

Даний винахід відноситься до пристрою для кількісного або якісного аналізу щонайменше одного компонента в пробі продукту, що дозволяє здійснювати імунологічний аналіз, а також до способу і приладу з використанням вказаного пристрою.

Були розроблені різні способи ідентифікації, виявлення або визначення кількості речовин, що аналізуються в хімічних або біологічних пробах.

Більшість цих способів заснована на формуванні комплексів, отриманих внаслідок спорідненості між членами однієї пари специфічного зв'язку.

Ці реакції типу ліганд/рецептор, є, зокрема, результатом взаємодії між антигеном і специфічним антитілом, або результатом гібридизації між двома послідовностями комплементарних нуклеїнових кислот або феномена розпізнавання між сайтом скріплення протеїну, наприклад ферменту, гормону або іншої біологічної частки, і її лігандом, субстратом або рецептором.

Утворення комплексу внаслідок спорідненості дозволяє виявити присутність шуканої речовини, що аналізується в пробі. Ця речовина, що аналізується при необхідності може бути визначена кількісно у випадку, якщо можливо відділити комплексні форми від форм, що залишилися у вільному вигляді, або виміряти міру зайнятості специфічних лігандів речовини, що аналізується.

Такий метод виявлення і визначення кількості речовини, що аналізується, присутньої в пробі, що знаходиться іноді у вигляді слідів, представляє великий інтерес для дослідницьких або аналітичних лабораторій, зокрема, для лабораторій клінічного або біологічного аналізу.

Однак для використання їх в повсякденній практиці необхідно, щоб такі методи могли застосовуватися одночасно на великій кількості проб. Крім того, часто буває необхідно виконати декілька тестів на одному і тому ж зразку.

Тому в більшості випадків протоколи звичайних аналізів, що проводяться вручну, включають в себе декілька послідовних реакцій і етапів. Ці численні тести виконуються на серійних зразках в дуже великих центрах, де за один день доводиться тестувати декілька десятків тисяч зразків. Для виконання численних тестів потрібно досить багато часу. Крім того, необхідність виконання послідовних операцій може привести до помилок в результатах.

Таким чином, досить швидко виникла проблема автоматизації проведення тестів такого типу і для її рішення були розроблені різні пристрої для автоматизації або, принаймні, для спрощення вищезазначених послідовних етапів.

Більшість цих пристроїв залишаються відносно складними або пристосованими до виявлення одного типу речовини (клітини або молекули), що аналізується або ж дозволяють виконувати тільки якісні аналізи. Такі пристрої, зокрема, описані в документах EP 0339277 і EP 0426729.

Зокрема, в патенті EP 0339277 описується пристрій для проведення послідовних аналітичних реакцій при визначенні кількості речовини, що аналізується в рідкому зразку, який досліджується з використанням аналітичних реакцій між речовиною, що аналізується і аналітичними реагентами, які взаємодіють з речовиною, що аналізується для отримання відповіді, яка отримується в залежності від речовини, що аналізується.

Цей пристрій містить закритий резервуар, що має горизонтальну вісь обертання. Закритий резервуар обмежений зовні циліндричною стінкою і містить всередині дві концентричні стінки у вигляді ложки, які визначають між собою зону впускання проби. Між стінками в формі ложки і циліндричною периферичною стінкою знаходиться декілька реакційних зон, в які вміщені спеціальні аналітичні реагенти.

Згідно з цим патентом, зразок вводять через вхідний канал в камеру впускання, утворену між стінками в формі ложки і що виходить до реакційних зон. При обертанні названого резервуара відповідно до рушення "маятника" навколо його горизонтальної осі, рідкий зразок під дією сили тяжіння перетікає в реакційні зони, де він вступає у взаємодію з реагентами, потім він переміщується в зону для дослідження, розташовану в центрі резервуара.

Такий пристрій був розроблений, головним чином, для того, щоб уникнути центрифугування продукту під час кількісного аналізу.

Також, з патенту JP HEI-5 215 750 відомий пристрій для виявлення і аналізу клітинних популяцій, який містить горизонтальний колоподібний металевий диск, що обертається навколо вертикальної осі. Цей відкритий диск покритий антитілами,

Диск приводять у обертання навколо вертикальної осі таким чином, щоб проба, введена в його центр, рівномірно розподілялася під дією відцентрової сили на диску.

