



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101883634 A

(43) 申请公布日 2010. 11. 10

(21) 申请号 200880114464. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 10. 31

B01L 3/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 33/50 (2006. 01)

07021342. 6 2007. 10. 31 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 04. 30

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2008/009219 2008. 10. 31

(87) PCT申请的公布数据

W02009/056340 DE 2009. 05. 07

(71) 申请人 白血球保健股份公司

地址 德国慕尼黑

(72) 发明人 斯蒂芬·马格拉夫 马丁·舒尔茨

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

代理人 余滕 王艳春

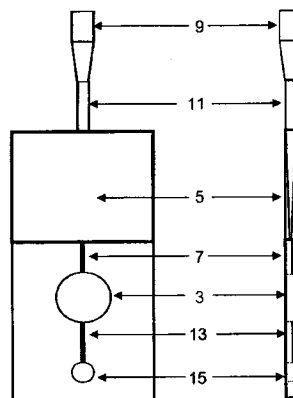
权利要求书 2 页 说明书 15 页 附图 9 页

(54) 发明名称

用于检测流体中组分的装置

(57) 摘要

本发明涉及用于检测血液中组分的装置和方法,特别是用于确定血液或水中组分浓度的装置和方法。而且,本发明涉及用于确定血液中组分的装置和/或方法的用途。最后,本发明涉及包含所述装置和荧光标准品的试剂盒。按照图 1-7 的装置包含测量区 (3) 和与其流体相通的过滤区 (5)。过滤区 (5) 和测量区 (3) 优选通过第一流体通道 (7) 彼此相通。优选地,装置 (1) 还包含开口 (9), 其优选地被设计为鲁尔锁紧接头以及优选地具有单向阀。



1. 用于检测血液组分、特别是用于确定血液中组分浓度的装置,所述装置包含测量区、过滤器和 / 或过滤区、至少一种用于与所述组分相互作用的检测试剂、用于引入流体的开口、以及流体入口区,所述过滤器布置在开口和测量区之间,其中至少部分地通过优选的弹性区形成或限定所述流体入口区和 / 或过滤区,所述弹性区优选包含膜。

2. 如权利要求 1 所述的装置,其中将所述流体入口区布置在所述开口和所述测量区之间,优选在开口和过滤器之间。

3. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述待检测或待确定的组分为存在于有机体中的物质。

4. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述待检测或待确定的组分为选自 DNA、RNA、蛋白质、激素、细胞因子的生物分子。

5. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述待检测或待确定的组分为药剂或药物。

6. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中能够通过发光、荧光、自发荧光、化学发光、电化学发光、光谱吸收光度法和 / 或生物发光来确定所述测量区中所述组分的存在和 / 或浓度。

7. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述过滤器适于分离流经所述过滤器的血液的固体组分,特别适于将所述血液的固体相或液体相彼此分离。

8. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述流体入口区适于对血液施加高于环境压力的压力。

9. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置适于在压力下将所述血液经所述过滤器引入所述测量区。

10. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中在所述装置中,低于环境压力的压力占优势。

11. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中在所述测量区中提供所述检测试剂。

12. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述检测试剂直接或间接地与所述组分相互作用。

13. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述检测试剂与所述待确定的组分相互作用时改变了它的光学性质。

14. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述检测试剂选自 Pico-Green™、Alexa 染料、溴化乙锭和 SYBR® 或 Sytox® 染料。

15. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述开口包含单向阀。

16. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述开口包含鲁尔锁紧接头 (Luer lock)。

17. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置为一次性装置。

18. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述过滤器适于从血液中分离血清或血浆。

19. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置与可商购的检测装置兼容。

20. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置具有可商购的小池或其它可商购的测量容器的尺寸规格,并且优选具有约 10mm 的直径和 / 或约 50mm±15mm 的长度,或者所述装置借助适配器与可商购的小池的尺寸相适应。

21. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置包含至少一个通气器件。

22. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述通气器件通过窄槽或间隙与所述测量室连接。

23. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置的测量区为管状,优选包含通气器件。

24. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置包含至少另一个测量区。

25. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述装置包含至少一个用于提供空白值或校准值的区域。

26. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中待确定的组分与两种检测试剂相互作用。

27. 如权利要求 26 所述的装置,其中在所述装置测量区的上游提供第一种检测试剂。

28. 如权利要求 26 或 27 所述的装置,其中将第二种检测试剂固定于所述测量区的特定区域。

29. 优选通过使用前述权利要求中任一权利要求所述的装置用于检测血液中组分、特别是用于确定血液中组分的浓度的方法,所述方法包括以下步骤:提供具有测量区和检测试剂的装置,将血液引入所述装置中,以及通过使用所述装置来检测或测量所述组分的浓度。

30. 如权利要求 29 所述的方法,其中通过注射器引入所述血液,其中优选施加过滤所需的压力。

31. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置和 / 或方法的用途,其用于确定血液中的组分。

32. 试剂盒,其包含如前述权利要求 1-28 中任一权利要求所述的装置和荧光标准品。

33. 如前述权利要求中任一权利要求所述的装置,其中所述待检测或待确定的组分为蛋白质。

用于检测流体中组分的装置

[0001] 本发明涉及用于检测血液或水中组分的装置和方法,特别是用于确定血液或水中组分浓度的装置和方法。而且,本发明涉及用于确定血液中组分的装置或方法的用途。最后,本发明涉及包含该装置和 DNA 标准品的试剂盒。

[0002] 在下文中,引用包括专利申请和操作手册在内的各种文献。虽然不认为这些文献与本发明的专利性有关,但它们的整体内容通过引用被并入。特别是,所有引用的文献通过引用被并入的程度如同每个单独的文献被明确地和单独地指定通过引用被并入一样。

[0003] 为了能够基于测定溶解在血液中的物质的存在和 / 或浓度来估计患者的临床状况,将用于医疗诊断的方法用作常规方法。到目前为止,为了从血液的固体组分中分离待分析的血液血浆,必须在离心步骤中进行血液血浆和 / 或血清的分析。显然,不存在合适的可供选择的方法或装置用于分离固体血液成分。离心法不仅耗费时间,而且特别是在发展中地区中,离心法是相当困难的,因为在这些地区经常不仅缺乏合适的离心机而且还缺乏运行它们的能源。此外,在世界的许多地区,经常缺乏能够通过采用已知方法容易地进行血液分析的专业人员。

[0004] 因此,需要装置和方法来进行血液血浆和 / 或血清中含有的物质的分析,特别是不采用离心法。而且,相应的装置和方法还应该使未经培训的工作人员快速、干净并正确地进行这样的分析,而不必被培训很长时间。

[0005] US 5,186,843 公开了用于从血液中分离血浆或血清的材料。该材料包含玻璃微纤维、纤维素纤维和合成纺织纤维。使用该介质用于获得在用于分离的层中收集的少量血浆。然而,仍然需要收集和进一步处理液体,这对于快速干净的诊断方法来说是个障碍。

[0006] US 4,816,224 描述了用于从全血中分离血浆或血清的装置,能够以不同的方式设计该装置。使用具有大体积的玻璃纤维用于分离。该装置能够包含多个过滤层。

[0007] US 2006/0029923 描述了一种装置,其利用在装置中的过滤膜和压力使血浆或血清从固体血液组分中分离。相应的装置能够包含用于通过免疫化学检测方法来检测血液中组分的检测条。然而,如果工作人员不必进行进一步的步骤或不使用进一步的辅助方法和 / 或物质,利用这些条进行直接检测是不可能的。该装置主要旨在获得用于进一步测试的血液血浆或血清。

[0008] 因此,上述提及的各种装置主要是用于提供少量的血浆或血清用以进一步分析。

[0009] 借助旨在快速获得测量结果的用于测试血浆或血清和 / 或其它体液的目前方法和装置,通常仅能够获得给定值 (index value) 并常常仅能够作出存在或不存在待测流体组分的陈述。例如测试条仅指示在检出限内物质是否存在。然而,这些方法和装置通常不适于在患者的样品中诊断具体疾病和 / 或疾病状态,这是因为只有关于诸如血液的流体中物质的浓度或含量的精确测量值才能提供患者具体疾病状态和合适的治疗方法的信息。

[0010] 因此,本发明的目的是提供克服现有技术的缺陷的装置和方法。具体来说,其目的是提供能够从全血中分离血浆或血清并能够分析含在血清或血浆中的物质,而不需要对所得到的血清或血浆进行离心步骤或类似的实验室处理步骤的装置。本发明的进一步或另外的目的是提供能够容易、安全并可靠操作的装置,以及能够容易实施的、特别是没有受过医

疗培训的非专业人员或工作人员能够使用或实施的方法,提供能够容易地并以有成本效益的方式生产和 / 或贮存的装置,以及提供相应的试剂盒。

[0011] 通过权利要求中所定义的特征来实现这一目的。

[0012] 本发明优选涉及用于检测血液中组分的装置,特别是用于确定血液中组分浓度的装置,该装置包括测量区、过滤器和 / 或过滤区 (filter region)、至少一种用于与组分相互作用的检测试剂、用于引入流体的开口、布置在开口和测量区之间的过滤器以及流体入口区,其中优选通过弹性区来至少部分形成或限定流体入口区和 / 或过滤区,该弹性区优选包含膜。优选将流体入口区布置在开口和过滤器之间。

[0013] 当测量流体组分的自发荧光或吸收时,还能够省略检测试剂。

[0014] 例如物质的“检测”特别是指确定物质的存在或不存在。这里,测量方法的检出限决定了在所期望的精确度内的结果。

[0015] 特别是当与物质的绝对量相比时,物质的“浓度”与体积无关。

[0016] 在本发明中,“血液中的组分”特别是指在血液中存在和 / 或溶解的物质。具体来说该物质可为有机物或无机物或者其混合物。基本上,也能够通过本发明的装置来确定其它流体的组分。这里,将流体理解成包含固体组分的液体或悬浮液。优选地,该流体为体液。体液例如为血液、溶液、尿液、浆液性液体、唾液、精液或病理粪便。优选地,该流体为水,特别是源自自来水、溪流或湖泊等的水。这里,例如能够确定测量的 DNA 是否与微生物对水的污染有关。

[0017] “测量区”在本发明的含义特别是指优选具有界定或可界定体积的空间,其中确定至少一种流体组分。该测量区优选至少部分透明并特别适合通过光学方法来确定物质或组分。该测量区优选位于过滤器的下游并与过滤器保持流体连通。它能够直接与过滤器邻接或能够与过滤器隔开。

[0018] 直接与过滤器邻接并接收滤液的区域也被称作滤液区 (filtrate region)。该滤液区能够全部或部分相当于测量区或被布置在过滤器的下游,接收滤液并被布置在测量区上游的元件。

[0019] 这里,鉴于从开口经过过滤器进入测量区的流体流动的方向使用术语“上游”和“下游”等。

[0020] 对于使用优选的检测试剂,该优选的检测试剂例如由特定波长范围的光激发并发射出特定波长范围的光,测量区优选能够透射诸如可见光 and 该发射波长的光。

[0021] 本发明的过滤器能够包含任何适于分离含有固体组分的血液或其它流体的材料,或由其组成。例如,过滤器能够包含聚对苯二甲酸乙二酯 (例如由 Sekisui 公司分销的用于获得血清的产品) 或聚砜 (例如 Pall 公司分销的 Vivid 血浆分离膜 (以前是 BTSSP)), 或者以其为基础。

[0022] 例如在 US 4,816,224、US 5,186,843 和 US 2006/0029923 中描述了已知合适的过滤器和 / 或过滤材料。

[0023] 优选地,过滤器包含玻璃纤维但不完全由玻璃纤维制成。更优选地,玻璃纤维占过滤器的体积比或重量比为 0% 至 90%、0% 至 80%、0% 至 70%、0% 至 60%、0% 至 50%、0% 至 40%、0% 至 30%、0% 至 20%、或 0% 至 10%,或者为约 5% 至 50%,优选约 10% 至 50%。最优选的是没有玻璃纤维的过滤材料。对于过滤血液来说,过滤材料不应导致溶血并不结

