



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111684280 B

(45) 授权公告日 2024.12.17

(21) 申请号 201880088510.5

(73) 专利权人 贝克顿·迪金森公司

(22) 申请日 2018.12.03

地址 美国新泽西州

(65) 同一申请的已公布的文献号

(72) 发明人 G·刘

申请公布号 CN 111684280 A

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

(43) 申请公布日 2020.09.18

专利代理人 董志勇

(30) 优先权数据

(51) Int.CI.

62/594,974 2017.12.05 US

G01N 33/53 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2020.08.04

US 2012083047 A1, 2012.04.05

(86) PCT国际申请的申请数据

US 4868131 A, 1989.09.19

PCT/US2018/063586 2018.12.03

审查员 熊翠娥

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/112944 EN 2019.06.13

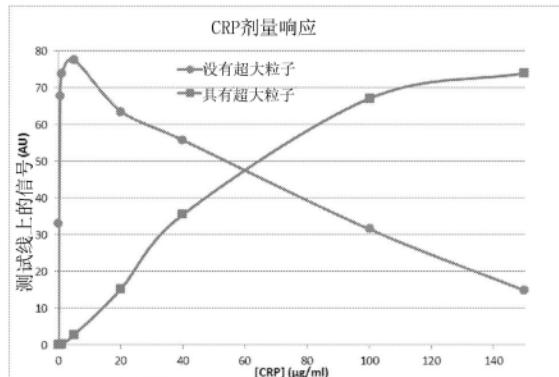
权利要求书4页 说明书25页 附图5页

(54) 发明名称

用于检测高浓度分析物的侧向流动测定和方法

(57) 摘要

本文所述的夹心型侧向流动测定装置、试剂盒、系统和方法包括抗体缀合的超大粒子，当在将流体样品施加到侧向流动测试装置时该超大粒子与样品中的目标分析物结合并保留在捕获区的上游。抗体缀合的超大粒子的实施方式允许精确确定样品中的分析物浓度，包括以高和非常高的浓度存在的分析物。本公开内容的侧向流动测定可以通过消除剂量响应曲线在信号强度降低处的相来解决与夹心型侧向流动测定的钩状效应相关的缺点。



1.一种测定测试条,其包括:

配置为接收流体样品的流路;

与所述流路偶联的样品接收区;

与所述样品接收区下游的流路偶联并且包括对目标分析物具有特异性的固定的捕获剂的捕获区;

与对所述目标分析物具有特异性的所述捕获区上游的流路偶联的标记的抗体或其片段;和

在所述捕获区上游的流路中的超大粒子,当所述测定测试条接收所述流体样品时,所述超大粒子与对所述目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合,以形成一定大小和尺寸的抗体缀合的超大粒子,以保留在所述捕获区上游,所述抗体缀合的超大粒子配置为结合所述目标分析物,其足以生成单一上升相剂量响应曲线的量存在,其中所述超大粒子的直径为 $1\mu\text{m}$ 至 $15\mu\text{m}$ 。

2.权利要求1所述的测定测试条,其中所述流路配置为接收包括所述目标分析物的流体样品,并且其中所述标记的抗体或其片段和所述抗体缀合的超大粒子竞争以特异性结合所述目标分析物。

3.权利要求2所述的测定测试条,其中所述标记的抗体或其片段配置为当所述测定测试条接收所述流体样品时与结合的目标分析物一起在所述流路中流至所述捕获区。

4.权利要求3所述的测定测试条,其中与所述目标分析物结合的所述标记的抗体在所述捕获区处被捕获并发出可检测的信号。

5.权利要求1所述的测定测试条,其中所述流路配置为接收包括或不包括目标分析物的流体样品,并且其中所述抗体缀合的超大粒子与已知量的目标分析物特异性结合,从而在所述捕获区上游保持已知量的目标分析物。

6.权利要求1所述的测定测试条,进一步包括在所述捕获区下游的对照区,其中所述对照区包括与所述标记的抗体或其片段特异性结合的抗体,所述标记的抗体或其片段不与目标分析物结合并且流过所述捕获区。

7.权利要求6所述的测定测试条,其中,当所述流体样品不包括目标分析物时,所述标记的抗体或其片段流至所述对照区并仅在所述对照区发出光信号,指示在所述流体样品中不存在所述目标分析物。

8.权利要求1所述的测定测试条,其中所述固定的捕获剂包括对所述目标分析物具有特异性的抗体或其片段。

9.权利要求1所述的测定测试条,其中所述抗体缀合的超大粒子被整合到所述测试条的表面上。

10.权利要求1所述的测定测试条,其中所述超大粒子包括金粒子、乳胶珠、磁珠或硅珠。

11.权利要求1所述的测定测试条,其中所述流体样品选自血液、血浆、尿液、汗液或唾液样品。

12.权利要求1所述的测定测试条,其中所述目标分析物包括C反应蛋白,并且与所述超大粒子缀合的所述抗体或其片段包括与所述C反应蛋白结合的抗C反应蛋白抗体或其片段。

13.一种试剂盒,其包括:

测定测试条，其包括：
配置为接收流体样品的流路；
与所述流路偶联的样品接收区；
与所述样品接收区下游的流路偶联并且包括对目标分析物具有特异性的固定的捕获剂的捕获区；和
与对所述目标分析物具有特异性的所述捕获区上游的流路偶联的标记的抗体或其片段；

超大粒子，其与对所述目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合，以形成抗体缀合的超大粒子，所述超大粒子为所述标记的抗体或其片段尺寸的250倍，所述抗体缀合的超大粒子以足以生成单一上升相剂量响应曲线的量存在，其中所述超大粒子的直径为1μm至15μm。

14. 一种诊断测试系统，其包括：

权利要求1的测定测试条或权利要求13所述的试剂盒；
包括光源和检测器的读取器；和
数据分析器。

15. 一种确定流体样品中目标分析物的浓度的方法，其包括：

将所述流体样品施加到权利要求1的测定测试条上；
将所述流体样品中存在的分析物与标记的抗体或其片段结合；
将所述流体样品中存在的分析物与所述抗体缀合的超大粒子结合；
使所述流体样品和与分析物结合的标记的抗体在所述流路中流至所述捕获区，而与分析物结合的所述抗体缀合的超大粒子在所述流路中不流至所述捕获区；
将与分析物结合的所述标记的抗体与所述捕获区中的所述固定的捕获剂结合；
从与固定在所述捕获区中的分析物结合的所述标记的抗体中检测信号；和
至少基于所检测到的信号确定所述分析物的浓度。

16. 权利要求15所述的方法，其中所述浓度基于所述检测到的信号和所述测定测试条上的所述抗体缀合的超大粒子的量确定。

17. 权利要求15所述的方法，其中所述检测到的信号是光信号、荧光信号或磁信号。

18. 权利要求15所述的方法，进一步包括显示所述流体样品中存在的所述目标分析物的指示。

19. 权利要求15所述的方法，进一步包括显示所述流体样品中的目标分析物的量。

20. 权利要求15所述的方法，进一步包括显示所述目标分析物以升高的量存在的指示。

21. 一种确定流体样品中目标分析物的浓度的方法，其包括：

将所述流体样品与已经缀合至对所述目标分析物具有特异性的抗体或其片段的超大粒子接触，以形成抗体缀合的超大粒子，所述抗体缀合的超大粒子以足以生成单一上升相剂量响应曲线的量存在，其中所述超大粒子的直径为1μm至15μm；

将所述流体样品中的目标分析物与所述抗体缀合的超大粒子结合；

结合后，将具有抗体缀合的超大粒子的所述流体样品施加到测定测试条，所述测定测试条包括：

配置为接收流体样品的流路，

与所述流路偶联的样品接收区，

与所述样品接收区下游的流路偶联并且包括对目标分析物具有特异性的固定的捕获剂的捕获区，以及

与对所述目标分析物特具有特异性的所述捕获区上游的流路偶联的标记的抗体或其片段；

使所述流体样品和标记的抗体在所述流路中流至所述捕获区，其中如果过量的目标分析物未与所述抗体缀合的超大粒子结合，则所述过量的目标分析物与标记的抗体或其片段结合，并通过所述流路流至所述捕获区，在此处与所述捕获区中的所述固定的捕获剂结合并发出信号。

22.一种制造测定测试条的方法，其包括：

将样品接收区与配置为接收流体样品的流路偶联；

将捕获区与所述样品接收区下游的流路偶联；

将标记的剂与所述捕获区上游的流路偶联，其中所述标记的剂包括标记和特异性结合目标分析物的抗体；和

将超大粒子与所述流路偶联，所述超大粒子与对所述目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合，以形成抗体缀合的超大粒子，所述抗体缀合的超大粒子以足以生成单一上升相剂量响应曲线的量存在，其中所述超大粒子的直径为 $1\mu\text{m}$ 至 $15\mu\text{m}$ 。

23.权利要求22所述的方法，进一步包括将对所述目标分析物具有特异性的捕获剂固定在所述捕获区上。

24.权利要求22所述的方法，其中将所述标记的剂与所述流路偶联包括在所述标记的剂与所述流路之间形成键，所述键在所述流路中存在流体样品时破裂。

25.权利要求22所述的方法，其中偶联所述超大粒子包括将包括所述超大粒子的溶液喷雾到所述样品接收区的表面上。

26.权利要求22所述的方法，其中偶联所述超大粒子包括将包括所述超大粒子的溶液喷雾到所述测定测试条的表面上所述样品接收区和所述捕获区之间。

27.权利要求22所述的方法，其中偶联所述超大粒子包括：

将包括所述超大粒子的流体溶液施加到所述测定测试条的表面上；和

干燥所述流体溶液。

28.权利要求22所述的方法，其中偶联包括将所述超大粒子整合入所述测定测试条的表面。

29.权利要求22所述的方法，进一步包括提供包括超大粒子的溶液，所述超大粒子与对所述目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合。

30.权利要求22所述的方法，其中所述目标分析物包括C反应蛋白和所述标记的剂，并且所述抗体缀合的超大粒子包括抗体，所述抗体包括抗C反应蛋白抗体或抗C反应蛋白抗体的片段。

31.一种测定测试条，其通过权利要求22-30中任一项所述的方法制造。

32.权利要求1-12中任一项所述的测定测试条，其中所述超大粒子的直径为 $10\ \mu\text{m}$ 至 $15\ \mu\text{m}$ 。

33.权利要求13所述的试剂盒，其中所述超大粒子的直径为 $10\ \mu\text{m}$ 至 $15\ \mu\text{m}$ 。

34. 权利要求14所述的诊断测试系统,其中所述超大粒子的直径为10 μm 至15 μm 。
35. 权利要求15所述的方法,其中所述超大粒子的直径为10 μm 至15 μm 。

用于检测高浓度分析物的侧向流动测定和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年12月5日提交的美国临时申请号62/594,974的权益，其全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 一般而言，本公开内容涉及侧向流动测定装置、试剂盒、测试系统和方法。更具体地，本公开内容涉及确定样品中分析物浓度的侧向流动测定装置，包括当目标分析物以高浓度存在时。

背景技术

[0004] 包括本文所述的侧向流动测定的免疫测定系统提供了可靠、廉价、便携式、快速和简单的诊断测试。侧向流动测定可以快速和准确地检测样品中是否存在目标分析物，并且在某些情况下还对目标分析物进行定量。有利的是，侧向流动测定可以是微创的，并且可以用作即时检验系统。已经开发侧向流动测定以检测多种医学或环境分析物。在夹心形式的侧向流动测定中，针对目标分析物的标记的抗体沉积在测试条上样品接收区中或附近。标记的抗体可以包括例如与抗体结合的检测器分子或“标记”。当将样品施加到测试条上时，样品中存在的分析物与标记的抗体结合，其沿着测试条流至捕获区，在捕获区，针对分析物的固定的抗体与标记的抗体-分析物复合物结合。固定在捕获线上的抗体可能与沉积在样品接收区中或附近的标记的抗体不同。检测捕获的复合物，并确定分析物的存在。在没有分析物的情况下，标记的抗体沿着测试条流动而经过捕获区。捕获区处缺乏信号表明分析物不存在。然而，当目标分析物在样品中以高浓度存在时，夹心侧向流动测定具有许多缺点，包括假阴性、不准确定量和缺乏分辨率。

发明内容

[0005] 因此，本公开内容的一个方面是提供改进的侧向流动测定，其精确地测量样品中目标分析物的浓度，包括当分析物在样品中以高浓度存在时。

[0006] 本文公开的一些实施方式涉及测定测试条，其包括配置为接收流体样品的流路；与流路偶联的样品接收区；捕获区；标记的抗体或其片段；和捕获区上游流路中的超大粒子。捕获区与样品接收区下游的流路偶联，并且其包括对目标分析物具有特异性的固定的捕获剂。将标记的抗体或其片段与对目标分析物具有特异性的捕获区上游的流路偶联。当在测定测试条上接收流体样品时，超大粒子与对目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合，以形成一定大小和尺寸的抗体缀合的超大粒子，以将其保留在捕获区的上游。在一些实施方式中，流路配置为接收包括目标分析物的流体样品。在一些实施方式中，标记的抗体或其片段和抗体缀合的超大粒子竞争以特异性结合目标分析物。在一些实施方式中，标记的抗体或其片段配置为当在测定测试条上接收流体样品时与结合的目标分析物一起在流路中流至捕获区。在一些实施方式中，与目标分析物结合的标记的抗体在捕获区处被捕获并

发出可检测的信号。

[0007] 在一些实施方式中,流路配置为接收包括或不包括目标分析物的流体样品。在一些实施方式中,将抗体缀合的超大粒子与已知量的目标分析物特异性结合,从而在捕获区上游保持已知量的目标分析物。

[0008] 在进一步实施方式中,测定测试条包括在捕获区下游的对照区。在一些实施方式中,对照区包括与标记的抗体或其片段特异性结合的抗体,该标记的抗体或其片段不与目标分析物结合并流过捕获区。在一些实施方式中,当流体样品不包括目标分析物时,标记的抗体或其片段流至对照区并仅在对照区发出光信号,这指示流体样品中不存在目标分析物。在一些实施方式中,固定的捕获剂包括对目标分析物具有特异性的抗体或其片段。在一些实施方式中,抗体缀合的超大粒子被整合到测试条的表面上。在一些实施方式中,超大粒子包括金粒子、乳胶珠、磁珠或硅珠。在一些实施方式中,超大粒子的直径为约1 μm 至约15 μm 。在一些实施方式中,流体样品选自血液、血浆、尿液、汗液或唾液样品。在一些实施方式中,目标分析物包括C反应蛋白(CRP),并且与超大粒子缀合的抗体或其片段包括与CRP结合的抗CRP抗体或其片段。

[0009] 本文公开的其他实施方式涉及试剂盒,该试剂盒包括上述测定测试条,该测试条包括配置为接收流体样品的流路;与流路偶联的样品接收区;与样品接收区下游的流路偶联的捕获区,并且该捕获区包括对目标分析物具有特异性的固定的捕获剂;与对目标分析物具有特异性的捕获区上游的流路偶联的标记的抗体或其片段;和超大粒子,其与对目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合,以形成抗体缀合的超大粒子,其为标记的抗体或其片段尺寸的约250倍。

