SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**

ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(22) Dátum podania: 31.03.94

(31) Číslo prioritnej prihlášky: 08/040 430

(32) Dátum priority: 31.03.93

(33) Krajina priority: US

(43) Dátum zverejnenia: 05.06.1996

(86) Číslo PCT: PCT/US94/03568, 31.03.94

(21) Číslo dokumentu:

1227-95

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[6] :

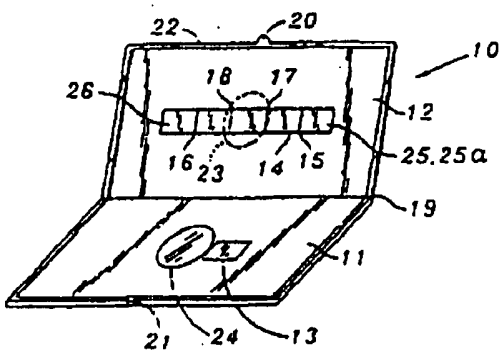
G 01N 33/558,
G 01N 33/543

(71) Prihlasovateľ: Smithkline Diagnostics, San Jose, CA, US;

(72) Pôvodca vynálezu: Chandler Howard M., Yarmouth, ME, US;
Piasio Roger N., Cumberland, ME, US;
Prouty Karen, West Buxton, ME, US;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Zariadenie na chromatografické stanovenie s protiľahlými prvkami**

(57) Anotácia:
Zariadenie na chromatografické stanovenie pre imunostanovenie umožňuje rýchle a pohodlné stanovenie analyzátov biologického charakteru a umožňuje extrakciu in situ, takže nie sú potrebné extrakčné nádobky. Zariadenie má širokú dynamickú škálu a zabraňuje interferencii partikulí, alebo farebných zložiek. V jednej forme obsahuje: (prvý protiľahlý komponent (11), ktorý obsahuje preparačnú zónu pre vzorku adaptovanú na prijatie vzorky; a (2) druhý protiľahlý komponent (12) s obsahom chromatografického média (14). Prvý a druhý protiľahlý komponent môžu byť uvedené do protipostavenia, čo spôsobí, že preparačná zóna pre vzorku aplikuje testovanú vzorku na chromatografické médium. Výhodne je analyzát detegovaný pomocou vizuálnej detekčnej značky. Iné vyhotovenia zariadenia majú obmenu usporiadania komponentov za účelom optimálnej chromatografie pre množstvo analyzátov, rovnako však umožňujú dvojsmernú chromatografiu; iné vyhotovenia sú vhodné na kompetitívne imunostanovenia. Zariadenie môže byť súčasťou testovacích súprav, opísané sú sendvičové a kompetitívne metódy na stanovenie za použitia zariadenia.



PV 1227-95

ZARIADENIE S PROTIĽAHLÝMI KOMPONENTAMI NA CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENIE

Oblasť techniky

Vynález sa týka zariadenia s protiľahlými komponentami na chromatografické stanovenie. Je zameraný na testovanie prúžkov na stanovenie charakteristík vo vzorkách v jednotnom zastrešení, na súpravy s obsahom skúšobných prúžkov a zariadenia, na metódy stanovenia charakteristík vo vzorkách použitím skúšobných prúžkov a zariadení.

Doterajší stav techniky

Medzi mnohé analytické systémy ktoré sa používajú na detekciu a/alebo stanovennie analyzátu, predovšetkým analyzátu biologického charakteru, patria systémy chromatografického stanovenia. Medzi najčastejšie stanovované analyzáty pomocou takýchto systémov patria:

(1) hormóny, ako ľudský choriový gonadotropín (hCG), často stanovovaný ako markér ľudskej gravidity;

(2) antigény, hlavne antigény špecifické voči bakteriálnym, vírusovým a protozoálnym patogénom, ako Streptococcus, vírus hepatitídy a Gardia;

(3) protilátky, zvlášť protilátky vytvorené ako výsledok patogénnej infekcie, ako protilátka voči baktérii Helicobacter pylori a voči vírusu ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV);

(4) iné proteíny, ako hemoglobín, často stanovovaný v stolici pri okultnom krvácaní, ktorý indikuje gastrointestinálne poruchy napríklad rakovinu čreva;

(5) enzýmy, ako aspartát aminotransferáza, laktát dehydrogenáza, alkalická fosfatáza a glutamát dehydrogenáza,

často stanovované ako indikátory fyziologickej funkcie a poškodenia tkaniva;

(6) liečivá, tak terapeutické látky ako sú antibiotiká, trankvilizéry a antikonvulzíva, ako aj nedovolené, zneužívané lieky ako sú kokaín, heroín a marihuana;

(7) znečisťovatele životného prostredia ako sú pesticídy a aromatické uhlovodíky a

(8) vitamíny

Takéto chromatografické systémy často používajú lekári a laboranti na rýchlu diagnózu v ordinácii a na terapeutické monitorovanie mnohých stavov a porúch. Vo zvýšenej miere ich používajú samotní pacienti pri domácom monitorovaní takýchto stavov a porúch.

Najdôležitejším v týchto systémoch sú "tenkovrstvové" systémy, v ktorých sa rozpúšťadlo pohybuje cez tenké, rovné absorbčné médium.

Najdôležitejšími testami, ktoré môžno vykonať pomocou tenkovrstvového systému sú imunostanovenia, ktoré sú založené na špecifickej interakcii antigénu alebo hapténu s príslušnou protilátkou. Už dlhšie je známe použitie imunostanovenia ako prostriedku na testovanie prítomnosti a/alebo množstva klinicky dôležitých molekúl. V roku 1956 J.M. Singer zverejnil použitie imunitnej reakcie na aglutináciu latexu pri detekcii faktora spojeného s reumatoidnou artritídou (Singer a spol. Am. J. Med. 22:888-892 (1956)).

Chromatografické techniky požívané v kombinácii s imunostanovením sú známe ako imunochromatografické metódy. Všeobecne táto technika používa detekčné činidlo alebo časticu, ktorá je naviazaná na protilátku voči molekule, ktorá má byť stanovená, za tvorby konjugátu. Tento konjugát sa potom zmieša so vzorkou

a keď je stanovovaná molekula prítomná vo vzorke, protilátky naviazané na detekčné činidlo sa naviažu na stanovovanú molekulu, čo indikuje, že stanovovaná molekula je prítomná. Detekčné činidlo alebo častica môže byť identifikovaná pomocou farby, magnetických vlastností, rádioaktivity, špecifickej reaktivity s inou molekulou, alebo inou fyzikálnou alebo chemickou vlastnosťou. Špecifické reakcie, ktoré prebiehajú sa líšia od charakteru stanovovanej molekuly a testovanej vzorky.

Imunochromatografické stanovenia sa delia na dve základné skupiny: "sendvičové" a "kompetitívne", a to podľa charakteru komplexu antigén-protilátka, ktorý sa má detegovať a postupnosti reakcií potrebných na vytvorenie tohoto komplexu. Antigén, ktorý má byť stanovený, môže sám byť protilátkou, ako pri sérologických stanoveniach H. pylori-špecifickej protilátky. V takýchto prípadoch protilátka, ktorá má byť stanovená, môže byť naviazaná na špecifický antigén. Alebo antigén, ktorý má byť stanovený, môže byť detegovaný nepriamo použitím značenej druhej protilátky, ktorá sa viaže na prvú protilátku naviazanú na analyzovanú neznámu.

Všeobecne sendvičové imunochromatografické metódy vychádzajú zo zmiešania vzorky s protilátkami. Tieto protilátky sú mobilné a zvyčajne sú naviazané na značené alebo detekčné činidlo, ako farebný latex, koloidný roztok kovu, alebo rádioizotop. Táto zmes sa potom aplikuje na chromatografické médium s obsahom prúžku alebo zóny imobilizovaných protilátok na analyzát. Chromatografické médium je často vo forme prúžku pripomínajúce hĺbkomer. Keď komplex molekuly, ktorá má byť stanovená, a značenej protilátky dosiahne zónu imobilizovaných protilátok v chromatografickom médiu, nastane väzba a naviazané značené protilátky sú lokalizované v zóne. Znamená to prítomnosť molekuly, ktorá má byť stanovená. Táto technika môže byť použitá na získanie kvantitaívnych a semi-kvantitatívnych výsledkov.

Príklady sendvičových imunostanovení, ktoré sa vykonávajú na testovacích prúžkoch sú popísané v US patente č. 4, 168,146 Grubba a spol. a v US patente č. 4, 366,241 Toma a spol., a sú tu uvedené v literárnych odkazoch.

V kompetitívnom imunostanovení je značkou zvyčajne označená neznáma (analyzát) alebo analóg analyzátu, ktorý kompetuje o väzbu k protilátke s niektorým neznačeným analyzátom prítomným vo vzorke. Kompetitívne imunostanovenia sa typicky používajú na detekciu takých analyzátov ako sú haptény, každý haptén je monovalentný a je schopný viazať len jednu molekulu protilátky. Príklady zariadenia pre kompetitívne imunostanovenie sú popísané v US patente č. 4, 235,601 Deitscha a spol., v US patente č. 4, 442,204 Liotta a US patente č. 5, 208,535 Buechlera a spol., všetky sú tu zahrnuté v literárnych odkazoch.

Hoci sú užitočné, bežne dostupné chromatografické postupy používajúce prúžky majú aj veľa nevýhod. Mnohé vzorky, ako fekálne vzorky, obsahujú určitú látku, môžu upchávať póry chromatografického média, čo veľmi prekáža imunochromatografickému procesu. Iné vzorky, ako krv, obsahujú bunky a farebné zložky, čo sťažuje odčítanie výsledku testu. Dokonca aj keď vzorka neinterferuje, je častokrát ťažké pri súčasnom chromatografickom zariadení aplikovať vzorku na chromatografické médium tak, že čelo vzorky sa pohybuje jednotne cez chromatografické médium, rovnako je ťažké zaistiť, aby vzorka rovnomerne a priamočiaro dosiahla plochu, kde dochádza k väzbe.

Existujú aj iné problémy s bežne používanými prúžkami a to z dôvodu povahy analyzovanej vzorky, alebo samotného stanovenia. V takýchto zariadeniach je nepraktické použiť premývanie, ktoré je častokrat želateľné na zlepšenie citlivosti a na zníženie pozadia. Tiež je ťažké a v mnohých prípadoch

nemožné, aby sa v takýchto zariadeniach vykonal predinkubačný krok.

Naviac, existuje potreba takého zariadenia na imunochromatografické stanovenie, v ktorom by bolo možné vykonávať širokú škálu delení ako je oddelenie tuku od mlieka, alebo delenie organických chemikálií ako je oddelenie benzénu od toluénu.

Príprava vzorky a tvorba odpadu sú príčinami iných problémov v bežne dostupných zariadeniach a technikách imunochromatografie. Zvýšený výskyt ochorení šírených infikovanou krvou a krvnými frakciami, ako je AIDS a hepatitída, zvýraznili tieto problémy. Zriedkakedy je možné aplikovať vzorku (akou je stolica), alebo prostriedok na odoberanie vzoriek (ako je tyčinka, tampón na vytieranie hrdla) priamo na chromatografické médium. Pred aplikovaním vzorky na chromatografické médium sú vždy potrebné mnohé extrakcie a prípravné reakcie. Tieto činnosti zvyčajne vykonáva lekár alebo laborant a to v malých nádobkách ako sú skúmavky, alebo centrifugačné mikroskúmavky, čo si vyžaduje prenosné zariadenie, ako sú pipety. Každý z týchto prostriedkov je potom kontaminovaný a musí byť odstránený použitím špeciálnych bezpečnosných opatrení tak, aby pracovníci alebo ľudia, ktorí môžu prísť do styku s odpadom, nemohli byť kontaminovaní.

Iné obmedzenie chromatografického zariadenia bežne dostupného pre použitie lekárom alebo laborantom, je ich neschopnosť robiť dvojsmernú, alebo dvojrozmernú chromatografiu. Tieto techniky sú dlho známe ako účinné analytické postupy, ale ich zložitosť k relatívne jednoduchej jednosmernej chromatografii, ju robí ťažkou pre aplikáciu na zariadenie so skúšobnými prúžkami v ordinácii, alebo v klinickom laboratóriu.

Podobne existuje potreba vylepšeného zariadenia, schopného širokého rozsahu chromatografických stanovení. Také zariadenie by malo byť schopné vykonávať všetky typy imunostanovení, vrátane sendvičových a kompetitívnych stanovení, rovnako ako iné typy stanovení založených na chromatografii. Takéto zariadenie by malo byť schopné prijať potencionálne kontaminovanú vzorku, alebo aplikátor vzorky, tak aby eliminoval potrebu extrakčných nádobiek a prenášačov. Také zariadenie, výhodne vo forme testovacieho prúžku, by malo byť schopné imunochromatografického stanovenia vo farebných vzorkách, alebo vo vzorkách s obsahom partikulí bez interferencie a malo by byť schopné dodať vzorku na chromatografické médium jednotne a dokonca zlepšiť presnosť testov. Takýto zlepšený testovací prúžok by mal byť schopný dvojsmernej a dvojrozmernej chromatografie pri použití v klinických laboratóriach, alebo v ordináciach.

Podstata vynálezu

Vyvinuli sme zariadenie na stanovenie, ktoré spĺňa potreby a poskytuje zlepšené stanovenie na analýzu biologického materiálu, zjednodušené vyhotovenie stanovenia a vylúčenie kontaminácie. V zariadení môžu byť vykonané všetky typy imunostanovení, vrátane sendvičového imunostanovenia, kompetitívneho imunostanovenia a stanovenia kombinácie oboch týchto princípov. V zariadení možno robiť sérologické stanovenie, v ktorom stanovovaný antigén je sám protilátkou, ako protilátka voči H. pylori. V zariadení sa môže vykonávať stanovenie, v ktorom stanovovaný antigén je detegovaný nepriamo pri použití značenej druhej protilátky naviazanej na prvú protilátku viazanú na neznámu.

Zariadenie na stanovenie podľa tohoto vynálezu používa tlak na prenos kvapaliny z jedného protiľahlého komponentu na iný protiľahlý komponent, a vedie kvapalinu cez chromatografické médium. Tlak nielen zrýchľuje činnosť zariadenia, ale umožňuje aj kompletizáciu dodatočných krokov, ako extrakcia na odstránenie interferujúcich partikulárnych komponentov vo vnútri zariadenia. Tlak sa tvorí držaním komponentov spolu s prvkami na každom z protiľahlých komponentov. Nastavený tlak umožňuje priebeh každého kroku stanovenia.

Zariadenie môže vykonávať tiež iné špecifické väzobné stanovenia, ako: (1) stanovenie založené na afinite špecifických väzobných proteínov ako sú lektíny, receptory pre hormóny, alebo vírusove receptory pre ich špecifické ligandy; (2) stanovenie založené na afinite enzýmov k ich zodpovedajúcim substrátom alebo inhibítorom; alebo (3) stanovenie založené na afinite segmentu nukleovej kyseliny (DNK alebo RNK) ku komplementárnemu segmentu nukleovej kyseliny podľa Watson-Crickovej schémy párových báz.

Zariadenie sa skladá:

(1) najmenej z dvoch pevných protiľahlých plochých prvkov, kde jeden z pevných plochých komponentov má na povrchu chromatografické médium; a

(2) z prostriedkov na protipostavenie protiľahlých komponentov a aplikáciu tlaku na ne, tlak je dostatočný na prenos kvapaliny z jedného protiľahlého komponentu na druhý protiľahlý komponent v smere normálnom k protiľahlému komponentu tak, že vzorka sa aplikuje na chromatografické médium na jej detekciu a/alebo stanovenie.

Zariadenie podľa tohoto vynálezu môže tiež obsahovať:

(1) najmenej tri pevné protiľahlé komponenty, kde jeden z pevných plochých komponentov má na povrchu chromatografické

médium, chromatografické médium má prvý a druhý koniec;

(2) prostriedky na párové protipostavenie protiľahlých komponentov najmenej v dvoch rôznych kombináciach a aplikáciu tlaku na ne, tlak je dostatočný na prenos kvapaliny z jedného protiľahlého komponentu na druhý protiľahlý komponent v smere normálnom k protiľahlému komponentu tak, že vzorka sa aplikuje na chromatografické médium a tečie cez chromatografické médium z prvého konca k druhému koncu na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu na chromatografickom médiu; a

(3) najmenej jeden aplikátor a jeden absorbent umiestnené na jednom z protiľahlých komponentov a umiestnené tak, že protiľahlý komponent, na ktorom sa nachádzajú aplikátor a absorbent je v protipostavení k protiľahlému komponentu, na ktorom sa nachádza chromatografické médium, druhá kvapalina sa aplikuje na chromatografické médium a tečie cez chromatografické médium z druhého konca k prvému koncu, čím mení smer toku cez chromatografické médium, s detekciou a/alebo stanovením analyzátu vytvoreného následne k obrátenému toku cez chromatografické médium.

V inom ohľade sa zariadenie na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu skladá:

(1) z prvého komponentu vrátane zóny pre vzorku, adaptovanej na prijatie stanovovanej vzorky; a

(2) z druhého komponentu obsahujúceho chromatografické médium.

Zariadenie na chromatografické stanovenie vhodné na sendvičovú imunoanalýzu sa skladá:

(1) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(a) chromatografického média s prvým a druhým koncom;

(b) podložky pre aplikáciu detektora, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média;

(c) vodiča, ktorý je v operačnom kontakte s podložkou pre aplikáciu detektora a v nepriamom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(d) absorbenta, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média; a

(2) z druhého protiľahlého komponentu s obsahom preparačnej zóny pre vzorku, kde sa aplikuje vzorka, ktorá má byť testovaná.

V tomto zariadení sú prvé a druhé protiľahlé komponenty umiestnené tak, že ich postavenie vedie k tomu, že zóna pre aplikáciu vzorky je v kontakte s vodičom na aplikáciu testovanej vzorky a potom s prvým koncom chromatografického média cez podložku pre aplikáciu detektora.

Zvyčajne preparačná zóna pre vzorku obsahuje najmenej jedno reakčné činidlo na spracovanie vzorky. V niektorých prípadoch, ako napr. pri stanovení vzorky moču alebo séra sa nevyžaduje prípravné spracovanie vzorky. Zvyčajne podložka pre aplikáciu detektora obsahuje tiež prvú špecifickú väzobnú látku voči analyzátu a to vo forme, že môže byť resolubilizovaná po pridaní vodného roztoku na podložku pre aplikáciu detektora, prvá špecifická väzobná látka je značená detekčnou značkou a chromatografické médium sa ďalej skladá z detekčnej zóny s významne menšou plochou ako je plocha chromatografického média. V tomto usporiadaní detekčná zóna obsahuje väzobnú látku špecifickú voči analyzátu, ktorý je na ňu imobilizovaný tak, že terciálny komplex je tvorený prvou špecifickou väzobnou látkou, analyzátom a druhou špecifickou väzobnou látkou a tvorí sa v detekčnej zóne, keď je analyzát prítomný vo vzorke.

Prednostne je detekčné značenie vizuálne detekčné značenie.

Výhodne sú prvý a druhý protiľahlý komponent spojené pomocou pántu. Pánt je zvyčajne nepriepustný pre vodné roztoky.

Protiľahlé prvky tiež obsahujú obvodové vzostupné steny, cez ktoré sú tieto v kontakte, keď zariadenie je uzavreté a uzamknuté.

Testovacia súprava môže obsahovať, v oddelených kontajneroch, zariadenie na chromatografické stanovenie popísané vyššie a špecifickú väzobnú látku na označenie analyzátu detekčným činidlom, ktorá sa aplikuje na podložku pre aplikáciu detektora. Keď podložka pre aplikáciu detektora obsahuje resolubilizovateľnú prvú špecifickú väzobnú protilátku, súprava môže obsahovať zariadenie na stanovenie a vodný roztok na resolubilizáciu značenej špecifickej väzobnej látky. Podľa tohoto vynálezu môžu byť vytvorené podobné testovacie súpravy.

Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke pri použití tohoto zariadenia pomocou sendvičového imunostanovenia sa môže skladať z krokov:

(1) aplikácie vodného roztoku vzorky na podložku pre aplikáciu vzorky v zariadení na chromatografické stanovenie s obsahom resolubilizovateľnej značenej prvej špecifickej väzobnej látky na podložke pre aplikáciu detektora;

(2) uvedenia prvého a druhého protiľahlého komponentu zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia tak, že vzorka je tvorená vodným roztokom resolubilizujúcim značenú špecifickú väzobnú látku na podložke pre aplikáciu detektora, a že vzorka a resolubilizovaná špecifická väzobná látka sú aplikované na vodič;

(3) umožňujúcich vzorke a značenej špecifickej väzobnej látke sa pohybovať cez vodič a potom cez najmenej časť chromatografického média tak, že značená špecifická väzobná látka dáva detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu vo vzorke; a

(4) pozorovania a/alebo merania značenej špecifickej väzobnej látky najmenej v časti chromatografického média v

zmysle detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

V inom uskutočnení môže druhý protiľahlý komponent tiež obsahovať druhú podložku pre aplikáciu detektora, ktorý je v operačnom kontakte so zónou vzorky. V tejto verzii obsahuje druhá podložka pre aplikáciu detektora druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní vzorky do preparačnej zóny pre vzorku; druhá značená špecifická väzobná látka je označená detegovateľným označením. Druhá značená špecifická väzobná látka je umiestnená tak, že aplikácia vzorky do preparačnej zóny pre vzorku resolubilizuje druhú značenú špecifickú väzobnú látku tak, že preparačná zóna pre vzorku obsahuje zmes vzorky a druhej značenej špecifickej väzobnej látky. Prvá a druhá značená špecifická väzobná látka sú výhodne identické a sú označené rovnakou značkou.

Iné vyhotovenie zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu obsahuje:

(1) prvý protiľahlý komponent, ktorý sa skladá:
   (a) z chromatografického média, ktoré má prvý a druhý koniec; a
   (b) z vodiča, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a
(2) druhý protiľahlý komponent, ktorý je tvorený:
   (a) preparačnou zónou pre vzorku, ktorá má byť stanovená; a
   (b) absorbentom oddeleným od preparačnej zóny pre vzorku.

V tomto zariadení, prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protiľahlej pozícii, čo vedie k tomu, že preparačná zóna pre vzorku sa dostane do operačného kontaktu s vodičom a nastane aplikácia testovanej vzorky na vodič a potom na prvý koniec

chromatografického média, čo vedie k operačnému kontaktu absorbentu s druhým koncom chromatografického média a odstráneniu kvapaliny z druhého konca chromatografického média. Pohyb absorbentu smerom k druhému protiľahlému komponentu umožňuje použitie väčšieho absorbentu, čo môže byť výhodné keď sa požaduje stanovenie vzorky v relatívne veľkom objeme.

Iná verzia zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu s prítomnosťou absorbentu na druhom protiľahlom komponente má preparačnú zónu pre vzorku na prvom protiľahlom komponente, chromatografické médium a vodič, ktorý je v operačnom kontakte s preparačnou zónou pre vzorku a prvým koncom chromatografického média tak, že vodič premosťuje preparačnú zónu pre vzorku a chromatografické médium. Druhý protiľahlý komponent má aplikátor s obsahom špecifickej väzobnej látky pre analyzát vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní vodného roztoku na aplikátor a absorbent, ktorý je oddelený od aplikátora. Špecifická väzobná látka obsiahnutá v aplikátore je označená detegovateľnou značkou.

V tomto zariadení umiestnenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protiľahlej pozície vedie k tomu, že aplikátor sa dostane do operačného kontaktu s preparačnou zónou pre vzorku tak, že keď sa vzorka pridala do preparačnej zóny pre vzorku, je značená špecifická väzobná látka pre analyzát resolubilizovaná, čo vedie k tomu, že absorbent sa dostane do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média, a dôjde k odstráneniu kvapaliny z chromatografického média.

Pri inej verzii zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu s prítomnosťou absorbentu na druhom protiľahlom komponente, prvý protiľahlý komponent sa skladá z chromatografického média a vodiča. Druhý protiľahlý komponent obsahuje prvý aplikátor, druhý aplikátor a absorbent. Absorbent je oddelený od oboch - prvého aplikátora a druhého aplikátora.

Prvý a druhý aplikátor sú umiestnené na druhom protiľahlom komponente tak, že nie sú v operačnom kontakte keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení. Absorbent je umiestnený tak, že je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protiľahlom postavení. Prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení, čo vedie k tomu, že vodič sa dostáva do operačného kontaktu s prvým aplikátorom a vodič sa tiež dostáva do operačného kontaktu s druhým aplikátorom, tým sa dostávajú prvý a druhý aplikátor do operačného kontaktu navzájom medzi sebou.

V tomto zariadení, druhý aplikátor môže obsahovať podložku pre aplikáciu detektora s obsahom značenej prvej špecifickej väzobnej látky v resolubilizovateľnej forme.

Metóda pre použitie zariadenia podľa tohoto vynálezu je založená na aplikácii vzorky na prvý aplikátor, umiestnenia prvého a druhého protiľahlého komponentu do protiľahlej pozície tak, že vzorka resolubilizuje značenú špecifickú väzobnú látku na podložke pre aplikáciu detektora. Chromatografia a detekčné kroky sú popísané vyššie.

Ešte iné zariadenie na stanovenie podľa tohoto vynálezu s absorbentom na druhom komponente sa skladá:

(1) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý a druhý koniec;

(b) vodiča, ktorý je v operačnom kontakte s prvým a druhým koncom chromatografického média; a

(c) podložky pre aplikáciu detektora, ktorý je v priamom kontakte s vodičom a je umiestnený tak, že je v nepriamom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(2) z druhého protiľahlého komponentu s obsahom:

(a) podložky pre aplikáciu vzorky; a

(b) absorbentu, ktorý je oddelený od podložky pre aplikáciu vzorky.

V tomto zariadení, prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protiľahlej polohe, čo vedie k tomu, že:

(1) podložka pre aplikáciu vzorky prenáša vzorku na podložku pre aplikáciu detektora a tak na prvý koniec chromatografického média pomocou vodiča;

(2) absorbent je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média.

Detekčná metóda, ktorá používa túto verziu zariadenia na stanovenie je rovnaká ako tie, ktoré boli popísané vyššie.

Iná verzia zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu s prítomnosťou absorbentu na druhom protiľahlom komponente sa skladá:

(1) z prvého protiľahlého komponentu vrátane:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý a druhý koniec; a

(b) podložky pre aplikáciu detektora, ktorý je v priamom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(2) z druhého protiľahlého komponentu s obsahom:

(a) podložky pre aplikáciu vzorky; a

(b) absorbentu, ktorý je oddelený od podložky pre aplikáciu vzorky.

V tomto zariadení prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protiľahlej polohe, čo spôsobuje že podložka pre aplikáciu

detektora a podložka pre aplikáciu vzorky sa dostávajú do kontaktu s výnimkou oblasti podložky pre aplikáciu detektora, ktorý je priamo pripojený na prvý koniec chromatografického média. Protiľahlé postavenie prvého a druhého protiľahlého komponentu v tomto zariadení spôsobuje:

(1) aplikáciu testovanej vzorky na podložku pre aplikáciu detektora a potom na prvý koniec chromatografického média; a

(2) operačný kontakt absorbentu s druhým koncom chromatografického média.

Iné zariadenie na stanovenie podľa tohoto vynálezu s prítomnosťou absorbentu na druhom protiľahlom komponente je tvorené:

(1) z prvého protiľahlého komponentu vrátane:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý a druhý koniec; a

(b) vodiča, ktorý nie je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média keď prvý protiľahlý komponent a druhý protiľahlý komponent nie sú v protiľahlom postavení; a

(2) z druhého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) prvého aplikátora;

(ii) druhého aplikátora; a

(iii) absorbentu, ktorý je oddelený od prvého a druhého aplikátora, prvý a druhý aplikátor sú umiestnené na druhom protiľahlom komponente tak, že že nie sú v operačnom kontakte keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protiľahlom postavení.

V tomto zariadení prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že uvedením prvého a druhého protiľahlého komponentu do protiľahlej polohy vyvolá:

(1) vodič sa dostáva do operačného kontaktu s prvým

aplikátorom, vodič sa dostáva do operačného kontaktu s druhým aplikátorom a druhý aplikátor sa dostane do operačného kontaktu s prvým koncom chromatografického média, tým sa dostávajú prvý a druhý aplikátor do operačného kontaktu navzájom medzi sebou, čo umožní aplikáciu obsahov prvého a druhého aplikátora chromatografického média; a

(2) absorbentu, ktorý sa dostáva do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média.

V inom uskutočnení zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, vhodného na vykonanie sendvičového imunostanovenia je možné premytie chromatografického média časťou vzorky na odstránenie nenaviazanej špecifickej väzobnej látky a na zníženie pozadia. Toto vyhotovenie sa skladá:

(1) z prvého protiľahlého komponentu vrátane:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý a druhý koniec; a

(b) vodiča, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(c) absorbentu v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média; a

(2) z druhého protiľahlého komponentu s obsahom aplikátora rozdeleného na dva sektory:

(a) prvý sektor obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná pridaním vodného roztoku na aplikátor, prvá špecifická väzobná látka je označená detegovateľným značením; a

(b) druhý sektor bez značenej špecifickej väzobnej látky.

V tomto zariadení prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protiľahlej polohe k prvému sektoru, ale nie k druhému sektoru,

aplikátor je v priamom kontakte s vodičom, druhý sektor je v nepriamom kontakte s vodičom, obsah prvého sektora aplikátora sa aplikuje na chromatografické médium. Následne po aplikácii obsahu prvého sektora aplikátora chromatografického média, obsah druhého sektora aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium, čo predstavuje premytie.

Iné uskutočnenie tohoto vynálezu uzatvára zariadenia na stanovenie adaptované pre kompetitívne imunostanovenie za použitia značeného analógu analyzátu. Jedna verzia takéhoto vyhotovenia je tvorená:

(1) prvým protiľahlým komponentom vrátane:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý a druhý koniec a ktoré má na sebe imobilizovaný analyzát alebo jeho imunologický analóg v rozdielnej ploche podstatne menšej, ako je plocha chromatografického média;

(b) prvým vodičom, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(c) druhým vodičom, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média; a

(2) z druhého protiľahlého komponentu s obsahom prvého aplikátora, ktorý nesie prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní prvého vodného roztoku na prvý aplikátor; a

(3) tretieho protiľahlého komponentu, ktorý obsahuje:

(a) druhý aplikátor s druhou značenou špecifickou väzobnou látkou pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní druhého vodného roztoku na druhý aplikátor, druhá špecifická väzobná látka je označená detegovateľným značením; a

(b) absorbent, ktorý je oddelený od druhého aplikátora.

V tomto zariadení prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že keď prvý a druhý protiľahlý komponent sa uvedú do protiľahlej polohy, prvý vodič sa dostane do operačného kontaktu s prvým aplikátorom tak, že obsah prvého sektora aplikátora sa aplikuje na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média. Prvý a tretí protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že keď prvý a tretí protiľahlý komponent sa uvedú do protiľahlej polohy, absorbent sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom na odstránenie kvapaliny z chromatografického média. Tým, že prvý a tretí protiľahlý komponent sú v protiľahlej polohe, druhý aplikátor sa dostáva do operačného kontaktu s druhým vodičom, takže obsah druhého aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média a premýva časť, cez ktorú prešiel obsah prvého aplikátora.

V tomto zariadení, prvá špecifická väzobná látka a druhá, značená, špecifická väzobná látka sú výhodne každá protilátkou pre analyzát. Výhodne, imobilizovaný analyzát, alebo jeho analóg je tvorený analyzátom kovalentne naviazaným na proteín, ktorému chýba špecifická väzobná aktivita pre analyzát.

Metóda na použitie tohoto zariadenia na stanovenie pri detekcii analyzátu pomocou kompetitívneho imunostanovenia je založená:

(1) na aplikácii vzorky na prvý aplikátor zariadenia na chromatografické stanovenie, vzorka obsahuje prvý vodný roztok;

(2) na aplikácii rekonštituovaného roztoku na druhý aplikátor, rekonštituovaný roztok je tvorený druhým vodným roztokom;

(3) na protiľahlej polohe prvého a druhého protiľahlého komponentu, takže vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka pre analyzát sú aplikované na prvý vodič a potom

na prvý koniec chromatografického média;

(4) na pohybe vzorky a resolubilizovanej prvej špecifickej väzobnej látky cez najmenej časť chromatografického média blokujúc väzobné miesta imunologického analógu imobilizovaného na inej ploche;

(5) na oddelení prvého a druhého protiľahlého komponentu tak, že už nie sú navzájom v protiľahlej polohe;

(6) na protiľahlom postavení prvého a tretieho protiľahlého komponentu a aplikácii resolubilizovanej značenej druhej špecifickej látky na druhý vodič a potom na druhý koniec chromatografického média;

(7) na pohybe resolubilizovanej druhej špecifickej väzobnej látky cez najmenej časť chromatografického média, čím nastane premytie celého chromatografického média, cez ktoré vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka prechádza; v prítomnosti analyzátu vo vzorke sa viaže značená druhá špecifická väzobná látka na analyzát alebo jeho imunologický analóg, ktorý je imobilizovaný na inej ploche v dôsledku väzby vzorky a analyzátu s prvou špecifickou väzobnou látkou; a

(8) na detekcii a/alebo meraní druhej špecifickej látky na ploche, čím sa deteguje a/alebo stanovuje analyzát.

Výhodne táto metóda ďalej obsahuje krok inkubácie zariadenia na chromatografické stanovenie, ktorý nasleduje po aplikácii vzorky na prvý aplikátor, aby sa vyvolala reakcia medzi analyzátom a prvou špecifickou väzobnou látkou.

V alternatívnom spôsobe stanovenia pri použití tohoto zariadenia môže byť prvý rekonštitučný roztok aplikovaný na prvý aplikátor ku vzorke.

Iné verzie zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu vhodné na kompetitívne imunostanovenie môžu byť podobne použité.

Iná verzia zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu vhodná na kompetitívne imunostanovenie obsahuje:

(1) prvý protiľahlý komponent vrátane:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý a druhý koniec a na ňom imobilizované, v oddelených a nepremývaných plochách, každá plocha je podstatne menšia ako plocha chromatografického média:

(i) špecifickú väzobnú látku pre analyzát; a

(ii) druhú špecifickú väzobnú látku, druhá špecifická väzobná látka je schopná viazať sa na špecifické väzobné páry, chýba jej afinita pre analyzát, druhá špecifická väzobná látka je umiestnená bližšie k prvému koncu chromatografického média ako prvá špecifická väzobná látka;

(b) prvého vodiča, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(c) druhého vodiča, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média;

(2) druhý protiľahlý komponent vrátane:

(a) aplikátora s obsahom analógu analyzátu, analóg analyzátu obsahuje analyzát kovalentne naviazaný na špecifický väzobný pár s chýbajúcou afinitou pre analyzát a schopný väzby s druhou špecifickou väzobnou látkou, špecifický väzobný pár je označený detegovateľným označením, analóg analyzátu je v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na aplikátor; a

(b) absorbent oddelený od aplikátora.

V tomto zariadení, prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protiľahlej polohy dôjde k vytvoreniu operačného kontaktu medzi druhým vodičom a aplikátorom, obsah aplikátora

je aplikovaný na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média, a umiestnenie absorbenta v operačnom kontakte s prvým vodičom odstraňuje kvapalinu z chromatografického média.

Táto verzia zariadenia ďalej výhodne obsahuje kryt, ktorý je pántom pripevnený na prvý protiľahlý komponent, takže môže byť uložený ponad prvý a druhý protiľahlý komponent, keď sú tieto v protiľahlej polohe. Kryt má otvor, ktorý umožňuje pohľad aspoň na časť chromatografického média, keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protiľahlej polohe a kryt prekrýva prvý a druhý protiľahlý komponent.

Výhodne pri tejto verzii je prvá špecifická väzobná látka protilátkou špecifickou pre analyzát a druhá špecifická väzobná látka je druhá protilátka chopná viazať imunoglobulín špecifický pre analyzát. Výhodne analóg analyzátu obsahuje analyzát kovalentne naviazaný na imunoglobulín z iných druhov a špecifická väzobná látka je protilátka špecifická pre tieto druhy.

Táto verzia môže ďalej obsahovať tretí protiľahlý komponent, komponenty sú umiestnené tak, že prvý a tretí protiľahlý komponent sú v protiľahlej polohe, absorbent prichádza do kontaktu s celým chromatografickým médiom a oboma vodičmi. V tejto verzii je otvor za chromatografickým médiom, čo umožňuje pohľad aspoň na časť chromatografického média zo zadu, keď druhý protiľahlý komponent prekrýva prvý protiľahlý komponent a tretí protiľahlý komponent prekrýva druhý protiľahlý komponent.

V inom usporiadaní je plocha druhej špecifickej väzobnej látky imobilizovaná na chromatografické médium a je rozdelená na najmenej dva navzájom sa neprekrývajúce prúžky, množstvo druhej špecifickej väzobnej látky v každom prúžku je stanovené,

takže množstvo analógu analyzátu v detekčnej zóne a teda koncentrácia analyzátu v testovanej vzorke je indikovaná počtom prúžkov ku ktorým sa viaže analóg analyzátu.

V inom uskutočnení zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu vhodného na kompetitívne imunostanovenie je prítomné biotin-avidinové spojenie. Táto verzia zariadenia obsahuje:

(1) prvý protiľahlý komponent s chromatografickým médiom, ktoré má prvý koniec a druhý zakoniec v oddelených, navzájom sa neprekrývajúcich plochách, každá plocha je podstatne menšia ako plocha chromatografického média;

(a) látku schopnú špecificky viazať biotin vybraný zo skupiny tvorenej avidinom, streptavidinom, protilátkou proti anti-biotinu a ich derivátmi; a

(b) druhou špecifickou väzobnou látkou schopnou špecifickej väzby s trojzložkovým komplexom, ktorý je tvorený:

(i) analyzátom;

(ii) členom špecifického väzobného páru s chýbajúcou špecifickou väzobnou afinitou pre analyzát, člen kovalentne konjugovaný na analyzát; a

(iii) detegovateľné označenie viazané na člena špecifického väzobného páru;

(2) druhý protiľahlý komponent vrátane prvého aplikátora s obsahom prvej väzobnej látky k analyzátu vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní tekutej vzorky na prvý aplikátor, prvá špecifická väzobná látka je špecificky naviazaná na biotin, prvá špecifická väzobná látka nie je schopná sa viazať na druhú špecifickú väzobnú látku;

(3) tretí protiľahlý komponent, ktorý obsahuje:

(a) druhý aplikátor s trojzložkovým kompexom, komplex je v takej forme, že môže byť resolubilizovaný po pridaní druhého vodného roztoku na druhý aplikátor; a

(b) absorbent, ktorý je oddelený od druhého aplikátora.

V tomto zariadení, prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent po uvedení do protiľahlej polohy spôsobia vytvorenie operačného kontaktu medzi prvým vodičom a prvým aplikátorom, obsah prvého aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média. Prvý a tretí protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a tretí protiľahlý komponent po uvedení do protiľahlej polohy spôsobia operačný kontakt absorbentu s prvým vodičom na odstránenie kvapaliny z chromatografického média a druhý aplikátor sa dostáva do operačného kontaktu s druhým vodičom, takže obsah druhého aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média prekrývajúc časť, na ktorú je prenesený obsah prvého aplikátora.

Výhodne je prvá špecifická látka protilátkou voči analyzátu. Člen špecifického väzobného páru v trojzložkovom komplexe môže byť králičí imunoglobulín G, v tomto prípade druhou špecifickou väzobnou látkou môže byť kozí anti-králičí IgG. Výhodne, substancia schopná špecificky viazať biotin je streptavidin.

Plocha, na ktorej je imobilizovaná druhá špecifická väzobná látka na chomatografickom médiu môže byť rozdelená najmenej na dva rozdielne, navzájom sa neprekrývajúce prúžky, s množstvom druhej špecifickej väzobnej látky v každom prúžku ktorý sa stanovuje, takže množstvo naviazaného trojzložkového komplexu v detekčnej zóne, a tak pôvodná koncentrácia analyzátu v testovanej vzorke, je indikovaná počtom prúžkov, ku ktorým sa viaže trojzložkový komplex.

Iná verzia zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu vhodná na kompetitívne imunostanovenie obsahuje:

(1) prvý protiľahlý komponent vrátane:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý koniec a druhý koniec a na ňom imobilizované, v oddelených rozdielnych a nepremývaných plochách, každá plocha je podstatne menšia ako plocha chromatografického média:

(i) analóg analyzátu, ktorý je schopný viazať špecifickú väzobnú látku na analyzát; a

(ii) druhú špecifickú väzobnú látku, ktorá je schopná viazať sa na väzobný pár, ktorý má afinitu k analyzátu, druhej špecifickej väzobnej látke samotnej chýba väzobná afinita pre analyzát; a

(b) vodič, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(2) druhý protiľahlý komponent vrátane aplikátora s obsahom špecifickej väzobnej látky k analyzátu v takej forme, že môže byť resolubilizovaná po pridaní vodného roztoku na aplikátor.

V tomto zariadení, prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protiľahlej polohe k vodiču v operačnom kontakte s aplikátorom tak, že obsah aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média.

