



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21)(22) Заявка: 2012125201/15, 03.12.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
03.12.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
04.12.2009 US 61/266,641;  
06.05.2010 US 61/331,966;  
07.06.2010 US 61/352,093;  
14.10.2010 US 61/392,981;  
01.12.2010 US 12/957,683;  
02.12.2010 US 12/958,454

(43) Дата публикации заявки: 20.01.2014 Бюл. № 2

(45) Опубликовано: 10.10.2015 Бюл. № 28

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: US 4963325 A, 16.10.1990. US  
2008003141 A1, 03.01.2008. US 2005175992 A1,  
11.08.2005. RU 2124729 C1, 10.01.1999

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 04.07.2012

(86) Заявка РСТ:  
US 2010/058827 (03.12.2010)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2011/069031 (09.06.2011)

Адрес для переписки:  
191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(72) Автор(ы):

**САМБУРСКИ Роберт П. (US),  
БАБУ Ума Махеш (US),  
ВАНДАЙН Роберт У. (US),  
КАНАУДЖИА Ганга В. (US),  
ОРСИНИ Томас (US)**

(73) Патентообладатель(и):

**Рэпид Пэтоджен Скрининг, Инк. (US)**

**(54) МНОГОСЛОЙНЫЙ АНАЛИЗ С ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПОТОКОМ С ПРЕССОМ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области медицины и может быть использована для диагностики по месту лечения. Устройство с горизонтальным потоком для обнаружения анализируемого вещества в образце включает пресс для образцов, содержащий вкладыш; пробоотборник; хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком, включающую зону нанесения образца и тестовую зону; конъюгат, включающий первый связывающий партнер для анализируемого

вещества и метку, второй связывающий партнер для анализируемого вещества и первый контрольный связывающий партнер, размещенный на вкладыше пресса для образцов. При этом тест-полоска дополнительно содержит контрольную зону, содержащую второй контрольный связывающий партнер, а первый контрольный связывающий партнер является связывающим партнером для второго контрольного связывающего партнера. Пресс для образцов, пробоотборник и тест-полоска

образуют вертикальную стопку для нанесения образца на указанную тест-полоску путем сдавливания, причем в вертикальной стопке пробоотборник размещен между прессом для образцов и тест-полоской. Группа изобретений относится также к вариантам указанного устройства с горизонтальным потоком, прессу для образцов для применения в указанном

устройстве и способу нанесения образца на хроматографическую тест-полоску с использованием указанного пресса для образцов. Группа изобретений обеспечивает чувствительный и быстрый способ обнаружения анализируемых веществ в образце. 7 н. и 13 з.п. ф-лы, 21 ил.

(30) (продолжение):

01.12.2010 12/957,683 US;

02.12.2010 12/958,454 US

R U 2 5 6 4 9 1 1 C 2

R U 2 5 6 4 9 1 1 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2012125201/15, 03.12.2010**

(24) Effective date for property rights:  
**03.12.2010**

Priority:

(30) Convention priority:  
**04.12.2009 US 61/266,641;**  
**06.05.2010 US 61/331,966;**  
**07.06.2010 US 61/352,093;**  
**14.10.2010 US 61/392,981;**  
**01.12.2010 US 12/957,683;**  
**02.12.2010 US 12/958,454**

(43) Application published: **20.01.2014 Bull. № 2**

(45) Date of publication: **10.10.2015 Bull. № 28**

(85) Commencement of national phase: **04.07.2012**

(86) PCT application:  
**US 2010/058827 (03.12.2010)**

(87) PCT publication:  
**WO 2011/069031 (09.06.2011)**

Mail address:  
**191036, Sankt-Peterburg, a/ja 24, "NEVINPAT"**

(72) Inventor(s):  
**SAMBURSKY Robert P. (US),**  
**BABU Uma Mahesh (US),**  
**VANDINE Robert W. (US),**  
**KANAUJIA Ganga v. (US),**  
**ORSINI Thomas (US)**

(73) Proprietor(s):  
**RAPID PATHOGEN SCREENING, INC. (US)**

**(54) MULTI-LAYERED ANALYSIS WITH HORIZONTAL FLOW WITH PRESS FOR SAMPLES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions relates to the field of medicine and can be used for diagnostics on a treatment site. A device with a horizontal flow for the detection of an analysed substance in a sample includes a press for samples, which contains an insert, a sampler, a chromatographic test-strip with the horizontal flow, including a zone of the sample application and a test zone; a conjugate, including the first binding partner for the analysed substance and a mark, the second binding partner for the analysed substance and the first control binding partner, placed on the insert of the press for samples. The test-strip additionally contains a control zone, which contains the second control binding partner, with the first control binding partner being the

binding partner for the second control binding partner. The press for samples, the sampler and the test-strip form a vertical pile for the application of the sample on the said test-strip by pressing, with the sampler being placed in the vertical pile between the press for samples and the test-strip. The group of inventions also relates to versions of the said device with the horizontal flow, the press for samples for application in the said device and the method of applying the sample on the chromatographic test-strip with the application of the said press for samples.

EFFECT: group of inventions provides the sensitive and fast method of detecting analysed substances in the sample.

20 cl, 21 dwg

RU 2 564 911 C2

RU 2 564 911 C2

(30) Convention priority:  
01.12.2010 12/957,683 US;  
02.12.2010 12/958,454 US

R U 2 5 6 4 9 1 1 C 2

R U 2 5 6 4 9 1 1 C 2

## ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Данная заявка заявляет одно или больше изобретений, раскрытых в предварительной заявке №61/266641 «ДЕТЕКТОР НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПОТОКОМ (LATERAL FLOW NUCLEIC ACID DETECTOR)», поданной 4 декабря 2009 года, предварительной заявке №61/331966 «МНОГОСЛОЙНЫЙ АНАЛИЗ С ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПОТОКОМ С ПРЕССОМ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ (MULTIPLANAR LATERAL FLOW ASSAY WITH SAMPLE COMPRESSOR)», поданной 6 мая 2010 года, предварительной заявке №61/352093 «АНАЛИЗЫ С ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПОТОКОМ (LATERAL FLOW ASSAYS)», поданной 7 июня 2010 года, и предварительной заявке №61/392981 «МНОГОСЛОЙНЫЙ АНАЛИЗ С ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПОТОКОМ С ПРЕССОМ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ (MULTIPLANAR LATERAL FLOW ASSAY WITH SAMPLE COMPRESSOR)», поданной 14 октября 2010 года. Согласно пункту 35 свода законов США § 119(е) данная заявка утверждает преимущество предварительных заявок на патент и включает в себя вышеупомянутые заявки посредством ссылки.

## ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к области диагностик по месту лечения. Конкретнее, настоящее изобретение относится к горизонтальным проточным анализам.

## ОПИСАНИЕ ПРЕДШЕСТВУЮЩЕГО УРОВНЯ ТЕХНИКИ

Горизонтальные проточные анализы являются подклассом анализов, совмещающих различные реагенты и технологические этапы на одной аналитической полоске, обеспечивая, таким образом, чувствительный и быстрый способ обнаружения целевых молекул. Горизонтальные проточные иммунологические анализы на основе антител доступны для широкого спектра целевых анализируемых веществ и могут быть разработаны по принципам «сэндвича» или конкурентного теста. Как правило, анализируемые вещества с большой молекулярной массой и несколькими эпитопами анализируют в формате «сэндвича», тогда как малые молекулы, представляющие собой только один эпитоп, обнаруживают с помощью конкурентного анализа. Первые тесты были сделаны для хорионического гонадотропина человека (hCG). В настоящее время в продаже имеются тесты для мониторинга овуляции, обнаружения возбудителей инфекционных заболеваний, обнаружения наркотических веществ и измерения содержания других анализируемых веществ, важных для физиологии человека. Также представлены продукты для ветеринарного тестирования, тестирования внешней среды и мониторинга продукции.

В предшествующем уровне техники подвижный маркированный рецептор (в этом документе называемый также меченым веществом или тестовым конъюгатом) в этих анализах является либо высушенным на тест-полоске, находящейся во внешнем элюирующем растворе (так что его можно предварительно смешать с образцом до нанесения на тест-полоску), либо частью среды элюирования.

Публикация европейского патента EP 0582231, опубликованная 9 февраля 1994, названная «ТВЕРДОФАЗНЫЙ АНАЛИЗ (SOLID PHASE ASSAY)», раскрывает анализ с пористой твердой подложкой с первой частью, контактирующей с образцом, который может включать интересующее анализируемое вещество. Образец протекает через твердую подложку, и анализируемое вещество, если таковое имеется, соединяется с меченым веществом, которое обратимо связано с твердой подложкой. Сначала образец и меченое вещество движутся в направлении, перпендикулярном первой части (т.е. вертикально) путем капиллярного тока. Затем меченое вещество и анализируемое вещество продолжают движение с помощью капиллярного тока через материал ко

второй части, которая включает иммобилизованное связывающее вещество, которое связывается с анализируемым веществом в иммунологическом анализе формата «сэндвич». Движение ко второй части происходит в направлении, перпендикулярном направлению, в котором меченое вещество и образец двигались изначально (т.е. горизонтально). Все движение образца и меченого вещества происходит благодаря капиллярному току через устройство. Хотя движение происходит вертикально и горизонтально, существует один путь потока. Образец, меченое вещество и иммобилизованное связывающее вещество находятся все в одном и том же пути течения.

Публикация патента США №2007/0224701, опубликованная 27 сентября 2007 года. названная «УСТРОЙСТВО ДЛЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА С КОМБИНАЦИЕЙ ВЕРТИКАЛЬНОГО И ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПОТОКА (COMBINATION VERTICAL AND LATERAL FLOW IMMUNOASSAY DEVICE)», раскрывает устройства для иммунологического анализа, комплекты и способы определения наличия или отсутствия анализируемого вещества в жидком образце с применением комбинации вертикального потока и горизонтального потока. Устройство включает вкладыш меченого вещества с маркированным рецептором, который вертикально сопоставлен со средой связывающего вещества подложки. Устройство, раскрытое в данной публикации, является многосекционным, но, подобно EP 0582231, имеет всего один путь потока. Образец, маркированный рецептор и среды связывающего вещества подложки находятся в одном и том же пути течения.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Пресс для образцов применяет давление к пробоотборнику в зоне нанесения образца тест-полоски, чтобы переместить образец из пробоотборника и связывающий партнер анализируемого вещества в зону нанесения образца в устройстве с горизонтальным потоком. По меньшей мере один из связывающих партнеров анализируемого вещества не размещается на тест-полоске или в элюирующем растворе до использования устройства с горизонтальным потоком. Тест-полоской может быть универсальная тест-полоска без молекул, которые специфически связывают анализируемое вещество на тест-полоске. Прессом для образцов может быть универсальный пресс для образцов без молекул, которые специфически связывают анализируемое вещество на прессе для образцов. Устройство с горизонтальным потоком также может включать стимулирующий элемент, при этом стимулирующий элемент связывается с «сэндвичем» анализируемого вещества для улучшения распознающего сигнала в тестовой зоне.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения устройство с горизонтальным потоком для обнаружения анализируемого вещества включает пресс для образцов, пробоотборник с пробоотборной частью, тест-полоску с зоной нанесения образца и тестовой зоной, конъюгат, включающий первый связывающий партнер для анализируемого вещества и маркер, и второй связывающий партнер для анализируемого вещества. Либо конъюгат, либо второй связывающий партнер, либо одновременно конъюгат и второй связывающий партнер не размещаются на тест-полоске до применения устройства с горизонтальным потоком. Пресс для образцов, пробоотборник и тест-полоска образуют вертикальную стопку для нанесения образца на тест-полоску путем сдавливания. Пресс для образцов предпочтительно имеет вкладыш/ваточный холст с конъюгатом и/или второй связывающий партнер размещается на вкладыше до применения устройства с горизонтальным потоком. В некоторых вариантах осуществления устройство с горизонтальным потоком включает первый контрольный связывающего партнера, размещенный на вкладыше прессы для образцов, и второй контрольный связывающий партнер, иммобилизованный в контрольной зоне тест-

полоски, при этом первый контрольный связывающий партнер является связывающим партнером для второго контрольного связывающего партнера. Устройство с горизонтальным потоком предпочтительно составляют таким образом, чтобы положительный результат достигался только посредством изоляции анализируемого вещества в тестовой зоне с помощью связывания анализируемого вещества с первым связывающим партнером и вторым связывающим партнером. Тестовая зона предпочтительно не включает молекул, которые специфически связывают анализируемое вещество. Предпочтительно, второй связывающий партнер включает метку и тестовая зона включает иммобилизованный связывающий партнер для метки.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения универсальная тест-полоска включает тестовую зону, но не содержит молекул, которые специфически связывают анализируемое вещество. Тест-полоска предпочтительно также содержит контрольную зону с контрольным связывающим партнером, иммобилизованным в контрольной зоне. Тест-полоска предпочтительно также включает метку, иммобилизованную в тестовой зоне, при этом метка представляет собой биотин, авидин, нейтравидин, стрептавидин, лектин или гликозильную часть.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения пресс для образцов для применения в устройстве с горизонтальным потоком включает вкладыш и по меньшей мере один связывающий партнер анализируемого вещества. Пресс для образцов предпочтительно также включает подвижный контрольный связывающий партнер на вкладыше.

В некоторых вариантах осуществления пресс для образцов является универсальным прессом для образцов без молекул, которые специфически связывают анализируемое вещество. Универсальный пресс для образцов предпочтительно включает вкладыш и подвижный контрольный связывающий партнер на вкладыше.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения устройство с горизонтальным потоком для обнаружения анализируемого вещества включает тест-полоску с зоной нанесения образца и тестовой зоной, конъюгат с первым связывающим партнером для анализируемого вещества и маркером, второй связывающий партнер для анализируемого вещества и стимулирующий элемент. Анализируемое вещество, конъюгат и второй связывающий партнер образуют "сэндвич", который в присутствии анализируемого вещества иммобилизуется в тестовой зоне, а стимулирующий элемент связывается с "сэндвичем" для улучшения распознающего сигнала в тестовой зоне. В некоторых вариантах осуществления конъюгат включает коллоидное золото, а стимулирующий элемент включает по меньшей мере одну соль серебра. В других вариантах осуществления стимулирующий элемент включает антиген, а конъюгат включает специфический связывающий партнер для антигена. Стимулирующий элемент предпочтительно включает маркер. В предпочтительном варианте осуществления тестовая зона не включает молекулу, которая специфически связывает анализируемое вещество. Второй связывающий партнер предпочтительно включает метку, а тестовая зона предпочтительно включает иммобилизованный связывающий партнер метки.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения способ нанесения образца на тест-полоску устройства с горизонтальным потоком включает помещение пробоотборника с пробоотборной частью с образцом в вертикальную стопку между прессом для образцов и зоной нанесения образца тест-полоски и применение давления к пробоотборной части, применяя пресс для образцов для переноса по меньшей мере части образца в зону нанесения образца. Способ предпочтительно включает помещение на вертикальную стопку вкладыша со связывающим партнером для анализируемого

вещества и применение давления для переноса по меньшей мере части связывающего партнера в зону нанесения образца. Перенос образца в зону нанесения образца предпочтительно не происходит посредством протекания.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения способ нанесения образца на тест-полоску устройства с горизонтальным потоком включает в первую очередь помещение по меньшей мере одного внешнего связывающего партнера на зону нанесения образца тест-полоски. Внешний связывающий партнер может размещаться на внешнем вкладыше. В вариантах осуществления, в которых имеются два связывающих партнера анализируемого вещества, которые связывают анализируемое вещество до достижения тестовой зоны, могут добавляться либо один, либо оба связывающих партнера анализируемого вещества. Пробоотборник, который включает образец, помещают в вертикальную стопку между внешним связывающим партнером и прессом для образцов. Пресс для образцов применяет давление к пробоотборнику для переноса внешнего связывающего партнера и по меньшей мере части образца в зону нанесения образца. Альтернативно, внешний связывающий партнер можно добавлять и сдавливать прессом для образцов, затем удалять, прежде чем пробоотборник поставят в стопку над зоной нанесения образца, когда образец вдавливаются в тест-полоску. В другом альтернативном варианте осуществления по меньшей мере один внешний связывающий партнер помещается в вертикальную стопку между прессом для образцов и пробоотборником. Альтернативно, пробоотборник добавляют и сдавливают, затем удаляют, а затем добавляют внешний связывающий партнер и вдавливают в тест-полоску. В других вариантах осуществления пробоотборник находится в вертикальной стопке между первым внешним связывающим партнером и вторым внешним связывающим партнером, и пресс для образцов применяет давление к вертикальной стопке. В этих вариантах осуществления ни полоска, ни пресс для образцов не имеют специфического связывающего партнера анализируемого вещества.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг.1 изображены тест-полоска и пробоотборник в устройстве с горизонтальным потоком.

На фиг.2А изображен пресс для образцов по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.2В изображен другой пресс для образцов по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.2С изображен пробоотборник по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.3А изображена тест-полоска с горизонтальным потоком по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.3В изображен полный "сэндвич", включающий анализируемое вещество, конъюгат и иммобилизованный связывающий партнер по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.3С изображено устройство с горизонтальным потоком, включающее тест-полоску по фиг.3А, пробоотборник и пресс для образцов по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.4А изображена другая тест-полоска с горизонтальным потоком по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.4В изображен полный "сэндвич", включающий анализируемое вещество, конъюгат и второй помеченный связывающий партнер по варианту осуществления настоящего изобретения.



На фиг.4С изображено устройство с горизонтальным потоком, включающее тест-полоску по фиг.4А, пробоотборник и пресс для образцов по варианту осуществления настоящего изобретения.

5 На фиг.5А изображена еще одна тест-полоска с горизонтальным потоком по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.5В изображено устройство с горизонтальным потоком, включающее тест-полоску по фиг.5А, пробоотборник и пресс для образцов по другому варианту осуществления настоящего изобретения.

10 На фиг.6А изображена другая тест-полоска с горизонтальным потоком по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.6В изображено устройство с горизонтальным потоком, включающее тест-полоску по фиг.6А, пробоотборник и пресс для образцов по другому варианту осуществления настоящего изобретения.

15 На фиг.7А изображено устройство, подобное устройству по фиг.3С за исключением того, что тестовая зона находится в зоне нанесения образца, по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.7В изображено устройство, подобное устройству по фиг.4С за исключением того, что тестовая зона находится в зоне нанесения образца, по варианту осуществления настоящего изобретения.

20 На фиг.7С изображено устройство, подобное устройству по фиг.5В за исключением того, что тестовая зона находится в зоне нанесения образца, по варианту осуществления настоящего изобретения.

25 На фиг.7D изображено устройство, подобное устройству по фиг.6В за исключением того, что тестовая зона находится в зоне нанесения образца, по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.8А изображено устройство с горизонтальным потоком по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.8В изображено другое устройство с горизонтальным потоком по варианту осуществления настоящего изобретения.

30 На фиг.9 изображена вертикальная стопка по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.10 изображен известный из предшествующего уровня техники "сэндвич" с золотым конъюгатом в тестовой зоне.

35 На фиг.11 изображен "сэндвич" со стимулированием сигнала в тестовой зоне по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.12 изображен "сэндвич" с комплектованием стопки в тестовой зоне по варианту осуществления настоящего изобретения.

40 На фиг.13 изображено схематическое покомпонентное изображение устройства с горизонтальным потоком с элементами, стимулирующими сигнал, по вариантам осуществления настоящего изобретения.

На фиг.14 изображено устройство с горизонтальным потоком по другому варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.15А изображена стопка, которая образуется по варианту осуществления настоящего изобретения.

45 На фиг.15В изображена стопка по фиг.15А, иммобилизованная в тестовой зоне.

На фиг.15С изображен комплекс, который образуется в контрольной зоне.

На фиг.16 изображено устройство с горизонтальным потоком по другому варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.17А изображена стопка, которая образуется по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.17В изображена стопка по фиг.17А, иммобилизованная в тестовой зоне.

На фиг.18 изображено устройство с горизонтальным потоком по другому варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.19А изображена стопка, которая образуется по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.19В изображена стопка по фиг.19А, иммобилизованная в тестовой зоне.

На фиг.20А изображена тест-полоска с горизонтальным потоком по варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг.20В изображен «полный сэндвич», который предпочтительно образуется до достижения тестовой линии между анализируемым веществом, маркированным конъюгатом и вторым помеченным подвижным связывающим партнером.

На фиг.21А изображен другой вариант осуществления тест-полоски с горизонтальным потоком со стимулирующими элементами.

На фиг.21В изображен стопочный комплекс на тестовой линии в присутствии анализируемого вещества.

На фиг.21С изображен стопочный комплекс на тестовой линии с дополнительными стимулирующими элементами.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способам и устройствам для обнаружения анализируемого вещества (также известного как цель) в образце, при которых подлежащий анализу образец наносится на хроматографический носитель. В многослойных конфигурациях для диагностики по месту лечения конъюгат, включающий один из связывающих партнеров анализируемого вещества, о котором идет речь, предпочтительно доставляется из другого слоя. Образец, содержащий анализируемое вещество, собирают непосредственно из источника и предпочтительно не подвергают предварительной обработке, элюированию, разведению или сгущению. Конъюгат приводят в контакт с образцом с помощью пресса для образцов, также называемого в настоящем документе прессным устройством. Сдавливание способствует соединению мобилизованных конъюгата и образца. Пресс для образцов, который включает конъюгат в предпочтительных вариантах осуществления, предпочтительно полностью отделен от устройства анализа образцов. Пресс для образцов не является частью пути течения на тест-полоске. В результате перенос конъюгата и образца к устройству анализа образцов, которым является предпочтительно тест-полоска, запускается применением давления, а не потоком или капиллярностью. После применения пресса для образцов, при необходимости, может быть временной промежуток перед нанесением подвижного буфера. Этот временной промежуток между нанесением образца и запуском проточного тестирования может достигать 24 часов или многих дней в зависимости от устойчивости анализируемого вещества. Компоненты, за исключением тест-полоски, включающие в зависимости от варианта осуществления любую комбинацию пресса для образцов, пробоотборника и одного или нескольких внешних связывающих партнеров, предпочтительно остаются соединенными с тест-полоской, пока не запустится поток.

Устройством с горизонтальным потоком настоящего изобретения может быть иммунологический анализ, использующий антитела, или неиммунологический анализ, не использующий антител, но вместо этого использующий другие связывающие партнеры, включающие без ограничений нуклеиновые кислоты, наночастицы, лиганды и рецепторы.

Перед дальнейшим описанием настоящего изобретения и с тем, чтобы настоящее изобретение можно было более легко понять, определенные выражения определены здесь, в контексте настоящего изобретения:

Используемое в настоящем документе выражение "сдавливание" относится к нанесению образца и любых компонентов на вкладыше пресса для образцов на тест-полоску. Вкладыш, часть отбора пробоотборника и зона нанесения образца все предпочтительно поддающиеся сдавливанию так, чтобы сдавливание этих трех происходило во время нанесения образца на тест-полоску.

Используемое в настоящем документе выражение "давление" относится к физическому давлению, а точнее, к физическому давлению, применяемому прессом для образцов к образцу на пробоотборнике и, в свою очередь, к зоне нанесения образца тест-полоски. Используемое в настоящем документе давление, которое может обеспечиваться механическим смещением или пользователем устройства с горизонтальным потоком, приводит вкладыш пресса для образцов, часть отбора пробоотборника и зону нанесения образца тест-полоски в физический контакт для переноса образца и любых компонентов на вкладыше пресса для образцов на тест-полоску. Этот перенос предпочтительно не происходит путем вертикального потока.

Используемые в настоящем документе выражения "вертикальный" и "вертикально" относятся к направлению, параллельному толщине или глубине, в противоположность измерениям длины и ширины элементов, задействованных в устройстве, таких как вкладыши или среды.

Используемые в настоящем документе выражения "горизонтальный" и "горизонтально" относятся к направлению, параллельному длине, в противоположность измерениям ширины и глубины элементов, задействованных в устройстве, таких как вкладыши и среды.

В некоторых вариантах осуществления многие из элементов тест-полоски являются преимущественно плоскими и их горизонтальное измерение больше вертикального измерения. Однако значения этих измерений друг относительно друга могут меняться в пределах сущности настоящего изобретения. Как правило, выражения "вертикальный", "вертикально", "горизонтальный" и "горизонтально" также относятся к сопоставлению или ориентированию элементов устройства. Для вертикально сопоставленных элементов прямая, перпендикулярная к и пересекающая плоскую поверхность одного такого элемента, также в целом перпендикулярна к и пересекает плоскую поверхность остальных вертикально сопоставленных элементов.

Используемое в настоящем документе выражение "путь потока" относится к пути капиллярного тока в проточном устройстве во время применения устройства. Путь потока в обычном устройстве с горизонтальным потоком проходит горизонтально вдоль длины устройства. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения путь потока проходит только горизонтально, потому что образец вертикально перемещается посредством сдавливания с использованием давления, а не потока. Напротив, в обсужденном выше предшествующем уровне техники, для переноса образца на тест-полоску используется вертикальный поток.

Используемое в настоящем документе выражение "маркер" относится к любому атому, атомам, молекуле или молекулам, таким как флуоресцентная метка, применяемым для обеспечения обнаруживаемого и предпочтительно поддающегося количественному определению сигнала. Способы обнаружения маркера включают, но без ограничений, визуальное обнаружение, флуоресценцию, хемилюминесценцию, радиоактивность, колориметрию, гравиметрию, дифракцию рентгеновских лучей, поглощение

рентгеновских лучей, магнетизм и ферментативную активность. Тестовые зоны с видимым спектром можно интерпретировать посредством спектрометра для получения количественных результатов теста.

Используемое в настоящем документе выражение "лизис in situ" относится к методикам включения агентов лизиса в устройство тестирования по месту лечения, такое как хроматографическая тест-полоска или другое устройство иммунологического анализа с горизонтальным потоком, таким образом, чтобы процедура лизиса не проводилась как отдельный этап.

Используемое в настоящем документе выражение "зона" относится к любой части тест-полоски. Границами зоны предпочтительно служат плоскости, перпендикулярные горизонтальному направлению. Выражение "зона" также охватывает выражение "линия", которое относится к зоне, у которой длина в горизонтальном направлении значительно меньше ширины.

Варианты осуществления настоящего изобретения включают анализы, при которых подлежащее обнаружению анализируемое вещество (цель) не связывается непосредственно с иммобилизованным связывающим партнером в тестовой зоне тест-полоски. Вместо этого анализируемое вещество предпочтительно взаимодействует с одним или несколькими связывающими партнерами анализируемого вещества в других зонах (или в буфере, в некоторых вариантах осуществления) на полоске. По меньшей мере один из связывающих партнеров анализируемого вещества содержит первую метку, которая образует комплекс с второй иммобилизованной меткой в тестовой зоне.

В предпочтительных вариантах осуществления связывающий партнер контрольной зоны содержится на прессе для образцов. При этой конструкции, если зону конъюгата на прессе для образцов недостаточно сдавливают и приводят в контакт с тест-полоской, контрольная зона не проявится, даже при подходящем потоке подвижного буфера. Таким образом, появление контрольной зоны как с отрицательными, так с положительными тестовыми образцами служит признаком настоящего процедурного контроля над тестом.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, когда начинается горизонтальный поток, тест-полоска больше не находится в сдавливающем контакте с прессом для образцов и пробоотборником. В других вариантах осуществления настоящего изобретения, однако, вертикальную стопку поддерживают во время горизонтального потока, чтобы максимально увеличить перенос из пресса для образцов и пробоотборника на тест-полоску. В еще других вариантах осуществления пробоотборник удаляется из вертикальной стопки после нанесения образца на тест-полоску, но пресс для образцов затем поддерживают в контакте с тест-полоской во время горизонтального потока, чтобы максимально увеличить перенос из пресса для образцов на тест-полоску.

Изобретение обеспечивает чувствительный и быстрый способ обнаружения анализируемых веществ, например, болезнетворных организмов, ферментов, иммунологических медиаторов, нуклеиновых кислот, белков, гликопротеинов, липополисахаридов, белковых аддуктов, опухолевых и сердечных маркеров и/или соединений с малой молекулярной массой, включая, без ограничений, гаптены. Способы и устройства применяют для диагностики у людей и животных, например, домашних животных или скота. Обнаружение может включать прямое обнаружение анализируемого вещества и/или обнаружение антител к анализируемому веществу, которые присутствуют в жидком образце, подлежащем тестированию. Предпочтительно, способ включает параллельное определение множества анализируемых веществ.

Болезнетворные организмы предпочтительно выбирают из вирусов или микроорганизмов, таких как бактерии, грибки (например, дрожжевые грибки или плесневые грибки) или паразиты (например, амебы или нематоды). Иммунные медиаторы являются частью воспалительного каскада и включают, но без ограничений, антитела, факторы роста, комплемент, цитокины, лимфокины, хемокины, интерфероны и производные интерферона, С-реактивный белок, кальцитонин, амилоид, адгезивные молекулы, антитела и хемоаттрактантные компоненты. Соединения с малой молекулярной массой могут включать лекарственные или химические молекулы или комплексы и метаболиты, образованные лекарственными или химическими молекулами.

Обнаружение может включать прямое обнаружение цели, например, болезнетворного организма, и/или обнаружение антител к цели, например, болезнетворному организму, которые присутствуют в жидком образце, подлежащем тестированию. Предпочтительно, способ включает параллельное определение множества целей.

Альтернативно, интересующим анализируемым веществом может быть соединение с малой молекулярной массой. В предпочтительном варианте осуществления подлежащее обнаружению анализируемое вещество является лекарственной молекулой, такой как героин или метамфетамин. В других предпочтительных вариантах осуществления соединение с малой молекулярной массой представляет собой малую молекулу, такую как гаптен.