[0010] 本文公开的其他实施方式涉及诊断测试系统,该诊断测试系统包括上述测定测试条或试剂盒;读取器,其包括光源和检测器;和数据分析器。

[0011] 本文公开的进一步实施方式涉及确定流体样品中目标分析物的浓度的方法。该方法包括将流体样品施加到上述测定测试条上;将流体样品中存在的分析物与标记的抗体或其片段结合;将流体样品中存在的分析物与抗体缀合的超大粒子结合;使流体样品和与分析物结合的标记的抗体在流路中流至捕获区,而与分析物结合的抗体缀合的超大粒子在流路中不流至捕获区;将与分析物结合的标记的抗体与捕获区中固定的捕获剂结合;从与固定在捕获区中的分析物结合的标记的抗体中检测信号;和至少基于检测到的信号确定分析物的浓度。在一些实施方式中,基于检测到的信号和测定测试条上抗体缀合的超大粒子的量来确定浓度。在一些实施方式中,检测到的信号是光信号、荧光信号或磁信号。在一些实施方式中,该方法进一步包括显示流体样品中存在的目标分析物的指示。在一些实施方式中,该方法进一步包括显示流体样品中的目标分析物的量。在一些实施方式中,该方法进一步包括显示目标分析物以升高的量存在的指示。

[0012] 本文公开的另外的实施方式涉及确定流体样品中目标分析物的浓度的方法。在一些实施方式中,该方法包括使流体样品与已经与对目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合的超大粒子接触,以形成抗体缀合的超大粒子;将流体样品中的目标分析物与抗体缀合的超大粒子结合;结合后,将具有抗体缀合的超大粒子的流体样品施加到本文所述的测定测试条上;和使流体样品和标记的抗体在流路中流至捕获区。在一些实施方式中,如果过量的目标分析物保持未与抗体缀合的超大粒子结合,则过量的目标分析物与标记的抗体或

其片段结合，并通过流路流至捕获区，在此处与捕获区中的固定的捕获剂结合，并发出信号。在一些实施方式中，测定测试条包括配置为接收流体样品的流路，与流路偶联的样品接收区，与样品接收区下游的流路偶联的捕获区并且该捕获区包括对目标分析物具有特异性的固定的捕获剂，以及与对目标分析物具有特异性的捕获区上游的流路偶联的标记的抗体或其片段。

[0013] 本文公开的一些实施方式涉及制造测定测试条的方法。在一些实施方式中，该方法包括将样品接收区与配置为接收流体样品的流路偶联；将捕获区与样品接收区下游的流路偶联；将标记的剂与捕获区上游的流路偶联，和将超大粒子与流路偶联。在一些实施方式中，标记的剂包括标记和与目标分析物特异性结合的抗体。在一些实施方式中，将超大粒子与对目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合，以形成抗体缀合的超大粒子。

[0014] 在一些实施方式中，将标记的剂与流路偶联包括在标记的剂和流路之间形成键，该键在流路中存在流体样品时断裂。在一些实施方式中，偶联超大粒子包括将包括超大粒子的溶液喷雾到样品接收区的表面上。在一些实施方式中，偶联超大粒子包括将包括超大粒子的溶液喷雾到测定测试条的表面上样品接收区和捕获区之间。在一些实施方式中，偶联超大粒子包括将包括超大粒子的流体溶液施加到测定测试条的表面上；并干燥流体溶液。在一些实施方式中，偶联包括将超大粒子整合入测定测试条的表面。

[0015] 在一些实施方式中，该方法进一步包括将对目标分析物具有特异性的捕获剂固定在捕获区上。在一些实施方式中，该方法进一步包括提供包括超大粒子的溶液，该超大粒子与对目标分析物具有特异性的抗体或其片段缀合。在一些实施方式中，目标分析物包括C反应蛋白(CRP)和标记的剂，并且抗体缀合的超大粒子包括抗体，所述抗体包括抗CRP抗体或抗CRP抗体的片段。本文公开的仍进一步实施方式涉及通过上述方法制造的测定测试条。

附图说明

[0016] 图1A和1B示出了在将流体样品施加到样品接收区之前和之后的实例夹心型侧向流动测定。

[0017] 图2示出了用于图1A和1B的侧向流动测定的实例剂量响应曲线。

[0018] 图3A和3B示出了在将流体样品施加到样品接收区之前和之后的实例竞争型侧向流动测定。

[0019] 图4示出了用于图3A和3B的竞争性侧向流动测定的实例剂量响应曲线。

[0020] 图5A和5B示出了在将流体样品施加到样品接收区之前和之后，根据本公开内容的第一实施方式的实例侧向流动测定。

[0021] 图6示出了根据本公开内容的第二实施方式的实例侧向流动测定，其描绘了将样品施加到侧向流动测定。

[0022] 图7示出了与钩状效应剂量响应曲线相比的图5A和5B的侧向流动测定的实例剂量响应曲线。

具体实施方式

[0023] 本文所述的装置、试剂盒、系统和方法精确地确定样品中目标分析物的量，例如已知体积的样品中分析物的浓度。有利地，根据本公开内容的侧向流动装置、测试系统和方法

在目标分析物以升高的或“高”浓度存在于样品中的情况中精确地确定目标分析物的量。本文所述的侧向流动测定可以改善指示分析物浓度的信号的分辨率。本文所述的装置、试剂盒、系统和方法的实施方式可包括侧向流动测定和与对目标分析物具有特异性的结合剂缀合的超大粒子。结合剂可以包括例如分析物特异性抗体或其片段。在整个本公开中作为一个实例实施，超大粒子的实施被称为“抗体缀合的超大粒子”，但是应当理解，根据本公开内容的超大粒子可以与任何适合的结合剂缀合，该结合剂对目标分析物具有特异性，例如但不限于分析物特异性抗体或其片段。在一个实施方式中，可以将抗体缀合的超大粒子与怀疑包括目标分析物的样品预混合，然后添加至侧向流动测定的样品孔中。在第二实施方式中，在将怀疑包括目标分析物的样品加入到侧向流动测定中之前，可以将抗体缀合的超大粒子整合到侧向流动测定中。

[0024] 根据本公开内容，与侧向流动测定中通常使用的标记的剂(例如，包括胶体金的检测器粒子作为一个实例)相比，抗体缀合的超大粒子的尺寸相对较大。在一个非限制性实例中，本文所述的抗体缀合的超大粒子的实施方式的直径可为约 $10\mu\text{m}$ ，而常用的标记的剂的直径通常为约 40nm 。与当添加流体样品时可以容易地从样品孔移动并通过侧向流动测定的膜的标记的剂相反，本文所述的抗体缀合的超大粒子的实施方式在将流体样品添加到侧向流动测定时不会移动通过膜。实际上，本文所述的抗体缀合的超大粒子的实施方式在样品施加时在样品孔中捕获样品中的分析物(如果存在的话)并将捕获的分析物保留在样品孔中。结果，本文所述的抗体缀合的超大粒子的实施方式减少了可以形成标记-抗体-分析物复合物并流过膜到达侧向流动测定的捕获区以产生可检测的信号的分析物的量。到达侧向流动测定的捕获区的标记-抗体-分析物复合物的减少的量导致展现单一、上升相的剂量响应曲线。

[0025] 因此，本文所述的实施方式通过减少或完全消除信号正在减小的剂量响应曲线的相，从而解决了与常规夹心型侧向流动测定的钩状效应相关的缺点。有利地，由本公开内容的侧向流动测定展现的单一、上升相可以用于以非常高的准确性和可靠性确定样品中分析物的量，并且具体是确定当分析物以高浓度或非常高浓度存在时的分析物的量。在以下描述的一些实施方式中，由于根据本公开内容的抗体缀合的超大粒子可以在捕获区上游可靠地保留可预测的、已知量的结合的目标分析物，因此实现了非常准确的定量测量。另外，与需要多达10到15分钟来产生可检测的信号和生成测试结果的常规侧向流动测定相比，本公开的装置、系统和方法包括可以在短至2分钟内产生可检测的信号并生成测试结果的侧向流动测定。

[0026] 参照侧向流动装置描述了本公开内容的实施方式。在一些实施方式中，将侧向流动装置实施在测试条上，但是其他形式可能是适合的。在测试条格式中，怀疑含有分析物的测试样品流体(例如通过毛细作用)流过该条。该条可由任何适合的材料制成，其包括但不限于吸水材料，例如纸、硝化纤维素和纤维素。样品流体在样品池处接收。样品流体可以沿着该条流至捕获区，在该捕获区中分析物(如果存在的话)与捕获剂相互作用，以指示分析物的存在、不存在和/或量。捕获剂可包括固定在捕获区中的抗体。

[0027] 参考在侧向流动装置的捕获区处生成的光信号，描述了本公开内容的实施方式，但是根据本公开内容可以实施其他形式的可检测的信号。通过根据本公开内容的测定生成的信号可以包括由反射型标记(例如但不限于金纳米粒子标记)生成的光信号、由荧光型乳

胶珠标记生成的荧光信号、由磁性纳米粒子标记生成的磁场信号(该磁性纳米粒子标记生成指示与测定有关的磁场变化的信号)、或任何其他适合的信号。

[0028] 根据本公开,侧向流动测定包括对怀疑存在于样品中的目标分析物具有特异性的标记的剂。标记的剂最初在样品孔(或样品池区域)处整合到侧向流动测定测试条的表面上,例如整合到缀合物垫上。在一些实施方式中,标记的剂是标记的抗体或其片段。在一些实施方式中,标记的剂用发出可检测的信号的标记进行标记,例如金属纳米粒子,例如金纳米粒子、有色胶乳、荧光粒子或发出可检测的信号的其他标记。

[0029] 在将流体样品施加到测试条上样品池处时,标记的剂溶解到流体样品中,并与抗体缀合的超大粒子竞争结合样品中的目标分析物。被抗体缀合的超大粒子结合的分析物以已知量保留(基于施加到测试条上的抗体缀合的超大粒子的量和结合能力),并且不会流过测试条。相反,被标记的剂结合的分析物形成了标记-剂-分析物复合物,并与液体样品一起行进至测试条的捕获区。在一些实施方式中,捕获剂是对目标分析物具有特异性的抗体或其片段。标记-剂-分析物复合物在捕获区与捕获剂结合,生成指示分析物的量超过抗体缀合的超大粒子的结合能力的信号。该结果是单相剂量响应曲线,其中信号强度随分析物浓度(超过抗体缀合的超大粒子)的增加而增加。

[0030] 根据本公开内容的抗体缀合的超大粒子可以以多种方式施加到测试条。在下面详细描述的一个非限制性实例中,在将样品施加到测试条上之前,将抗体缀合的超大粒子最初整合在测试条的表面上样品池或标记区处。在另一非限制性实例中,将样品与一定量的抗体缀合的超大粒子接触,然后将与抗体缀合的超大粒子混合的样品施加到测试条上。将抗体缀合的超大粒子以已知量预先整合到测试条上(或与样品接触),以使已知量的目标分析物与抗体缀合的超大粒子结合。当将样品施加到测试条上时,流体前缘将与目标分析物结合的标记的剂携带到捕获区,但与抗体缀合的超大粒子结合的分析物不会移动通过测试条,并保留在捕获区上游的适当位置(在最初将其整合到测试条上的区域中,或者在将样品施加到测试条上时将其沉积的样品孔中)。在一些情况下,将在捕获区处检测到的光信号与对于测试装置具有特异性的剂量响应曲线以及已知量的抗体缀合的超大粒子进行比较,以确定目标分析物的量。在其他情况下,通过抗体缀合的超大粒子保持的分析物的量(其可以使用在测试期间使用的抗体缀合的超大粒子的量和缀合比来确定)来调节常规侧向流动夹心型测定的剂量响应曲线,直接计算目标分析物的量。

[0031] 不受任何具体理论的束缚,抗体缀合的超大粒子无论预整合在侧向流动装置上或与样品接触然后施加到侧向流动装置,通过抗体缀合的超大粒子结合分析物减少了被标记的剂捕获并在捕获区检测到的分析物的量,从而提高剂量响应曲线上升相的分辨率,并通过从常规夹心型侧向流动测定剂量响应曲线去除第二相来生成单相剂量响应曲线。本公开内容的侧向流动测定通过消除信号正在减小的剂量响应曲线的相而解决了与夹心型侧向流动测定的钩状效应相关的缺点。另外地,与常规夹心型剂量响应曲线的信号正在增加的部分相比,本公开内容的剂量响应曲线的上升部分中的信号的分辨率大大提高。

[0032] 当分析物处于高浓度时,由本文所述的由侧向流动测定生成的信号包括许多有利特征。在实例实施方式中,当分析物处于高浓度时生成的信号是容易检测到的(例如,它们具有在常规读取器通常可以辨别并且良好间隔的信号范围内的强度),它们在剂量响应曲线上不会与零或低浓度下生成的信号重叠,它们可用于计算在高浓度甚至非常高的浓度下

的高精度的浓度读数。本文所述的侧向流动测定的实施方式避免了与将具体检测信号与分析物的量(尤其是高浓度的分析物)相关联的不确定性,例如在读取夹心型侧向流动测定中发生的不确定性,该夹心型侧向流动测定生成由于钩状效应对应于低浓度和高浓度的分析物二者的单个光信号。相反,根据本公开内容的侧向流动测定生成清楚且明确地对应于零或低浓度的分析物或高浓度的分析物的光信号。在一些情况中,零或低浓度可以与受试者中分析物的正常或“健康”水平直接相关,而高浓度的分析物可以与受试者中分析物的非正常或“不健康”水平直接相关。

[0033] 本文所述的侧向流动测定的实施方式在用于目标分析物的诊断测试中尤其有利,所述目标分析物在健康个体中以低浓度自然存在但在患有疾病状况或紊乱的个体中升高至高浓度。检测到相对较少或没有信号与零到低浓度的范围相关,在此情况下,操作者仅试图确认分析物以低浓度存在(健康水平的指标),并且不需要信号的特异性或分辨率,因为信号仍然存在于零或接近零,直到抗体缀合的超大粒子的结合能力达到饱和。一旦抗体缀合的超大粒子变得饱和,在单个上升相的剂量响应曲线中生成易于检测的高分辨率信号,在此情况下,操作者试图确认分析物以高浓度存在(异常或疾病状况的指标),具体是当目标分析物以高浓度存在时,试图对目标分析物进行定量。在目标分析物处于高浓度范围内时,准确查明目标分析物的精确浓度的能力还可以允许操作者确定受试者的疾病或其他状况的阶段或进展,例如轻度阶段或严重阶段。

[0034] 本文描述了包括侧向流动测定和抗体缀合的超大粒子的试剂盒;包括侧向流动测定、抗体缀合的超大粒子和读取器的系统;和使用侧向流动测定确定样品中分析物的量的方法。侧向流动测定的各个方面提供了优于现有的侧向流动测定的优点。例如,在一些实施方式中,本文所述的侧向流动测定可以准确地确定样品中升高的分析物浓度,而无需首先稀释样品。另外,在一些实施方式中,置于侧向流动测定或置于样品中然后施加到侧向流动测定上的抗体缀合的超大粒子的量可以变化,以适应不同分析物浓度范围的要求。

