该化验的方法

[57] 摘要

本发明涉及用于测试试样的目标分子或化学药品的方法和装置。该装置包括可旋转的光学盘，该盘有反应腔室，并有至少两组小珠或微粒，不同组的小珠有至少两种不同密度、尺寸、形状和/或颜色，且在一组中的各个小珠粘附有不同探针。试样加入反应腔室内，并使盘旋转，该反应腔室有密度梯度介质，该密度梯度介质使得不同密度的小珠根据小珠密度而停留在不同径向位置。然后，通过将电磁辐射的射束引导至盘上来检查该小珠。射束可以从盘反射或通过该盘透射。通过分析射束返回的信号，可以确定目标的量或者存在或缺乏。本发明还提供了进行化验和制造盘装置的相关方法。



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

1. 一种用于对试样进行化验的盘系统，包括：  
可旋转的盘，该盘有用于接收试样的腔室；  
在腔室中的介质，用于形成密度梯度；以及  
多个小珠，包括至少两组不同小珠，各组中的各个小珠具有相同的物理特征，且其上粘附有至少一个捕获探针，该捕获探针对特定目标有亲和力。
2. 根据权利要求1所述的系统，其中：一组小珠的所述相同物理特征与另一组的物理特征不同。
3. 根据权利要求2所述的系统，其中：所述物理特征是密度，该密度为这样，即当盘旋转时，不同组的小珠在密度梯度内在腔室中径向运动至不同径向位置。
4. 根据权利要求2所述的系统，其中：所述物理特征是小珠尺寸。
5. 根据权利要求2所述的系统，其中：所述物理特征是颜色。
6. 根据权利要求2所述的系统，其中：所述物理特征是预定的荧光特征。
7. 根据权利要求2所述的系统，其中：可旋转盘包括上部盖体盘、基座以及布置在该盖体和基座之间的本体，该本体确定了腔室。
8. 根据权利要求2所述的系统，其中：该腔室有两个子腔室，这两个子腔室之间有可控制屏障，所述可控制屏障通过向心力来控制。
9. 根据权利要求2所述的系统，其中：该腔室有两个子腔室，这两个子腔室之间有可控制屏障，所述可控制屏障通过电或机械装置来控制。
10. 根据权利要求2所述的系统，其中，捕获探针从以下组中选择：抗原、抗体、DNA、RNA、外源凝集素、蛋白受体、配合基、生物素和抗生蛋白链菌素。
11. 根据权利要求2所述的系统，其中：在介质中的密度梯度通过当盘旋转时施加的向心力而形成。

12. 根据权利要求 2 所述的系统, 还包括: 检测组件, 该检测组件包括辐射源和检测器, 该检测器用于检测通过试样调制的辐射。

13. 根据权利要求 12 所述的系统, 其中: 该辐射源包括激光。

14. 一种用于进行化验的方法, 所述方法包括以下步骤:

将至少一个试样引入盘的腔室中, 各腔室装有密度梯度介质;

引入至少两组不同小珠, 各组中的各个小珠有相同的物理特征, 且其上粘附有至少一个捕获探针, 该捕获探针对试样中的至少一个目标有亲和力;

在试样和小珠之间能够进行相互作用, 从而促使捕获在试样中存在的任何目标;

将标签标记加入反应腔室中, 各所述标签标记对试样中存在的任何目标具有亲和力;

使标签标记能够粘在目标上, 该目标粘在任意小珠上; 以及使盘旋转, 以便使小珠径向向外运动至密度梯度介质。

15. 根据权利要求 14 所述的方法, 其中: 一组小珠具有与另一组不同的物理特征。

16. 根据权利要求 15 所述的方法, 其中: 所述物理特征是密度, 该密度为这样, 即, 当盘旋转时, 不同组的小珠在密度梯度内在腔室中径向运动至不同径向位置。

17. 根据权利要求 15 所述的方法, 其中: 所述物理特征是小珠尺寸。

18. 根据权利要求 15 所述的方法, 其中: 所述物理特征是颜色。

19. 根据权利要求 15 所述的方法, 其中: 所述物理特征是预定的荧光特征。

20. 根据权利要求 15 所述的方法, 其中: 腔室包括用于接收试样的反应腔室以及通过屏障分开的分离腔室。

21. 根据权利要求 20 所述的方法, 还包括: 用于控制盘的旋转的装置, 以便保持足以使小珠从反应腔室通过屏障进入分离腔室的速度。

22. 根据权利要求 15 所述的方法, 其中: 标签标记是小珠。

23. 根据权利要求 15 所述的方法，其中，标签标记从以下组中选择：荧光标签抗体、低聚核苷酸、外源凝集素、蛋白受体、生物素和抗生蛋白链菌素。

24. 根据权利要求 22 或 23 所述的方法，还包括：对腔室进行光学分析的步骤，用于分析小珠、标记、标签和粘接伴侣复合物的存在。

25. 根据权利要求 24 所述的方法，其中：所述光学分析步骤包括将辐射射束引向腔室，并检测由试样调制的射束。

26. 一种用于进行化验的方法，所述方法包括以下步骤：

提供可旋转盘，该可旋转盘确定了至少一个反应腔室和至少一个分离腔室，所述反应腔室通过可控制的屏障装置而与所述分离腔室连接，且所述分离腔室有密度梯度形成介质；

将包括至少两个不同的组的多个微粒引入所述反应腔室中，各组微粒具有相同物理特征，并用于接收特定目标试剂；

将至少一个测试试样引入所述反应腔室中；

使存在于试样中的任何目标试剂粘接在微粒上；

使盘旋转，以便提供向心力；

控制在所述反应腔室和所述分离腔室之间的可控制屏障，从而使该多个微粒可以在向心力作用下从反应腔室运动至分离腔室，并进入密度梯度介质中，以便根据它们的物理特征来分离微粒；以及

通过光学装置来分析分离腔室的内容物。

27. 根据权利要求 26 所述的方法，其中：一组微粒具有与另一组不同的物理特征。

28. 根据权利要求 27 所述的方法，其中：所述物理特征是密度，该密度为这样，即，当盘旋转时，不同组的微粒在密度梯度内在腔室中径向运动至不同径向位置。

29. 根据权利要求 27 所述的方法，其中：所述物理特征是微粒尺寸。

30. 根据权利要求 27 所述的方法，其中：所述物理特征是颜色。

31. 根据权利要求 27 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的

荧光特征。

32. 根据权利要求 27 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的磷光特征。

33. 根据权利要求 27 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的化学发光特征。

34. 根据权利要求 27 所述的方法，还包括：在使盘旋转之前将标签试剂引入反应腔室内的步骤。

35. 根据权利要求 34 所述的方法，其中：在将混合物引入反应腔室内之前，所述标签试剂可以与测试试样混合。

36. 一种用于进行化验的装置，所述装置包括：

可旋转的盘，该盘确定了至少一个反应腔室和至少一个分离腔室，所述分离腔室通过可控制的屏障装置而与所述分离腔室连接；以及

密度梯度形成介质，该密度梯度形成介质位于分离腔室中，这样，在使用时，具有不同密度的多个微粒抗原沿介质的密度梯度而分离。

37. 根据权利要求 36 所述的装置，其中：可旋转盘用于绕它的中心孔旋转，该中心孔用于可释放地与旋转轴啮合。

38. 根据权利要求 36 所述的装置，其中：可旋转盘包括多个径向延伸的反应腔室和分离腔室。

39. 根据权利要求 36 所述的装置，其中：密度梯度形成介质是由 **Pharmacia Biotech** 提供的、商标为 **Percoll** 的凝胶。

40. 根据权利要求 39 所述的装置，其中：密度梯度可以预先形成于凝胶中，或者通过施加向心力而产生。

41. 根据权利要求 40 所述的装置，其中：密度梯度通过使盘绕它的中心轴线旋转而形成并保持。

42. 根据权利要求 36 所述的装置，其中：密度梯度介质可使光透过。

43. 一种用于进行细胞化验的方法，所述方法包括以下步骤：

提供可旋转盘，该可旋转盘确定了至少一个反应腔室和至少一个分离腔室，所述反应腔室通过可控制的屏障装置而与所述分离腔室连

接，且所述分离腔室有密度梯度形成介质；

将包括至少两组的小珠引入所述反应腔室中，各组中的各个小珠具有相同物理特征，并且其上粘附有至少一个捕获探针，该捕获探针针对特定细胞表面标记有亲和力；

将受测试的至少一个细胞试样引入所述反应腔室中；

使存在于试样中的任何目标细胞上的任何细胞表面标记粘接在小珠上的各捕获探针上，从而形成小珠-细胞粘接伴侣复合物；

使盘旋转，以便提供向心力；

控制在所述反应腔室和所述分离腔室之间的可控制屏障装置，从而使该多个小珠和任何小珠-细胞粘接伴侣复合物可以在向心力作用下从反应腔室运动至分离腔室，并进入密度梯度介质中，以便分离小珠和粘接伴侣复合物；以及

通过光学装置来分析分离腔室的内容物，以便分析小珠-细胞粘接复合物的存在、位置和数量。

44. 根据权利要求 43 所述的方法，其中：一组小珠具有与另一组不同的物理特征。

45. 根据权利要求 44 所述的方法，其中：所述物理特征是密度，该密度为这样，即，当盘旋转时，不同组的小珠和小珠-细胞粘接伴侣复合物根据密度而在密度梯度内在腔室中径向运动至不同径向位置。

46. 根据权利要求 44 所述的方法，其中：所述物理特征是小珠尺寸。

47. 根据权利要求 44 所述的方法，其中：所述物理特征是颜色。

48. 根据权利要求 44 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的荧光特征。

49. 根据权利要求 44 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的磷光特征。

50. 根据权利要求 44 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的化学发光特征。

51. 根据权利要求 44 所述的方法，其中：所述目标细胞是白血球

细胞。

52. 根据权利要求 51 所述的方法，其中，所述白血球细胞从以下组中选择：淋巴细胞、单核细胞、嗜碱细胞、嗜曙红细胞和嗜中性白细胞。

53. 根据权利要求 52 所述的方法，其中：所述淋巴细胞是 T 细胞、B 细胞或自然杀伤细胞。

54. 根据权利要求 53 所述的方法，其中：所述 T 细胞是辅助细胞或抑制性细胞。

55. 根据权利要求 44、51、52、53 或 54 所述的方法，其中，所述表面标记是一簇指示标记。

56. 根据权利要求 55 所述的方法，其中，所述簇指示标记从以下组中选择：CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8 和 CD14。