Изобретение также включает обнаружение множества болезнетворных организмов, аллергенов, иммунных медиаторов, нуклеиновых кислот или соединений с малой молекулярной массой на одном хроматографическом носителе. Устройство анализа образцов может допускать одновременное обнаружение множества соединений с малой молекулярной массой, иммунных медиаторов, нуклеиновых кислот, белков, или болезнетворных организмов. Хотя образец предпочтительно является жидким, частично или практически твердое сухое вещество или масса можно тестировать в качестве образца в устройствах и способами настоящего изобретения. Например, жидкость может загустеть или затвердеть, как в заживающей ране, при этом собираться пробоотборником, а затем перемещаться в зону нанесения образца. Альтернативно, образец может представлять собой затвердевшую часть волдыря, соскобленную с волдыря, которая может быть увлажнена биологической жидкостью у места волдыря, как, например, при сборе образца, подлежащего тестированию на венерическое заболевание, или увлажнена проточным буфером на тест-полоске. Образцом может быть один или несколько экссудатов из ран или волдырей.

Биологический образец предпочтительно представляет собой цельную кровь, сыворотку, плазму, жидкость слизистой оболочки (из полостей рта, носа, влагалища, заднего прохода, внутреннего уха и глаза), спинномозговую жидкость (CSF), слезную жидкость, пенильную жидкость, секрецию или экссудат из железы, или секрецию или экссудат из повреждения или волдыря, например, из повреждений или волдырей на коже. Более предпочтительно образец отбирают из оральной, носовой, глазной, генитальной и ректальной жидкостей и секретов или экссудатов из повреждений кожи или кожных волдырей.

В некоторых вариантах осуществления количества жидкости, связанной с образцом, недостаточно, чтобы переместить образец и/или какой-либо конъюгат или второй связывающий партнер на вкладыше пресса для образцов в зону нанесения образца при сдавливании; зато подвижный буфер обеспечивает дополнительную жидкость, необходимую для переноса образца, и/или конъюгата, и/или второго связывающего партнера в зону нанесения образца тест-полоски. В других вариантах осуществления

образец и/или какой-либо конъюгат или второй связывающий партнер на вкладыше пресса для образцов переносится в зону нанесения образца после сдавливания. В альтернативных вариантах осуществления подвижный буфер можно наносить через пресс.

5 В предпочтительных вариантах осуществления образец является жидкостью, которая не капает или течет после того, как ее собирают. Наоборот, жидкость представляет собой загустевшую массу, таким образом, что, после того как образец собирают на  
10 пробоотборник, образец можно держать вертикально или даже в перевернутом положении, и образец остается на - пробоотборнике. Например, когда собирают и не подвергают предварительной обработке глазной образец, образец остается на  
15 пробоотборнике, даже если его держат вертикально или в перевернутом положении, главным образом из-за поверхностного натяжения. Так происходит, потому что образец эффективно захвачен и заключен на материале пробоотборника, например на ваточном холсте пробоотборника. В предпочтительных вариантах осуществления применяют  
20 волокна полиэтилентерефталата (PET), такие как волокна Dacron® или нейлоновые волокна, потому что связывание не является специфическим или продолжительным, так эти волокна "высвобождают" анализируемое вещество во влажном состоянии. Это явление подобно мягкому промакиванию пролитой жидкости бумажным полотенцем таким образом, что влага удерживается в порах и благодаря силе поверхностного  
25 натяжения. Другие материалы, которые можно использовать для ваточного холста пробоотборника, включают, но без ограничений, полиэстеры, целлюлозу, вискозу, альгинат кальция, микроинженерные механические структуры, содержащие микрокапилляры и/или микроканалы, или другие ткани или сети. В вариантах осуществления, при которых для сбора биологической жидкости человека требуется  
30 стерильный материал пробоотборника, предпочтительно применяют материалы, которые можно стерилизовать и которые испытаны на биосовместимость.

Значительным преимуществом способа является то, что результаты тестирования обеспечиваются в рамках периода врачебной консультации, например, через несколько  
35 минут. Предпочтительно, результаты обеспечиваются во временной промежуток до 20 минут, еще предпочтительнее до 15 минут. Тест можно также проводить вплоть до 24-48 часов после того, как образец был взят у пациента. Кроме того, поскольку тест является неинвазивным, он представляет очень небольшой риск для пациента. Таким образом, наилучшее доступное лечение можно применять своевременно в отношении  
40 конкретного болезнетворного организма. Дополнительным преимуществом по сравнению со способами предшествующего уровня техники является то, что для проведения анализа требуется всего несколько микролитров образца. Образец предпочтительно составляет от приблизительно 0,1 микролитра до приблизительно 100 микролитров, еще предпочтительнее от приблизительно 0,2 микролитра до приблизительно 20 микролитров и наиболее предпочтительно от приблизительно 0,5  
45 микролитра до приблизительно 15 микролитров.

Настоящее изобретение можно выполнить с помощью простого тестового набора. Манипулирование тестовым набором не требует наличия дополнительного лабораторного оборудования, дальнейшего манипулирования реагентами или  
50 инструментами. Другим важным преимуществом настоящего изобретения, описанного в настоящем документе, является то, что предел обнаружения, как правило, в 10-100 раз ниже, чем у доступных в настоящее время диагностических тестов, потому что образцы не требуют разведения перед тем, как их переносят в устройство анализа. Поэтому способы настоящего изобретения являются более чувствительными и точными,

чем способы предшествующего уровня техники.

Если как конъюгат, включающий первый связывающий партнер для анализируемого вещества и обнаруживаемый маркер, так и второй связывающий партнер для анализируемого вещества размещают на прессе для образцов, устройство анализа образцов можно изготавливать и применять для тестирования на любое анализируемое вещество. Пользователю всего лишь понадобится выбрать специфичный пресс, который содержит связывающие партнеры, нацеленные на интересующее анализируемое вещество.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения образец биологической жидкости неинвазивно собирают с помощью устройства для сбора или приспособления для сбора мазков. Этап сбора предпочтительно включает вытирание или прокладывание приспособления для сбора мазков на поверхность тела, содержащую подлежащую тестированию биологическую жидкость. Предпочтительно, приспособление для сбора мазков является стерильным. Приспособление для сбора мазков может быть сухим или предварительно обработанным жидкостью перед этапом сбора.

В предпочтительных вариантах осуществления приспособление для сбора мазков не проходит предварительной обработки, и образец собирают и переносят в устройство анализа образцов без какой-либо обработки собранного образца. Благодаря сбору образца устройством для сбора, и, не подвергая образец этапам предварительной обработки, таким как экстрагирование и/или разведение образца, избегают разрушения образца. Подлежащее тестированию анализируемое вещество в образце предпочтительно остается интактным или в своей естественной форме, окруженное или смешанное с другими природными веществами.

В предшествующем уровне техники, когда образец экстрагируют и разводят в буфере, образец часто перестает быть интактным. Это может изменить "конформацию" анализируемого вещества в зависимости от его устойчивости или неустойчивости. Благодаря сбору образца напрямую с применением устройства сбора и без предварительной обработки образца, естественная природа образца сохраняется в концентрированной форме. Поскольку это приводит к более высокой концентрации образца в меньшем объеме, это повышает чувствительность теста. Кроме того, без разведения образца время появления и интенсивность тестовой зоны прямо пропорциональны концентрации анализируемого вещества. При использовании спектрометра можно получить абсолютную численную количественную оценку. Кроме того, отсутствие необходимости предварительной обработки образца делает тест более легким, быстрым и менее дорогостоящим. Это также дает возможность, чтобы тест проводился при клинической картине врачами, медсестрами или лаборантами. В случае тест-полосок, применяемых для обнаружения конъюнктивита, чувствительность тестов сравнима с чувствительностью ультрачувствительных тестов полимеразной цепной реакции.

Способы и устройства предшествующего уровня техники требовали предварительной обработки. Ряд причин, по которым считалось, что предварительная обработка необходима, включал ошибочное убеждение, что предварительная обработка даст более гомогенный образец. Другая причина заключалась в том, что считалось, что концентрированные образцы необходимо забуферить перед проведением связывающего анализа. Другие объясняли необходимость промывки образца, удаления загрязняющих частиц и веществ, которые потенциально могут вызвать неспецифическую реакцию связывания и, таким образом, привести к ложноположительному результату теста. В

предшествующем уровне техники также существовало распространенное убеждение, что крупные гомогенные образцы дают более чувствительные и специфичные результаты тестового анализа.

5 Напротив, благодаря отсутствию предварительной обработки образца, пользователь сохраняет негомогенные высококонцентрированные образцы. Согласно материальному  
10 принципу межфазной поляризации, в негомогенных диэлектрических веществах существуют распределения зарядов, возникающие на границах фаз, которые делают негомогенное вещество диэлектриком. В "интактном" (неразведенном или ненарушенном) *in vivo* инфекционном образце биологической жидкости заряды или  
15 носители зарядов задерживаются посредством захвата в примесных центрах или на границах фаз. Характерная особенность такого "интактного" образца приводит к эффекту двухслойного конденсатора, что приводит к объемной поляризации. Характерная особенность "интактной" негомогенной природы приводит к более высокой эффективности связывания, и, следовательно, более чувствительному анализу.

15 Ранее не было известно, какое влияние биологические жидкости, включая кровь, слезы и гнойные экссудаты, окажут на различные материалы ваточного холста устройства сбора. Точнее, было неизвестно, будут ли анализируемые вещества эффективно высвобождаться из другого пористого материала и переноситься из  
20 пробоотборника в устройство анализа образцов.

20 В некоторых вариантах осуществления размер образца предпочтительно составляет несколько микролитров. После переноса образца в зону нанесения образца (предпочтительно без обработки образца) добавляют элюирующую среду (также известную как подвижный буфер). Способы предшествующего уровня техники для  
25 проведения горизонтальных проточных иммунологических анализов не позволяли выполнять эту стадию отмыwania. Например, при сборе глазного образца для теста на глазные инфекции, такие как конъюнктивит, размер образца предпочтительно составляет от 3 до 15 микролитров. В этом примере на тест-полоску затем добавляется от 150 до 200 микролитров элюирующей среды. Для сравнения с другими системами  
30 анализа, это отмыwanie в 40-50 раз превышает отмыwanie, выполняемое в машинно-зависимых тестах ELISA.

В одном примере сбора образца за счет мягкого вращательного движения стерильное приспособление для сбора мазков можно прикладывать к поверхности тела или  
35 слизистой оболочке, представляющим интерес, что делает возможным захватывание любых болезнетворных организмов, соединений с малой молекулярной массой и/или иммунных медиаторов, пептидов, гликопротеинов, нуклеиновых кислот и связанных с аллергией составляющих, содержащиеся в биологической жидкости.

Приспособление для сбора мазков может быть частью, отделенной от устройства анализа образцов. Образец затем переносится путем контакта приспособления для  
40 сбора мазков с устройством анализа образцов и прессом для образцов при условиях, когда по меньшей мере часть образца находится на приспособлении для сбора мазков. По меньшей мере часть конъюгата в вариантах осуществления, при которых конъюгат размещается на прессе для образцов, и/или по меньшей мере часть второго связывающего партнера в вариантах осуществления, при которых второй связывающий  
45 партнер размещается на прессе для образцов, также переносится в устройство анализа образцов с помощью давления. Это явление подобно выжиманию жидкости из губки. В этом варианте осуществления приспособление для сбора мазков предпочтительно контактирует как с зоной нанесения образца на устройстве анализа, так и с вкладышной частью пресса для образцов (которая предпочтительно содержит конъюгат и/или второй



связывающий партнер для анализируемого вещества). Затем образец и конъюгат переносятся в зону нанесения образца, а после движутся к зоне обнаружения. В некоторых вариантах осуществления приспособление для сбора мазков может быть зафиксировано в контактном положении с устройством анализа образцов, при которых зона сбора образца приспособления для сбора мазков находится в непосредственном контакте с зоной нанесения образца устройства анализа. Таким образом, приспособление для сбора мазков и/или устройство анализа предпочтительно включает средство фиксации для обеспечения фиксированного контакта обеих частей в заранее заданном положении. Альтернативно, приспособление для сбора мазков может быть составной частью устройства анализа образцов, а перенос включает передачу по меньшей мере части образца на приспособлении для сбора мазков, а также конъюгата, в зону нанесения образца посредством приложения давления за счет пресса для образцов. В некоторых вариантах осуществления пресс для образцов также является составной частью интегрированного устройства анализа образцов и предпочтительно присоединяется к устройству с помощью шарнира. В других вариантах осуществления пресс для образцов отделен от остального устройства.

Перенос образца из приспособления для сбора мазков в зону нанесения образца па устройстве анализа образцов предпочтительно представляет собой прямой перенос, т.е. перенос происходит без предварительной обработки образца на приспособлении для сбора мазков. В вариантах осуществления без предварительной обработки образца или с приспособлением для сбора мазков в области, где ваточный холст приспособления для сбора мазков непосредственно контактирует с ваточным холстом на полоске, происходит микрофильтрация. Волокна ваточного холста смыкаются, образуя решетку или физическое препятствие. Таким образом, содержащиеся в образце крупные элементы задерживаются и не элюируются на устройство анализа образцов. Когда конъюгат и образец проходят через зону нанесения образца, более мелкие анализируемые вещества элюируются. Кроме того, при использовании образцов из жидкостей слизистой оболочки механическое разрушение слизи в биологических жидкостях слизистой оболочки очищает образец и интересующее анализируемое вещество.

В других вариантах осуществления перенос включает элюирование образца из приспособления для сбора мазков с помощью элюирующей средой, например, буфера или воды. Элюирующую среду можно добавлять из внешнего источника или можно обеспечивать, например, в виде резервуара, внутри устройства анализа. Кроме того, перенос предпочтительно является хроматографическим и/или капиллярным переносом жидкости в зону обнаружения на устройстве анализа образцов.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления приспособление для сбора мазков помещают между тест-полоской с горизонтальным потоком и вкладышной частью пресса для образцов (который может содержать конъюгат, включающий первый связывающий партнер для анализируемого вещества и обнаруживаемый маркер, второй связывающий партнер для анализируемого вещества, содержащий метку, связывающий партнер контрольной зоны или любую их комбинацию). На этом этапе собранная проба переносится непосредственно на тест-полоску. Тест-полоска предпочтительно включает одну или несколько капиллярно активных ваточных холстов или мембран.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления образец добавляют к хроматографической тест-полоске, а конъюгат добавляют, как отдельный этап после того, как добавляют образец. В этих вариантах осуществления конъюгат и образец не добавляются одновременно. Например, пробоотборник, включающий образец, помещают в зону нанесения образца тест-полоски. По меньшей мере некоторое

количество образца переносится на тест-полоску в это время. Затем добавляют пресс для образцов, содержащий конъюгат, и пресс для образцов прижимает пробоотборник. Это способствует дополнительному переносу образца, а также переносу конъюгата, на тест-полоску. При наличии анализируемого вещества комплекс между анализируемым 5 веществом в образце и конъюгатом может образоваться, как только конъюгат начнет прижимать образец. В случае жидких образцов комплекс начинает образовываться благодаря жидкой природе самого образца. В предпочтительных вариантах осуществления второй связывающий партнер для анализируемого вещества также находится либо на прессе для образцов, либо в зоне нанесения образца тест-полоски. 10 В этих вариантах осуществления полный "сэндвич" между первым связывающим партнером, анализируемым веществом и вторым связывающим партнером может образоваться даже до добавления буфера. Добавление буфера дополнительно улучшает образование комплекса, а затем и транспорт элементов в зону обнаружения. Поскольку комплекс может образовываться во время сдавливания, может существовать временной разрыв между взятием образцов и проведением теста. Реакция между анализируемым 15 веществом и конъюгатом предпочтительно начинается до того, как к тест-полоске добавляется буфер. Временной разрыв между добавлением образца и конъюгата и добавлением буфера может составлять до 24 часов или даже больше.

Процесс обнаружения либо начнется непосредственно с переносом образца, либо 20 может потребоваться, чтобы для анализа образца применили элюирующую среду. В некоторых вариантах осуществления элюирующей средой является простая водопроводная вода. В других вариантах осуществления элюирующей средой является щелочной буферный раствор. В случае иммунохимической тест-полоски, где зона обнаружения находится горизонтально ниже от зоны нанесения образца, выбранная 25 элюирующая среда перемещается в сторону зоны обнаружения и, таким образом, проходит место контакта внутри устройства сбора. Анализируемое вещество и конъюгат элюируются посредством элюирующей среды и переносятся с ней к зоне обнаружения. В зоне обнаружения анализируемое вещество определяется качественными и/или количественными способами, например, в реакции иммунологического связывания.

Тест-полоска может быть сделана из одного хроматографического материала или 30 предпочтительно из нескольких капиллярно активных материалов, сделанных из одного и того же или различных материалов, и зафиксированных на подложке носителя. Эти материалы находятся в тесном контакте друг с другом таким образом, чтобы образовать путь перемещения, вдоль которого жидкость, движимая капиллярными силами, течет 35 из стартовой зоны, проходя место контакта мазка и зоны обнаружения, к зоне сброса на другом конце полоски.

Некоторые предпочтительные материалы и мембраны для тест-полоски включают, без ограничений, волокна полиэтилентерефталата (PET), такие как волокна Dacron®, нитроцеллюлозу, полиэстер, нейлон, ацетат целлюлозы, гидрогель, полипропилен, 40 стекловолокна и комбинацию этих материалов и их подложек. Характерные особенности ваточных холстов и мембран зависят от типа материалов, применяемых для конкретной области или зоны тест-полоски или устройства сбора. Как описано в настоящем документе, материалы, которые позволяют реагентам (включая те в зоне реагентов, в зоне захвата или в любой другой зон из описанных в настоящем документе) быть 45 подвижными и передвигаться с элюирующей средой, включают материалы ваточного холста или волокна, при которых связывание не является специфическим или долговременным, так что анализируемое вещество и реагенты могут высвободиться, когда они встречаются с элюирующей средой или с большим объемом образца.

Некоторые из этих материалов включают, но без ограничений, волокна полиэтилентерефталата (PET), такие как волокна Dacron®, волокна нейлона, волокна полиэстера, волокна ацетилцеллюлозы, волокна нолипропилена, стекловолокна, пену, губки и другие ткани и сети. Напротив, материалы, которые иммобилизуют реагенты в определенной зоне (включая, например, реагенты, иммобилизованные в тестовой 5 зоне и контрольной зоне зоны обнаружения и захватывающие реагенты в вариантах осуществления, которые включают захватывающие реагенты, иммобилизованные в зоне захвата ниже зоны нанесения образца), включают, но без ограничения, волокна нитроцеллюлозы и нейлона, химически обработанные таким образом, что 10 индивидуальные волокна в нейлоновой сети необратимо связывают реагенты, такие как белки. Некоторые способы изготовления различных частей полоски включают, но без ограничения, нанесение полос, распыление, вымачивание и высушивание материалов на полоске.

Тогда как во многих вариантах осуществления настоящего изобретения для зоны 15 обнаружения применяют нитроцеллюлозу, в других вариантах осуществления могут применяться нейтральные мембраны, такие как нейлон или полиэстер. В этих вариантах осуществления белки, такие как нейтравидин, антитела и антигены, наночастицы или нуклеиновые кислоты не иммобилизуются напрямую. Вместо этого их конъюгируют в, микросферы, которые "откладываются" в мембране и удерживаются в щелях.

Некоторые предпочтительные материалы для вкладышной части пресса для образцов 20 включают, но без ограничений, волокна полиэтилентерефталата (PET), такие как волокна Dacron®, волокна нейлона, волокна полиэстера, волокна ацетилцеллюлозы, волокна полипропилена, стекловолокна, ваточный холст, пену, губки и другие ткани и сети.

Материалы тест-полоски предпочтительно фильтруют и/или задерживают твердые 25 частицы, а также клеточный детрит, осадки и т.д., в мембранах. Кроме того, поскольку объем образца предпочтительно настолько мал, образец остается включенным в материалы, и элюирующий буфер, протекающий непосредственно под образцом, контактирует и перемещает образец таким образом, что образец можно экстрагировать, 30 лизировать и/или отфильтровать, прежде чем он достигнет тестовой зоны в зоне обнаружения.

Более того, устройства и тестовые наборы настоящего изобретения предпочтительно осуществляют способы, описанные в настоящем документе.

В предпочтительных вариантах осуществления конъюгат размещают на прессе для 35 образцов, отдельно от устройства анализа образцов. Конъюгат предпочтительно включает первый связывающий партнер для анализируемого вещества, а также маркирован обнаруживаемым маркером. Маркер предпочтительно обнаруживается визуально и/или с помощью флуоресценции, но можно применять любую форму обнаружения, известную в данной области техники, в зависимости от выбранного 40 маркера.

В некоторых вариантах осуществления обнаруживаемым маркером для конъюгата может быть коллоидное золото, цветные латексные шарики, флуоресцентные наночастицы, хемилюминесцентные наночастицы, парамагнитные наночастицы или фосфоресцирующие наночастицы.

Качественная интерпретация выполняется визуально путем наблюдения за 45 интенсивностью и цветом тестовой зоны. В примере, где в качестве маркера применяют видимый красный краситель, когда концентрация анализируемого вещества равняется или немного превышает нижний предел обнаружения, тестовая зона едва видна и

розового цвета. По мере повышения концентрации анализируемого вещества интенсивность тестовой зоны соответственно увеличивается, и цвет меняется от розового к ярко-красному. Количественную интерпретацию выводят с использованием спектрометра, действующего в видимой области спектра. Для выведения количественной оценки тестовой зоны можно использовать либо измерение поглощения, либо измерение отражения в видимой области спектра. Сначала выводят набор характерных концентраций анализируемого вещества. Каждая из концентраций наносится на зону нанесения образца и проводится тест. Спектрометр применяют для измерения либо поглощения, либо отражения тестовой зоны. Калибровочную кривую рассчитывают на основании измеренных спектрометром значений. Калибровочная кривая, как правило, является линейной. В других вариантах осуществления, если используются флуоресцентные метки, можно выводить подобный набор известных концентраций анализируемого вещества. Неизвестная концентрация анализируемого вещества, протестированного и количественно определенного спектрометром, дает значение, которое при нанесении на калибровочную кривую может быть соотнесено с концентрацией анализируемого вещества.

Визуальным маркером может быть любой маркер, видимый невооруженным глазом, включающий, но без ограничения, цветные частицы, такие как коллоидное золото, окрашенные латексные шарики, селен или углерод. В некоторых вариантах осуществления визуальные метки также покрыты флуоресцирующими элементами. В некоторых вариантах осуществления флуоресцирующий элемент является флуоресцирующим красителем. Альтернативно, смесь предпочтительно бесцветных флуоресцирующих латексных шариков-конъюгатов смешивается с конъюгатами коллоидного золота (видимая область спектра) или конъюгатами, образующими визуально читаемую тестовую зону, в иммунологических анализах с горизонтальным потоком для повышения чувствительности анализа и способствования визуальному чтению истинно положительных и истинно отрицательных результатов. В вариантах осуществления, где применяют наночастицы, наночастицы, которые можно применять, включают, но без ограничения, селен, углерод и коллоидное золото.

В некоторых вариантах осуществления второй связывающий партнер для анализируемого вещества также размещают на прессе для образцов. Второй связывающий партнер включает метку, но не содержит обнаруживаемый маркер. Второй связывающий партнер можно альтернативно размещать в зоне нанесения образца тест-полоски, выше зоны нанесения образца или в любом месте на тест-полоске между зоной нанесения образца и зоной обнаружения. В вариантах осуществления, где имеется второй связывающий партнер для анализируемого вещества, либо выше зоны обнаружения, либо на прессе для образцов, зона обнаружения включает неподвижную метку, которая связывает меточную часть второго связывающего партнера.

В одном предпочтительном варианте осуществления второй связывающий партнер помечен биотипом. В вариантах осуществления, при которых метка на втором связывающем партнере представляет собой биотин, иммобилизованной меткой в зоне обнаружения предпочтительно является авидин, нейтравидин или стрептавидин. В других вариантах осуществления второй связывающий партнер помечен авидином, нейтравидином или стрептавидин. В этих вариантах осуществления иммобилизованная метка в зоне обнаружения предпочтительно представляет собой биотин. Альтернативно, меткой на втором связывающем партнере может быть лектин, а иммобилизованной меткой может быть гликозильная часть. Например, в некоторых вариантах осуществления лектин представляет собой лектин гороха посевного, а гликозильной

частью является гликозильная единица эритроцита. Метку на втором связывающем партнере и иммобилизованную метку можно менять местами в пределах сущности настоящего изобретения. Например, гликозильная часть может быть меткой на втором связывающем партнере, с иммобилизованной лектиновой меткой в зоне обнаружения.

5 В других вариантах осуществления могут использоваться другие рецепторы и лиганды.

В предпочтительном варианте осуществления специфическими связывающими партнерами для анализируемых веществ в зоне конъюгата на прессе для образцов и/или в зоне нанесения образца являются моноклональные, поликлональные или рекомбинантные антитела или фрагменты антител, способные связывать  
10 болезнетворный организм. В других вариантах осуществления специфическими связывающими партнерами также могут быть антигены, способные связывать антитела к болезнетворному организму, иммунному медиатору, пептидам, гликопротеинам или аллергену. Другими типами связывающих партнеров являются такие биоорганические макромолекулы, как аптамеры или рецепторы, наночастицы или нуклеиновые кислоты.  
15 Способы и устройства настоящего изобретения можно применять для любых связывающих анализов, и можно избежать применения антител/антигенов или нуклеиновых кислот, например, в лиганд-рецепторных связывающих анализах и фермент-субстратных связывающих анализах.

Во всех этих вариантах осуществления полный "сэндвич" предпочтительно создается  
20 между первым связывающим партнером конъюгата, анализируемым веществом и вторым связывающим партнером в зоне нанесения образца, если анализируемое вещество присутствует. Альтернативно, полный "сэндвич" может образовываться между зоной нанесения образца и зоной обнаружения, если либо первый связывающий партнер либо второй связывающий партнер размещается ниже зоны нанесения образца.  
25 Полный "сэндвич" затем движется к зоне обнаружения, где метка на втором связывающем партнере связывается с иммобилизованной меткой в зоне обнаружения. Следует обратить внимание, что комплекс между меткой на втором связывающем партнере и иммобилизованной меткой в зоне обнаружения возникает независимо от того, присутствует анализируемое вещество или нет. Однако комплекс можно  
30 обнаружить, только когда присутствует анализируемое вещество, и конъюгат (который содержит обнаруживаемый маркер) связан с анализируемым веществом.

В других вариантах осуществления вместо того, чтобы размещать второй связывающий партнера для анализируемого вещества либо на прессе для образцов, либо на тест-полоске выше зоны обнаружения, иммобилизованный второй связывающий  
35 партнер для анализируемого вещества размещают в зоне обнаружения. В этих вариантах осуществления половина "сэндвича" образуется между первым связывающим партнером конъюгата и анализируемым веществом, которые потом движутся к тестовой зоне, где половина "сэндвича" связывается с иммобилизованным вторым связывающим партнером, завершая полный "сэндвич".

40 Устройство также предпочтительно содержит контрольную зону, которая показывает, правильно ли был проведен тест. В предпочтительных вариантах осуществления связывающий партнер контрольной зоны, например, подвижный связывающий партнер контрольной зоны с визуальным маркером, также размещается на прессе для образцов. Помещение подвижного связывающего партнера контрольной зоны, который в  
45 контрольной зоне связывается с иммобилизованным связывающим партнером, на прессе для образцов будет показывать, произошел или нет перенос конъюгата от пресса для образцов в зону нанесения образца устройства анализа образцов. Это очень полезный контроль, поскольку для обнаружения присутствия анализируемого вещества

обязательно, чтобы конъюгат был перенесен.

Образец может быть взят при помощи стандартного приспособления для сбора мазков, которые применяются в настоящее время во врачебных кабинетах или кабинетах неотложной помощи. Это приспособление для сбора мазков впоследствии вдавливаются в зону нанесения образца хроматографической тест-полоски с помощью прессы для образцов.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления вместо лизирования клеток "снаружи" устройства тестирования по месту лечения настоящее изобретение использует "лизис in situ". В этих вариантах осуществления способы и устройства настоящего изобретения включают зону лизиса, содержащую по меньшей мере одно лизирующее средство как часть аналитической тест-полоски с горизонтальным потоком, такой, как описывается в настоящем документе, или других аналитических устройств с горизонтальным потоком, известных в данной области, чтобы лизировать материал образца in situ. Кроме того, зона захвата захватывает мешающие вещества, чтобы повысить точность анализа.

После загрузки образца, образец, движущийся вместе с перемещающей жидкостью, встречается с лизирующим средством. Лизирующее средство должно быть предварительно загружено на тест-полоску, и элюируется с помощью перемещающей жидкости. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления лизирующее средство высушено на тест-полоске. Альтернативно, лизирующее средство может быть предварительно высушено посредством сушки вымораживанием или лиофилизации, а затем предварительно загружается на тест-полоску. В других вариантах осуществления лизирующее средство может абсорбироваться, адсорбироваться, заключаться или захватываться на тест-полоске. В предпочтительном варианте осуществления лизирующее средство располагают в зоне нанесения образца или выше зоны нанесения образца таким образом, что образец лизируется, когда он переносится к устройству анализа образцов. Лизирующее средство предпочтительно растворимо в или способно смешиваться с перемещающей образец жидкостью, и лизирующее средство растворяется и активируется при контакте с перемещающей образец жидкостью. Тогда перемещающая образец жидкость содержит как лизирующее средство в растворе или суспензии, так и компоненты образца в суспензии. Любые поддающиеся лизису компоненты в образце, после того, как они в суспензии подвергаются воздействию лизирующего средства, сами лизируются in situ. Анализируемое вещество тогда предпочтительно подвергается воздействию как маркированного конъюгата, так и второго связывающего партнера, для образования "сэндвича" до достижения зоны обнаружения. Альтернативно, лизирующее средство можно включить в подвижный буфер.

Альтернативно, лизирующее средство можно вводить в тест-полоску на этапе сдавливания образца. В одном варианте осуществления лизирующее средство размещают на вкладыше прессы для образцов. Альтернативно, лизирующее средство можно высушивать на приспособлении для сбора мазков пробоотборника, если нет необходимости, чтобы приспособление для сбора мазков было стерильным. В противном случае, приспособление для сбора мазков можно стерилизовать после добавления лизирующего средства, применяя методы стерилизации, которые не нарушают лизирующие способности лизирующего средства.