[0035] 在下文中将参照附图更全面地描述装置、测试系统和方法的各个方面。然而,本公开内容可以以许多不同形式体现。基于本文的教导,本领域的技术人员应理解,本公开内容的范围旨在覆盖本文公开的装置、测试系统和方法的任一方面,无论是独立于本公开内容实施还是与本公开内容的任何其他方面组合实施。例如,使用本文阐述的任何数量的方面,可以实施装置或可以实践方法。

[0036] 尽管本文描述了具体方面,但是这些方面的许多变化和置换都落入本公开内容的范围内。尽管提到了一些益处和优点,但是本公开内容的范围并不旨在限于具体的益处、用途或目的。相反,本公开内容的方面旨在广泛地适用于不同的检测技术和装置配置,其中一些通过在附图和以下描述中的实例方式示出。详细的说明书和附图仅是对本公开内容的说明而非限制,本公开内容的范围由所附权利要求及其等同物所限定。

[0037] 夹心型和竞争型侧向流动测定

[0038] 可以以夹心或竞争的形式进行侧向流动测定。本文所述的夹心和竞争形式的测定将在生成光信号的反射型标记(例如金纳米粒子标记)的背景下进行描述,但应理解,测定可包括配置为生成荧光信号的乳胶珠标记、配置为生成磁信号的磁性纳米粒子标记、或配置为生成可检测的信号的任何其他标记。夹心型侧向流动测定包括标记的抗体,其沉积在固体基底上的样品池处。将样品施加到样品池后,标记的抗体在样品中溶解,随后抗体识别

并结合样品中分析物的第一个表位,形成标记-抗体-分析物复合物。该复合物沿液体前沿从样品池通过固体基底流至捕获区(在本文中也称为“测试线”),其中固定的抗体(有时也称为“捕获剂”)位于该捕获区。在一些实施方式中,固定的抗体可以是与标记的抗体相同的抗体类型。例如,在分析物是多聚体或在同一单体上包含多个相同表位的一些情况下,沉积在样品池处的标记的抗体可以是与固定的在捕获区的抗体相同的抗体类型。在一些实施方式中,固定的抗体可以是不同的抗体类型,并且识别分析物上的不同表位或识别位点。固定的抗体识别并结合分析物上的表位,从而在捕获区处捕获标记-抗体-分析物复合物。

[0039] 在捕获区处标记的抗体的存在提供了在捕获区处可检测的光信号。在一个非限制性实例中,金属纳米粒子(金、银、铜、铂、钯、钯或其复合材料)用于标记抗体,因为它们相对廉价、稳定并且基于金属纳米粒子的表面等离子体共振性质提供易于观察的颜色指示。在一些情况下,该信号提供定性信息,例如样品中是否存在分析物。在一些情况下,该信号提供定量信息,例如样品中分析物量的测量。

[0040] 图1A和1B示出了实例夹心型侧向流动装置10。侧向流动装置10包括样品池12、标记区14、捕获区16和对照线18。图1A和1B示出了在将流体样品24施加到样品池12之前和之后的侧向流动装置10。在图1A和1B所示的实例中,样品24包括目标分析物26。样品池12中或附近的标记区14包括标记的剂28。在该实例夹心型侧向流动装置中,标记的剂28包括结合至标记32的抗体或抗体片段30。将捕获剂34固定在捕获区16中。将对照剂35固定在对照线18上。

[0041] 当将流体样品24施加到样品池12时,样品24溶解标记的剂28,并且标记的剂28结合分析物26,这形成标记-抗体-分析物复合物20。因此,在实例夹心型侧向流动装置10中,直到在将含有目标分析物26的流体样品24施加到侧向流动装置之后,才形成标记-抗体-分析物复合物20。进一步,在实例夹心型侧向流动装置10中,标记-抗体-分析物复合物20中的分析物是来自流体样品24的分析物。如图1B所示,该复合物20通过测试条流至捕获区16,在此处,该复合物由捕获剂34结合。此时结合的复合物20(并且具体地,在此时结合的复合物20上的标记32)在捕获区16处发出可检测的光信号。

[0042] 未与任何分析物26结合的标记的剂28穿过捕获区16(在捕获区16中没有分析物26与捕获剂34结合)并继续沿侧向流动装置10向下流动。在包括如本文所示的对照线18的侧向流动测定中,固定的对照剂35捕获未结合分析物26并通过捕获区16到达对照线18的标记的剂28。在一些实施方式中,对照剂35在抗体的Fc区捕获标记的剂28。在一些实施方式中,对照剂35在抗体的Fab区捕获标记的剂28。在对照线18处结合的该标记的剂28发出可检测的光信号,该信号可被测量并用于指示测定如预期操作(例如,样品24如预期在侧向流动测定的正常操作期间从样品池12流动并通过捕获区16)。

[0043] 侧向流动测定可以提供定性信息,例如关于样品中是否存在目标分析物的信息。例如,在捕获区16处检测到任何可测量的光信号可以表明目标分析物(以一些未知的量)存在于样品中。在捕获区不存在任何可测量的光信号可以表明目标分析物不存在于样品中或低于检测限。例如,如果样品24不包含任何目标分析物26(未示出),则样品24仍将溶解标记的剂28,并且标记的剂28仍将流至捕获区16。然而,标记的剂28将不在捕获区16处结合捕获剂34。相反地,它将流过捕获区16,流过对照线18,并在一些情况下流至任选的吸收区。一些标记的剂28将结合沉积在对照线18上的对照剂35并发出可检测的光信号。在这些情况下,

缺少从捕获区16发出的可测量的光信号指示在样品24中不存在目标分析物，并且存在从对照线18发出的可测量的光信号指示样品24如预期在侧向流动测定的正常操作期间从样品接收区12行进通过捕获区16并到达捕获线18。

[0044] 一些侧向流动装置可以提供定量信息，例如样品中目标分析物的量的测量值。从侧向流动装置获得的定量测量值可以是在给定体积的样品中存在的分析物的浓度。图2示出了从图1A和1B中示出的夹心型侧向流动测定获得的实例定量测量值。图2是剂量响应曲线，其以图形方式示出了在捕获区检测到的信号强度(沿y轴测量)与样品中分析物浓度(沿x轴测量)之间的关系。实例信号包括光信号、荧光信号和磁信号。

[0045] 如图2中零浓度处的第一数据点所示，如果样品中不含有任何目标分析物，则样品中分析物的浓度为零，并且没有分析物与标记的剂结合形成标记-抗体-分析物复合物。在这种情况下，没有复合物流至捕获区并与捕获抗体结合。因此，在捕获区没有观察到可检测的光信号，并且信号幅度为零。

[0046] 随着样品中分析物的浓度从零浓度增加，检测到信号。如相A中的数据点所示，信号随着样品中分析物浓度的增加而增加。发生这种情况是因为随着分析物浓度的增加，标记-抗体-分析物复合物的形成增加。固定在捕获区的捕获剂结合增加数目的流至捕获区的复合物，这导致在捕获区检测到的信号增加。在相A中，信号随着样品中分析物浓度的增加而继续增加。

[0047] 在一些情况下，如果样品的分析物浓度超过可结合分析物的标记的剂的量，则存在过量的分析物。在这种情况下，未被标记的剂结合的过量分析物与标记-抗体-分析物复合物竞争，以结合捕获区中的捕获剂。捕获区中的捕获剂将与未标记的分析物(换言之，未与标记的剂结合的分析物)和标记-抗体-分析物复合物结合。然而，与捕获剂结合的未标记分析物不会发出可检测的信号。随着相B中，样品中分析物浓度增加，与捕获剂结合的未标记分析物(代替发出可检测的信号的标记-抗体-分析物复合物)的量也增加。随着增加量的未标记分析物与捕获剂结合——代替标记-抗体-分析物复合物，在捕获区检测到的信号减少，如在B相中数据点所示。

[0048] 这种检测到的信号在相A期间增加并且检测到的信号在相B中减少的现象称为“钩状效应”。随着A相中分析物浓度的增加，更多的分析物与标记的剂结合，这导致信号强度增加。在“ Conc_{sat} ”点，标记的剂被样品中的分析物饱和(例如，可用量的标记的剂已全部或几乎全部与样品中的分析物结合)，并且检测到的信号已达到最大值 $\text{Signal}_{\text{max}}$ 。随着相B中，样品中分析物的浓度继续增加，检测到的信号减少，因为超过标记的剂饱和点的过量分析物与标记的剂-分析物竞争结合到捕获剂。

[0049] 钩状效应，也称为“前带效应”，不利地影响侧向流动测定，特别是在目标分析物以B相中的浓度存在于样品中的情况下。钩状效应可导致不准确的检测结果。例如，挂钩状效应可导致假阴性或不准确的低结果。具体而言，当样品含有高水平的分析物时——其超过沉积在测试条上的标记的剂的浓度，发生不准确的结果。在这种情况下，当将样品放在测试条上时，标记的剂会饱和，并且并非所有的分析物都被标记。未标记的分析物流经测定并在捕获区处结合，胜过标记的复合物，从而减少了可检测的信号。因此，装置(或装置的操作者)无法区分光信号是对应于低浓度还是高浓度，这是因为检测到的信号对应于低浓度和高浓度二者。如果分析物水平足够高，那么分析物将完全胜过标记的复合物，并且在捕获区

未观察到信号,从而导致假阴性测试结果。

[0050] 不准确的测试结果也可源于竞争型侧向流动测定。与夹心型侧向流动测定相反,在竞争型侧向流动测定中,来自样品的未标记的目标分析物与标记的目标分析物竞争,以在捕获区结合捕获剂。图3A和3B示出了实例竞争型侧向流动测定22。侧向流动装置22包括样品池12、标记区14和捕获区16。图3A和3B示出了将流体样品24施加到样品池12之前和之后的侧向流动装置22。在图3A和3B所示的实例中,流体样品24包括目标分析物26。在样品池12中或附近的标记区14包括标记的剂29。在该实例竞争型侧向流动装置中,标记的剂29包括与标记32结合的目标分析物26。捕获剂34固定在捕获区16中。

[0051] 将包括未标记的分析物26的样品24施加到样品池12。样品24溶解标记的剂29。样品24中的未标记的分析物26和标记的剂29一起流至捕获区16,在那里来自样品24的未标记的分析物26和标记的剂29二者均与固定在捕获区16中的捕获剂34结合。如图3B所示,标记的剂和未标记的分析物26彼此竞争以与固定量的捕获剂34结合。与捕获剂34结合的标记的剂29(具体是标记的剂29中的标记32)发出可检测的光信号,而源自样品24并且与捕获剂34结合的未标记的分析物26不发出可检测的光信号。

[0052] 来自捕获区16的光信号的检测可以提供有关目标分析物26的定性或定量信息。在流体样品24不包括任何分析物26(未示出)的情况下,样品24仍会溶解标记的剂29并且标记的剂29仍将流至捕获区16。捕获区16中的捕获剂34将与标记的剂29结合(不会与样品中的任何未标记的分析物竞争),导致最大强度或接近最大强度的检测到的光信号。在样品24包括非常低或低浓度的分析物26的情况下,也可以检测到最大强度或接近最大强度的光信号。这是因为与捕获剂34结合的未标记的分析物26相对于与捕获剂34结合的标记的剂29的比例低。因此,可能难以确定最大强度下检测到的光信号是否应与样品24中零浓度或低浓度的分析物26相关。

[0053] 随着样品24中未标记的分析物26的浓度增加,从捕获区16发出的检测到的光信号减少。这是因为随着样品中分析物浓度的增加,对捕获剂34的竞争增加,并且与捕获剂34结合的未标记的分析物26相对于与捕获剂34结合的标记的剂29的比例将逐渐增加。然而,如果分析物以高或非常高的浓度存在于样品中,则在捕获区16处检测到的光信号迅速减小至低幅度信号。随着样品中分析物的浓度增加到高和非常高的浓度,光信号强度的这种快速下降使得很难(如果可能的话)精确地确定分析物的浓度,并且在一些情况下使装置完全无法确定分析物的浓度。当目标分析物以高浓度存在时(例如,当未标记的分析物相对于标记的剂的比例较高时),如图3A和3B中所示的竞争型侧向流动装置实际上无法准确确定目标分析物的精确浓度。

[0054] 图4示出了在例如上面参考图3A和3B所述的实例竞争型侧向流动装置中生成的剂量响应曲线。如图4所示,竞争型侧向流动测定的剂量响应曲线显示在分析物浓度从约1到20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内信号急剧下降。由于曲线的急剧下降,分辨率很差,这降低了确定在高浓度下分析物的量的准确性,并且在一些情况下,要以任何精确度来确定在样品中以高浓度存在的分析物的量是不切实际或几乎不可能的。

[0055] 精确定量在样品中以高浓度存在的分析物的实例侧向流动装置

[0056] 本文所述的侧向流动装置、试剂盒、测试系统和方法解决了夹心型和竞争型侧向流动测定(例如图1A、1B、3A和3B所示的那些)的这些和其他缺点,例如图1A、1B、3A和3B所示

的那些。图5A和5B示出了实例侧向流动测定100，其可以精确地测量样品中存在的目标分析物(包括以高浓度存在的分析物)的量。图7是实例剂量响应曲线，其以图形方式示出了从侧向流动测定100测量的光信号，并且具体地是在捕获区处检测到的信号幅度(沿y轴测量的)与施加到测定的样品中的分析物浓度(沿x轴测量的)之间的关系。

[0057] 在一些实施方式中，例如图5A和5B所示，侧向流动测定100可以包括具有样品接收区112、标记区114和捕获区116的测试条。在一些实施方式中，侧向流动测定还可以包括对照区118。图5A和5B示出了在将流体样品124施加到样品池112之前和之后的侧向流动装置100。在所示的实例中，标记区114在沿着测试条内的样品流动方向的接收区112的下游。在一些情况中，样品接收区112位于标签区114内和/或与标签区114同延。

[0058] 在样品池112中或附近的标记区114包括标记的剂128。标记的剂128可以包括结合至标记132的抗体或抗体片段130。捕获剂134固定在捕获区116中。在一些情况中，与标记132结合的抗体130或其片段是与捕获剂134相同类型的抗体。在其是相同类型的抗体或其片段时，与标记132结合的抗体或其片段130和捕获剂134二者都识别并结合分析物126的相同表位。在其他情况中，与标记132结合的抗体130或其片段是与捕获剂134不同类型的抗体或其片段。当其是不同类型的抗体或其片段时，与标记132结合的抗体或其片段130识别并结合与捕获剂134识别并结合的表位不同的分析物126的表位。

[0059] 在一些实施方式中，根据本公开内容的侧向流动测定包括在捕获区116下游的对照线118。将对照剂135固定在对照区118中。对照剂135对未与分析物结合的标记的剂具有特异性。在一些情况中，对照剂135是抗体或其片段。没有与任何分析物126结合的标记的剂128穿过并流过捕获区116(如果有过量的没有与分析物126结合的标记的剂128)并继续沿侧向流动装置100向下流动。在包括对照线118(例如本文所示)的侧向流动测定中，固定的对照剂135与不结合分析物126并通过捕获区116到达对照线118的标记的剂128结合。在一些实施方式中，对照剂135在抗体的Fc区捕获标记的剂128。在一些实施方式中，对照剂135在抗体的Fab区捕获标记的剂128。结合在对照线118处的该标记的剂128发出可检测的光信号，该光信号可以被测量并用于指示该测定如预期操作(例如，样品124如预期在侧向流动测定的正常操作期间从样品池112流动并通过捕获区116)。在一种实施方式中，侧向流动测定100包括多个捕获区(包括根据本公开内容的至少一个捕获区116，其配置为捕获标记的剂128)，每个捕获区配置为指示不同目标分析物的存在、不存在和/或浓度；和单个对照线118，其配置为指示样品如预期流经多个捕获区。