Výhodne je prvá špecifická väzobná látka protilátka špecifická pre analyzát a analóg analyzátu je tvorený analyzátom kovalentne naviazaným na proteín, ktorý nemá špecifickú väzobnú aktivitu pre analyzát, alebo pre špecifickú väzobnú látku pre analyzát. Výhodne viaže druhá špecifická väzobná látka protilátku špecifickú pre analyzát na základe druhovo - špecifických interakcií, ktoré nezahrňajú antigén

viažuce miesto protilátky pre analyzát.

V tomto zariadení, plocha druhej špecifickej väzobnej protilátky imobilizovanej na chromatografické médium môže byť rozdelená najmenej na dva neprekrývajúce sa prúžky, s množstvom druhej špecifickej protilátky v každom prúžku, ktorý sa stanovuje, takže množstvo značenej špecifickej väzobnej látky pre analyzát sa viaže v detekčnej zóne, a množstvo analyzátu v testovanej vzorke je indikované počtom prúžkov, na ktorých je naviazaná značená špecifická väzobná látka pre analyzát.

Iná verzia zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu vhodná na kompetitívne imunostanovenie je trojzložkové zariadenie ktoré zahrňuje dva kroky migrácie činidla cez chromatografické médium, oba prebiehajú v rovnakom smere. Takéto zariadenie obsahuje:

(1) prvý protiľahlý komponent vrátane:

(a) chromatografického média, ktoré má prvý koniec a druhý koniec a na ňom imobilizované, v oddelených rozdielnych a nepremývaných plochách, každá plocha je podstatne menšia ako je plocha chromatografického média:

(i) špecifickú väzobnú látku pre analyzát; a

(ii) druhú špecifickú väzobnú látku ako je popísané vyššie, špecifická väzobná látka pre analyzát sa nachádza bližšie k prvému koncu chromatografického média;

(b) prvý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média, prvý vodič je schopný pôsobiť ako prvý aplikátor; a

(c) druhý vodič v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média;

(2) druhý protiľahlý komponent vrátane:

(a) druhého aplikátora, ktorý obsahuje analóg

analyzátu ako je popísané vyššie, analóg analyzátu je v takej forme, že môže byť resolubilizovaný pridaním vodného roztoku na aplikátor; a

(b) prvý absorbent oddelený od druhého aplikátora; a

(3) tretí protiľahlý komponent vrátane druhého absorbenta.

V tomto zariadení, prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent po uvedení do protiľahlej polohy spôsobia operačný kontakt medzi druhým aplikátorom a prvým vodičom, a uvedenie prvého absorbentu do operačného kontaku s druhým vodičom. Prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že prvý a druhý protiľahlý komponent po uvedení do protiľahlej polohy spôsobia operačný kontakt medzi druhým absorbentom a prvým vodičom a chromatografickým médiom na odstránenie kvapaliny z nich.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Tieto a iné znaky a aspekty, výhody tohoto vynálezu sa stanú viac zrozumiteľné s ohľadom na nasledovný popis, priložené nároky a sprievodné obrázky, kde:

Obrázok 1A je nákres verzie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu;

Obrázok 1B je nákres dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie ako na obrázku 1A, keď dva komponenty sú v protiľahlej polohe;

Obrázok 2 je nákres verzie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu, kde prvý protiľahlý komponent obsahuje preparačnú zónu pre vzorku a chromatografické médium, ktoré nie je v kontakte s preparačnou zónou pre vzorku, a druhý protiľahlý komponent obsahuje vodivé pojivové prvky;

Obrázok 3 je nákres inej verzie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu s preparačnou zónou pre vzorku inkorporovanú do prvého protiľahlého komponentu;

Obrázok 4 je nákres alternatívnej verzie obrázku 3 s absorbentom na druhom protiľahlom komponente a nie na prvom protiľahlom komponente;

Obrázok 5 je nákres inej verzie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu s preparačnou zónou pre vzorku a absorbentom umiestnenom na tom istom protiľahlom komponente;

Obrázok 6 je nákres inej verzie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu s dvoma podložkami pre aplikáciu detektora na rôznych protiľahlých komponentoch;

Obrázok 7 je nákres inej verzie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu s dvoma aplikátormi na jednom z komponentov;

Obrázok 8 je nákres alternatívnej verzie obrázku 7 s absorbentom na druhom protiľahlom komponente a nie na prvom protiľahlom komponente;

Obrázok 9 zaznamenáva inú verziu dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu s diskontinuitou medzi vodičom a chromatografickým médiom, ktoré sú premostené keď je zariadenie zatvorené;

Obrázok 10A je nákres inej verzie dvojzložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu s prítomnosťou podložky pre aplikáciu detektora, ktorý je v operačnom kontakte s chromatografickým médiom;

Obrázok 10B je časť zadného pohľadu dvojzložkového zariadenia na stanovenie z obrázku 10A, ktrorý zaznamenáva detaily komponentov v protiľahlej polohe;

Obrázok 11A zaznamenáva inú verziu dvojzložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu, ktorá je všeobecne podobná verzii na obrázku 10, ale s podložkou pre aplikáciu detektora v priamom kontakte s chromatografickým médiom;

Obrázok 11B je časť zadného pohľadu dvojzložkového zariadenia na stanovenie z obrázku 11A, ktrorý ukazuje detaily

komponentov v protiľahlej polohe;

Obrázok 12A je nákres verzie dvojzložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu, ktorá je vhodná na dvojsmernú chromatografiu;

Obrázok 12B je horný pohľad dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie z obrázku 12A, ktorý ukazuje dva komponenty v protiľahlej polohe;

Obrázok 13A zaznamenáva inú verziu dvojzložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu, ktorá je vhodná na dvojsmernú chromatografiu s dvoma aplikátormi a vodičom;

Obrázok 13B je horný pohľad dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie z obrázku 12B, ktorý ukazuje dva komponenty v protiľahlej polohe;

Obrázok 14 je kresba iného dvojzložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu s podložkou pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente a preparačnou zónou pre vzorku na druhom protiľahlom komponente;

Obrázok 15 je nákres iného dvojzložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu s aplikátorom rozdeleným na dva sektory, čo umožňuje premytie chromatografického média vzorkou bez označenia;

Obrázok 16A je nákres inej verzie dvojzložkového zariadenia, ktorá je vhodná na dvojsmernú chromatografiu s krytom;

Obrázok 16B je horný pohľad dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie z obrázku 12B, ktorý ukazuje dva

komponenty v protiľahlej polohe;

Obrázok 17A je nákres trojzložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu;

Obrázok 17B je časť zadného pohľadu trojzložkového zariadenia na stanovenie z obrázku 17A, ktrorý ukazuje detaily komponentov v protiľahlej polohe;

Obrázok 18 je nákres trojzložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, kde tretí komponent má funkciu absorbenta kvapaliny pre celé chromatografické médium a oba vodiče;

Obrázok 19 je nákres viaczložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, ktoré je vhodné na simultánne stanovenie jednej alebo viac vzoriek;

Obrázok 20 je nákres verzie viaczložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, ktorá obsahuje jamku pre vzorku;

Obrázok 21 zaznamenáva rozdielnu verziu viaczložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, ktorá je adaptovaná na prijatie testovacej karty;

Obrázok 22 predstavuje inú verziu viaczložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, ktorá je adaptovaná na prijatie testovacej karty;

Obrázok 23 zaznamenáva verziu trojzložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, ktoré je vhodné na kompetitívne imunostanovenie pri použití značenej protilátky, ktorá sa viaže na analóg analyzátu imobilizovaný na

chromatografické médium;

Obrázok 24 je nákres dvojzložkového zariadenia na stanovenie s krytom, ktoré je vhodné na kompetitívne imunostanovenie za použitia značeného analógu analyzátu;

Obrázok 25 predstavuje verzie trojzložkového zariadenia na stanovenie, ktoré je vhodné na jednosmerné kompetitívne imunostanovenie pri použití značeného analógu analyzátu, v ktorom tretí komponent absorbuje kvapalinu z celého chromatografického média a z oboch vodičov;

Obrázok 26 je nákres verzie trojzložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu, ktoré je vhodné na kompetitívne imunostanovenie, zariadeni využíva väzbu biotin-avidin;

Obrázok 27 predstavuje dvojzložkové zariadenie na stanovenie, ktoré je vhodné na kompetitívne imunostanovenie za použitia značenej protilátky voči analyzátu;

Obrázok 28 znázorňuje zariadenie na stanovenie podľa tohoto vynálezu, ktoré je vhodné na prijatie tyčinky, alebo v pobobnej formy vzorky, a určenej na detekciu antigénu Streptococus A.

V súhlase s týmto vynálezom sú definované termíny, ktorých význam nasleduje a vzťahuje sa na celý text, pokiaľ nie je inak vyznačené.

Špecifická väzobná látka: člen molekulového páru, ktorý reaguje špecifickými, nekovalentnými interakciami, ktoré závisia od trojrozmernej štruktúry prítomných molekúl. Zvyčajnými pármi špecifických väzobných látok sú antigén-protilátka, hapten-protilátka, hormón-receptor, vlákno nukleovej kyseliny-komplementárne vlákno nukleovej kyseliny, substrát-enzým, inhibítor-enzým, uhlovodík-lektín, biotin-avidin a vírus-bunkový receptor.

Operačný kontakt: Dva pevné komponenty sú v operačnom kontakte keď sú v kontakte, priamom alebo nepriamom, takým spôsobom, že vodný roztok môže neprerušene prúdiť od jedného z dvoch komponentov k inému pomocou kapilarity alebo inakšie. "Priamy kontakt" znamená, že dva prvky sú vo fyzikálnom kontakte, napr. cez okraj hrany, alebo čelnou až zadnou stranou. Zvyčajne, keď sú dva komponenty v priamom kontakte, sú tieto prekryté, prekrytie je asi 0.5 až asi 3 mm. Avšak komponenty môžu byť spojené aj susednými okrajmi. "Nepriamy kontakt" znamená, že dva komponenty nie sú vo fyzikálnom kontakte, ale sú premostené jedným z viacerých vodičov.

Obmedzená kapacita: Absorbent má obmedzenú kapacitu keď sa nasýti kvapalinou počas priebehu stanovenia v zariadení, v ktorom sa absorbent nachádza. Vtedy môže absorbent dodatočne uvoľňovať absorbovaný roztok, čím sa stáva čiastočne vodivým.

Analyzát: Výraz "analyzát" predstavuje tak skutočnú molekulu, ktorá má byť stanovená, ako aj jej analógy a deriváty, keď takéto analógy a deriváty viažu inú molekulu použitú pri stanovení spôsobom rovnakým ako samotný analyzát.

Protilátka: Výraz "protilátka" definuje tak intaktné molekuly protilátky s vhodnou špecificitou a fragmenty protilátky (vrátane Fab, Fab') a $F(ab')_2$, ako aj chemicky modifikované intaktné molekuly protilátky a fragmenty protilátky, vrátane hybridných protilátok vytvorených in vitro reasociaciou podjednotiek.

Druhá špecifická väzobná látka: Dodatočná špecifická väzobná látka, ktorá sa viaže na člena páru špecifickej väzobnej látky keď pár špecifických väzobných látok s ňou interaguje. Napríklad, pár špecifických väzobnch látok môže byť vytvorený antigénom Gardia a králičou anti-Gardia protilátkou. V takomto prípade môže byť druhou špecifickou väzobnou látkou kozia anti-králičia IgG protilátka. Druhá špecifická väzobná látka môže byť druhovo špecifická, špecifická na triedy a podtriedy protilátky voči špecifickej väzobnej látke, na ktorú sa viaže. Alebo, keď jedna zo špecifických väzobných látok je označená biotinom, druhá špecifická väzobná látka môže obsahovať molekulu naviazanú na avidin.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Pre prehľad čitateľa sa uvádza rozčlenenie opisu na časti:

I. ZARIADENIE NA CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENIE

A. Dvojzložkové zariadenie
   1. Celkové usporiadanie
   2. Podrobné vyhotovenie dvojzložkového zariadenia
      a. Zariadenie s vodivým spájajúcim členom na druhom komponente

b. Zariadenie s preparačnou zónou pre vzorku na prvom protiľahlom komponente
c. Zariadenie s absorbentom na druhom protiľahlom komponente
d. Zariadenie s preparačnou zónou pre vzorku a absorbentom na tom istom protiľahlom komponente
e. Zariadenie s dvomi podložkami pre aplikáciu detektorov na rôznych protiľahlých komponentoch
f. Zariadenie s dvoma oddelenými aplikátormi na tom istom protiľahlom komponente
g. Zariadenie s dvoma aplikátormi a absorbentom na druhom protiľahlom komponente
h. Zariadenie s medzerou alebo diskontinuitou medzi vodičom a chromatografickým médiom
i. Zariadenie s podložkou pre značenú väzobnú látku na tom istom protiľahlom komponente ako je chromatografické médium
j. Zariadenie s podložkou pre aplikáciu detektora, ktoré je v priamom kontakte s prvým koncom chromatografického média
k. Dvojsmerné zariadenie s druhým aplikátorom a absorbentom na druhom protiľahlom komponente
l. Dvojsmerné zariadenie s dvoma aplikátormi a vodičom
m. Zariadenie s podložkou pre aplikáciu detektora na prvom komponente
n. Zariadenie s aplikátorom rozdeleným na dve časti pre potreby premytia

B. Dvojzložkové zariadenia s krytom.

C. Trojzložkové zariadenia

D. Viaczložkové zariadenia
   1. Základné viaczložkové zariadenie
   2. Viaczložkové zariadenie s vnútornou jamkou
   3. Viaczložkové zariadenie adaptované na príjem testovacej karty

II. ZARIADENIE NA CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENIE PRE KOMPETITÍVNE STANOVENIE

A. Trojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie
B. Dvojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie s krytom
C. Trojzložkové jednosmerné prietokové zariadenie s absorbentom
D. Trojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie založené na špecificite biotinu
E. Dvojzložkové zariadenie na kompetitívno inhibičné imunostanovenie

III. ANALYZÁTY A PROTILÁTKY PRE POUŽITIE V ZARIADENÍ NA STANOVENIE

IV. TESTOVACIE SÚPRAVY

I. CHROMATOGRAFICKÉ ZARIADENIE NA STANOVENIE

Jeden aspekt tohoto vynálezu tvorí zariadenie na chromatografické stanovenie užitočné najmä na stanovenie analyzátov v biologických vzorkách. Tieto zariadenia sú vhodné na priamu aplikáciu biologických vzoriek bez predchádzajúcich extrakčných krokov a sú skonštruované tak, aby sa minimalizovalo rušenie výledkov stanovenia, ktoré by mohli byť spôsobené časticami, alebo farebnými vzorkami.

Zariadenie má najmenej dva pevné planárne protiľahlé komponenty. Jeden z pevných planárnych komponentov má na povrchu chromatografické médium.

Zariadenie má tiež prostriedky na kontrolu protiľahlého komponentu a aplikáciu tlaku na tento prostriedok. Aplikovaný tlak je dostatočný na prenos kvapaliny z jedného protiľahlého komponentu na druhý protiľahlý komponent v smere normálnom pre protiľahlé komponenty, takže vzorka sa nanesie na chromatografické médium pre detekciu a/alebo stanovenie v nej prítomného analyzátu. Tlak tiež poháňa kvapalinu cez chromatografické médium, čím sa zvyšuje rýchlosť chromatografie, za vzniku detegovatelného výsledku v kratšom čase. Naviac, tlak umožňuje v zariadení vykonať kroky, ako extrakcia, a môže byť tiež použitý na odstránenie nadbytku kvapaliny z chromatografického média pomocou absorbentov, čím dochádza k redukcii pozadia pri stanovení. Tlak sa vytvorí umiestnením protiľahlých komponentov do polohy proti sebe a ponechaním komponentov v protipostavení pomocou zaistenia ako sú zámky alebo spinky.

Zariadenie podľa tohoto vynálezu môže byť zostrojené pre sendvičové a kompetitívne stanovenie.

Keď je zariadenie skonštruované pre sedvičovú imunoanalýzu, má zvyčajne najmenej jeden z protiľahlých komponentov zariadenia na sebe inkorporovanú prvú, značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát. Prvá značená špecifická väzobná látka pre analyzát je v resolubilizovateľnej forme pomocou vodného roztoku. Použitý vodný roztok môže byť vzorka. Prvá, značená špecifická väzobná látka je umiestnená tak, aby mohla reagovať s analyzátom vo vzorke.

V zariadení vhodnom pre sendvičové imunostanovenie má chromatografické médium inkorporovanú detekčnú zónu druhej,

neznačenej, špecifickej väzobnej látky pre analyzát, ktorá je v ňom imobilizovaná. Detekčná zóna je podstatne menšia ako chromatografické médium. Tieto komponenty sú usporiadané tak, že trojzložkový komplex sa skladá: (1) z prvej, značenej, špecifickej väzobnej látky; (2) analyzátu; a (3) druhá, neznačená, špecifická väzobná látka sa viaže v detekčnej zóne, keď je analyzát prítomný vo vzorke.

V zariadení vhodnom na kompetitívne imunostanovenie má chromatografické médium v sebe inkorporovavanú najmenej jednu zónu, ktorá je podstatne menšia ako je chromatografické médium; táto zóna je tvorená členom špecifického väzobného páru vybraného zo skupiny s obsahom analyzátu alebo jeho analógu a špecifickej väzobnej látky pre analyzát. Podľa tohoto vynálezu môže byť mnoho rozdielnych usporiadaní tohoto zariadenia, ktoré sú vhodné pre kompetitívne imunostanovenie. Takéto rozdielne usporiadania sú popísané nižšie.

Po aplikácii vzorky je detekcia a/alebo stanovenie analyzátu v chromatografickom médiu zvyčajne pomocou viditelne označeného komponentu. Značený komponent je výhodne buď analyzát alebo jeho analóg, naviazaný na vizuálne detegovateľnú značku, alebo špecifická väzobná látka pre analyzát je naviazaná na vizuálne detegovateľnú značku.

Zariadenie na stanovenie podľa tohoto vynálezu môže byť zhotovené pre viac ako jedno simultánne stanovenie. V takých zariadeniach má jeden z pevných planárnych komponentov najmenej dve oddelené chromatografické média, ktoré sa navzájom nedotýkajú.

Obmena zariadenia je hlavne vhodná pre dvojsmernú chromatografiu, hoci nie je obmedzená len na toto použitie. Zariadenie má najmenej tri pevné planárne protiľahlé komponenty.

Jeden z pevných planárnych komponentov má na svojom povrchu chromatografické médium, ktoré má prvý a druhý koniec. Trojzložkové zariadenie má tiež prostriedky na tvorbu párov protiľahlých komponentov najmenej v dvoch rozličných kombináciách a aplikáciu tlaku na ne, ponechaním komponentov v protipostavení pomocou zaistenia ako sú zámky alebo spinky. Tlak je dostatočný na prenos kvapaliny z jedného protiľahlého komponentu na druhý v smere normálnom k protiľahlým komponentom a poháňa kvapalinu cez chromatografické médium. Tlak spôsobí aplikáciu vzorky na chromatografické médium a jej prietok cez chromatografické médium smerom z prvého konca k druhému koncu.

Zariadenie má najmenej jeden aplikátor a jeden absorbent, ktoré sú umiestnené na jednom z protiľahlých komponentov, sú umiestnené tak, že keď protiľahlý komponent, na ktorom sa nachádzajú aplikátor a absorbent sa dostane do protiľahlej polohy k protiľahlému komponentu, na ktorom sa nachádza chromatografické médium, aplikuje sa druhá kvapalina na chromatografické médium. Druhá kvapalina preteká cez chromatografické médium z druhého konca smerom k prvému koncu. Toto mení smer prietoku cez chromatografické médium. Detekcia a/alebo stanovenie analyzátu sa vykoná následne po zmene smeru prietoku.

A. Dvojzložkové zariadenie

Jedno vyhotovenie zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu je dvojzložkové zariadenie na chromatografické stanovenie, ktoré je účinné v jednom smere s jednosmerným prietokom.

1. Všeobecné usporiadanie dvojzložkového zariadenia

Všeobecne sa dvojzložkové zariadenie na chromatografické

stanovenie podľa tohoto vynálezu skladá:

(1) Z prvého protiľahlého komponentu s preparačnou zónou pre vzorku, ktorá je adaptovaná na prijatie testovanej vzorky; a

(2) Z druhého protiľahlého komponentu s obsahom chromatografického média.

V tomto zariadení, keď je zariadenie zavreté sú prvý a druhý protiľahlý komponent v protiľahlej polohe, toto usporiadanie spôsobí že vzorka, ktorá má byť stanovená, nanesená do preparačnej zóny pre vzorku, je aplikovaná na chromatografické médium. Po aplikácii detekčného reakčného činidla do preparačnej zóny pre vzorku sú pri činnosti prvý a druhý komponent zvyčajne v protľahlom postavení. Keď sa prvý a druhý protiľahlý komponent dostanú do protipostavenia, preparačná zóna pre vzorku nanesie vzorku a detekčné reakčné činidlo na chromatografické médium. Po tom, ako vzorka a detekčné činidlo prejdú najmenej cez časť chromatografického média, detekčné reakčné činidlo poskytne detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu; detekčné reakčné činidlo sa pozoruje a/alebo sa meria najmenej v časti chromatografického média. Výsledkom je detekcia a/alebo stanovenie analyzátu.

Podrobný popis konštrukcie základného zariadenia možno v širokom rozsahu použiť aj na iné dvojzložkové a trojzložkové zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu.

Detekčné reakčné činidlo sa skladá z prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát, tak ako je uvedené vyššie; môže obsahovať aj dodatočné zložky.

Tento proces môže dávať kvalitatívnu a/alebo kvantitatívnu indikáciu analyzátu v závislosti od hustoty druhej špecifickej väzobnej látky v detekčnej zóne a od veľkosti

detekčnej zóny.

Na dosiahnutie výsledkov si stanovenie zvyčajne vyžaduje 30 sekúnd až 10 minút, častejšie od 1 do 5 minút, vrátane inkubačného času vzorky v preparačnej zóne pre vzorku, rovnako ako času potrebného pre samotnú chromatografiu. Zvyčajne stanovenie prebieha pri izbovej teplote, hoci môže prebiehať pri 4 °C alebo až do teploty 37 °C, alebo v niektorých prípadoch i pri vyššej teplote, v závislosti od analyzátu a špecifických väzobných látok. V niektorých prípadoch môže byť chromatografia pri nižšej teplote želatelná z dôvodu obmedzenia degradácie, v iných prípadoch prebieha stanovenie pri vyššej teplote s vhodným analyzátom a špecifické väzobné látky môžu urýchliť stanovenie.

Toto všeobecné usporiadanie zariadenia na chromatografické stanovenie je znázornené na obrázku 1A. Zariadenie na chromatografické stanovenie 10 má prvý protiľahlý komponent 11 a druhý protiľahlý komponent 12. Prvý protiľahlý komponent 11 obsahuje preparačnú zónu pre vzorku 13. Druhý protiľahlý komponent 12 obsahuje chromatografické médium 14. Chromatografické médium 14 má prvý koniec 15 a druhý konniec 16; chromatografické médium obsahuje detekčnú zónu 17 a kontrolnú zónu 18. Prvý protiľahlý komponent 11 a druhý protiľahlý komponent 12 sú spojené pántom 19. Prvý a druhý protiľahlý komponent 11 a 12 výhodne ďalej obsahujú ističe, ktoré zaisťujú polohu protiľahlých komponentov. Ističe môžu byť tvorené zámkami ako sú zámky 20 a 21, ktoré sa použijú keď prvý protiľahlý komponent 11 a druhý protiľahlý komponent 12 sú v protiľahlej polohe. Konštrukcia a rozmery zámkov 20 a 21 môžu byť rôzne podľa potreby vytvorenia optimálneho stupňa tlaku na protiľahlých komponentoch 11 a 12. Stupeň tlaku, ktorý je optimálny, môže závisieť na hrúbke a konštrukcii chromatografického média 14, na objeme jednotlivej vzorky a iných faktoroch. Na ochranu voči

vytekaniu vzoriek, alebo reakčných činidiel plombový uzáver alebo tesnenie 22 sú lokalizované na okraji prvého a druhého protiľahlého komponentu 11 a 12. Tiež použitie uzáverov ako sú zámky 20 a 21 a plombového uzáveru alebo tesnenia 22 je všeobecne výhodné, tieto komponenty však nie sú povinnou výbavou základneho zariadenia podľa tohoto vynálezu. Druhý protiľahlý komponent 12 má prvý otvor 23; volitelne môže mať prvý protiľahlý komponent 11 druhý otvor 24, cez ktorý možno sledovať chromatografické médium 14 z každej strany. Druhý otvor 24 umožňuje pohľad na chromatografické médium 14 z protiľahlého povrchu, voči ktorému sa aplikuje reakčné činidlo. V inej možnosti môže prvý otvor 23 chýbať, potom sa druhý otvor 24 použije na sledovanie chromatografického média 14. Všeobecne, dvojzložkové zariadenie podľa tohoto vynálezu môže mať jeden alebo dva otvory, tiež známe ako okienka, ktoré umožňujú pohľad na chromatografické médium buď cez protiľahlý komponent bez chromatografického média, ako otvor 23 na obrázku 1, alebo cez protiľahlý komponent s chromatografickým médiom, ako otvor 24 na obrázku 1. Prvý a druhý protiľahlý komponent 11 a 12 môžu byť zhotovené z transparentného alebo priehľadného materiálu, vtedy je možno vidieť chromatografické médium bez otvoru alebo okienka.

Obrázok 1B ukazuje zariadenie 10 po uvedení protiľahlých komponentov 11 a 12 do protipostavenia. Chromatografické médium 14 s detekčnou zónou 17 a kontrolnou zónou 18 možno vidieť cez otvor 24. Preparačná zóna pre vzorku 13 je v kontakte s chromatografickým médiom 14 a nachádza sa pri-, alebo v blízkosti prvého konca 15, obsah preparačnej zóny pre vzorku 13 môže prechádzať cez chromatografické médium 14, vrátane detekčnej zóny 17 a kontrolnej zóny 18.

Zariadenie 10 môže ďalej obsahovať vodič 25, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 25 chromatografického média

14, tak ako ukazuje obrázok 1A. Vodič 25 môže byť taký materiál ako je celulóza alebo iný materiál, ktorý môže viesť vodný roztok bez toho, aby ho absorboval. Pôsobenie surfaktantu na vodič 25 spôsobí, že reakčné činidlo môže byť aplikované rovnomernejšie na chromatografické médium 14. Keď je vodič 25 prítomný, preparačná zóna pre vzorku 13 je výhodne v kontakte s vodičom 25 keď prvý a druhý protiľahlý komponent 11 a 12 sú v protiľahlej polohe.

Zariadenie 10 môže ďalej obsahovať absorbent 26, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 16 chromatografického média 14, čo napomáha vedeniu kvapaliny cez chromatografické médium 14 z prvého konca 15 smerom k druhému koncu 16, ako ukazuje obrázok 1A.

Preparačná zóna pre vzorku 13 môže byť vyhotovená z akéhokoľvek vhodného materiálu ako sú (ale nie obmedzene) celulóza, papier, nylon, rayon, sklenné vlákno, vlnená látka, netkané syntetické materiály. Výber veľkosti pórov preparačnej zóny pre vzorku 13 umožní odfiltrovanie buniek a častíc vo vzorke ako je krv alebo stolica. Preparačná zóna pre vzorku 13 môže obsahovať najmenej jedno reakčné činidlo, ktoré pôsobí na vzorku pred tým, ako je vzorka nanesená na chromatografické médium 14.

Reakčné činidlá, ktoré môžu byť prítomné v preparačnej zóne pre vzorku 13, sa líšia v závislosti na vzorke, ktorá má byť nanesená do preparačnej zóny pre vzorku 13 a v závislosti od analyzátu, ktorý má byť stanovený. Môžu obsahovať, ale nie limitovane, kyseliny alebo zásady na úpravu pH, pufre na stabilizáciu pH, chelátové činidlá ako EDTA alebo EGTA na vyviazanie kovov, hydrolytické enzýmy na lýzu bunkových membrán živočíšnych buniek alebo bunkovej steny baktérii na uvoľnenie analyzátov, substráty alebo koenzýmy pre enzýmy a tak podobne.

Jedným užitočným extrakčným činidlom je zmes nitritu sodného s kyselinou octovou, za vzniku kyseliny dusitej. Nitrit sodný môže byť prítomný v suchej forme na povrchu preparačnej zóny pre vzorku 13 a kyselina octová môže byť pridaná do preparačnej zóny pre vzorku 13 po nanesení vzorky.

Vzorka, alebo vzorkovací nástroj, ako je tyčinka na vytieranie hrdla alebo filter s mikropórmi, môže byť nanesená pomocou operátora do preparačnej zóny pre vzorku 13; keď je potrebné môžu byť pridané iné reakčné činidlá.

Teleso prvého a druhého protiľahlého komponentu 11 a 12 je výhodne zhotovené z laminovaného materiálu, ktorý je dostatočne nepriepustný pre vlhkosť, ktorú obsahujú kvapaliny zúčastnené na stanovení. Môžu sa použiť tiež iné materiály na báze celulózy. Môže sa použiť aj plastický materiál, ktorý neprepúšťa vlhkosť. Vhodným plastickým materiálom je polykarbonátový plast ako LexanTH.

Pánt 19 je výhodne z materiálu nepriepustného pre vodné roztoky, napr. plastický materiál, ktorý môže byť kompatibilne spojený s komponentami, alebo je z takého istého materálu ako je teleso prvého a druhého protiľahlého komponentu 11 a 12.

Zvyčajne sú chromatografické médium 14, absorbent 26, vodič 25 a iné kvapalinu príjmajúce komponenty upevnené na telesá prvého a druhého protiľahlého komponentu 11 a 12 adhéziou. Vhodné adhezíva sú známe odborníkom. Môže byť použitá iná forma spojenia ako slučka v tvare U.

Analyzát je detegovaný buď pomocou značenej špecifickej väzobnej látky voči analyzátu, alebo použitím značenej druhej špecifickej väzobnej látky pre špecifickú väzobnú látku k analyzátu. Vo väčšine prípadov sa výhodne používa značená

špecifická väzobná látka voči analyzátu. Výhodné označenie značenej špecifickej väzobnej látky je vizuálne detegovateľné označenie ako je koloidná väzobná značka. Výhodne je koloidnou kovovou značkou zlato, striebro, bronz, železo, alebo cín; najvýhodnejším je zlato. Príprava zlatom značených protilátok je popísaná v J. DeMey, "The Preparation and Use of Gold Probes" v Immunocytochemistry: Modern Methods and Applications (J.M. Polak a S. VanNoorden, vyd., Wright, Bristol, England, 1986), kapitola 8, s. 115-145. Protilátky značené koloidným zlatom sú komerčne dostupné, napr. od Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri.

Môžu byť použité aj iné koloidné značky, ako sú koloidná značka síry alebo značka kremíkovej farby. Menej výhodnou možnosťou pre vizuálnu detekciu je značka tvorená farebným latexom. Je možné použiť iné značky, ako sú rádioaktívne značky.

Keď vodný roztok s obsahom vzorky je aplikovaný na resolubilizovateľnú špecifickú väzobnú látku s koloidnou kovovou značkou, ako je koloidné zlato, kinetika reakcie medzi analyzátom a značenou väzobnou látkou je extrémne rýchla. Takéto rýchle kinetiky vedú podstatne k úplnému označeniu analyzátu pred tým, ako analyzát v kombinácii so značenou špecifickou väzobnou látkou sú nanesené na chromatografické médium. Pri jednosmernej chromatografii v zariadení podľa tohoto vynálezu je chromatografovaný binárny komplex analyzátu a zodpovedajúcej špecifickej väzobnej látky. Umožňuje to oddelenie komplexu od kontaminácii, ktoré nie sú naviazané na špecifickú väzobnú látku, čím sa zlepšuje presnosť stanovenia.

V tomto prevedení je značená špecifická väzobná látka prítomná v preparačnej zóne pre vzorku 13 vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná pridaním vodného roztoku do preparačnej zóny pre vzorku. Zvyčajne je vodným roztokom samotná vzorka.

V niektorých prípadoch, hlavne keď sa použije malý objem vzorky, môže byť žiadúce pridať ďalší pufer, alebo iný vodný roztok do preparačnej zóny pre vzorky.

V iných vyhotoveniach, ktoré budú ďalej popísané, môže byť značená špecifická väzobná látka prítomná na takom prvku zariadenia na chromatografické stanovenie, ktorý je oddelený od preparačnej zóny pre vzorku, ale prichádza do kontaktu s ňou v priebehu chromatografického stanovenia. V takýchto vyhotoveniach je značená špecifická väzobná látka prednostne prítomná v resolubilizovateľnej forme na tomto prvku a je resolubilizovaná, keď sa vzorka dostane do kontaktu s týmto prvkom. V niektorých prípadoch môže byť značená špecifická väzobná látka resolubilizovaná pridaním vodného roztoku, ktorý sa líši od vzorky.

Chromatografické médium 14 na druhom protiľahlom komponente 12 je rovný pásik. Typicky je pravouhlý a má prvý a druhý koniec 15 a 16. V celom tomto popise výraz "prvý koniec" 15 sa týka okraja chromatografického média 14, na ktorý sa nanáša vzorka a výraz "druhý koniec" 16 sa týka protiľahlého konca. Smer toku vzorky je z prvého konca 15 smerom k druhému koncu 16 chromatografického média 14. Chromatografické médium 14 je tvorené materiálom vhodným ako médium pre tenkovrstevnú chromatografiu analyzátov a konjugátov analyzát-protilátka, ako sú nitrocelulóza, nylon, rayon, celulóza, papier, alebo silika. V prípade potreby môže byť chromatografické médium 14 vopred upravené, alebo modifikované. Chromatografické médium 14 je zvyčajne priehľadné, takže farebné zóny, ktoré sa ňom objavia ako výsledok stanovenia, možno vidieť z oboch strán.

V niektorých aplikáciách je výhodné umiestniť druhú flexibilnú transparentnú podporu na povrch chromatografického média 14, ktorá reguluje pohyb vzorky cez chromatografické

médium 14 a zabraňuje migrácii cez povrch chromatografického média. Vhodné flexibilné transparentné podpory sú polyetylén, vinyl, Mylar^{R} a celofán.

Keď zariadenie na chromatografické stanovenie 10 má byť použité na sendvičovú imunoanalýzu, chromatografické médium môže ďalej obsahovať detekčnú zónu 17, ktorá je podstatne menšia ako chromatografické médium. Táto detekčná zóna obsahuje druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, druhá špecifická väzobná látka je imobilizovaná proti difúzii. Druhá špecifická väzobná látka môže byť naviazaná na chromatografické médium buď kovalentne, alebo nekovalentným spôsobom. Keď analyzát, ktorý má byť stanovený, je antigén alebo hapten, druhou špecifickou väzobnou látkou môže byť protilátka voči antigénu alebo haptenu. Obrátene, analyzátom môže byť protilátka a druhou špecifickou väzobnou látkou môže byť hapten, alebo antigén schopný špecificky sa viazať na protilátku.

Chromatografické médium môže ďalej obsahovať kontrolnú zónu 18, ktorá je podstatne menšia ako chromatografické médium 14, a je oddelená od detekčnej zóny 17. Kontrolná zóna 18 môže obsahovať analyzát, imobilizovaný voči difúzii, pre väzbu protilátky, ktorá sa nenaviazala v detekčnej zóne 17, tak sa vytvorí terciálny "sedvičový" komplex. Ktorákoľvek takáto protilátka naviazaná imobilizovaným analyzátom tvorí detegovateľnú zónu, alebo prúžok. Toto umožňuje kontrolu priebehu stanovenia a správnosť väzby reakčných činidiel, tak ako je popísané nižšie. Metódy používané na väzbu druhej špecifickej väzobnej látky v detekčnej zóne 17 a analyzátu v kontrolnej zóne sú dobre známe odborníkom a nebudú ďalej popísané.

Pre niektoré analyzáty ako sú uhľohydráty, môže byť ťažké, alebo nemožné fixovať stabilne analyzát na chromatografické médium 14. V takýchto prípadoch môže kontrolná zóna

obsahovať imobilizovanú zónu protilátky špecifickej pre značenú protilátku voči anti-analyzátu. Napríklad, keď analyzát je Streptococcus A - špecifický uhlohydrát a značená protilátka je králičí IgG špecifický voči Streptococcus A - antigénu, kontrolná zóna 18 môže obsahovať protilátku proti králičiemu IgG. V takých prípadoch, na zabránenie úplneho vychytania značenej anti-analyzát protilátky v detekčnej zóne 17 pri vysokej koncentrácii analyzátu a následnom vymiznutí značenej anti-analyzát protilátky z kontrolnej zóny 18, môže byť želatelné pridať značenú protilátku nešpecifickú pre analyzát, torá je druhovo odlišná od značenej anti-analyzát protilátky. Takáto protilátka môže byť tvorená imunologicky indiferentným imunoglobulínom alebo protilátkou k analyzátu, ktoré sa nenachádzajú v testovanej vzorke. Kontrolná zóna 18 by mala potom obsahovať antidruhovú protilátku alebo analyzát, ktoré sa nenachádzajú v testovanej vzorke.

Sú možné mnohé variácie tohoto zariadenia. V jednej variácii, ako bolo opísané vyššie, preparačná zóna pre vzorku 13 môže ďalej obsahovať špecifickú väzobnú látku označenú detegovateľnou značkou vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní vodného roztoku k preparačnej zóne pre vzorku 13. Vodný roztok môže byť samotná vzorka. Značená špecifická väzobná látka môže byť lyofilizovaná alebo opätovne precipitovaná tak, že je resolubilizovaná a mobilizovaná pridaním vzorky do preparačnej zóny pre vzorku. V tejto variácii nie je potrebné pridávať detekčné činidlo do preparačnej zóny pre vzorku 13, nakoľko detekčné činidlo je automaticky vytvorené po pridaní vzorky do preparačnej zóny pre vzorku 13.

V inej variácii, môže byť vodič 25, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 25 chromatografického média 14 na druhom operačnom komponente, nahradený absorbentom 25a s obmedzenou kapacitou. Absorbent 25a je umiestnený tak, že sa dostáva

do kontaktu so zónou pre prípravu vzorky 13 keď prvý 11 a druhý 12 protiľahlý komponent sú v protipostavení, čím sa nanesie vzorka na absorbent. Toto môže byť užitočné pri kontrole toku vzorky do chromatografického média 14, takže chromatografické médium 14 nie je preťažené.

V tejto verzii môže absorbent 25 obsahovať značenú špecifickú väzobnú protilátku pre analyzát vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná, ako je popísané vyššie. V tomto usporiadaní, značená špecifická väzobná látka je resolubilizovaná keď prvý a druhý protiľahlý komponent 11 a 12 sú v protipostavení, čím sa nanesie vzorka na absorbent 25a. Kombinácia vzorky a resolubilizovanej značenej špecifickej väzobnej látky sa potom dostáva do chromatografického média 14 na jeho prvom konci 15.

2. Podrobné uskutočnenie dvojzložkového zariadenia

a. Zariadenie s vodivým spájajúcim členom na druhom komponente

V jednom vyhotovení dvojzložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu, sa prvý protiľahlý komponent skladá:

(1) z preparačnej zóny pre vzorku; a

(2) z chromatografického média, ktoré nie je v styku s preparačnou zónou pre vzorku.

Druhý protiľahlý komponent je tvorený vodivým, spájajúcim členom. Prvý a druhý protiľahlý komponent môžu byť v protipostavení, čo spôsobí, že spájajúci člen vytvorí spojenie medzi preparačnou zónou pre vzorku a chromatografickým médiom s výslednou aplikáciou vzorky na chromatografické médium.

Takéto vyhotovenie je na obrázku 2. Zariadenie na

chromatografické stanovenia 40 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 41 a druhého protiľahlého komponentu 42. Prvý protiľahlý komponent obsahuje preparačnú zónu pre vzorku 43 a chromatografické médium 44, ktoré má prvý koniec 50 a druhý koniec 51. Chromatografické médium 44 má detekčnú zónu 45 a kontrolnú zónu 46. Druhý protiľahlý komponent 42 obsahuje vodivý spájajúci člen 47. Prvý a druhý protiľahlý komponent 41 a 42 sú spojené pántom 48. Prvý a druhý protiľahlý komponent 41 a 42 majú uzávery ako sú zámky 52 a 53, tesnenie 54 je okolo prvého a druhého protiľahlého komponentu 41 a 42. Druhý protiľahlý komponent 42 má otvor 49, ktorý umožňuje pohľad na chromatografické médium 44.

Keď sa prvý a druhý protiľahlý komponent 41 a 42 dostanú do protipostavenia, preparačná zóna pre vzorku 43 na prvom protiľahlom komponente 41 sa dostane do kontaktu s vodivým spájajúcim členom 47 na druhom protiľahlom komponente 42, čo následne spôsobí kontakt s prvým koncom 50 chromatografického média 44 a aplikáciu vzorky na chromatografické médium 44.