57. 一种用于制造分析盘的方法，该分析盘用于测试至少一种目标试剂在至少一个试样中的存在，该方法包括以下步骤：

提供具有中心和外边缘的基座；

在与基座相连的信息层上编码信息，该编码信息可由盘驱动组件读出，以便控制盘的旋转；

提供本体，该本体确定了径向延伸的分析腔室，所述分析腔室包括反应腔室和至少一个分离腔室，所述反应腔室通过可控制的屏障装置而与所述分离腔室连接；

将密度梯度形成介质置于所述分离腔室；

将多个微粒置于反应腔室内，这些微粒包括至少两组不同微粒，在各组中的各个微粒有相同物理特征，并且其上粘附有多个捕获探针；以及

提供盖体盘，该盖体盘包括孔，所述孔与反应腔室连接。

58. 根据权利要求 57 所述的方法，其中：一组微粒具有与另一组不同的物理特征。

59. 根据权利要求 58 所述的方法，其中：所述物理特征是密度，该密度为这样，即，当盘旋转时，不同组的微粒根据密度而在密度梯

度内在腔室中径向运动至不同径向位置。

60. 根据权利要求 58 所述的方法，其中：所述物理特征是微粒尺寸。

61. 根据权利要求 58 所述的方法，其中：所述物理特征是颜色。

62. 根据权利要求 58 所述的方法，其中：所述物理特征是微粒形状。

63. 根据权利要求 58 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的荧光特征。

64. 根据权利要求 58 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的磷光特征。

65. 根据权利要求 58 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的化学发光特征。

66. 一种使用根据权利要求 57、58、59、60、61、62、63、64 或 65 中任意一个所述方法制成的盘的方法，使用盘的所述方法包括以下步骤：

通过所述孔将至少一个试样添加到反应腔室内；

使在试样中存在的任何目标能够粘接在它们的各捕获探针上，该捕获探针粘附在不同组的微粒上；

将标签标记加入反应腔室，所述标签标记对于溶液中存在的目标具有亲和力；

使标签标记能够粘接在任何目标上，该目标粘接在任何微粒上；  
以及

使所述分析盘旋转，这样，该多个微粒在向心力作用下从反应腔室通过可控制屏障运动至分离腔室，并进入密度梯度介质，以便根据它们的物理特征分离微粒。

67. 根据权利要求 66 所述的方法，其中，捕获探针从以下组中选择：抗原、抗体、DNA、RNA、外源凝集素、蛋白受体、配合基、生物素和抗生蛋白链菌素。

68. 根据权利要求 66 所述的方法，其中，目标从以下组中选择：

抗原、抗体、DNA、RNA、外源凝集素、蛋白受体、配合基、生物素和抗生蛋白链菌素。

69. 根据权利要求 66 所述的方法，其中：目标是细胞。

70. 根据权利要求 66 所述的方法，其中：目标是细胞表面标记。

71. 根据权利要求 66 所述的方法，其中：目标是抗生蛋白链菌素酯（streptavidinated）。

72. 根据权利要求 66 所述的方法，其中：目标是生物素酯（biotinylated）。

73. 根据权利要求 66 所述的方法，其中：标签标记是指示器微粒，该指示器微粒上粘附有指示器探针，该指示器探针对目标的不同部分具有亲和力，这样，当存在目标时，通过捕获探针和指示器探针与相同目标的粘接而形成小珠微粒伴侣复合物。

74. 根据权利要求 73 所述的方法，其中：指示器微粒有荧光。

75. 根据权利要求 72、73 或 74 所述的方法，其中：所述指示器微粒是抗生蛋白链菌素酯。

76. 根据权利要求 72、73 或 74 所述的方法，其中：所述指示器是生物素酯。

77. 根据权利要求 66 至 76 中任意一个所述的方法，还包括以下步骤：

通过用来自盘驱动组件的电磁能量射束扫描整个分离腔室而检测目标的存在；以及

分析返回的电磁能量，以便确定捕获微粒、指示器微粒、标签标记、微粒与微粒复合物和微粒-细胞复合物的位置和量。

78. 一种用于进行化验的装置，该装置包括：

可旋转盘，该可旋转盘包括上部盖体盘、基座以及布置在盖体和基座之间的本体，该本体确定了分析腔室；各所述分析腔室包括至少一个反应腔室和至少一个分离腔室，所述反应腔室与所述分离腔室流体连通。

79. 根据权利要求 78 所述的装置，还包括：密度梯度形成介质，

该密度梯度形成介质位于分离腔室中，这样，在使用时，具有不同密度的多个微粒可以沿介质的密度梯度分开。

80. 根据权利要求 79 所述的装置，其中：可旋转盘用于绕它的中心孔旋转，该中心孔用于可释放地与旋转轴啮合。

81. 根据权利要求 79 所述的装置，其中：可旋转盘包括多个径向延伸的反应腔室和分离腔室。

82. 根据权利要求 79 所述的装置，其中：密度梯度形成介质是由 Pharmacia Biotech 提供的、商标为 Percoll 的凝胶。

83. 根据权利要求 82 所述的装置，其中：密度梯度可以预先形成于凝胶中，或者通过施加向心力而产生。

84. 根据权利要求 83 所述的装置，其中：密度梯度通过使盘绕它的中心轴线旋转而形成并保持。

85. 根据权利要求 79 所述的装置，其中：密度梯度介质可使光透过。

86. 一种用于制造分析盘的方法，该分析盘用于测试至少一种目标试剂在至少一个试样中的存在，该方法包括以下步骤：

提供具有中心和外边缘的基座；

在与基座相连的信息层上编码信息，该编码信息可由盘驱动组件读出，以便控制盘的旋转；

提供本体，该本体确定了径向延伸的分析腔室，所述分析腔室包括反应腔室和至少一个分离腔室，所述反应腔室与所述分离腔室连接；

将密度梯度形成介质置于所述分离腔室；

将多个微粒置于反应腔室内，这些微粒包括至少两组不同微粒，在各组中的各个微粒有相同物理特征，并且其上粘附有多个捕获探针；以及

提供盖体盘，该盖体盘包括孔，所述孔与反应腔室连接。

87. 根据权利要求 86 所述的方法，其中：一组微粒具有与另一组不同的物理特征。

88. 根据权利要求 87 所述的方法，其中：所述物理特征是密度，

该密度为这样，即，当盘旋转时，不同组的微粒根据密度而在密度梯度内在腔室中径向运动至不同径向位置。

89. 根据权利要求 87 所述的方法，其中：所述物理特征是微粒尺寸。

90. 根据权利要求 87 所述的方法，其中：所述物理特征是颜色。

91. 根据权利要求 87 所述的方法，其中：所述物理特征是形状。

92. 根据权利要求 87 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的荧光特征。

93. 根据权利要求 87 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的磷光特征。

94. 根据权利要求 87 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的化学发光特征。

95. 一种用于制造分析盘的方法，该分析盘用于测试至少一种目标试剂在至少一个试样中的存在，该方法包括以下步骤：

提供具有中心和外边缘的基座；

在与基座相连的信息层上编码信息，该编码信息可由盘驱动组件读出，以便控制盘的旋转；

提供本体，该本体确定了径向延伸的分析腔室，所述分析腔室包括反应腔室和至少一个分离腔室，所述反应腔室与所述分离腔室流体连通；以及

提供盖体盘，该盖体盘包括孔，所述孔与反应腔室连接。

96. 一种使用根据权利要求 95 所述的方法制成的分析盘的方法，所述使用方法包括以下步骤：

准备多个微粒，这些微粒包括至少两组不同微粒，在各组中的各个微粒具有相同物理特征，并且其上粘附有多个捕获探针；

使该多个微粒、至少一个测试试样和密度梯度形成介质混合，以便形成化验溶液；

使存在于测试试样中的任何目标都能够与微粒形成复合物；

将化验溶液置于分析腔室内；以及

使盘旋转，以便提供离心力，以便在密度形成介质中产生密度梯度。

97. 根据权利要求 96 所述的方法，其中：一组微粒具有与另一组不同的物理特征。

98. 根据权利要求 97 所述的方法，其中：所述物理特征是浮力密度，这样，当盘旋转时，不同组的微粒根据浮力密度而在密度梯度内在腔室中径向运动至不同径向位置。

99. 根据权利要求 97 所述的方法，其中：所述物理特征是微粒尺寸。

100. 根据权利要求 97 所述的方法，其中：所述物理特征是颜色。

101. 根据权利要求 97 所述的方法，其中：所述物理特征是形状。

102. 根据权利要求 97 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的荧光特征。

103. 根据权利要求 97 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的磷光特征。

104. 根据权利要求 97 所述的方法，其中：所述物理特征是预定的化学发光特征。

105. 一种使用根据权利要求 59 所述方法制成的分析盘的方法，所述使用方法包括以下步骤：

将至少一个测试试样加入装有所述多个微粒的反应腔室内；

使在测试试样中存在的任何目标能够与微粒形成复合物；

将多个标签标记加入反应腔室，该多个标签标记包括至少两组，在各组中的各个标记有相同标签，并对于测试试样中的一个目标具有亲和力；

使任何标签标记能够粘接在它的相应目标上，该目标粘接在任何微粒上；以及

使所述分析盘旋转，以便提供离心力，从而在密度形成介质中产生密度梯度，并使反应腔室中的微粒通过可控制屏障运动至分离腔室，以便根据沉降速率或洗提时间来分离微粒。

**106.** 根据权利要求 105 所述的方法, 还包括以下步骤:

将电磁辐射的入射射束指向分离腔室内的固定点; 以及

当微粒流过分离腔室时检测微粒或标签标记, 以便确定微粒通过介质的沉降速率或洗提时间, 并确定粘接在微粒上的任何目标的存在和数量。

**107** 根据权利要求 106 所述的方法, 还包括以下步骤: 使入射射束扫描整个分离腔室, 以便确定微粒和标签标记的存在, 该微粒和标签标记可能保留在它们的等密度点处。

**108.** 一种使用根据权利要求 86、87、88、89、90、91、92、93 或 94 所述方法制成的分析盘的方法, 所述使用方法包括以下步骤:

将至少一个测试试样加入装有所述多个微粒的反应腔室内;