[0060] 根据本公开内容的侧向流动测定100的实施方式还包括超大粒子145。在图5A和5B所示的实施方式中，超大粒子145位于标记区114中，但捕获区116上游的其他位置可以是合适的。例如，超大粒子145可位于标记区114上游的样品接收区112中。根据本公开内容，超大粒子145与对分析物126具有特异性的结合剂141缀合。结合剂141可以包括例如分析物特异性抗体141或其片段。与分析物特异性抗体141缀合的超大粒子145形成抗体缀合的超大粒子148。如下文将详细描述的，抗体缀合的超大粒子148的尺寸明显大于标记的剂128，因此图5A和5B中所示的特征未按比例绘制。另外地，尽管在抗体缀合的超大粒子148的背景下解释了图5A和5B的实例，但是应当理解，根据本公开内容的超大粒子可以与对目标分析物具有特异性的任何适合的结合剂缀合(例如但不限于分析物特异性抗体或其片段)。

[0061] 超大粒子145可以由任何适合的材料制成，并且可以具有任何合适的大小/尺寸，

以在将样品施加到侧向流动装置100上时基本上保持其位置并抵抗流动到捕获区116。在一些实施方式中,超大粒子145是硅粒子、乳胶粒子、磁性粒子、金粒子或尺寸足以抵抗移动和流经测定测试条到达捕获区116的另一种粒子。超大粒子145可包括例如,乳胶珠、磁珠、硅珠、金珠或由另一种适合的材料形成的珠。在一个非限制性实例中,超大粒子145的直径约为 $10\mu\text{m}$,而标记的剂128的直径约为 40nm 。因此,本文所述的超大粒子的实施可以具有常规标记的剂的直径的250倍的直径。其他尺寸是适合的。例如,超大粒子145的直径可以为1至 $15\mu\text{m}$,例如1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或 $15\mu\text{m}$,或者直径在上述任意两个值所限定的范围内。超大粒子148具有足够的尺寸,以致其不能移动通过侧向流动装置100,而是相反地保持固定在标记区114处。在一些情况中,超大粒子145在将样品施加到侧向流动装置100时不会移动。在一些情况中,超大粒子145可以相对于其初始位置少量移动(例如,在当前的非限制性实例中,超大粒子145可以在标记区114内稍微变换或改变位置)。然而,在将样品施加到侧向流动装置100上时,超大粒子145不像标记的剂128那样与流体前缘一起流至捕获区116。超大粒子145可以以下文详细描述的多种方式整合到侧向流动测定100中。

[0062] 在图5A和5B所示的实施方式中,与超大粒子145缀合的结合剂141是对分析物126具有特异性的抗体或其片段。在一些情况中,抗体141或其片段可以是与结合至标记132的抗体130和/或捕获剂134相同的抗体类型。在其他情况中,抗体141或其片段可以是与结合至标记132的抗体130和/或捕获剂134不同的抗体类型。因此,在一些实施方式中,抗体141、抗体130和捕获剂134具有针对分析物126的相同抗体类型,并且识别并结合分析物126上的相同表位。在其他实施方式中,抗体141、抗体130和捕获剂134具有针对分析物126的不同抗体类型,并且识别并结合分析物上的不同表位。

[0063] 根据本公开内容,结合剂141以具体的已知比例与超大粒子145缀合。可以根据具体的超大粒子145、具体的目标分析物、侧向流动装置的测试参数或其他参数来调整缀合比。在一些实施方式中,结合剂141以1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1、70:1、80:1、90:1或100:1、或由上述任意两个值限定的范围内的量的比例存在于超大粒子145上。在一个非限制性实例中,结合剂141与超大粒子145的比例表示抗体缀合的超大粒子148的结合能力。例如,1:1的比例意味着抗体缀合的超大粒子148具有结合样品中单个目标分析物的能力,和100:1的比例意味着结合抗体缀合的超大粒子148具有结合样品中上至100个目标分析物的能力。在另一个非限制性实例中,结合剂141与超大粒子145的缀合比与抗体缀合的超大粒子148的结合能力不直接相关。例如,当结合效率小于100%时,如小于100%的与超大粒子145缀合的抗体结合到样品中的目标分析物时,可能会发生这种情况。在仍另一个非限制性实例中,存在于超大粒子145上的结合剂141的比例小于1:1,正如当超大粒子145相对于缀合物抗体具有高密度的官能团时。在这种情况下,形成抗体缀合的超大粒子148所需的抗体量减少。因此,在这种例子中,结合剂141与超大粒子145的比例可以是例如1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70、1:80、1:90或1:100、或由上述任意两个值限定的范围内的量。

[0064] 在本公开内容的一些有利的实施方式中,对结合剂141与超大粒子的比例进行细致调整和定量,以便确定用于侧向流动装置100上的测试事件的具体抗体-缀合的超大粒子148的结合能力。此外,细致调整和定量最初整合到侧向流动装置100的表面上的抗体缀合

的超大粒子148的量,使得预先确定整合到侧向流动装置100的表面上的抗体缀合的超大粒子148的总结合能力。在本公开内容的非限制性实例中,抗体缀合的超大粒子148以一定量整合到侧向流动100的表面,以结合0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40或50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的分析物的量或通过上述任何两个值限定的范围内的量的目标分析物。因此,抗体缀合的超大粒子148可以以已知量整合在标记区114上,并且当分析物存在于施加到样品池112的样品中时,可用于捕获已知的最大量的分析物。

[0065] 当将流体样品124施加到样品池112上时,样品124溶解标记的剂128和抗体缀合的超大粒子148。标记的剂128与分析物126结合,形成标记-抗体-分析物复合物120。标记的剂128与抗体缀合的超大粒子148竞争,抗体缀合的超大粒子148也结合分析物126,形成分析物-抗体-超大粒子复合物140。标记-抗体-分析物复合物120流过侧向流动装置100到达捕获区116,在此处被捕获剂134结合,并发出可检测的信号。然而,分析物-抗体-超大粒子复合物140不流过侧向流动装置100。相反,复合物140保留在标记区114中,从而保留了一定量的结合的分析物126并防止了结合的分析物126流过侧向流动装置到达捕获区116。在其中抗体缀合的超大粒子148与分析物126具有已知结合能力的一些实施方式中,当将流体样品124施加到侧向流动装置100时,已知量的分析物126被保持在标记区114中。例如,在一些实施方式中,根据本公开内容的抗体缀合的超大粒子148能够将0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、或50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的分析物的量或上述中任意两个值限定的范围内的量的分析物126保持在标记区114中。

[0066] 测试多种不同的目标分析物的存在、不存在和/或量的多重测定可以包括在与参考1A和1B所述的一个或多个夹心型侧向流动测定相同的测试条上的根据本公开内容的侧向流动测定(如以上参考图5A和5B所述)。在这种多重测定中,可将对照线有利地包括在测试条上,以确认样品已流过对照区116。

[0067] 现在将参考图7描述侧向流动装置100的优点。通过将已知量的分析物126保持在标记区114内,侧向流动测定100能够检测到单相格式的样品124中升高浓度的分析物126。图7的剂量响应曲线以图形方式说明了在捕获区处检测到的信号强度(沿y轴以任意信号强度单位测量的)与样品中分析物浓度(在此非限制性示例中,C反应蛋白(CRP),沿x轴以 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 为单位测量的)之间的关系。如图7中所示,将包括根据本公开内容的抗体缀合的超大粒子148的侧向流动测定的剂量响应曲线(方形数据点)与不包括抗体缀合的超大粒子148的典型的夹心型测定的剂量响应曲线(圆圈数据点)进行比较。

[0068] 如图7的实例中所示,夹心型测定的剂量响应曲线显示在0.1至5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内的C反应蛋白(CRP)中随着浓度少量增加,信号强度非常急剧地增加,并在约5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的CRP处到达最大信号强度。然后,随着游离的、未结合的分析物在捕获区与标记-抗体-分析物复合物竞争,剂量响应曲线下降,从而产生如上参考图2所述的钩状效应。相反,根据本公开内容的包括抗体缀合的超大粒子的测定的剂量响应曲线显示出随着CRP浓度增加,光信号强度逐渐的单相增加,这允许在宽范围的浓度下,并且明显地在升高的浓度下,例如在大于5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下(典型的夹心型测定达到最大信号强度时的浓度),精确确定CRP浓度。

[0069] 在图7所示的实例中,抗体缀合的超大粒子的结合能力约为1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。对于浓度小于1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的CRP(在此实例中,抗体缀合的超大粒子的结合能力),包含抗体缀合的超大粒子的

测定的剂量响应曲线发出零或零附近的信号,此后信号逐渐增加,允许当分析物以大于 $5\mu\text{g/mL}$ 的量存在时精确测定分析物浓度。

[0070] 结合剂的量和结合剂的结合能力可以针对具体测定精确地调整。例如,在已知或怀疑分析物浓度大于给定量的样品中,可以将一定量的已知结合能力的抗体缀合超大粒子整合到侧向流动装置上,以使剂量响应曲线类似于如图7所示的,并可以准确测定分析物的浓度。在怀疑样品具有高或非常高浓度的分析物的情况下,这是尤其有利的。可选地或另外,可以精确地调整抗体缀合的超大粒子的结合能力以捕获给定量的分析物,从而允许操作者非常准确地定量施加到侧向流动装置的样品中的分析物的量。

[0071] 可以以许多不同方式将缀合抗体的超大粒子148施加到测试条上。在图5A和5B中所示的本公开内容的实施方式中,在将任何流体样品124施加到侧向流动装置100之前,预形成抗体缀合的超大粒子148并将其整合到测试条上。在一个非限制性的实例中,在施加流体样品124之前,形成抗体缀合的超大粒子148并将其整合到缀合物垫上。在一个非限制性方面,通过用喷气技术喷雾抗体缀合的超大粒子148的溶液,将抗体缀合的超大粒子148施加到标记区114。在另一个非限制性方面,通过倒入溶液、喷雾溶液、将溶液配制为在测试条上放置或擦在测试条上的粉末或凝胶、或任何其他适合的施加抗体缀合的超大粒子148的方法将包括抗体缀合的超大粒子148的溶液沉积。

[0072] 在一些实施方式中,在沉积之后,通过在缀合物垫上加热或吹气,在沉积之后的测试条表面上干燥抗体缀合的超大粒子148。干燥测试条表面上的抗体缀合的超大粒子148的其他机制是适合的。例如,真空或冷冻干燥也可以用于干燥缀合物垫上的抗体缀合的超大粒子148。在一些情况下,在沉积之前不将抗体缀合的超大粒子148添加到溶液中,而是将其直接施加到测试条上。可以使用任何适合的方法直接施加抗体缀合的超大粒子148,其包括但不限于对测试条表面上的抗体缀合的超大粒子148施加压缩或真空压力,和/或将冻干粒子形式的抗体缀合的超大粒子148施加到在测试条的表面。可以使用与用于沉积抗体缀合的超大粒子148所述的相同或类似的技术,将标记的剂128类似地沉积在测试条上。

[0073] 现在将参考图6描述本公开内容的另一个非限制性实例。与图5A和5B所示的实施方式相反,在施加具有或怀疑具有目标分析物的样品126之前,没有将抗体缀合的超大粒子148整合到侧向流动装置100的表面上。相反地,将抗体结合的超大粒子148与样品同时施加到侧向流动装置100。如图6所示,将待测试目标分析物存在、不存在或量的流体样品124添加到单独容器101中的抗体缀合的超大粒子148。将流体样品混合以整合流体样品内的抗体缀合的超大粒子148,并使得抗体缀合的超大粒子148与分析物126(如果存在的话)结合。如果分析物126存在于流体样品124中,则其与抗体缀合的超大粒子148结合,以形成分析物-抗体-超大粒子复合物140。

[0074] 然后将包含复合物140的流体样品125在样品池112处施加到侧向流动装置100。侧向流动装置100可以是常规的夹心型侧向流动测定装置(例如上面参考图1A和1B所述的)。流体样品行进至标记区114,在此处它溶解标记的剂128。当流体前缘移至标记区114时,抗体缀合的超大粒子148保留在样品池112中。当将样品125施加到样品池112中时,抗体缀合的超大粒子148的过大尺寸使抗体缀合的超大粒子148抵抗从其最初沉积的样品池112中的初始位置移动。同时,在标记区114中,标记的剂128与在施加到装置100之前抗体缀合的超大粒子148与样品124混合时未结合抗体缀合的超大粒子148的未结合的分析物126结合。然

后标记的剂128与流体前缘一起移动并行进到捕获区116,在此处被捕获剂134捕获并生成可检测的信号。

[0075] 在某些情况下,将在捕获区处发出的可检测的信号与特异于测试装置的剂量响应曲线以及容器101中已知量的抗体缀合的超大粒子进行比较,以确定目标分析物的量。在其他情况下,通过抗体缀合的超大粒子保持的分析物的量(可以使用在测试期间使用的抗体缀合的超大粒子的量和缀合比来确定)来调节侧向流动夹心型测定100的剂量响应曲线,直接计算目标分析物的量。

[0076] 使样品与抗体缀合的超大粒子接触的本公开内容的实施方式包括许多优点。操作者可以在参考图6所述的本公开内容的实施方式中使用任何常规的夹心型侧向流动测定测试条,并且甚至当样品中存在高或极高浓度的目标分析物时,仍然可以检测精确、高度准确的目标分析物的量。参照图6描述的本公开内容的实施方式允许操作者灵活地以针对操作者期望在侧向流动装置上进行的具体测试所选择的量和缀合比来施加抗体缀合的超大粒子。因此,一旦知道测试事件的参数(例如待测样品的特征),操作者就可以调整在测试期间使用的抗体缀合的超大粒子的量和/或抗体缀合的超大粒子的缀合比。参照图6所述的本公开内容的实施方式可以有利地以试剂盒形式包装,其中侧向流动测试装置和抗体缀合的超大粒子包装在单独的容器中。这可导致该试剂盒具有比本公开内容实施方式的抗体缀合的超大粒子试剂预先整合在测试条上的试剂盒更长的保存期限。

