



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102301229 A

(43) 申请公布日 2011. 12. 28

(21) 申请号 200980155755. 6

G01N 33/487(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 01. 30

G01N 33/50(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日  
2011. 07. 29

G01N 33/53(2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据  
PCT/SE2009/000062 2009. 01. 30

(87) PCT申请的公布数据  
W02010/087741 EN 2010. 08. 05

(71) 申请人 瑞典生物传感器应用股份公司  
地址 瑞典索尔纳

(72) 发明人 P. 曼森

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001  
代理人 刘春元 王洪斌

(51) Int. Cl.  
G01N 29/02(2006. 01)

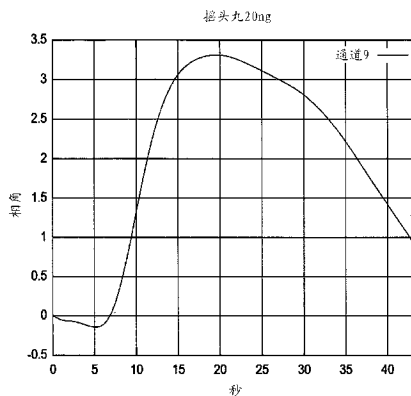
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 4 页

## (54) 发明名称

在液体样本中的几种靶抗原的分析

## (57) 摘要

描述了一种利用表面声波(SAW)传感器设备单独地分析至少两种不同的靶抗原在液体样本中存在与否的方法。该方法包括提供并且运行包括带有至少两个例如十二个 SAW 传感器元件的 SAW 传感器芯片的单一流动池, 每一个传感器元件包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层, 对于特定于靶抗原之一的抗体, 该改性抗原与该靶抗原自身相比具有较弱的亲合力。还公开了这种用于免疫置换反应的流动池和表面声波(SAW)传感器芯片。



1. 一种利用表面声波(SAW)传感器设备单独地分析至少两种不同的靶抗原在液体样本中存在与否的方法,包括以下步骤:

a) 提供单一流动池,所述流动池包括通向受限隔室的流动进口和出自所述受限隔室的流动出口,所述受限隔室包括带有至少两个 SAW 传感器元件的传感器芯片,所述 SAW 传感器元件被连接到延伸到所述受限隔室之外的电接触垫,在所述受限隔室中的每一个 SAW 传感器元件的表面包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层,对于特定于所述靶抗原之一的抗体而言,所述改性抗原与所述靶抗原自身相比具有较弱的亲合力,

b) 在所述 SAW 传感器设备中接合所述单一流动池以将所述流动池的所述流动进口和所述流动出口连接到所述设备的流体流并且将所述电接触垫连接到所述 SAW 传感器设备的高频板,

c) 通过使包含特定抗体的溶液流动通过所述单一流动池以在每一个 SAW 传感器元件的表面处形成免疫复合体而活化在每一个 SAW 传感器元件上的所述涂层,

d) 操作所述 SAW 传感器设备并且登记用于每一个 SAW 传感器元件的基线值,随后

e) 使所述液体样本流动通过所述单一流动池并且登记用于每一个 SAW 传感器元件的分析值,并且当所述分析值低于用于一个分析的 SAW 传感器元件的所述基线值时,这是由于所述抗体从该 SAW 传感器元件的表面处的所述免疫复合体的免疫置换反应,从而指示在所述液体样本中存在该靶抗原。

2. 根据权利要求 1 的方法,其中所述单一流动池包括带有用以分析 3 到 12 种不同的靶抗原在所述液体样本中的存在与否的 3 到 12 个 SAW 传感器元件的传感器芯片。

3. 根据权利要求 1 的方法,其中在测试溶液中的所述靶抗原选自炸药和麻醉剂。

4. 根据权利要求 3 的方法,其中所述炸药选自由三硝基甲苯(TNT)、二硝基甲苯(DNT)、六氢 -1, 3, 5- 三硝基 -1, 3, 5- 三嗪(RDX)、八氢 -1, 3, 5, 7- 四硝基 -1, 3, 5, 7- 四嗪(HMX)、季戊四醇四硝酸酯(PETN) 和硝化甘油(NG) 组成的组,以及所述麻醉剂选自由可卡因、鸦片剂、苯异丙胺、甲基苯异丙胺、四氢大麻酚(THC)、苯二氮、和亚甲二氧基 -N- 甲基苯异丙胺(MDMA, 摇头丸) 组成的组。

5. 一种包括通向受限隔室(4) 的流动进口(2) 和出自受限隔室(4) 的流动出口(3) 的流动池(1),所述受限隔室(4) 包括带有被连接到电接触垫(7) 的至少两个表面声波(SAW) 传感器元件(6) 的传感器芯片(5),所述电接触垫(7) 延伸到受限隔室(4) 之外,在受限隔室(4) 中的每一个 SAW 传感器元件(6) 的表面包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层,与靶抗原自身相比,对于特定于所述靶抗原的抗体而言,所述改性抗原具有较弱的亲合力。

