

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290673 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.06.14(51) Int. Cl. C12Q 1/26 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2020.07.24

(54) СПОСОБ, УСТРОЙСТВО И НАБОР ДЛЯ СКРИНИНГА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ УГЛЕВОДОВ СЛИЗИСТОЙ И АССОЦИИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЙ

(31) 62/893,477; 16/936,998

(32) 2019.08.29; 2020.07.23

(33) US

(86) PCT/US2020/043461

(87) WO 2021/040926 2021.03.04

(71)(72) Заявитель и изобретатель:

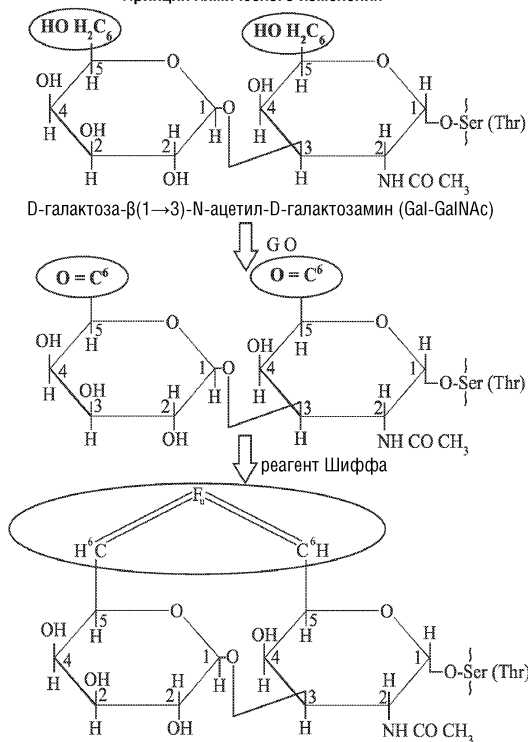
ШАМСУДДИН АБУЛКАЛАМ
МУХАММЕД (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к способу, устройству и набору для скринингового теста на углеводы в слизистой оболочке и ассоциированные состояния, включая раковые и предраковые состояния. В частности, в способе проверяют патологические углеводы в слизи или жидкости организма с использованием реагентов галактозооксидазы и реагента Шиффа. Способ, устройство и набор для скринингового теста обеспечивают повышенную точность и минимизируют процедуры обработки. Изобретение также относится к применению устройства или набора в учреждении здравоохранения для первоначальной оценки раковых и предраковых состояний.

Анализ с использованием галактозооксидазы и реагента Шиффа
Принцип химического изменения



202290673

A1

A1

202290673

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-573479EA/23

СПОСОБ, УСТРОЙСТВО И НАБОР ДЛЯ СКРИНИНГА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ УГЛЕВОДОВ СЛИЗИСТОЙ И АССОЦИИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЙ ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет и преимущество предварительной заявки на патент США № 62/893477, поданной 29 августа 2019, и безусловной заявки на патент США № 16/936998, поданной 23 июля 2020, полное содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки во всей их полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0001] Настоящее раскрытие в целом относится к способу, устройству и набору скринингового теста для обнаружения углеводов в слизистой оболочке и ассоциированных с ними состояний, включая, но не ограничиваясь указанным, раковые и предраковые состояния. В частности, в способе тестируются патологические углеводы в слизи или жидкости организма с использованием фермента галактозооксидазы и реагента Шиффа. Настоящее раскрытие также относится к применению устройства или набора в медицинском учреждении для первоначальной оценки патологических углеводов и ассоциированных с ними состояний.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Раннее выявление и профилактика по-прежнему являются нашими лучшими стратегиями борьбы с различными видами рака посредством скрининга. Идеальные скрининговые тесты должны соответствовать определенным критериям, а именно, высокая чувствительность, специфичность и положительная прогностическая ценность; экономичность, неинвазивность, простота принятия массами и т. д. К сожалению, попыткам разработки таких тестов препятствовала нечувствительность и неспецифичность существующих способов скрининга, а именно, анализ кала на скрытую кровь (FOBT) на колоректальный рак; высокая стоимость и радиационный риск маммографии и рентгенографии грудной клетки при раке молочной железы и легких, соответственно и т. д. Кроме того, уже слишком поздно, если заболевание обнаруживают, когда рак уже сформировался; выявление на предраковой стадии является даже более важным. Таким образом, идентификация конкретного маркера, а также простые в применении, экономичные и точные способы обнаружения рака и предраковых состояний имеют решающее значение для эффективной борьбы с этим бедствием.

[0003] Муцины представляют собой высокомолекулярные и сильно гликозилированные гликопротеины. Они продуцируются эпителиальными клетками нормальных и злокачественных тканей в виде секретируемых или связанных с мембраной молекул. Развитие и прогрессирование рака почти всегда сопровождаются изменениями биохимических характеристик муцинов, включая как аномальное гликозилирование пептидов ядра муцина, так и измененную экспрессию генов муцина.

[0004] В патенте США № 4857457 и в Shamsuddin et al., Human Pathology, 19: 7-10,

1988, сообщается о скрининговом тесте на колоректальный рак, который может обнаруживать рак толстой кишки с использованием ректальной слизи. Слизь подвергают взаимодействию с ферментом галактозооксидазой путем увлажнения мембранного фильтра из целлюлозы, предварительно пропитанного фосфатным буферным раствором фермента, а затем лиофилизированного, и последующего контакта увлажненного мембранного фильтра из целлюлозы с мембранным фильтром Metricel с образцом слизи на 1-2 часа. Затем мембранный фильтр со слизью промывают дистиллированной водой в течение 1 минуты, подвергают реакции с основным фуксином в течение 15 минут, промывают водопроводной водой в течение 10 минут, а затем сушат на воздухе.

[0005] В патенте США № 5348860 описан набор для тестирования, упакованный обычным образом в картонную коробку, содержащий (а) флакон с крышкой, содержащий стабильное при хранении количество основного фуксина, приготовленного в соответствии с описанной ниже композицией, достаточное для двукратного насыщения; (b) полоску мембранного фильтра (мембранный фильтр Metricel 0,46 мкм, Gelman Sciences, Inc., Анн-Арбор, Мичиган, США). Также в наборе присутствует (с) некоторое количество стабильной при хранении формы галактозооксидазы, которая присутствует в наборе в закрытой бутылке с крышкой, пропитанной полоской мембранного фильтра в количестве, достаточном для окисления маркерных углеводов в образце. Также присутствуют (d) йодная кислота и (e) цветовая диаграмма для сравнения с результатом теста и его интерпретации.

[0006] Однако, набор для тестирования содержит несколько жидких компонентов, а способ тестирования требует нескольких этапов, которые могут привести к ложноотрицательным результатам вследствие ошибок при отборе проб или процедурных ошибок.

[0007] Таким образом, существует потребность в улучшении способа скринингового теста и разработке устройства или набора для скринингового теста на раковые и предраковые состояния.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Настоящее раскрытие относится к способу, устройству и набору скрининговых тестов на раковые и предраковые состояния. В частности, способ проверяет патологические углеводы в слизи или жидкости организма с использованием реагентов галактозооксидазы и реагента Шиффа. Способ, устройство и набор скрининговых тестов обеспечивают повышенную точность и минимизируют процедуры обработки. Настоящее раскрытие также относится к применению устройства или набора в медицинском учреждении для первоначальной оценки раковых и предраковых состояний.