[0077] 用于定量在样品中以高浓度存在的分析物的实例侧向流动试剂盒

[0078] 本公开内容的实施方式包括试剂盒,该试剂盒包括侧向流动装置和抗体缀合的超大粒子。试剂盒还可以包括读取器装置,该读取器装置配置为从侧向流动装置读取信号并输出测试结果。在一个非限制性实例中,试剂盒包括如本文参考图5A和5B所述的侧向流动装置。侧向流动装置包括在标记区中对目标分析物具有特异性的标记的剂、包括对目标分析物具有特异性的捕获剂的捕获区、和整合在侧向流动装置上捕获区上游的抗体缀合的超大粒子(例如但不限于以及在标记区中的标记的剂)。在一些实施方式中,侧向流动装置可以进一步包括对照区,该对照区包括对不与目标分析物结合的标记的剂具有特异性的对照剂。试剂盒可以包括使用说明书,其包括对操作者将待测试的样品施加到侧向流动装置的样品池上的指导。使用说明书可以指导操作者将侧向流动装置插入读取器中(在显影期间或完成显影时间之后),以检测在侧向流动装置上生成的光信号。

[0079] 在另一个非限制性实例中,试剂盒包括侧向流动装置和单独包装的抗体缀合的超大粒子。在该实例中,侧向流动装置可以是常规的夹心型侧向流动装置。在该实例中,侧向流动装置包括在标记区中对目标分析物具有特异性的标记的剂、包括对目标分析物具有特异性的捕获剂的捕获区,但不包括预先整合到侧向流动装置的抗体缀合的超大粒子。相反地,将抗体缀合的超大粒子与侧向流动装置在试剂盒中单独包装。在一个非限制性实例中,在单独包装中,以冻干形式提供了超大粒子。试剂盒可以包括使用说明书,其包括对操作者的指导:打开抗体缀合的超大粒子的包装,将抗体缀合的超大粒子添加到待测试的样品中,任选地混合样品,任选地允许温育样品使得抗体缀合的超大粒子与样品中存在的分析物结合,和然后将含有抗体缀合的超大粒子的样品施加到侧向流动装置。使用说明书可以指导操作者将侧向流动装置插入读取器中(在显影期间或完成显影时间之后),以检测在侧向流动装置上生成的光信号。准确定量在样品中以高浓度存在的分析物的实例侧向流动测定方

法

[0080] 本公开内容的实施方式包括定量在样品中以高浓度存在的分析物的方法。在一个实例方法中,该方法开始于提供根据本公开内容的侧向流动装置。侧向流动装置包括标记的剂和在施加样品之前整合在侧向流动装置上的抗体缀合的超大粒子。接下来,将待测试的样品在样品池处施加到侧向流动测定。在将样品施加到样品池之后,抗体缀合的超大粒子结合样品中存在的分析物(如果存在的话),与标记的剂竞争以结合分析物。样品中未与抗体缀合的超大粒子结合的分析物与标记的剂结合,形成标记-剂-分析物复合物。接下来,标记-剂-分析物复合物流至捕获区被捕获剂结合,而由抗体缀合的超大粒子结合的分析物保留在标记区(或其最初整合在测试条上的其他位置)。该方法继续进行下一步骤,其中标记-剂-分析物复合物在捕获区发出可检测的信号。接下来,通过人类观察或以读取器装置读取可检测的信号。检测到的信号可以与样品中分析物的存在、不存在或浓度相关。在一个实例中,通过比较可检测的信号的强度与对侧向流动装置具有特异性的剂量响应曲线以及预先整合在侧向流动装置上的抗体缀合的超大粒子的已知量和结合能力,凭经验确定分析物的浓度。

[0081] 在另一个实例方法中,该方法开始于提供常规的侧向流动装置(例如以上参考图1A和1B描述的装置)和单独包装的、已知量的已知结合能力的抗体缀合的超大粒子。该方法开始于将抗体缀合的超大粒子添加到待测试的样品中(或者可选地,通过将待测试的样品添加至抗体缀合的超大粒子)。任选地,该方法可以包括将样品混合和/或使混合物温育,在此期间,已知量的分析物与混合物中抗体缀合的超大粒子结合。该方法继续下一步骤,其中将包括现在与分析物结合的抗体缀合的超大粒子的样品施加至侧向流动装置的样品池处。接下来,未由抗体缀合的超大粒子结合的分析物与标记区中的标记的剂结合,形成标记-剂-分析物复合物。该方法进入下一步骤,在该步骤中,标记-剂-分析物复合物流至捕获区,并被捕获剂捕获,而由抗体缀合的超大粒子结合的分析物保留在样品池中,并且不流经侧向流动装置。该方法继续下一步骤,其中标记-剂-分析物复合物在捕获区发出可检测的信号。接下来,通过人类观察或读取器装置读取可检测的信号。检测到的信号可以与样品中分析物的存在、不存在或浓度相关。在一个实例中,通过比较可检测的信号的强度与对侧向流动装置具有特异性的剂量响应曲线以及最初与样品混合的单独包装的抗体缀合的超大粒子的已知量和结合能力,凭经验确定分析物的浓度。

[0082] 在一些实施方式中,侧向流动装置可以用于以多重测定形式确定单个样品或多个样品中的多种目标分析物。多重测定的一些实施方式包括检测靶分析物的具体亚种。例如,样品可以包含靶分析物的一个或多个亚种。样品可以首先用剂处理以去除靶分析物的一个或多个具体的亚种,从而降低靶分析物的浓度。举例来说,样品可包含靶分析物的三个亚种。样品可以与包含抗体的抗体缀合的超大粒子预混合,以去除靶分析物的第一亚种。从样品中去除与靶分析物的第一亚种结合的抗体缀合的超大粒子。现在将包含靶分析物的剩余两个亚种的样品施加到侧向流动装置。然后,将与靶分析物所有亚种结合的通用抗体作为标记的剂,以识别和结合靶分析物的剩余两个亚种。

[0083] 以下非限制性实施例示出了本文所述的侧向流动装置、测试系统和方法的特征,并且绝不旨在限制本公开内容的范围。

[0084] 实施例1

[0085] 准备定量升高的蛋白质浓度的侧向流动测定

[0086] 以下实施例描述了准备如本文所述的用来定量目标分析物的侧向流动测定。在该非限制性实施例中，目标分析物是在血清样品中以升高的或高浓度存在的蛋白质(C反应蛋白(CRP))。

[0087] CRP是在血浆中发现的蛋白质。响应于炎症，CRP的水平升高。因此，CRP是炎症的标志物，其可用于筛查炎症。受试者血清中升高水平的CRP可以与受试者中的炎症、病毒感染和/或细菌感染相关。健康人类受试者中的CRP正常水平约为 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 至约 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在轻度炎症和病毒感染期间，CRP的浓度范围为 $10\text{-}40\mu\text{g}/\text{mL}$ ；在活性炎症和细菌感染期间CRP的浓度为 $40\text{-}200\mu\text{g}/\text{mL}$ ；在严重的细菌感染和烧伤病例中CRP的浓度大于 $200\mu\text{g}/\text{mL}$ 。测量和绘制CRP水平可用于确定疾病进展或治疗效果。

[0088] 根据该非限制性实施例准备的测定可用于确定血清样品中CRP(目标分析物)的精确浓度，即使该浓度高于健康人受试者中CRP的正常水平(约 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 至约 $10\mu\text{g}/\text{mL}$)。该测定包括标记的剂和缀合抗体的超大粒子，并且避免了夹心型侧向流动测定的若干缺点——包括与钩状效应相关的缺点。

[0089] 为了准备测定，将抗C反应蛋白(抗CRP)抗体与金纳米粒子一起温育以形成标记的抗CRP抗体。通过用空气喷射器喷雾包含标记的抗体的溶液，将标记的抗体以 $1.8\mu\text{L}/\text{测试条}$ 的量沉积到缀合物垫(标记区)上。加热缀合物垫以将复合物干燥至缀合物垫。

[0090] 通过首先将抗CRP抗体缀合至超大粒子制备抗体缀合的超大粒子。用平衡缓冲液洗涤具有活性表面N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)基团用于缀合的磁性粒子($10\mu\text{m}$)，并通过施加磁场将其从缓冲液中移出。将 $200\mu\text{g}$ 抗CRP置于 $60\mu\text{L}$ 的PBS缓冲液中。将抗体溶液加入沉降的粒子丸(pe1let)中，并在室温下混合1小时。通过施加磁场从缓冲液中移出与抗体缀合的超大粒子。用淬灭缓冲液洗涤抗体缀合的超大粒子，并在室温下温育1小时。除去淬灭缓冲液，并且将粒子重悬于 $100\mu\text{L}$ 的PBS中，并在 4°C 下储存。

[0091] 可以将抗体缀合的超大粒子储存起来以备后用，例如就在将样品施加到侧向流动测定之前与待测样品混合、或在施加样品之前直接置于侧向流动测定上。抗体缀合的超大粒子可以在侧向流动测定的制造期间、就在将样品施加到侧向流动测定之前或任何其他适合的时间直接施加到侧向流动测定。在施加样品之前将抗体缀合的超大粒子施加到侧向流动测定的例子中，通过用空气喷射器喷雾溶液，将包含抗体缀合的超大粒子的溶液沉积在缀合物垫(标记区)上。加热缀合物垫以将复合物干燥至缀合物垫。

[0092] 在该实施例中，抗CRP抗体以 $2\text{mg}/\text{mL}$ 的量沉积在捕获区。将山羊抗小鼠抗体以 $2\text{mg}/\text{mL}$ 的量沉积在对照区。

[0093] 实施例2

[0094] 使用侧向流动测定定量高浓度C反应蛋白

[0095] 由于钩状效应，例如上面参考图1A和1B描述的那些夹心型侧向流动测定通常不适合定量当样品中CRP以升高的水平存在时的CRP浓度。为了确定升高的浓度，先前需要对样品进行系列稀释，这导致效率低下且费力的过程，其容易受到操作者错误的影响。但是，使用本文所述的侧向流动装置、试剂盒、测试系统和方法，可以准确、可靠和快速地定量高于健康水平的CRP浓度。

[0096] 实施例1中描述的不包括预先整合在测试条上的抗体缀合的超大粒子的侧向流动

测定用于以下实施例。制备在存储缓冲液中其上具有缀合抗体的抗体缀合的超大粒子。以包括0、0.1、0.5、1、5、20、40、100、150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的不同浓度制备CRP样品。接下来，将20 μL 抗体缀合的超大粒子放入管中，并通过施加磁场来去除存储缓冲液。将40 μL 的CRP溶液添加到包含抗体缀合的超大粒子丸的管中(对于每个CRP样品使用单独的管)，并通过搅拌将溶液混合约30秒。将来自每个管的样品施加到常规夹心型侧向流动装置的样品池中，并在约两分钟时读取测试结果。

[0097] 类似地，以上述浓度制备未用抗体缀合的超大粒子处理的样品。将40 μL 的每种样品施加到常规夹心型侧向流动装置的样品池，并在约十分钟时读取测试结果。

[0098] 根据本公开内容的有利特征，仔细考虑用于结合CRP的抗体缀合的超大粒子的量，以确保与必需量的CRP结合，以在捕获区提供最佳信号范围，其使得在测试系统中出现单一上升相的剂量响应，从而能够定量升高水平的CRP。不足量的抗体缀合的超大粒子(或不足的与超大粒子缀合的抗CRP)可导致剂量响应曲线的急剧上升相，这可导致确定CRP浓度的不足分辨率。过量的抗体缀合的超大粒子(或过量的与超大粒子缀合的抗CRP)导致没有或很低的信号强度，直到抗体缀合的超大粒子饱和，此时信号强度增加，从而难以确定在较低的分析物浓度范围内的分析物浓度。因此，可以有利地改变添加到样品中或预先沉积在侧向流动装置上的抗体缀合的超大粒子的量，以适应不同分析物浓度范围的要求。

[0099] 还可以类似地使用侧向流动测定，该侧向流动测定包括在样品施加之前沉积在捕获区上游的适合位置中的抗体缀合的超大粒子。在这种情况下，样品不需要和与抗体缀合的超大粒子混合或预先温育，而是相反地直接施加到包含预先整合在侧向流动测定表面上的抗体缀合的超大粒子的侧向流动测定。

[0100] 实施例2的结果在图7中呈现，其示出了具有抗体缀合的超大粒子的侧向流动测定(具有方形数据点的线)和没有抗体缀合的超大粒子的侧向流动测定(常规夹心型侧向流动测定；具有圆形数据点的线)的所得剂量响应曲线。测试结果也在表1中描述。

[0101] 表1：传统夹心型侧向流动测定与本公开内容的侧向流动测定的比较

血清样品中未标记的CRP的量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	具有抗体缀合的超大粒子的样品的信号(AU)	没有抗体缀合的超大粒子的样品的信号(AU)
[0102]	0	0
	0.1	33.14
	0.5	67.63
	1	73.72
	5	77.53
	20	63.63
	40	55.78
	100	31.55
	150	14.82

[0103] 如表1所示，没有抗体缀合的超大粒子的样品的信号强度从0至5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度急剧增加。在量大于5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，信号随浓度增加而降低。另外，在0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 下观察到的信号

(33.14AU) 类似于在100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 下观察到的信号(31.55)。因此,如果获得了产生约31-33AU的信号强度的样品,则不清楚该信号对应于健康量(约0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)还是不健康量(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的CRP。

[0104] 相反,根据本公开内容的侧向流动测定允许在大于5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下准确确定CRP的浓度。在本实施例中(其中目标分析物为CRP,当存在炎症或疾病状况时,该CRP的浓度会升高到大于10 $\mu\text{g}/\text{mL}$),这是尤其有利的。与不包括抗体缀合的超大粒子的夹心型侧向流动测定相反(其中不能确定大于5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的CRP浓度),具有抗体缀合的超大粒子的侧向流动测定允许通过提供具有足够分辨率以准确定量CRP浓度的单个上升相剂量响应曲线来精确地确定浓度。本文所述的侧向流动测定的实施方式允许使用者确信地确定被测试的受试者中CRP浓度高于正常水平。当进行根据本公开内容的测试并且表明CRP浓度大于健康水平(例如,大于10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)时,该信息可以与炎症、病毒感染和/或细菌感染状况相关。

[0105] 进一步,在测试中的受试者中准确查明CRP精确浓度的能力可允许测试结果与具体类型的疾病状况相关。例如,在10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间的浓度可能与轻度炎症相关,而在40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间的浓度可能与细菌感染相关。此外,在测试中的受试者中准确查明CRP精确浓度的能力可允许测试结果与疾病阶段相关。例如,在40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间的浓度可能与轻度细菌感染相关,而大于200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度可能与严重细菌感染相关。这些实施例是说明性的,并不旨在限制本公开内容的范围。

[0106] 此外,本文描述的侧向流动装置在一个单一测定中定量样品中升高浓度的分析物,而无需稀释样品。相反,例如参考图1A、1B、3A和3B所述的那些测定需要稀释包含高浓度分析物的样品;否则,剂量反应曲线的高浓度部分的信号是无法区分的。本公开内容的侧向流动测定能够基于在一次测试之后在捕获区获得的单个信号来确定在升高的分析物浓度中的甚至微小差异。