Концентрация лизирующего средства, предварительно загруженного на тест-полоску, предпочтительно составляет от 0,001% до 5% вес/объем. Объем, который следует предварительно загрузить, зависит от того, куда предварительно загружают лизирующее средство. Подходящими диапазонами являются 1-10 микролитров, когда предварительно

загружены в ваточный холст пробоотборника (зону нанесения образца), или 5-50 микролитров, когда предварительно загружены в абсорбирующий вкладыш или в другие места в пределах тест-полоски. Оптимально, предварительно загруженное количество должно быть приблизительно 3 микролитра, предварительно загруженное в ваточный холст пробоотборника, или приблизительно 10 микролитров, предварительно загруженное в абсорбирующий вкладыш или другие места в пределах тест-полоски.

Выбор специфической лизирующей среды и средства будет зависеть от анализируемого вещества и анализа. Для лизирующей среды ключевыми являются рН и ионная сила. Что касается рН, устанавливаемого лизирующим средством, при рН ниже 4,0 наблюдается тенденция к осаждению материалов, особенно белков. При более высоком рН, выше приблизительно 10,0, наблюдается тенденция к лизированию материалов, таких как белки и клеточные стенки. Следовательно, рН, приблизительно 10,0 или выше, является предпочтительным для многих применений. Альтернативно, более низкий рН может быть предпочтительным для целей из нуклеиновых кислот.

Что касается ионной силы, устанавливаемой лизирующим средством, для лизирования можно применять как высокую, так и низкую ионную силу. Например, при более низкой ионной силе (гипотонической) наблюдается тенденция к разрушению эритроцитов. Вода сама по себе может лизировать эритроциты. Окружения с более высокой ионной силой можно применять для разрыва определенных клеточных стенок и мембран.

Что касается специфических лизирующих средств, их можно группировать и отбирать, исходя из их свойств: соли, амфотерные и катионные средства, а также ионные и неионные детергенты. Хлорид аммония ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) лизирует эритроциты. Другие соли, включающие, но без ограничений, высокие концентрации хлорида натрия ( $\text{NaCl}$ ) и хлорида калия ( $\text{KCl}$ ), могут разрывать определенные клеточные стенки и мембраны. Другими лизирующими средствами являются амфотерные средства, включающие, но без ограничений, Lyso PC, CHAPS и Zwittergent. Альтернативно, катионные средства, включающие, но без ограничений, C16 TAB и хлорид бензалкония, можно применять в качестве лизирующего средства. Как ионные, так и неионные детергенты часто применяют для разрушения или лизирования компонентов клеточной стенки или клеточной мембраны, таких как липопротеины и гликопротеины. Обычные ионные детергенты включают, но без ограничений, SDS, EDTA, холат и дезоксихолат. Ионные детергенты являются хорошими растворяющими средствами. Антитела сохраняют свою активность в 0,1% SDS или менее. Обычные неионные детергенты включают, но без ограничений, октил-гликозид, дигитонин, C12E8, Lubrol, Triton X-100, Nonidet P-40, Tween 20 и Tween 80. Неионные и умеренно ионные детергенты являются более слабыми денатурирующими средствами и часто применяются для повышения растворимости мембранных белков, таких как поверхностные белки вирусов. Дополнительные лизирующие средства включают, но без ограничений, мочевины и ферменты. Для оптимизирования лизирующей среды можно применять комбинации различных лизирующих средств.

Поверхностно-активные вещества, как правило, действуют как смачивающие агенты и снижают поверхностное натяжение жидкости. Это к тому же позволяет облегчить распространение путем снижения межфазного натяжения между жидкостями. Итак, поверхностно-активные вещества могут мешать естественному связыванию антигена и антитела или лиганда и рецепторов. Поэтому концентрации выбираются опытным путем для каждого класса лизирующих средств. После осуществления лизиса важно, чтобы не блокировались требуемые реакции связывания. Как правило, 0,001%

концентрация лизирующего средства считается нижним пределом, а верхний предел составляет приблизительно 1%. При применении комбинаций лизирующих средств наблюдается суммарный или синергетический эффект. Это расширяет рабочий диапазон концентрации, составляющий от приблизительно 0,001% до 1%. Наконец, некоторые  
5 нежелательные неспецифические связывания можно предотвратить при 5% концентрации Tween 20. Во всех случаях общего количества лизирующего средства, предварительно загружаемого на все места отдельно взятой тест-полоски, должно быть достаточно, чтобы лизировать препятствия к иммунологическому обнаружению, делая возможным практическое использование тест-полоски.

10 Само лизирующее средство не должно мешать никаким другим средствам обнаружения или индикации анализа и, таким образом, не мешать никаким другим взаимодействиям и реакциями анализа до такой степени, чтобы препятствовать практическому применению анализа. Лизирующее средство должно иметь достаточный срок годности, чтобы делать возможным изготовление, распространение и хранение  
15 перед применением тест-полоски в тестировании по месту лечения.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения устройство с горизонтальным потоком настоящего изобретения включает перемещающую образец жидкость, которая может быть буфером, пресс для образцов и хроматографическую  
20 тест-полоску, содержащую один или несколько материалов ваточного холста или мембран с капиллярными свойствами, через которые течет образец. В устройстве и способе настоящего изобретения, необязательно лизировать клетки в образце до нанесения образца на тест-полоску.

На фиг.1 изображено устройство анализа образцов (тест-полоска) 1 и пробоотборник 2. Пробоотборник 2 может быть пробоотборником 2 любого типа, известного в данной  
25 области, например, пробоотборником 2 может быть приспособление для сбора мазков. Образец 20 может включать анализируемое вещество 3. а также мешающие частицы 5 (которые могут включать мешающие белки или мешающие гены) и другие мешающие частицы или клеточный детрит 4. Устройство анализа образцов 1 включает на этой  
30 фигуре зону конъюгата 8 выше зоны нанесения образца 18. Хотя на этой фигуре зона конъюгата 8 показана выше зоны нанесения образца 18, зона конъюгата 8 может альтернативно совпадать с зоной нанесения образца 18 или находиться ниже зоны нанесения образца 18 в пределах сущности настоящего изобретения. Зона нанесения образца 18 также является зоной микрофилтрации, которая предпочтительно  
35 отфильтровывает клеточный детрит и мешающие частицы 4, находящиеся в образце 20.

Зона конъюгата 8 предпочтительно включает как подвижный конъюгат 15, содержащий часть, которая связывается с анализируемым веществом 3, и обнаруживаемый маркер, так и связывающий партнер контрольной зоны 16 с обнаруживаемым маркером, который может быть, например, антителом контрольной  
40 зоны с визуальным маркером. В некоторых вариантах осуществления подвижный конъюгат представляет собой конъюгат тестового антитела с визуальным маркером. Связывающий партнер контрольной зоны 16 связывается со своим иммобилизованным связывающим партнером в контрольной зоне 11 и показывает, правильно ли проведен гест. Если анализируемое вещество 3 присутствует в образце 20, то анализируемое  
45 вещество связывается с конъюгатом 15, и комплекс конъюгат 15-анализируемое вещество 3 движется к тестовой зоне 10 в зоне обнаружения 12. Анализируемое вещество 3 затем связывается с иммобилизованным связывающим партнером 17 для анализируемого вещества 3, образуя полный "сэндвич" в анализе типа "сэндвич".



Перенос образца из пробоотборника 2 к зоне нанесения образца 18 на устройстве анализа образцов предпочтительно является прямым переносом, т.е. перенос происходит без предварительной обработки образца на пробоотборнике 2. В вариантах осуществления без предварительной обработки образца или пробоотборника 2

5 применяется давление 14, и микрофльтрация происходит в области, где ваточный холст пробоотборника непосредственно контактирует с ваточным холстом на устройстве анализа образцов 1. Волокна ваточного холста смыкаются, образуя решетку или физическое препятствие. Таким образом, содержащиеся в образце крупные элементы, например, клеточный детрит и мешающие частицы 4, задерживаются и не элюируются.

10 Устройство нанесения образца 1 предпочтительно также включает зону блокировки 9, которая включает один или несколько захватывающих реагентов. Эта зона блокировки захватывает мешающие белки и/или гены 5, которые могут находиться в образце 20. Захват мешающего вещества 4, 5 одним или несколькими захватывающими реагентами происходит, когда захватывающий реагент каким-либо образом

15 взаимодействует с мешающим веществом, чтобы не дать мешающему веществу помешать обнаружению анализируемого вещества. Хотя на фиг.1 показана зона блокировки 9, захватывающие реагенты могут размещаться в зоне захвата 9, изготовленной из материалов, которые позволяют захватывающим реагентам быть подвижными, в элюирующей среде, быть смешаны и высушены с реагентами,

20 встраиваться в зону нанесения образца, встраиваться в состав материала ваточного холста пробоотборника и/или быть иммобилизованными на иммобилизующем материале (например, нитроцеллюлозе) либо как линия, либо как зона. Любой из этих вариантов или их любую комбинацию можно применять в вариантах осуществления настоящего изобретения, в зависимости от теста и матрицы образцов.

25 Устройство анализа образцов 1 также необязательно включает абсорбирующий вкладыш 7 выше зоны конъюгата 8 и зоны нанесения образца 18. Буфер добавляют, и он движется в направлении стрелки 6 для элюирования компонентов теста, включающих образец 20, конъюгат 15 и связывающий партнер контрольной зоны 16, к зоне обнаружения 12. Устройство анализа образцов 1 также предпочтительно включает

30 вкладыш сброса 13 в нижнем конце устройства 1. Устройство анализа образцов 1 также может необязательно включать подложку 23.

Устройства и способы настоящего изобретения включают пресс для образцов 30. Некоторые схематические примеры прессов для образцов 30, которые можно применять, показаны на фигурах 2А и 2В. Прессы для образцов 30 предпочтительно включают

35 ручку 31, выступающую часть 32 и вкладышную часть 33. В некоторых конструкциях пресс для образцов включает дополнительные секции, такие как подошвенную часть 34, которая размещается над вкладышной частью 33. Хотя на фигурах 2А и 2В показаны конкретные примеры, любой пресс для образцов 30, который способен оказывать давление для переноса одного или нескольких компонентов анализа и образца на

40 устройство анализа образцов, можно применять в вариантах осуществления настоящего изобретения. В предпочтительных вариантах осуществления конъюгат 36 предварительно загружается и высушивается на вкладыше 33, который образует зону конъюгата. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления маркированный контроль 61, который способен образовывать комплекс со связывающим партнером

45 в контрольной зоне, также предварительно загружается и высушивается на вкладыше 33 прессы для образцов 30. В других предпочтительных вариантах осуществления второй связывающий партнер 38 для анализируемого вещества размещается на вкладыше 33. Любая комбинация из конъюгата 36, второго связывающего партнера 38 или

связывающего партнера контрольной зоны 61 может находиться на вкладышной части 33 пресса для образцов 30.

На фиг.2С изображен пример пробоотборника 35. В этом примере пробоотборник 35 является приспособлением для сбора мазков. Пробоотборник 35 предпочтительно включает пробоотборную часть 60, которая предпочтительно изготовлена из материалов типа ваточного холста. В некоторых вариантах осуществления пробоотборник 35 является стерильным.

На фигурах с 3А по 3С изображен один вариант осуществления системы с прессом для образцов 30, пробоотборником 35 и устройством анализа образцов (тест-полоска на фигуре). Тест-полоска предпочтительно включает абсорбирующий вкладыш 42, зону нанесения образца 44, зону обнаружения 52 и необязательный вкладыш сброса 47. Тест-полоска также предпочтительно включает подложку носителя 48. Зона обнаружения 52 предпочтительно включает тестовую зону 45, содержащую иммобилизованный связывающий партнер 38 для анализируемого вещества 40, а также контрольную зону 46. В этом варианте осуществления конъюгат 36 находится на прессе для образцов 30. Первый связывающий партнер 37, который является частью конъюгата 36, из пресса для образцов 30 связывает анализируемое вещество 40 в тестовый образец, образуя половину "сэндвича", который затем перемещается ко второму связывающему партнеру 38, иммобилизованному в тестовой зоне 45. Полный "сэндвич" 420, который образуется между частью 37 конъюгата 36, связывающей анализируемое вещество 40, анализируемым веществом 40 и вторым связывающим партнером 38, показан на фиг.3В. В предпочтительных вариантах осуществления вкладыш 33 на прессе для образцов 30 также включает связывающий партнер контрольной зоны 61 с обнаруживаемым маркером. Связывающий партнер контрольной зоны 61 образует комплекс со своим связывающим партнером в контрольной зоне 46. Включение связывающего партнера контрольной зоны 61 на пресс для образцов 30, а не на тест-полоску или в буфер, как известно в предшествующем уровне техники, позволяет пользователю быть уверенным, что компоненты на прессе для образцов 30, которые в этом варианте осуществления включают как конъюгат 36, так и связывающий партнер контрольной зоны 61, эффективно перенесены к устройству анализа образцов, и, таким образом, обеспечивается правильное функционирование системы.

В одном примере как первый связывающий партнер 37, так и второй связывающий партнер 38 являются различными антителами к определяемому компоненту. Связывающий партнер контрольной зоны 61 также предпочтительно является антителом, а его связывающий партнер в контрольной зоне является антигеном (или наоборот). В других вариантах осуществления специфическими связывающими партнерами также могут быть антигены, способные связываться с антителами к анализируемому веществу. Другими типами связывающих партнеров являются такие биоорганические макромолекулы, как аптамеры или рецепторы, наночастицы или нуклеиновые кислоты. Устройство, показанное на фигурах 3А-3С настоящего изобретения, можно применять для любых анализов связывания и позволяет избежать применения антител/антигенов или нуклеиновых кислот, например, в анализах лиганд-рецепторного связывания и анализах фермент-субстратного связывания.

При эксплуатации пробоотборник 35 помещают таким образом, чтобы образец находился непосредственно над зоной нанесения образца 44. В некоторых вариантах осуществления помещение пробоотборника 35 над зоной нанесения образца 44 не является одновременным с помещением пресса для образцов 30. Другими словами, в этих вариантах осуществления некоторое количество образца переносится к зоне

нанесения образца 44 до того, как пресс для образцов 30 добавляется к вертикальной стопке.

Пресс для образцов 30 прилагает давление 51 на пробоотборник 35, за счет давления переносит образец, включающий анализируемое вещество 40 (если оно присутствует) и конъюгат 36, на зону нанесения образца 44. Если на прессе для образцов 30 также имеется связывающий партнер контрольной зоны 61, связывающий партнер контрольной зоны 61 также переносится. Следует обратить внимание, что перенос связан с давлением, а не обусловлен потоком или капиллярным действием. Затем добавляется буфер 43, чтобы дать возможность комплексу конъюгат 36-анализируемое

вещество 40 (если присутствует) передвигаться к зоне обнаружения 52. Имобилизованный связывающий партнер 38 в тестовой зоне 45 затем связывает анализируемое вещество, образуя законченный "сэндвич". Поскольку конъюгат 36 включает маркер 41, образующийся комплекс является обнаруживаемым и указывает на положительный результат. Правильное функционирование теста также приводит к обнаруживаемому положительному результату в контрольной зоне 46 благодаря взаимодействию между связывающим партнером контрольной зоны 61 и его имобилизованным партнером в контрольной зоне 46.

Хотя это не показано, необязательно также может иметься зона лизиса, которая предпочтительно перекрывается или находится ниже зоны нанесения образца 44. В других вариантах осуществления может быть зона блокировки, которая включает захватывающие реагенты, подобно зоне, обсуждаемой в связи с фиг.1.

В других вариантах осуществления зона конъюгата может содержать оба связывающих партнера для анализируемого вещества в образце для образования "полного сэндвича". Один из связывающих партнеров предпочтительно имеет подходящий маркер, такой как биотин, авидин, лектин, гликозильную часть, специфический лиганд или специфический рецептор. Другой может быть конъюгированным с подходящими наночастицами, как указано ниже. Полный "сэндвич" затем захватывается в тестовой зоне, где имобилизован связывающий партнер соответствующего метчика, включающий, но без ограничений, авидин для биотина, биотин для авидина, гликозильную часть для лектина, лектин для гликозильной части, рецептор для лиганда или лиганд для рецептора.

На фиг.20А изображен пример тест-полоски по варианту осуществления настоящего изобретения. Тест-полоска предпочтительно включает абсорбирующий вкладыш 42, зону нанесения образца 44, зону обнаружения 52 и необязательный вкладыш сброса 47. Тест-полоска также предпочтительно включает подложку носителя 48. В этом варианте осуществления целый "сэндвич" (первый связывающий партнер 513-анализируемое вещество 40-второй связывающий партнер 518) образуется в зоне нанесения образца 44. "Полный сэндвич" 514 показан на фигуре 20В. Тестовая зоной 45 в лом варианте осуществления включает имобилизованную метку 510, которая связывается с меткой 519 второго связывающего партнера 518. Имобилизованная метка 510 не связывается непосредственно с анализируемым веществом 40; вместо этого она связывается через посредника, метку 519 на втором связывающем партнере 518 для анализируемого вещества 40.

В этом варианте осуществления первый связывающий партнер 513, который является частью маркированного конъюгата 505, связывает анализируемое вещество 40 в тестовый образец с образованием половины "сэндвича". Второй связывающий партнер 518 также включает метку 519. Второй связывающий партнер 518 в этом варианте осуществления предпочтительно предварительно загружается и высушивается в зоне

нанесения образца 44 тест-полоски, тогда как маркированный конъюгат 505 предпочтительно предварительно загружается и высушивается в зоне маркированного конъюгата 515 выше зоны нанесения образца 44. Альтернативно, второй связывающий партнер 518 и/или зона маркированного конъюгата 515 может размещаться где угодно па тест-полоске выше зоны обнаружения 52, включая, но без ограничений. перекрывание зоны нанесения образца 44, выше зоны нанесения образца 44 или между зоной нанесения образца 44 и зоной обнаружения 52. В одном предпочтительном варианте осуществления приблизительно 75-80% маркированного 509 конъюгата 505 находится выше зоны нанесения образца (с приблизительно 20-25% маркированного конъюгата 505, перекрывающими зону нанесения образца 44) и приблизительно 75-80% второго связывающего партнера 518 размещается ниже зоны нанесения образца 44 (с приблизительно 20-25% второго связывающего партнера, перекрывающими зону нанесения образца 44). Хотя это не является предпочтительным, в других вариантах осуществления либо маркированный конъюгат 505, либо второй связывающий партнер 518, либо их обоих можно размещать в буфере или предварительно смешивать с образцом, прежде чем образец добавляют на тест-полоску. В еще одних вариантах осуществления любой или все из компонентов они могут перекрывать зону обнаружения 52.

В некоторых вариантах осуществления как первый связывающий партнер 513, как и второй связывающий партнер 518 представляют собой различные антитела к анализируемому веществу 40. В других вариантах осуществления специфическими связывающими партнерами также могут быть антигены, способные связываться с антителами к анализируемому веществу. Другими типами связывающих партнеров являются биоорганические макромолекулы, такие как аптамеры или рецепторы, наночастицы или нуклеиновые кислоты. Устройство, показанное на фигуре 20А, можно применять для любых анализов связывания, и оно позволяет избежать применения антител/антигенов или нуклеиновых кислот, например, в анализах лиганд-рецепторного связывания и анализах фермент-субстратного связывания.

В одном предпочтительном варианте осуществления второй связывающий партнер 518 помечен 519 биотином. В вариантах осуществления, где меткой 519 на втором связывающем партнере 518 является биотин, иммобилизованной меткой 510 в зоне обнаружения 52 предпочтительно является авидин, нейтравидин или стрептавидин. В других вариантах осуществления второй связывающий партнер 518 помечен 519 авидином, нейтравидином или стрептавидином. В этих вариантах осуществления иммобилизованной меткой 510 в зоне обнаружения 52 предпочтительно является биотип. Альтернативно, меткой 519 на втором связывающем партнере 518 может быть лектин, а иммобилизованной меткой 510 может быть гликозильная часть. Например, в некоторых вариантах осуществления лектин является пектином гороха посевного, а гликозильная часть представляет собой гликозильный комплекс эритроцита. Метку на втором связывающем партнере и иммобилизованную метку можно менять местами в пределах сущности настоящего изобретения. Например, гликозильная часть может быть меткой на втором связывающем партнере, с иммобилизованной пектиновой меткой в зоне обнаружения. В других вариантах осуществления для меток можно применять другие рецепторы и лиганды.

При эксплуатации пробоотборник, содержащий образец, помещают таким образом, чтобы образец находился непосредственно над зоной нанесения образца 44. В предпочтительных вариантах осуществления образец не был подвергнут предварительной обработке до нанесения на тест-полоску. Напротив образец остается

в своей нативной форме.

Образец переносится на зону нанесения образца 44 тест-полоски. Образуется "сэндвич", с маркированным конъюгатом 505 в качестве одного куска хлеба и вторым связывающим партнером 518 в качестве второго куска хлеба, причем анализируемое  
5 вещество 40 находится между ними, когда эти три компонента контактируют друг с другом при потоке 43. Комплекс маркированный конъюгат 505-анализируемое вещество 40 (если оно присутствует)-второй связывающий партнер 518 (законченный "сэндвич") перемещается к зоне обнаружения 52. Имобилизованная метка 510 в тестовой зоне 45 затем связывает метку 519. Поскольку маркированный конъюгат 505 включает  
10 маркер 509, образующийся комплекс является обнаруживаемым и указывает на положительный результат. Правильное функционирование теста также приводит к обнаруживаемому положительному результату в контрольной зоне 46, предпочтительно благодаря взаимодействию между связывающим партнером контрольной линии и его имобилизованным партнером в контрольной зоне 46.

15 Хотя это не показано, также необязательно может быть зона лизиса, которая предпочтительно перекрывается с зоной нанесения образца 44 или альтернативно размещается в других частях тест-полоски в пределах сущности настоящего изобретения.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления с применением меток зона обнаружения включает антитело к метке. Антитело может быть моноклональным,  
20 поликлональным или монодоменным антителом. Например, когда меткой является биотип, антитело к биотину имобилизуют в тестовой зоне вместо авидина, ней травидина или стрептавидина.

На фигурах с 4А по 4С изображен пример варианта осуществления системы с прессом для образцов 30, пробоотборником 35 и устройством анализа образцов (тест-полоска  
25 на фигуре). Подобно фигурам 3А-3С тест-полоска предпочтительно включает абсорбирующий вкладыш 42, зону нанесения образца 44, зону обнаружения 52 и необязательный вкладыш сброса 47. Тест-полоска также предпочтительно включает подложку носителя 48. В этом варианте осуществления целый "сэндвич" (первый связывающий партнер 37-анализируемое вещество 40-второй связывающий партнер  
30 38) образуется в зоне нанесения образца 44 (предпочтительно перед добавлением буфера). В некоторых вариантах осуществления помещение пробоотборника 35 над зоной нанесения образца 44 не является одновременным с помещением пресса для образцов 30. Другими словами, в этих вариантах осуществления некоторое количество образца переносится к зоне нанесения образца 44 до того, как пресс для образцов 30  
35 добавляется к вертикальной стопке.

Тестовая зона 45 в этом варианте осуществления включает имобилизованную метку 50, которая связывается с меткой 39 второго связывающего партнера 38. В этом варианте осуществления первый связывающий партнер 37, который является частью конъюгата 36 и предпочтительно предварительно загружается и высушивается на вкладыше 33  
40 пресса для образцов 30, связывает анализируемое вещество 40 в тестовый образец, образуя половину "сэндвича". Второй связывающий партнер 38 в этом варианте осуществления также предпочтительно предварительно загружается и высушивается на вкладыше 33 пресса для образцов. Второй связывающий партнер 38 также включает метку 39.

45 Полный "сэндвич" 420, который образуется между связывающим партнером 37 конъюгата 36, анализируемым веществом 40 и вторым связывающим партнером 38 в этом варианте осуществления (а также в вариантах осуществления на фигурах 5А-5В, 6А-6В, 7В, 7С и 7D), показан на фиг.4В. В предпочтительных вариантах осуществления

вкладыш 33 на прессе для образцов 30 также включает связывающий партнер контрольной зоны 61 (показан на фиг.3С) с обнаруживаемым маркером. Связывающий партнер контрольной зоны 61 образует комплекс со своим связывающим партнером в контрольной зоне 46. Включение связывающего партнера контрольной зоны 61 на пресс для образцов 30, а не на тест-полоску или в буфер, как известно в предшествующем уровне техники, позволяет пользователю быть уверенным, что компоненты на прессе для образцов 30, включающие как конъюгат 36, так и связывающий партнер контрольной зоны 61, эффективно переносятся к устройству анализа образцов, и, таким образом, обеспечивается правильное функционирование системы.

В одном примере как первый связывающий партнер 37, так и второй связывающий партнер 38 являются различными антителами к анализируемому веществу. Связывающий партнер контрольной зоны 61 также предпочтительно является антителом, а его связывающий партнер в контрольной зоне является антигеном (или наоборот). В других вариантах осуществления специфическими связывающими партнерами также могут быть антигены, способные связываться с антителами к анализируемому веществу. Другими типами связывающих партнеров являются такие биоорганические макромолекулы, как аптамеры или рецепторы, наночастицы или нуклеиновые кислоты. Устройство, показанное на фигурах 4А-4С настоящего изобретения, можно применять для любых анализов связывания, и оно позволяет избежать использования антител/антигенов или нуклеиновых кислот, например, в анализах лиганд-рецепторного связывания и анализах фермент-субстратного связывания.

В одном предпочтительном варианте осуществления второй связывающий партнер 38 помечен биотином 39. В вариантах осуществления, в которых меткой 39 на втором связывающем партнере 38 является биотин, иммобилизованной меткой 50 в зоне обнаружения является предпочтительно авидин, нейтравидин или стрептавидин. В других вариантах осуществления второй связывающий партнер 38 помечен 39 авидином, нейтравидином или стрептавидином. В этих вариантах осуществления иммобилизованной меткой 50 в зоне обнаружения 52 является предпочтительно биоин. Альтернативно, меткой 39 на втором связывающем партнере 38 может быть пектин, а иммобилизованной меткой 50 может быть гликозильная часть. Например, в некоторых вариантах осуществления пектином является лектин гороха посевного, а гликозильная часть представляет собой гликозильную единицу эритроцита. Метку на втором связывающем партнере и иммобилизованную метку можно менять местами в пределах сущности настоящего изобретения. Например, гликозильная часть может быть меткой на втором связывающем партнере, с иммобилизованной лектиновой меткой в зоне обнаружения. В других вариантах осуществления для меток можно применять другие рецепторы и лиганды.

При эксплуатации пробоотборник 35 помещают таким образом, чтобы образец находился непосредственно над зоной нанесения образца 44. Пресс для образцов 30 прилагает давление 51 на пробоотборник 35. Давление переносит образец (включающий анализируемое вещество 40, если оно присутствует), конъюгат 36 и помеченный второй связывающий партнер 38 к зоне нанесения образца 44. Если на прессе для образцов 30 также имеется связывающий партнер контрольной зоны 61, то связывающий партнер контрольной зоны 61 также переносится. Следует обратить внимание, что перенос связан с давлением, а обусловлен потоком или капиллярным действием. Затем добавляется буфер 43, чтобы дать возможность комплексу конъюгат 36-анализируемое вещество 40 (если присутствует)-второй связывающий партнер 38 (законченный "сэндвич") передвигаться к зоне обнаружения 52. Иммобилизованная метка 50 в тестовой

зоне 45 затем связывает метку 39. Поскольку конъюгат 36 содержит маркер 41, образующийся комплекс является обнаруживаемым и указывает на положительный результат. Правильное функционирование теста также приводит к обнаруживаемому положительному результату в контрольной зоне 46. благодаря взаимодействию между связывающим партнером контрольной зоны 61 и его иммобилизованным партнером в контрольной зоне 46.

Хотя это не показано, необязательно также может иметься зона лизиса, которая предпочтительно перекрывается или находится ниже зоны нанесения образца 44. В других вариантах осуществления может быть зона блокировки, которая включает захватывающие реагенты, подобно зоне, обсуждаемой в связи с фиг.1.

В другом варианте осуществления два связывающих партнера для анализируемого вещества размещаются таким образом, чтобы добиться "вертикального сэндвича", при котором образец связывается с конъюгатом, сдавливаемым со стороны второй плоскости, и может связываться одновременно или параллельно со вторым связывающим партнером, размещенным на полоске в плоскости полоски. Таким образом, прослаивание анализируемого вещества в образце достигается путем связывания с партнером от конъюгата, доставляемого сверху относительно плоскости полоски, и связывания со вторым связывающим партнером, размещенном в плоскости полоски ниже материала, доставляющего образец.

На фигурах 5А и 5В изображен другой пример варианта осуществления системы с прессом для образцов 30, пробоотборником 35 и устройством анализа образцов (тест-полоска на фигуре). Подобно фигурам 3А-3С, тест-полоска предпочтительно включает абсорбирующий вкладыш 42, зону нанесения образца 44, зону обнаружения 52 и необязательный вкладыш сброса 47. Тест-полоска также предпочтительно включает подложку носителя 48. Подобно варианту осуществления, показанному на фигурах 4А и 4С, в этом варианте осуществления целый "сэндвич" (первый связывающий партнер 37-анализируемое вещество 40-второй связывающий партнер 38) образуется в зоне нанесения образца 44. Тестовая зона 45 в этом варианте осуществления включает иммобилизованную метку 50, которая связывается с меткой 39 второго связывающего партнера 38. В этом варианте осуществления первый связывающий партнер 37, который является частью конъюгата 36 и предпочтительно предварительно загружается и высушивается на вкладыше 33 пресса для образцов 30, связывает анализируемое вещество 40 в тестовый образец с образованием половины "сэндвича". Второй связывающий партнер 38 в этом варианте осуществления предпочтительно предварительно загружается и высушивается в зоне нанесения образца 44 тест-полоски. Второй связывающий партнер 38 также включает метку 39. Альтернативно, второй связывающий партнер 38 в этом варианте осуществления может размещаться где угодно на тест-полоске выше зоны обнаружения, включая, но без ограничений, перекрывание зоны нанесения образца, выше зоны нанесения образца и между зоной нанесения образца и зоной обнаружения.

