



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0007773
(43) 공개일자 2017년01월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/558 (2006.01) *G01N 33/543* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/558 (2013.01)
G01N 33/54313 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7034232
(22) 출원일자(국제) 2015년05월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2016년12월06일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2015/050220
(87) 국제공개번호 WO 2015/168740
국제공개일자 2015년11월12일
(30) 우선권주장
2014901679 2014년05월07일 오스트레일리아(AU)

(71) 출원인
엔플렉스 피티와이 엘티디
오스트레일리아 3128 빅토리아 박스 헬 엘거 로드
436
(72) 발명자
런터, 윌리엄 사무엘
오스트레일리아 빅토리아 3228 벨브래 커닝햄 드
라이브 20
도파이드, 사차 마리
오스트레일리아 빅토리아 3121 크레몬 웰링턴 스
트리트 86
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이처영, 장제환

전체 청구항 수 : 총 35 항

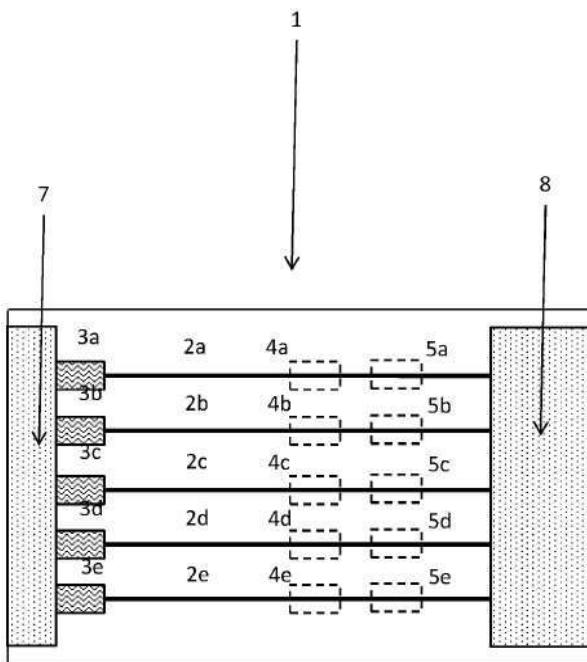
(54) 발명의 명칭 합성 실 기초된 측방 유동 면역검정

(57) 요 약

본 발명은 일반적으로, 생물학적 표본에서 피분석물을 검출하기 위한 측방 유동 면역검정 시스템, 장치 및 방법에 관계한다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 합성 실 기초된 측방 유동 면역형광 검정 시스템, 장치 및 방법에 관계한다. 측방 유동 면역형광 검정 장치는 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함할 수 있고, 상기 중간 구역은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하는데 이용하기 위한 형광 검출 시약을 포함하고, 여기서 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고, 그리고 여기서 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 모세관 작용에 의해 최소한 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 유체 표본을 운반할 수 있다.

(52) CPC특허분류

G01N 33/54346 (2013.01)*G01N 33/54386* (2013.01)

(72) 발명자

쿠퍼, 사만다 아이린

오스트레일리아 빅토리아 3978 클라이드 노스 유니언 스트리트 36

가르시아, 마리 루이스

오스트레일리아 빅토리아 3068 피츠로이 노스 퀸즈 퍼레이드 36/86

리우, 조이 지

오스트레일리아 빅토리아 3006 사우스뱅크 웰스 스트리트 109/8

휴렌, 크리스토퍼 제임스

오스트레일리아 빅토리아 3241 원첼시 튜트공 로드 4

명세서

청구범위

청구항 1

표본에서 면역형광 검정을 수행하기 위한 시스템에 있어서, 다음을 포함하는 것을 특징으로 하는 시스템:

최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 임의선택적으로, 표본 적하 구역 및 포획 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역검정 장치, 여기서 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 모세관 작용에 의해 최소한 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 유체 표본을 운반할 수 있고;

표본 내에 미리 결정된 피분석물에 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하기 위한 형광 검출 시약, 여기서 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 동조된 또는 연결된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고; 그리고

형광 검출 시약에 결합되고 포획 시약에 의해 상기 장치의 검출 구역에서 고정되는 미리 결정된 피분석물을 검출하는데 이용하기 위한 형광 여기 공급원 및 검출기.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 면역형광 검정 시스템은 습성 또는 건성 면역형광 검정 시스템에서 선택되는 일-단계 면역 형광 검정인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 각각, 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하고, 그리고 형광 검출 시약은 검출 구역에서 검출을 위한 미리 결정된 피분석물을 표지화하는데 이용하기 위해 상기 장치의 중간 구역에서 가역적으로 고정되는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중에서 어느 한 항에 있어서, 고정된 포획 시약은 미리 결정된 표적 피분석물에 대한 결합 친화성을 갖는 포획 항체인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중에서 어느 한 항에 있어서, 피분석물 결합 시약은 미리 결정된 표적 피분석물에 대한 결합 친화성을 갖는 항체인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중에서 어느 한 항에 있어서, 상기 장치의 표본 적하 구역은 pH 또는 완충 작용제, 계면활성제, 여과제, 그리고 차단제로 구성된 군에서 선택되는, 그 안에 고정된 하나 또는 그 이상의 작용제를 포함하는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 하나 또는 그 이상의 다공성 싱크 또는 하나 또는 그 이상의 추가 구역, 또는 이들의 조합을 포함하고, 그리고 여기서 추가 구역은 제어 구역, 시약 구역, 확산 구역, 차단 또는 필터 구역, 장벽 구역 또는 완충 구역에서 선택되는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리에테르, 폴리올레핀, 폴리카보네이트 및 폴리우레탄으로 구성된 군에서 선택되는 합성 중합체로부터 형

성되는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 9

청구항 1 내지 8 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 폴리글리콜산 (PGA), 폴리유산 (PLA), 폴리카프로락톤 (PCL), 폴리히드록시알카노에이트 (PHA), 폴리히드록시부티레이트 (PHB), 폴리에틸렌 아디핀산염 (PEA), 폴리부틸렌 숙신산염 (PBS), 폴리(3-히드록시부티레이트-코-3-히드록시발레르산염 (PHBV), 폴리에틸렌 테레프탈염산 (PET), 폴리부틸렌 테레프탈염산 (PBT, 폴리트리메틸렌 테레프탈염산 (PTT), 그리고 폴리에틸렌 나프탈레이트 (PEN)로 구성된 군에서 선택되는 합성 폴리에스테르로부터 형성되는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 10

청구항 1 내지 8 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 합성 폴리아미드로부터 형성되는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 합성 폴리아미드는 나일론인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 12

청구항 1 내지 11 중에서 어느 한 항에 있어서, 형광 표지화된 마이크로입자는 희토류 금속 착물을 포함하는 형광 표지화된 중합체 마이크로입자인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 희토류 금속 착물은 유로퓸, 테르븀 및 사마륨, 이들의 금속 퀼레이트, 그리고 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 란탄족 금속을 포함하는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 14

청구항 1 내지 13 중에서 어느 한 항에 있어서, 중합체 마이크로입자는 100 내지 5000, 150 내지 2000, 200 내지 1000, 또는 300 내지 600의 범위에서 평균 직경 (nm)을 갖는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 15

청구항 1 내지 14 중에서 어느 한 항에 있어서, 중합체 마이크로입자는 최소한 약 200의 평균 직경 (nm)을 갖는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 16

표본에서 면역형광 검정을 수행하는데 이용하기 위한 측방 유동 면역형광 검정 장치에 있어서, 상기 장치는 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하고, 상기 중간 구역은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하는데 이용하기 위한 형광 검출 시약을 포함하고, 여기서 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고, 그리고 여기서 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 모세관 작용에 의해 최소한 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 유체 표본을 운반할 수 있는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 각각, 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하고, 그리고 형광 검출 시약은 검출 구역에서 검출을 위한 미리 결정된 피분석물을 표지화하는데 이용하기 위해 상기 장치의 중간 구역에서 가역적으로 고정되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 18

청구항 16 또는 청구항 17에 있어서, 고정된 포획 시약은 미리 결정된 표적 피분석물에 대한 결합 친화성을 갖

는 포획 항체인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 19

청구항 16 내지 18 중에서 어느 한 항에 있어서, 피분석물 결합 시약은 미리 결정된 표적 피분석물에 대한 결합 친화성을 갖는 항체인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 20

청구항 16 내지 19 중에서 어느 한 항에 있어서, 상기 장치의 표본 적하 구역은 pH 또는 완충 작용제, 계면활성제, 여과제, 그리고 차단제로 구성된 군에서 선택되는, 그 안에 고정된 하나 또는 그 이상의 작용제를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 21

청구항 16 내지 20 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 하나 또는 그 이상의 다공성 싱크 또는 하나 또는 그 이상의 추가 구역, 또는 이들의 조합을 포함하고, 그리고 여기서 추가 구역은 제어 구역, 시약 구역, 확산 구역, 차단 또는 필터 구역, 장벽 구역 또는 완충 구역에서 선택되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 22

청구항 16 내지 21 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리에테르, 폴리올레핀, 폴리카보네이트 및 폴리우레탄으로 구성된 군에서 선택되는 합성 중합체로부터 형성되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 23

청구항 16 내지 22 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 폴리글리콜산 (PGA), 폴리유산 (PLA), 폴리카프로락톤 (PCL), 폴리히드록시알카노에이트 (PHA), 폴리히드록시부티레이트 (PHB), 폴리에틸렌 아디핀산염 (PEA), 폴리부틸렌 숙신산염 (PBS), 폴리(3-히드록시부티레이트-코-3-히드록시발레르산염 (PHBV), 폴리에틸렌 테레프탈염산 (PET), 폴리부틸렌 테레프탈염산 (PBT, 폴리트리메틸렌 테레프탈염산 (PTT), 그리고 폴리에틸렌 나프탈레이트 (PEN)로 구성된 군에서 선택되는 합성 폴리에스테르로부터 형성되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 24

청구항 16 내지 22 중에서 어느 한 항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 합성 폴리아미드로부터 형성되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 25

청구항 24에 있어서, 합성 폴리아미드는 나일론인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 26

청구항 16 내지 25 중에서 어느 한 항에 있어서, 형광 표지화된 마이크로입자는 희토류 금속 착물을 포함하는 형광 표지화된 중합체 마이크로입자인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 희토류 금속 착물은 유로퓸, 테르븀 및 사마륨, 이들의 금속 킬레이트, 그리고 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 란탄족 금속을 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 28

청구항 16 내지 27 중에서 어느 한 항에 있어서, 중합체 마이크로입자는 100 내지 5000, 150 내지 2000, 200 내지 1000, 또는 300 내지 600의 범위에서 평균 직경 (nm)을 갖는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 29

청구항 16 내지 28 중에서 어느 한 항에 있어서, 중합체 마이크로입자는 최소한 약 200의 평균 직경 (nm)을 갖는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 30

표본 내에 피분석물을 검출하기 위한 방법에 있어서, 다음의 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

- a) 미리 결정된 피분석물의 존재에 대해 시험되는 표본을 형광 검출 시약과 접촉시키고, 따라서 형광 표지화된 피분석물을 형성함으로써, 형광 표지화된 피분석물을 포함하는 사전 처리된 표본을 획득하는 단계, 그리고 여기서 상기 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물을 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고;
- b) 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 임의선택적으로, 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역검정 장치를 제공하는 단계;
- c) 측방 유동 면역검정 장치의 표본 적하 구역을 a) 단계로부터 획득된 사전 처리된 표본과 접촉시키는 단계, 여기서 사전 처리된 표본은 모세관 작용에 의해 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 운반되고, 그리고 형광 표지화된 피분석물은 검출 구역 내에 고정되는 포획 시약과 결합하고; 그리고
- d) 형광 분광분석법에 의해 검출 구역에서 형광 표지화된 피분석물을 검출하는 단계.

청구항 31

표본 내에 피분석물을 검출하기 위한 방법에 있어서, 다음의 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

- a) 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역형광 검정 장치를 제공하는 단계, 여기서 상기 중간 구역은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하는데 이용하기 위한 가역적으로 고정된 형광 검출 시약을 포함하고, 여기서 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고;
- b) 측방 유동 면역형광 검정 장치의 표본 적하 구역을 미리 결정된 피분석물의 존재에 대해 시험되는 표본과 접촉시키는 단계, 여기서 상기 표본은 모세관 작용에 의해 표본 적하 구역으로부터 중간 구역으로 운반되고, 그리고 가역적으로 고정된 형광 검출 시약과 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하고, 상기 형광 표지화된 피분석물은 이후, 모세관 작용에 의해 검출 구역으로 운반되어 검출 구역에서 고정을 위한 포획 시약과 결합하고; 그리고
- c) 형광 분광분석법에 의해 검출 구역에서 형광 표지화된 피분석물을 검출하는 단계.

청구항 32

청구항 30 또는 청구항 31에 있어서, 측방 유동 면역형광 검정 장치는 청구항 16 내지 29 중에서 어느 한 항의 장치인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 33

청구항 30 내지 32 중에서 어느 한 항에 있어서, 표본에서 표적 피분석물의 존재 또는 수준을 검출하는데 이용되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 34

청구항 30 내지 32 중에서 어느 한 항에 있어서, 표본에서 표적 피분석물의 농도를 정량적으로 계측하는데 이용되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 35

청구항 30 내지 34 중에서 어느 한 항에 있어서, 표적 피분석물의 검출 또는 계측은 임상적 결정의 기초가 되는 상태를 진단하는데 이용되는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 일반적으로, 생물학적 표본에서 피분석물을 검출하기 위한 측방 유동 면역검정 시스템, 장치 및 방법에 관계한다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 합성 실 기초된 측방 유동 면역형광 검정 시스템, 장치 및 방법에 관계한다.

배경 기술

[0002]

진단학의 중요한 분야는 개체에서 진단 및 시험, 예를 들면, 질환, 상태, 미생물 또는 약물에 대한 시험에서 속도, 정확도 및 단순함을 제공하기 위한 신속한 면역진단 검정의 이용이다. 이런 검정의 통상적인 형태는 측방 유동 면역검정인데, 이것은 장치, 예를 들면, 임신 검사 키트에서 통상적으로 이용된다.

[0003]

측방 유동 면역검정은 그들의 단순함, 속도 및 신뢰도에 비추어 자가-시험 및 임상적 세팅에서 꼭넓게 이용되고, 그리고 예로서 미국 특허 출원 번호 2005/0227371에서 설명된 바와 같이 액체 표본에서 특정한 피분석물의 존재를 신속히 검출하기 위한 비-전기적 방법을 수반한다.

[0004]

측방 유동 면역검정은 일반적으로, 미리 결정된 피분석물을 내포하는 것으로 의심되는 액체 표본을 다공성 담체 위에 적용하는 것을 수반하고, 그리고 액체 표본은 이후, 모세관 작용에 의해 다공성 담체를 획단한다. 상이한 다공성 물질이 다공성 담체에 이용될 수 있고, 그리고 양상, 예를 들면, 구멍 크기, 위킹 또는 유속, 단백질-결합 양상 및 사전 처리에서 상이할 수 있다. 본질적으로, 모든 물리적 활성 및 화학 반응이 다공성 담체 내에서 발생한다. 액체 표본은 계측된 시간 또는 용적 (가령, 5 초 또는 2 방울)을 위해 다공성 담체의 표본추출-단부 (가령, '근위 단부' 또는 '습성 단부') 위에 적용된다. 액체 표본은 이후, 모세관 작용에 의해 '원위' 또는 '건성' 단부까지 다공성 담체를 따라서 이동한다. 액체 표본은 추가 작용제, 예를 들면, pH 작용제 또는 완충액, 계면활성제, 및/또는 차단제와의 최적화된 반응을 위해 사전 처리될 수 있는데, 이들 작용제는 전형적으로, 다공성 담체 내로 함침된다. 표본 내에 피분석물은 미리 결정된 피분석물에 결합을 위한 친화성을 갖는 표지화된 시약 (가령, '검출 시약')을 이용함으로써 검출을 위해 '표지화'될 수 있다. 표본은 다공성 담체와의 접촉 전에 표지화될 수 있고, 또는 대안으로, 다공성 담체는 '표지화 구역'을 포함할 수 있는데, 여기서 표본은 다공성 담체에서 가역적으로 (일시적으로) 고정된 표지화된 시약을 동원한다. 피분석물이 동원된 표지화된 시약과 반응하는 동안, 액체 표본 및 동원된 표지화된 시약은 다공성 담체 내에서 검출 구역 (가령, '포획 구역')으로 더욱 이동하고, 여기서 동일한 피분석물에 결합하는 포획 시약 (가령, 고정된 포획 항체)은 통상적으로 라인의 형태에서 다공성 담체에 고정된다. 피분석물이 액체 표본 내에 존재할 때, 표지화된 시약: 피분석물: 포획 항체의 형태에서 '샌드위치'가 형성되고, 그리고 표지화된 시약의 결과의 농축은 검출 구역에서 나타나는 검출가능한 라인을 야기하는데, 이것은 양성 결과를 지시한다. 임의의 남아있는 표본 액체는 나머지 표지화된 시약과 함께, 제어 구역 및/또는 다공성 싱크까지 계속 이동한다. 미리 결정된 피분석물과 반응하지 않고, 그리고 다공성 담체 내에 남아있는 결합되지 않은 표지화된 시약은 검출 정확도를 감소시킬 수 있는 배경 신호의 원인이 된다.

