



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101517413 B

(45) 授权公告日 2013. 11. 06

(21) 申请号 200780035722. 9

(22) 申请日 2007. 09. 27

(30) 优先权数据

06020219. 9 2006. 09. 27 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 03. 26

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2007/008419 2007. 09. 27

(87) PCT申请的公布数据

W02008/037469 DE 2008. 04. 03

(73) 专利权人 霍夫曼 - 拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 C·博姆 N·奥兰思 J·斯平克

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 石克虎 林森

(51) Int. Cl.

G01N 33/543 (2006. 01)

B01L 3/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 02/074438 A2, 2002. 09. 26, 全文.

US 2003/0207457 A1, 2003. 11. 06, 全文.

US 2005/0109396 A1, 2005. 05. 26, 全文.

US 2004/0265171 A1, 2004. 12. 30, 第 [0001], [0034], [0056], [0058] - [0061], 图 1-2.

审查员 张锦广

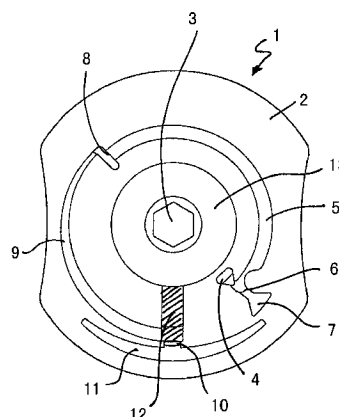
权利要求书2页 说明书14页 附图10页

(54) 发明名称

可旋转的测试元件

(57) 摘要

本发明涉及基本为盘形且扁平的测试元件, 其能够绕垂直于该盘形测试元件平面的优选位于中心的轴旋转, 其包含用于施加液体样品的样品施加开口、毛细活性区域 (特别是多孔吸收性基体), 所述毛细活性区域 (特别是多孔吸收性基体) 具有远离轴的第一端和靠近轴的第二端, 以及从所述毛细活性区域的靠近轴的区域延伸到远离轴的第一端的样品通道。另外, 本发明还涉及利用所述测试元件的帮助来测定分析物的方法。



1. 基本为盘形的测试元件 (1), 包括
 - 在该测试元件内的轴, 其垂直于所述测试元件的平面, 并且测试元件可绕该轴旋转, 其中所述旋转轴穿过所述测试元件的中心;
 - 用于施加液体样品的样品施加开口 (4),
 - 毛细活性区域, 其具有远离轴的第一端和靠近轴的第二端, 其中所述毛细活性区域是多孔吸收性基体 (12) 并包括一个或多个含固定化试剂的区域; 以及
 - 从所述样品施加开口经靠近轴的区域延伸到所述毛细活性区域的远离轴的第一端的样品通道 (9)。
2. 根据权利要求 1 的测试元件, 其特征在于:
所述样品施加开口靠近轴, 而所述样品通道从靠近轴的样品施加开口延伸到毛细活性区域的远离轴的第一端。
3. 根据权利要求 1 的测试元件, 其特征在于:
所述样品施加开口远离轴并通过毛细通道与靠近轴的区域相连。
4. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述毛细活性区域是纸、膜或无纺布。
5. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述毛细活性区域借助所述靠近轴的第二端与能够接收来自所述毛细活性区域的一种或多种液体的其它吸收性材料 (13) 或吸收性结构相接触。
6. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述样品通道包含不同尺寸和 / 或用于不同功能的区域。
7. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述样品通道包括含有可溶试剂的区域。
8. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述样品通道包含用于从液体样品分离颗粒状成分的区域。
9. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述样品通道包含几何阀或疏水阻隔物。
10. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述样品通道包含样品计量区域。
11. 根据权利要求 1-3 之一的测试元件, 其特征在于所述样品通道具有用于除样品液体之外的其它液体的入口。
12. 根据权利要求 1 到 3 之一的测试元件, 其特征在于所述样品施加开口与 样品计量区域 (5) 和用于过量样品的区域 (7) 相接触, 并且毛细挡块 (6) 存在于所述样品计量区域和所述用于过量样品的区域之间。
13. 用于检测液体样品中分析物的方法, 其中
 - 将样品施加到根据权利要求 1 到 12 之一的测试元件的样品施加开口中,
 - 旋转所述测试元件, 使得将所述样品输送到所述毛细活性区域的远离轴的末端,
 - 减慢或停止所述测试元件的旋转, 使得所述样品或当流经所述测试元件时由所述样品获得的材料从所述毛细活性区域的远离轴的末端到靠近轴的末端地进行吸收; 以及
 - 在所述毛细活性区域或其下游区域内视觉或光学检测所述分析物。
14. 根据权利要求 13 的方法, 其特征在于:

在所述测试元件旋转之后,将其它液体施加到所述测试元件上,其在所述样品从所述毛细活性区域的远离轴的末端到靠近轴的末端之后被吸收。

15. 根据权利要求 13 或 14 的方法,其特征在于:

所述液体样品和 / 或其它液体的迁移通过所述毛细活性区域通过所述测试元件的旋转而有目的地减慢或停止。

16. 根据权利要求 15 的方法,其特征在于:

所述液体样品和 / 或其它液体的通过所述毛细活性区域的迁移方向通过所述测试元件的旋转而逆转。

17. 用于测定液体样品中分析物的系统,包括根据权利要求 1 到 12 之一的测试元件和测量装置,其中所述测量装置具有:

- 至少一个用于驱动所述测试元件旋转的驱动器,以及
- 用于评估所述测试元件的视觉或光学信号的评估光学元件。

18. 根据权利要求 1 到 12 之一的测试元件或根据权利要求 17 的系统用于测定液体样品中分析物的用途。

可旋转的测试元件

[0001] 本发明涉及基本为盘形且扁平的测试元件,其能够绕垂直于该盘形测试元件平面的优选位于中心的轴旋转,其包含用于施加液体样品的样品施加开口、毛细活性区域(特别是多孔吸收性基体),以及从所述样品施加开口延伸到毛细活性区域的样品通道。另外,本发明还涉及利用所述测试元件的帮助来测定分析物的方法。

[0002] 原则上,所述用于分析液体样品材料或者能被转化成液体形式的样品材料的系统可分为两类:一方面,是专门使用所谓湿试剂操作的分析系统,另一方面,是使用所谓干试剂操作的系统。特别是,在医疗诊断还有环境分析和过程分析中,前一种系统主要用于固定安装的实验室,而后一种系统主要用于“现场”分析领域。

[0003] 使用干试剂的分析系统通常提供于医疗诊断领域中,特别是呈所谓测试载体的形式,例如测试条带。其突出实例有用于测定血糖值的测试条带或用于尿液分析的测试条带。这种测试载体通常集成了数种功能(例如存放干燥形式或者(但较少见地有)溶液中的试剂;分离不合意的样品成分,特别是从全血中分离红细胞;在免疫测定所谓无结合分离(Bound-Free-Trennung)的情况下;计量添加样品的体积;将样品液体从装置外输送到装置内部;控制各个反应步骤的时序,等等)。其中,所述样品输送的功能通常借助吸收性材料(例如纸或无纺布(Vliese))装置,借助毛细通道或通过使用外部驱动力(例如压力、吸取力)或者借助离心力实现。盘形测试载体,即所谓的实验盘片或光学生物盘片(optisch BioDisc),通过离心力的方式实现受控样品输送的理念。这种盘形的、光盘状测试载体通过采用微流体性结构实现了小型化,同时通过将相同的结构重复施加于对一个样品的类似分析或对不同样品的相同分析的平行处理中,使得处理过程能够并行实施。特别在光学生物盘片领域,可以将用于识别测试载体或用于控制分析系统的光学储存数字数据集成在所述光学生物盘片上。

[0004] 除了小型化和并行化分析以及在光盘上集成数字数据之外,光学生物盘片通常还具有能够通过已建立的制造方法来制造且能通过已建立的评价技术来测定的优点。在这类光学生物盘片具有化学和生化成分的情况下,通常可以利用已知的化学和生化成分。完全基于离心和毛细作用力的所述实验室盘片或生物盘片的缺点在于很难固定化试剂并且有损检测精度。特别是在基于特异性结合反应的检测系统的情况下,例如免疫测定中,与常规测试条带系统相比,没有容积部件,尤其是在所谓的无结合分离中。

[0005] 因此,人们近来在免疫测定领域进行了尝试,以建立常规测试条带和生物盘片的混合方式。这导致在这一方面具有用于液体输送的通道和类通道的结构,另一方面具有在这些结构中(至少部分地)大体积的吸收性材料的生物盘片。

[0006] WO 2005/001429(Phan 等人)描述了在部分通道系统中具有膜件作为试剂载体的光学生物盘片。所述试剂溶解于供入该盘片的液体中,从而形成于缓冲试剂溶液中,然后使其与所述样品接触。

[0007] 由 WO 2005/009581(Randall 等人)已知这样的光学生物盘片,其包含吸收膜或纸,用以移动样品液体、分离颗粒状样品成分、携带试剂或分析样品。所述样品首先施加到靠近所述生物盘片外边缘的血液分离膜上,并径向通过该膜移动到设置在靠近该生物盘片

中心的试纸上。之后,所述样品进而径向向外移动,即,远离所述生物盘片的中心并流动通过所谓的分析膜。在此情况下所述向外的移动通过色谱方式进行,其受所述生物盘片的旋转和由此作用于样品上的离心力的支持。

