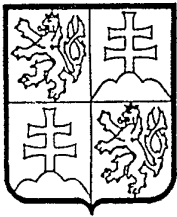


ČESKÁ A SLOVENSKÁ  
FEDERATIVNÍ  
REPUBLIKA  
(19)

# PATENTOVÝ SPIS 275 761



FEDERÁLNÍ ÚŘAD  
PRO VYNÁLEZY

(21) Číslo přihlášky : 8072-88.D  
(22) Přihlášeno : 07 12 88  
(30) Prioritní data : 08 12 87 - GB - 8728639  
  
(40) Zveřejněno : 14 05 91  
(47) Uděleno : 20 12 91  
(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 18 03 92

(13) Druh dokumentu : B6  
(51) Int. Cl.<sup>5</sup> :  
C 12 Q 1/24  
G 01 N 33/53

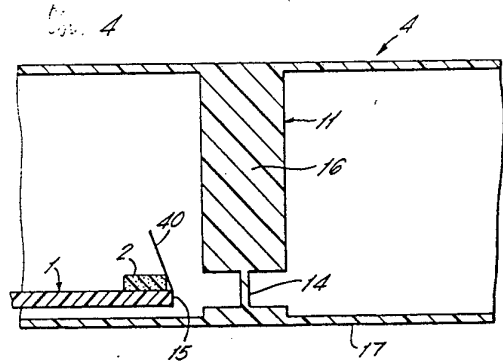
(73) Majitel patentu : SCIENTIFIC GENERICS LIMITED,  
CAMBRIDGE (GB)

(72) Původce vynálezu : STANLEY CHRISTOPHER JOHN dr.,  
ST. IVES (GB)

(54) Název vynálezu : Zařízení k provádění analýz

(57) Anotace :

Zařízení pro provádění analýz se skládá ze zkušební kazety (4, 23, 34) a z tělesa (1, 20, 30) nosiče vzorku, který je umístěn ve zkušební kazetě (4, 23, 34), která je opatřena soustavou samostatných komor s čidly, vzájemně oddělených přepážkami (11, 36), jež se při použití rozrušují. Přepážku mezi komorami může tvořit jednocestný ventil. Zkušební kazeta (4, 23, 34) je opatřena signální detekční komorou (41) oddělenou od koncové komory s čidlem přepážkou (11, 36), která se při použití rozrušuje nebo se otevírá tělesem (1, 20, 30) nosiče vzorku.



Vynález se týká zařízení k provádění analýz a zejména zařízení pro provádění analýz speciálních vzorků, jako jsou vzorky imunologické.

Je důležité zjednodušit techniku analýz, umožňující neškolenému uživateli provádět přesné komplexní analýzy. To se zvláště týká imunologických vzorků, které se ve zdravotnictví nyní provádějí namísto v klinických laboratořích na lékařských klinikách, veterinárních chirurgických odděleních a dokonce v přítomnosti pacienta nebo zvířete. Bylo to umožněno zaváděním neizotopických značek, jako jsou enzymy, jimiž je možno získávat barevně odlišené konečné výsledky, které lze interpretovat vizuálně nebo měřit jednoduchým přístrojem. Navíc byla vytvořena nová zkušební zařízení, která značně zjednodušují práci s roztoky při těchto analýzách. V zařízeních k získávání vzorků se uskutečňují specifické reakce, jako jsou interakce protilátek s antigeny v absorpční matrici nebo membráně, která je v kontaktu s určitým množstvím materiálu, který působí jako absorbent kapalin. Při použití je vzorek přiváděn k matrici nebo membráně, přidávají se činidla, načež následuje promytí a přidání substrátu enzymu, když se používá enzymového značení. Nevýhoda tohoto zařízení pro analýzu imunologického vzorku spočívá v tom, že činidla musejí být dodávána odděleně, tj. pro ruční analýzu jsou konjugát, promývací tlumicí roztok a substrát enzymu k dispozici v lahvích s kapátko, obsahujících dostatečné množství kapaliny potřebného pro provádění více analýz. Pro analýzu prováděnou v přístroji musí být činidla přidávána podle komplexních pipetovacích metod. Tato oddělená činidla zvyšují složitost analýzy a jsou příčinou chyb způsobených neškoleným uživatelem přidávajícím činidla ve špatném pořadí. V automatickém přístroji oddělená činidla značně zvyšují složitost přístroje.

Byla navržena i další zařízení pro imunologické analýzy, která používají absorpční nebo neabsorpční ponornou tyčku, na níž jsou umístěny protilátky. V těchto zařízeních přichází vzorek do styku s ponornou tyčkou, načež se přidávají značená činidla, promývání a konečně přidání substrátu, pokud se používá značený enzym nebo měření dalších značek různými prostředky. Nevýhoda tohoto systému je v tom, že činidla musí být přidávána do nádob, do nichž se ponořuje tyčka, a je třeba popřípadě oddělené promývací stanice, jakou je domovní výlevka.

Britský patent GB-A-2 073 416 popisuje dvoudílnou teleskopickou válcovou jednotku vytvářející nádobu pro jedno použití pro špičku štětce a médium s tekutou kulturou. Kuželovitá zátka utěsňuje kapalinu vůči štětcí, když jsou však teleskopické části stlačeny k sobě, zátka se otáčí tak, že se těsnění zlomí a médium s kapalnou kulturou může přijít do styku se štětcem.

Evropský patent EP-A-0 206 166 popisuje zkumavku, obsahující utěsněnou komůrku, která obsahuje kapalně médium a otevřenou komůrku, která je vně utěsněná komůrky a obsahuje zkušební vzorek. Přepážka odděluje utěsněnou a otevřenou komůru. Zkumavka je vybavena prostředky pro proniknutí přes přepážku a pro vstříknutí a injekci zkušební vzorku do kapalného média.

Cílem vynálezu je konstrukce zařízení pro provádění analýzy, které obsahuje všechna nezbytná činidla a promývací roztoky pro provádění biologických nebo chemických analýz v zařízení.

Zařízení k provádění analýz se skládá z několika vzájemně oddělených samostatných komor, obsahujících postupně činidla potřebná k provedení žádané analýzy, přičemž komory s činidlem jsou vzájemně odděleny přepážkami, které se při použití rozrušují nebo se otvírají.

Podstata vynálezu spočívá v tom, že zařízení se dále skládá z tělesa nosiče

vzorku alespoň s jednou sběrnou oblastí absorpčního materiálu vzorku, z řady komor s čínidly vytvořených v části zkušební kazety uzavřené z jednoho konce a opatřené na druhém konci alespoň jednou vstupní štěrbinou pro vložení tělesa nosiče vzorku, přičemž v části zkušební kazety je vytvořena alespoň jedna signální detekční komora, přiléhající k uzavřenému konci koncové zkušební kazety a oddělená od koncové komory s čínidly přepážkou, případně přepážkami. Zkušební kazeta obsahuje měřicí pásmo vzorku, umístěné v první komoře s čínidly v sousedství vstupní štěrbin. První komora obsahuje pásmo vzorku, umístěné v sousedství vstupní štěrbin a obsahuje destičku absorpčního materiálu. Přepážku může tvořit jednocestný ventil. Alespoň jedna nebo každá přepážka obsahuje zeslabenou část vytvořenou ve stěně nebo stěnách oddělujících komory s čínidly. Alespoň jedna nebo každá přepážka obsahuje plastickou fólii oddělující komory. Signální detekční komora je opatřena alespoň jednou průhlednou stěnou nebo okénkem. K tělesu nosiče vzorku je připevněna sběrná oblast s absorpčním materiálem připevněným k jednomu konci tělesa nosiče vzorku. Absorpční materiál je překryt ochrannou klapkou. Těleso nosiče vzorku je na svém konci odvráceném od sběrné oblasti vzorků opatřeno přírubou. Těleso nosiče vzorku má směrem k svému konci odvrácenému od absorpčního materiálu postupně větší tloušťku. Těleso nosiče vzorku obsahuje řadu ramen, z nichž každé má oblast pro sběr vzorků nebo dopravu kontrolních vzorků nebo na nich umístěných kalibrátorů.