[0005]

니트로셀룰로오스 막이 전형적으로, 측방 유동 면역검정에서 다공성 담체 물질로서 이용된다. 하지만, 니트로셀룰로오스 막 물질을 제조하기 위한 과정으로부터 발생하는 일부 가변성이 니트로셀룰로오스 막 물질에 존재하는데, 이것은 시험의 감소된 정확도 및 정밀도를 유발할 수 있다. 위킹 속도에서 변이를 유발하는, 니트로셀룰로오스 막을 생산할 때 이러한 가변성은 재현성 문제를 유발하는데, 여기서 측방 유동 시험은 전통적으로 정량적 계측에 대한 성과가 불량하고, 검정 변동 계수 (CV)가 예로서, *J Agric. Food Chem.* 2012 Nov 21;60(46):11491-7 및 *Anal. Chim. Acta.* 2013 Apr 15;772:75-80에서 설명된 바와 같이 통상적으로 20-40% 범위에 있다. 25%의 검정 CV는 시험 결과에 대한 95% 신뢰 구간이 평균 +/- 50%라는 것을 의미한다. 이런 불량한 부정확은 정확한 계측, 특히 표본 내에 표적 피분석물의 농도를 결정하고, 그리고 임상적 결정이 기초될 수 있는 정량적 계측에 적합하지 않다. 부정확한 진단은 부정확한 임상적 의사 결정을 야기할 수 있고, 이것은 차례로, 불리한 건강 결과를 야기할 수 있다. 비록 다른 유형의 다공성 물질이 니트로셀룰로오스 막 물질에 대한 대안으로서 이용되긴 했지만, 이들 역시 전형적으로, 특히 피분석물 검출 방법이 낮은 배경 잡음에 의존하는 경우에 불량한 부정확의 문제를 겪는다.

[0006]

다양한 방법이 피분석물을 표지화하고 표본 내에서 표지화된 피분석물의 존재를 검출하는데 이용될 수 있다, 예를 들면, 미리 결정된 피분석물에 대해 결합 친화성을 갖는 비색 라벨, 방사성동위원소 및 형광 라벨이 이용될

수 있다. 가령, 비색 라텍스 비드를 이용한 표지화는 미국 특허 번호 5,451,504에서 설명되었다. 시각 마커 (가령, 콜로이드 금 라벨)를 이용한 전통적인 측방 유동 시험은 감수성의 면에서 성과가 불량한 것으로 알려져 있다. 다른 표지화 기술 역시 표본 내에서 소량의 특정 피분석물을 검출하기 위한 신속한 진단적 검정에서 이용될 때 문제가 발생할 수 있다. 형광 라벨이 일부 유형의 면역검정 시스템에서 이용되고 있긴 하지만, 이들의 감수성은 자연-형광성 다공성 담체 및 이들의 성분의 배경 형광에 의해, 또는 결합되지 않은 형광 라벨의 존재로부터 전형적으로 제한된다.

[0007] 결과적으로, 정확하고, 비용-효과적이고, 그리고 표본 내에 표적 피분석물의 검출을 신속하게 할 수 있게 하는 대안적인 향상된 측방 유동 면역검정 장치 및 시스템을 확인하는 것이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 측방 유동 면역검정에서 본 발명자들의 연구 및 개발에 근거되는데, 이것은 표본 내에 표적 피분석물의 존재를 정확하게 결정하는데 있어서 신속하고 비용-효과적인 진단적 도구로서 이용될 수 있다.

[0009] 본 발명은 합성 실 기초된 면역형광 검정 시스템, 장치 및 방법을 제공하는데, 이들은 최소한 일부 구체예에서, 표적 피분석물의 정성적 확인 및 정량적 계측에 이용될 수 있다. 본 발명자들은 그들의 연구의 과정에서, 측방 유동 면역형광 검정, 그리고 특히, 표적 피분석물에 결합하고 이들을 검출하기 위해 형광 마이크로입자의 이용을 수반하는 검정을 이용하여 표본으로부터 표적 피분석물의 정확도 및 수준을 결정하는 것과 연관된 문제를 확인하였다. 본 발명은 이런 이유로, 모세관 작용에 의해 유체 표본의 담체로서 이용을 위한 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역형광 검정 장치, 그리고 표적 피분석물을 검출하기 위한 형광 표지화된 마이크로입자의 이용을 수반하는 장치를 포함하는 시스템 및 방법을 제공하는 것에 또한 관계한다.

[0010] 한 양상에서, 다음을 포함하는, 표본에서 면역형광 검정을 수행하기 위한 시스템이 제공된다:

[0011] 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 임의선택적으로 표본 적하 구역 및 포획 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역형광 검정 장치, 여기서 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 모세관 작용에 의해 최소한 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 유체 표본을 운반할 수 있고;

[0012] 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하기 위한 형광 검출 시약, 여기서 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 동조된 또는 연결된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고; 그리고

[0013] 형광 검출 시약에 결합되고 포획 시약에 의해 상기 장치의 검출 구역에서 고정되는 미리 결정된 피분석물을 검출하는데 이용하기 위한 형광 여기 공급원 및 검출기.

[0014] 상기 시스템은 표본 내에서 표적 피분석물의 존재 또는 수준을 검출하는데 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 시스템은 표본 내에서 표적 피분석물의 수준 (가령, 농도)을 정량적으로 계측하는데 이용된다. 표적 피분석물의 검출 또는 계측은 임상적 결정의 근거가 되는 상태를 진단하는데 이용될 수 있다.

[0015] 면역형광 검정 시스템은 일-단계 면역형광 검정 시스템일 수 있다. 면역형광 검정 시스템은 습성 면역형광 검정 시스템일 수 있는데, 여기서 표본 및 형광 검출 시약은 표본을 상기 장치의 표본 적하 구역에 접촉시키기에 앞서 혼합된다. 면역형광 검정 시스템은 건성 면역형광 검정 시스템일 수 있는데, 여기서 면역형광 검정 장치는 형광 검출 시약을 포함한다. 한 구체예에서, 면역형광 검정 장치의 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정한다. 추가 구체예에서, 형광 검출 시약은 검출 구역에서 검출을 위한 미리 결정된 피분석물을 표지화하는데 이용하기 위해 상기 장치의 중간 구역에서 가역적으로 고정된다.

[0016] 표본은 pH 또는 완충 작용제, 계면활성제, 여과제, 그리고 차단제로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 작용제로 사전 처리될 수 있다. 상기 장치의 표본 적하 구역은 pH 또는 완충 작용제, 계면활성제, 여과제, 그리고 차단제로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 작용제를 포함할 수 있다. 하나 또는 그 이상의 작용제가 표본 적하 구역 상에 고정될 수 있다. 검출 구역은 고정된 포획 시약을 포함하는 하나 또는 그 이상의 라인을 포함할 수 있다. 포획 시약은 포획 항체일 수 있다. 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실 또는 장치는 하나 또는 그 이상의 다공성 싱크 또는 추가 구역, 예를 들면, 제어 구역, 시약 구역, 확산 구역, 차단 또는 필

터 구역, 장벽 구역 또는 완충 구역을 더욱 포함할 수 있다.

[0017] 한 구체예에서, 피분석물 결합 시약은 미리 결정된 표적 피분석물에 대한 결합 친화성을 갖는 항체이다. 다른 구체예에서, 포획 시약은 미리 결정된 표적 피분석물에 대한 결합 친화성을 갖는 고정된 포획 항체이다.

[0018] 면역형광 검정 시스템은 단일 또는 다중 검정을 제공할 수 있다. 가령, 면역검정 장치는 표본 내에 2개 또는 그 이상 미리 결정된 피분석물을 검출하는데 이용하기 위한 복수의 실을 포함할 수 있다.

[0019] 한 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리에테르, 폴리올레핀, 폴리카보네이트 및 폴리우레탄으로 구성된 군에서 선택되는 합성 중합체로부터 형성된다. 다른 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 합성 폴리에스테르로부터 형성된다. 폴리에스테르는 폴리글리콜산 (PGA), 폴리유산 (PLA), 폴리카프로락톤 (PCL), 폴리히드록시알카노에이트 (PHA), 폴리히드록시부티레이트 (PHB), 폴리에틸렌 아디핀산염 (PEA), 폴리부틸렌 숙신산염 (PBS), 폴리(3-히드록시부티레이트-코-3-히드록시발레르산염 (PHBV), 폴리에틸렌 테레프탈염산 (PET), 폴리부틸렌 테레프탈염산 (PBT, 폴리트리메틸렌 테레프탈염산 (PTT), 그리고 폴리에틸렌 나프탈레이트 (PEN)로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 다른 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 합성 폴리아미드부터 형성된다. 폴리아미드는 나일론, 예를 들면, 나일론-6,6; 나일론-6; 나일론-6,9; 나일론-6,10; 나일론-6,12; 나일론-11; 나일론-12 및 나일론-4,6으로 구성된 군에서 선택되는 나일론일 수 있다.

[0020] 형광 표지화된 마이크로입자는 형광 표지화된 중합체 마이크로입자일 수 있다. 마이크로입자는 형광 희토류 금속 착물로 형광 표지화될 수 있다. 한 구체예에서, 형광 표지화된 마이크로입자는 형광 희토류 금속 착물에 연관된, 연결된 또는 동조된 중합체 마이크로입자를 포함한다. 희토류 금속 착물은 란탄족 금속을 포함할 수 있다. 란탄족 금속은 유로퓸, 테르븀 및 사마륨으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 한 구체예에서, 희토류 금속은 유로퓸이다. 형광 희토류 금속 착물은 유로퓸, 테르븀 및 사마륨의 금속 퀼레이트일 수 있다.

[0021] 중합체 마이크로입자는 100 내지 5000, 150 내지 2000, 200 내지 1000, 또는 300 내지 600의 범위에서 평균 직경 (nm)을 가질 수 있다. 중합체 마이크로입자의 평균 직경 (nm)은 최소한 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000일 수 있다. 한 구체예에서, 중합체 마이크로입자의 평균 직경은 최소한 약 200nm이다.

[0022] 다른 양상에서, 표본에서 면역형광 검정을 수행하는데 이용하기 위한 측방 유동 면역형광 검정 장치가 제공되고, 여기서 상기 장치는 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하고, 상기 중간 구역은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하는데 이용하기 위한 형광 검출 시약을 포함하고, 여기서 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고, 그리고 여기서 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실은 모세관 작용에 의해 최소한 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 유체 표본을 운반할 수 있다.

[0023] 면역검정 장치는 합성 중합체 실을 뒷받침하는데 이용하기 위한 기질 또는 하우징을 포함할 수 있다.

[0024] 면역형광 검정 시스템에 대해 앞서 설명된 구체예는 이들 구체예가 면역검정 장치에 관계하는 경우에, 상기 장치에 대한 구체예로서 또한 적용될 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[0025] 다른 양상에서, 다음의 단계를 포함하는 표본 내에 피분석물을 검출하기 위한 방법이 제공된다:

[0026] a) 미리 결정된 피분석물의 존재에 대해 시험되는 표본을 형광 검출 시약과 접촉시키고, 따라서 형광 표지화된 피분석물을 형성함으로써, 형광 표지화된 피분석물을 포함하는 사전 처리된 표본을 획득하는 단계, 그리고 여기서 상기 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고;

[0027] b) 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 임의선택적으로, 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역검정 장치를 제공하는 단계;

[0028] c) 측방 유동 면역검정 장치의 표본 적하 구역을 a) 단계로부터 획득된 사전 처리된 표본과 접촉시키는 단계, 여기서 사전 처리된 표본은 모세관 작용에 의해 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 운반되고, 그리고 형광

표지화된 피분석물을 검출 구역 내에 고정되는 포획 시약과 결합하고; 그리고

[0029] d) 형광 분광분석법에 의해 검출 구역에서 형광 표지화된 피분석물을 검출하는 단계.

[0030] 다른 양상에서, 다음의 단계를 포함하는, 표본 내에 피분석물을 검출하기 위한 방법이 제공된다:

a) 최소한 표본 적하 구역, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 포획 시약을 포함하는 검출 구역, 그리고 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역형광 검정 장치를 제공하는 단계, 여기서 상기 중간 구역은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하는데 이용하기 위한 가역적으로 고정된 형광 검출 시약을 포함하고, 여기서 형광 검출 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하고;

b) 측방 유동 면역형광 검정 장치의 표본 적하 구역을 미리 결정된 피분석물의 존재에 대해 시험되는 표본과 접촉시키는 단계, 여기서 상기 표본은 모세관 작용에 의해 표본 적하 구역으로부터 중간 구역으로 운반되고, 그리고 가역적으로 고정된 형광 검출 시약과 결합하여 형광 표지화된 피분석물을 형성하고, 상기 형광 표지화된 피분석물은 이후, 모세관 작용에 의해 검출 구역으로 운반되어 검출 구역에서 고정을 위한 포획 시약과 결합하고; 그리고

c) 형광 분광분석법에 의해 검출 구역에서 형광 표지화된 피분석물을 검출하는 단계.

[0034] 상기 방법은 표본 내에 표적 피분석물의 존재 또는 수준을 검출하는데 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 이들 방법은 표본 내에 표적 피분석물의 수준 (가령, 농도)을 정량적으로 계측하는데 이용될 수 있다. 표적 피분석물의 검출 또는 계측은 임상적 결정의 기초가 되는 상태를 진단하는데 이용될 수 있다.

[0035] 면역형광 검정 시스템 및 장치에 대해 앞서 설명된 구체예는 상기 방법에 대한 구체예로서 또한 적용될 수 있는 것으로 인지될 것이다.

[0036] 본 발명 및 이의 구체예의 다른 특질, 목적 및 이점은 다음의 상세한 설명, 실시예 및 청구항로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0037] 본 발명의 구체예가 단지 실례로서, 첨부 도면에 관하여 더욱 설명되고 예시되는데, 여기서:

도면 1은 본 발명의 첫 번째 구체예에 따른, 평면도에서 면역검정 장치를 보여주는 다이어그램을 제공한다;

도면 2는 평면도에서 면역검정 장치에 대한 카세트를 보여주는 다이어그램을 제공한다;

도면 3은 정면도에서 면역검정 장치에 대한 카세트를 보여주는 다이어그램을 제공한다;

도면 4는 평면도에서 면역검정 장치에 대한 카세트에서 검사 및 제어 구역 창의 확대도를 보여주는 다이어그램을 제공한다;

도면 5는 본 발명의 두 번째 구체예에 따른 면역검정 장치를 보여주는 다이어그램을 제공한다;

도면 6a는 본 발명의 한 구체예에 따른 합성 중합체 실 (도면 6b)과 비교하여, 전통적인 니트로셀룰로오스 막 (도면 6a)을 이용한 측방 유동 면역검정에서 C-반응성 단백질의 피분석물 검출을 보여주는 2개의 사진을 제공한다;

도면 7은 C-반응성 단백질이 적정 연속에서 존재했을 때 형광 마이크로입자 표지화된 면역검정에서 이용된 니트로셀룰로오스 막으로부터 형광 및 배경 신호의 스캔에서 반복 데이터를 제공한다;

도면 8은 C-반응성 단백질이 적정 연속에서 존재했을 때 형광 마이크로입자 표지화된 면역검정에서 이용된 면사로부터 형광 및 배경 신호의 스캔을 제공한다;

도면 9는 C-반응성 단백질이 적정 연속에서 존재했을 때 형광 마이크로입자 표지화된 면역검정에서 나일론 실 (본 발명에서 이용됨)로부터 형광 및 배경 신호의 스캔에서 반복 데이터를 제공한다;

도면 10은 측방 유동 면역검정에서 이용된 전통적인 니트로셀룰로오스 막의 전자 현미경 10,000X 확대된 이미지를 제공한다;

도면 11은 음성 C-반응성 단백질 표본이 이용되고, 그리고 검출 라벨이 300 nm 유로퓸 마이크로입자인, 전통적

인 니트로셀룰로오스 막의 종적 형광 스캔을 보여준다;

도면 12는 자연 섬유소 기초된 면사의 전자 현미경 횡단면을 제공한다;

도면 13은 합성 나일론 실의 전자 현미경 횡단면을 제공한다; 그리고

도면 14는 검출 구역 위치에서 합성 나일론 실의 2500X 확대된 이미지에서 전자 현미경 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038]

본 발명은 다음의 다양한 무제한적 구체예에서 설명되는데, 이들은 표본 용액 내에 표적 피분석물의 수준을 신속하고 정확하게 결정하기 위한 향상된 대안적인 측방 유동 면역검정 장치, 시스템 및 방법을 확인하기 위해 착수된 조사에 관계한다. 최소한 일부 구체예에서, 놀랍게도, 모세관 작용에 의해 유체 표본의 담체로서 이용을 위한 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역검정 장치는 표적 피분석물의 향상된 정성적 및 정량적 검출, 특히 마이크로입자 기초된 형광 라벨을 이용한 면역형광 검정 장치, 시스템 및 방법을 제공할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 면역검정 장치에서 합성 중합체 실의 이용은 이들 장치의 위킹 속도 및 진단적 능력의 향상된 일관성 및 재현성을 가능하게 할 수 있고, 그리고 최소한 일부 구체예에서, 다공성 담체에서 이용될 수 있는 결합되지 않은 형광 마이크로입자의 포획을 감소시키고, 이런 이유로 표적 피분석물 검출을 향상시킴으로써 배경 형광을 감소시킬 수 있다.

[0039]

일반 용어

[0040]

명세서 전반에서, 달리 특정되지 않으면 또는 문맥에서 달리 요구되지 않으면, 단일 단계, 물질 조성물, 단계의 군 또는 물질 조성물의 군에 대한 언급은 이들 단계, 물질 조성물, 단계의 군 또는 물질 조성물의 군 중에서 하나 및 복수(즉, 하나 또는 그 이상)을 포함하는 것으로 간주될 것이다. 따라서, 본원에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a," "an," 및 "the")는 문맥에서 달리 명시되지 않으면, 복수 양상을 포함한다. 가령, "a"에 대한 언급은 단일뿐만 아니라 2개 또는 그 이상을 포함하고; "an"에 대한 언급은 단일뿐만 아니라 2개 또는 그 이상을 포함하고; "the"에 대한 언급은 단일뿐만 아니라 2개 또는 그 이상을 포함하고, 기타 등등이다.

[0041]

당업자는 본원에서 발명이 구체적으로 설명된 것들 이외에 변이 및 변형을 허용한다는 것을 인지할 것이다. 본 발명은 이와 같은 모든 변이 및 변형을 포함하는 것으로 이해된다. 본 발명은 또한, 개별적으로 또는 집합적으로 본 명세서에서 지칭되거나 또는 지시된 모든 단계, 특질, 조성물 및 화합물, 그리고 상기 단계 또는 특질의 임의의 모든 조합 또는 임의의 2가지 또는 그 이상을 포함한다.

