(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101198864 B
(45)授权公告日 2012.06.13

(21)申请号 200680021180.5
(22)申请日 2006.04.14
(30)优先权数据
11/106,949 2005.04.15 US
(85)PCT申请进入国家阶段日
2007.12.13
(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2006/014002 2006.04.14
(87)PCT申请的公布数据
WO2007/027210 EN 2007.03.08
(73)专利权人 波感公司
地址 美国加利福尼亚
(72)发明人 克里斯托弗·费斯特尔
(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038
代理人 杜娟
(51)Int.Cl.
G01N 33/00(2006.01)
G01N 33/553(2006.01)

(56)对比文件
US 5821073 A,1998.10.13, 说明书第7栏第11-14、37-41行和图5.
US 6713271 B1,2004.03.30, 说明书第8栏第62-64行、第13栏第36-51行、第14栏第17-20行、第20栏第10行、第21栏第26-42行和第61-65行和第22栏第26-42行.
US 20040018611 A1,2004.01.29, 说明书第115段.

审查员 马彦冬

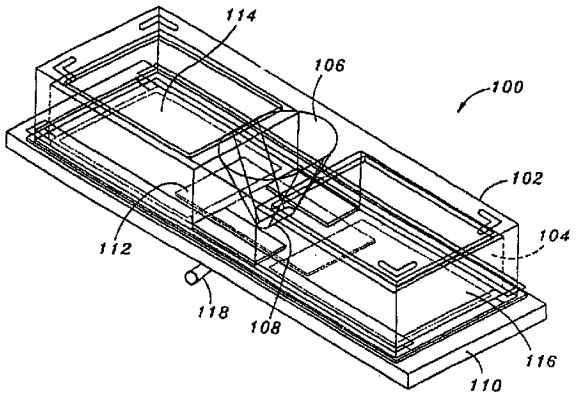
权利要求书 2 页 说明书 22 页 附图 9 页

(54)发明名称

多功能和可配置的测定系统

(57)摘要

新颖的磁测定方法和系统。按照一个优选实施例,提供了一种色谱介质,其被设计来与具有被激活的磁粒子的测试溶液接触,以便所述溶液双向流过其中。由磁铁或者电磁铁产生的磁场被选择性地施加到所述介质,所述介质使得带电的粒子基本上被约束在由磁铁的位置指定的介质上的位置,因此形成捕获线或者捕获区域。在一个优选实施例中,磁场被施加到接触测试溶液的介质上的位置。所述测定是可多重配置的,并且可以被修改以适合于特定的免疫分离过程或者应用。



CN 101198864 B

1. 一种可多重配置的测定装置，用于执行磁色谱方法，所述测定装置包括：

(a) 基座；

(b) 采样井，用于在使用中容纳其中悬浮了一定数量的磁粒子的反应混合物；和

(c) 至少一个吸收构件，其与所述采样井邻近，以吸收在所述采样井中沉积的所述反应混合物的一部分；

(d) 网格层，置于所述基座上并且限定目标区域；

(e) 外壳，其能够位于所述基座上；其中所述至少一个吸收构件能够位于所述外壳内；

其特征在于

(f) 所述采样井形成在所述外壳上，并且具有截头圆锥形状以限定逐渐尖细的开口；

(g) 所述基座和所述外壳限定内室；

(h) 所述基座限定捕获区域，所述捕获区域被与所述采样井对齐并且直接位于开口之下。

2. 按照权利要求 1 的测定装置，还包括磁源，其与所述捕获区域和所述采样井对齐，并且用于在使用中向其施加磁场以将所述反应混合物中存在的所述磁粒子吸引并保留在所述捕获区域，同时允许剩余的混合物横向流动通过所述目标区域，所述至少一个吸收构件吸收在所述采样井中沉积的不包含所述磁粒子的所述反应混合物的一部分。

3. 按照权利要求 1 的测定装置，其中，所述外壳包括块状的结构，用于限定上平台表面，所述采样井被形成在所述上平台表面的中间部分，所述外壳还在所述采样井的相对侧上限定第一和第二空隙；所述系统还包括第一和第二吸收垫，所述第一和第二吸收垫被容纳到所述采样井的相对侧的所述空腔中的专用空腔中。

4. 按照权利要求 3 的测定装置，其中，由选自由塑料和金属构成的组的硬的黑色材料制造所述外壳。

5. 按照权利要求 4 的测定装置，其中，所述基座包括显微镜载玻片。

6. 按照权利要求 1 的测定装置，其中所述捕获区域包括在所述基座和所述网格层上形成的第二网格层，所述第二网格层限定所述捕获区域，所述捕获区域用于容纳通过所述采样井而沉积的所述反应混合物。

7. 按照权利要求 1 的测定装置，其中，所述捕获区域包括在所述基座和所述网格层上形成并且与在所述采样井上形成的所述开口对齐的凝胶层，所述凝胶层用于容纳和接触通过所述采样井而沉积的所述反应混合物。

8. 按照权利要求 7 的测定装置，其中，所述凝胶包括至少一个受体，用于与所述反应混合物的所述磁粒子中的至少一个结合。

9. 按照权利要求 7 的测定装置，其中，所述凝胶包括至少一种消化酶，用于与在所述反应混合物中存在的蛋白质反应。

10. 按照权利要求 6 的测定装置，其中，所述测定装置还包括在可与所述采样井对齐的所述网格上形成的凝胶层，以便所述反应混合物与所述凝胶接触，并且通过所述采样井被沉积。

11. 按照权利要求 6 的测定装置，其中，所述外壳可从所述吸收垫、网格和所述基座拆卸。

12. 按照权利要求 6 的测定装置，其中，所述外壳和所述吸收垫可从所述网格和所述基

座卸下。

13. 按照权利要求 12 的测定装置，其中，所述网格可从所述基座卸下。

多功能和可配置的测定系统

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请是2002年2月5日提交的、名称为“用于执行磁色谱测定的系统和方法”的、待决的美国申请第10/068,040号的部分继续申请，所述美国申请第10/068,040号是2000年9月25日提交的美国专利申请第09/668,966号的分案专利申请，所述美国专利申请第09/668,966现在于2004年3月30日被授权为美国专利申请第6,713,271号，所述美国专利申请第09/668,966是1999年10月15日提交的美国专利申请第09/418,864号的部分继续申请，所述美国专利申请第09/418,864号现在于2000年10月24日被授权为美国专利第6,136,549号。

背景技术

[0003] 配体-受体测定(Iigand-receptor assay)或者免疫测定(immunoassay)是本领域公知的。自从它们在1971年的引入，这样的测定已经用于多种应用中来检测被怀疑在给定的流体样本中存在的微量激素、药物、抗体和其他物质。在这方面，配备了酶、抗体、基因探针和其他试剂的研究者已经使得有可能在多种应用中对于所关心的几乎任何化合物建立化学检测方案。这些应用中包括：药物和食品的商业化生产；食品安全；在医疗、兽医和农业环境中的疾病的诊断和治疗；以及环境中的毒素的检测和根除。对于所有这样的应用的共同要求是以及时、可靠和经济的方式来进行化学检测。

[0004] 一般，以适合于在配备了通用仪器的实验室中使用的形式来开发和商业化生物测定(bioassay)方案。这些形式的示例包括在试管、透明小容器、微量滴定板、分离柱和电泳凝胶中执行的免疫测定和DNA杂交。这些形式通常包括复杂的操作过程，并且要求使用几种校准物（包含不同浓度的所关心的分析物）来进行频繁的校准。因此，与这些形式相关联的操作的高成本和复杂度限制了其广泛使用。

[0005] 为了解决这样的缺陷，免疫测定系统的开发者和终端用户越来越多地将使用试管、透明小容器、微量滴定板、分离柱和电泳凝胶的传统生物测定系统形式替换为被称为试验片(test strip)的薄膜色谱装置。如在本领域中公知的，用于化合物的免疫化学检测的大多数试验片是所谓的横向流动试验片，其中，样本和试剂在试验片的平面内流动。有益的是，以试验片形式构成的测定系统(assay)可以产生快速的结果，操作更简单，并且比传统的形式更经济。另外，这样的试验片测定系统可以被不熟练的实验人员使用，并且可以现场（即在实验室设施之外）产生结果。

[0006] 一般，这样的测定系统依赖于受体对分析物的结合(binding)以确定在给定的样本中这种分析物的浓度，并且通常被表征为竞争性的和非竞争性的。非竞争性测定系统一般使用大大超过要在该测定系统中确定的分析物的浓度的受体。典型的这种非竞争性免疫测定系统包括夹层测定系统，其通过将两个受体与一个分析物结合来检测所述分析物的存在。在这样的布置中，使第一受体（其通常是抗体）结合到固相上，以便当分析物存在时，该分析物被固定于其上。具有与其共价结合的标记（其可以包括放射性的、荧光的、酶促的、染料或者其他可检测的部分（统称为示踪物））的第二受体被引入到测定系统中，其在

结合配体存在的情况下与该配体结合，然后产生与这样的配体的存在相符的信号。如果所述样本不包含所关心的分子，则被标记的受体被传送通过固定的受体，而不发生反应，结果不引起薄膜的改变。这样的非竞争性免疫测定系统主要可用于检测具有多个结合部位的大分子，诸如蛋白质、大的荷尔蒙或者分子（诸如人绒毛膜促性腺激素 (HCG)），并且通常不用于仅仅具有一个结合部位的小分子。

[0007] 相反，竞争性测定系统一般涉及在给定的样本中存在的配体和具有与其共价连接的示踪物 / 标记的配体类似物之间的竞争，以允许检测由配体受体（其通常包括被结合到固相上的抗体）提供的有限数量的结合部位。这样的测定系统特别适合于检测较小的分子，诸如药物和药物代谢物。在这种情况下，使用与蛋白质共价结合的药物类似物，所述蛋白质然后被固定在薄膜上。对药物具有特异性的抗体然后被标记，并且被固定在多孔的垫上。当添加被怀疑包含给定的分析物的样本时，这样的样本溶解被标记的抗体，并且将其与固定的药物 - 蛋白质区域接触。如果在样本中几乎没有药物，则大量的被标记的抗体被结合到所述固定的药物 - 蛋白质区域上，所述区域因此产生可检测的信号。如果所述样本包含大量的药物，则几乎没有被标记的抗体被结合到所述固定的药物 - 蛋白质区域上，因此继而产生很少的信号或者不产生信号。

[0008] 当今，快速免疫测定系统一般由涂覆了粘合剂的塑料衬底 (backing) 构成，其上附着了几个多孔垫 (pad) 和一片蛋白质结合薄膜。所述薄膜通常包含被注入结合伙伴 (binding partner)（即受体或者配体类似物）的部分。通常提供第二个垫，其包含被标记的目标分子或者被标记的抗体蛋白质结合薄膜。当被怀疑包含目标配体的样本与所述免疫测定系统接触时，这样的样本溶解被标记的元素或者示踪物，并且蛋白质结合薄膜的毛细作用随后使其中溶解了示踪物的样本与被注入的结合伙伴接触。当发生这样的反应时，结合薄膜的外观发生改变，该差别提供了怀疑在这样的样本中存在的配体的存在或者不存在的定量指示。

[0009] 这种形式的试验片的典型示例是在测试薄膜上可视地显示两条平行线（称为捕获线）的那些试验片。捕获线由固定的捕获试剂或者受体（它们在测试薄膜的制造期间被预先施加到测试薄膜上）构成。在这方面，实际上所有的现有技术测定系统（不论是竞争性还是非竞争性）通常都配置固定在薄膜上的受体，如上所述。一种典型的横向流动试验片的构造的示意性表示如下：

[0010] 试剂垫 // 测试薄膜 / 捕获线 / 测试薄膜 / 捕获线 / 测试薄膜 // 吸收垫。

[0011] 其中：

[0012] 符号 / 指定在单个色谱介质中的相界；并且

[0013] 符号 // 指定两个独立的介质（色谱或者其他介质）的合并。

[0014] 所述两条捕获线之一用作试验片性能还没有被损害的指示。在这方面，这样的捕获线通过提供测定系统的质量保证和完整性来完成重要的功能，在各个试验片的性能可能有很大不同的情况下其一般被认为是必需的。这样的捕获线中的第二条仅仅当样本包含超过最小浓度（阈浓度）一定量的分析物时才变得可见。这样的现有技术系统和方法的示例包括在下列文件中公开的免疫测定系统和试验片：1997 年 8 月 19 日授予 Oberhardt 的美国专利第 5,658,723 号，其名称为“使用强制对流的免疫测定系统”；以及 1998 年 1 月 27 日授予 Kouvonen 等的美国专利第 5,712,170 号，其名称为“试验片、其生产和使用”，其中每篇

