

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 35/10 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880014470.6

[43] 公开日 2010 年 3 月 31 日

[11] 公开号 CN 101688876A

[22] 申请日 2008.3.14

[21] 申请号 200880014470.6

[30] 优先权

[32] 2007.5.2 [33] US [31] 60/915,519

[86] 国际申请 PCT/US2008/056995 2008.3.14

[87] 国际公布 WO2008/137213 英 2008.11.13

[85] 进入国家阶段日期 2009.11.2

[71] 申请人 西门子医疗保健诊断公司

地址 美国纽约州

[72] 发明人 M·J·普日亚 J·A·普罗菲特

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 石克虎 林 森

权利要求书 2 页 说明书 10 页

[54] 发明名称

向试剂表面上压电分配诊断液体

[57] 摘要

一种测定，其中生物流体样品被分配到包含试剂的多孔基材上，该测定通过以生物流体样品的两个或更多个级分的方式来分配所述生物流体，并由不分配生物流体的时间间隔所隔开，提高了所述测定的准确度和再现性。试剂和其它流体可以在所述不分配生物流体的时间间隔期间被分配。备选地，试剂和其它流体可以以类似的方式分配到已经包含了生物流体的基材上。

1、在测定生物流体中分析物的量的方法中，其中从喷嘴中以直径在大约 0.05 至 1mm 范围的液滴的形式分配所述生物流体的样品到包含试剂的多孔基材上或其附近，并读取所述被分配的生物流体和所述试剂之间的反应结果，改进包括以所述生物流体样品的两个或更多个级分的形式分配所述生物流体样品到所述包含试剂的基材上，所述级分以预定的量分配预定的时间段，所述预定的时间段由不分配所述生物流体样品的时间间隔所隔开。

2、权利要求 1 的方法，其中所述不分配所述生物样品的时间间隔用于分配与所述生物流体样品的所述级分不同的液体。

3、权利要求 2 的方法，其中所述不分配所述生物样品的时间间隔用于分配液体稀释剂。

4、权利要求 2 的方法，其中所述不分散所述生物样品的时间间隔用于读取所述沉积的生物流体与所述试剂之间的反应结果。

5、权利要求 1 的方法，其中所述生物流体样品的所述两个或更多个级分为三个或更多个级分。

6、权利要求 1 的方法，进一步包括在步骤 (a) 之前分配液体稀释剂或试剂的步骤。

7、权利要求 1 的方法，其中所述不分配所述生物样品的时间间隔用于分配其它试剂。

8、权利要求 1 的方法，其中所述生物流体是尿液。

9、权利要求 9 的方法，其中所述分析物是血红蛋白或蛋白质或葡萄糖。

10、提高测定生物流体中分析物量的准确度和再现性的方法，包括：

(a) 将所述生物流体的样品以所述样品的两个或更多个级分的形式分配到包含试剂的多孔基材上，所述级分以预定的量作为小液滴分配预定的时间段，所述时间段由不分配所述生物流体样品的时间间隔所隔开；以及

(b) 读取所述被分配的生物流体和所述试剂之间的反应结果。

11、权利要求 10 的方法，其中所述不分配所述生物样品的时间间隔用于分配与所述生物流体样品的所述级分不同的液体。

12、权利要求 11 的方法，其中所述不分配所述生物样品的时间间

隔用于分配液体稀释剂。

13、权利要求 11 的方法，其中所述不分配所述生物样品的时间间隔用于分配其它试剂。

14、权利要求 11 的方法，其中所述不分配所述生物样品的时间间隔用于读取所述沉积的生物流体与所述试剂之间的反应结果。

15、权利要求 10 的方法，其中所述生物流体样品的所述两个或更多个级分为三个或更多个级分。

16、权利要求 10 的方法，进一步包括在步骤 (a) 之前分配液体稀释剂或试剂的步骤。

17、权利要求 10 的方法，其中所述小液滴具有大约 0.05 到 1mm 范围的直径。

18、权利要求 10 的方法，其中所述生物流体是尿液。

19、权利要求 18 的方法，其中所述分析物是血红蛋白或蛋白质或葡萄糖。

20、提高测定生物流体中分析物量的准确度和再现性的方法，包括：

(a) 将所述生物流体的样品分配到多孔基材上；

(b) 以所述生物流体的两个或更多个级分的形式分配与所述生物流体反应的试剂，所述级分以预定的量分配预定的时间段，所述预定的时间段由不分配所述试剂的时间间隔所隔开；