合分析物。

[0024] 在本发明中，“检测试剂”特别是指用于检测另一物质存在和 / 或浓度的物质，所述另一物质优选在例如血液、血浆或水的流体中的物质。检测试剂优选能够在特定条件下使得或导致可检测得反应发生。检测试剂优选与待确定的物质直接接触。它与该物质或者形成共价键或者形成非共价键。优选地，仅在结合分析物以后，检测试剂的荧光增加。

[0025] 装置包括用于引入流体的开口，其中过滤器被布置在开口和测量区之间。此外，该装置包括流体入口区。

[0026] 优选地，将该流体入口区布置在开口和测量区之间，更优选地布置在开口和过滤器之间。

[0027] 在下文中，过滤器的直接的上游区域和 / 或直接的下游区域也被称作过滤区。更优选地，该过滤区还包括过滤器、流体入口区的部分或全部、滤液区和 / 或测量区。

[0028] 优选地，过滤区的容积为约 $200\ \mu\text{L}$ 至约 $2000\ \mu\text{L}$ 。取决于流体或优选血液的量和性质，能够获得高达 $200\ \mu\text{L}$ 的血浆或血清用于测量区中的测量。优选地，本发明的装置能够提供待测体积，该待测体积的测量范围为约 $15\ \mu\text{L}$ 至约 $80\ \mu\text{L}$ 的血清或血浆，优选约 $20\ \mu\text{L}$ 至约 $60\ \mu\text{L}$ 的血清或血浆，而且最优选约 $40\ \mu\text{L}$ 的血清或血浆。

[0029] 至少部分或完全通过膜优选弹性膜来形成或限定流体入口区和 / 或过滤区。该膜优选由人工或天然聚合物或共聚物制成。这样的聚合物或共聚物的实例为 PVC、乙烯醋酸乙烯酯共聚物膜、聚乙烯、聚乙烯共聚物、聚丙烯、聚丙烯共聚物、这些聚合物或嵌段共聚物的混合物、共挤出物、多层膜以及没有光滑表面的膜。所述膜优选限定过滤区。在过滤区中，过滤器优选与邻接过滤区的膜焊接或胶接相连以使接收滤液的过滤器的下游区域通过过滤器与流体入口区完全分离。在填充本发明装置之前，过滤器能够以诸如折叠或平坦形式的节省空间的方式接触限定过滤区的膜。因此，在填充之前，流体入口区和过滤器的下游区域仅具有小的内体积而且优选不具有内体积。当流体入口区充满样品时，引入样品所用的压力和膜的弹性导致膜环绕的流体入口区扩展。将该压力在流体入口区中保持或贮存以使样品挤压通过过滤器。通过过滤，过滤器下游区域充满滤液。如果该区域也被弹性膜环绕，那么本发明的这一优选实施方案在滤液的一侧形成特别小的死腔体积并由此能够以特别有利的方式使用非常少量的滤液。而且，易碎的过滤膜优选附着在限定小袋的膜的内表面并由此受到有利的机械支撑。膜的填充和弹性行为以及入口阀的优选存在造成过滤膜上方的持久的推压差，然后即使再次移除用于填充的注射器，还会导致过滤。

[0030] 本发明的装置优选为即用型装置，其用于容易并可靠地检测，特别是用于确定组分浓度，而不需综合的制备措施。本发明的特别优势在于提供的装置小，能够借助可商购的装置读取和 / 或将流体优选血液的固体组分的分离与包含在流体相中的组分的同步测量结合在一起。因此，不仅节省了一直用于诸如从血清或血浆中分离固体血液组分所必需的离心步骤，而且由于操作容易并安全，在诊断过程中未经培训的工作人员也能够分析流体。另外的优势在于准确地确定组分的浓度，例如用于估计术后或在特定医疗状况下患者的情况现在成为可能。最后，本装置能够立即测量所关注的组分（即用），而不需要进一步处理和 / 或延迟或者进一步的必需的测量步骤。

[0031] 根据本发明，优选在血清或血浆，或者血液血清或血液血浆中确定组分。

[0032] 优选地，“血浆”特别是指与诸如细胞（红细胞、血液白细胞等）的固体组分分离的

血液的液体相,并且仍然能够凝固。

[0033] 优选地,“血清”特别是指通过将血小板和凝血因子混合的细胞组分分离到凝块在血液凝固之后所获得的血液的液体部分。

[0034] 根据本发明,借助合适的检测试剂能够检测基本上任何物质。优选地,待检测或待确定的组分是有机体内存在的物质。有机体内存在的物质可以是有机或无机性质的。例如矿物或矿物盐、微量元素、无机离子、金属和重金属等是无机的。

[0035] 有机物质可以属于不同的物质类别。一组物质由蛋白质形成,其也包括酶。酶将它们的底物转化成最终的产物。根据本发明,优选地能够确定酶和底物和 / 或最终的产物。也能够优选地借助本发明的装置来检测或确定非酶蛋白质。另外组的有机物质的包括维生素和辅酶、核酸、细胞因子、激素、组蛋白、肽、糖等。

[0036] 另一组物质由包括单链或双链形式的 DNA 和 RNA 的核酸形成。

[0037] 优选地,待检测或待确定的组分为生物分子,所述生物分子选自 DNA、RNA、蛋白质、激素、细胞因子。后面的物质可以是游离的或与其它蛋白质结合的。例如,在血浆或血清中的 DNA 也能够作为与组蛋白和 / 或弹性蛋白酶以及微卫星体 (microsatellites) 的复合物存在。而且,待检测或待确定的组分优选为被其它微粒污染的水样品的完整或不完整的细菌、病毒和 / 或寄生物的 DNA/RNA。通过过滤方法来阻留微粒,同时通过采用合适的荧光染料来测量含在微生物中的核酸。

[0038] 待检测或待确定的组分优选为药剂或药物。药剂或药物为给予个体用于治疗医学疾病状态或疾病的物质。药剂或药物还可以是上文提及的生物分子。

[0039] 最优选地,确定或测量 DNA。本发明所使用的过滤器优选仅结合少量的 DNA 或不结合 DNA。结合的部分优选少于在流体或血液中含有的 DNA 的 30%,优选少于在流体或血液中含有的 DNA 的 20%,最优选少于在流体或血液中含有的 DNA 的 10%。

[0040] 考虑到质量和数量,能够用许多方法来检测 DNA。这些方法包括 PCR 方法以及与 DNA 特异性相互作用的可检测试剂的检测。本发明优选地允许检测非细胞结合的 DNA。能够利用不同的方法来检测非细胞结合的 DNA。除了添加嵌入染料后测量荧光外,也使用测量 DNA 的 UV 吸收的测量方法来确定浓度。这一目的所需的样品体积同时已经达到低 μl 范围 (例如在 $2\mu\text{l}$ 或更高的范围内通过 NanoDrop 的测量)。对于荧光方法,目前 DNA 的较低的测量极限为约 10ng/ml。

[0041] 较严重的手术,特别是利用心肺机的手术后,还有多发伤、脓毒症、烧伤的意外情况后以及缺血 / 再灌注疾病后 (动脉阻塞后),发生免疫系统的强烈的、经常过度的活化。并非穷尽的医学状态的实例为手术、多发伤、软组织损伤、缺血 / 再灌注疾病、梗塞、缺血、栓塞、感染、脓毒症、移植、中毒、子痫、药剂或输血的副作用。它们能够导致对器官的暂时的或永久的损害,也能够是致命的。由中性粒细胞来调理这种免疫反应的细胞组分。为了评估活化的结果,快速地了解状况的程度是重要的。

[0042] 如在 US 60/827,571 中所公开的,在不是由癌症或病原体导致的特定病理事件的情况下,血液中粒细胞释放的非细胞结合的 DNA 的浓度增加。取决于病理状态,这种非细胞结合的 DNA 能够游离存在和 / 或以所谓的 NETs (中性粒细胞胞外陷阱 (Neutrophil Extracellular Traps)) 的形式存在,NETs 即蛋白质修饰的 DNA 网络,其在这种情况下不仅被产生用于抗击微生物而且通常在特定病理事件引起的免疫反应过程中被释放。虽然这些

NETs 的部分粘在毛细血管上,但是另外的部分由血液流造成脱落并能够在血浆和血清中被发现。

[0043] 本发明提供了用于检测 NETs 的装置和方法,所述 NETs 在产生它们的粒细胞活化后几分钟内就已经被释放。患者样品的检测能够使能够挽救生命的主诊医生即时做出反应。

[0044] 血液中另外的游离 DNA 是由死亡的细胞释放的。。凋亡或坏死事件导致这些细胞已经死亡。在某些治疗,例如采用化疗或放疗的癌症治疗过程中,诱导细胞即血细胞的凋亡。因此,通过本发明能够直接并以精细分步方式 (finely stepped manner) 检测治疗的成功。

[0045] 优选地,取决于所用的检测试剂,能够借助于发光、荧光、化学发光、电化学发光、光谱吸收光度法、自发荧光和 / 或生物发光来确定测量区中组分的存在和 / 或浓度。

[0046] 优选地,实现过滤器以便分离流经过滤器的流体的固体组分,特别将流体的固体相和液体相互相分离。结果发现某些过滤器材料是非常脆的或易碎的,因此稳定性是必需的。取决于过滤器的性质,其可包括稳定元件。稳定元件优选为稳定边缘或框架,或者例如金属或合成材料的稳定材料的应用的或整合的网络。

[0047] 优选地,优选包含过滤区的流体入口区实现的方式使得对流体施加高于环境压力的压力。优选配置该装置以便在优选借助注射器等引入流体的过程中建立这样的压力。

[0048] 优选地,该装置实现的方式使得流体在压力下通过过滤器进入测量区。优选例如通过注射器的活塞手工施加该压力,该注射器含有待测的未过滤的流体。

[0049] 根据本发明优选的实施方案,低于环境压力的压力、优选真空在装置中是占优势的。当待确定的样品与装置接触时,低压力或真空导致样品被运送至或吸至装置中,而没有从外部施加的任何压力,并且导致在装置内部固体组分从流体中分离出。优选地,测量区由优选的弹性材料组成,其旨在采用确定的位置或形状。优选地,装置由弹性材料制成,所述弹性材料变形的方式使得测量室的内部体积小于确定位置的内部体积从而使它在诸如引入样品时展开,或者在展开的过程中吸收样品。此外,该测量区优选由非弹性材料制成,其中在样品进入装置之前,测量区内部区域的压力低于环境压力。

[0050] 在另外优选的实施方案中,在测量区或腔 / 管腔中提供检测试剂,该空腔 / 管腔被布置在离测量区不远的上游并优选延伸至过滤器和测量区之间。

[0051] 在另外优选的实施方案中,在过滤器中或接近过滤器处来提供检测试剂。

[0052] 在另外优选的实施方案中,检测试剂与待检测的组分直接或间接相互作用。如果通过结合至 DNA 的试剂来检测 DNA,那么优选发生直接的相互作用,其中结合可以是共价的或非共价的。特定的物质插在双链或单链的 DNA 中,而没有共价结合至 DNA (嵌入剂)。部分地,只有这赋予物质荧光的性质。通过在 DNA 中的积聚以及特定波长的光照射,这些物质发射出不同波长的光,其能够被定量测量并与 DNA 的数量相关。荧光染料可与嵌入剂不同并能够与 DNA 接触以通过化学修饰被测量。在另一优选的实施方案中,检测试剂选自如下的组,其还包括花青染料 (Pico-Green™ ([2-[N-双-(3-二甲基氨基丙基)-氨基]-4-[2,3-二氢-3-甲基-(1,3-苯并噻唑-2-基)-亚甲基]-1-苯基-喹啉],并参见 Zipper et al., 2004; Nucleic Acids Research (核酸研究) 32(12)), **TOTO®**- (例如 1-1'-[1,3-亚丙基双[(二甲基亚氨基)-3,1-亚丙基]]双[4-[(3-甲基-2(3H)-苯并噻唑亚基)甲基]]-4