使在测试试样中存在的任何目标能够与微粒形成复合物;

将多个标签标记加入反应腔室, 该多个标签标记包括至少两组, 在各组中的各个标记有相同标签, 并对于测试试样中的一个目标具有亲和力;

使任何标签标记能够粘接在它的相应目标上, 该目标粘接在任何微粒上; 以及

使所述分析盘旋转, 以便提供离心力, 从而在密度形成介质中产生密度梯度, 并使反应腔室中的微粒运动至分离腔室中, 以便根据沉降速率或洗提时间来分离微粒。

**109.** 根据权利要求 108 所述的方法, 还包括以下步骤:

将电磁辐射的入射射束指向分离腔室内的固定点上; 以及

当微粒流过分离腔室时检测微粒或标签标记, 以便确定微粒通过介质的沉降速率或洗提时间, 并确定粘接在微粒上的任何目标的存在和数量。

**110** 根据权利要求 109 所述的方法, 还包括以下步骤: 使入射射束扫描整个分离腔室, 以便确定可能保留在它们的等密度点处的微粒和标签标记的存在。

**111.** 一种使用根据权利要求 88 所述方法制成的分析盘的方法,

所述使用方法包括以下步骤:

将至少一个测试试样置于反应腔室内;

使在测试试样中存在的任何目标能够与反应腔室中的微粒形成复合物;

将多个标签标记加入反应腔室, 该多个标签标记包括至少两组, 在各组中的各个标记有相同标签, 并对于测试试样中的一个目标具有亲和力;

使任何标签标记能够粘接在它的相应目标上, 该目标粘接在任何微粒上; 以及

使所述分析盘旋转, 以便提供离心力, 从而在密度形成介质中产生密度梯度, 并使反应腔室中的微粒运动至分离腔室中, 以便根据浮力密度来分离微粒。

112. 根据权利要求 111 所述的方法, 还包括以下步骤: 使入射射束扫描整个分离腔室, 以便确定可能保留在它们的等密度点处的微粒的存在。

113. 根据权利要求 105、108 或 111 中任意一个所述的方法, 其中: 所述相同标签为荧光标签。

114. 根据权利要求 105、108 或 111 中任意一个所述的方法, 其中: 所述相同标签为颜色。

115. 根据权利要求 105、108 或 111 中任意一个所述的方法, 其中: 所述标签标记为荧光小珠。

116. 根据权利要求 105、108 或 111 中任意一个所述的方法, 其中: 所述标签标记为红外线小珠。

117. 根据权利要求 105、108 或 111 中任意一个所述的方法, 其中: 所述标签标记是荧光标签抗体。

## 包括分析盘的多参数化验以及涉及该化验的方法

### 相关申请的交叉引用

本申请要求美国临时申请 No.60/283213 的优先权，该美国临时申请 No.60/283213 的申请日为 2001 年 4 月 11 日，该文献整个被本文参引。

### 技术领域

本发明涉及一种用于结合光学生物转盘(bio-disc)进行化验的装置。本发明还涉及一种利用密度梯度和/或离心法来分离、固定和/或检测微粒或小珠、细胞、标签或标记，以便进行化验的方法。

### 背景技术

对于最终用户，明显希望能更快地就地进行各种诊断化验和法医化验。理想的是，临床医生、病人、研究人员、军人、其它保健人员和消费者应当能够自己对他们系统中某些致病因子或指示物的存在进行测试以及对在犯罪现场或打斗场的某些生物材料的存在进行测试。目前有多种基于硅的芯片，核酸和/或核蛋白粘附在该芯片上，该芯片可从市场上购得，或者处于开发阶段，用于进行生物医学、化学或生物化学化验。这些芯片并不能由最终用户使用，也不能由缺乏非常专业的技能和昂贵设备的个人或机构使用。本发明的目的是通过使用一种相对便宜的化验系统来克服或减轻其中的至少一个缺点，该化验系统可以由没有经过专业培训的最终用户使用。

很多生物化学技术利用了抗原和抗体的相互作用、DNA 的互补链之间的杂合作用(hybridization)、或者蛋白的亲合力。其中的一些包括抗生蛋白链菌素和生物素，同时使用标签试剂。各种标签或标记已经用于进行检测。实例包括酶、基于颜色的、放射性的、磷光性的、荧光性的和化学发光的试剂、微球、金属胶体以及荧光染色剂（例如荧光剂和若丹明）。例如，荧光性抗人体免疫球蛋白 G 通常用作标签试

剂。

在本发明的一个实施例中进行“夹层 (sandwich)”免疫测定，其中，双层方法设计成检测特定抗体或抗原。例如，为了检测抗体在试样中的存在，相应抗原首先固定在固体基质上。然后，该固定抗原暴露在要测试的试样中。存在的一些或全部抗体将粘在固定抗原上。然后多余或未粘接的抗体都将洗去。

然后，标签试剂例如荧光抗免疫球蛋白 G 添加到试样中。该标签试剂粘在抗体上，并洗去然后多余的试剂。然后测量荧光的强度，以便提供在试样中存在的抗体的量的指示。

“夹层”免疫测定的一个问题是包括多个冲洗步骤。该冲洗步骤是除去多余的抗体和标签试剂所必须的，否则它们将对结果的精确性产生不利影响。

还有一问题是，试样只能一次分析一个目标。因此，为了检测在试样中的多个不同目标，需要分开的试样容器。因此，需要大量的冲洗步骤，从而使该方法麻烦和费时间。

本发明的目的是克服或减轻至少一个上述缺点。

本发明还有一目的是减少或消除目前在免疫测定中需要进行的冲洗步骤的数目。

上述目的可以通过提供一种用于进行化学、生物化学或生物医学化验的装置来实现，该装置与基于盘的扫描装置结合使用。一种这样的装置例如在美国专利 No.5892577 中所述，该美国专利 No.5892577 的标题是“Apparatus and Method for Carrying Out Analysis of Samples”，该文献整个被本文参引。

#### 发明内容

本发明涉及进行化验，特别是涉及单独或成复合物地在盘上使用不同密度小珠。本发明包括用于分离和检测小珠 (bead) 或微粒、小珠复合物、标记、标签或粘附在小珠上的细胞的方法、用于执行化验的盘以及相关检测系统。

根据本发明的第一方面，提供了一种用于进行化验的装置。该装

置包括可旋转的盘，该盘确定了至少一个反应腔室和至少一个分离腔室。该反应腔室通过可控制的屏障装置而与分离腔室或槽道连接。密度梯度形成介质位于分离腔室内，因此，在使用时，具有不同密度的大量微粒可以沿基质的密度梯度而进行分离。

在本发明的第二方面，提供了另一种用于进行化验的装置。该特殊装置包括可旋转的盘，该盘确定了至少一个分离腔室。该分离腔室或槽道装有密度梯度形成介质，且在使用时，具有不同浮密度的大量微粒可以沿基质的密度梯度而进行分离。

可旋转盘用于绕它的中心孔旋转，该中心孔用于可释放地与旋转轴啮合。还优选是，盘确定了多个径向延伸的反应腔室和分离腔室。盖体盘用于完成反应腔室，并由透光材料形成，例如透明塑料材料。

可旋转盘的基座可以是压密盘 (CD)、可记录 CD (CD-R)、CD-RW、数字通用盘 (DVD)、DVD-R、DVD-RW、或者其它标准或专用光盘格式 (包括荧光或磁光盘)。

分离腔室或槽道提供有密度梯度形成介质。合适介质的实例是由 Pharmacia Biotech 提供的、商标为 Percoll 的凝胶。密度梯度可以预先在凝胶内形成或者通过施加一个离心力而产生。在本发明的一个实施例中，通过使盘绕它的中心轴线旋转而形成和保持密度梯度。优选是，密度梯度介质为透明的，或者光可透射。

在盘装置的使用过程中，具有不同密度和/或尺寸的微粒引入反应腔室中。合适的微粒包括可由 Pharmacia Biotech 购得的密度标记小珠。优选是，小珠为预定密度和尺寸。小珠也可以彩色编码或为荧光，以便用于鉴别目的。

当盘旋转并驱动可控制屏障部件时，小珠或微粒可以在向心力作用下离开反应腔室。当微粒沿分离腔室或槽道到达使得微粒密度等于周围介质的密度的点时，它将停止。当发生这样的情况时，微粒或小珠称为到达它的等密度点。

微粒的最小密度大于密度梯度介质的最小密度。因此，通过平衡，没有颗粒会留在反应腔室中。

在本发明的一个特殊实施例中，特定的抗原和/或抗体可以固定在小珠的表面上。例如，为了分析试样以便选定抗体，相应选择的抗原可以固定在特殊密度的小珠上。

如上所述，抗体和抗原可以用于相互检测。抗体将选择地粘在它的相应抗原上，且粘接的物质可以通过利用标签或“标记”来鉴别。可以使用标签试剂，例如荧光抗免疫球蛋白 G。荧光抗免疫球蛋白 G 将粘在目标抗体的抗原决定基上。因此，所形成的复合物可以通过抗免疫球蛋白 G 标签的光学特性来鉴别。

在本发明的另一实施例中，反应腔室装有荧光抗免疫球蛋白 G 和至少两组小珠或微粒，每一组有不同密度，并粘附有不同抗原。然后，将例如血液或血清试样引入反应腔室中。在试样中的抗体可以与固定的抗原和荧光抗免疫球蛋白 G 进行复合。

在本发明的另一实施例中，粘接伴侣装入反应腔室中，该粘接伴侣包括至少两种不同预定密度、形状和/或大小的微粒。各微粒或粘接伴侣粘附有至少一种抗体，该抗体对感兴趣的抗原或目标抗原具有亲和力。粘附在各特定微粒上的抗体对于在目标抗原上的不同抗原决定基具有特定的亲和力。当包含目标抗原的试样引入反应腔室中时，试样与固定在不同粘接伴侣上的抗体进行复合，从而形成粘接伴侣微粒复合物。本领域技术人员由本说明书可知，小珠复合物并不局限于两种小珠或粘接伴侣，而是可以在多微粒或多参数测试形式（涉及三种或更多不同密度、形状和/或尺寸的微粒）中实现。