6. 根据权利要求 5 的流动池,其中流动池(1) 是分立实体。

7. 根据权利要求 5 的流动池,其中传感器芯片(5) 包括带有单独涂层的 3 到 12 个 SAW 传感器元件(6)。

8. 根据权利要求 5 的流动池,其中每一种靶抗原选自炸药和麻醉剂。

9. 根据权利要求 8 的流动池,其中所述炸药选自由三硝基甲苯(TNT)、二硝基甲苯(DNT)、六氢 -1, 3, 5- 三硝基 -1, 3, 5- 三嗪(RDX)、八氢 -1, 3, 5, 7- 四硝基 -1, 3, 5, 7- 四嗪(HMX)、季戊四醇四硝酸酯(PETN) 和硝化甘油(NG) 组成的组,以及所述麻醉剂选自由可卡因、鸦片剂、苯异丙胺、甲基苯异丙胺、四氢大麻酚(THC)、苯二氮、和亚甲二氧基 -N- 甲基苯异丙胺(MDMA, 摇头丸) 组成的组,传感器芯片(5) 带有至少两个 SAW 传感器元件(6)。

10. 一种用于免疫置换反应的表面声波(SAW)传感器芯片,包括至少两个传感器元件,每一个传感器元件的表面包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层,与靶抗原自身相比,对于特定于所述靶抗原的抗体,所述改性抗原具有较弱的亲合力。

## 在液体样本中的几种靶抗原的分析

### 技术领域

[0001] 本发明涉及利用单一流动池(flow cell)分析液体中的几种靶抗原,该流动池包含带有几个表面声波(SAW)传感器元件的传感器芯片。更加准确地,本发明涉及一种利用SAW传感器设备单独地分析至少两种不同的靶抗原在液体样本中存在与否的方法。此外,本发明涉及一种流动池,该流动池在受限隔室内包括带有被连接到电接触垫的至少两个SAW传感器元件的传感器芯片,该电接触垫延伸到受限隔室之外,每一个SAW传感器元件单独地包括带有改性抗原的涂层,与靶抗原自身相比,该改性抗原对于特定于该靶抗原的抗体而言具有较弱的亲合力。

### 背景技术

[0002] 存在基于使用无标记免疫传感器的定量免疫测定的几种不同的技术。能够探测抗体-抗原相互反应的各种生物传感器仪器在商业上是可以获得的。然而,由于当小分子与表面固定化大抗体分子相互反应时在传感器表面处的、非常小的重量增益(质量增加),利用大多数的这些免疫传感器探测液体样本中的小分子时存在明显的困难。为了实现改进的小分子探测,能够使用竞争机制,即,允许小分子在与表面固定化抗原衍生物形成接触之前与抗体形成免疫复合体并且然后利用免疫传感器测量游离抗体。另一方案是使用置换(displacement)机制。在该置换方法中,已经使用了质量探测器,例如表面等离子体共振仪器(SPR)或者石英晶体微量天平仪器(QCM)。在这些仪器中的传感器表面预涂覆有抗体-抗原免疫复合体。如果在这个免疫复合体表面上方注入包含适当抗原的样本,则抗体被从传感器表面置换,这被监视为在传感器表面处的质量变化。图1示意当质量被测量为QCM电极的以赫兹(Hz)为单位的频率( $\Delta f$ )并且与分析物中的适当抗原的浓度正相关时的、典型的置换反应。

[0003] 在这种置换方法中,重要的是,与在待被分析的溶液中的抗原相比,在传感器表面上的固定化抗原衍生物对于抗体具有较小的亲合力。

[0004] 已经公开的通过使用置换原理进行小分子探测的已知的生物传感器系统例如是例如在我们的WO 2004/001392中描述的石英晶体微量天平(QCM)设备和例如在与我们的WO 2004/001416 或者 WO 2004/001417 的化学方法相组合的、K. R. Rogers 和 A. Muchandani (编者)编辑的“Methods in Biotechnology, Vol. 7: Affinity Biosensors: Techniques and Protocols”(Humana Press Inc., Totowa, NJ, pp. 31-53)中的B. Liedberg 和 K. Johansen 的基于表面等离子体探测的亲合力生物感测中描述的表面等离子体共振(SPR)生物传感器。两件最后述及的PCT申请均涉及在固体支撑件上的金属表面上的涂层,该涂层包括用于与特定亲合力分子的可逆反应的分析物类似物,并且当它们与分析物形成接触时,该特定亲合力分子被从可逆结合置换(见图1)。

[0005] 所述及的WO 2004/001392描述了一种多流动池压电晶体微量天平,自动化形式的该微量天平是一种商业产品。然而,因为在液体样本中待被分析的每一种靶抗原均需要使用QCM设备在单独的流动池中得以分析,所以与如果仅仅单一流动池能够被用于探测在

同一液体样本中的几种不同的靶抗原相比,这不可避免地要求更大的设备。此外,与需要几个流动池相比,单一可拆离随时可用流动池将便于传感器系统的操控。此外,在单一流动池中的死体积将是更小的,并且因此用于分析的时间将是更短的。

[0006] 存在基于利用例如在 WO 2009/005542 A2、US 2007/0145862 A1 和 US 2008/0241933 A1 中描述的表面声波 (SAW) 传感器系统探测微生物 (例如细菌和病毒) 或者例如 DNA 片段的生物分子的多项专利申请。这些专利申请是基于将生物分子或者微生物捕获到传感器表面上以探测该表面上的重量增益的。