碘化物), **Alexa®**- (例如 2,3,5,6- 四氟苯基酯 (Alexa **Fluor®** 4885-TFP ;Alexa 染料的汇编能够从 Berlier et al. (2003) ;J Histo Cytochem 51(12) :1699-712 获得) 或 **Sytox®** 染料 (从 Invitrogen 购买) 及 **SYBR®** 染料 (例如 $C_{32}H_{37}N_4S^+$ 或 [2-[N-(3- 二甲基氨基丙基)-N- 丙基氨基]-4-[2,3- 二氢 -3- 甲基 -(1,3- 苯并噻唑-2- 基)- 亚甲基]-1- 苯基 - 喹啉] ;从 Invitrogen 购买 ;并参见 Zipper et al., 2004 ;Nucleic Acids Research (核酸研究) 32(12)) 或者溴化乙锭 (例如 $C_{21}H_{20}BrN_3$)。在 US 5,436,134 和 US 5,658,751 中公开了一系列合适的花青染料。

[0053] 根据本发明,在测量区优选定量检测物质。如果仅存在一种检测试剂,当与靶分子接触时,检测试剂改变它的性质使其变得可检测,这是有优势的。如上文所述,在嵌入核酸之前,嵌入剂不能够被检测,而处于未结合状态时,它们没有展现出这一性质。根据本发明所使用的检测试剂在与靶分子相互作用之前已经能够被检测,但是当它与靶分子相互作用时,优选地改变其各自的性质。这优选通过使检测试剂的吸收最大波长或发射波长位移发生。

[0054] 优选地,非细胞结合的 DNA 的测量包括在血浆或血清中添加荧光染料以后检测荧光发射。

[0055] 基本上,根据本发明能够使用所有的荧光团。下述不完全的目录显示了合适的荧光团的实例:1,5IAEDANS,1,8-ANS,4- 甲基伞形酮,4',6- 二脒基 -2- 苯基吡啶,5-(6-) 羧基 -2',7' - 二氯荧光黄 pH 9.0,5- 羧基 -2,7- 二氯荧光黄,5- 羧基荧光素 (5-FAM),5- 羧基萘酚荧光素 (pH 10),5- 羧基四甲基罗丹明 (5-TAMRA),5-FAM(5- 羧基荧光素),5-FAM pH 9.0,5-HAT(羟基色胺),5- 羟基色胺 (HAT),5-ROX(5- 羧基 -X- 罗丹明,三乙基铵盐),5-ROX(羧基 -X- 罗丹明),5-ROX pH 7.0,5-TAMRA(5- 羧基四甲基罗丹明),6JOE,6- 羧基罗丹明 6G,6- 羧基罗丹明 6G pH 7.0,6- 羧基罗丹明 6G 盐酸盐,6-CR 6G,6-HEX、SE pH 9.0,6-JOE,6-TET、SE pH 9.0,7-AAD(7- 氨基 - 放线菌素 D),7- 氨基 -4- 甲基香豆素,7- 氨基 - 放线菌素 D(7-AAD),7- 羧基 -4- 甲基香豆素,9- 氨基 -6- 氯 -2- 甲氧基吡啶,ABQ,酸性品红,ACMA,ACMA(9- 氨基 -6- 氯 -2- 甲氧基吡啶),吡啶同型二聚体,吡啶橙,吡啶橙 +DNA,吡啶橙、DNA&RNA,吡啶红,吡啶黄,吡啶黄素,吡啶黄素福尔根 SITSa,水母发光蛋白,AFPs, Alexa 405, Alexa430, Alexa 488, Alexa 546, Alexa 568, Alexa 594, Alexa Fluor 350™, Alexa Fluor 430 抗体偶联物 pH 7.2, Alexa Fluor 430™, Alexa Fluor 488 抗体偶联物 pH 8.0, Alexa Fluor 488 酰肼水, Alexa Fluor 488™, AlexaFluor 532™, Alexa Fluor 546™, Alexa Fluor 568 抗体偶联物 pH 7.2, AlexaFluor 568™, Alexa Fluor 594™, Alexa Fluor 610R- 藻红蛋白 - 抗生蛋白链霉素 pH 7.2, Alexa Fluor 647R- 藻红蛋白 - 抗生蛋白链霉素 pH 7.2, AlexaFluor 633™, Alexa Fluor 647™, Alexa Fluor 660™, Alexa Fluor 680™, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750, 茜素络合剂, 茜素红, 别藻蓝蛋白 (APC), AMC, AMCA-S, AMCA(氨基甲基香豆素), AMCA-X, 氨基放线菌素 D, 氨基香豆素, 氨基甲基香豆素 (AMCA), 苯胺蓝, anthrocyll 硬脂酸, APC(别藻蓝蛋白), APC-Cy7, APTRA-BTC, APTS, 阳离子艳红 4G, 阳离子橙 R, 阳离子红 6B, 阳离子黄 7GLL, 阿的平 (atabrin), ATTO-TAG™, CBQCA, ATTO-TAG™ FQ, 金胺, 亚金基磷化氢, 亚金基磷化氢 G, BAO 9(二氨基苯基噻二唑), BCECF(高 pH), BCECF(低 pH), BCECF pH5.5, BCECF pH 9.0, 硫酸黄连素, 青霉素酶, BFP, BFP/GFP FRET, 二胺 (bimane), 双吡啶橙, 双苯甲酰胺, 双苯甲亚胺 (Hoechst), 双 -BTC, 布兰科福尔荧光增白

剂 (Blancophor)FFG, 布兰科福尔荧光增白剂 SV, BOBO-3-DNA, BOBOTM-1 (2, 2' -[1, 3- 亚丙基双 [(二甲基铵)-3, 1- 亚丙基 -1 (4H)- 吡啶基 -4- 亚基次甲基]] 双 [3- 甲基]- 四碘化物), BOBOTM 3 (C₄₅H₅₈I₄N₆S₂), 氟硼荧 (Bodiby) 492/515, 氟硼荧 493/503, 氟硼荧 500/510, 氟硼荧 505/515, 氟硼荧 530/550, 氟硼荧 542/563, 氟硼荧 558/568, 氟硼荧 564/570, 氟硼荧 576/589, 氟硼荧 581/591, 氟硼荧 630/650-X, 氟硼荧 650/665-X, 氟硼荧 665/676, 氟硼荧 FI, 氟硼荧 FLATP, 氟硼荧 FL 偶联物, 氟硼荧 FL, MeOH, 氟硼荧 FI- 神经酰胺, 氟硼荧 R6GSE, 氟硼荧 TMR, 氟硼荧 TMR-X 偶联物, 氟硼荧 TMR-X, SE, 氟硼荧 TR, 氟硼荧 TRATP, 氟硼荧 TR-X 类鬼笔毒环肽 pH 7.0, 氟硼荧 TR-XSE, 氟硼荧 TR-X, MeOH, 氟硼荧 TR-X, SE, BOPRO-3, BO-PRO-3-DNA, BO-PROTM-1, BO-PROTM-3, 艳磺基黄素 (Brilliant Sulphoflavin)FF, BTC, BTC-5N, 钙黄绿素, 钙黄绿素蓝, 钙黄绿素 pH 9.0, 钙黄绿素 / 乙锭同型二聚体, 钙深红 (calcium crimson), 钙深红 Ca²⁺, 钙深红TM, 钙绿 (calciumgreen), 钙绿 -1, 钙绿 -1Ca²⁺, 钙绿 -2, 钙绿 -5N, 钙绿 -C18, 钙橙, 荧光增白剂 (卡尔科弗卢尔白), 羧基 -X- 罗丹明 (5-ROX), 层叠蓝 (cascadeblue), 层叠蓝 BSApH 7.0, 层叠蓝TM, 层叠黄 (cascadeyellow), 层叠黄抗体偶联物 pH 8.0, 儿茶酚胺, CCF2 (GeneBlazer), CFDA, CFP, CFP (青色荧光蛋白), CFP/YFP FRET, 叶绿素, 色霉素 A, 色霉素 A, CI-NERF pH 2.5, CI-NERF pH 2.5, CI-NERF pH 6.0, CI-NERF pH 6.0, CL-NERF, CMFDA, 肠腔素, 肠腔素 cp, 肠腔素 f, 肠腔素 fcp, 肠腔素 h, 肠腔素 hcp, 肠腔素 ip, 肠腔素 n, 肠腔素 o, 香豆素鬼笔毒环肽, C- 藻蓝蛋白, CPM, CTC, CTC 甲腈, Cy2TM, Cy3.18, Cy3.5TM, Cy3TM, Cy5.18, Cy5.5TM, Cy5TM, Cy7TM, 青色 3, 青色 6, 青色 GFP, 周期性 AMP 氟感应器 (FiCRhR), CyQuant, CyQUANT GR-DNA, 4-(4' - 恶烷氨基苯偶氮) 苯甲酸 (dabcyl), 丹酰, 丹酰胺, 丹酰尸胺, 丹磺酰氯, 丹酰 DHPE, 丹磺酰氟, DAPI, dapoxyl, dapoxyl 2, dapoxyl 3, DCFDA, DCFH (二氯二氢荧光素双乙酸酯), DDAO, DHR (二氢罗丹明 123), di-4-ANEPPS, di-8 ANEPPS, di-8-ANEPPS (无比例), di-8-ANEPPS- 脂质, DiA (4-di-16-ASP), 二氯二氢荧光素双乙酸酯 (DCFH), DiD, DIDS, 二氢罗丹明 123 (DHR), 二氢乙锭, Dil (DilC18(3)), DilC₁₈ ("DiD") 二硝基酚, DiO (DiOC1 8(3)), DiR, DiR (DilC18(7)), DM-NERF (高 pH), DM-NERF pH 4.0, DM-NERF pH7.0, DNP, 多巴胺, DsRed, Draq5, DTAF, DY-630-NHS, DY-635-NHS, EBFP, ECFP, eCFP (增强型青色荧光蛋白), EGFP, eGFP (增强型绿色荧光蛋白), ELF 97, 曙红, 曙红抗体偶联物 pH 8.0, 赤藓红, 赤藓红 ITC, 溴化乙锭, 叠氮溴乙锭, 乙锭同型二聚体, 乙锭同型二聚体 -1 (EthD-1), 乙锭同型二聚体 -1-DNA, 乙锭同型二聚体 -2, 吖啶橙 (euchrysin), EukoLight, 三氯化铊, EYFP, eYFP (增强型黄色荧光蛋白), 固蓝, FDA, 福尔根 (副品红), FIF (甲醛诱导荧光), FITC, FITC 标记抗体, FITC 标记抗体偶联物 pH 值 8.0, 1-[(5- 氯 -2- 羟基苯基) 偶氮]-2- 萘酚 (flazo orange), fluo-3, fluo-3Ca²⁺, fluo-4, fluorescein, 荧光素 (FITC 标记), 荧光素 0.1M NaOH 溶液, 荧光素抗体偶联物 pH 值 8.0, 荧光素葡聚糖 pH 值 8.0, 荧光素二乙酸酯, 荧光素 pH 值 9.0, 氟 - 翡翠, 氟 - 金 (羟芪巴脒), 氟 - 红宝石, FluorX, FM 1-43, FM 1-43 脂, FM 1-43TM, FM 4-64, fura 红 Ca²⁺, fura 红、高 Ca, fura 红、低 Ca, fura 红TM (高 pH), fura 红TM/fluo-3, fura-2、高钙, fura-2、低钙, fura-2/BCECF, genacryl 艳红 B, genacryl 艳黄 10GF, genacryl 粉红 3G, genacryl 黄 5GF, GeneBlazer (CCF2), GFP (S65T), GFP 红移 (rsGFP), GFP 野生型、无 UV 激发 (wtGFP), GFP 野生型、UV 激发 (wtGFP), GFPuv, 乙醛酸, 粒蓝, 血卟啉, HcRed, 碘化己啶 (hexidiumiodide), Hoechst 33258 (双苯甲亚胺), Hoechst 33258, Hoechst