在本发明的另一实施例中，粘接伴侣可以包括至少一种具有已知密度的微粒和一种细胞，其中，小珠粘附有至少一种抗体，该抗体粘接在细胞的表面标记上的至少一个抗原决定基上。因此，当细胞和小珠在反应腔室中混合时，通过使小珠上的抗原粘接在细胞表面标记上而形成细胞-小珠复合物。该复合反应并不局限于单个细胞或小珠，而是可以多个细胞粘在单个小珠上，或者多个小珠粘在单个细胞上。小珠可以包含一种或多种抗体，该抗体对不同细胞的表面标记具有亲和力。细胞表面标记可以包括在细胞表面上的簇指示标记、细胞表面蛋

白、细胞表面糖蛋白、糖或任何物质，它们可以被识别，或者可以粘在抗体上。

在本发明的另一实施例中，可以利用多种粘接伴侣来进行多重化验，这些粘接伴侣包括任意组合的小珠或微粒、细胞和标记，以便形成包括至少两个粘接伴侣的复合物，从而进行多参数测试。在本发明的优选实施例中，微粒和/或细胞具有不同的物理性质。这些性质例如可以包括不同的密度、尺寸、质量、形状、颜色和/或表面性质。

当盘旋转时，可以在反应腔室中进行复合反应。也可选择，当复合反应完成时可以开始旋转。在任何情况下，旋转用于沿分离腔室的长度形成和/或保持密度梯度。复合反应也可以在盘外部进行，任何装入反应腔室中，以便进行分析。

当形成密度梯度时，除去可控制屏障。通过旋转产生的向心力使得小珠或微粒从反应腔室运动至分离腔室。已经与小珠连接的、感兴趣的目标也从反应腔室运送至分离腔室。小珠、小珠复合物或小珠-细胞复合物由于具有不同密度而沿分离腔室的长度停止于不同位置。后面将结合附图详细介绍相关光学生物盘的各个部件的一个实施例。

如上所述，粘接有感兴趣的抗体的小珠将进行标记或加标签，或者粘接成两个或更多小珠的复合物、或者两个或更多小珠-细胞复合物。因此，它们可以通过光学装置来定位或检测，如后面更详细所述。

在反应腔室中的未粘接和/或未反应材料并不通过向心力而吸入分离腔室或槽道中。这是因为未粘接和/或未反应材料的密度小于密度梯度介质的最小密度。因此，感兴趣的材料可以与反应混合物主体分离，而不需要麻烦的冲洗步骤。

一旦分离，不同小珠、小珠复合物或小珠-细胞复合物的位置可以通过使用具有盘的扫描装置来测量，申请人的美国专利 No.5892577 介绍了一种可以与本发明结合使用的扫描装置。

当盘旋转时，电磁辐射的射束可以扫描整个盘表面。射束通过盘的透光盖体而进行透射，并与在分离腔室中的材料进行相互作用。如后面所述，盘可以包括多个分离腔室，各分离腔室供给相同或不同试

样。相互作用或“调制”射束将进行检测和分析。分析提供了射束位置的信息以及关于进行分析的材料的特性的信息。加标签的小珠、复合小珠或小珠-细胞复合物以特定方式与入射射束进行相互作用，以便产生特征调制信号。因此，通过监测产生该调制信号的位置，并使这些信号与标定控制的信号比较，可以确定在试样中存在的特定目标的种类。通过测量该信号的强度，还可以推断特定目标的量。

本发明的装置也可以用于提供控制值，任何上述化验的结果可以与该控制值比较。

根据本发明的第三方面，提供了一种用于进行化验的方法。该方法包括以下步骤：（1）提供可旋转盘，该可旋转盘确定了至少一个反应腔室和至少一个分离腔室，该反应腔室通过可控制的屏障装置而与分离腔室或槽道连接，且分离腔室有密度梯度形成介质；（2）将具有不同预定密度、形状、尺寸和/或颜色的多个微粒引入反应腔室中，该微粒用于接收特定试剂；（3）将要测试的试样引入反应腔室中；（4）使盘旋转，以便提供向心力；（5）控制在反应腔室和分离腔室之间的可控制屏障，从而使该多个微粒可以在向心力作用下从反应腔室运动至分离腔室，以便根据密度分离颗粒；以及（6）通过光学装置来分析分离腔室或槽道的内容物。

该方法还包括在使盘旋转之前将标签试剂引入反应腔室内的步骤。也可选择，在将混合物引入反应腔室内之前，标签试剂可以与测试试样混合。

通过下面的详细说明和附图，可以清楚本发明的不同实施例和方面的其它特征和优点。

#### 附图说明

通过下面对本发明优选实施例的说明，可以清楚本发明的其它目的以及附加特征和由此产生的优点，这些优选实施例表示于附图中，在全部附图中，相同参考标号表示相同部件，附图中：

图 1 是本发明一个实施例的盘的透视图；

图 2 是图 1 的盘的分解透视图；

图 3 是图 1 的盘的反应和分离隔腔的放大图；

图 3A 表示了图 3 的反应和分离隔腔的螺旋实施方式；

图 3B 表示了图 3 中所示的反应和分离隔腔的蛇形结构；

图 3C 表示了图 3 中所示的反应和分离隔腔的正弦曲线形式；

图 3D 表示了图 3 中所示的反应和分离隔腔的弓形形式；

图 4 是沿穿过图 1 的盘的隔腔的线 A - A' 的剖视图；

图 5 至 8 是表示在本发明实施例中发生的相互作用的示意图；以及

图 9 至 12 是图 3 的隔腔的视图，表示了本发明实施例在工作时的情况。

#### 具体实施方式

首先参考图 1 和 2，它们表示了本发明实施例的装置。该装置适于与具有光盘的扫描装置结合使用，该扫描装置例如在美国专利 No.5892577 中所述，该文献被本文参引。

如图 1 和 2 所示，装置包括盘 10，该盘 10 包括布置在盖体 14 和基座 16 之间的本体 12。该本体 12、盖体 14 和基座 16 粘接在一起，以便形成整体盘，例如如图 1 中所示。基座 16 可以是压密盘 (CD)、可记录 CD (CD-R)、CD-RW、数字通用盘 (DVD)、DVD-R、DVD-RW、或者其它标准或专用光盘格式 (包括荧光或磁光盘)。盖体 14 可以由透明塑料材料形成，例如包括聚碳酸酯。也可选择，盘可以以相反方式装配，其中，盖体 14 是压密盘 (CD)、可记录 CD (CD-R)、CD-RW、数字通用盘 (DVD)、DVD-R、DVD-RW、或者任意等效光盘格式。在该实施例中，基座 16 由透明材料形成。盘 10 提供有中心孔 18 (图 1)，该中心孔 18 用于可释放地与例如旋转轴或心轴啮合。

本体 12 确定了多个径向延伸的隔腔 20，如图 2 和 3 所示。各隔腔 20 包括反应腔室 22 和分离腔室或槽道 24 (图 3)。材料可以通过在装置 10 的盖体 14 中的孔 28 而引入反应腔室 22 中。分离腔室或槽道 24 可以预先装有介质，该介质在施加向心力时形成密度梯度。这种材料例如可以包括 Percoll 密度介质。

在本发明的一个实施例中，反应腔室 22 的位置最靠近盘的中心，如图 2 所示。反应腔室 22 通过可控制的屏障 26 而与分离腔室 24 连接（图 3），且分离腔室预先装有密度梯度介质。

根据分离腔室 24 的可选实施例，该分离腔室 24 的形状为螺旋形（图 3A），而不是直线和径向方向。在该实施例中，形成长得多的腔室，从而使每单位长度的梯度更小，因此提高化验的分辨率。因此，该实施例提供了基于盘的密度层析系统，在本文中也称为“流通”系统。该实施例的可选实施方式还包括图 3B 中所示的蛇形结构、图 3C 中所示的正弦形状和图 3D 中所示的弓形形状。在图 3B 所示的蛇形形状中，各连续蛇管(coil)具有增大的直径，如图所示。在该结构中，各蛇管可以有稍微弧形形状，该弧形与在沿盘的半径的各点处相应周边的弧相符。在图 3C 中所示的正弦结构中，各连续蛇管有基本相同的直径。在图 3D 所示的弓形分离槽道 24 中，该分离槽道 24 的长度可以跨过盘的整个半径，因此槽道 24 基本从盘的中心延伸至外边缘。也可选择，图 3D 中所示的弓形分离槽道 24 的长度例如可以只跨过盘的大约一半半径。在该结构中，分离槽道的两个连续环可以布置在盘上。

本发明的“流通”系统实施例并不局限于密度梯度层析，而是可以包括任何层析系统，例如包括大小分离术、反相、离子交换和亲和力层析。也可选择，“流通”系统可以用于基于盘的流式细胞测量术用途。

在本发明的另一实施例中，腔室 20 的方向相反，其中，这时反应腔室 22 的位置最远离盘的中心。该反向腔室结构可以在图 3、3A、3B、3C 和 3D 中所示的任意一个分离槽道 24 的实施例中实施。在这些实施方式中，反应腔室 22 和分离腔室 24 彼此流体连通。隔腔 20 可以预先装有密度介质，或者可以制备介质，在盘外与微粒和化验溶液混合，并施加至隔腔中以便进行分析。在本实施例中，产生向心力，并由于介质的特征而保持密度梯度。一旦形成梯度，小珠将根据它们各自的浮力密度而运动和停留在介质内的等密度点处。在本文中，该反向腔室系统称为“浮力密度分离系统”。

下面参考图 4，该图 4 表示了盘 10 沿隔腔 20 的剖视图。反应腔室 22 通过可控制的屏障 26 而与分离腔室 24 分开。屏障 26 可以由易碎隔膜形成，当施加的向心力超过界限值时，该隔膜就将破裂。反应腔室 22 装有大量不同密度的小珠 30。在本发明的一个实施例中，反应腔室 22 还装有荧光抗免疫球蛋白 G。孔 28 能够将测试试样引入反应腔室 22 中。