[0042]

본원에서 설명된 발명의 각 실례는 달리 특정되지 않으면, 각각의 모든 다른 실례에 필요한 부분만 약간 수정하여 적용된다. 본 발명은 본원에서 설명된 특정한 실례에 의해 범위에서 제한되지 않고, 이들 실례는 단지 예증의 목적으로만 의도된다. 기능적으로-동등한 산물, 조성물 및 방법은 명확하게, 본원에서 설명된 바와 같은 발명의 범위 내에 있다.

[0043]

본 발명은 달리 지시되지 않으면, 형광 표지화, 여기 및 검출 기술을 비롯하여 측방 유동 면역형광 검정에서 이용되는 전통적인 기술을 이용하여 수행된다. 이런 절차는 예로서, US 특허 4719182 또는 참고 문헌 "Lateral Flow Immunoassay, Wong et al, Humana Press, 2007, pages 170-181"에서 설명된다.

[0044]

용어 "및/또는", 예를 들면, "X 및/또는 Y"는 "X 및 Y" 또는 "X 또는 Y"를 의미하는 것으로 이해될 것이고, 그리고 양쪽 의미 또는 어느 한쪽 의미에 대한 명시적 뒷받침을 제공하는 것으로 간주될 것이다.

[0045]

본 명세서 전반에서, 단어 "포함한다" 또는 변이, 예를 들면, "포함한다" 또는 "포함하는"은 언급된 원소, 완전체 또는 단계, 또는 원소, 완전체 또는 단계의 군의 포함, 하지만 임의의 다른 원소, 완전체 또는 단계, 또는 원소, 완전체 또는 단계의 군의 배제하지 않음을 암시하는 것으로 이해될 것이다.

[0046]

비록 다수의 선행 기술 간행물이 본원에서 참조되지만, 이러한 참조는 임의의 이들 문서가 당분야에서, 오스트레일리아에서 또는 임의의 다른 국가에서 통상적인 일반 상식의 일부를 형성한다는 것을 시인하는 것으로 여겨지지 않는다는 것은 명백하게 이해될 것이다.

[0047]

달리 규정되지 않으면, 본원에서 이용된 모든 기술 용어와 과학 용어는 본 발명이 속하는 당해 분야의 평균적 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 비록 본원에서 설명된 것들과 유사하거나 균등한 방법과 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 이용될 수 있지만, 적절한 방법과 재료가 하기에 설명된다. 충돌하는 경우에, 정의를 비롯한 본 명세서가 우선할 것이다. 이에 더하여, 이들 재료, 방법, 그리고 실례는 단지

예시이고 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0048] 특정한 용어

본원에서 "표본"에 대한 언급은 개체로부터 유래된 임의의 표본, 예를 들면, 하지만 제한 없이, 체액 (가령, 혈액 또는 혈액 분획물, 예를 들면, 혈청 또는 혈장, 눈물, 소변, 복수, 눈물, 땀, 타액, 배출물, 치은 열구액, 조직 추출물, 윤활액 또는 뇌척수액), 세포 물질 (가령, 조직 흡인물), 조직 생검 검체 또는 외과적 검체에 대한 언급으로서 이해되어야 하다. "생물학적 유체 표본", "유체 표본" 또는 "체액"은 생물체의 신체로부터 표본으로서 채취될 수 있고, 그리고 인간 또는 동물 개체로부터 검출가능한 피분석물 또는 유전 물질, 예를 들면, 혈액 또는 혈장을 내포할 수 있는 임의의 유체를 지칭한다. 측방 유동 면역검정을 위해, 면역검정 장치에 적용된 표본은 상기 장치 내에서 모세관 흐름을 할 수 있는 액체의 형태이고, 그리고 상기 표본은 이런 유동성 및 모세관 흐름을 조장하기 위해 처리되거나 또는 추가 작용제 또는 화학물질이 첨가될 수 있는 것으로 인지될 것이다.

"피분석물"은 체액에서 검출될 수 있는 단백질, 거대분자 및 소형 분자, 예를 들면, 인간 또는 동물 개체로부터 획득된 혈액 또는 혈장 표본 내에 존재하는 항원 또는 항체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "형광 표지화된 피분석물"은 형광을 방출할 수 있는 형광종, 예를 들면, 형광 검출 시약으로 표지화된 피분석물을 의미한다.

본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항체"는 다중클론 또는 단일클론 전체 면역글로불린, 예를 들면, IgG, IgM, IgA, IgE 등, 또는 면역글로불린 단편, 예를 들면, F(ab)2, F(ab')2, Fab, Fab' 등, 또는 이들의 혼합물을 의미하고, 그리고 합성 항체를 포함한다.

본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "진단", 그리고 이의 변이체, 예를 들면, 하지만 제한 없이, "진단하다", "진단된" 또는 "진단하는"은 임상적 상태의 임의의 일차적인 진단 또는 재발성 질환의 진단을 포함한다.

본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "마이크로입자"는 약 $0.1\text{ }\mu\text{m}$ 및 $100\text{ }\mu\text{m}$ 사이에, 예를 들면, 약 100nm보다 큰 직경을 갖는 입자를 의미한다.

본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "합성 중합체 실"은 복수의 개별 합성 중합체 섬유소로부터 형성된 실을 지칭한다.

용어 "중합체"는 공중합체를 포함하고, 그리고 용어 "단위체"는 공단위체를 포함한다.

[0057] 진단 면역검정 시스템, 장치 및 방법

본원에서 설명된 측방 유동 면역검정 시스템은 특히 형광 검출 방법, 예를 들면, 측방 유동 면역형광 검정에서 이용될 때, 표적 피분석물의 향상된 검출로, 시험을 위한 상대적으로 작은 표본 용적을 필요로 하는 비용-효과적이고, 이동가능하고, 신속한 진단 시스템을 제공할 수 있다.

본원에서 설명된 면역형광 검정 시스템은 다공성 담체 시스템을 제공하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실을 포함하는 측방 유동 면역검정 장치의 이용을 포함한다. 합성 중합체 실은 다양한 작용제로 코팅되거나 또는 함침되고, 그리고 모세관 작용을 활용함으로써 유체 표본을 검정하도록 설정될 수 있다. 이들 면역형광 검정 시스템은 형광 검출 시약의 이용을 포함하는데, 이들 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물을 표지화하고 형광 분광법의 이용에 의해 피분석물을 검출하기 위해, 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함한다. 면역검정에서 피분석물 결합 시약 및 피분석물은 전형적으로, 상보성 항체 및 항원에 의해 제공될 것으로 인지될 것이다. 상기 장치의 검출 구역에서 표적 피분석물을 고정시키기 위한 포획 시약은 전형적으로, 표적 피분석물이 항원 또는 항체인지에 따라, 상보성 항체 또는 항원에 의해 제공될 것으로 또한 인지될 것이다.

합성 중합체 실은 최소한, 유체 표본을 실 위에 적하하는데 이용하기 위한 표본 적하 구역, 그리고 표본 내에 표적 피분석물을 고정시키고 이의 존재를 검출하는데 이용하기 위한 검출 구역을 규정한다. 검출 구역은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약을 포함한다. 합성 중합체 실은 유체 표본을 모세관 작용에 의해 최소한 표본 적하 구역으로부터 검출 구역으로 운반하는데 적합한 것으로 인지될 것이다. 하지만, 실에서 다른 구역 및 설정에서 변이가 제공될 수도 있다. 다른 구역은 하나 또는 그 이상의 시약 구역, 확산 구역, 차단 또는 필터 구역, 장벽 구역 또는 완충 구역 등을 포함할 수 있다. 이들 구역은 모세관 작용에 의해 서로 유체 연통하는데, 이것은 유체, 시약 및 반응 산물이 검출 구역에서 고정된 포획 시약을 제외하고,

구역 사이를 통과할 수 있다는 것을 의미한다. 이들 구역은 분리되거나, 겹쳐지거나 또는 인접할 수 있다.

[0061]

표본 내에 미리 결정된 피분석물은 미리 결정된 피분석물에 결합을 위한 친화성을 갖는 형광 검출 시약을 이용함으로써 검출을 위해 '표지화'될 수 있다. 표본은 다공성 담체와의 접촉 전에 형광 표지화될 수 있고, 또는 대안으로, 다공성 담체는 '표지화' 또는 '검출 구역' (가령, 중간 구역)을 포함할 수 있는데, 여기서 표본은 다공성 담체에서 가역적으로 (일시적으로) 고정된 형광 검출 시약을 동원한다. 형광 검출 시약은 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함할 수 있다. 피분석물 결합 시약은 전형적으로, 표적 피분석물이 예로서, 항원일 때 상보성 항체이다. 피분석물이 동원된 형광 검출 시약과 반응하는 동안, 액체 표본 및 동원된 검출 시약은 검출 구역 (이것은 또한, '포획 구역' 또는 '고정 구역'으로서 지칭될 수 있다)까지 다공성 담체를 따라서 더욱 이동하고, 여기서 동일한 피분석물 (가령, 항원)에 결합하는 포획 시약 (가령, 항체)이 통상적으로 라인의 형태에서 다공성 담체에 고착되거나 또는 고정된다. 피분석물이 액체 표본 내에 존재할 때, 복합체는 동원된 형광 표지화된 피분석물에 포획 시약 결합에 의해 형성되고, 그리고 형광 표지화된 피분석물의 결과의 농축은 검출 구역에서 나타나는 검출 가능한 라인을 제공하는데, 이것은 양성 결과를 지시한다. 임의의 남아있는 표본 액체는 나머지 형광 표지화된 시약과 함께, 검출 구역을 통하여 예로서, 제어 구역까지 계속 이동하는데, 상기 제어 구역은 표본이 검출 및 제어 구역을 통하여 예로서, 그리고 상기 검정이 유효한 시험 결과를 제공하였음을 지시하는 두 번째 라인을 제공하도록 설정될 수 있다. 나머지 표본 및 나머지 형광 표지화된 시약은 이후, 다공성 싱크로 이동하도록 설정될 수 있다. 미리 결정된 피분석물과 반응하지 않고, 그리고 다공성 담체의 다른 구역을 교차하여 포획되는 임의의 이동성 형광 표지화된 시약은 검출 정확도를 감소시킬 수 있는 배경 신호의 원인이 되는 것으로 인지될 것이다.

[0062]

합성 중합체 실은 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 구역이 제공될 수 있다. 중간 구역은 표본 적하 구역 및 검출 구역을 더욱 분리하는데 이용될 수 있고, 그리고 임의의 추가적인 작용제를 포함하거나 포함하지 않을 수 있다. 한 구체예에서, 형광 검출 시약은 상기 장치의 중간 구역 상에 가역적으로 고정될 수 있다. 이러한 과정은 표본이 모세관 작용에 의해 표본 구역으로부터 중간 구역으로 운반되는 것을 포함하는데, 여기서 표본 내에 피분석물은 가역적으로 고정된 형광 검출 시약에 결합하고 이를 동원하여 형광 표지화된 피분석물을 형성할 수 있다. 형광 표지화된 피분석물은 이후, 모세관 작용에 의해 중간 구역으로부터 검출 구역으로 운반된다. 형광 표지화된 피분석물은 이후, 미리 결정된 피분석물 (가령, 항원)에 대해 친화성을 갖는 고정된 포획 시약 (가령, 포획 항체)에 결합에 의해 포획 구역 내에 고정 ('포획')될 수 있다.

[0063]

면역검정 장치는 단일 실 또는 복수의 실을 포함할 수 있다. 면역검정 장치는 단일 또는 다중 검정에서, 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 미리 결정된 피분석물을 결정하는데 이용될 수 있다. 이를 장치의 다양한 설정이 제공될 수 있다. 가령, 면역검정 장치는 중심 포인트에서 각각 연결된 복수의 실을 포함할 수 있는데, 여기서 중심 포인트는 표본 적하 구역을 제공하고, 그리고 각 실의 원위 단부는 검출 구역을 포함한다. 최소한 일부 구체 예에서, 본원에서 설명된 측방 유동 면역검정 장치 및 시스템은 "일-단계" 면역검정으로서 지칭될 수 있다. 일-단계 면역검정은 "습성" 또는 "건성" 유형 면역검정일 수 있다.

[0064]

"습성" 일-단계 면역검정은 최소한, 실의 근위 단부에서 위치될 수 있는 표본 적하 구역, 그리고 실의 원위에서 위치될 수 있는 검출 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실 (다공성 담체로서)을 포함한다. 다른 구역은 각각의 표본 적하 구역 및 검출 구역 앞에, 사이에 또는 뒤에 제공될 수 있다. 이러한 "습성" 시스템에서, 표본 및 형광 검출 시약은 표본을 상기 실의 표본 적하 구역에 접촉시키기에 앞서 혼합된다. 형광 검출 시약 (가령, 형광 표지화된 항체)은 표본 용액 내에 미리 결정된 피분석물 (가령, 항원)과 특이적으로 결합하여, 표본 적하 구역에 접촉되기 전에 형광 표지화된 피분석물을 형성한다. 표본 용액이 상기 실의 표본 적하 구역 상에 배치된 후, 표본 용액은 모세관 작용에 의해 검출 구역을 교차하여 움직이는데, 여기서 형광 표지화된 피분석물은 검출 구역에서 고정된 포획 시약 (가령, 고정된 항체)에 고정된다. 피분석물이 형광 표지화되기 때문에, 검출 구역은 임의의 피분석물이 용액 내에 존재하면, 형광에 대해 검출될 수 있다.

[0065]

"건성" 일-단계 면역검정은 최소한 표본 적하 구역, 검출 구역, 그리고 표본 적하 구역 및 검출 구역 사이에 배치된 중간 (표지화) 구역을 규정하는 하나 또는 그 이상의 합성 중합체 실 (다공성 담체로서)을 포함한다. "건성" 검정은 중간 구역에서 가역적으로 (일시적으로) 고정된 실에서 직접적으로 형광 검출 시약을 포함함으로써 습성 검정과 상이하다. 관심되는 피분석물을 내포하는 표본 용액은 먼저 표본 구역 상에 배치된다. 모세관 작용을 통해, 표본 용액은 실을 획단한다. 표본 내에 피분석물이 중간 (표지화) 구역을 통과할 때, 임의의 피분석물은 형광 검출 시약으로 표지화되어 형광 표지화된 피분석물을 형성한다. 형광 표지화된 피분석물은 동원되고, 그리고 표본 용액과 함께, 실의 길이를 따라서 검출 구역까지 계속 획단한다. "습성" 검정에 대해 논의된 바와 같이, 표본 용액은 모세관 작용에 의해 검출 구역을 교차하여 움직이는데, 여기서 형광 표지화된 피분석물은 검

출 구역에서 고정된 포획 시약 (가령, 고정된 항체)에 고정된다. 피분석물이 형광 표지화되기 때문에, 검출 구역은 임의의 피분석물이 용액 내에 존재하면, 형광에 대해 검출될 수 있다.

[0066] 건성 "일 단계" 면역검정을 위한 면역검정 장치의 첫 번째 구체에는 도면 1에서 도시된다. 이러한 다이어그램에서, 면역검정 장치 (1)는 5-플렉스 면역검정 시험을 제공하는 예시적인 5개의 독립된 및 병렬 실 레인 (2a-2e)으로 구성된다. 앞서 언급된 바와 같이, 면역검정 장치는 얼마나 많은 피분석물 표적이 계측될 필요가 있는지에 따라 하나의 실 레인, 또는 복수의 실 레인으로 구성될 수 있다.

[0067] 도면 1에서 도시된 실례에서, 첫째로 표본은 다공성 표본 패드 (7) 위에 적하된다. 표본 패드의 역할은 표본을 수용하고, 가능하면 검정과 양립하는 방식으로 이를 처리하고, 그리고 피분석물을 검정에 방출하는 것이다. 예시적인 표본 패드는 셀룰로오스, 유리 섬유소, 레이온, 또는 다른 여과 배지로부터 만들어질 수 있다.

[0068] 두 번째로 표본은 표본 패드 (7)로부터 방출되고, 표본은 다수의 독립된 및 병렬 접합체 패드 (3a-3e)로 흘러갈 수 있고, 이들은 각각 표본 패드 7과 유체 연통한다. 이들 접합체 패드 각각은 말려진 고정된 접합체를 내포할 것인데, 이런 접합체는 형광 표지화된 마이크로입자에 결합된 관심되는 특정 표적에 대한 검출기 항체이다. 표본이 접합체 패드로 흘러갈 때, 말려진 접합체는 재수화되고 방출된다. 차후에, 각 실 레인에서 재수화된 방출된 접합체는 상기 실 레인 내에 접합체에 특이적인 임의의 표적 항원과 면역 복합체를 형성할 것이다. 접합체 패드는 유리 섬유소, 폴리에스테르, 또는 레이온으로부터 만들어질 수 있다.

[0069] 세 번째로 피분석물 (아마도, 표적 항원에 대한 면역 복합체를 내포)은 접합체 패드 (3a-3e)로부터 실 레인 (2a-2e)으로 방출되고, 이들은 각각 그들의 개별 접합체 패드와 유체 연통한다. 각각의 실 레인은 검출 구역 (4a-4e)이 도달될 때까지 피분석물이 각 실의 세로축을 따라서 점진적으로 위킹하도록 허용할 것이다. 각 실 레인 내에 검출 구역에서, 말려진 포획 항체가 실에 존재하고, 그리고 상기 포획 항체는 표적 항원에 특이적이다. 따라서, 특정 실 레인에서 표적 항원을 내포하는 형광 표지화된 면역 복합체가 존재하면, 이것은 검출 구역에서 실에 고정된 포획 항체에 결합할 것이고, 그리고 이것은 양성 시험 결과에 상관하는 기계-판독가능한 형광 신호로서 차후에 등록될 것이다. 대안으로, 어떤 표적 항원도 존재하지 않으면, 검출 구역 내에 형광 표지화된 마이크로입자의 어떤 결합도 없을 것이고, 그리고 이것은 음성 시험 결과에 상관하는 기계-판독가능한 제로 (또는 제로-근접) 형광 신호로서 차후에 등록될 것이다.

