

Ansprüche

1. Lateral-Flow-Test, der das Folgende aufweist:

- ein Probenpad (1) zur Aufnahme einer flüssigen Probe (5);

- ein Konjugatpad (2), in dem ein Detektionsmittel (11) gespeichert ist;

wobei das Detektionsmittel (11) Konjugate aus ersten Antikörpern (10) und kugelförmigen farbigen Partikeln (9) umfasst, an die die ersten Antikörper (10) jeweils geheftet sind,

wobei die ersten Antikörper (10) dazu geeignet sind, ein Zielmolekül (6) in der flüssigen Probe (5) spezifisch zu erkennen und daran zu binden;

- eine Reaktionsmembran (3), welche eine Testlinie (7) aufweist, die durch die Oberfläche der Reaktionsmembran (3) verläuft, wobei die Testlinie (7) darin immobilisierte zweite Antikörper (12) aufweist, die spezifisch für das Zielmolekül (6) sind;

wobei das Konjugatpad (2) strömungsabwärts hinter dem Probenpad (1) angeordnet ist und die Reaktionsmembran (3) strömungsabwärts hinter dem Konjugatpad (2) angeordnet ist, jeweils in Bezug auf die Richtung der Kapillarströmung der flüssigen Probe (5),

wobei

die kugelförmigen farbigen Partikel (9) Goldnanopartikel mit einem Durchmesser von mindestens 20nm und höchstens 100nm sind.

2. Lateral-Flow-Test nach Anspruch 1,

wobei der Durchmesser der Goldnanopartikel 40 nm beträgt.

3. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,

wobei das Probenpad (1) auf Zellulosefasern besteht.

4. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,

wobei das Konjugatpad (2) aus Glasfaservlies besteht.

5. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,

wobei die ersten Antikörper (10) eine Dissoziationskonstante von 10^{-7} M für das Zielmolekül (6) aufweisen.

6. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,
wobei die ersten Antikörper (10) und die zweiten Antikörper (12) von der gleichen
Antikörperart sind.
7. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,
wobei das Zielmolekül (6) das Spike-Protein des SARS-CoV-2-Virus ist.
8. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,
wobei die Reaktionsmembran (3) eine Nitrozellulose-Membran mit einer Porengröße von
mindestens 5 Mikrometer, vorzugsweise 8-12 Mikrometer, ist.
9. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,
wobei die Reaktionsmembran (3) ferner eine Kontrolllinie (8) aufweist, die strömungsabwärts
hinter der Testlinie (7) in Bezug auf die Kapillarströmung liegt,
wobei in der Kontrolllinie (8) dritte Antikörper (13) immobilisiert sind, die spezifisch für die
Konjugate sind und von einer anderen Antikörperart als die ersten Antikörper (10) sind.
10. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,
der ferner ein Dochtpad (4) aus saugfähigem Material aufweist, das am in Bezug auf die
Kapillarströmung strömungsabwärts gelegenen Ende des Lateral-Flow-Tests angeordnet ist.
11. Lateral-Flow-Test nach Anspruch 10,
wobei das Dochtpad (4) aus einem Zellulosefilter besteht.
12. Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche,
der in eine Kunststoffkassette eingebaut ist, welche die Position der Testlinie (7) kennzeichnet.
13. Testkit, welches einen Lateral-Flow-Test nach einem der vorherigen Ansprüche und eine
Extraktionslösung zur Suspension der Probe (5) aufweist.
14. Testkit nach Anspruch 13,
wobei die Extraktionslösung eine Pufferlösung, insbesondere eine phosphatgepufferte
Kochsalzlösung, enthält.

15. Verwendung eines Lateral-Flow-Tests nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Diagnose einer Infektion oder Schwangerschaft,

umfassend die folgenden, außerhalb des menschlichen Körpers ausgeführten, Schritte:

- Auftragen einer flüssigen Probe (5) auf das Probenpad (1) des Lateral-Flow-Tests;
- Ablesen der Testlinie (7) des Lateral-Flow-Tests; und
- Feststellen eines positiven Testergebnisses, wenn die Testlinie (7) eingefärbt ist.

Beschreibungseinleitung

Technisches Gebiet

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf das technische Gebiet der Infektions- und Schwangerschaftstests, insbesondere bakterielle und virale Infektionen wie Sars-Covid-19, und betrifft

- einen Lateral-Flow-Test;
- ein Testkit; und
- die Verwendung des Lateral-Flow-Tests zur Diagnose einer Infektion oder Schwangerschaft.

Hintergrund

Lateral-Flow-Tests können verwendet werden, um Infektionen zu diagnostizieren, die durch Bakterien und andere Viren als SARS-CoV-2 verursacht werden, und werden ferner für häusliche Schwangerschaftstests verwendet. Bei Lateral-Flow-Tests wird eine flüssige Probe mittels Kapillarströmung einen Teststreifen entlang geleitet, um sie mit einem Detektionsmittel in Kontakt zu bringen, das ein visuelles positives oder negatives Ergebnis anzeigt. Bei der Flüssigkeit, die mit einem COVID-19-Test untersucht wird, handelt es sich in der Regel um eine Nasen- oder Rachenabstrichprobe, die in einer Extraktionslösung suspendiert wurde.

Lateral-Flow-Tests basieren auf der Interaktion zwischen einem Antikörper und seinem Ziel. Antikörper sind Y-förmige Proteine mit zwei Armen, die spezifisch andere Moleküle erkennen und daran binden. Ein Antikörper, der für ein bestimmtes Molekül spezifisch ist, bindet nur an dieses Molekül und nicht an andere. Daher ermöglicht die Verwendung von Antikörpern in diesen Tests einen hochspezifischen Nachweis eines Zielmoleküls.