Подальші етапи промивання виконуються таким же чином шляхом введення в центр диска промиваючої рідини, яка при обертанні диска виводиться до периферії, промиваючи поверхню, на якій зафіксований компонент, що визначається. Для рекуперації миючої рідини передбачений резервуар, який вміщений під диском.

Нарешті, з документа WO 94 25 159 відомий пристрій для здійснення якісного і/або кількісного аналізу конкретного компонента в пробі продуктів, який містить практично колоподібний контейнер, встановлений з можливістю обертання на пусковому валу в його центрі, в якому влаштовані камери для тестування, розташовані по радіусах контейнера і, які мають градієнт щільності. У центральній частині контейнера передбачена кільцева камера для центрифугування, яка сполучена з кожною тестувальною камерою.

Кільцева камера для центрифугування може бути розділена на дві частини, які сполучаються між собою через верхній отвір.

Обмежувальна стінка першої частини камери для центрифугування нахилена таким чином, що переміщення речовини з першої частини у другу частину здійснюється переливанням за обмежувальну стінку, через з'єднувальний отвір. Точно також і обмежувальна стінка другої частини камери центрифугування нахилена таким чином, що переміщення суміші в кожную камеру для тестування здійснюється шляхом переливання через з'єднувальний отвір між другою частиною камери центрифугування і названими камерами для тестування.

Кут нахилу обмежувальної стінки другої частини камери центрифугування більше кута нахилу

обмежувальної стінки першої частини, тому при центрифугуванні речовина переміщується спочатку від першої частини камери центрифугування, розташованою поруч з віссю обертання контейнера, у другу частину камери центрифугування, а потім переміщується в камери для тестування.

В основу винаходу поставлена задача створення нового аналізуючого пристрою, простого по конструкції і у використанні, який може працювати індивідуально з мінімальним числом операцій і дозволяє проводити аналіз в безпосередній близькості від місця взяття проби продукту, який містить певний компонент, що аналізується, оптимізованої конструкції і, крім того, який дозволяв би провести серійні дослідження на невеликих кількостях проб.

Зокрема, згідно з винаходом, пропонується пристрій для виконання якісного і/або кількісного аналізу щонайменше одного певного компонента в пробі продукту, шляхом мічення і фіксації, який містить контейнер і кришку, з'єднані між собою, для утворення закритого резервуара.

Пристрій характеризується тим, що закритий резервуар має вертикальну вісь, контейнер і кришка мають коаксіальні циліндричні стінки, які при монтажі встановлюються парами одна проти іншої, утворюючи щонайменше три концентричні кільцеві камери всередині резервуара, а саме, одну камеру впускання біля осі, призначену для введення проби і, у разі необхідності, мічення компонента, камеру фіксації і зчитування названого міченого компонента, і камеру виведення, при цьому циліндричні коаксіальні стінки, які створюють перегородки між послідовними кільцевими камерами, містять кожна щонайменше один отвір, а з'єднані між собою кришка і контейнер встановлені з можливістю обертання відносно один одного навколо вертикальної осі, а отвори циліндричних коаксіальних стінок контейнера і кришки розміщені в певних кутових положеннях, таким чином, що при переміщенні циліндричних стінок кожної пари однієї відносно іншої, отвори кожної пари стінок здатні займати положення одна проти іншої або під кутом, щоб з'єднувати або ізолювати один від одного послідовні кільцеві камери.

Відповідно до переважного варіанту втілення пристрою отвори, передбачені в циліндричних коаксіальних стінках контейнера і кришки, розташовані таким чином, щоб отвори однієї пари циліндричних стінок знаходилися навпроти один одного для з'єднання двох послідовних кільцевих камер, а отвори інших пар циліндричних стінок розташовувалися зсунутими під кутом таким чином, щоб інші кільцеві камери залишалися ізолюваними.

Відповідно до інших варіантів втілення пристрою згідно з винаходом, на кришці і на контейнері є засоби для встановлення їх в заданому положенні.

Кришка має виступ на зовнішній поверхні одної з коаксіальних циліндричних стінок, розташованих зовні інших циліндричних стінок з утворенням зовнішнього периферичного борта резервуара, причому цей виступ утворює захват або опору, які забезпечують обертання кришки навколо вертикальної осі по відношенню до контейнера. Пристрій згідно з винаходом має поперечний центральний отвір, ізолюваний від безпосередньо примикаючої кільцевої камери, і призначений для введення в нього вертикального привідного вала, що обертається, який приводить у обертання названий резервуар.