В предпочтительных вариантах осуществления вкладыш 33 на прессе для образцов 30 также включает связывающий партнер контрольной зоны 61 (показан на фиг.3С) с обнаруживаемым маркером. Связывающий партнер контрольной зоны 61 образует комплекс со своим связывающим партнером в контрольной зоне 46. Включение связывающего партнера контрольной зоны 61 на пресс для образцов 30, а не на тест-полоску или в буфер, как известно в предшествующем уровне техники, позволяет пользователю быть уверенным, что компоненты на прессе для образцов 30, которые включают как конъюгат 61, так и связывающий партнер контрольной зоны 61,

эффективно перенесены к устройству анализа образцов, и, таким образом, обеспечивается правильное функционирование системы.

В одном примере как первый связывающий партнер 37, так и второй связывающий партнер 38 являются различными антителами к анализируемому веществу. Связывающий партнер контрольной зоны 61 также предпочтительно является антителом, а его связывающий партнер в контрольной зоне является антигеном (или наоборот). В других вариантах осуществления специфическими связывающими партнерами также могут быть антигены, способные связываться с антителами к анализируемому веществу. Другими типами связывающих партнеров являются такие биоорганические

макромолекулы, как аптамеры или рецепторы, наночастицы или нуклеиновые кислоты. Устройство, показанное на фигурах 5А-5В настоящего изобретения можно применять для любых анализов связывания, и оно позволяет избежать использования антител/антигенов или нуклеиновых кислот, например, в анализах лиганд-рецепторного связывания и анализах фермент-субстратного связывания.

В одном предпочтительном варианте осуществления второй связывающий партнер 38 помечен биотином 39. В вариантах осуществления, в которых меткой 39 на втором связывающем партнере 38 является биотин, иммобилизованной меткой 50 в зоне обнаружения является предпочтительно авидин, нейтравидин или стрептавидин. В других вариантах осуществления второй связывающий партнер 38 помечен 39 авидином, нейтравидином или стрептавидином. В этих вариантах осуществления иммобилизованной меткой 50 в зоне обнаружения 52 является предпочтительно биотин. Альтернативно, меткой 39 на втором связывающем партнере 38 может быть лектин, а иммобилизованной меткой 50 может быть гликозильная часть. Например, в некоторых вариантах осуществления пектином является лектин гороха посевного, а гликозильная часть представляет собой гликозильную единицу эритроцита. Метку на втором связывающем партнере и иммобилизованную метку можно менять местами в пределах сущности настоящего изобретения. Например, гликозильная часть может быть меткой на втором связывающем партнере, с иммобилизованной лектиновой меткой в зоне обнаружения. В других вариантах осуществления для меток можно применять другие рецепторы и лиганды.

В процессе эксплуатации пробоотборник 35 помещается таким образом, чтобы образец находился непосредственно над зоной 44 нанесения образца. Пресс для образцов 30 прилагает давление 51 на пробоотборник 35, за счет давления переносит образец (включающий анализируемое вещество 40, его оно присутствует) и конъюгат 36 на зону нанесения образца 44. Образуется "вертикальный сэндвич" с конъюгатом 36 в качестве верхнего куска и вторым связывающим партнером 38 в качестве нижнего куска, а также анализируемым веществом 40 между ними. Если на прессе для образцов 30 также имеется связывающий партнер контрольной зоны 61, связывающий партнер контрольной зоны 61 также переносится. Следует обратить внимание, что перенос связан с давлением, а не обусловлен потоком или капиллярным действием. Затем добавляется буфер 43, чтобы дать возможность комплексу конъюгат 36-анализируемое вещество 40 (если присутствует)-второй связывающий партнер 38 (законченный "сэндвич") двигаться к зоне обнаружения 52. Иммобилизованная метка 50 в тестовой зоне 45 связывает метку 39. Поскольку конъюгат 36 содержит маркер 41, образующийся комплекс является обнаруживаемым и указывает на положительный результат. Правильное функционирование геста также приводит к обнаруживаемому положительному результату в контрольной зоне 46 благодаря взаимодействию между связывающим партнером контрольной зоны 61 и его иммобилизованным партнером



в контрольной зоне 46.

Хотя это не показано, необязательно также может иметься зона лизиса, которая предпочтительно перекрывается или находится ниже зоны нанесения образца 44. В других вариантах осуществления может быть зона блокировки, которая включает захватывающие реагенты, подобно зоне, обсуждаемой в связи с фиг. 1.

На фигурах 6А и 6В изображен другой вариант осуществления настоящего изобретения, при котором пресс для образцов 30 включает второй связывающий партнер 38 для анализируемого вещества 40, спаренный с меткой 39, а тест-полоска включает конъюгат 36, который включает как первый связывающий партнер 37 для анализируемого вещества 40, так и обнаруживаемый маркер 41, и иммобилизованную метку 50, которая связывается с меткой на втором связывающем партнере в тестовой зоне 45. Этот вариант осуществления функционирует подобно варианту осуществления, описанному в связи с фигурами 5А и 5В, за исключением того, что вертикальный сэндвич образуется со вторым связывающим партнером 38 в качестве верхнего куска, конъюгатом 36 в качестве нижнего куска, а также анализируемым веществом 40 между ними. Альтернативно, конъюгат 36 в этом варианте осуществления может размещаться где угодно на тест-полоске выше зоны обнаружения, включая, но без ограничений, перекрывание зоны нанесения образца, выше зоны нанесения образца или между зоной нанесения образца и зоной обнаружения.

Фигуры с 7А по 7D подобны фигурам 3С, 4С, 5В и 6В, соответственно, за исключением того, что зона обнаружения 52 перекрывает зону нанесения образца 44. Зона обнаружения в этих вариантах осуществления предпочтительно сделана из нитроцеллюлозы. Хотя в этих вариантах осуществления нет строгой необходимости в горизонтальном потоке для проведения анализа, по меньшей мере незначительное количество потока является предпочтительным, чтобы "сэндвич" имел возможность связаться в тестовой зоне, а также любой несвязанный конъюгат вымылся из тестовой зоны. В одном варианте осуществления вместо нанесения подвижного буфера на конце тест-полоски, промывающую жидкость можно наносить непосредственно на тестовую зону, либо сверху, либо сбоку, например, с помощью фляги. В одном варианте осуществления пресс для образцов и пробоотборник являются преимущественно прозрачными, так чтобы тестовую зону можно было считывать, не удаляя вертикальную стопку с тест-полоски. Следует обратить внимание, что, хотя на этих фигурах как тестовая зона 45, так и контроль 46 показаны внутри зоны нанесения образца, в других вариантах осуществления тестовая зона 45 может перекрывать зону нанесения образца 44, тогда как контрольная зона 46 находится ниже зоны нанесения образца 44. Если бы контрольная зона была горизонтально ниже зоны нанесения образца 44, было бы необходимо добавлять буфер, чтобы сделать возможным поток. Кроме того, может быть предпочтительным добавлять буфер, например буфер, который включает серебро для улучшения сигнала с положительным результатом.

Универсальную тест-полоску 80, показанную на фиг. 8А, можно применять, когда пресс для образцов 30 включает оба связывающие партнера 37, 38 для анализируемого вещества 40. Пресс для образцов 30 и пробоотборник 35 переносят на универсальную тест-полоску 80 в окне для образца 81. Поскольку элементы, специфические для тестируемого анализируемого вещества 40, находятся на прессе для образцов 30, тестовой зоне 83 в окне просмотра 82 универсальной тест-полоски 80 нужно всего лишь иметь метку 50, которая образует комплекс с меткой 39 на втором связывающем партнере 38 для анализируемого вещества 40. Например, когда второй связывающий партнер 38 для анализируемого вещества 40 помечен 39 биотином, тестовая зона 83

универсальной тест-полоски 80 будет включать авидин 39, связывающий партнер для биотина. Универсальная тест-полоска 80 также предпочтительно включает контрольную зону 84 и корпус 85. Для вариантов осуществления по фигурам с 7А по 7D тестовая зона размещается в окне для образца 81. В других вариантах осуществления

5 соответствующим метчиком может быть нуклеотидная последовательность, которая может гибридизировать с соответствующей последовательностью нуклеиновых кислот, иммобилизованной в тестовой зоне.

Хотя пресс для образцов и пробоотборник показаны как отдельные объекты на фигурах 1-8А, вкладыш 33 пресса для образцов и пробоотборная часть 60

10 пробоотборника могут быть компонентами единого элемента в пределах сущности настоящего изобретения. Например, пробоотборник может быть вращающимся или гибким или соединен как часть картриджа с прессом для образцов таким образом, чтобы образец можно было отбирать у пациента с помощью пробоотборной части, не воздействуя на пациента вкладышем пресса для образцов, а затем пробоотборную

15 часть и вкладыш пресса для образцов можно было привести в контакт для нанесения в зону нанесения образца тест-полоски путем сдавливания. Пробоотборник также может быть вращающимся или гибко соединенным с тестовой кассетой или может быть вставлен в виде картриджа. В другом варианте осуществления образец может быть

20 принудительно введен прямо на тест-полоску до помещения пресса и/или конъюгатов в положение. В другом варианте осуществления пробоотборник может контактировать с конъюгатами во внешнем картридже, который потом защелкивается или вводится в тестовую кассету для приведения материала в контакт с тест-полоской.

В некоторых вариантах осуществления пресс для образцов 30 вращательно соединен с корпусом 85, как показано на фиг.8В. Хотя шарнир пресса для образцов 30 показана

25 так, что пресс для образцов 30 вращается в сторону нижнего конца полоски в открытом состоянии, корпус может быть сконструирован таким образом, что пресс для образцов 30 шарнирно поворачивался в обе стороны или в других направлениях, в пределах сущности настоящего изобретения. Пробоотборная часть 60 пробоотборника 35

30 предпочтительно вставляется сбоку, так чтобы располагаться на одном уровне со вставным отверстием 88 на боку корпуса 85. Однако пробоотборник 35 можно вставлять в любом направлении, в зависимости от конструкции корпуса. Пресс для образцов 30 предпочтительно включает вкладыш (не виден на фиг. 8В) с одним или несколькими компонентами анализа, размещенными на поверхности пресса для образцов, обращенной к зоне нанесения образца тест-полоски 80. Пресс для образцов 30 затем

35 закрывается таким образом, что давление сдавливания применяется к вертикальной стопке из вкладыша пресса для образцов, пробоотборной части и зоне нанесения образца для переноса образца и одного или нескольких компонентов анализа па зону нанесения образца тест-полоски. Хотя на фиг.8В абсорбирующий вкладыш горчит из корпуса в дальнем верхнем конце устройства, длина абсорбирующего вкладыша может

40 меняться. На самом деле, при условии, что буфер можно добавлять в верхний конец (например, через окно нанесения в корпусе), нет необходимости в том, чтобы абсорбирующий вкладыш значительно выдвигался за пределы корпуса. В этом варианте осуществления не существует возможности потерять пресс для образцов, и нет необходимости выравнивать пресс для образцов с зоной нанесения образца при

45 образовании вертикальной стопки. Одним преимуществом этих вариантов осуществления является то, что они допускают временной промежуток между нанесением образца и собственно запуском потока к тестовой зоне. Другими словами, "сэндвич" можно сделать предварительно, а поток запустить гораздо позднее.

Альтернативно, вкладыш 33 может быть отделен от пресса для образцов в пределах сущности настоящего изобретения. Вкладыш может находиться на аппликаторе связывающего партнера, сходным с пробоотборником. В этих вариантах осуществления аппликатор связывающего партнера можно размещать между пробоотборной частью и зоной нанесения образца, когда прессом для образцов применяет давление для переноса образца к зоне нанесения образца.

На фиг.9 изображена вертикальная стопка, включающая пресс для образцов 30, пробоотборник 35 с пробоотборной частью 60, аппликатор связывающего партнера 62 с вкладышем аппликатора 64 и зону нанесения образца 44 тест-полоски. Хотя аппликатор связывающего партнера 62 на фиг.9 включает ручку, аппликатор связывающего партнера 62 альтернативно может просто быть вкладышем.

Подошвенная часть 34 пресса для образцов 30 применяет давление к пробоотборной части 60, загруженной образцом, и аппликатору-вкладышу 64, загруженному по меньшей мере одним связывающим партнером для анализируемого вещества, на которое тестируют образец. Давление предпочтительно заставляет по меньшей мере часть образца из пробоотборной части 60 увлажнить аппликатор-вкладыш 64, таким образом, делая подвижным некоторое количество связывающего партнера так, чтобы по меньшей мере некоторое количество образца и некоторое количество связывающего партнера переносились к зоне нанесения образца 44. В некоторых вариантах осуществления этот перенос происходит без разведения. В вариантах осуществления с малыми объемами образца или вязкими или твердыми образцами, однако, можно применять дополнительную жидкость для облегчения переноса образца и связывающего партнера к тест-полоске. В некоторых вариантах осуществления, показанных на фиг.9, пресс для образцов не имеет вкладыша, хотя вкладыш можно применять для содействия переносу, например, путем обеспечения дополнительной жидкостью или буфером, в пределах сущности настоящего изобретения. В некоторых вариантах осуществления, показанных на фиг.9, пробоотборную часть 60 размещают между прессом для образцов 30 и аппликатором-вкладышем 64 в вертикальной стопке для содействия переносу связывающего партнера к тест-полоске во время сдавливания. Альтернативно, аппликатор-вкладыш 64 можно помещать между прессом для образцов 30 и пробоотборной частью 60 в пределах сущности настоящего изобретения. В вариантах осуществления, при которых полный "сэндвич" образуется до достижения тестовой зоны, можно применять два аппликатора связывающего партнера (отдельный аппликатор для каждого связывающего партнера анализируемого вещества), причем пробоотборная часть, первый аппликатор-вкладыш и второй аппликатор-вкладыш помещаются в любом порядке в вертикальную стопку в пределах сущности настоящего изобретения. Альтернативно, единый аппликатор связывающего партнера может включать оба связывающих партнера для анализируемого вещества. В других вариантах осуществления образец, первый связывающий партнер и второй связывающий партнер можно последовательно наносить на тест-полоску в любом порядке с помощью пресса для образцов в пределах сущности настоящего изобретения.

В способе нанесения образца на тест-полоску устройства с горизонтальным потоком по меньшей мере один внешний связывающий партнер вначале помещают в зону нанесения образца тест-полоски. Внешний связывающий партнер можно размещать на внешнем вкладыше. В вариантах осуществления, при которых имеются два связывающих партнера, которые связывают анализируемое вещество до достижения тестовой зоны, можно добавлять любой из двух или оба связывающих партнера анализируемого вещества. Пробоотборник, который включает образец, помещают в

вертикальную стопку между внешним связывающим партнером и прессом для образцов. Пресс для образцов применяет давление к пробоотборнику для переноса внешнего связывающего партнера и по меньшей мере части образца в зону нанесения образца. Альтернативно, внешний связывающий партнер можно добавлять и сдавливать прессом для образцов, затем убирать, прежде чем пробоотборник установят в стопку над зоной нанесения образца, где образец вдавливается в тест-полоску. В другом альтернативном варианте осуществления по меньшей мере один внешний связывающий партнер помещают в вертикальную стопку между прессом для образцов и пробоотборником. Альтернативно, пробоотборник добавляют и сдавливают, затем убирают, а затем добавляют и вдавливают в тест-полоску внешний связывающий партнер. В других вариантах осуществления пробоотборник находится в вертикальной стопке между первым внешним связывающим партнером и вторым внешним связывающим партнером, а пресс для образцов применяет давление к вертикальной стопке. В этих вариантах осуществления ни полоска, ни пресса для образцов не имеют специфического связывающего партнера анализируемого вещества. Образец, связывающий партнер анализируемого вещества и подвижный контрольный связывающий партнер также можно наносить на зону нанесения образца в несколько этапов в любой комбинации в пределах сущности настоящего изобретения.

Альтернативно, в устройстве с горизонтальным потоком настоящего изобретения прессом для образцов может быть универсальный пресс для образцов без компонентов, специфичных для интересующего анализируемого вещества. В одном варианте осуществления пресс для образцов не содержит компонентов анализа. В вариантах осуществления с контролем вкладыш пресса для образцов включает только подвижный связывающий партнер контрольной зоны. В этих вариантах осуществления один или несколько аппликаторов связывающего партнера включают по меньшей мере один связывающий партнер для анализируемого вещества и становятся частью вертикальной стопки вместе с прессом для образцов и пробоотборником, когда образец переносится в зону нанесения образца. Образец, связывающий партнер анализируемого вещества и подвижный контрольный связывающий партнер также можно наносить в зону нанесения образца в несколько этапов в любой комбинации в пределах сущности настоящего изобретения.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения пресс для образцов 30 также служит пробоотборником, а вкладыш 33 пресса для образцов также служит пробоотборной частью. В этом варианте осуществления конъюгат, второй связывающий партнер, связывающий партнер контрольной линии и/или любую комбинацию их этих трех предпочтительно размещают на верхней поверхности вкладыша 33, если вкладыш присоединяют к плечу пресса для образцов. В вариантах осуществления, при которых сбор образцов нужно выполнять стерильно, пресс для образцов 30 в таком случае предпочтительно стерилизуют излучением до применения в качестве пробоотборника. Образец в таком случае собирают, используя переднюю часть вкладыша так, чтобы пациент не подвергнулся воздействию конъюгата или второго связывающего партнера при взятии образца. Когда образец наносится в зону нанесения образца тест-полоски, вкладыш предпочтительно сдавливается таким образом, чтобы образец смешивался с конъюгатом или вторым связывающим партнером, и по меньшей мере часть обоих выжималась на тест-полоску.

В некоторых вариантах осуществления устройство с горизонтальным потоком настоящего изобретения также может включать встроенную, онлайнную, или *in situ* систему усиления сигнала. Систему усиления образца можно применять в комбинации

с прессом для образцов или в способе или устройстве без пресса для образцов в пределах сущности настоящего изобретения. В вариантах осуществления, при которых в качестве обнаруживаемого маркера для конъюгата применяют коллоидное золото, сигнал коллоидного золота в конъюгате, связанном с тестовой зоной, можно дополнительно  
5 усиливать за счет серебряной стимуляции. Соответствующие составы солей серебра и серебряных проявителей можно высушивать в месте нанесения образца или выше его или ниже его. Соли серебра и проявители можно высушивать вместе, выше или ниже в отношении друг друга, или можно разделять областью нанесения образца. В других вариантах осуществления для усиления сигнала применяют комплектование стопки,  
10 при котором система включает конъюгат с дополнительным антигеном и второй конъюгат, который предпочтительно является наночастицей, со специфическим связывающим партнером антигена. Второй конъюгат также предпочтительно включает маркер. Во втором конъюгате связывающий партнер можно конъюгировать с частицей того же размера, меньшего или большего размера, чем частица в первом конъюгате.  
15 В других вариантах осуществления на одной и той же тест-полоске можно применять как серебряную стимуляцию, так и усиление комплектованием стопки. Элементы конъюгата, комплектуемого в стопку, и серебряные стимулирующие элементы могут находиться вместе или выше или ниже относительно друг друга. Предпочтительным признаком этих вариантов осуществления является то, что как наночастицы для  
20 "комплектования в стопку", так и/или серебряные стимуляторы не приходят в соприкосновение с конъюгатом изначально, но приходят в соприкосновение только, когда конъюгат иммобилизуется в тестовой зоне. Таким образом, достигается лучшая специфичность.

В некоторых вариантах осуществления, при которых "полный сэндвич" образуется  
25 между анализируемым веществом 40, первым связывающим партнером анализируемого вещества 7 и вторым связывающим партнером анализируемого вещества 38 до того, как комплекс достигнет зоны обнаружения 52 (смотри, например, фигуры 4А-4С, 5А-5В и 6А-6В), серебряная стимуляция или другие усиливающие сигналы можно помещать выше зоны нанесения образца 44 так, чтобы соль серебра и/или серебряный проявитель  
30 взаимодействовали с полным "сэндвичем", прежде чем комплекс достигнет зоны обнаружения 52. В других вариантах осуществления с полным "сэндвичем" соль серебра и/или серебряный проявитель размещают ниже зоны нанесения образца 44 так, чтобы полный "сэндвич" образовывался и двигался к соли серебра/проявителю, прежде чем достигнуть зоны обнаружения 52.

35 В предшествующем уровне техники, показанном на фиг.10, между анализируемым веществом 40 и маркером 41 в тестовой зоне 45 существует взаимно-однозначное соответствие, так как каждое анализируемое вещество связывается с одним иммобилизованным связывающим партнером 38 и одним подвижным связывающим партнером 37 с одним маркером 41 в конъюгате 36.

40 В системе усиления сигнала настоящего изобретения источник усиления можно размещать где угодно на тест-полоске, включая зону нанесения образца или выше или ниже ее. Альтернативно, источник усиления можно размещать в буфере или на прессе для образцов.

В некоторых вариантах осуществления, показанных на фиг.11, источник усиления  
45 70 неспецифически откладывается на конъюгате так, что многочисленные конъюгаты ассоциированы с одним анализируемым веществом, связанным в тестовой зоне. В этом варианте осуществления источником усиления предпочтительно является одна или несколько солей серебра, а серебряный проявитель можно применять для усиления

сигнала в анализах, применяющих коллоидное золото в качестве маркерной части 41 конъюгата. Соли серебра и серебряный проявитель можно размещать или внедрять любым путем, чтобы улучшить обнаружение анализируемого вещества. В вариантах осуществления, при которых в качестве обнаруживаемого маркера для конъюгата

5 применяют коллоидное золото, сигнал коллоидного золота в конъюгате, связанном в тестовой зоне, может быть усилен посредством серебряной стимуляции.

Соответствующие составы солей серебра и серебряных проявителей можно высушивать на месте нанесения образца или выше него или ниже него. Соли серебра и проявители можно высушивать вместе, выше или ниже относительно друг друга, или разделять

10 областью нанесения образца. Альтернативно, соли серебра и/или проявители можно включаться как часть буфера.

В предпочтительном варианте осуществления смесь солей серебра и проявителей высушивают в области между зоной нанесения образца и тестовой зоной. В этом варианте осуществления полный "сэндвич" анализируемого вещества между двумя

15 связывающими партнерами (один из которых является конъюгатом на золоте, а другой соответственно помечен метчиками, как биотин) перемещается в область серебряной стимуляции, и вместе двигаются к тестовой зоне, где они захватываются. Хотя серебряную стимуляцию можно наносить на половину "сэндвича" до захвата, серебряную стимуляцию предпочтительно наносится после захвата, потому что оно может, в

20 противном случае, помешать связыванию в тестовой зоне. Соли серебра и проявители можно применять в любом из описываемых в настоящем документе вариантов осуществления, включающих, но без ограничений, показанные на фигурах 3А-3С, 4А-4С, 5А-5В, 6А-6В и 7А-7Д.

В еще одном варианте осуществления область серебряной стимуляции размещается

25 непосредственно ниже материала нанесения образца. Пресс с обоими связывающими партнерами, как описано выше, будет образовывать полный "сэндвич" и стимулировать солями серебра и проявителями, все в одном месте. Этот мегакомплекс тогда может перемещаться в тестовую зону, где он может захватываться.

В еще одном варианте осуществления серебряную стимуляцию достигается путем

30 включения солей серебра и проявителей в подвижный буфер. В других вариантах осуществления соли серебра и/или серебряный проявитель можно размещать па прессе для образцов или пробоотборнике в ситуациях, когда пробоотборник не должен быть стерильным. В противном случае пробоотборник можно стерилизовать после добавления солей серебра и/или серебряного проявителя, применяя методы стерилизации,

35 такие как, например, излучение, которые не повреждают соли серебра и/или серебряный проявитель.

В еще одном варианте осуществления соль серебра высушивают на месте, выше или ниже области нанесения образца, а серебряный проявитель можно добавлять в окно просмотра как отдельный этап.

В предпочтительном варианте осуществления, включающем серебряную стимуляцию, поскольку серебро является светочувствительным, тест проводится в перевернутом

40 положении (с перевернутой кассетой в вариантах осуществления, в которых применяют кассету) или иначе экранируют от естественного освещения до завершения теста.

В другом варианте осуществления серебряную стимуляцию выполняют как отдельный

45 этап, на котором соль серебра и проявитель добавляют вместе или отдельно в область окна просмотра 82, где размещается тестовая зона 83. При отсутствии области окна просмотра 82, соль серебра и проявитель предпочтительно добавляют в тестовую зону 83 полосы. В некоторых из этих вариантов осуществления серебряную стимуляцию

добавляют к тест-полоске, пока она еще влажная или высушивается после применения. В некоторых из этих вариантов осуществления полоска вынимают из любого корпуса, и часть полоски, содержащую тестовую зону 83, отрезают и обрабатывают серебряной стимуляцией вместе или раздельно.

5 В одном предпочтительном варианте осуществления после проведения теста полоске дают высохнуть на воздухе. Умеренное высушивание полоски завершается приблизительно через 20-30 минут, но зависит от условий окружающей среды. После того как полоска высушена, в область окна просмотра 82, где размещается тестовая зона 83, добавляют одну-две капли соли серебра и проявителей. При отсутствии области  
10 окна просмотра 82 соль серебра и проявитель предпочтительно добавляют в тестовую зону 83 полоски. Это улучшает чувствительность по меньшей мере в 5 раз. Соль серебра и проявители можно добавлять вместе или раздельно. Серебряную стимуляцию происходит почти мгновенно, и результаты предпочтительно считывают в течение двух-трех минут после добавления серебряной стимуляции. Если результаты не  
15 считывают быстро, полоска может почернеть, и фон будет мешать считыванию образующейся в результате серой/черной тестовой линии. Этот фон можно в значительной степени минимизировать, если в окно просмотра 82/тестовую зону 83 добавить промывающий раствор. Чувствительность можно дополнительно стимулировать при применении переносного устройства оптического считывания,  
20 например, миниатюрного спектрометра, выпускаемого Ocean Optics, Inc. (Данидин, Флорида). Переносное устройство считывания представляет собой ручной миниатюрный спектрометр, который количественно оценивает интенсивность цвета тестовой линии, измеряя поглощение или отражение маркированного комплекса, который связывается с тестовой линией. Количественную оценку тестовой линии можно определять при  
25 помощи калибровочной кривой. При выведении калибровочной кривой производится несколько титраций концентрации анализируемого вещества, и записывают выходные данные устройства считывания при каждой титрации. Устройство считывания повышает чувствительность теста в 5-10 раз. При эксплуатации окно обнаружения для рассмотрения видимой тестовой линии помещают непосредственно на или вблизи  
30 отверстия спектрометра таким образом, чтобы можно было выполнять непосредственные измерения поглощения или отражения.

В другом предпочтительном варианте осуществления раствор соли серебра и/или проявителя включает летучую жидкость. Соль серебра и проявитель можно составлять вместе в единый раствор или как отдельные растворы. Можно применять любую  
35 жидкость, которая испаряется при комнатной температуре или легко выпаривается и не мешает тесту. Летучий растворитель выбирается таким образом, чтобы он не растворял материал мембраны (например, нитроцеллюлозу), составляющей тестовую зону 83, где размещают второй связывающий партнер 17 (см. фиг.1), 38 (см. фигуры 3A-3C и 7A) или иммобилизованную метку 50 (см. фигуры 4A-4C, 5A-5B, 6A-6B и 7B-  
40 7D). Некоторые примеры летучей жидкости, которую можно применять, включают, но без ограничений, метанол, изопропиловый спирт, низкие концентрации бензола и низкие концентрации ацетона. Серебряную стимуляцию содержит соль серебра и проявитель, который предпочтительно является относительно органическим по природе. Раствор соли серебра и проявителя добавляют в область окна просмотра 82, где  
45 размещается тестовая зона 83, в конце теста (например, приблизительно через 10 минут после того, как образец добавили на полоску), когда полоска еще довольно влажная. При отсутствии области окна просмотра 82, соль серебра и проявитель предпочтительно добавляют в тестовую зону 83 полоски. Летучая жидкость "высушивает" область, в

которую добавляют жидкость (тестовая зона 83). В этом варианте осуществления нет необходимости ждать, пока вся полоска станет умеренно сухой. Этот вариант осуществления создает "in-situ" высушивание только интересующей области (тестовой зоны 83).

5 В некоторых вариантах осуществления, показанных на фиг.12, усиление обусловлено явлением "комплектования стопки", при котором второй конъюгат 74 "комплектуется в стопку" на по меньшей мере части комплекса, образующегося во время анализа. В этих вариантах осуществления первый конъюгат 72 включает дополнительную часть 73, с которой специфически связывается связывающий партнер 76 части 73, а второй  
10 конъюгат 74 предпочтительно также включает маркер 78. Например, когда второй связывающий партнер 38 включает авидиновую метку 39, полный "сэндвич" захватывается в тестовой зоне иммобилизованным биотином 50, и, последовательно или параллельно, "комплектующийся в стопку" конъюгат накапливается или укладывается в стопу на иммобилизованный полный "сэндвич" в тестовой зоне, вызывая  
15 дальнейшее накопление с комплектованием стопки и улучшение восприятия сигнала. В одном варианте осуществления первым конъюгатом является золото, конъюгированное с антителом к анализируемому веществу и куриным IgY, а вторым конъюгатом является красный латексный шарик, конъюгированный с антителом кролика к куриному антигену.

20 Предпочтительно, "комплектование стопки" применяют только в вариантах осуществления, при которых "полный сэндвич" образуется до достижения тестовой зоны. Например, на фигурах 4С, 5В, 6В, 7В, 7С и 7D полный "сэндвич" образуется в зоне нанесения образца. В предпочтительном варианте осуществления мышинное антитело на маркированном конъюгате связывается с антигеном, образуя первый  
25 комплекс. Первый комплекс немедленно связывается с подвижным маркированным биотином поликлональным антителом, образуя полный "сэндвич" в качестве второго комплекса. Второй комплекс в этом случае захватывается в тестовой зоне авидином через биотиновый маркер. Медленно высвобождающийся конъюгат с маркером к мышши связывается и комплектуется в стопку на мышшиное антитело во втором комплексе  
30 в тестовой зоне. Конъюгат с маркером к мышши предпочтительно размещают таким образом, чтобы он достигал тестовой зоны после того, как образовались комплексы анализируемого вещества. Некоторые предпочтительные расположения для конъюгата с маркером к мышши включают: в зоне нанесения образца, выше зоны нанесения образца, добавляют в буфер по прошествии заданного количества времени, наносят на тестовую  
35 зону после того, как "сэндвича" образовался, или в путь потока, но в заключение в оболочку, чтобы отсрочить его высвобождение, например, на 20-30 секунд. В этом варианте осуществления комплектование стопки повышает чувствительность анализа в 3-5 раз.