## 发明内容

[0007] 本发明提供一种通过使用单一专门设计的流动池而利用表面声波 (SAW) 传感器设备单独地分析至少两种不同的靶抗原在液体样本中存在与否的方法,该流动池包括带有基于置换技术的被设计用于免疫反应的至少两个并且迄今多达十二个被单独地涂覆的 SAW 传感器元件的传感器芯片。被单独地涂覆的 SAW 传感器元件位于被置于流动池中的单一传感器芯片上。本发明还提供这种流动池和这种传感器芯片。通过以恒定频率记录相移的变化而记录在 SAW 传感器的表面处的质量变化。在传感器芯片中的材料是石英或者锂钽铁矿 (lithium tantalite),并且每一个芯片均包含多达 12 个传感器元件,并且每一个传感器元件均被连接到表面声波读取器,该表面声波读取器记录在每一个传感器元件中的相移。

[0008] 通过使用在我们的国际专利申请 WO 2004/001416 或者 W02004/001417 中公开的化学方法来适当地涂覆基于置换技术的被设计用于免疫反应的、被单独地涂覆的 SAW 传感器元件。

[0009] 因此,本发明涉及一种利用表面声波 (SAW) 传感器设备单独地分析至少两种不同的靶抗原在液体样本中存在与否的方法。该方法包括以下步骤:

a) 提供单一流动池,该流动池包括通向受限隔室的流动进口和出自该受限隔室的流动出口,该受限隔室包括带有至少两个 SAW 传感器元件的传感器芯片,该 SAW 传感器元件被连接到延伸到受限隔室之外的电接触垫,在受限隔室中的每一个 SAW 传感器元件的表面均包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层,对于特定于靶抗原之一的抗体而言该改性抗原与该靶抗原自身相比具有较弱的亲合力,

b) 在 SAW 传感器设备中接合该单一流动池以将流动池的流动进口和流动出口连接到该设备的流体流并且将电接触垫连接到 SAW 传感器设备的高频板,

c) 通过使包含特定抗体的溶液流动通过单一流动池以在每一个 SAW 传感器元件的表面处形成免疫复合体而活化 (activate) 在每一个 SAW 传感器元件上的涂层,

d) 操作 SAW 传感器设备并且登记用于每一个 SAW 传感器元件的基线值,随后

e) 使液体样本流动通过单一流动池并且登记用于每一个 SAW 传感器元件的分析值,并且当分析值低于用于一个被分析的 SAW 传感器元件的基线值时,这是由于抗体从该 SAW 传感器元件的表面处的免疫复合体的免疫置换反应,从而指示在液体样本中存在该靶抗原。

[0010] 通向流动池的受限隔室的流动进口和出自流动池的受限隔室的流动出口可以刚好是各有一个,但是根据流动池的期望设计,还可以存在两个或者更多流动进口和 / 或流动出口。

[0011] 优选地,在本发明的方法中使用形式为分立实体的流动池,该流动池是能够被拆

离的并且能够对接到 SAW 传感器设备。可替代地,在插入传感器芯片之后在该设备中形成流动池。

[0012] 通过使包含特定抗体的溶液流动通过单一流动池来活化在每一个 SAW 传感器元件上的涂层可以通过流动包含所有不同的特定抗体的单一溶液或者包含特定抗体中的一种或者几种的几种溶液而得以执行。

[0013] 该流动池包括带有至少两个 SAW 传感器元件的传感器芯片,每一个 SAW 传感器元件均带有固定化并且暴露改性抗原的涂层,对于特定于靶抗原之一的抗体而言,该改性抗原与该靶抗原自身相比具有较弱的亲合力,因此该流动池包括被设计成参与免疫置换反应的至少两个 SAW 传感器元件。然而,该流动池可以另外地包括具有被设计用于免疫重量-增益或者竞争反应的涂层的一个或者几个 SAW 传感器元件。

[0014] 为了清楚和便于理解起见,在本说明书和权利要求中使用了词语“抗体”,但是应该理解,能够在本发明中使用对于靶抗原具有特定亲合力的各种亲合力分子。在这里的词语“抗体”包括的亲合力分子的示例包括整个抗体、抗体的抗原结合部分或者合成抗原结合分子。

[0015] 能够由专门的生产商定制、从不同的供应商购买或者由根据文献已知的过程来合成抗体,所述文献诸如来自例如在 2000 年由 James P. Gosling, Oxford University Press 编辑的 *Immunoassays, A practical approach*。

[0016] 可以通过化学衍化或者通过酶改性(例如通过引入官能团例如酯或者氨基(通过移除或者取代原始基)或者通过消除靶抗原分子的一部分或者向靶抗原分子引入新的官能团或者侧链,以减小它对于抗体的亲合力而改性靶抗原分子)而从靶抗原获得所选择的改性抗原。

[0017] 极其重要的是,在抗体和改性抗原之间的亲合力被优化以在与低浓度靶抗原接触时产生重量损失而在与不包含靶抗原的缓冲剂接触时不会有太多的重量损失。因此,非常重要是优化抗体对于固定化改性抗原的亲合力。

[0018] 包含特定抗体的水溶液可以另外地包含缓冲剂、稳定剂和 / 或防腐剂,并且能够基于本领域普通技术人员选择的构成混合物而被选择。稳定剂能够例如是各种蛋白质(例如清蛋白、酪蛋白或者其它保护剂或者阻断剂)和 / 或表面活性剂(例如 Tween® 20 或者 Tween® 80 或类似物)的混合物。