В основі кришки або в основі контейнера може бути передбачений вхідний отвір в камеру впускання.

Відповідно до одного з варіантів пристрою передбачено, щоб резервуар містив між камерою впускання і камерою виведення декілька концентричних камер фіксації і зчитування.

Пристрій згідно з винаходом має оптимізовану ергономічну форму. Зокрема, резервуар має форму диска.

Переважно, контейнер пристрою виконаний з прозорого матеріалу, що дозволяє зчитувати мічені фіксовані компоненти в камері фіксації і здійснювати зчитування через стінки резервуара. Кришка може бути непрозорою або обробленою таким чином, щоб усунути шкідливі випромінювання, причому зчитування можна проводити за допомогою камери CCD.

Пристрій згідно з винаходом переважно містить в камері фіксації щонайменше один рецептор компонента, що аналізується, причому рецептор фіксується в камері. Потрібно зазначити, що під рецептором і лігандом загалом розуміють два елементи, які сполучені міцними взаємодіями, наприклад, мова може йти як про пару антигени/антитіла, так і про пару нуклеїнова кислота/ комплементарна нуклеїнова кислота або ж істинний ліганд і рецептор або про інші міцні взаємодії.

Фахівцям в цій області техніки добре відомі способи, що дозволяють фіксувати протеїни (наприклад, антигени, антитіла) або нуклеїнові кислоти на поверхнях з пластику або навіть з скла. Мова йде про методики фіксації компонентів, що використовуються в цей час цього типу на стандартних чашоподібних пластинах, які використовуються, наприклад, в тесті ELISA, або які можуть бути адаптовані в залежності від типу полімерного матеріалу, що використовується.

Переважно рецептор закріплюють на дні контейнера у вигляді моношару таким чином, щоб зробити зчитування більш легким і зручним. Дійсно, якщо засобом зчитування є камера CCD, то випромінювання буде проходити через дно контейнера і буде або не буде модифіковане внаслідок присутності міченого компонента, потім буде рекуперовано після другого проходу через дно контейнера.

Методика, що використовується багато в чому схожа на спосіб імунологічного аналізу, який називається "сендвіч", коли виявлений елемент вступає в реакцію з рецептором, наприклад, з антитілом, і сам мітиться іншим елементом, що його розпізнає, який має або фізичну мітку, тобто частки, або хімічну мітку, наприклад, за допомогою флуоресцентних елементів або тих, які можна зробити флуоресцентними.

У зв'язку з цим згідно з переважною характеристикою винаходу, частки, призначені для мічення, мають певний діаметр, переважно більше або рівний 100 діаметрам компонента, що аналізується або компонентів, і мають оптичні властивості, що дозволяють їх виявляти шляхом підрахунку.

Під виразом "мають оптичні властивості" розуміється той факт, що названі частки здатні все світлове випромінювання, що випускається системою виявлення, або його частину, направляти в свій бік.

Хоч компонент можна мітити перед його введенням в пристрій, переважно, щоб призначений для мічення елемент, здатний мітити компонент, що аналізується, вміщувався в камеру впускання, наприклад, в сухій, нефіксованій формі. Мова може йти, наприклад, про мічені антитіла, що розпізнають один з епітопів антигену, що аналізується, причому інше антитіло фіксується в камері фіксації і мічення.

У пристрої згідно з винаходом фіксований рецептор вибраний з групи, що складається з антитіл, антигенів, послідовностей комплементарних нуклеїнових кислот, істинних рецепторів для аналізу специфічних компонентів, якими є антигени, антитіла, послідовності нуклеїнових кислот, ліганди названих рецепторів.

При імунологічних аналізах вважають за краще використовувати антиген або мічене антитіло, щоб визначити додатковий елемент і фіксувати інший додатковий елемент в камері фіксації і зчитування.

Можливо також здійснювати множинний аналіз, що дозволяє, при необхідності, визначати кількісний зміст декількох антигенів або декількох антитіл. Для цього досить, щоб камера фіксації і зчитування була розділена на багато кутових секторів, в яких фіксуються відмінні один від одного рецептори, кожний з яких призначений для фіксації і для зчитування іншого міченого компонента. Для цього треба, і це є особливо переважним варіантом винаходу, щоб один з кутових секторів камери фіксації залишався без рецепторів і являв собою контрольний сектор, який би ініціалізуючому зчитуванню названого пристрою виставляв нуль.