33342, Hoechst 34580, HPTS, 羟基香豆素, 羟苾巴脒, 羟苾巴脒 (FluoroGold), 羟基色胺, indo-1、高钙, indo-1、低钙, 吡啶二碳菁 (DiD), 吡啶三碳菁 (DiR), 内白 (intrawhite), Cf, JC-1, J0-J0-1 (C47H56I4N8O2), J0-PRO-1, LaserPro, laurodan, LDS 751, LDS 751 (DNA), LDS 751 (RNA), leucophorPAF, leucophor SF, leucophor WS, 丽丝胺罗丹明 (lissamine rhodamine), 丽丝胺罗丹明 B, LIVE/DEAD 试剂盒动物细胞, LOL0-1 (C47H54Br2I4N8S2), LO-PRO-1, 荧光黄, 荧光黄 CH, 溶酶体蓝色荧光探针 (lyso tracker blue), 溶酶体蓝白荧光探针, 溶酶体绿色荧光探针, 溶酶体红色荧光探针, 溶酶体黄色荧光探针, LysoSensor 蓝, LysoSensor 绿, LysoSensor 绿 pH 5.0, LysoSensor 黄 pH 3.0, LysoSensor 黄 / 蓝, Maggreen, Magdala 红 (phloxin B), Mag-Fura 红, Mag-Fura-2, Mag-Fura-5, Mag-Indo-1, 绿镁 (magnesium green), 绿镁 Mg²⁺, 橙镁 (magnesium orange), 绿孔雀石, marina 蓝, Maxilon 艳黄素 0GFF, Maxilon 艳黄素 8GFF, 部花青, 甲氧基香豆素, 线粒体绿色荧光探针 (Mito Tracker green), 粒体绿色荧光探针 FM, 粒体绿色荧光探针 FM、MeOH, 粒体橙色荧光探针, 粒体红色荧光探针, 粒体红色荧光探针、MeOH, 光神霉素, 单溴二胺, 单溴二胺 (mBBr-GSH), 单氯二胺, MPS (甲基绿派洛宁苾), MRFP, NBD, NBD 胺, NBD-X, NBD-X、MeOH, NeuroTrace 500/525, 绿色荧光 Nissl 染色 -RNA, 尼罗蓝、EtOH, 尼罗红, 尼罗红 - 脂质, Nissl, 硝基苯并二唑, 去甲肾上腺素, 核固红, 核固黄, Nylosan Brilliant Iavin E8G, **OliGreen®**, 俄勒冈绿 (oregon green), 俄勒冈绿 488, 俄勒冈绿 488 抗体偶联物 pH 8.0, 俄勒冈绿 488-X, 俄勒冈绿 514, 俄勒冈绿 514 抗体偶联物 pH 8.0, 俄勒冈绿™, 俄勒冈绿™ 488, 俄勒冈绿™ 500, 俄勒冈绿™ 514, 太平洋蓝, 太平洋蓝抗体偶联物 pH 8.0, 副品红 (福尔根), PBFI, PE-Cy5, PE-Cy7, PerCP, PerCP-Cy5.5, PE-TexasRed [红 613], 荧光桃红 (phloxin B) (麦塔喇红), phorwite AR, phorwite BKL, phorwite Rev, phorwite RPA, 磷化氢 3R, 光刻胶, 藻红蛋白 B[PE], 藻红蛋白 R[PE], PicoGreen dsDNA 定量试剂, PKH26 (Sigma), PKH67, PMIA, 桥铬黄蓝黑 (pontochrome blue black), POPO-1 (2,2' -[1,3- 亚丙基双 [(二甲基亚氨基)-3,1- 亚丙基 -1(4H)- 吡啶基 -4- 亚基次甲基]]- 双 [3- 甲基]- 四碘化物), POPO-1-DNA, POPO-3, POPO™-3 碘化物 (2,2' -[1,3- 亚丙基双 [(二甲基亚氨基)-3,1- 亚丙基 -1(4H)- 吡啶基 -4- 亚基 -1-propen-1- 基 -3- 亚基]] 双 [3- 甲基]- 四碘化物), PO-PRO-1, PO-PRO-1-DNA, PO-PRO-3, 报春花灵, 普施安黄, 碘化丙啶 (propidium iodide) (PI), 碘化丙啶 -DNA, PyMP0, 苾, 派洛宁, 派洛宁 B, pyrozal 艳黄素 7GF, QSY 7, 喹吖因氮芥 (quinacrin mustard), 红 613 [PE-TexasRed], 羟基异吩噻唑酮 (resorufin), RH 414, Rhod-2, 罗丹明, 罗丹明 110, 罗丹明 110pH 7.0, 罗丹明 123, 罗丹明 123、MeOH, 罗丹明 5GLD, 罗丹明 6G, 罗丹明 B, 罗丹明 B 200, 碱性罗丹明 B, 罗丹明 BB, 罗丹明 BG, 罗丹明绿, 罗丹明羟基毒肽, 罗丹明鬼笔毒环肽, 罗丹明红, 罗丹明 WT, 罗丹明绿 pH 7.0, 对甲氨基酚绿 POPO-1-DNA pH 8.0, riogreen, 孟加拉玫瑰红 (rose bengal), R- 藻蓝蛋白, R- 藻红蛋白 (PE), R- 藻红蛋白 pH 7.5, RsGFP, S65A, S65C, S65L, S65T, 蓝宝石色 GFP, SBFI, 血清素, 塞夫隆艳红 2B, 塞夫隆艳红 4G, 塞夫隆艳红 B, 塞夫隆橙, 塞夫隆黄 L, sgBFP™, sgBFP™ (超光艳 BFP), sgGFP™ (超光艳 GFP), SITS, SITS (报春花灵), SITS (苾异硫磺酸), SNAFL 钙黄绿素, SNAFL-1, SNAFL-2, SNARF 钙黄绿素, SNARF1, 绿钠, 绿钠 Na⁺, 光谱红, 光谱浅绿, 光谱绿, 光谱橙, SPQ (6- 甲氧基 -N-(3- 磺丙基) 喹啉鎓), 苾, 磺酰罗丹明 B can C, 磺酰罗丹明 GExtra, 绿色 **SYBR®**, 绿色 **SYBR® I**, 绿色 **SYBR® II**, 金色 **SYBR®**, **SYBR®**

Safe DNA, SYPRO Ruby, SYTO 11, SYTO 12, SYTO 13, SYTO13-DNA, SYTO 14, SYTO 15, SYTO 16, SYTO 17, SYTO 18, SYTO 20, SYTO 21, SYTO 22, SYTO 23, SYTO 24, SYTO 25, SYTO 40, SYTO41, SYTO 42, SYTO 43, SYTO 44, SYTO 45, SYTO 45-DNA, SYTO 59, SYTO 60, SYTO 61, SYTO 62, SYTO 63, SYTO 64, SYTO 80, SYTO81, SYTO 82, SYTO 83, SYTO 84, SYTO 85, SYTOX 蓝, SYTOX 蓝-DNA, SYTOX 绿, SYTOX 橙, 四环素, 四甲基罗丹明 (TRITC), TexasRed™, Texas Red-X POPO-1-DNA pH 7.2, Texas Red-X™ 共轭物, 硫杂二碳花青 (DiSC3), 噻嗪红 R, 噻嗪橙, 硫代黄素 5, 硫代黄素 S, 硫代黄素 TCN, thiolyle, tinopol CBS(卡尔科弗卢尔白), TMR, **TO-PRO®-1** 碘化物, **TO-PRO®-3** 碘化物, TO-PRO-1, TO-PRO-1-DNA, TO-PRO-3, TO-PRO-5, TOTO-1(1-1'-[1,3-亚丙基双[(二甲基亚氨基)-3,1-亚丙基]]双[4-[3-甲基-2(3H)-苯并噻唑基亚基]甲基]-四碘化物), TOTO-1-DNA, TOTO-3(C₅₃H₆₂I₄N₆S₂), 三基色 (PE-Cy5), TRITC 四甲基罗丹明异硫氰酸酯, True Blue, TruRed, ultralite, 荧光素钠 B, Uvitex SFC, wt GFP, WW 781, X-Rhod-1Ca²⁺, X-罗丹明, XRITC, 二甲苯橙, Y66F, Y66H, Y66W, 黄 GFP, YFP, **YO-PRO®-1** 碘化物, YO-PRO-1, YO-PRO-1-DNA, YO-PRO-3, YOYO-1(C₄₉H₅₈I₄N₆O₂), YOYO-1-DNA, YOYO-3(1,1'-[1,3-亚丙基双[(二甲基亚氨基)-3,1-亚丙基]]双[4-[3-(3-甲基-2(3H)-苯并噻唑亚基)-1-丙烯基]-四碘化物)。

[0056] 在本文中,特别优选的是 4',6-二脒基-2-苯基吡啶,7-AAD(7-氨基-放线菌素 D),吖啶橙、DNA&RNA,吖啶红, Alexa Fluor 594™, AlexaFluor 610 R-藻红蛋白抗生蛋白链霉素 pH 7.2, Alexa Fluor 647R-藻红蛋白抗生蛋白链霉素 pH 7.2, Alexa Fluor 633™, Alexa Fluor 647™, AlexaFluor 660™, Alexa Fluor 680™, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750, 别藻蓝蛋白 (APC), BOBO-3-DNA, BOBO™-3, 氟硼荧 650/665-X, Cy5.5™, Cy5™, DAPI, DDA0, Draq5, 溴化乙锭, 叠氮溴乙锭 (ethidiummonoazide), 溴乙非啶同型二聚体 (ethidium homodimer), 溴乙非啶同型二聚体-1 (EthD-1), 溴乙非啶同型二聚体-1-DNA, 溴乙非啶同型二聚体-2, Hoechst 33258, Hoechst 33342, LDS 751, LDS 751 (DNA), LOL0-1, 线粒体示踪红 (Mito Tracker red), 尼罗蓝-EtOH, **OliGreen®**, PicoGreendsDNA 定量试剂, POPO-1-DNA, PO-PRO-1-DNA, 碘化丙啶 (propidiumiodide) (PI), 碘化丙啶-DNA, Ribogreen, **SYBR®绿 I**, **SYBR®绿 II**, **SYBR®金**, **SYBR®安全 DNA**, SYPRO Ruby, SYTO 60, SYTO61, SYTO 62, SYTO 63, SYTO 64, SYTOX 橙, Texas Red™, TO-PRO-1-DNA, TO-PRO-3, TO-PRO-5, TOTO-1-DNA, TOTO-3, YO-PRO-1-DNA, YO-PRO-3, YOYO-1, YOYO-1-DNA 和 YOYO-3。

[0057] 最优选的是 Pico-Green™ 和 / 或 SYTOX Green。

[0058] 对于约 40 μl 的样品体积,每次测量的 Pico-Green™ 的剂量优选约 0.01 至 5 μl 试剂,优选 0.05 至 2 μl,更优选 0.1 至 0.5 μl 试剂,最优选 0.15 至 0.3 μl 试剂。将所使用的试剂的量调整到样品体积。如果以固体形式来提供检测试剂,那么在其检测试剂的含量中固体的量相当于上文提及的体积中所溶解的固体的含量。

[0059] 优选地,装置的开口包含单向阀。此外,开口优选包含鲁尔锁紧接头 (Luer lock)。

[0060] 根据另外优选的实施方案,装置为一次性装置。

[0061] 优选地,将过滤器配置为以便从血液中分离血清和 / 或血浆。优选地,不发生能够影响测量结果的血液细胞的溶解。

[0062] 能够除去(结合)胆红素、血红蛋白或分散的脂质(也称微胶粒)的物质能够存在于过滤器中。这样的物质能够例如为二氧化钛或考来烯胺 (colestyramine)。

[0063] 当检测 DNA 时,能够存在残余量的血小板,而本身没有对测量的不利影响。当测量其它组分时,血小板的完全分离是有利的,这能够通过装置的相应位置中采用由多个不同的过滤器层组成的过滤器夹层状结构来实现。

[0064] 装置优选与可商购的检测装置相匹配,特别是其尺寸规格。后者的装置特别包括可商购的光度计,例如 Picofluor, TBS380 (Turner Biosystems, U. S. A.) 或 Qubit (Invitrogen, U. S. A.)。

[0065] 优选地,该装置和 / 或该装置的至少部分区域具有可商购的小池 (cuvette) 的规格尺寸,优选直径为约 10mm 和 / 或长度为约 50mm $\pm$ 15mm,或者利用适配器 (adapter) 来与可商购的小池的尺寸相适应。根据本发明,优选地,术语“可商购的小池”是指直径为约 10mm 和 / 或长度为约 50mm $\pm$ 15mm 的小池。