(c) 读取所述生物流体和所述试剂之间的反应结果。

向试剂表面上压电分配诊断液体

技术领域

[0001]本发明涉及用于测量生物样品中分析物数量的试剂和仪器，其通过所述分析物与试剂反应以产生可检测的响应来实现。

背景技术

在含有试剂的基材上分配液体

[0002]已经开发出许多仪器来测量生物样品中分析物的数量，所述生物样品例如为尿液、血液、唾液或者粘液或组织提取物。通常，样品液体被施加到含有与所述分析物反应的试剂的表面上。所述试剂产生可检测的响应，测量该响应并将其与所述分析物的量相关联。所述表面性质上通常为亲水性的或者疏水性的，例如滤纸对比于聚苯乙烯。一些装置采用了多个表面的组合，例如尿液分析条试验，其在疏水性的聚苯乙烯手柄顶端使用了亲水性的滤纸垫。在典型的试验中，将含有未反应试剂的条浸蘸，即完全浸入液体样品中，然后测量所述样品中分析物与试剂之间的反应，所述测量通常是通过光学方法实现。所述未反应的试剂本身可以是水溶性或非水溶性的。它们多孔基材内沉积或固定并干燥。所述基材连接或者放置在承载表面上。另外，可以在测定过程中使用含有或不含试剂的液体。所述液体试剂可以在与分析物的反应之前、之后或过程中施加到已含有干燥试剂的基材表面上，通常是在样品施加之后添加。显然，为了成本和方便等的原因起见，样品和试剂的体积应当尽可能的小。较不明显的是，当施加少量液体试剂或生物样品到含有试剂的表面上时，通常难以得到均匀而准确的响应。在反应区域较小且存在较少的分析物时，分析物与试剂的反应降低。

[0003]所述基材可用来放大所述反应的响应。膜，例如薄膜，可以用亲和性试剂固定以便阅读区中反应物的捕获和浓缩。在合意的方向（例如横向而非纵向）引导液体流动由于增加了液体样品或试剂与反应区之间流体交换的数量而能够提高效率。每次交换使得分析物发生进一步的反应，从而放大了所述信号。所述基材表面的改性使得试剂能够在反应区被分离。此外，所述表面本身的性质也可用于提高分析物的反应

性，例如通过增加试剂的溶解性或者促进在所述表面上与试剂的反应来实现。

[0004]大多数生物样品和液体试剂具有显著的水含量，因此相容于亲水性基材而不容于疏水性表面。当所述样品和试剂液体分配时会快速散布在亲水性基材上而被疏水性基材所排斥。在所述表面上分配液体与试剂之间的接触通过直接分配到反应区域或部分反应区域上而实现。然而，当基材相对疏水时，所分配的液体会在所述基材表面上形成液珠以试图最小化其与所述表面的接触，从而其不会均匀散布在所述试剂上。与分配液体有关的另一难题是干燥试剂在性质上可能是水溶性的或非水溶性的。非水溶性的干燥试剂可能不容易被所述液体样品达到，而水溶性的试剂可能溶解并随液体在所述基材上一起移动。理想的是所述试剂应当均匀接触样品，因为所述试剂与样品的可测量的响应，例如显色，应当均匀以便获得所述样品中分析物数量的准确读数。

[0005]与获得在表面上被分配的液体与试剂之间良好接触有关的问题涉及所述样品的物理性质。其物理性质如表面张力、粘度、总固体含量、颗粒大小和附着力是有所变化的。因此，其不容易以一致的体积均匀地沉积在被试剂覆盖的基材上。同样，随着液体样品量的减少，将一致量的具有变化性质的样品施加到试剂上变得越来越困难。相反，喷墨打印等等就依赖于为这种用途开发出的且具有一致物理性质的液体。