Зчитування згідно з винаходом може виконуватися за допомогою камери CCD, яка може бути об'єднана в систему з інформаційним пристроєм, який дозволить відтворювати результати аналізу кожного з елементів в залежності від зчитувань, зроблених в різних секторах.

Відповідно до особливо переважної характеристики пристрою згідно з винаходом, камера CCD здатна підраховувати довільним образом, шляхом емісії прийому світлового сигналу, кількість мічених фіксованих компонентів в кожній камері фіксації і зчитування, щоб отримати цифровий сигнал виявлення.

Це відбувається при використанні часток або мікросфер для мічення одного або декількох компонентів, що аналізуються в пробі, причому ці частки мають, переважно, розмір, рівний 100-кратному розміру шуканих молекул, і здатні відображати все або частину світлового випромінювання, що направляється на частки, причому відображене випромінювання відповідає кількості явищ відображення на частках, яку здатна зареєструвати камера CCD з подальшою передачею на інформаційний пристрій, який видає результат в абсолютних значеннях і в реальному часі явищ, що реєструються.

Згідно з винаходом запропонований також спосіб кількісного і/або якісного аналізу щонайменше одного компонента в пробі продукту шляхом мічення і фіксації.

Цей спосіб відрізняється тим, що використовують щонайменше один пристрій, який містить специфічні рецептори компонента, що аналізується, фіксовані в кожній камері фіксації і зчитування, в якому:

а) пробу продукту, що містить мічений компонент, вміщують в камеру впускання, ізольовану від інших кільцевих камер,

б) повертають кришку відносно контейнера таким чином, щоб камера впускання сполучилася з кожною камерою фіксації і зчитування, а камера виведення залишилася ізольованою від інших кільцевих камер,

в) пристрій приводять у обертання навколо його вертикальної осі таким чином, щоб розподілити шляхом центрифугування в кожній камері фіксації і зчитування пробу продукту, що містить мічений компонент, при цьому названий компонент сполучається шляхом міцної взаємодії зі специфічними рецепторами, фіксованими в кожній камері фіксації і зчитування,

г) повертають кришку відносно контейнера таким чином, щоб з'єднати камеру фіксації і зчитування з камерою виведення,

д) пристрій приводять у обертання навколо осі таким чином, щоб направити шляхом центрифугування надлишок проби в камеру виведення,

е) пристрій промивають зсередини за допомогою мийочної рідини, яка прямує завдяки центрифугуванню в різні кільцеві камери пристрою із здійсненням попередніх стадій б), в), г) і д) таким чином, щоб в кожній камері фіксації і зчитування зберігався тільки мічений компонент, пов'язаний шляхом міцної взаємодії з фіксованими рецепторами,

ж) мічений компонент виявляють і аналізують через стінку або стінки пристрою.

Спосіб згідно з винаходом є автоматизованим способом широкого спектра; він може застосовуватися при виявленні і підрахунку речовин-мішеней, як у вигляді молекул, так і у вигляді часток везикул або клітин.

Згідно з винаходом запропонований також прилад для реалізації вказаного способу, що характеризується тим, що містить вертикальний привідний вал для приведення у обертання, на який насаджено пристрої згідно з винаходом, засоби для підтримки названих пристроїв на відстані один від одного, засоби для приведення у обертання в двох напрямках названого вертикального привідного вала, засоби вприскування проб продукту і мийочної рідини в камери впускання названих пристроїв, насаджених на привідний вал, і засоби для повороту кришок пристроїв відносно контейнерів таким чином, щоб з'єднувати або ізолювати послідовні кільцеві камери, і засіб зчитування мічених фіксованих агентів (речовин).

Прилад, що пропонується дозволяє автоматично при використанні пристрою аналізувати різні компоненти однієї і тієї ж проби, або один і той же конкретний компонент в декількох пробах різних продуктів.

Надалі винахід пояснюється описом переважних варіантів втілення винаходу з посиланнями на супроводжуючі креслення, на яких:

Фіг.1 зображає кришку пристрою (вигляд зверху), згідно з винаходом;

Фіг.2 - розріз по лінії II-II на фіг.1, згідно з винаходом;

Фіг.3 - контейнер (вигляд зверху), згідно з винаходом;

Фіг.4 - розріз по лінії IV-IV на фіг.3, згідно з винаходом;

Фіг.5 - дві діаграми виявлення компонента в сироватці за допомогою флуоресценції і підрахунку мічених мікросфер, згідно з винаходом;

Фіг.6 - діаграми виявлення компонента в сироватці методом ELISA і за допомогою підрахунку мікросфер, згідно з винаходом.