[0009] В одном из аспектов способ скрининга раковых и предраковых состояний и очагов включает в себя этапы нанесения слизи или жидкости организма на тест-полоску или мембрану с предварительно залитым реагентом Шиффа, окисления маркерных углеводов в слизи или жидкости организма, которая содержит маркерные углеводы, путем взаимодействия с галактозооксидазой и активации реагента Шиффа, залитого в тест-полоску или мембрану, для контакта с тест-полоской или мембраной.

[0010] В некоторых вариантах осуществления способ скрининга раковых и предраковых состояний и очагов включает в себя один или более дополнительных этапов, выбранных из: нанесения воды на тест-полоску или мембрану перед нанесением слизи или жидкости организма на тест-полоску или мембрану, удаления слизи или биологических жидкостей путем промывания перед активацией реагента Шиффа, промывания тест-полоски или мембраны водопроводной водой после контакта реагента Шиффа с образцом, сушки тест-полоски или мембраны, и/или оценки цвета тест-полоски или мембраны.

[0011] В другом аспекте устройство для раковых и предраковых состояний и очагов содержит тест-полоску или мембрану с предварительно залитым реагентом Шиффа и контейнер с раствором галактозооксидазы, при этом реагент Шиффа может быть активирован для контакта с образцом после того, как маркерный углевод окислен галактозооксидазой. Механизм для активации раствора реагента Шиффа (с целью контактирования с образцом после того, как маркерный углевод окислен галактозооксидазой) не ограничивается. В одном из аспектов механизм может представлять собой добавление порообразующего агента.

[0012] В другом аспекте раскрытие предоставляет набор для тестирования на раковые и предраковые состояния, содержащий тест-полоску или мембрану с предварительно залитым реагентом Шиффа и контейнер с раствором реагента галактозооксидазы. В одном из аспектов тест-полоска или мембрана с предварительно залитым реагентом Шиффа дополнительно содержит сухую культуральную среду, при этом сухая культуральная среда может активировать галактозооксидазу после добавления воды на тест-полоску или мембрану. В другом аспекте реагент Шиффа, предварительно залитый в тест-полоску или мембрану, является микроинкапсулированным.

[0013] В другом аспекте настоящее раскрытие дополнительно направлено на применение раскрытого устройства или набора для скрининга ракового или предракового состояния.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0014] На фиг. 1 изображен принцип реакций, происходящих в наборах и способах по изобретению. На фигуре маркер Gal-GalNAc взаимодействует с галактозооксидазой (GO) с образованием двух вициниловых альдегидов в положениях C-6, которые затем связываются с основным фуксином, придавая пурпурный цвет.

[0015] На фиг. 2 изображен вариант осуществления способов по заявленному изобретению, в котором проводят реакцию образцов на предметном стекле для выявления ракового или предракового состояния. В образцах от субъектов, не страдающих каким-либо раком или предраковым состоянием, тестовая панель является бесцветной, тогда как обычно пурпурный (с диапазоном от розового до пурпурного) цвет указывает на дисахарид-маркер, специфичный для рака, предраковых состояний и очагов.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0016] Нижеследующее представляет собой подробное описание, предназначенное для помощи специалистам в данной области техники при практическом применении

настоящего раскрытия. Специалисты в данной области техники могут вносить модификации и вариации в варианты осуществления, описанные в настоящем описании, без отклонения от сущности или объема настоящего раскрытия. Все публикации, патентные заявки, патенты, чертежи и другие ссылки, упомянутые в настоящем описании, явным образом включены посредством ссылки во всей своей полноте.

[0017] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится настоящее раскрытие. Терминология, используемая в описании, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения раскрытия.

[0018] В случае указания диапазона значений подразумевается, что каждое промежуточное значение с точностью до десятой доли единицы нижнего предела, если из контекста явно не следует иное (например, в случае группы, содержащей некоторое количество атомов углерода, указывается каждое количество атомов углерода, попадающее в диапазон), между верхним и нижним пределом этого диапазона и любым другим установленным или промежуточным значением в указанном диапазоне охватывается раскрытием. Верхний и нижний пределы этих меньших диапазонов могут независимо включаться в меньшие диапазоны, также охватываемые раскрытием, с учетом любого специально исключенного предела в указанном диапазоне. Если указанный диапазон включает один или оба предела, в раскрытие также включаются диапазоны, исключаящие любой из этих включенных пределов.

[0019] Все числовые значения в подробном описании и формуле изобретения изменены на «около» или «приблизительно» указанного значения и учитывают экспериментальную ошибку и вариации, которые могут ожидаться специалистом в данной области техники.

[0020] Следующие термины используются для описания настоящего изобретения. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится настоящее раскрытие. Терминология, используемая в описании, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения раскрытия.

[0021] Формы единственного числа при использовании в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения, используются для обозначения одного или более чем одного (т.е., по меньшей мере одного) грамматического объекта, если только контекст явно не указывает на обратное. Например, "элемент" означает один элемент или более одного элемента.

[0022] Фразу «и/или» при использовании в настоящем описании и в формуле изобретения следует понимать как означающую «один или оба» из элементов, соединенных таким образом, т.е., элементы, которые в некоторых случаях присутствуют совместно и могут присутствовать раздельно в других случаях. Множественные элементы,

перечисленные с помощью «и/или», должны толковаться таким же образом, т. е., «один или более» элементов, соединенных таким способом. Необязательно, могут присутствовать другие элементы, отличные от элементов, конкретно указанных в предложении «и/или», независимо от того, связаны они или не связаны с этими конкретно указанными элементами. Таким образом, в качестве неограничивающего примера, ссылка на «А и/или В» при использовании в сочетании с открытым языком, таким как «содержащий», может относиться в одном варианте осуществления только к А (необязательно, включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления только к В (необязательно, включая элементы, отличные от А); в еще одном варианте осуществления - как к А, так и к В (необязательно, включая другие элементы); и т.п.

[0023] Используемый в настоящем описании в спецификации и формуле изобретения термин «или» следует понимать как имеющий то же значение, что и «и/или», как определено выше. Например, при разделении элементов в списке «или» или «и/или» должны интерпретироваться как включающие, т. е., как включение по меньшей мере одного, но также включение более одного из числа или списка элементов, и, при необходимости, дополнительных элементов, не включенных в список. Только термины, явно указывающие на обратное, такие как «только один из» или «точно один из» или, при использовании в формуле изобретения, «состоящий из», будут относиться к включению ровно одного элемента из числа или списка. Как правило, термин «или», используемый в настоящем описании, должен интерпретироваться только как обозначающий взаимно исключающие альтернативы (т. е., «один или другой, но не оба»), если ему предшествуют термины исключительности, такие как «любой», «один из», «только один из» или «точно один из».