В вариантах осуществления настоящего изобретения с золотыми конъюгатами,  
40 которые можно применять во всех анализах с горизонтальным потоком, маркированный и высушенный антитело к IgY курицы или другую неспецифическую иммуногенную часть включают в состав тест-полоски выше зоны нанесения образца или альтернативно в буфер. Когда образец принадлежит млекопитающим (например, человеку), неспецифическая иммуногенная часть предпочтительно принадлежит к организму, не  
45 относящемуся к млекопитающим, такому как, например, птица, рыба или растение, чтобы оно не мешало связыванию анализируемого вещества. Вторым конъюгатом, например, антитело к IgY курицы, в таком случае делает подвижным буфер. Задержка приведения в движение второго конъюгата в таком случае позволяет полному "сэндвичу"



протечь и начать связываться с помощью метки-иммобилизованной метки, например, биотин-авидина, захватывать в тестовой зоне в случае подвижного второго связывающего партнера. Полный "сэндвич" накапливается в тестовой зоне, после чего связывается и комплектуется в стопку с вторым конъюгатом, например, красными латексными шариками, на верхушке первого конъюгата, например золота. Этот вариант осуществления также повышает чувствительность анализа в 3-5 раз. В вариантах осуществления, при которых второй связывающий партнер для анализируемого вещества является иммобилизованным в тестовой зоне, половина "сэндвича" предпочтительно движется к тестовой зоне, с последующим связыванием и комплектованием стопки.

На фиг.11 изображено неспецифическое усиление, а на фиг.12 изображено специфическое усиление. В других вариантах осуществления можно применять комбинации как специфического усиления, так и неспецифического усиления, для дополнительного усиления сигнала. В качестве примера, первое усиление обусловлено явлением "комплектованием стопки", показанном и описанным выше в связи с фиг.12, где второй конъюгат 74 "комплектуется в стопку" на по меньшей мере часть комплекса, образуемого во время анализа. Дополнительное усиление обеспечивается, когда источник усиления 70 неспецифически откладывается на конъюгат таким образом, что множественные конъюгаты связываются с одним анализируемым веществом, связанным в тестовой зоне, показанным и описанным выше в связи с фиг.11. Альтернативно можно применять другие комбинации специфических и неспецифических усилений.

В другом варианте осуществления комплектования стопки и стимуляция сигнала, причем стимуляцию выполняют с помощью фермента, конъюгированного с частью для комплектования стопки. В одном примере ферментом является пероксидаза хрена, и она конъюгирована с антителом кролика к мыши. Хотя пероксидазу хрена часто применяют для усиления слабого сигнала, альтернативно можно применять другие ферменты, которые стимулируют слабые сигналы, включая, но без ограничений, щелочную фосфатазу, каталазу, уреазу и глюкозооксидазу. Подобным образом альтернативно можно применять другие антитела, которые связываются с конъюгатом или посредником. В этом варианте осуществления нет наночастиц или микросфер.

Вместо них, этот вариант осуществления включает "растворимую" форму конъюгата. Местоположение, в котором этот ферментный конъюгат высушивают, можно изменять: оно может быть выше, ниже, или перекрывать зону нанесения образца. В вариантах осуществления с прессом для образцов ферментный конъюгат может альтернативно находиться на прессе для образцов. Ферментный конъюгат предпочтительно высушивают на тест-полоске, но не иммобилизуют. Его могут размещать отдельно или в комбинации с другими компонентами, образующими "сэндвич" с антителом (которое предпочтительно мечено биотином) и/или конъюгированным с золотом антителом.

На фиг.14 изображен вариант осуществления детектора с ферментом, конъюгированным с частью для комплектования стопки. Контрольная зона 46 включает иммобилизованный первый контрольный связывающий партнер 110. Тестовая зона 45 включает иммобилизованный первый связывающий партнер тестовой зоны 109 на мембране. Первый связывающий партнер анализируемого вещества 102, конъюгированный со вторым связывающим партнером тестовой зоны 101, высушивают или иным путем (например, лиофилизируют) вводят в состав зоны нанесения образца 44. Хотя не показано на этой фигуре, первый связывающий партнер анализируемого вещества 102 альтернативно можно размещать выше или ниже зоны нанесения образца 44. Связывающий партнер 107 для второго связывающего партнера 103 анализируемого вещества конъюгируют с ферментом 108 и размещают выше зоны нанесения образца

44. Альтернативно, связывающий партнер 107 для второго связывающего партнера 103 анализируемого вещества может перекрывать зону нанесения образца 44 или размещаться ниже зоны нанесения образца 44. Во вкладыш 33 на прессе для образцов 30 предпочтительно заключают второй связывающий партнер анализируемого вещества 103, конъюгированный с первым обнаруживаемым маркером 104, и предпочтительно смешивают со вторым контрольным связывающим партнером 105, конъюгированным со вторым обнаруживаемым маркером 106, который служит контролем.

Хотя на фиг. 14 изображены различные реагенты в определенных местоположениях на тест-полоске или прессе для образцов 30, другие местоположения для каждого из первого связывающего партнера анализируемого вещества 102, конъюгированного со вторым связывающим партнером тестовой зоны 101, связывающего партнера 107 для второго связывающего партнера анализируемого вещества 103, второго связывающего партнера анализируемого вещества, конъюгированного с первым обнаруживаемым маркером 104, и второго контрольного связывающего партнера 105, конъюгированного со вторым обнаруживаемым маркером 106, на тест-полоске и/или на вкладыше 33 пресса для образцов 30 также возможны. Другие варианты осуществления не требуют пресса для образцов 30. В этих вариантах осуществления реагенты 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107 и 108 будут размещаться в различных местоположениях на тест-полоске, предпочтительно выше тестовой зоны 45.

Образец отбирают тампоном для образцов 35, который затем помещают в зону нанесения образца 44 через окно для образца 81 (в вариантах осуществления с корпусом и окном для образца) или непосредственно на зону нанесения образца 44. Пресс для образцов 30 затем вдавливают в зону нанесения образца 44. Абсорбирующий кончик пресса для образцов 30 предпочтительно погружают в подвижный буфер приблизительно на 15-30 секунд, прежде чем убрать пресс для образцов 30. На фигурах 15А и 15В изображены различные комплексы, которые образуются между реагентами геста и анализируемым веществом. Если анализируемое вещество 40 присутствует в образце, оно образует комплекс с первым связывающим партнером анализируемого вещества 102 и вторым связывающим партнером анализируемого вещества 103, который образует комплекс со связывающим партнером 107, конъюгированным с ферментом 108.

Если анализируемое вещество 40 не присутствует в образце, второй связывающий партнер анализируемого вещества 103 все равно образует комплекс со связывающим партнером 107, конъюгированным с ферментом 108, но они не образуют комплекс с образцом или первым связывающим партнером анализируемого вещества 102. Второй связывающий партнер тестовой зоны 101 будет связываться с первым связывающим партнером тестовой зоны 109 в тестовой зоне 45, независимо от того, присутствует или нет анализируемое вещество 40 в образце. Однако если анализируемое вещество не присутствует, на тестовой линии ничего не будет видно. Результат визуально считывают в течение приблизительно десяти минут. Если видимая тестовая линия образуется вместе с видимой контрольной линией, результат указывает на высокие уровни анализируемого вещества в образце. Если по истечении 10 минут на тестовой линии нет видимой линии, тогда на тестовую линию добавляют одну каплю ферментного субстрата. Если добавление ферментного субстрата приводит к видимому сигналу, результат указывает на слабopоложительный образец. Видимая линия на контрольной линии указывает, что второй контрольный связывающий партнер 105, конъюгированный со вторым обнаруживаемым маркером 106, связался с первым контрольным связывающим партнером 110 в контрольной зоне 46, и что тест проведен правильно. На фиг. 15С изображен комплекс, который образуется в контрольной зоне.

В качестве примера, детектор вируса простого герпеса (HSV) включает следующие стадии, показанные на фиг.14. Контрольная зона 46 включает иммобилизованное антитело кролика к IgY курицы 110. Тестовая зона 45 включает иммобилизованный нейтравидин 109 на нитроцеллюлозной мембране. Меченное биотином 101 поликлональное антитело к HSV-1 и/или HSV-2 102 высушивают в зоне нанесения образца 44. Хотя это не показано на данной фигуре, антитело к HSV-1/HSV-2 102 можно альтернативно высушивать выше или ниже зоны нанесения образца 44. Кроличье антитело к IgG мыши (H&L) 107, конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP) 108, высушивают выше зоны нанесения образца 44. Альтернативно, кроличий IgG к мыши 107, конъюгированный с пероксидазой хрена 108, может перекрывать зону нанесения образца 44 или размещаться ниже зоны нанесения образца 44. Во вкладыш 33 на прессе для образцов 30 предпочтительно заключают мышинное моноклональное антитело к gD 1&2 103 (моноклональные антитела, направленные против гликопротеина D вируса простого герпеса), конъюгированное с коллоидным золотом 104, и смешивают с куриным IgY 105, конъюгированным с окрашенными голубым латексными шариками 106, которые служат контролем.

Образец отбирают тампоном для образцов 35, который затем помещают в зону нанесения образца 44 через окно для образца 81 (в вариантах осуществления с корпусом и окном для образца) или непосредственно на зону нанесения образца 44. Пресс для образцов 30 затем вдавливают в зону нанесения образца 44. Абсорбирующий кончик прессы для образцов 30 предпочтительно погружают в подвижный буфер приблизительно на 15-30 секунд, прежде чем убрать пресс для образцов 30. На фигурах 15А и 15В изображены различные комплексы, которые образуются между реагентами теста и анализируемым веществом. Если HSV (анализируемое вещество 40) присутствует в образце, оно образует комплекс с меченым биотином 101 поликлональным антителом к HSV 1/2 102 и мышинным моноклональным антителом к gD1&2 103, конъюгированным с коллоидным золотом 104, который образует комплекс с кроличьим антителом к IgG мыши 107, конъюгированным с HRP 108.

Если HSV не присутствует в образце, мышинное моноклональное антитело к gD1&2 103, конъюгированное с коллоидным золотом 104, все равно образует комплекс с кроличьим антителом к IgG мыши 107, конъюгированным с HRP 108, но они не образуют комплекса с образцом или меченым биотином 101 поликлональным антителом к HSV 1/2 102. Меченное биотином 101 поликлональное антитело к HSV 1/2 102 будет связываться с нейтравидином 109 в тестовой зоне 45, независимо от того, присутствует или нет HSV в образце. Однако если HSV не присутствует, меченное биотином 101 поликлональное антитело к HSV 1/2 102 не будет видимым на тестовой линии. Результат визуально считывают в течение приблизительно десяти минут. Если видимая красная тестовая линия образуется рядом с голубой контрольной линией, результат указывает на высокие уровни HSV в образце. Если по истечении 10 минут на тестовой линии нет видимой красной линии, тогда на тестовую линию добавляют одну каплю ферментного субстрата ТМВМ (или другого субстрата для пероксидазы хрена). Если добавление ТМВМ приводит к голубой/фиолетовой тестовой линии, результат указывает на слабopоложительный образец. Голубая линия на контрольной линии указывает на то, что куриный IgY 105, конъюгированный с голубым окрашенными латексными шариками 106, связался с кроличьим антителом к IgY курицы 110 в контрольной зоне 46, и что тест проведен правильно. На фиг.15С изображен комплекс, который образуется в контрольной зоне.

В этом варианте осуществления диагностика по месту лечения становится фермент-

связанной, а усиление зависит от количества фермента и субстрата и повышается со временем. Этого не происходит при визуальном помеченных конъюгатах с наночастицами, такими как коллоидное золото, или микросферах, такими как латексные шарики. Кроме того, результат тестовой линии обусловлен не иммунологическим анализом "антиген-антитело", а анализом связывания между лигандом и рецептором, такими как нейтравидин и биотин. Связывание на тестовой линии обусловлено не иммунологическим связыванием, а химическим связыванием. Таким образом, это не фермент-связанный иммунологический анализ (ELISA или EIA). Вместо этого это фермент-связанная хромофильтография или прямая многослойная ферментативная хромофильтография, когда используется с прессом для образцов. Даже с дополнительным этапом добавления ферментного субстрата на тестовую линию тест по-прежнему остается простым для выполнения.

В альтернативном варианте осуществления комплектования стопки, показанном на фигурах 16, 17А и 17В, фермент физически связан с обнаруживаемым маркером как на конъюгате, так и на части для комплектования стопки. В одном примере фермент покрывает визуально обнаруживаемые шарики (например, красные латексные шарики), и его конъюгируют с кроличьим антителом к мышши. Хотя пероксидазу хрена часто применяют для усиления слабого сигнала, альтернативно можно применять другие ферменты, которые стимулируют слабые сигналы, включая, но без ограничений, щелочную фосфатазу, каталазу, уреазу и глюкозооксидазу. Подобным образом альтернативно можно применять другие антитела, которые связываются с конъюгатом или посредником. В этом варианте осуществления нет наночастиц или микросфер. Вместо них, этот вариант осуществления включает "растворимую" форму конъюгата. Местоположение, в котором этот ферментный конъюгат высушивают, можно изменять; оно может быть выше, ниже, или перекрывать зону нанесения образца. В вариантах осуществления с прессом для образцов ферментный конъюгат может альтернативно находиться на прессе для образцов. Ферментный конъюгат предпочтительно высушивают на тест-полоске, но не иммобилизуют. Его могут размещать отдельно или в комбинации с другими компонентами, образующими "сэндвич" с антителом, которое предпочтительно мечено биотином

На фиг.16 изображен вариант осуществления детектора с ферментом физически связанным с обнаруживаемым маркером как на конъюгате, так и на части для комплектования стопки. Контрольная зона 46 включает иммобилизованный первый контрольный связывающий партнер 110, подобно детектору, показанному на фиг.14. Тестовая зона 45 включает иммобилизованный первый связывающий партнер тестовой зоны 209 на мембране. Первый связывающий партнер анализируемого вещества 202 конъюгированный со вторым связывающим партнером тестовой зоны 201, высушивают или иным путем (например, лиофилизируют) вводят в состав зоны нанесения образца 44. Хотя это не показано на данной фигуре, первый связывающий партнер анализируемого вещества 202 можно альтернативно размещать выше или ниже зоны нанесения образца 44.

Связывающий партнер 207 для второго связывающего партнера анализируемого вещества 203, который конъюгирован с ферментом 208 и конъюгирован с обнаруживаемым маркером 215 (который также конъюгирован с ферментом 208), предпочтительно заключают во вкладыш 33 пресса для образцов 30. В других вариантах осуществления имеется только связывающий партнер 207 для второго связывающего партнера анализируемого вещества 203, конъюгированный с обнаруживаемым маркером 215, и обнаруживаемый маркер также конъюгирован с ферментом 208. В некоторых

вариантах осуществления фермент 208 конъюгирован с обнаруживаемым маркером 215 путем покрывания обнаруживаемого маркера 215. В некоторых вариантах осуществления связывающий партнер 207, конъюгированный с ферментом 208, со связывающим партнером 207, конъюгированным с обнаруживаемым маркером 215 (который также конъюгирован с ферментом 208) можно размещать на тест-полоске, перекрывая зону нанесения образца 44 или размещая ниже или выше зоны нанесения образца 44. Во вкладыш 33 на прессе для образцов 30 предпочтительно также заключают второй связывающий партнер анализируемого вещества 203, конъюгированный с обнаруживаемым маркером 204, покрытым ферментом 208, который предпочтительно смешивают со вторым контрольным связывающим партнером 105, конъюгированным с обнаруживаемым маркером 106 (показано на фиг.14), который служит контролем.

Хотя на фиг.16 изображены различные реагенты в определенных местоположениях на тест-полоске или прессе для образцов 30, другие местоположения для каждого из первого связывающего партнера анализируемого вещества 202, конъюгированного со вторым связывающим партнером тестовой зоны 201, связывающего партнера 207, конъюгированного с ферментом 208 со связывающим партнером 207, конъюгированным с обнаруживаемым маркером 215, покрытым ферментом, и второго контрольного связывающего партнера 105, конъюгированного с обнаруживаемым маркером 106, на тест-полоске и/или на вкладыше 33 пресса для образцов 30 также возможны. Другие варианты осуществления не требуют пресса для образцов 30. В этих вариантах осуществления реагенты 201, 202, 203, 204, 105, 106, 207, 208 и 215 будут размещаться в различных местоположениях на тест-полоске, предпочтительно выше тестовой зоны 45.

Образец отбирают тампоном для образцов 35, который затем помещают в зону нанесения образца 44 через окно для образца 81 (в вариантах осуществления с корпусом и окном для образца) или непосредственно на зону нанесения образца 44. Пресс для образцов 30 затем вдавливают в зону нанесения образца 44. Абсорбирующий кончик пресса для образцов 30 предпочтительно погружают в подвижный буфер приблизительно на 15-30 секунд, прежде чем убрать пресс для образцов 30. На фигурах 17А и 17В изображены различные комплексы, которые образуются между реагентами теста и анализируемым веществом. Если анализируемое вещество 40 присутствует в образце, оно образует комплекс с первым связывающим партнером анализируемого вещества 202 и вторым связывающим партнером анализируемого вещества 203. Второй связывающий партнер анализируемого вещества также образует комплекс со связывающим партнером 207.

Если анализируемое вещество 40 не присутствует в образце, второй связывающий партнер анализируемого вещества 203 все равно образует комплекс со связывающим партнером 207, но они не образуют комплекса с образцом или первым связывающим партнером анализируемого вещества 202. Второй связывающий партнер тестовой зоны 201 будет связываться с первым связывающим партнером тестовой зоны 209 в тестовой зоне 45, независимо от того, присутствует или нет анализируемое вещество 40 в образце. Однако если анализируемое вещество не присутствует, второй связывающий партнер тестовой зоны 201, конъюгированный с первым связывающим партнером анализируемого вещества 202, и образовавший комплекс с первым связывающим партнером тестовой зоны 209, не будет видимым на тестовой линии. Результат визуально считывают в течение приблизительно десяти минут. Если видимая тестовая линия образуется вместе с видимой контрольной линией, результат указывает на высокие уровни анализируемого вещества в образце. Если по истечении 10 минут на тестовой

линии нет видимой линии, тогда на тестовую линию добавляют одну каплю ферментного субстрата. Если добавление ферментного субстрата приводит к видимому сигналу, результат указывает на слабоположительный образец. Видимая линия на контрольной линии указывает, что второй контрольный связывающий партнер 105 связался с первым контрольным связывающим партнером 110 в контрольной зоне 46, и что тест проведен правильно. Комплекс контрольной линии изображен на фиг.15С.

В этом варианте осуществления фермент физически связан с обнаруживаемым маркером (например, латексными шариками) и перемещается с обнаруживаемым маркером. Таким образом, улучшаются специфичность и проблемы фона. При высоких уровнях антигена положительный результат легко визуально обнаруживается с помощью видимой линии. При очень низких уровнях добавляют ферментный субстрат в окно результатов, чтобы получить усиленную ферментом цветную реакцию. При помещении множества реагентов, включающих связывающий партнер 207, который включает фермент 208 и обнаруживаемый маркер 215, на пресс для образцов, эти реагенты не находятся на полоске. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления второй связывающий партнер анализируемого вещества 203 можно предварительно смешивать со связывающим партнером 207 (с или без ферментативно маркированного связывающего партнера) и заключать во вкладыш пресса для образцов. В этих вариантах осуществления тест-полоска включает второй связывающий партнер тестовой зоны 202, который связывается с первым связывающим партнером тестовой зоны 209. Это превращает тест-полоску в анализ связывания, а не иммунологический анализ.

В качестве примера, детектор вируса простого герпеса (HSV) включает следующие стадии, показанные на фиг.16. Контрольная зона 46 включает иммобилизованное антитело кролика к IgY курицы 110, подобно детектору, показанному на фиг.14. Тестовая зона 45 включает иммобилизованный нейтравидин 209 на нитроцеллюлозной мембране. Меченное биотином 201 поликлональное антитело к HSV-1 и/или HSV-2 202 высушивают в зоне нанесения образца 44. Хотя это не показано на данной фигуре, антитело к HSV-1/HSV-2 202 может альтернативно высушиваться выше или ниже зоны нанесения образца 44. Кроличье антитело к IgG мыши (H&L) 207, конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP) 208 с кроличьим антителом к IgG мыши 207, конъюгированным с красными латексными шариками 215, покрытыми пероксидазой хрена, предпочтительно заключают во вкладыш 33 пресса для образцов 30. В других вариантах осуществления имеется только кроличье антитело к IgG мыши 207, конъюгированное с красными латексными шариками 215, покрытыми пероксидазой хрена. Альтернативно, кроличье антитело к IgG мыши 207, конъюгированное с пероксидазой хрена 208, с кроличьим антителом к IgG мыши 207, конъюгированным с красными латексными шариками 215, покрытыми пероксидазой хрена, можно размещать на тест-полоске, перекрывая зону нанесения образца 44 или размещаясь ниже или выше зоны нанесения образца 44. Во вкладыш 33 на прессе для образцов 30 предпочтительно также заключают мышинные моноклональные антитела к gD 1&2 203 (моноклональные антитела, направленными против гликопротеина D вируса простого герпеса), конъюгированными с красными латексными шариками 204, покрытыми пероксидазой хрена, и смешанный с куриным IgY 105, конъюгированным с окрашенными голубым латексными шариками 106 (показано на фиг.14), которые служат контролем.

Образец отбирают тампоном для образцов 35, который затем помещают в зону нанесения образца 44 через окно для образца 81 (в вариантах осуществления с корпусом и окном для образца) или непосредственно на зону нанесения образца 44. Пресс для

образцов 30 затем вдавливают в зону нанесения образца 44. Абсорбирующий кончик пресса для образцов 30 предпочтительно погружают в подвижный буфер приблизительно на 15-30 секунд, прежде чем убрать пресс для образцов 30. На фигурах 17А и 17В изображены различные комплексы, которые образуются между реагентами геста и анализируемым веществом. Если HSV (анализируемое вещество 40) присутствует в образце, оно образует комплекс с меченым биотином 201 поликлональным антителом к HSV 1/2 202 и мышинным моноклональным антителом к gD 1&2 203, конъюгированным с красными латексными шариками 204, который образует комплекс с кроличьим антителом к IgG мыши 207, конъюгированным с HRP 208, и кроличьим антителом к IgG мыши 207, конъюгированным с красными латексными шариками 215, покрытыми пероксидазой хрена.

Если HSV не присутствует в образце, мышинное моноклональное антитело к gD1&2 203, конъюгированное с коллоидным золотом 204, все равно образует комплекс с кроличьим антителом к IgG мыши 207, но они не образуют комплекса с образцом или меченым биотином 101 поликлональным антителом к HSV 1/2 202. Меченное биотином 201 поликлональное антитело к HSV 1/2 202 будет связываться с нейтравидином 209 в тестовой зоне 45 независимо от того, присутствует или нет HSV в образце. Однако если HSV не присутствует, меченное биотином 201 поликлональное антитело к HSV 1/2 102 не будет видимым на тестовой линии. Результат визуально считывают в течение приблизительно десяти минут. Если видимая красная тестовая линия образуется рядом с голубой контрольной линией, результат указывает на высокие уровни HSV в образце. Если по истечении 10 минут на тестовой линии нет видимой красной линии, тогда на тестовую линию добавляют одну каплю ферментного субстрата ТМВМ (или другого субстрата для пероксидазы хрена). Если добавление ТМВМ приводит к голубой/фиолетовой тестовой линии, результат указывает на слабopоложительный образец. Голубая линия на контрольной линии указывает на то, что куриный IgY 105, конъюгированный с голубым окрашенными латексными шариками 106, связался с кроличьим антителом к IgY курицы 110 в контрольной зоне 46 и что тест проведен правильно. Комплекс контрольной линии изображен на фиг.15С.

В этом примере кроличье антитело к мышинному антителу конъюгируют с ферментом, который также конъюгирован с красными латексными шариками, а дополнительное кроличье антитело к мышинному антителу конъюгируют непосредственно с теми же шариками. Фермент физически связан с шариками и перемещается с шариками. Таким образом, улучшаются специфичности и проблемы фона. При высоких уровнях антигена положительный результат легко визуально обнаруживается с помощью красной линии. При очень низких уровнях добавляют ферментный субстрат в окно результатов, чтобы получить усиленную ферментом цветную реакцию.

При помещении кроличьего антитела к мышинному антителу, конъюгированного с красными шариками (вместе с ферментным конъюгатом на том же шарике) на пресс для образцов, эти реагенты не находятся на полоске. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления свободное мышинное моноклональное антитело к gD 1&2 можно предварительно смешать с кроличьим антителом к мыши (с или без маркированного ферментом кроличьего антитела к мыши) и заключить во вкладыш пресса для образцов. В этих вариантах осуществления тест-полоска включает биотин, который связывается с нейтравидином. Это превращает тест-полоску в анализ связывания, а не иммунологический анализ.

На фигурах 18, 19А и 19В изображен другой вариант осуществления настоящего изобретения комплектования стопки. В этом варианте осуществления фермент

конъюгирован/физически связан с обнаруживаемым маркером на части для комплектования стопки, а конъюгат, который связывается с анализируемым веществом, не включает обнаруживаемый маркер. Этот вариант осуществления дополнительно повышает специфичность. В одном примере, фермент покрывает визуально обнаруживаемые частицы (например, красные латексные шарики), и его конъюгируют с кроличьим антителом к мышинному антителу. Хотя пероксидазу хрена часто применяют для усиления слабого сигнала, альтернативно можно применять другие ферменты, которые стимулируют слабые сигналы, включая, но без ограничений, щелочную фосфатазу, каталазу, уреазу и глюкозооксидазу. Подобным образом альтернативно можно применять другие антитела, которые связываются с конъюгатом или посредником. В этом варианте осуществления нет наночастиц или микросфер. Вместо них, этот вариант осуществления включает "растворимую" форму конъюгата. Местоположение, в котором этот ферментный конъюгат высушивают, можно изменять; оно может быть выше, ниже или перекрывать зону нанесения образца. В вариантах осуществления с прессом для образцов ферментный конъюгат может альтернативно находиться на прессе для образцов. Ферментный конъюгат предпочтительно высушивают на тест-полоске, но не иммобилизуют. Его могут размещать отдельно или в комбинации с другими компонентами, образующими "сэндвич" с антителом (которое предпочтительно мечено биотином).

Вариант осуществления детектора с ферментом, конъюгированным/физически связанным с обнаруживаемым маркером на части для комплектования стопки, и конъюгатом, который связывается с анализируемым веществом, который не включает обнаруживаемого маркера, изображен на фиг. 18. включает иммобилизованный первый контрольный связывающий партнер 110, подобно детектору, показанному на фиг. 14. Тестовая зона 45 включает иммобилизованный первый связывающий партнер тестовой зоны 309 на мембране. Первый связывающий партнер анализируемого вещества 302, конъюгированный со вторым связывающим партнером тестовой зоны 301, высушивают или иным путем (например, лиофилизируют) вводят в состав зоны нанесения образца 44. Хотя это не показано на данной фигуре, первый связывающий партнер анализируемого вещества 302 можно альтернативно размещать выше или ниже зоны нанесения образца 44. Смесь из связывающего партнера 307 для второго связывающего партнера анализируемого вещества 303, конъюгированного с ферментом 308, и связывающего партнера 307, конъюгированного с обнаруживаемым маркером 315 (например, латексными шариками), покрытым или иным способом конъюгированным с ферментом 308, предпочтительно заключают во вкладыш 33 пресса для образцов 30. В других вариантах осуществления имеется только связывающий партнер 307, конъюгированный с обнаруживаемым маркером 315, который также конъюгирован с ферментом 308 (например, путем покрывания ферментом латексных шариков). Хотя связывающий партнер 307, конъюгированный с ферментом, и связывающий партнер 307, конъюгированный с обнаруживаемым маркером 315, покрытым ферментом, показаны на прессе для образцов 30 на этой фигуре, эти компоненты можно альтернативно размещать на тест-полоске, перекрывая зону нанесения образца 44 или размещаясь ниже или выше зоны нанесения образца 44. Во вкладыш 33 на прессе для образцов 30 предпочтительно также заключают второй связывающий партнер анализируемого вещества 303. В отличие от предыдущих вариантов осуществления второй связывающий партнер анализируемого вещества 303 не конъюгируют с обнаруживаемым маркером или ферментом. В некоторых вариантах осуществления второй связывающий партнер анализируемого вещества 303 предпочтительно



смешивают со вторым контрольным связывающим партнером 105, конъюгированным с обнаруживаемым маркером 106 (показано на фиг.14), который служит контролем.

Хотя на фиг.18 изображены различные реагенты в определенных местоположениях на тест-полоске или прессе для образцов 30, другие местоположения для каждого из  
5 первого связывающего партнера анализируемого вещества 302, конъюгированного со вторым связывающим партнером тестовой зоны 301, смеси из связывающего партнера 307 для второго связывающего партнера анализируемого вещества 303, конъюгированного с ферментом 308, и связывающего партнера 307, конъюгированного с обнаруживаемым маркером 315, покрытым или иным путем конъюгированным с  
10 ферментом 308, второго связывающего партнера анализируемого вещества 303 и второго контрольного связывающего партнера 105, конъюгированного с обнаруживаемым маркером 106, на индикаторной полоске и/или на вкладыше 33 пресса для образцов 30 также возможны. Другие варианты осуществления не требуют пресса для образцов 30. В этих вариантах осуществления реагенты 301, 302, 303, 304, 105, 106,  
15 307, 308 и 315 будут размещаться в различных местоположениях на тест-полоске. предпочтительно выше тестовой зоны 45.