Пристрій для виконання якісного і/або кількісного аналізу щонайменше одного компонента в пробі продукту шляхом мічення і фіксації показаний на фіг.1-4.

Такий пристрій використовують переважно для виконання імунологічного аналізу, виявлення мікроорганізмів, аналізу забруднюючих речовин, а також для виявлення окремої послідовності нуклеїнової кислоти.

Пристрій містить контейнер 110 і кришку 120, які монтуються один з одним з утворенням закритого резервуара.

Контейнер 110 і кришка 120 мають круглу форму з центральною віссю симетрії 101, тому, коли вони сполучені, утворений таким чином закритий резервуар має форму диска з вертикальною віссю 101.

Контейнер 110 і кришка 120 мають основу відповідно 110а і 120а, на яких розташовані коаксіальні циліндричні стінки 111, 112, 113; 121, 122, 123 (у варіанті, що описується їх число 3). При з'єднанні контейнера 110 з кришкою 120 ці коаксіальні циліндричні стінки розташовуються парами одна проти іншої, утворюючи всередині закритого резервуара три концентричні кільцеподібні камери 102, 103, 104.

У напрямі від осі циліндричні стінки утворюють спочатку камеру 102 впускання, призначену для введення проби продукту і у разі необхідності для мічення компонента, що аналізується, наприклад, антитіла, міченого часткою в сухому вигляді; потім камеру фіксації і зчитування міченого компонента 103, що містить, наприклад, фіксоване антитіло в основі контейнера, і потім вивідну камеру 104.

У варіанті, що описується, кришка має діаметр, трохи перевищуючий діаметр контейнера, щоб вона могла встановлюватися на контейнері. Циліндрична стінка 123 кришки 120, розташована зовні по відношенню до інших коаксіальних циліндричних стінок 121, 122, утворює зовнішній периферичний край названого резервуара. Коаксіальні циліндричні стінки 111, 112, 113 контейнера 110 розміщені навпроти внутрішніх сторін коаксіальних циліндричних стінок 121, 122, 123 кришки 120.

Внутрішні коаксіальні циліндричні стінки 111, 112 і 121, 122 контейнера 110 і кришки 120, які утворюють перегородки між послідовними кільцеподібними камерами 102, 103, 104, мають кожна щонайменше один отвір 111а, 112а і 121 а, 122а.

Кожна з коаксіальних циліндричних стінок 111, 112, 121, 122 має три отвори 111а, 111b, 111с, 112а, 112b, 112с; 121а, 121b, 121с, 122а, 122b, 122с, рівномірно розподілені по периметру кожної стінки і зсунуті попарно під кутом приблизно 120° кутових.

У представленому варіанті виконання отвори коаксіальних циліндричних стінок контейнера 110 і кришки 120 утворені шляхом вирізування матеріалу.

Отвори коаксіальних циліндричних стінок контейнера 110 і кришки 120 розміщені у визначених кутових положеннях і сполучені кришка 120 і контейнер 110 встановлені з можливістю повертатися по відношенню один до одного навколо вертикальної осі 101, причому при переміщенні однієї по відношенню до іншої циліндричних стінок кожної пари, що утворює перегородку послідовних кільцеподібних камер, отвори кожної пари стінок розташовуються навпроти один одного або зсунуті під кутом для з'єднання послідовних кільцеподібних камер або ізолювання їх одна від іншої.

У цьому випадку отвори 111а, 111b, 111с, виконані в циліндричній стінці 111 контейнера 110, розташовуються відповідно навпроти отворів 112а, 112b, 112с, виконаних в циліндричній стінці 112 контейнера 110. Іншими словами, кожний отвір 111а, 111b, 111с, виконаний в циліндричній внутрішній стінці 111 контейнера 110, розташовується навпроти відповідного отвору 112а, 112b, 112с, виконаного в коаксіальній циліндричній стінці 112, зовні названої стінки 111.