[0066] 该装置还优选包括 PCR 管形式的小池 (优选具有 0.5ml 的可用体积), 特别用于 Qubit 装置。

[0067] 而且,优选地,小池能够被小型化,例如由合成材料或玻璃的透明管组成并具有约 20 μ l 至 100 μ l 的填充体积、约 5mm 至 25mm 的长度以及约 1mm 至 4mm 的内径。

[0068] 优选地,该装置包括至少一个通气器件。优选利用窄槽、通道或间隙进行通风,其优选具有仅若干厘米的长度并开口入测量室或由此延伸,而且其另一端借助膜与外部空气即环境隔开。该膜优选为半透膜,其可透过空气或气体,而不透过液相流体。如果使用小池,特别优选将半透膜布置在管的较低端,优选作为管的闭合物。

[0069] 本发明提供具有与自动体积配量整合的测量室的装置。在流体的填充方向或流动方向上,测量区在过滤器的下游,并且由于其设计、布置和通风,优选充满滤液或过滤过的流体而没有气泡。这优选发生在准确可控并合适的量,符合或适应于检测试剂的量,以便在填充到半透膜后不会发生进一步的流动。体积由小池部分中流体空间的体积来决定。因此本发明特别允许自动体积配量或量的预定,这特别带来了不需要移液或其它流体处理的优势。

[0070] 测量区也能够被部分预填充,其中这种预填充能够包括用检测试剂稀释的缓冲液。然后测量区的剩余可填充体积能够被一定量的过滤过的流体填充,该过滤过的流体的量受剩余的体积限制并由此被界定,并且在短暂的孵育期之后,能够在荧光光度计中被测量。将由此获得的测量值与标准值对比之后,从而考虑到空白值,能够确定包含在流体中的物质的量。

[0071] 在另外优选的实施方案中,通过与测量室进口相反布置的窄槽、通道或间隙使通气器件与测量室连接。

[0072] 优选地,测量区具有常规 (PCR) 管的形状或将其实现为常规 (PCR) 管,更优选地,测量区包括与剩余装置相连接的通气器件。

[0073] 优选地,装置包括至少一个另外的测量区。因此,同时检测多个测量值或同时检测一个或多个校准值是可能的。优选地,该装置包括至少另外的测量区用于提供空白值或校准值。

[0074] 优选地,待确定的组分与两种检测试剂相互作用。在这种情况下,利用两步反应中的两种检测试剂来进行浓度的检测或确定。首先结合的检测试剂与待确定的组分发生特异性相互作用。优选地,这第一种试剂与可检测的物质偶联。优选地,可检测的物质对应于一

种上文提及的荧光团染料。

[0075] 优选地,将第二种检测试剂固定在测量区的特定区域。

[0076] 优选地,在该装置中在诸如通向测量区的流体通道、过滤区或混合室的测量区的上游区域中提供第一种检测试剂。在进入测量区之前,应该将血液或分离的血浆或血清与第一种检测试剂接触,以使后者与待确定的物质结合。然后待检测的物质和第一种检测试剂的复合物与血浆或血清一起进入测量区,在这里它与固定在测量区中的特定区域的第二种检测试剂结合。通过复合物在这一位置的积聚,能够检测待确定的组分。过多的第一种检测试剂保持在血清或血浆中均匀地分布。能够确定对照值,其反映出分布在整个溶液中的第一种检测试剂的浓度。利用软件,也能够将该对照值编程入合适的测量装置中作为阈值或极限值。在这种两步反应的情形下,用于检测的两种试剂被称为检测试剂,其中如上文所述当第一种检测试剂与待确定的组分结合时,第一种检测试剂不必改变其可检测性的性质。然而,第一种检测试剂展现出这种性质是优选的。两种检测试剂直接与待确定的组分结合,从而通过检测第一种检测试剂来实际上检测或确定该组分,同时第二种检测试剂在某一位置上固定抗原并且在用含有抗原的液体有限灌注引起的富集以后对该位置进行光学测量。

[0077] 在这种两步反应中,优选地,检测试剂为抗体或抗体片断。就第一种检测试剂来说,抗体与待检测的物质偶联。例如 R-藻红蛋白(PE),荧光素异硫氰酸酯(FITC), PE-Cy5 别藻蓝蛋白(APC), PE-Texas Red™, 多甲藻素叶绿素蛋白(PerCP), PerCP-Cy5.5, APC-Cy7 和 / 或 Texas Red™ 等适用于这一目的。

[0078] 在两步反应中待检测的组分为例如诸如白细胞介素 6(IL-6)、血红蛋白、胆红素、CRP、乳铁传递蛋白、降钙素原、AT-III、蛋白 C、p24(HIV) 或抗体的内源性物质,诸如病毒、细菌、药剂、毒物、药物或这些物质的片断的外源物质也能够以这种方式测定。

[0079] 因此,本发明的装置能够对血液组分进行定性和 / 或定量确定,特别是没有另外的手工或实验室操作步骤。

[0080] 而且,本发明涉及优选通过采用本发明的装置,用于检测血液中组分的方法,特别是用于确定血液中组分浓度的方法。该方法包括以下步骤:(a) 提供具有测量区、过滤器和检测试剂的装置,(b) 将流体引入该装置,以及(c) 通过使用该装置来检测或测量组分的浓度。优选地,通过采用优选荧光光度计的常规测量器件来完成检测或测量所述组分浓度的步骤。

[0081] 而且,本发明涉及本发明的装置和方法用于确定血液中组分的用途,该血液中组分例如胆红素、游离血红蛋白、IL-6 或 p24(HIV 蛋白)、CRP。用于确定细胞游离 DNA 的用途也是优选的。优选地,通过用合适波长测量光吸收或者通过测量这些物质的特征性自发荧光来测量血红蛋白或胆红素。

[0082] 本发明还涉及至少包含本发明的装置和(荧光)标准品的试剂盒(kit),所述荧光)标准品能够包含例如 DNA。而且,优选地,该试剂盒包含优选具有另外组件的注射器用于从患者取得血液,和 / 或测量器件。此外,所述试剂盒优选包含带有解释帮助的操作手册。而且,所述测量器件能够包含特别适于测量样品的装置,所述样品已经利用该装置制备。它还能够包括用于储存和处理数据的软件。它能够包含适配器电缆。而且,它能够包含允许进行网格独立测量的电池组。

[0083] 在下文中,参照以下附图来描述本发明优选的实施方案。

[0084] 图 1 显示包含测量区的本发明装置的优选的实施方案,其中图 1a 显示装置的俯视示意图以及图 1b 显示该优选装置的剖面侧视示意图;

[0085] 图 2 显示具有两个平行测量区的本发明装置的优选实施方案的俯视示意图;

[0086] 图 3 显示具有两个测量区的本发明装置的另外优选实施方案的俯视示意图;

[0087] 图 4 显示具有三个测量区的本发明装置的优选实施方案的俯视示意图;

[0088] 图 5 显示本发明另外优选的实施方案的俯视示意图,其中图 5a 显示具有流动优化的测量区的优选的实施方案,以及图 5b 显示具有不同流动优化的测量区的优选的实施方案;

[0089] 图 6 显示带有具有血浆储器的整合免疫测定的本发明装置的优选实施方案的俯视示意图;

[0090] 图 7 显示包含圆盘状过滤器的本发明优选装置的示意图,其中图 7a 显示该装置的俯视示意图,图 7b 显示图 7a 装置充满流体并由此具有弹性凸出的流体入口区的示意图,以及图 7c 显示图 7a 的俯视图;

[0091] 图 8 显示本发明的装置的优选实施方案的俯视示意图;

[0092] 图 9 显示本发明的装置的优选实施方案的俯视示意图;

[0093] 图 10 显示本发明的装置的优选实施方案的俯视示意图;

[0094] 图 11 显示本发明的装置的优选实施方案的俯视示意图;

[0095] 图 12a 显示本发明的优选装置的侧视示意图,其中过滤器 4 将流体入口区 5 和邻接的滤液区隔开;

[0096] 图 12b 显示与图 7b 的装置相似,充满待过滤的样品之后,在图 12a 中所述的装置的结构侧视示意图;以及

[0097] 图 12c 显示在图 12a 和 12b 中所述装置的结构侧视示意图。

[0098] 例如在图 1 和 8 中所示的本发明的装置用于检测,并且优选用于确定流体中组分浓度。优选地,流体为血液并且待确定的组分为 DNA。

[0099] 图 1 至 7 的装置包含测量区 3 和与之流体连通的过滤区 5。过滤区 5 和测量区 3 优选通过第一流体通道 7 彼此连接。优选地,装置 1 还包含优选以鲁尔锁紧接头实现的开口 9,并更优选包含单向阀。优选地,开口 9 直接位于过滤区 5 的流体入口区或通过软管或管 11 与其相连接,优选地,包含聚合物,优选聚氯乙烯 (PVC) 或聚乙烯 (PE) 的聚合物。

[0100] 优选地,过滤区 5 为弹性的和袋状的,而且或另外优选地由软 PVC、PE、共聚物或复合共聚物制成。优选地,鲁尔锁紧接头开口 9 的实现使得可商购的注射器(没有显示)能够与其连接,例如通过形成鲁尔锁紧接头。例如,将利用这样的注射器填充的流体、特别是血液通过开口 9 和任选的管 11 引入过滤区 5。优选过滤区 5 的实现使得当引入预定量或预定体积的流体时,其以预定的方式扩展,结果导致预定压力施加在过滤区 5 的内部。优选地,相应调节材料、待插入的体积和所需要的体积等。提供具有单向阀的开口 9 预防在流体入口区或过滤区 5 中的加压流体漏出。

[0101] 受过滤区 5 中占优势的压力的作用,包含在过滤区 5 中的流体被加压通过过滤器,优选为特殊的膜,该特殊的膜优选被焊接入过滤区 5。

[0102] 除了开口 9 以外,过滤区 5 优选包含进入流体通道 7 的排出口,流体通道 7 又通向

测量区 3。优选地过滤器的布置使得过滤区 5 中的加压流体通过过滤器（未显示）输送进入流体通道 7 并由此进入测量区 3。因此，在测量室 3 中提供过滤过的流体，优选为血液血浆并且特别优选为预定体积的血液血浆。

[0103] 除了将如结合图 1 至 6 所述的测量区 3、流体通道 7、通气通道 13 部件整合至优选利用半透膜 15 来闭合的一个部件 17 这一事实外，上述陈述类似地也适用于图 8 至 11 的优选的实施方案。

[0104] 装置还包含检测试剂，优选 Pico-Green™，其在测量室 3 和 / 或流体通道 7 中被提供，提供的方式使得它与流经流体通道的血液血浆或血清和 / 或在测量室 3 中收集的血液血浆或血清接触，特别是与之相互作用，优选地，使得能够检测特别是确定在流体或血液血浆中的组分浓度。

[0105] 为此，调节装置特别是测量区 3、过滤区 5 和流体通道 7（或部件 17）的体积以及过滤区 5 的弹性和压力产生方面的性能和过滤器的过滤和流动性质方面的性能从而在测量室 3 和 / 或流体通道 7（或部件 17）中提供与预定量的检测试剂相互作用的预定量的血液血浆。

[0106] 优选地，与血液血浆接触的测量室 3 和 / 或流体通道 7（或部件 17）内部区域至少部分由检测试剂包被，该检测试剂优选包含 Pico-Green™ 或 SytoxGreen 或者由其组成。而且，也能够将包含检测试剂的快速溶解的丸粒放置在测量室 3 或流体通道 7（或部件 17）的区域中。

[0107] 优选地，测量区 3 通向通道，优选为通气通道 13。这样的通道优选通向通气开口或通气凹槽 15，其优选地被布置在装置的外部区域并通过半透膜（没有显示）对环境密封。优选地，这样的膜的特征在于其可从装置的内侧透过空气或气体介质但不能透过液体介质或血液血浆。因此，当将过滤区 5、流体通道 7 和测量区 3 被填充时，通道和通气区 15 适于将装置 1 中多余的空气输送至外部进入环境，换句话说，其适于使装置 1 通气。因此，优势在于将确定的液体体积特别引入测量区是可能的。