[0024] В формуле изобретения, а также в описании все переходные фразы, такие как «содержащий», «включающий в себя», «несущий», «имеющий», «вмещающий», «вовлекающий», «удерживающий», «состоящий из» и т.п. следует понимать как открытые, т.е., означающие включение, но не ограничение указанным. Только переходные фразы «состоящий из» и «состоящий по существу из» должны являться закрытыми или полужакрытыми переходными фразами, соответственно, как указано в Руководстве по процедурам патентной экспертизы Патентного ведомства США, раздел 2111.03.

[0025] Используемую в настоящем описании в спецификации и формуле изобретения фразу «по меньшей мере один» в отношении списка из одного или более элементов следует понимать как означающую по меньшей мере один элемент, выбранный из любого одного или более из элементов в списке элементов, но не обязательно включая по меньшей мере один из любого и каждого элемента, конкретно указанного в списке элементов, и не исключая любые комбинации элементов в списке элементов. Это определение также допускает, что, необязательно, могут присутствовать элементы, отличные от элементов, конкретно указанных в списке элементов, к которым относится фраза «по меньшей мере один», независимо от того, связаны они или не связаны с этими конкретно указанными элементами. Таким образом, в качестве неограничивающего

примера «по меньшей мере один из А и В» (или, что то же самое, «по меньшей мере один из А или В», или, что то же самое, «по меньшей мере один из А и/или В») может относиться, в одном варианте осуществления, по меньшей мере к одному, необязательно, включая более одного, А, без присутствия В (и, необязательно, включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления по меньшей мере к одному, необязательно, включая более одного, В, без присутствия А (и, необязательно, включая элементы, отличные от А); в еще одном варианте осуществления, по меньшей мере к одному, необязательно, включающего более одного, А и по меньшей мере к одному, необязательно, включая более одного, В (и, необязательно, включая другие элементы); и т.п.

[0026] Используемые в настоящем описании в спецификации и формуле изобретения фразы «маркерный углевод» или «маркерный сахарид» следует понимать как обозначающие углевод, который может предоставлять информацию о раковых и предраковых состояниях в результате применения способа, описанного в настоящем описании. Маркерный углевод включает, но не ограничивается указанным, бета-D-Gal-(1->3)-D-GalNAc, Fuc-альфа-1->2-Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc, Fuc-альфа-1->2Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc-бета-(1->3)-Gal-бета-(1->4)-GlcNAc или Fuc-альфа-1->2-Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc-бета-(1->3)-Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc.

[0027] Используемые в настоящем описании в спецификации и формуле изобретения фразы «слизь» или «жидкость организма» должны быть взаимозаменяемыми. Фраза «слизь» или «жидкость организма» следует толковать в широком смысле как любую жидкость или слизь из организма человека, которая содержит маркерный(-е) углевод(-ы).

[0028] Используемые в настоящем описании в спецификации и формуле изобретения фразы «залитый», «пропитанный» и «предварительно залитый» должны быть взаимозаменяемыми. В некоторых вариантах осуществления реагенты по изобретению могут быть залиты в мембрану или тест-полоску непосредственно путем связывания или иммобилизации реагента на поверхности мембраны или тест-полоски или путем загрузки реагента в поры пористой мембраны через покрытие. В других вариантах осуществления реагенты по изобретению инкапсулируют в капсулу или микрокапсулу и затем вводят, покрывают или пропитывают реагент или тест-полоску.

[0029] Уровень техники и теория, используемые в настоящем раскрытии для обнаружения присутствия маркерных углеводов в слизи или жидкостях организма индивидуумов, тестируемых на раковые или предраковые состояния, раскрыты в патентах США № 4857457, 5162202 и 5348860, а также в Usefulness of Galactose Oxidase Test in Rectal Mucus for Screening of Colorectal Malignancy ANTICANCER RESEARCH 21:1247-1256 (2001). Все эти ссылки включены в настоящее описание. Реакция, используемая в способах и наборах по изобретению, изображена на фиг. 1.

[0030] Настоящее изобретение представляет собой усовершенствование анализа, в соответствии с описанным ранее, в отношении сведения к минимуму ложноположительных результатов в результате ошибки при отборе проб или процедурной ошибки.

[0031] Настоящее раскрытие предоставляет надежный способ скрининга, устройство и/или набор для выявления широкого спектра видов рака, например, рака прямой кишки, толстой кишки, крови, лимфатических узлов, желудка, почек, желчного пузыря, предстательной железы, яичек, молочной железы, шейки матки и яичников. В предраковых состояниях, т.е., таких, при которых индивидуум имеет высокий риск симптоматики, т.е., он находится в категории «высокой восприимчивости к последующему раку».

[0032] Подробно, маркерный углевод или сахарид в образце слизи или жидкости организма выявляют путем селективного окисления гликопротеина в образце слизи или жидкости организма с помощью галактооксидазы или сопоставимого окислителя, который будет окислять первичные гидроксигруппы только молекул галактозы в сахарадах, присутствующих в гликопротеине, до альдегидных групп. Полученные альдегидные группы затем можно визуализировать с помощью реактива Шиффа, например, основного фуксина, который дает пурпурный цвет.

[0033] Молекулы галактозы, маркерные углеводы или сахарады, быстро селективно окисляются при комнатной температуре посредством галактооксидазы до фрагментов альдегидного сахара, например, менее чем за 15 минут, например, около 5-10 минут, и даже быстрее при повышенных температурах, до температуры дезактивации фермента. Соотношения фермента к субстрату и носителям, подходящие для активации фермента, хорошо известны в данной области техники при использовании этого фермента.

[0034] Окисленный образец после предварительного удаления или инактивации галактооксидазы, или без удаления или инактивации, затем обрабатывают реагентом, который визуализирует или позволяет визуализировать образующиеся таким образом альдегидные сахарные фрагменты, например, фуксин, розанилин, пурпурный или другой обесцвечивающий основание Шиффа краситель.

[0035] Цели, характеристики и преимущества настоящего изобретения достигаются в одном из его аспектов путем предоставления быстрого, надежного в отношении ложноотрицательных результатов и коммерчески осуществимого способа обнаружения наличия предракового или ракового состояния у человека. В изобретении применяют способ тестирования, который включает в себя получение образца слизи или жидкости организма, анализ образца для обнаружения в нем по меньшей мере одного из маркерных углеводов бета-D-Gal-(1->3)-D-GalNAc, Fuc-альфа-1->2-Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc, Fuc-альфа-1->2-Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc-бета-(1->3)-Gal-бета-(1->4)-GlcNAc или Fuc-альфа-1->2-Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc-бета-(1->3)-Gal-бета-(1->4)-Fuc-альфа-1->3-GlcNAc; и, необязательно, диагностику наличия и степени предракового состояния или рака на основе количества маркерного(-ых) углевода(-ов), обнаруженного(-ых) в слизи или жидкости организма.