[0019] 在本发明的方法的实施例中,流动池包括带有 3 到 12 个 SAW 传感器元件,即 3、4、5、6、7、8、9、10、11 或者 12 个 SAW 传感器元件的传感器芯片,以分析 3 到 12,即 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或者 12 种不同的靶抗原在液体样本中存在与否。在流动池中的 12 个 SAW 传感器元件的例示不是在流动池中的可能的这种元件的数目的限制,而是基于在本发明中使用的实际流动池。

[0020] 在本发明的另一实施例中,在测试溶液中的靶抗原选自炸药和麻醉剂,所述炸药例如选自自由三硝基甲苯(TNT)、二硝基甲苯(DNT)、六氢-1,3,5-三硝基-1,3,5-三硝基(RDX)、八氢-1,3,5,7-四硝基-1,3,5,7-四硝基(HMX)、季戊四醇四硝酸酯(PETN)和硝化甘油(NG)组成的组中的炸药,所述麻醉剂例如选自自由可卡因、鸦片剂、苯异丙胺、甲基苯异丙胺、四氢大麻酚(THC)、苯二氮(benzodiazepine)、和亚甲二氧基-N-甲基苯异丙胺(MDMA,摇头丸)组成的组中的麻醉剂。

[0021] 本发明还涉及一种包括通向受限隔室(4)的流动进口(2)和出自受限隔室(4)的流动出口(3)的流动池(1),受限隔室(4)包括带有被连接到电接触垫(7)的至少两个 SAW 传感器元件(6)的传感器芯片(5),电接触垫(7)延伸到受限隔室(4)之外,在受限隔室(4)中的每一个 SAW 传感器元件(6)的表面包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层,与靶抗原自身相比,改性抗原对于特定于该靶抗原的抗体而言具有较弱的亲合力。

[0022] 在一个优选实施例中,本发明的流动池是分立实体。流动池被设计成是能够被拆离的并且能够连接到 SAW 传感器设备,并且它在使用之后能够被废弃,或者返回供应商以进行再生。可替代地,仅仅传感器芯片被废弃,或者被返回供应商以进行再生。

[0023] 在另一实施例中,根据本发明的流动池包括带有具有单独涂层的 3 到 12 个 SAW 传感器元件的传感器芯片。

[0024] 在进一步的实施例中,在本发明的流动池中,每一个选择的靶抗原选自炸药和麻醉剂,分别地,所述炸药例如选自由三硝基甲苯(TNT)、二硝基甲苯(DNT)、六氢-1,3,5-三硝基-1,3,5-三嗪(RDX)、八氢-1,3,5,7-四硝基-1,3,5,7-四嗪(HMX)、季戊四醇四硝酸酯(PETN)和硝化甘油(NG)组成的组中的炸药,所述麻醉剂例如选自由可卡因、鸦片剂、苯异丙胺、甲基苯异丙胺、大麻酚、四氢大麻酚(THC)、苯二氮、和亚甲二氧基-N-甲基苯异丙胺(MDMA,摇头丸)组成的组中的麻醉剂。

[0025] 本发明进一步涉及一种用于免疫置换反应的表面声波(SAW)传感器芯片,包括至少两个传感器元件,每一个传感器元件的表面包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层,与靶抗原自身相比,改性抗原对于特定于该靶抗原的抗体具有较弱的亲合力。

[0026] 现在将通过某些附图和详细说明、实施例和试验示意本发明,但是应该理解,本发明并非意在受限于被具体描述的细节。

## 附图说明

[0027] 图 1 示出现有技术 QCM 系统的置换原理。1. 带有固定化抗原(药品类似物)的石英晶体。2. 和 3. 引入了针对该药品的抗体,从而导致频率急剧降低(重量增益)。4. 包含真正药品的样本进入 QCM 流动池,从而导致抗体置换,这使得频率增加(重量损失)。

[0028] 图 2 是用于在试验中的分析的简化 SAW-传感器设备的概略示意。分析由以下主要事件组成:样本收集垫被加热以汽化所收集的物质并且所产生的蒸汽被冷凝到冷点/表面上(脱附)。在冷点上收集的物质由洗脱液提取(提取)并且被转移到流动池以进行分析(探测)。计算并且给出结果(结果)。

[0029] 图 3 示出利用包括带有 12 个传感器元件的传感器芯片的流动池在一次试验中来自 12 个传感器之一的典型响应曲线,该传感器元件具有用于分析 10 种不同的抗原的单独涂层,即被设计成在置换反应中发挥作用以用于分析靶抗原摇头丸(MDMA)、苯异丙胺、甲基苯异丙胺、可卡因、THC、鸦片剂、苯二氮、三硝基甲苯(TNT)、六氢-1,3,5-三硝基-1,3,5-三嗪(RDX)和季戊四醇四硝酸酯(PETN)的涂层。该图示意已经掺入(spike) 20ng 的摇头丸(MDMA)的收集垫的分析。如能够看到的,相角在前 20 秒中增加并且当(在大约 25 秒处)引入样本时相角由于置换反应而降低。不包含摇头丸的坏体没有示出相角的、这种高度降低。当分析被掺滤体(spiked filter)时,其它 11 个传感器没有示出像摇头丸传感器(通道 9)那么强的相角降低。