[0006]液滴的沉积是常见的操作。实例包括喷墨打印机，压电或气泡致动的，所述喷墨打印机由包含几飞升（femtoliter）到几十纳升的直径大约 2 到 300 μm （通常为 50 μm ）的多个小液滴的受控沉积来形成印迹。已经提出了沉积小液滴的其它方法，尽管其与典型的喷墨打印机有所不同，但通常采用压电原理来形成液滴。其实例见于美国专利 US 5063396, 5518179, 6394363 和 6656432 中。通过注射器型移液管沉积较大的液滴（3-100 μL ）已知可在诊断系统中再现。这种移液管产生约 2 至 6mm 的单个液滴直径。这种移液管系统的商用实例为 CLINITEK ALTAS®尿检分析仪。液滴大小可以为大于或小于喷嘴的大小，这取决于喷嘴的形状、泵的类型以及所施加的压力。

[0007]当液体样品以液滴的形式被分配到包含试剂的垫上时，特别地观察到了上面所讨论的问题。已经发现，当样品以液滴的形式添加而

不是通过将试剂垫浸入(浸渍)到样品液体中来完全覆盖所述试剂垫时,所述垫的表面与试剂间的相互作用会形成不准确的响应。当基材的疏水性过强时,3至100 μ L数量级的大液滴不会转移到试剂中而是在表面上形成气泡。如果表面是亲水性的,则其又会以过多的流体覆没(overwhelm)所述试剂。几飞升至几十纳升的较小液滴当被沉积在疏水性过强的基材上时也会产生问题,这是因为其不具有完全覆盖所述表面积的体积,而会以不均匀的图案随机聚集。小液滴还允许了使水溶性试剂迁移的开放空间。这些微小液滴还倾向于发生液体蒸发且形成气溶胶,这被认为是具有生物危害性的,如果所述气溶胶包括尿液或血液样品的话。因此,如果液体以液滴的形式沉积在测试垫上而不是将垫浸渍在样品中,则需要改进。

[0008]在所分配的液体与试剂之间完全接触后,可采用多种方法中的一种来读取结果。通常采用光学方法,其依赖于光谱图像以产生响应。为了成为有用结果,结果必须是可再现的。光学测量受到被观察的试剂区域的影响且所允许的被分配液体与试剂发生反应的时间的影响。视野内不均匀区域的形成和反应时间量的变化会增大误差。例如,对不均匀地横越基材散布的样品或试剂进行的测量在每次读取时会给出不同的结果。

[0009]在作为 U.S. 2006/0263902A1 公布的共同未决美国专利申请 11/135928 中,发明人报道了其以微小液滴形式沉积生物流体和试剂到载有试剂的基材上的方法,所述申请与本申请共同被转让。他们证明载有试剂的基材取决于所述试剂的水溶性和所述基材的表面能(即,取决于所述载有试剂的基材是亲水性的或是疏水性的)而表现不同。相比于在载有试剂的表面上沉积大约 50pL 至 1 μ L 的小液滴时,沉积大液滴,例如 1.7-20.4 μ L,表现出具有较不准确的结果。发明人还发现小液滴被所述疏水性基材所吸收,而大液滴则不容易被吸收。

[0010]当在载有试剂的表面上散布时,水溶性试剂表现出被溶解并与液体一起移动。发明人发现,这种移动所造成的不均匀的试剂响应会通过沉积小液滴所缓和。

[0011]沉积小液滴可以通过具有许多小开口的喷嘴或者通过单个喷嘴来实现,所述喷嘴可以相对载有试剂的基材移动,或反之亦然,以覆盖预定的区域。液体样品与试剂在所述基材上的反应可以读作为样品覆

盖区域的平均值，或者优选地通过一次一点地扫描反应区域再取结果的平均值。

[0012]在对已公布申请 2006/0263902A1 中所描述的方法的进一步开发过程中，发现了一些问题，这导致了以下描述的改进方法的产生。

[0013] 已经发现，即使在通过适当的分配装置设计已克服了刚才所讨论的问题之后，测量生物样品中分析物的量可能也不会具有人们所需要的再现性。小样品体积从反应中产生的响应降低，而用液体试剂稀释样品放大了所述问题。本发明人发现，这些问题可以被克服，使得结果的准确性和再现性显著提高。特别地，已经发现通过以定时的量和模式(pattern)来分配液滴可以获得改进的结果。