[0108] 因此，借助本发明的装置，采用确定量的血液血浆自动填充测量区 3 并将其与检测试剂混合是可能的。根据上文描述，能够特别利用光学检测该装置和测量区中的流体特别是血液血浆，例如通过插入诸如 Pico-Green™ 的荧光染料来用于检测游离 DNA。

[0109] 优选地，通过喷墨或与喷墨打印机等同的技术将检测试剂施加在诸如测量室或测量通道的测量区 3 的内侧并干燥。或者或另外，在测量室中以粉末或丸粒的形式，或者例如在供应通道中以易溶物质的形式提供检测试剂。优选地，该装置的直径为约 10mm，并且长度或高度为约 50mm±15mm。

[0110] 优选地，该测量区为至少部分透明或半透明，其优选通过荧光测量来特别用于保证待检测或待确定的组分的光学检测。

[0111] 特别涉及图 1 的上文描述也类似地适用于图 2 至 6（或 7）的优选的实施方案。图 2 至 4 的优选的实施方案显示的装置在结构和操作模式方面基本上与结合图 1 所述的装置相符合，然而，图 2 至 4 的优选的实施方案显示的装置包含数个测量区 3，优选 2 个或 3 个测量区，其中能够以不同的方式来布置这些测量区。根据总体结构和操作模式，参照上文图 1 的描述。关于包含数个测量区 3 的设计，仅指出不同的测量区、或从共用的过滤区 5 伸出的流体通道 7 以及沿着流动方向的测量区 3、通气通道 13 和通气区 15 适于进行多个平行测量

或检测或测定,其中测量区 3 和 / 或流体通道 7 的任一个能够包含相同或不同的检测试剂。

[0112] 特别涉及图 1 的上文描述也类似地适用于图 8 至 10 的优选的实施方案。图 8 至 10 的优选的实施方案显示的装置在结构和操作模式方面基本上与结合图 1 至 7 所述的装置相符合。

[0113] 优选地,提供还被称为空白测量区的至少一个测量区用于确定空白值。空白值是用于比较待测样品的值。例如,能够在没有试剂的空白测量区测量过滤过的血液血浆作为空白值,其指示例如自发荧光。优选地,通过测量加入待测的标准量的物质的相同种类的流体能够形成校准值。更优选地,通过测量充满流体或由其组成的小池能够形成校准值,所述液体与血液血浆或合成材料在光学上相似,并展现出稳定的确定的荧光。基于这些值,估计样品相应的测量值。例如,能够每天进行标准测量并能够总是从患者获得所关注的分析物的空白和测量值。

[0114] 因此,通过相应优选的实施方案,能够同时进行平行相同测量或平行不同测量。如关于图 1 优选的测量装置已经描述的及在图 2 至 6(或 7)所示的优选的实施方案中,调节测量区 3、过滤区 5 和流体通道 7 的体积以及过滤区 5 的弹性和压力产生方面的性能和过滤器关于过滤和流动特性方面的性能从而在测量室 3 或流体通道 7 中存在与预定量的检测试剂相互作用的预定量的血液血浆。

[0115] 图 5 依次显示包含测量室的本发明装置的优选的实施方案,其中仅显示了示例性的变化的流动优化的测量区 3(参见图 5 中的图 5a)。这是为了澄清测量区 3 的几何形状不被视为受到了限制,而只要保证所描述的操作模式,其能够具有任何期望的不同形状。

[0116] 图 6 也显示了本发明装置的另外优选的实施方案,按照该实施方案,将另外的室 20 布置在混合室 25 的下游,该混合室优选地包含与待测组分结合的试剂。在该室 20 中,例如抗体的检测试剂与基质稳固结合,所述基质优选至少部分地包含二氧化硅(例如玻璃)或聚苯乙烯或聚氨酯。然后例如抗原的待测组分在过滤区 5、混合室 25 和 / 或通道 7 中与例如标记抗体的荧光的第一种检测试剂结合,并且当进一步流经室 20 时,通过与基质结合的另外的抗体被固定在基质上,并由此通过室 20 的荧光光度测量来确定抗原的存在和 / 或其浓度。两种检测试剂都能够与待确定的组分在不同区域结合,如果抗体与不同的抗原表位结合。

[0117] 图 7 显示包含圆盘状过滤器 16 的本发明优选装置的示意图。图 7a 显示了该装置的俯视示意图,以及图 7b 显示图 7a 装置充满流体并由此具有弹性凸出的流体入口区的示意图。如图 7c 显示从图 7a 的顶部所观察到的图 7a 的示意图。所显示的其余布置与已经描述的布置相符。

[0118] 图 8 显示包含管状小池 17 的本发明优选实施方案的俯视示意图,该小池 17 能够包含例如丸状的易溶的试剂 23。凭借本发明的装置也能够用确定量的血液血浆充满测量区并将其与检测试剂混合。这里,将在图 1 至 6 中显示的实施方案所描述的部分测量区 3、流体通道 7 和通气通道 13 部件的组合整合至或布置在部件 17 中。部件 17 优选地具有由半透膜 15 形成的闭合。能够特别地对装置和测量区中的流体特别是血液血浆进行光学检测。管状或软管状的透明的测量小池的长度为约 20mm,内径为约 1 至 4mm 以及外径为约 2 至 6mm。

[0119] 图 9 显示包含两个管状小池 17 的本发明装置的优选实施方案的俯视示意图,其

中所述小池的一个能够具有检测试剂,同时能够利用不包含试剂的另一个小池来测量空白值。

[0120] 图 10 显示包含能够含有试剂的混合室 20 的本发明装置的优选实施方案的俯视示意图,其中室 20 中的试剂以特别优选的方式与滤液混合。

[0121] 图 11 显示本发明装置的优选实施方案的俯视示意图,通过该装置,能够用事先通过常见的方法制备的确定量的血液血浆自动填充测量区。管状或软管状测量小池的长度为约 20mm,外径为约 2 至 6mm 并且在区域 19 中能够包含试剂。

[0122] 图 12a 显示本发明优选装置的侧视示意图,其中过滤器 4 使流体入口区 5 与进入部件 7 或 17 的滤液区分离。优选地,将该过滤器与限定流体入口区和测量区和 / 或滤液区的壁或膜连续地连接,优选通过胶接或焊接。

[0123] 所描述的实施方案的部件 7 或 17 包含用于通气和 / 或测量的毛细管和 / 或测量区。

[0124] 图 12b 显示填充后图 12a 的装置的示意图。图 12c 显示图 12a 和 12b 的宽侧的视图。所述装置具有弹性壁,其优选由膜形成或包含一个或多个膜区并限定流体入口区 5 和滤液区。过滤器 4 能够紧密粘在装置壁上或被折叠。在两种状态中,可能易碎的过滤器膜受到机械支撑。通过经过开口 9 填充流体入口区,在特别优选的实施方案中通过流体入口区上游存在的阀门,使流体入口区和过滤器上方的滤液区之间存在压力差。如果例如滤液区和 / 或测量区的过滤器下游区域也由弹性膜形成,则本发明该优选的实施方案有利地形成特别小的死腔体积并由此导致需要非常少量的滤液用于进行测量。而且该装置包含诸如适于输送、测量和 / 或除去滤液的毛细管或开口 17。

[0125] 在操作中,优选经过开口 9 或流体入口区来填充装置。为此优选使用注射器。根据优选的实施方案,开口 9 包含单向阀,例如鲁尔锁紧接头。通过在样品上施加压力,该压力通过注射器优选在所描述的实施方案中手工施加,并通过由此引入的样品,流体入口区中的体积增加。换句话说,通过在压力下引入的物质,至少部分地形成流体入口区的壁或膜被扩展。因此,一方面,形成了引入的样品体积的充足空间。另一方面,施加的填充压力导致膜或弹性材料膨胀从而使流体入口区充满加压的样品材料。因此,通过扩展的膜或扩展的弹性材料使加压的样品材料被挤压通过过滤器并被过滤。因此在过滤器的另一侧离开的滤液经过过滤器并到达滤液区和 / 或测量区。这个区域也优选至少部分由诸如弹性膜的弹性材料形成从而根据进入滤液来形成其体积。这带来了上文所描述的优势。

[0126] 因此,本发明提供了有利的装置、方法和试剂盒,其克服了现有技术的缺陷。特别是,通过本发明,能够从全血中分离血浆或血清并分析含在血清或血浆中的物质而不必对所获得的血清或血浆进行离心步骤或类似的实验室处理步骤。而且,本发明提供了装置、方法和试剂盒,其能够被容易、安全并可靠地操作或实施,特别是能够被没有受过医疗培训的非专业人员或工作人员使用或实施,而且能被容易地且以有成本效益的方式生产、实施和 / 或贮存。