[0030] 图 4 示出包括通向受限隔室(4)的流动进口(2)和出自受限隔室(4)的流动出口(3)的流动池(1)的概略放大顶视图,受限隔室(4)包括带有被连接到电接触垫(7)的至少两个 SAW 传感器元件(6)的传感器芯片(5),电接触垫(7)延伸到受限隔室(4)之外,在受限隔室(4)中的每一个 SAW 传感器元件(6)的表面包括单独涂层。流动池(1)具有底部部分(8),底部部分(8)具有比顶部部分(9)的底部面积更大的顶部面积从而电接触垫(7)延伸到受限隔室(4)之外。

## 具体实施方式

### [0031] SAW 传感器芯片和涂层

SAW 传感器芯片是基于压电基板的平面电极结构的,其中在活性传感器表面的两侧上产生剪切波并且通过所谓的叉指式换能器(IDT)探测所述剪切波。使用薄膜技术(光刻)从石英晶体或者钽酸锂晶体晶片制备 SAW 传感器芯片。在下面的试验中,我们使用带有十二个传感器元件的勒夫波传感器类型(钽酸锂)芯片。在所有的十二个传感器元件表面上沉积金。该十二个传感器元件中的每一个均涂覆有选择的改性抗原,该改性抗原经由官能端基、利用连接分子耦合到蛋白质并且在官能端基之间包含 1、2 或者 3 个碳原子的脂肪族烃,如在我们的专利申请 WO 2004/001416 中描述的。通过使用商业纳米点样仪(nano-plotter)执行涂覆,该纳米点样仪通过亚纳升体积的非接触微分配而产生非常小的且可再现的数量的抗原。

### [0032] SAW 设备

已涂覆的 12-传感器芯片被置于带有流动进口和出口的流动池中,该流动池被连接到集成高频(HF)单元和系统化液体样本处理所要求的全部流体构件(SAW 设备)。基于反压电效应从表面声波的振幅和信号相移产生在芯片的一个传感器元件的表面的质量负载的变化。用于每一个传感器元件的信号被实时地记录并且如在 EP 1 577 667 A2 中描述地应用双频测量模式,从而使得能够根据粘度改变精确地探测和分离质量。传感器相位信号的改变利用软件进行监视和拟合并且进行评估以提供自动结果呈现。

[0033] 在一个实施例中,包括带有 12 个传感器的单一流动池的本发明的 SAW 传感器设备是重量大致为 5 kg 的便携式单元,该重量应该与重量大致为 15kg 的、包括四个 QCM 流动池的类似的商业 QCM 设备相比较。

### [0034] 本发明的流动池的主要部分

本发明的流动池由以下主要部分构成:在其上置放并且支撑由德国波恩的 Biosensor GmbH 定制的、带有被连接到电接触垫(7)的几个 SAW 传感器元件(6)的传感器芯片(5)的底部部分(8);在用于构造流动池(1)之前,通过使用自动压电驱动微细管(喷墨)分配器分配在水溶液中的抗原的多个液滴,处理传感器芯片(5)使得每一个传感器元件(6)接纳单独涂层,从而暴露特定抗原;顶部部分(9),顶部部分(9)具有比底部部分(8)更小的外尺寸,从而当顶部部分(9)被放置在底部部分(8)上时,支撑的电接触垫(7)在顶部部分(9)之外,从而使得能够与 SAW 传感器设备的高频板电接触。底部部分(8)和顶部部分(9)由弹性体例如硅酮、聚亚安酯等制成,并且密封件或者衬垫被布置在该两个部分(8,9)之间从而将存在包括传感器芯片(5)的传感器元件(6)的受限隔室(4);顶部部分(9)具有例如从顶表面突出的至少两个开口(2,3),以对接到 SAW 传感器设备,用作通向流动池(1)的受限隔室(4)

的(一个或者多个)流动进口(2)和出自所述受限隔室(4)的(一个或者多个)流动出口(3)。

[0035] 在一个实施例中,流动池的近似尺寸是 35x25x15mm (长度 X 高度 X 宽度),并且受限隔室的面积是大约 6X15mm,传感器芯片是大约 14X16mm,并且 12 个传感器元件中的每一个为大致 1 X 6 mm。

#### [0036] 操作原理

在插入待被分析的样本之后,在图 2 中概略地示意的 SAW 传感器设备的操作是完全自动的。该设备的自动操作包括利用水溶液中的抗体活化传感器表面并且将可能地包含(一种或者多种)靶抗原的样本引入到传感器芯片上的、被抗体活化的 SAW 传感器中。主要探测到的信号是由于质量负载的变化引起的相移,质量负载的变化是由活化的传感器表面和靶抗体之间的免疫反应引起的。

#### [0037] 传感器表面制备和活化

在流动池(1)中的传感器芯片(5)上的每一个传感器(6)是根据我们的未决国际专利申请 WO 2004/001416 制备的。在下面描述的试验中,一个传感器元件的典型尺寸是大约 1 X 6 mm 并且传感器芯片包含 12 个传感器元件。每一个金传感器表面涂覆有它们的相应抗原类似物,所述抗原类似物是将被探测的预定的靶抗原的衍生物。每一涂层抗原类似物已经被改性,从而与在溶液中的靶抗原相比,对于抗体示出较弱的亲合力。具有 12 个传感器的表面改性芯片被插入如上所述地制造的流动池中,此后流动池被对接到 SAW 传感器设备中的流动系统。洗脱液(缓冲剂)被泵送通过流动池,流动池在几分钟内得以稳定。图 2 示出示意所使用的设备的简化图。