Těleso zkušební kazety je rozděleno na řadu analytických oddělení oddělených podélnými dělicími stěnami a příčnými dělicími stěnami a je opatřeno pozorovacím okénkem.

Výhoda zařízení podle vynálezu spočívá v tom, že obsahuje všechna nezbytná čínidla a promývací roztoky potřebné k provádění biologických nebo chemických analýz.

Vynález bude dále podrobněji popsán pomocí výkresů, kde na obr. 1a je pohled na těleso nosiče vzorku zařízení podle vynálezu, na obr. 1b je řez tělesem nosičem vzorku z obr. 1a, na obr. 1c je řez alternativním tělesem nosiče vzorku, na obr. 1d je pohled na zkušební kazetu zařízení podle vynálezu, na obr. 1e je řez zkušební kazetou z obr. 1d, na obr. 2 je znázorněno těleso nosiče vzorku umístěné ve zkušební kazetě na konci analýzy, na obr. 3a a 3b jsou znázorněny dva způsoby, kterými může být těleso nosiče vzorku utěsněno ve zkušební kazetě, na obr. 4 je řez ve zvětšeném měřítku dělicí stěnou oddělující dvě komory zkušební kazety, na obr. 5 je zvětšený řez dělicí stěnou z obr. 4 s tělesem nosiče vzorku jí procházejícím, na obr. 6a a 6b jsou znázorněny těleso nosiče vzorku případně zkušební kazeta pro paralelní zpracování vzorku a kalibrátorů nebo kontrolních vzorků, na obr. 7a a 7b jsou znázorněny těleso nosiče vzorku, případně zkušební kazeta, pro paralelní zpracování vzorku a kalibrátoru nebo kontrolních vzorků nebo pro paralelní zpracování několika vzorků, na obr. 8 jsou znázorněny výsledky promývacího pokusu pro odstranění alkalické fosfatázy z tělesa nosiče vzorku v průběhu průchodu zkušební kazetou a na obr. 9 jsou znázorněny výsledky imunoenzymometrické analýzy pro lidské Ig prováděné za užití zkušební kazety.

Obr. 1a, 1b a 1c znázorňují těleso 1 nosiče vzorku. Těleso 1 nosiče vzorku je podlouhlý plastický člen, k němuž je přilepen absorpční materiál 2 na jeho jednom konci. Absorpční materiál 2 je uložen na povrchu 3 tělesa 1 nosiče vzorku a zajišťuje objem přibližně jednoho krychlového centimetru, jako oblast sběru vzorku. Zbytek tělesa 1 nosiče vzorku je materiálu prostý a provedení slouží jako držadlo. Obr. 1c znázorňuje alternativní konfiguraci, kde absorpční

materiál 2 je překryt ochrannou klapkou 40, která je připojena ke konci tělesa 1 nosiče vzorku nebo je připevněna ke konci tělesa 1 nosiče vzorku před průchodem zkušební kazetou 4 nebo během průchodu zkušební kazetou 4.

Obr. 1d a 1e schematicky znázorňují zkušební kazetu 4 použitou u vynálezu. Zkušební kazeta 4 je podlouhlé konstrukce a je vytvořena z vhodného plastického materiálu a obsahuje řadu komor označených v popisovaném provedení 5, 6, 7, 8, 9 a 41. První komora 5 je opatřena vstupní štěrbinou 10, kterou se při použití vkládá těleso 1 nosiče vzorku. Komory 5, 6, 7, 8, 9 a 41 jsou od sebe odděleny přepážkami 11, které jsou znázorněny tečkovaně. Přepážky 11 mohou tvořit i jednocestné ventily, které těleso 1 nosiče vzorku při postupu do zkušební kazety 4 vychýlí. Signální detekční komora 41 je opatřena pozorovacím okénkem 12, kterým lze těleso 1 nosiče vzorku pozorovat po plném vložení do zkušební kazety 4. První komora 5 obsahuje pásmo měření vzorku, které zpravidla obsahuje v sousedství vstupní štěrbinou 10 absorpční materiál jako bavlněnou vatu nebo polyuretanovou pěnu. Vstupní štěrbinou 10 slouží též pro setření případného nadměrného množství vzorku, z horní plochy absorpčního materiálu 2 přilepeného k tělesu 1 nosiče vzorku. Druhá až čtvrtá komora 6, 7 a 8 obsahují tekutá činidla pro příslušné prováděné analýzy.

Obr. 2 znázorňuje kombinaci zkušební kazety 4 a tělesa 1 nosiče vzorku poté, co těleso 1 nosiče vzorku bylo zcela vloženo do zkušební kazety 4. Absorpční materiál 2 vzorku přilepený k tělesu 1 nosiče vzorku je viditelný pozorovacím okénkem 12. Těleso 1 nosiče vzorku vyčnívá z konce zkušební kazety 4.

Obr. 3a a 3b schematicky znázorňují dva způsoby, kterými lze zabránit úniku kapaliny ze zkušební kazety 4 po ukončení analýzy. Jak je znázorněno na obr. 3a v řezu, těleso 1 nosiče vzorku má postupně směrem k svému konci, obrácenému od absorpčního materiálu 2, postupně větší tloušťku. Tímto způsobem zajišťuje těleso 1 nosiče vzorku utěsnění na první přepážce 11 zkušební kazety 4. Zbývající dělicí stěny zkušební kazety 4 nejsou znázorněny. Jak je znázorněno na obr. 3b, těleso 1 nosiče vzorku je opatřeno kolmou přírubou 13, která je uspořádána tak, aby zapadla do vybrání vytvořeného na vstupním konci zkušební kazety 4.

Obr. 4 a 5 schematicky znázorňují ve zvětšeném měřítku dělicí stěnu 11 zkušební kazety 4 před a po rozrušení tělesem 1 nosiče vzorku, které je zde opatřeno ochrannou pružnou klapkou 40 přes absorpční materiál 2. Jak je znázorněno na obr. 4, dělicí stěna 11 má zeslabenou část 14, dosedající na dolní povrch 17 zkušební kazety 4. Vodorovný pohyb tělesa 1 nosiče vzorku způsobuje, že špička 15 tělesa 1 nosiče vzorku dosáhne zeslabené části 14 a další pohyb ve vodorovném směru způsobí, že se dělicí stěna 11 rozruší. Obr. 5 znázorňuje těleso 1 nosiče vzorku procházející rozrušenou zeslabenou částí 14 přepážky 11 do následující komory s činidlem. Zesílená část 16 přepážky 11 zůstává v průběhu tohoto postupu nedotčena a působí jako vodičko udržující těleso 1 nosiče vzorku stlačené do blízkosti spodní plochy 17 zkušební kazety 4. Je zřejmé, že těleso 1 nosiče vzorku může zaujímat celou šířku zkušební kazety 4 nebo pouze její část, v tomto případě může mít zeslabená část 14 přepážky 11 menší šířku. Jak je znázorněno na obr. 5, mezi spodní plochu 17 zkušební kazety 4 a spodní stěnu 18 přepážky 11 se stlačí při průchodu tělesa 1 nosiče vzorku ochranná klapka 40 na absorpční materiál 3. Tím se usnadňuje analýza spotřebováním činidla v jedné komoře 2 dříve než je vystaveno další činidlo působení v následující komoře. Je-li to žádoucí, mohou být klapky 40 uspořádány v každé komoře.