文献的教导通过引用被明确地包含在此。

[0015] 遗憾的是，典型的试验片形式的测定系统虽然经济和使用简单，但是它们没有传统形式准确和对于分析物敏感。由于这样的缺陷，试验片形式的测定系统的应用被限于半定量或者定性测定。导致试验片形式的测定系统不精确和不准确的更重要的因素包括捕获线的制造和使用。如所广泛认识的那样，一致均匀的捕获线的制造要求精细的材料控制和具有必须在窄容差内操作的严格规范的制造过程。而且，为了正确地工作，大多数试验片形式要求必须在试验片上的精确位置以精确的几何形状均匀地捕获要检测的分析物，并且诸如下述的因素在很大程度上导致了测定系统不准确和错误读数：在试验片制造时存在的环境湿度、在这样的制造过程中使用的薄膜的类型和捕获试剂－受体本身。可以在下文中找到关于与在免疫色谱测定中的蛋白质捕获试剂的结合相关联的缺陷的详细讨论：Jones, Kevin D.,“Troubleshooting Protein Binding in NitrocelluloseMembranes”, Part I, IVD Technology, Volume V, No. II, 1999 年 3 月 -4 月，第 32-41 页以及 Part II, IVD Technology, Volume V, No. III, 1999 年 5 月 -6 月，第 26-35 页，其教导通过引用而被明确地包含在此。

[0016] 其他较大的缺点是下述事实：实际上所有的试验片形式的测定系统被形成为具有顺序的、总体上线性的结构，以便有利于必要的横向流动从中通过。由于这样的流体样本必须从其开始点通过试剂垫、测试薄膜并且最后通过捕获线以检测怀疑分析物的存在的事实，因此目标分析物的相当大的一部分经常被分散或者被禁止达到形成捕获线的结合受体。这样，要被检测的目标分析物的相当大的一部分可能并且经常被一起丢失，这会不利地影响由这种测定系统产生的定量和定性结果。

[0017] 非有意地未能检测到目标分析物的存在的这种可能性，不论其是由于丢失了要检测的目标分析物还者是仅仅由于忽视了其存在，当试图检测在给定的流体样本中的癌细胞的存在时都特别有问题。例如，在单个 10ml 血液试管中，大约有 500 亿个细胞，并且在这个细胞群体中的一个癌细胞的存在可以指示存在癌肿的微转移。使用传统的筛选技术，这种血液样本通常被处理以分离在这种样本中存在的白血球，这有益地将这种流体样本例如从 10ml 减少到 1.0 到 0.5ml 之间，结果将细胞群体从大约 500 亿减少到大约 1.2 亿。但是，这样的过程通常导致丢失癌细胞，并且因此可能无意地去除要检测的癌细胞。

[0018] 为了筛选癌细胞，这样的结果产生的样本然后被分成份，并且经由诸如 cytospin 的公知过程以每个载玻片大约 1 百万细胞的比率被应用到许多显微镜载玻片。如所公知的那样，所准备的每个载玻片代表癌细胞的另一种无意的丢失。然后必须使用显微镜小心地扫描每个相应的载玻片。在这方面，每个载玻片通常被划分为四百个由 1 平方毫米区域构成的放大的区域，并且每个区域被查看。通常，这样的扫描过程需要每个载玻片平均半小时。结果，彻底地检查在一个 10ml 血液样本结果中存在的 1.2 亿白血球这样浓缩的群体需要检查 120 个载玻片，产生必须在 6 小时的时间内被检查的 48000 个图像。因此，即使现有技术中的测定技术在标记要检测的目标细胞上有效，这种被标记细胞被最后分离和检测的过程也固有地不可靠、冗长和耗时。

[0019] 因此期望设计一种替代的横向流动装置，其可以在精确的位置捕获分析物，并且优选地在开始点或者在沉积流体样本的接触点捕获分析物。同样期望设计一种替代的测定系统，其可以以精确的几何尺寸在这种开始点或者接触点捕获分析物，而不使用预先施加

的捕获线。也需要一种测定系统，其在再现性（reproducibility）方面比现有技术的测定系统和方法具有更大的灵敏性，并且同样便宜，劳动密集性低，较为容易制造，并且能够用于多种应用。还需要一种测定系统，其可以将所准备的细胞样品直接捕获到显微镜载玻片上，并且大大地减少需要从其产生的图像的时间和数量，特别是对于癌细胞的隔离和检测。

[0020] 除了上述，在本领域中需要一种替代的测定系统，其可以以多种构造构成以显著增强所述测定系统执行特定应用的能力。在这方面，对于用于作为分离平台（其不仅用于隔离蛋白质和基因，而且执行活细胞的隔离、分选（sorting）、询问（interrogation）和随后的繁殖扩展的功能）的测定系统特别有益。这样的可多重配置的测定系统进一步有益地用于处理少量的化合物，并且节约样本数量，以因此节约稀有材料的消耗，并且进一步用于消除（当适用时）传统的辅助分离部件，诸如微量滴定板、分离柱等（其可以进一步容易地与许多现有的图像分析系统集成）。而且，需要这样的一种系统，其具有较低的成本，容易制造，并且被用作多部件构造，由此使得能够容易地构造或者形成所述测定系统，以最佳地执行特定类型的分离过程。

发明内容

[0021] 本发明处理和减轻本领域中的上述缺陷。在这方面，本发明涉及几种新颖的生物测定方法、色谱装置和可选的多模式光度计／分析器，它们可以在保留像试验片形式那样的操作简单性、快速分析和经济性的同时象传统的实验室形式那样准确和精确地进行生物测定。本发明的所述色谱装置和新颖的生物测定方法还使得与包含预先施加的捕获线的试验片的制造相关联的问题最小化，并且进一步可以使得能够以有效地节约和隔离在流体样本中存在的分析物的方式来在这样的流体样本中检测分析物。而且，本发明的多模式光度计、新颖的试验片装置和独特的化学分析方法代表一种通用的、经济的、简单的和精确的系统，其可以量化样本中存在的化学物质的数量，迄今为止经由现有技术的生物测定试验片还不能获得。

[0022] 按照本发明的第一方面，提供了一种新颖的磁色谱方法，其包括步骤：将在反应混合物中悬浮的、被激活的磁粒子与色谱介质（例如试验片或者色谱板）相接触，其后，向其施加磁场。当所述被激活的磁粒子在所述介质的平面内横向流动时，它们遇到所施加的磁场。所施加的磁场吸引所述磁粒子形成磁垒（magnetic barrier），所述磁垒在允许所述反应混合物继续从中横向流动的同时选择性地保留磁粒子。在执行细胞捕获测定中特别有益的一个实施例中，具有磁粒子的所述反应混合物接触色谱介质的中间部分（其具有在接触点施加的磁场）。因此使得所述反应混合物双向流动通过所述介质，并且在开始点或者样本引入点捕获与所关心的分析物结合的磁粒子，因此节约了在所述反应混合物中的分析物的数量，否则其将通过反应混合物流动而丢失。

[0023] 这样，消除了由在现有技术的免疫测定系统中使用的结合受体形成的传统捕获线以及在测定期间可能发生的分析物丢失。在这方面，捕获线实际上在测定期间被组配，并且优选地是在开始时被组配。有益的是，本发明的磁色谱测定方法允许制造不具有预先施加的捕获线的试验片等，但是，本发明的方法也预料到同时具有预先施加的捕获线和使用磁色谱在生物测定期间形成的捕获线的试验片以便满足特定应用的需要。

[0024] 本发明的新颖方法可以进一步配置被施加到色谱试验片组件的一个或多个外加

的磁场源，以进行多分光光度法分析。例如，常见的条形磁铁或者磁条可以在一个或多个位置使用粘合剂被附着到试验片衬底。或者，所述磁源可以位于所述试验片组件外部，由此，在磁粒子横向流过其中的同时，磁源选择性地靠近试验片。在本发明的优选实施例中，所施加的磁场的源可以包括永久磁铁或者电磁铁。

[0025] 本发明还包括新颖的磁色谱试验片，用于执行生物测定，所述新颖的磁色谱试验片通过在反应混合物与试验片接触的点形成捕获线或者区域而节约要在反应混合物中检测的分析物的量。按照一个优选实施例，所述试验片包括细长的衬底，其具有第一和第二端和布置在其间的中间部分。在所述中间部分上是用于便利垂直流动的第一垂直网格和用于便利横向流动的第二横向网格，后者被布置在第一网格之下。在所述横向流动网格的相对侧上是吸收垫，其在使用中使得最终通过第一和第二网格的反应混合物双向流动。优选的是，这样的试验片还包括至少一个磁铁，其位于所述垂直流动网格和所述第二横向流动网格之下。

[0026] 在使用中，使得反应混合物依序从垂直流动网格向横向流动网格流动，并且最后流动到位于所述横向流动网格的相对侧上的第一和第二吸收垫。优选的是，这样的反应混合物通过采样井而沉积在试验片之下。由所述磁铁提供的施加的磁场吸引结合了所关心的分析物的磁粒子，这使得其选择性地被保留在沉积位置，而剩余的反应混合物继续从其中流过，并且最后流动到相应的吸收垫。这样的试验片特别适合于检测和隔离细胞，诸如癌细胞、细菌等，否则它们难于通过现有技术的方法识别和隔离。

[0027] 为了进一步实现本发明的目的以及使得所述新颖的磁色谱方法能够用于多种应用，包括基因组学、微基因组学、蛋白组学和用于目标识别的细胞隔离（例如细胞器分选、蛋白质分级分离或者目标验证，例如蛋白质隔离、免疫测定、分子分析），还提供了一种可多重配置测定系统（multi-configurable assay system）。按照一个优选实施例，这样的可多重配置测定系统包括外壳，其限定内部，并且在其上形成一个采样井，其中沉积了包含磁粒子的反应混合物以及任何适用的试剂。作为选用，吸收垫被布置在所述外壳内的采样井的相对侧上，以增强在采样井中沉积的反应混合物的双向流动。提供了基座，其可以被形成为永久地或者可拆卸地被紧固到所述外壳之下，用于接收所述反应混合物。所述基座限定一个目标区域，其与采样井对齐，使得基本上所有的反应混合物被集中在单个位置上。提供了磁源（其可以与基座分离或者附接到所述基座上），其与目标区域和采样井对齐，并且用于向其施加磁场以因此吸引反应混合物中存在的磁粒子，并且将其保留在目标区域，同时允许剩余的反应混合物横向流动通过目标区域。结果，结合了目标分析物（例如细胞、蛋白质、基因）的、在反应混合物中存在的磁粒子因此被捕获和保留在引入点，这因此有利地最小化了目标分析物的可能迁移。

[0028] 在这种测定系统的改进中，所述基座构件包括传统的载玻片，一旦在其上捕获了所关心的分析物，则可以按照传统的载玻片制备来查看、处理和存储。或者，所述基座可以具有网格，其具有或者不具有在其目标区域上沉积的凝胶制品，所述网格用于多种应用，诸如启动细胞培养物的生长，或者作为用于悬浮将选择性地结合到所关心的目标分析物上的受体。另外，可以为这样的凝胶制品提供其他类型的试剂和酶，例如消化酶，以选择性地切割蛋白质，或者用于促进期望的生化反应。按照上述的实施例，所述基座可以还包括一个或多个网格层，用于便利反应混合物的流动的导向，以及增强在目标区域捕获所关心的分析

物的能力。

[0029] 由于其可多重配置的能力，本发明的测定系统可用于多种隔离、分选和询问应用的任何一种中。这样的应用的示例包括单载玻片台、台式使用、小分批测试、自动化分批处理和连续的高通过量筛选。这样的可多重配置测定系统由于其多功能性而在捕获和隔离在功能和结构上完整的目标分析物（诸如细胞、蛋白质和基因）中特别有效，即使所述目标分析物是薄膜结合的、易碎的或者特别小或者特别大尺寸的。同样，所述可多重配置测定系统可以用于细胞工程和询问、细胞工程和扩展或者繁殖、细胞抗性 (resistance) 和询问以及细胞分选和序列询问 (serial interrogation) 应用。有益的是，在所有这样的配置中，本发明的测定系统保持为闭合系统，这因此消除了传统方法的许多处理步骤，并且允许在具有将材料暴露于工人和 / 或者污染被处理的样本的最小风险的情况下，允许快速和容易地处理样本。

[0030] 作为本发明的一部分，还提供了一种新颖的分析器，其由多模式光度计构成，所述多模式光度计可以测量在本发明的试验片上单个焦点的表面荧光、发光和反射。按照一个优选实施例，所述多模式光度计由基座和光学顶篷 (canopy) 构成，它们一起限定一个光学通道，至少一个试验片可以被布置在其中。所述室可以包括磁源或者被设计为被置于磁源附近，以便可以使得具有横向流过其中的激活磁粒子的试验片基本上被约束在试验片上的一个或多个特定位置。当如此布置时，光源或者辐射源可以被聚焦在光通道内的试验片上，以便光或者辐射可以与磁源对齐，并且从对其进行分析物的存在的分析的试验片反射或者发出。可以使用不同波长的光和辐射来按照传统的分光光度法分析来确定适当分析物的存在。滤光器和光检测器可在必要时进一步被部署用于特定的分光光度法的应用。

[0031] 因此本发明的一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其采用比现有技术的测定试验片具有更大的灵敏度和再现性的试验片形式。

[0032] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其采用试验片形式，但是不需要通过将受体结合到测试薄膜上而形成捕获线。