[0070] 네 번째로 피분석물은 검출 구역 (4a-4e)을 통과하여 제어 구역 (5a-5e)으로 흘러간다. 제어 구역 (5a-5e)에서, 추가 포획 항체가 실에 고정된다. 이러한 추가 포획 항체는 전형적으로, 접합체 내에 검출기 항체에 특정한 종 특이적 항체이다. 이러한 방식으로, 제어 구역 (5a-5e)에서 양성 형광 신호는 검정이 정확하게 실행되었음을 담보하기 위한 품질 관리 신호로서 이용된다.

[0071] 다섯 번째로, 피분석물은 제어 구역 (5a-5e)을 통과하여 심지, 또는 폐기물 패드 (8)로 흘러간다. 심지는 실 레인과 유체 연통하고, 그리고 유체를 실로부터 끄집어내고 (실 내에 모세관 작용을 이용하여), 그리고 이를 검정의 지속 기간 동안 유지하도록 설계된다. 심지 재료는 전형적으로 고밀도 셀룰로오스 재료이다.

[0072] 도면 1에서 도시된 면역검정 장치는 도면 2에서 도시된 플라스틱 카세트 (9) 내에 수용될 수 있다. 플라스틱 카세트는 표본이 도입되는 위쪽 표면에서 구멍 (10)을 가질 수 있는데, 이러한 구멍은 표본 패드 (7)를 노출시킨다 (도면 1에서 보여지는 바와 같이). 플라스틱 카세트는 도면 3에서 보여지는 바와 같이 위쪽 및 아래쪽 절반 (11a 및 11b)으로 구성될 수 있다. 이들 실에서 검출 구역 (4a-4e) 및 제어 구역 (5a-5e) 역시 도면 4에서 보여지는 바와 같이 상기 카세트의 위쪽 절반에서 창을 통해 노출된다. 이들 창 각각은 외부 기기 (도시되지 않음)로부터 형광 여기 광으로 조명될 수 있다. 결과적으로, 위치 (4a-4e, 검출 구역) 또는 (5a-5e, 제어 구역)에서 실 위에 또는 실 내에 존재하는 임의의 형광 마이크로입자는 이들 구역에서 마이크로입자의 양에 비례하여 형광 방출 신호를 방출할 것이다. 이들 형광 방출은 외부 기기 (도시되지 않음)에서 임의의 공지된 광검출기에 의해 판독될 수 있다. 형광 방출은 도면 3에서 도시된 렌즈 12를 통해 광검출기 내로 보도되거나 또는 집중될 수 있다. 이러한 방식으로, 예시적인 5-플렉스 검정의 결과는 도면 4에서 도시된 독립적으로 판독된 형광 방출 T1-T5로서 보고될 수 있다. 품질 관리 목적으로, 도면 4에서 도시된 대조 C1-C5 역시 각각, 시험이 정확하게 실행되었음을 확증하기 위한 양성 형광 신호로서 등록되어야 한다.

[0073] 건성 "일 단계" 면역검정에서 이용을 위한 면역검정 장치의 두 번째 구체예 (100)는 도면 5에서 도시된다. 이러한 구체예는 접합체 패드 3a-3e가 생략된다는 것을 제외하고, 첫 번째 구체예와 동일한 성분을 이용한다. 이들 접합체 패드는 접합체 구역 (103a-103b)으로 대체되는데, 이들은 실 레인 (2a-2e) 내에 구역이고, 여기서 접합체가 실 그 자체로 말려진다. 이러한 구체예에서, 실 레인 (2a-2e)을 통해, 그리고 접합체 구역 (103a-103e) 내

로 표본 패드 (7)로부터 표본의 위킹은 접합체를 재수화하고 이를 실 내에 구역 (103a-103e)에서 방출한다. 모든 다른 점에서, 면역검정 장치의 두 번째 구체예 (100)는 도면 2-4에서 도시된 플라스틱 카세트 (9)의 제공을 비롯하여, 첫 번째 구체예 (1)와 동일한 방식으로 작동한다.

[0074] 면역검정 장치의 두 번째 구체예 (100)에서, 접합체 구역 (103a-103e)은 "습성" 일 단계 면역검정의 경우에 생략되는 것이 또한 가능하다.

[0075] 액체 표본은 추가 작용제, 예를 들면, pH 작용제 또는 완충액, 계면활성제, 및/또는 차단제, 첨가제, 그리고 검정 감수성을 증가시키는 다른 시약과의 최적화된 반응을 위해 사전 처리될 수 있다. 이들은 전형적으로, 다공성 담체 내로, 또는 상기 장치의 다른 성분 (가령, 접합체 패드) 내로 함침되지만, 이들은 또한, 면역검정 장치가 시험 키트의 일부인 경우에 별개의 시약으로서 액체 표본과 혼합될 수 있다.

[0076] 표본은 소변 또는 혈청 양립성 시험으로 통상적으로 행위되는 바와 같이 단독으로 이용될 수 있거나, 또는 표본은 시험에 특정한 완충액과 혼합될 수 있다. 이러한 완충액은 단순히 희석제/작업 완충액, 예를 들면, PBS, 또는 기타 유사한 것이거나, 또는 더욱 복합적이고 시험의 성과를 조장하는데 필요한 특정한 성분 또는 추출 성질 (가령, 세포 용해 완충액)을 가질 수 있다.

[0077] 표본 적하 구역은 피분석물-내포 표본의 유체 모세관 흐름이 시작되는 곳이고, 그리고 바람직하게는, 낮은 피분석물 체류를 전시하는 구역이다. 전형적으로, 표본 적하 구역은 중성 단백질-차단 시약, 그 이후에 차단제를 고정시키는 처리 (가령, 동결건조)가 제공될 수 있는데, 이것은 위킹 작용을 증가시킬 수 있다. 최소한 일부 구체 예에서, 본원에서 설명된 바와 같은 합성 중합체 실은 차단 시약의 이용 없이 적합한 위킹 작용을 제공할 수 있다. 표본 구역은 또한, 표본 용액 내에 존재하는 임의의 바람직하지 않은 미립자를 가둠으로써 기계적 필터로서 기능하는 추가 고정된 작용제가 제공될 수 있다.

[0078] 표본 구역 내에서 표본 처리는 전형적으로, 미립자 또는 적혈구를 걸러 내고, 표본의 pH를 변화시키고, 검정을 간접할 수 있는 표본 성분을 활발하게 결합시키고, 그리고 피분석물을 검정에 방출하기 위해 표본 내에 매트릭스 성분을 교란하거나 또는 용해하는 것을 포함한다.

[0079] 검출 구역은 고정된 포획 시약 (가령, 포획 항체)의 포획 라인을 포함할 수 있다. 포획 항체가 검출 구역에서 제공되는 경우에, 이들은 전형적으로, 표적 피분석물 (가령, 표적 항원, 그 이유는 상기 항원의 첫 번째 에피토프가 형광 검출 시약에 결합되기 때문이다) 상에 두 번째 에피토프와 결합하도록 선택된다. 표적 피분석물은 따라서, 합성 중합체 실에서 항체의 가는 라인에 결합함으로써 포획 라인에서 놓축된다. 형광 표지화된 피분석물이 검출 구역 위에 운반될 때, 피분석물 상에 두 번째 에피토프가 포획 라인에서 이들 항체에 결합된다. 결과적으로, 포획 라인은 표적 피분석물이 표본 내에 존재하면, 형광성이다. 포획 항체를 합성 중합체 실에서 가는 라인에 배치함으로써, 면역검정 시스템은 표본 내에 매우 작은 양의 피분석물을 검출할 수 있다. 피분석물의 각 분자가 형광 검출 시약에 결합할 수 있기 때문에, 표본 내에 피분석물의 농도는 포획 라인에서 결합된 형광 표지화된 마이크로입자의 농도와 상관한다. 결과적으로, 표적 피분석물을 내포하는 표본은 표본 내에 피분석물의 양에 직접적으로 비례하는 수준에서 실의 포획 라인을 교차하여 형광 띠를 생산할 것이다.

[0080] 검출 구역에서 형광의 검출은 다양한 널리 공지된 방법에 의해 제공될 수 있다. 가령, 형광 마이크로입자의 여기 광장에 가까운 특정 광장에서 LED가 여기 광을 전달하는데 이용될 수 있다. 여기 필터 역시 이용될 수 있다. 포획 라인으로부터 방출된 광 (아마도, 방출 필터에 의해 여과된)은 이후, 형광 검출기에 의해 검출될 수 있다. 이런 형광 검출기는 하나 또는 그 이상의 광검출기로 구성될 수 있는데, 각 광검출기는 특정 실 레인으로부터 형광 방출을 분석하는데 할애된다. 형광 검출기는 대안으로, 선형 (1차원) 또는 구역 (2차원) 픽셀 어레이로 구성될 수 있는데, 특정 실 레인으로부터 형광 반응은 상기 어레이 상에 특정 픽셀 주소에 할애된다. 광검출기는 입사 광선을 방형파로 전환하는 유형 (가령, TAOS T235 장치)일 수 있는데, 여기서 방형파의 주파수는 입사 광선 강도에 비례하고, 그리고 상기 주파수는 마이크로프로세서에 의해 계측된다. 광은 광 가이드를 통해 여기 LED로부터 검출 구역으로 보도될 수 있는데, 이들은 예로서, 단위 조형 성분이거나, 또는 광섬유 번들로 구성될 수 있다. 방출된 형광은 유사한 광 가이드를 통해 검출 구역으로부터 광검출기로 보도될 수 있다. 여기 및 방출 광 가이드 (광섬유의 경우에)는 함께 묶여 검출 구역에서 이분된 프로브를 형성할 수 있다. 주사 기전이 검정 결과를 검출하기 위해, 각각의 검출 구역 창을 이분된 프로브를 통과하여 이동시키는데 이용될 수 있다.

[0081] 바람직한 구체예에서, LED로부터 광은 대략 365 nm (UV) 광장일 것이고, 그리고 유로퓸으로 내적으로 염색된 마이크로입자로부터 형광 반응을 여기하는데 적합할 것이다. 이들 유로퓸 마이크로입자는 615 nm (오렌지)에서 형광 반응을 방출하는데, 이것은 광검출기에 의해 포획될 수 있다. 전통적인 형광 검출, 또는 시간-분해 형광 검

출이 이러한 접근법에서 이용될 수 있다. 시간-분해 형광 검출이 이용되는 경우에, 방출 및 여기 필터가 필요하지 않다.

[0082] 본원에서 설명된 면역검정 장치는 합성 중합체 실을 뒷받침하는데 이용하기 위한 기질 또는 하우징을 포함할 수 있다. 기질 또는 하우징은 검정 절차를 간섭하지 않는 임의의 비활성 물질, 예를 들면, 유연한 시트, 테이프 또는 조형 플라스틱으로 만들어질 수 있다. 하우징은 합성 중합체 실을 원하는 형상에서 유지하고, 그리고 합성 중합체 실을 취급 및 저장 동안 오염 및 피해로부터 보호하기 위한 지지체로서 이용될 수 있다. 하우징은 또한, 예로서 다중 검정의 경우에, 교차 오염을 예방하기 위해 합성 중합체 실을 밀봉하고 서로로부터 분리하는데 이용될 수 있다. 하우징은 투명한 물질로 만들어질 수 있다.

[0083] 표본 및 표적 피분석물

[0084] 본원에서 설명된 면역검정 장치, 시스템 및 방법은 작은 용적의 생물학적 표본, 예를 들면, 유체 액체 표본을 검정하는데 이용될 수 있다. 본원에서 설명된 진단 시스템을 이용하여 검정될 수 있는 생물학적 표본은 예로서, 소변, 전혈, 혈장, 혈액 혈청, 뇌척수액, 복수, 눈물, 땀, 타액, 배출물, 치은 열구액, 또는 조직 추출물을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정되는 유체 표본의 용적은 예로서, 손가락 채혈로부터 한 방울의 혈액, 또는 예로서, 신생아 또는 작은 동물로부터 소변의 작은 표본일 수 있다.

[0085] 본원에서 설명된 바와 같은 면역검정 장치에 의해 검출가능한 적합한 피분석물은 특이적 결합 상대가 발견될 수 있는 임의의 것일 수 있다. 일반적으로, 의학적 및 생물학적 유의성의 대부분의 피분석물은 그들에 대하여 제조된 항체 또는 이들 항체의 단편에서 특이적 결합 상대를 찾을 수 있다. 적합한 피분석물은 가용성 피분석물, 예를 들면, 호르몬, 효소, 지질단백질, 세균 또는 바이러스 항원, 면역글로불린, 럼포카인, 사이토킨, 약물, 가용성 암 항원 등을 포함한다. 적합한 피분석물로서 호르몬, 예를 들면, 인간 융모생식선자극호르몬 (hCG), 인슐린, 글루카곤, 렐락신, 갑상선자극 호르몬, 소마토트로핀, 성선자극호르몬, 난포-자극 호르몬, 가스트린, 브래디키닌, 바소프레신, 그리고 다양한 방출 인자 역시 포함된다. 넓은 범위의 항원성 다당류, 예를 들면, 클라미디아 (*Chlamydia*), 나이세리아 고노레아 (*Neisseria gonorrhoeae*), 파스테우렐라 페스티스 (*Pasteurella pestis*), 시겔라 디센테리아이 (*Shigella dysenteriae*), 그리고 일정한 균류, 예를 들면, 마이코스포روم (*Mycosporum*) 및 아스페르길루스 (*Aspergillus*)로부터 것들 역시 결정될 수 있다. 다른 주요 균은 다른 올리고뉴클레오티드 또는 단백질 표적과 특이적으로 반응하는 올리고뉴클레오티드 서열을 포함한다. 본원에서 설명된 바와 같은 장치, 시스템 및 방법에 의해 결정가능한 가용성 피분석물의 목록은 본원에 참조로서 편입되는 미국 특허 번호 3,996,345에서 제공된다.

[0086] 본원에서 설명된 양상 및 구체예 중에서 한 가지에 근거된 피분석물에 대한 첫 번째 예시적인 검정은 클라미디아 트라코마티스 (*Chlamydia trachomatis*) (CT)에 대한 것이다. 콜로이드 금 시각 마커와 함께 니트로셀룰로오스 막을 포함하는 검정의 이용에 근거된 CT에 대한 현재의 신속 시험은 전형적으로, 불량한 감수성을 갖는다. 가령, 772명 여성의 연구에서, 전형적인 상업적 신속 클라미디아 검사 (Quidel QuickVue Chlamydia Test)는 핵산 검사의 최적 표준과 비교하여 27%의 감수성을 갖는 것으로 밝혀졌다 [출처: "Alarmingly poor performance in *Chlamydia trachomatis* point-of-care testing", van Dommelen et al, J. Sexually Transmitted Infections 2010; 86; pp 355-359]. 결과적으로, CT에 대한 80-90% 감수성을 전달할 수 있는 신속한 진단 장치는 높은 임상적 유용성을 가질 것이다. 게다가, 본 발명은 또한, 예로서 CT 및 NG (나이세리아 고노레아 (*Neisseria gonorrhoeae*))의 이중 검정, 또는 CT, NG 및 질편모충 (*Trichomonas vaginalis*)의 삼중 검정에서, CT를 동반하는 다른 성병을 동시에 진단하는데 유용할 수 있었다. 여러 성병을 병렬적으로 정확하고 신속하게 진단하는 본 발명의 능력 역시 높은 임상적 유용성을 갖는다.

[0087] 본원에서 설명된 양상 및 구체예 중에서 한 가지에 근거된 피분석물에 대한 두 번째 예시적인 검정은 단백질 생물마커 트로포닌 I에 대한 것인데, 이것은 급성 심근 경색 (AMI)을 진단하기 위해 응급실에서 이용된다. 이러한 생물마커를 정확하게 계측하는 것은 100 pg/ml 또는 이보다 우수한 피분석물 농도까지 낮은 피분석물 농도를 높은 반복성 (변이 계수 < 10%)으로 계측하는 능력을 필요로 한다.

[0088] 본원에서 설명된 양상 및 구체예 중에서 한 가지에 근거된 피분석물에 대한 세 번째 예시적인 검정은 단백질 생물마커 프로칼시토닌 (PCT)에 대한 것인데, 이것은 응급실에서 급성 폐혈증에 대한 진단 마커이다. PCT는 진단 특이성을 증강하기 위해, 다중화된 진단 형식에서 다른 마커, 예를 들면, C-반응성 단백질 (CRP), 그리고 인터류킨 6 (IL-6)과 합동될 수 있다.

[0089] 피분석물 결합 시약 (형광 검출 시약의) 및 포획 시약은 각각, 미리 결정된 표적 피분석물에 대한 상보성 결합

상대를 제공하는 것으로 인지될 것이다. 가령, 표적 피분석물이 단백질성 종류인 경우에, 피분석물 결합 시약 및 포획 시약은 각각, 단백질성 종류에 대한 별개의 상보성 결합 상대를 제공한다. 전형적으로, 단백질성 종류는 항체 또는 항원이다. 표적 피분석물이 항원인 실례에서, 피분석물 결합 시약 및 포획 시약은 각각, 표적 항원의 별개의 에피토프에 대한 결합 상대를 제공할 수 있다. 예를 들면, 피분석물 결합 시약은 표적 항원의 첫 번째 에피토프에 결합을 위한 첫 번째 항체를 제공하고, 그리고 포획 시약은 동일한 표적 항원의 두 번째 에피토프에 결합을 위한 두 번째 항체를 제공한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항체"는 다중클론 또는 단일 클론 전체 면역글로불린, 예를 들면, IgG, IgM, IgA, IgE 등, 또는 면역글로불린 단편, 예를 들면, F(ab)2, F(ab')2, Fab, Fab' 등, 또는 이들의 혼합물을 의미하고, 그리고 합성 항체를 포함하는 것으로 인지될 것이다. 매우 다양한 리간드에 특이적으로 결합하는 항체 및 항체 단편이 알려져 있고, 그리고 당업자에 의해 쉽게 이해 될 것이다.