发明创造内容

[0014]本发明一方面涉及用于测定包含在生物流体中的分析物量的改进方法。所述方法包括以直径在 0.05 至 1mm 范围的液滴的形式将生物流体样品的两个或更多个级分(fraction)分配到包含试剂的多孔基材上或其附近。所述样品级分分配预定的时间段，其由不进行分配的时间段所隔开。这种过程使得生物流体与试剂之间发生反应，允许其他液体的分配，或者使得能够读取已经发生的反应的结果。

[0015]备选地，可以将生物流体分配到基材上，接着以小液滴的形式分配试剂预定的时间段，其由不进行分配的时间段所隔开。

具体实施方式

定义

[0016]本文所使用的以下术语定义如下：

[0017]“光谱图像”是指包含试剂的区域对沉积在该包含试剂的区域上的生物样品的光学响应的详细视图，例如利用颜色、反光度、透光度或吸光度或其它方面的变化，如拉曼光谱、荧光、化学发光、磷光或电化学独立图谱，所述详细视图使得能够对整个包含试剂的区域的亚单位进行检查。所述图像可以是多维的，其中添加了光学响应的位点(即 x-y)。

[0018]“亲水性”表面是在该表面与被置于其上的水滴之间具有小于 90°的接触角的那些表面。

[0019]“疏水性”表面是在该表面与被置于其上的水滴之间具有 90° 或更大接触角的那些表面。

[0020]“品质因数 (FOM)”是一种性能的计算量度,其中将从存在和不存在分析物的样品中获得的结果之间的平均差除以标准偏差平方和的平方根,所述结果对比了无分析物的样品与含有可检测的最低分析物浓度的样品。

[0021]“变异系数 (CV)”是一种可能性分布的离散性的量度,其计算为一组数据的标准偏差除以所述数据的平均值的比例。

液体与多孔基材的相互作用

[0022]本发明提供了对在所述表面上和多孔基材 (“垫”) 内发生的反应的改良控制,所述表面上和基材内包含干燥的试剂。所述反应得自样品液体与包含试剂的垫之间的相互作用。

[0023]当含有未知量的分析物的液体样品接触包含试剂的垫时,所述液体必须溶解所述试剂以使与分析物的反应能够发生,其产生了可检测的结果,例如独特的光学信号如颜色,这可通过光谱学手段测得。反应发生的速度和结果可检测的程度受到多种因素的影响。这些因素包括试剂的可达性、其在液体中的溶解度、以及液体所放置的区域中试剂和液体的相对量。例如,如果单滴的液体局限在小区域的话,其可能是有效的,这样其就能够溶解所需量的试剂并获得可检测的结果。然而,如果所述液滴跨大的区域散布,所述试剂则可能不会有效的溶解,而反应可能不会产生可检测的结果。因此,如果想获得一致而准确的结果的话,在多孔垫上均匀和足够地沉积液体十分重要。同样,垫的性质,例如其疏水性/亲水性、其孔隙度和毛细度、以及其厚度也是决定测定结果的因素。在实践中,本领域技术人员发现设计实用的测定系统时,垫本身、试剂和样品液体的物理性质都必须考虑到。

[0024]在本发明中,定时施加样品液体,以及其它液体 (如果使用的话),提供了对液体与包含试剂的垫之间相互作用的改良控制,从而使得提高了准确度和结果的均匀性。

沉积液体样品

[0025]在许多测定中,将试剂放置于多孔基材或“垫”中,并将所述条形的基材浸入被测试的生物流体中。尽管这种测定很实用,但其不能如人们所期望的那样具有必要的准确度或再现性。之前证明沉积大的

样品液滴（即 17 μ L 至 20.4 μ L）不如将测试条浸入液体效果好。然而，小液滴（即 50pL 至 1 μ L）在生物测试阵列中具有优良的结果。

[0026]之前已描述过两类分配喷嘴。第一种采用了单个喷嘴来分配一系列单个液滴到包含试剂的基材上。所述喷嘴或基材将移动以在合意的区域提供均匀的覆盖。第二类喷嘴采用了钻有一连串孔的板，这样一次可以分配多个系列的液滴。在两种类型中，最小的液滴尺寸被认为有大约 50pL，这与大约 45-50 μ m 的孔直径有关。所述喷嘴可以通过来自各种来源的压力所操控。采用压电促动器是分配所述小液滴的一种优选方法。