Vo variáciách zariadenia na obrázku 2, môže vodivý spájajúci člen 47 obsahovať špecifickú väzobnú látku pre analyzát značený detegovateľnou značkou vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní vodného roztoku. V tomto vyhotovení sa vzorka pridá do preparačnej zóny pre vzorku 43. Obrátene, preparačná zóna pre vzorku 43 môže byť použitá na pridanie značenej špecifickej väzobnej látky pre analyzát v tekutej forme, samotná vzorka sa pridá k vodivému spájajúcemu členu 47. V inom prípade preparačná zóna pre vzorku 43 môže obsahovať resolubilizovateľnú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, keď vzorka sa opäť pridá k vodivému spájajúcemu členu 47.

b. Ziadenie s preparačnou zónou pre vzorku na prvom protiľahlom komponente

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je zariadenie ktoré inkorporuje preparačnú zónu pre vzorku na prvý protiľahlý komponent, t.j.komponent, na ktorom sa nachádza chromatografické médium. V tomto prevedení zvyčajne obsahuje druhý protiľahlý komponent aplikátor s inkorporovanou značenou špecifickou väzobnou látkou pre analyzát vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná.

V tomto prevední, keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení, dostáva sa aplikátor do kontaktu s preparačnou zónou pre vzorku, čím nastáva resolubilizácia značenej špecifickej väzobnej látky pre analyzát.

Výhodne obsahuje prvý protiľahlý komponent vodič a operačný kontakt medzi preparačnou zónou pre vzorku a chromatografickým médiom sa dosiahne tým, že preparačná zóna pre vzorku a chromatografické médium sú v operačnom kontakte s vodičom.

Výhodne obsahuje prvý protiľahlý komponent absorbent, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média.

Chromatografické médium je výhodne konštruované tak, ako je popísané vyššie, s detekčnou a kontrolnou zónou.

Toto vyhotovenie zariadenia na stanovenie zaznamenáva obrázok 3. Zariadenie na chromatografické stanovenie 60 má prvý protiľahlý komponent 61 a druhý protiľahlý komponent 62. Prvý protiľahlý komponent 61 obsahuje preparačnú zónu pre vzorku 63, vodič 64 je v operačnom kontakte s preparačnou zónou pre vzorku

63, chromatografické médium 65 má prvý koniec 66 a druhý koniec 67, absorbent 68 je v operačnom kontakte s druhým koncom 67 chromatografického média 65. Chromatografické médium 65 obsahuje detekčnú zónu 69 a kontrolnú zónu 70. Druhý protiľahlý komponent 62 obsahuje aplikátor 71, výhodne s prítomnou značenou špecifickou väzobnou látkou vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná. Prvý protiľahlý komponent 61 a druhý protiľahlý komponent 62 sú spojené pántom 72. Druhý protiľahlý komponent 62 obsahuje okienko 73, ktoré umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média 65. Prvý a druhý protiľahlý komponent 61 a 62 majú ističe, ako sú zámky 74 a 75, ďalej po obvode prvého a druhého protiľahlého komponentu 61 a 62 sa nachádza tesnenie 76.

Pri činnosti zariadenia je vzorka nanesená na preparačnú zónu pre vzorku 63. Prvý a druhý protiľahlý komponent 61 a 62 sa uvedú do protipostavenia a vzorka v preparačnej zóne pre vzorku 63 resolubilizuje obsah aplikátora 71, vrátane značenej špecifickej väzobnej látky. Obsah preparačnej zóny pre vzorku 63 a aplikátora 71 sú potom aplikované na chromatografické médium 65 cez preparačnú zónu pre vzorku 63 a vodič 64.

c. Zariadenie s absorbentom na druhom protiľahlom komponente

V alternatívnom vyhotovení môže byť absorbent umiestnený na druhom protiľahlom komponente namiesto na prvom protiľahlom komponente. Pri tejto alternatíve sa absorbent dostáva do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média, keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení. Toto umožňuje väčšiemu absorbentu, ktorý môže byť potrebný pri použití väčšej vzorky, detekciu nízkych koncentrácií analyzátu.

Táto alternatíva vyhotovenia je znázornená na obrázku 4. Zariadenie na chromatografické stanovenie 80 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 81 a druhého protiľahlého komponentu 82. Prvý protiľahlý komponent 81 obsahuje preparačnú zónu pre vzorku 83, vodič 84 je v operačnom kontakte s preparačnou zónou pre vzorku 83, chromatografické médium 85 má prvý koniec 86 a druhý koniec 87, ktoré obsahuje detekčnú zónu 88 a kontrolnú zónu 89. Druhý protiľahlý komponent 82 obsahuje aplikátor 90 a absorbent 91; aplikátor 90 je oddelený od absorbentu 91 na druhom protiľahlom komponente 82. Prvý protiľahlý komponent 81 a druhý protiľahlý komponent 82 sú spojené pántom 92. Druhý protiľahlý komponent 82 obsahuje okienko 93, ktoré umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média 85. Prvý a druhý protiľahlý komponent 81 a 82 majú ističe, ako sú zámky 94 a 95 a tesnenie 96, ako je popísané vyššie.

Pri činnosti je vzorka nanesená do preparačnej zóny pre vzorku 83, kde môže dôjsť k extrakcii alebo inému spracovaniu vzorky. Vzorka potom vstupuje na prvý koniec 86 chromatografického média 85 cez vodič 84, ako je popísané vyššie. Keď prvý protiľahlý komponent 81 a druhý protiľahlý komponent 82 sú v protipostavení, aplikátor 90 sa dostáva do operačného kontaktu s vodičom 84 a nastane resolubilizácia značenej špecifickej väzobnej látky v aplikátore 90 a aplikácia resolubilizovanej značenej špecifickej väzobnej látky na vodič 84 a potom na prvý koniec 86 chromatografického média 85, čo spôsobí, že resolubilizovaná značená špecifická väzobná látka vstupuje do chromatografického média 85. Absorbent 91 sa simultánne dostáva do operačného kontaktu s druhým koncom 87 chromatografického média 85 a odoberá kvapalinu z chromatografického média 85.

d. Zariadenie s preparačnou zónou pre vzorku a absorbentom na tom istom protiľahlom komponente

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je dvojzložkové zariadenie s preparačnou zónou pre vzorku a absorbentom na tom istom protiľahlom komponente. Toto usporiadanie môže byť výhodné pri niektorých aplikáciách, hlavne pri použití väčšieho absorbentu schopného odoberať kvapaliny väčšou rýchlosťou z druhého konca chromatografického média.

Táto alternatíva dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie je znázornená na obrázku 5. Zariadenie na chromatografické stanovenie 100 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 101 a druhého protiľahlého komponentu 102, ktoré sú spojené pántom 103. Prvý protiľahlý komponent 101 obsahuje chromatografické médium 104 s prvým koncom 105 a druhým koncom 106, vodič 107, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 105 chromatografického média 104. Chromatografické médium 104 obsahuje detekčnú zónu 108 a volitelne aj kontrolnú zónu 109.

Druhý protiľahlý komponent 102 obsahuje preparačnú zónu pre vzorku 110, kde sa aplikuje stanovovaná vzorka a absorbent 111, ktorý je oddelený od preparačnej zóny pre vzorku 110. Preparačná zóna pre vzorku 110 môže obsahovať značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme. Druhý protiľahlý komponent 102 má okienko 112, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium. Prvý a druhý protiľahlý komponent 101 a 102 majú ističe, ako sú zámky 113 a 114 a tesnenie 115, ako je popísané vyššie.

Keď prvý protiľahlý komponent 101 a druhý protiľahlý komponent 102 sú v protipostavení, preparačná zóna pre vzorku

110 sa dostáva do operačného kontaktu s vodičom 107 a nastane aplikácia vzorky na vodič 107, a potom na prvý koniec 105 chromatografického média 104. Absorbent 111 sa dostane do operačného kontaktu s druhým koncom 106 chromatografického média 104 a môže tak odoberať kvapalinu z druhého konca 106 chromatografického média 104. Iné zložky a funkcia tohoto zariadenia je rovnaká ako ukazuje obrázok 4, vyššie.

e. Zariadenie s dvomi podložkami pre aplikáciu detektorov na rôznych protiľahlých komponentoch

Iné vyhotovenie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu obsahuje dve oddelené podložky pre aplikáciu detektorov na rôznych protiľahlých komponentoch. Toto usporiadanie môže byť výhodné pri potrebe použitia veľkých objemov značenej špecifickej väzobnej látky a to keď značená špecifická väzobná látka je dostupná len v zriedenej forme a postupy na koncentráciu protilátky by viedli k jej denaturácii alebo inaktivácii.

Toto vyhotovenie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie je znázornené na obrázku 6. Zariadenie na chromatografické stanovenie 120 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 121 a druhého protiľahlého komponentu 122, ktoré sú spojené pántom 123. Prvý protiľahlý komponent 121 obsahuje chromatografické médium 124 s prvým koncom 125 a druhým koncom 126. Chromatografické médium 124 obsahuje detekčnú zónu 127 a volitelne aj kontrolnú zónu 128.

Prvý protiľahlý komponent 121 obsahuje tiež prvú podložku pre aplikáciu detektora 129, ktorá je v operačnom kontakte s prvým koncom 125 chromatografického média 124. Prvá podložka

pre aplikáciu detektora 129 obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na prvú podložku pre aplikáciu detektora. Prvá značená špecifická väzobná látka je zvyčajne označená detegovateľnou značkou. Prvý protiľahlý komponent 121 má tiež vodič 130, ktorý je v operačnom kontakte s prvou podložkou pre aplikáciu detektora 129, takže prvá podložka pre aplikáciu detektora 129 premosťuje vodič 130 a prvý koniec 125 chromatografického média 124. Prvý protiľahlý komponent 121 obsahuje tiež absorbent 131, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 126 chromatografického média 124.

Druhý protiľahlý komponent 122 obsahuje preparačnú zónu pre vzorku 132, kde sa nanáša vzorka ktorá má byť stanovená. Druhý protiľahlý komponent 122 obsahuje tiež druhú podložku pre aplikáciu detektora 133, ktorý je v operačnom kontakte s preparačnou zónou pre vzorku 132, preparačná zóna pre vzorku 132 je umiestnená nad druhou podložkou pre aplikáciu detektora 133. Preparačná zóna pre vzorku 132 a druhá podložka pre aplikáciu detektora 133 môžu byť spojené upevňovačom alebo adhéziou. Druhá podložka pre aplikáciu detektora 133 a preparačná zóna pre vzorku 132 sú umiestnené tak, že vzorka nanesená do preparačnej zóny pre vzorku 132 musí prechádzať cez preparačnú zónu pre vzorku 132 predtým, ako vstúpi na druhú podložku pre aplikáciu detektora 133. Druhá podložka pre aplikáciu detektora 133 obsahuje druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vzorky do preparačnej zóny pre vzorku 132. Druhá podložka pre aplikáciu detektora 133 je umiestnená tak, že nanesenie vzorky do preparačnej zóny pre vzorku 132 resolubilizuje druhú špecifickú väzobnú látku a preparačná zóna pre vzorku obsahuje zmes vzorky a druhej špecifickej väzobnej látky.

Druhá špecifická väzobná látka je označená detegovateľ

nou značkou. Výhodne sú prvá a druhá špecifická väzobná látka identické a detegovateľné značenia označujúce prvú a druhú špecifickú väzobnú látku sú identické.

Druhý protiľahlý komponent 122 má okienko 132, ktoré umožňuje pohľad aspoň na časť chromatografického média 124, vrátane detekčnej zóny 127, a keď je prítomná, aj kontrolnej zóny 128. Prvý a druhý protiľahlý komponent 121 a 122 majú ističe, ako sú zámky 135 a 136 a tesnenie 137, ako je popísané vyššie pre dvojzložkové zariadenie.

Keď prvý a druhý protiľahlý komponent 121 a 122 sú v protipostavení, preparačná zóna pre vzorku 132 sa dostáva do operačného kontaktu s vodičom 130 a nastane aplikácia vzorky a druhej špecifickej väzobnej látky na vodič 130 a potom na prvý koniec 125 chromatografického média 124 cez prvú podložku pre aplikáciu detektora 129. Vzorka sa tak postupne dostáva do kontaktu s druhou špecifickou väzobnou látkou a potom s prvou špecifickou väzobnou látkou pred tým, ako sa dostane na prvý koniec 125 chromatografického média. Toto umožňuje aby väčšie objemy značenej väzobnej látky mohli byť v kontakte so vzorkou a dosiahne sa tak zvýšenie citlivosti stanovenia.

f. Zariadenie s dvoma oddelenými aplikátormi na tom istom protiľahlom komponente

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu obsahuje dva oddelené aplikátory na tom istom protiľahlom komponente. Tieto dva aplikátory nie sú v operačnom kontakte dokiaľ nie sú premostené vodičom na protiľahlom prvku, čo nastane pri protipostavení oboch prvkov.

Toto vyhotovenie dvojzložkového zariadenia na chromato-

grafické stanovenie je znázornené na obrázku 7. Zariadenie na chromatografické stanovenie 140 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 141 a druhého protiľahlého komponentu 142. Prvý protiľahlý komponent 141 obsahuje chromatografické médium 143 s prvým koncom 144 a druhým koncom 145, vodič 146 je v operačnom kontakte s prvým koncom 144, absorbent 147 je v operačnom kontakte s druhým koncom 145 chromatografického média 143. Chromatografické médium 143 obsahuje detekčnú zónu 148 a kontrolnú zónu 149. Druhý protiľahlý komponent 142 obsahuje prvý aplikátor (podložku pre aplikáciu vzorky) 150 a druhý aplikátor (podložku pre aplikáciu detektora) 151. Prvý aplikátor 150 a druhý aplikátor 151 nie sú v operačnom kontakte dokiaľ prvý protiľahlý komponent 141 a druhý protiľahlý komponent 142 nie sú v protipostavení. Keď sa prvý protiľahlý komponent 141 a druhý protiľahlý komponent 142 dostanú do protipostavenia, prvý aplikátor 150 sa dostane do kontaktu s vodičom 146 a druhý aplikátor 151 sa dostane do kontaktu s vodičom 146 a prvým koncom 144 chromatografického média 143. Zvyčajne je prekrytie niekoľkomilimetrové; t.j. dostatočné na to, aby sa zabezpečil prenos kvapaliny. Toto vedie k tomu, že prvý aplikátor 150 a druhý aplikátor 151 sú premostené vodičom 146 a obsahy prvého aplikátora 150 a druhého aplikátora 151 sa nanesú na chromatografické médium 143. Prvý protiľahlý komponent 141 a druhý protiľahlý komponent 142 sú spojené pántom 152. Druhý protiľahlý komponent 142 má okienko 153, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium 143. Prvý a druhý protiľahlý komponent 141 a 142 majú ističe, ako sú zámky 154 a 155 a tesnenie 156.

Prvý aplikátor 150 môže obsahovať podložku pre aplikáciu vzorky a druhý aplikátor 151 môže obsahovať podložku pre aplikáciu detektora, na ktorý môže byť aplikované detekčné činidlo. Keď prvý a druhý protiľahlý komponent 141 a 142 sú v protipostavení, obsahy podložky pre aplikáciu vzorky a podložky pre aplikáciu detektora sú aplikované na chromatografické

médium 143 cez vodič 146.

Druhý aplikátor (podložka pre aplikáciu detektora) 151 výhodne obsahuje špecifickú väzobnú látku pre analyzát značený detegovateľným označením v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na druhý aplikátor 151. Vodný roztok je typicky samotná vzorka, ktorá resolubilizuje značenú špecifickú väzobnú látku keď prvý 141 a druhý 142 protiľahlý komponent sú v protipostavení. Pri niektorých stanoveniach je potrebné pridať samostatný rekonštitučný vodný roztok na podložku pre aplikáciu detektora. Značená špecifická väzobná látka môže byť pridaná v kvapalnej forme k druhému aplikátoru 151.

g. Zariadenie s dvoma aplikátormi a absorbentom na druhom protiľahlom komponente

V inej variácii tohoto vyhotovenia môže byť absorbent premiestnený z prvého protiľahlého komponentu (t.j.protiľahlého komponentu, ktorý nesie chromatografické médium) na druhý protiľahlý komponent (t.j. protiľahlý komponent s obsahom prvého a druhého aplikátora). Toto umožňuje použitie veľkých objemov vzorky a môže byť výhodné pre stanovenie analyzátov s nízkou koncentráciou.

Táto variácia je na obrázku 8. Zariadenie na chromatografické stanovenie 160 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 162 a druhého protiľahlého komponentu 164. Prvý protiľahlý komponent 162 obsahuje chromatografické médium 166 s prvým koncom 168 a druhým koncom 170, vodič 172 je v operačnom kontakte s prvým koncom 168 chromatografického média 166. Chromatografické médium 166 obsahuje detekčnú zónu 174 a kontrolnú zónu 176. Druhý protiľahlý komponent 164 obsahuje

prvý aplikátor (podložku pre aplikáciu vzorky) 178 a druhý aplikátor (podložku pre aplikáciu detektora) 180. Prvý aplikátor 178 a druhý aplikátor 180 nie sú v operačnom kontakte dokiaľ prvý protiľahlý komponent 162 a druhý protiľahlý komponent 164 nie sú v protipostavení a sú potom premostené ako je popísané vyššie pre zariadenie na stanovenie uvedené na obrázku 7. Druhý protiľahlý komponent 164 obsahuje tiež absorbent 182, ktorý je oddelený od prvého aplikátora 178 a druhého aplikátora 180. Keď prvý protiľahlý komponent 162 a druhý protiľahlý komponent 164 sa dostanú do protipostavenia, prvý aplikátor 178 a druhý aplikátor 180 sú premostené vodičom 172 a obsahy prvého aplikátora 178 a druhého aplikátora 180 sa nanesú na chromatografické médium 166. Absorbent 182 sa súčasne dostáva do operačného kontaktu s druhým koncom 170 chromatografického média 166 a môže absorbovať kvapalinu z chromatografického média 166. Prvý protiľahlý komponent 162 a druhý protiľahlý komponent 164 sú spojené pántom 184. Druhý protiľahlý komponent 164 má okienko 186, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium 166. Prvý a druhý protiľahlý komponent 162 a 164 majú tiež ističe, ako sú zámky 185 a 187 a tesnenie 188.

h. Zariadenie s medzerou alebo diskontinuitou medzi vodičom a chromatografickým médiom

Ďalšia variácia tohoto zariadenia má zabudovanú medzeru, alebo je prítomná diskontinuita medzi vodičom a chromatografickým médiom, kvapalina z prvého aplikátora prechádza cez vodič, potom cez druhý aplikátor a nakoniec cez chromatografické médium.

Táto variácia zariadenia je na obrázku 9. Zariadenie na chromatografické stanovenie 190 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 191 a druhého protiľahlého komponentu 192. Prvý

protiľahlý komponent 191 obsahuje chromatografické médium 193 s prvým koncom 194 a druhým koncom 195, vodič 196 nie je v operačnom kontakte s prvým koncom 194 chromatografického média 193 keď je zariadenie 190 otvorené, absorbent 197 je v operačnom kontakte s druhým koncom 195 chromatografického média 193. Chromatografické médium 193 obsahuje detekčnú zónu 198 a kontrolnú zónu 199. Druhý protiľahlý komponent 192 obsahuje prvý aplikátor (podložku pre aplikáciu vzorky) 200 a druhý aplikátor (podložku pre aplikáciu detektora) 201. Prvý aplikátor 200 a druhý aplikátor 201 nie sú v operačnom kontakte dokiaľ prvý protiľahlý komponent 191 a druhý protiľahlý komponent 192 nie sú v protipostavení. Keď prvý protiľahlý komponent 191 a druhý protiľahlý komponent 192 sa dostanú do protipostavenia uzavretím pántu 203, ktorý spája prvý protiľahlý komponent 191 a druhý protiľahlý komponent 192, prvý aplikátor 200 a druhý aplikátor 201 budú premostené vodičom 196 a druhý aplikátor 201 sa dotýka chromatografického média 193. Kvapalina potom prechádza z prvého aplikátora 200 cez vodič 196, potom cez druhý aplikátor 201 a nakoniec cez chromatografické médium 193. Druhý protiľahlý komponent 192 obsahuje okienko 202, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium 193. Prvý a druhý protiľahlý komponent 191 a 192 majú tiež ističe, ako sú zámky 204 a 205 a tesnenie 206, ako je popísané vyššie.

i. <u>Zariadenie s podložkou pre značenú väzobnú látku na tom istom protiľahlom komponente ako je chromatografické médium</u>

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu obsahuje dvojzložkové zariadenie s podložkou pre značenú špecifickú väzobnú látku na tom istom komponente ako je chromatografické médium. V tomto zariadení aplikátor vzorky sa nachádza na druhom protiľahlom komponente.

Toto vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je znázornené na obrázku 10A. Zariadenie na chromatografické stanovenie 210 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 212 a druhého protiľahlého komponentu 214. Prvý protiľahlý komponent 212 obsahuje chromatografické médium 216 s prvým koncom 218 a druhým koncom 220. Chromatografické médium má detekčnú zónu 222, prípadne aj kontrolnú zónu 224, ako je popísané vyššie pre iné variácie zariadení vhodných na sendvičové imunostanovenie. Prvý protiľahlý komponent 212 má tiež vodič 226, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 218 chromatografického média 216, absorbent 228 je v operačnom kontakte s druhým komcom 220 chromatografického média 216. Prvý protiľahlý komponent 212 má tiež podložku pre aplikáciu detektora 230 v priamom kontakte s vodičom 226 a je umiestnená tak, že je v priamom kontakte s prvým koncom 218 chromatografického média 216. Druhý protiľahlý komponent 214 obsahuje podložku pre aplikáciu vzorky 232. Prvý protiľahlý komponent 212 a druhý protiľahlý komponent 214 sú spojené pántom 234. Keď prvý protiľahlý komponent 212 a druhý protiľahlý komponent 214 sa dostanú do protipostavenia, podložka pre aplikáciu vzorky 232 sa dostane do kontaktu s podložkou pre aplikáciu detektora 230. Druhý protiľahlý komponent 214 obsahuje okienko 236, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium 216. Prvý a druhý protiľahlý komponent 212 a 214 majú ističe, ako sú zámky 233 a 235 a tesnenie 237, ako je popísané vyššie.

Čiastočný zadný pohľad zariadenia 210 je znázornený na obrázku 10B. Obrázok 10B zaznamenáva prvý protiľahlý komponent 212 a druhý protiľahlý komponent 214 v protipostavení. Podložka pre aplikáciu vzorky 232 je znázornená v kontakte s podložkou pre aplikáciu detektora 230. Podložka pre aplikáciu detektora 230 je v kontakte s vodičom 226, ktorý následne je v kontakte s prvým koncom 218 chromatografického média 216. Sú zaznamenané

detekčná zóna 222 a kontrolná zóna 224. Druhý koniec 220 chromatografického média 216, bližšie ku kontrolnej zóne 224, je v kontakte s absorbentom 228.

Uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu 212 a 214 do protipostavenia spôsobí nanesenie stanovovanej vzorky z podložky pre aplikáciu vzorky 232 na prvý koniec 218 chromatografického média 216 cez vodič 226.

Výhodne podložka pre aplikáciu detektora 230 obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na podložku pre aplikáciu detektora 230, prvá špecifická väzobná látka je označená detegovateľnou značkou.

Po aplikácii vzorky na podložku pre aplikáciu vzorky 232 obsahuje táto výhodne vodné roztoky; vodný roztok aplikovaný na podložku pre aplikáciu detektora 230 je tvorený obsahom podložky pre aplikáciu vzorky. V tomto usporiadaní nie je potreba ďalšej resolubilizácie značenej špecifickej väzobnej látky.

V inom vyhotovení tohoto zariadenia sa absorbent nachádza na druhom protiľahlom komponente namiesto na prvom protiľahlom komponente. Absorbent je oddelený od podložky pre aplikáciu vzorky, ktorý sa tiež nachádza na druhom protiľahlom komponente a dostáva sa do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média, keď prvý protiľahlý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení tak, ako ukazuje obrázok 5.

j. <u>Zariadenie s podložkou pre aplikáciu detektora v priamom kontakte s prvým koncom chromatografického média</u>

Ďalšia obmena tohoto zariadenia nemá vodič medzi podložkou pre aplikáciu detektora a chromatografickým médiom, podložka pre aplikáciu detektora je v priamom kontakte s prvým koncom chromatografického média. V tomto usporiadní, keď sa dostanú prvý a druhý protiľahlý komponent do protipostavenia, podložka pre aplikáciu detektora a podložka pre aplikáciu vzorky sú v kontakte, s výnimkou časti podložky pre aplikáciu detektora priamo priľahlého k prvému koncu chromatografického média. V časti podložky pre aplikáciu detektora je medzierka 0.5 mm až asi 2 mm, výhodnejšie od asi 0.5 mm do asi 1 mm.

Táto obmena je zvlášť výhodná pre detekciu okultného krvácania, t.j., prítomnosti krvi v stolici pri použití anti-hemoglobínovej protilátky a môže detegovať koncentrácie hemoglobínu zodpovedajúce až 17 ml krvi na 100 g stolice (13 mg hemoglobínu na gram stolice), bez prítomnosti falošných negatívnych výsledkov v dôsledku účinku vysokej dávky.

Táto obmena je znázornená na obrázku 11A. Zariadenie na chromatografické stanovenie 250 má prvý protiľahlý komponent 252 a druhý protiľahlý komponent 254. Prvý protiľahlý komponent 252 obsahuje chromatografické médium 256 s prvým koncom 258 a druhým koncom 260. Chromatografické médium 256 má detekčnú zónu 262 a kontrolnú zónu 264. Prvý protiľahlý komponent 252 obsahuje absorbent 266, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 260 chromatografického média 256. Prvý protiľahlý komponent 252 obsahuje tiež podložku pre aplikáciu detektora 268, ktorá je v priamom kontakte s prvým koncom 258 chromatografického média 256. Druhý protiľahlý komponent 254 obsahuje podložku pre aplikáciu vzorky 270. Prvý protiľahlý komponent 252 a druhý protiľahlý komponent 254 sú spojené pántom 272. Keď prvý protiľahlý komponent 252 a druhý protiľahlý komponent 254 sa dostanú do protipostavenia, podložka pre aplikáciu vzorky 270 sa dostane do kontaktu s podložkou pre aplikáciu detektora 268, s výnimkou

úzkej medzery 274 na konci podložky pre aplikáciu detektora 268, ktorý je v kontakte s prvým koncom 258 chromatografického média 256. Táto medzierka 274 zabraňuje vzorke nanesenej na podložku pre aplikáciu vzorky 270 priamy prienik do chromatografického média 266. Druhý protiľahlý komponent 254 obsahuje okienko 276, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium 256. Prvý a druhý protiľahlý komponent 252 a 254 majú ističe, ako sú zámky 278 a 280 a tesnenie 282, ako je popísané vyššie.

Čiastočný zadný pohľad zariadenia 250 z obrázku 11A pozdĺž čiary 11A je znázornený na obrázku 11B. Obrázok 11B zaznamenáva prvý protiľahlý komponent 252 a druhý protiľahlý komponent 254 v protipostavení s pántom 272 v zavretej polohe. Podložka pre aplikáciu vzorky 270 je znázornená v kontakte s podložkou pre aplikáciu detektora 268 s výnimkou malej medzery 274 na konci podložky pre aplikáciu detektora 268, ktorý je najbližšie ku chromatografickému médiu 256. Podložka pre aplikáciu detektora 268 je v priamom kontakte s prvým koncom 258 chromatografického média 256. Sú zaznamenané detekčná zóna 262 a kontrolná zóna 264 na chromatografickom médiu 256. Druhý koniec 260 chromatografického média 256, bližšie ku kontrolnej zóne 264, je v kontakte s absorbentom 266.

k. Dvojsmerné zariadenie s druhým aplikátorom a absorbentom na druhom protiľahlom komponente

Iná obmena zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu obsahuje zariadenie na dvojsmernú chromatografiu.

Toto vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie je znázornené na obrázku 12A. Zariadenie na stanovenie 300 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 302

a druhého protiľahlého komponentu 304. Prvý protiľahlý komponent 302 obsahuje chromatografické médium 306 s prvým koncom 308 a druhým koncom 310. Prvý protiľahlý komponent 302 obsahuje tiež prvý aplikátor 312, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 308 chromatografického média 306. Chromatografické médium 306 má tiež detekčnú zónu 314, prípadne aj kontrolnú zónu 316 umiestnenú medzi detekčnú zónu 314 a druhý koniec 310 chromatografického média. Detekčná zóna 314 a kontrolná zóna 316 sú vytvorené tak, ako je popísané pre zariadenia vhodné pre sendvičove imunostanovenie. Druhý protiľahlý komponent 314 obsahuje absorbent 318, ktorý môže byť absorbčnou podložkou, a druhý aplikátor 320. Prvý protiľahlý komponent 312 a druhý protiľahlý komponent 314 sú spojené pántom 314. Druhý protiľahlý komponent 314 obsahuje okienko 324, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium 306. Prvý a druhý protiľahlý komponent 312 a 314 majú ističe 323 a 325 a tesnenie 326, ako je popísané vyššie.

Keď je pán zavretý, zariadenie 300 má vzhľad ako ukazuje vrchný pohľad na obrázku 12B. Chromatografické médium 306 vrátane detekčnej zóny 314, a keď je prítomná, aj kontrolnej zóny 316, je možno vidieť cez okienko 324.

V tomto vyhotovení zariadenia pridanie prvej kvapaliny k prvému aplikátoru 312 spôsobí aplikáciu prvej kvapaliny na prvý koniec 308 chromatografického média 306. Protipostavenie prvého a druhého protiľahlého komponentu 302 a 304 spôsobí to, že druhý aplikátor 320 sa dostane do operačného kontaktu s druhým koncom 310 chromatografického média 306 a tým sa aplikuje druhá kvapalina na druhý koniec 310 chromatografického média 306, ďalej absorbent sa dostane do operačného kontaktu s prvým aplikátorom 312 na odstránenie kvapaliny z chromatografického média 306 cez prvý aplikátor 312, čo obracia smer prietoku. Pri činnosti tohoto zariadenia je vzorka nanesená na prvý aplikátor 312 a roztok značenej špecifickej väzobnej látky

je aplikovaný na druhý aplikátor 320. Vzorka potom prechádza cez chromatografické médium 306 z prvého konca 308 smerom k druhému koncu 310, analyzát prítomný vo vzorke sa naviaže na imobilizovanú protilátku v detekčnej zóne 314. Keď prvý protiľahlý komponent 302 a druhý protiľahlý komponent 304 sa dostanú do protipostavenia, značená špecifická väzobná látka je aplikovaná na chromatografické médium 306 a prechádza cez chromatografické médium 306 z druhého konca 310 smerom k prvému koncu 308. Značená špecifická väzobná látka sa potom viaže na analyzát naviazaný na protilátku v detekčnej zóne 314, čím sa vytvorí detegovateľný terciálny komplex. Značená špecifická väzobná látka sa tiež viaže na imobilizovaný analyzát alebo analóg v kontrolnej zóne 316, za vzniku indikácie správnosti stanovenia.

1. Dvojsmerné zariadenie s dvoma aplikátormi a vodičom

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je zariadenie vhodné na dvojsmernú chromatografiu s absorbentom, ktorý mení prietok, a reakčnou podložkou, ktorá je v operačnom kontakte s chromatografickým médiom.

Toto vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie je znázornené na obrázku 13A. Zariadenie na stanovenie 340 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 342 a druhého protiľahlého komponentu 344. Prvý protiľahlý komponent 342 obsahuje chromatografické médium 346 s prvým koncom 348 a druhým koncom 350. Prvý aplikátor 352 je priľahlý ku- a je v operačnom kontakte s prvým koncom 348 chromatografického média 346. Vodič 354 je priľahlý ku- a je v operačnom kontakte s druhým koncom 350 chromatografického média 346. Chromatografické médium 346

má detekčnú zónu 356, prípadne aj kontrolnú zónu 358. Druhý protiľahlý komponent 344 obsahuje absorbent 360 a druhý aplikátor 362. Prvý a druhý protiľahlý komponent 342 a 344 sú spojené pántom 364. Druhý protiľahlý komponent 344 obsahuje okienko 366, ktoré umožňuje pohľad na chromatografické médium 346. Prvý a druhý protiľahlý komponent 342 a 344 majú ističe 365 a 367 a tesnenie 368, ako je popísané vyššie.

Keď prvý a druhý protiľahlý komponent 342 a 344 sú v protipostavení, absorbent 360 sa dostáva do operačného kontaktu s prvým aplikátorom 352 a druhý aplikátor 362 sa dostane do operačného kontaktu s vodičom 354, čím sa obracia smer prietoku. Časť chromatografického média 346, ktorá obsahuje detekčnú zónu 356, a keď je prítomná, aj kontrolná zóna 358 je možno vidieť cez okienko 366 v druhom protiľahlom komponente 344, keď prvý 342 a druhý 344 protiľahlý komponent sú v protipostavení.

Obrázok 13B zaznamenáva vrchný pohľad zariadenia 340 keď prvý a druhý protiľahlý komponent 342 a 344 sú v protipostavení; detekčná zóna 356 a kontrolná zóna 358 sú viditelné cez okienko 366 na druhom protiľahlom komponente 344.

V tomto vyhotovení zariadenia prvý aplikátor 352 môže obsahovať podložku pre aplikáciu vzorky, kde sa nanáša testovaná vzorka a druhý aplikátor 362 môže obsahovať podložku pre aplikáciu pufru, na ktorý sa pridáva pufer. Prvý aplikátor 352 (podložka pre aplikáciu vzorky) môže obsahovať najmenej jedno činidlo pôsobiace na vzorku pred tým, ako je nanesená na chromatografické médium, ako je popísané vyššie. Druhý aplikátor 362 (podložka pre aplikáciu pufru) obsahuje zvyčajne špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku, ako je popísané vyššie.

Prvý aplikátor (podložka pre aplikáciu vzorky) výhodne

ďalej obsahuje inertné farbivo, takže prietok vzorky cez chromatografické médium 346 môže byť vizuálne monitorovaný. Výhodne je inertným farbivom kontrastná farba k farbe detegovateľnej značky. Napríklad, keď detegovateľná značka je ružové koloidné zlato, inertné farbivo môže byť modré. Migrácia vzorky je monitorovaná pozorovaním inertného farbiva. Po tom, ako vzorka prešla dostatočnú vzdialenosť, napríklad dve tretiny alebo tri štvrtiny dĺžky chromatografického média 346, prvý a druhý protiľahlý komponent 342 a 344 sa uvedú do protipostavenia, absorbent 360 sa dostane do kontaktu s prvým aplikátorom 352. Tým sa obracia smer prietoku vzorky cez chromatografické médium 346, a dochádza k dodatočnému zachyteniu analyzátu na detekčnú zónu 356. Druhý aplikátor 362 sa dostáva do kontaktu s vodičom 354 a tým je roztok pufru s obsahom resolubilizovanej špecifickej väzobnej látky pre analyzát aplikovaný na chromatografické médium 346. Roztok pufru prechádza cez chromatografické médium 346 z druhého konca 350 smerom k prvému koncu 348. Keď dosiahne detekčnú zónu 356, značená špecifická väzobná látka pre analyzát sa potom naviaže na analyzát už naviazaný v detekčnej zóne 356. Detekcia a/alebo stanovenie analyzátu sa potom vykoná tak, ako je popísané vyššie.

Prvý a druhý protiľahlý komponent 342 a 344 nie sú v protipostavení vtedy keď sa vzorka nanáša ako prvá kvapalina na prvý aplikátor 352 a na rekonštitúciu značenej špecifickej väzobnej látky je možné aplikovať vzorku na prvý aplikátor 352 ako prvú, alebo ako prvý aplikovať pufer na druhý aplikátor 362.

Obmena tohoto dvojsmerného zariadenia nahrádza vodič 354 na prvom protiľahlom komponente 342 za prvý absorbent s obmedzenou kapacitou 354. Absorbent 360 na druhom protiľahlom komponente 344 je potom druhým absorbentom. Absorbent s obmedzenou kapacitou 354a, ktorý sa nachádza na prvom protiľahlom kompo

nente 344, má vlastnosť odoberať kvapalinu keď druhý aplikátor 362, s obsahom resolubilizovateľnej značenej špecifickej väzobnej látky, sa dostane s ním do operačného kontaktu a druhý absorbent 360 sa dostane do operačného kontaktu s prvým aplikátorom 352.

m. Zariadenie s podložkou pre aplikáciu detektora na prvom komponente

Iné vyhotovenie dvojzložkového zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu má podložku pre aplikáciu detektora umiestnenú na prvom protiľahlom komponente a preparačnú zónu pre vzorku na druhom protiľahlom komponente. V tomto zariadení je podložka pre aplikáciu detektora umiestnená tak, že je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média. Podložka pre aplikáciu detektora výhodne obsahuje značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na podložku pre aplikáciu detektora. Zariadenie ďalej obsahuje vodič, ktorý je v operačnom kontakte s podložkou pre aplikáciu detektora a v nepriamom kontakte s prvým koncom chromatografického média, rovnako absorbent je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média.

Pre činnosť tejto verzie zariadenia je vzorka nanesená na preparačnú zónu pre vzorku na druhom protiľahlom komponente, potom sa prvý a druhý protiľahlý komponent uvedú do protipostavenia. Týmto dôjde k aplikácii obsahu preparačnej zóny pre vzorku na vodič a potom na prvý koniec chromatografického média cez podložku pre aplikáciu detektora. Keď vzorka dosiahne podložku pre aplikáciu detektora, nastane resolubilizácia obsahu podložky pre aplikáciu detektora. Keď podložka pre aplikáciu detektora obsahuje špecifickú väzobnú látku pre analyzát,

prechod vzorky cez podložku pre aplikáciu detektora umožní väzbu špecifickej väzobnej látky na niektorý analyzát prítomný vo vzorke.

Toto vyhotovenie zariadenia je znázornené na obrázku 14. Zariadenie na stanovenie 380 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 382 a druhého protiľahlého komponentu 384. Prvý protiľahlý komponent 382 obsahuje chromatografické médium 386 s prvým koncom 388 a druhým koncom 390. Prvý protiľahlý komponent 382 obsahuje tiež podložku pre aplikáciu detektora 392, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 388 chromatografického média 386, vodič 394, ktorý je v operačnom kontakte s podložkou pre aplikáciu detektora 392 a je v nepriamom kontakte s prvým koncom 388 chromatografického média 386, a absorbent 396, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 390 chromatografického média 386. Chromatografické médium 386 má detekčnú zónu 398 a kontrolnú zónu 400. Druhý protiľahlý komponent 384 obsahuje preparačnú zónu pre vzorku 402. Prvý a druhý protiľahlý komponent 382 a 384 sú spojené pántom 404. Druhý protiľahlý komponent 384 obsahuje okienko 406, ktoré umožňuje pohľad aspoň na časť chromatografického média 386. Prvý a druhý protiľahlý komponent 382 a 384 majú ističe 405 a 407 a tesnenie 408, ako je popísané vyššie.

V tomto vyhotovení zariadenia môže byť špecifická väzobná látka pre analyzát v resolubilizovateľnej forme na druhom protiľahlom komponente 384 a rovnako aj na prvom protiľahlom komponente 382. Keď sa resolubilizovaná špecifická väzobná látka nachádza na druhom protiľahlom komponente 384, výhodne nie je priamo umiestnená v preparačnej zóne pre vzorku 402. Výhodne obkolesuje preparačnú zónu pre vzorku 402 na ploche 403 tak, že vzorka najprv prechádza cez preparačnú zónu pre vzorku 402 a potom sa dostáva na plochu 403, ktorá obkolesuje preparačnú zónu pre vzorku 402, resolubilizujúc špecifickú väzobnú

látku. Napríklad, preparačná zóna pre vzorku 402 môže obsahovať kúsok vhodne upraveného filtračného papiera, umiestneného na povrchu druhého protiľahlého komponentu 384, ktorý je na ňom prilepený, alebo je pripevnený. Toto umožňuje úpravu vzorky, napr. nastavenie pH, lýzu intaktných buniek a/alebo odstránenie častíc pred tým, ako vzorka prichádza do styku s resolubilizovanou špecifickou látkou. Toto vyhotovenie zariadenia môže poskytovať širší dynamický rozsah a môže byť vhodné vtedy, keď dostupná protilátka má nízku afinitu, alebo je v nízkej koncentrácii pre detegovaný analyzát.

n. Zariadenie s aplikátorom rozdeleným na dve časti pre potreby premytia

Iné vyhotovenie dvojzložkového zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu má aplikátor s dvoma časťami, čo umožňuje premytie vzorky nezreagovanej so značenou špecifickou väzobnou látkou po tom, ako zmes vzorky a značenej špecifickej väzobnej látky prešla cez chromatografické médium. Toto vyhotovenie má výhody v tom, že dáva čistejšie pozadie a uľahčuje odčítanie slabého pozitívneho výsledku.

V tomto vyhotovení obsahuje prvý protiľahlý komponent chromatografické médium, ktoré má prvý a druhý koniec, vodič je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média a absorbent je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média. Druhý protiľahlý komponent obsahuje aplikátor rozdelený na dve časti: prvá časť obsahuje značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme a druhý sektor je bez značenej špecifickej väzobnej látky. Po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipolohy, dostáva sa prvá časť, ale nie druhá časť, aplikátora do priameho kontaktu s vodičom a dôjde k aplikácii obsahu prvej časti

aplikátora na vodič a potom na prvý koniec chromatografického média. Druhá časť je v nepriamom kontakte s vodičom, a obsah druhej časti preteká cez prvú časť a potom na vodič. Následne po aplikácii obsahu prvej časti aplikátora na vodič, obsah druhej časti je aplikovaný na vodič. Obsah druhého sektora, ktorým je vzorka, ale nie značená špecifická väzobná látka, slúži na vymytie nenaviazanej značenej špecifickej väzobnej látky z chromatografického média, čím sa znižuje pozadie viditeľnej značky na chromatografickom médiu a zlepšuje sa odčítanie zariadenia na stanovenie. Je to zvlášť výhodné pre slabo pozitívne stanovenia.