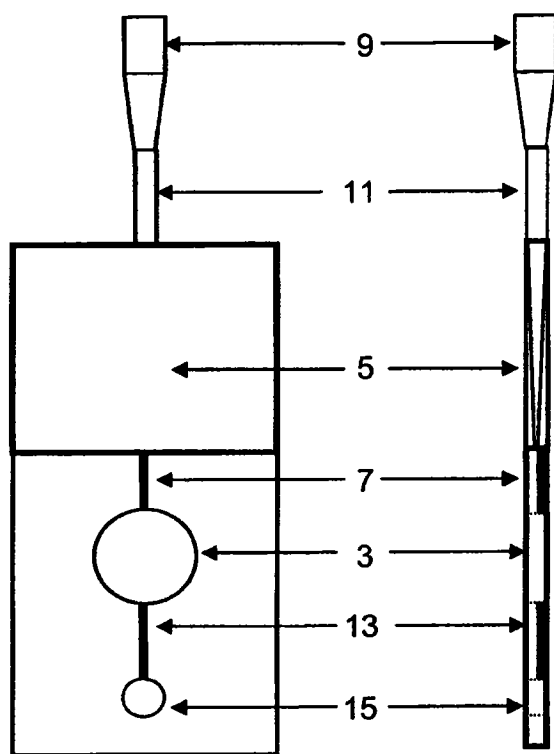


图 1a

图 1b

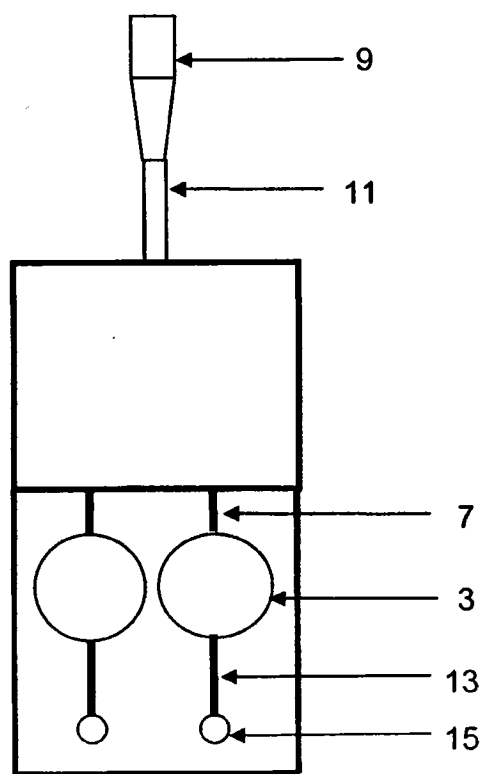


图 2

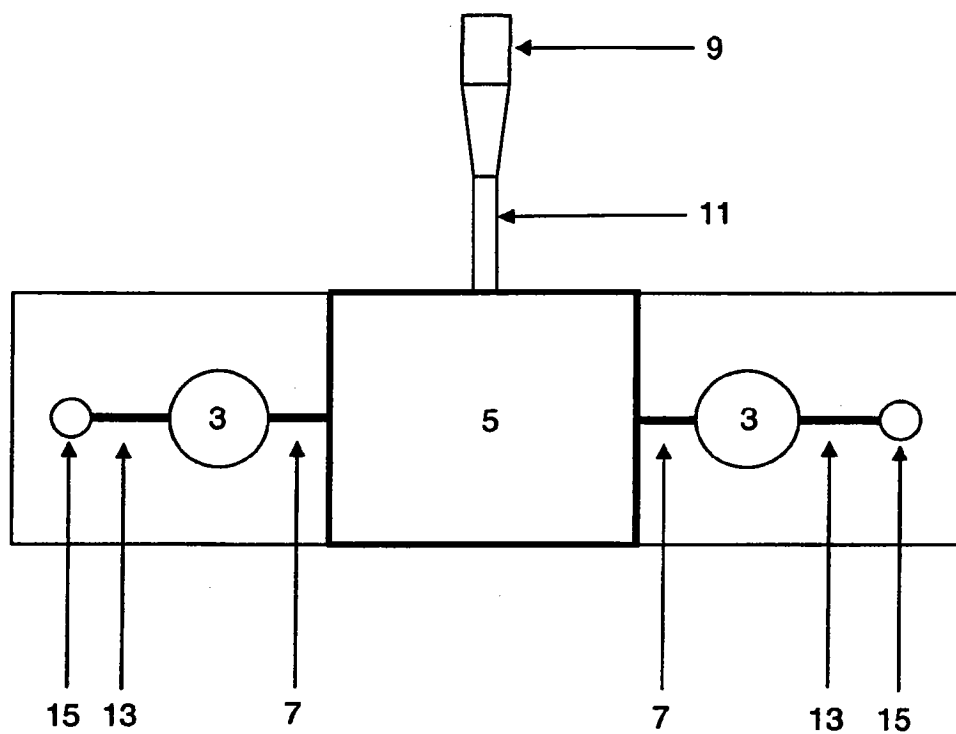


图 3

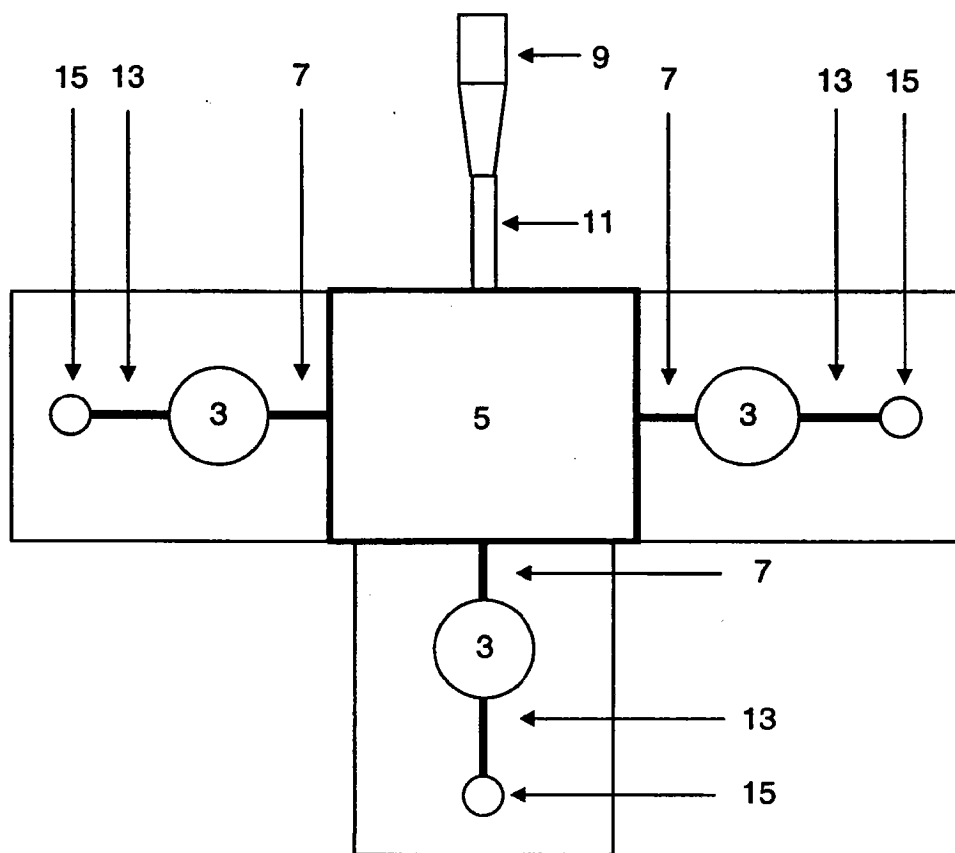


图 4

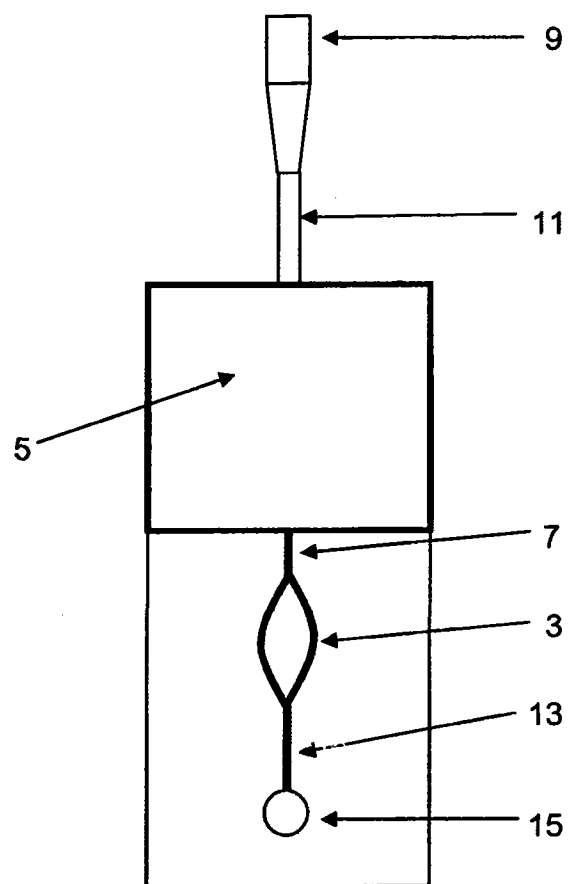


图 5a

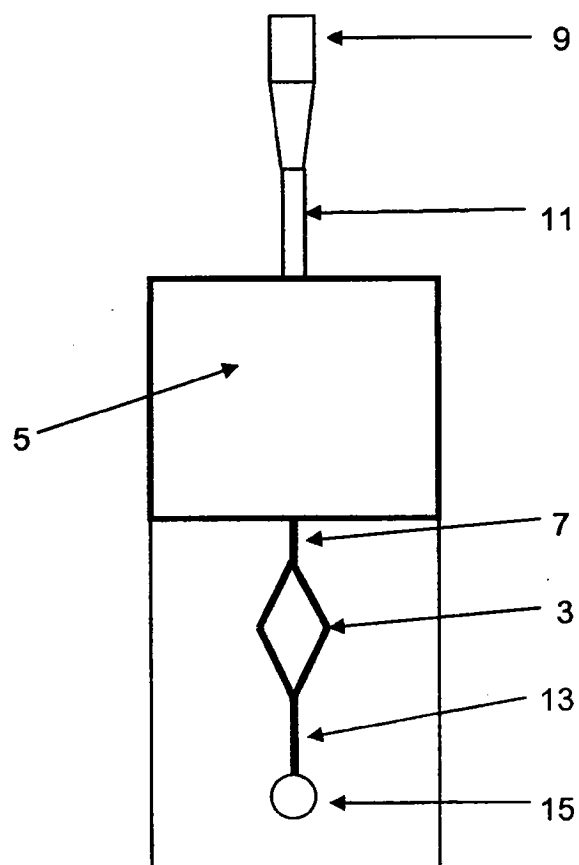


图 5b

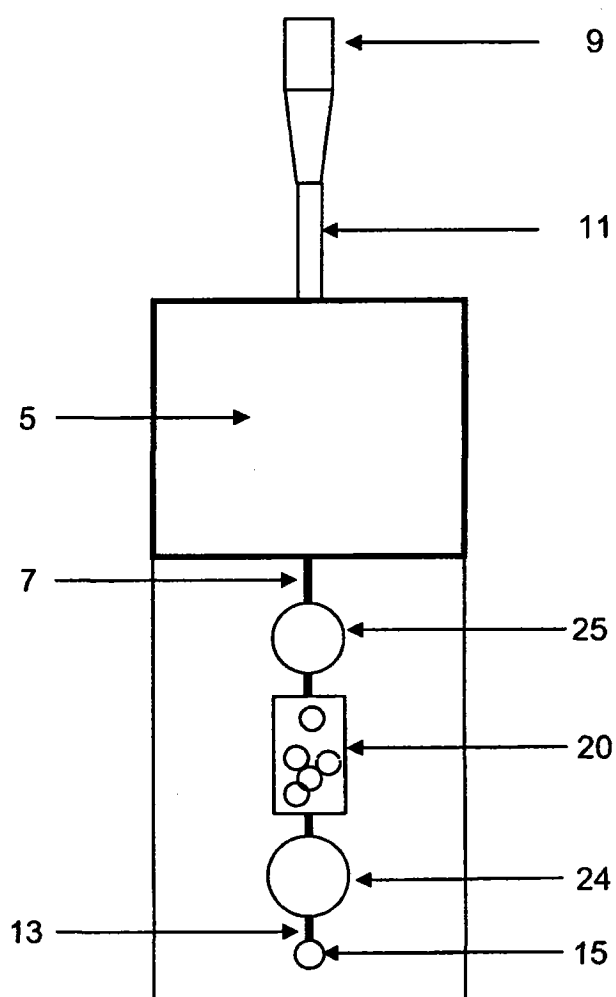


图 6

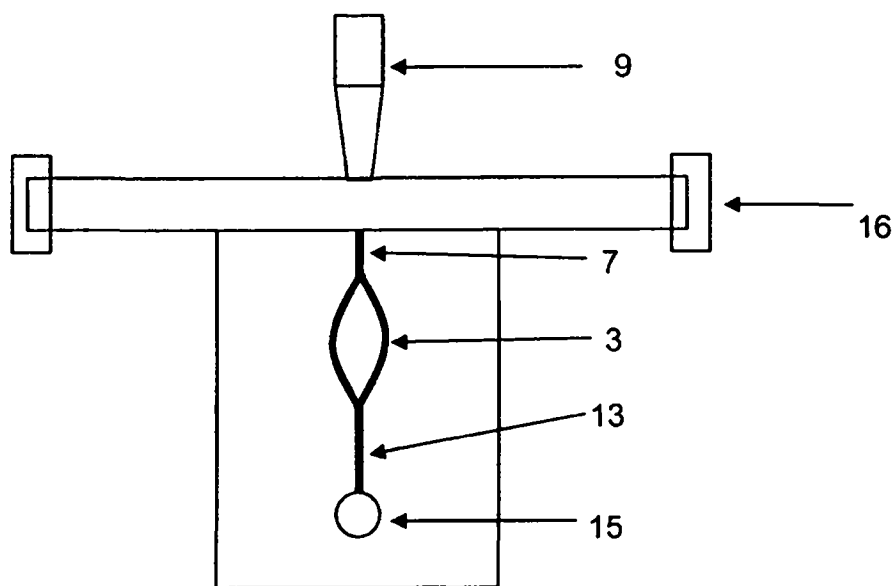


图 7a