[0033] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以以试验片形式被排列，并且用于提供定量分析。

[0034] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以在反应构件与这样的试验片接触的接触点形成捕获线。

[0035] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以通过在这种测定系统的性能的启动时识别和隔离在反应混合物中存在的分析物来节约所述分析物的量。

[0036] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以被适配来提供多个分析物的定量和定性分析。

[0037] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其容易使用，具有简单的构造，并且制造便宜。

[0038] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以用于提供分光光度法分析，其包括但是不限于表面反射、表面荧光和表面发光。

[0039] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以被配置来隔离目标细胞，并且促进检测目标细胞的能力。

[0040] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以被适配来将细胞直接地捕获到载玻片上，并且有助于其显微镜检查。

[0041] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以被配置来执行独立的样本分析、批量样本分析和线性阵列分析。

[0042] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统，其是可多重配置的，并且能够被用于多种应用。

[0043] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统，其可以允许有效地处理小或大数量的样品，并且容易地适用于单载玻片台式应用到连续的高通过量筛选环境。

[0044] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统，其用于迅速地隔离和分选具有特异性抗原表达的细胞亚群，并且可以进一步可选地用于促进细胞扩展 / 繁殖。

[0045] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统，其容易被配置来执行与细胞隔离、细胞培养物的建立、细胞工程、细胞抗性与细胞分选和序列询问相关的测定。

[0046] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统，其可以相当大地减少或消除对于微量滴定板、分离柱的依赖性和执行细胞传送过程的需要，同时获得更大的细胞捕获，并且最小化细胞损失。

[0047] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统，其消除了传统测定方法的许多处理步骤，并且进一步允许以细菌暴露于工人和 / 或污染被处理的样本的最小风险来迅速和容易地处理样品。

[0048] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统，其提供用于执行测定后估计和操纵（包括但是不限于细胞测试、细胞溶解和 / 或蛋白质 / 细胞器隔离和分离）的结构。

[0049] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其中，这样的测定系统可以被配置为可重新使用或者可一次性使用。

[0050] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其适应于以单位剂量预先封装的传统试剂。

[0051] 本发明的另一个目的是提供一种新颖的磁色谱测定系统和方法，其可以用于分析物的定量、半定量和定性的免疫测定与 DNA 杂交测定。

[0052] 本发明的另一个目的是提供一种光学分析器，其由多模式光度计构成，用于执行分光光度法分析，其包括但是不限于表面反射、表面荧光和表面发光。

[0053] 本发明的另一个目的是提供一种分析器，其由多模式光度计构成，其具有简单的结构，容易使用，并且可以被配置来执行独立的样本分析、批量样本分析和线性阵列分析。

[0054] 本发明的另一个目的是提供一种分析器，其由多模式光度计构成，其当与本发明的磁色谱测定系统相结合地使用时，可以用于确定在试验片测定系统上的固定位置处的给定分析物的数量，而与这样的测定系统的方位和与其一起使用的反应混合物的横向流动无关。

附图说明

[0055] 通过参见附图，本发明的这些以及其他特征将变得更清楚，其中：

[0056] 图 1a 是用于使用本发明的方法的测定试验片的透视图，所述试验片是按照第一

优选实施例而构造的。

[0057] 图 1b 是包括在图 1a 中描述的测定试验片的部件的分解视图。

[0058] 图 1c 是在图 1a 中描述的测定系统的侧视图。

[0059] 图 2a 是按照本发明的第二优选实施例而构造的测定试验片的分解透视图。

[0060] 图 2b 是在图 2a 中描述的测定试验片的侧视图。

[0061] 图 3a 是按照一个优选实施例而构造的多模式光度计的剖视图，其用于本发明的方法。

[0062] 图 3b 是在图 3 中描述的多模式光度计的剖视图和方框图。

[0063] 图 4a 是在图 3 中描述的多模式光度计的透视图。

[0064] 图 4b 是在图 3 中描述的多模式光度计的俯视图。

[0065] 图 4c 是包括在图 3 中描述的多模式的光度计的部件的分解剖视图。

[0066] 图 5a 是用于从多个样本检测一个或多个分析物的存在和数量的、在公共衬底上以平行的行排列的多个试验片的顶视图。

[0067] 图 5b 是使用与多个测试薄膜流体接触的单个公共吸收垫的多个试验片的顶视图，所述测试薄膜以基本上线性的形式排列。

[0068] 图 6a 是按照本发明的第三优选实施例而构造的测定试验片的顶视图。

[0069] 图 6b 是在图 6a 中描述的试验片的侧视图。

[0070] 图 7a 是按照本发明的第四优选实施例而构造的测定试验片的顶视图。

[0071] 图 7b 是在图 7a 中描述的测定试验片的侧视图。

[0072] 图 8 是按照本发明的优选实施例的可多重配置测定系统的抬高的透视透明图。

[0073] 图 9 是按照在图 8 中描述的测定系统的原理而构造的测定系统的分解视图。

[0074] 图 10 是在图 9 中描述的测定系统的网格上沉积的凝胶层的放大视图，其用于帮助向其提供的目标分析物的捕获、隔离和进一步的生化处理。

具体实施方式

[0075] 下面的详细说明和附图被提供用于仅仅描述本发明的特定的当前优选实施例，并且不意欲以任何方式限制本发明的范围。在这方面，在此公开了一种新颖的测定系统和方法，与现有技术的测定系统（特别是测定试验片）不同，其可以以很高的精度和再现性定量和定性地检测在给定的流体样本中的分析物、对照物、校准物或者其组合的存在。而且，本发明的所述新颖的测定系统和方法提供了与传统的测定试验片相关联的所有优点（不必在实验室设施中进行远程分析），并且进一步不要求通过训练有素的专业人员处理。还提供了一种新颖的分析器，其包括多模式光度计，用于与本发明的测定系统和方法相结合地进行分光光度法的分析。

[0076] 现在参见附图，先参见图 1a-1c，示出了用于磁色谱的试验片的一个优选实施例。所述试验片包括测试薄膜 1，在其一端具有试剂区域 2，并且在其另一端具有吸收垫 3。这些部件被附着到由塑料、玻璃或者其他适当的硬材料构成的衬底 4。类似于现有技术的试验片，所述试验片可以简单地通过层压来制造。

[0077] 在图 2A 和 2B 中示出了用于本发明的实践中的试验片的另一个实施例。在本发明的这个实施例中，在一端提供了一个试剂垫 5，在相应的另一端提供了吸收垫 3。在这方面，

试剂垫 5 被示为部分地重叠测试薄膜 1，因此产生通过其的更大的饱和度，这可能是给定的应用所期望的。

[0078] 在图 1a-1c 和图 2a-2b 中描述的试验片实施例的任何一个中，本领域技术人员容易明白和理解所述实施例被设计来产生从试剂垫 5 向另一端的吸收垫 3 延伸的横向流动或者迁移路径。按照传统的测定试验片，反应混合物通过测试薄膜 1 的横向流动提供了用于在给定的表面区域（即测试薄膜 1）上进行化学分析的基础。

[0079] 但是，与现有技术的测定试验片不同，本发明的测定系统和方法不使用由沿着测试薄膜 1 的一部分形成的结合受体形成的捕获壁垒，而是使用一种新颖的磁手段来产生这样的捕获线。在这方面，由于经由本发明产生捕获线的新颖方法和系统，可以认识到虽然在图 1 和 2 中所示的试验片构造可以容易地用于本发明的实践中，但是其唯一必要元件包括色谱介质，诸如试验片或者色谱板，测试样本可以在其上横向流过。因此，可以明白，不一定需要按照传统试验片等形成迁移的路径来实践本发明。

[0080] 测试薄膜

[0081] 可以从具有适当厚度、小孔尺寸、横向流动速率和颜色的任何可获得材料来选择测试薄膜 1。优选的是，从具有与分析物和测试试剂的低亲和性的材料来产生测试薄膜。这是为了最小化或者避免测试薄膜的预处理，以避免分析物和 / 或试剂的非特异性结合。聚酯是适当的测试薄膜材料的例子。

[0082] 试剂垫

[0083] （可选的）试剂垫 5 可以包含用于完成测定所需要的全部或者一部分的试剂。试剂可以包括捕获配体和报告 (reporter) 配体，它们特异性结合在给定的样本中要检测的分析物的不同区域。捕获配体可以被共价地结合或者吸收到磁粒子的表面。也可以使用结合伙伴（诸如抗 IgG 抗体、抗生蛋白链菌素 / 生物素和其他）来间接地结合捕获配体。所述报告配体被共价地结合到产生荧光或者冷光的染料、粒子、放射性同位素或者酶。试剂垫 5 也可以包含稳定剂、缓冲剂、表面活性剂和改善测定系统的性能的其他试剂。试剂垫 5 接收样本和用于执行测定的所有的随后的液体试剂。也可以从具有适当厚度、小孔尺寸和流率的任何可用材料来选择试剂垫 5。优选的是，从与分析物和测试试剂具有低亲和性的材料来制造试剂垫。同样，这是为了最小化或者避免试剂垫 5 的预处理，以避免分析物和 / 或试剂的非特异性结合。聚酯和多孔聚乙烯是适当的试剂垫 5 材料的示例。试剂垫 5 应当具有足够的尺寸和空隙容积以接受整个样本体积。

[0084] 在本发明的一些实施例中，试剂垫 5 可以不是物理上分离的部件。而是，所述试剂可以被存储于在测试薄膜 1 本身上形成的试剂区域 2 中。在本发明的其他实施例中，试剂垫 5 不包含试剂，而是被用作液体试剂接收垫。本领域技术人员可以明白，通过在作为试剂垫的替代品的测试薄膜上形成这样的试剂区域，在可以消除试剂垫组件的情况下，大大地减少了制造的成本和复杂性。在这方面，如下更详细所述，结合磁形成捕获线的能力，测试薄膜的非结合特性消除了设计试验片的需要，由此流体样本必然依序单向流动，以便具有试剂的给定流体样本彻底地和精确地与由许多结合抗体限定的传统捕获区域接触。

[0085] 吸收垫

[0086] （可选的）吸收垫 3 应当具有足够包含在测试过程期间使用的所有液体体积的吸收容量。棉花纤维和吸水纸是适当的吸收垫 3 材料的示例。但是，如上所述，在本发明的实

践中使用的色谱介质可以仅仅由测试薄膜或者色谱板构成而不必然要求使用吸收垫来产生给定的测试示例的流动导向或者迁移路径（在现有技术的测定试验片中通常要求如此）的情况下，所述吸收垫是可选的。

[0087] 衬底

[0088] 磁色谱试验片衬底 4 可以由塑料、玻璃或者其他适当的硬材料构成。衬底长度可以超过支持测试薄膜和垫所需要的长度，这可能被期望用于几个功能。例如，这样延伸的衬底长度可以提供一个手柄，或者它可以显示诸如条形码、荧光标记和彩色标记之类的信息，这可以有助于校准独立的试验片和多模式光度计，如下更详细所述。

[0089] 为了在单个分析中分析多个样本，在此还公开了用于执行这样的功能的特定的新颖测定试验片。现在参见图 5a，示出了在公共衬底 4 上按平行的行排列的多个试验片的顶视图。衬底 4 具有顶侧和底侧，并且可以具有片或者卷的形状，并且优选地从适当颜色、厚度和硬度的不透明塑料片制造。每个相应的测试薄膜 1 充分地相间隔以避免邻接的测试薄膜之间的流体接触。吸收垫 3 优选地被定位为在测试薄膜 1 的一端流体接触。图 5b 示出了使用与给定行中的所有测试薄膜具有流体接触的单个公共吸收垫 3 制造的试验片的顶视图。测试薄膜 1 和吸收垫 3 的布置使得多个平行行的试验片有益地被制造在一片衬底 4 上或者连续的网状的衬底 4 上。每行试验片具有足够的间隔，以便不同行的独立的试验片不彼此液体接触。

[0090] 为了识别特定分析物、对照物、校准物或者其组合的存在，本发明的新颖方法在本发明的试验片的测试薄膜部分上的特定位置部署了磁场。这样的磁场（其可以被任何类型的磁源产生，诸如永久磁铁或者电磁铁）被选择性地定位使得当被施加到测试薄膜的一部分时，在给定样本中存在的横向流过测试薄膜的磁粒子将被基本上约束在被施加所述磁场的特定位置。在这方面，所施加的磁场吸引磁粒子，形成磁垒，所述磁垒选择性地保留磁粒子，所述磁粒子上结合了所关心的分析物，并且适当的标记被附加到所述分析物，同时使得剩余的反应混合物继续横向流过这样的磁垒或者区域。对于在图 5a 和 5b 中描述的那些试验片，为了产生期望的捕获区域或线，使用一个或多个条形磁铁 20（其层压在衬底 4 的底侧上或者接近衬底 4 的底侧）来形成磁垒。所述一个或多个条形磁铁或者一个或多个磁化轨 20 与在每行中的一个或多个测试薄膜 1 垂直，并且在所述一个或多个测试薄膜 1 流体接收和吸收端之间。试剂 2 位于每个测试薄膜的流体接收端上。