Toto vyhotovenie zariadenia na stanovenie je znázornené na obrázku 15. Zariadenie na stanovenie 420 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 422 a druhého protiľahlého komponentu 424. Prvý protiľahlý komponent 422 obsahuje chromatografické médium 426 s prvým koncom 428 a druhým koncom 430, vodič 432 je v operačnom kontakte s prvým koncom 428 chromatografického média 426 a absorbent 434 je v operačnom kontakte s druhým koncom 430 chromatografického média. Druhý protiľahlý komponent 424 má aplikátor rozdelený na dve časti: prvá časť 438 je v priamom kontakte s vodičom 432, keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, a druhý sektor 440 je v nepriamom kontakte s vodičom 432, keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia. Chromatografické médium 426 má detekčnú zónu 442 a kontrolnú zónu 444. Prvý a druhý protiľahlý komponent 422 a 424 sú spojené pántom 446. Druhý protiľahlý komponent 424 má okienko 448, ktoré umožňuje pohľad aspoň na časť chromatografického média 426. Prvý a druhý protiľahlý komponent 422 a 424 majú ističe 423 a 425 a tesnenie 427, ako je popísané vyššie.

B. Dvojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie s krytom

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je dvojzložkové zariadenie s krytom.

Toto vyhotovenie zariadenia na stanovenie je znázornené na obrázku 16A. Zariadenie na stanovenie 460 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 462 a druhého protiľahlého komponentu 464 a krytu 466. Druhý protiľahlý komponent 464 je tesne pripojený na jednu stranu prvého protiľahlého komponentu 462 prvým pántom 468. Kryt 466 je tesne pripojený na protiľahlú stranu prvého protiľahlého komponentu 462 druhým pántom 470. Prvý protiľahlý komponent 462 obsahuje chromatografické médium 472 s prvým koncom 474 a druhým koncom 476. Prvá podložka pre aplikáciu vzorky je v susedstve a v operačnom kontakte s prvým koncom 474 chromatografického média 472, nachádza sa na prerušení 480. Prvý aplikátor 478 môže obsahovať preparačnú zónu pre vzorku, ktorá môže obsahovať najmenej jedno reakčné činidlo na predprípravu vzorky pred tým, ako je nanesená na chromatografické médium, ako je popísané vyššie. Prvý aplikátor 478 môže tiež obsahovať inertné farbivo na indikáciu postupu chromatografie ako bolo popísané vyššie. Prvý absorbent 482 je pripojený na- a je v operačnom kontakte s druhým koncom 476 chromatografického média 472. Chromatografické médium 472 má detekčnú zónu 484 a kontrolnú zónu 486 a je voliteľne označené hraničnou čiarou 488. Hraničná čiara 488 môže byť rovnako voliteľne vyznačená na prvom protiľahlom komponente. Druhý protiľahlý komponent 464 obsahuje druhý aplikátor 490, ktorý zvyčajne obsahuje značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát a ďalej obsahuje druhý absorbent 492. Kryt 466 obsahuje prvý otvor 494. Výhodne má druhý protiľahlý komponent 462 druhý otvor 496. V tomto zariadení majú druhý protiľahlý komponent

464 a kryt 466 ističe 491 a 493. Zariadenie 460 má po obvode tesnenie 495, ako je popísané vyššie.

Obrázok 16B zaznamenáva vrchný pohľad zariadenia 460 keď druhý protiľahlý komponent 464 prekrýva prvý protiľahlý komponent 462 a kryt 466 je nad druhým protiľahlým komponentom 464. Časť chromatografického média 472, vrátane detekčnej zóny 484 a kontrolnej zóny, je viditelné cez prvý otvor 494 v kryte 466 a cez druhý otvor 496 na druhom protiľahlom komponente 464.

Pri činnosti tohoto zariadenia pridanie prvej kvapaliny na prvý aplikátor 478 spôsobí aplikáciu prvej kvapaliny na prvý koniec 474 chromatografického média 472. Zvyčajne je prvá kvapalina vzorkou, ktorá môže obsahovať analyzát.

V tomto zariadení je prerušenie 480 na prvom protiľahlom komponente 462 vytvorené umiestnením druhého absorbentu 492 a to tak, že tento môže byť umiestnený tak, že je v priamom kontakte alebo v čiastočnom kontakte, s chromatografickým médiom 472 s cieľom odstránenia nadbytku vzorky, a zabraňuje tak prvému aplikátoru 478 blokovať tento kontakt.

Pri použití je vzorka nanesená na prvý aplikátor 478 a chromatografia môže postupovať v chromatografickom médiu 472 od prvého konca 474 smerom k druhému koncu 476. Keď farba dosiahne hraničnú čiaru 488, prvý a druhý protiľahlý komponent 462 a 464 sú uvedené do protipostavenia, čo spôsobí, že druhý aplikátor 490 sa dostane do operačného kontaktu s prvým absorbentom 482 a dôjde k aplikácii druhej kvapaliny na druhý koniec 476 chromatografického média 472 a tiež, že druhý absorbent 492 sa dostane do operačného kontaktu s prvým aplikátorom 478 tak, aby došlo k odobratiu kvapaliny z chromatografického média 472 cez prvý aplikátor 478. Toto obracia smer chromatogarafie a vedie značenú špecifickú väzobnú látku smerom nazad, cez chromatogra-

fické médium 472 z druhého konca 476 smerom k prvému koncu 474. Toto zariadenie je preto vhodné na dvojsmernú chromatografiu.

Kryt 466 môže prekrývať druhý protiľahlý komponent 464, a tým zabezpečovať zámok a udržiavať druhý protiľahlý komponent 464 v protipolohe k prvému protiľahlému komponentu 462. Toto umožňuje po použití pohodlnejšie uskladnenie zariadenia.

C. Trojzložkové zariadenie

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je trojzložkové zariadenie s dvojsmernou chromatografiou.

Toto vyhotovenie trojzložkového zariadenia na stanovenie je znázornené na obrázku 17A. Zariadenie na stanovenie 520 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 522 a druhého protiľahlého komponentu 524 a tretieho protiľahlého komponentu 526. Druhý protiľahlý komponent 524 je tesne pripojený na jednu stranu prvého protiľahlého komponentu 522 prvým pántom 528; tretí protiľahlý komponent 526 je tesne pripojený na protiľahlú stranu prvého protiľahlého komponentu 522 druhým pántom 530. Prvý protiľahlý komponent 522 obsahuje chromatografické médium 532 s prvým koncom 534 a druhým koncom 536. Chromatografické médium 532 má detekčnú zónu 358 a kontrolnú zónu 540. Prvý vodič 542 je v operačnom kontakte s prvým koncom 534 chromatografického média 532 a druhý vodič 544 je v operačnom kontakte s druhým koncom 536 chromatografického média 532. Druhý protiľahlý komponent 524 obsahuje prvý absorbent 546 a prvý aplikátor 548 na aplikáciu vzorky. Zvyčajne prvý aplikátor 548 obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku vzorky na prvý aplikátor 548. Prvý otvor 550 na druhom protiľahlom komponente

524 umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média 532. Prvý otvor 550 je medzi prvým absorbentom 546 a prvým aplikátorom 548. Tretí protiľahlý komponent 526 obsahuje druhý aplikátor 552 pre značenú špecifickú väzobnú látku a druhý absorbent 554. Druhý otvor 556 na treťom protiľahlom komponente 526 umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média 532. Druhý otvor 556 je medzi druhým aplikátorom 552 a druhým absorbentom 554. Keď je zariadenie 520 zavreté prekrytím druhého protiľahlého komponentu 524 cez prvý protiľahlý komponent 522 a tretí protiľahlý komponent 526 je nad prvým protiľahlým komponentom 522, je viditeľná aspoň časť chromatografického média 532 cez prvý otvor 550 a druhý otvor 566 (obrázok 17B). Druhý a tretí protiľahlý komponent 524 a 526 majú ističe 551 a 555, ktoré držia komponenty spolu. Tesnenie 557 po obvode komponentov chráni reakčné činidlá, alebo vzorky vo vnútri zariadenia 520. Podobné usporiadanie ističov a tesnenia sa používa pri iných trojzložkových zariadeniach ako budú ďalej popísané.

V tomto zariadení uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu 522 a 524 do protipostavenia spôsobí vytvorenie operačného kontaktu medzi prvým absornentom 546 a druhým vodičom 544 a medzi prvým aplikátorom 548 a prvým vodičom 542 s výslednou aplikáciou kvapaliny na chromatografické médium 532; prvá kvapalina aplikovaná na prvý aplikátor 548 prechádza aspoň cez časť chromatografického média 532, vrátane detekčnej zóny 538 a kontrolnej zóny 540.

Prvý a druhý protiľahlý komponent 522 a 524 sa oddelia a prvý a tretí protiľahlý komponent 522 a 526 sa uvedú do protipostavenia. Týmto sa vytvorí operačný kontakt medzi druhým absorbentom 554 a prvým vodičom 542 na odobratie kvapaliny z chromatografického média 532, druhý aplikátor 552 sa dostane do operačného kontaktu s druhým vodičom 544 na aplikáciu kvapaliny na chromatografické médium 532. Toto spôsobí obrátenie

prietoku, druhá kvapalina aplikovaná na druhý aplikátor 522 prechádza najmenej cez časť chromatografického média, cez ktoré prešla prvá kvapalina v smere opačnom k smeru, ktorým prvá kvapalina prešla cez chromatografické médium 532. Prvý 522, druhý 524 a tretí 526 protiľahlý komponent sú v takom postavení, že keď tretí protiľahlý komponent 526 je v protipostavení s prvým protiľahlým komponentom 522, druhý protiľahlý komponent 526 môže prekrývať prvý a tretí protiľahlý komponent 522 a 526, a tak tvoriť kryt.

Pre sérologické stanovenia v tomto zariadení je dôležitý stály tlak medzi druhým absorbentom 554 a prvým vodičom 542 na zabezpečenie toho, aby bol nešpecifický imunoglubulín odstránený z chromatografického média 532 pred postupom čela značenej špecifickej väzobnej látky, alebo na zabezpečenie odobratia voľného analyzátu pred postupom značeného špecifického anti-analyzátu. Keď je prítomná zmes anti-imunoglobulínu s nešpecifickým imunoglobulínom, nešpecifický imunoglubulín neutralizuje anti-imunoglobulínovú značku (konjugát), a tak ho zostáva menej, alebo sa stáva nedostupným pre označenie špecificky vychytaného imunoglobulínu. Tretí protiľahlý komponent 526 zariadenia pomáha aplikovať rovnomerný tlak a udržiavať ho stabilný, tým sa zvyšuje vierohodnosť účinku jeho funkcie. Toto je jednou z výhod zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu.

Prvá špecifická väzobná látka môže byť priamo označená detegovateľnou značkou. Môže sa naopak použiť nepriame označenie prvej špecifickej väzobnej látky. Pri nepriamom označení nie je prvá špecifická väzobná látka označená, ale je detegovaná aplikáciou druhej špecifickej väzobnej látky, ktorá sa špecificky viaže na prvú špecifickú väzobnú látku cez druhý aplikátor. Nepriame značenie je hlavne výhodné pre testovanie Gardia alebo iných antigénov, pre ktoré komerčne dostupné protilátky sú priamo ťažko označované. Keď prvá špecifická

väzobná látka nie je priamo označená, druhý aplikátor 552 výhodne obsahuje značenú druhú väzobnú látku pre prvú špecifickú väzobnú látku, tak ako bude popísané v nasledujúcej kapitole III.

Iné vyhotovenie trojzložkového zariadenia má absorbent na treťom komponente a odstraňuje kvapalinu z celého chromatografického média a komponentov, ktoré sú s ním v operačnom kontakte. Toto slúži na odstránenie nadbytku vzorky, ktorá môže spôsobovať farebné pozadie a tým znižovať citlivosť.

Toto vyhotovenie ukazuje obrázok 18. Zariadenie na stanovenie 560 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 561 a druhého protiľahlého komponentu 562 a tretieho protiľahlého komponentu 563. Druhý protiľahlý komponent 562 je tesne pripojený na jednu stranu prvého protiľahlého komponentu 561 prvým pántom 564. Tretí protiľahlý komponent 563 je tesne pripojený na druhú stranu prvého protiľahlého komponentu 561 druhým pántom 565. Prvý protiľahlý komponent 561 obsahuje chromatografické médium 566 s prvým koncom 567 a druhým koncom 568. Vodič 570 je pripojený k- a je v operačnom kontakte s druhým koncom 568 chromatografického média 566. Chromatografické médium 566 má detekčnú zónu 571 a voliteľne kontrolnú zónu 572. Druhý protiľahlý komponent 562 obsahuje prvý absorbent 573 a druhý aplikátor 574, ktorý zvyčajne obsahuje značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme. Tretí protiľahlý komponent 563 obsahuje druhý absorbent 575, ktorý podstatne predlžuje dĺžku chromatografického média 566 a absorbuje kvapalinu z chromatografického média 566, prvý aplikátor 569 a vodič 570, keď tretí protiľahlý komponent je uvedený do protiľahlej polohy k prvému protiľahlému komponentu 561. Prvý protiľahlý komponent 561 má otvor 576 za chromatografickým médiom 566, čo umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média 566 vzadu na prvom protiľahlom komponente 561.

Druhý a tretí protiľahlý komponent 562 a 563 majú ističe 577 a 579 a tesnenie 580, ako je popísané vyššie.

Pri činnosti je testovaná vzorka aplikovaná na prvý aplikátor 569 a roztok pufru je aplikovaný na druhý aplikátor 574. Vzorka je potom ponechaná aby prechádzala cez chromatografické médium 566 vrátane detekčnej zóny 571 a kontrolnej zóny 572. Prvý a druhý protiľahlý komponent 561 a 562 sú potom uvedené do protipostavenia a tým sa druhý aplikátor 574 dostáva do kontaktu s prvým aplikátorom 569 a prvý absorbent 573 sa dostane do kontaktu s vodičom 570 na druhom konci chromatografického média 566. Toto spôsobí, že resolubilizovaná značená špecifická väzobná látka pôvodne na druhom aplikátore 574 začne pretekať cez chromatografické médium. Po skončení pretekania vzorky a resolubilizovanej špecifickej väzobnej látky cez chromatografické médium 566, tretí protiľahlý komponent 563 je uvedený do protipostavenia s prvým protiľahlým komponentom 561 aby druhý absorbent 575 mohol odstrániť tekutinu z chromatografického média 566, druhý aplikátor 569, a vodič 570. Druhý protiľahlý komponent 562 sa potom prekryje cez tretí protiľahlý komponent 563 a cez chromatografické médium 566 vrátane detekčnej zóny 567 a kontrolnej zóny 568, tieto možno vidieť cez otvor 576 nachádzajúci sa za chromatografickým médiom 566.

D. Viaczložkové zariadenia

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je viaczložkové zariadenie na stanovenie, kde môžu prebiehať súčasne viaceré stanovenia. Stanovenia môžu prebiehať v tom istom analyzáte, alebo v rôznych analyzátoch. Všeobecne, všetky verzie zariadenia popísaného vyššie sú vhodné na mnohonásobné použitie pri vybavení s prvým a druhým protiľahlým komponentom, a keď je potrebné aj tretím proti-

ľahlým komponentom, s viacerými chromatografickými médiami, preparačnými zónami pre vzorky, vodičmi, absorbentami a inými potrebnými prvkami.

1. Základné viaczložkové zariadenie

Jedna verzia viaczložkového zariadenia na stanovenia podľa tohoto vynálezu je znázornená na obrázku 19. Zariadenie na stanovenie 590 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 592 a druhého protiľahlého komponentu 594. Druhý protiľahlý komponent 594 je tesne spojený s prvým protiľahlým komponentom 592 pántom 596. Prvý protiľahlý komponent 592 obsahuje viac chromatografických médii 598. Každé chromatografické médium 598 má prvý koniec 600 a druhý koniec 602, detekčnú zónu 604 a kontrolnú zónu 606. Druhý koniec 602 chromatografického média 598 je v operačnom kontakte s absorbentom 608 a riadi prietok cez chromatografické médium 598. Každé chromatografické médium má samostatný absorbent 608. Druhý protiľahlý komponent 594 obsahuje viac preparačných zón pre vzorku 610, jednu pre každé chromatografické médium 598. Typicky obsahuje každá preparačná zóna pre vzorku značenú špecifickú väzobnú látku pre testovaný analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní kvapalnej vzorky na preparačnú zónu pre vzorku 610. Značená špecifická väzobná látka v kvapalnej forme môže byť pridaná na preparačnú zónu pre vzorku 610 pred tým, alebo po tom, ako tam bola nanesená vzorka. Uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu 592 a 594 do protipostavenia spôsobí aplikáciu obsahu každej preparačnej zóny pre vzorku 610 na prvý koniec 600 chromatografického média 598. Druhý protiľahlý komponent 594 obsahuje veľa otvorov 612, jeden pre každé chromatografické médium 598. Prvý a druhý protiľahlý komponent 592 a 594 majú ističe 614 a 616 a tesnenie 618 ako bolo popísané vyššie.

Takéto viaczložkové zariadenie môže obsahovať od 2 do 12 alebo viac preparačných zón pre vzorku a rovnaký počet chromatografických médií, a to v závislosti od stanovenia, na ktoré sa má zariadenie použiť. Typicky zariadenie obsahuje od 2 do 5 samostatných preparačných zón pre vzorku a chromatografických médií.

Toto vyhotovenie zariadenia môže byť použité na stanovenie mnohých rozdielnych analyzátov v rôznych alikvótoch vzorky, alebo môže byť použité na stanovenie toho istého analyzátu vo viacerých rozdielnych vzorkách. Tento posledný spôsob je praktický pre stanovenie vzoriek odobratých v rôznom čase od toho istého pacienta na stanovenie určitého analyzátu, ako okultná krv v stolici. Prítomnosť krvi v stolici sa stanovuje často v sérii vzoriek stolice odobranej jedenkrát za deň, alebo v iných intervaloch počas predpísaného obdobia. Jedno alebo viac stanovení môže slúžiť ako kontrola, alebo referenčná štandarda.

2. Viaczložkové zariadenie s vnútornou jamkou

V inom vyhotovení viaczložkového zariadenia môže byť najmenej jedna preparačná zóna pre vzorku vo forme jamky, do ktorej sa môže vložiť extrakčný tampón alebo iná pomôcka obsahujúca vzorku. V tomto vyhotovení prvý protiľahlý komponent môže ďalej obsahovať tesne priliehajúce bočnice, ktoré prekrývajú zvrchu druhý protiľahlý komponent keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení.

Táto verzia viaczložkového zariadenia je znázornená na obrázku 20. Zariadenie na stanovenie 620 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 622 a druhého protiľahlého komponentu 624. Druhý protiľahlý komponent 624 je tesne spojený s prvým protiľahlým komponentom 622 pántom 626. Prvý protiľahlý kompo

nent 622 obsahuje dve tesne priliehajúce bočnice 628 a 630. Prvý protiľahlý komponent 622 má kontrolnú jamku 632 a vnútornú jamku 634, ktorá je zo špongie, alebo podobného materiálu. Druhý protiľahlý komponent 624 má viac chromatografických médií 636, v tomto príklade dve, každé má detekčnú zónu 638 a kontrolnú zónu 640. Druhý protiľahlý komponent 624 má otvor 642, ktorý umožňuje pohľad na časť každého chromatografického média 636 vrátane detekčnej zóny 638 a kontrolnej zóny 640. Prvý a druhý protiľahlý komponent 622 a 624 majú ističe 641 a 643. Keď prvý a druhý protiľahlý komponent 622 a 624 sú v protipostavení, vzorky z kontrolnej jamky 632 a z vnútornej jamky 634 sa aplikujú na zodpovedajúce chromatografické médium 636.

3. Viaczložkové zariadenie adaptované na príjem testovacej karty

V inom vyhotovení viaczložkového zariadenia je toto zvlášť vhodné na stanovenie hemoglobínu z okutnej krvi v stolici. Toto zariadenie je prispôsobené na prijatie testovacej karty, ktorá zahrňuje viac suchých vzoriek stolice, typicky odobraných v dňoch za sebou.

Toto zariadenie znázorňuje obrázok 21. Zariadenie na stanovenie 660 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 662, druhého protiľahlého komponentu 664, ktorý je tesne spojený s prvým protiľahlým komponentom 662 prvým pántom 666, a tretí protiľahlý komponent 668, ktorý je tesne spojený s prvým protiľahlým komponentom 662 druhým pántom 670. Prvý protiľahlý komponent 662 je adaptovaný na prijatie testovacej karty, ktorá nesie viac suchých vzoriek 674. Druhý protiľahlý komponent 664 má podložky pre reakčné činidlá 676. Tretí protiľahlý komponent 668 má viac chromatografických médií 678, každé má detekčnú zónu 680 a kontrolnú zónu 682. Každá testovaná vzorka má

vlastné chromatografické médium. Tretí protiľahlý komponent 668 má otvor 684, ktorý umožňuje pohľad na časť chromatografického média 678 vrátane každej detekčnej zóny 680 a kontrolnej zóny 682. Druhý a tretí protiľahlý komponent 681 a 685 majú ističe 681 a 685 vrátane tesnenia 686, ako je popísané vyššie pre trojzložkové zariadenie.

Pri činnosti je testovacia karta s obsahom viacerých suchých vzoriek 674 vložená do druhého protiľahlého komponentu 664. Druhý protiľahlý komponent 664 sa prekryje ponad prvý protiľahlý komponent 662, ktorý obsahuje podložky s reakčnými činidlami 676, takže podložky s reakčnými činidlami 676 sa dostanú do kontaktu s prítomnými viacerými suchými vzorkami 674 na testovacej karte 672 a nastane extrakcia analyzátu zo suchých vzoriek 674. Druhý protiľahlý komponent 664 sa potom oddelí od prvého protiľahlého komponentu 662. Nakoniec sa preloží tretí protiľahlý komponent 668 na prvý protiľahlý komponent 662 a dôjde k aplikácii obsahov podložiek s reakčnými činidlami 676 a extrahovaného analyzátu zo suchých vzoriek na chromatografické médium 678.

V tomto zariadení podložky pre reakčné činidlá 676 obsahujú špecifickú väzobnú látku pre analyzát značený detegovateľnou značkou v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodných reakčných činidiel na podložky pre reakčné činidlá 676. Pridané reakčné činidlo je extrakčné činidlo pre stanovovaný analyzát, ako napr. hemoglobín.

Keď druhý protiľahlý komponent 664 je v protipostavení s prvým protiľahlým komponentom 662 dochádza k extrakcii analyzátu zo vzoriek na testovacej karte a jeho naviazaniu na značenú špecifickú látku. Keď tretí protiľahlý komponent je následne v protipolohe k druhému protiľahlému komponentu, každý analyzát naviazaný na značenú špecifickú väzobnú látku migruje

cez chromatografické médium 668 a viaže sa na detekčnú zónu 680 v každom chromatografickom médiu 678.

Iná variácia viaczložkového zariadenia podľa tohoto vynálezu je viaczložkové zariadenie podobné tomu, ktoré ukazuje obrázok 19, ale adaptované na prijatie testovacej karty. Testovacia karta obsahuje viac vzoriek, ako suché vzorky stolice, napríklad pri testovaní okultnej krvi v stolici.

Toto zariadenie znázorňuje obrázok 22. Zariadenie na stanovenie 700 sa skladá z prvého protiľahlého komponentu 702, druhého protiľahlého komponentu 704, ktorý je tesne spojený s prvým protiľahlým komponentom 702 pántom 706. Prvý protiľahlý komponent 702 má viac chromatografických médií 708. Každé chromatografické médium 708 má prvý koniec 710 a druhý koniec 712, obsahuje ďalej detekčnú zónu 718 a kontrolnú zónu 720. Prvý koniec 710 každého chromatografického média 708 je v operačnom kontakte s vodičom 714 a druhý koniec 712 každého chromatografického média 708 je v operačnom kontakte s absorbentom 716. Každé chromatografické médium 708 má vlastný vodič 714 a absorbent 716. Prvý protiľahlý komponent 702 je adaptovaný prijať testovaciu kartu 722 s obsahom viacerých suchých vzoriek 724 umiestnených tak, že každá je v operačnom kontakte s vodičom 714. Druhý protiľahlý komponent 704 obsahuje viac aplikátorov 726, jeden pre každé chromatografické médium 708. Výhodne každý aplikátor 726 obsahuje značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme.

Pri činnosti je pufer alebo iná kvapalina nanesená na každý aplikátor 726 čím dôjde k rekonštitúcii značenej špecifickej väzobnej látky. Uvedenie prvého a druhého 702 a 704 protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí aplikáciu každého aplikátora 726 na zodpovedajúcu suchú vzorku 724, takže obsah každej suchej vzorky 724 a každého aplikátora 726 sú

nanesené na každý vodič 714, a tak na každé chromatografické médium 708. Testovacia karta 722 má vzorky 724 v takej polohe, že môžu prijať obsah aplikátorov 726 a tým dôjde k extrakcii analyzátu vo vzorkách 724, analyzát reaguje so značenou špecifickou väzobnou látkou a je aplikovaný na vodič 714. Druhý protiľahlý komponent 704 obsahuje viac otvorov 728, jeden pre každé chromatografické médium 708, umožňujúce pohľad na každé chromatografické médium 708. Každý, prvý aj druhý protiľahlý komponent 702 a 704 obsahujú ističe 725 a 727 a tesnenie 730 na ochranu vzoriek a reakčných činidiel.

II. ZARIADENIE NA CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENIE PRE KOMPETITÍVNE STANOVENIA

Zariadenie na stanovenie, ktoré je konštrukčne podobné tým, ktoré boli rozobrané vyššie, sa môže používať na kompetitívne stanovenia pre monovalentné analyzáty. Monovalentné analyzáty sú zvyčajne haptény, ale rovnaké princípy môžu byť použité na stanovenie akéhokoľvek monovalentného analyzátu, ako je normálny multivalentný antigén, na ktorom sú prítomné ďalšie miesta pre väzbu protilátky blokované alebo modifikované. Takto sa stanovujú analyzáty ako: teofilín, digoxín, dizopyramid, lidokain, prokainamid, propranolol, chinidín, amikacin, penicilín a iné ß-laktámové antibiotiká, chloramfenikol, gentamicín, kanamycín, netilmycín, tobramycín, tricyklické antidepresíva, etosukcimid, fenobarbital, diazepam, fenotoin, primidon, kyselina valproová, acetaminofén, kyselina acetylosalicylová, ibuprofén, metotrexát, zneužívané liečiva ako morfín, kodeín, kokaín, fentanyl, 3-metylfentanyl, amfetamíny, dietylamid kyseliny lysergovej, fencyklidin, heroín a ich metabolity, DNP, 1-substituované-4-hydroxi-2-nitrobenzény, 4-substituované-2-nitro-trialkylanilínové soli a znečisťovače životného prostre

dia ako benzén, toluén, xylén, etylbenzén, chlordan, DDT a jeho metabolity, 2,4-D, 2,4,5-T a atrazin.

Špecifickými väzobnými látkami, ktoré sú vhodné na tieto stanovenia sú, ale nie obmedzene, protilátky a špecifické väzobné proteíny. Príkladom proteínov je väzobný proteín pre penicilín (PBP) izolovaný z Bacillus stearothermophilus.

Na rozdiel od existujúcich zariadení na stanovenia prispôsobených na kompetitívne imunostanovenie, zariadenia podľa tohoto vynálezu majú výhodu v tom, že prítomnosť analyzátu vo vzorke dáva pozitívny, alebo negatívny výsledok, každý ako farebnú čiaru v detekčnej zóne zariadenia. Zvyčajne pri kompetitívnom stanovení vytvorenie detegovateľného signálu znamená negatívny výsledok (analyzát nie je prítomný). Existuje teda univerzálny vzťah medzi pozorovaným výsledkom a detekciou. Zariadenie podľa tohoto vynálezu, ktoré dáva priamy vzťah medzi koncentráciou analyzátu a detegovateľným signálom, dáva menej pravdepodobne negatívne výsledky. Takéto zariadenia majú tiež rozšírený dynamický rozsah.

A. Trojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie

Jedným z vyhotovení zariadení na chromatografiu pre kompetitívne stanovenie podľa tohoto vynálezu je trojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie.

Zariadenie má tri protiľahlé komponenty. Prvý protiľahlý komponent obsahuje chromatografické médium, ktoré má prvý koniec a druhý koniec; prietok v prvom smere je od prvého konca smerom k druhému koncu a v druhom smere je od druhého konca k prvému koncu. Chromatografické médium má v sebe imobilizovaný analyzát alebo jeho analóg v ohraničenej ploche, ktorá je

podstatne menšia ako plocha chromatografického média.

Výhodne je imunologickým analógom analyzát kovalentne naviazaný na proteín bez špecifickej väzobnej aktivity pre analyzát, ako normálny IgG alebo iné neimúnne IgG. Prednostne je takýto IgG absorbovaný daným analyzátom na odstránenie akýchkoľvek frakcii imunoglubulínov so špecifickou aktivitou, buď prirodzených protilátok pre analyzát alebo protilátky schopnej skríženej reakcie s analyzátom.

Konjugácia hapténov s proteínmi, vrátane neimúnnych IgG, je dobre známa a popísaná, napríklad, v P. Tijssen "Practice and Theory of Enzyme Immunoassays" (Elsevier, Amsterdam, 1985) s. 279-296. V krátkosti, haptény obsahujú karboxylové skupiny, alebo také skupiny, ktoré môžu byť karboxylované, môžu byť konjugované zmiešanou anhydrínovou reakciou s vodou rozpustnými karbodiimidmi, alebo esterifikáciou s N-hydroxisukcinimidom. Karboxylácia môže vzniknúť reakciami ako alkylácia substituentov kyslíka alebo dusíka haloestermi s následnou hydrolýzou esteru, alebo tvorbou esterov hemisukcinátu alebo karboximetyloximu na hydroxilovej alebo ketónovej skupine steroidov.

Haptény s aminoskupinami alebo nitro skupinami, redukovateľnými na amino skupiny, môžu byť konvertované na soli diazonia a reagovať s proteínami pri mierne alkalickom pH, pre aromatické amíny. Haptény s alifatickými amínmi sa môžu konjugovať s proteínmi mnohými metódami ako reakcia s karbidimidmi, reakcia s homodvojfunkčným činidlom tolylen-2,4-diizokyanát, alebo reakcia so zlúčeninami maleimidu. Alifatické amíny môžu byť konvertované na aromatické amíny reakciou s p-nitrobenzoylchloridom a následne sa potom môžu po diazotácii viazať na proteíny. Tiež dvojfunkčné estery imidu ako dimetylpimelimid, dimetyladipimid, alebo dimetylsuberimid môžu byť použité na konjugáciu hapténov s aminoskupinou na proteíny.

Haptény s obsahom tiolov môžu byť konjugované na proteíny s maleimidmi ako esterom 4-(N-maleimidometyl)-cyklohexan-1-karboxylovej kyseliny.

V hapténoch s hydroxilovou skupinou môže byť alkoholova skupina konvertovaná na hemisukcinát, ktorý zavádza karboxylovú skupinu potrebnú pre konjugáciu. Bifunkčné činidlo sebakoyldichlorid mení hydroxid na kyselinu chlóru, ktorá potom reaguje s proteínmi.

Fenoly môžu byť aktivované diazotovanou p-aminobenzoovou kyselinou, ktorá zavádza karboxi skupinu, a potom môžu reagovať s proteínmi zmiešanou reakciou anhydridu. Cukry môžu byť aktivované cez tvorbu p-nitrofenyl glykozidu s následnou redukciou nitro skupiny na amino skupinu a konjugované diazotáciou. Iné metódy obsahujú štiepenie vicinalových glykolov cukrov na aldehydy reakciou s periodatom, následne naviazané na amíny redukčnou alkyláciou s borohydridom sodným. Haptény s hydroxilovou skupinou sa môžu konjugovať po premene na chlórouhličitany reakciou s fosgénom.

Haptény s aldehydickými alebo keto skupinami, karboxylovými skupinami môžu byť zavedené cez tvorbu o-karboximetyloximov. Ketónové skupiny môžu byť oxidované na karboxylové skupiny pôsobením p-hydrazinobenzoovej kyseliny. Haptény s obsahom aldehydov môžu byť priamo konjugované cez tvorbu Schiffovych báz, ktoré sú stabilizované reakciou s redukčným činidlom, ako je borohydrid sodný.

Chromatografické médium je výhodne nitrocelulóza, na ktorej je nekovalentne naviazaný analóg analyzátu hydrofóbnou interakciou. Môžu sa použiť iné chromatografické média a analóg analyzátu môže byť kovalentne naviazaný na chromatografické médium.

Prvý protiľahlý komponent ďalej obsahuje prvý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média a druhý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média.

Druhý protiľahlý komponent obsahuje prvý aplikátor s prvou špecifickou väzobnou látkou pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní prvého vodného roztoku na prvý aplikátor. Prvý vodný roztok môže byť vzorka; výhodne je to však kombinácia vzorky a prvej rekonštitučnej kvapaliny, keď ako prvá sa aplikuje prvá rekonštitučná kvapalina.

Tretí protiľahlý komponent obsahuje druhý aplikátor s druhou špecifickou väzobnou látkou pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní druhej rekonštitučnej kvapaliny na druhý aplikátor. Druhá špecifická väzobná látka je označená s detegovateľnou značkou, výhodne vizuálnou detegovateľnou značkou ako je napr. značenie zlatom, tak ako bolo vysvetlené vyššie. Tretí protiľahlý komponent tiež obsahuje absorbent oddelený od druhého aplikátora na treťom protiľahlom komponente. Prvá a druhá špecifická väzobná látka sú typicky protilátkami pre analyzát. Môžu byť identické, ale aj nemusia byť identické. Namiesto intaktných bivalentných protilátok môžu byť použité fragmenty monovalentných protilátok ako Fab alebo fragmenty Fab'. Toto môže byť výhodné pre niektoré aplikácie hlavne v takých imunostanoveniach, keď nie je potrebné aby molekula protilátky reagovala s viac ako daným analyzátom.

Pri činnosti zariadenia je prvá špecifická väzobná látka na prvom aplikátore resolubilizovaná, výhodne po aplikácii samotnej vzorky, alebo po aplikácii prvej rekonštitučnej kvapaliny a následným pridaním vzorky. Druhá špecifická väzobná látka na druhom aplikátore je tiež rekonštituovaná po pridaní druhej rekonštitučnej kvapaliny. Zvyčajne sú prvá a druhá rekonštituč-

ná kvapalina identické. Rekonštitučná kvapalina je výhodne roztok pufru, ktorý môže obsahovať dodatočné komponenty ako chelátové činidlá, detergenty, antibakteriálne látky a ochranné látky. Vhodná rekonštitučná kvapalina sa pripraví zmiešaním rovnakých objemov solného fosfátového pufru 0.1 M, pH 7.2, s obsahom 0.8 % Tween-20™ s 2.5 mM HEPES pufrom, pH 7.5, ktorý obsahuje 0.005 % Triton X-100™, 0.003 % EDTA-Na_4 a 0.05 % azid sodný. Výhodne je objem rekonštitučnej kvapaliny aplikovaný na každý, prvý a druhý aplikátor, asi od 5 μl do asi 200 μl, výhodnejšie od asi 10 μl do asi 100 μl, najvýhodnejšie asi 20 μl. Objem aplikovanej vzorky je výhodne od asi 5 μl do asi 40 μl, najvýhodnejšie asi 30 μl.

Po aplikácii vzorky na prvý aplikátor, zariadenie sa inkubuje a nastane resolubilizácia resolubilizovateľnej špecifickej väzobnej látky, čím sa umožní reakcia prvej špecifickej väzobnej látky s analyzátom. Výhodne trvá táto inkubácia od asi 5 minút do asi 30 minút; najvýhodnejšie asi 15 minút. Inkubácia zvyčajne prebieha pri izbovej teplote, ale môže byť pri nižšej alebo vyššej teplote. Inkubácia pri vyššej teplote môže byť vhodná na prevenciu oxidácie alebo iného štiepenia citlivých vzoriek.

Po inkubácii sa uvedú prvý protiľahlý a druhý protiľahlý komponent do protipostavenia, čím nastane aplikácia vzorky a resolubilizovanej prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát na prvý vodič a potom na prvý koniec chromatografického média. Vzorka a resolubilizovaná špecifická väzobná látka sa potom ponechajú prechádzať aspoň cez časť chromatografického média, zanechajúc analyzát alebo jeho imunologický analóg imobolizovaný v ohraničenej ploche chromatografického média. Toto si zvyčajne vyžaduje od asi 10 do asi 20 sekúnd.

Potom sú prvý a druhý protiľahlý komponent otvorením

oddelené od seba a prvý a tretí protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, čím sa dostane absorbent do kontaktu s prvým vodičom a druhý aplikátor sa dostane do kontaktu s druhým vodičom. Toto spôsobí, že vodič odoberie tekutinu z prvého konca chromatografického média, druhý aplikátor aplikuje kvapalinu vrátane resolubilizovanej značenej špecifickej väzobnej látky na druhý koniec chromatografického média. Výhodne sa potom druhý protiľahlý komponent prekryje cez prvý a tretí protiľahlý komponent, čo zabezpečí aby sa dostalo dostatočné množstvo kvapaliny preč z druhého aplikátora a aby táto bola absorbovaná absorbentom tak, že obrátenie prietoku je účinné. Tlak pôsobiaci na chromatografické médium prekrytím druhého komponentu zvyšuje zmenu prietoku.

Značená resolubilizovaná špecifická väzobná látka potom môže prechádzať najmenej cez časť chromatografického média pretekajúc cez časť chromatografického média, cez ktoré migrovali vzorka a prvá špecifická väzobná látka, vrátane ohraničenej plochy s imobilizovaným analyzátom alebo imunologickým analógom. Keď je analyzát prítomný vo vzorke, značená špecifická väzobná látka sa naviaže na ohraničenú plochu a je detegovaná. Keď detegovateľná značka je vizuálnou detekčnou značkou, je vidieť čiaru na ohraničenej ploche.

Stanovenie môže byť kvalitatívne stanovenie ako stanovenie "on/off". Pri takomto stanovení je prvá špecifická väzobná látka prítomná v koncentrácii, ktorá podstatne viaže všetok analyzát alebo imunologický analóg imobilizovaný v ohraničenej ploche. Miesto v ohraničenej ploche, na ktoré je viazaná prvá špecifiká väzobná látka je blokované pre ďalšiu väzbu. Keď je analyzát prítomný vo vzorke, analyzát sa viaže na prvú špecifickú väzobnú látku, čo zabráni prvej špecifickej väzobnej látke viazať sa na analyzát alebo analóg analyzátu imobilizovaný na ohraničenej ploche. Takže druhá, značená, špecifická

väzobná látka sa môže viazať na analyzát alebo jeho imunologický analóg na ohraničenej ploche za vzniku detegovateľného signálu.

Pre kvantitatívne použitie môžu byť prítomné dve alebo viac chromatografických médii v jednom zariadení, najmenej jedno slúži pre kontrolnú štandardu, ktorá sa používa na referenciu.

Zariadenie vhodné na túto verziu kompetitívneho stanovenia je znázornené na obrázku 23. Zariadenie na chromatografické stanovenie 740 má prvý protiľahlý komponent 742, druhý protiľahlý komponent 744 a tretí protiľahlý komponent 746. Druhý protiľahlý komponent 744 je tesne pripojený na jednu stranu prvého protiľahlého komponentu 742 prvým pántom 748. Tretí protiľahlý komponent 746 je tesne pripojený na druhú stranu prvého protiľahlého komponentu 742 druhým pántom 750. Prvý protiľahlý komponent 742 má chromatografické médium 752 s prvým koncom 754 a druhým koncom 756, vodič 758 je v operačnom kontakte s prvým koncom 754 chromatografického média 752 a druhý vodič 760 je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média 756. Chromatografické médium má tiež ohraničenú plochu 762 pre analyzát alebo jeho imunologický analóg, ako je popísané vyššie, ktorý sa odčíta ako signál.

Druhý protiľahlý komponent 744 má prvý aplikátor 764 s obsahom prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát v resolubilizovateľnej forme, na ktorý sa výhodne aplikuje vzorka.

Tretí protiľahlý komponent 746 má druhý aplikátor 766 s obsahom druhej špecifickej väzobnej látky pre analyzát, táto je označená detegovateľnou značkou a je vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní druhej vodnej kvapaliny na druhý aplikátor 766. Tretí protiľahlý komponent 746 má absorbent 768,

ktorý je oddelený od druhého aplikátora 766. Tretí protiľahlý komponent 746 má tiež otvor 770, ktorý umožňuje pohľad najmenj na časť chromatografického média 752, vrátane ohraničenej plochy 762. Otvor 772 sa môže nachádzať za ohraničenou plochou 762 chromatografického média na prvom protiľahlom komponente 742, čo umožňuje pohľad zo zadu zariadenia 740, keď je toto zavreté. Druhý a tretí protiľahlý komponent 744 a 746 majú ističe 769 a 773 a zariadenie 740 obsahuje tesnenie na ochranu reakčných činidiel vo vnútri zariadenia.