[0090] 합성 중합체 실

개별 합성 중합체 실은 복수의 개별 합성 중합체 섬유소를 함께 연사함으로써 형성되는 것으로 인지될 것이다. 개별 섬유소를 함께 연사할 때, 실 내에서 개별 섬유소 사이에 간질성 공동이 형성된다. 합성 중합체 실을 형성하는 과정에서 창출된 간질성 공동은 실의 개별 섬유소가 형성되는 물질 내에 존재할 수 있는 임의의 다공성에 더하여, 어느 정도의 다공성을 실에 제공한다. 간질성 공동에 의해 제공된 다공성은 실의 길이를 따라 횡단하고, 그리고 하나 또는 그 이상의 모세관 (즉, 통로)을 제공할 수 있다. 개별 실에서 모세관 작용 (또는 위킹)은 액체가 개별 섬유소 사이에 위치된 간질성 공동으로부터 형성된 모세관을 따라서 움직일 때 발생하고, 그리고 액체 및 주변 표면 내에 및 사이에 문자간 힘으로부터 발생한다. 공동의 직경이 충분히 작으면, 표면장력 (액체 내에 응집, 다시 말하면, 액체-대-액체 인력에 의해 유발된다), 그리고 액체 및 섬유소/실의 표면 사이에 접착력 (즉, 액체-대-표면 인력)의 조합이 모세관 작용에 의해 실을 따라서 액체를 끌어당기는 (즉, 위킹 하는) 작용을 한다.

실제적으로 균일한 크기산정된 모세관을 갖는 합성 중합체 실은 알려진 제조 공정에 의해 비용-효과적으로 및 재현적으로 제조될 수 있는데, 이를 공정은 합성 중합체 섬유소의 형성 및 이들 섬유소의 실로의 공동 회전을 전형적으로 수반한다. 실제적으로 균일한 크기산정된 모세관을 갖는 합성 중합체 실은 위킹 속도에서 향상된 일관성을 갖는 측방 유동 면역형광 검정을 위한 다공성 담체 물질을 제공할 수 있는데, 이러한 일관성은 표적 피분석물의 더욱 정확한 진단, 예를 들면, 정량적 결정을 제공할 수 있다. 실제적으로 균일한 크기산정된 모세관을 갖는 합성 중합체 실은 또한, 특히 형광 마이크로입자의 형태에서 형광 검출 작용제를 이용할 때, 더욱 낮은 배경 형광을 갖는 측방 유동 면역형광 검정을 위한 다공성 담체 물질을 제공할 수 있는데, 이것 역시 더욱 정확한 진단을 유발할 수 있다. 임의의 이론에 의해 한정됨 없이, 실제적으로 균일한 크기 분포를 갖는 실은 결합되지 않은 이동성 형광 검출 작용제의 포획, 특히 마이크로입자의 포획에 대한 잠재력을 감소시킬 수 있는 것으로 생각된다. 실제적으로 비-다공성이거나, 또는 최소한, 실제적으로 작은 구멍 크기 (즉, 가장 큰 구멍의 직경) 및 구멍 크기 분포 (즉, 구멍 크기의 범위)를 갖는 개별 합성 섬유소를 이용함으로써 추가 이점 역시 제공될 수 있다. 다시 한 번, 임의의 이론에 한정됨 없이, 실제적으로 비-다공성 섬유소는 개별 섬유소 내에서 결합되지 않은 이동성 형광 검출 작용제의 포획, 특히 마이크로입자의 포획에 대한 잠재력을 더욱 감소시키는 것으로 생각된다. 다시 말하면, 존재할 수 있는 임의의 마이크로입자는 개별 섬유소에 존재할 수 있는 임의의 더욱 작은 구멍 또는 통로 (그리고 여기에서 마이크로입자가 포획될 수 있었다)와는 대조적으로, 실의 모세관을 횡단할 것이다.

앞서 언급된 바와 같이, 섬유소로부터 형성된 합성 중합체 실은 이들 섬유소 사이에 간질성 공동으로부터 형성된 모세관으로부터 발생하는 다공성을 갖는다. 이들 모세관은 액체 분자가 통과할 수 있는 통로를 제공한다. 하나 또는 그 이상의 모세관에 의해 제공된 평균 구멍 크기는 약 5-30 마이크론의 범위 안에 있을 수 있다. 평균 구멍 크기 및 구멍 밀도는 주사 전자 현미경검사를 이용하여 쉽게 결정될 수 있는 것으로 인지될 것이다.

합성 중합체 실의 각 합성 중합체 섬유소는 합성 중합체로부터 형성되는 것으로 인지될 것이다. 합성 중합체는 자연 중합체 물질, 예를 들면, 목재 셀룰로오스, 숨, 실크 및 자연 고무를 포함하지 않을 것으로 또한 인지될 것이다. 가령, 합성 중합체 섬유소는 합성 화학물질 (단위체 및 공중합체)로부터 만들어지는데, 이들은 전형적으로 석유화학 공급원으로부터 획득되고, 그리고 폴리아미드, 예를 들면, 나일론, 폴리에스테르, 예를 들면, 폴리에틸렌 테레프탈염산 (PET), 아크릴산 폴리에스테르, 아라미드, 폐놀-포름알데히드 (PF), 폴리염화비닐 (PVC), 폴리올레핀, 예를 들면, 폴리프로필렌 (PP) 및 폴리에틸렌 (PE), 그리고 폴리우레탄으로부터 만들어진 섬유소를 포함할 수 있다. 합성 중합체 섬유소는 전형적으로, 섬유소 및 실 재료를 형성하는데 특히 적합할 수 있고 면역검정에서 이용하는데 적합할 수 있는 합성 중합체 (단위체 및 공중합체 포함)로부터 형성된다. 가령,

합성 중합체는 적합한 친수성 (표면 기능기로부터 발생) 및 적합한 기계적 성질 (가령, 탄력성 및 인장 강도)을 가질 수 있다. 합성 중합체는 섬유소 및 실의 다공성 성질 및 특정한 표면 화학 둘 모두를 제어하기 위해 선별되고 및/또는 변형될 수 있다.

[0095] 한 구체예에서, 개별 합성 중합체 섬유소 (실의)는 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리에테르, 폴리올레핀, 폴리카보네이트 및 폴리우레탄으로 구성된 군에서 선택되는 합성 중합체로부터 형성된다. 합성 중합체는 할로겐화, 예를 들면, 플루오르화, 예를 들면, 폴리비닐리덴 플루오르화물 또는 폴리염화비닐일 수 있다. 다른 구체예에서, 실의 개별 합성 중합체 섬유소는 폴리아미드 및 폴리에스테르로 구성된 군에서 선택되는 합성 중합체로부터 형성된다. 다양한 합성 중합체로부터 중합체 섬유소 및 실을 생산하기 위한 전반적인 과정이 널리 공지되어 있다. 중합체 섬유소 또는 물질은 친수성을 증가시키기 위해 더욱 변형될 수 있다. 이들 중합체는 혼합될 수 있거나 또는 상이한 유형의 중합체 섬유소가 합동될 수 있다.

[0096] 한 구체예에서, 실의 개별 합성 중합체 섬유소는 폴리에스테르로부터 형성된다. 폴리에스테르는 에스테르 기능기에 의해 연결된 반복 단위를 포함하는 중합체인 것으로 인지될 것이다. 폴리에스테르는 열가소성 또는 열경화성일 수 있다. 폴리에스테르는 동종중합체 또는 공중중합체일 수 있다. 폴리에스테르는 지방족, 반-방향족 또는 방향족일 수 있다. 지방족 폴리에스테르는 폴리글리콜산 (PGA), 폴리유산 (PLA), 폴리카프로락톤 (PCL), 폴리히드록시알카노에이트 (PHA), 폴리히드록시부티레이트 (PHB), 폴리에틸렌 아디핀산염 (PEA), 폴리부틸렌 숙신산염 (PBS), 그리고 폴리(3-히드록시부티레이트-코-3-히드록시발레르산염 (PHBV)으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 반-방향족 폴리에스테르는 폴리에틸렌 테레프탈염산 (PET), 폴리부틸렌 테레프탈염산 (PBT, 폴리트리메틸렌 테레프탈염산 (PTT), 그리고 폴리에틸렌 나프탈레이트 (PEN)로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 방향족 폴리에스테르는 4-히드록시벤조산 및 6-히드록시나프탈렌-2-카르복실산의 중축합으로부터 형성될 수 있는 벡트란일 수 있다.

[0097] 한 구체예에서, 실의 개별 합성 중합체 섬유소는 폴리아미드로부터 형성된다. 폴리아미드는 아미드 기능기에 의해 연결된 반복 단위를 포함하는 중합체인 것으로 이해될 것이다. 폴리아미드는 지방족 폴리아미드, 폴리프탈아미드 또는 방향족 폴리아미드 (아라미드)일 수 있다. 한 구체예에서, 지방족 폴리아미드는 나일론이다. 나일론은 나일론-6,6; 나일론-6; 나일론-6,9; 나일론-6,10; 나일론-6,12; 나일론-11; 나일론-12 및 나일론-4,6으로 구성된 군에서 선택될 수 있다.

[0098] 합성 섬유소는 섬유소를 형성하는 2가지 상이한 중합체로 공압출된 섬유소일 수 있다. 공압출된 섬유소는 코어-덮개 또는 병행 형상의 형태에서 제공될 수 있다.

[0099] 일부 구체예에서, 실은 다수의 공지된 물질 및 방법 중에서 한 가지를 이용하여 흡수성 및/또는 위킹 성질을 증강하기 위해 기능화된다. 섬유소 또는 실은 모세관 작용을 변경하는 작용제로 코팅되거나 또는 이들과 통합될 수 있다. 이런 작용제는 또한, 검사 라인 위치에서만 섬유소 또는 실에 결합하는 단백질 (가령, 항체)의 능력을 증강하기 위해, 또는 검사 라인으로부터 멀리 떨어져 있는 위치에서만 섬유소 또는 실에 결합하는 단백질의 능력을 차단하기 위해 제공될 수 있다. 이들 작용제가 섬유소를 형성하는 중합체 물질 내로 통합될 수 있거나, 또는 섬유소가 그 위에 흡수를 위해 작용제와 접촉될 수 있다. 상기 작용제는 예로서, UV 광에 의해 광활성가능할 수 있다. 선별된 작용제 중에서 하나 또는 그 이상이 실의 하나 또는 그 이상의 선별된 구역에서 (가령, 단지 검사 라인 위치에서만) 제공될 수 있다.

[0100] 형광 검출 시약

[0101] 형광 분광법은 널리 공지된 민감하고 다능한 광학적 분석 기법이다. 면역형광 검정에서, 형광종으로 태깅된 피분석물을 내포하는 표본은 형광종의 여기 스펙트럼 내에 공지된 스펙트럼 분포의 광으로 방사선조사된다. 형광종의 결과의 특징적인 방출 스펙트럼의 강도가 결정되고 표본 내에 표적 피분석물의 숫자에 관련된다.

[0102] 본원에서 설명된 바와 같은 측방 유동 면역형광 검정 장치, 시스템 및 방법은 실의 검출 구역에서 형광 방출에 의한 검출을 위해 표적화된 피분석물을 표지화하기 위한 '형광 검출 시약'의 이용을 수반한다. 앞서 설명된 바와 같이, 형광 검출 시약은 실 위에 적하에 앞서 표본과 혼합될 수 있거나 (가령, '습성' 일-단계 면역검정), 또는 실 위에 미리 적하된 표본에서 표적 피분석물에 결합을 위해 표본-적하 구역 및 검출 구역 사이에 실의 위치 (가령, 중간 구역)에서 일시적으로 고정될 수 있다 (가령, '건성' 일-단계 면역검정).

[0103] 형광 검출 시약은 표적 피분석물에 선별적으로 결합할 수 있는 형광 라벨을 포함하는 것으로 인지될 것이다. 표적 피분석물에 결합에 대한 이런 선택성을 갖는 형광 라벨을 제공하기 위해, 형광 라벨은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관되거나, 연결되거나 또는 동조된다. 면역검정을

위해, 피분석물 결합 시약은 통상적으로, 표본 내에 미리 결정된 표적 피분석물 (가령, 항원)에 대해 친화성을 갖도록 선별되는 항체이다. 대안으로, 표적 피분석물이 항체인 경우에, 피분석물 결합 시약은 표본 내에 표적 항체에 대해 친화성을 갖도록 선별된 항원일 수 있다. 피분석물 결합 시약이 항체인 경우에, 형광 라벨에 항체의 연결은 널리 공지된 기술에 의해 달성될 수 있다, 예를 들면, 형광 라벨이 항체에 대해 친화성을 갖는 항원에 동조될 수 있고, 그리고 이후, 형광 라벨의 항원과의 결합에 대해 연관된 항체, 또는 연결 기가 상기 항체를 형광 라벨에 직접적으로 공유 결합시키는데 이용될 수 있다.

- [0104] 면역검정에서 이용을 위한 형광 라벨을 비롯한 큰 범위의 형광 검출 시약은 예로서, 미국 특허 번호 4,058,732, 4,283,382 및 4,719,182에서 설명된 바와 같이 널리 공지되어 있고, 이들은 본원에 참조로서 편입된다. 형광 라벨은 형광 표지화된 입자, 예를 들면, 형광 마이크로입자를 포함할 수 있다.
- [0105] 본원에서 지칭된 바와 같이, 용어 "마이크로입자"는 100 nm보다 작은 직경을 갖는 입자를 지칭하는 용어 "나노 입자"와는 대조적으로, 0.1 μm 및 100 μm 사이, 예를 들면, 100 nm보다 큰 직경을 갖는 입자를 의미하는 것으로 인지될 것이다.
- [0106] 라벨로서 이용을 위한 형광 입자의 실례는 미국 특허 번호 4,283,382에서 설명되는데, 여기서 라벨은 라텍스 마이크로입자에 결합된 유로퓸의 희토류 란탄족 착물을 포함하는 형광 마이크로입자이다. 유로퓸 (및 다른 란탄족)을 포함하는 형광 라벨은 상당한 기간 동안 상업적인 면역검정에서 이용되었다. 배경 신호로부터 관심되는 특정한 신호를 분리하는 시간 분할 기술이 개발되었다. 유감스럽게도, 이들 시간 분할 기술은 완결하는데 시간이 걸리고, 그리고 형광 신호가 결합된 피분석물로부터 또는 배경 형광으로부터 산출되었는지를 결정하는 것을 필요로 한다. 이들 기술은 다공성 담체의 검출 구역에서 결합되지 않은 표지화 시약의 임의의 포획으로부터 발생하는 문제를 해소하지 못한다. 결과적으로, 측방 유동 면역검정에서 형광 입자의 이용은 다공성 물질 내에 결합되지 않은 형광 라벨의 포획과 연관된 높은 배경 잡음을 여전히 겪는다. 이런 배경 잡음은 소량의 표적 피분석물을 검출하기 위해 또는 표적 피분석물의 수준 또는 농도를 정량적으로 결정하기 위해 측방 유동 면역검정을 이용할 때 특히 문제가 된다.
- [0107] 단일 형광 마이크로입자로부터 가용한 형광 방출의 양은 마이크로입자의 직경에 상관되는데, 그 이유는 더욱 큰 마이크로입자가 Harma 등에 의한 연구 (제목: "Europium Nanoparticles 및 Time-resolved Fluorescence for Ultrasensitive Detection of Prostate-specific Antigen", Clinical Chemistry, March 2001, vol. 47, no. 3, p561-568)에서 설명된 바와 같이, 더욱 많은 형광종과의 연관에 의해 표지화될 수 있기 때문이다. 가령, 107 nm 직경 마이크로입자는 약 3.1×10^4 킬레이트화된 유로퓸 이온을 내포할 수 있고, 반면 408 nm 마이크로입자는 약 2×10^6 킬레이트화된 유로퓸 이온을 내포할 수 있다. 결과적으로, 약 400 nm의 더욱 큰 직경 마이크로입자는 약 100 nm의 더욱 작은 직경 마이크로입자보다 대략 100X 큰 형광 반응을 이끌어낼 수 있다. 이것에 비추어, 면역형광 검정의 감수성은 더욱 큰 형광 마이크로입자를 이용함으로써 증가될 수 있다. 가령, 미국 특허 번호 4719182는 면역검정에서 항상된 감수성을 획득하기 위한 형광 마이크로입자의 이용을 설명한다. 하지만, 더욱 큰 형광 마이크로입자는 측방 유동 면역검정에서 이용된 전통적인 다공성 담체 시스템에서 더욱 높은 배경 잡음을 유발할 수 있는 것으로 본 발명자들에 의해 밝혀졌는데, 이것은 다공성 담체 물질 내에 더욱 큰 마이크로입자의 포획으로부터 발생하는 것으로 추정된다. 결과적으로, 더욱 큰 마이크로입자의 이용은 표적 피분석물에 대한 검출 정확도를 제공하는데 점점 더 문제가 되고 방해가 될 수 있다. 놀랍게도, 본 발명자들은 합성 중합체 실의 이용이 이런 면역검정 시스템에서 마이크로입자의 포획에 기인하는 배경 잡음을 감소시킬 수 있다는 것을 확인하였다.
- [0108] 본원에서 설명된 바와 같은 면역형광 검정 장치, 시스템 및 방법의 한 구체예에서, 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 피분석물 결합 시약에 연관된, 연결된 또는 동조된 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하는 형광 검출 시약이 제공된다. 추가 구체예에서, 피분석물 결합 시약은 표본 내에 미리 결정된 피분석물에 대해 친화성을 갖는 항체이다.
- [0109] 항체를 이런 형광 마이크로입자에 연계하기 위한 과정은 널리 공지되어 있고, 그리고 이런 연계를 수행하기 위한 예시적인 프로토콜은 Bangs Laboratories, Inc.로부터 연구 보고서 #205에서 발견될 수 있다. 이러한 절차는 검출기 항체/검출기 마이크로입자 접합체의 형성을 유발하는데, 이것은 앞서 설명된 바와 같이, 실에서 접합체 패드 또는 접합체 구역 내로 적하될 수 있다.
- [0110] 형광 표지화된 마이크로입자
- [0111] 본원에서 설명된 바와 같이, 형광 표지화된 마이크로입자는 형광 표지화된 중합체 마이크로입자 (즉, 형광 표지

화되는 중합체, 공중합체 또는 단위체로부터 형성된 입자)일 수 있다. 형광 표지화된 중합체 마이크로입자는 중합체 마이크로입자를 형광 희토류 금속 착물로 표지화함으로써 형성될 수 있다. 다시 말하면, 형광 표지화된 중합체 마이크로입자는 형광 희토류 금속 착물에 연관된, 연결된 또는 동조된 중합체 마이크로입자를 포함할 수 있다.