Jsou různé způsoby, jimiž je možno zkonstruovat stěny a oddělené komory s čínidly zkušební kazety 4. Vhodnými výrobními postupy je možno spojit vnitřní stěny a boční stěny s horními a dolními stěnami, například ultrazvukovým svařením nebo lepením. Je též možné odlít boční, vnitřní a spodní stěny s otevřenými okénky ve vnitřních stěnách, poté je utěsnit plastickou fólií uvnitř každé komory a horní stěnu připojit ultrazvukovým svařením nebo přilepením po naplnění komor tekutými čínidly. Třetí výhodný způsob provedení je vytvoření komor jako samostatných jednotek přibližně ve tvaru krychlí a zakrýt otevřené čelo jednotky plastickou fólií před naplněním tekutým čínidlem. Jednotka s komorami se potom utěsňuje přiložením plastické fólie na zbyvající čelní stěnu. Kompletní zkušební kazeta 4 je sestavena z jednotlivých komorových jednotek do podélného sledu a zpevněním jejich tvarů plastickou svorkou nebo jejich utěsněním v plastické trubici.

Obr. 6a a 6b znázorňují schematicky zkušební kazety 23 pro paralelní zpracování daného vzorku a kalibrátoru nebo zkušebních vzorků. Těleso 20 nosiče vzorku je podobné konstrukce jako těleso 1 nosiče vzorku popsaného podle obr. 1 a obsahuje oblast 21 sběru vzorku. Na tělese 20 nosiče vzorku jsou rovněž připevněny kontrolní a kalibrační oblasti 22. Zkušební kazeta 23, která je znázorněna na obr. 6b, má podlouhlé pozorovací okénko 24. Zkušební kazeta 23 je uvnitř vytvořena jako zkušební kazeta 4, jednotlivosti nejsou znázorněny. Po ukončení analýzy může být oblast 21 vzorku srovnávána s kontrolními a kalibračními oblastmi 23 přes pozorovací okénko 24.

Obr. 7a a 7b znázorňují schematicky zkušební kazetu 34, pro paralelní zpracování vzorku a kalibrátorů nebo kontrolních vzorků nebo pro paralelní zpracování většího počtu vzorků buď od téhož pacienta nebo zvířete, nebo od různých pacientů či zvířat. Dále je znázorněno těleso 30 nosiče vzorku, opatřené soustavou ramen 31, které jsou dohromady propojeny můstkem 32. Ramena 31 a můstek 32 jsou vytvořeny z jediné destičky z litého plastického materiálu. Na konci ramen 31 vzdáleného od můstku 32 jsou uspořádány oblasti 33, určené buď pro vzorky, nebo pro kalibrátory a kontrolní vzorky podle potřeby, v závislosti na prováděné analýze. Zkušební kazeta 34, která je znázorněna na obr. 7b, má podélné dělicí stěny 35 a příčné dělicí stěny 36. Příčné dělicí stěny 36 jsou rozrušitelné nebo otevíratelné rameny 31 tělesa 32 nosiče vzorku. Zkušební kazeta 34 je rovněž opatřena pozorovacími okénky 37, takže po ukončení analýzy mohou být pozorovacími okénky 37 porovnávány různé oblasti 33. Jednotlivé komory s čínidly jsou udržovány odděleně od sousedících komor s čínidly.

S tímto daným typem zařízení, obsahujícím pevné podélné oddělující stěny, je možné uskutečnit řadu analýz. V imunologické analýze mohou být prováděny současné analýzy příbuzných substancí, jako hormonu stimulačního štítnou žlázou, tyroxinu a triiodothyroninu, které jsou často všechny měřeny, když se určuje stav štítné žlázy pacienta. V biologické analýze může být současně v jediné zkušební kazetě tohoto typu prováděna řada krevních biochemických testů na vzorku pacienta, skládající se například z analýzy glukózy, totálního proteinu, sodíku, draslíku, creatininu a cholesterolu.

Zařízení podle obr. 1 až 5 na výkresech bude dále popsáno v níže uvedených příkladech provádění imunologické analýzy.

## Příklad 1

Klíčovým rysem zkušební kazety 4 podle vynálezu je účinné oddělení volného značkování činidla od vázaného značkování činidla v imunologické analýze nebo analýze vzorku deoxyribonukleové kyseliny. Byl proveden pokus dokázat, že typicky značený enzym, jako je alkalická fosfatáza, může být přímo odstraněn z absorpční oblasti tělesa 1 nosiče vzorku. Na konec tělesa 1 nosiče vzorku, vytvořeného z metylmetakrylátu o rozměrech 15 cm x 2 cm x 2 cm, byl přilepen kousek velmi tlusté, plně retikulované polyuretanové pěny o rozměrech 1 cm x 1 cm x 1 cm. Do pěny se přidalo 50 mikrolitrů roztoku alkalického fosfátu ve 100 mM tris tlumicího roztoku o pH 7,5 při koncentraci 10 mikrogramů na ml a těleso 1 nosiče vzorku bylo jemně vtlačeno řadou komor ve zkušební kazetě 4 vytvořené z metylmetakrylátu. Každá komora měla rozměry 2 cm x 1 cm x 1 cm a byla oddělena rozlomitelnou stěnou, obsahující 5 mikrometrů silnou fólii plastického polyvinylchloridu nataženého přes okénko, vyříznuté v oddělovacích stěnách. Komory byly naplněny 2,5 mililitry 100 mM tris tlumicího roztoku o pH 7,5 obsahujícího 0,1 objemových procent polyoxyetylen-sorbitanmonolaurátu a 0,1 % (hmotnost na objem) azidu sodného. Po ukončení postupu byl z každé komory vzat vzorek 100 mikrolitrů a přidán do kyvety spektrofotometru, obsahující 0,9 mililitrů roztoku, obsahujícího 2 miligramy na mililitr p-nitrofenol fosfátu ve 100 mM dietanolaminového tlumicího roztoku majícího pH 9,5. Četnost objevení se p-nitrofenolu byla měřena na 405 nm a byla vzata jako indikace aktivity enzymu. Obr. 8 znázorňuje aktivitu enzymu zjištěnou v každé následné komoře zkušební kazety 4 poté, co jí prošlo těleso 1 nosiče vzorku. Výsledky ukazují, že po projití šesti komorami bylo množství alkalické fosfatázy zůstávající v pěně sníženo na nulu.