Keď prvý protiľahlý komponent 742 a druhý protiľahlý komponent 744 sú uvedené do protipostavenia, prvý aplikátor 764 sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom 758 a dôjde k aplikácii obsahu prvého aplikátora 764 na prvý vodič 758 a potom na prvý koniec 754 chromatografického média 752. Keď tretí protiľahlý komponent 746 a prvý protiľahlý komponent 742 sú uvedené do protipostavenia, absorbent 768 sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom 758, ktorý je pripojený na prvý koniec 754 chromatografického média 752 a druhý aplikátor sa dostane do operačného kontaktu s druhým vodičom 760 pripojeným na druhý koniec 756 chromatografického média 752 a nastane obrátenie smeru prietoku kvapaliny vo vnútri chromatografického média 752.

B. Dvojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie s krytom

Druhé vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie pre kompetitívne stanovenie podľa tohoto vynálezu je dvojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie s krytom. V tomto prevedení testovaná vzorka nie je predinkubovaná s protilátkou, ale je nanesená priamo na vodič, ktorý je v priamom kontakte s chromatografickým médiom.

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie pre kompetitívne stanovenie môže obsahovať prvý a druhý protiľahlý komponent. Prvý protiľahlý komponent obsahuje chromatografické médium, ktoré má prvý koniec a druhý koniec. Chromatografické médium má v sebe imobilizovanú (1) prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát a (2) druhú špecifickú väzobnú látku, ktorá je schopná viazať špecifický väzobný pár, ktorému chýba afinita pre analyzát. Tieto komponenty sú umiestnené na chromatografickom médiu v oddelených ohraničených plochách, ktoré sa navzájom neprekrývajú. Druhá špecifická väzobná látka je umiestnená bližšie k prvému koncu chromatografického média ako prvá špecifická väzobná látka pre analyzát. Výhodne na zvýšenie účinnosti je prvá špecifická väzobná látka umiestnená 0.25 inčov (6.35 mm) od druhej špecifickej väzobnej látky v chromatografickom médiu.

Prvá špecifická väzobná látka pre analyzát je zvyčajne protilátka pre analyzát, alebo fragment protilátky, ako bolo vysvetlené vyššie.

Druhá špecifická väzobná látka je zvyčajne protilátka, ktorá je na základe druhovo špecifickej reakcie schopná viazať iný imunoglobulín, ale nie na základe špecificity protilátky. Napríklad, druhá špecifická väzobná látka môže byť kozia anti-králičia IgG protilátka, ktorá viaže všetky molekuly králičieho imunoglobulínu G, bez ohľadu na ich imunologickú špecificitu.

Prvý protiľahlý komponent ďalej obsahuje prvý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média a druhý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média. Výhodne je prvý protiľahlý komponent označený limitnou čiarou, ktorá označuje bod, ku ktorému smeruje obrátený prietok v dvojsmernej chromatografii.

Druhý protiľahlý komponent obsahuje: (1) aplikátor s analógom analyzátu v resolubilizovateľnej forme po pridaní rekonštitučnej kvapaliny na aplikátor a (2) absorbent, ktorý je oddelený od aplikátora.

Analóg analyzátu je analyzát kovalentne naviazaný na člena špecifického väzobného páru, ktorý viaže druhá špecifická väzobná látka. Člen špecifického väzobného páru s analógom analyzátu je označený s detegovateľnou značkou. Výhodne je detegovateľná značka vizuálne detegovateľná značka. Najvýhodnejšie je vizuálne detegovateľná značka roztok kovu ako zlato, striebro alebo meď.

Napríklad, keď druhá špecifická väzobná látka je kozia anti-králičia IgG protilátka, člen špecifickekého väzobného páru konjugovaný na analyzát je normálny králičí IgG, člen špecifického väzobného páru konjugovaný na analyzát je normálny králičí IgG bez protilátkovej aktivity pre analyzát.

Príkladom analógu pre analyzát vhodného pre túto verziu stanovenia, keď penicilín je analyzátom, je 7-aminocefelosporanová kyselina kovalentne naviazaná na králičí IgG a králičí IgG je označený koloidným zlatom.

Uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí, že vodič sa dostane do operačného kontaktu s aplikátorom a obsah aplikátora je aplikovaný na druhý vodič a prechádza najmenej cez časť chromatografického média. Obsahuje tiež absorbent, ktorý je v operačnom kontakte s prvým vodičom na odstránenie kvapaliny z prvého konca chromatografického média čo následne vyvolá obrátenie smeru prietoku cez chromatografické médium.

V priebehu prvej fázy prietoku analyzát prítomný v pozi-

tívnej vzorke prechádza cez plochu druhej špecifickej väzobnej látky na chromatografickom médiu a potom sa viaže na plochu prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát. Pre pozitívnu vzorku počas druhej fázy prietoku je značený analóg analyzátu blokovaný a nemôže sa viazať na prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, a potom viaže druhú špecifickú väzobnú látku. Keď sa vo vzorke nenachádza analyzát, nenastane väzba analyzátu na prvú špecifickú väzobnú látku počas prvej fázy prietoku a analóg analyzátu sa viaže na prvú špecifickú väzobnú látku v priebehu druhej fázy prietoku a nedosiahne druhú špecifickú väzobnú látku a preto sa nevyvinie žiaden signál na druhej špecifickej väzobnej látke.

Výhodne zariadenie ďalej obsahuje kryt tesne pripojený na prvý protiľahlý komponent a kryt môže byť prekrytý ponad prvý a druhý protiľahlý komponent keď sú tieto v protipostavení. Kryt môže mať otvor, ktorý umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení. Otvor sa môže nachádzať za chromatografickým médiom, čo umožňuje pohľad zo zadu zatvoreného zariadenia.

Zariadenie môže tiež obsahovať dve, alebo viac chromatografických médií, najmenej jedno z nich je určené ako kontrolná štandarda, ktorá poskytuje semi-kvantitatívnu alebo kvantitatívnu indikáciu koncentrácie analyzátu prítomného vo vzorke.

V inej verzii tohoto vyhotovenia môže byť druhá špecifická väzobná látka imobilizovaná v detekčnej zóne s viacerými prúžkami, takže značený analóg, ktorý je schopný väziať druhú špecifickú väzobnú látku je takto titrovaný. Množstvo druhej špecifickej väzobnej látky v každom prúžku je stanovené cez množstvo väzby analógu analyzátu na detekčnú zónu, a tak

koncentrácia analyzátu v testovanej vzorke je indikovaná počtom prúžkov, na ktoré sa viaže analóg analyzátu. Toto dáva semikvantitatívny odhad koncentrácie analyzátu. Zvyčajne v tejto verzii prúžok druhej špecifickej väzobnej látky na chromatografickom médiu, má najnižšiu koncentráciu druhej špecifickej väzobnej látky, každý nasledovný prúžok má vyššiu koncentráciu druhej špecifickej väzobnej látky ako je koncentrácia najnižšieho prúžku.

Keď je koncentrácia analyzátu dostatočne vysoká a je prítomný dostatok nenaviazaného analógu analyzátu na nasýtenie prvého prúžku druhej špecifickej väzobnej látky, niektorý značený analóg analyzátu sa bude viazať na druhý prúžok druhej špecifickej väzobnej látky. Takto budú viditelné dva prúžky v detekčnej zóne na chromatografickom médiu. Rozsah koncentrácií analyzátu je potom indikovaný podľa prítomnosti jednej, dvoch, alebo troch čiar v detekčnej zóne.

Očakávaný rozsah koncentrácií stanovovaného analyzátu určujú koncentrácie, ktoré sa aktivujú objavením jednej alebo viacerých čiar v detekčnej zóne. Napríklad, pri použití metabolitu nikotínu, kotinínu, koncentrácia 10 ppb v telesnej tekutine môže indikovať významnú pasívnu expozíciu cigaretovému dymu, koncentrácia 500 ppb môže indikovať aktívneho fajčiara a koncentrácia 10 000 ppb môže indikovať ťažkého fajčiara. Zariadenie na stanovenie môže byť usporiadané tak, že jedna čiara sa objaví ako detekčná zóna s 10 ppb nikotínu, dve čiary ako 500 ppb a tri čiary ako 10 000 ppb.

Pri činnosti je rekonštitučná kvapalina, ako je popísané vyššie, aplikovaná na aplikátor na resolubilizáciu analógu analyzátu. Vzorka je potom nanesená na prvý nosič a ponechá sa migrovať po limitnú čiaru. Výhodne trvá chromatografia v prvom smere od asi 5 do asi 25 sekúnd, výhodnejšie asi 10 sekúnd.

Druhý protiľahlý komponent sa potom preloží na prvý protiľahlý komponent, čím sa dostanú oba komponenty do protipostavenia. Kryt sa potom preloží cez prvý a druhý protiľahlý komponent. Po inkubácii od asi 30 sekúnd do asi 10 minút, zvyčajne 2 minúty, keď je analyzát prítomný vo vzorke môžno vidieť čiaru v oblasti druhej špecifickej väzobnej látky. Výhodné objemy vzoriek a rekonštitučných kvapalín sú popísané vyššie pri prvom zariadení na kompetitívne imunostanovenie.

Zariadenie vhodné na toto vyhotovenie kompetitívneho imunostanovenia je na obrázku 24. Zariadenie na chromatografické stanovenie 780 má prvý protiľahlý komponent 782, druhý protiľahlý komponent 784 a kryt 786. Druhý protiľahlý komponent 784 je tesne pripojený na jednu stranu prvého protiľahlého komponentu 782 prvým pántom 788. Kryt 786 je tesne pripojený na druhú stranu prvého protiľahlého komponentu 782 druhým pántom 790. Prvý protiľahlý komponent 782 má chromatografické médium 792 s prvým koncom 794 a druhým koncom 796. Chromatografické médium 792 má plochu s imobilizovanou prvou špecifickou väzobnou látkou pre analyzát 798, ktorá neprekrýva plochu druhej špecifickej väzobnej látky 800, ktorá je tam tiež imobilizovaná. Prvý protiľahlý komponent 782 tiež obsahuje prvý vodič 802, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 794 chromatografického média 792 a druhý vodič 804, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 796 chromatografického média 792. Prvý protiľahlý komponent 782 tiež obsahuje limitnú čiaru 806 na indikáciu bodu, ku ktorému prvý 782 a druhý 784 protiľahlý komponent sa musia dostať v protipostavení, aby nastala zmena smeru prietoku kvapaliny počas chromatografie.

Druhý protiľahlý komponent 784 má aplikátor 808 s obsahom analógu analyzátu v resolubilizovateľnej forme po pridaní rekonštitučnej kvapaliny. Druhý protiľahlý komponent 784 tiež obsahuje absorbent 810, ktorý je oddelený od aplikátora 808, a

otvor 814. Keď prvý protiľahlý komponent 782 a druhý protiľahlý komponent 784 sú uvedené do protipostavenia, aplikátor 808 sa dostane do operačného kontaktu s druhým vodičom 804 a absorbent 810 sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom 802 a dôjde k obráteniu smeru prietoku kvapaliny. Kryt 786 má otvor 812, ktorý umožňuje pohľad na časť chromatografického média 792. Výhodne umožňuje otvor 812 pohľad na plochu druhej špecifickej väzobnej látky 800 a nie na plochu prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát 798. Druhý protiľahlý komponent 784 a kryt obsahujú tiež ističe 811 a 813. Zariadenie má tiež po obvode tesnenie 815.

C. Trojzložkové zariadenie s jednosmerným prietokom a absorbentom.

Iné zariadenie vhodné na kompetitívne imunostanovenie ukazuje obrázok 25. Toto zariadenie je trojzložkové a obsahuje absorbent, alebo bloter, ktorý odstraňuje kvapalinu z chromatografického média a oboch vodičov. Absorbent zasahuje do pevnej časti chromatografického média, keď je s ním v operačnom kontakte. Zariadenie na chromatografické stanovenie 822 má druhý protiľahlý komponent 824 a tretí protiľahlý komponent 826. Druhý protiľahlý komponent 824 je tesne pripojený na jednu stranu prvého protiľahlého komponentu 822 cez prvý pánt 828. Tretí protiľahlý komponent 826 je tesne pripojený na druhú stranu prvého protiľahlého komponentu 822 druhým pántom 830. Prvý protiľahlý komponent 822 má chromatografické médium 832 s prvým koncom 834 a druhým koncom 836. Chromatografické médium má plochu s imobilizovanou prvou špecifickou väzobnou látkou pre analyzát 840, ktorá neprekrýva plochu druhej špecifickej väzobnej látky 838, ktorá je tam tiež imobilizovaná. Prvý protiľahlý komponent 822 tiež obsahuje prvý vodič 842, ktorý má funkciu aplikátora, a ktorý je v operačnom kontakte s prvým

koncom chromatografického média 832; a druhý vodič 844, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 836 chromatografického média 832. Prvý protiľahlý komponent 822 tiež obsahuje limitnú čiaru 806 na indikáciu bodu, ku ktorému prvý 822 a druhý 824 protiľahlý komponent sa musia dostať v protipostavení.

Druhý protiľahlý komponent 824 má druhý aplikátor 850 s obsahom analógu analyzátu. Zvyčajne sa pridá vodný roztok na druhý aplikátor 850, čo spôsobí resolubilizáciu analógu analyzátu, ktorý sa nachádza na druhom aplikátore 850. Druhý protiľahlý komponent 824 tiež obsahuje prvý absorbent 848, ktorý je oddelený od druhého aplikátora 850. Keď prvý protiľahlý komponent 822 a druhý protiľahlý komponent 824 sú uvedené do protipostavenia, druhý aplikátor 850 sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom 842 a prvý absorbent 848 sa dostane do operačného kontaktu s druhým vodičom 844 na odstránenie kvapaliny. Otvor 852 sa nachádza za chromatografickým médiom, čo umožňuje pohľad na časť chromatografického média 832 zo zadu. Druhý a tretí protiľahlý komponent 824 a 826 majú ističe 849 a 853. Zariadenie 820 tiež obsahuje tesnenie 858.

Tretí protiľahlý komponent 826 má druhý absorbent 854 umiestnený tak, že je v operačnom kontakte s podstatnou plochou chromatografického média 832 keď tretí 826 a prvý 822 protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia. Toto odstráni nadbytok tekutiny z prvého vodiča 842 a z druhého vodiča 844 a rovnako z chromatografického média 832.

Pri použití je vzorka nanesená na prvý vodič alebo aplikátor 842 a ponechá sa prejsť cez chromatografické médium 832. Tretí protiľahlý komponent 826 sa uvedie do protiľahlého postavenie s prvým protiľahlým komponentom 822, čím sa druhý absorbent 854 dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom alebo aplikátorom 842 a chromatografickým médiom 832; dôjde k odo-

bratiu kvapaliny na druhý absorbent 854. Druhý protiľahlý komponent 824 a prvý protiľahlý komponent 822 sú uvedené do protipostavenia, čím sa druhý aplikátor 850 s obsahom resolubilizovaného značeného analógu analyzátu dostane do kontaktu s vodičom alebo aplikátorom 842 na prvom konci 834 chromatografického média 832. Tiež prvý absorbent 848 sa dostane do kontaktu s druhým vodičom 844 na druhom konci chromatografického média 832. Tretí protiľahlý komponent 826 sa preloží na druhý protiľahlý komponent 824 ako kryt. Časť chromatografického média je viditeľná cez otvor 856, ktorý je umiestnený za chromatografickým médiom 832.

Detekcia a/alebo stanovenie analyzátu sa uskutoční rovnakým spôsobom ako bolo popísané s časti II(B) vyššie, pre dvojsmerné prietokové zariadenie.

D. Trojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie s využitím špecificity biotínu

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie pre kompetitívne stanovenie podľa tohoto vynálezu je trojzložkové dvojsmerné prietokové zariadenie, ktoré využíva špecificitu biotín-avidínového spojenia.

Prvý protiľahlý komponent obsahuje chromatografické médium, ktoré má prvý koniec a druhý koniec, ako je popísané vyššie. Chromatografické médium má v sebe imobilizovanú (1) látku schopnú špecificky viazať biotín, vybraný zo skupiny s obsahom protilátok voči avidínu, streptavidínu, anti-biotínu a ich derivátov; a (2) druhú špecifickú väzobnú látku. Druhá špecifická väzobná látka je schopná špecificky viazať trojzložkový komplex, keď trojzložkový komplex sa skladá: (a) z analyzátu; (b) z člena špecifického väzobného páru, ktorý nemá

špecifickú väzobnú afinitu pre analyzát špecificky konjugovaný na analyzát; a (c) detegovateľnú značku naviazanú na člena špecifického väzobného páru. Tento trojzložkový komplex sa nachádza na treťom protiľahlom komponente ako bude popísané ďalej.

Väzobné zložky sú imobilizované na chromatografickom médiu v oddelených ohraničených plochách, ktoré sa navzájom neprekrývajú a každá plocha je podstatne menšia ako je plocha chromatografického média. Druhá špecifická väzobná látka je imobilizovaná v prvej ohraničenej ploche, ktorá je bližšia k prvému koncu chromatografického média ako je látka schopná viazať biotin (tu používaný generický názov "avidín"), ktorý je imobilizovaný v druhej ohraničenej ploche.

Prvý protiľahlý komponent ďalej obsahuje prvý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média a druhý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média.

Druhý protiľahlý komponent obsahuje prvý aplikátor s prvou špecifickou väzobnou látkou pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na aplikátor. Ako bolo vysvetlené vyššie, vodný roztok môže byť výhodne samotná vzorka, alebo prvá rekonštitučná kvapalina nasledovaná vzorkou. Prvá špecifická väzobná látka nie je schopná sa naviazať na druhú špecifickú väzobnú látku. Prvá špecifická väzobná látka je konjugovaná na biotín.

Metódy na naviazanie biotínu na globulárne proteíny, vrátane antibiotík, sú dobre známe odborníkom a sú popísané napríklad v P. Tijssen, supra, na str. 25-31. Biotín môže byť konjugovaný na proteín ako reaktívny ester, buď priamo alebo pomocou zavedenia eta-aminokaprónovej kyseliny. Zvyčajne

reaktívne estery sú biotinyl-p-nitrofenyl ester, biotinyl-N-hydroxisukcinimid ester a kaproylamidobiotinyl-N-hydroxisukcinimid ester, posledný z nich má medzeru medzi biotínovou časťou a proteínom. Biotín môže byť tiež aktivovaný inými skupinami.

Tretí protiľahlý komponent obsahuje: (1) druhý aplikátor s obsahom trojzložkového komplexu ako je popísané vyššie, ktorý sa skladá z analyzátu, člena špecifického väzobného páru, ktorý nemá väzobnú afinitu pre analyzát a detegovateľnú značku a (2) absorbenta, ktorý je oddelený od prvého aplikátora.

Uvedenie prvého protiľahlého komponentu a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí operačný kontakt prvého vodiča s prvým aplikátorom a dôjde k aplikácii obsahu prvého aplikátora na prvý vodič a potom na prvý koniec chromatografického média. Obsah prvého aplikátora migruje cez najmenej časť chromatografického média. Keď tretí protiľahlý komponent a prvý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, dostane sa druhý aplikátor do operačného kontaktu s druhým vodičom a dôjde k naneseniu obsahu druhého aplikátora na druhý koniec chromatografického média a absorbent sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom, čím dôjde k odstráneniu kvapaliny z prvého konca chromatografického média a nastane obrátenie smeru prietoku kvapaliny.

Príkladom vhodnej kombinácie protilátok pre toto vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie, s teofilínom ako analyzátom, je biotinylovaná murine monoklonálna antiteofilín IgG protilátka ako biotinylovaná prvá špecifická väzobná látka, kozia anti-králičia IgG protilátka ako imobilizovaná druhá špecifická väzobná látka a králičí IgG s chýbajúcou antiteofilínovou aktivitou ako člen špecifického väzobného páru v trojzložkovom komplexe.

Iným príkladom analyzátu, ktorý môže byť stanovený podľa tohoto vyhotovenia je penicilín, pri použití penicilín viažuceho proteínu (PBP) ako špecifickej väzobnej látky a trojzložkový komplex je tvorený 7-aminocefelosporanovou kyselinou kovalentne naviazanou na králičí IgG, králičí IgG je označený koloidným zlatom. Iné ß-laktámové antibiotiká môžu byť stanovené podobne.

Pri činnosti zariadenia je biotinylovaná prvá špecifická väzobná látka na prvom aplikátore resolubilizovaná výhodne buď nanesením samotnej vzorky, alebo aplikáciou prvej rekonštitučnej kvapaliny a následne nanesením vzorky, ako je popísané vyššie. Trojzložkový komplex na druhom aplikátore je resolubilizovaný druhou rekonštitučnou kvapalinou tak, ako je popísané vyššie v časti II(A). Po inkubácii dostatočne dlhej na to, aby analyzát vo vzorke sa naviazal na prvú špecifickú väzobnú látku, prvý a druhý protiľahlý komponent sa uvedú do protipostavenia a dôjde k naneseniu vzorky a resolubilizovanej prvej špecifickej väzobnej látky na prvý vodič a potom na prvý koniec chromatografického média. Vzorka a prvá špecifická väzobná látka migrujú cez chromatografické médium a prechádzajú cez ohraničené, navzájom sa neprekrývajúce plochy imobilizovaných reakčných činidiel v chromatografickom médiu. Prvá biotinylovaná špecifická väzobná látka viaže zložku schopnú viazať biotín v druhej ohraničenej ploche. Keď je analyzát prítomný vo vzorke, biotinylovaná špecifická väzobná látka, naviazaná na pevný podklad cez biotín-avidínové spojenie, je samotná naviazaná na analyzát. Keď sa vo vzorke nenachádza analyzát, analyzát sa nenaviaže na naviazanú biotinylovanú špecifickú väzobnú látku.

Potom, ako vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka prejdú cez druhé ohraničené miesto, prvý a druhý protiľahlý komponent sú oddelené od seba a prvý a tretí

protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, čím nastane zmena smeru prietoku a aplikácia trojzložkového komplexu na druhý vodič. Trojzložkový komplex potom migruje cez chromatografické médium smerom od druhého konca k prvému koncu. Keď je analyzát prítomný v testovanej vzorke, biotinylovaná špecifická väzobná látka naviazaná na avidín v druhej ohraničenej ploche nemôže viazať analyzát v trojzložkovom komplexe, trojzložkový komplex dosiahne druhú špecifickú väzobnú látku. Druhá špecifická väzobná látka potom viaže člena špecifického väzobného páru v trojzložkovom komplexe, kde je detegovaný. Výhodne má tretí protiľahlý komponent zariadenia otvor, cez ktorý je možno vidieť len časť ohraničenej plochy druhej špecifickej väzobnej látky a nie druhú ohraničenú plochu s avidínom, pohľad na chromatografické médium je možný keď tretí protiľahlý komponent je v protipostavení s prvým protiľahlým komponentom. Avšak keď je analyzát prítomný vo vzorke, trojzložkový komplex sa naviaže na prvú špecifickú väzobnú látku, ktorá je naviazaná na avidín, ktorého antigénové väzobné miesto nie je obsadené. Trojzložkový komplex potom nemôže dosiahnuť prvú ohraničenú plochu s obsahom druhej špecifickej väzobnej látky.

Zariadenie na chromatografiu vhodné pre túto verziu kompetitívneho imunostanovenia ukazuje obrázok 26. Zariadenie na chromatografické stanovenie 860, má prvý protiľahlý komponent 862, druhý protiľahlý komponent 864 a tretí protiľahlý komponent 866. Druhý protiľahlý komponent 864 je tesne pripojený na jednu stranu prvého protiľahlého komponentu 862 cez prvý pánt 868 a tretí protiľahlý komponent 866 je tesne pripojený na druhú stranu prvého protiľahlého komponentu 862 druhým pántom 870. Prvý protiľahlý komponent 862 má chromatografické médium 872 s prvým koncom 874 a druhým koncom 876, obsahuje prvý vodič 878, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 874 chromatografického média 872 a druhý vodič 880, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 876

chromatografického média 872. Chromatografické médium 872 má prvú ohraničenú plochu s druhou špecifickou väzobnou látkou 882 a druhú ohraničenú plochu s avidinom 884. Prvá 882 a druhá 884 ohraničená plocha sa navzájom neprekrývajú, prvá ohraničená plocha 882 sa nachádza bližšie k prvému koncu 874 chromatografického média 872. Druhý protiľahlý komponent 864 má prvý aplikátor 886 s obsahom resolubilizovateľnej prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát. Tretí protiľahlý komponent 866 má druhý aplikátor 888 s obsahom resolubilizovateľného trojzložkového komplexu a absorbenta 890, ktorý je oddelený od druhého aplikátora 888. Druhý protiľahlý komponent 864 a tretí protiľahlý komponent a 866 majú tiež otvory 892 a 894, ktoré umožňujú pohľad na časť chromatografického média 872. Výhodne umožňujú otvory 892 a 894 pohľad na prvú ohraničenú plochu 882 s obsahom druhej špecifickej väzobnej látky, ale nie na druhú ohraničenú plochu 884 s obsahom avidínu. Druhý a tretí protiľahlý komponent 864 a 866 obsahujú tiež ističe 891 a 895. Zariadenie 860 tiež obsahuje tesnenie 896.

Keď prvý protiľahlý komponent 862 a druhý protiľahlý komponent 864 sú uvedené do protipostavenia, prvý aplikátor 886 sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom 878, čo iniciuje prietok cez chromatografické médium. Následne po uvedení prvého protiľahlého komponentu 862 a tretieho protiľahlého komponentu 864 do protipostavenia, druhý aplikátor 888 sa dostane do operačného kontaktu s druhým vodičom 880 a absorbent 890 sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom 878 a nastane obrátenie smeru prietoku kvapaliny cez chromatografické médium 872.

Pri variácii tohoto vyhotovenia môže mať detekčná zóna dva alebo viac prúžkov druhej špecifickej väzobnej látky, tak ako je popísané vyššie v kapitole II(B). Toto môže titrovať kvantitu značeného trojzložkového komplexu schopného sa viazať

za vzniku indikácie množstva analyzátu prítomného v testovanej vzorke podľa počtu viditeľných prúžkov v detekčnej zóne.

E. Dvojzložkové zariadenie pre kompetitívno-inhibičné imunostanovenie

Iné vyhotovenie zariadenia na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu je vhodné pre kompetitívne imunostanovenie. Toto zariadenie dáva pozitívnu indikáciu koncentrácie analyzátu vytvorením detegovateľného signálu keď je analyzát prítomný v testovanej vzorke.

Toto vyhotovenie zariadenia je dvojzložkové zariadenie a prietok cez zariadenie je jednosmerný. Prvý protiľahlý komponent obsahuje chromatografické médium, ktoré má prvý koniec a druhý koniec. Chromatografické médium má v sebe imobilizované (1) analóg analyzátu, ktorý je schopný viazať špecifickú látku pre analyzát; a (2) druhú špecifickú väzobnú látku, ktorá je schopná viazať člena špecifického väzobného páru, ktorý má afinitu k analyzátu, ale samotná druhá špecifická väzobná látka nemá afinitu k analyzátu. Komponenty sú umiestnené na chromatografickom médiu v oddelených ohraničených plochách, ktoré sa navzájom neprekrývajú. Analóg analyzátu je umiestnený bližšie k prvému koncu chromatografického média ako druhá špecifická väzobná látka.

Analóg analyzátu je analyzát kovalentne naviazaný na molekulu proteínu, akým je nešpecifický imunoglobulín, ktorý môže byť naviazaný na chromatografické médium. Molekula proteínu nemusí mať väzobnú afinitu k analyzátu, alebo k špecifickej väzobnej látke pre analyzát.

Druhá špecifická väzobná látka špecificky viaže špeci-

fickú väzobnú látku pre analyzát na základe druhovej špecificity, ako je popísané vyššie. Interakcia medzi druhou špecifickou látkou a špecifickou látkou pre analyzát neobsahuje antigén-viažuce miesta špecifickej väzobnej látky pre analyzát.

Prvý protiľahlý komponent ďalej obsahuje vodič, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média a druhý vodič, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média. Výhodne prvý protiľahlý komponent obsahuje absorbent, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média.

Druhý protiľahlý komponent obsahuje aplikátor so špecifickou väzobnou látkou pre analyzát označený detegovateľnou značkou. Výhodne je detegovateľná značka vizuálnou detegovateľnou značkou ako je roztok kovu. Keď prvý protiľahlý komponent nemá absorbent, potom druhý protiľahlý komponent môže ďalej obsahovať absorbent, ktorý je oddelený od aplikátora. Výhodne obsahuje druhý protiľahlý komponent tiež otvor, ktorý umožňuje pohľad na časť chromatografického média. Výhodne je otvor umiestnený tak, že umožňuje pohľad na plochu druhej špecifickej väzobnej látky a nie na plochu analógu analyzátu.

Pri použití je testovaná vzorka nanesená na aplikátor a tým resolubilizuje špecifickú väzobnú látku. Zvyčajne je vzorka inkubovaná so špecifickou väzobnou látkou od asi 1 minúty do asi 3 minút, tento čas môže byť predĺžený pre potrebu želateľného zvýšenia citlivosti.

Potom sa uvedú prvý a druhý protiľahlý komponent do protipostavenia a nastane aplikácia obsahu aplikátora na vodič a spôsobí, že vodič sa dostane do operačného kontaktu s aplikátorom a obsah aplikátora je aplikovaný na vodič a potom na prvý koniec chromatografického média. Analyzát prítomný v pozitívnej

testovanej vzorke obsadí väzobné miesta na značenej špecifickej väzobnej látke, takže značená špecifická väzobná látka sa nenaviaže na analóg analyzátu v chromatografickom médiu. Namiesto toho značená druhá špecifická väzobná látka postúpi k oblasti druhej špecifickej väzobnej látky, kde sa naviaže za tvorby detegovateľnej čiary, ktorá dáva pozitívnu indikáciu prítomnosti analyzátu.

V neprítomnosti analyzátu vo vzorke, celá značená špecifická väzobná látka pre analyzát sa naviaže na analóg analyzátu a nedosiahne oblasť druhej špecifickej väzobnej látky. Množstvá použitých reakčných činidiel môžu byť titrované a koncentrácia analyzátu potrebná pre pozitívnu odpoveď môže byť upravená podľa klinických a farmakologických požiadaviek.

Zariadenie vhodné na takéto vyhotovenie kompetitívneho imunostanovenia ukazuje obrázok 27. Zariadenie 900 má prvý protiľahlý komponent 902 a druhý protiľahlý komponent 904, ktoré sú tesne spojené cez pánt 906. Prvý protiľahlý komponent 902 má chromatografické médium 908 s prvým koncom 910 a druhým koncom 912. Chromatografické médium 908 má plochu s imobilizovaným analógom analyzátu 914 a obsahuje plochu s imobilizovanou druhou špecifickou väzobnou látkou 916. Prvý protiľahlý komponent 902 má vodič 918, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom 910 chromatografického média 908 a absorbent 920, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom 912 chromatografického média 908.

Druhý protiľahlý komponent 904 má aplikátor 922 s obsahom značenej špecifickej väzobnej látky pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vzorky. Druhý protiľahlý komponent 904 má tiež otvor 924, ktorý umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média 908. Výhodne otvor 924 umožňuje pohľad na plochu 916 s obsahom druhej špecifickej väzobnej

látky, ale nie na plochu 914 s obsahom analógu analyzátu. Prvý a druhý protiľahlý komponent obsahujú tiež ističe 923 a 925 a tesnenie 926 ako bolo popísané pre dvojzložkové zariadenie.

V inej variácii tohoto vyhotovenia môže detekčná zóna obsahovať dva alebo viac prúžkov druhej špecifickej väzobnej látky na semikvantitatívnu indikáciu koncentrácie analyzátu v testovanej vzorke, tak ako je popísané vyššie v kapitole II(B). Toto titruje kvantitu značenej väzobnej látky voľnej pre väzbu a podľa počtu viditeľných prúžkov v detekčnej zóne indikuje množstvo analyzátu prítomného v testovanej vzorke.

III. ANALYZÁTY A PROTILÁTKY POUŽÍVANÉ V ZARIADENÍ NA STANOVENIE

Analyzáty vhodné na detekciu pomocou zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu sú antigény, haptény a protilátky. Antigény detegovateľné zariadením sú hemoglobín, antigény Streptococcus A a B, antigény protozoálneho parazita Gardia a antigény pre vírusy, vrátane antigénov pre HIV a Australia antigén špecifický pre hepatitídu. Protilátky, ktoré môžu byť stanovené sú protilátky voči baktériam ako Helicobacter pylori a vírusom, vrátane HIV. Detegovateľné haptény sú vymenované vyššie v časti III, vyššie, rovnako ako iné haptény voči ktorým môžu byť pripravené protilátky s dostatočnou špecificitou.

Keď je analyzát antigénom alebo hapténom a použije sa sedvičova metóda, prvá a druhá špecifická väzobná látka sú výhodne protilátky. Pri mnohých použitiach je výhodné, ale sa nevyžaduje, aby prvá a druhá špecifická väzobná látka boli protilátky voči rôznym epitopom na analyzáte. Protilátky môžu byť polyklonálne alebo monoklonálne a môžu byť IgG, IgM, alebo IgA. Pri mnohých použitiach sú výhodnejšie polyklonálne protilátky,

nakoľko ich prírodzená varabilita umožňuje presnejšiu detekciu v systéme, kde je prítomný, alebo môže existovať antigénový polymorfizmus.

Keď analyzátom je haptén a použije sa sedvičova metóda, je najvýhodnejšie aby prvá a druhá špecifická väzobná látka boli protilátky voči rôznym epitopom; inak môže dochádzať medzi nimi k neželateľnej kompetičnej reakcii, čo môže interferovať pri väzbe komplexu značenej špecifickej väzobnej látky s analyzátom na imobilizovanú druhú špecifickú väzobnú látku. Je známe, že nie všetky hapteny sú dostatočne veľké na to, aby mali viac ako jeden epitop, niektoré haptény i keď nie sú dostatočne veľké na to aby indukovali tvorbu antigénu, sú dostatočne veľké na to, aby mali viac ako jeden epitop. V prípade, že nie je možné získať protilátky voči viac ako jednému epitopu, je všeobecne výhodnejším kompetitívne stanovenie.

Keď analyzát je protilátka a na jej stanovenie sa použije sedvičova metóda, prvou špecifickou väzobnou látkou je značená protilátka, ktorá sa viaže na analyzát na základe druhovej špecificity, špecificity triedy a podtriedy (izotyp). Na zabránenie interferencie je veľmi výhodné, aby sa prvá špecifická väzobná látka pre protilátku voči analyzátu viazala na konštantnú oblasť protilátky voči analyzátu. Keď je analyzát protilátka, druhá špecifická väzobná látka je výhodne antigén alebo haptén, pre ktoré je analyzát (protilátka) špecifická.

V niektorých použitiach je želatelné zaviesť nepriame značenie. Napríklad, pri testovaní antigénu Gardia, možno použiť IgM protilátku, ktorá sa môže ťažko označovať. V takom prípade môže byť označená druhá špecifická väzobná látka, ktorá je špecifická pre mobilnú prvú špecifickú väzobnú látku. Zvyčajne sa značená špecifická väzobná látka viaže na protilátku, ktorou je prvá špecifická väzobná látka s druhovou špecifici-

tou, alebo špecificitou pre triedu, alebo podtriedu.

Ako alternatíva použitia druhej špecifickej väzobnej látky je použitie prvej špecifickej väzobnej látky, ktorá môže byť konjugovaná na biotín a na avidín konjugovanú značku.

Tieto vzťahy medzi analyzátmi, špecifickými väzobnými látkami a značkami pre sedvičove imunostanovenia sú uvedené v Tabuľke I.

TABUĽKA I

SCHÉMY VAZBY PRE SENDVIČOVÉ IMUNOSTANOVENIA

ANALYZÁT	1. SBP (MOBILNÝ)	2. SBP (FIXOVANÝ)	SEKUNDÁRNY SPB	VYTVORENÝ KOMPLEX
Ag	Ab_1*	Ab_2	---	Ab_2-Ag-Ab_1*
H	Ab_1*	Ab_2	---	Ab_2-H-Ab_1*(1)
Ab	Ab_c*	Ag	---	Ag-Ab-Ab_c*
Ag	Ab_1	Ab_2	Ab_c*	Ab_2-Ag-Ab_1-Ab_c*
Ab	Ab_{c1}	Ag	Ab_{c2}*	Ag-Ab-Ab_{c1}-Ab_{c2}*
Ag	Ab_1-Bi	Ab_2	Av-L	Ab_2-Ag-Ab_1-Bi-Av-L

SBP = fosfátový solný pufer
Ag = antigén
H = haptén
Ab = protilátka
Ab_1 = prvá protilátka
Ab_2 = druhá protilátka
Ab_c, Ab_{c1}, Ab_{c2} = protilátka špecifická pre inú protilátku
Bi = biotín
Av = avidín
L = značka
* - znamená značenú zložku
(1) Ab_2 a Ab_1* sa výhodne viažu na rôzne epitopy; nie všetky haptény majú rôzne epitopy

Vzťahy medzi analyzátmi, špecifickými väzobnými látkami, značkami a inými členmi v reakčných schémach pre kompetitívne imunostanovenie zaznamenáva Tabuľka II, kde

H : haptén

Ab_1 a Ab_2 : prvá a druhá protilátka špecifická pre haptén

Ig : imunoglogulín bez špecifickej väzobnej aktivity

Abs : väzba sekundárnej protilátky Ab_1 alebo Ab_2

Bi : biotín

Av : avidín

L : značka

\- : nekovalentná väzba

= : kovalentná väzba

TABUĽKA II

SCHÉMY VAZBY PRE KOMPETITÍVNE STANOVENIE

	Aplikované na chromatografické médium:		Fixované na chromatografické médium:		Väzba v prítomnosti analyzátu:		Väzba v neprítomnosti analyzátu:	
	Prvý smer	Druhý smer	Prvé miesto	Druhé miesto	Prvé miesto	Druhé miesto	Prvé miesto	Druhé miesto
I	H-Ab_1 or Ab_1	Ab_2=L	H	---	H-Ab_2=L	---	H-Ab_1	---
II	H or ---	H=Ig=L	Abs	Ab_1	Abs | H=Ig=L	H-Ab_1	Abs	Ab_1-H=Ig=L
III	H-Ab_1=Bi or Ab_1=Bi	H=Ig=L	Abs	Av	Abs | H=Ig=L	H-Ab_1= Bi-Av	Abs	L=Ig=H-Ab_1= Bi=Av
IV	H-Ab_1=L or Ab_1=L	---	Abs	H	Abs | H-Ab_1=L	H	Abs	H-Ab_1=L

IV. TESTOVACIE SÚPRAVY

Iným aspektom tohoto vynálezu sú testovacie súpravy, ktoré sa môžu používať na detekciu určitých analyzátov. Testovacia súprava obsahuje v oddelených kontajneroch:

(1) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu;

(2) reakčné činidlá potrebné na spracovanie alebo extrakciu vzorky; a

(3) keď zariadenie na stanovenie neobsahuje značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme, zariadenie obsahuje aj potrebnú špecifickú väzobnú látku.

Potrebné zložky pre (2) a (3) sú oddelene balené a môžu byť v kvapalnej alebo pevnej forme (lyofilizované, kryštalické, precipitované, alebo agregované). V prípade agregovanej formy, je táto užívateľom resolubilizovaná, zvyčajne destilovanou vodou alebo prečistenou vodou, fyziologickým roztokom, alebo roztokom pufru.

V niektorých prípadoch môžu testovacie súpravy tiež obsahovať rekonštitučnú kvapalinu pre reakčné činidlo, ktoré je v zariadení prítomné v resolubilizovateľnej forme, buď ako špecifickú väzobnú látku alebo analóg analyzátu. Špeciálne príklady sú vysvetlené vyššie s popisom činnosti pre každý typ zariadenia.

Ešte sú možné iné variácie zariadenia na testovanie podľa tohoto vynálezu. Napríklad, ktorékoľvek už popísané dvojzložkové zariadenie môže mať kryt tesne pripojený k jednému z protiľahlých komponentov. Tento kryt môže mať otvor, ktorý umožňuje pohľad aspoň na časť chromatografického média.

Vynález je dokumentovaný nasledovnými príkladmi. Príklady sú len na ilustračné účely a v žiadnom prípade nepredstavujú obmedzenie rozsahu vynálezu.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Zloženie zariadenia pre detekciu streptokokového antigénu

Zariadenie bolo vyhotovené na detekciu antigénu Streptococcus A s využitím značenej protilátky voči antigénu Streptococcus A. V zásade bolo zariadenie vyhotovené tak, ako zaznamenáva obrázok 28.

Obrázok 28 zobrazuje zariadenie na chromatografické stanovenie 940 podľa predkladaného vynálezu s prvým protiľahlým komponentom 942, druhým protiľahlým komponentom 944, ktorý je tesne pripojený k prvému protiľahlému komponentu 942, a krytom 946, ktorý je tesne pripojený k druhému protiľahlému komponentu 944. Prvý protiľahlý komponent 942 obsahuje chromatografické médium 948. Druhý protiľahlý komponent 944 obsahuje pásku 952, ktorá tlakom pridržiava kontajner 950 v tvare slzy, páska je natiahnutá cez druhý protiľahlý komponent 944. Kontajner v tvare slzy 950 pôsobením tlaku pásky 952 vytvorí jamku. Prvý protiľahlý komponent 942 obsahuje prvý otvor 954 a kryt 946 má druhý otvor 956.