[0091] 通过选择性地在试验片周围或者其上施加磁场，在试验片上磁组配了捕获线，磁粒子被磁场基本固定在分布在测试薄膜上的一个或多个特定位置。未被磁约束的剩余的反应混合物分量因此继续在测试薄膜内横向流动，通常在迁移路径上朝向吸收垫流动。有益的是，这样的方法允许在单个试验片上定量地测定多个分析物、对照物、校准物或者其组合。因此，本发明的目的是提供一种用于执行测定、例如生物测定的有用方法。

[0092] 虽然在图 1a-1c 和图 2a-2b 中描述的试验片仅仅描述了在试剂垫和吸收垫之间布置的测试薄膜的一部分。但是本领域技术人员可以理解，当使用单个试验片在测试溶液中测定多个分析物、对照物、校准物或者其组合时，串接的试剂区域或者垫可以被置于第一施加磁场的下游。给出了可以用于磁色谱的流动试验片组件的几个示意例子：

[0093] 单个测定系统

[0094] 试剂区域 1/ 测试薄膜 // 吸收垫

[0095] 试剂垫 1// 测试薄膜 / 吸收垫

[0096] 多重测定系统

[0097] 试剂区域 1/ 测试薄膜 / 试剂区域 2/ 测试薄膜 // 吸收垫

[0098] 试剂垫 1// 测试薄膜 / 试剂垫 2// 测试薄膜 // 吸收垫

[0099] 相对的多重测定系统

[0100] 试剂区域 1/ 测试薄膜 // 吸收垫 / 测试薄膜 // 试剂区域 2

[0101] 试剂垫 1// 测试薄膜 // 吸收垫 // 测试薄膜 // 试剂垫 2

[0102] 其中，

[0103] 符号 / 指定在单个色谱介质中的相界；并且

[0104] 符号 // 指定两个独立的介质（色谱或者其他介质）的结合。

[0105] 结果，所给出的多重测定系统的示例使得测试溶液遇到两组磁粒子。测试溶液的流动是单向的，从在试验片的一端的试剂区域或者垫 1 流动到在试验片的相对端的吸收垫。磁垒位于每个测试薄膜上。第一磁垒位于在试剂区域或者垫 2 之前通过测试薄膜的位置，而第二磁垒位于在吸收垫之前通过测试薄膜的位置。来自试剂区域或者垫 2 的试剂可以用于分析在测试溶液中的附加的分析物或者可以用于执行校准或者质量控制。

[0106] 所给出的相对的多重测定系统的示例允许测定来自独立的测试溶液的相同分析物。当必须与测试样本同时测定校准物时，这是有益的。测试溶液的流动是从每个试剂垫或者区域向单个公共吸收垫。磁垒穿过每个测试薄膜。本发明也预料到磁色谱可以用于其他的多重测定系统试验片结构，其中包括瓣状体和平行的阵列等。

[0107] 为了操纵通过向试验片施加磁场而形成的捕获线的宽度（即表面面积），已经出乎意料地发现可以根据磁铁的数目和 / 或施加到测试薄膜的磁力的程度来选择性地控制这样的捕获线的宽度。在这方面，已经发现，通过在测试薄膜（其中寻求形成捕获区域）之下堆叠多个磁铁，被施加到其上的磁铁的数目的增加对应地使得捕获线的宽度增大。本领域技术人员可以理解，通过使用更大程度的磁力，由此产生的对应的捕获线将具有更大的表面面积，其作为结果可以用于确定每个单位面积的浓度。按照如此方法，操纵磁场以产生更宽的或者更窄的捕获线或者区域可能证明非常有益。例如，通过操纵捕获线的宽度或者表面面积，可以因此提供用于便利使用显微镜来查看独立的粒子的手段。同样，这样的选择性操纵捕获区域可以用于将目标细胞与细胞群体隔离，其后执行可能对于给定的应用必要的其显微镜检查。

[0108] 对于在本发明的实践中优选使用的这样的磁铁的尺寸，当前认为可以使用条形磁铁或者磁化轨，其宽度在 0.003 到 3.0 英寸之间，并且其长度在 0.010 英寸到 100 英寸之间。在这方面，可以明白，这样的磁铁（特别是磁化轨）可以被确定大小和配置来产生用于形成期望的捕获线所需要的任何程度的磁场，并且可以容易地被本领域的技术人员对于给定的应用确定。

[0109] 现在参见图 6a 和 6b，示出了用于执行本发明的测定的试验片的第三实施例。但是，与上述的实施例不同，这样的试验片被特殊设计和配置来在接触点（在此，包含磁粒子的反应混合物被引入到所述试验片）形成捕获线。在这方面，并且与其他的上述实施例相反，按照在图 6a 和 6b 中描述的所述实施例的试验片不要求反应混合物按照单向路径流动，所述单向路径从吸收垫开始、通过测试薄膜、最后通过磁场（最终通过其产生捕获线）而延

伸。

[0110] 本领域技术人员可以明白，通过在反应混合物与试验片接触的开始的接触点形成捕获线，有益地节约了要通过测定而检测的分析物的数量，所述测定系统与现有技术的装置和方法不同，可以从结合的受体的捕获区域扩散，或者由于非特异性结合而被抑制到达这样的捕获区域。如在本领域中所公知，要通过使用传统的测定系统来检测的分析物的大部分可能由于从当反应混合物被引入到测定系统到这种反应混合物接触形成所寻求的捕获线的结合受体的点必须发生的顺序横向流动而不被检测。

[0111] 首先参见图 6a，这样的实施例包括细长衬底 4，其具有第一和第二相对端和中间部分。如上所述，这样的衬底可以由玻璃、塑料或其他适当的硬材料构成。在所述衬底的相对端上形成了第一和第二吸收垫 3’、3”，它们如下更详细所述，使得反应混合物最后从引入反应混合物的接触点到试验片双向流动。在所述衬底 4 下附接了细长磁铁 30，其用于产生捕获线以用于进一步分析。在替代方式中，所述细长磁铁 30 可以大致位于衬底 4 之下，以便获得多个优点，诸如便利显微镜应用。

[0112] 优选的是，在第一和第二吸收垫 3’、3”之间的、其中心在磁铁 30 上的衬底 4 的中间部分上形成第一垂直流动网格 32 和第二横向流动网格 34。如图所示，垂直流动网格 32 被形成在横向流动网格 34 之上，后者与在其相对的两侧上的第一和第二吸收垫 3’、3” 接触。优选的是，横向流动网格 34 的一部分部分地位于第一和第二吸收垫 3’、3”之下，如图所示。为了引入反应混合物，优选的是，还提供采样井 36，其被特别设计和配置来将反应混合物直接地引入到第一垂直网格 32 上，以便所述反应混合物此后依序流向横向流动网格 34，并且最后经由双向流动而到达吸收垫 3’、3”。

[0113] 按照一个优选实施例，垂直流动网格 32 由聚酯、尼龙、玻璃纤维或者任何其他的类似材料构成，并且被定位为便于向下流动通过其中，以便过滤在测试溶液中可能存在的大碎片。横向流动网格 34 类似地由聚酯、尼龙、玻璃纤维或者任何其他的类似材料构成，以允许双向流动到相应的吸收垫 3’、3”。横向流动网格 34 也可以由具有磁特性的材料构成，诸如金属滤网、金属化的聚酯等。采样井 36 最好由非磁材（诸如塑料，特别是聚氯乙烯）构成，以便不与在反应混合物中存在的磁粒子反应。

[0114] 作为提供网格布置，例如第一网格 32 和第二网格 34 的组合的替代方式，如上所述，构想了衬底 4（具体地是其中间部分）可以形成为具有带纹理的表面，所述带纹理的表面被配置和定位来引导样本流流过其中。在这方面，构想了在本发明的实践中可以使用能够使得测试溶液的横向流过衬底 4 的中间部分的任何带纹理的表面，特别是将其作为横向流动网格 34 的替代品。

[0115] 现在参见图 6b，示出了可以使用在图 6a 中描述的实施例来执行测定的顺序。开始，反应混合物被沉积在采样井 36 中。由于由字母 A 指示的毛细作用和向下的重力，反应混合物依序经由字母 B 指示的横向流通过垂直流动网格 32、横向流动网格 34，并且最后而到达吸收垫 3’、3”。但是，结合了所关心的分析物的磁粒子被约束在由位于衬底 4 之下的磁铁 30 限定的磁区域中。因此，所述磁粒子在测定的开始点被捕获，这与在初始引入反应混合物的某个点被去除（这是通过最常规的试验片测定所发生的）相反。在替代方式中，可以构想使用在衬底 4 上直接形成或者附接到其上的带纹理的表面。具体地，可以将能够引起测试溶液横向流动的任何带纹理的表面用作横向流动网格 34 的替代品。

[0116] 有益的是，节约了要检测的分析物，并且不允许被扩散或者被则结合到捕获线之外。因此，这样的实施例增强了灵敏度，这是在此之前未获得的。根据这些方法，可以构想在图 6a 和 6b 中描述的实施例特别有益地用于隔离特定类型的细胞（诸如癌细胞）和其他的大分子和生物结构。在这方面，因为这种结构的尺寸以及它们在给定的样本中的有限数量（例如，在 10 毫升血液样本中可以发现，在 500 亿个细胞中有一个癌细胞），因此过去难于隔离和检测这样的结构。在这方面，由于它们的尺寸，这样的结构被物理地防止到达被提供来检测它们的存在的捕获或者目标位置。在这样的应用中，发现用于横向流动网格 34 的尼龙网格特别有益，其已经被示出相当大地提高了反应混合物从捕获区域（即由磁铁 30 产生的磁场）离开的横向流动速度，这因此提高了非目标细胞的洗出 (wash out)。结果，可以以更大的浓度来保留目标细胞，因此，可以比现有技术更容易地检测目标细胞。

[0117] 为了进一步增强在图 6a 和 6b 中描述的试验片实施例的提高细胞洗出的能力（即便利目标细胞与反应混合物的离析和隔离），提供了在图 7a 和 7b 中所述的替代双向流动试验片。首先参见图 7a，示出了在图 6a 和 6b 中描述的试验片的相同部分。具体地，提供了衬底 4，第一和第二吸收垫 3’、3”形成在其相对端上。在衬底 4 下布置了磁铁 30，其被提供以产生用于产生期望的捕获线所需要的磁场。还提供了采样井 36，用于将反应混合物引入到所述试验片，其后是垂直流动网格 32 和横向流动网格 34。

[0118] 但是，关于后者，这样的横向流动网格 34 被设计为具有相对于垂直流动网格 32 大致对角的方位。本领域技术人员可以明白，通过提供横向流动网格 34 的、相对于垂直流动网格 32 的对角方向，流过其中的反应混合物提高了流向相对的吸收垫 3’、3”的速度。在这方面，反应混合物避免了按照在图 6a 和 6b 中描述的实施例必需在垂直方向上流动，因此不经历反应混合物经由在图 6a 和 6b 中描述的实施例而遇到的阻挡程度。如上所述，作为使用对角定位的横向流动网格 34 的替代，中间可以具有一个带纹理的表面，用于限定流过其中的样本的指定路径和流动速度。

[0119] 现在参见图 8-10，并且首先参见图 8，示出了一种测定系统 100，其在本质上是可多重配置的，因此使得其能够用于多种应用中。在这方面，所述测定系统 100 根据上述的原理和结构可以被选择性地形成为不仅完成上述的提供更大程度的捕获和隔离和节约流体样品的目的，而且提供一种简单、迅速和可靠的系统，其允许有效地处理小数量或者大数量的样品。同样，这样的测定系统 100 在执行与细胞隔离、分选和询问相关联的测定中特别有效，如下更详细所述。

[0120] 如图所示，系统 100 包括外壳 102，其限定了内室 104。外壳 102 优选地由任何适当的硬材料（诸如塑料和 / 或金属）构成，并且具有黑色以最小化可能灵敏的蛋白质、细胞和其他单元组件的图片降级，外壳 102 被配置到基座 110 上，并且被安装在其上。如下更详细所述，外壳 102 可以被配置为或者永久地附接到基座 110，或者被形成为从其可分离地紧固（通常是通过机械和 / 或粘合手段）。

[0121] 在外壳 102 的中心形成采样井 106，其如图所示具有大致截头圆锥的结构，其逐渐尖细以限定开口 108。本领域技术人员可以明白，采样井 106 提供了用于沉积被怀疑包含所关心的分析物的反应混合物的手段，所述分析物将最后被捕获和隔离，如上所述。为此，限定了开口 108 的所述采样井 106 由此将在由网格 112 的层限定的目标区域上沉积反应混合物，网格 112 被期望位于底座 110 上，并且作为选用，夹在外壳 102 和底座 110 之间。为了