## Příklad 2

Imunoenzymometrická analýza ke stanovení lidského IgG byla prováděna ve zkušební kazetě 4 popsané v příkladu 1. V tomto případě byly komory naplněny následně konjugátem obsahujícím značené protilátky, načež následovalo pět promývacích komor a signální detekční komora, naplněná substrátem enzymu 2 miligramy na litr p-nitrofenol fosfátu ve 100 mM dietanolaminového tlumicího roztoku majícím pH 9,5. Enzymem značený konjugát představoval polyklonální králičí protilátky proti lidskému IgG konjugované a alkalickou fosfatázou pomocí glutaraldehydové metody. Konjugát byl rozpuštěn ve 100 mM tris tlumicího roztoku majícího pH 7,5, obsahujícího 0,5 % (hmotnosti na objem) kaseinu, 1 mM chloridu horečnatého a 0,04 % (hmotnost na objem) thimerosalu při koncentraci konjugátu 4 mikrogramy na mililitr. Tentýž antihumánní IgG použitý v konjugátu byl také immobilizován do velmi husté polyuretanové pěny plně retikulovaného typu pasivním absorpčním procesem zahrnujícím saturaci pěny roztokem protilátek při koncentraci 5 mikrogramů na mililitr ve 200 mM tlumicího roztoku uhličitanu sodného majícího pH 9,0 a inkubovaného 16 hodin při 37 °C.

Po pokrytí protilátkami byla pěna třikrát promývána roztokem obsahujícím 100 mM tris tlumicího roztoku o pH 7,5 a 0,5 % (hmotnostních na objemové) kaseinu a byla sušena na vzduchu při pokojové teplotě, tj. při 22 °C. Blok o rozměrech 1 cm x 1 cm x 1 cm pěny pokryté protilátkou byl přilepen ke konci tělesa nosiče vzorku o rozměrech 15 cm x 2 cm x 2 mm. Pro provedení analýzy se na blok pěny pipetovala alikvotní část 50 mikrolitrů roztoku 100 mM tris tlumicího roztoku o pH 7,5 obsahujícího různé koncentrace lidské IgG a těleso 1 nosiče vzorku

bylo okamžitě jemně vtlačeno za sebou následujícími komorami do zkušební kazety 4, a to bez přestávek. Rozměry zkušební kazety 4 a složení promývacích tlumících roztoků byly stejné, jak bylo popsáno v příkladu 1. Barevný vývoj v signální detekční komoře 4 pokračoval deset minut předtím, než se provedlo měření při 405 nm. Obr. 9 znázorňuje křivku vlivu dávky na řadu individuálních analýz lidského IgG se zvyšující se koncentrací antigenu. Experiment ukazuje, že konstrukce zkušební kazety 4 zajišťuje rychlou a kvantitativní analýzu lidského IgG. Rychlost, se kterou může být analýza prováděna, je umožněna velmi rozsáhlou plochou povrchu ve velmi hustě retikulované pění, která zajišťuje rychlou kinetiku reakce. Je také výhodné mít mechanicky řízený tok kapalných činidel pěnou pro zajištění dalšího zrychlení reakce.

Z uvedených příkladů je zřejmé, že každá zkušební kazeta 4, 23, 34 je samostatná a vyžaduje pouze vložení tělesa 1, 20, 30 nosiče vzorku, načež následuje jednoduchá mechanická manipulace pro zkompletování analýzy. Výsledky analýzy jsou viditelné pro operátora, pokud je zvoleno kolorimetrické konečné zbarvení a pokud je měřen také vzorek, může být koncentrace neznámého materiálu ve vzorku určena ve vztahu ke kalibrátorům nebo měřením, která probíhají současně v průběhu analýzy. Toto určení může být prováděno vizuálně pro dosažení kvalitativního nebo polokvantitativního výsledku nebo může být použito měřicího přístroje pro převod nebo odraz kvantitativního výsledku. Jako dalších alternativ zjištění výsledků analýzy je možno použít elektrochemické značky, například podle evropského patentu EP-A-0142301 nebo radioaktivní, chemiluminiscenční nebo fluorescenční značky. Základní konstrukční princip zkušební kazety je aplikovatelný v mnoha stadiích analýzy a náhrada vhodných činidel umožňuje provádění jak biochemických, tak chemických analýz neškolenými operátory.

Těleso 1, 20, 30 nosiče vzorků může být opatřeno plastikovou značkou, například destičkou z metylmetakrylátu polystyrénu, nylonu nebo acetylcelulózy. Při imunologické analýze je speciální vazební činidlo, jako jsou protilátky nebo antigeny, vázáno na oblast aplikace vzorku. Specifická činidla mohou být přímo vázána k plastikovému povrchu známým způsobem, jako jsou pasivní absorpce nebo kovalentní vazba. Mohou být takto vázána k absorpční membráně nebo vložce z nylonové, polyuretanové nebo polyeterové pěny nebo k celulóze nebo jinému stlačitelnému materiálu, a to pasivní absorpcí nebo kovalentní vazbou. Mohou být vázána například k částicím polystyrénu nebo dextransu, které jsou udržovány na místě absorpčním materiálem 2. V případě přímého připojení k plastikovému povrchu je žádoucí pokrýt povrch vrstvou absorpčního materiálu 2. Ve všech třech případech, které byly popsány, je vzorek pipetován nebo přidáván bez měření do sběrné oblasti vzorků a přijímán absorpčním materiálem 2. Nadměrná kapalina, pokud nějaká je, zůstává na povrchu. Vzorkem pro imunologické zkoušky může být například moč, krev, sérum nebo plazma.

V jiných oblastech tělesa 1, 20, 30 nosiče vzorku mohou být jak kalibrátory, tak ovladače vloženy v průběhu výroby a mohou být chráněny od vzorku, který má být zkoumán, odstranitelným krytem, například klapkou 40. V další modifikaci může být jako vrchní vrstvy tělesa 1, 20, 30 nosiče vzorku použito filtrační vrstvy nebo vrstvy pro odstranění částic, jako jsou červené krvinky, dříve než dosáhnou vrstvy protilátek. Filtrační vrstva může obsahovat protilátky proti červeným krvinkám, a tak pomáhá při jejich odstraňování.

Tělesa 1, 20, 30 nosiče vzorků obsahující vzorek se vtlačují do zkušební kazety 4, 23, 34 pro dokončení technologické analýzy. Zkušební kazeta 4, 23, 34 obsahuje řadu samostatných komor s činidly, jimiž jsou pro daný typ technologické zkoušky promývací komora, konjugační komora, další soustava promývacích komor

a signální detekční komora 4. Alternativně pokud se nevyžaduje první promývání, pak komůrky s činidly pro danou prováděnou imunologickou analýzu za sebou následují v pořadí konjugační komora, řada promývacích komor a signální detekční komora. Určité komory ve zkušební kazetě 4, 23, 34 mohou být ponechány prázdné, aby se zajistilo účinnější odstranění tekutých činidel z oblasti sběru vzorku. Signální detekční komora 4 může být naplněna činidlem, například substrátem enzymu, nebo může být ponechána prázdná, pokud se má provádět měření fluorescence nebo radioaktivity. Pokud je to žádoucí, může být těleso 1, 20, 30 značkováno nebo kalibrováno tak, aby operátor měl pomůcku pro zjištění, že je analýza prováděna správně, například těleso 1, 20, 30 nosiče vzorku může být opatřeno značkami, které indikují operátorovi, že těleso 1, 20, 30 nosiče vzorků je umístěno v určité komoře s činidlem. Operátorovi může být též umožněno vést v evidenci dobu, po kterou těleso 1, 20, 30 nosiče vzorku má zůstat v dané komoře.

Je zřejmé, že ačkoliv nosič vzorku může být používán v imunologické analýze, jak je popsáno výše, může být také používán ke vzorkování jiných kapalin, jako je mléko, sedimentační roztok, voda z řeky, jezera nebo moře, k provedení jejich analýzy. Alternativně může být nosič vzorku používán pro vzorkování vzduchu atmosférickým aerosolem nebo suspenzí částic, které se stáhnou na absorpční matici na nosiče vzorku sáním nebo použitím difuzéru.