[0112] 큰 범위의 형광 희토류 금속 착물이 중합체 마이크로입자에 대한 형광 라벨로서 적합할 수 있다. 검출에서 감수성을 제공하고 상대적으로 오래 지속되는 형광을 갖는 특히 적합한 희토류 금속 착물은 널리 공지되어 있다. 희토류 금속 착물은 희토류 금속, 예를 들면, 란탄족 금속을 포함한다. 란탄족 금속은 유로퓸, 테르븀 및 사마륨으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 한 구체예에서, 희토류 금속은 유로퓸이다. 형광 희토류 금속 착물은 금속 키레이트, 예를 들면, 유로퓸, 테르븀 및 사마륨의 방향족 디케톤 키레이트, 예를 들면, 유로퓸벤조일아세토네이트 및 유로퓸벤조일트리플루오르아세토네이트의 형태에서 제공될 수 있다. 희토류 금속에 대한 적합한 키레이트화제의 다른 실례는 1,3-디케톤 (가령, 아세틸아세토네이트, 벤조일아세토네이트, 벤조일벤조에이트, 트리플루오로-2-푸릴아세틸아세톤), 프탈산염, 나프토에이트 (가령, 디나프토일메티드), 디페리딘 (가령, 2,2'-비페리딘-1,1'-이산화물, 4,4'-디메틸-2,2'-디페리딘), 터페리딘 (가령, 2,2',6',2"-터페리딘) 및 폐난트롤린 (가령, 폐난트롤린 이소티오시안산염)을 포함할 수 있다.

[0113] 중합체 마이크로입자는 낮은 입자 크기 분포를 제공하기 위해 선별되거나, 제조되거나 또는 처리될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 중합체 마이크로입자의 평균 직경 (nm)은 100 내지 5000, 125 내지 2000, 150 내지 1000, 175 내지 500, 또는 200 내지 400의 범위 안에 있을 수 있다. 중합체 마이크로입자의 평균 직경 (nm)은 최소한 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000일 수 있다. 마이크로입자는 이들 값에서 또는 이들 값 내에 범위 또는 값으로 제공될 수 있다. 추가의 특정 구체예에서, 중합체 마이크로입자의 평균 직경은 최소한 약 200nm이거나, 약 200 내지 400nm의 범위에 있거나, 또는 약 300nm이다.

[0114] 적하가능 마이크로입자를 형성하는데 적합한 과정 및 중합체는 널리 공지되어 있다. 가령, 적합한 중합체는 하나 또는 그 이상의 비닐 방향족 단위체, 예를 들면, 임의선택적으로 치환된 스티렌 및 비닐 나프틸, 또는 하나 또는 그 이상의 임의선택적으로 치환된 에틸렌적으로 불포화된 단위체로부터 형성된 것들을 포함할 수 있다. 적합한 단위체는 스티렌, 아크릴아미드 및 아크릴산을 포함할 수 있다. 다른 중합체 (및 단위체 및 공중합체)가 적합할 수도 있는 것으로 인지될 것이다.

[0115] 형광 표지화된 중합체 마이크로입자를 제조 (적하)하기 위한 과정은 널리 공지되어 있고, 그리고 일반적으로, 응고되지 않고, 용해되지 않는 적하가능 중합성 마이크로입자의 존재에서 물흔화성 용매에서 소수물질의 용액의 친수성을 실제적으로 어떤 소수물질도 물흔화성 용매에 용해된 상태로 남아있지 않는 포인트까지 점진적으로 증가시킴으로써, 희토류 금속 착물을 중합체 마이크로입자 내로 통합하는 것을 수반할 수 있다. 마이크로입자 내로 금속 착물의 적하의 양은 변할 수 있다.

형광 검출

[0117] 장치 내에 검출 구역에서 형광 표지화된 피분석물을 검출하는데 이용하기 적합한 형광 검출기는 당분야에서 널리 공지되어 있다.

[0118] 본원에서 설명된 바와 같은 측방 유동 면역형광 검정 장치, 시스템 및 방법은 적은 비용 신속한 진단을 필요로 하는 많은 적용, 예를 들면, 스포츠 의학, 영아/소아 진단, 당뇨병 모니터링, 군용, 덜 산업화된 국가에서 감당할 수 있는 진단, 환경적 또는 현장 시험에서 이용될 수 있다. 이에 더하여, 이들 방법은 환자 관리 결정을 보조하는데 있어서 임상적으로 유용하다. 이점에 관하여, 정량적 계측은 약물 용량 또는 치료 선별과 관련된 임상적 결정을 향상시킬 수 있다. 가령, 이들 방법은 본원에서 설명된 바와 같은 장치 및 시스템을 이용하여 개체에서 질환 경과를 결정하는데 이용될 수 있다. 질환 경과는 진단, 질환 진행 (악화) 및 질환 퇴행 또는 관해 (향상)를 비롯하여, 시간의 추이에서 질환 상태에서 변화를 지칭한다. 따라서, 이들 방법은 2가지 또는 그 이상 상이한 시점, 예를 들면, 첫 번째 시점 및 두 번째 시점에서 개체에서 진단적 계측, 그리고 만약 있다면 양에서 변화의 비교를 수반할 수 있는데, 여기서 질환 경과는 이들 비교에 근거하여 결정된다.

[0119] 본 발명은 다음의 실시예에 의해 더욱 예시된다. 이들 실시예는 단지 예시적인 목적으로만 제공된다. 이들은 본 발명의 범위 또는 내용을 어떤 방식으로도 한정하는 것으로 해석되지 않는다.

실시예

[0121] 본 발명의 구체예에 따라서, 특히 형광 마이크로입자를 포함하는 피분석물 검출 시약으로 면역형광 검정을 위해, 합성 중합체 실을 다공성 담체 물질로서 포함하는 측방 유동 면역검정은 표적 피분석물의 정량적 계측에

적합할 수 있는 정확한 진단 시스템을 제공하는 것으로 나타났다. 아래의 실시예는 본 발명의 일부 구체예에 따른 합성 중합체 실의 형태에서 다공성 담체 물질, 그리고 전통적인 니트로셀룰로오스 막 및 자연 섬유소 면사의 다공성 담체 물질을 포함하는 측방 유동 면역검정 시스템 사이에 비교를 제공한다.

[0122] 실시예 1: 시각적으로 검출가능한 측방 유동 면역검정에서 다공성 담체 물질의 비교 연구

[0123] 측방 유동 면역검정 비교 연구는 처음에, 2가지 유형의 다공성 담체 물질, 다시 말하면, 자연 면섬유 기초된 실 (DMC Cebelia) 및 니트로셀룰로오스 막에서 착수되었다. 다공성 담체 물질은 근위 단부에서 표본 적하 구역 및 원위 단부에서 포획 항체 (표본추출 구역으로부터 분리됨)를 포함하는 검출 구역을 포함하였다. 비교 연구는 C-반응성 단백질 (CRP)의 희석 계열의 형태에서 미리 결정된 피분석물을 포함하는 표본, 그리고 CRP 항체에 동조된 콜로이드 금 마커의 검출 라벨을 포함하는 검출 시약의 이용을 수반하였다. 이용된 항체 쌍은 R&D Systems Inc.로부터 MAB17071 인간 CRP 단일클론 항체 (클론 232007)의 정합된 쌍이었다.

[0124] 면역검정 연구는 상이한 농도의 CRP를 검출하는 면사 및 니트로셀룰로오스 막의 능력을 결정하기 위해 수행되었다.

[0125] 면사 및 니트로셀룰로오스 막 둘 모두에 대한 검출 한계 (LOD)는 약 12.5 ng/ml인 것으로 밝혀졌다. 이러한 결과는 표적 피분석물의 존재를 검출하는 능력에서 면사 및 니트로셀룰로오스 막의 이용 사이에 본질적으로 차이가 없다는 것을 지시하였다. 하지만, 상업적으로 가용한 면사의 위킹 속도의 변동 계수 (CV)가 26%인 것으로 또한 밝혀졌는데, 이것은 심지어 상업적인 니트로셀룰로오스 막에 대한 결과보다 더욱 불량한 결과이었다. 위킹 속도의 면에서 이러한 불량한 CV는 검출기 항체-항원 복합체 (라벨-항체-CRP 복합체)가 검사 구역을 횡단하는 속도에서 변이를 야기한다. 동일한 피분석물 농도에서, 빠른 위킹 속도는 덜 집중된 검사 라인을 야기하고, 그리고 느린 위킹 속도는 더욱 집중된 검사 라인을 야기한다. 검사 라인 강도에서 이러한 변이 (니트로셀룰로오스 막에서 발생하는 바와 같이)는 정확한 정량적 검정을 산출하기 위한 견실하고 충분한 플랫폼을 제공하지 못한다.

[0126] 이들 결과에 비추어, 신속한 측방 유동 면역검정에서 다공성 담체 물질로서 자연 면섬유 실 및 니트로셀룰로오스 막은 표적 피분석물의 수준을 검출하기 위한 정확도를 제공하지 못하고, 그리고 특히, 표적 피분석물의 정량적 계측이 필요한 신속한 측방 유동 면역검정을 위한 다공성 담체 물질로서 적합하지 않은 것으로 고려된다.

[0127] 자연 섬유 면사 및 니트로셀룰로오스 막에 대한 가능한 대안을 확인하기 위한 시도에서, 합성 중합체 실이 제조되고 시험되었다. 합성 중합체 실의 검출 능력은 앞서 설명된 바와 같이, 전통적인 적색-착색된 콜로이드 금 라벨 및 CRP의 희석 계열을 이용함으로써 결정되었다. 합성 중합체 실은 검출 능력의 면에서 우수한 성과를 갖는 것으로 나타났다. 2가지 유형의 합성 실, 폴리에스테르 기초된 실 및 나일론-6 기초된 실이 만들어지고 시험되었다. 이들 합성 실 둘 모두 원형 합성 섬유를 방사 돌기를 통해 압출하고, 그리고 이후, 이들 섬유를 실로 기계 연사함으로써 제조되었다.

[0128] 나일론-6 합성 실은 도면 6b에서 보여지는 바와 같이 콜로이드 금 시각 마커를 이용하여 약 12.5 ng/ml의 CRP의 검출 한계를 갖는 것으로 나타났는데, 이것은 도면 6a에서 나란히 도시된 니트로셀룰로오스 막에서와 동일하다. 하지만, 놀랍게도, 합성 실은 위킹 속도의 반복성의 면에서 훨씬 우수한 성과를 달성하였다. 수직 위킹 속도 시험의 다수 반복에서, 나일론 실은 5%의 CV 성과를 달성하는 것으로 밝혀졌는데, 이것은 면사 및 니트로셀룰로오스 막에서 가능한 위킹 속도 CV의 2.5-5X 향상이다. 결과적으로, 기계 압출되고 기계 회전된 합성 실, 예를 들면, 나일론에서 높은 위킹 속도 반복성은 반복적인 정량적 검정을 수행하는 능력을 야기한다.

[0129] 실시예 2: 형광 표지화된 마이크로입자를 포함하는 측방 유동 면역형광 검정에서 다공성 담체 물질의 비교 연구

[0130] 측방 유동 면역형광 검정에서 형광 표지화된 마이크로입자의 이용을 수반하는 비교 연구는 다공성 담체 물질로서 합성 중합체 실, 그리고 전통적인 니트로셀룰로오스 막 및 자연 섬유 면사 사이에 착수되었다. 면역형광 검정은 형광 마이크로입자를 포함하는 형광 검출 시약의 이용을 수반하였다. 본 연구에서 이용된 형광 표지화된 마이크로입자는 미국 특허 번호 4719182에서 설명된 바와 같은 유로퓸 염색된 마이크로입자였고, 그리고 CRP 면역검정 시스템은 앞선 실시예의 것에 따라서 이용되었다.

[0131] 본 연구는 유로퓸 표지화된 CRP 검정의 형광 반응을 분석하기 위한 Ocean Optics 365 nm LED 여기 공급원과 함께 Millipore HFP 90 니트로셀룰로오스 막, 300 nm 유로퓸 염색된 마이크로입자, 그리고 Ocean Optics USB2000+ 분광계의 이용을 수반하였다. 검사 스트립은 어두운 인클로저에서 고정부 내로 적하되었고, 그리고 상기 고정부는 제어된 속도에서 서보 모터에 의해 작동되었다. 여기 및 방출 필터가 615 nm에서 유로퓸 마이크로

입자로부터 방출에 관련되지 않은 분광계에 들어가는 임의의 광을 차단하는데 이용되었다.

[0132]

CRP 검정에서, CRP 포획 항체가 BioDot 프로그램가능 디스펜서를 이용하여 검사 스트립 위에 (도면 1에서 보여지는 바와 같이 위치 4에서) 고정되었다. CRP 검출기 항체가 별개의 단계에서 300 nm 유로퓸 염색된 마이크로입자에 접합되고, 그리고 이후, 150 ng/ml에서 0.15 ng/ml로 변하는 범위에서 2X 희석 단계에서 CRP 항원과 혼합되었는데, 이들 희석 각각은 별개의 검사 스트립에서 실행되었다 (6회 반복에서). 검사 스트립을 통한 각 CRP 희석을 실행한 후, 임의의 결합되지 않은 유로퓸 표지화된 항체 복합체 (결합되지 않은 형광 검출 시약)이 스트립으로부터 소실되도록 담보하기 위해 작업 완충액을 이용하여 세척 단계가 수행되었다. 니트로셀룰로오스 막의 모든 구역에 일반적으로 결합하는 (그리고, 증가된 문제가 되는 배경 형광에 기인하는) 유로퓸 표지화된 항체 (결합되지 않은 형광 검출 시약)의 발생을 감소시키기 위해, 막 차단 조치 또한 실행되었다. 음성 표본 (CRP = 0 ng/ml)은 니트로셀룰로오스 막에 임의의 유로퓸 표지화된 항체 결합의 표시를 제공하기 위한 대조로서 수행되었다.

[0133]

상이한 CRP 농도에서 중복 검사 스트립을 분석한 후, 놀랍게도, 검사 라인 위치로부터 멀리 떨어진 구역에서 배경의 형광 시도가 높고, 그리고 또한, 폭넓게 변하는 것으로 밝혀졌다. 이들 결과를 보여주는 용량 반응 곡선은 도면 7 내에 포함된다. 진단적 시험을 개발하는데 있어서 신호 대 배경 비율에 대한 인식된 지침은 신호 대 배경 비율이 3의 비율보다 높아야 한다는 것이다. 이러한 기초에서, 9.375 ng/ml를 초과하는 CRP 농도만 3.0보다 일관되게 높은 신호:배경 비율을 갖는 것으로 밝혀졌다. 결과적으로, 이것은 니트로셀룰로오스 막에서 유로퓸 마이크로입자 검정에 대한 LOD인 것으로 고려되었다.

[0134]

유로퓸 형광 마이크로입자를 이용한 니트로셀룰로오스에서 이러한 LOD는 실시예 1에서 설명된 바와 같이, 전통적인 콜로이드 금 라벨과 비교하여 대략 동일하였는데 (LOD = 12.5 ng/ml), 유로퓸 마이크로입자를 이용한 LOD가 예상한 것만큼 낮지 않고, 그리고 콜로이드 금 결과보다 단지 1.3X 우수하다는 것은 놀라운 발견이었다. 이것은 검사 라인 위치로부터 멀리 떨어진 구역에서 막 상에 존재하는 원치 않는 높은 배경 형광 신호의 존재에 기인하는 것으로 보였다. 임의의 이론에 한정됨 없이, 이러한 높은 배경 신호는 니트로셀룰로오스 막의 고도로 가변적 구멍 구조에서 움직일 수 없게 되는 300 nm 유로퓸 마이크로입자의 결과로서 발생하는 것으로 추정된다. 도면 10에는 10,000X 배율에서 니트로셀룰로오스 막의 전자 현미경 이미지가 도시된다. 이러한 막은 측방 유동 시험에서 이용된 막에 대한 상대적으로 큰 구멍 크기를 갖는 것으로 알려져 있는 고유동 막 (Millipore HF90)이다. 도면 10에서, 우리는 놀랍게도, 막 내에 구멍 중에서 일부가 유로퓸 마이크로입자 (< 300 nm) (201)의 직경보다 작다는 것을 발견하였는데, 이것은 이런 마이크로입자가 검출 구역 또는 제어 구역 이외의 위치에서 막 내에 바람직하지 않게 박히도록 잠재적으로 유발할 것이다. 게다가, 우리는 또한, 놀랍게도, 유로퓸 마이크로입자가 예로서, 2 또는 3개 유로퓸 마이크로입자의 무리에서 위킹 동안 함께 무리를 이를 수 있고 (도면 14, 그리고 아래에 동반된 설명을 참조한다), 그리고 이런 무리가 시험 또는 제어 라인 이외의 위치에서 막 내에 바람직하지 않게 박하게 될 개연성이 더욱 높다는 것을 발견하였다. 막 내에 이들 위치에서 유로퓸 마이크로입자의 바람직하지 않은 박힘은 복수의 세척 단계에 의해, 또는 비특이적 결합을 예방하기 위한 전통적인 막 차단 조치 (가령, 카제인 또는 유사한 것의 적용)에 의해, 또는 영상 분석 소프트웨어 보상에 의해 해결될 개연성이 낮은데, 그 이유는 이들 입자의 바람직하지 않은 박힘이 막 구조 그 자체의 물리적 제약에 기인하기 때문이다. 이를 입자의 바람직하지 않은 박힘은 검출 또는 제어 구역 이외의 위치에서 높은 원치 않는 배경 형광 신호를 야기할 개연성이 있고, 그리고 이들 높은 배경 신호는 검정의 잠재적 감수성을 실제적으로 감소시킬 것이다.