Навпаки, отвори 121 а, 121b, 121с, утворені в циліндричній стінці 121 кришки 120, зсунуті по відношенню до отворів 122а, 122b, 122с, виконаних в коаксіальній циліндричній стінці 122 кришки 120, розташованій зовні циліндричної стінки 121 під кутом, рівним приблизно 60 градусів, щоб отвори, виконані в стінці, не знаходилися навпроти отворів, утворених в іншій наступній за нею коаксіальній стінці.

При такому компонуванні, коли кришка 120 сполучена з контейнером 110, вона розміщується по відношенню до контейнера таким чином, що отвори однієї пари циліндричних стінок знаходяться навпроти один одного і дозволяють послідовним кільцеподібним камерам сполучатися одна з іншою, причому отвори іншої пари циліндричних стінок зсунуті під кутом, щоб дві інші подальші кільцеподібні камери були ізольовані одна від іншої.

Крім того, кришка 120 і контейнер 110 забезпечені засобами для встановлення їх в задане положення.

Згідно з описаним варіантом засоби для встановлення в задане положення кришки 120 і контейнера 110 складаються з отвору 123а, розмір якого відповідає довжині дуги кутового сектора циліндричної стінки 123 кришки 120, розташованій зовні від інших коаксіальних циліндричних стінок і, яка створює зовнішній периферичний край резервуара, і з виступу 11 3а, радіально виступаючого на циліндричній стінці 113 контейнера 110, призначений для розміщення проти зовнішньої циліндричної стінки 123 кришки 120, причому виступ 113а може входити в отвір 123а зовнішньої стінки 123 кришки 120 і переміщатися в цьому отворі 123а при повороті кришки 120 відносно контейнера 110 до положення упора об два бічних кінці 123'а, 123"а отвору 123а.

Отвір 123а, виконаний у зовнішній стінці 123 кришки 120, виконаний у вигляді виїмки, довжина якої приблизно відповідає 70 кутовим градусам.

Обидва положення упора, які займає виступ 11 3а в отворі 123а, відповідають двом визначеним відносним положенням кришки 120 і контейнера 110.

Перше положення упора виступу 113а об край 123'а отвору 123а відповідає положенню, при якому камера впускання 102 проби продукту сполучається з камерою 103 фіксації і зчитування міченого компонента, причому камера 104 виведення залишається ізолюваною від інших камер.

Друге положення упора виступу 113а об інший край 123"а отвору 123 відповідає положенню, при якому камера 103 фіксації і зчитування сполучається з камерою 104 виведення і камери 102 впускання від інших камер.

Щоб обертання кришки 120 відносно контейнера 110 було більш легким, кришка 120 містить виступ 123b, радіально виступаючий від зовнішньої сторони циліндричної стінки 123, розташованої зовні від інших циліндричних стінок, причому виступ 123b утворює зчеплення або опору для повороту кришки 120 навколо вертикальної осі 101 по відношенню до контейнера 110.

Контейнер 110 і кришка 120 забезпечені центральним поперечним отвором 105, ізолюваним від безпосередньо прилеглої кільцевої камери 102 впускання за допомогою коаксіальних циліндричних стінок

105a і 105b. Коли кришка сполучена з контейнером, стінки 105a і 105b контейнера 110 і кришки 120 розташовуються одна проти іншої, і закритим таким чином резервуар має центральний поперечний отвір, ізольований двома циліндричними розташованими одна проти іншої стінками 105a і 105b, від безпосередньо примикаючої кільцевої камери 102.

Цей центральний поперечний отвір 105 призначений для розміщення в ньому вертикального привідного вала, що обертається, який приводить у обертання резервуар. Отвір 105 має діаметр приблизно 4мм.

Отвори, виконані в коаксіальних циліндричних стінках контейнера 110 і кришки 105 для з'єднання кільцевих камер резервуара, мають ширину, рівну приблизно 5мм.

Кришка 120 (фіг.1) має на основі 120a отвір 102a, що виходить в камеру впускання 102. Він примикає до поперечного отвору 105, оскільки камера впускання безпосередньо примикає до поперечного отвору 105.

Природно, можна передбачити, щоб цей отвір, що входить в камеру впускання, був виконаний в основі 110a контейнера 110 (не показано).

Контейнер 110 виконаний з прозорого матеріалу, що дозволяє прочитувати мічені фіксовані компоненти в кожній камері фіксації і здійснювати зчитування через стінку основи контейнера, наприклад, за допомогою камери CCD, шляхом трансмісії і відображення випромінювання.