Při analýze vzorku deoxyribonukleové kyseliny umožňuje zkušební kazeta 4, 23, 34 značné zjednodušení analytického postupu. Nosič vzorku 1, 20, 30 je adaptován tak, aby nesl vzorek obsahující deoxyribonukleovou kyselinu, což mohou být krev nebo tkáňová vlákna nebo jiná biologická kapalina obsahující buňky nebo viry s obsahem deoxyribonukleové kyseliny nebo ribonukleové kyseliny. Vzorek může být také vzat z kultury buněk bakterií. Vnitřní uspořádání zkušební kazety 4, 23, 34, pokud jde o komory, by bylo, v následujícím sledu, lysis buněk nebo extrakční komora deoxyribonukleové kyseliny nebo ribonukleové kyseliny s přídavnou vnější ultrazvukovou jednotkou nebo vyhřívací jednotkou pro usnadnění rozbití vzorku, komora obsahující značkovanou sondu, kde značka může být radioaktivní, fluorescenční, chemiluminiscenční nebo biotin, k němuž se může vázat konjugát avidin-enzym, řada promývacích komor pro odstranění nadměrného množství vzorku a signální detekční komora 4. Alternativně, pokud deoxyribonukleová kyselina nebo ribonukleová kyselina byly už vyčištěny od materiálu vzorku před přikládáním na nosič 1, 20, 30 vzorku, může být první komora pro lysis buňky nebo extrakci vynechána. V těchto příkladech se deoxyribonukleová kyselina nebo ribonukleová kyselina ze vzorku mohou vázat specificky nebo nespecificky k nosiči vzorku. V dalším příkladu analýzy vzorku deoxyribonukleové kyseliny, prováděné ve zkušební kazetě 4, 23, 34, jedna komora nebo za sebou jdoucí komory mohou obsahovat teplotně stabilní polymerázu deoxyribonukleové kyseliny, jako je ta, která je získána purifikací z *Thermus aquaticus*, a také iniciátory oligonukleotidů nebo polynukleotidů a trifosfáty nukleotidů. Aplikace násobných vnějších vyhřívacích a chladičích cyklů na zkušební kazetu umožní zesílení vzorku deoxyribonukleové kyseliny podle způsobu popsaného v americkém patentu č. 4 683 195. Přítomnost těchto zesilovacích prvků deoxyribonukleové kyseliny ve zkušební kazetě 4, 23, 34 zajistí, že velmi velká množství deoxyribonukleové kyseliny, která mohou být vytvořena metodou reakčního polymerového řetězce, zůstávají utěsněna v komorách a nemohou uniknout do vnějšího okolí. Tímto způsobem může být zabráněno kontaminaci laboratorních prostor koncentrací deoxyribonukleové kyseliny, což jinak představuje rostoucí nebezpečí.



Je snaha automatizovat složité a časově náročné imunologické analýzy a postupy se vzorky deoxyribonukleové kyseliny. Lze toho dosáhnout, zachováním existujících analytických zařízení, jako jsou testovací trubice, mikrotitrové sondy nebo složitější materiály s pevnou strukturou, jako celulózu pokryté magnetické částice, nebo vytvořením složitého mechanického zařízení s mnoha funkcemi, jako je transport, pipetování činidel, promývání a přidávání detekčního činidla. Zkušební kazety a jejího uspořádání lze využít jako alternativní cesty k automatizaci. Poněvadž kazeta je zcela samostatná a všechna činidla jsou do ní uložena v průběhu výroby, není třeba přidavného měřicího činidla nebo promývacích úkonů. Po přidání vzorku na nosič vzorku přístroj dokončí analýzu prostým vtlačením nosiče 1, 20, 30 vzorku do zkušební kazety 4, 23, 34 do doby kdy absorpční oblast zcela dosáhne signální detekční komory 41. Zkušební kazety 4, 23, 34 může být používáno se standardními antigenovými roztoky pro kalibraci přístroje nebo do každé takové zkušební kazety mohou být vestavěny kalibrátory a kontroly, z nichž přístroj může konstruovat kalibrační křivku.

Zkušební kazeta 4, 23, 34 může také obsahovat pásmo měření vzorku, které je umístěno v sousedství vstupní štěrby 10. Pásmo měření vzorku s výhodou zahrnuje absorpční materiál 2, jako je bavlněný chomáč nebo polyuretanová pěna, umístěný v blízkosti vstupní štěrby 10, kterým se nadměrná kapalina vzorku, pokud nějaká je, odstraňuje z tělesa 1, 20, 30 nosiče vzorku. Pásmo měření vzorku je obecně odděleno od první komory 5 činidla přepážkami 11, 36, které se při použití rozrušují nebo otevírají tělesem 1, 20, 30 nosiče vzorku.

Přepážky 11, 36, které oddělují komory činidel od sebe a od měřicího pásma a od signální detekční komory 41, se rozrušují nebo otevírají tělesem 1, 20, 30 nosiče vzorku, který je vkládán do zkušební kazety 4, 23, 34. Přepážky 11, 36 mohou tvořit například jednocestné ventily nebo plastické fólie utěsněné přes okénko nebo zeslabená oblast 14, vytvořená ve stěně oddělující komory od sebe, která se při tlaku tělesa 1, 20, 30 nosiče vzorku proti ní rozruší. Je zřejmé, že jiná zkušební kazeta může být opatřena více než jedním typem přepážek, pokud je to žádoucí.

Signální detekční komora 41 je s výhodou opatřena alespoň jednou průsvitnou stěnou nebo okénkem 12, 37, takže signál signalizující výsledek může být měřen opticky prostřednictvím vhodného měřicího přístroje. Signální detekční komora 41 může mít také tvar odlišný od předcházejících komor pro usnadnění měření signálu.

Abyste se zajistilo utěsnění tělesa 1, 20, 30 nosiče vzorku ve zkušební kazetě 4, 23, 34 na konci analýzy a takto se zabránilo úniku činidel ze zkušební kazety 4, 23, 34, může být těleso 1, 20, 30 nosiče vzorku vytvořeno buď tak, aby se zesilovalo, tj. při použití zajistí po utěsnění na první přepážce, nebo k jeho konci, který je odvrácen od sběru vzorku, může být připevněna příruba 13, která je vytvořena tak, aby zapadala do zahlobení vytvořeného na vstupním konci tělesa zkušební kazety 4, 23, 34.

U provedení zařízení podle vynálezu může být podle obr. 7a, 7b toto zařízení, jak je shora uvedeno, uzpůsobeno pro paralelní zpracování daného vzorku a kalibrátoru nebo kontrolních vzorků nebo může být používáno pro paralelní zpracování soustavy vzorků z téhož pacienta nebo zvířete nebo různých pacientů či zvířat. U tohoto provedení je těleso 30 nosiče vzorku a zkušební kazety 23, 34 jsou příčně rozšířené, aby zajistily větší počet dalších oblastí na nosiči vzorku, který může mít kontrolní materiály vkládány v průběhu výroby nebo kontrolní materiály přidávány v téže době, jako vzorek nebo další oblasti

sběru vzorku. Kontrolní oblasti mohou být chráněny od vzorku, který má být analyzován, odnímatelným krytem, který může být buď sejmuto operátorem před prováděním analýzy, nebo může být automaticky odstraněn prostředky zajištěnými ve zkušební kazetě 23, 34, když je nosič vzorku 30 do něho vkládán. Analýza se provádí způsobem, který byl již popsán, a obraz pak může být srovnáván s kontrolními nebo kalibračními oblastmi při ukončení analýzy.