[0135]

도면 11에서, 우리는 니트로셀룰로오스 막의 종적 방향을 따라서 스캔을 보여주는데, 여기서 C-반응성 단백질의 음성 표본 (0 ng/ml)이 이용되었다. 이러한 스캔에서, 검사 스트립의 길이를 따라서 모든 위치에서 실제적인 형광 신호가 있고, 그리고 계측된 배경 형광이 이러한 스캔으로부터 높게는 6000 카운트인 것으로 목격될 수 있다. 이러한 스캔은 앞서 설명된 바람직하지 않은 박힘 문제를 예증하고, 그리고 결과로서, 6000 카운트 미만의 신호 수준을 갖는 양성 CRP 검정은 가음성으로서 바람직하지 않게 기록될 것이다.

[0136]

원치 않는 박힘 문제에 대한 유일한 해법은 유로퓸 나노입자 (가령, 50 nm 직경, 콜로이드 금과 유사)를 이용하는 것일 수 있다. 하지만, 더욱 작은 이런 나노입자는 더욱 큰 마이크로입자보다 여러 크기 자릿수 낮은 형광 반응을 갖고, 그리고 따라서, 이런 용액은 더욱 큰 유로퓸 마이크로입자를 이용할 때 감수성 이익을 무효화시킬 것이다.

[0137]

동일한 형광 CRP 검정 적정 연속이 상업적인 면사 (DMC Cebelia)에서 수행되었고, 그리고 면사에 대한 신호: 배경 비율 및 LOD가 도면 8에서 용량 반응 곡선에서 보여지는 바와 같이, 전통적인 니트로셀룰로오스 막과 유사한 것으로 밝혀졌다. 다시 한 번, 임의의 이론에 한정됨 없이, 이것은 면사의 횡단면 구조 (도면 12에서 도시됨)가

또한 고도로 가변적이고, 그리고 시험 또는 제어 구역 이외의 위치에서 더욱 큰 직경 마이크로입자를 바람직하지 않게 포획할 수도 있기 때문에 발생하는 것으로 추정된다.

[0138] 동일한 형광 CRP 검정 적정 연속이 나일론-6 섬유소로부터 형성된 합성 중합체 실에서 수행되었고, 그리고 놀랍게도, LOD가 니트로셀룰로오스 또는 솜에서보다 훨씬 낮은 것으로 밝혀졌다. 이를 결과를 보여주는 용량 반응곡선은 도면 9 내에 포함된다. 0.05 ng/ml까지 상이한 희석에서 중복 나일론 실의 계측으로부터, > 3.0의 신호:배경 비율이 계측되었다. 이런 이유로, 나일론 실에서 CRP에 대한 LOD는 대략 50 pg/ml - 전통적인 니트로셀룰로오스 막에서보다 대략 187X 낮음 - 일 것으로 예상된다. 이러한 놀라운 발견은 매우 유의미하였는데, 그 이유는 많은 진단적 검정이 높은 진단 민감성을 필요로 하기 때문이다. 가령, 심장 트로포닌 I 마커 (급성 심근경색을 진단하기 위한)의 계측은 100 pg/ml 또는 이보다 우수한 감수성을 필요로 하고, 그리고 따라서, 합성 실 (가령, 나일론)은 응급실에서 이용되는 이러한 진단 마커에 대한 신속한 시험을 허용할 것이고, 반면 전통적인 니트로셀룰로오스 막은 적합하지 않을 것으로 고려된다.

[0139] 임의의 이론에 한정됨 없이, 나일론 실의 높은 감수성은 도면 13에서 보여지는 바와 같이, 300 nm 유로퓸 비드가 나일론 필라멘트 (203) 사이에 간질성 공동 (202) 내에 포획되지 않았기 때문에 획득되는 것으로 생각된다. 이것은 낮은 배경 시도를 야기하고, 이것은 차례로, 니트로셀룰로오스 막보다 훨씬 높은 신호: 배경 비율을 산출한다. 이러한 관찰은 0.1 ng/ml에서 계측된 표본의 경우에, 검사 라인으로부터 멀리 떨어진 배경 시도가 나일론 실의 경우에 평균적으로 1085 카운트였고, 이것이 동일한 CRP 농도에서 니트로셀룰로오스 막에서보다 대략 10X 낮다는 사실에 의해 실증된다.

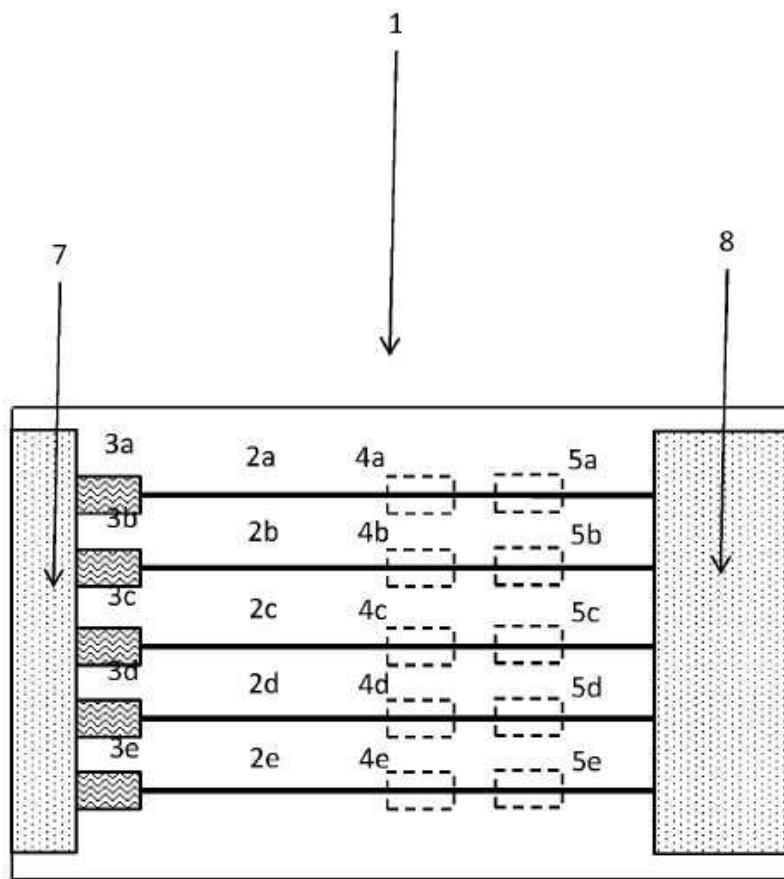
[0140] 도면 14는 12.5 ng/ml에서 CRP 검정의 경우에 유로퓸 마이크로입자가 실 표면에 결합된 40 마이크론 직경 나일론 실에서 검출 구역 위치의 2500X 배율에서 전자 현미경검사 이미지를 보여준다. 이러한 이미지에서, 유로퓸 마이크로입자 중에서 일부는 실 표면에 개별적으로 결합하지만 (단일 입자 201로서), 다른 유로퓸 마이크로입자는 더욱 큰 무리 206을 형성하는 것으로 목격될 수 있다. 비록 이들 무리가 상대적으로 크긴 하지만, 이들은 검출 또는 제어 구역 이외의 위치에서 실 구조 내에 바람직하지 않게 박히지 않으면서, 실 내에 간질성 공동 202를 통해 모세관 위킹 작용에 의해 여전히 수송될 수 있다.

[0141] 합성 실에서 낮은 배경 신호의 바람직한 특질과 별개로, 합성 실의 이용에서 더욱 놀라운 발견은 검출 및 제어 구역에서 형광 신호가 니트로셀룰로오스 막을 이용하여 획득된 것들에 필적하는 강도를 갖는다는 것이다. 니트로셀룰로오스 막은 검출 구역에서 표지화된 피분석물 표적의 포획을 위한 매우 높은 표면적을 갖는 것으로 알려져 있고, 그리고 이런 높은 표면적은 증강된 감수성을 증진하는 바람직한 특질인 것으로 알려져 있다. 실은 대조적으로, 더욱 낮은 표면적을 갖는 것으로 알려져 있는데, 이것은 이론적으로, 검사 구역에서 피분석물 표적으로부터 훨씬 낮은 형광 신호를 야기할 것이다. 하지만, 니트로셀룰로오스 막의 경우에, 막 물질이 불투명한 백색인데, 이것은 막의 위쪽 표면에 근접한 형광 마이크로입자만 여기 공급원에 의해 여기될 수 있다는 의미한다. 하지만, 많은 유형의 합성 실 (나일론 실 포함)의 경우에, 투명한 섬유소가 이용될 수 있다. 도면 13에서 보여지는 바와 같이, 이것은 여기 광 204가 여러 실 203을 투과하여 모든 간질성 공동 202 내에 유로퓸 마이크로입자를 여기할 수 있다는 것을 의미한다. 게다가, 이들 마이크로입자로부터 형광 방출된 광 205는 검출 공급원까지 역으로 여러 실을 투과할 수 있다. 이러한 방식으로, 본 발명에서 이용된 합성 실은 형광 신호가 실 구조의 전체 깊이까지 판독되도록 허용하고, 반면 니트로셀룰로오스 막에서는 이것이 표면에서만 가능하다. 우리는 실의 심부까지 판독될 수 있는 이러한 능력이 실에서 가능한 결합을 위한 표면적의 상실을 보상하는 것으로 생각한다.

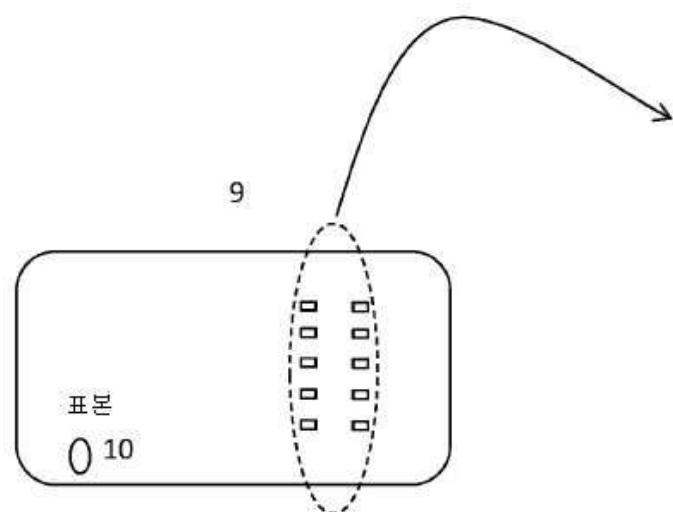
[0142] 결과적으로, 놀랍게도, 형광 마커로 표지화된 마이크로입자를 활용하는 신속한 형광 측방 유동 면역검정은 이러한 검정이 전통적인 니트로셀룰로오스 막 대신에 합성 중합체 실을 다공성 담체 물질 (즉, 위킹 기질)로서 이용하여 수행될 때, 유의미하게 향상된 진단 민감성 및 반복성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 이런 이유로, 합성 중합체 실을 다공성 담체 물질로서 포함하는 면역형광 검정은 특히, 형광 표지화된 마이크로입자와 함께 이용될 때, 높은 감수성이 요구되거나 또는 피분석물 표적의 정량이 또한 필요한 신속한 진단적 검정에 이용될 수 있다.