Образец отбирают тампоном для образцов 35, который затем помещают в зону нанесения образца 44 через окно для образца 81 (в вариантах осуществления с корпусом и окном для образца) или непосредственно на зону нанесения образца 44. Пресс для  
20 образцов 30 затем вдавливают в зону нанесения образца 44. Абсорбирующий кончик пресса для образцов 30 предпочтительно погружают в подвижный буфер приблизительно на 15-30 секунд, прежде чем убрать пресс для образцов 30. На фигурах 19А и 19В изображены различные комплексы, которые образуются между реагентами теста и анализируемым веществом. Если анализируемое вещество 40 присутствует в образце,  
25 оно образует комплекс с первым связывающим партнером анализируемого вещества 302 и вторым связывающим партнером анализируемого вещества 303. Второй связывающий партнер анализируемого вещества 303 также образует комплекс со связывающим партнером 307.

Если анализируемое вещество 40 не присутствует в образце, второй связывающий  
30 партнер анализируемого вещества 303 все равно образует комплекс со связывающим партнером 307, но они не образуют комплекса с образцом или первым связывающим партнером анализируемого вещества 302. Второй связывающий партнер тестовой зоны 301 связывается с первым связывающим партнером тестовой зоны 309 в тестовой зоне 45, независимо от того, присутствует или нет анализируемое вещество в образце. Однако  
35 если анализируемое вещество 40 не присутствует, образующийся комплекс не будет видимым на тестовой линии. Результат визуально считывают в течение приблизительно десяти минут. Если видимая тестовая линия образуется вместе с видимой контрольной линией, результат указывает на высокие уровни анализируемого вещества 40 в образце. Если по истечении 10 минут на тестовой линии нет видимой линии, тогда на тестовую  
40 линию добавляют одну каплю ферментного субстрата. Если добавление ферментного субстрата приводит к видимой тестовой линии, результат указывает на слабopоложительный образец. Видимая линия на контрольной линии указывает, что второй контрольный связывающий партнер 105 связался с первым контрольным связывающим партнером 110 в контрольной зоне 46, и что тест проведен правильно.  
45 Комплекс контрольной линии изображен на фиг.15С.

В этом варианте осуществления связывающий партнер 307 конъюгируют с ферментом 308, который также конъюгируют с обнаруживаемым маркером 315 (например, латексными шариками), а дополнительный связывающий партнер 307 конъюгируют

непосредственно с тем же обнаруживаемым маркером 315. Фермент физически связан с обнаруживаемым маркером и перемещается с обнаруживаемым маркером. Таким образом, улучшаются специфичность и проблемы фона. При высоких уровнях антигена положительный результат легко визуально обнаруживается с помощью видимой линии.

5 При очень низких уровнях добавляют ферментный субстрат в окно результатов, чтобы получить усиленную ферментом цветную реакцию.

При помещении связывающего партнера 307 и его других компонентов (308 и 315) на пресс для образцов, эти реагенты не находятся на полоске. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления второй связывающий партнер анализируемого вещества 303 можно предварительно смешивать со связывающим партнером 307 (с или без ферментативно маркированного связывающего партнера 307) и заключать во вкладыш пресса для образцов. В этих вариантах осуществления устройство включает связывающие партнеры, такие как биотин и авидин. Это превращает тест-полоску в анализ связывания, а не иммунологический анализ.

15 В качестве примера, детектор вируса простого герпеса (HSV) включает следующие стадии, показанные на фиг.18. Контрольная зона 46 включает иммобилизованное антитело кролика к IgY курицы 110, подобно детектору, показанному на фиг.14. Тестовая зона 45 включает иммобилизованный нейтравидин 309 на нитроцеллюлозной мембране. Меченное биотином 301 поликлональное антитело к HSV-1 и/или HSV-2 302 20 высушивают в зоне нанесения образца 44. Хотя это не показано на данной фигуре, антитело к HSV-1/HSV-2 302 может альтернативно размещаться выше или ниже зоны нанесения образца. Кроличье антитело к IgG мыши (H&L) 307, конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP) 308 с кроличьим антителом к IgG мыши 307, конъюгированным с красными латексными шариками 315, покрытыми пероксидазой хрена, предпочтительно заключают во вкладыш 33 пресса для образцов. В других вариантах осуществления имеется только кроличье антитело к IgG мыши 307, конъюгированное с красными латексными шариками 315, покрытыми пероксидазой хрена. Альтернативно, кроличье антитело к IgG мыши 307, конъюгированное с пероксидазой хрена 308, с кроличьим антителом к IgG мыши 307, конъюгированным с красными латексными шариками, покрытыми пероксидазой хрена 308, можно 30 размещать на тест-полоске, перекрывая зону нанесения образца 44 или размещаясь ниже или выше зоны нанесения образца 44. Во вкладыш на прессе для образцов 30 предпочтительно также заключают свободные мышинные моноклональные антитела к gD 1&2303. В отличие от предыдущих вариантов осуществления свободные мышинные моноклональные антитела 303 не конъюгируют с обнаруживаемым маркером или ферментом. Свободные мышинные моноклональные антитела 303 предпочтительно смешивают с куриным IgY 105, конъюгированным с окрашенными голубым латексными шариками (показано на фиг.14), которые служат контролем.

Образец отбирают тампоном для образцов 35, который затем помещают в зону нанесения образца 44 через окно для образца 81 (в вариантах осуществления с корпусом и окном для образца) или непосредственно на зону нанесения образца 44. Пресс для образцов 30 затем вдавливают в зону нанесения образца 44. Абсорбирующий кончик пресса для образцов 30 предпочтительно погружают в подвижный буфер приблизительно на 15-30 секунд, прежде чем убрать пресс для образцов 30. На фигурах 19А и 19В 45 изображены различные комплексы, которые образуются между реагентами геста и анализируемым веществом. Если HSV (анализируемое вещество 40) присутствует в образце, оно образует комплекс с меченым биотином 301 поликлональным антителом к HSV 1/2 302 и мышинным моноклональным антителом к gD1&2303, который образует

комплекс с кроличьим антителом к IgG мыши 307, конъюгированным с HRP 308, и кроличьим антителом к IgG мыши 307, конъюгированным с красными латексными шариками 315, покрытыми пероксидазой хрена.

Если HSV не присутствует в образце, мышиное моноклональное антитело к gD1&2 303 все равно образует комплекс с кроличьим антителом к IgG мыши 307, но они не образуют комплекса с образцом или меченым биотином 301 поликлональным антителом к HSV1/2 302. Меченное биотином 301 поликлональное антитело к HSV1/2 302 будет связываться с нейтравидином 309 в тестовой зоне 45 независимо от того, присутствует или нет HSV в образце. Однако если HSV не присутствует, меченное биотином 301 поликлональное антитело к HSV 1/2 302 не будет видимым на тестовой линии. Результат визуально считывают в течение приблизительно десяти минут. Если видимая красная тестовая линия образуется рядом с голубой контрольной линией, результат указывает на высокие уровни HSV в образце. Если по истечении 10 минут на тестовой линии нет видимой красной линии, тогда на тестовую линию добавляют одну каплю ферментного субстрата ТМВМ (или другого субстрата для пероксидазы хрена). Если добавление ТМВМ приводит к голубой/фиолетовой тестовой линии, результат указывает на слабоположительный образец. Голубая линия на контрольной линии указывает на то, что куриный IgY 105, конъюгированный с голубым окрашенными латексными шариками 106, связался с кроличьим антителом к IgY курицы 110 в контрольной зоне 46, и что тест проведен правильно. Комплекс контрольной линии изображен на фиг.15С.

В этом примере кроличье антитело к мышиному антителу конъюгируют с ферментом, который также конъюгирован с красными латексными шариками, а дополнительное кроличье антитело к мышиному антителу конъюгируют непосредственно с теми же шариками. Фермент физически связан с шариками и перемещается с шариками. Таким образом, улучшаются специфичности и проблемы фона. При высоких уровнях антигена положительный результат легко визуально обнаруживается с помощью красной линии. При очень низких уровнях добавляют ферментный субстрат в окно результатов, чтобы получить усиленную ферментом цветную реакцию.

При помещении кроличьего антитела к мышиному антителу, конъюгированного с красными шариками (вместе с ферментным конъюгатом на том же шарике) на пресс для образцов, эти реагенты не находятся на полоске. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления свободное мышиное моноклональное антитело к gD 1&2 можно предварительно смешать с кроличьим антителом к мыши (с или без маркированного ферментом кроличьего антитела к мыши) и заключить во вкладыш прессы для образцов. В этих вариантах осуществления устройство включает связывающие партнеры, такие как биотин и авидин. Это превращает тест-полоску в анализ связывания, а не иммунологический анализ.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления нитроцеллюлоза "блокируется" блокаторами, которые повышают специфичность реакции. Некоторые примеры блокаторов включают, но без ограничений, казеин и альбумин бычьей сыворотки (BSA). Когда один из них блокирует нитроцеллюлозную мембрану, собственный заряд нитроцеллюлозы нейтрализуется, и, таким образом, никакой дополнительный белок не может связаться с заблокированной мембраной. Кроме того, меняется хроматографическая структура, и поток больше напоминает на струящееся или скользящее течение, а не на традиционную хроматографию. Результатом является уникальный хромофильтографический процесс.

На фиг.21А изображен другой вариант осуществления тест-полоски с горизонтальным потоком со стимулирующими элементами. Этот вариант осуществления

предпочтительно включает маркированный связывающий партнер 407, который является специфическим для вида, а не для анализируемого вещества 40. В качестве примера, когда связывающим партнером 402 для анализируемого вещества является мышинное антитело, маркированным специфическим для вида связывающим партнером 407 является антитело к мышинное антитело. В качестве другого примера, когда связывающим партнером 402 для анализируемого вещества является кроличье антитело, маркированным специфическим для вида связывающим партнером 407 является антитело к кроличьему антителу. Специалистам в данной области будет понятно, что в этом варианте осуществления может использоваться любой специфический для вида связывающий партнер 407 или другой связывающий партнер, неспецифический для анализируемого вещества 40, но специфический для связывающего партнера 402 для анализируемого вещества. Специалисты в данной области также поймут, как выбирать виды, чтобы свести к минимуму перекрестные реакции.

Зона нанесения образца 44 содержит первый связывающий партнер 402 для анализируемого вещества 40. Следует обратить внимание, что первый связывающий партнер 402 не включает обнаруживаемого маркера. В этом варианте осуществления некоторое количество первого связывающего партнера 402 предпочтительно несет метку 401, а связывающего партнера 409 для метки 401 предпочтительно маркируют обнаруживаемым маркером. В предпочтительных вариантах осуществления количество первого связывающего партнера 402, который несет метку 401, составляет 1-10% от общего количества первого связывающего партнера 402 в тесте.

Зона нанесения образца 44 также включает маркированный специфический для вида связывающий партнер 407 (конъюгированный с обнаруживаемым маркером 417), который связывается с первым связывающим партнером 402 с учетом вида первого связывающего партнера 402. Зона нанесения образца 44 также предпочтительно включает маркированный 415 контрольный связывающий партнер 405. Хотя на этой фигуре первый связывающий партнер 402 для анализируемого вещества 40, конъюгат, включающий видимый маркер 417 и специфический для вида связывающий партнер 407, и контрольный конъюгат 405, конъюгированный с видимым маркером 415, показаны в зоне нанесения образца 44, любая комбинация этих элементов может размещаться в других местоположениях на тест-полоске (выше, ниже или частично покрывая зону нанесения образца) или на прессе для образцов 30, как описано в предыдущих вариантах осуществления.

Тестовая зона 45 включает иммобилизованный второй связывающий партнер 427 к анализируемому веществу 40. Контрольная зона 46 включает иммобилизованный связывающий партнер 420 для контрольного связывающего партнера 405. Тестовую зону 45 и контрольную зону 46 предпочтительно размещают на нитроцеллюлозной мембране.

Когда образец, включающий анализируемое вещество 40, добавляют на тест-полоску, первый связывающий партнер 402 связывается с анализируемым веществом 40, и образуется "половина сэндвича". Это предпочтительно происходит без потока па тест-полоске. Когда наносят подвижный буфер, он придает подвижность "половине сэндвича". Подвижный буфер также придает подвижность специфическому для вида связывающему партнеру 407. Во время потока специфический для вида связывающий партнер 407 взаимодействует и связывается с первым связывающим партнером 402 в половине "сэндвича". Благодаря множеству связывающих участков на первом связывающем партнере 402, наблюдается эффект агрегации или комплектования стопки, который улучшает обнаружение анализируемого вещества 40. В тестовой зоне 45

анализируемое вещество 40, которое теперь является частью агрегированного или укомплектованного в стопку комплекса, связывается с иммобилизованным вторым связывающим партнером 427 с образованием полного "сэндвича". Результатом является улучшенный видимый сигнал, образованный в тестовой зоне 45. Связывание между

5 контрольным связывающим партнером 405 и иммобилизованным контрольным связывающим партнером 420 приводит к обнаруживаемому сигналу 415.

При присутствии анализируемого вещества 40 обнаруживаемый сигнал 417, конъюгированный со специфическим для вида связывающим партнером 407, является частью комплекса и должен быть видимым. Если видимая тестовая линия "читается"

10 пользователем, гест фиксируют как положительный результат на присутствие анализируемого вещества 40. Если тестовая линия не различима или просматривается неясно, то в тестовую зону 45 добавляют одну или несколько капель жидкости, включающей связывающего метку партнера 409 для метки 401, конъюгированного с обнаруживаемым маркером (например, коллоидным золотом или латексными

15 шариками). Связывающий метку партнер 409 мгновенно связывается с меткой 401 на первом связывающем партнере 402. Это значительно улучшает видимость тестовой линии при присутствии анализируемого вещества 40. В отсутствие анализируемого вещества связывающий метку партнер 409 рассеивается, и тестовая линия не видна.

На фиг.21В изображен укомплектованный в стопку комплекс на тестовой линии,

20 если анализируемое вещество 40 присутствует в образце. На фиг.21С изображен укомплектованный в стопку комплекс с добавлением меток 401 и 409.

В примере варианта осуществления, показанного на фигурах с 21А по 21С, для обнаружения вируса простого герпеса (HSV) зона нанесения образца 44 включает свободное мышинное антитело к gD 1&2 HSV 402 (которое связывается с HSV), а также

25 некоторое количество меченого биотином 401 мышинного антитела к gD1&2 HSV 402. В предпочтительном варианте осуществления приблизительно 1-10% свободного антитела к gD1&2 HSV является меченым биотином 401.

Зона нанесения образца 44 также включает кроличье антитело к мышинному антителу 407, конъюгированному с красными латексными шариками 417 и контрольное куриное

30 IgY антитело 405, конъюгированное с голубыми латексными шариками 415. Следует обратить внимание, что кроличье антитело к мышинному антителу 407 не является специфическим для анализируемого вещества 40. Вместо этого, оно специфически связывается с мышинным антителом к gD1&2 HSV. Как обсуждалось выше, любой из gD1&2 HSV 402, меченого биотином 401 gD1&2 HSV 402, кроличьего антитела к

35 мышинному антителу, конъюгированного с красными латексными шариками, куриного IgY антитела, конъюгированного с голубыми латексными шариками, или любой комбинации этих элементов может альтернативно находиться выше, ниже или перекрывать зону нанесения образца 44 или включаться в пресс для образцов 30 в вариантах осуществления, при которых используется пресс для образцов 30. Тестовая

40 зона 45 включает иммобилизованное кроличье антитело к HSV 427, которое связывается с анализируемым веществом HSV 40, когда присутствует в образце. Контрольная зона 46 включает иммобилизованное кроличье антитело к куриному/кроличьему IgG 420. Тестовую зону 45 и контрольную зону 46 предпочтительно размещают на нитроцеллюлозной мембране.

Когда образец, включающий анализируемое вещество 40, добавляют на тест-полоску, gD1&2 HSV связывается с анализируемым веществом HSV 40, и образуется "половина сэндвича". Это происходит без потока на тест-полоске. Когда наносят подвижный

45 буфер, он придает подвижность "половине сэндвича" подвижность. Подвижный буфер

также придает подвижность кроличьему антителу к мышинному антителу 407. Во время потока кроличье антитело к мышинному антителу 407 взаимодействует и связывается с антителом к gD1&2 HSV 202 в половине "сэндвича". Благодаря множеству связывающих участков на мышинном антителе 402 наблюдается эффект агрегации или комплектования стопки, который улучшает обнаружение анализируемого вещества 40. В тестовой зоне 45 агрегированный или укомплектованный в стопку комплекс анализируемого вещества 40, который теперь является частью агрегированного или укомплектованного в стопку комплекса, связывается с иммобилизованным кроличьим антителом к HSV 427, образуя полный "сэндвич". Результатом является улучшенный видимый сигнал, образующийся в тестовой зоне 45. Связывание происходит между контрольным конъюгатом куриного IgY 405 и иммобилизованным кроличьим антителом к куриному/кроличьему IgG 420, что приводит к голубому обнаруживаемому маркеру 415.

При присутствии анализируемого вещества 40 красные латексные шарики 417, конъюгированные с кроличьим антителом к мышинному антителу 407, являются частью комплекса и должны быть видимыми. Если видимая тестовая линия "читается" пользователем, тест фиксируют как положительный результат на присутствие анализируемого вещества 40. Если тестовая линия не различима или просматривается неясно, то в тестовую зону 45 добавляют каплю авидина, нейтравидина или стрептавидина, конъюгированного 409 с коллоидным золотом или латексными шариками. Конъюгат авидина, нейтравидина или стрептавидина 409 мгновенно связывается с биотином 401 на антителе к HVS gD1&2 402. Это значительно улучшает видимость тестовой линии при присутствии анализируемого вещества 40. В отсутствие анализируемого вещества авидин, стрептавидин или нейтравидин 409 рассеивается, и тестовая линия не видна.

В некоторых вариантах осуществления вместо нитроцеллюлозной мембраны можно использовать такие мембраны, как нейлон или полиэстер, которые являются нейтральными. В этих вариантах осуществления белки, такие как нейтравидин, антитела и антигены, не иммобилизуются непосредственно. Вместо этого их конъюгируют с микросферами, которые "отлагаются" в мембране и удерживаются в щелях. Хотя использование нейтральной мембраны показано в связи с этим конкретным вариантом осуществления, нейтральные мембраны и микросферы, отложенные на этих мембранах, можно альтернативно применять в других вариантах осуществления настоящего изобретения.

На фиг.13 изображены некоторые предпочтительные местоположения материалов стимуляции сигнала как для серебряной стимуляции, так и для комплектования стопки в вариантах осуществления устройств с горизонтальным потоком настоящего изобретения. На фиг.13 схематически изображены две возможности местоположения зоны обнаружения, и только элементы, которые являются специфическими для стимуляции сигнала, показаны на фигуре.

В вариантах осуществления с серебряной стимуляцией соль серебра 70 предпочтительно размещают в зоне 90 между зоной нанесения образца 44 и тестовой зоной 45, чтобы позволить по меньшей мере части "сэндвича" образоваться до связывания солью серебра. Альтернативно, соль серебра 70 можно помещать на вкладыш 33 пресса для образцов 30, в зону нанесения образца 44, в зону 92 выше зоны нанесения образца 44, в подвижный буфер 43 или непосредственно в тестовую зону 45 после того, как анализ проведен. В некоторых вариантах осуществления серебряный проявитель 71 также размещают в зоне 90 между зоной нанесения образца и тестовой

зоной. В других вариантах осуществления серебряный проявитель 71 размещают в зоне 92 выше зоны нанесения образца 44, в подвижном буфере 43, на вкладыше 33 пресса для образцов 30 или непосредственно в тестовой зоне после того, как анализ проведен.

В вариантах осуществления с комплектованием стопки первый конъюгат 72 можно размещать на вкладыше 33 пресса для образцов 30, в зоне нанесения образца 44, в зоне 92 выше зоны нанесения образца 44 или в зоне 90 ниже зоны нанесения образца.

Альтернативно, первый конъюгат 72 можно предварительно смешивать с образцом до нанесения в зону нанесения образца; в этом варианте осуществления половина "сэндвича" образуется вне устройства анализа. Второй конъюгат 74 предпочтительно размещают в зоне 92 выше зоны нанесения образца. Альтернативно, второй конъюгат 74 можно размещать на вкладыше 33 пресса для образцов 30. Альтернативно, второй конъюгат 74 может находиться в местоположении, где его можно задержать от вступления в контакт с первым конъюгатом 72, включающем, но без ограничений, выше зоны нанесения образца, выше конъюгата, или добавлять спустя некоторое время после того как анализ начался, например, в подвижный буфер или непосредственно в тестовую зону. Хотя это не является предпочтительным, любой или оба из первого конъюгата 72 или второго конъюгата 74 можно альтернативно размещать в подвижном буфере 43 (не показано).

Хотя способы и устройства описанные в настоящем документе как "сэндвич"-анализы, способы и устройства настоящего изобретения в равной степени могут применяться в конкурентных анализах. В этих конкурентных анализах конъюгат предпочтительно включает анализируемое вещество или аналог анализируемого вещества, а не связывающий партнер анализируемого вещества, связанный с маркером, или, альтернативно, второй связывающий партнер заменяется анализируемым веществом или аналогом анализируемого вещества. Положительный результат теста тогда определяется посредством недостатка присутствия маркера в тестовой зоне тест-полоски.

Соответственно, следует понимать, что варианты осуществления настоящего изобретения в настоящем документе всего лишь иллюстрируют применение принципов настоящего изобретения. Ссылки в настоящем документе на подробности проиллюстрированных вариантов осуществления не предполагают ограничения объема формулы изобретения, которая, в свою очередь, излагается те характерные черты, которые видятся существенными для настоящего изобретения.

#### Формула изобретения

1. Устройство с горизонтальным потоком для обнаружения анализируемого вещества в образце, включающее:

пресс для образцов, содержащий вкладыш,  
 пробоотборник, включающий пробоотборную часть для сбора образца,  
 хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком, включающую зону нанесения образца и тестовую зону, расположенную горизонтально ниже по потоку от зоны нанесения образца,

конъюгат, включающий первый связывающий партнер для анализируемого вещества и метку,

второй связывающий партнер для анализируемого вещества и  
 первый контрольный связывающий партнер, размещенный на вкладыше пресса для образцов,

причем хроматографическая тест-полоска дополнительно содержит контрольную зону, содержащую второй контрольный связывающий партнер, иммобилизованный в

этой контрольной зоне, а первый контрольный связывающий партнер является связывающим партнером для второго контрольного связывающего партнера,

5        причем пресс для образцов, пробоотборник и хроматографическая тест-полоска образуют вертикальную стопку для нанесения образца на указанную тест-полоску путем сдавливания и в вертикальной стопке пробоотборник размещен между прессом для образцов и хроматографической тест-полоской.

2. Устройство по п. 1, в котором конъюгат, или второй связывающий партнер, или конъюгат и второй связывающий партнер размещаются на вкладыше пресса до применения устройства с горизонтальным потоком.

10        3. Устройство по п. 1, которое выполнено таким образом, что положительный результат достигается только путем захвата анализируемого вещества в тестовой зоне вследствие образования комплекса между анализируемым веществом, первым связывающим партнером и вторым связывающим партнером.

4. Устройство по п. 1, в котором тестовая зона не включает молекул, которые специфически связывают анализируемое вещество.

5. Устройство по п. 1, в котором второй связывающий партнер включает метку, а тестовая зона включает иммобилизованный связывающий партнер метки.

6. Устройство по п. 1, дополнительно содержащее корпус, окружающий по меньшей мере часть указанной тест-полоски, причем указанный пресс для образцов образован 20 вращающейся частью корпуса.

7. Устройство по п. 1, дополнительно содержащее корпус, окружающий по меньшей мере часть указанной тест-полоски, причем указанный пресс для образцов образован вставляемым картриджем.

8. Пресс для образцов для применения в устройстве с горизонтальным потоком, 25 содержащем хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком, причем пресс для образцов включает вкладыш, подвижный контрольный связывающий партнер на вкладыше и по меньшей мере один связывающий партнер анализируемого вещества на вкладыше, причем связывающий партнер анализируемого вещества связывает целевое анализируемое вещество.

30        9. Пресс для образцов для применения в устройстве с горизонтальным потоком, которое определяет по меньшей мере одно анализируемое вещество и содержит хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком, причем пресс для образцов содержит вкладыш и подвижный контрольный связывающий партнер на вкладыше, но не включает молекул, которые специфически связывают анализируемое 35 вещество.

10. Способ нанесения образца на хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком устройства с горизонтальным потоком, включающий следующие этапы:

40        а) помещение пробоотборника, включающего пробоотборную часть с образцом, в вертикальную стопку между прессом для образцов, содержащим вкладыш, и зоной нанесения образца указанной тест-полоски и

б) применение давления к пробоотборной части с использованием пресса для образцов для перенесения по меньшей мере части образца в зону нанесения образца, причем на вкладыше пресса для образцов размещают первый контрольный 45 связывающий партнер,

при этом контрольная зона на указанной тест-полоске содержит второй контрольный связывающий партнер, иммобилизованный в контрольной зоне, и первый контрольный связывающий партнер является связывающим партнером второго контрольного



связывающего партнера.

11. Способ по п. 10, в котором вкладыш пресса для образцов включает компонент, выбранный из группы, состоящей из первого связывающего партнера для анализируемого вещества, второго связывающего партнера для анализируемого вещества и одновременно первого связывающего партнера и второго связывающего партнера для анализируемого вещества.

12. Способ по п. 10, в котором пробоотборник доставляет образец пассивно путем контакта или вследствие давления на тест-полоску до применения пресса для образцов к вертикальной стопке.

13. Способ по п. 10, в котором этап а) дополнительно включает помещение вкладыша со связывающим партнером для анализируемого вещества на вертикальную стопку, а на этапе б) по меньшей мере часть связывающего партнера переносят в зону нанесения образца.

14. Способ по п. 10, в котором этап б) осуществляют без капиллярного потока.

15. Устройство с горизонтальным потоком для обнаружения анализируемого вещества в образце, включающее:

пресс для образцов, содержащий вкладыш, причем первый контрольный связывающий партнер размещен на вкладыше пресса для образцов,

пробоотборник, включающий пробоотборную часть для сбора образца, хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком, включающую зону нанесения образца, тестовую зону, расположенную горизонтально ниже по потоку от зоны нанесения образца, и контрольную зону, содержащую второй контрольный связывающий партнер, иммобилизованный в этой контрольной зоне, а первый контрольный связывающий партнер является связывающим партнером для второго контрольного связывающего партнера,

конъюгат, включающий первый связывающий партнер для анализируемого вещества и метку, и

второй связывающий партнер для анализируемого вещества,

причем компонент, выбранный из группы, состоящей из конъюгата, второго связывающего партнера и одновременно конъюгата и второго связывающего партнера, размещен на вкладыше пресса для образцов,

при этом пресс для образцов, пробоотборник и хроматографическая тест-полоска с горизонтальным потоком образуют вертикальную стопку для нанесения образца на указанную тест-полоску путем сдавливания и

в вертикальной стопке пробоотборник расположен между прессом для образцов и хроматографической тест-полоской с горизонтальным потоком.

16. Пресс для образцов для применения в устройстве с горизонтальным потоком, которое содержит хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком, содержащий вкладыш и первый подвижный контрольный связывающий партнер на вкладыше.

17. Пресс для образцов по п. 16, в котором вкладыш содержит связывающий партнер для анализируемого вещества, выбранный из группы, состоящей из

а) конъюгата, содержащего первый связывающий партнер для анализируемого вещества и метку,

б) второго связывающего партнера для анализируемого вещества и

с) одновременно и конъюгата и второго связывающего партнера.

18. Пресс для образцов по п. 16, в котором устройство с горизонтальным потоком содержит пробоотборник, включающий пробоотборную часть для сбора образца.

19. Пресс для образцов по п. 16, в котором указанная тест-полоска содержит контрольную зону, содержащую второй контрольный связывающий партнер, иммобилизованный в этой контрольной зоне, при этом первый контрольный связывающий партнер является связывающим партнером для второго контрольного связывающего партнера, и положительный результат в контрольной зоне показывает, что тест на указанном устройстве был проведен правильно.

20. Устройство с горизонтальным потоком, содержащее:  
пресс для образцов, содержащий вкладыш и первый подвижный контрольный связывающий партнер, размещенный на вкладыше, и  
хроматографическую тест-полоску с горизонтальным потоком, включающую контрольную зону, содержащую второй контрольный связывающий партнер, иммобилизованный в этой контрольной зоне, причем первый подвижный контрольный связывающий партнер является связывающим партнером для второго контрольного связывающего партнера, и положительный результат в контрольной зоне показывает, что тест на указанном устройстве был проведен правильно.