Variace při návrhu zkušební kazety, používané u tohoto vynálezu, mohou být zaváděny v závislosti na sledu činidel požadovaných pro provádění dané analýzy. Je pouze nutné nastavit počet komor s činidly a činidla obsažená v každé následné komoře podle požadavku.

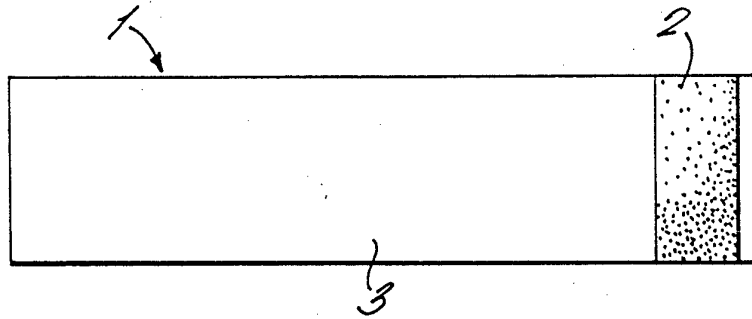
Zařízení pro provádění analýzy podle vynálezu může být používáno v mnoha oblastech imunologické analýzy nebo analýzy deoxyribonukleové kyseliny nebo ribonukleové kyseliny. Například složkami pro jednoduché proteiny, uhlovodíky nebo analýzy tuků, když se má zjistit stav výživnosti krmných materiálů. Nebo lze provádět měření znečištění zdrojů pitné vody na fosfáty, dusičnany nebo jiné látky za použití vhodných činidel. Existuje ještě mnoho dalších aplikací, pro které lze použít zařízení podle vynálezu, kde důležité rysy automatického měření vzorku, současného zpracovávání vzorků a kalibrátorů nebo kontrolních vzorků a integrální komory s činidly dávají neškolenému uživateli spolehlivý a snadný analytický systém.

#### P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Zařízení k provádění analýz, složené z několika vzájemně oddělených samostatných komor obsahujících postupně činidla potřebná k provedení žádané analýzy, přičemž komory s činidlem jsou vzájemně odděleny přepážkami, které se při použití rozrušují nebo otvírají, vyznačující se tím, že zařízení dále se skládá z tělesa (1, 20, 30) nosiče vzorku alespoň s jednou sběrnou oblastí absorpčního materiálu (2, 22, 33) vzorku, z řady komor s činidly vytvořených v části zkušební kazety (4, 23, 34) uzavřené z jednoho konce a opatřené na druhém konci alespoň jednou vstupní štěrbinou (10) pro vložení tělesa (1, 20, 30) nosiče vzorku, přičemž v části zkušební kazety (4, 23, 34) je vytvořena alespoň jedna signální detekční komora (41) přiléhající k uzavřenému konci zkušební kazety (4, 23, 34) a oddělená od koncové komory s činidly přepážkami (11, 36).
2. Zařízení podle bodu 1, vyznačující se tím, že zkušební kazeta (4, 23, 34) obsahuje měřicí pásmo vzorku, umístěné v první komoře (5) s činidly v sousedství vstupní štěrbině (10).
3. Zařízení podle bodu 2, vyznačující se tím, že první komora (5) obsahuje pásmo vzorku umístěné v sousedství vstupní štěrbině (10) a obsahuje destičku absorpčního materiálu (2).
4. Zařízení podle bodu 1, vyznačující se tím, že přepážku (11) tvoří jednocestný ventil.
5. Zařízení podle bodu 1, 2, 4, vyznačující se tím, že alespoň jedna nebo každá přepážka (11) obsahuje zeslabenou část (14), vytvořenou ve stěně nebo stěnách (16) oddělujících komory s činidly.

6. Zařízení podle bodů 1, 2, 4, 5, vyznačující se tím, že alespoň jedna nebo každá přepážka (11) obsahuje plastickou fólii oddělující komory.
7. Zařízení podle bodu 1, vyznačující se tím, že signální detekční komora (41) je opatřena alespoň jednou průhlednou stěnou nebo okénkem (12, 37).
8. Zařízení podle bodů 1 až 7, vyznačující se tím, že k tělesu (1, 20, 30) nosiče vzorků je připevněna sběrná oblast s absorpčním materiálem (2, 22, 33), připevněným k jednomu konci tělesa (1, 20, 30) nosiče vzorku.
9. Zařízení podle bodu 1, vyznačující se tím, že absorpční materiál (2, 22, 33), je překryt ochrannou klapkou (40).
10. Zařízení podle bodu 1, vyznačující se tím, že těleso nosiče vzorku (1, 20, 30) je na konci odvráceném od sběrné oblasti absorpčního materiálu (2, 22, 33) opatřeno přírubou (13).
11. Zařízení podle bodů 1, 8, 9, vyznačující se tím, že těleso (1, 20, 30) nosiče vzorku má směrem k svému konci odvrácenému od absorpčního materiálu (2, 22, 33) postupně větší tloušťku.
12. Zařízení podle bodu 1, vyznačující se tím, že těleso (30) nosiče vzorků obsahuje řadu ramen (31), z nichž každé má sběrnou oblast (33) pro sběr vzorků nebo dopravu kontrolních vzorů nebo na nich umístěných kalibrátorů.
13. Zařízení podle bodu 1, vyznačující se tím, že část (34) zkušební kazety (30) je rozdělena na řadu analytických oddělení oddělených podélnými dělicími stěnami (35) a příčnými dělicími stěnami (36) a je opatřena pozorovacím okénkem (37).