Protiľahlé komponenty sú z tvrdého, nepriepustného plastického materiálu ako napr. polykarbonát. Prvý a druhý

protiľahlý komponent, rovnako ako kryt, majú dĺžku asi 7.62 cm; prvý protiľahlý komponent má šírku asi 5.71 cm, kým druhý protiľahlý komponent a kryt majú každý šírku asi 6.04 cm. Druhý protiľahlý komponent je zvnútra vyložený molitanom, do ktorého je vyrezaná jamka v tvare slzy, vytvárajúc tak kontajner, do ktorého sa vloží tampón alebo iný prostriedok na aplikáciu vzorky. Tampón je pridržiavaný na mieste pomocou pásky, ktorá je natiahnutá cez stenu druhého protiľahlého komponentu.

Chromatografické médium tvorí prúžok nitrocelulózy s veľkosťou pórov 8 μm a dĺžkou 1.27 cm (MSI, Westborough, Mass.), pripevnené na plastickú podložku pomocou dvojstrannej lepiacej pásky (3M, Minneapolis, Minnesota). Vodič a absorbent sú celulózové prúžky (Ahlstrom Filtration, Holly Springs, Pennsylvania), absorbent v dĺžke 1.35 cm (Ahlstrom Grade 939) a vodič v dĺžke 0.635 cm (Ahlstrom Grade 1281). Podložka pre aplikáciu detektora (tiež Ahlstrom Grade 1281) je široká 0.95 cm. Podložka pre aplikáciu detektora mierne prekrýva vodič, ktorý následne mierne prekrýva chromatografické médium na jeho prvom konci. Chromatografické médium je na svojom druhom konci mierne prekryté absorbentom.

Požadované reakčné činidlá sú najprv zabudované do chromatografického média a podložky pre aplikáciu detektora; použitie dvojstrannej lepiacej pásky umožňuje upevnenie týchto zložiek na podklad.

Detekčná zóna obsahuje 2 mg/ml králičej anti-Streptococcus A protilátky v 0.001 mole/l fosfátovom soľnom pufri, pH 7.2. Kontrolná zóna obsahuje kozí anti-králičí IgG v rovnakej koncentrácii a v tom istom pufri. Roztoky protilátok boli aplikované na príslušné oblasti chromatografického média a vysušené pri 37.8 °C v prostredí s nízkou vlhkosťou. Chromatografické médium bolo navlhčené nadbytkom blokovacieho

roztoku (Blocking Reagent for ELISA, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany, riedenie 1 : 10 destilovanou vodou s obsahom 0.2 % Tween 20™) a opäť vysušené pri 37 °C.

Podložka pre aplikáciu detektora obsahuje králičiu anti-Streptococcus protilátku, označenú s 40-nm koloidnými časticani zlata. Pre aplikáciu značenej protilátky na podložku pre aplikáciu detektora, značená protilátka sa zriedi 1 : 1.5 s DBN (1.5 mole/l Tris-HCl, pH 7.4, 1 % (objem/objem) Tween 20™, 0.4 % (objem/objem) Brij 35™, 0.02 % (hmotnosť/objem) azid sodný, 3 mg/ml králičí IgG). Na jedno testovanie sa pridá 15 μl zriedenej protilátky na podložku pre aplikáciu detektora. Podložka pre aplikáciu detektora sa suší 30 minút pri 37.8 °C.

Príklad 2

Detekcia streptokokového antigénu za použitia zariadenia z príkladu 1

Na detekciu antigénu Streptococcus A bolo použité zariadenie z príkladu 1. Rôzne množstvá baktérii Streptococcus typu A boli pridané na zvinutý dacronový tampón, ktorý bol vložený do jamky pre vzorku. Tri kvapky extrakčného činidla A (0.25 % kyselina octová, 5 % Tween 20™) a tri kvapky extrakčného činidla B (2 mole/l nitrir sodný, 5 % Tween 20™) sa pridali na tampón, premiešali sa miernym otáčaním tampónu a boli inkubované 1 minútu. Zariadenie sa potom zavrelo a prvý a druhý protiľahlý komponent sa dostali do kontaktu, potom sa preložil kryt cez prvý protiľahlý komponent. Výsledok sa odčítal po inkubácii od asi 2 minút do 5 minút. Vytvorenie ružovo-červeného pásika v detekčnej zóne na chromatografickom médiu znamená

detekciu antigénu Streptococcus A.

Zariadenie v príklade 1 môže detegovať 1 x 10^5 organizmov Streptococcus A po 2-minútovej inkubácii a môže detegovať 5 x 10^4 organizmov Streptococcus A po 5-minútovej inkubácii. Na porovnanie, Concise™ imunostanovenie od Hybritech-u (La Jolla, California) môže detegovať 1 x 10^5 organizmov Streptococcus A len po 5-tich minútach inkubácie a nemôže detegovať 5 x 10^4 organizmov Streptococcus A dokonca ani po 20-minútovej inkubácii. Podobne Smart™ imunostanovenie od New Horizons môže detegovať 1 x 10^5 organizmov Streptococcus A len po 7-minútovej inkubácii a dáva rovnaký výsledok pri 5 x 10^4 organizmov Streptococcus A po 7-mich minútach inkubácie.

Príklad 3

Kompetitívne stanovenie teofilínu pri použití trojzložkového zariadenia na stanovenie

Zariadenie na kompetitívne imunostanovenie bolo zhotovené na detekciu bronchodilatátora teofilínu. Nitrocelulózová membrána s veľkosťou pórov 12-mikrónov, od Schleicher a Schuell (Keene, New Hampshire) bola upevnená na blokoch o rozmere 6.35 cm x 1.75 cm. Analóg teofilínu, ktorý je schopný sa hydrofóbne viazať na nitrocelulózu, bol pripravený kovalentným naviazaním teofilínu s normálnym králičím imunoglobulínm G nasledovným postupom: Roztok 8-(3-karboxipropyl)-1,3-dimetylxantinu (18 mg, 0.068 mM) v 2 ml tetrahydrofuránu a 1 ml dimetylformamidu reagoval s N-hydroxisukcinimidom (17 mg, 0.15 mM) a dicyklohexylkarbodiimidom (27 mg, 0.13 mM). Reakčná zmes sa nechá stáť pri izbovej teplote cez noc, potom sa ochladí v ľadničke počas

2 hodín, a potom sa prefiltruje cez sklenenú vatu. Kryštály z reakčnej zmesi sa premyjú tetrahydrofuránom a roztoky sa spoja. Rozpúšťadlá sa odstránia pod vákuom a zvyšok sa premyje s 3-4 ml dietyléteru na odstránenie karbodiimidu. Premytý zvyšok sa premyje 1 ml dimetylformamidu. Normálne králičie IgG (3.75 ml z roztoku 13.7 mg/ml) bolo nariedené vodou na 10 ml. Pomaly sa pridá aktívny ester N-hydroxisukcinimidu k roztoku imunoglobulínu G, potom sa pridá 10 μl trietylamínu. Reakčná zmes obsahuje asi 230 ekvivalentov aktívneho esteru na mol proteínu. Reakčná zmes sa nechá stáť v ľadničke 3 dni.

10 μl roztoku konjugátu teofilín-králičí IgG (1 mg/ml v 0.05 M fosfátovom pufri) bol rovnomerne nanesený pomocou Hamilton striekačky cez hornú oblasť membrán s dĺžkou 6.35 cm. Membrány boli vysušené počas 15 minút v dehydrátore, potom ponorené do roztoku blokovacieho proteínu (0.2 % bezlipidové sušené mlieko, 0.2 % Tween 20™) a znovu vysušené v priebehu 15 minút. Hornú časť membrány označuje čiara konjugátu teofilín-králičí imunoglubulín G. 0.635 cm prúžok membrány Ahlstrom Cytosep 799-13 (Ahlstrom Filtration) bol pripevnený na vrch membrány, kde pôsobil ako oblasť vodiča. Druhá páska vodiča, Ahlstrom 992, bola pripevnená na spodnú oblasť membrány. Bloky membrány boli potom prerezané na 0.635 cm prúžky a uskladnené v suchom stave.

Čo sa týka podložiek pre reakčné činidlá, tieto boli nastrihané na štvorce 0.635 cm x 0.635 cm (Lipore, Grade 9254 filter so sklenenými vláknami, Lydall Technical Papers, Rochester, New Hampshire). Na podložku pre prvé reakčné činidlo sa nanieslo 40 μl antiteofilínovej protilátky (murine monoklonálna protilátka, O.E.M. Concepts, Toms River, New Jersey) v koncentrácii 180 μg/ml v stabilizujúcom pufri (0.5 M Tris-HCl, pH 7.2, 0.1 % Tween-20™, 0.1 % Brij-35™, 1.0 % hoväzí sérum albumín), a podložka sa nechala vysušiť počas 2 hodín. Na podložku pre druhé reakčné činidlo sa nanieslo 20 μl pracovného roztoku konjugátu anti-teofilín-zlato (E.Y. Laboratories) za

použitia monoklonálnej anti-teofilínovej protilátky. Podložka pre druhé reakčné činidlo bola tiež vysušená počas 2 hodín.

Membránové prúžky boli pripevnené na podložku zariadenia tak, že čiara teofilín-králičí IgG bola viditeľná cez otvor zariadenia tak, ako ukazuje obrázok 23. Podložka pre prvé reakčné činidlo s obsahom teofilínovej protilátky bola umiestnená v hornej oblasti ľavej tretiny zariadenia, takže keď sa zavrie, bude sa dotýkať hornej oblasti vodiča na membráne, tak ako aplikátor 764 na obrázku 23. Podložka pre druhé reakčné činidlo s obsahom konjugátu anti-teofilín-zlato bola umiestnená v dolnej oblasti pravej tretiny zariadenia, takže sa bude dotýkať dolnej oblasti vodiča na membráne, podobne ako aplikátor 768 na obrázku 23. Ako absorbčná podložka sa použila membrána (Ahlstrom 270) v tvare štvorca 2 cm x 2 cm, ktorá bola umiestnená v hornej oblasti pravej tretiny zariadenia, takže pri prekrytí pravej tretiny cez stred sa vytvorí kontakt s hornou oblasťou vodiča.

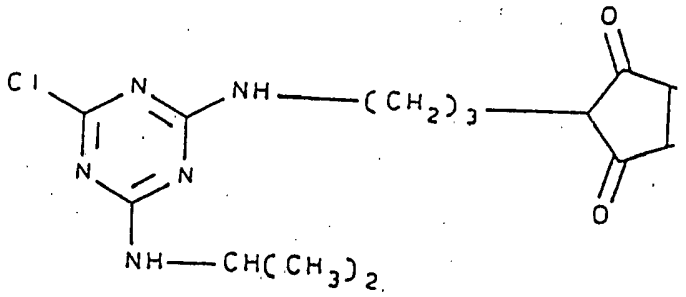
Príklad 4

Konjugát atrazínu s králičím a kozím imunoglobulínom G

Na demonštráciu možnosti spojenia hapténov s imunoglobulínom G, boli pripravené konjugáty atrazínu s králičím a kozím imunoglobulínom G. Pre tvorbu konjugátu s králičím imunoglobulínom G, reaguje králičí IgG (34.1 mg v 5 ml fosfátového soľného pufru) s 12 mg anhydridu tiolacetylsukcinu a 20 μl trietylamínu (približne 300 ekvivalentov anhydridu na mol proteínu). Roztok sa ponechal stáť v chladničke cez noc, a potom sa dialyzoval: raz oproti 2 litrom vody a 4 krát oproti 2 lit-

rom fosfátového soľného pufru. Pripravil sa roztok hydroxylamín hydrochloridu v koncentrácii 63 mg/ml. Ku králičiemu IgG, pripravenému ako hore, v 8 ml fosfátoveho soľného pufru sa pridalo 25 μl roztoku hydroxylamínu (3.3 mg, približne 200 ekvivalentov). Roztok sa ponechal stáť pri izbovej teplote 45 minút.

Derivát atrazínu (vzorec I dole), v ktorom je aktivovaná terminálna metylova skupina v substituente na dusíku, bol rozpustený v acetonitrile v koncentrácii 19.7 mg/ml. Časť tohoto roztoku (200 ekv., 16.6 mg, 844 μl) bola pridaná k roztoku králičieho IgG-tiol. Roztok sa nechal stáť cez noc pri izbovej teplote.



Podobný postup sa použil pre spojenie atrazínu s kozím imunoglobulínom G. Kozí IgG (7.8 mg v 1.5 ml fosfátového soľného pufru) reagoval s anhydridom tiolacetylsukcinu a 10 μl trietylamínu. Roztok sa nechal stáť v chladničke cez noc, a potom sa dialyzoval tak, ako pre králičie IgG. Dialyzovaný roztok kozieho IgG reagoval s 10 μl roztoku hydroxylamínu (0.75 mg, približne 200 ekv.). Roztok sa ponechal stáť pri izbovej teplote 45 minút. Druhá časť derivátu atrazínu (200 ekv., 3.8 mg, 190 μl) sa pridala k roztoku kozí IgG-tiol a nechala sa reagovať cez noc. Konjugát kozí IgG-atrazín bol imibilizovaný na polystyrénové mikrotitračné platničky a stanovenie pomocou ELISA ukázalo, že reakcia bola úspešná.

Príklad 5

Zariadenie na kompetitívne imunostanovenie pri použití značeného trojzložkového konjugátu

Podľa tohoto vynálezu bolo zhotovené zariadenie na kompetitívne imunostanovenie teofilínu pri použití značeného trojzložkového konjugátu. Zariadenie bolo dvojzložkové zariadenie s krytom, ktoré bolo podobné zariadeniu na obrázku 24 vyššie. Orientácie tu popísané sú v zmysle horizontálnej orientácie zariadenia tak, ako ukazuje príslušný obrázok.

Nitrocelulózova membrána, 12-mikrónov, od Schleicher a Schuell (Keene, New Hampshire) bola upevnená na blokoch o rozmere 6.35 cm x 1.75 cm. Blok z priehľadného plastiku bol umiestnený na zadnej strane adhezíva (3M). Monoklonálna antiteofilínová protilátka (viď príklad 4) vo fosfátovom soľnom pufri (10 μl) bola rovnomerne nanesená pomocou Hamilton striekačky cez hornú oblasť nitrocelulózovej membrány s dĺžkou 6.35 cm vo vzdialenosti 0.79 cm od označeného horného okraja. Kozí protikráličí IgG bol od Pel-Freez Biologicals (Rogers, Arkansas). Čistý IgG bol získaný zo séra precipitáciou pomocou kyseliny kaprylovej a síranu amónneho. Desať μl prečisteného kozieho anti-králičieho IgG (3.5 mg/ml vo fosfátovom soľnom pufri) sa nanieslo nad prvú čiaru antiteofilínovej protilátky, vo vzdialenosti 0.32 cm od horného okraja. Membrány boli vysušené počas 10 minút v dehydrátore, potom ponorené do roztoku blokovacieho proteínu (viď príklad 4) a znovu vysušené v priebehu 15 minút. 0.635 cm prúžok membrány, Ahlstrom 1281 (Ahlstrom Filtration), bol pripevnený na horný okraj membrány, kde pôsobil ako oblasť vodiča. Druhá páska vodiča, Ahlstrom 992, bola pripevnená na spodnú oblasť membrány. Bloky membrány boli potom prerezané na 0.635 cm prúžky.

Čo sa týka podložiek pre reakčné činidlá, membrána Ahlstrom 1281 bola nastrihaná na štvorce 0.635 cm x 0.635 cm. Na každý štvorec sa nanieslol vopred nariedenný konjugát teofilín-králičí IgG-zlato (E.Y. Laboratories). Štvorce sa sušili 2 hodiny. Prúžky membrány boli umiestnené v zariadení tak, že cez otvory bolo vidieť len hornú čiaru s anti-králičím IgG. Podložka pre reakčné činidlo bola umiestnená v dolnej oblasti ľavej tretiny zariadenia, takže keď sa prekryje cez stredný panel, vytvorí kontakt s dolnou oblasťou vodiča na membráne. Štvorec membrány 2 cm x 2 cm, Ahlstrom 270, bol umiestnený v hornej oblasti ľavej tretiny zariadenia, tesne nad otvorom, kde má funkciu absorbčnej podložky. Je umiestnená tak, aby pri zatvorení zariadenia bol vytvorený kontakt s oblasťou vodiča membrány.

Príklad 6

Dvojzložkové zariadenie pre kompetitívno-inhibičné imunostanovenie

Bolo vyhotovené dvojzložkové zariadenie, ktoré obsahuje prúžky nitrocelulózovej membrány, lepidlo a podložky pre reakčné činidlá boli ako v príklade 4 vyššie. Zariadenie bolo rovnaké ako zaznamenáva obrázok 27 vyššie. Orientácie tu popísané sú v zmysle horizontálnej orientácie zariadenia tak, ako ukazuje príslušný obrázok. Na nitrocelulózovej chromatografickej membráne boli imobilizované dve čiary. Prvá čiara obsahovala 10 μl afinitne prečisteného kozieho proti-myšieho IgG (O.E.M. Concepts) zriedeného v pufri (0.01 M fosfát, 3.0 % sacharóza, 0.5 % hovädzí sérum albumín, 0.5 % Tween-20™, 0.05 % azid sodný, pH 7.4). Druhá čiara obsahovala 10 μl konjugátu

teofilín-králičí IgG, ako v príklade 4, v 0.05 M fosfátovom pufri v množstve 1 μg/ml. Membrány boli vysušené v dehydrátore a namočené do roztoku s blokovacím proteínom (0.1 M Tris-HCl, 0.1 % BSA, pH 7.4) a potom opätovne vysušené. Na aplikátor na druhom protiľahlom komponente sa nanieslo 20 μl pracovného roztoku, ktorý sa skladal z murine monoklonálnej anti-teofilín protilátky (O.E.M. Concepts) konjugovanej s koloidným zlatom (E.Y. Laboratories), aplikátor sa potom sušil 2 hodiny.

Na stanovenie bol teofilín (Aldrich Chemical, Milwaukee, Wisconsin) rozpustený v metanole za vzniku zásobného roztoku a potom bol následne zriedený PBS pufrom alebo sérom. Vzorka (30 μl) sa pridala na aplikátor na druhom protiľahlom komponente a spôsobila resolubilizáciu konjugátu anti-teofilín-zlato. Po 1 minútovej inkubácii boli dva protiľahlé komponenty uvedené do protipostavenia a aplikátor sa dostal do kontaktu s dolným vodičom na testovacom prúžku. V priebehu 2 až 5 minút sa objavila detegovateľná čiara v zóne protilátky proti myšiemu IgG; bola to jediná čiara viditeľná cez otvor zariadenia. Možno detegovať také nízke koncentrácie ako 1 ppb teofilínu.

Príklad 7

Dvojzložkové zariadenie pre kompetitívne imunostanovenie so semikvantitatívnymi výsledkami

Dvojzložkové zariadenie pre kompetitívne imunostanovenie atrazinu bolo zhotovené podľa príkladu 6 s výnimkou, že detekčná zóna obsahovala tri čiary afinitne prečisteného kozieho proti-myšieho IgG (GAM) (O.E.M. Concepts) a čiaru konjugátu atrazin-kozí IgG (príklad 4). Najbližšia čiara na chromatogra-

fickom médiu ku konjugátu kozí IgG-atrazín obsahovala najviac zriedenú protilátku v koncentrácii 0.5 mg/ml; ďalšie dve čiary obsahovali viac koncentrovanú protilátku, každá v koncentrácii 1.0 mg/ml. Murine monoklonálna anti-atrazínová protilátka bola od Agri-Diagnostics (Cinnaminson, N.J.). Stabilizačný pufer, použitý na aplikáciu konjugátu anti-atrazin-zlato na druhý protiľahlý komponent, obsahoval 4 % sacharózu, 10 mM fosfát, 0.5 % hovädzí sérový albumín, 0.25 % Tween-20™, 0.05 % azid sodný, pH 7.4.

Na stanovenie bol atrazín (Supelco, Inc., Bellefonte, Pennsylvania) rozpustený ako štandarda v metanole a následne zriedený v deionizovanej vode, použil sa ako pracovná štandarda. Vzorka (30 μl) sa pridala na aplikátor na druhom protiľahlom komponente. Po 1 minútovej inkubácii boli dva protiľahlé komponenty uvedené do protipostavenia a nastala aplikácia vzorky a resolubilizovaného konjugátu anti-atrazín-zlato na chromatografické médium. V priebehu 3 minút dáva atrazín vo vzorke v koncentrácii od 1 do 10 ppb jednu čiaru na chromatografickom médiu; koncentráciu od 11 do 100 ppb indikujú dve čiary a koncentrácia od 101 do 1000 ppb dáva tri čiary.

Priemyselná využiteľnosť

Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa tohoto vynálezu má výhodu v tom, že je vyhotovené z protiľahlých komponentov. Používanie protiľahlých prvkov má veľkú mnohostrannosť, umožňuje priebeh reakcií s mnohymi rozdielnymi postupmi. Je to možné preto, lebo použitie týchto protiľahlých prvkov umožňuje dodanie reakčných činidiel na presne definované oblasti testovacích prúžkov, alebo iných reakčných zložiek.

Použitie protiľahlých prvkov poskytuje tiež optimálnu činnosť s minimálnou spotrebou reakčných činidiel a pri zabezpečení, že reakčné činidlá sa nestrácajú v mŕtvom objeme prístroja. Použitie protiľahlých komponentov poskytuje optimálnu kontrolu možnej kontaminácie krvných vzoriek ako napr. HIV alebo vírusom hepatitídy.

Iná výhoda zariadenia na stanovenie podľa tohoto vynálezu spočíva v tom, že zariadenie využíva tlak na pohyb kvapaliny z jedného protiľahlého komponentu na druhý protiľahlý komponent cez chromatografické médium a to cez kontrolu tlaku, ktorý možno nastaviť na optimálne hodnoty pre jednotlivé stanovenia. Toto urýchľuje proces stanovenia a umožňuje vo vnútri zariadenia na stanovenie také operácie, ako je extrakcia. Redukuje mŕtvy objem reakčných činidiel, ktorý zostáva v komponentoch, čo umožňuje požitie menších vzoriek a menších množstiev drahých a ťažko prečisťovaných reakčných činidiel, akými sú značené protilátky.

Naviac, zariadenie na chromatografické zariadenie podľa tohoto vynálezu umožňuje rýchlu a presnú detekciu klinicky dôležitých analyzátov, ako antigénov Streptococcus A a B, hemoglobínu na stanovenie okultného krvácania v stolici a protilátok voči Helicobacter pylori, rovnako ako klinicky dôležitých hapténov. Vyhotovenia zariadení umožňujú rovnomernejšiu aplikáciu vzorky na chromatografické médium a zníženie interferencie, ktorá môže byť spôsobená časticami, alebo farebnosťou vzoriek. Použitie koloidných kovových značiek v resolubilizovateľnej forme poskytuje výnimočne rýchle kinetiky značenia a umožní vytvorenie stabilných kompletných binárnych komplexov analyzát-značka predtým, ako je vzorka nanesená na chromatografické médium. Toto napomáha pri oddelení kontaminátorov a zlepšuje výsledok stanovenia. Vyhotovenie a usporiadanie zariadenia pomáha priebehu stanovenia zabezpečením odňatia

nadbytku vzorky s obsahom imunoglobulínu, čo inak môže spôsobovať interferenciu.

Extrakcia biologických vzoriek ako krv, sérum, alebo stolica, môže prebiehať priamo v zariadení, čím sa redukuje množstvo odpadového kontaminovaného materiálu a redukuje sa aj pravdepodobnosť náhodnej infekcie lekárov, laborantov, alebo verejnosti takýmto kontaminovaným materiálom. Naviac, zariadenie je schopné vykonávať dvojsmernú chromatografiu a tak ďalej zvyšovať presnosť a znižovať interferenciu. Testovacie metódy používané v zariadeniach podľa tohoto vynálezu predstavujú široký dynamický rozsah a sú v podstate bez falošných negatívnych výsledkov, ktoré sa môžu vyskytovať pri iných testovacích metódach a vysokých koncentráciách analyzátu.

Hoci tento vynález bol popísaný s pozoruhodnou podrobnosťou, s odvolaním sa na jeho určité výhodné vyhotovenia, sú možné aj iné verzie a vyhotovenia. Tieto verzie majú iné usporiadanie dvoj- alebo troj- zložkových zariadení, ktoré sú založené na tu popísaných základných princípoch, a ktoré používajú čokoľvek: (a) in situ extrakcia vzorky; (b) resolubilizácia značenej špecifickej väzobnej látky a rýchla väzba na analyzát; a (c) také usporiadanie chromatografického média a absorbentu, ktoré odstraňuje nadbytok vzorky, ktorá môže inak spôsobiť interferenciu. Tieto verzie obsahujú zariadenia na stanovenie adaptované na kompetitívne imunostanovenie, rovnako ako na sendvičové imunostanovenie v rôznych vyhotoveniach. Obzvlášť, zariadenie podľa tohoto vynálezu môže byť adaptované na použitie radiálneho alebo obvodového prietoku cez chromatografické médium namiesto lineárneho prietoku. Tento vynález ďalej rozširujú variácie, v ktorých dva alebo tri komponenty zariadenia nie sú permanentne v pevnom usporiadaní, ale môžu byť oddelené a spojené pomocou elektrickej, alebo magnetickej sily, alebo použitím upevňujúcich pásiek z materiálu ako napr.

Velcro™. Rozsah vynálezu je determinovaný nasledujúcimi nárokmi.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktoré sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom;

(ii) podložky pre aplikáciu prvého detektora, ktorá je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média, podložka pre aplikáciu prvého detektora obsahuje najmenej jedno reakčné činidlo na detekciu analyzátu;

(iii) vodiča, ktorý umožňuje prietok kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s podložkou pre aplikáciu prvého detektora a v nepriamom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(iv) absorbenta na absorbciu kvapaliny, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média; a

(b) z druhého protiľahlého komponentu s obsahom preparačnej zóny pre vzorku, kde sa aplikuje vzorka, ktorá má byť testovaná; druhý protiľahlý komponent je pripojený k prvému protiľahlému komponentu tak, že keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, kvapalina je prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; kde prvý a druhý protiľahlý komponent sú umiestnené tak, že vzorka môže byť nanesená na preparačnú zónu pre vzorku na druhom protiľahlom komponente keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení tak, že uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia vedie k tomu, že preparačná zóna pre vzorku je v kontakte s vodičom a nastane aplikácia testovanej vzorky na vodič, prietok vzorky cez vodič a potom na prvý koniec chromatografického média cez podložku pre aplikáciu prvého detektora, kde sa pridá reakčné činidlo na detekciu analyzátu vo vzorke, prietoku z vodiča cez podložku pre aplikáciu prvého detektora smerom k prvému koncu chromato-

grafického média napomáha absorbcia kvapaliny absorbentom.

2. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 1, kde preparačná zóna pre vzorku na druhom protiľahlom komponente obsahuje najmenej jedno reakčné činidlo pre pôsobenie na vzorku.

3. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 1, kde podložka pre aplikáciu prvého detektora na prvom protiľahlom komponente obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát vo forme, že môže byť resolubilizovaná po pridaní vodného roztoku na podložku pre aplikáciu prvého detektora, prvá špecifická väzobná látka je značená detekčnou značkou a chromatografické médium sa ďalej skladá z detekčnej zóny, ktorá má významne menšiu plochu ako je plocha chromatografického média, detekčná zóna obsahuje väzobnú látku špecifickú pre analyzát, ktorý je na ňu imobilizovaný; keď je analyzát prítomný vo vzorke, vytvorí sa v detekčnej zóne terciálny komplex, ktorý je tvorený prvou špecifickou väzobnou látkou, analyzátom a druhou špecifickou väzobnou látkou.

4. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 1, kde prvý a druhý protiľahlý komponent sú spojené pántom, ktorý je nepriepustný pre vodné roztoky.

5. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 1; a

(b) špecifickú väzobnú látku pre analyzát označenú detegovateľnou značkou, ktorá je aplikovaná na podložku pre aplikáciu prvého detektora.

6. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 3; a

(b) vodný roztok na resolubilizáciu prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát označenú detegovateľnou značkou, ktorá je aplikovaná na podložku pre aplikáciu prvého detektora.

7. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vodnej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vodného roztoku vzorky na preparačnú zónu pre vzorku na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 3, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) následne po nanesení vzorky, uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia spôsobí, že vzorka obsahuje vodný roztok na resolubilizáciu značenej špecifickej väzobnej látky na podložke pre aplikáciu prvého detektora, a že vzorka a resolubilizovaná špecifická väzobná látka sú aplikované na vodič na prvom protiľahlom komponente;

(c) potom sa umožní vzorke a značenej špecifickej väzobnej látke sa pohybovať od podložky pre aplikáciu prvého detektora cez najmenej časť chromatografického média tak, že značená špecifická väzobná látka dáva detegovateľnú indikáciu prítonosti a/alebo množstva analyzátu v testovanej vzorke väzbou na chromatografické médium, prietoku cez chromatografické médium napomáha absorbcia kvapaliny absorbentom; a

(d) z pozorovania a/alebo merania značenej špecifickej

väzobnej látky naviazanej najmenej na časť chromatografického média v zmysle detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

8. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 3, kde druhý protiľahlý komponent ďalej obsahuje podložku pre aplikáciu druhého detektora, ktorý je v operačnom kontakte s preparačnou zónou pre vzorku, podložka pre aplikáciu druhého detektora obsahuje druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát vo forme, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní vzorky do preparačnej zóny pre vzorku; druhá značená špecifická väzobná látka je označená detegovateľným označením, podložka pre aplikáciu druhého detektora je umiestnená tesne pri preparačnej zóne pre vzorku na druhom protiľahlom komponente a aplikácia vzorky do preparačnej zóny pre vzorku resolubilizuje druhú značenú špecifickú väzobnú látku tak, že preparačná zóna pre vzorku obsahuje zmes vzorky a druhej značenej špecifickej väzobnej látky.

9. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 8, kde preparačná zóna pre vzorku na druhom protiľahlom komponente obsahuje najmenej jedno reakčné činidlo vhodné na spracovanie vzorky.

10. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 8, kde prvá a druhá špecifická väzobná látka pre analyzát na podložkách pre aplikáciu prvého a druhého detektora sú identické a detegovateľné značky, označenie prvej a druhej špecifickej väzobnej látky je identické.

11. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa

nároku 10, kde identické detegovateľné značky sú vizuálne detegovateľné značky.

12. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 8, kde chromatografické médium na prvom protiľahlom komponente ďalej obsahuje detekčnú zónu, ktorá je plochou podstatne menšia ako plocha chromatografického média, detekčná zóna obsahuje tretiu špecifickú väzobnú látku pre analyzát, ktorá je tam imobilizovaná tak, že trojzložkový komplex sa skladá: (1) buď z prvej alebo druhej špecifickej väzobnej látky; (2) analyzátu; a (3) imobilizovanej tretej špecifickej väzobnej látky; keď je analyzát prítomný vo vzorke, tak sa v detekčnej zóne sa vytvorí komplex .

13. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 8; a

(b) vodný roztok na resolubilizáciu najmenej jednej, buď prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát, alebo druhej špecifickej väzobnej látky pre analyzát, vodný roztok sa aplikuje najmenej na jednu podložku pre aplikáciu prvého detektora na prvom protiľahlom komponente a podložku pre aplikáciu druhého detektora na druhom protiľahlom komponente.

14. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vodnej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na preparačnú zónu pre vzorku na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 8, kde prvý a druhý protiľahlý kom -

ponent nie sú v protipostavení;

(b) následne po nanesení vzorky sa uvedie prvý a druhý protiľahý komponet zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia tak, že:

(i) preparačná zóna pre vzorku na druhom protiľahlom komponente aplikuje zmes vzorky a druhej špecifickej väzobnej látky na vodič na prvom protiľahlom komponente;

(ii) zmes vzorky a druhej špecifickej väzobnej látky preteká cez vodič a dosiahne podložku pre aplikáciu prvého detektora na prvom protiľahlom komponente; a

(iii) zmes vzorky a druhej špecifickej väzobnej látky sa potom aplikuje na podložku pre aplikáciu prvého detektora, kde nastane resolubilizácia prvej špecifickej väzobnej látky za vzniku zmesi vzorky, prvej špecifickej väzobnej látky a druhej špecifickej väzobnej látky; a

(c) potom sa ponechá zmes vzorky, prvej značenej špecifickej väzobnej látky a druhej značenej špecifickej väzobnej látky pretekať smerom od podložky pre aplikáciu prvého detektora cez najmenej časť chromatografického média tak, že najmenej jedna z prvej a druhej značenej špecifickej väzobnej látky dáva detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu v testovanej vzorke pomocou väzby na chromatografické médium, prietoku cez chromatografické médium napomáha absorbcia kvapaliny pomocou absorbentu; a

(d) pozorovanie a/alebo meranie najmenej jednej, buď prvej alebo druhej špecifickej väzobnej látky naviazanej najmenej na časť chromatografického média za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

15. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorý sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom; a

(ii) vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(b) druhého protiľahlého komponentu pripojeného na prvý protiľahlý komponent tak, že keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje absorbent na absorbciu kvapaliny, absorbent je oddelený od preparačnej zóny pre vzorku na druhom protiľahlom komponente; a

(c) preparačná zóna pre vzorku príjma vzorku, ktorá má byť stanovená, preparačná zóna pre vzorku je umiestnená buď na prvom protiľahlom komponente, alebo na druhom protiľahlom komponente; prvý a druhý protiľahlý komponent sú v takej polohe, že vzorka môže byť nanesená na preparačnú zónu pre vzorku keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení; uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí, že vzorka, ktorá má byť testovaná, je aplikovaná na vodič a preteká cez vodič a potom cez prvý koniec chromatografického média; absorbent sa dostane do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média, čo umožní odstránenie kvapaliny z druhého konca chromatografického média a pomáha kvapaline pretekať cez chromatografické médium z prvého konca na druhý koniec.

16. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 15, kde preparačná zóna pre vzorku je na druhom protiľahlom komponente, absorbent je na druhom protiľahlom komponente a je oddelený od preparačnej zóny pre vzorku.

17. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 15, kde preparačná zóna pre vzorku je na prvom protiľahlom komponente a je umiestnená tak, že vodič je v operačnom kontakte s preparačnou zónou pre vzorku a vodič tak vytvára premostenie medzi preparačnou zónou pre vzorku a chromatografickým médiom a umožňuje tým prietok kvapaliny od preparačnej zóny pre vzorku cez vodič a cez prvý koniec chromatografického média; druhý protiľahlý komponent ďalej obsahuje aplikátor pre aplikáciu kvapaliny na preparačnú zónu pre vzorku na prvom protiľahlom komponente keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení, aplikátor obsahuje špecifickú väzobnú látku pre analyzát označenú detegovateľnou značkou vo forme, že môže byť resolubilizovaná po pridaní vodného roztoku na aplikátor.

18. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorý sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom; a

(ii) vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(b) druhého protiľahlého komponentu, ktorý je pripojený na prvý protiľahlý komponent tak, že po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje:

(i) prvý aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na vodič, ktorý sa nachádza na prvom protiľahlom komponente, keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, prvý aplikátor obsahuje podložku pre aplikáciu vzorky, ktorá príjme vzorku keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie

sú v protipostavení;

(ii) druhý aplikátor, ktorý je oddelený na druhom protiľahlom komponente od prvého aplikátora, ktorý aplikuje kvapalinu na vodič na prvom protiľahlom komponente keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, druhý aplikátor obsahuje podložku pre aplikáciu detektora, na ktorú sa aplikuje najmenej jedno detekčné činidlo pre analyzát; a

(iii) absorbent na absorbciu kvapaliny, ktorý je oddelený na druhom protiľahlom komponente od prvého aplikátora a druhého aplikátora, prvý aplikátor a druhý aplikátor sú umiestnené na druhom protiľahlom komponente tak, že nie sú v operačnom kontakte navzájom medzi sebou keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, absorbent je umiestnený na druhom protiľahlom komponente tak, že je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia; uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí, že vodič na prvom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s prvým aplikátorom a druhým protiľahlým komponentom, čo spôsobí operačný kontakt vodiča s druhým aplikátorom, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente a obsah podložky pre aplikáciu vzorky a obsah podložky pre aplikáciu detektora sú aplikované na vodič na prvom protiľahlom komponente a pretekajú cez chromatografické médium.

19. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 19, kde podložka pre aplikáciu detektora na druhom protiľahlom komponente obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodnej kvapaliny na podložku pre aplikáciu detektora, prvá špecifická väzobná látka je označená dekovateľnou značkou; chromatografické médium na prvom protiľahlom komponente ďalej obsahuje detekčnú zónu, ktorá má podstatne menšiu plochu ako je plocha

chromatografického média, detekčná zóna obsahuje imobilizovanú druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, keď je analyzát prítomný, vytvorí sa v detekčnej zóne terciálny komplex, ktorý sa skladá z prvej špecifickej väzobnej látky, analyzátu a druhej špecifickej väzobnej látky.

20. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 17; a

(b) špecifickú väzobnú látku pre analyzát označenú detegovateľnou značkou, táto je aplikovaná na druhý aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente.

21. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 19; a

(b) vodný roztok na resolubilizáciu špecifickej väzobnej látky pre analyzát označenú detegovateľnou značkou, tento je aplikovaný na podložku pre aplikáciu detektora, ktorá sa nachádza na druhom protiľahlom komponente.

22. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vodnej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na podložku pre aplikáciu vzorky, ktorá sa nachádza na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 19, keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) následne po nanesení vzorky sa uvedie prvý a druhý protiľahý komponet zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia tak, že:

(i) vzorka obsahuje vodnú kvapalinu, ktorá resolubilizuje špecifickú väzobnú látku na podložke pre aplikáciu detektora, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente;

(ii) vzorka a resolubilizovaná značená špecifická väzobná látka sú aplikované na prvý koniec chromatografického média ako výsledok kontaktu medzi podložkou pre aplikáciu vzorky a vodičom na prvom protiľahlom komponente a kontaktu medzi podložkou pre aplikáciu detektora a vodičom; a

(iii) absorbent, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente sa uvedie do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média na prvom protiľahlom komponente, čím napomáha pohybu kvapaliny smerom od podložky pre aplikáciu vzorky a podložky pre aplikáciu detektora cez chromatografické médium;

(c) potom sa ponechá vzorka a značená špecifická väzobná látka prechádzať najmenej cez časť chromatografického média, značená špecifická väzobná látka väzbou na chromatografické médium dáva detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu;

(d) pozorovanie a/alebo meranie značenej špecifickej väzobnej látky naviazanej najmenej na časť chromatografického média za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

23. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorý sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom; a

(ii) vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a

ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(iii) podložky pre aplikáciu detektora, ktorá obsahuje najmenej jedno reakčné činidlo na detekciu analyzátu, a ktorá je v priamom kontakte s vodičom, a je umiestnená na prvom protiľahlom komponente tak, že je v nepriamom kontakte s prvým koncom chromatografického média;

(b) druhého protiľahlého komponentu pripojeného na prvý protiľahlý komponent tak, že po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje:

(i) podložku pre aplikáciu vzorky, kde sa aplikuje vzorka; a

(ii) absorbent na absorbciu kvapaliny, absorbent je oddelený od podložky pre aplikáciu vzorky na druhom protiľahlom komponente; keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v takom postavení, že vzorka môže byť aplikovaná na podložku pre aplikáciu vzorky na druhom protiľahlom komponente, t.j. keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení; uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí:

(1) podložka pre aplikáciu vzorky na druhom protiľahlom komponente aplikuje vzorku na podložku pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente, a tak na prvý koniec chromatografického média cez vodič na prvom protiľahlom komponente, ktorý je v priamom kontakte s podložkou pre aplikáciu detektora; a

(2) absorbent na druhom protiľahlom komponente, ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média, ktoré sa nachádza na prvom protiľahlom komponente, napomáha prietoku cez vodič a chromatografické médium absorbciou kvapaliny.

24. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 23, kde podložka pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodnej kvapaliny na podložku pre aplikáciu detektora, prvá špecifická väzobná látka je označená degovateľnou značkou; chromatografické médium na prvom protiľahlom komponente ďalej obsahuje detekčnú zónu, ktorá má podstatne menšiu plochu ako je plocha chromatografického média, detekčná zóna obsahuje imobilizovanú druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, keď je analyzát prítomný, vytvorí sa v detekčnej zóne terciálny komplex, ktorý sa skladá z prvej špecifickej väzobnej látky, analyzátu a druhej špecifickej väzobnej látky.

25. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 24, kde obsah podložky pre aplikáciu vzorky, ktorá sa nachádza na druhom protiľahlom komponente, je po aplikácii vzorky tvorený vodnou kvapalinou, vodná kvapalina aplikovaná na podložku pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente je tvorená obsahom podložky pre aplikáciu vzorky.

26. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 24; a

(b) špecifickú väzobnú látku pre analyzát označenú detegovateľnou značkou, ktorá sa aplikuje na podložku pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente.

27. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu

vo vodnej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na preparačnú zónu pre vzorku na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 24, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) následne po nanesení vzorky sa uvedie prvý a druhý protiľahý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia tak, že:

(i) vzorka obsahuje vodný roztok, ktorý resolubilizuje špecifickú väzobnú látku na podložke pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente;

(ii) vzorka a resolubilizovaná druhá špecifická väzobná látka sú aplikované na chromatografické médium prechodom cez vodič ako výsledok kontaktu medzi podložkou pre aplikáciu vzorky a podložkou pre aplikáciu detektora; a

(iii) absorbent na druhom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média na prvom protiľahlom komponente a tým napomáha prietoku od podložky pre aplikáciu vzorky a podložky pre aplikáciu detektora cez chromatografické médium;

(c) potom sa ponechá zmes vzorky a značenej špecifickej väzobnej látky pretekať najmenej cez časť chromatografického média tak, že značená špecifická väzobná látka dáva detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu v testovanej vzorke pomocou väzby na chromatografické médium; a

(d) pozorovanie a/alebo meranie špecifickej väzobnej látky naviazanej najmenej na časť chromatografického média za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

28. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 23, kde podložka pre aplikáciu detektora je v priamom kontakte s prvým koncom chromatografického média, uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia

spôsobí, že podložka pre aplikáciu detektora sa dostane do kontaktu s podložkou pre aplikáciu vzorky s výnimkou oblasti podložky pre aplikáciu detektora priamo pripojenej na prvý koniec chromatografického média a nastane prenos kvapaliny z podložky pre aplikáciu vzorky na podložku pre aplikáciu detektora, čím sa minimalizuje prenos kvapaliny z podložky pre aplikáciu vzorky priamo na chromatografické médium.

29. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 28, kde podložka pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na podložku pre aplikáciu detektora, prvá špecifická väzobná látka je označená detegovateľnou značkou a chromatografické médium na prvom protiľahlom komponente ďalej obsahuje detekčnú zónu, ktorá je podstatne menšia ako je plocha chromatografického média, detekčná zóna obsahuje imobilizovanú druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, keď je analyzát prítomný, vytvorí sa v detekčnej zóne terciálny komplex, ktorý sa skladá z prvej špecifickej väzobnej látky, analyzátu a druhej špecifickej väzobnej látky.

30. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 28; a

(b) špecifickú väzobnú látku pre analyzát, označenú detegovateľnou značkou, ktorá je aplikovaná na podložku pre aplikáciu detektora,podložka pre aplikáciu detektora sa nachádza na prvom protiľahlom komponente.

31. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vodnej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na podložku pre aplikáciu vzorky na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 29, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) následne po nanesení vzorky sa uvedie prvý a druhý protiľahý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia tak, že:

(i) vzorka obsahuje vodný roztok resolubilizujúci špecifickú väzobnú látku, ktorá je na podložke pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente;

(ii) vzorka a resolubilizovaná špecifická väzobná látka sú aplikované na prvý koniec chromatografického média ako výsledok kontaktu medzi podložkou pre aplikáciu vzorky na druhom protiľahlom komponente a podložkou pre aplikáciu detektora na prvom protiľahlom komponente; a

(iii) absorbent na druhom protiľahlom komponente sa uvedie do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média na prvom protiľahlom komponente a tým napomáha prietoku od podložky pre aplikáciu vzorky a podložky pre aplikáciu detektora cez chromatografické médium;

(c) potom sa ponechá vzorka a značená špecifická väzobná látka pretekať najmenej cez časť chromatografického média tak, že značená špecifická väzobná látka dáva detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu v testovanej vzorke pomocou väzby na chromatografické médium; a

(d) pozorovanie a/alebo meranie značenej špecifickej väzobnej látky naviazanej najmenej na časť chromatografického média za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

32. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorý sa

skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom; a

(ii) vodiča, umiestneného na prvom protiľahlom komponente, a ktorý umožňuje prechod kvapaliny; a

(b) z druhého protiľahlého komponentu pripojeného na prvý protiľahlý komponent tak, že keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia kvapalina je prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje:

(i) prvý aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na vodič na prvom protiľahlom komponente keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, vodič je umiestnený tak, že nie je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(ii) druhý aplikátor, ktorý je oddelený na druhom protiľahlom komponente od prvého aplikátora, ktorý aplikuje kvapalinu na vodič na prvom protiľahlom komponente keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia; a

(iii) absorbent na absorbciu kvapaliny, ktorý je oddelený na druhom protiľahlom komponente od prvého a druhého aplikátora, prvý a druhý aplikátor sú umiestnené na druhom protiľahlom komponente tak, že nie sú v operačnom kontakte navzájom medzi sebou keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení; uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí:

(1) že vodič na prvom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s prvým aplikátorom, vodič sa dostane do operačného kontaktu s druhým aplikátorom a druhý aplikátor sa dostane do operačného kontaktu s prvým koncom chromatografického média a dôjde k aplikácii obsahu prvého a druhého aplikátora na chromatografické médium; a

(2) že absorbent na druhom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média tak, že absorbcia kvapaliny absorbentom napomáha pohybu kvapaliny z prvého a druhého aplikátora cez vodič a cez chromatografické médium.

33. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 32, kde prvý aplikátor na druhom protiľahlom komponente obsahuje podložku pre aplikáciu vzorky, kde sa aplikuje vzorka keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení a druhý aplikátor na druhom protiľahlom komponente tvorí podložku pre aplikáciu detektora, na ktorú môže byť aplikované najmenej jedno detekčné činidlo keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, obsahy podložky pre aplikáciu vzorky a podložky pre aplikáciu detektora sú aplikované na chromatografické médium cez vodič.

34. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 33, kde podložka pre aplikáciu detektora na druhom protiľahlom komponente obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodného roztoku na podložku pre aplikáciu detektora, prvá špecifická väzobná látka je označená detegovateľnou značkou, chromatografické médium na prvom protiľahlom komponente ďalej obsahuje detekčnú zónu, ktorá má podstatne menšiu plochu ako je plocha chromatografického média, detekčná zóna obsahuje špecifickú väzobnú látku pre imobilizovaný analyzát, takže v prítomnosti analyzátu vo vzorke sa vytvorí terciálny komplex s obsahom prvej špecifickej väzobnej látky, analyzátu a druhej špecifickej väzobnej látky.

35. Testovacia súprava na detekciu a/alebo sta -

novenie analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 32; a

(b) špecifickú väzobnú látku pre analyzát, označenú detegovateľnou značkou, ktorá je aplikovaná na druhý aplikátor na druhom protiľahlom komponente.

36. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vodnej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na prvý aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 33, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) následne po nanesení vzorky sa uvedie prvý a druhý protiľahý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia tak, že:

(i) vzorka s obsahom vodného roztoku resolubilizuje značenú špecifickú väzobnú látku na podložke pre aplikáciu detektora, ktorý je na prvom protiľahlom komponente;

(ii) vzorka a resolubilizovaná špecifická väzobná látka sú aplikované na prvý koniec chromatografického média cez vodič na prvom protiľahlom komponente; a

(iii) absorbent na druhom protiľahlom komponente sa uvedie do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média a absorbent tým napomáha prietoku od podložky pre aplikáciu vzorky a podložky pre aplikáciu detektora cez vodič a chromatografické médium;

(c) potom sa ponechá vzorka a značená špecifická väzobná látka pretekať najmenej cez časť chromatografického média tak, že značená špecifická väzobná látka dáva detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu pomocou väzby na chromatografické médium; a

(d) pozorovanie a/alebo meranie značenej špecifickej väzobnej látky naviazanej najmenej na časť chromatografického média za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

37. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vzorke, ktorý sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom; a

(ii) vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(iii) absorbentu, ktorý absorbuje kvapalinu, a je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média; a

(b) druhého protiľahlého komponentu pripojeného na prvý protiľahlý komponent tak, že keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na vodič na prvom protiľahlom komponente, keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia; aplikátor je rozdelený na dve časti:

(i) prvá časť obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní kvapaliny na aplikátor keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, prvá špecifická väzobná látka je označená detegovateľnou značkou; a

(ii) druhá časť, ktorá neobsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát; keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia dostane sa prvá časť, ale nie druhá časť aplikátora na druhom protiľahlom komponente do priameho kontaktu s vodičom na prvom protiľahlom komponente,

druhá časť aplikátora je v nepriamom kontakte s vodičom cez prvú časť, obsah prvej časti aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium a obsah druhej časti aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium, absorbent odoberá kvapalinu z chromatografického média a napomáha prietoku kvapaliny smerom od aplikátora cez vodič a chromatografické médium.

38. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 37, kde chromatografické médium, ktoré sa nachádza na prvom protiľahlom komponente ďalej obsahuje detekčnú zónu, ktorá je podstatne menšia ako plocha chromatografického média, detekčná zóna obsahuje imobilizovanú druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, keď je analyzát prítomný vo vzorke vytvorí sa v detekčnej zóne terciálny komplex, ktorý je tvorený prvou špecifickou väzobnou látkou, analyzátom a druhou špecifickou väzobnou látkou.

39. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na aplikátor na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 37, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, vzorka je aplikovaná na obe, prvú a druhú časť aplikátora;

(b) následne po nanesení vzorky sa uvedie prvý a druhý protiľahý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protiľahlého postavenia tak, že:

(i) vzorka, ktorá je aplikovaná na prvú časť aplikátora na druhom protiľahlom komponente obsahuje vodnú kvapalinu, ktorá resolubilizuje značenú špecifickú väzobnú látku na prvej časti aplikátora;

(ii) vzorka a resolubilizovaná špecifická väzobná

látka, ktoré sú prítomné v prvej časti aplikátora, sú aplikované na prvý koniec chromatografického média cez vodič na prvom protiľahlom komponente; a

(iii) následne po aplikácii vzorky a resolubilizovanej značenej špecifickej väzobnej látky z prvej časti aplikátora na prvý koniec chromatografického média, vzorka prítomná v druhej časti aplikátora je aplikovaná na prvý koniec chromatografického média cez vodič;

(c) potom sa ponechá vzorka a značená špecifická väzobná látka pretekať z prvej časti aplikátora, následne z druhej časti aplikátora, najmenej cez časť chromatografického média tak, že značka značenej špecifickej väzobnej látky dáva detegovateľnú indikáciu prítomnosti a/alebo množstva analyzátu pomocou väzby na chromatografické médium a vzorka z druhej časti aplikátora vymyje časť značenej špecifickej väzobnej látky nenaviazanej na analyzát aspoň z časti chromatografického média, prietoku kvapaliny cez chromatografické médium napomáha odstránenie kvapaliny z chromatografického média pomocou absorbentu; a

(d) pozorovanie a/alebo meranie značky naviazanej najmenej na časť chromatografického média za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

40. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vzorke kompetitívnym imunostanovením, ktoré sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom, a ktoré má v ohraničenej ploche imobilizovaý analyzát, alebo jeho imunologický analóg, táto plocha je podstatne menšia ako je plocha chromatografického média;

(ii) prvého vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny,

a ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(iii) druhého vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média;

(b) druhého protiľahlého komponentu pripojeného na prvý protiľahlý komponent tak, že po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje prvý aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na prvý vodič na prvom protiľahlom komponente keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, prvý aplikátor obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní prvej vodnej kvapaliny na prvý aplikátor;

(c) tretí protiľahlý komponent pripojený na prvý protiľahlý komponent tak, že po uvedení prvého a tretieho protiľahlého komponentu do protipostavenia dôjde k prenosu kvapaliny z tretieho protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent, tretí protiľahlý komponent obsahuje:

(i) druhý aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na druhý vodič na prvom protiľahlom komponente keď prvý a tretí protiľahlý komponent sú v protipostavení, druhý aplikátor obsahuje druhú špecifickú väzobnú látku pre analyzát, ktorá môže byť resolubilizovaná po pridaní druhého vodného roztoku na druhý aplikátor, druhá špecifická väzobná látka je označená detegovateľnou značkou; a

(ii) absorbent, ktorý absorbuje kvapalinu; absorbent je na treťom protiľahlom komponente oddelený od druhého aplikátora; keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia dostane sa prvý vodič na prvom protiľahlom komponente do operačného kontaktu s prvým aplikátorom na druhom protiľahlom komponente, takže obsah prvého aplikátora je nanesený na chromatografické médium cez prvý vodič a prechádza

najmenej cez časť chromatografického média; keď sú prvý a tretí protiľahlý komponent v protipostavení dostane sa absorbent na treťom protiľahlom komponente do operačného kontaktu s prvým vodičom na prvom protiľahlom komponente a tým odstraňuje kvapalinu z chromatografického média cez prvý vodič a spôsobí, že druhý aplikátor na treťom protiľahlom komponente sa dostane do kontaktu s druhým vodičom na prvom protiľahlom komponente a obsah druhého aplikátora je nanesený na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média, obsah prvého aplikátora je nanesený na chromatografické médium keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v kontakte s chromatografickým médiom.

41. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 40, kde prvá a druhá špecifická väzobná látka sú obe protilátkami špecifickými pre analyzát.

42. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 40, kde imobilizovaný analyzát, alebo jeho analóg je analyzát kovalentne naviazaný na proteín, ktorý nemá špecifickú väzobnú aktivitu pre analyzát.

43. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 40; a

(b) druhý vodný roztok na resolubilizáciu druhej špecifickej väzobnej látky pre analyzát, ktorá sa nachádza na druhom aplikátore, ktorý je na treťom protiľahlom komponente.

44. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na prvý aplikátor na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 40, kde prvý protiľahlý komponent nie je v protipostavení ani s druhým protiľahlým komponentom a ani s tretím protiľahlým komponentom, vzorka obsahuje prvú vodnú kvapalinu:

(b) nanesenie rekonštitučnej kvapaliny na druhý aplikátor, ktorý sa nachádza na treťom protiľahlom komponente keď prvý a tretí protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, rekonštitučná kvapalina obsahuje druhú vodnú kvapalinu;

(c) následne po aplikácii vzorky uvedenie prvého a druhého protiľahlého komponentu chromatografického zariadenia na stanovenie do protipostavenia vedie k aplikácii vzorky a resolubilizovanej prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát na prvý vodič a potom na prvý koniec chromatografického média ako výsledok kontaktu medzi prvým aplikátorom a prvým vodičom;

(d) potom sa ponechá vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka pretekať najmenej cez časť chromatografického média;

(e) rozpojenie prvého a druhého protiľahlého komponentu tak, že už nie sú v protipostavení;

(f) uvedenie prvého a tretieho protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí, že resolubilizovaná značená špecifická väzobná látka je aplikovaná na druhý vodič, ktorý sa nachádza na prvom protiľahlom komponente, a potom na druhý koniec chromatografického média pomocou kontaktu medzi druhým aplikátorom a druhým vodičom; absorbent na treťom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom, čo napomáha prietoku kvapaliny od druhého aplikátora cez chromatografické médium;

(g) potom sa ponechá resolubilizovaná značená druhá špecifická väzobná látka pretekať najmenej cez časť chroma -

tografického média premývajúc časť chromatografického média, cez ktoré prešla vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka, takže keď je analyzát prítomný vo vzorke, značená druhá špecifická väzobná látka sa naviaže na imobilizovaný analyzát alebo jeho imunologický analóg v ohraničenej ploche; a

(h) pozorovanie a/alebo meranie značenej druhej špecifickej väzobnej látky naviazanej v ohraničenej ploche za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

45. Metóda podľa nároku 44 ďalej obsahuje krok inkubácie zariadenia na chromatografické stanovenie, ktorý nasleduje po nanesení vzorky na prvý aplikátor na druhom protiľahlom komponente, inkubácia je potrebná na vyvolanie reakcie medzi analyzátom a prvou špecifickou väzobnou látkou.

46. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie prvej rekonštitučnej kvapaliny na prvý aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 40, kde prvý protiľahlý komponent nie je v protipostavení ani s druhým protiľahlým komponentom a ani s tretím protiľahlým komponentom;

(b) aplikácie vzorky na prvý aplikátor chromatografického média podľa nároku 40, kde prvý protiľahlý komponent nie je v protipostavení ani s druhým protiľahlým komponentom a ani s tretím protiľahlým komponentom, kombinácia prvej rekonštitučnej kvapaliny so vzorkou s obsahom prvej vodnej kvapaliny;

(c) aplikácie druhej rekonštitučnej kvapaliny na druhý aplikátor, ktorý sa nachádza na treťom protiľahlom komponente, keď prvý a tretí protiľahlý komponent nie sú v protipostavení,

druhá rekonštitučná kvapalina obsahuje druhú vodnú kvapalinu;

(d) následne po nanesení vzorky a uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu chromatografického zariadenia na stanovenie do protipostavenia dôjde k aplikácii vzorky a resolubilizovanej prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát na prvý vodič a potom na prvý koniec chromatografického média ako výsledok kontaktu medzi prvým aplikátorom a prvým vodičom;

(e) potom sa ponechá vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka pretekať najmenej cez časť chromatografického média;

(f) rozpojenie prvého a druhého protiľahlého komponentu tak, že už nie sú v protipostavení;

(g) uvedenie prvého a tretieho protiľahlého komponentu do protipostavenia spôsobí, že resolubilizovaná značená druhá špecifická väzobná látka je aplikovaná na druhý vodič, ktorý sa nachádza na prvom protiľahlom komponenete a potom na druhý koniec chromatografického média pomocou kontaktu medzi druhým aplikátorom a druhým vodičom; absorbent na treťom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom, čo napomáha prietoku kvapaliny od druhého aplikátora na chromatografické médium;

(h) potom sa ponechá resolubilizovaná značená druhá špecifická väzobná látka pretekať najmenej cez časť chromatografického média, ktoré prekrýva časť chromatografického média, cez ktoré prešla vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka, takže keď je analyzát prítomný vo vzorke, značená druhá špecifická väzobná látka viaže analyzát alebo jeho imunologický analóg imobilizovaný v ohraničenej ploche; a

(i) pozorovanie a/alebo meranie druhej špecifickej väzobnej látky naviazanej v ohraničenej ploche za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

47. Metóda podľa nároku 46 ďalej obsahuje krok inkubácie zariadenia na chromatografické stanovenie, ktorý nasleduje po nanesení vzorky na prvý aplikátor, aplikátor sa nachádza na druhom protiľahlom komponente; inkubácia umožňuje vyvolanie reakcie medzi analyzátom a prvou špecifickou väzobnou látkou.

48. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vzorke kompetitívnym imunostanovením, ktoré sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom; obsahuje imobilizované a od seba oddelené ohraničené plochy, ktoré sa navzájom neprekrývajú, každá plocha je podstatne menšia ako je plocha chromatografického média; jednotlivé ohraničené plochy obsahujú:

(A) špecifickú väzobnú látku pre analyzát; a

(B) druhú špecifickú väzobnú látku, druhá špecifická väzobná látka je schopná sa viazať na člena špecifického väzobného páru, ktorému chýba afinita pre analyzát, druhá špecifická väzobná látka sa nachádza bližšie k prvému koncu chromatografického média ako špecifická väzobná látka pre analyzát;

(ii) prvého vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(iii) druhého vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média; a

(b) druhého protiľahlého komponentu pripojeného na prvý protiľahlý komponent tak, že po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent;

druhý protiľahlý komponent obsahuje:

(i) aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na druhý vodič keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia, aplikátor obsahuje analóg analyzátu, analóg analyzátu obsahuje analyzát kovalentne naviazaný na člena špecifického väzobného páru, ktorému chýba afinita pre analyzát, a schopného sa viazať na druhú špecifickú väzobnú látku, člen špecifického väzobného páru je označený detegovateľnou značkou, analóg analyzátu je v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodnej kvapaliny na aplikátor; a

(ii) absorbent, ktorý absorbuje kvapalinu; absorbent je na druhom protiľahlom komponente oddelený od aplikátora; keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia dostane sa druhý vodič do operačného kontaktu s aplikátorom, takže obsah aplikátora je nanesený na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média; absorbent sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom a tým dôjde k odstráneniu kvapaliny z chromatografického média.

49. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 48 ďalej obsahuje kryt, tesne pripojený na prvý protiľahlý komponent, ktorý môže byť prekrytý cez prvý a druhý protiľahlý komponent keď sú tieto v protipostavení, kryt má otvor, ktorý umožňuje pohľad najmenej na časť chromatografického média keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení a kryt prekrýva prvý a druhý protiľahlý komponent.

50. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 48, kde prvá špecifická väzobná látka je protilátkou voči analyzátu a druhá špecifická väzobná látka je druhá protilátka, ktorá je schopná sa viazať na protilátku bez špecificity pre analyzát.

51. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 48, kde analóg analyzátu obsahuje analyzát kovalentne naviazaný na imunoglobulín.

52. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 48, kde plocha druhej špecifickej väzobnej látky imobilizovanej na chromatografické médium je rozdelená najmenej na dva malé prúžky, ktoré sa navzájom neprekrývajú, množstvo druhej špecifickej väzobnej látky v každom prúžku je stanovené pomocou väzby analógu analyzátu na detekčnú zónu a koncentrácia analyzátu v testovanej vzorke je indikovaná počtom prúžkov na ktoré sa analóg analyzátu viaže.

53. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 48; a

(b) vodný roztok na resolubilizáciu analógu analyzátu, ktorý sa aplikuje na aplikátor na druhom protiľahlom komponente.

54. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie rekonštitučnej kvapaliny na aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 48, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, rekonštitučná kvapalina obsahuje vodnú kvapalinu na rekonštitúciu druhej špecifickej väzobnej látky;

(b) aplikácie vzorky na prvý vodič, ktorý sa nachádza na prvom protiľahlom komponente chromatografického média, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(c) pohybu vzorky najmenej cez časť chromatografického média, vrátane prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát, ktorá je imobilizovaná v ohraničenej ploche chromatografického média;

(d) uvedenia prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia čo spôsobí aplikáciu resolubilizovanej značenej druhej špecifickej väzobnej látky na druhý vodič a potom na druhý koniec chromatografického média ako výsledok kontaktu medzi prvým aplikátorom a druhým vodičom;

(e) potom sa ponechá resolubilizovaný značený analóg analyzátu pretekať najmenej cez časť chromatografického média, prechádza cez časť chromatografického média, cez ktorú prechádza vzorka, vrátane oboch ohraničených plôch s imobilizovanými reakčnými činidlami; keď je analyzát prítomný v testovanej vzorke, značený analóg analyzátu sa naviaže na druhú špecifickú väzobnú látku; a

(f) pozorovania a/alebo merania značeného analógu analyzátu, naviazaného v ohraničenej ploche s imobilizovanou druhou špecifickou väzobnou látkou, za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

55. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie rekonštitučnej kvapaliny na aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 52, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, rekonštitučná kvapalina obsahuje vodnú kvapalinu na rekonštitúciu druhej špecifickej väzobnej látky;

(b) aplikácie vzorky na prvý vodič, ktorý sa nachádza na prvom protiľahlom komponente chromatografického média, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(c) pohybu vzorky najmenej cez časť chromatografického média, vrátane prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát, ktorá je imobilizovaná v ohraničenej ploche chromatografického média;

(d) uvedenia prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia čo spôsobí aplikáciu resolubilizovanej značenej druhej špecifickej väzobnej látky na druhý vodič a potom na druhý koniec chromatografického média ako výsledok kontaktu medzi prvým aplikátorom a druhým vodičom;

(e) potom sa ponechá resolubilizovaný značený analóg analyzátu pretekať najmenej cez časť chromatografického média, prechádza cez časť chromatografického média, cez ktorú prechádza vzorka, vrátane oboch ohraničených plôch s imobilizovanými reakčnými činidlami; keď je analyzát prítomný v testovanej vzorke, značený analóg analyzátu sa naviaže na druhú špecifickú väzobnú látku; a

(f) pozorovania a/alebo merania značeného analógu analyzátu v dvoch alebo viacerých prúžkoch vo vnútri ohraničenej plochy s imobilizovanou druhou špecifickou väzobnou látkou za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu; počet prúžkov, na ktoré je analóg analyzátu naviazaný stúpa so zvyšujúcou sa koncentráciou analyzátu.

56. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 48, kde prvý vodič je schopný mať funkciu prvého aplikátora, aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente je potom druhým aplikátorom, zariadenie ďalej obsahuje tretí protiľahlý komponent vrátane druhého absorbentu na absorbciu kvapaliny; keď prvý a tretí protiľahlý komponent sú v protipostavení, dôjde k priamemu kontaktu medzi druhým

absorbentom a prvým vodičom a chromatografickým médium, čím nastane odvádzanie kvapaliny z chromatografického média cez prvý vodič.

57. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na prvý vodič, ktorý sa nachádza na prvom protiľahlom komponente zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 56, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) aplikácie rekonštitučnej kvapaliny na druhý aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente chromatografického média, na resolubilizáciu značeného analógu analyzátu na druhom aplikátore;

(c) pohybu vzorky najmenej cez časť chromatografického média, vrátane prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát a druhej špecifickej väzobnej látky, ktoré sú imobilizované v ohraničenej ploche chromatografického média;

(d) uvedenia prvého a tretieho protiľahlého komponentu do protipostavenia čo spôsobí, že druhý absorbent na treťom protiľahlom komponente sa dostane do priameho kontaktu s prvým vodičom a s chromatografickým médiom na prvom protiľahlom komponenete, čím dôjde k odoberaniu kvapaliny ako výsledok kontaktu medzi aplikátorom a prvým vodičom a medzi aplikátorom a chromatografickým médiom;

(e) potom sa uvedú druhý a prvý protiľahlý komponent do protipostavenia, druhý aplikátor na druhom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s prvým vodičom na prvom protiľahlom komponente a prvý absorbent na druhom protiľahlom komponente sa dostane do operačného kontaktu s druhým vodičom na prvom protiľahlom komponente a dôjde k aplikácii resolubilizovaného značeného analógu analyzátu na prvý vodič a

potom na prvý koniec chromatografického média ako výsledok kontaktu medzi druhým aplikátorom a prvým vodičom a medzi prvým absorbentom a druhým vodičom; a

(f) potom sa umožní resolubilizovanému značenému analógu analyzátu prechádzať najmenej cez časť chromatografického média vrátane väzobnej látky pre analyzát a druhej špecifickej väzobnej látky; a

(g) pozorovania a/alebo merania značeného analógu analyzátu naviazaného na druhú špecifickú väzobnú látku, za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

58. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vzorke kompetitívnym imunostanovením, ktoré sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom, a ktoré obsahuje imobilizované, od seba oddelené, ohraničené plochy, ktoré sa navzájom neprekrývajú, každá plocha je podstatne menšia ako je plocha chromatografického média, jednotlivé ohraničené plochy obsahujú:

(A) látku, ktorá je schopná špecificky viazať biotín vybraný zo skupiny avidín, streptavidín, anti-biotín protilátka a ich derivátov; a

(B) druhú špecifickú väzobnú látku, ktorá je schopná viazať trojzložkový komplex, trojzložkový komplex je tvorený: (1) analyzátom, (2) členom špecifického väzobného páru, ktorému chýba afinita pre analyzát, člen je kovalentne konjugovaný na analyzát; (3) detegovateľnou značkou naviazanou na člena špecifického väzobného páru;

(ii) prvého vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(iii) druhého vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média; a

(b) druhého protiľahlého komponentu, ktorý je pripojený na prvý protiľahlý komponent tak, že po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje prvý aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na prvý vodič, ktorý obsahuje prvú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodnej vzorky na prvý aplikátor, prvá špecifická väzobná látka je kovalentne naviazaná na biotín, prvá špecifická väzobná látka nie je schopná sa viazať na druhú špecifickú väzobnú látku; a

(c) tretí protiľahlý komponent pripojený na prvý protiľahlý komponent tak, že keď prvý a tretí protiľahlý komponent sú uvedené do protipostavenia je kvapalina prenesená z tretieho protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent, tretí protiľahlý komponent obsahuje:

(i) druhý aplikátor, ktorý aplikuje kvapalinu na druhý vodič, druhý aplikátor obsahuje trojzložkový komplex, komplex môže byť v resolubilizovateľnej forme po pridaní druhej vodnej kvapaliny na druhý aplikátor; a

(ii) absorbent na obsorbciu kvapaliny, absorbent je na treťom protiľahlom komponente oddelený od druhého aplikátora; keď prvý a druhý protiľahlý komponent sú v protipostavení dostáva sa prvý vodič do operačného kontaktu s prvým aplikátorom a obsah prvého aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média; a kde prvý a tretí protiľahlý komponent po uvedení do protipostavenia vyvolajú kontakt absorbentu s prvým vodičom na odstránenie kvapaliny z chromatografického média, druhý aplikátor sa dostane do operačného kontaktu s druhým vodičom, takže obsah druhého aplikátora je aplikovaný na chromatografické

médium a prechádza nejmenej cez časť chromatografického média premývajúc časť, cez ktorú prešiel obsah prvého aplikátora.

59. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 58, kde prvá špecifická väzobná látka je protilátka voči analyzátu.

60. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 59, kde člen špecifického väzobného páru v trojzložkovom komplexe je králičí imunoglobulín G a druhou špecifickou väzobnou látkou je kozí anti-králičí IgG.

61. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 58, kde látka schopná špecificky viazať biotín je streptavidín.

62. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 58, kde plocha druhej špecifickej väzobnej látky imobilizovanej na chromatografické médium je rozdelená najmenej na dve malé, navzájom sa neprekrývajúce prúžky, množstvo druhej špecifickej väzobnej látky v každom prúžku je stanovené pomocou väzby trojzložkového komplexu na detekčnú zónu a koncentrácia pôvodného analyzátu v testovanej vzorke je indikovaná počtom prúžkov, na ktoré sa viaže trojzložkový komplex.

63. Testovacia súprava na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vzorke, ktorá obsahuje v oddelených kontajneroch:

(a) zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 58; a

(b) druhý vodný roztok, na resolubilizáciu trojzložkového komplexu, vodný roztok sa aplikuje na druhý aplikátor, ktorý sa nachádza na treťom protiľahlom komponente.

64. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na prvý aplikátor zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 58, kde vzorka obsahuje prvú vodnú kvapalinu, keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) aplikácie rekonštitučnej kvapaliny na druhý aplikátor, rekonštitučná kvapalina obsahuje druhú vodnú kvapalinu, keď prvý a tretí protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(c) následne po nanesení vzorky sa uvedú prvý a druhý protiľahlý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protipostavenia a vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka pre analyzát sú aplikované na prvý koniec chromatografického média cez prvý vodič;

(d) potom sa ponechá vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka prechádzať najmenej cez časť chromatografického média;

(e) potom sa oddelia prvý a druhý protiľahlý komponent od seba tak, že tieto už nie sú v protipostavení; a

(f) potom sa uvedú prvý a tretí protiľahlý komponent do protipostavenia a resolubilizovaný trojzložkový komplex je aplikovaný na druhý koniec chromatografického média cez druhý vodič a absorbent odstraňuje kvapalinu z chromatografického média;

(g) potom sa ponechá resolubilizovaný trojzložkový komplex prechádzať najmenej cez časť chromatografického média

premývajúc časť chromatografického média, cez ktorú prešli vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka; v prítomnosti analyzátu v testovanej vzorke sa trojzložkový komplex naviaže na druhú špecifickú väzobnú látku imobilizovanú v druhej ohraničenej ploche; a

(h) pozorovania a/alebo merania značenej špecifickej väzobnej látky naviazanej na druhú ohraničenú plochu, za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

65. Metóda podľa nároku 64 ďalej obsahuje krok inkubácie zariadenia na chromatografické stanovenie, tento krok nasleduje po nanesení vzorky na prvý aplikátor, ktorý je na druhom protiľahlom komponente, a spôsobí vyvolanie reakcie medzi analyzátom a prvou špecifickou väzobnou látkou.

66. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie prvej rekonštitučnej kvapaliny na prvý aplikátor zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 58, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) aplikácie vzorky na prvý aplikátor zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 58, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, kombinácia prvej rekonštitučnej kvapaliny a vzorky s obsahom prvej vodnej kvapaliny;

(c) aplikácie druhej rekonštitučnej kvapaliny na druhý aplikátor, druhá rekonštitučná kvapalina obsahuje druhú vodnú kvapalinu, keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(d) následnej aplikácie vzorky, uvedenie prvého a druhého protiľahlého kompnentu zariadenia na chromatografické stanovenie do protipostavenia spôsobí aplikáciu vzorky a resolubilizovanej prvej špecifickej väzobnej látky pre analyzát na prvý koniec chromatografického média cez prvý vodič;

(e) potom sa ponechá vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka pretekať najmenej cez časť chromatografického média;

(f) potom sa oddelia prvý a druhý protiľahlý komponent od seba tak, že už nie sú v protipostavení; a

(g) potom sa uvedú prvý a tretí protiľahlý komponent do protipostavenia a resolubilizovaný trojzložkový komplex je aplikovaný na druhý koniec chromatografického média cez druhý vodič a absorbent odstraňuje kvapalinu z chromatografického média;

(h) potom sa ponechá resolubilizovaný trojzložkový komplex prechádzať najmenej cez časť chromatografického média premývajúc časť chromatografického média, cez ktorú prešli vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka; keď je analyzát prítomný v testovanej vzorke, naviaže sa trojzložkový komplex na druhú špecifickú väzobnú látku imobilizovanú v druhej ohraničenej ploche; a

(i) potom pozorovania a/alebo merania značenej špecifickej väzobnej látky naviazanej na druhú ohraničenú plochu, za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

67. Metóda podľa nároku 66 ďalej obsahuje krok inkubácie zariadenia na chromatografické stanovenie, tento krok nasleduje po nanesení vzorky na prvý aplikátor, ktorý sa nachádza na druhom protiľahlom komponente, inkubácia sa použije s cieľom vyvolať reakciu medzi analyzátom a prvou špecifickou väzobnou látkou.

68. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na prvý aplikátor zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 62, kde vzorka obsahuje prvú vodnú kvapalinu, keď prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(b) aplikácie rekonštitučnej kvapaliny na druhý aplikátor, rekonštitučná kvapalina obsahuje druhú vodnú kvapalinu, keď prvý a tretí protiľahlý komponent nie sú v protipostavení;

(c) následne po nanesení vzorky sa uvedú prvý a druhý protiľahlý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protipostavenia a vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka pre analyzát sú aplikované na prvý koniec chromatografického média cez prvý vodič;

(d) potom sa ponechá vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka prechádzať najmenej cez časť chromatografického média;

(e) potom sa oddelia prvý a druhý protiľahlý komponent od seba tak, že už nie sú v protipostavení;

(f) potom sa uvedú prvý a tretí protiľahlý komponent do protipostavenia a resolubilizovaný trojzložkový komplex je aplikovaný na druhý koniec chromatografického média cez druhý vodič a absorbent odstraňuje kvapalinu z chromatografického média;

(g) potom sa ponechá resolubilizovaný trojzložkový komplex prechádzať najmenej cez časť chromatografického média premývajúc časť chromatografického média, cez ktorú prešli vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka; keď je analyzát prítomný v testovanej vzorke naviaže sa trojzložkový komplex na druhú špecifickú väzobnú látku imobilizovanú v druhej ohraničenej ploche; a

(h) pozorovania a/alebo merania značeného analógu analyzátu naviazaného na dva alebo viac prúžkov v druhej

ohraničenej ploche, ktorá obsahuje imobilizovanú druhú špecifickú väzobnú látku, za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu, počet prúžkov, na ktoré sa viaže analóg analyzátu sa zvyšuje s koncentráciou analyzátu.

69. Zariadenie na chromatografické stanovenie na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vzorke kompetitívnym imunostanovením, ktoré sa skladá:

(a) z prvého protiľahlého komponentu s obsahom:

(i) chromatografického média s prvým a druhým koncom, a ktoré obsahuje imobilizované, od seba oddelené, ohraničené plochy, ktoré sa navzájom neprekrývajú, každá plocha je podstatne menšia ako je plocha chromatografického média, jednotlivé ohraničené plochy obsahujú:

(A) analóg analyzát, ktorý je schopný špecificky viazať špecifickú väzobnú látku pre analyzát; a

(B) druhú špecifickú väzobnú látku, ktorá je schopná viazať člena špecifického väzobného páru pre analyzát, samotná druhá špecifická väzobná látka nemá väzobnú afinitu pre analyzát; a

(ii) vodiča, ktorý umožňuje prechod kvapaliny, a ktorý je v operačnom kontakte s prvým koncom chromatografického média; a

(b) druhého protiľahlého komponentu pripojeného na prvý protiľahlý komponent tak, že po uvedení prvého a druhého protiľahlého komponentu do protipostavenia je kvapalina prenesená z druhého protiľahlého komponentu na prvý protiľahlý komponent; druhý protiľahlý komponent obsahuje aplikátor, ktorý obsahuje značenú špecifickú väzobnú látku pre analyzát v resolubilizovateľnej forme po pridaní vodnej vzorky na aplikátor; prvý a druhý protiľahlý komponent po uvedení do protipostavenia spôsobia operačný kontakt medzi vodičom a aplikátorom a obsah

aplikátora je aplikovaný na chromatografické médium a prechádza najmenej cez časť chromatografického média.

70. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 69, kde prvá špecifická látka je protilátka špecifická pre analyzát.

71. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 69, kde analóg analyzátu obsahuje analyzát kovalentne naviazaný na proteín, ktorý nemá špecifickú väzobnú afinitu voči analyzátu alebo voči špecifickej väzobnej látke pre analyzát.

72. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 70, kde druhá špecifická látka viaže protilátku špecifickú pre analyzát na základe druhovej špecificity, ktorá neobsahuje antigén viažuce miesto protilátky voči analyzátu.

73. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 69, kde prvý protiľahlý kmponent ďalej obsahuje absorbent, ktorý absorbuje kvapalinu, a ktorý je v operačnom kontakte s druhým koncom chromatografického média, a napomáha prechodu kvapaliny cez chromatografické médium.

74. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 69, kde druhý protiľahlý komponent ďalej obsahuje absorbent, ktorý absorbuje kvapalinu, a ktorý je oddelený od aplikátora, absorbent je umiestnený na druhom protiľahlom komponente tak, že keď sú prvý a druhý protiľahlý komponent v protiposta-

vení, dostane sa absorbent do operačného kontaktu s druhým koncom chromatografického média a napomáha tak prechodu kvapaliny cez chromatografické médium.

75. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nároku 69, kde plocha druhej špecifickej väzobnej látky imobilizovanej na chromatografickom médiu je rozdelená na dve ohraničené plochy, ktoré sa navzájom neprekrývajú, množstvo druhej špecifickej väzobnej látky v každom prúžku je stanovené pomocou množstva naviazanej značenej špecifickej látky pre analyzát v detekčnej zóne a množstvo analyzátu v testovanej vzorke je indikované počtom prúžkov, na ktoré je značená špecifická väzobná látka naviazaná.

76. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na aplikátor zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 69, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, vzorka obsahuje vodnú kvapalinu;

(b) následne po nanesení vzorky sa uvedú prvý a druhý protiľahlý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protipostavenia a vzorka a resolubilizovaná prvá špecifická väzobná látka pre analyzát sú aplikované na prvý koniec chromatografického média cez prvý vodič;

(c) potom sa ponechá vzorka a resolubilizovaná značená špecifická väzobná látka prechádzať najmenej cez časť chromatografického média; je to časť, ktorá obsahuje oddelené, navzájom sa neprekrývajúce plochy analógu analyzátu a druhú špecifickú väzobnú látku; a

(d) pozorovania a/alebo merania značenej špecifickej väzobnej látky naviazanej na ohraničenú plochu špecifickej väzobnej látky, za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu.

77. Metóda na detekciu a/alebo stanovenie imunologicky monovalentného analyzátu vo vodnej testovanej vzorke, ktorá sa skladá z krokov:

(a) aplikácie vzorky na aplikátor zariadenia na chromatografické stanovenie podľa nároku 75, kde prvý a druhý protiľahlý komponent nie sú v protipostavení, vzorka obsahuje vodnú kvapalinu;

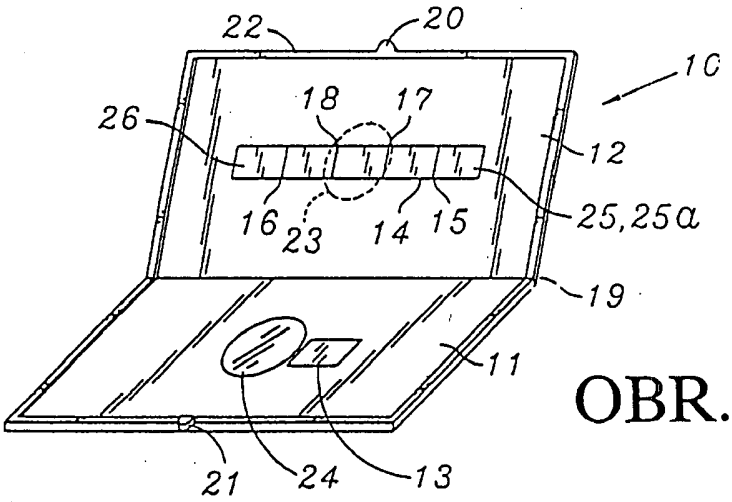
(b) následne po nanesení vzorky sa uvedú prvý a druhý protiľahlý komponent zariadenia na chromatografické stanovenie do protipostavenia a vzorka a resolubilizovaná značená špecifická väzobná látka pre analyzát sú aplikované na prvý koniec chromatografického média cez prvý vodič;

(c) potom sa ponechá vzorka a resolubilizovaná značená špecifická väzobná látka prechádzať najmenej cez časť chromatografického média; je to časť, ktorá obsahuje oddelené, navzájom sa neprekrývajúce plochy analógu analyzátu a druhú špecifickú väzobnú látku; a

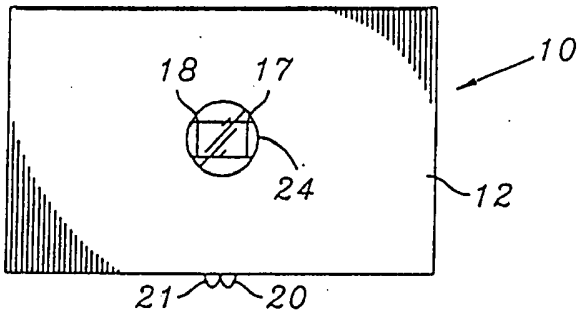
(d) pozorovania a/alebo merania značenej špecifickej väzobnej látky naviazanej na dva alebo viac prúžkov v ohraničenej ploche, ktorá obsahuje imobilizovanú špecifickú väzobnú látku, za účelom detekcie a/alebo stanovenia analyzátu, počet prúžkov, na ktoré je značený analóg analyzátu naviazaný sa zvyšuje s koncentráciou analyzátu.