[0038] 当针对所有抗原的不同的单克隆抗体(MAB)的混合物经由连续流系统而被注入到 SAW 传感器设备中时,通过结合到如由对应的抗原的亲合力确定的、它们相应的传感器表面,抗体被自动分类。在 MAB 混合物的少量注入之后,在每一个传感器表面中,在通常小于 20 秒的短时段期间,在每一个传感器中的这个质量增加(重量增益)被监视为相移信号变化[度]的正增加。

#### [0039] 能够如下描述典型的分析流程:

通过环入(loop-in)小体积的、待分析的样本的水溶液(样本塞)而将液体样本引入自动设备中的单一流动池中。通过擦拭可疑表面,待被测试的样本通常已经被收集到收集垫上。在垫上的(一种或者多种)靶抗原利用根据我们的共同未决国际专利申请 W003/073070 的脱附过程而被转移和净化。如在我们的国际专利申请 WO 2005/050209 中描述的,刚好在样本塞被引入流中之前,特定于待分析的靶抗原的小体积的、不同单克隆抗体的混合物(MAB 混合物),被注入到单一流动池中,然而该国际专利申请使用几个 QCM 传感器池。

[0040] 在图 3 中示出从其中我们利用 20ng 的摇头丸掺入滤体的试验产生的结果。图 3 示出结合以及抗体从涂覆有摇头丸类似物的传感器元件的置换。在芯片中的其它十一个传感器元件仅仅示出由于抗体免疫复合体的形成引起的重量增益和由于洗脱液的流动而引起的、从表面的缓慢渗漏。