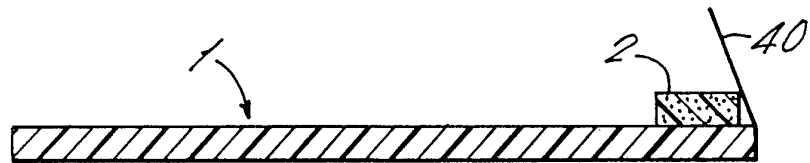
Obv. 1a



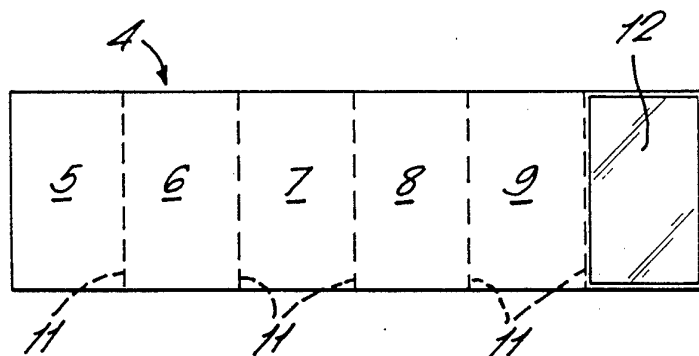
Obv. 1b



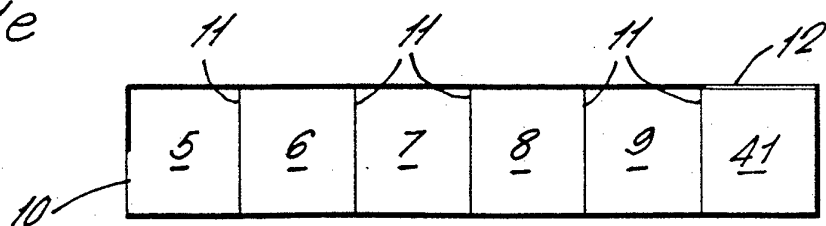
Obv. 1c

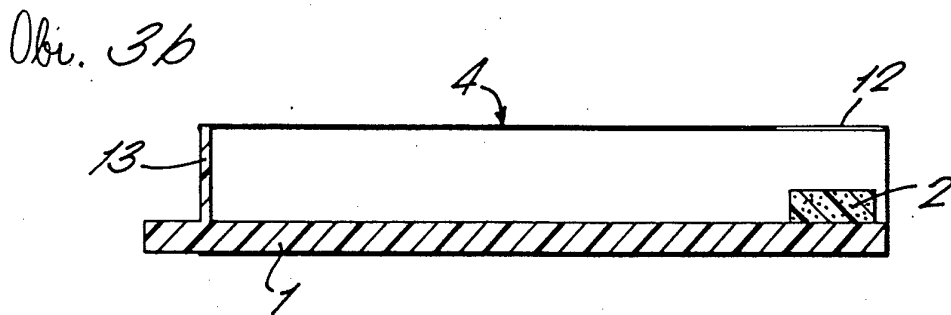
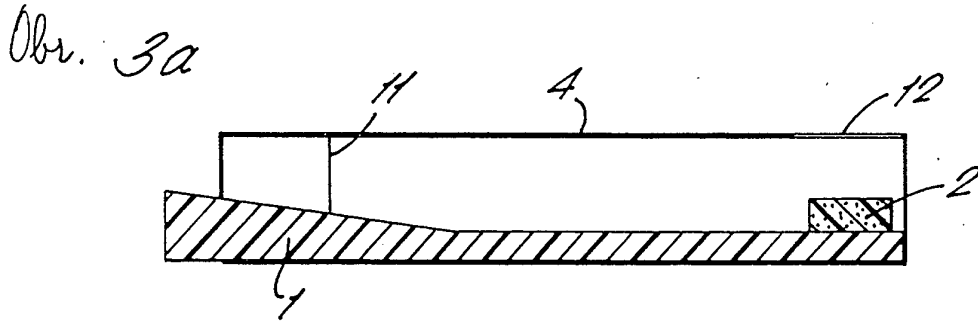
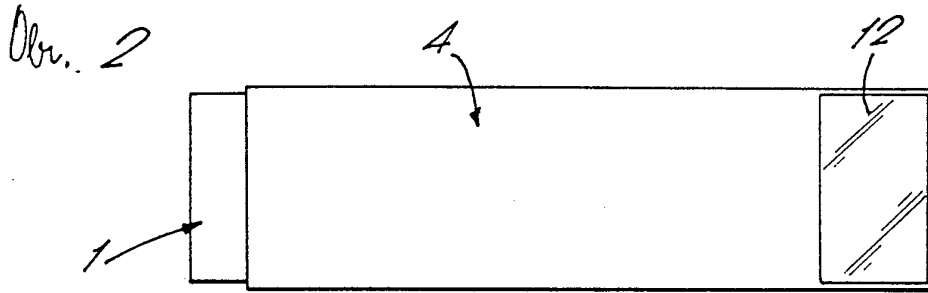