Кришка тоді може бути непрозорою, або обробленою так, щоб уникнути шкідливого випромінювання.

Переважно, щоб контейнер і кришка були виконані шляхом формування з пластмасового матеріалу, коаксіальні циліндричні стінки формуються разом з кришкою.

Для виконання пристрою згідно з винаходом може бути використаний будь-який класичний пластмасовий матеріал, що застосовується для покриття молекул. Може бути використано, наприклад, полістирол або, переважно, пластик ZYLAR (зареєстрований товарний знак), такий пластик володіє дуже сильною адгезією як покриття.

Згідно з одним з варіантів виконання аналізуючого пристрою переважно, щоб камера 103 фіксації і зчитування була розділена на безліч кутових секторів, в яких фіксуються рецептори, відмінні один від одного, і призначені кожний для фіксації і для зчитування міченого компонента. Згідно з цим варіантом особливо переважно передбачити, щоб один кутовий сектор камери фіксації був вільний від фіксованих рецепторів і утворював сектор з холостим сайтом, який при початку зчитування дає нульове значення.

Можна також передбачити згідно з іншим варіантом винаходу, щоб резервуар містив між камерою впускання і камерою виведення декілька інших концентричних і послідовних камер фіксації і зчитування для фіксування різних мічених компонентів.

Аналізуючий пристрій, що утворюється при з'єднанні контейнера 110 і кришки 120, дозволяє здійснити спосіб кількісного і/або якісного аналізу щонайменше одного компонента в пробі продукту шляхом фіксування мічення.

Згідно з цим способом використовують, щонайменше один пристрій вищеописаного типу, що містить два елементи, контейнер і кришку, представлений на фіг.1 і 3, і сполучений з утворенням закритого резервуара, що містить специфічні рецептори компонента, що аналізується, фіксовані в камері фіксації і зчитування.

На першій стадії а) в камері впускання, ізольованій від інших кільцевих камер резервуара, вміщують пробу продукту, що містить мічений компонент, що аналізується.

Потім на стадії б) повертають кришку по відношенню до контейнера таким чином, щоб сполучилися камера впускання і камера фіксації і зчитування, при цьому камера впускання ізольована від інших кільцевих камер.

Потім на стадії с) приводять в обертання пристрій навколо вертикальної осі таким чином, щоб шляхом центрифугування розмістити в камері фіксації і зчитування пробу продукту, що містить мічений компонент, що аналізується, причому цей компонент за рахунок сильної взаємодії сполучається зі специфічними рецепторами, фіксованими в камері фіксації і зчитування.

Потрібно підкреслити, що при обертанні пристрою здійснюється перехід проби продукту з камери впускання в камеру фіксації і зчитування, а також проба перемішується всередині цієї камери, щоб мічений компонент зв'язався з фіксованими рецепторами.

На наступній стадії д) повертають кришку по відношенню до контейнера так, щоб з'єднати камеру фіксації і зчитування з камерою виведення, потім на стадії е) приводять в обертання пристрій навколо його осі, щоб шляхом центрифугування направити надлишок проби в камеру виведення.

З цією метою, як показано на фіг.3 і 4, в основі 110a контейнера 110 передбачений кругоподібний виступ 114 поблизу внутрішньої циліндричної стінки 112, яка створює перегородку між камерою фіксації і зчитування і камерою виведення. Цей кругоподібний виступ 114 утворює бар'єр проти повернення надлишку проби, що направляється при центрифугуванні в камеру виведення, або муючої рідини, що рекуперується в цій камері, як буде описано нижче.

На стадії е) здійснюють декілька промивань внутрішньої частини пристрою за допомогою муючої рідини, яку направляють шляхом центрифугування в різні кільцеві камери пристрою, повторюючи попередні стадії б), в), г) і д) для видалення інших компонентів продукту, які можуть закріпитися внаслідок адсорбції на внутрішніх стінках пристрою або можуть виявитися пов'язаними внаслідок слабкої взаємодії (такого як адсорбція) зі специфічними фіксованими рецепторами в камері фіксації і зчитування.

Таким чином, в камері фіксації і зчитування після промивання зберігають тільки мічений компонент, пов'язаний шляхом міцної взаємодії з рецепторами, фіксованими в даній камері.

Тоді на стадії ж) через стінку(і) пристрою виявляють мічений компонент, пов'язаний з фіксованими рецепторами, і здійснюють якісний і/або кількісний аналіз міченого компонента.