便利反应混合物的双向流动，外壳 102 的内部 104 限定了用于吸收构件的空间，所述吸收构件可以是诸如如图所示的灯芯或者垫 114、116 的材料，其被布置在采样井 106 的相对侧上。如上所述，垫 114、116 用于通过横向流动拉出不包含将与所关心的分析物结合的磁粒子的反应混合物部分。对于后者，其通过与由磁铁 118 产生的磁场的接触而被保留在目标区域上的沉积点。如上所述，所述磁场可以通过本领域的多种公知手段被产生，并且可以被集成为基座 110 的一部分、可分离地被紧固到基座 110，或者完全与其分离。按照如此方法，可以构想其上捕获了所关心的分析物的目标区域是大约 0.6 平方厘米，而按照传统的盖片，检查区域是 4 平方厘米。

[0122] 现在参见图 9，示出了按照图 7 的测定系统 100 而构造的测定系统的分解视图，其由于下述原因可以被选择性地构造来执行增强的测定功能。如图所示，在其最基本的部分中，所述测定系统包括外壳 102，其上形成采样井 106 和小孔 108。吸收垫 114、116（其位于采样井 106 的相对侧上，并且被限制在外壳 102 内部）被提供用来拉出不包含与所关心的分析物结合的磁粒子的反应混合物部分。如图进一步所示，可以提供网格 112，其上具有吸收垫 114、116，以便反应混合物双向流过其中。在网格 112 的中心布置了捕获区域 120，其被对齐为直接位于开口 108 之下，以便节约通过所述测定系统并且在分散的隔离区域被捕获的样本。如下更详细所述，所述捕获区域 120 可以采取多种形式，并且可以包括第二网格层，或者如下结合图 10 更详细地所述，所述捕获区域 120 可以包括一种新颖的接收凝胶，其可以提供增强的捕获机制，所述增强的捕获机制可以被配置来形成多种生化功能。

[0123] 基座 110 被进一步提供，并且不仅用作其他测定系统部分的结构支撑，而且用于执行与测定相关联的进一步的处理。按照如此方法，可以构想基座 220 可以采取传统的标准显微镜载玻片的形式。而且，在底座 110 被用作用于捕获细胞的结构的那些应用中，可以使用其来启动细胞结构的形成。本领域技术人员可以明白，此前还不能经由一个步骤的测定处理来识别、隔离和最后培养细胞培养物，并且其比本发明的那些效率低得多，本发明不仅能够检测和隔离在样本中可能存在的极小数量的细胞，而且其后直接培养这样的细胞以产生细胞培养物。

[0124] 上面结合图 8 和 9 讨论了测定系统 100 的各个部分，现在讨论关于如何选择和互连各个部分以执行具有用于执行给定的测定过程的增强功能的特定类型的测定。

[0125] 在所描述的实施例中，所述测定系统 100 可操作而且容易地适用于从单载玻片台式应用到连续的高通过量筛选环境。具体地，所述测定系统可以用于单载玻片台式应用、小分批测试、自动化分批处理和连续的高通过量筛选 (HTS)。在这样的应用中，基座 110 可以采取标准显微镜载玻片的形式，其容易适应现有的流体处理系统，诸如 Gilson 和 Tecan 系统。在这方面，这样的系统允许大批量处理和自动化，并且不需要巨大的机器人传送系统和其他昂贵的固定设备。

[0126] 对于涉及细胞隔离、分选和询问的过程，所述测定系统 100 可以被选择性地修改来适合于特定的应用。在涉及细胞工程和询问的应用中，优选的是，从所有的非可拆卸部件来形成在图 8 和 9 中描述的基本测定系统，所述非可分离部分包括外壳 102、吸收垫 114、116、网格 112 和基座 110，后者最好采取显微镜载玻片的形式。在这样的结构中，测定系统最好能够处理 4-8 毫升的样本，并且进一步允许连续添加试剂来用于荧光免疫分析。可以使用通常为 40X 的倒置显微镜来人工地或者数字地执行染色 (staining) 的分析。

[0127] 对于细胞工程和扩展应用，可以修改所述测定系统，以便选择性地可去除外壳 102 和吸收垫 114、116，因此留下网格 112。这样的结构允许目标细胞的简单的培养方法和后提纯（例如转染、耐药性等）。这样的结构也提供了培养后分析（诸如免疫荧光、FISH 等）的平台，可以使用通常为 40X 的倒置显微镜来手动地或者数字地执行培养物染色的分析。

[0128] 对于涉及细胞抗性和询问的应用，所述测定系统 100 可以被配置成可以从底座 110 卸下外壳、吸收垫 114、116 和网格 112。在这样的应用中，将在底座 110 上直接地限定目标区域（未示出），纯化的产物将被无遮盖地置于其上。这样的测定系统对于在改变的介质（诸如 Matrigel）中布置细胞以用于耐药性测试是理想的。另外，这种结构对于 FISH 测试也是理想的。为此，按照这样的结构的测定系统可以优选地支持使用倒置的或者传统的、人工或者数字的设备（从 10X-100X）的灵活显微镜评估。

[0129] 对于涉及细胞分选和序列询问的应用，所述测定系统可以被配置成可卸下外壳 102。结果，剩下底座 110，其上附接吸收垫 114、116。网格 112 可以被选择性地形成和配置成位于底座 110 上或者被选择性地从其卸下。这样的结构允许连续添加用于测定的试剂，诸如 FISH、免疫荧光和基于细胞的 PCR。

[0130] 在图 10 中描述的另一种改进中，构想了通过凝胶 120 来限定目标区域，所述凝胶 120 用于帮助对所捕获的目标分析物的捕获、隔离和可能的进一步生化处理。这样的凝胶可以包括本领域公知的多种生物适合的凝胶中的任何一种，诸如在电泳中使用的聚丙烯酰胺凝胶等，所述凝胶可以作为用于捕获和隔离细胞、细胞内结构、蛋白质、基因等的介质。这样的凝胶 120 可以被形成在如图所示的网格衬底 112 上，或者被直接地形成在基座 110 上。也可以使用其他的基底（未示出）来支撑在目标区域或者目标区域周围的凝胶 120。为了增强凝胶 120 捕获和隔离细胞、细胞内结构等的能力，构想了可以向这样的凝胶提供对所关心的目标分析物具有特异性的受体 122。在这方面，通过悬浮这样的受体 122 或者使得受体 122 结合到固相上，可以促进本发明的测定系统提供增强的目标分析物的捕获和隔离的能力。

[0131] 除了这样的受体 122 之外或者独立于这样的受体 122，可以向在图 10 中被表示为 120 的凝胶提供其他的化学修饰剂、试剂或者酶（被表示为 124），其可以用于对所关心的分析物进行进一步生化处理。一种构想的应用包括使用消化酶来选择性地切割蛋白质或者消化目标细胞内成分以进一步隔离和识别。为此，构想具有期望的试剂、受体、酶等的这种凝胶组成的配置物和组合物容易被本领域技术人员知晓并且能使用公知的技术来制造。在另一个构想的应用中，凝胶 120 可以作为细胞的生长培养基，以由此使得所关心的目标细胞能够被扩展或者增殖，由此形成细胞培养物。为了实现这样的目的，可以将本领域技术人员公知的多种营养物和其他生长培养基作为凝胶 120 的一部分掺入。

[0132] 有益的是，本发明的测定系统比微量滴定板具有更大的灵活性，并且可以有效地用于细胞亚群分析测定，同时确定异常 DNA、mRNA 转录表达和蛋白质翻译表达（同时 FISH/IF）。本发明的测定系统可以同样使用一个自携式单元来用于隔离和分选细胞、蛋白质或者基因，由此消除对于分离柱的需要。而且，通过经由井 106 直接地添加样本、试剂和细胞洗液，消除了细胞传送步骤，真正地加速了测定过程，增强了细胞捕获，降低了细胞丢失，并且最小化了错误的机会。按照这样的方法，进一步构想了本发明的测定系统可以被具体配置成在外壳 102 和基座 110 之间的互连将限定一个或多个开口，其限定了一个通道，通过所述

通道，可以进行进一步的测定后估计和操纵。例如，对于在底座 102 和 110 之间的互连，不论这样的结构是永久地固定还是彼此可脱离，这样的元件 102、110 可以合作来限定一个或多个通道，通过所述通道，可以进行细胞测试，或者这样的元件 102、110 允许试剂被引入通过其中，以促进细胞溶解 / 消化，并且 / 或者允许其他试剂促进蛋白质和细胞器等的离析和隔离。

[0133] 本领域技术人员可以明白，本发明的测定系统由于它们的多功能配置而可以用于多种应用中，特别是用于药物发现中。为此，本发明的测定系统可以特别有效地用来确定化合物对细胞的在功效和可能的毒性方面的影响。如所公知，用于区分纯细胞群体的表达模式的当前技术、高级分离技术和新颖的基因表达方法是复杂的、高成本的、劳动密集的和不容易升级的。本发明的测定系统不仅克服了现有技术的这样的缺陷，而且，其实际上还具有宽得多的应用。按照如此方法，本发明的测定系统对形成目标识别和目标验证过程特别有效。对于前者（其包括诸如细胞隔离、细胞器分选和蛋白质分级分离的过程）和后者（其可能涉及特异性蛋白质隔离、免疫测定和分子分析），经常需要在功能上和结构上保持不变的细胞、蛋白质或者基因的捕获和隔离。但是，有时这样的目标经常是易碎的、薄膜结合的或者具有很小或者很大的尺寸。虽然存在这样的困难属性或者特性，但是本发明的测定系统良好地适用于以比现有技术优越的方式促进这样的目标的离析和隔离。

[0134] 本发明还包括一种新颖的分析器，其中包括多模式光度计模块，所述光度计可以在试验片上的单个焦点处测量前表面荧光（荧光测定模式）、发光（发光测定模式）和反射（光密度测定模式）。在单焦点上的多种光学方法的使用提供了关于独立的捕获线的质量和结构以及在捕获线处存在的分析物、对照物或者校准物的量的信息。因此，本发明的一个目的是通过使用两种或者多种光学方法查询重要试验片位置来最小化与试验片相关联的准确度和精度问题。

[0135] 如图 3a 中所示，所述多模式光度计由光学顶篷 9a 和 9b（其合作来形成光学通道 9）构成。所述光学通道 9 将光源和光检测器与磁源和测试薄膜、色谱板等对齐，以形成光学路径。在这方面，基座 9b 包括其中形成的通道，用于接收上述类型的试验片。基座 9b 还优选地包括其中固定的磁源或者相对于所述通道固定的磁源，以由此在光学通道 9 中的指定位置产生期望的捕获线。例如，诸如磁铁的磁源可以被布置在光学通道 9b 的底座之下，以便所述试验片保持在位于其上的通道中。

[0136] 光学顶篷 9a 被形成为具有：顶板，通过其可以透射光源；以及成一定角度的侧壁，通过其可以发出结果产生的反射光。本领域技术人员可以明白，可以用多种适当的半透明材料（包括但是不限于 PVC、ABS 或者阳极处理铝板）挤压、加工或者模塑所述多模式光度计，更具体地说是由其限定的光学通道。这样，可以用便宜的材料制造本发明的光学通道 9。

[0137] 现在参见图 3b，示意地图解了用于使用本发明的多模式光度计来分析试验片的部件。开始，形成从光源 7 到位于光学通道 9 的底座 9b 的焦点 8 的激励路径 6。容易明白，用于在给定的测试薄膜或者色谱板上形成捕获线的、被并入底座 9 中的磁源将被精确地与激励路径 6 对齐，以便路径 6 直接地对准由这样的磁源产生的捕获线。可以明白，在可以使用的许多适当的光源中有发光二极管 (LED)、激光二极管、汞蒸气灯和霓虹灯。如果必要，可以使用滤光器 10 来选择激励波长 6。这个激励滤光器 10 可以位于所提供的顶篷壁 9a 的任何一侧上，但是其在光源和试验片 11 之间的激励路径 6 中。当试验片 11 被插入光学通道

9 中时，这样的试验片被固定在底座上，并且在焦点 8 与激励路径 6 相交。

[0138] 从所述焦点到一个或多个光检测器 13 形成发光路径 12。以将每个光检测器 13 与焦点 8 光对准的角度，使用在顶篷壁 9a 中的径向几何形状来定位多个小孔。光导管、光纤和其他光导可以用于向光检测器 13 传输发送光。激励光 6 在焦点 8 激励试验片 11 上存在的荧光体，所述荧光体因此发出较长波长的光 12。如果使用冷光，则不需要激励光 6，并且可以在发光测量期间省略所述激励光 6。发射过滤器 14 用于具体地选择从荧光或者冷光发出的光的发射波长，以去除激励光 6 的踪迹。本领域技术人员可以明白，这样的发射过滤器 14 可以被置于顶篷壁 9a 的任何一侧上，只要其在光检测器 13 和试验片 11 之间的发射路径 12 中。

[0139] 也从焦点 8 到一个或多个光检测器 16 形成反射路径 15。这样的反射路径 15 承载激励光 6 和发射光 12。如果必要，则激励过滤器 10 可以用于具体选择从试验片反射的光的激励波长 6，并且消除发射光 12 的踪迹。这个激励过滤器 10 可以被置于顶篷壁 9a 的任何一侧上，只要其在光检测器 16 和试验片 11 之间的反射路径 15 中。