Obv. 1d

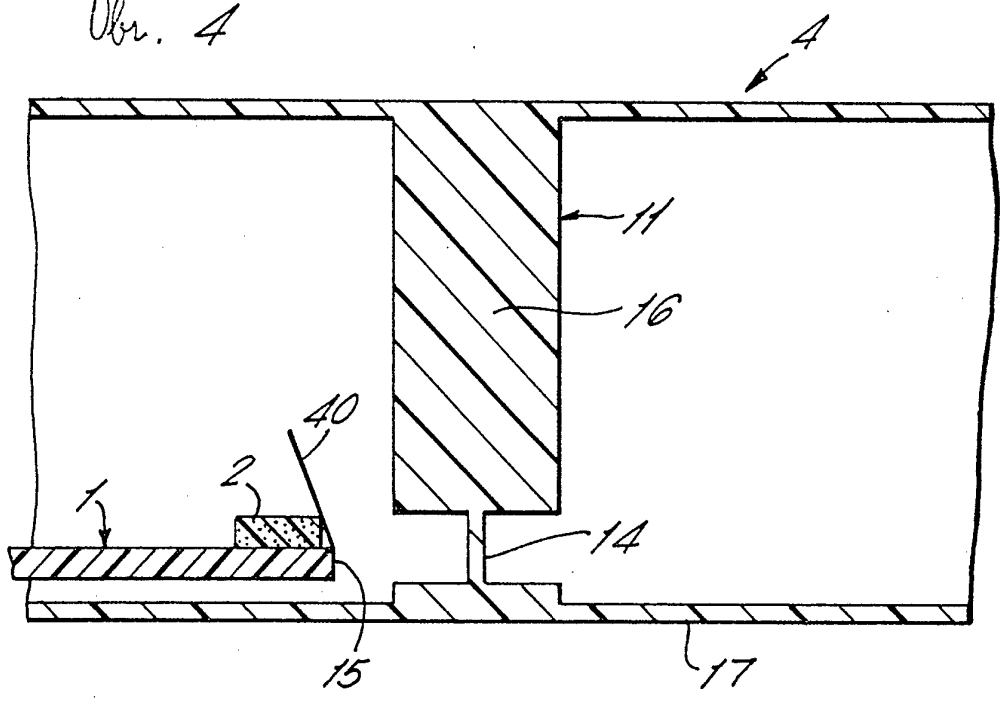


Obv. 1e

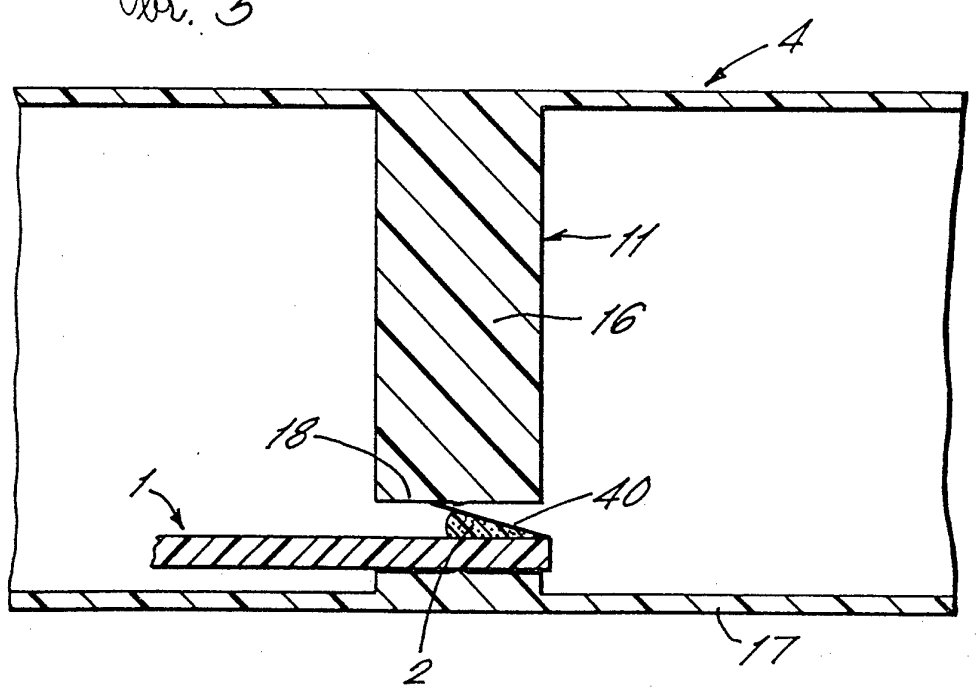




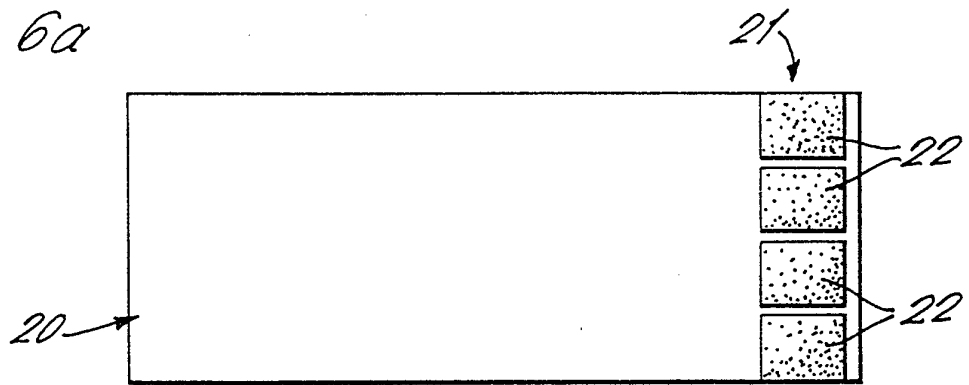
Obr. 4



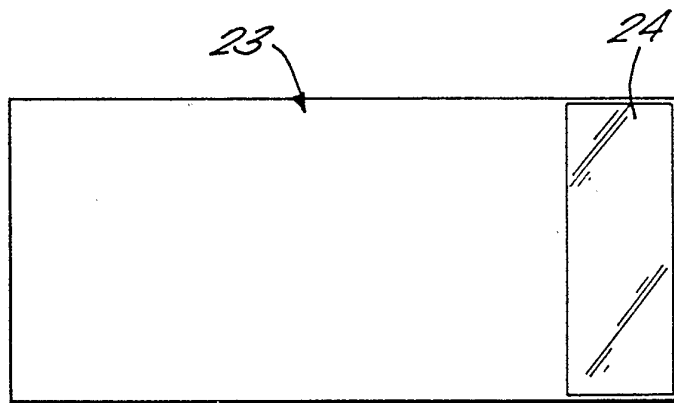
Obr. 5



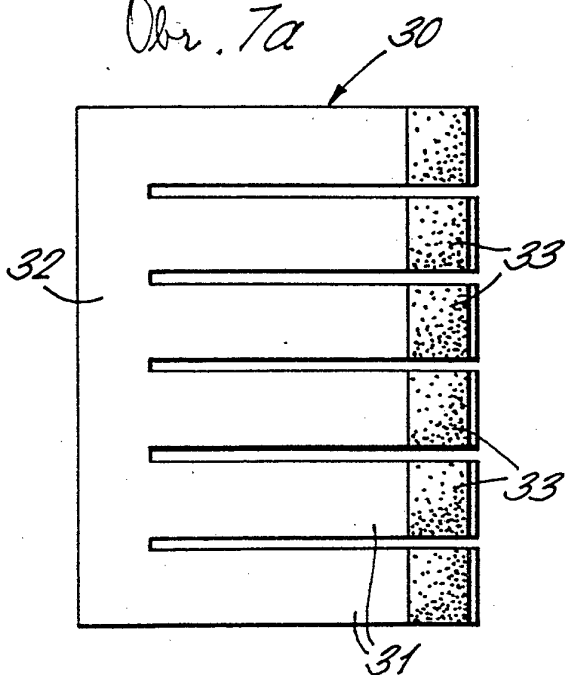
Obr. 6a



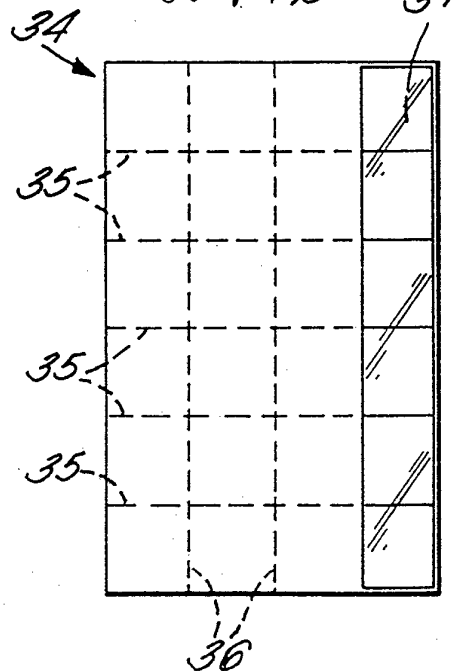
Obr. 6b



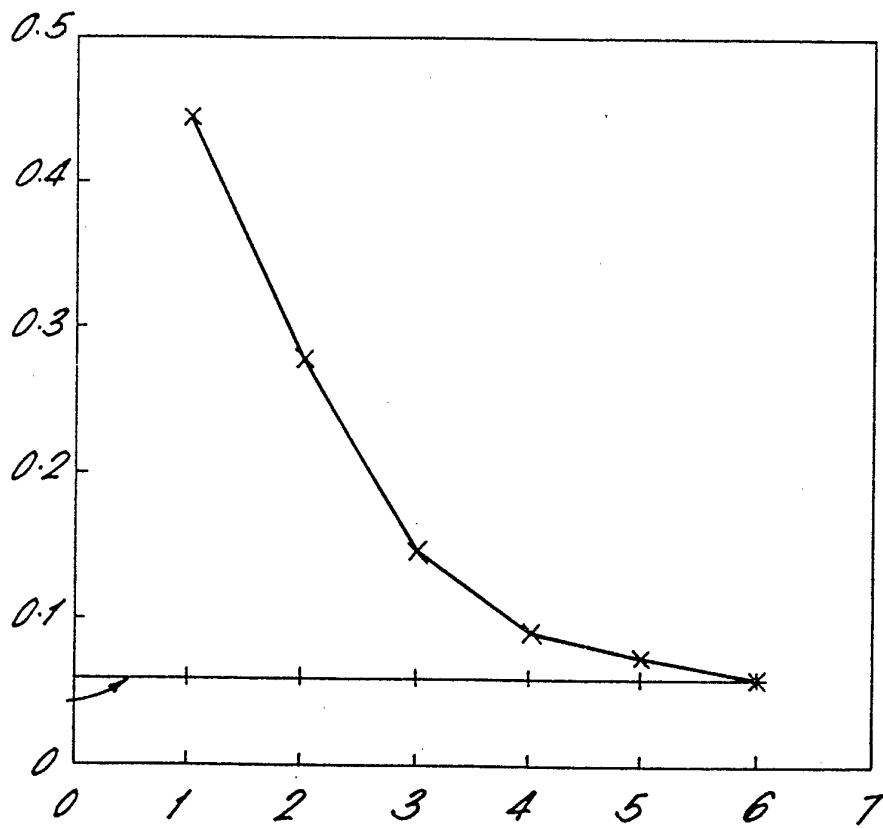
Obr. 7a



Obr. 7b



Abv. 8





CS 275 761 B6

Obs. 9