78. Zariadenie na chromatografické stanovenie podľa nárokov 4, 19, 34, 38, 40, 48, 56, 58, alebo 69, kde detegovateľná značka je vizuálne detegovateľná značka.

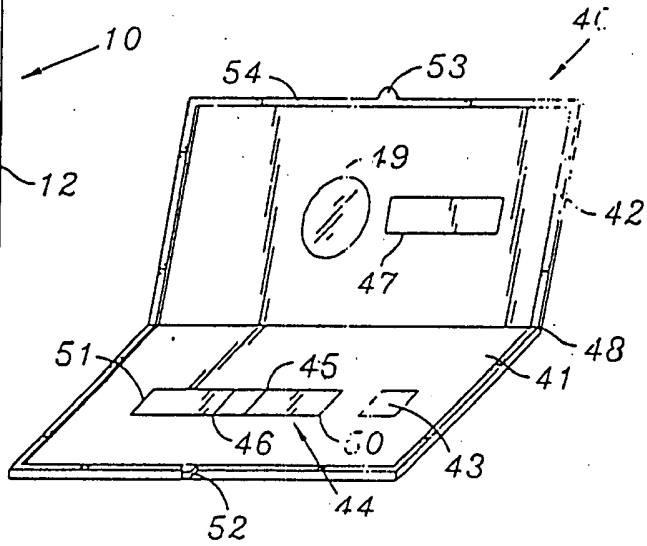
PV 1227-95



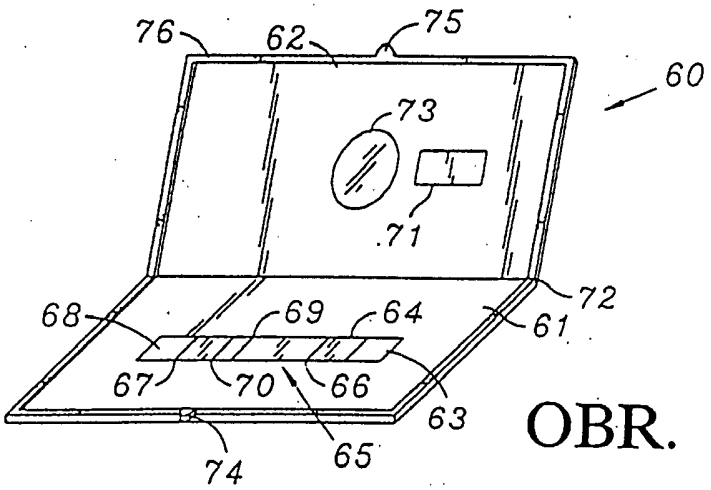
OBR. 1A



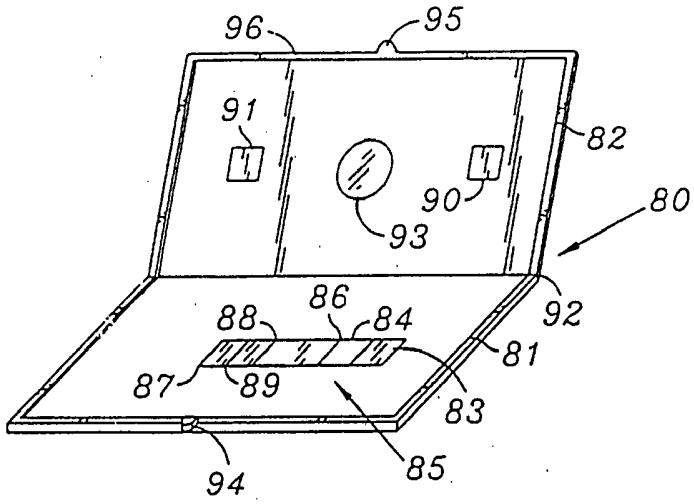
OBR. 1B



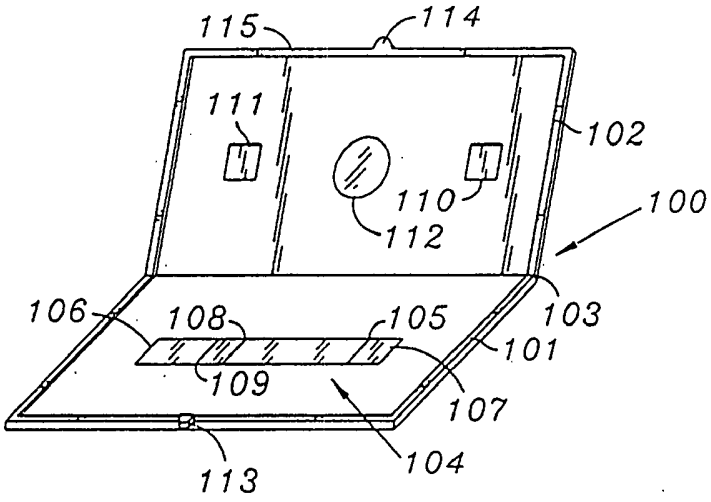
OBR. 2



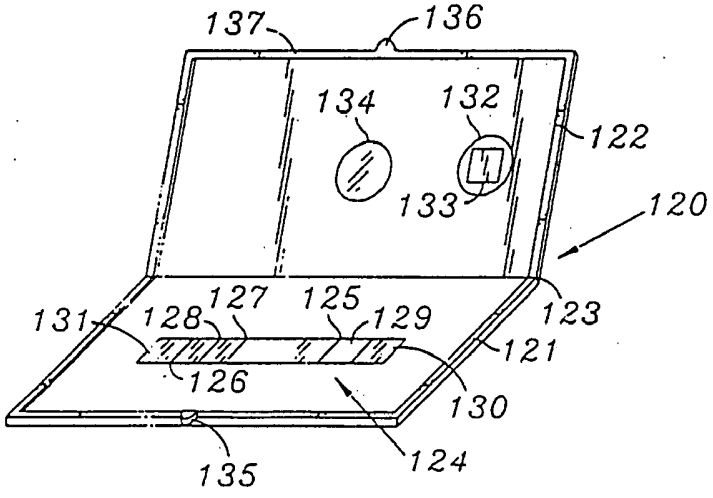
OBR. 3



OBR. 4

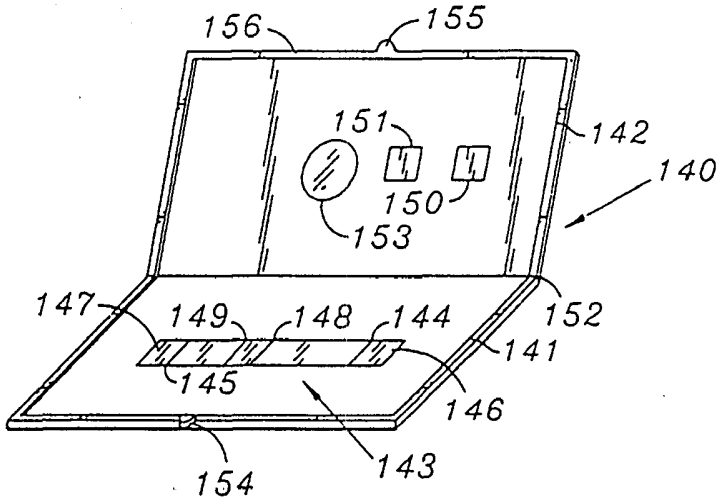


OBR. 5

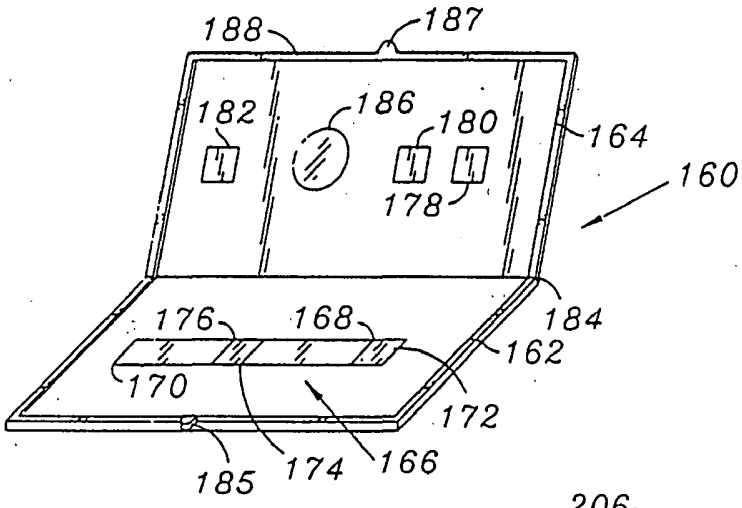


OBR. 6

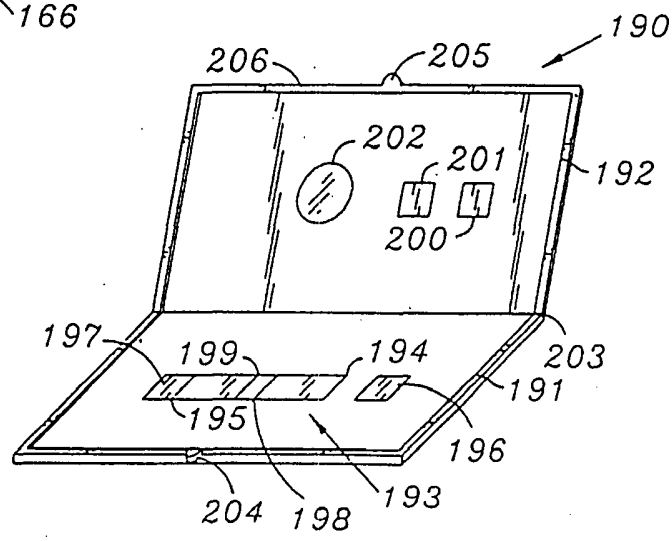
PV 1227-95



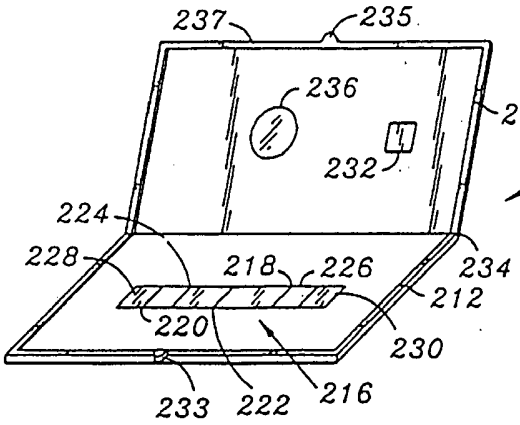
OBR. 7



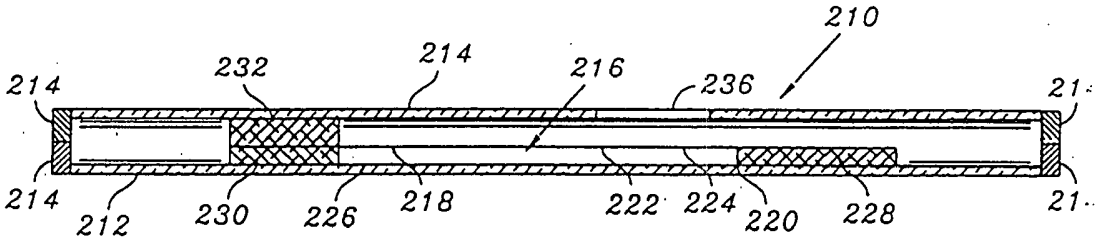
OBR. 8



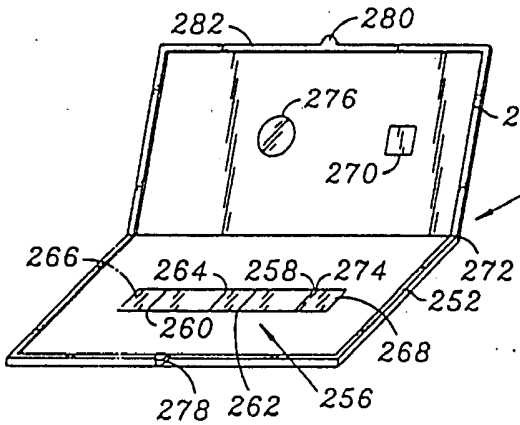
OBR. 9



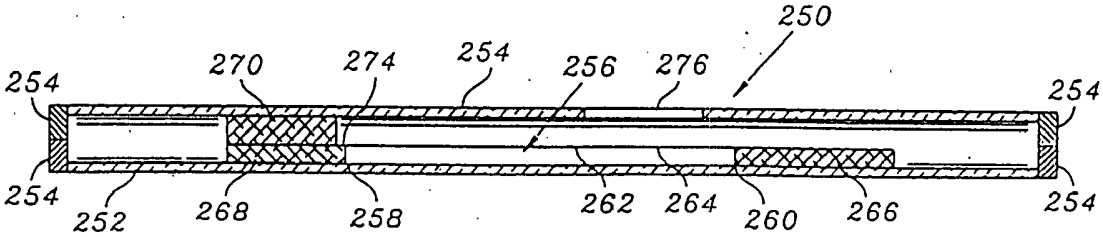
OBR. *10A*



OBR. *10B*

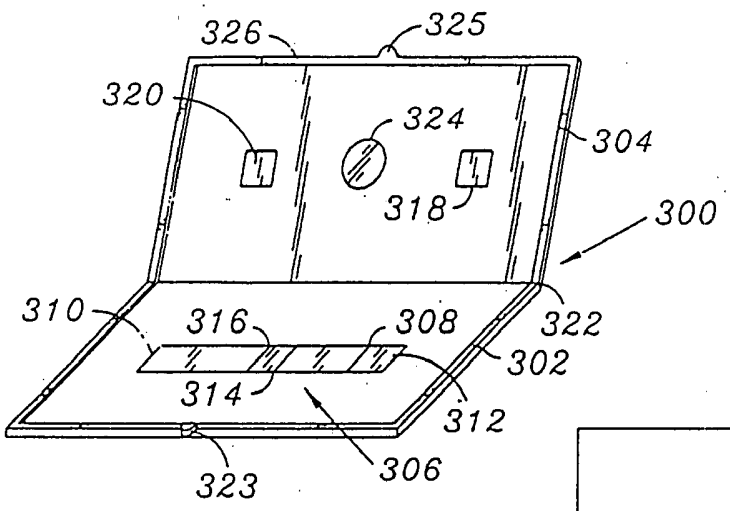


OBR. *11A*

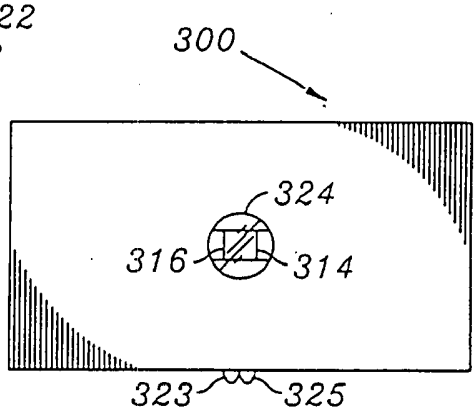


OBR. *11B*

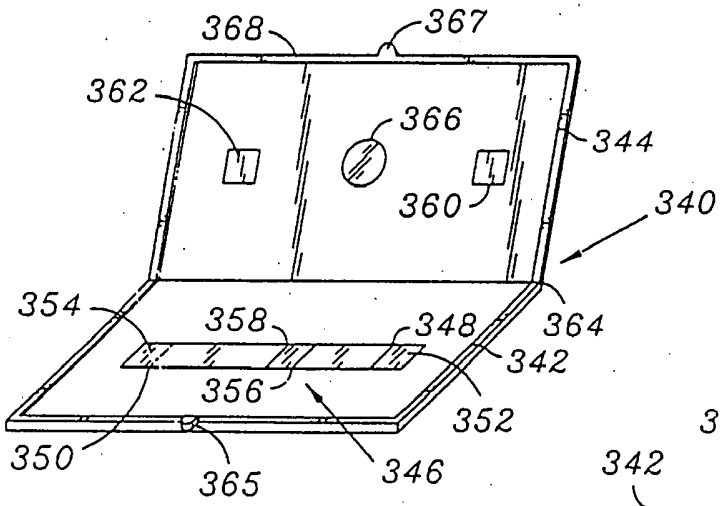
PV 1227-95



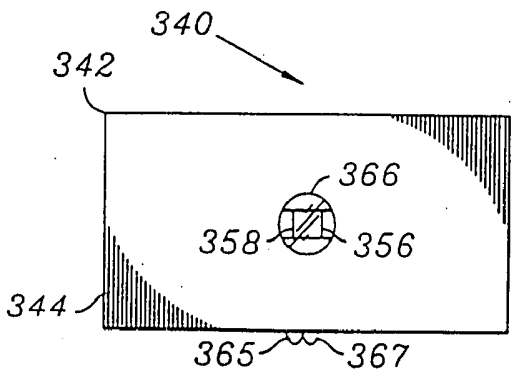
OBR. 12A



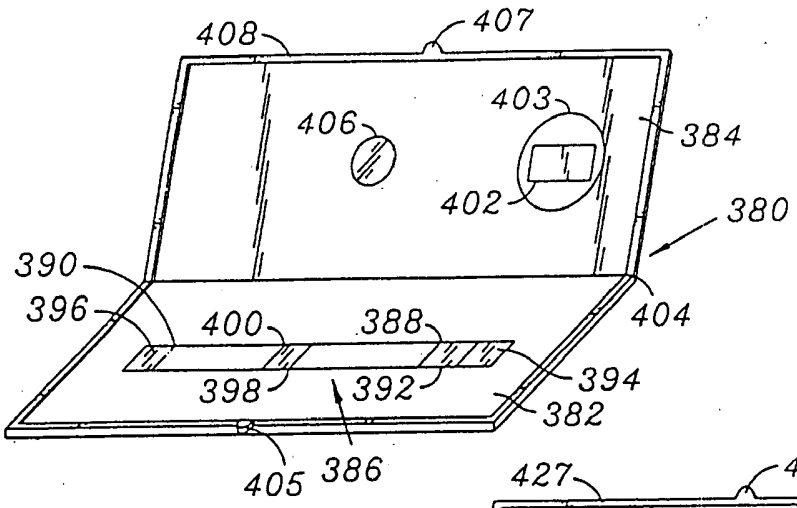
OBR. 12B



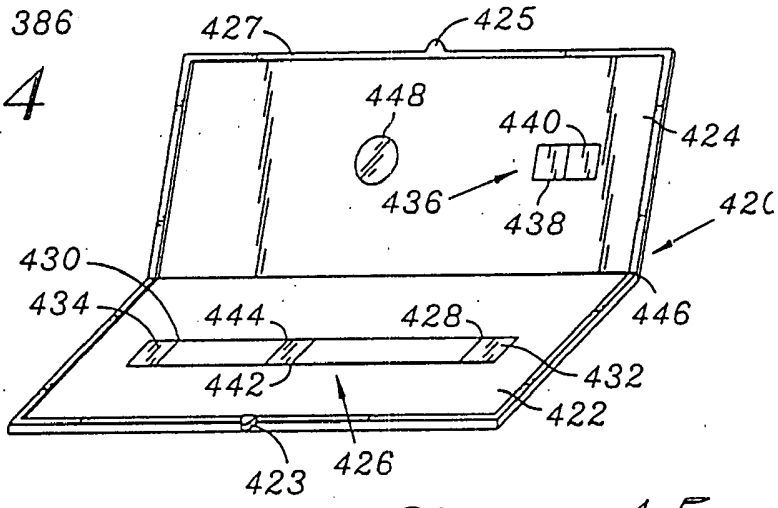
OBR. 13A



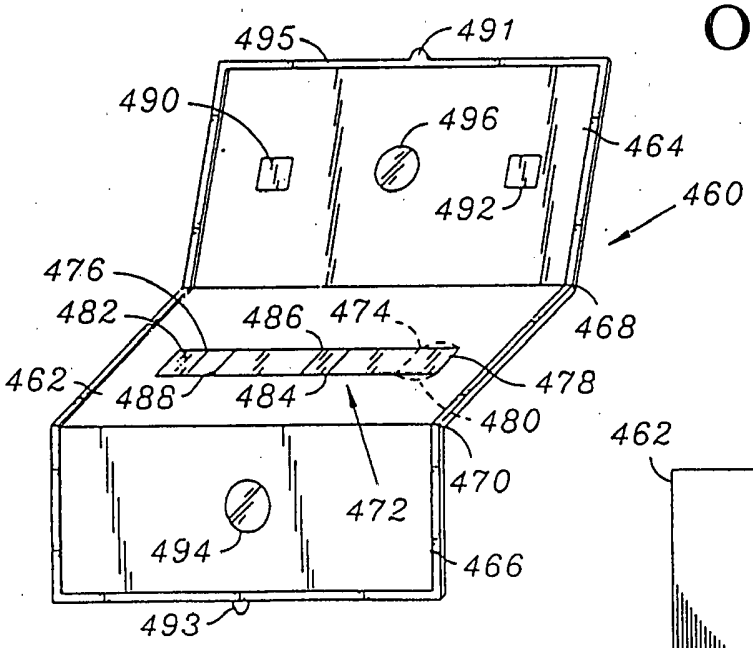
OBR. 13B



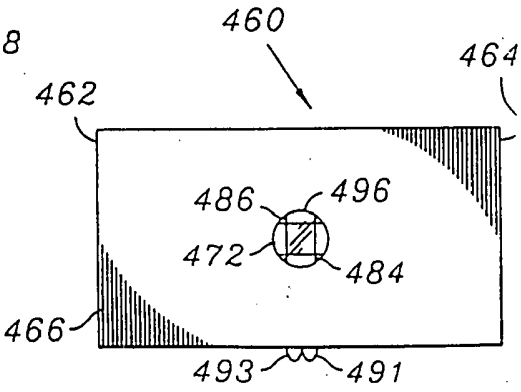
OBR. 14



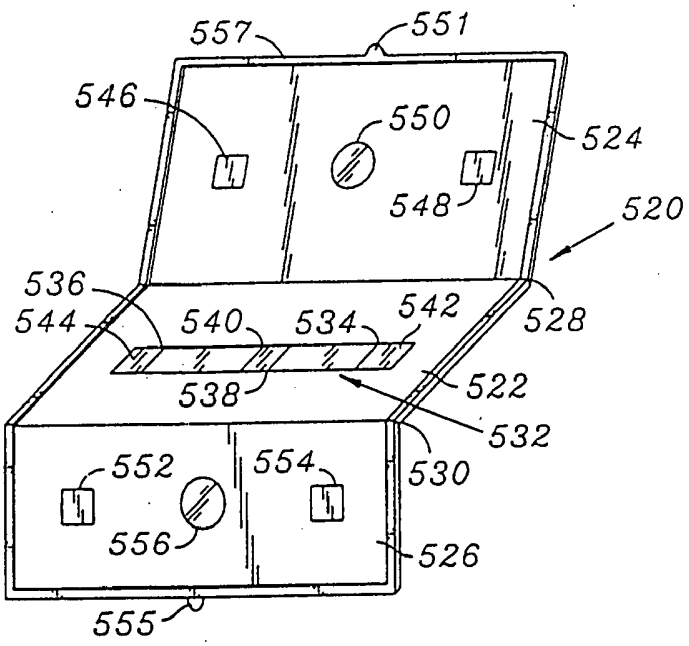
OBR. 15



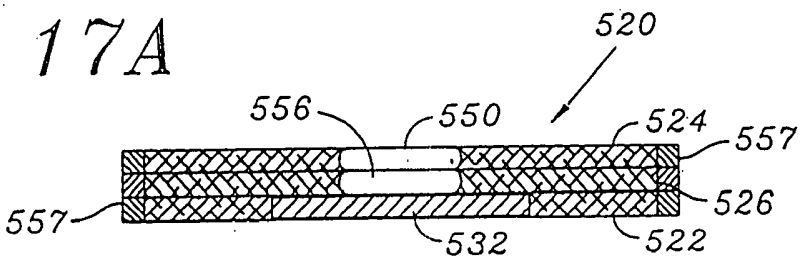
OBR. 16A



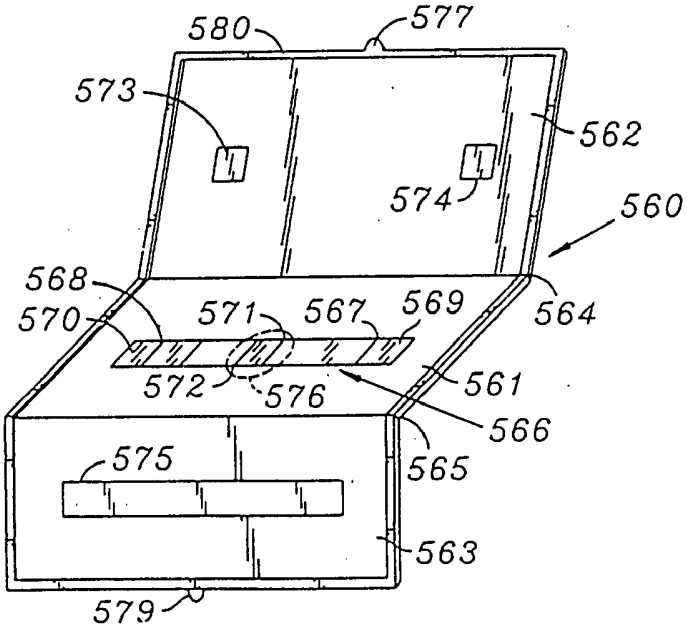
OBR. 16B



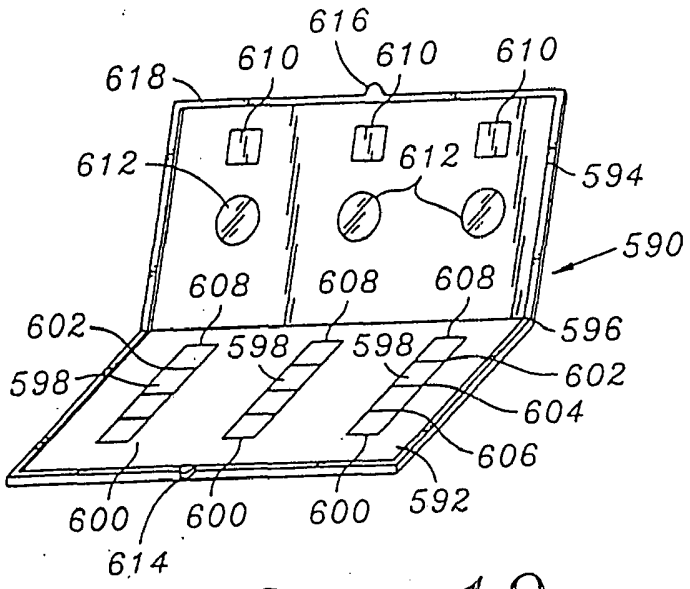
OBR. 17A



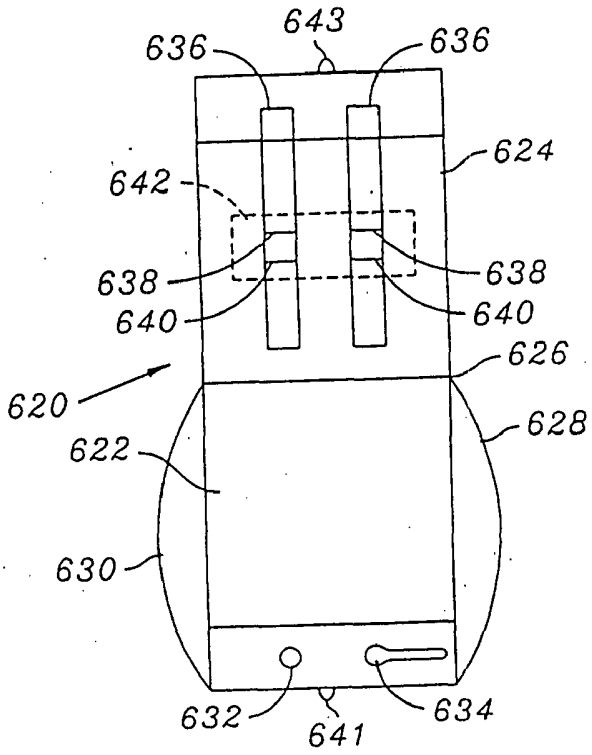
OBR. 17B



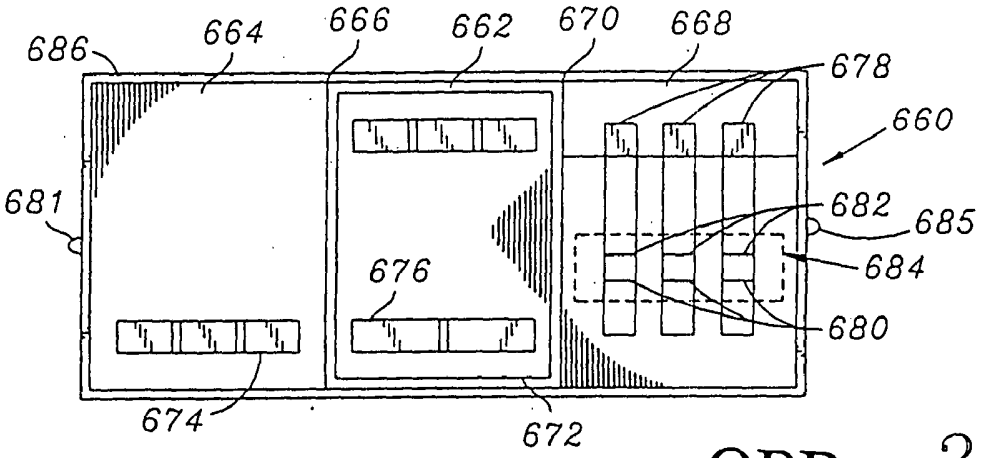
OBR. 18


616
610
610
610
618
612
612
594
590
608
608
608
602
596
598
598
602
598
604
606
600
600
600
592
614

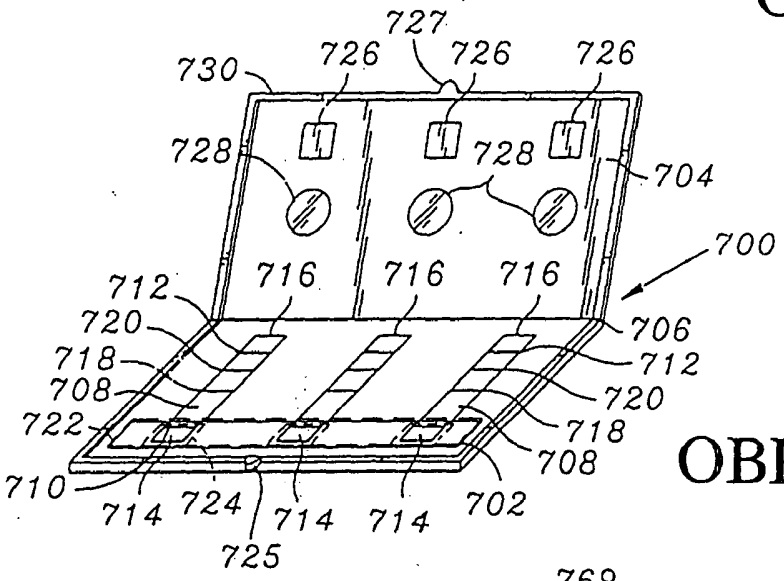
OBR. 19


643
636
636
624
642
638
638
640
640
626
620
628
622
630
632
641
634

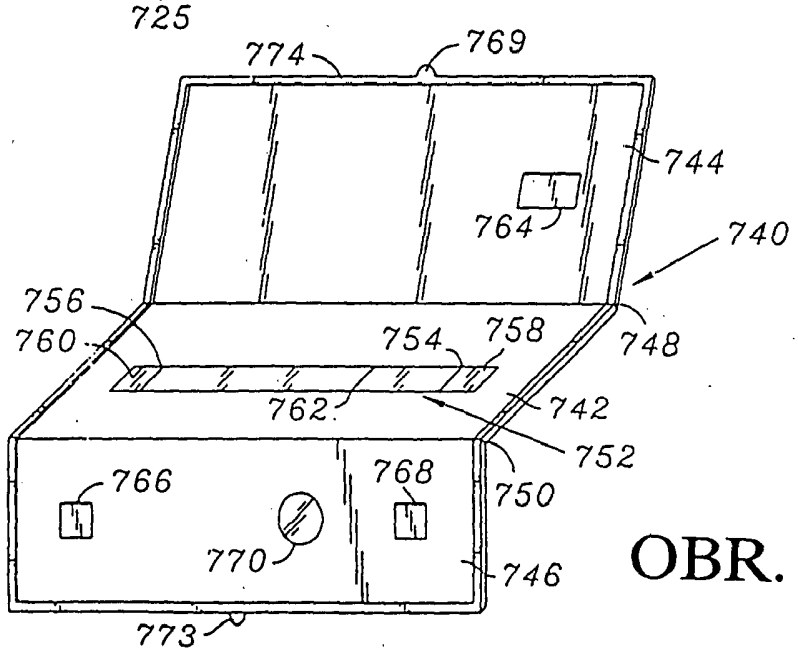
OBR. 20



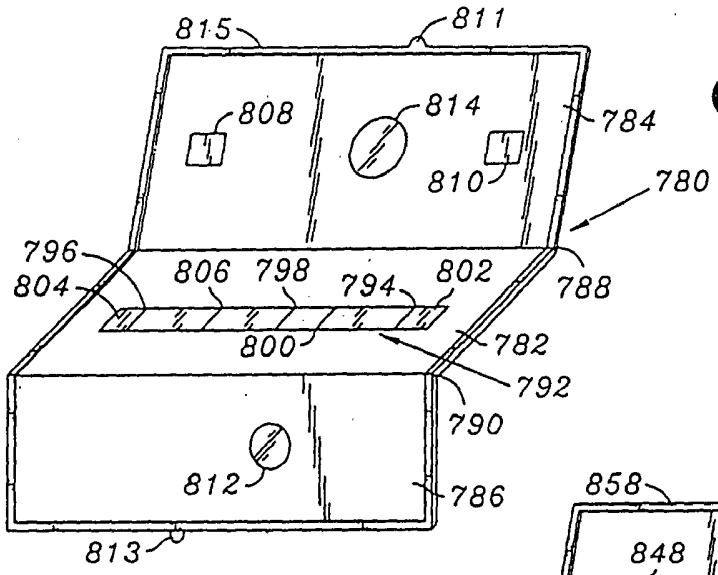
OBR. 21



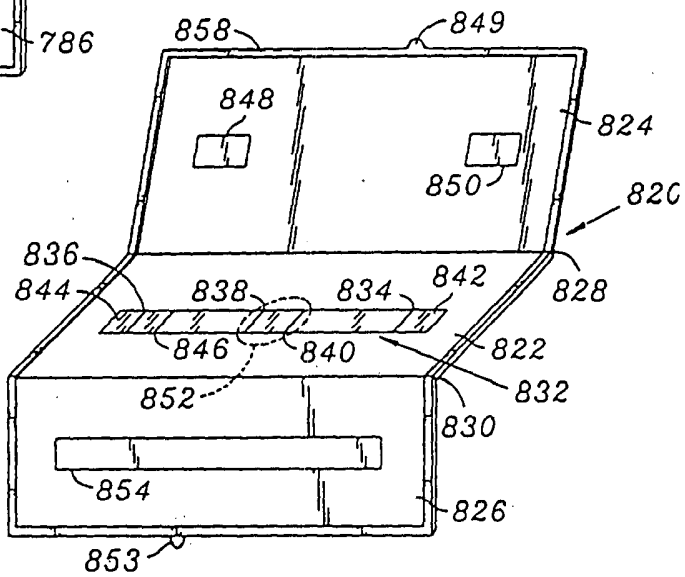
OBR. 22



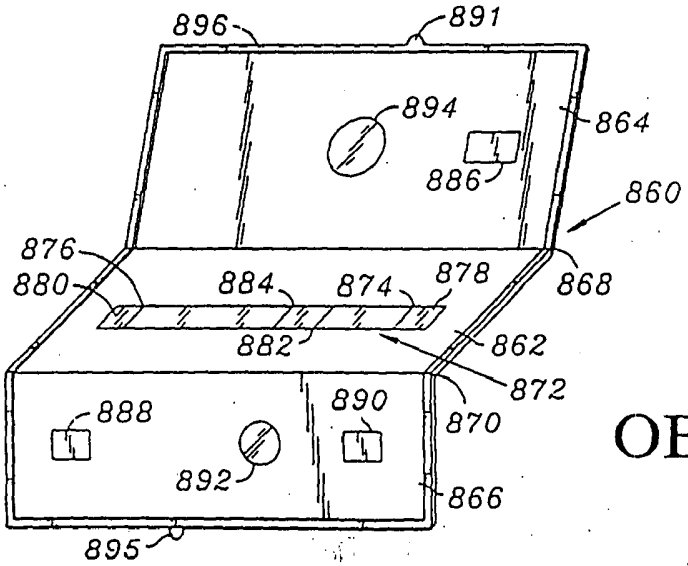
OBR. 23



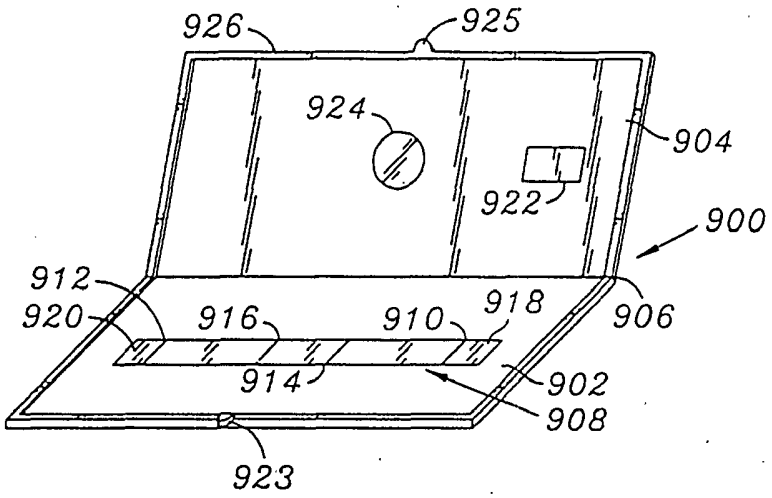
OBR. 24



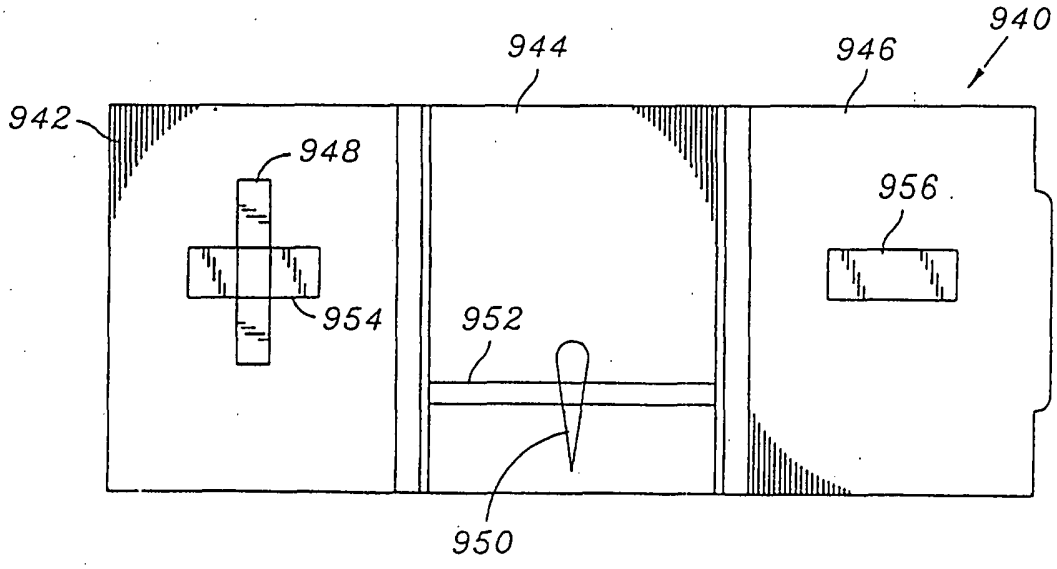
OBR. 25



OBR. 26


926
925
924
904
922
900
912
920
916
910
918
906
914
902
908
923

OBR. 27


940
944
946
942
948
956
954
952
950

OBR. 28