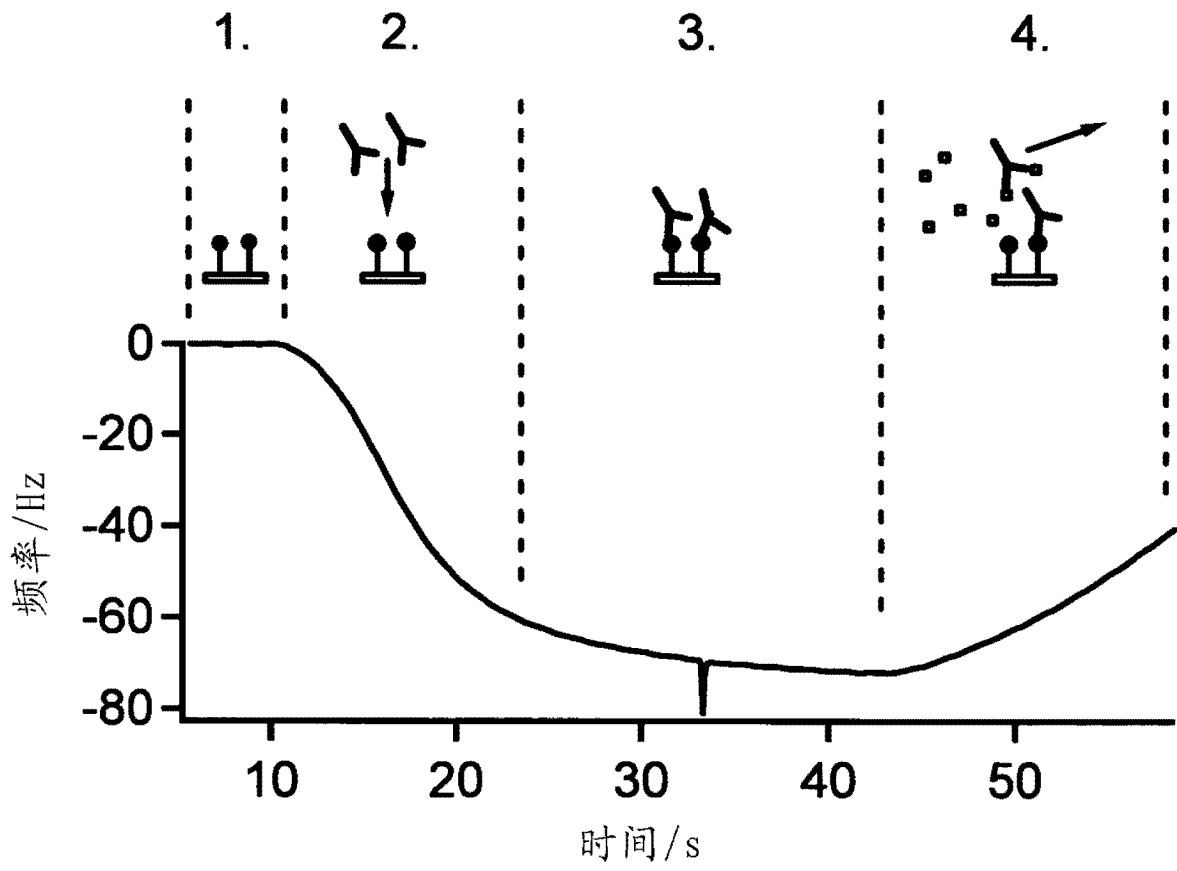


图 1

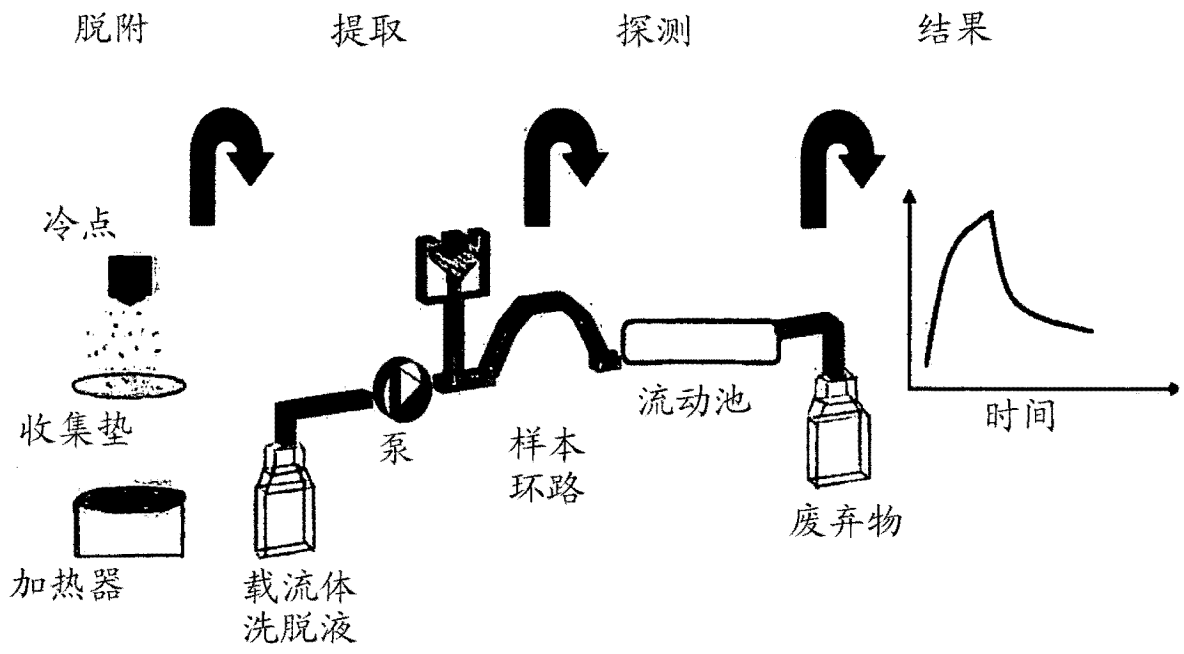


图 2

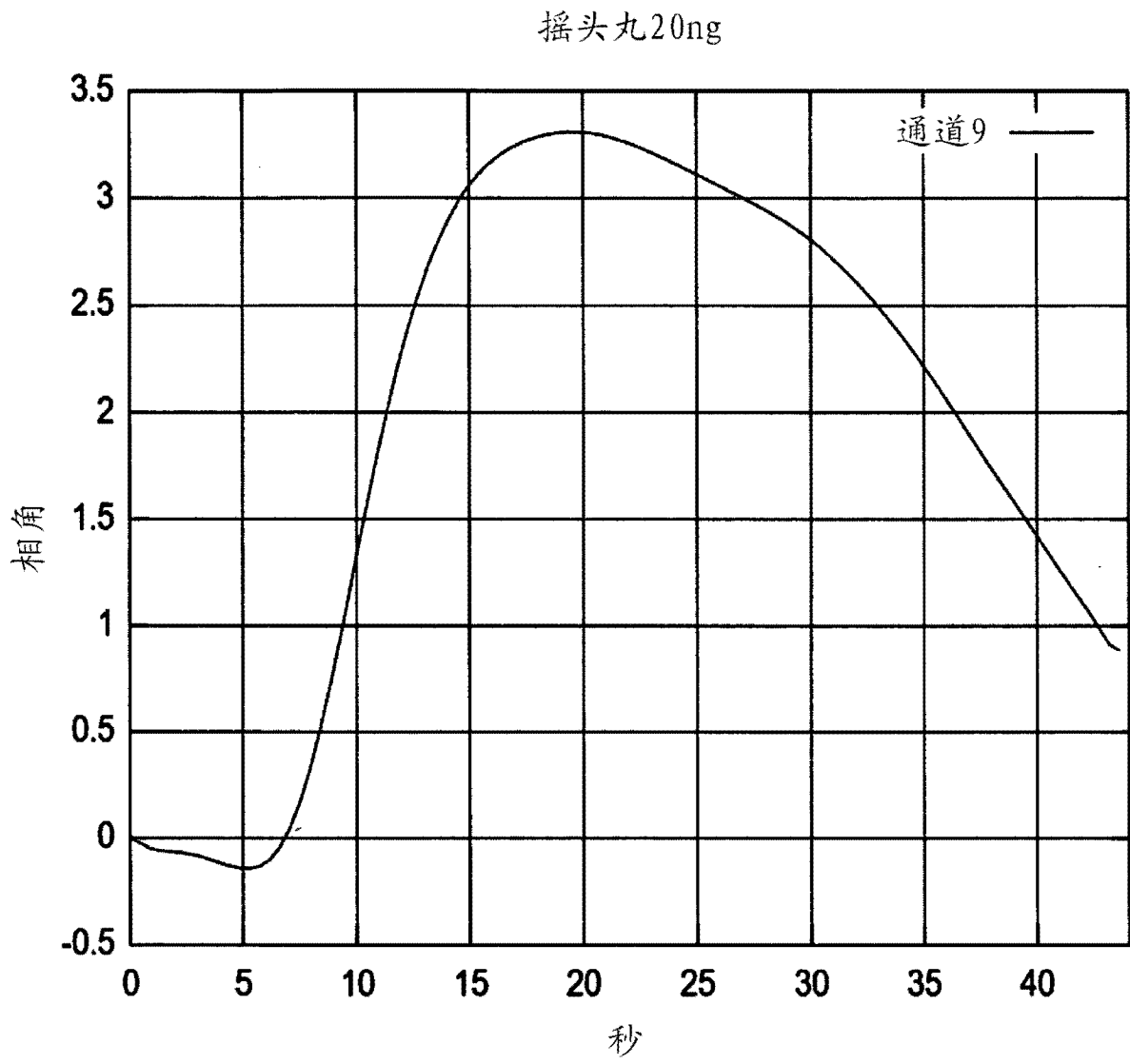


图 3

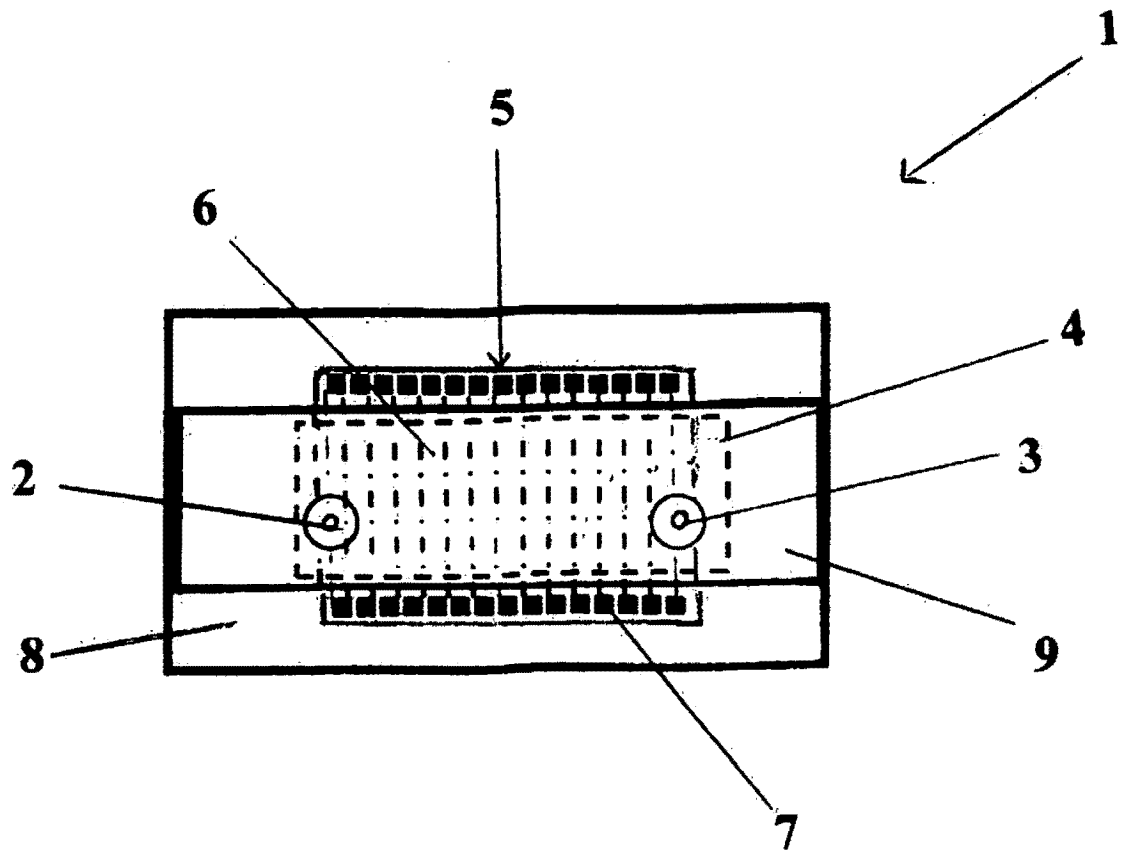


图 4

专利名称(译)	在液体样本中的几种靶抗原的分析		
公开(公告)号	<a href="#">CN102301229A</a>	公开(公告)日	2011-12-28
申请号	CN200980155755.6	申请日	2009-01-30
[标]申请(专利权)人(译)	瑞典生物传感器应用股份公司		
申请(专利权)人(译)	瑞典生物传感器应用股份公司		
当前申请(专利权)人(译)	瑞典生物传感器应用股份公司		
发明人	P.曼森		
IPC分类号	G01N29/02 G01N33/487 G01N33/50 G01N33/53		
CPC分类号	G01N2291/02809 G01N33/54373 G01N29/022 G01N2291/0224 G01N29/245		
代理人(译)	刘春元 王洪斌		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

描述了一种利用表面声波 ( SAW ) 传感器设备单独地分析至少两种不同的靶抗原在液体样本中存在与否的方法。该方法包括提供并且运行包括带有至少两个例如十二个SAW传感器元件的SAW传感器芯片的单一流动池，每一个传感器元件包括固定化并且暴露改性抗原的单独涂层，对于特定于靶抗原之一的抗体，该改性抗原与该靶抗原自身相比具有较弱的亲合力。还公开了这种用于免疫置换反应的流动池和表面声波 ( SAW ) 传感器芯片。