Стабильный при хранении раствор реагента Шиффа

[0036] Растворяют 1,0 г основного фуксина в 200,0 мл горячей дистиллированной воды и доводят до температуры кипения. Охлаждают до 50°C, добавляют 20,0 мл 1 N HCl, охлаждают далее и добавляют 1,0 г метабисульфата натрия. Охлаждают в темноте, пока

раствор не станет соломенно-желтым (около 48 часов). Затем добавляют 5 г активированного угля, тщательно перемешивают и удаляют уголь посредством фильтрования. Прозрачный фильтрат представляет собой реактив Шиффа, который является стабильным при хранении в течение многих месяцев, например, по меньшей мере, в течение одного года. Кроме того, пурпурный цвет, получаемый при этом, является более интенсивным, чем при использовании реагента Шиффа, полученного обычным способом.

Тест-полоска на галактозооксидазу с залитым реагентом Шиффа

[0037] В настоящем раскрытии предложена тест-полоска или мембрана для реакции образца с галактозооксидазой с предварительно залитым реагентом Шиффа. Реагент Шиффа в тест-полоске или мембране может являться инкапсулированным, и может быть активирована посредством набухания влаги или посредством контакта с водой. Количество реагента Шиффа в тест-полоске или мембране не ограничивается при условии, что этого количества достаточно для реакции с маркерными углеводами в образце после окисления с помощью галактозооксидазы.

[0038] В одном из аспектов тест-полоска или мембрана согласно настоящему описанию может быть сконструирована таким образом, чтобы принимать различный объем жидкости, с тем чтобы приспособливаться к различному количеству маркерного углевода в различной слизи или жидкости организма. Например, полоска или мембрана для исследования ректальной слизи может отличаться от полоски или мембраны для исследования секрета молочной железы с точки зрения приема жидкости. В другом аспекте количество галактозооксидазы в тест-полоске или мембране также может быть изменено в зависимости от концентрации маркерного углевода в различных слизях или жидкостях организма. В другом аспекте тест-полоска или мембрана дополнительно содержит сухую культуральную среду, и сухая культуральная среда может активировать галактозооксидазу после добавления воды на тест-полоску или мембрану.

Устройство с тест-полоской на галактозооксидазу с залитым реагентом Шиффа

[0039] В настоящем раскрытии предложено устройство с тест-полоской или мембраной с предварительно залитым реагентом Шиффа и контейнером с раствором реагента галактозооксидазы, при этом раствор реагента галактозооксидазы исходно не находится в контакте с тест-полоской или мембраной. Образец и раствор реагента галактозооксидазы добавляют к тест-полоске и допускают их реакцию до активации реагента Шиффа.

[0040] В одном из аспектов тест-полоска или мембрана с предварительно залитым реагентом Шиффа дополнительно содержит сухую культуральную среду, при этом сухая культуральная среда может активировать после добавления образца на тест-полоску или мембрану. В другом аспекте реагент Шиффа, предварительно залитый в тест-полоску или мембрану, является микроинкапсулированным. В еще одном аспекте предварительно залитый реагент Шиффа может быть активирован путем добавления нескольких капель воды на тестовую полоску или мембрану, либо путем добавления слизи или биологических жидкостей на тест-полоску или мембрану. В другом аспекте предварительно залитый

реагент Шиффа в тест-полоске может быть активирован посредством добавления порообразующего агента до, после или одновременно с добавлением образца.

[0041] В одном из аспектов настоящее раскрытие направлено на применение устройства для скрининга ракового или предракового состояния. Тип ракового или предракового состояния не ограничивается, при условии, что маркерные углеводы присутствуют в слизи или жидкости организма при раковом или предраковом состоянии, например, в прямой кишке, толстой кишке, крови, лимфатических узлах, желудке, почках, желчном пузыре, предстательной железе, яичках, молочных железах, шейке матки и яичниках.

[0042] В некоторых вариантах осуществления тест-полоска или мембрана с предварительно залитым реагентом Шиффа дополнительно содержит предварительно залитую галактооксидазу. В таких вариантах осуществления предварительно залитая галактооксидаза активируется до активации реагента Шиффа, так что реакция образца с галактооксидазой происходит до реакции с реагентом Шиффа.

Заливка и инкапсуляция

[0043] Как обсуждалось выше, в некоторых вариантах осуществления галактооксидазу предварительно заливают в тест-полоску или мембрану. В некоторых вариантах осуществления реагент Шиффа залит, абсорбирован, покрыт или пропитан непосредственно в мембрану или тест-полоску. В конкретных вариантах осуществления реагент Шиффа инкапсулируют перед заливкой, абсорбцией, покрытием или пропиткой в мембрану или тест-полоску.

[0044] В вариантах осуществления, где реагент Шиффа является инкапсулированным или микроинкапсулированным, инкапсулирующие материалы могут быть изготовлены из одного или более полимеров для обеспечения контролируемого, длительного или немедленного высвобождения реагентов.

[0045] В некоторых вариантах осуществления инкапсулирующий материал может быть приготовлен по методу Карузо (Phys. Chem. Chem. Phys., 2011, 13, 4782); Сухишвили (Chem. Mater., 2006, 18(2), 328); US20150164805; EP2213280; или Швендеман (J Control Release 2014; 196:60). Материалы, используемые для приготовления инкапсулирующего материала, включают (но не ограничиваются): эмульгаторы, материалы с различной температурой плавления, материалы с различным гидрофильным/липофильным балансом (HLB), фосфолипиды, жирные кислоты, растительные стеролы, сложные эфиры сорбитана, пчелиный воск, карнаубский воск, парафин, стеараты, шеллак, производные целлюлозы, мальтодекстрин, крахмал, камеди, целлюлозу, полипиррол, поликарбонат, галогениды цетилтриметиламмония, силаны, диблок-сополимеры, триблок-сополимеры, такие как поли(этиленоксид)-блок-поли(пропиленоксид)-блок-поли(этиленоксид), называемый P123 (PEO20PPO70PEO20) и F127 (PEO106PPO70-PEO106), альгинат, хитозан, ксантановая камедь, полисахарид, полисахаридный гидрогель, поли(лизин), поли(акриловую кислоту), агарозу, ПЭГ, поли(гидроксиэтилметакрилат-метилметакрилат), поли(акриловая кислота-со-акриламид), поли(аллиламингидрохлорид), поли(стиролсульфонат натрия),

поли(диаллилдиметиламмония хлорид), поли(этиленимин), N-гидроксисукцинимид-ПЭГ, малеимид- ПЭГ-конъюгированные фосфолипиды, парафин, циклодекстрин, карбоксиметилированный полисахарид, поликапролактон, гуминовые вещества, Span 60, холестерин, N-триметилхитозанхлорид, поли(метилметакрилат), поли(2-гидроксиэтилметакрилат), поли(N-изопропилакриламид), поли (N-изопропилметакриламид), поли(N-н-пропилакриламид), карбоксиметилцеллюлозу, пластик, золото, фильтры с отсечкой по молекулярной массе, гибридные органические/неорганические материалы, оксиды металлов, пластмассы, диоксид кремния, включая SBA-15 (PD 50-89Å) и MCM-41, керамику, глины, смектические глины, ниосомы.