[0008] US 2002/0076354A1 (Cohen) 公开了除用于输送液体样品的通道系统之外,还具有所谓的“捕获层”的光学生物盘片。后一部件例如,可由硝酸纤维素构成。当盘片旋转时,在离心力的帮助下流动通过该“捕获层”。

[0009] US 2005/0014249 (Staimer 等人) 和 US 2005/0037484 (Staimer 等人) 描述了具有集成到通道中用作色谱分离介质的多孔材料的光学生物盘片。通过离心力迫使样品液体从中心附近的样品施加位点向外通过所述分离介质,在通过过滤器之后,接着进而在通道中径向向内流动。

[0010] US 2004/0265171 (Pugia 等人) 描述了具有液体通道的测试元件,其中样品液体通过毛细作用力和离心力的相互作用进行输送。可以在液体通道内提供硝酸纤维素条带,其携带着与分析物反应并由此可导致形成所谓的带的凝集试剂,所述带可最后进行光学测量并用于确定所述样品中的分析物浓度。借助所述硝酸纤维素条带使得样品液体既能平行于离心力又能逆向于离心力的方式输送,尤其是当用其它吸收性材料,例如吸收性硝酸纤维素纸,来帮助所述吸引作用时。

[0011] WO 99/58245 (Larsson 等人) 描述了微流体测试元件,其中液体的运动受到不同表面性质,例如不同亲水性的不同表面的控制。

[0012] US 5242606 (Braynin 等人) 公开了用于离心的圆形盘状转子,其配备有用于输送样品液体的通道和腔室。

[0013] 现有技术概念的缺点在于,不可能有意识地控制样品液体在容纳试剂后并当其流入所述多孔吸收性基体之后的反应时间和停留时间,尤其是对于特异性结合测定来说,例如免疫测定。

[0014] 本发明的目的在于克服上述现有技术的缺点。

[0015] 所述目的通过本发明的主题来实现。

[0016] 本发明的主题是根据权利要求 1 或 14 的测试元件,根据权利要求 19 的测量系统,根据权利要求 20 的该测量系统用途,以及根据权利要求 15 的方法。本发明有利的改进方案和优选的实施方案是从属专利权利要求的主题。

[0017] 根据本发明的测试元件基本上为盘形和扁平的。其可以绕着测试元件内垂直于该盘形测试元件平面的优选为中心的轴旋转。所述测试元件典型地为与光盘相当的圆形盘。然而,本发明并不限于这种盘的形式,而是还可以容易地用于非对称或非圆形的盘片。

[0018] 至于部件,所述测试元件首先包含样品施加开口,液体样品可以移液到或以其它方式引入所述开口。所述样品施加开口可以在轴的附近(即所述盘片的中心附近)或者远离轴(即在所述盘片的边缘附近)。在样品施加开口远离轴的情况下,所述测试元件包含至少一个通道,其可通过毛细作用力的方式将液体样品从远离轴的位置输送到在靠近轴的位置。

[0019] 其中,所述样品施加开口可以直接通到样品通道中。然而,所述样品施加开口也可以首先通到位于其后部的储液池中,所述样品在进一步流进样品通道之前流入所述储液池中。通过合适的选择参数 (Dimensionierung) 可以确保样品无需进一步的附加工序就能从

所述样品施加开口流入之后的流体性结构中。这可能需要对所述流体性结构表面进行亲水化处理和 / 或采用促进毛细作用力形成的结构。然而,也可以在外力作用,优选离心力作用于其上之后,才从样品施加开口填充根据本发明的测试元件的流体性结构。

[0020] 所述测试元件另外包括尤其是呈多孔吸收基体或毛细通道形式的毛细活性区域,该毛细活性区域可容纳至少部分液体样品。所述毛细活性区域具有远离轴的第一端和靠近轴的第二端。

[0021] 此外,所述测试元件还具有样品通道,其从所述样品施加开口延伸到所述毛细活性区域的远离轴的第一端,特别是到达所述多孔吸收基体。在这种情况下,所述样品通道至少一次通过靠近轴的区域,所述区域比毛细活性区域的远离轴的第一端更接近于优选位于中心的轴。

[0022] 本发明的测试元件的重要特征在于,毛细活性区域,特别是所述多孔吸收基体具有靠近轴的第二端。毛细活性区域的远离轴的第一端与样品通道相接触,在该通道中所述样品可以通过毛细作用力和 / 或离心力和 / 或其它外部作用力,例如过压或负压的方式移动。一旦液体样品到达所述毛细活性区远离轴的第一端时,任选地在容纳试剂和 / 或稀释介质和 / 或预反应发生之后,其就进入所述区域并通过毛细作用力(在多孔吸收基体的情况下,也可以称为吸取力)输送通过所述区域。

[0023] 所述毛细活性区域典型地为多孔吸收基体,特别是纸、膜或无纺布。

[0024] 所述毛细活性区域,特别是所述多孔吸收基体通常包括一个或多个含固定化试剂的区域。

[0025] 特异性结合试剂,例如特异性结合配对物,例如抗原、抗体、(聚)半抗原、链亲合素、聚链亲和素、配体、受体、核酸链(捕获探针)等等典型地固定在所述毛细活性区域内,特别是所述多孔吸收基体内。其用于有目的地捕获来自流过所述毛细活性区的样品中的分析物或者衍生自所述分析物或与所述分析物有关的物质。这些结合配对物可以以线、点、图案的方式固定于所述毛细活性区域的材料中或上,或者其可以间接结合于所述毛细活性区域,例如通过所谓的珠粒的方式。因此,例如在免疫测定的情况下,针对分析物的抗体可以被固定在所述毛细活性区域的表面上或多孔吸收基体中,然后其捕获来自样品的分析物(在此情况下为抗原或半抗原),并也将其固定在所述毛细活性区域中,例如所述吸收基体中。在这种情况下,所述分析物可以通过进一步反应制成可检测的,例如通过另外使其接触经标识的可结合配对物,例如通过可在视觉、光学或荧光光学上检测到的标记。

[0026] 在根据本发明的测试元件的优选实施方案中,所述毛细活性区域(尤其是多孔吸收基体)藉由靠近轴的第二端邻接其它的吸收性材料或者吸收性结构,使其能容纳来自所述区域的液体。为此所述多孔吸收基体以及其它的材料典型地是稍有重叠。所述其它材料或其它吸收性结构一方面用于帮助所述毛细活性区域特别是所述多孔吸收性基体的吸取作用,另一方面用作对已经通过所述毛细活性区域的液体的容纳区域。其中,所述其它材料可由与所述基体相同的材料或不同的材料构成。例如,所述基体可以为膜,所述其它吸收性材料可以为无纺布(Vlies)或纸。当然其它的组合同样可以。

[0027] 根据本发明的测试元件在优选的实施方案中特征在于,所述样品通道包括不同尺寸和 / 或用于不同功能的区域。例如,所述样品通道可包含含有可溶于样品中或可悬浮于样品中的试剂。当液体样品流入或通过所述通道时,这些试剂可以溶解或悬浮于液体样品

中,并可以与样品中的分析物或其它样品成分反应。

[0028] 所述样品通道中的不同区域的区别也可在于有些区域具有毛细活性而有些不具有毛细活性。而且,可以有些区域具有高亲水性而有些具有低亲水性。所述各个区域可以近乎无缝地彼此合并在一起或者通过特定的阻隔物,例如阀门,特别是非封闭阀例如几何阀或疏水性阻隔物而相互分离。

[0029] 所述样品通道中的试剂优选以干燥或冻干的形式存在。然而,所述试剂也可以以液体的形式存在于根据本发明测试元件中。

[0030] 所述试剂可以以已知的方式引入测试元件中。所述测试元件优选含有至少两层,也即其中引入流体性结构的底层以及除了液体入口开口和通气开口之外通常不含有其它结构的盖层。在该测试装置的制造过程中试剂的引入通常在将所述测试元件的上部件(盖层)安装到下部件(底层)上之前进行。此时所述流体性结构呈敞开方式位于所述底层中,使得试剂可以以液体或干燥的形式毫无问题地计量添加。其中,所述试剂可以例如通过通过压力或分散的方式被引入。然而,也可以通过将其注入插在所述测试元件中的吸收性材料,例如纸、无纺布或膜的方式将试剂引入所述测试元件。在放好试剂并插入吸收性材料,例如多孔吸收基体(膜)及任选的其它吸收性材料(废无纺布等)之后,将所述测试元件的上部件和下部件结合到一起,例如夹住、焊接、胶粘等方式。

[0031] 或者,除了所述流体性结构之外,所述底层还可以具有用于液体的入口开口和排气开口。在此情况下,所述盖层可以以除任选的中心用于接收驱动单元的开口之外没有其它开口的方式完整形成。在此情况下,特别是所述上部件可以简单地由胶粘到所述下部件或与其焊接的塑料箔构成。

[0032] 所述样品通道通常包含用于分离液体样品中颗粒状成分的区域。尤其是如果血液或含细胞成分的其它体液用作样品材料时,该区域用于分离所述细胞样品成分。因此,通过由血液分离尤其是红细胞(红血球)可以获得通常比颜色浓烈的血液更适用于后续视觉或光学检测方法的几乎无色的血浆或血清。

[0033] 细胞样品成分优选通过离心分离,即在将液体样品填充所述测试元件之后迅速旋转该测试元件。为此,根据本发明的测试元件包括合适尺寸和几何形状的通道和/或腔室。特别是,所述测试元件包含红血球采集区(红血球腔室或红血球捕获区),用于分离细胞血液成分,以及血清或血浆采集区(血清或血浆腔室)。