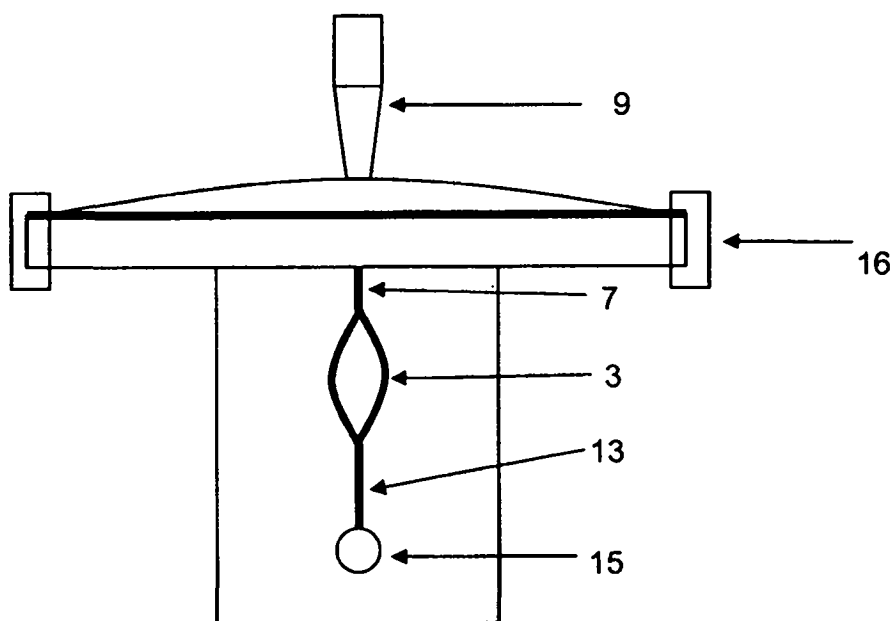


图 7b

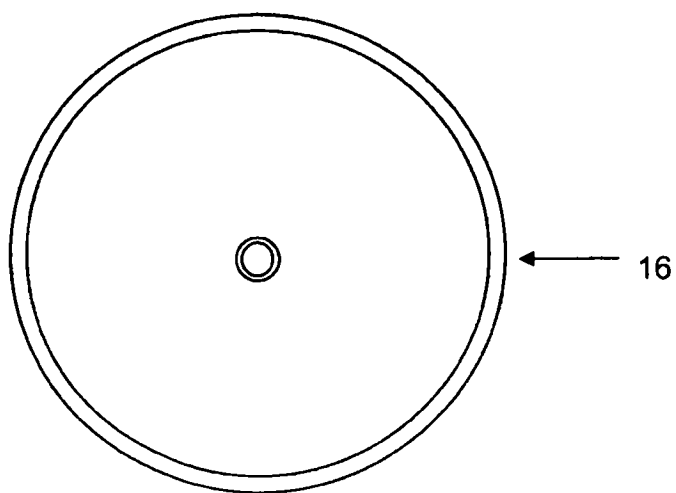


图 7c

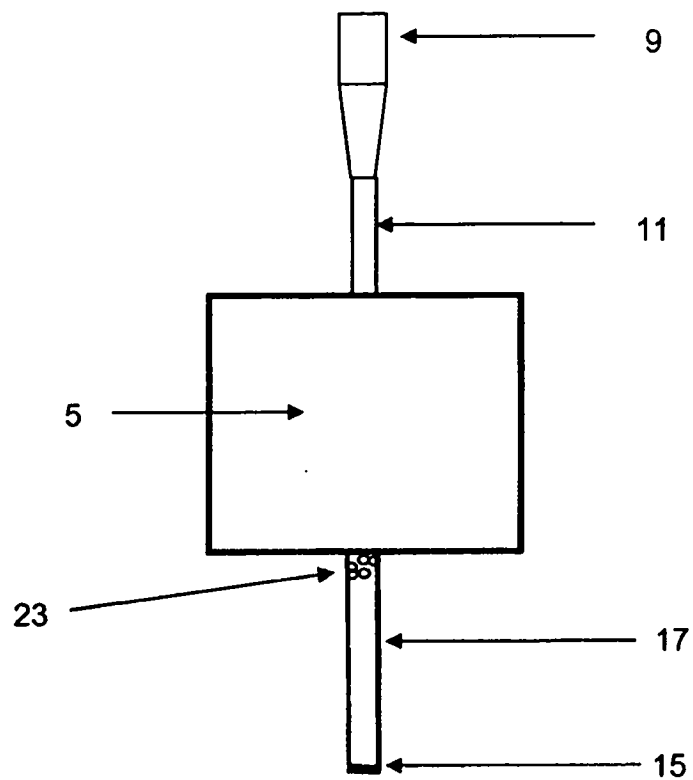


图 8

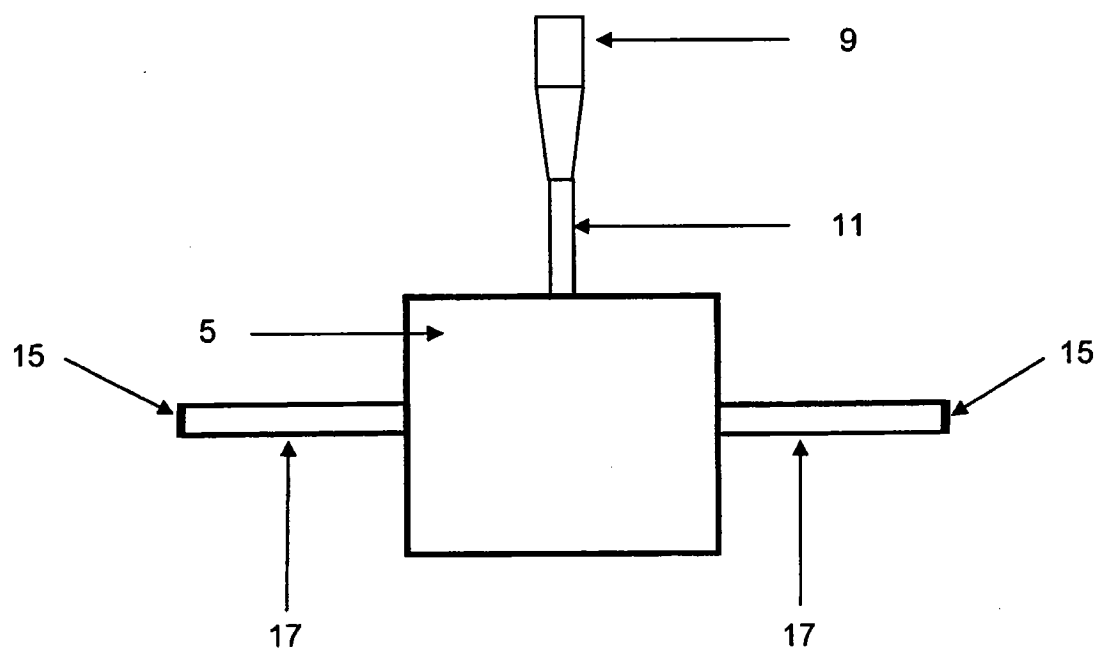


图 9

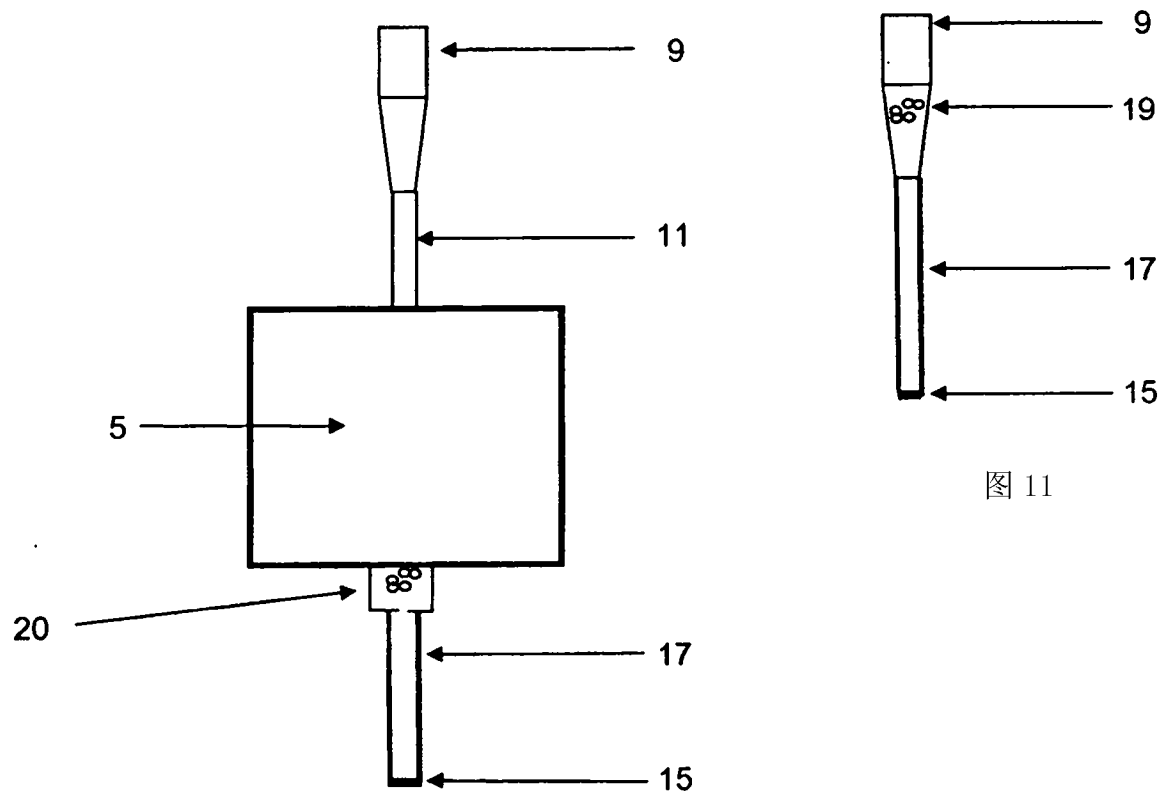


图 11

图 10

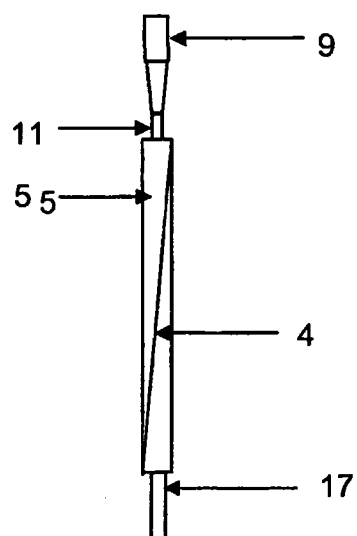


图 12a

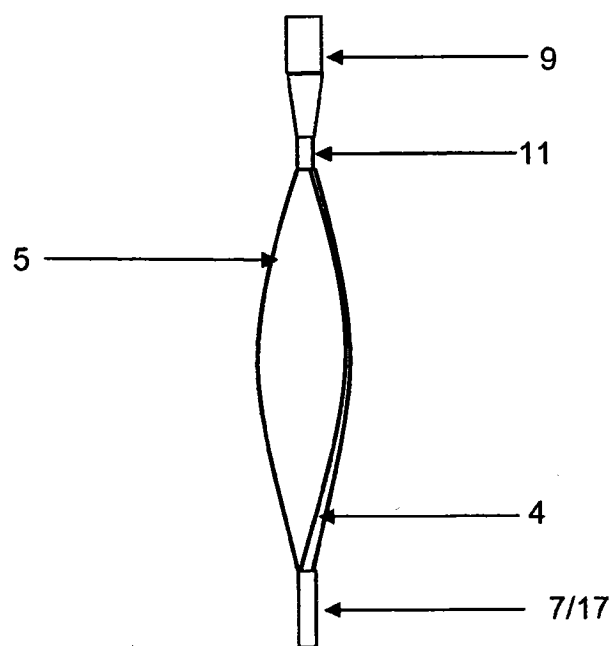


图 12b

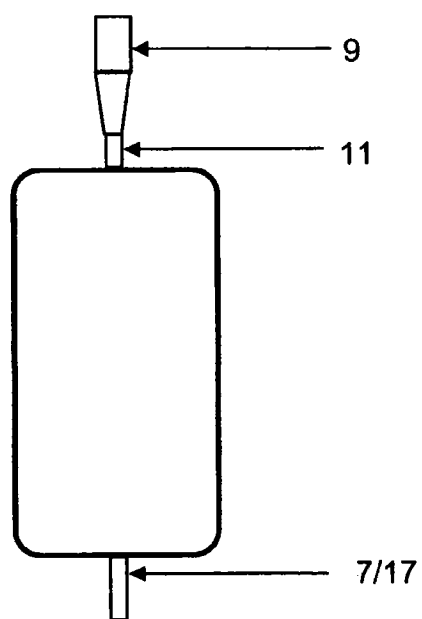


图 12c