下面将参考图 5、6、7 和 8 介绍在反应腔室 22 中发生的各种抗原-抗体相互作用。附图表示了小珠或微粒 30a、30b 和 30c，根据一个实施例，它们分别为不同颜色。小珠 30a、30b 或 30c 也有不同密度，图 5 的小珠 30a 的密度最小，而图 7 的小珠 30c 的密度最大。

下面参考图 5、6 和 7，图中表示了夹层类型化验，其中包括至少一个捕获小珠、一个抗原或目标试剂、以及一个粘在通过抗原-抗体相互作用而形成的复合物中的标签标记。各捕获小珠 30a、30b 或 30c 具有粘附在其上的特定抗体或捕获探针 32a、32b 或 32c。抗体 32a、32b 和 32c 根据它们对于在试样中可能存在的抗原或目标试剂 34a、34b 或 34c 的亲和力而特别选择。抗体 32a、32b 和 32c 分别固定在小珠 30a、30b 和 30c 的表面上。如图 5 至 8 中所示，存在于试样中的任何抗原 34a、34b 或 34c 将特别粘附在固定于小珠 30a、30b 或 30c 上的抗体 32a、32b 或 32c 上。当荧光抗免疫球蛋白 G 38 粘在粘接抗原 34a、34b 或 34c 上时，形成夹层类型复合物 36a、36b 或 36c。

下面特别参考图 8，图中表示了粘接伴侣 (partner) 小珠或微粒复合物 36d，包括至少一个捕获小珠或捕获微粒 30e、一个目标试剂 34d 和一个指示器(reporter)小珠或指示器微粒 30d。小珠伴侣复合物通过使目标抗原或目标试剂 34d 与捕获探针 32e 和指示器探针 32d 特别粘接而形成，该捕获探针 32e 和指示器探针 32d 分别粘接在小珠粘接伴侣 30e 和 30d 上。探针 32d 和 32e 各自有对于目标 34d 上的不同抗原决定基的亲和力，且它们彼此没有亲和力。在该夹层化验中形成的粘接伴侣小珠复合物 36d 的密度近似等于两个小珠 30d 和 30e 的平均密度。因此，当粘接伴侣小珠复合物 36d 引入分离腔室 24 (图 3、

3A、3B、3C 和 3D) 内的密度梯度介质中时, 该复合物将停留在未复合小珠 30d 和 30e 之间的等密度点处。也可选择, 一个小珠粘接伴侣可以是细胞粘接伴侣, 其中, 捕获小珠 30e 或指示器小珠 30d 有探针, 这些探针对在细胞上的细胞表面标记具有特别的亲和力, 如上面所述和后面结合图 12 所述。

下面参考图 9、10、11 和 12 介绍装置 10 的操作。为了清楚, 复合物 36a、36b 和 36c 已经从图中省略。这时, 这些复合物仍然表示为它们在图 5、6 和 7 中所示的各个小珠标号。

首先参考图 9, 图中表示了已经装载并准备使用的隔腔 20。在该实施例中, 反应腔室 22 装有荧光抗免疫球蛋白 G 和不同密度的捕获小珠 30a、30b 和 30c。可控制屏障 26 防止反应腔室 22 中的材料运动至分离腔室 24 中。

在非限定实例中, 血清试样引入反应腔室 22 中。当在试样中存在抗体或目标试剂 34a、34b 或 34c 时, 它们将粘在固定抗原或捕获小珠 32a、32b 或 32c 以及荧光抗免疫球蛋白 G 38 上, 以便形成图 5、6 和 7 中所示的夹层类型复合物 36a、36b 或 36c。然后使盘 10 旋转。密度梯度形成于包括 Percoll 介质的密度介质中。在该实施例中, 介质在最靠近盘 10 中心处的密度最高。当盘 10 的转速高于界限速度, 且向心力超过界限值时, 控制屏障 26 将破裂, 如图 10 所示。

通过向心力, 小珠 30a、30b 和 30c 从反应腔室 22 向分离腔室 24 运动。小珠 30a、30b 和 30c 沿分离腔室 24 的长度运动, 并停止于它们的等密度点处。如上所述, 当小珠 30a、30b 或 30c 的密度等于它周围介质的密度时, 它到达等密度点处。小珠的等密度点的准确位置取决于它的密度。因此, 图 5 的小珠 30a 停止于最远离盘中心的位置处。相反, 图 7 的、密度最大的小珠 30c 将停止于最靠近盘中心的位置处。

密度小于 Percoll 介质的未反应材料(即未反应的试样和未反应的荧光抗免疫球蛋白 G) 保留在反应腔室 22 中。

如图 11 所示, 捕获小珠 30a、30b 和 30c 根据密度梯度(包括 Percoll 介质) 分成不同区。这些区因为存在荧光抗免疫球蛋白 G 38 而发出荧

光。小珠 30a、30b 和 30c 的位置可以利用基于盘的扫描装置（这种扫描装置例如在美国专利 No.5892577 中所述）或者任意合适的荧光类型光盘阅读器或扫描仪来测量。

类似的，图 12 表示了使用两种粘接伴侣的夹层类型化验，这两种粘接伴侣包括不同密度和/或尺寸的小珠，如上面所述和图 8 中所示。如结合图 8 所述和图 12 中所示，所形成的粘接伴侣小珠复合物的等密度点在各组分小珠的等密度点之间。当盘旋转时，小珠在密度梯度中移动，并停止在它们各自的等密度点处。因此，复合物 36d 将停止在未复合的小珠 30d 和 30e 之间。如上所述，小珠复合物的形式并不局限于粘接伴侣小珠复合物，而是可以为具有三个或更多不同粘接伴侣的复合物。所形成的复合物的等密度点将等于在复合物中的所有粘接伴侣的等密度点的平均值。粘接伴侣也不局限于小珠，而是可以包括小珠、细胞和标签或标记的任意组合。

再参考图 11，当盘 10 旋转时，来自源 46 的电磁辐射射束 40 可以对盘 10 的整个盖体 14 扫描。射束 40 通过盖体 14 透射，并与分离腔室 24 中的材料相互作用。相互作用的、返回的、或“调制的”射束 42 由检测器 48 检测，然后能够通过计算机 50 或其它分析器来进行分析。该分析可以提供入射射束 40 的位置的信息和/或受到分析的材料特征的信息。盘可以包括其它类型的测试腔室，并可以有可由系统读出的软件。这样的软件可以指导计算机工作，例如控制源 46 来发射具有特定特征的光，或者控制使盘旋转的马达 52，包括控制盘速度、方向和加速度。在另一实施例中（其中盘以相反方式装配），如结合图 1 中所述，电磁辐射射束可以从盘的底侧穿过基座 16 而对整个盖体 14 扫描。在另一实施例中，射束能够穿过盘组件，并由位于射束源相对侧的检测器来检测。对于该实施例的详细情况如美国专利 No.5892577 中所述。

在本发明的另一可选实施例中，入射射束保持静止。根据该可选实施例的方法，提供使电磁辐射的入射射束指向分离腔室内的固定点上的步骤。该方法还包括以下步骤：当微粒流过分离腔室时检测微粒

或标签标记，从而确定微粒通过介质的沉降速度或洗提时间。这也有利于确定粘接在微粒上的任何目标的存在和量。在本文中，通过时间来分离和检测微粒或细胞的该方法称为“流通”系统，它类似于密度层析系统。

荧光抗免疫球蛋白 G、小珠、小珠复合物或小珠-细胞复合物以特殊方式与入射射束相互作用，以便产生特殊的调制信号。因此，通过监测这些特殊调制信号，可以确定小珠、小珠复合物和小珠-细胞复合物的准确位置和量。通过使这些结果与控制试验的结果比较，可以推断在受测试的试样中存在的抗原的种类和量。

在另一实施例中，本发明的装置抗原用于对试样进行抗体分析。其中，特定抗原固定在小珠上。包含目标抗体的试样与粘有抗原的小珠和标签试剂（例如荧光免疫球蛋白 G）混合。该免疫球蛋白 G 对一部分抗体（例如 Fc 部分）有亲和力。然后，来自粘接免疫球蛋白 G 的信号可以用于检测粘在小珠上的抗原上的抗体。可以固定在小珠上的抗原的非限定实例包括：病毒抗原，例如肝炎（例如美国专利 No.6312889）、疱疹（例如美国专利 No.6126944）或 HIV（例如美国专利 No.5834267）；细菌抗原，例如肺结核（例如美国专利 No.6245331）或炭疽杆菌（例如美国专利 No.5677274）；寄生虫抗原，例如疟原虫（例如美国专利 No.6120770）、M 麻风杆菌（例如美国专利 No.4906742）或利什曼原虫（例如美国专利 No.5411865）；以及疾病标记抗原，例如癌症（例如美国专利 No.6350583 和 6242203）。

本文中的几个实施例利用免疫球蛋白 G 来用于捕获和/或检测目的。其它免疫球蛋白例如 IgM、IgA、IgE 也抗原用于捕获和/或检测目的。而且，本发明的化验使用的免疫球蛋白抗原是多克隆抗体或单克隆抗体或重组体抗体或者它们的片断。

应当知道，本发明的系统和方法并不局限于抗原-抗体相互作用。能够成为粘接伴侣的任何半部分（moieties）都可以用于本发明。在非限定实例中，本发明的一个实施例使用粘在小珠上的受体蛋白，该受体蛋白在暴露于试样中时将粘接它的相应配合基（ligand）。然后，粘附