Stand der Technik

Aus der D1 ist ein Lateral-Flow-Schwangerschaftstest bekannt, bei dem eine Urinprobe auf einem Probenpad gesammelt wird. Der Urin läuft entlang des Teststreifens in eine Konjugatzone, die ein Detektionsmittel enthält, das auf ein Zielmolekül im Urin reagiert. Diese Reaktion führt dann zu einer sichtbaren Veränderung, die zeigt, dass der Test positiv ist.

Die Konjugatzone enthält Antikörper, die spezifisch für das bei Schwangeren produzierte hCG-Hormon sind. Die Antikörper sind dabei an kleine, blaue Latexpartikel geheftet. Die Antikörper-Latex-Konjugate werden in trockenem Zustand in der Konjugatzone gehalten. Wenn hCG in der Urinprobe vorhanden ist, bindet es an die Konjugate und fließt den Streifen hinunter in Richtung der Testlinie in einer Reaktionszone. Die Reaktionszone enthält eine Nitrozellulosemembran mit einer Porengröße von 9 - 10 Mikrometer. An der Testlinie befinden sich weitere hCG-spezifische Antikörper, die jedoch am Streifen fixiert sind. Diese fixierten Antikörper fangen das hCG ein, das an den blauen Latexpartikeln heftet. So entsteht eine blaue Linie, wenn hCG im Urin vorhanden ist. Die Reaktionszone enthält ferner eine zweite Linie mit fixierten Antikörpern. Diese Antikörper fangen überschüssiges Konjugat ein, das nicht an hCG gebunden ist. Diese Linie dient als Kontrolllinie, die zeigt, dass der Test ordnungsgemäß durchgeführt wurde, und befindet sich am Ende des Tests, d. h. am weitesten vom Probenaufnahmepad entfernt. Der letzte Teil des Tests ist der Docht, der die überschüssige Flüssigkeitsprobe absorbiert. Der Schwangerschaftstest ist in eine Kunststoffkassette mit Beschriftungen eingebaut, die zeigen, wo sich die Testlinie und die Kontrolllinie befinden, um das Ablesen des Testergebnisses zu erleichtern.

Die D2 beschreibt Goldnanopartikel für HighTech-Anwendungen, insbesondere für die Anwendungen in Solarzellen, Flüssigkristallen, Katalyse, Elektronik, und bei der Konjugation mit biologischen Molekülen. Insbesondere beschreibt die D2 kugelförmige Goldnanopartikel mit Durchmesser-Größen von 5 nm bis 400 nm, speziell Varianten mit Durchmessern 20, 40 und 100 nm.

Aufgabe

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einen Lateral-Flow-Test mit verbesserter Sensitivität anzugeben, insbesondere dann, wenn die Konzentration des Zielmoleküls in der Probe niedrig ist.

Lösung

Diese Aufgabe wird durch einen Lateral-Flow-Test gemäß Anspruch 1 gelöst. Der im Anspruch verwendete Ausdruck "strömungsabwärts" bezieht sich dabei die Richtung der Kapillarströmung der flüssigen Probe.

Bei dem Lateral-Flow-Test gemäß Anspruch 1 enthält das Detektionsmittel Konjugate aus

ersten Antikörpern und kugelförmigen farbigen Partikeln, die jeweils an die ersten Antikörper angeheftet sind. Dabei sind die kugelförmigen farbigen Partikel Goldnanopartikel mit einem Durchmesser von mindestens 20nm und höchstens 100nm.

Goldnanopartikel mit einem Durchmesser von höchstens 100 nm absorbieren und streuen Licht, was einen leuchtenden Rotton erzeugt. Diese Farbe entsteht aufgrund von lokalisierter Oberflächenplasmonenresonanz (LSPR), einem Phänomen, bei dem Elektronen auf der Oberfläche des Nanopartikels in Resonanz mit Licht schwingen.

Indem der Durchmesser der Goldnanopartikel andererseits mindestens 20nm beträgt, ist sichergestellt, dass die Goldnanopartikel genügend Antikörper tragen können, um ein genaues Testergebnis zu liefern.

Insgesamt lässt sich durch Verwendung der Goldnanopartikel des angegebenen Größenbereichs die Sensitivität des Lateral-Flow-Tests im Vergleich mit Lateral-Flow-Tests, die farbige Latexpartikel verwenden (wie in der D1), um das 10-fache verbessern. Dies bedeutet, dass auch dann ein Ergebnis angezeigt werden kann, wenn die Konzentration des Zielmoleküls in der Probe sehr niedrig ist. Die beste Sensitivität bieten Partikel mit einem Durchmesser von 40 nm.

Vorteilhafte Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Lateral-Flow-Tests sind in den abhängigen Ansprüchen 2 bis 12 angegeben.

Anspruch 13 betrifft ein Testkit, welches den erfindungsgemäßen Lateral-Flow-Test und eine Extraktionslösung aufweist.

In einer Ausführungsform des Testkits enthält die Extraktionslösung eine Pufferlösung, insbesondere eine phosphatgepufferte Kochsalzlösung.

Anpruch 15 betrifft die Verwendung des erfindungsgemäßen Lateral-Flow-Tests zur Diagnose einer Infektion oder Schwangerschaft. Die Verwendung umfasst die folgenden Schritte, die außerhalb des menschlichen Körpers ausgeführt werden:

- Auftragen einer flüssigen Probe auf das Probenpad des Lateral-Flow-Tests;
- Ablesen der Testlinie des Lateral-Flow-Tests; und
- Feststellen eines positiven Testergebnisses, wenn die Testlinie eingefärbt ist.