[0140] 由于其阻挡带外发射的方式，过滤器 10 和 14 可以是本领域公知的干扰过滤器的类型。在这方面，干扰过滤器在它们的特征通带范围之外呈现出极低的透射率，因此在选择期望的激励和发射波长上很有效。

[0141] 本领域技术人员可以明白，光学通道可以具有多个焦点，在此可以同时进行多个光度测量，这有益地允许试验片上的多个点用于样本分析和 / 或校准。在这样的应用中，可以沿着光学通道在每个焦点群集光学部件，诸如 LED、光二极管和干扰过滤器。

[0142] 如在图 4a 和 4b 中分别所示，示出了配备两个光学群集的光学通道的不同视图，所述两个光学群集可以用于多频谱分析。光源 7（示出了 LED 7a 和 7b）位于激励过滤器 10（示出了过滤器 10a 和 10b）之上，激励过滤器 10 继而覆盖每个激励孔（未示出）。在顶篷 9a 上安装了如在图 4C 的剖视图中所示的、具有过滤器 10、14 的四个光二极管 13a、16a 中的两个。在图 4C 中所示的条形磁铁 20a 位于在每个焦点 8 之下的光学通道的底座上，以便可以在每个位置进行适当的分光光度计分析。

[0143] 虽然相信从上面的讨论显而易见，但是下面提供了可以在多个应用中使用本发明的新颖磁测定系统和方法的多个示例。本领域技术人员可以明白，为了在下面的示例中讨论的目的，术语“测试溶液”可以表示测试样本、测试校准物或者测试对照物材料。

[0144] 示例 1 ：

[0145] 按照在图 1 中给出的说明来制造试验片。衬底 4 在长度上延伸到吸收垫 3 端部之外，以允许向衬底 4 应用条形码、荧光标记和其他指示器。试剂区域 2 包含抗生蛋白链菌素缀合的磁粒子、缓冲剂、稳定剂、表面活性剂和其他干燥形式的试剂。

[0146] 试验片 11 首先在吸收垫 3 端被插入光学通道 9 中。在试验片上的指示器被分析器解释为校准信息。例如，分析器验证在焦点 8a 和 8b 读取了相同的条形码，并且存储光检测器 13 和 16 的反射和荧光值。所述校准信息和测量值被分析器用于验证独立的捕获线的质量和结构以及在所述捕获线存在的分析物、对照物或者校准物的量，并且验证每个光学模块的性能。

[0147] 在独立的容器中，操作员向一定体积的测试试剂添加一定体积的样本，并且混合它们以形成反应混合物。所述测试试剂包括生物素缀合的抗 βHCG 和荧光微球体缀合的抗

α HCG，它们共同结合在样本中存在的 HCG 分子。

[0148] 一定体积的这种反应混合物被施加到试验片试剂区域 2 上，其形成新的反应混合物，所述反应混合物包含悬浮的磁粒子，所述悬浮的磁粒子作为缓冲剂、稳定剂、表面活性剂和在试剂区域 2 上预先干燥的其他试剂。所述磁粒子结合处于所有其复合形式的生物素缀合物，所述形式包括已经与 HCG 和抗 α HCG 缀合物形成协同复合物（夹层测定系统）的那些。因此，荧光微球体与在反应混合物中存在的分析物的量成比例地直接结合到磁粒子上。

[0149] 当在反应混合物中悬浮的磁粒子在试验片 11 的平面内横向流动时，它们遇到使用附接到光学通道 9 的基座 9b 的条形磁铁 20 而施加的磁场。所施加的磁场吸引磁粒子形成磁垒，所述磁垒选择性地将所述磁粒子保留在焦点 8，同时允许反应混合物继续横向流过这个磁垒向吸收垫 3 流动。

[0150] 在添加反应混合物后，也可以添加一定体积的洗液。这将由于非特异性结合而减少由测试薄膜 1 和磁粒子保留的荧光微球体的数量。

[0151] 分析器监控和比较用于测量在焦点 8a 和 8b 的反射的光检测器 16a 和 16b。当磁铁 20 保留磁粒子时，在焦点 8a 的反射光强度降低。在焦点 8b 反射的光强度是背景（空白）测量，用于校正在独立的试验片之间的差别和样本基体效应。这允许分析器确定是否已经在焦点 8a 正确地捕获了磁粒子，并且排斥发生溶血或者包括增加量的诸如胆红素的发色团的样本。如果在预定的逝去时间期间在焦点 8a 和 8b 的所反射的光强度不在规格内，则将所述测试确定为无效，并且不报告任何结果。

[0152] 与光检测器 16a 和 16b 交替，分析器也监控和比较用于测量荧光的光检测器 13a 和 13b。在焦点 8b 发出的光强度是背景（空白）测量，用于校正非特异性结合、在独立的试验片之间的差别和样本基体效应。所述分析器比较在 8b 的空白发射测量和在 8a 的测试发射测量，并且计算 HCG 浓度。

[0153] 示例 2 ：

[0154] 示例 2 借鉴示例 1，但是具有下面的差别 ：

[0155] 试剂区域 2 包含以单位剂量干燥形式预包装的所有测试试剂，包括 ：抗生蛋白链菌素缀合的磁粒子、生物素缀合的抗 β HCG 和荧光微球体缀合的抗 α HCG，它们共同结合在样本中存在的 HCG 分子。试剂区域 2 也包含缓冲剂、稳定剂、表面活性剂和干型的其他试剂。

[0156] 操作员直接向试剂区域 2 中添加一定体积的测试溶液。

[0157] 示例 3 ：

[0158] 示例 3 借鉴示例 2，但是具有下面的区别 ：

[0159] 使用取代荧光微球体的碱性磷酸酶来缀合抗 α HCG。

[0160] 在添加一定体积的洗液后，一定体积的荧光底物被加到试剂区域 2。

[0161] 示例 4 ：

[0162] 示例 4 借鉴所有的上述示例，但是具有下面的区别 ：

[0163] 示例 4 用试剂垫 5 替代在每个前述示例中的试剂区域 2。

[0164] 示例 5 ：

[0165] 按照在图 1 中给出的处方来制造试验片。衬底 4 在长度上延伸到吸收垫 3 端部之外，以允许向衬底 4 应用条形码、荧光标记和其他指示剂。试剂区域 2 包含抗生蛋白链菌素

缀合的磁粒子、缓冲剂、稳定剂、表面活性剂和其他干型试剂。

[0166] 在一个独立的容器中，操作员向一定体积的测试试剂添加一定体积的测试溶液（包含细胞、细胞裂解物、总的 RNA），并且混合它们以形成反应混合物。所述测试试剂包括生物素化的寡 (dT) 探针和对衣原体特异的 5’ 荧光染料标记的 DNA 杂交探针。

[0167] 一定体积的这个反应混合物被施加到试验片试剂区域 2。当所述反应混合物与试剂区域 2 接触时，形成新的反应混合物，其包含悬浮的磁粒子以及缓冲剂、稳定剂、表面活性剂和其他在试剂区域 2 上预先干燥的试剂。所述生物素化的寡 (dT) 探针特异地与在测试溶液中存在的所有 mRNA 的 3’聚腺苷酸区域杂交。结果，所有的 mRNA 经由生物素 / 抗生蛋白链菌素键而被结合到磁粒子上。相反，被标记的杂交探针仅仅结合目标 mRNA。磁粒子结合呈所有其复合形式的生物素化的寡 (dT) 探针，所述形式包括已经与衣原体 mRNA 和对衣原体特异的荧光染料标记的 DNA 杂交探针形成协同复合物（杂合物）的那些。因此，荧光染料被与在反应混合物中存在的衣原体 mRNA 的量成比例地间接结合到磁粒子上。

[0168] 当在反应混合物中悬浮的磁粒子在试验片 11 的平面内横向流动时，它们遇到使用附接到光学通道 9 的基座 9b 的条形磁铁 20 而施加的磁场。所施加的磁场吸引形成磁垒的磁粒子，所述磁垒选择性地将所述磁粒子保留在焦点 8，同时允许反应混合物继续横向流过这个磁垒向吸收垫 3 流动。

[0169] 在添加反应混合物后，也可以添加一定体积的洗液。这将由于非特异性结合而减少由测试薄膜 1 和磁粒子保留的被标记的 DNA 探针的数量。

[0170] 分析器监控和比较用于测量在焦点 8a 和 8b 处反射的光检测器 16a 和 16b。当磁铁 20 保留磁粒子时，在焦点 8a 处反射的光强度降低。在焦点 8b 处反射的光强度是背景（空白）测量结果，用于校正在独立的试验片之间的差别和样本基体效应。这允许分析器确定是否已经在焦点 8a 处正确地捕获了磁粒子，并且排斥发生溶血或者包括增加量的诸如胆红素的发色团的样本。如果在预定的逝去时间期间在焦点 8a 和 8b 处的所反射的光强度不在规格内，则将所述测试确定为无效，并且不报告任何结果。与光检测器 16a 和 16b 交替，分析器也监控和比较用于测量荧光的光检测器 13a 和 13b。在焦点 8b 处发出的光强度是背景（空白）测量，用于校正非特异性结合、在各个试验片之间的差别和样本基体效应。所述分析器比较在 8b 的空白发射测量结果和在 8a 的测试发射测量结果，并且计算衣原体浓度，或者仅仅确定是否在测试溶液中存在衣原体。

[0171] 示例 6

[0172] 其他检测方法可以用于磁色谱。在这个示例中，使用 X 射线胶片来检测在转染的细胞的群体中的目标 DNA 的存在。使用 P32 标记的核苷酸来完成在每种测试溶液中存在的 CDNA 的 PCR 扩增。使用 5’生物素 DNA 杂交探针来杂交扩增的 DNA 形成反应混合物，所述反应混合物被施加到包含抗生蛋白链菌素缀合的磁粒子的试验片试剂区域 2。

[0173] 使用在图 5b 中描述的类型的试验片，在施加反应混合物后向试剂区域 2 施加洗液。

[0174] 一片 X 射线膜被置于所述试验片阵列的顶部上，并且被曝光适当的时间长度。

[0175] 在显影的 X 射线膜上看到可视带，其位置对应于已经对于目标 DNA 测试为阳性的样本。

[0176] 示例 7 ：

[0177] 示例 7 借鉴示例 6，但是具有下面的区别：

[0178] 使用 5’荧光染料标记的引物来实现所述 PCR 扩增。

[0179] 所述试验片阵列位于荧光扫描器中。

[0180] 所述荧光扫描器检测荧光带，其位置对应于对于目标 DNA 测试为阳性的样本。

[0181] 示例 8：

[0182] 示例 8 借鉴示例 1，但是具有下面的区别：

[0183] 所述衬底 4 是显微镜载玻片。

[0184] 所述磁铁 20 位于所述测试薄膜 1 之上，因此磁铁 20 不与测试薄膜 1 接触。

[0185] 使用荧光显微镜来计数被结合到磁粒子的各个荧光微球体。

[0186] 示例 9：

[0187] 按照在图 1 中给出的说明来制造试验片。衬底 4 在长度上延伸到吸收垫 3 端之外，以允许向衬底 4 应用条形码、荧光标记和其他指示剂。试剂区域 2 包含抗生蛋白链菌素缀合的 0.86 微米的磁粒子、抗鼠 IgG 缀合的 150 纳米的磁粒子、缓冲剂、稳定剂、表面活性剂和其他干型试剂。

[0188] 试验片 11 首先在吸收垫 3 端被插入光学通道 9 中。在试验片上的指示剂被分析器解析为校准信息。例如，分析器验证在焦点 8a 和 8b 处读取了相同的条形码，并且存储光检测器 13 和 16 的反射和荧光值。所述校准信息和测量值被分析器用于验证各个捕获线的质量和结构以及在所述捕获线上存在的分析物、对照物或者校准物的量，并且验证每个光学模块的性能。

[0189] 在独立的容器中，操作员向一定体积的测试试剂加上一定体积的样本，并且混合它们以形成反应混合物。所述测试试剂包括生物素缀合的山羊抗 βFSH 和荧光微球体缀合的山羊抗 αFSH，它们协同结合在样本中存在的 FSH 分子。所述测试试剂也包括鼠抗 βLH 和荧光微球体缀合的山羊抗 αLH，它们共同结合在样本中存在的 FSH 分子。

[0190] 一定体积的这种反应混合物被施加到试验片试剂区域 2。当所述反应混合物与试剂区域 2 接触时，其形成新的反应混合物，所述反应混合物包含 0.86 微米和 150 纳米的悬浮的磁粒子以及缓冲剂、稳定剂、表面活性剂和其他在试剂区域 2 上预先干燥的试剂。所述 0.86 微米的磁粒子结合呈所有其结合形式的生物素缀合物，所述形式包括已经与 FSH 和抗 αFSH 缀合物形成协同复合物（夹层测定系统）的那些。因此，荧光微球体被与在反应混合物中存在的分析物的量成比例地间接结合到磁粒子上。所述 150 纳米的磁粒子结合呈所有其结合形式的鼠抗 βLH 缀合物，所述形式包括已经与 LH 和山羊抗 αLH 缀合形成协同复合物（夹层测定系统）的那些。因此，荧光微球体被与在反应混合物中存在的分析物的数量成比例地间接结合到磁粒子上。