[0034] 为了控制所述测试元件中样品液体的流动,在样品通道中尤其可包含阀门,特别是所谓的非封闭阀或几何阀或疏水性阻隔物。这些阀门用作毛细阻塞物。它们可以确保特定的时间和空间控制样品流体通过所述样品通道和所述测试元件的各个区域。

[0035] 特别是,所述样品通道可以具有样品计量区域,其能够精确地测量首先过量施加的样品。在优选实施方案中,所述样品计量区从样品施加开口延伸过样品通道的相应区段直到所述流体性结构中的阀门,特别是几何阀或疏水阻隔物。其中,所述样品施加开口可以首先接收过量的样品材料。所述样品通过毛细作用力或离心力的驱动从样品施加区域流入通道结构中,并将其进行填充直到阀门。过量的样品最初保持在样品施加区域。只有当通道结构被填充到阀门时,才填充邻接所述样品施加区域并从样品通道中分流出来的样品过量腔室,例如通过毛细作用力或通过离心所述测试元件的方式。在这种情况下,必须通过合适地选择阀门的方式确保所述被测的样品体积最初不输送超过所述阀门。一旦相应的过流

腔室中收集了过量的样品,在一面的样品通道阀门与另一面的样品过流腔室入口之间就存在精确限定的样品体积。然后通过施加外力,特别是通过启动进一步的离心使得该限定的样品体积移动越过所述阀门。然后位于所述阀门后并与样品接触的所有流体性区域首先由精确限定的样品体积所填充。

[0036] 所述样品通道可另外具有用于除样品液体之外的其它液体的入口。例如,可以被例如洗涤液或试剂液体填充的第二通道可以通到所述样品通道中。

[0037] 根据本发明由测量装置和测试元件构成的系统用于确定液体样品中的分析物。在这种情况下,所述测量装置尤其包括至少一个用于旋转所述测试元件的驱动器,和用于评估所述测试元件视觉或光学信号的评估光学仪器。

[0038] 所述测量装置的光学系统优选可用于空间分辨检测的方式测量荧光。在二维的情况下,即平面评估光学仪器中,LED 或激光典型地被用于照亮所述测试元件的检测区并任选地用于激发可光学检测的标记。所述光学信号通过 CMOS 或 CCD(典型地为 640×480 像素)的方式检测。所述光学通路为直射的或折叠的(例如通过镜面或棱镜)。

[0039] 在变形透镜光学仪器的情况下,所述照明或激发典型地通过照明线的方式实现,其照亮了所述测试元件的检测区,优选垂直于所述检测线 and 对照线。在这种情况下,所述检测可以通过二极管列的方式实现。在此情况下,为了照明和评估第二尺寸,可以利用测试元件的旋转运动以便由此利用二极管列扫描所述测量元件的被评估的平面区域。

[0040] 具有编码器或步进发动机的 DC 发动机可用作驱动器来旋转和定位所述测试元件。

[0041] 所述测试元件的温度优选在所述装置中保持,例如通过加热或冷却所述板的方式,在所述装置中所述盘形测试元件位于所述板上。所述温度优选以非接触的方式测量。

[0042] 根据本发明的方法用于检测液体样品中的分析物。所述样品首先施加到测试元件的样品施加开口中。之后旋转所述测试元件,优选绕其优选位于中心的轴旋转;然而也可以这样实施根据本发明的方法:绕另一轴旋转,该轴可以也在所述测试元件的外部。在该方式中,所述样品从样品施加开口输送到毛细活性区域(特别是多孔吸收性基体)远离轴的一端。然后减慢或停止所述测试元件的旋转,使得所述样品或在流经该测试元件时由所述样品获得的材料(例如,样品和试剂的混合物,通过与来自测试元件的试剂的预反应而发生改变的材料,无特定成分的材料例如来自全血的在分离了红血球之后的血清或血浆,等等)从毛细活性区域(特别是多孔吸收性基体)远离轴的一端输送到靠近轴的一端。所述分析物最终可以在所述毛细活性区中,特别是多孔吸收性基体或其下游的区域中视觉或光学地测得。

[0043] 通过有目的地减慢或停止所述测试元件的旋转可以在时间上精确测定和控制样品(或得自样品的材料)开始移动通过所述毛细活性区域。只有当毛细活性区域中的毛细作用力(吸取力)幅度超过相反方向的离心力的幅度时,样品才可能移动进入和通过所述毛细活性区域。毛细活性区域中的液体输送在该方式下可以有目的地启动。例如其因此可以在所述测试元件的旋转减慢或停止到样品能够流入毛细活性区域的程度之前等待可能的样品预反应或预温育过程或者样品的调温过程。

[0044] 通过毛细活性区域的样品(或得自样品的材料)的输送可以通过所述测试元件绕其优选为中心的轴的重新旋转过程而有目的地减慢或停止。在所述旋转过程中发生的离心

力反作用于使样品液体从所述毛细活性区域远离轴的一端移动到靠近轴的一端的毛细作用力。因此可以实现有目的的控制,尤其是减慢所述样品在毛细活性区域中的样品的流动速率,甚至到逆转流向的程度。通过这种方式,可以例如控制所述样品在毛细活性区域中的停留时间。

[0045] 特别是还可以利用根据本发明的测试元件和方法通过旋转所述测试元件的方式来逆反液体样品和 / 或其它液体通过所述毛细活性区域的移动方向,该过程可以进行数次以实现液体的往复运动。通过将毛细活性区域中的液体从外 (即从远离轴的一端) 向内 (即向靠近轴的一端) 输送的毛细作用力与相反方向的离心力的协同相互作用,尤其可以提高毛细活性区域中结合反应的结合效率,从而提高可溶试剂的溶解程度并将其与样品或其它液体混合,或在亲和测定的情况下提高洗涤效率 (无结合分离)。

[0046] 特别是就免疫测定而言,所述检测可以根据夹心测定的原理或以竞争性测试的形式来实施。

[0047] 还可以在旋转所述测试元件之后将另外的液体施加到该测试元件上,所述液体在样品从毛细活性区域尤其是多孔吸收性基体远离轴的一端到靠近轴的一端之后进行输送。

[0048] 所述另外的液体尤其可以是缓冲液,优选是洗涤缓冲液或试剂液体。通过添加另外的液体可导致信噪比高于常规的测试条带 (尤其是与免疫测定有关的情况下),因为添加的液体可近似地用作在无结合分离之后的洗涤步骤。

[0049] 本发明具有以下优点:

[0050] 在毛细活性区域 (尤其是多孔吸收性基体材料) 中,通过离心力的方式和通过吸取力的方式的结合使得可以精确控制液体流动。根据本发明,所述毛细活性区域 (尤其是多孔吸收性基体) 将液体从远离轴的一端输送到靠近轴的一端,即从盘形测试元件的周边向旋转轴方向输送。也能够用来移动液体的离心力精确地反作用于该输送方向。因此对所述测试元件旋转的有目的地控制 (例如较快 / 较慢的旋转,使旋转运动切换到开和关) 使得样品液体在毛细活性区域 (尤其是多孔吸收性基体) 中的流动减慢或停止,从而使得有目的的和限定的反应条件能够得以保持。同时,使用多孔吸收性基体 (在免疫测定中其基本用作无结合分离的捕获基体) 使得在免疫测定过程中能够有效捕获样品成分。特别是通过离心力和毛细作用力 (吸取力) 的相互作用使得样品在试剂区域尤其是含固定化试剂的区域 (尤其是用于非均相免疫测定中的捕获区域) 向后和向前运动,而不会提高技术复杂程度并由此确保更有效地溶解试剂以及混合样品与试剂或在固定化结合配对物上捕获样品成分。同时,当样品成分 (尤其是分析物) 结合在固定化结合配对物上时,可以消除耗尽效应并因而提高结合效率 (即消耗分析物的样品成分可以通过样品在捕获区域的往复运动和 / 或通过有效混合而被富含分析物的样品成分所替换)。而且,液体在毛细活性区域的往复运动可导致最有效地利用少量液体体积,不仅用于反应的目的 (在此情况下样品体积尤其被利用) 而且用于洗涤的目的,例如以便提高捕获区域中结合和游离的标记物之间的区分性。这使得有效地减少了样品和液体试剂以及洗涤缓冲液的用量。

[0051] 所述测试元件内旋转轴的优选中心定位能够使测试元件本身以及相关的测量装置设计得尽量紧凑。在芯片形测试元件的情况下,例如 US 2004/0265171 的图 1 和 2 中所示,旋转轴在测试元件的外部。因而与具有相同尺寸但其中旋转轴在测试元件内部优选设置在中心的测试元件 (如根据本发明的测试元件的情况) 相比较,其相关的转盘或转子不

可避免地更大。

[0052] 本发明通过以下实施例和附图来进一步地阐述。在此情况下,参考免疫夹心测定法。然而,本发明不仅限于此。也可以应用于其它类型的免疫测定,尤其是也可用于竞争性免疫测试或其它类型的特异性结合测定(例如利用糖和外源凝集素、激素及其受体或者还有互补核酸对作为结合配对物的那些)。这些特异性结合测定的典型代表是本领域技术人员已知的(至于免疫测定法,可清楚地参见文献 US 4861711 的图 1 和图 2 及说明书的相关段落),并且可毫无困难地应用到本发明中。在以下实施例和附图中,多孔吸收性基体(膜)被描述为本发明的测试元件的毛细活性区域的典型代表。然而,本发明不限于这种基体。例如可以使用毛细活性通道来代替所述基体,其还可具有用于控制液体流动或用于提供或固定化试剂或用于混合液体和/或试剂的微结构。