[0046] В некоторых вариантах осуществления инкапсулирующие материалы содержат функциональную группу, или впоследствии модифицируется для отображения функциональной группы, которая способна впоследствии реагировать с мембраной или тест-полоской с использованием стандартных реакций синтеза. Например, в некоторых вариантах осуществления инкапсулирующий материал может содержать amino-alkylную функциональную группу, сложноэфирную функциональную группу, амидную функциональную группу или карбаматную функциональную группу, которые могут реагировать с активной группой на мембране или тест-полоске с целью обеспечения иммобилизации реагента. В литературе известен ряд стандартных способов связывания, включая, но не ограничиваясь указанным, методики March (*Advanced Organic Chemistry*, 3-е издание, Wiley, New York, 1985); Odian (*The Principles of Polymerization*, 2-е издание, Wiley, Нью-Йорк, 1981); и Bioconjugate (Hermanson, GT, *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: San Diego, 1996).

[0047] Другие способы инкапсулирования включают, но не ограничиваются указанным, способы, раскрытые в US 20160075976A1 или US 6258870B1, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки.

Полимерные материалы

[0048] Подходящие термопластичные полимеры для включения в качестве инкапсулирующего материала включают, но не ограничиваются указанным, полилактиды, полигликолиды, поликапролактоны, полиангидриды, полиамиды, полиуретаны, полиэфирамиды, полиортоэфиры, полидиоксаноны, полиацетали, поликетали, поликарбонаты, полиортокарбонаты, полифосфазены, полигидроксibuтираты, полигидроксивалераты, полиалкиленоксалаты, полиалкиленсукцинаты, полимеры поли(яблочной кислоты), полималеиновые ангидриды, поли(метилвиниловые) эфиры, поли(аминокислоты), хитин, хитозан и сополимеры, терполимеры или комбинации или смеси вышеуказанных материалов.

[0049] Примеры биоразлагаемых полимеров и олигомеров, пригодных для использования в композициях и способах по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются указанным: поли(лактиды); поли(гликолиды); сополимеры лактида и гликолида; поли(молочная кислота); поли(гликолевая кислота); и сополимеры молочной и гликолевой кислот; поли(капролактоны); поли(яблочная кислота); полиамиды;

полиангидриды; полиаминокислоты; полиортоэфиры; сложные полиэфиры; полицианакрилаты; полифосфазины; полифосфоэфиры; полиэфирамиды; полидиоксаноны; полиацетали; поликетали; поликарбонаты; полиортокарбонаты; разлагаемые полиуретаны; полигидроксibuтираты; полигидроксивалераты; полиалкиленоксалаты; полиалкиленсукцинаты; хитины; хитозаны; окисленные целлюлозы; и сополимеры, терполимеры, смеси, комбинации или смеси любого из вышеуказанных материалов.

[0050] Используемый в настоящем описании термин «гидрофобный» относится к полимеру, который является, по существу, не растворимым в воде. Используемый в настоящем описании термин «гидрофильный» относится к полимеру, который может быть водорастворимым, или к полимеру, обладающему сродством к абсорбции воды, но обычно не связанному ковалентно с гидрофобным компонентом в качестве сополимера, и который притягивает воду в устройство.

[0051] Гидрофильные полимеры, подходящие для использования в настоящем описании, могут быть получены из различных коммерческих, природных или синтетических источников, хорошо известных в данной области техники. Подходящие гидрофильные полимеры включают, но не ограничиваются указанным: полианионы, включая анионные полисахариды, такие как альгинат; агароза; гепарин; соли полиакриловой кислоты; соли полиметакриловой кислоты; сополимер этилена и малеинового ангидрида (полуэфир); карбоксиметиламилоза; карбоксиметилцеллюлоза; карбоксиметилдекстран; карбоксиметилкрахмал; карбоксиметилхитин/хитозан; карбоксицеллюлоза; 2,3-дикарбоксицеллюлоза; трикарбоксицеллюлоза; карбокси гуммиарабик; карбоксикаррагинан; карбоксипектин; карбокситрагакантовая камедь; карбоксиксантановая камедь; карбоксигуаровая камедь; карбоксикрахмал; полисульфат пентозана; курдлан; инозитол гексасульфат; бета-циклодекстринсульфат; гиалуроновая кислота; хондроитин-6-сульфат; дерматансульфат; декстрансульфат; сульфат гепарина; каррагинан; полигалактуронат; полифосфат; полиальдегидуугольная кислота; поли-1-гидрокси-1-сульфонат-пропен-2; сополистирол малеиновой кислоты; мезогликан; сульфопропилированные поливиниловые спирты; сульфат целлюлозы; протамина сульфат; фосфо-гуаровая камедь; полиглутаминовая кислота; полиаспарагиновая кислота; полиаминокислоты; и любые производные или комбинации указанного. Специалисту в данной области техники будет понятны другие гидрофильные полимеры, которые также входят в объем настоящего изобретения.

[0052] Различные водорастворимые полимеры, подходящие для использования в настоящем описании, включают, но не ограничиваются указанным: поли(алкиленгликоль), полиэтиленгликоль («ПЭГ»); пропиленгликоль; сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля; карбоксиметилцеллюлозу; декстран; поливиниловый спирт («PVOH»); поливинилпирролидон; поли(алкиленамин)ы; поли(алкиленоксид)ы; поли-1,3-диоксолан; поли-1,3,6-триоксан; сополимеры этилена/малеинового ангидрида; полиаминокислоты; поли(н-винилпирролидон); сополимеры полипропиленоксида/этиленоксида; полиоксиэтилированные полиолы; сукцинат

поливинилового спирта; глицерин; оксиды этилена; оксиды пропилена; полуксамеры; алкоксилированные сополимеры; водорастворимые полианионы; и любые производные или комбинации указанного. Кроме того, водорастворимый полимер может иметь любую подходящую молекулярную массу и может быть разветвленным или неразветвленным.

[0053] В зависимости от желаемой мягкости и гибкости инкапсулирующего материала, скорости и степени высвобождения реагента, скорости разложения и т.п. количество и тип полимера можно варьировать для получения желаемого результата.

Инкапсулирующие оболочки и пропитанные слои

[0054] В некоторых вариантах осуществления полимеры образуют инкапсулирующую оболочку, которая может становиться пористой при определенных условиях и с течением времени, тем самым контролируя высвобождение. Поры могут быть образованы посредством набухания полимерной оболочки, или растворения или разрушения оболочки.

[0055] Массу, объем и толщину полимеров в каждой инкапсулирующей оболочке/сфере также можно варьировать, с тем чтобы регулировать скорость высвобождения включенного реагента.

[0056] Использование термина «оболочка/сфера» в данном контексте не ограничивает форму герметизирующего материала. Хотя форма материала обычно является сферической, можно изготовить и использовать конические оболочки, трубчатые оболочки, продолговатые оболочки, цилиндрические стержни и т.п. В некоторых вариантах осуществления материал может быть аморфным или иметь неправильную форму. В некоторых других вариантах осуществления инкапсулирующий материал может быть покрыт или связан с поверхностью каркасного материала или хроматографического материала. В таких вариантах осуществления герметизирующий материал может принимать форму материала, с которым он связан. В некоторых вариантах осуществления, в которых хроматографический материал или каркасный материал является пористым, инкапсуляция может проникать или не проникать в поры нижележащего материала.