[0191] 当在反应混合物中悬浮的磁粒子在试验片 11 的平面内横向流动时，它们遇到使用附接到光学通道 9 的基座 9b 的条形磁铁 20a 而施加的第一磁场。所施加的磁场具有足够的强度，其提供磁垒，所述磁垒选择性地将所述 0.86 微米磁粒子保留在焦点 8a 处，同时允许包括悬浮的 150 纳米的磁粒子的反应混合物继续横向流过这个磁垒向吸收垫 3 流动。

[0192] 当在反应混合物中悬浮的 150 纳米磁粒子在试验片 11 的平面内横向流动时，它们遇到使用附接到光学通道 9 的基座 9b 的条形磁铁 20b（未示出）而施加的第二磁场。所述第二施加磁场比所述第一施加磁场强得多。这个第二施加磁场提供磁垒，所述磁垒选择性

地将所述150纳米磁粒子保留在焦点8b处，同时允许所述反应混合物继续横向流过这个磁垒向吸收垫3流动。

[0193] 在添加反应混合物后，也可以添加一定体积的洗液。这将由于非特异性结合而减少由测试薄膜1和磁粒子保留的荧光微球体的数量。

[0194] 分析器监控和比较用于测量在焦点8a和8b的反射的光检测器16a和16b。当第一磁铁20a和第二磁铁（未示出）保留磁粒子时，在焦点8a处反射的光强度降低。在焦点8a和8b的反射光强度是用于确定是否已经在焦点8a和8b处正确地捕获了磁粒子的量度。如果在预定的逝去时间期间在焦点8a和8b处所反射的光强度不在规格内，则将所述测试确定为无效，并且不报告任何结果。

[0195] 与光检测器16a和16b交替，分析器也监控和比较用于测量荧光的光检测器13a和13b。在焦点8a和8b发出的光强度分别用于计算FSH和LH浓度。所述分析器将这些发出的光强度与包含已知的FSH和LH浓度的测试溶液的那些相比较，并且根据这样的参数来计算FSH和LH浓度。还应当明白，可以在不脱离本发明的预期精神和范围的情况下，对于上述的实施例进行各种增加、删除、修改和变更。在这方面，应当理解除了在此形成的磁产生的捕获线之外，还可以按照传统的试验片测定系统（其包含使用在测试薄膜上形成的结合受体）来形成附加的捕获线。

[0196] 示例10：

[0197] 按照在图7a和7b中给出的说明来制造试验片。衬底4由显微镜载玻片形成，横向流动网格34（色谱介质或者固定相）由从编织的尼龙纤维构造的105微米孔尺寸的网格构成。相应的网格32、34的边缘被使用任何适当的粘合带粘到显微镜载玻片衬底4。这产生了无粘合区域，并且允许横向流动网格34与显微镜载玻片衬底4直接接触。使用任何适当的粘合剂或者不干扰测试溶液的双向流动B的任何其他机械手段来将井36与相应的网格32、34同心地安装。吸收垫3’、3”具有大致相等的尺寸，其具有大于液体试剂、测试溶液、洗液等的组合体积的总的吸收容量。如在图7a和7b中所示，吸收垫3’、3”都与横向流动网格34流体接触。

[0198] 在独立的容器中，操作员可以向一定体积的测试试剂加上一定体积的测试溶液（例如被怀疑包含癌细胞的外围血管或者骨髓），并且混合它们以形成反应混合物（移动相）。如果需要，可以使用普通的实验室工作过程来在与测试试剂混合之前从测试溶液中去除红血球。所述测试试剂可以包括使用对于至少一个人类癌细胞类型特异的抗体而缀合的磁粒子。这些抗体结合到目标癌细胞类型上以使得它们磁化。随后，一定体积的、对于相同的癌细胞类型特异的荧光染料标记抗体被加到同一反应混合物。这些抗体可以结合到在癌细胞类型上的剩余的可用部位，以使得它们具有荧光。因此，所述反应混合物包含已经被磁化和具有荧光的癌细胞类型。

[0199] 试验片被布置在条形磁铁30之上，以便井36的底部的开口位于条形磁铁30之上。在本发明的一个实施例中，在井36的底部的开口完全被条形磁铁30限制。所述反应混合物被沉积到井36中。重力随后使得反应混合物沿着方向A下降，直到它与垂直网格32接触。在接触垂直网格32时，通过毛细作用和重力的组合来将反应混合物强制通过在垂直网格32内的孔。所述反应混合物可以然后接触横向流动网格34，所述横向流动网格34通过毛细作用而在双向B’、B”上传送所述液体反应混合物，直到所述反应混合物被吸收垫

3’、3”吸收。

[0200] 当在反应混合物中的磁粒子和磁标记的细胞从井 36 向横向流动网格 34 流动时，它们遇到经由条形磁铁 30 而施加的磁场。所施加的磁场形成磁垒，所述磁垒选择性地将大多数磁粒子和磁标记的癌细胞保留在窄的捕获区域内。反应混合物的非磁性剩余部分可以继续双方向 B 流过这个磁垒到吸收垫 3’、3”。

[0201] 在添加反应混合物后，可以在井 36 内沉积一定量洗液，同时试验片保持在条形磁铁 30 上方的位置中。磁标记的目标细胞和磁粒子被磁垒固定，同时从所述捕获区域洗去非目标细胞和未结合的荧光抗体。

[0202] 通过使用上述的方法，可以向单个显微镜载玻片施加超过 1 亿的细胞。这样的方法将必须产生和检查的图像的数量从 48,000 减少到少于 40。本领域技术人员可以马上认识到将细胞直接捕获到载玻片上的优点，以便在传送步骤期间不丢失细胞，而在传送步骤期间丢失细胞是现有技术的细胞检查技术的一个严重的缺陷。

[0203] 示例 11 ：

[0204] 示例 11 借鉴示例 10，但是具有下面的区别 ：

[0205] 按照在图 7 中给出的说明来制造试验片。由使用透光塑料（诸如聚碳酸酯或者丙烯酸）而制造的显微镜载玻片来形成衬底 4。色谱介质或者固定相 34 由在制造过程（例如注射成型、热冲压或者铸造）期间直接在显微镜载玻片的顶表面上形成的结构构成。所述纹理可以采取适合于通过毛细力实现测试溶液和试剂的横向流动的任何形式。

[0206] 应当明白和理解，在不脱离本发明的精神和范围的情况下，可以对于上述的实施例进行各种增加、删除、修改和变更。在这方面，虽然已经通过具体示例、特别是参见磁产生的捕获线和技术说明了本发明的优选实施例，但是应当明白，本发明绝不限于此。因此，所有的增加、删除、修改和替代被包括在所附的权利要求的范围内。

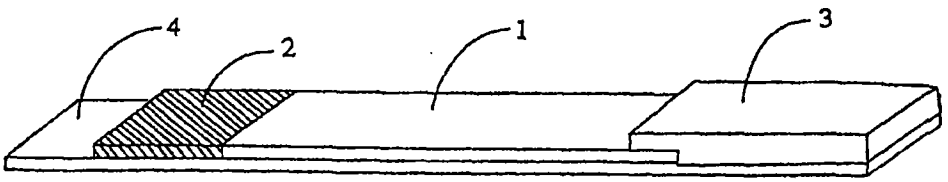


图1A

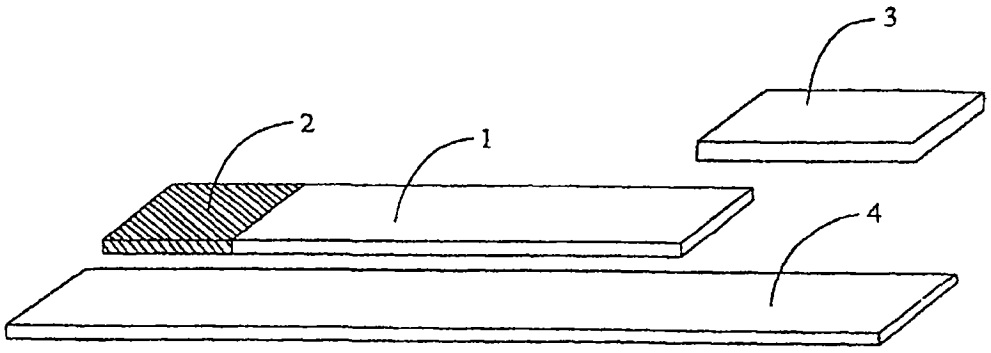


图1B

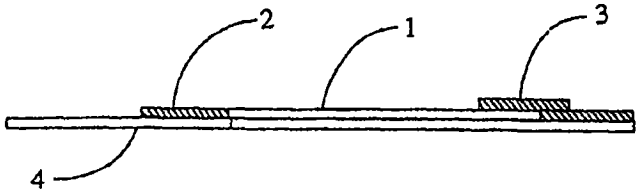


图1C

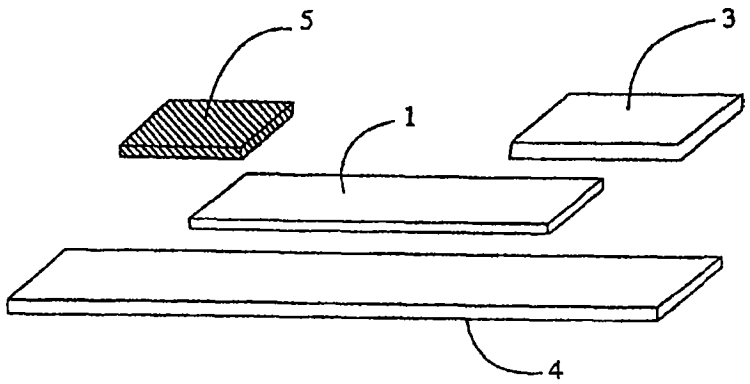


图2A

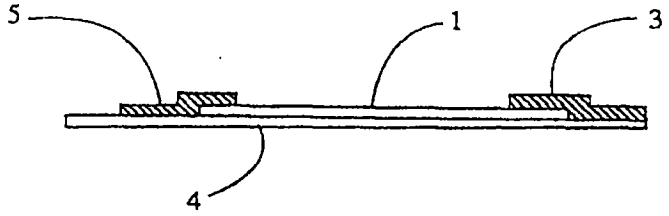


图2B

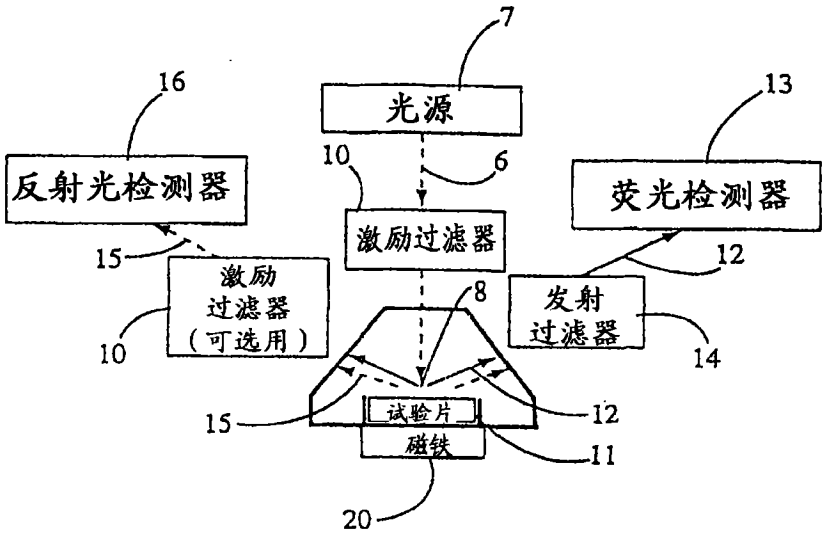

7
光源
16
反射光检测器
13
荧光检测器
10
6
激励过滤器
15
激励
过滤器
（可选用）
12
发射
过滤器
10
8
14
15
试验片
12
磁铁
11
20