[0053] 图 1 表示了根据本发明的测试元件优选实施方案的顶视示意图。为了清楚起见,仅示出了所述测试元件含有流体性结构的层。所示实施方案只包含一个用于引入样品和/或洗涤液的开口。在该实施方案中,干扰样品成分在样品与试剂接触之后分离。

[0054] 图 2 示意性地表示了根据本发明的测试元件的另一个优选实施方案。同样在此情况下仅示出了具有测试元件的流体性元件的结构。在该测试元件的实施方案中,有两个分开的样品施加开口和洗涤缓冲液施加开口。在此情况下,细胞样品成分在所述样品与试剂接触之前进行了分离。

[0055] 图 3 表示了根据图 1 的实施方案的变形的示意图。同样在此情况下细胞样品成分在所述样品与试剂接触之后进行了分离。然而,根据图 3 的该结构具有用于洗涤液的分开的注入口。

[0056] 图 4 表示了类似于图 2 的另一个根据本发明的测试元件的优选实施方案的示意图。

[0057] 图 5 表示了根据图 3 略有进一步改进的测试元件。与根据图 3 的实施方案的区别在于,图 5 具有废无纺布的不同几何设置和位于样品计量区段末端处阀门的不同种类。

[0058] 图 6 示意性地表示了根据图 5 的测试元件的进一步改进的顶视图。与根据图 5 的实施方案的区别在于,根据图 6 的实施方案具有用于接收过量样品的流体性结构。

[0059] 图 7 是根据图 3 的测试元件的进一步变形方式的示意图。所述流体性结构在功能上基本类似于图 3 的结构。然而,其几何排列和设计有所不同。

[0060] 图 8 示意性地表示了根据本发明的测试元件的另一个优选实施方案。图 8 中的结构基本上对应于从根据图 4 的测试元件已经得知的那些功能。

[0061] 图 9 示意性地表示了根据图 6 的测试元件的替代方式的顶视图。与根据图 6 的实施方案的区别在于,根据图 9 的实施方案具有远离轴的样品施加开口,其使样品首先经由毛细管移动而靠近测试元件中心,也即移动到靠近轴的区域。

[0062] 图 10 表示了在全血样品中肌钙蛋白 T 测量值的典型曲线形状(绘制的是肌钙蛋白 T 以 ng/ml 的浓度对信号强度(计数))。将重组肌钙蛋白 T 加入样品中得到相应的浓度。数据来自实施例 2 并在根据图 6/ 实施例 1 的测试元件帮助下获得。

[0063] 图中数字和简写具有以下含义:

[0064] 1 盘形测试元件(盘)

[0065] 2 基材(例如单部件式或多部件式,注射成型的、铣制的、多层组成的,等等)

- [0066] 3 中心开口（驱动孔）
- [0067] 4 样品施加开口
- [0068] 5 样品计量区域（通道的计量区段）
- [0069] 6 毛细挡块（Kapillarstopp）（例如，疏水性阻隔物、几何 / 非封闭阀）
- [0070] 7 用于过量样品的容器
- [0071] 8 毛细挡块（例如疏水性阻隔物、几何 / 非封闭阀）
- [0072] 9 通道
- [0073] 10 血清 / 血浆收集区域（血清 / 血浆腔室）
- [0074] 11 红血球收集区域（红血球腔室）
- [0075] 12 多孔吸收性基体（膜）
- [0076] 13 废料区（无纺布）
- [0077] 14 毛细挡块（例如，疏水性阻隔物、几何 / 非封闭阀）
- [0078] 15 通道
- [0079] 16 用于添加其它液体，例如洗涤缓冲液的开口
- [0080] 17 排气开口
- [0081] 18 透析通道
- [0082] 19 毛细挡块（例如疏水性阻隔物、几何 / 非封闭阀）
- [0083] 20 捕获储液池
- [0084] 21 毛细通道

[0085] 图 1 到 9 表示了根据本发明测试元件 (1) 的不同优选实施方案。在各方式中必要地表示了包含流体性结构和中心开口（驱动孔 3）的所述基材 (2)。除了所述基材之外（所述基材例如可以是单部件式或多部件式的，可以通过注射成型、铣制、或通过层压适当层的方式构成），根据本发明的盘形测试元件 (1) 还通常包含盖层，为了清楚起见其在该图中没有示出。所述盖层原则上还可带有结构，但通常其除了用于样品和 / 或其它需要施加到该测试元件上的液体的开口之外不具有任何结构。所述盖层还可以设计成完全没有开口，例如以结合到基材上并封闭位于其上的结构的箔片形式。

[0086] 图 1 到 9 中所示的实施方案表示了即使其在细节上彼此有所不同但能实现基本相同功能的流体性结构。其基本构造和基本功能因而以根据图 1 的实施方案为基础来进行更详细的说明。根据图 2 到 9 的实施方案之后仅在彼此之间特别区别基础上作更详细的说明以避免不必要的重复。

[0087] 图 1 表示了根据本发明的盘形测试元件 (1) 的第一种优选实施方案。所述测试元件 (1) 包含基材 (2)，其含有流体性的和微流体性的以及色谱的结构。所述基材 (2) 通过相应的配合件 (Gegenstück)（盖层）（未示出）所覆盖，其含有对应于所述基材 (2) 中结构的样品施加和空气开口。所述盖层以及基材 (2) 具有中心开口 (3)，其能够使所述盘形测试元件 (1) 通过与该测量装置中相应驱动单元的共同作用而旋转。或者，所述测试元件（根据图 1 到 9 之一的）可以不具有这种中心开口 (3) 并且所述驱动器通过该测量装置对应于所述测试元件外轮廓的驱动单元而旋转，所述驱动单元例如转盘，测试元件插入其中对应于其形状的凹部。

[0088] 将样品液体（尤其是全血）经由样品施加开口 (4) 施加到测试元件 (1) 上。所述

样品液体通过毛细作用力和 / 或离心力的驱动而填充样品计量区域 (5)。其中所述样品计量区域 (5) 还包含干燥试剂。其通过毛细挡块 (6 和 8) 限定边界, 该毛细挡块例如可以为疏水性阻隔物或构造为几何 / 非封闭阀的形式。样品计量区域 (5) 通过毛细挡块 (6 和 8) 限定边界确保了接收限定的样品体积并转送到位于所述样品计量区域 (5) 下游的流体性区域中。当测试元件 (1) 旋转时, 任何过量样品从所述样品施加开口 (4) 和样品计量区域 (5) 转移到用于过量样品的容器 (7) 中, 而被测量的样品量从样品计量区域 (5) 转移到通道 (9) 中。

[0089] 红细胞和其它细胞样品成分的分离在通道 (9) 中以适当的旋转速度开始。当样品进入通道 (9) 时, 包含在样品计量区域 (5) 中的试剂已经溶解在样品中了。其中, 样品经由毛细挡块 (8) 进入通道 (9) 导致了试剂混合在样品中。

[0090] 可以利用根据本发明的测试元件进行旋转过程的时间控制, 这使得可以有目的地控制停留时间, 并因而选择性控制样品与试剂的温育时间以及反应时间。

[0091] 在旋转过程中, 试剂 - 样品混合物被导入流体性结构 (10) (血清 / 血浆收集区域) 和 (11) (红血球收集区域) 中。由于作用于试剂 - 样品混合物上的离心力, 血浆或血清与红细胞分离。在该过程中, 红细胞被收集在红血球收集区域 (11) 中, 而血浆基本上保留在收集区域 (10) 中。

[0092] 与使用膜或无纺布来分离颗粒状样品成分的测试元件 (例如用于从全血中分离红细胞的玻璃纤维无纺布或不对称多孔塑料膜, 通常称为血液分离膜或无纺布) 不同, 利用根据本发明的测试元件样品体积会得到显著更加有效的利用, 因为基本上无死体积 (例如纤维空隙或孔的体积) 存在, 所述死体积使得样品不再能由此取出。而且, 一些现有技术的这种血液分离膜和无纺布具有不合意的吸收样品成分 (例如蛋白质) 或分解 (裂解) 细胞的趋势, 而这在根据本发明的测试元件中也没有被观察到。

[0093] 如果测试元件 (1) 的旋转停止或减慢, 则试剂 - 血浆混合物 (其中在免疫测定的情况下, 在存在分析物时, 已经例如由分析物和抗体缀合物形成夹心复合物) 通过所述多孔吸收性基体 (12) 的吸取作用而被吸收入其中并通过该基体。在免疫测定情况下, 含分析物的复合物在检测区域中被存在于膜 (12) 中的固定化的结合配对物所捕获, 而未结合的标记缀合物结合于对照区域中。邻接所述多孔吸收性基体的无纺布 (13) 有助于样品移动通过膜 (12)。此外, 所述无纺布 (13) 在样品流过所述膜 (12) 后用于接收样品。

[0094] 在液体样品从样品施加开口 (4) 流过测试元件 (1) 的流体性结构到达无纺布 (13) 之后, 在之后的步骤中向样品施加开口 (4) 中移液加入洗涤缓冲液。在毛细作用力、离心力和色谱作用力的相同的组合作用下, 洗涤缓冲液流过测试元件 (1) 的相应流体性结构并洗涤, 特别是在结合分析物复合物当前存在的膜 (12), 由此去除过量的试剂残留。所述洗涤步骤可以重复一次或数次以便由此提高信噪比。这使得分析物的检测限得以优化并增加了动态测量范围。