[0057] В некоторых других вариантах осуществления полимеры могут быть пропитаны реагентом и нанесены на поверхность мембраны или тест-полоски. В таких вариантах осуществления реагент перемешивают или смешивают с полимерами таким образом, что реагент становится залитым, инкапсулированным или пропитанным полимерной матрицей. В таких вариантах осуществления инкапсулирующий материал не образует незаметную инкапсулирующую оболочку, но вместо этого инкапсулирующий материал, содержащий реагент, может быть нанесен на мембрану или тест-полоску в форме слоя и, необязательно, может быть ковалентно или ионно связан с ними.

[0058] В некоторых вариантах осуществления инкапсулирующий материал может представлять собой воск, гидрогель, силиконовый каучук или трегалозное стекло. Использование гидрогелей, силиконовых каучуков и трегалозных стекол особенно подходит для пропитки реагентами полимерного материала, хотя в таких вариантах осуществления можно использовать любой подходящий полимер.

[0059] В других вариантах осуществления реагент может быть залит в поры пористой мембраны или материала тест-полоски. В таких вариантах осуществления, как только реагент будет залит в поры пористого материала, пористый материал может быть покрыт одним или более полимерными герметизирующими материалами, как описано в настоящем описании.

Индукцирование высвобождения

[0060] Инкапсулированный реагент Шиффа может быть высвобожден из инкапсулирующих материалов с помощью произвольного количества средств, которые могут быть известны специалисту в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления изобретения такое высвобождение может быть индуцировано контактированием инкапсулирующего материала с порообразователем. В других вариантах осуществления изобретения высвобождение может быть индуцировано физическим изменением или химическим изменением. Например, но не ограничиваясь указанным, высвобождение может быть индуцировано изменениями температуры, pH, ионного заряда, заряда противоиона или атома противоиона. Аналогично, высвобождение может быть индуцировано контактированием инкапсулирующего материала с растворителем, включая, помимо прочего, органический растворитель, водный растворитель, алифатический растворитель, ароматический растворитель, кислородсодержащий растворитель или галогенированный растворитель, или воду.

[0061] Обычно скорость высвобождения реагента определяется специалистом в данной области техники на основе используемой мембраны или тест-полоски. В некоторых вариантах осуществления желаемая скорость высвобождения является немедленной, тогда как в других вариантах осуществления скорость высвобождения регулируется таким образом, чтобы реагент высвобождался в течение определенного периода времени. В некоторых вариантах осуществления реагент высвобождается в ходе тестирования/рабочего процесса, так что около 100% реагента высвобождается к моменту введения около 100% образца. В других вариантах осуществления реагент высвобождается в ходе тестирования/рабочего процесса, так что около 100% реагента высвобождается к тому времени, когда будет введено около 90% образца; к тому времени, когда будет введено около 80% образца; к тому времени, когда будет введено около 75% образца; к тому времени, когда будет введено около 50% образца; или к тому времени, когда будет введено около 25% образца.

Порообразующие агенты

[0062] Другие добавки могут быть использованы с преимуществом для дальнейшего контроля желаемой скорости высвобождения реагента для конкретного протокола тестирования/рабочего процесса. Например, если жидкая термопластичная полимерная композиция является чрезмерно непроницаемой для воды, можно добавить порообразующий агент для создания дополнительных пор в матрице. В качестве порообразующего агента можно использовать любой совместимый водорастворимый материал. Эти агенты могут либо являться растворимыми в жидкой композиции, либо

просто быть диспергированными в ней. Они способны растворяться, диффундировать или диспергировать как из коагулирующей полимерной матрицы, так и из сформированной полимерной системы, в результате чего в матрице и системе образуются поры и микропористые каналы. Количество порообразующего агента (и размер диспергированных частиц такого порообразующего агента, при необходимости) в композиции будет непосредственно влиять на размер и количество пор в полимерной системе.

[0063] Другие факторы также могут влиять на размер и/или диаметр пор, образованных в полимерной системе. Например, количество органического растворителя и скорость затвердевания полимерной системы могут влиять на пористость полимерной системы. Хотя в целом микропористая матрица без разделенного ядра и оболочки может быть получена в соответствии с изобретением, обычно без дополнительного порообразующего агента полимерная система, образованная из жидкой композиции, состоит из поверхностной оболочки и внутреннего ядра. Поверхностная оболочка обычно является менее пористой и даже относительно непористой по сравнению с внутренним ядром. Внутреннее ядро может содержать поры диаметром около 10-1000 мкм. При добавлении порообразующего агента размеры пор сердцевины и оболочки становятся по существу однородными, так что они обе имеют поры в диапазоне от 10 до 1000 мкм.

[0064] Концентрация порообразующего агента относительно термопластичного полимера в композиции будет варьироваться в зависимости от желаемой степени порообразования. Как правило, эта концентрация находится в диапазоне примерно от 0,01 до 1 грамм порообразующего агента на 1 грамм полимера. Если агент является растворимым в жидкой композиции, то смешивание или распределение агента в жидкой композиции и агрегация при коагуляции термопласта будут определять размер образующихся пор по мере растворения агента из полимерной матрицы.

[0065] Порообразующие агенты включают любое фармацевтически приемлемое органическое или неорганическое вещество, которое в значительной степени смешивается с водой и биологическими жидкостями и будет рассеиваться из образующейся и сформированной матрицы в водную среду или биологические жидкости, или не смешивающиеся с водой вещества, которые быстро разлагаются до водорастворимых веществ. Порообразующий агент может являться растворимым или нерастворимым в жидкой полимерной композиции по изобретению. В жидкой композиции по изобретению также является предпочтительным, чтобы порообразующий агент являлся смешиваемым или диспергируемым в органическом растворителе с образованием однородной смеси. Подходящие порообразующие агенты включают, например, сахара, такие как сахароза и декстроза, соли, такие как хлорид натрия и карбонат натрия, и полимеры, такие как гидроксипропилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, полиэтиленгликоль и поливинилпирролидон. Размер и протяженность пор можно варьировать в широких пределах, изменяя молекулярную массу и процентное содержание порообразующего агента, входящего в состав полимерной системы.

[0066] Для изменения пористости в устройства могут быть добавлены другие

наполнители, например, такие материалы, как сахароза, декстроза, хлорид натрия, сорбит, лактоза, полиэтиленгликоль, маннит, фруктоза, поливинилпирролидон или их соответствующие комбинации. Кроме того, активные агенты могут быть диспергированы с маслами (например, кунжутным маслом, кукурузным маслом, растительным маслом) или их смесью с фосфолипидом (например, лецитином) или триглицеридами жирных кислот со средней длиной цепи (например, Miglyol 812) для получения маслянистой суспензии.

Способ тестирования

[0067] В настоящем изобретении предложен способ быстрого определения экспрессии маркерного углевода у субъекта с использованием тест-полоски или мембраны с галактозооксидазой и предварительно залитым реагентом Шиффа.

[0068] В настоящем раскрытии также предложен способ быстрого тестирования человека на раковое или предраковое состояние с использованием тест-полоски или мембраны с галактозооксидазой и предварительно залитым реагентом Шиффа.