图 3B

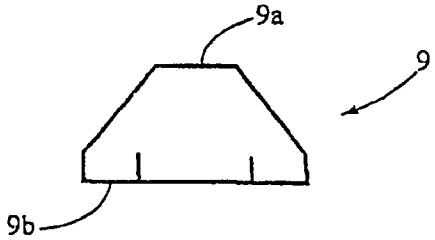

9a
9
9b

图 3A

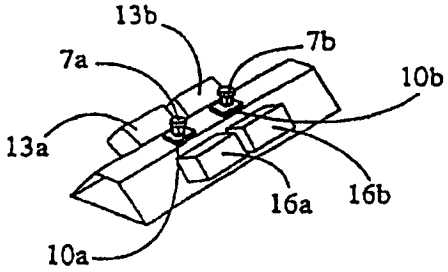

13b
7b
7a
10b
13a
16a
16b
10a

图4A

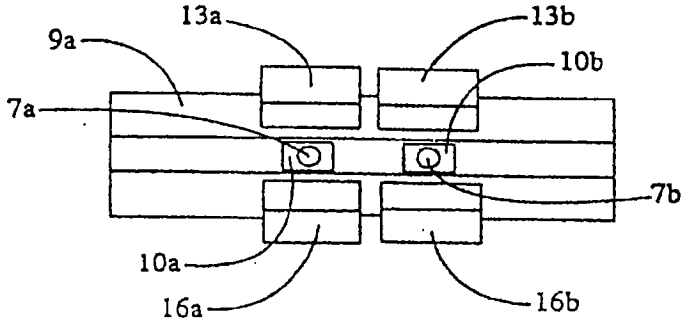

13a
13b
9a
10b
7a
7b
10a
16a
16b

图4B

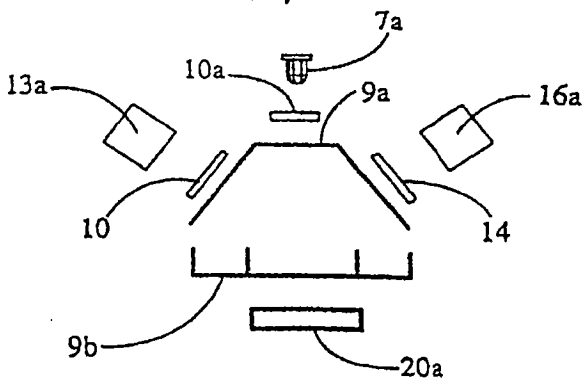

7a
10a
13a
9a
16a
10
14
9b
20a

图4C

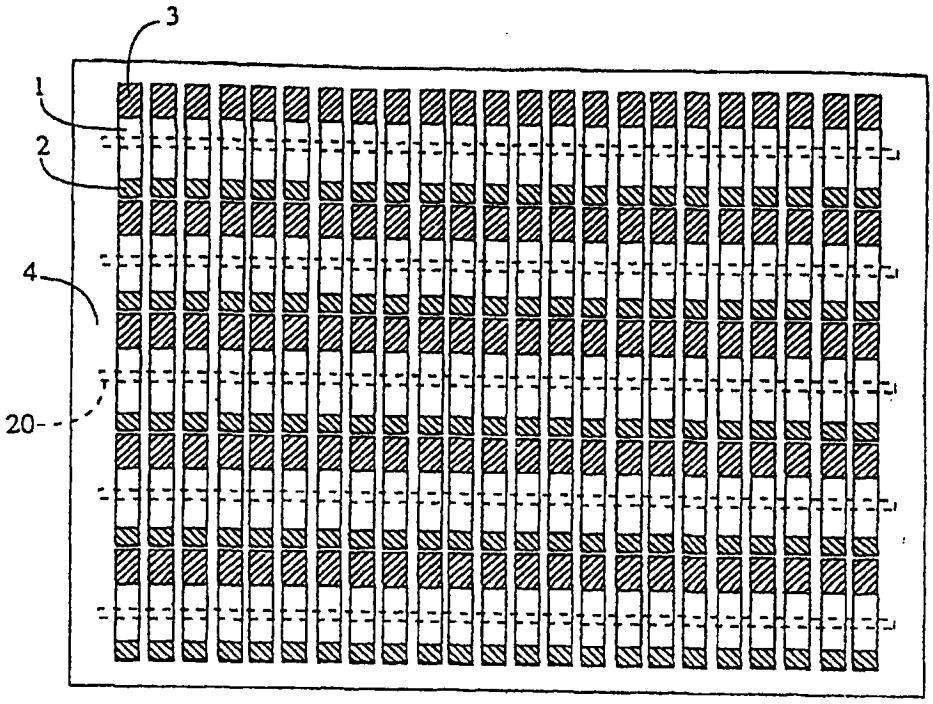


图 5A

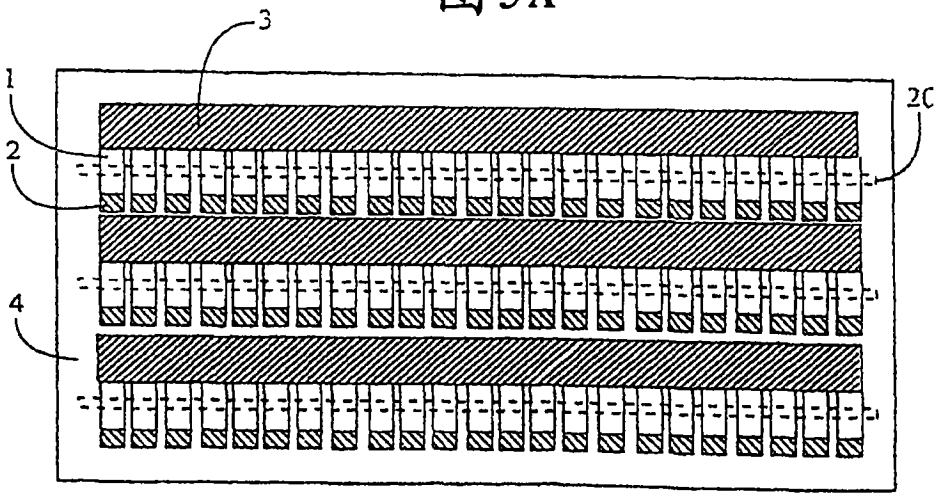


图 5B

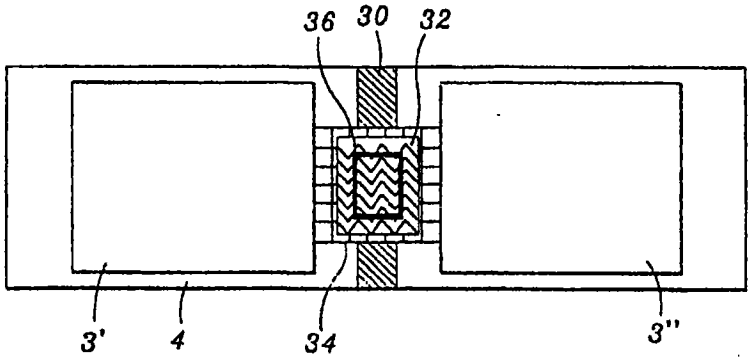


图6A

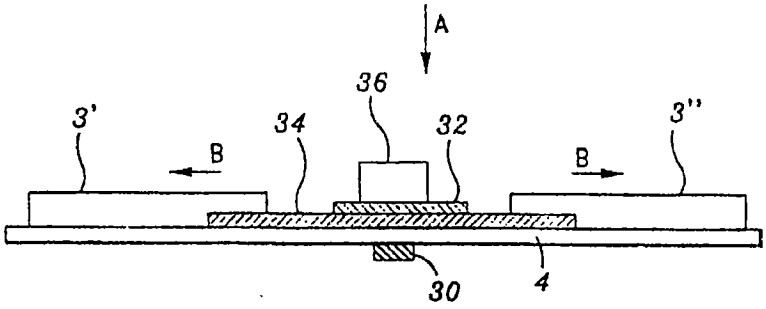


图6B

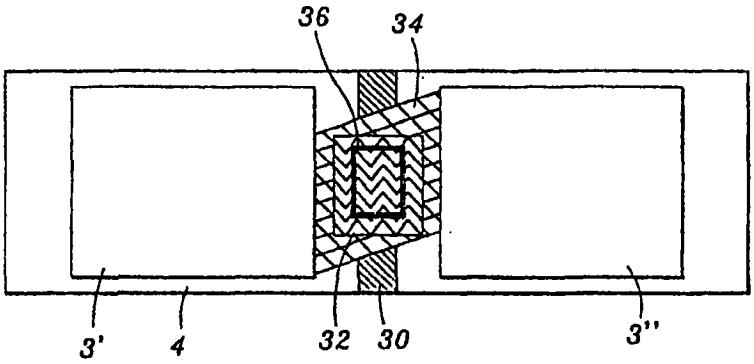


图 7A

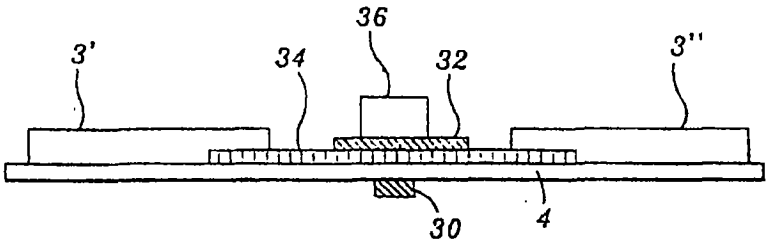


图 7B

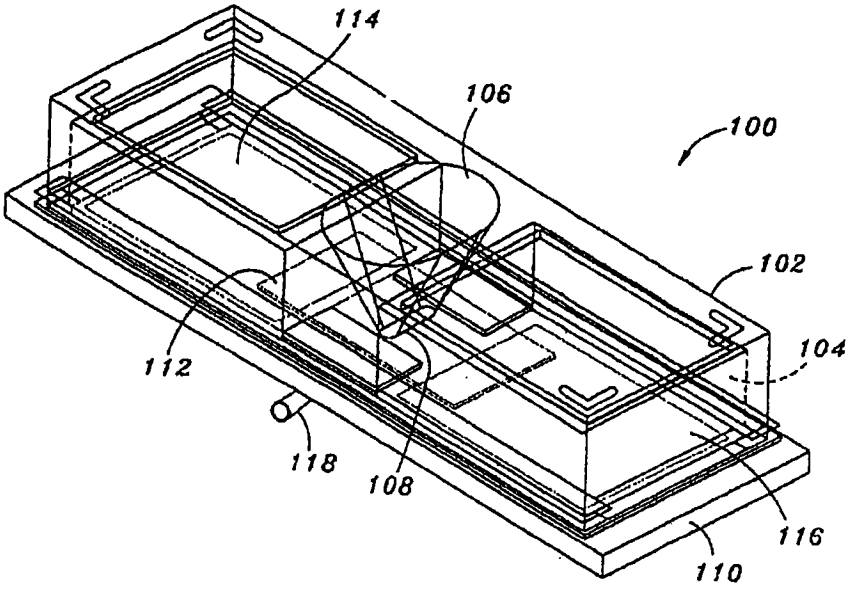


图8

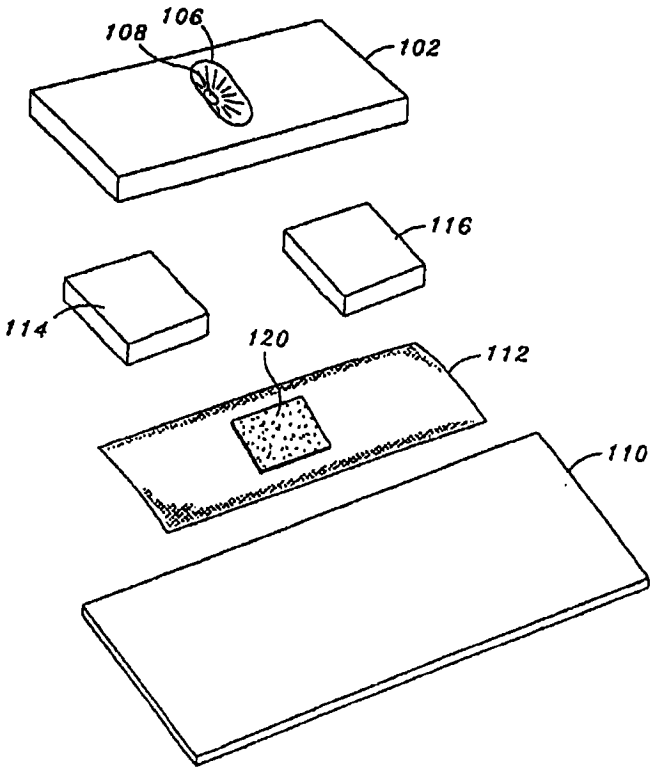


图9

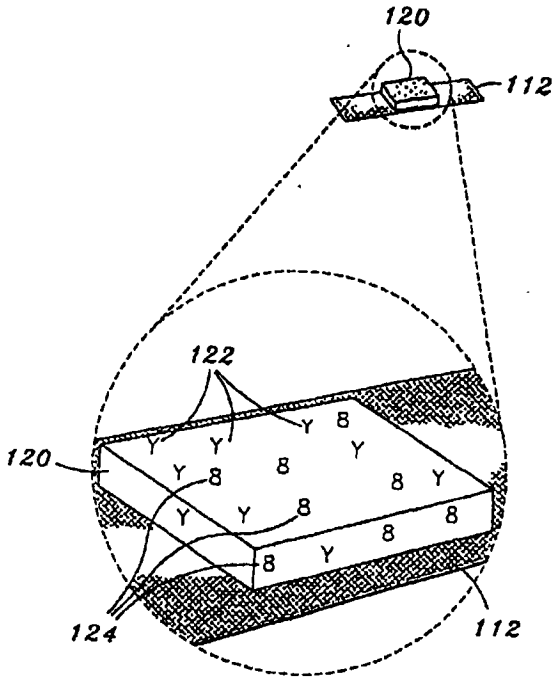


图10