[0095] 测试元件 (1) 中将液体样品从样品施加开口 (4) 输送到膜 (12) 远离轴的第一端的样品通道在本方式中包括样品计量区域 (5), 毛细挡块 (8), 通道 (9), 血清 / 血浆收集区域 (10) 和红血球腔室 (11)。在其它实施方案中, 所述样品通道可以由更多或更少的单个区域 / 区 / 腔室构成。

[0096] 图 3、5、6、7 和 9 表示与图 1 基本上类似的实施方案。图 3 与图 1 的不同之处在

于,一方面没有过量样品容器 (7) 连接到样品施加开口 (4) 上且设有毛细挡块存在于样品计量区段 (5) 的末端 (即在该方式中施加经计量的样品是必要的),另一方面存在用于其它液体,例如洗涤缓冲液的分开施加开口 (16) 和相关的通道 (15),其可以将缓冲液输送到膜 (12)。在此方式下缓冲液向膜 (12) 的输送可以基于毛细作用力或离心力。

[0097] 根据图 5 的实施方案基本上相同于根据图 3 的实施方案。两种实施方案的不同之处仅在于废无纺布 (13) 的形式,以及根据图 5 的测试元件在样品计量区段 (5) 的末端具有毛细挡块 (8)。

[0098] 根据图 6 的实施方案也基本上相同于根据图 5 的实施方案,区别在于在样品计量开口 (4) 和样品计量区 (5) 之间的区域另外存在用于过量样品的容器 (7)。在此方式中无需施加经计量的样品 (类似与图 1)。

[0099] 根据图 7 的本发明测试元件 (1) 的实施方案基本上对应于图 6 的测试元件 (1)。两种实施方案具有相同的流体性结构和功能。只是设置和几何设计有所不同。根据图 7 的实施方案具有另外的排气开口 (17),与图 6 相比其由于流体性结构的不同尺寸而是必要的,以便使得所述结构能用样品或洗涤液填充。在此情况下通道 (9) 设计成膜毛细管的形式,其直到测试元件旋转才能被填充 (即毛细挡块 (8) 仅能通过离心力的方式被越过)。利用根据图 7 的测试元件 (1),可以在旋转过程中已经从红血球收集区域 (11) 排放收集的血浆; 透析单元 (18) 用于此目的,其最后通到血清 / 血浆收集区域 (10)。

[0100] 根据图 9 的本发明测试元件 (1) 的实施方案基本上对应于图 6 的测试元件 (1)。两种实施方案具有相同的流体性结构和功能。只是设置和几何设计有所不同。根据图 9 的实施方案基本上具有在更接近外部 (也即远离轴) 的样品施加开口 (4)。当有待填充样品的测试元件 (1) 已经放置在测量装置中时,这是个优点。在此情况下,样品施加开口 (4) 比根据图 1 到 8 的测试元件可以制成更容易接近使用者,图 1 到 8 中的各种方式中所述样品施加开口 (4) 设置得接近于轴 (即远离测试元件的外边缘)。

[0101] 与根据图 1、3、5、6、7 和 9 的实施方案不同的是,在根据图 2、4 和 8 的实施方案的情况下,在样品开始接触试剂之前细胞样品成分就从样品液体中分离了出来。这种方式的优点在于使用全血或血浆或血清作为样品材料时不会造成不同的测量结果,因为总是血浆或血清首先开始与试剂接触并且溶解 / 温育 / 反应行为由此应当实际上相同。同样在根据图 2、4 和 8 的实施方案中,液体样品首先经由样品施加开口 (4) 施加到测试元件 (1) 上。所述样品随后从该样品施加开口 (4) 通过毛细作用力和 / 或离心力转送到通道结构中。在根据图 2 和 4 的实施方案中,样品在施加到样品施加开口 (4) 之后输送到样品计量区段 (5),然后通过旋转将血清 / 血浆从全血中分离。不合意的细胞样品成分,基本上为红血球,在红血球捕获区 (11) 收集,而血清或血浆在区域 (10) 中收集。通过毛细管将血清从区域 (10) 中取出并转送到通道结构 (9) 中,其中设置有干燥试剂并当样品流入时溶解。通过再次旋转测试元件 (1) 所述样品 - 试剂混合物可从通道结构 (9) 越过毛细挡块 (14),并由此经由通道 (15) 到达膜 (12)。当旋转减慢或停止时,样品 - 试剂混合物经由膜 (12) 输送到废无纺布 (13) 中。

[0102] 根据图 2 和图 4 的实施方案的区别在于,图 2 中提供了用于过量样品的容器 (7) 而根据图 4 的实施方案不提供这种功能。与在根据图 3 的实施方案中一样,这种情况下施加经计量的样品是合乎目的的。

[0103] 图8表示了根据图2和4的实施方案的变形方式。在此情况下,在样品通过第一几何阀(19)之后,其通过离心输送到直接位于样品施加开口(4)后面的红血球分离结构(10、11)中。在此方式中标注为(10)的区域用作血清/血浆收集区域(10),不含细胞的血清或血浆在离心之后经由毛细通道(21)从此处转移出。腔室(20)用作过量血清或血浆的收集储液池,其特别是在样品计量部分(5)被完全填满之后可从所述血清/血浆收集区域(10)继续流动。所有其它功能和结构与图1到7类似。

[0104] 所述测试元件(1)表面的亲水或疏水性质可以有目的地设计成使样品液体和/或洗涤液仅通过旋转和所得到的离心力的帮助或者通过离心力和毛细作用力的结合而移动。后者需要所述测试元件(1)的流体性结构中有至少部分亲水化的表面。

[0105] 如上联系图1所已经描述那样,根据图1、2、6、7、8和9的本发明测试元件具有自动功能,其使得来自过量施加到该测试元件上的样品的等分样品能够相对精确地测量(所谓的计量系统)。该计量系统是本发明的另一个主题。其必要地包括所示测试元件(1)的元件4、5、6和7。将样品液体特别是全血经由样品施加开口(4)引入测试元件(1)。所述样品液体通过毛细作用力和/或离心力的驱动填充样品计量区域(5)。其中所述样品计量区域(5)还可以包含干燥的试剂。其通过毛细挡块(6和8)限定了边界,例如可以是疏水阻隔物或构造为几何/非封闭阀的形式。通过毛细挡块(6,8)限定样品计量区域(5)的边界确保了吸收限定的样品体积并通过位于样品计量区域(5)下游的流体性区域。当测试元件(1)旋转时,可能的过量样品从样品施加开口(4)和样品计量区域(5)输送到用于过量样品的容器(7),而计量量的样品从样品计量区域(5)转移到通道(9)中。或者,也可以使用为此目的其它作用力来代替旋转产生的使样品移动的作用力,例如通过施加过压到样品的输入侧或者负压到样品的输出侧。所示的计量系统因此并非绝对必要地束缚到可旋转测试元件上,而是还可以用于其它的测试元件中。

[0106] 类似的计量系统是例如由US5061381已知的。同样在该文献中描述了一种系统,其中样品液体以过量施加到测试元件上。在该方式中,测试元件中接着进一步处理的相对精确地测量等分样品通过计量区域(计量腔室)和用于过量样品的区域(过流腔室(overflow chamber))的共同作用也可以实现,与本发明相比,这两个区域通过尽管狭小但是至少在填充过程中使得能够发生液体交换的接头相连。在此方式中,在测试元件填充过程中样品液体立即分离成两部分,一部分通过宽通道进入计量腔室中,一部分通过窄通道流入“过流腔室”中。在所述计量腔室被完全填满之后,旋转所述测试元件,将可能的过量样品转移到过流腔室中,使得仅合意的计量样品体积保持在计量腔室中,这部分体积随后进行进一步处理。

[0107] 根据US 5061381的计量系统设计的缺点在于,在施加到测试元件的样品体积准确对应于最小体积或者仅略大于最小体积时,存在计量区域将计量不足的风险,因为一开始一部分样品总是不受阻碍地流到过流腔室中。

[0108] 这个问题通过本发明提出的计量系统设计得以解决,因为毛细挡块(疏水性阻隔物或几何或非封闭阀)设置在计量区域和用于过量样品的区域之间。因此,当测试元件用样品填充时,该样品实际上首先仅进入到计量区域中。在该过程中,毛细挡块防止了样品在样品计量区域被完全填满之前流进用于过量样品的区域中。同样在施加到测试元件的样品体积准确对应于最小体积或者仅略大于最小体积时,这确保了样品计量区域被完全填满。

[0109] 实施例 1

[0110] 根据图 6 的测试元件的制备

[0111] 1.1 基材 (2) 的制备

[0112] 通过注塑的方式由聚碳酸酯 (PC) (或者也可以使用聚苯乙烯 (PS)、ABS 塑料或聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 作为可行的材料) 来制造根据图 6 的基材 (2) (尺寸大约为 $60 \times 80 \text{mm}^2$)。各个通道和区域 (流体性结构) 具有以下尺寸 (结构的深度 (t) 和任选地其体积 (V); 数字涉及图 6 及其中所示的结构):