[0069] В одном из аспектов способ включает в себя этапы реагирования слизи или жидкости организма с галактозооксидазой и контактирования окисленного образца с тест-полоской или мембраной с предварительно залитым реагентом Шиффа, и активации реагента Шиффа в тест-полоске или мембране для контакта с образцом.

[00710] В некоторых вариантах осуществления способ включает в себя один или более этапов, выбранных из: нанесения воды на тест-полоску или мембрану перед нанесением слизи или жидкости организма на тест-полоску или мембрану, удаления слизи или жидкости организма путем промывания перед активацией реагента Шиффа, промывания тест-полоски или мембраны водопроводной водой после того, как реагент Шиффа вступит в контакт с образцом, сушки тест-полоски или мембраны и/или оценки цвета тест-полоски или мембраны.

[0071] В одном из аспектов период окисления маркерных углеводов в слизи или жидкости организма путем взаимодействия с галактозооксидазой конкретно не ограничивается. Например, период окисления может составлять от 3 до 30 минут, от 5 до 20 минут, от 7 до 15 минут или от 8 до 12 минут. В другом аспекте период времени, в течение которого раствор реагента Шиффа контактирует с тест-полоской или мембраной, конкретно не ограничивается. Например, период контактирования может составлять от 0,2 до 10 мин, от 0,5 до 5 мин, от 0,8 до 3 мин или от 1 до 2 мин.

Набор для тестирования

[0072] В настоящем раскрытии предложен набор для скрининга для быстрого определения экспрессии маркерного углевода у субъекта с использованием тест-полоски или мембраны с галактозооксидазой и предварительно залитым реагентом Шиффа.

[0073] В настоящем раскрытии дополнительно предложен набор для скрининга для быстрого тестирования человека на раковое или предраковое состояние, содержащий тест-полоску или мембрану с галактозооксидазой и предварительно залитым реагентом Шиффа.

[0074] В одном из аспектов предварительно залитый реагент Шиффа в тест-полоске или мембране является микроинкапсулированным.

[0075] В одном из аспектов настоящее раскрытие направлено на применение набора для тестирования для скрининга ракового или предракового состояния. Тип ракового или предракового состояния не ограничивается, при условии, что маркерные углеводы присутствуют в слизи или жидкости организма при раковом или предраковом состоянии, например, при раковом или предраковом состоянии в прямой кишке, толстой кишке, крови, лимфатических узлах, желудке, почках, желчном пузыре, предстательной железе, яичках, молочных железах, шейке матки и яичниках.

ПРИМЕРЫ

[0076] Пример 1. У субъекта берут образец соскоба слизистой оболочки. Образец соскоба смешивают с дистиллированной водой или водой после обратного осмоса и добавляют к раствору галактооксидазы в концентрации 100 ЕД/мл. Образец оставляют в контакте с галактооксидазой в течение 10 минут, после чего образец добавляют на тест-полоску с предварительно залитым реагентом Шиффа. Тест-полоску промывают дополнительным количеством дистиллированной воды, после чего реагент Шиффа активируют и оставляют в контакте с образцом в течение 1 минуты, после чего тест-полоску промывают водой и высушивают на открытом воздухе или в печи. На фиг. 2 представлена обработка тестового образца. Изменение цвета (от белого или бесцветного до пурпурного) указывает на присутствие углеводного маркера.

[0077] Другие документы, цитируемые в настоящем описании, полностью включены посредством ссылки в той степени, в которой такое раскрытие не противоречит настоящему раскрытию, и для всех юрисдикций, в которых такое включение разрешено.

[0078] Когда числовые нижние пределы и числовые верхние пределы перечислены в настоящем описании, предполагаются диапазоны от любого нижнего предела до любого верхнего предела. Несмотря на то, что иллюстративные варианты осуществления раскрытия были подробно описаны, следует понимать, что различные другие модификации будут очевидны и могут быть легко выполнены специалистами в данной области техники без отклонения от сущности и объема раскрытия. Соответственно, не предполагается, что объем прилагаемой формулы изобретения ограничивается примерами и описаниями, изложенными в настоящем описании, а скорее, что формула изобретения должна толковаться как охватывающая все признаки патентоспособной новизны, которые содержатся в настоящем раскрытии, включая все признаки, которые специалисты в области техники, к которой относится раскрытие, будут рассматривать как их эквиваленты.

[0079] Настоящее раскрытие было описано выше со ссылкой на многочисленные варианты осуществления и конкретные примеры. Специалисты в данной области техники могут предложить множество вариантов в свете вышеприведенного подробного описания. Все такие очевидные вариации находятся в полном предполагаемом объеме прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устройство для скрининга для быстрого тестирования человека на экспрессию углевода слизистой оболочки, содержащее

тест-полоску или мембрану с предварительно залитым реагентом Шиффа, и контейнер с раствором галактозооксидазы,

где реагент Шиффа может быть активирован для контакта с образцом после окисления маркерных углеводов под действием галактозооксидазы.

2. Устройство для скрининга для быстрого тестирования человека на раковое или предраковое состояние, содержащее

тест-полоску или мембрану с предварительно залитым реагентом Шиффа, и контейнер с раствором галактозооксидазы,

где реагент Шиффа может быть активирован для контакта с образцом после его окисления под действием галактозооксидазы.

3. Устройство для скрининга по п. 1 или 2, в котором реагент Шиффа является микроинкапсулированным.

4. Устройство для скрининга по п. 1 или 2, в котором тест-полоска или мембрана дополнительно содержит сухую культуральную среду, при этом сухая культуральная среда может активировать галактозооксидазу после добавления образца на тест-полоску или мембрану.

5. Устройство для скрининга по п. 1 или 2, в котором раствор реагента Шиффа активируют посредством контактирования залитого реагента Шиффа с порообразующим агентом.

6. Устройство для скрининга по п. 1 или 2, в котором раствор галактозооксидазы представляет собой стабильный при хранении раствор галактозооксидазы.

7. Способ скрининга для быстрого тестирования человека на экспрессию углевода слизистой оболочки, включающий:

смешивание слизи или биологической жидкости с раствором галактозооксидазы,

окисление маркерных углеводов в слизи или жидкости организма путем взаимодействия с галактозооксидазой с образованием окисленного образца,

нанесение окисленного образца на тест-полоску или мембрану с залитым реагентом Шиффа,

активацию реагента Шиффа в тест-полоске или мембране для контактирования с окисленным образцом.

8. Способ скрининга для быстрого тестирования человека на раковое или предраковое состояние, включающий

смешивание слизи или биологической жидкости с раствором галактозооксидазы,

окисление маркерных углеводов в слизи или жидкости организма путем взаимодействия с галактозооксидазой с образованием окисленного образца,

нанесение окисленного образца на тест-полоску или мембрану с залитым реагентом Шиффа,

активацию реагента Шиффа в тест-полоске или мембране для контактирования с окисленным образцом.

9. Способ скрининга по п. 7 или 8, дополнительно включающий нанесение воды на тест-полоску или мембрану перед нанесением слизи или жидкости организма на тест-полоску или мембрану.

10. Способ скрининга по п. 7 или 8, в котором реагент Шиффа является микроинкапсулированным.