在小珠上的受体粘接配合基可以通过使用专用于该配合基的标签试剂（例如荧光免疫球蛋白 G）来检测。也可选择，配合基的存在也可以通过利用具有另一受体蛋白的第二小珠形成粘接伴侣小珠复合物而进行检测，该另一受体蛋白具有对于相同配合基的不同部分的亲和力。在另一实例中，化验可以基于酶/酶作用物(substrate)的相互作用，这样，酶或酶作用物粘在小珠上。然后利用适用于该分子（进行合适标记）的特定免疫球蛋白来完成对酶或酶作用物的检测。也可选择，粘在小珠上的酶可以利用合适的酶作用物来检测，该酶作用物与酶反应，以便产生可检测的产品，例如颜色或荧光。当酶作用物是由小珠捕获的目标时，合适的酶可以引入化验混合物，该酶与酶作用物相互作用，以便产生可检测的产品。在另一实施例中，化验可以完全不采用抗体。小珠可以涂覆有外源凝集素分子，该外源凝集素分子将专门粘接试样中的特殊碳水化合物半部分。然后，粘接碳水化合物的检测也可以通过也可粘接在碳水化合物上的第二标签外源凝集素或者具有也可粘接在碳水化合物上的外源凝集素的第二小珠来实现。

还设想利用化验来检测包括 DNA 或 RNA 的核酸的特定顺序。在非限定实例中，有意义链或反意义链可以固定在小珠上并暴露于试样中。当在试样中存在相应的有意义分子或反意义分子时，在处于能促进有意义分子和反意义分子之间的氢键键合的状态下并经过合适时间后，该有意义分子或反意义分子将粘在低聚核苷酸探针上，该低聚核苷酸探针粘在小珠上。然后，通过将复合物暴露在合适标签标记例如抗体或第三核酸分子（它们只与从试样中筛选的核酸分子杂合）中来完成检测。也可选择，抗体或第三核酸分子可以粘在不同密度和电磁特性的另一小珠（粘接伴侣）上。所形成的小珠复合物可以通过入射束来检测，如上面结合图 8、11 和 12 所述。

在不脱离本发明的范围的情况下，可以对上述实施例进行各种变化或改变。例如，可控制屏障可以机械或电控制。也可选择，屏障可以采用布置在分离腔室和反应腔室之间的升高凸起的形式。在该实施例中，材料只有在装置转速高于界限速度时才能从反应腔室到达分离

腔室。低于该界限值，向心力将不足以将材料拉过凸起。采用的旋转可以是顺时针方向或逆时针方向，或者当希望以特定方向或方式使化验溶液运动或搅动时分阶段交替。尽管上面通过生物实例来进行介绍，但是试样也可以用于化学目的测试，例如检测水的特殊杂质，包括有害金属、有机毒素或无机毒素。

### 总结

这里所述的方法和装置可以很容易用于在下面共同转让和共同待审申请或公布专利中所述的方法、系统和装置、或者与这些方法、系统和装置组合使用或结合实施：美国专利申请 No.09/284421，标题为“**Apparatus and Methods for Conducting Assays**”，申请日为 1999 年 6 月 11 日；美国专利申请 No.09/394137，标题为“**Spatially Addressable, Cleavable Reflective Signal Elements, Assay Device and Method**”，申请日为 1999 年 9 月 10 日，目前的美国专利 No.6312901；美国专利申请 No.09/120049，标题为“**Optical Disk-based Assay Devices and Method**”，申请日为 1998 年 7 月 21 日，目前的美国专利 No.6342349；美国专利申请 No.09/064636，标题为“**Laboratory in a Disk**”，申请日为 1998 年 4 月 21 日，目前的美国专利 No.6030581；美国专利申请 No.09/421870，标题为“**Trackable Optical Discs with Concurrently Readable Nonoperational Structures**”，申请日为 1999 年 10 月 26 日；美国专利申请 No.09/988728，标题为“**Methods and Apparatus for Detecting and Quantifying Lymphocytes with Optical Biodiscs**”，申请日为 2001 年 11 月 20 日；美国专利申请 No.10/038297，标题为“**Dual Bead Assays Including Covalent Linkages For Improved Specificity And Related Optical Analysis Discs**”，申请日为 2002 年 1 月 4 日；美国专利申请 No.10/099256，标题为“**Dual Bead Assays Using Cleavable Spacer and/or Ligation to Improve Specificity and Sensitivity Including Related Methods and Apparatus**”，申请日为 2002 年 3 月 14 日；美国专利申请 No.10/099266，标题为“**Use of Restriction Enzymes and Other Chemical Methods to Decrease Non-Specific Binding in**

**Dual Bead Assays and Related Bio-Discs, Methods, and System Apparatus for Detecting Medical Targets”，申请日为2002年3月14日，这些文献都整个被本文参引。**

在本申请中提出的所有其它专利、专利申请和文献也整个被本文参引。

尽管已经参考特定优选实施例和技术实例详细介绍了本发明，但是应当知道，本发明并不局限于这些具体实施例或实例，而是，本说明书介绍了目前用于实现本发明的最佳方式，但是本领域技术人员在不脱离本发明的范围和精神的情况下可以对它们进行多种变化和改变。例如，如上所述，本发明考虑了在密度层析形式或“流通”系统中通过经过一定时间来分离和检测微粒或细胞。在本发明的这种实施方式中，微粒或细胞的密度比密度介质更高。通过施加离心力，微粒或细胞运动，并根据它们的沉降速率而在密度介质中分离。然后，微粒或细胞可以在它们经过固定检测器时被检测。不同的微粒或细胞可以标记有不同标签，以便帮助检测和鉴别在试样中存在的不同物质。本发明的该方面也可以与上面所述的浮力密度系统组合实施，其中，一些微粒或细胞的密度并没有大到足以流过分离腔室的整个长度，而是可以保留在它们的等密度点。然后，这些微粒可以通过使检测器如上述运动至分离腔室内的不同区域来进行检测。因此，本发明的范围由下面的权利要求表示，而不是由前述说明。在权利要求的等效意义和范围内的所有改变、改进和变化都将在它们的范围内。