도면

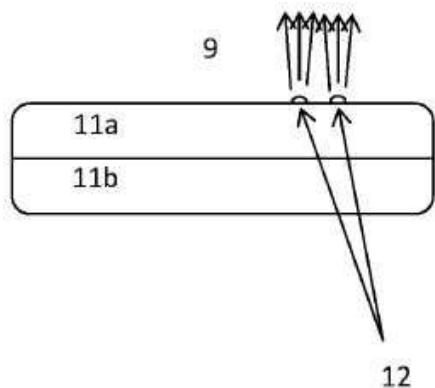
도면1



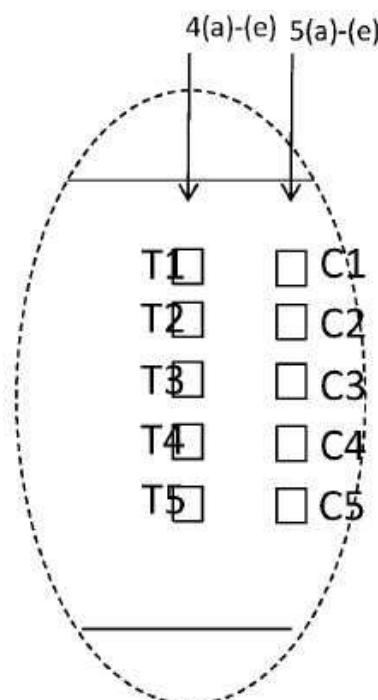
도면2



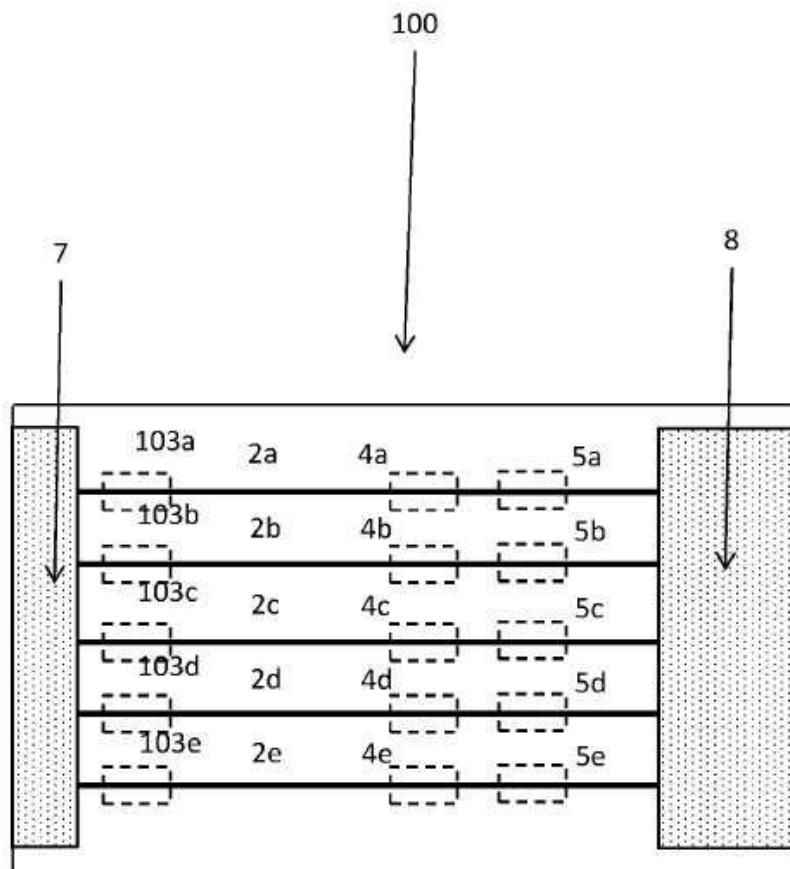
도면3



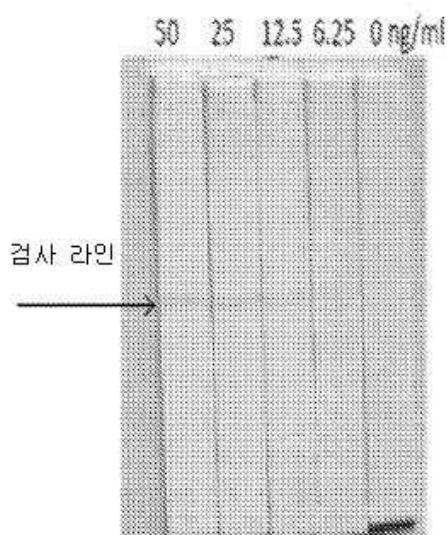
도면4



도면5

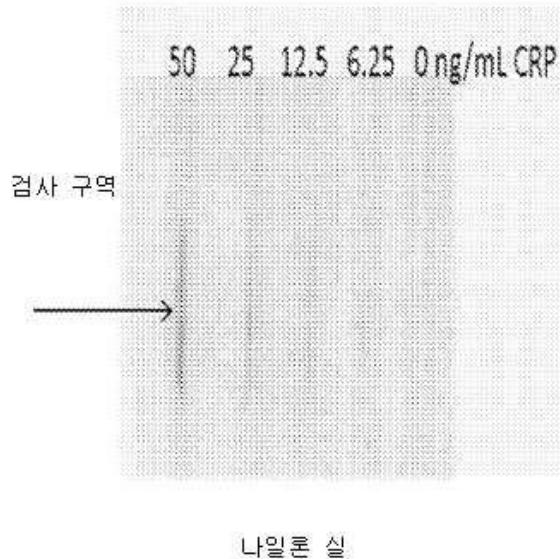


도면6a



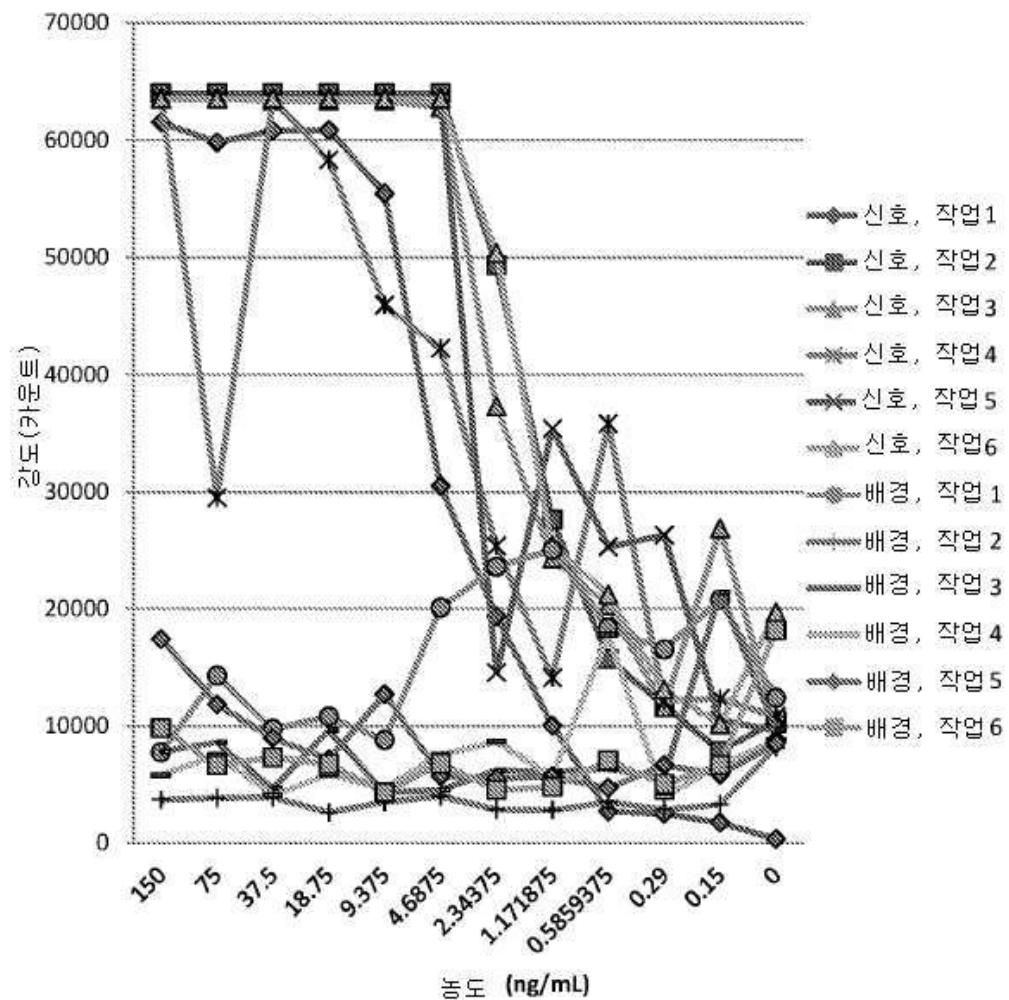
니트로셀룰로오스 막

도면6b

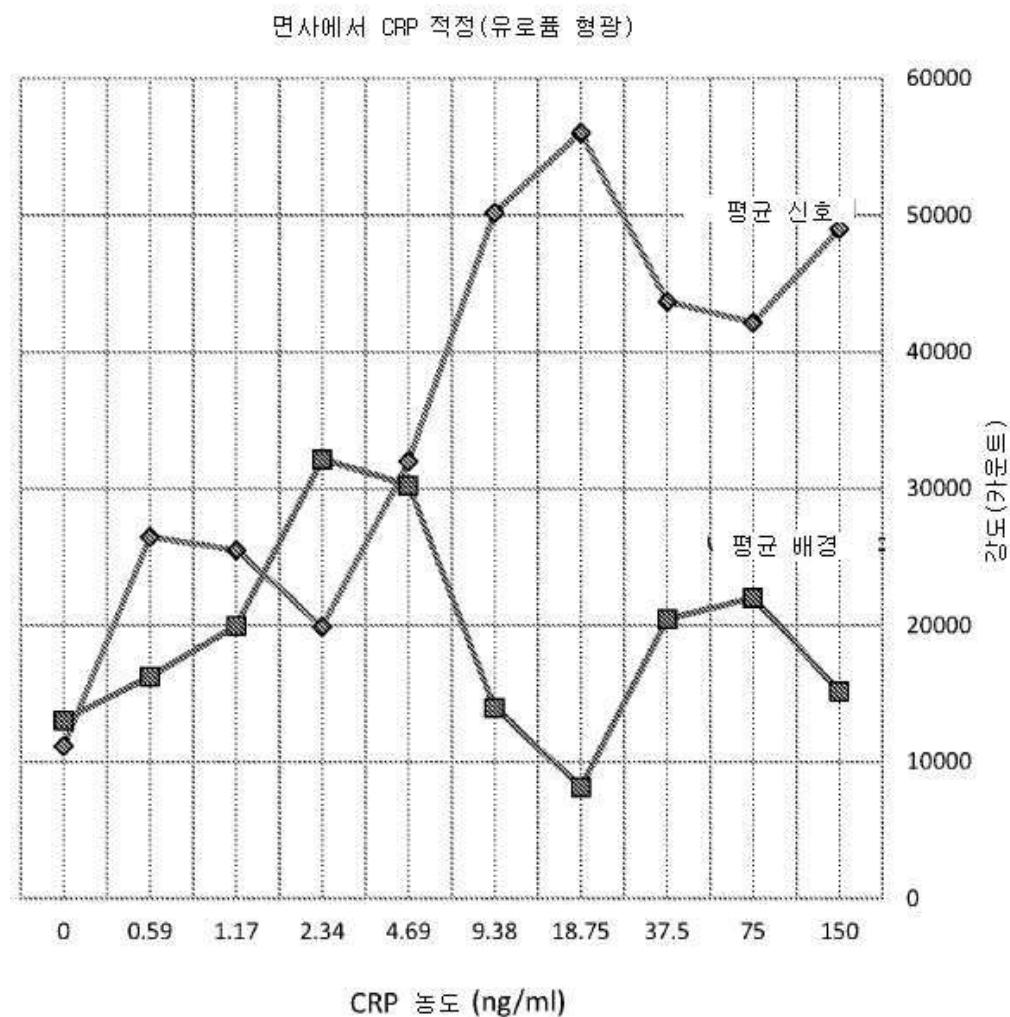


도면7

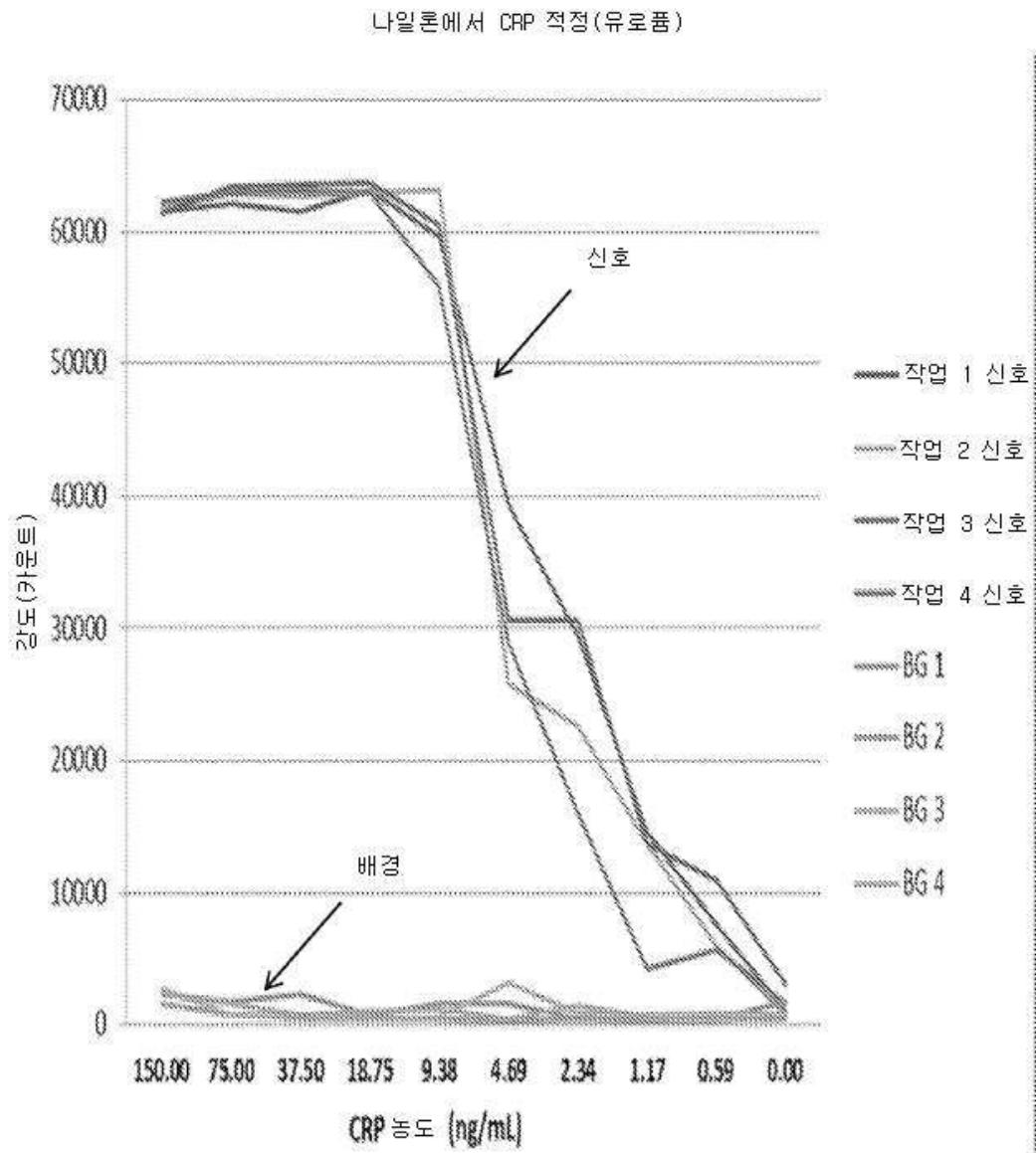
유로퓸 및 NCM을 이용한 CRP 적정



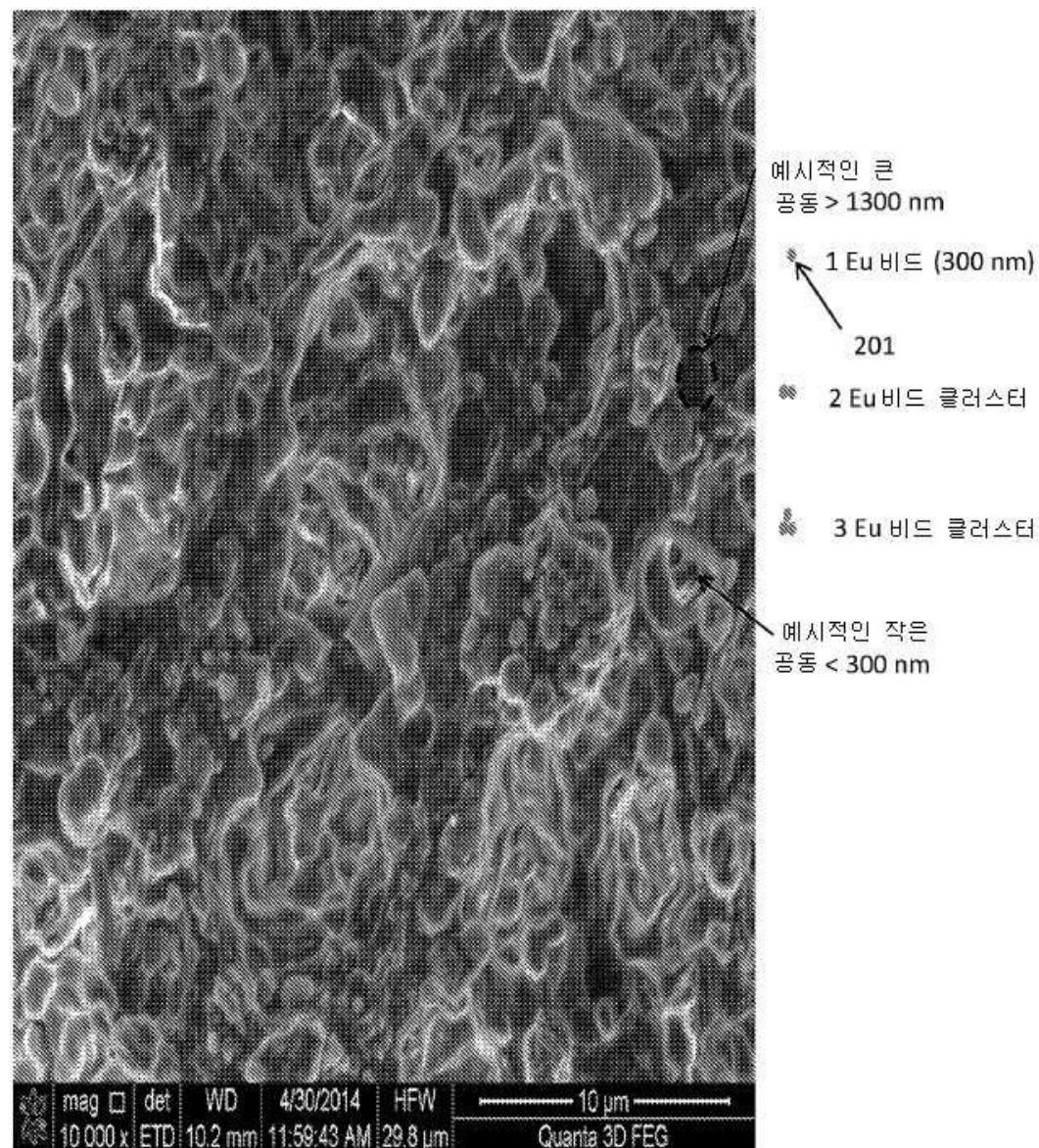
도면8



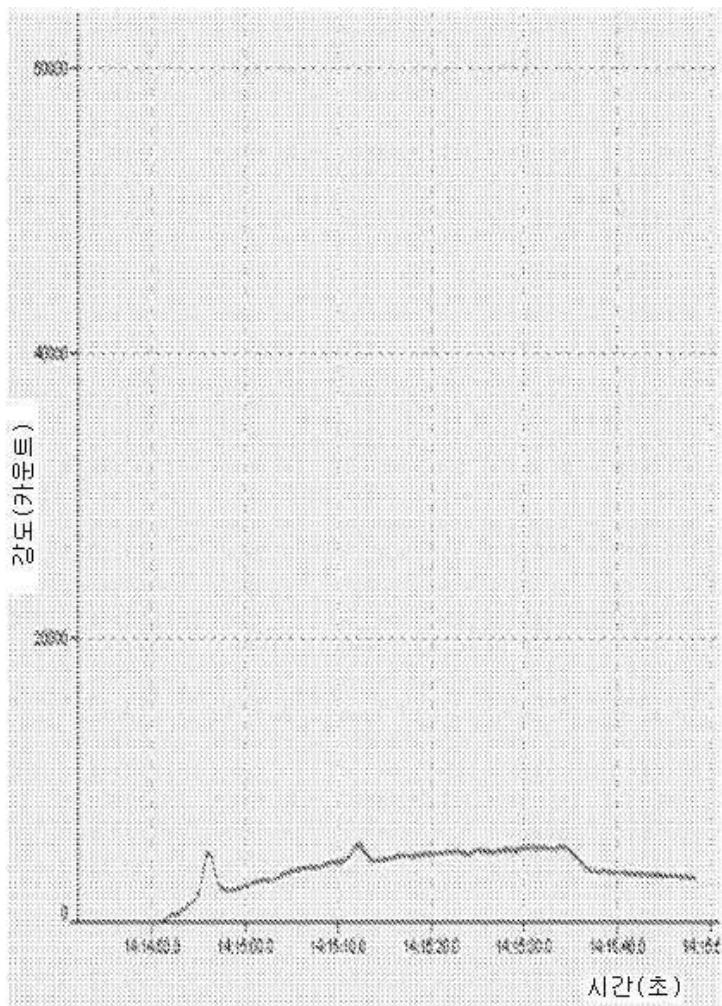
도면9



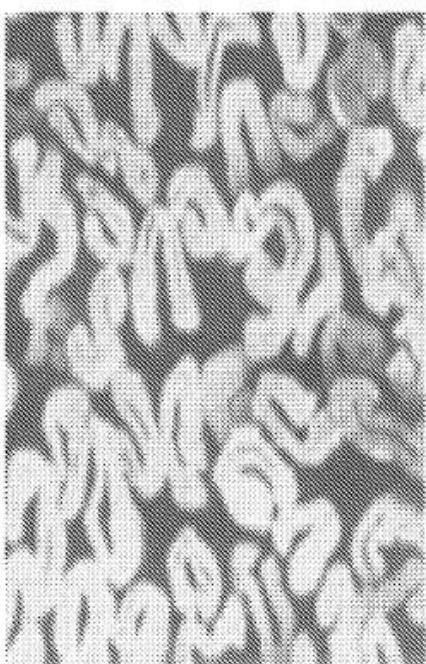
도면10



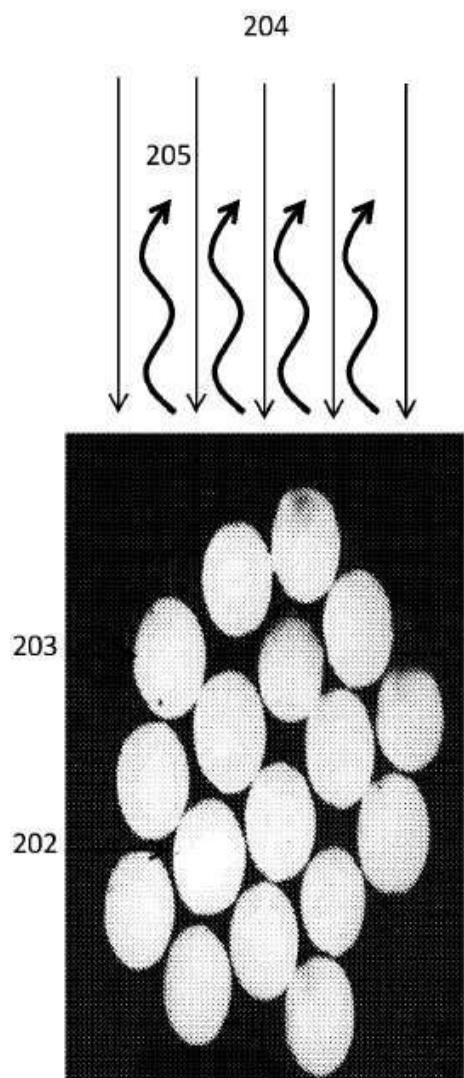
도면11



도면12



도면13



도면14