[0113] 4 和 5 之间的毛细管: $t = 500 \mu\text{m}$

[0114] 编号 7: $t = 700 \mu\text{m}$

[0115] 编号 5: $t = 150 \mu\text{m}$; $V = 26.5 \text{mm}^3$

[0116] 编号 8: $t = 500 \mu\text{m}$

[0117] 编号 9: $t = 110 \mu\text{m}$

[0118] 编号 10: $t = 550 \mu\text{m}$

[0119] 编号 11: $t = 130 \mu\text{m}$; $V = 15 \text{mm}^3$

[0120] 编号 15: $t = 150 \mu\text{m}$; $V = 11.4 \text{mm}^3$

[0121] 当外力 (例如离心力) 作用时, 对于流体性结构中的液体而言通常仅可以是从较浅到较深的过渡结构。这种过渡起着几何 (非封闭) 阀的作用。

[0122] 除了流体性结构之外 (见上), 所述基材 (2) 还具有样品和缓冲液添加开口 (4, 16)、排气开口 (17) 和中心开口 (3)。

[0123] 具有流体性结构的基材 (2) 的表面可以随后通过等离子处理净化和亲水化。

[0124] 1.2 引入试剂

[0125] 将分析物检测所需的一些试剂 (例如生物素化抗分析物抗体和用荧光标记物标记的抗分析物抗体) 通过压电计量的方式以溶液形式作为点状试剂点交替引入样品计量区段 (5) 中并随后干燥, 使得实际上其整个内表面被试剂所占据。

[0126] 试剂溶液的组成如下:

[0127] 生物素化抗体: 50mM Mes pH 5.6; $100 \mu\text{g}$ 生物素化单克隆抗肌钙蛋白 T 抗体

[0128] 经标记的抗体: 50mM Hepes pH 7.4, 含方酸衍生物, 荧光染料 JG9 (嵌在聚苯乙烯乳胶颗粒中), 荧光标记的单克隆抗肌钙蛋白 T 抗体 (0.35% 的溶液)

[0129] 1.3 插入膜 (12)

[0130] 将通过浸渍线 (见下) 方式引入分析物检测线 (聚链亲和素) 和对照线 (聚半抗原) 的多孔基体 (12) (在塑料载体箔片上的硝酸纤维素膜; $21 \times 5 \text{mm}^2$; 纤维素硝酸盐膜 (CN140 型, 来自德国 Sartorius), 用 $100 \mu\text{m}$ PE 箔片加固) 插入该基材 (2) 中相应的凹部以及任选地通过双面胶带方式固定。

[0131] 将链亲和素水溶液 (4.75mg/ml) 通过线计量 (Strichdosierung) 的方式施加到上述纤维素硝酸盐膜上。为此选择剂量 (计量量为 0.12ml/min , 轨速 3m/min) 使得形成宽度大约为 0.4mm 的线。这条线用于检测待测分析物, 并且每个膜含有大约 $0.95 \mu\text{g}$ 链亲和素。

[0132] 在相同的计量条件下将含 0.3mg/ml 的肌钙蛋白 T-聚半抗原水溶液施加到所述链亲和素线下游大约 4mm 的距离处。这条线用作测试元件的功能对照, 每次测试含有大约 $0.06 \mu\text{m}$ 的聚半抗原。

[0133] 1.4 施加盖件

[0134] 随后施加盖（没有流体性结构的箔片或注塑部件，其可任选地进行亲水化处理）并任选地永久连接到基材（2）上，优选以胶粘、焊接或夹持的方式。

[0135] 1.5 插入废无纺布（13）

[0136] 最后，将所述基材翻转并将废无纺布（13）（由 100 份玻璃纤维（直径 0.49 到 0.58 μm ，长 1000 μm ）和 5 份聚乙烯醇纤维（来自 Kuraray 的 Kuralon VPB 105-2）构成的 $13 \times 7 \times 1.5\text{mm}^3$ 的无纺布，面重大约为 180g/m²）插入相应的凹部，然后通过胶带固定在基材（2）中。

[0137] 通过准自计量的样品吸收单元（包括样品施加开口（4），样品计量区段（5）和限制其边界的结构（毛细挡块（8）和用于过量样品的容器（7）），确保了当使用不同的测试元件时，采用与施加到测试元件（1）上的样品量无关（只要其超过了最小体积（该实施例中为 27 μl ））的可重现的相同样品量。

[0138] 通过试剂分布在整个样品计量区段中（5），优选以交替的试剂点的形式（即小的几乎点状的试剂区域），并结合用样品快速填充样品计量区段（5），尤其是如果填充大大快于溶解的话，则实现了在整个样品体积中试剂的均匀溶解。而且，试剂实际上完全溶解，这样与基于吸收性材料的常规测试元件（测试条带、具试剂垫的生物盘片，等等）相比，此处再次观察到了提高的重现性。

[0139] 实施例 2

[0140] 利用实施例 1 的测试元件检测肌钙蛋白 T

[0141] 将混合有不同量的重组肌钙蛋白 T 的 27 μl 全血施加到根据实施例 1 的测试元件上。之后根据表 1 所述的方法进一步处理所述测试元件，最后测量针对不同浓度的荧光信号。

[0142] 表 1：测量过程

[0143]

时间 (分：秒)	持续时间 (分：秒)	每分钟的转数	操作
00:00	01:00	0	施加 27 μl 样品；溶解试剂
01:00	02:00	5000	红血球的分离和温育
03:00	01:00	800	色谱（信号生成）
04:00	00:10	0	施加 12 μl 洗涤缓冲液 ¹⁾
04:10	02:00	800	洗涤缓冲液输送和色谱
06:10	00:10	0	施加 12 μl 洗涤缓冲液 ¹⁾
06:20	02:00	800	洗涤缓冲液输送和色谱

08:20	00:10	0	施加 12 μ l 洗涤缓冲液 ¹⁾
08:30	02:00	800	洗涤缓冲液输送和色谱
10:30		0	测量

[0144] ¹⁾ 100mM Hepes, pH 8.0 ;150mM NaCl ;0.095%叠氮化钠。

[0145] 测量数据在图 10 中给出。绘制了各自的测量信号（计数）与重组肌钙蛋白 T(c(TnT))（单位为 [ng/ml]）的关系。利用参考方法“Roche Diagnostics ElecsysTroponin T Test”测定在全血样品中肌钙蛋白 T 的实际浓度。

[0146] 与常规的免疫色谱肌钙蛋白 T 测试条带（例如来自 Roche Diagnostics 的心肌钙蛋白 T）相比，采用根据本发明的测试元件使得能定量评估的测量范围的检测极限下移了（心肌钙蛋白 T :0.1ng/ml ;本发明 :0.02ng/ml），而动态测量范围向上延伸了（心肌钙蛋白 T :2.0ng/ml ;本发明 :20ng/ml）。根据本发明的测试元件还表现出改善的精度。