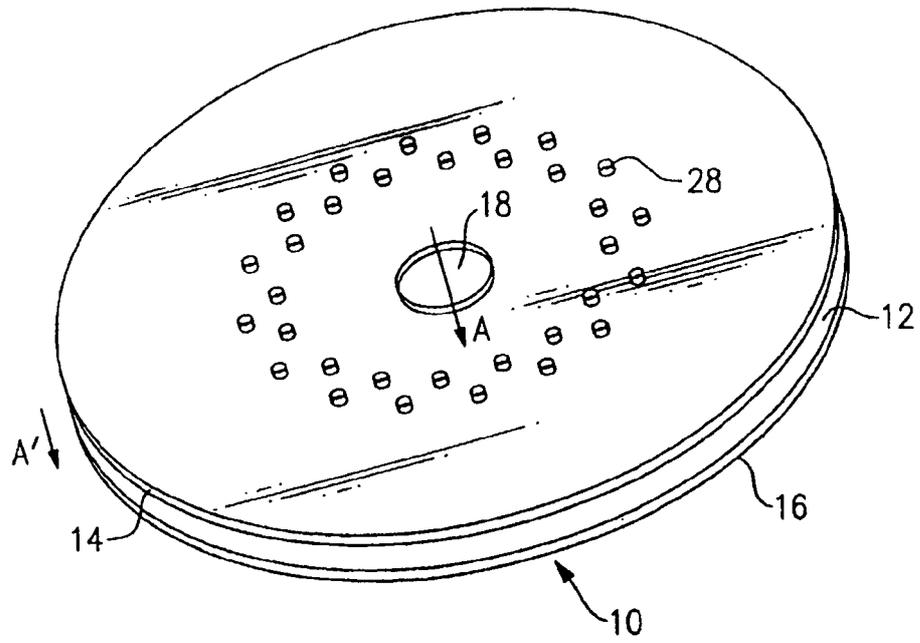


图1

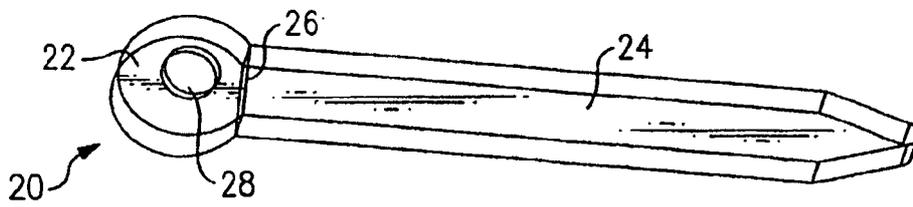


图3

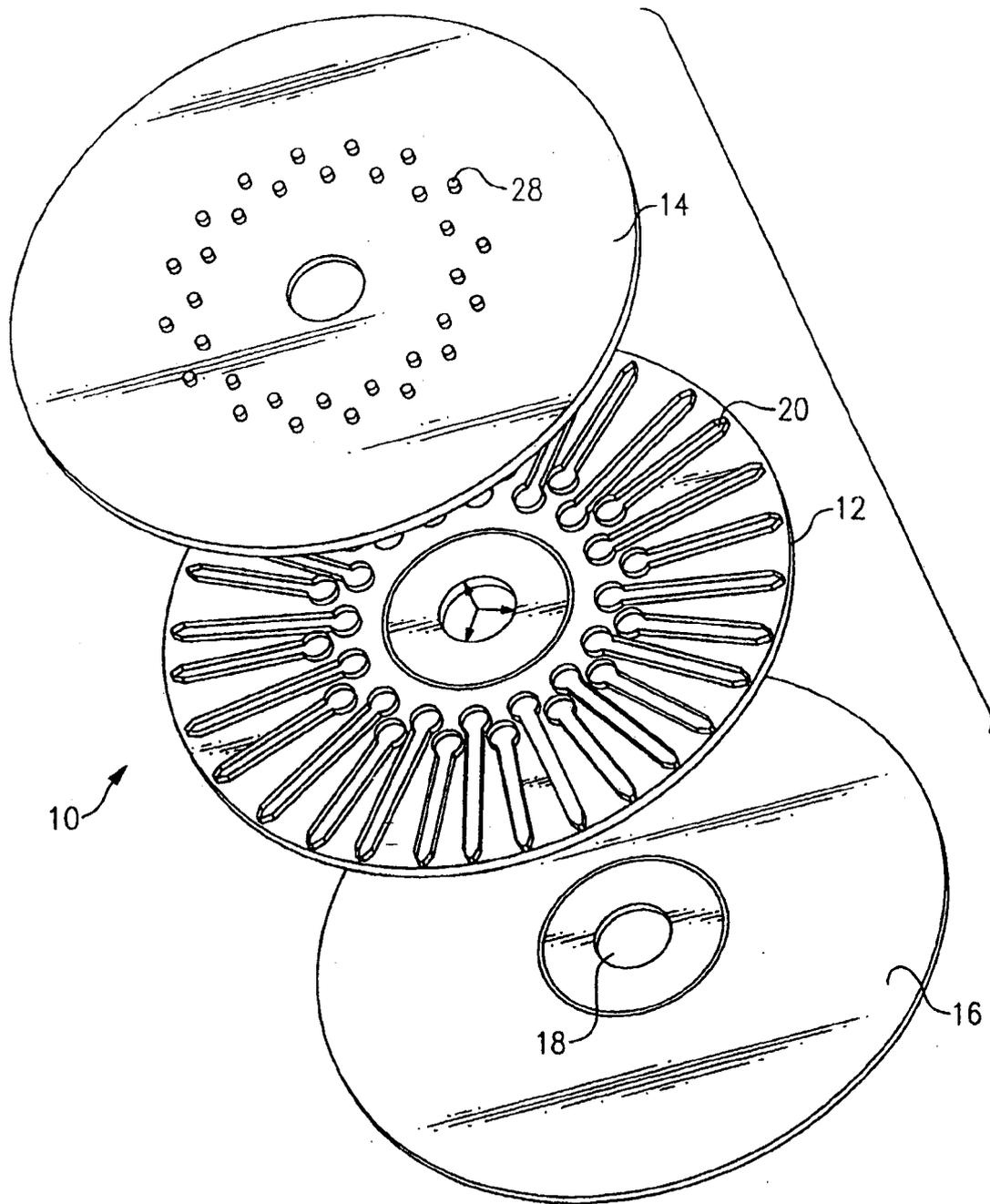


图 2

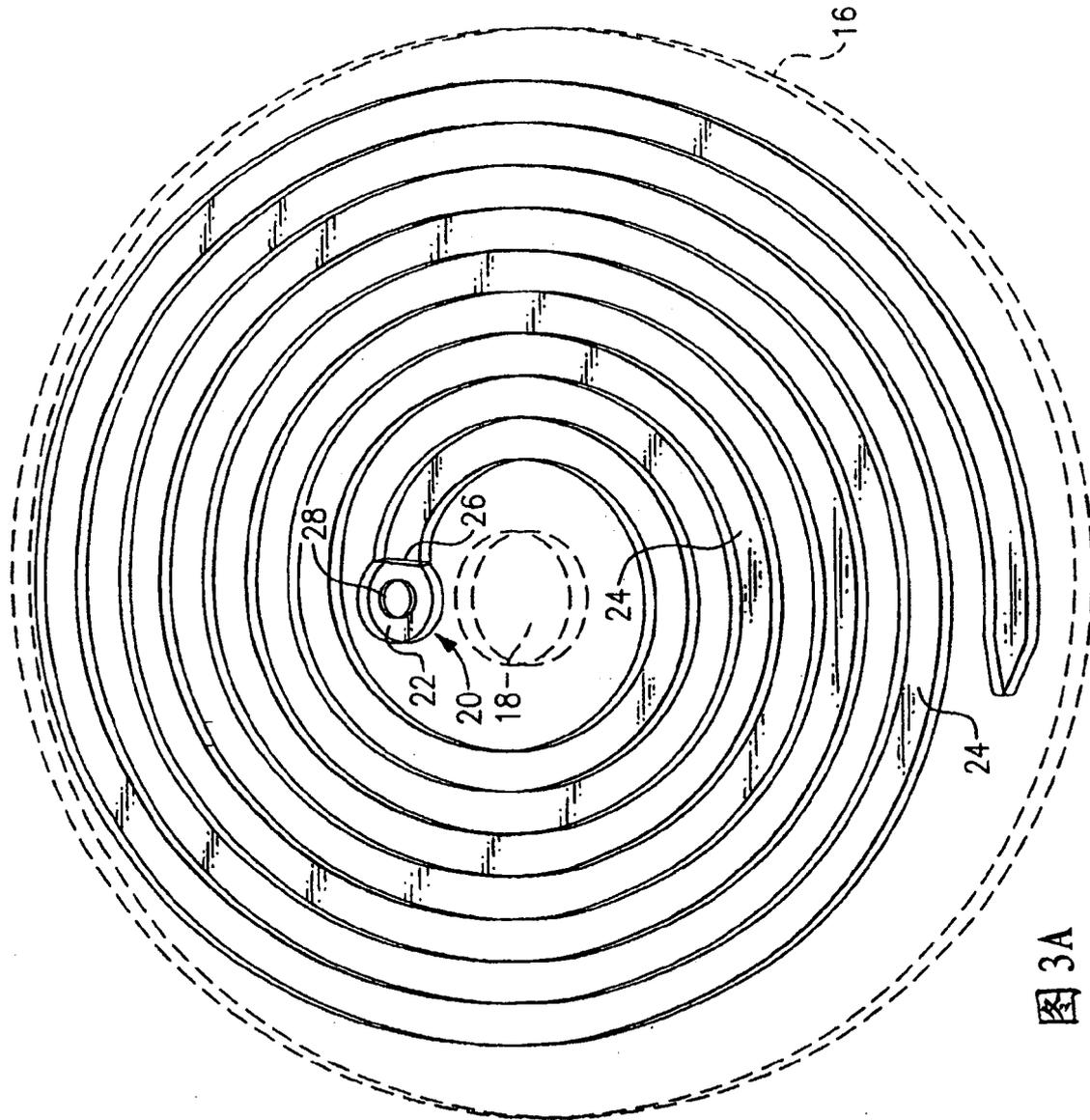


图 3A

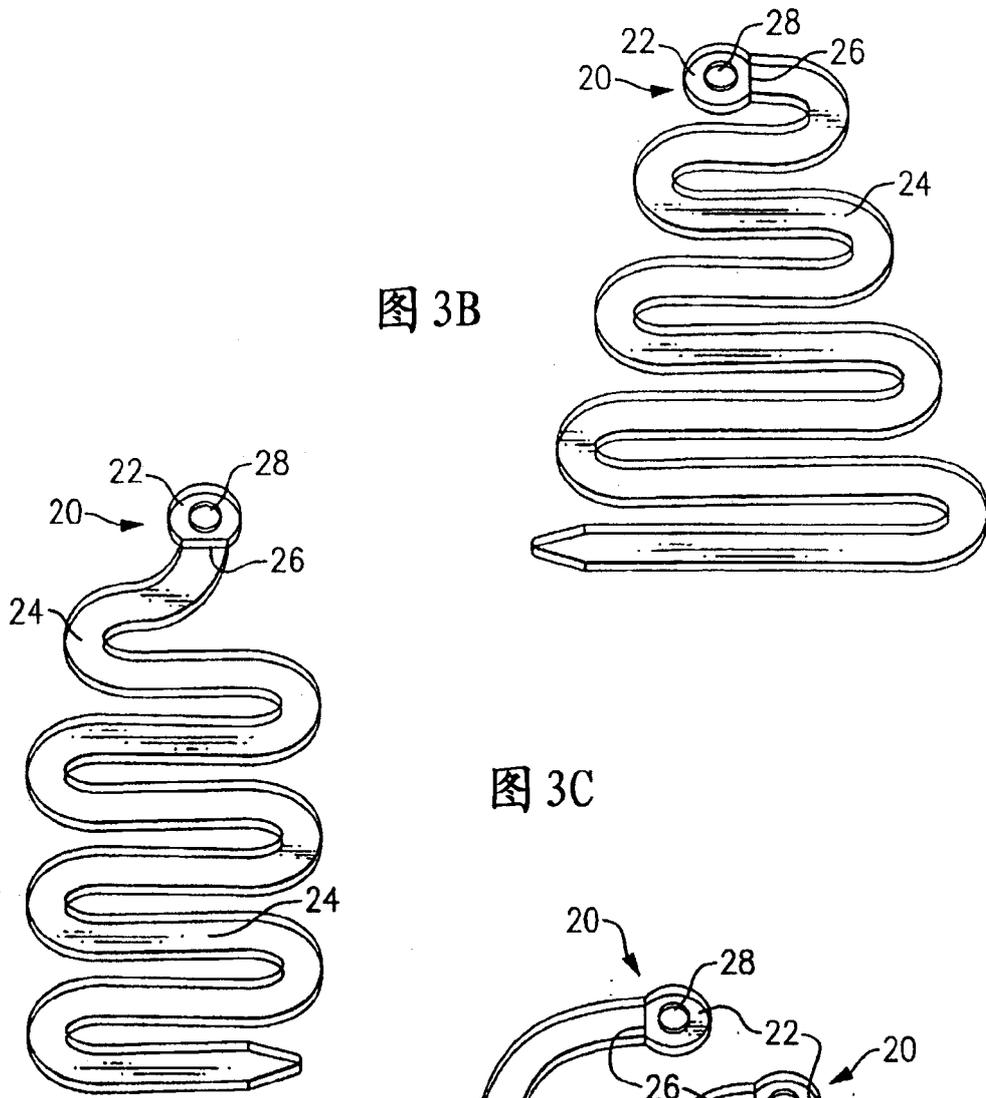


图 3B

图 3C

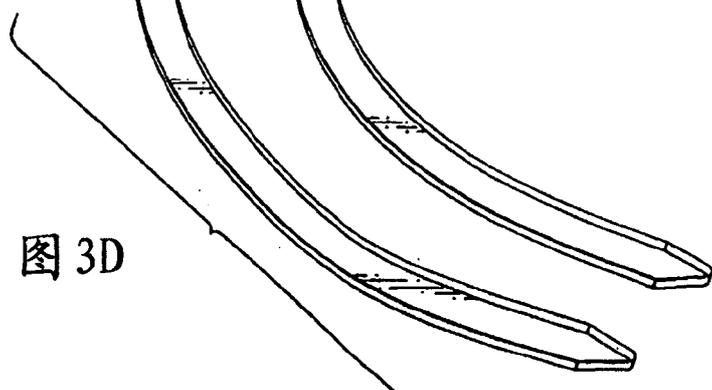


图 3D

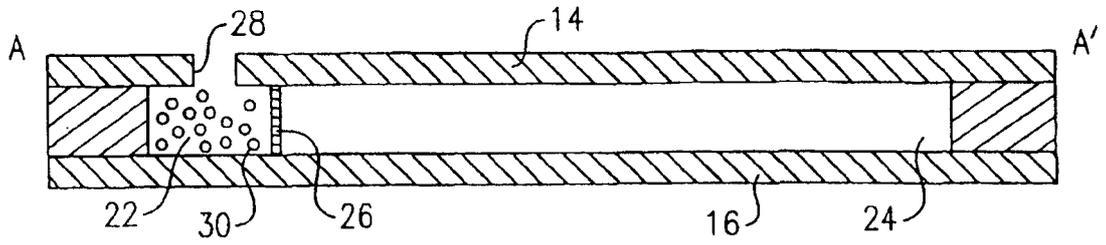


图 4

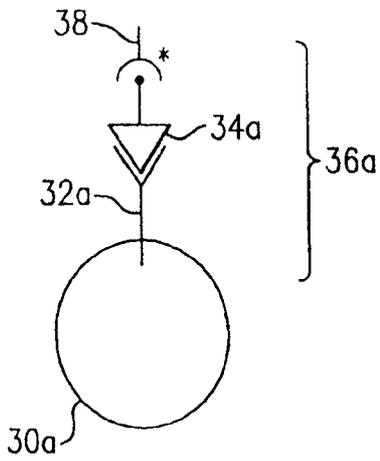


图 5

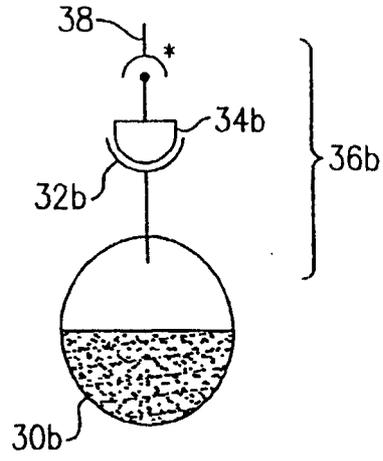


图 6

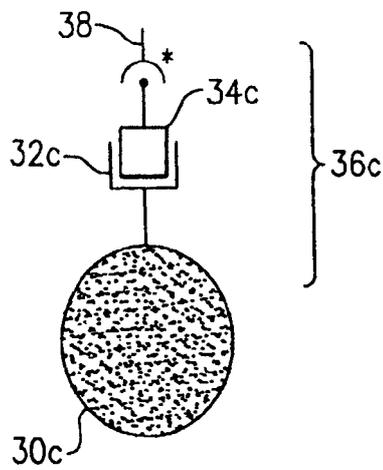


图 7

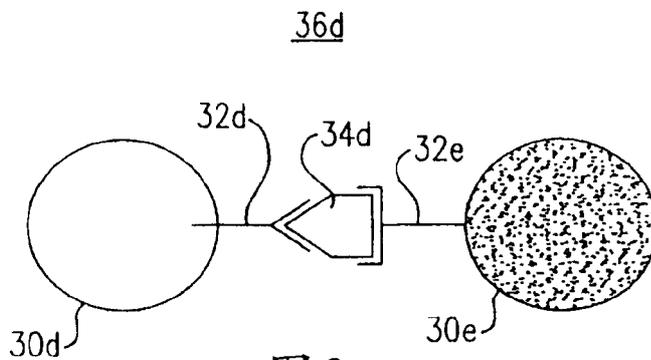


图 8

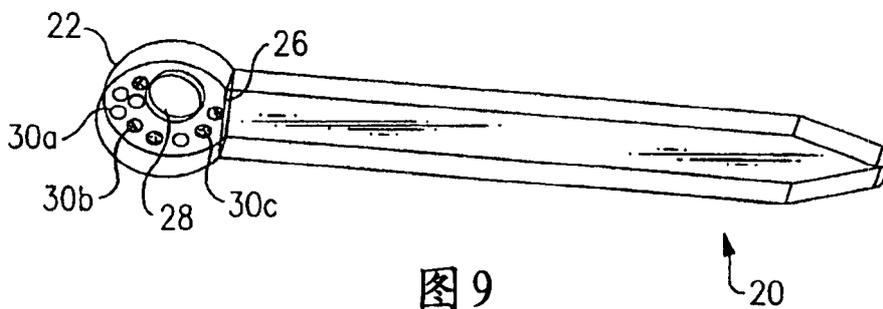


图 9

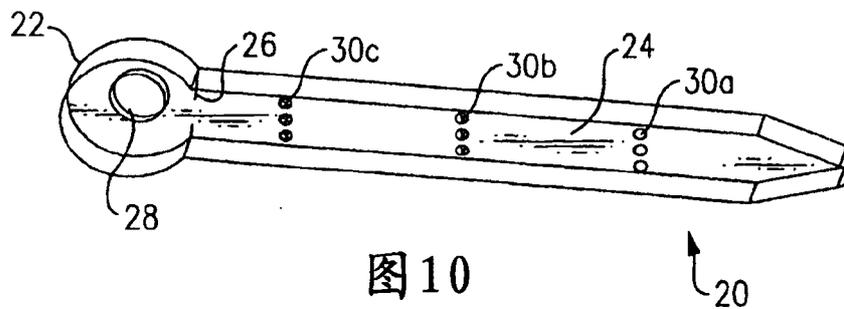


图 10

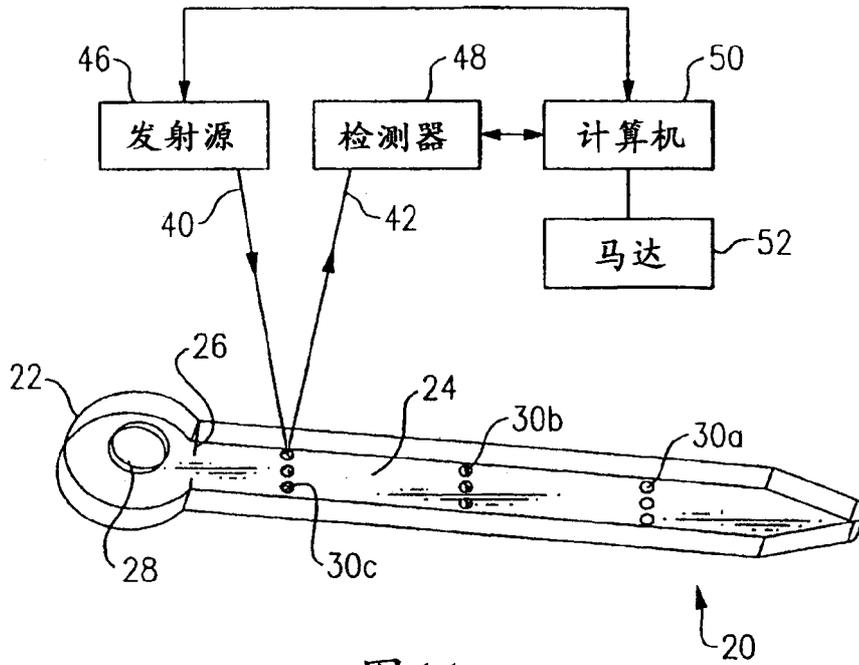


图 11

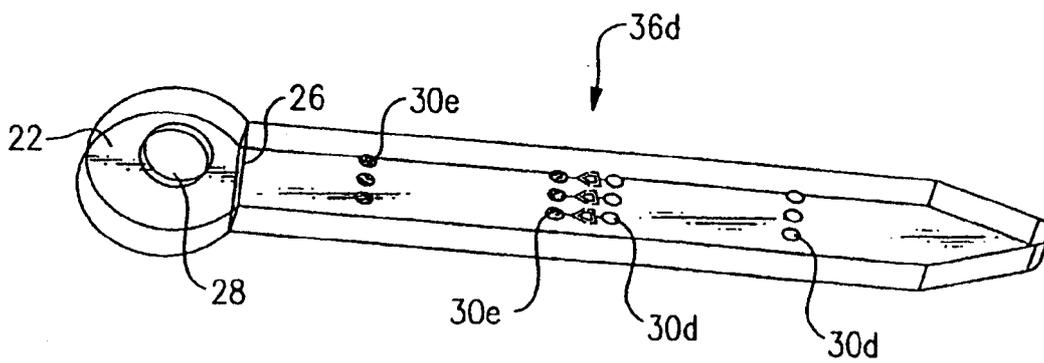


图 12

专利名称(译)	包括分析盘的多参数化验以及涉及该化验的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN1639557A</a>	公开(公告)日	2005-07-13