[0107] 本文中的侧向流动装置(包括超大粒子)的实施方式可以有利地与常规的夹心型侧向流动装置(不包括超大粒子)组合以扩展可以被准确和精确地测试的浓度范围。如图7中所示,在本文所述的侧向流动装置的一些实施方式中,在非常低的分析物浓度下信号的分辨率可能较低。在目标分析物的浓度非常低的情况下,包含超大粒子的侧向流动装置可能仍指示目标分析物的存在或不存在,但可能无法提供非常低浓度分析物的最佳定量测量。在未知浓度的目标分析物可能落在较大的浓度范围内的情况下,可以将样品分为两部分。可以将第一样品部分与超大粒子混合并施加到第一侧向流动装置上(或如本文所述,施加到具有整合的超大粒子的第一侧向流动装置上)。可以将第二样品部分施加到第二常规侧向流动装置(没有超大粒子)。第一侧向流动装置的测试结果与第二侧向流动装置的测试结果组合可以为操作者提供在非常广泛的可能浓度范围内的目标分析物的非常精确的实际浓度测量值。

[0108] 使用根据本公开内容的侧向流动测定诊断状况的方法

[0109] 本文提供的一些实施方式涉及使用侧向流动测定以诊断医学状况的方法。在一些实施方式中,该方法包括提供本文所述的侧向流动测定和抗体缀合的超大粒子(单独包装或预整合在侧向流动测定上)。在一些实施方式中,该方法包括在侧向流动测定的样品池处接收样品。

[0110] 在一些实施方式中,样品得自包括环境或生物来源的来源。在一些实施方式中,样

品怀疑具有目标分析物。在一些实施方式中，样品不怀疑具有目标分析物。在一些实施方式中，获得并分析样品以验证分析物的不存在或存在。在一些实施方式中，获得并分析样品以定量样品中的分析物。在一些实施方式中，样品中的分析物的量小于健康受试者中存在的正常值，处于健康受试者中存在的正常值或其附近、或高于健康受试者中存在的正常值。

[0111] 在一些实施方式中，在侧向流动测定的样品池处接收样品包括使样品与侧向流动测定接触。通过使用滴管或其他施加器的外部施加将样品引入样品池中，样品可以与侧向流动测定接触。在一些实施方式中，例如当将测试条浸入容纳样品的容器中时，样品池可以直接沉浸入样品中。在一些实施方式中，可以将样品倒入、滴落、喷雾、放置或以其他方式与样品池接触。

[0112] 在本公开内容的实施方式中的标记的剂包括抗体和标记，并且可以将其沉积在样品池内或下游的缀合物垫(或标记区)上。标记的剂可以通过物理结合或化学键整合在缀合物垫上。结合粒子还可以通过物理结合或化学键整合在缀合物垫上，或者可选地可以在将样品施加到侧向流动装置上之前将其添加到样品。抗体缀合的超大粒子识别并结合到样品中的分析物，形成分析物-抗体-超大粒子复合物(先将抗体缀合的超大粒子添加到样品，或者将样品添加到在其上整合有抗体缀合的超大粒子的侧向流动装置)。在将样品添加到样品池后，样品溶解标记的剂，从而释放了将标记的剂保持在缀合物垫上的结合。标记的剂识别并结合未被抗体缀合的超大粒子结合的分析物，从而形成标记-剂-分析物复合物。包括标记-剂-分析物复合物的样品沿着流体前缘流过侧向流动测定到达捕获区，而分析物-抗体-超大粒子复合物保留在抗体缀合的超大粒子最初沉积在测试条上的位置(通过将样品施加到测试条上或在将样品施加之前直接整合到测试条的表面上期间)。

[0113] 固定在捕获区处的捕获剂与标记-剂-分析物复合物结合。当标记-剂-分析物复合物在捕获区与捕获剂结合时，发出来自标记的可检测的信号。该信号可以包括如本文所述的光信号。当样品中存在低浓度的分析物时(例如，处于或低于健康水平的水平)，抗体缀合的超大粒子结合样品中的所有或基本上所有的分析物，并且在捕获区未检测到信号。在升高的分析物浓度(例如高于健康值的水平)下，检测到的信号强度以与样品中分析物的量成比例的量增加。将检测到的信号和抗体缀合的超大粒子(包括已知量的结合分析物)的结合能力与目标分析物的剂量响应曲线上的值进行比较，并确定样品中分析物的浓度。

[0114] 在一些实施方式中，存在升高的浓度的分析物。分析物的升高的浓度可以指高于健康水平的分析物浓度。因此，分析物的升高的浓度可以包括高于健康水平的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、125%、150%、200%或更大的分析物的浓度。在一些实施方式中，目标分析物包括C反应蛋白(CRP)，其以约1至约10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的量存在于健康个体的血清中。因此，样品中CRP的升高的浓度包括15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更高。目标分析物被认为是升高的水平可能取决于具体的目标分析物而不同。

[0115] 在一些实施方式中，在确定分析物在样品中以升高的浓度存在时，诊断出该受试者患有某种疾病。在一些实施方式中，当确定CRP的浓度为15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更高时，做出感染的诊断。在一些实施方式中，确定浓度大于200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，例如400-500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，

产生严重细菌感染的诊断。

[0116] 在一些实施方式中,当将样品放置在本文所述的侧向流动装置上时,在捕获区处确定检测到的信号,并且将检测到的信号与抗体缀合的超大粒子的结合能力组合用于确定样品中分析物的浓度。在一些实施方式中,当测试系统确定某个信号强度时,测试系统输出测试结果。测试结果可以包括样品中分析物的浓度和/或口头或书面指示:测试结果为“正常”或“在正常水平内”或测试结果为“不在正常水平内”、“升高”、“非常高”或其他指示。

[0117] 本公开内容的附加实施方式

[0118] 已经参考与结合剂缀合的超大粒子描述了本公开内容的实施方式。如本文所述,超大粒子显著大于在施加流体样品时流过测试条的侧向流动装置的其他组分。例如,本文所述的超大粒子可以显著大于标记的剂,该标记的剂大小和尺寸设计成当将流体样品施加至样品孔时溶解并从标记区移动至捕获区。相反,当施加流体样品时,根据本公开内容的超大粒子抵抗运动,并且尽管流体流过测试条也保持在基本上相同的位置。尽管本文中参考它们显著大的尺寸描述了超大粒子的实施,但是应当理解,根据本公开内容,可以实施抵抗运动通过测试条的其他粒子。例如,可以以本文参考超大粒子所述的方式将惰性粒子与结合剂缀合,并施加到侧向流动装置上。在第一非限制性实施方式中,惰性粒子的大小与本文所述的标记的剂相同或更小。举例说明,可以将磁性粒子与结合剂缀合以形成与标记的剂相同尺寸或甚至更小的抗体缀合的磁性惰性粒子。在该实施例中,通过对磁性惰性粒子施加磁力,可以将抗体缀合的磁性惰性粒子保持在捕获区上游的适当位置,从而防止其随流体样品向下游移动至捕获区。磁力可以是在样品施加期间施加在测试条上方或下方或内部的磁场。在第二个非限制性实施方式中,惰性粒子的尺寸可以小于、大约相同或稍大于标记的剂,但是比标记的剂显著更致密。例如,惰性粒子可以比标记的剂更致密2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或另一倍数。结果,由于该显著增加密度,当将样品施加到测试条时,惰性粒子抵抗从初始位置到达捕获区的通过测试条的运动。

[0119] 除了增加的密度之外或代替增加的密度的其他特征(例如但不限于粘在或钩在结合物垫的硝酸纤维素纤维上的表面特征)可能也适合于确保抗体缀合的粒子不移动通过测试条。也可以实施增加抗体缀合的粒子的摩擦系数的特征。因此,在超大粒子的背景下解释本公开内容的以下实施方式不应限于超大粒子。

[0120] 另外,根据本公开内容,可以实施除超大粒子之外或代替超大粒子的其他结构,以便将一定量的目标分析物保持在样品孔和/或标记区中,使得样品中的一部分分析物不会流至捕获区。在一个非限制性实例中,将过滤器放置在样品孔和捕获区(例如,在标记区处或附近)之间的流体流路中,以捕获恰巧开始朝捕获区移动的与分析物结合的超大粒子。过滤器可以是尺寸排除过滤器,允许选定尺寸或更小的流体和粒子通过,但不允许大于选定尺寸的粒子通过。过滤器中通孔的尺寸可以设计为允许与分析物结合的标记的剂和流体样品流过过滤器到达捕获区,但不允许超大粒子流过滤器,从而将目标分析物保持在过滤器上游。其他实施也是适合的。

[0121] 根据本公开内容的包括侧向流动测定的实例测试系统

[0122] 本文所述的侧向流动测定测试系统可以包括侧向流动测定测试装置(例如但不限于测试条)、包括配置为接收全部或部分测试装置的端口的壳体、包括光源和光检测器的读取器、数据分析器及其组合。壳体可以由多种材料中的任何一种制成,包括塑料、金属或复

合材料。壳体形成用于诊断测试系统组件的保护性外壳。壳体还限定了接收器，该接收器相对于读取器机械地登记 (register) 测试条。接收器可以被设计成接收多种不同类型的测试条中的任何一种。在一些实施方式中，壳体是便携式装置，其允许在多种环境中执行侧向流动测定的能力，包括在工作台上、在现场、在家里或在用于家庭、商业或环境应用的设施中。

[0123] 读取器可以包括一个或多个光电部件，用于光学检查测试条的捕获区的暴露区域。在一些实施中，读取器包括至少一个光源和至少一个光检测器。在一些实施方式中，光源可以包括半导体发光二极管，并且光检测器可以包括半导体光电二极管。根据测试条所使用的标记的性质，可以将光源设计为发出具体波长范围内的光或具有具体偏振的光。例如，如果标记是荧光标记，例如量子点，则光源将被设计为用诱发从标记荧光发射的波长范围内的光照亮测试条捕获区的暴露区域。类似地，光检测器可以被设计为选择性地捕获来自捕获区的暴露区域的光。例如，如果标记是荧光标记，则光检测器将被设计为选择性地捕获在由标记发出的荧光的波长范围内的光或具有具体偏振光的光。另一方面，如果标记是反射型标记，则光检测器将被设计为选择性地捕获在由光源发出的光的波长范围内的光。为此，光检测器可以包括一个或多个光学滤波器，该光学滤波器限定捕获的光的波长范围或偏振轴。可以使用如下分析来自标记的信号：视觉观察或分光光度计，以检测发色底物的颜色；辐射计数器，以检测辐射，例如用于检测¹²⁵I的伽玛计数器；或荧光计，以在某些波长的光存在下检测荧光。当使用酶联测定时，可以使用分光光度计执行目标分析物的量的定量分析。如果需要，本文所述的侧向流动测定可以是自动化的或自动进行的，并且可以同时检测来自多个样品的信号。此外，可以在多重测定中检测到多个信号，其中可以检测、鉴定或定量一种以上的目标分析物。

[0124] 数据分析器处理由读取器获得的信号测量值。一般地，数据分析器可以在任何计算或处理环境中实施，包括在数字电子电路或计算机硬件、固件或软件中。在一些实施方式中，数据分析器包括处理器（例如，微控制器、微处理器或ASIC）和模数转换器。数据分析器可以并入到诊断测试系统的壳体内。在其他实施方式中，数据分析器位于单独的装置（例如计算机）中，该装置可以通过有线或无线连接与诊断测试系统通信。数据分析器还可包括用于经由无线连接将结果传送到外部源以进行数据分析或查看结果的电路。

[0125] 一般地，结果指示器可以包括多种不同的机制中的任何一种，用于指示测定测试的一个或多个结果。在一些实施中，结果指示器包括一个或多个灯（例如，发光二极管），该灯被激活以指示例如测定测试的完成。在其他实施中，结果指示器包括字母数字显示器（例如，两个或三个字符的发光二极管阵列），用于呈现测定测试结果。

[0126] 本文描述的测试系统可以包括电源，该电源向包括读取器、数据分析器和结果指示器在内的诊断测试系统的有源部件供电。电源可以由例如可更换的电池或可再充电的电池来实施。在其他实施方式中，诊断测试系统可以由外部主机装置（例如，通过USB电缆连接的计算机）供电。

[0127] 实例侧向流动装置的特征

[0128] 本文所述的侧向流动装置可包括样品池（也称为样品接收区），在这里将流体样品引入测试条，例如但不限于侧向流动装置中存在的免疫色谱测试条。在一个实例中，可以通过如使用滴管或其他施加器的外部施加将样品引入到样品池中。可以将样品倒入或放入（express）样品池中。在另一个实例中，例如当将测试条浸入容纳样品的容器中时，样品池

可以直接沉浸入样品中。

[0129] 本文所述的侧向流动装置可包括固体支持物或基底。适合的固体支持物包括但不限于硝酸纤维素、反应托盘的孔的壁、多孔板、试管、聚苯乙烯珠、磁珠、膜和微粒(例如胶乳粒子)。具有足够的孔隙率以允许标记的剂进入并具有适合的表面亲和力以固定捕获剂的任何适合的多孔材料可以用于本文所述的侧向流动装置中。例如，硝化纤维素的多孔结构对多种试剂(例如捕获剂)具有优异的吸收和吸附质量。尼龙拥有类似的特性，并且也是适合的。微孔结构是有用的，在水合状态下具有凝胶结构的材料也是有用的。

[0130] 有用的固体支持物的进一步实例包括：天然聚合物碳水化合物及其合成改性的、交联或取代的衍生物，例如琼脂、琼脂糖、交联的藻酸、取代和交联的瓜尔胶、纤维素酯(具体地具有硝酸和羧酸)、混合纤维素酯和纤维素醚；含氮的天然聚合物，例如蛋白质及衍生物，包括交联或改性的明胶；天然烃聚合物，例如乳胶和橡胶；可以用适当的多孔结构制备的合成聚合物，例如乙烯基聚合物，包括聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚乙酸乙烯酯及其部分水解的衍生物、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸甲酯、上述缩聚物的共聚物和三元共聚物，例如聚酯、聚酰胺以及其他聚合物，例如聚氨酯或聚环氧化合物；多孔无机材料，例如碱土金属和镁的硫酸盐或碳酸盐，包括硫酸钡、硫酸钙、碳酸钙，碱和碱土金属、铝和镁的硅酸盐；铝或硅的氧化物或水合物，例如粘土、氧化铝、滑石、高岭土、沸石、硅胶或玻璃(这些材料可与上述聚合物材料一起用作过滤器)；以及以上种类的混合物或共聚物，例如通过在现有天然聚合物上引发合成聚合物的聚合而获得的接枝共聚物。

[0131] 本文所述的侧向流动装置可包括片或条形式的多孔固体支持物，例如硝化纤维素。这样的片或条的厚度可以在很宽的限制内变化，例如，从约0.01至0.5毫米、从约0.02至0.45毫米、从约0.05至0.3毫米、从约0.075至0.25毫米、从约0.1至0.2毫米、或从约0.11至0.15毫米。此类片或条的孔径可类似地在很宽的限制内变化，例如从约0.025至15微米，或更具体地从约0.1至3微米；然而，孔径不旨在成为选择固体支持物的限制因素。如果适用，固体支持物的流速也可以在很宽的限制内变化，例如从约12.5至90秒/厘米(例如50至300秒/4厘米)、约22.5至62.5秒/厘米(例如，90至250秒/4厘米)、约25至62.5秒/厘米(例如，100至250秒/4厘米)、约37.5至62.5秒/厘米(例如，150至250秒/4厘米)、或约50至62.5秒/厘米(例如，200至250秒/4厘米)。在本文描述的装置的具体实施方式中，流速为约35秒/厘米(例如，140秒/4厘米)。在本文描述的装置的其他具体实施方式中，流速为约37.5秒/厘米(例如150秒/4厘米)。