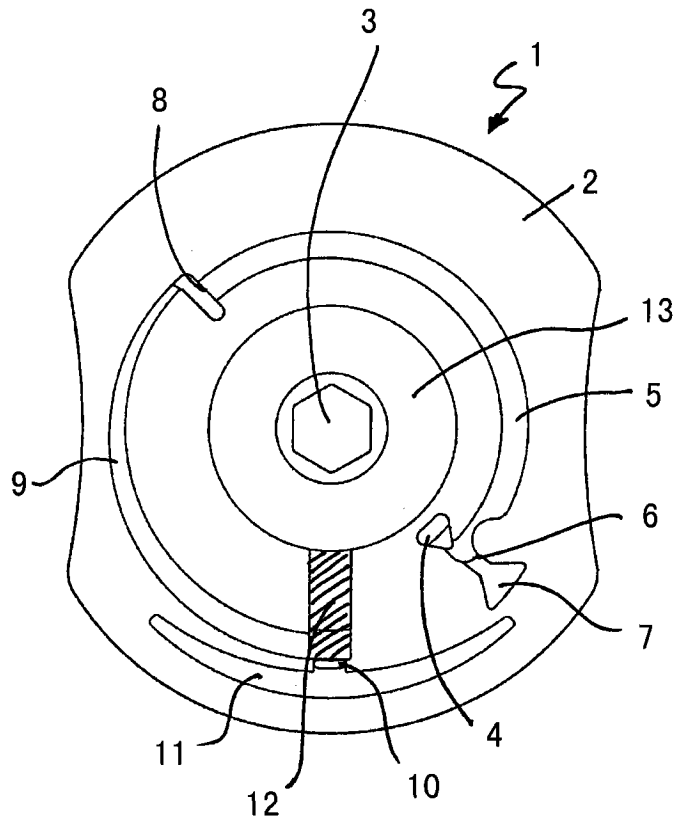


图 1

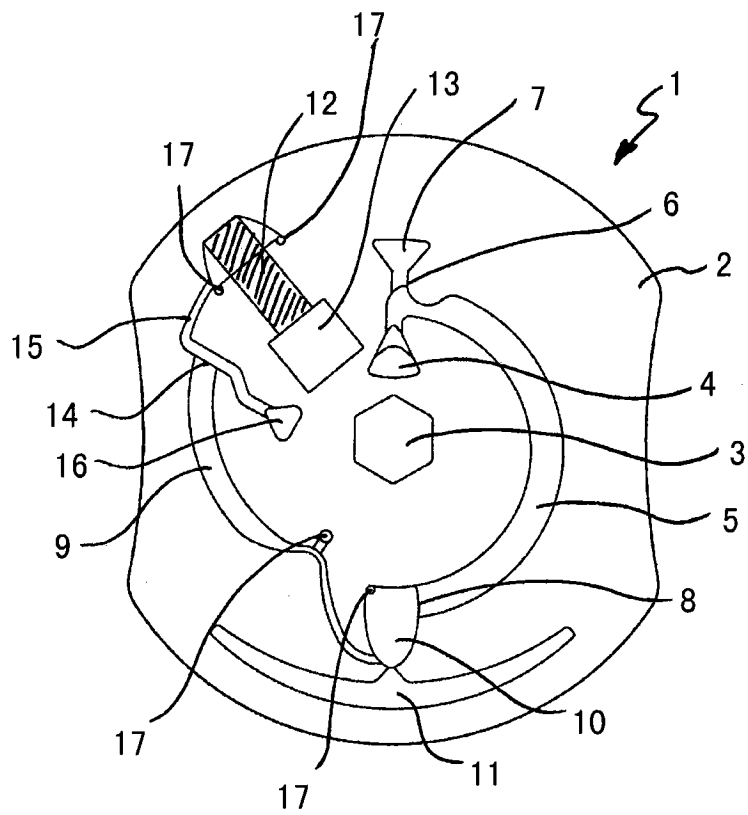


图 2

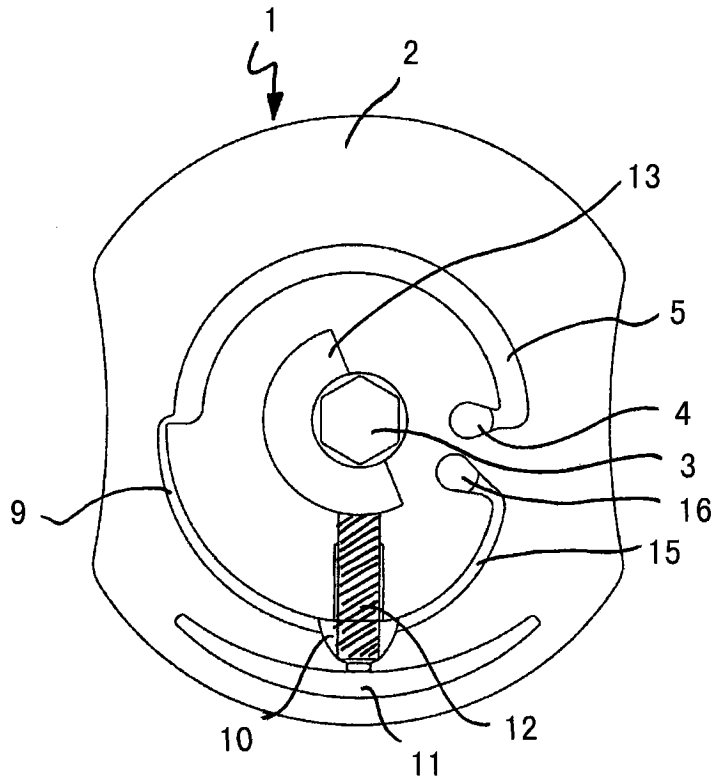


图 3

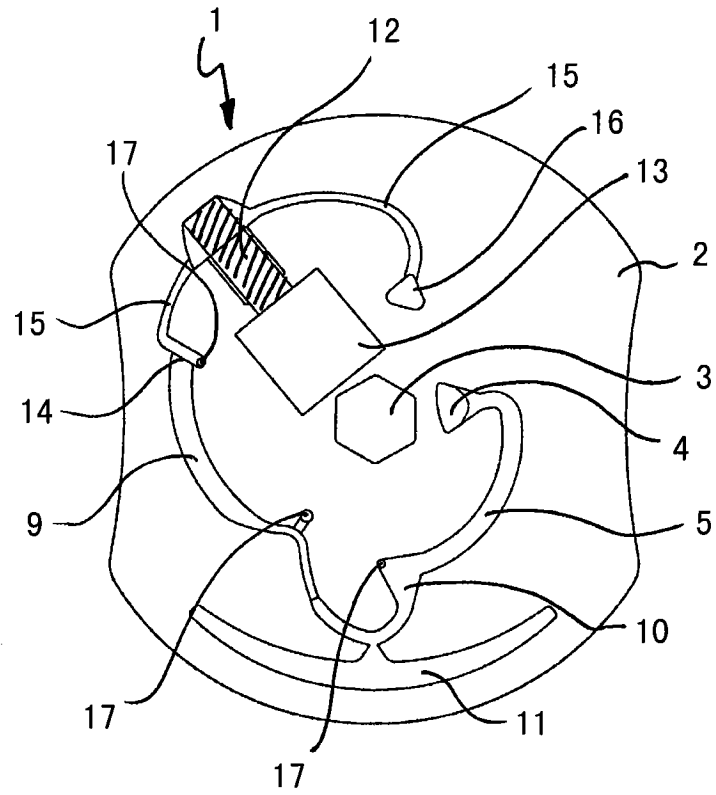


图 4

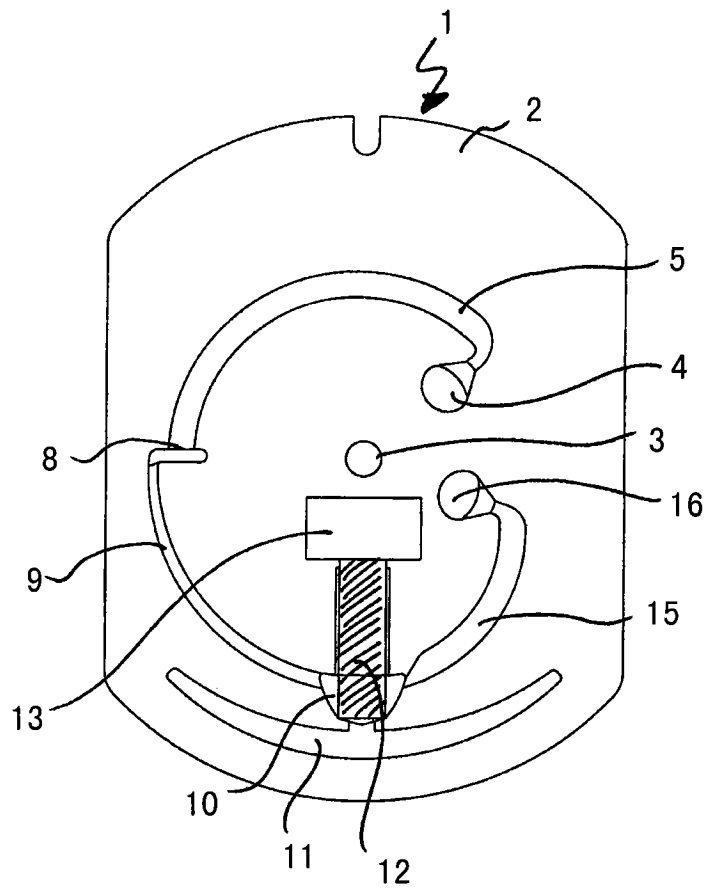


图 5