分配问题

[0027]尽管以小液滴的方式分配生物流体样品改进了测定性能，但已经发现，所述垫上样品液体和试剂之间的反应通常会产生与将所述垫浸入样品的方式相比强烈程度较次的结果。通过沉积较大量的样品可以克服上述问题，但这需要较长的分配时间并使用较大的面积。由于本方法的目的是获得较好结果的同时以较短的时间和使用较少的试剂，故仍需寻找改进的方法。

[0028]此外，已经发现在一些类型的测定中，以一系列小液滴的形式施加生物流体会影响反应动力学。也就是说，液体到达试剂受到了不利的影响，因此在分配所述样品之后而能够读出结果之前的时间段加长了。

[0029]已经发现，成组地分配小的样品液滴，间隔以不分配液滴的时间，提高了光学响应例如颜色的显现，所述响应得自样品液体中的分析物和多孔基材中的试剂之间的反应。该方法在以下实施例中说明。

实施例 1

[0030]采用能够测量过氧化性活性物质的试剂来进行血红蛋白的测定，如 U.S.5318894 中所记载，所述试剂沉积在作为基材的纤维素滤纸上。将含有 0.045mg/dL 血红蛋白的尿液或磷酸盐缓冲液的样品通过毛细压电分配器以 500 个 100pL 液滴一组按每秒 85000 滴的速率沉积，并间隔以 0.75 到 3 秒的短暂时间间隔。通过 CCD 相机测量显色，通过适当的软件读取并以反射率（R）的形式报告。较低的反射率指示较强的显色。所述结果列于下表中。

液滴数量	组	时间间隔 (秒)	660nm 处的平均显色	标准偏差 (R)	%CV
2000	1	0	0.66	0.02	3.6
500	4	0.75	0.48	0.02	4.4
500	4	3	0.44	0.04	7.8

可以推出,分配相同数量的样品液滴但是以一系列液滴组的形式并间隔以不分配的短时间间隔来分配,提供了较高的显色,即较低的 R 值,从而结果更加准确。该方法在分析物浓度低且必须通过检测方法放大的情况下特别适用。在这种情况下,指示剂或产生信号的试剂是非水溶性的四甲基联苯胺,分析物在与其它成分的催化反应之后以 mM 的量测得。同样,通常发现使用多孔压电分配器会给出比利用单喷嘴分配器更好的结果。

[0031]当以一系列液滴组的形式分配样品液体时,在分配暂停的时间间隔期间读取试剂-分析物反应成为了可能。这样做提供了优化读取的机会。如以下实施例中所示,增加的读取可提高结果的准确度,特别是当样品流体中分析物的量很低时更是如此。

实施例 2

[0032]用 U.S.5424215 中记载的试剂来进行磷酸盐缓冲液或尿液中的蛋白质的测定,所述试剂沉积在玻璃、纤维素、聚合物基材上。将含有 0-1000mg/dL 白蛋白作为所述蛋白质的磷酸盐缓冲液或尿液样品通过毛细压电分配器以 500 个 100pL 液滴一组和每秒 60000 滴的速率沉积,并间隔以 15-120 秒的时间间隔。所述样品流体含有在 0-10mg/dL 到 300-1000mg/dL 蛋白质浓度范围内的五种蛋白质浓度。所述结果列于下表中,其中对每个读取期间通过 CCD 相机测量值来计算和用适当软件解读品质因数 (FOM)。

FOM

读数	蛋白质浓度, mg/dL				
时间间隔, 秒	0-10	10-30	30-100	100-300	300-1000
15	3.85	9.44	6.98	5.23	11.00
60	17.49	17.49	14.33	5.96	12.57
90	20.67	18.02	14.96	3.87	10.11
120	20.20	12.77	12.83	2.03	8.40

所述 FOM 值指示了在被测试分析物（蛋白质）浓度下的结果的相对准确度。较高的 FOM 是更合意的。从这些数据可以推出，当分析物浓度为低到中时，分配期间之间有较长的时间间隔会提供更准确的结果。然而，当分析物浓度高时，延长分配期间之间的间隔效果并不好，较短的时间间隔就能令人满意。

[0033]在共同受让的专利申请 US2006/0263902A1 中，表明在对葡萄糖含量的尿液分析中，当尿样后接着分配等体积的 pH6.5 的磷酸盐缓冲液时品质因数有所提高。所述提高据认为与样品的稀释有关，因为氯化物成分抑制了葡萄糖试剂的反应。该结果在以下实施例所报道的实验中加以进一步检验。