20

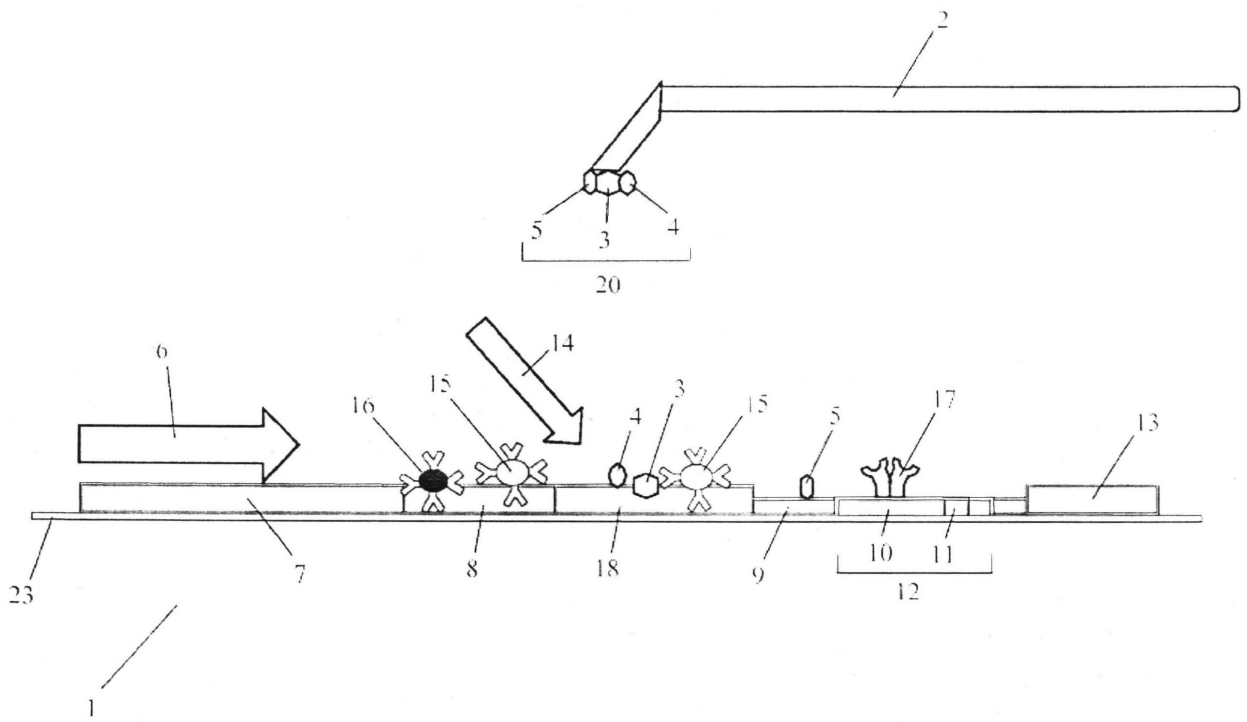
25

30

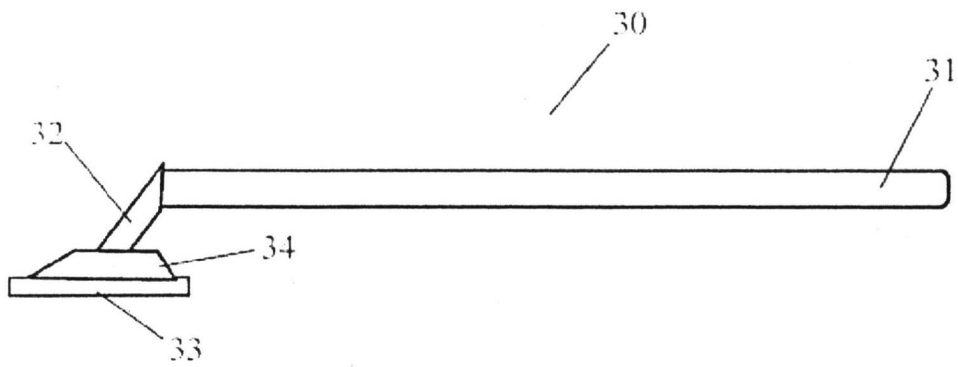
35

40

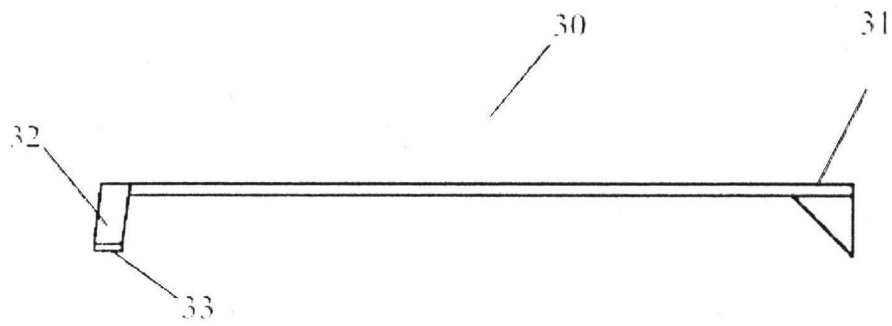
45



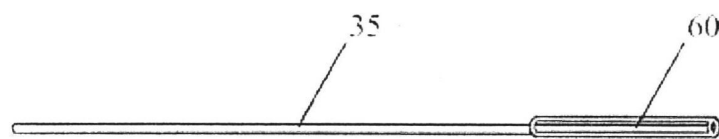
ФИГ. 1



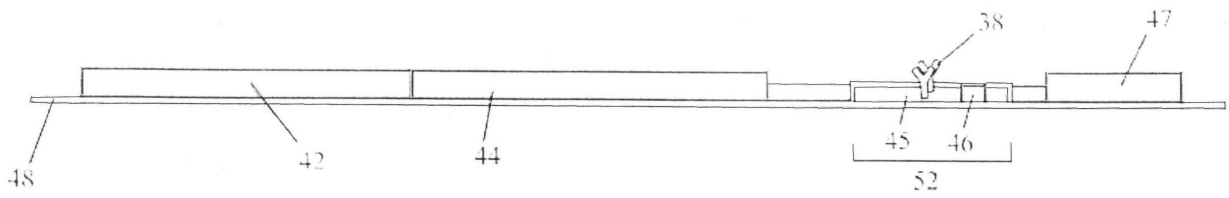
ФИГ. 2А



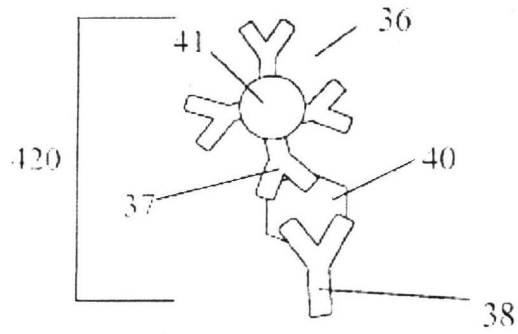
ФИГ. 2В



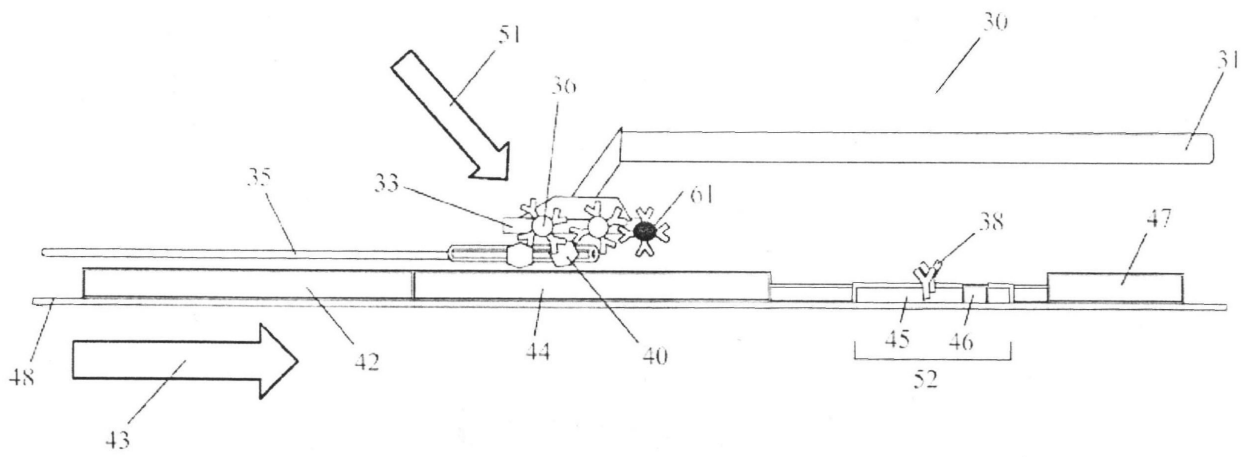
ФИГ. 2С



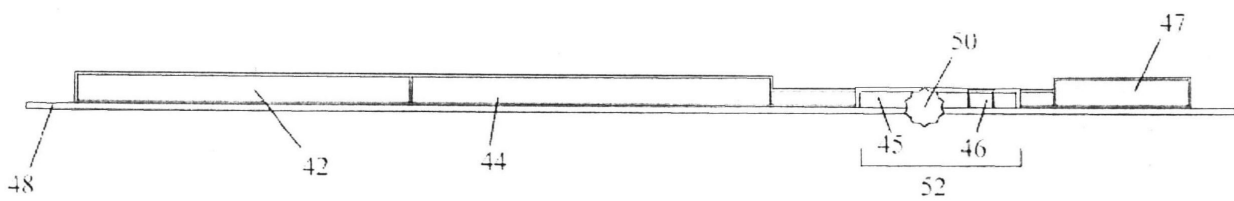
ФИГ. 3А



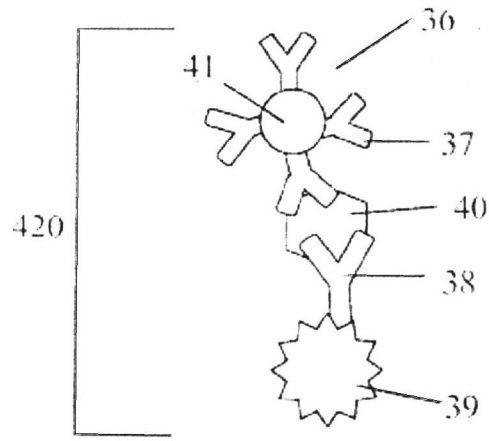
ФИГ. 3В



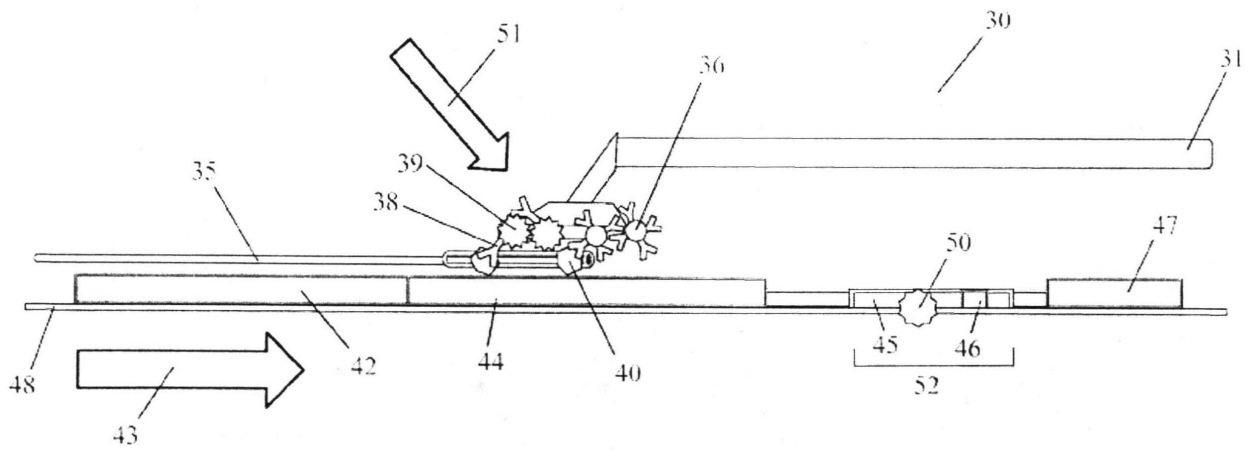
ФИГ. 3С



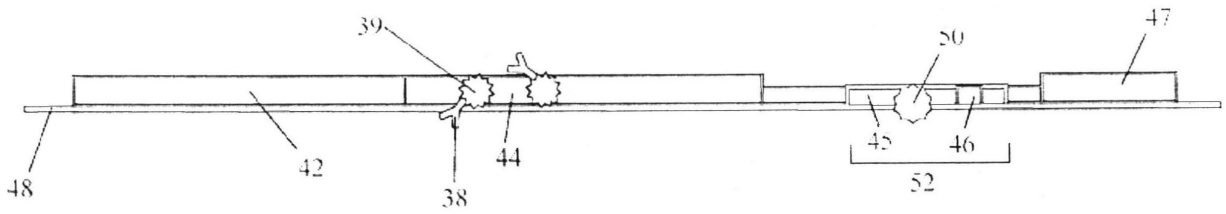
ФИГ. 4А



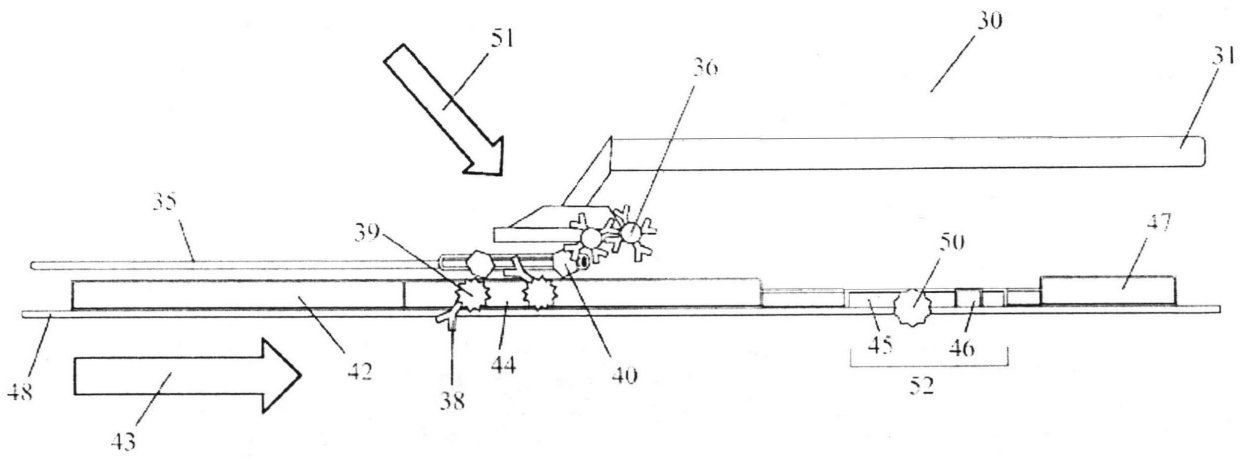
ФИГ. 4В



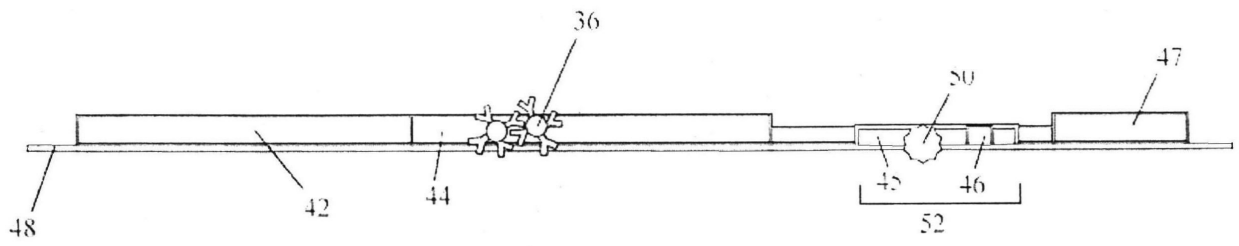
ФИГ. 4С



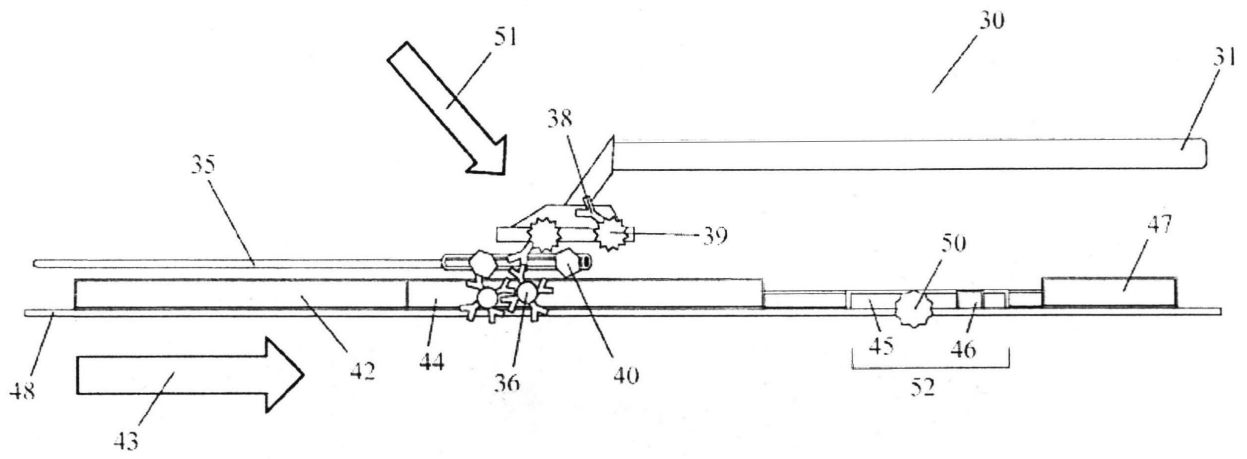
ФИГ. 5А



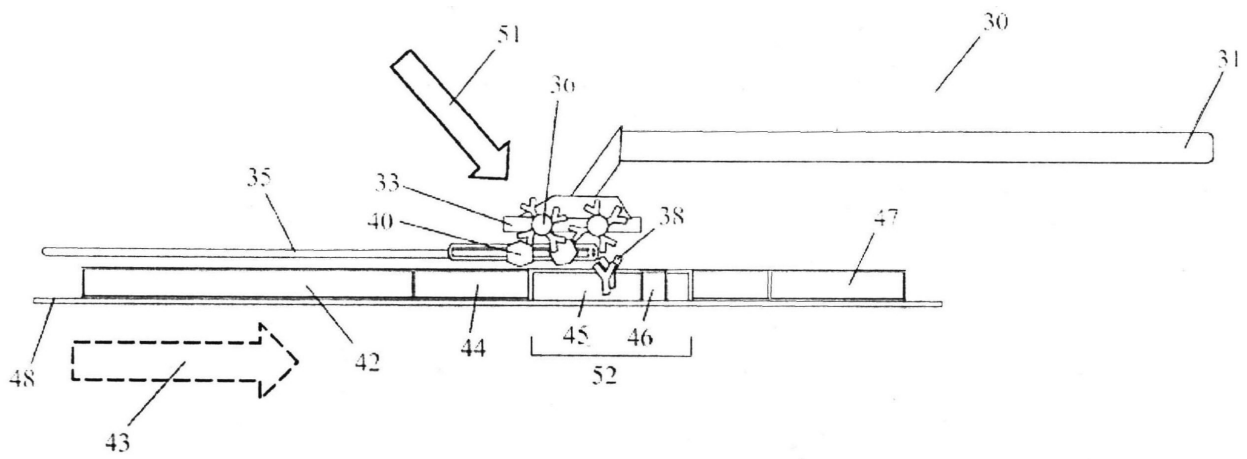
ФИГ. 5В



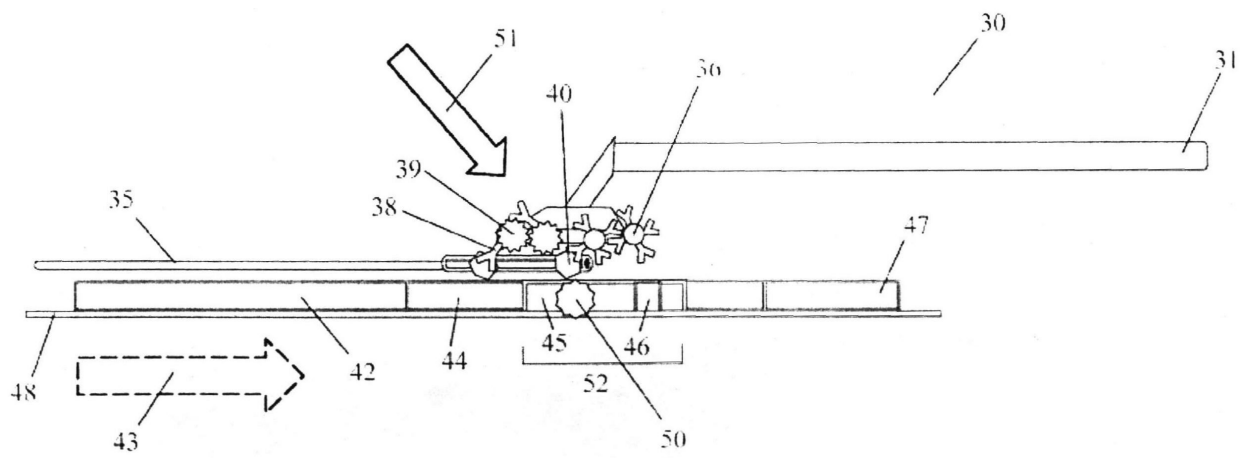
ФИГ. 6А



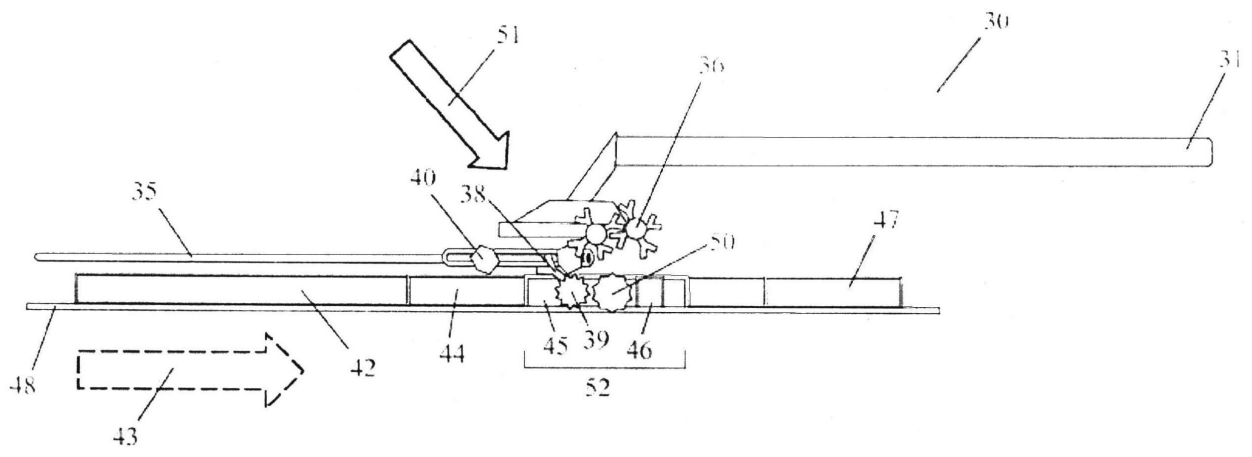
ФИГ. 6В



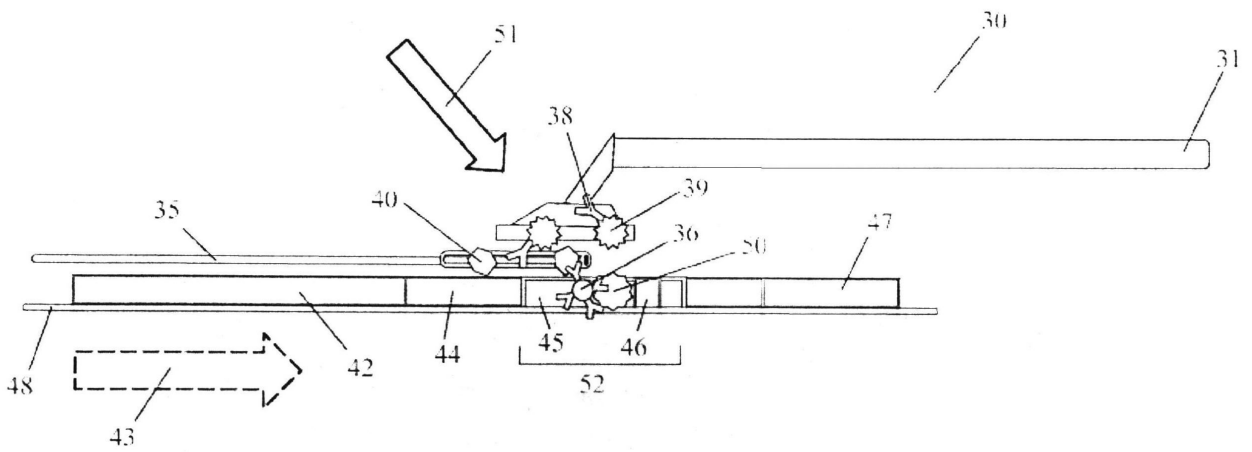
ФИГ. 7А



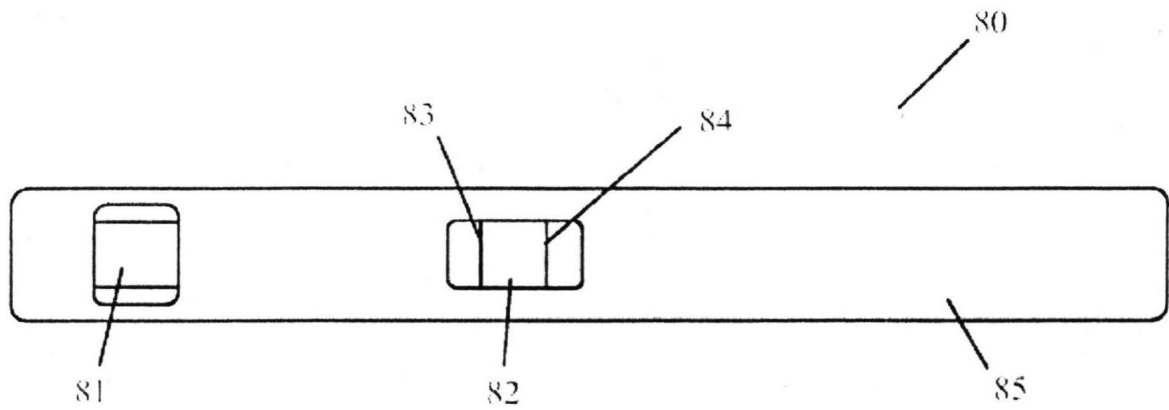
ФИГ. 7В



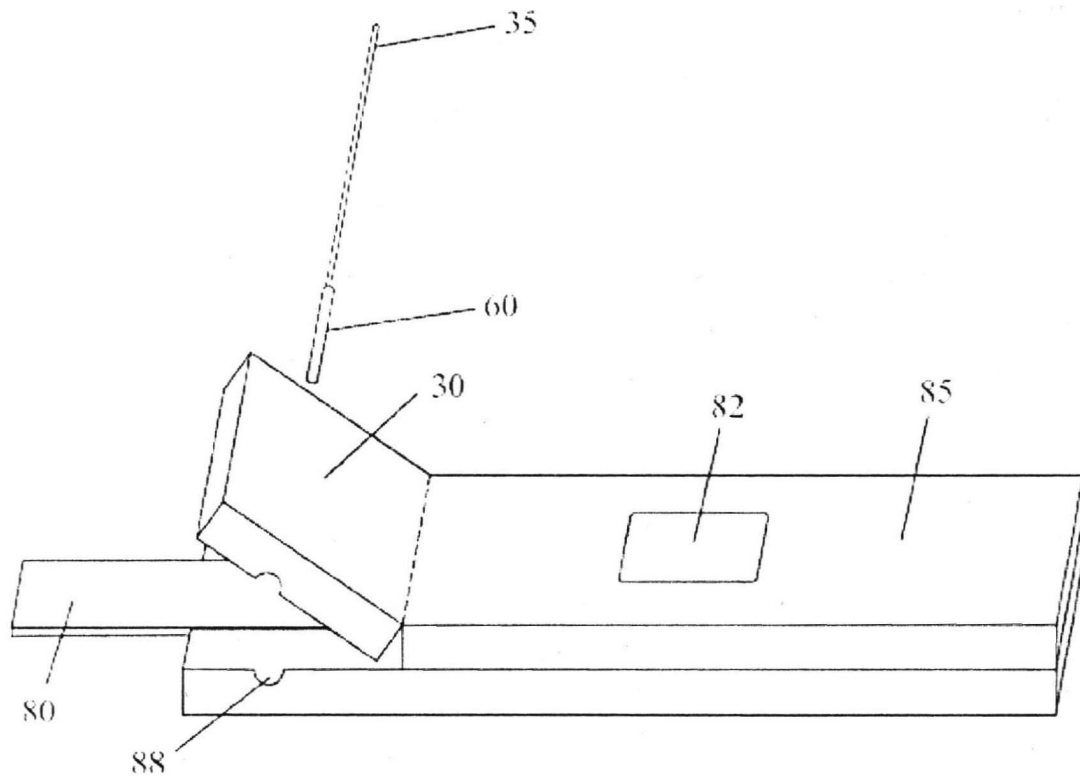
ФИГ. 7С



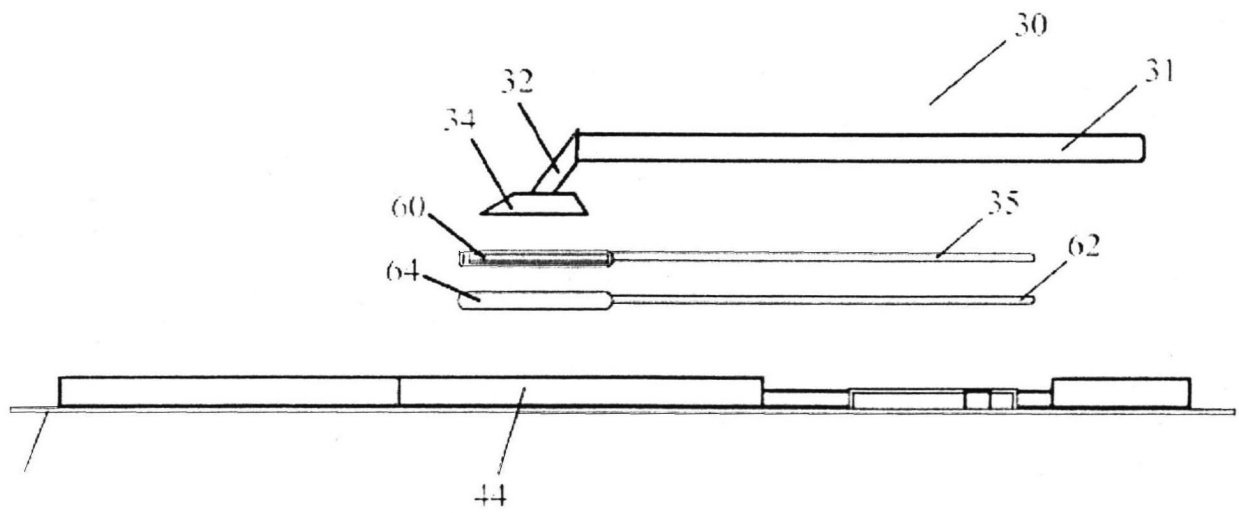