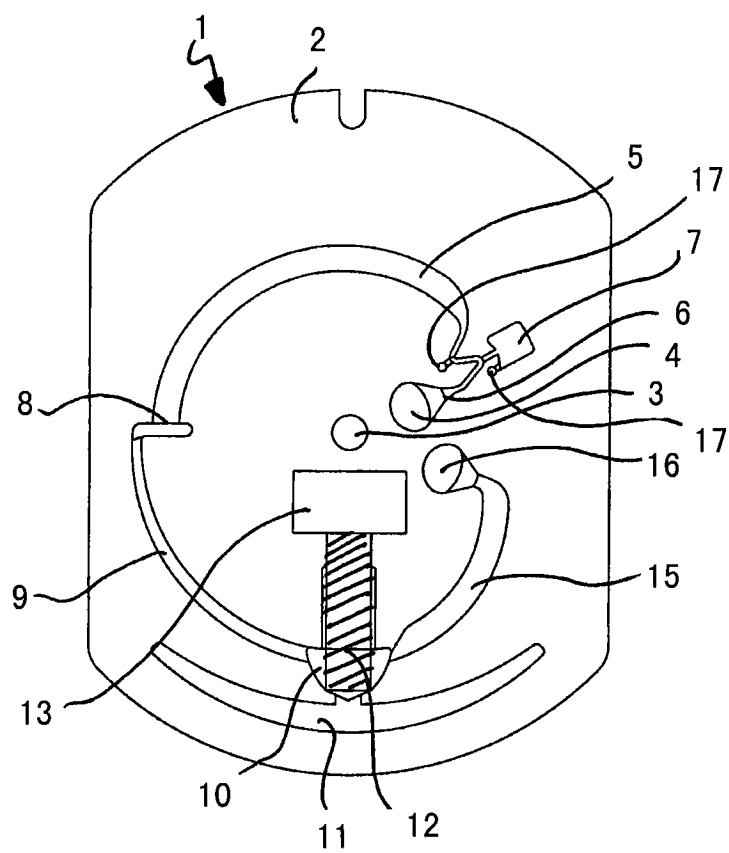


图 6

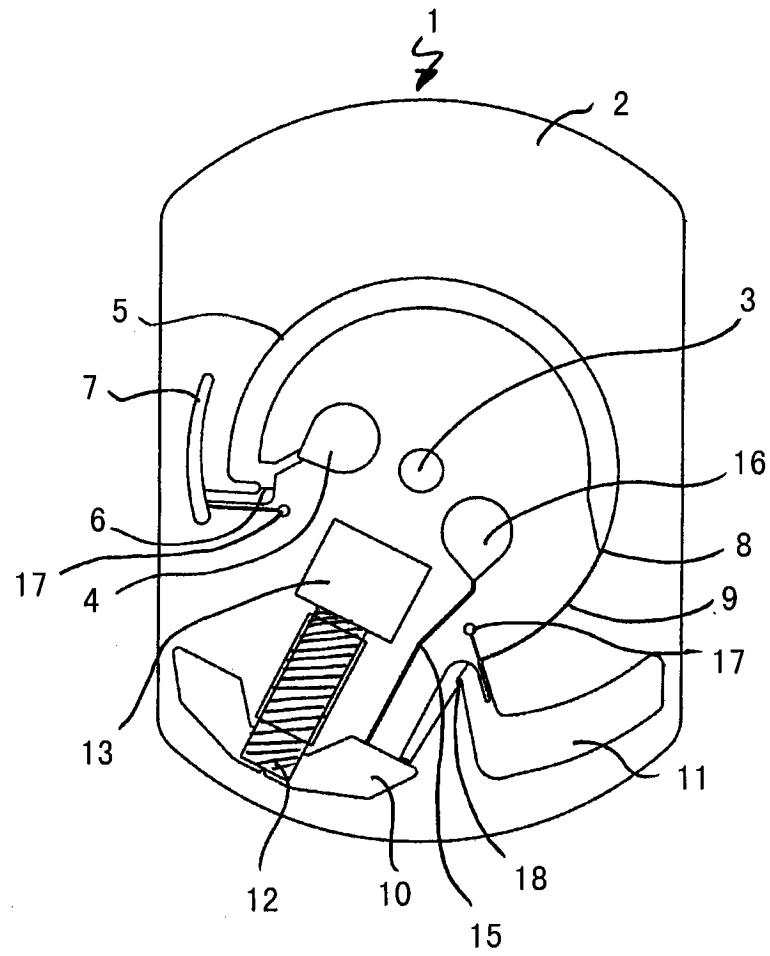


图 7

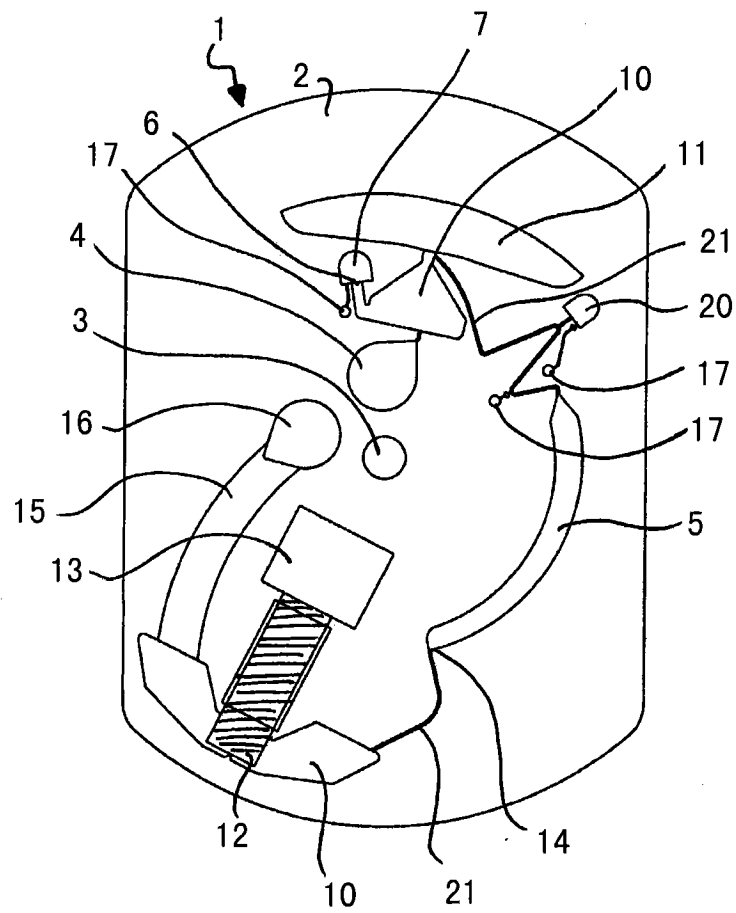


图 8

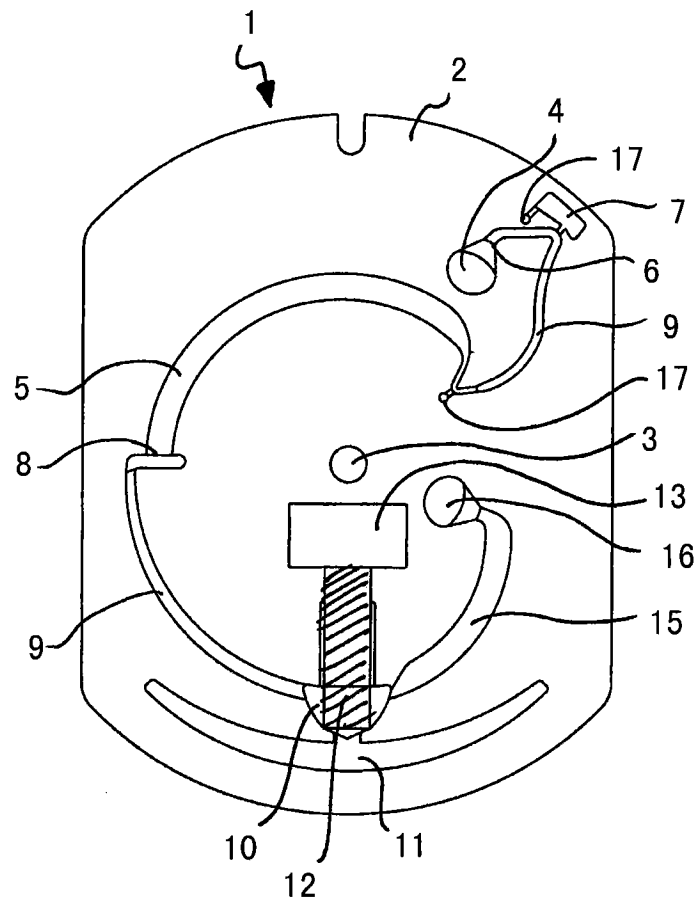


图 9

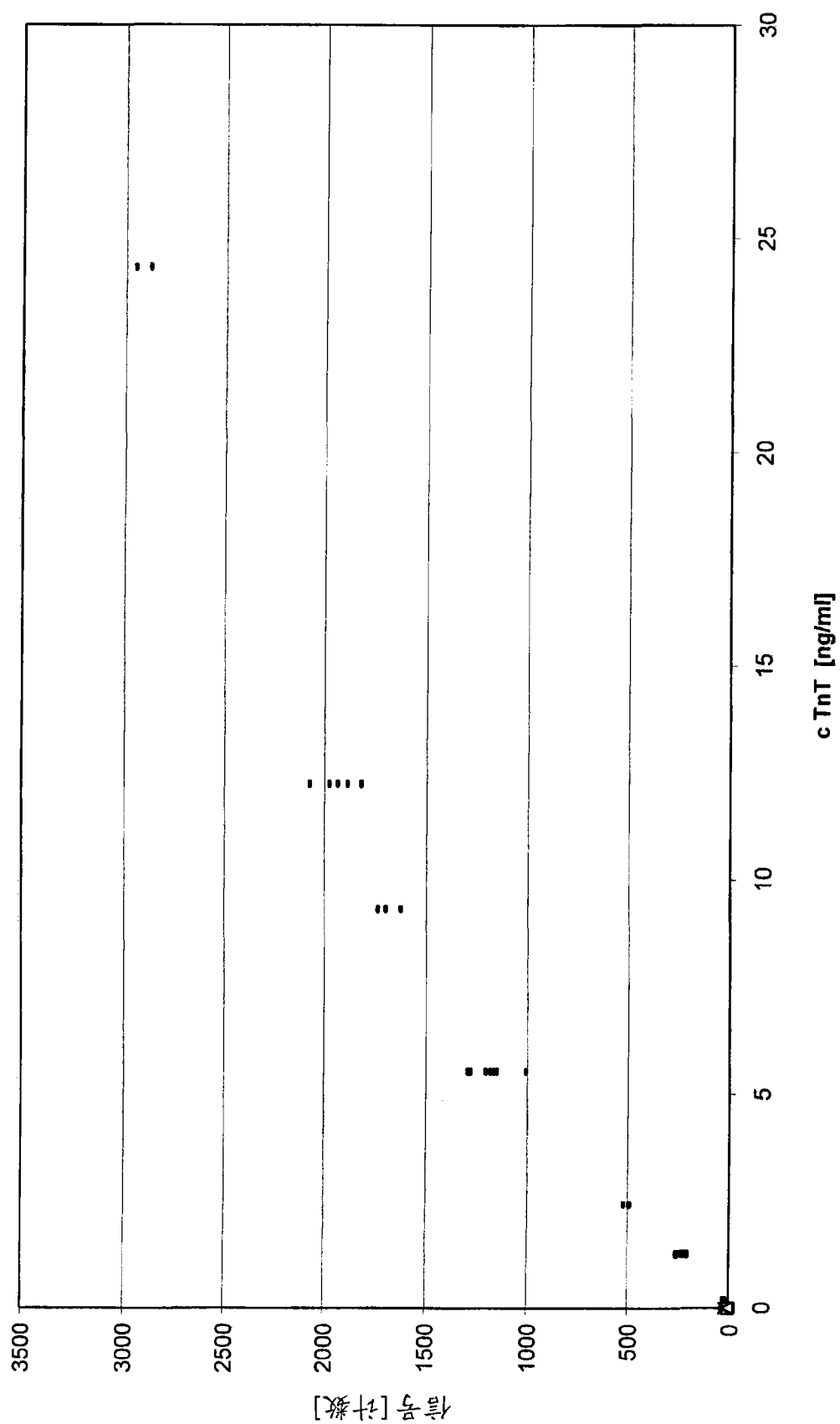


图 10