[0132] 固体支持物的表面可以通过引起剂(例如捕获试剂)与支持物共价连接的化学过程而活化。如下所述，固体支持物可包括缀合物垫。可以使用许多其他物适合的方法将剂(例如捕获剂)固定至固体支持物，包括但不限于离子相互作用、疏水相互作用、共价相互作用等。

[0133] 除非由于另外的物理限制，固体支持物可以以任何适合的形状使用，例如膜、片、条或板，或者可以将其涂覆或粘合或层压到合适的惰性载体例如纸、玻璃、塑料薄膜或织物上。

[0134] 本文所述的侧向流动装置可包括缀合物垫，例如膜或其他类型的材料，其包含捕获试剂。缀合物垫可以是醋酸纤维素、硝酸纤维素、聚酰胺、聚碳酸酯、玻璃纤维、膜、聚醚砜、再生纤维素(RC)、聚四氟乙烯(PTFE)、聚酯(例如聚对苯二甲酸乙二醇酯)、聚碳酸酯(例

如4,4-羟基-二苯基-2,2'-丙烷)、氧化铝、混合纤维素酯(例如,醋酸纤维素和硝酸纤维素的混合物)、尼龙(例如、聚酰胺、六亚甲基二胺和尼龙66)、聚丙烯、PVDF、高密度聚乙烯(HDPE)+成核剂“二苯甲酸铝”(DBS)(例如80u 0.024HDPE DBS(Porex))和HDPE。缀合物垫的实例还包括Cyclopore®(聚对苯二甲酸乙二醇酯)、Nucleopore®(聚对苯二甲酸乙二醇酯)、Membra-Fil®(醋酸纤维素和硝酸纤维素)、Whatman®(醋酸纤维素和硝酸纤维素)、Whatman#12-S(人造丝)、Anopore®(氧化铝)、Anodisc®(氧化铝)、Sartorius(醋酸纤维素,例如5μm)和Whatman Standard 17(结合玻璃)。

[0135] 本文所述的侧向流动装置对样品中以高浓度存在的目标分析物高度灵敏。如上所述,当样品中未标记的目标分析物的存在量足以与标记的化合物竞争以结合至捕获区中的捕获剂时,从而导致在剂量响应曲线的负斜率部分上(例如,在常规夹心型侧向流动测定的剂量响应曲线的“钩状效应”部分上或根据本公开内容的侧向流动测定的剂量响应曲线的负斜率部分上)的检测到的信号,就存在高浓度。“灵敏度”是指正确鉴定为此的实际阳性的比例(例如,被正确鉴定为患有状况的感染、潜伏或有症状受试者的百分比)。可以将灵敏度计算为真阳性的数量除以真阳性的数量和假阴性的数量的和。

[0136] 本文所述的侧向流动装置可以准确地测量许多不同种类样品中的目标分析物。样品可以包括从任何来源获得的样本或培养物,以及生物和环境样品。生物样品可以从动物(包括人类)获得,并且包括流体、固体、组织和气体。生物样品包括尿液、唾液和血液产品,例如血浆、血清等。然而,这些实例不应被解释为限制适用于本公开内容的样品类型。

[0137] 在一些实施方式中,样品是用于检测环境中的分析物的环境样品。在一些实施方式中、样品是来自受试者的生物样品。在一些实施方式中、生物样品可以包括外周血、血清、血浆、腹水、尿液、脑脊液(CSF)、痰、唾液、骨髓、滑液、房水、羊水、耵聍、母乳、支气管肺泡灌洗液、精液(包括前列腺液)、考珀液或射精前液、女性射精液、汗液、粪便、头发、眼泪、囊肿液、胸膜和腹膜液、心包液、淋巴液、食糜、乳糜、胆汁、间质液、月经、脓液、皮脂、呕吐物、阴道分泌物、粘膜分泌物、粪便水、胰液、来自窦腔的灌洗液、支气管肺抽吸物或其他灌洗液。

[0138] 如本文所用,“分析物”一般地是指待检测的物质。例如,分析物可包括抗原性物质、半抗原、抗体及其组合。分析物包括但不限于毒素、有机化合物、蛋白质、肽、微生物、氨基酸、核酸、激素、类固醇、维生素、药物(包括用于治疗目的那些药物以及用于非法目的那些药物)、药物中间体或副产物、细菌、病毒粒子和任何上述物质的代谢产物或抗体。一些分析物的具体实例包括铁蛋白;肌酸激酶MB(CK-MB);人绒毛膜促性腺激素(hCG);地高辛;苯妥英;苯巴比妥;卡马西平;万古霉素;庆大霉素;茶碱;丙戊酸;奎尼丁;黄体生成激素(LH);促卵泡激素(FSH);雌二醇、孕酮;C反应蛋白(CRP);脂蛋白;IgE抗体;细胞因子;TNF相关凋亡诱导配体(TRAIL);维生素B2微球蛋白;γ干扰素诱导蛋白10(IP-10);糖化血红蛋白(Gly Hb);皮质醇;洋地黄毒;N-乙酰普鲁卡因胺(NAPA);普鲁卡因胺;风疹抗体,例如风疹IgG和风疹IgM;弓形体病抗体,例如弓形体病IgG(Toxo-IgG)和弓形体病IgM(Toxo-IgM);睾酮;水杨酸盐;对乙酰氨基酚;乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg);乙肝核心抗原的抗体,例如抗乙肝核心抗原IgG和IgM(抗HBC);人类免疫缺陷病毒1和2(HIV 1和2);人T细胞白血病病毒1和2(HTLV);乙型肝炎e抗原(HBeAg);乙型肝炎e抗原的抗体(抗HBe);流感病毒;促甲状腺激素(TSH);甲状腺素(T4);总三碘甲状腺原氨酸(总T3);游离三碘甲状腺原氨酸(游离T3);癌胚抗原(CEA);脂蛋白、胆固醇和甘油三酯;和甲胎蛋白(AFP)。滥用药物和管制药物

包括但不限于安非他命；甲基安非他命；巴比妥类，例如异戊巴比妥、司可巴比妥、戊巴比妥、苯巴比妥和巴比妥；苯二氮䓬类，例如利眠宁和安定；大麻素，例如印度大麻制剂和大麻；可卡因；芬太尼；LSD；甲喹酮；阿片类，例如海洛因、吗啡、可待因、氢吗啡酮、氢可酮、美沙酮、羟考酮、羟吗啡酮和鸦片；苯环利定；和丙氧酚 (propoxyphene)。为了目标生物或环境物质的目的，可以包括额外的分析物。

[0139] 本文所述的侧向流动装置可包括标记。标记可以采取许多不同的形式，包括结合或能够结合可通过光谱、光化学、生物化学、免疫化学、电、光学或化学手段检测到的分析物、分析物类似物、检测器试剂或结合伴侣的分子或组合物。标记的实例包括酶、胶体金属粒子（也称为金属纳米粒子，包括例如金、银、铜、钯、铂、镉或其复合材料）、彩色乳胶粒子、放射性同位素、辅因子、配体、化学发光或荧光剂、蛋白质吸附的银粒子、蛋白质吸附的铁粒子、蛋白质吸附的铜粒子、蛋白质吸附的硒粒子、蛋白质吸附的硫粒子、蛋白质吸附的碲粒子、蛋白质吸附的碳粒子和蛋白质偶联的染料囊。化合物（例如，检测器试剂）与标记的附接可以通过共价键、吸附过程、疏水键和/或静电键（如螯合物中等）或这些键和相互作用的组合和/或可能涉及连接基团。

[0140] 术语“特异性结合伴侣（或结合伴侣）”是指通过依赖于所涉及分子的三维结构的特异性、非共价相互作用而相互作用的一对分子的成员。典型的特异性结合伴侣对包括抗原/抗体、半抗原/抗体、激素/受体、核酸链/互补核酸链、底物/酶、抑制剂/酶、碳水化合物/凝集素、生物素/（链霉）亲和素、受体/配体和病毒/细胞受体或其多种组合。

[0141] 如本文所用，术语“免疫球蛋白”或“抗体”是指结合特异性抗原的蛋白质。免疫球蛋白包括但不限于多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、Fab片段、F(ab')₂片段，并包括以下类别的免疫球蛋白：IgG、IgA、IgM、IgD、IgE和分泌型免疫球蛋白（sIg）。免疫球蛋白通常包含两条相同的重链和两条轻链。但是，术语“抗体”和“免疫球蛋白”也涵盖单链抗体和双链抗体。

[0142] 本文所述的侧向流动装置包括标记的剂。标记的剂可以对分析物具有特异性。在一些实施方式中，标记的剂可以是已经与标记缀合、结合或缔合的抗体或其片段。

[0143] 根据本公开内容的侧向流动装置包括捕获剂。捕获剂包括能够与分析物结合的固定的剂，其包括标记-剂-分析物复合物。捕获剂包括未标记的特异性结合伴侣，该结合伴侣对以下具有特异性 (i) 目的标记-剂-分析物复合物、(ii) 标记-剂-分析物复合物或未结合的分析物（如在竞争性测定中）或 (iii) 辅助特异性结合伴侣，其本身对分析物具有特异性，例如在间接测定中。如本文所用，“辅助特异性结合伴侣”是与分析物的特异性结合伴侣结合的特异性结合伴侣。例如，辅助特异性结合伴侣可以包括对另一抗体具有特异性的抗体，例如山羊抗人抗体。本文所述的侧向流动装置可以包括“捕获区域”，其是侧向流动装置的固定捕获试剂的区域。本文所述的侧向流动装置可以包括一个以上的捕获区域，例如，“初级捕获区域”、“次级捕获区域”等等。在一些情况中，将不同的捕获试剂固定在初级、次级和其他捕获区域中。在侧向流动基底上，多个捕获区域可以相对于彼此具有任何取向；例如，初级捕获区域可以沿着流体流路在次级（或其他）捕获区域的远端或近端，反之亦然。可选地，初级捕获区域和次级（或其他）捕获区域可以沿着垂直于流体流路的轴线对齐，使得流体同时或大约同时接触捕获区域。

[0144] 根据本公开内容的侧向流动装置包括被固定的捕获剂，使得在侧向流动装置的正

常操作期间捕获剂的运动受到限制。例如,在将流体样品施加至侧向流动装置之前和之后,固定的捕获剂的运动受到限制。捕获剂的固定的可以通过物理手段来完成,例如屏障、静电相互作用、氢键、生物亲和力、共价相互作用或其组合。

[0145] 根据本公开内容的侧向流动装置可以包括多重测定。多重测定包括可以检测、鉴定和在一些情况中量化多种不同的目标分析物的测定。例如,在多重测定装置中,可以存在初级的、次级的或更多的捕获区域,每个捕获区域对于多种目标分析物中的一种目标分析物具有特异性。

[0146] 根据本公开内容的侧向流动装置可以检测、鉴定和量化生物制剂。生物制剂包括由活生物体产生的化学或生化化合物,其可以包括原核细胞系、真核细胞系、哺乳动物细胞系、微生物细胞系、昆虫细胞系、植物细胞系、混合细胞系、天然存在的细胞系或合成工程化细胞系。生物制剂可以包括大分子,例如蛋白质、多糖、脂质和核酸、以及小分子,例如初级代谢产物、次级代谢产物和天然产物。

[0147] 应该理解的是,本说明书、具体实例和数据,虽然指示示例性实施方式,但是通过说明的方式给出的,并且不旨在限制本公开内容的多种实施方式。从本说明书和其中包含的数据,本公开内容内的多种改变和修改对于本领域技术人员而言将变得显而易见,因此被认为是本公开内容的多种实施方式的一部分。