11. Способ скрининга по п. 7 или 8, в котором тест-полоска или мембрана дополнительно содержит сухую культуральную среду, и сухая культуральная среда может активировать галактооксидазу после добавления воды на тест-полоску или мембрану.

12. Способ скрининга по п. 7 или 8, в котором маркерные углеводы в слизи или жидкости организма окисляют путем взаимодействия с галактооксидазой в течение периода от 5 до 20 минут.

13. Способ скрининга по п. 7 или 8, дополнительно включающий удаление слизи или жидкости организма путем промывания перед активацией предварительно залитого реагента Шиффа.

14. Способ скрининга по п. 7 или 8, дополнительно включающий контактирование реагента Шиффа с образцом в течение периода от 0,5 до 5 мин.

15. Способ скрининга по п. 14, дополнительно включающий промывку тест-полоски или мембраны водопроводной водой после того, как реагент Шиффа контактирует с образцом в течение периода от 0,5 до 5 минут, сушку тест-полоски или мембраны, и оценку цвета тест-полоски или мембраны.

16. Набор для скрининга для быстрого тестирования человека на экспрессию углевода слизистой оболочки, содержащий

тест-полоску или мембрану с предварительно залитым реагентом Шиффа, и контейнер с раствором галактооксидазы.

17. Набор для скрининга для быстрого тестирования человека на раковое или предраковое состояние, содержащий

тест-полоску или мембрану с предварительно залитым реагентом Шиффа, и контейнер с раствором галактооксидазы.

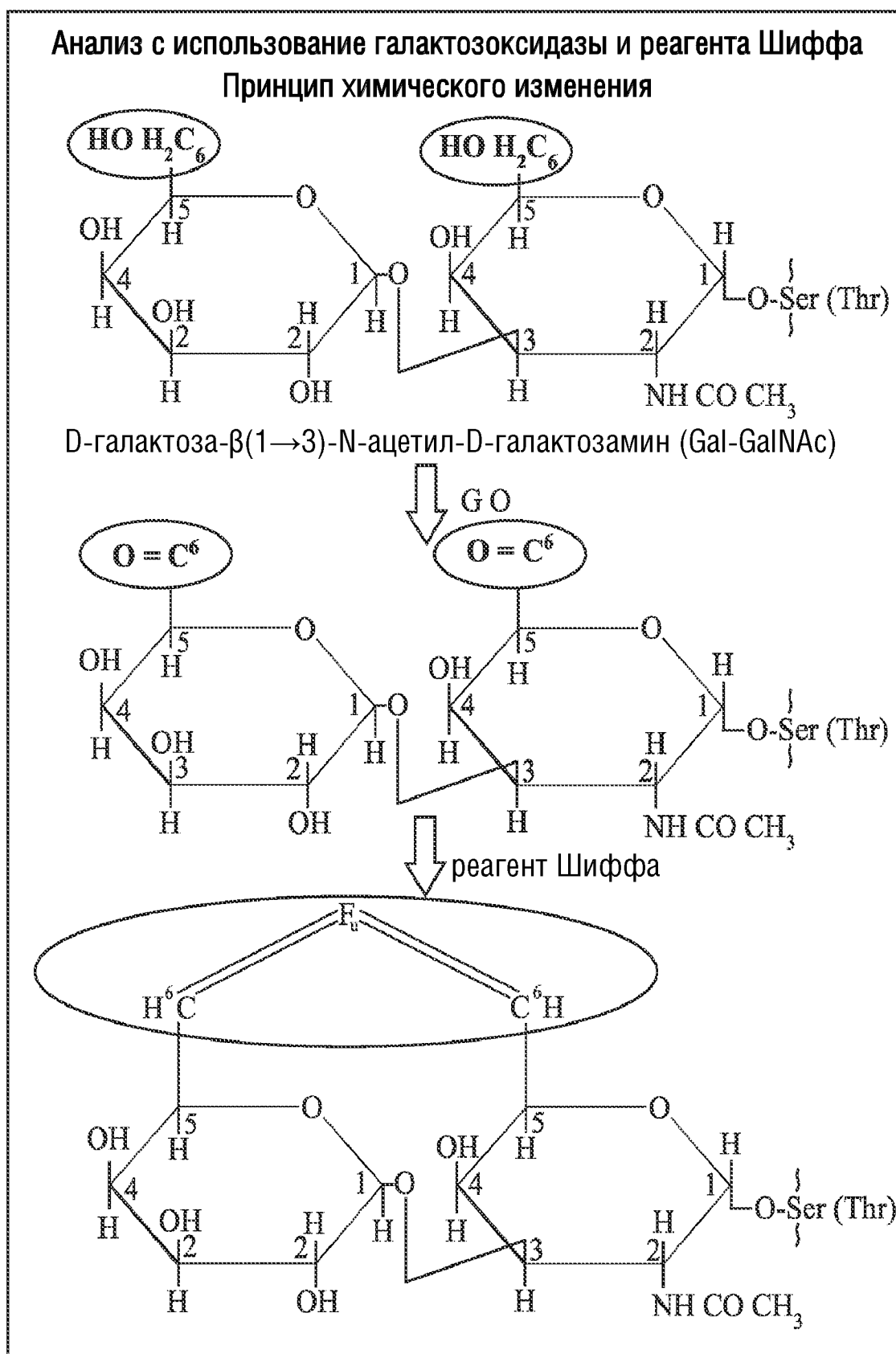
18. Набор для скрининга по п. 16 или 17, в котором реагент Шиффа является микроинкапсулированным.

19. Применение устройства для скрининга по п. 2 для скрининга ракового или предракового состояния.

20. Применение набора для скрининга по п. 17 для скрининга ракового или предракового состояния.

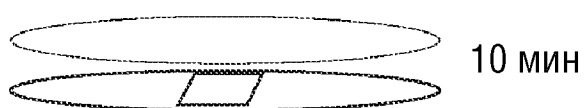
21. Применение устройства для скрининга по п. 19, где раковое или предраковое состояние представляет собой раковое или предраковое состояние прямой кишки, толстой кишки, крови, лимфатических узлов, желудка, почек, желчного пузыря, предстательной железы, яичек, молочной железы, шейки матки или яичников.

ФИГ.1



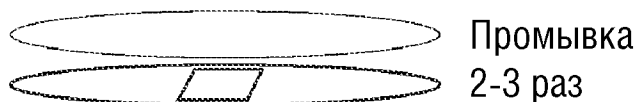
ФИГ.2

Тест-полоска с залитой
галактозооксидазой
(100 ед/мл в PBS pH 7,0)

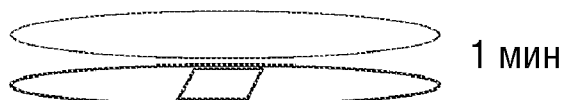


Добавление образца
и активация
галактозооксидазы

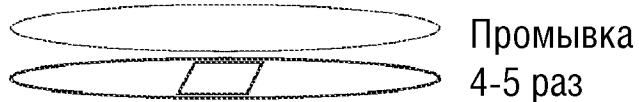
Дистиллированная вода



Реакция с реагентом
Шиффа



Водопроводная вода



Сушка
(воздушная или в печи)