申请号	CN02829039.9	申请日	2002-04-11
[标]申请(专利权)人(译)	伯斯坦技术公司 长冈实业株式会社		
申请(专利权)人(译)	伯斯坦技术公司 长冈实业株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	伯斯坦科技股份有限公司.		
[标]发明人	约翰F戈登		
发明人	约翰·F·戈登		
IPC分类号	B01L3/00 G01N9/30 G01N21/07 G01N21/64 G01N21/77 G01N33/52 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/58 G01N35/00		
CPC分类号	G01N33/54366 B01L3/5025 B01L3/5027 B01L2200/0647 B01L2200/0694 B01L2300/0803 B01L2300/0883 B01L2400/0409 G01N21/07 G01N21/64 G01N21/6428 G01N21/76 G01N21/77 G01N33/523 G01N33/54313 G01N35/00069		
代理人(译)	范莉		
优先权	60/283213 2001-04-11 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及用于测试试样的目标分子或化学药品的方法和装置。该装置包括可旋转的光学盘，该盘有反应腔室，并有至少两组小珠或微粒，不同组的小珠有至少两种不同密度、尺寸、形状和/或颜色，且在一组中的各个小珠粘附有不同探针。试样加入反应腔室内，并使盘旋转，该反应腔室有密度梯度介质，该密度梯度介质使得不同密度的小珠根据小珠密度而停留在不同径向位置。然后，通过将电磁辐射的射束引导至盘上来检查该小珠。射束可以从盘反射或通过该盘透射。通过分析射束返回的信号，可以确定目标的量或者存在或缺乏。本发明还提供了进行化验和制造盘装置的相关方法。