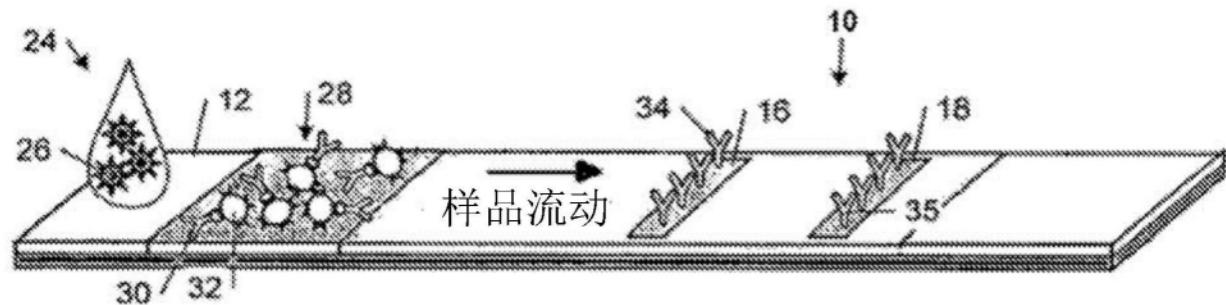


图1A

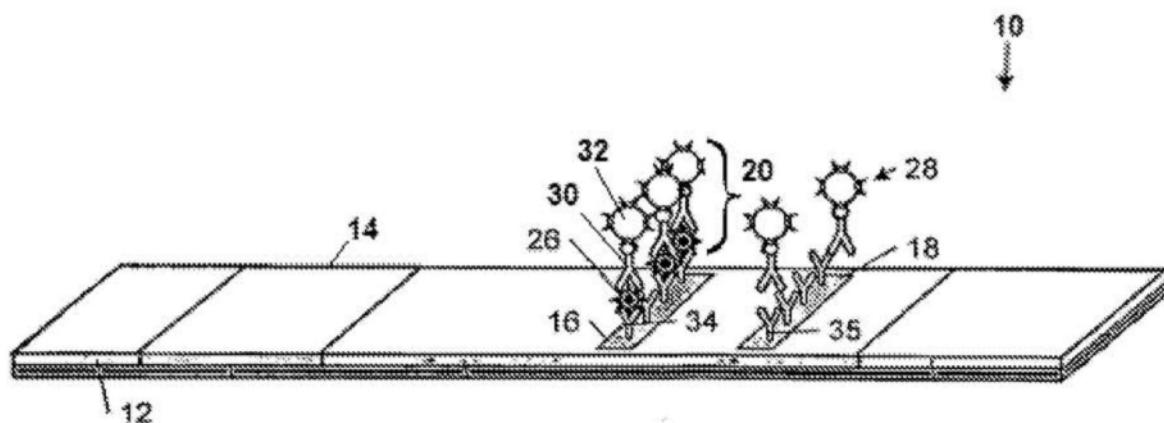


图1B

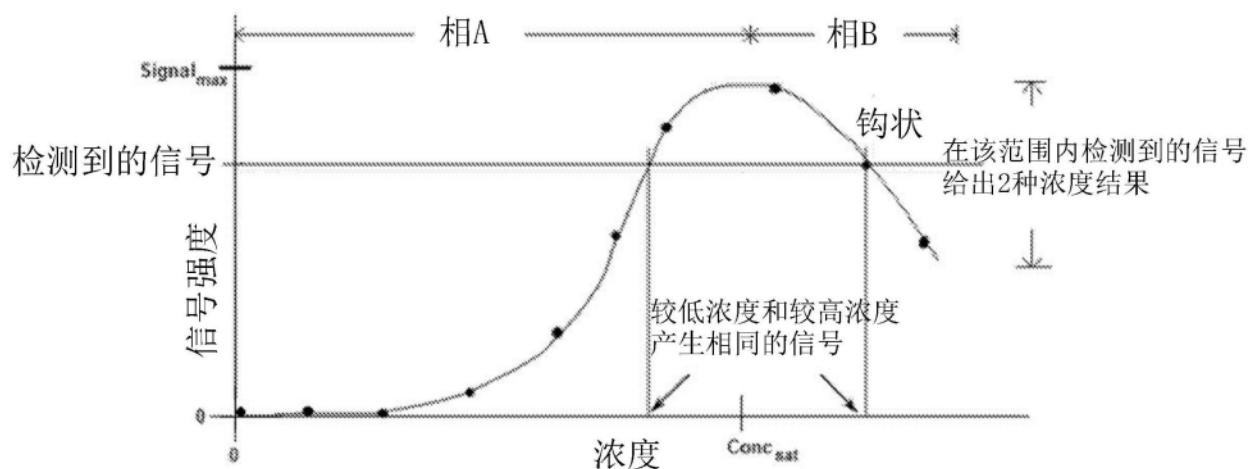


图2

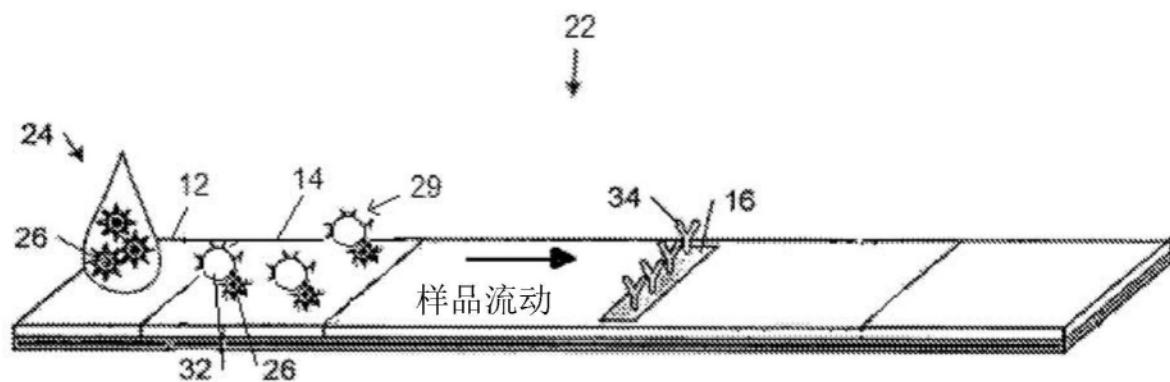


图3A

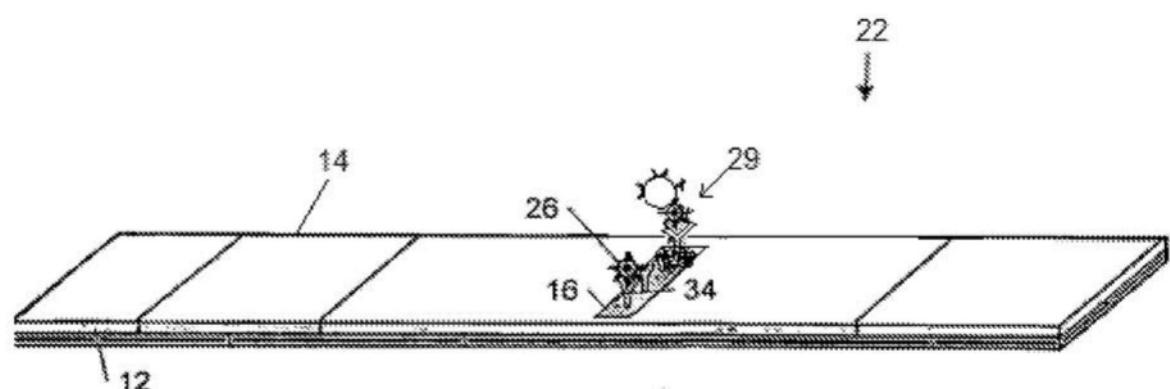


图3B

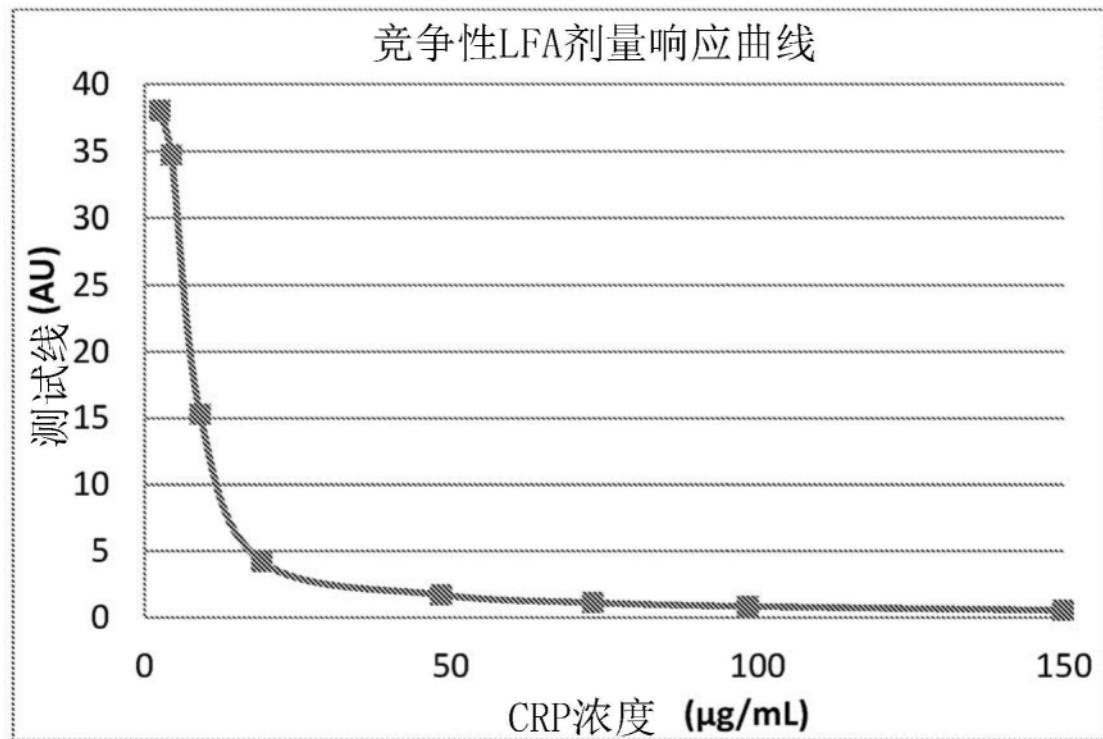


图4

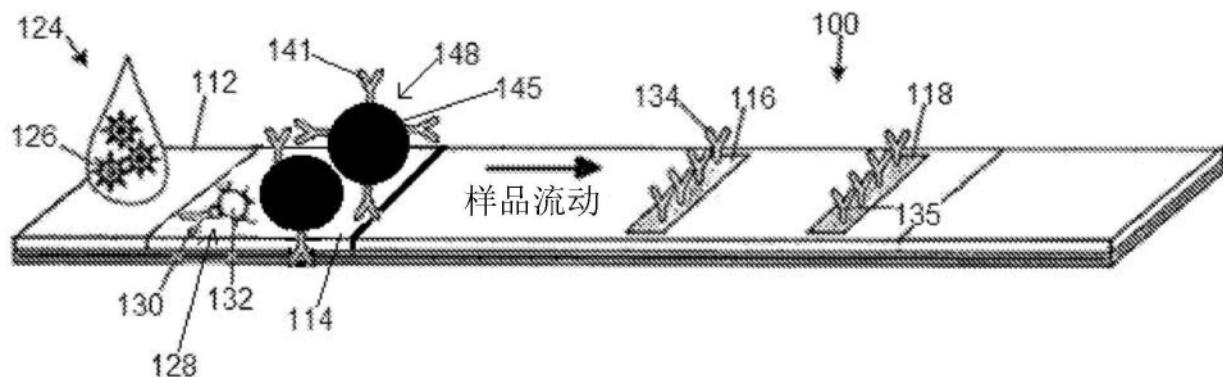


图5A

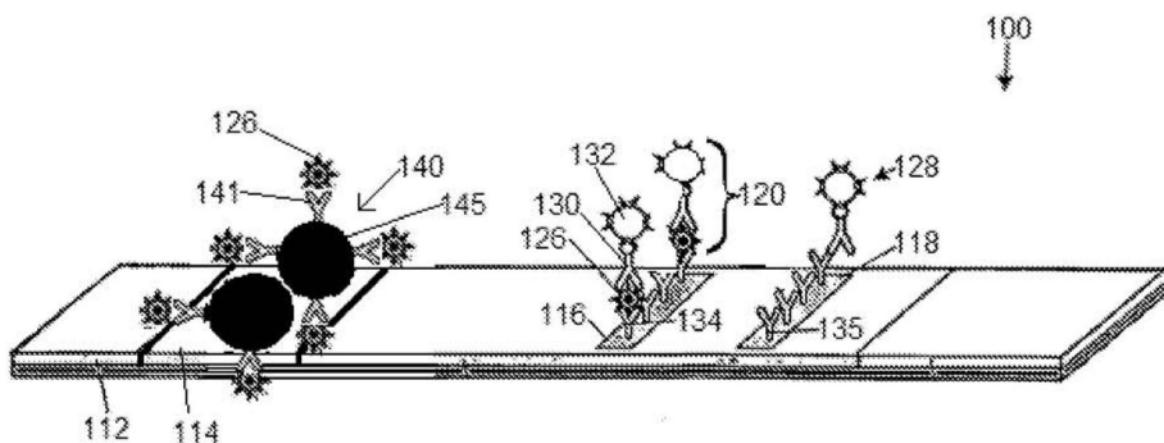


图5B

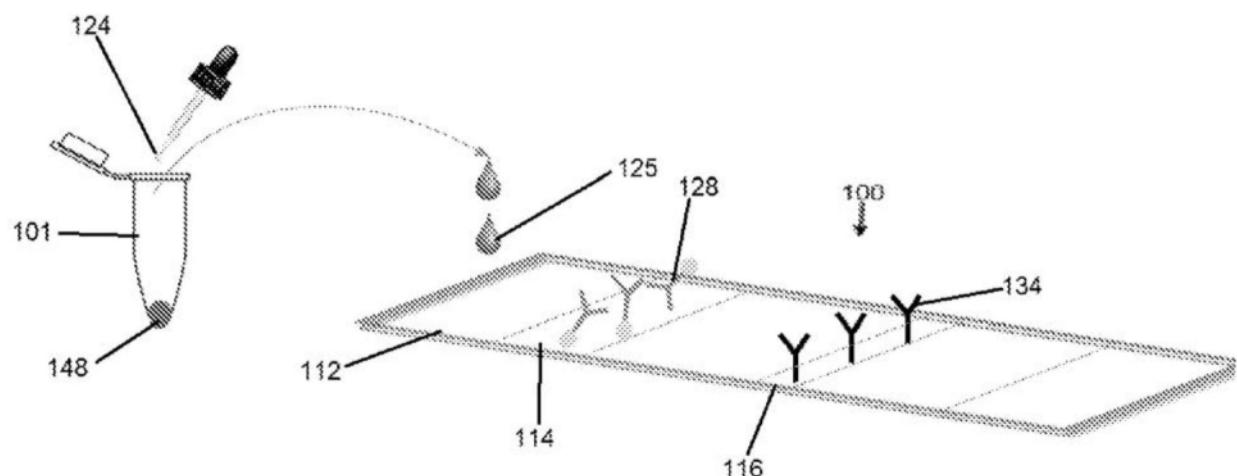


图6

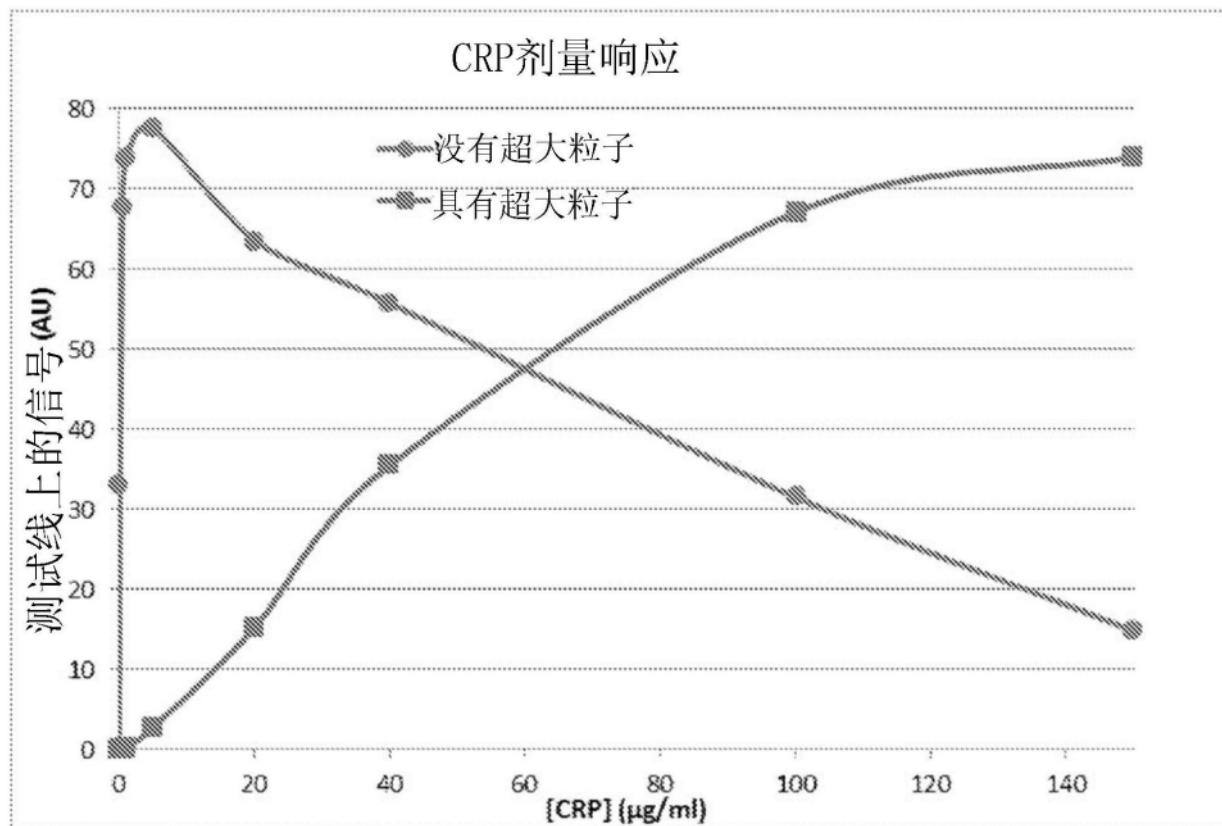


图7