实施例 3

[0034]用 U.S.3814668 中所记载的试剂来进行尿液中葡萄糖的测定，所述试剂沉积在纤维素纸上。将含有 0-2000mg/dL 葡萄糖的尿液样品以仅只是 250 个液滴（50pL）的形式或者伴随以 50pL 水滴的形式按每秒 85000 滴的速率分配。通过 CCD 相机测量结果，通过适当的软件读取。结果列于下表中。

颜色值

样品	葡萄糖浓度, mg/dL					
	0	100	250	500	1000	2000
尿液, 高 sp.g	45	62	75	83	90	94
尿液, 平均 sp.g	45	70	83	89	93	96
尿液, 低 sp.g	45	82	91	97	98	98
水	45	80	88	94	97	97
1 尿液/1 水	45	80	88	95	97	97

从这些结果可以推出，尿样用水稀释给出了与单独用水作为葡萄糖的载体所获得的相比实质上相同的结果。然而，在尿样之间比重的影响很大。

[0035]已经发现在先分配尿样接着是稀释液的其它实验中，给出了比先分配稀释液再是样品更好的结果。

实施例 4

[0036]用 U.S.5424215 中记载的试剂来实施磷酸盐缓冲液或尿液中的蛋白质的干燥试剂垫，只不过省略了所述白蛋白指示剂染料。通过将 3mM 的白蛋白指示剂染料溶解在 80% 的乙醇-水来制备液体染料溶液。将所述干燥试剂垫样品浸入含有 0-1000mg/dL 白蛋白的尿样中，用尿样覆盖整个垫区域。将所述垫放进读取装置中，并将所述液体染料溶液通过毛细压电分配器以四组 500 滴 100pL 一组的液滴按每秒 60000 滴的速率沉积，并间隔以 15 秒的时间间隔。用一个新垫进行第二次测试，不过所述染料溶液通过毛细压电分配器以 2000 个 100pL 液滴一组按每秒 60000 滴的速率沉积，之间没有间隔不分配溶液的时间。所述结果列于下表中，其中对每个读数期间通过用 CCD 相机测量值来计算和适当软件来解读品质因数 (FOM)。

FOM

读取	蛋白质浓度, mg/dL				
间隔, 秒	0-10	10-30	30-100	100-300	300-1000
15 秒间隔时间	13.2	16.4	12.3	7.6	11.9
无间隔时间	7.3	6.4	9.1	3.0	6.3

所述 FOM 值指示了在被测试分析物 (蛋白质) 浓度下的结果的相对准确度。较高的 FOM 是更合意的。从这些数据可以推出，使用间隔时间提高了数据并且所述样品可以被放在垫上而只有液体试剂被分配。

[0037]如该实施例中所示，以增量的方式分配生物样品，间隔以不分配样品的时间，允许了与所述试剂在所述基材上的反应时间，从而造成了颜色或其它可检测结果生成的提高。也就是说，一次性分配所有的生物样品的效率较低。可以推论，提高的结果与使用非常小的液滴 (即 0.1 至 1mm 直径) 有关，其与包含试剂的基材的反应看上去与更常规的大液滴或将基材浸入生物样品中的方式不同。这种信号生成的增加对于分析物浓度很低的情况来说很重要。

[0038]同时发现，沉积小液滴使液体样品局限在所述基材的表面上从而可以看到可区分的点，并用不反应的区域隔开。这并不需要对于肉眼来说可见，而是通过在这些实施例中用来提供所述基材表面的光谱图像的 CCD 相机可以看见。发现所述不反应的区域具有预料不到的优点。他们提供了参比颜色，这被 CCD 相机所检测到并使得对可检测结果的

更准确读取成为可能，因为与未反应区域的对比在光谱图像中可即刻获得。

[0039]尽管所使用的基材类型将依赖于所进行的测定，但显然这种基材可用于各种形式，包括条、盒、卡片等等。所有这些形式都具有包含试剂的基材，其经定位以接收以图案形式直接分配到所述基材上的小液滴（0.1 至 1mm 直径），该图案提供反应表面的光谱图像。