ФИГ. 7D



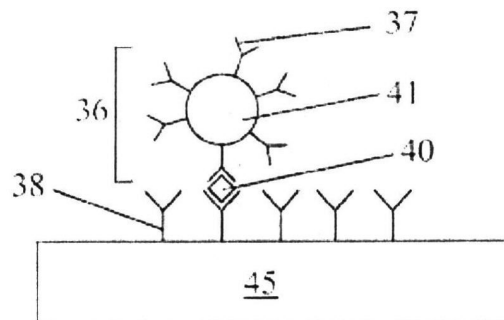
ФИГ. 8А



ФИГ. 8В

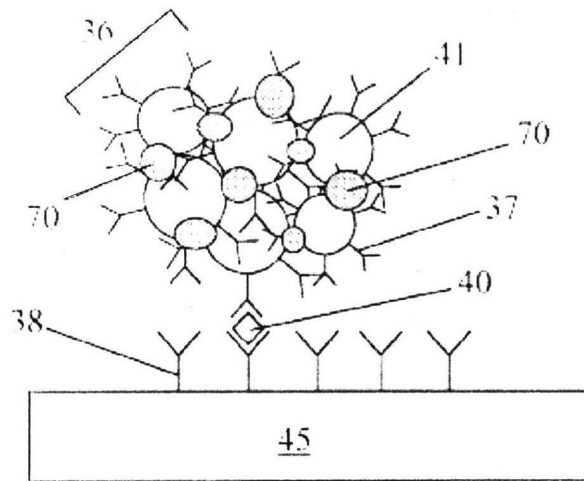


ФИГ. 9

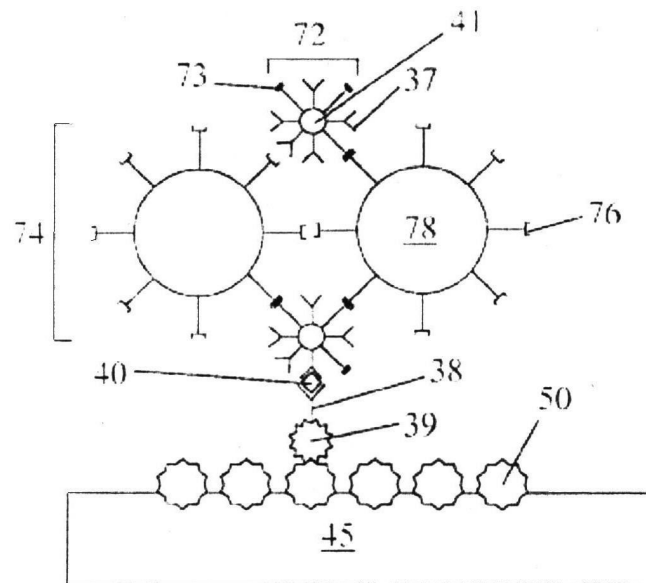


Уровень техники  
ФИГ. 10

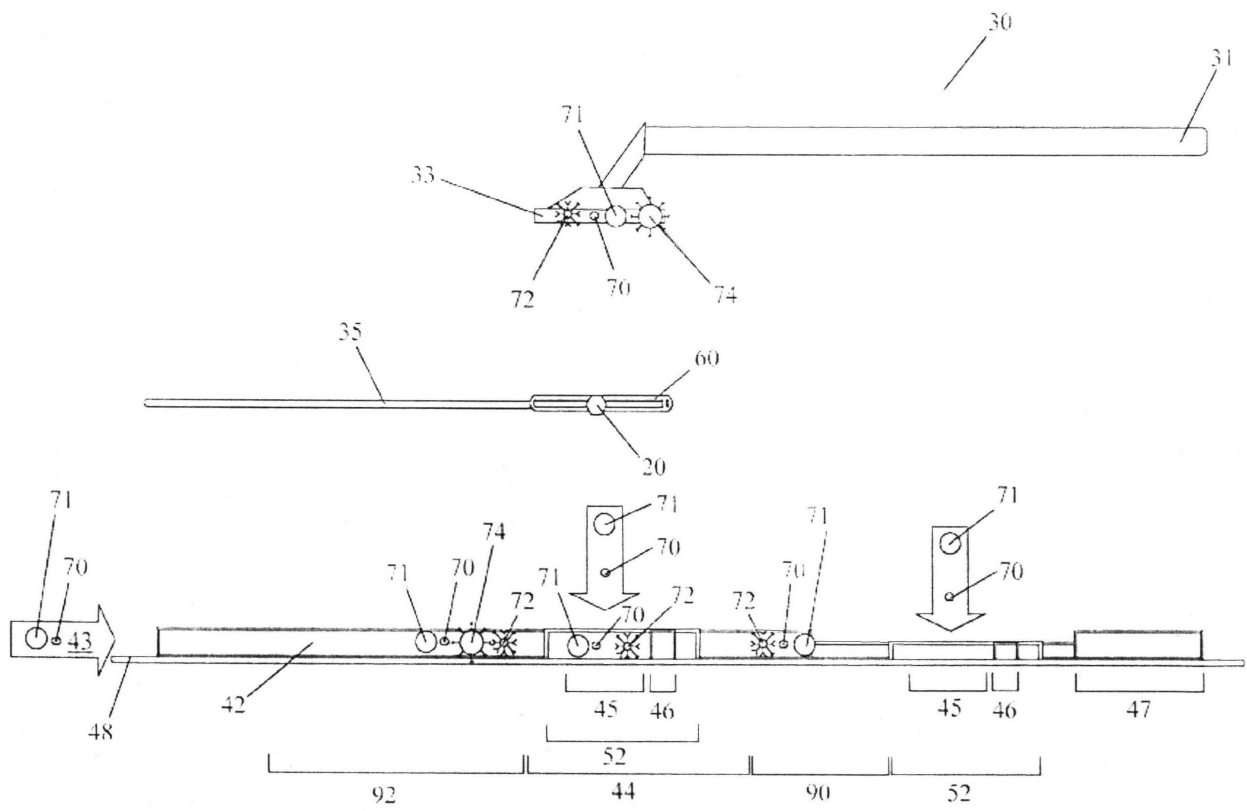




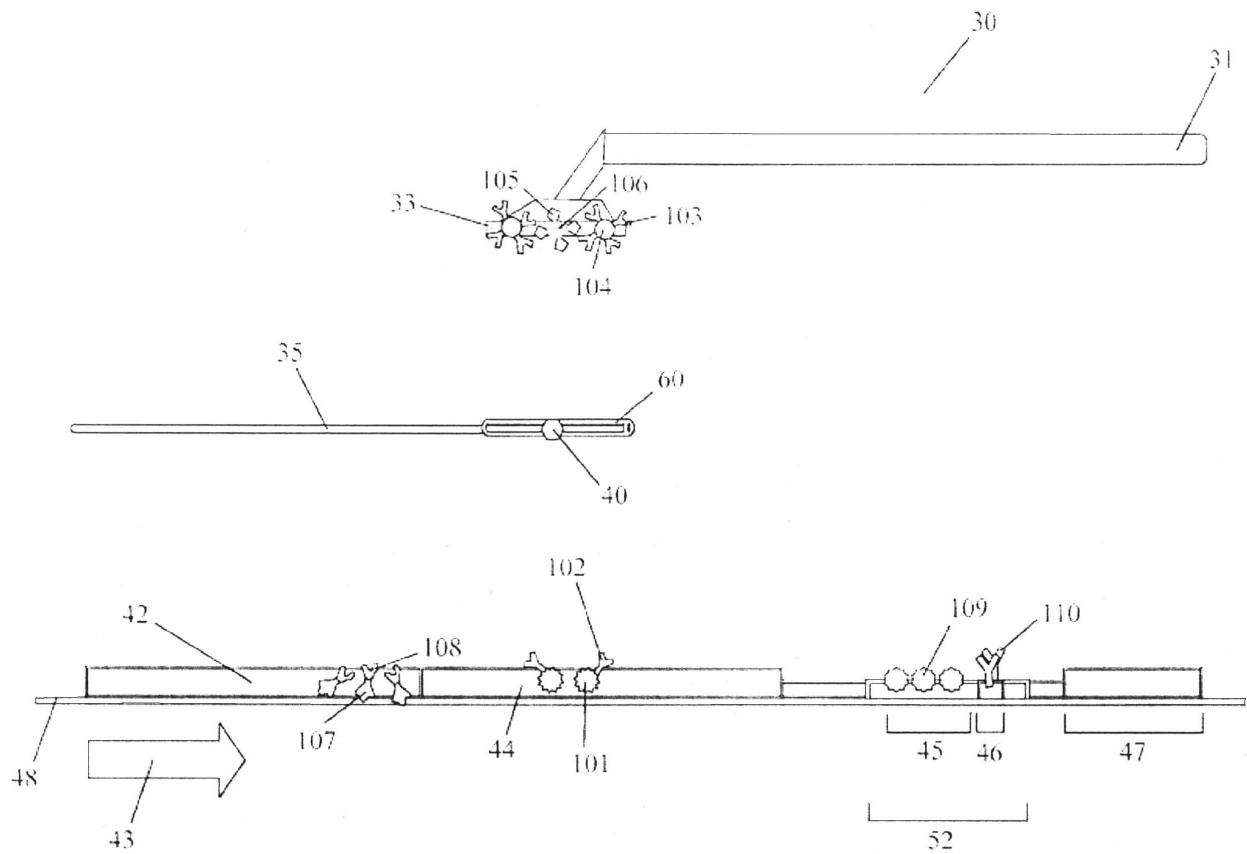
ФИГ. 11



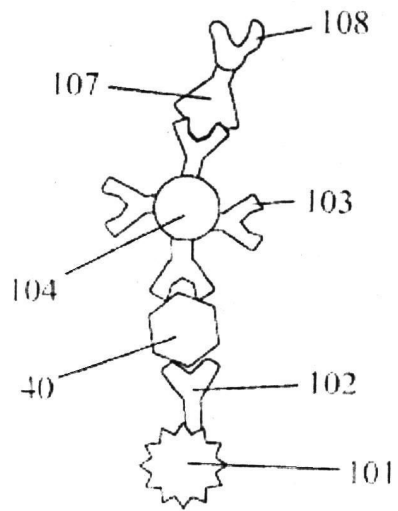
ФИГ. 12



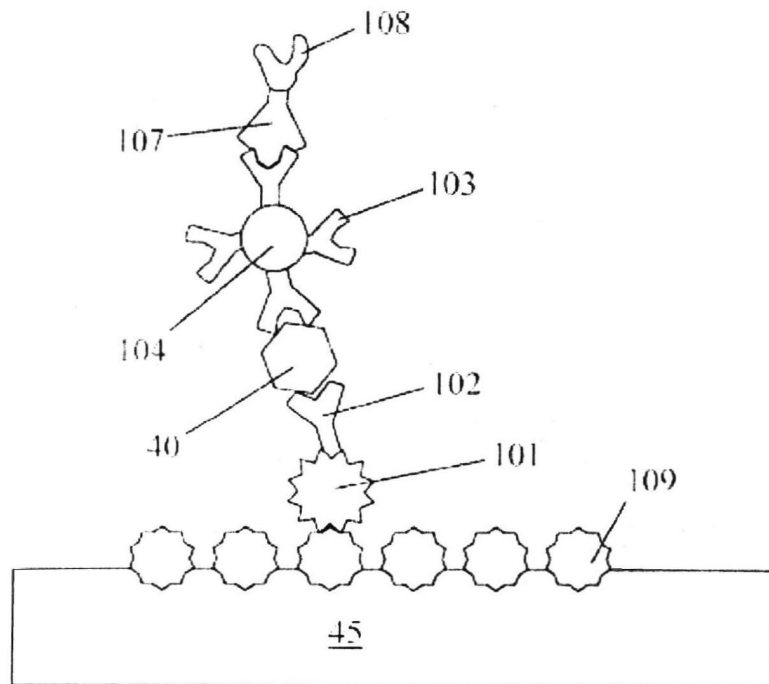
ФИГ. 13



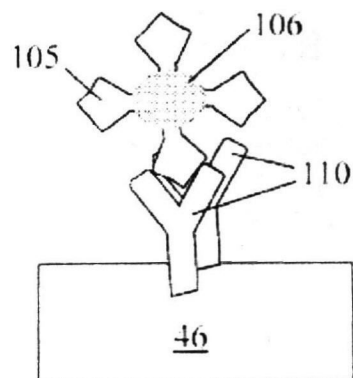
ФИГ. 14



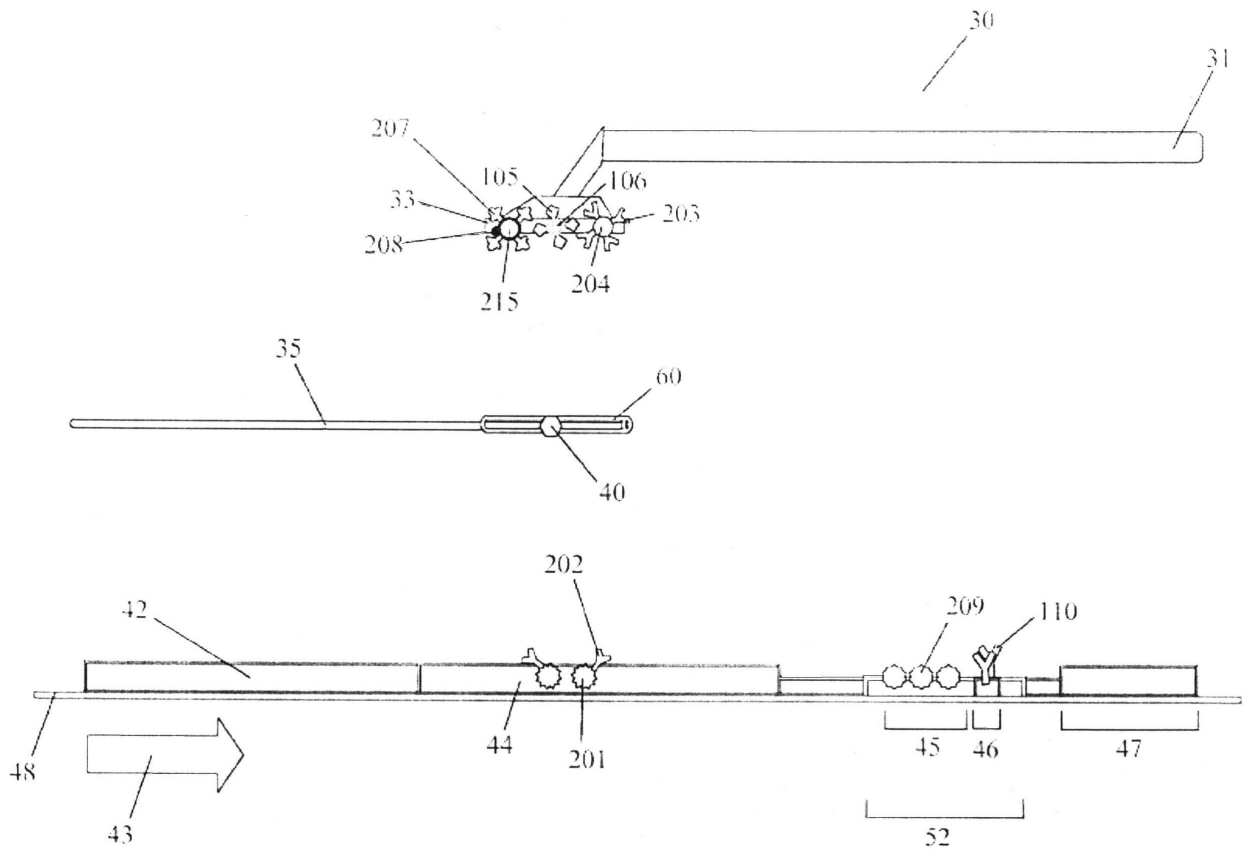
**ФИГ. 15А**



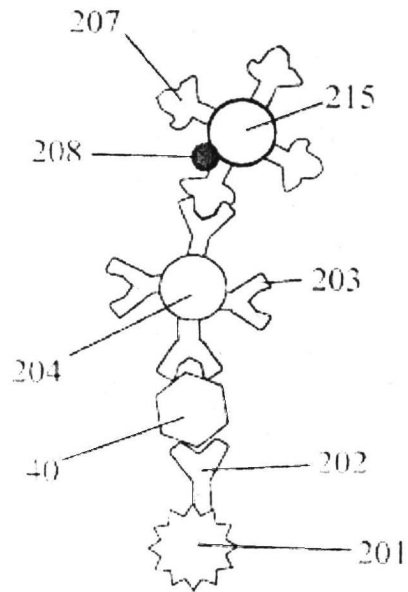
**ФИГ. 15В**



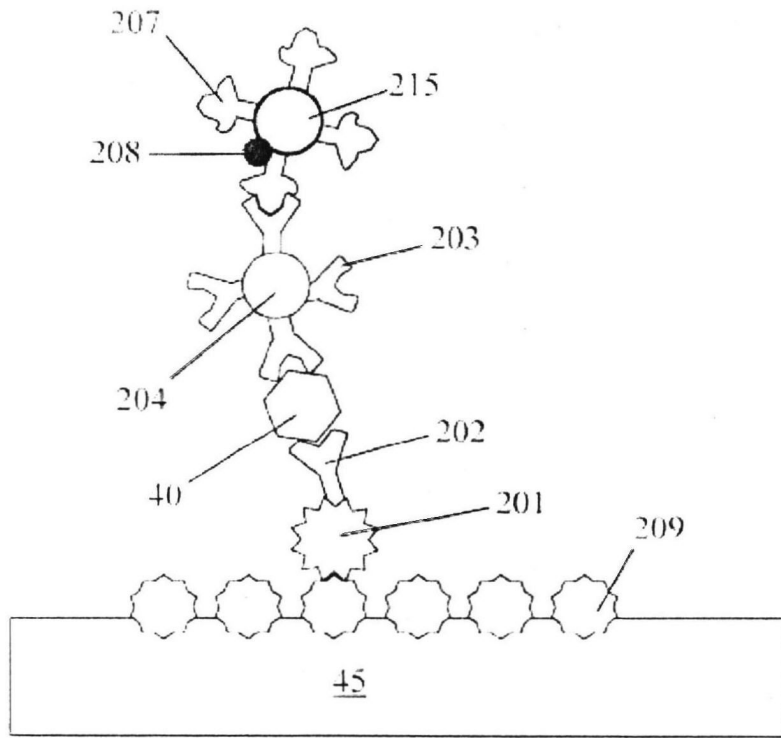
**ФИГ. 15С**



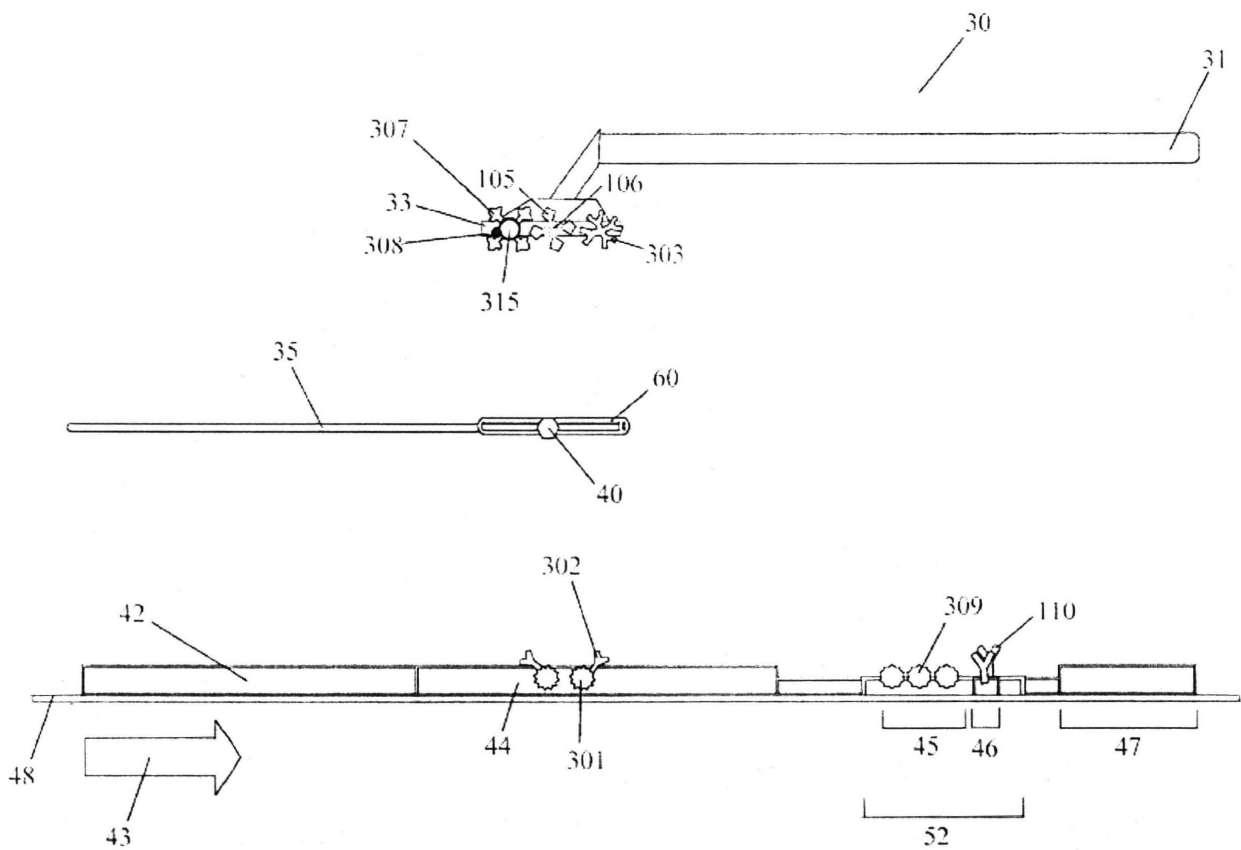
ФИГ. 16



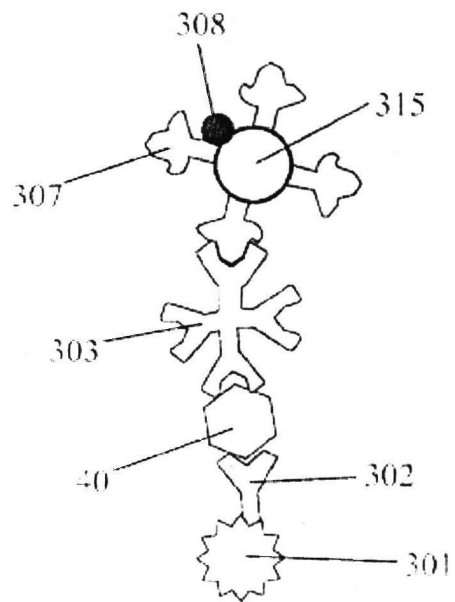
ФИГ. 17А



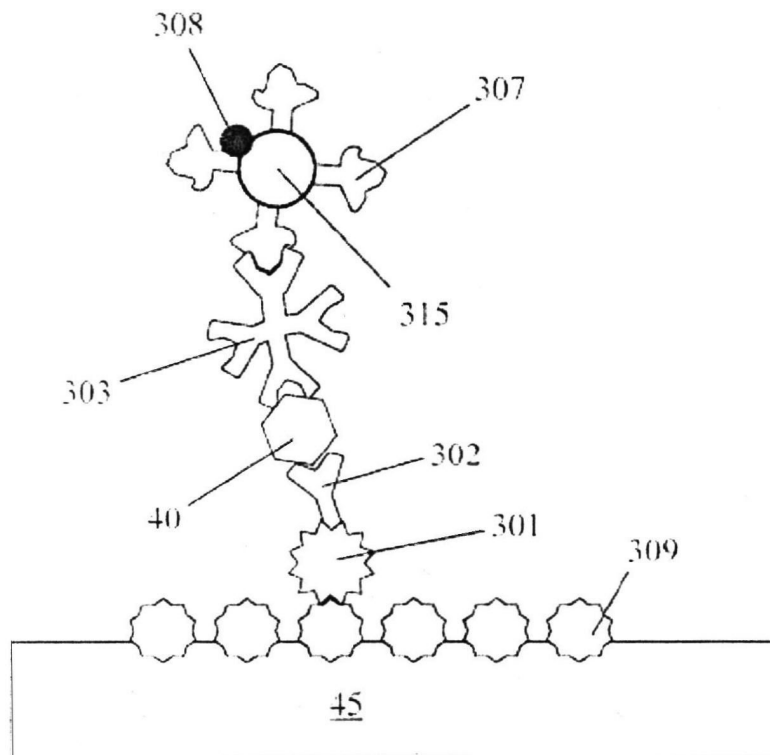
ФИГ. 17В



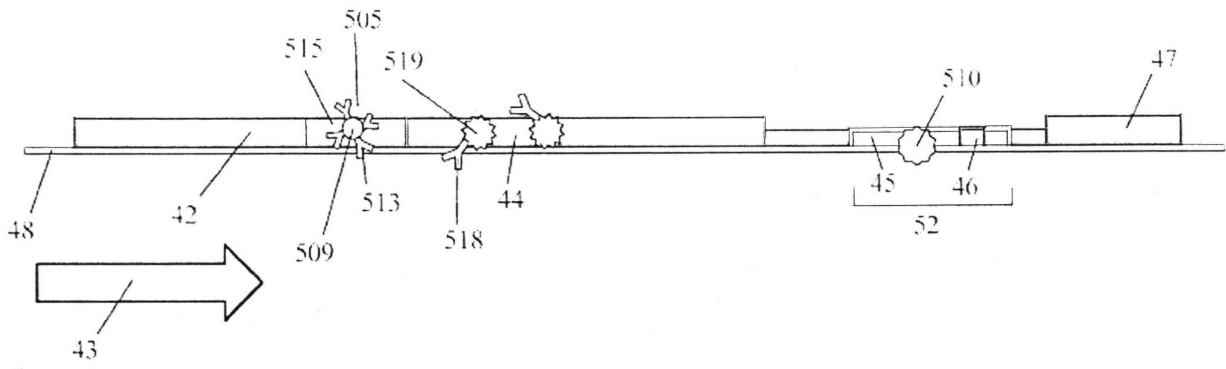
ФИГ. 18



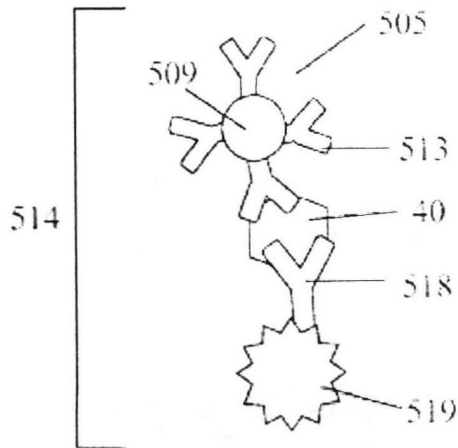
ФИГ. 19А



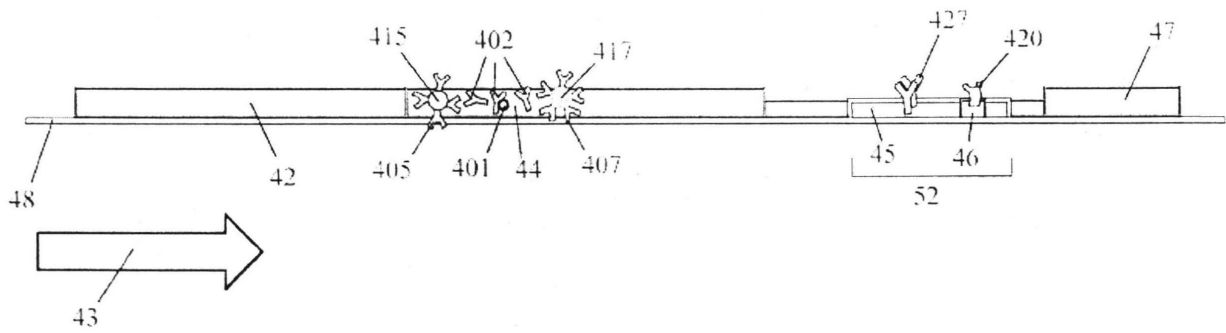
ФИГ. 19В



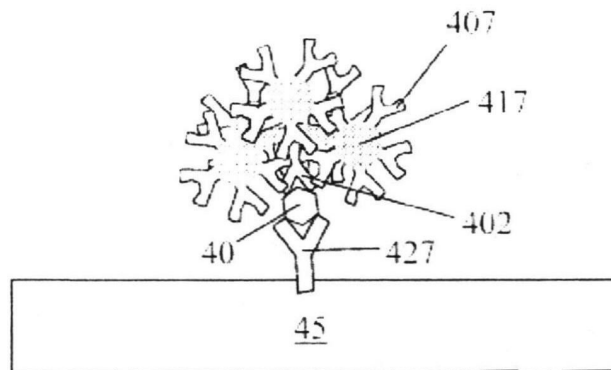
ФИГ. 20А



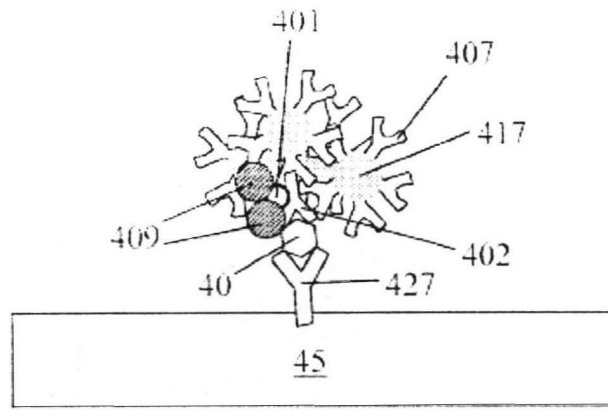
ФИГ. 20В



ФИГ. 21А



ФИГ. 21В



ФИГ. 21С