Це виявлення може бути здійснене згідно із запропонованим способом за допомогою камери CCD. Для цього треба, щоб мічення компонента, що аналізується здійснювалося фізичним або хімічним шляхом з допомогою, наприклад, флуоресцентних мікросфер або мікросфер, які можуть стати флуоресцентними. Зчитування фіксованих мічених агентів може проводитися по радіусах камери фіксації і зчитування.

Зокрема, згідно з способом, з допомогою камери CCD підраховують число фіксованих мічених

компонентів в кожній камері фіксації і зчитування. Це можливо при використанні в якості елементів, що маркують компонент, що аналізується, часток або мікросфер, які приблизно в 100 раз більші, ніж шукані молекули, і сполучені з антиілоом або антигеном, який потрібно виявити. Для ефективного використання камери CCD віддають перевагу часткам, діаметр яких рівний 2мкм.

Ці мікросфери такі, що вони відображають все або частина випромінювання, яке на них направлено. Вони можуть являти собою латекс або будь-яку іншу речовину, яка піддається виявленню і може бути кількісно визначена шляхом підрахунку.

Таким чином, камера С CD здатна реєструвати певне число явищ відображення і видавати відповідний результат в абсолютному числі фіксованих компонентів, що аналізуються.

Камера CCD сполучається з системою програмного забезпечення, яка на виході дає цифровий сигнал виявлення. Така візуальна система здійснює підрахунок в реальному часі від декількох одиниць до 100000 мікросфер на мм. кв. з відніманням фоновому шуму за допомогою еталонної поверхні і відповідних алгоритмів. Ця система володіє виборчою здатністю, оскільки може розпізнавати і усувати гетерогенні зображення, здатні спотворювати аналіз даних.

На фіг.5 і 6 показані діаграми, отримані способом виявлення за допомогою вказаного вище підрахунку і найбільш класичних способів виявлення, типу флуоресценції або методу ELISA для даного компонента, що аналізується в даній сироватці.

Діаграми цих фігур дозволяють перевірити, з одного боку, чи є коректування між підрахунком мікросфер і концентрацією компонента, що аналізується, і, з іншого боку, чи є метод підрахунку мікросфер згідно з винаходом більш точним, ніж методи виявлення, які називаються класичними. Зокрема, аналіз шляхом підрахунку мікросфер показує динаміку більше 4 лог проти 2 лог за методом ELISA. Це є великою перевагою, тому що значно збільшуються межі виявлення. Результати, отримані при сильному розведенні проби, показують, таким чином, що спосіб має чутливість на 2 лог вище ніж метод ELISA. Результати, отримані при слабкому розведенні проби, також показують, що спосіб дозволяє здійснювати аналізи при концентраціях речовини, що аналізується, відповідних порогу насичення в способі ELISA. Це дозволяє усунути або зменшити можливий вплив розведення на деякі компоненти проби, що тестуються.

Згідно з способом мічення кожного окремого компонента проби може бути здійснено поза пристроєм перед введенням проби в камеру впускання пристрою.

В одному з варіантів мічення кожного окремого компонента проби, що аналізується може бути виконано безпосередньо в камері впускання і маркування при введенні на першій стадії специфічного міченого рецептора кожного компонента, що аналізується в сухому нефіксованому вигляді, потім, на другій стадії, вводять в ізолювану камеру впускання пробу продукту для того, щоб мічений рецептор внаслідок міцної взаємодії зв'язався з відповідним компонентом, що міститься в пробі продукту.

Заявлений спосіб може бути здійснений за допомогою іншого пристрою такого ж типу, щоб одночасно аналізувати один і той же компонент у множині різних проб або аналізувати різні компоненти в одній і тій же пробі продукту.

З цією метою запропонований прилад, що використовує множину вказаних вище пристроїв (фіг.1-4), який містить вертикальний привідний вал, здатний обертатися, на який встановлені аналізуючі пристрої, засоби для підтримки цих пристроїв на відстані один від одного, засоби для приведення у обертання в двох напрямках названий вертикальний привідний вал, щоб здійснити центрифугування шляхом обертання названих пристроїв, засоби для вприскування проб і миючої рідини в камери впускання пристроїв, і засоби для повороти кришок відносно контейнерів, щоб з'єднувати або ізолювати різні послідовні кільцеві камери названих пристроїв, і засіб для зчитування мічених фіксованих агентів.

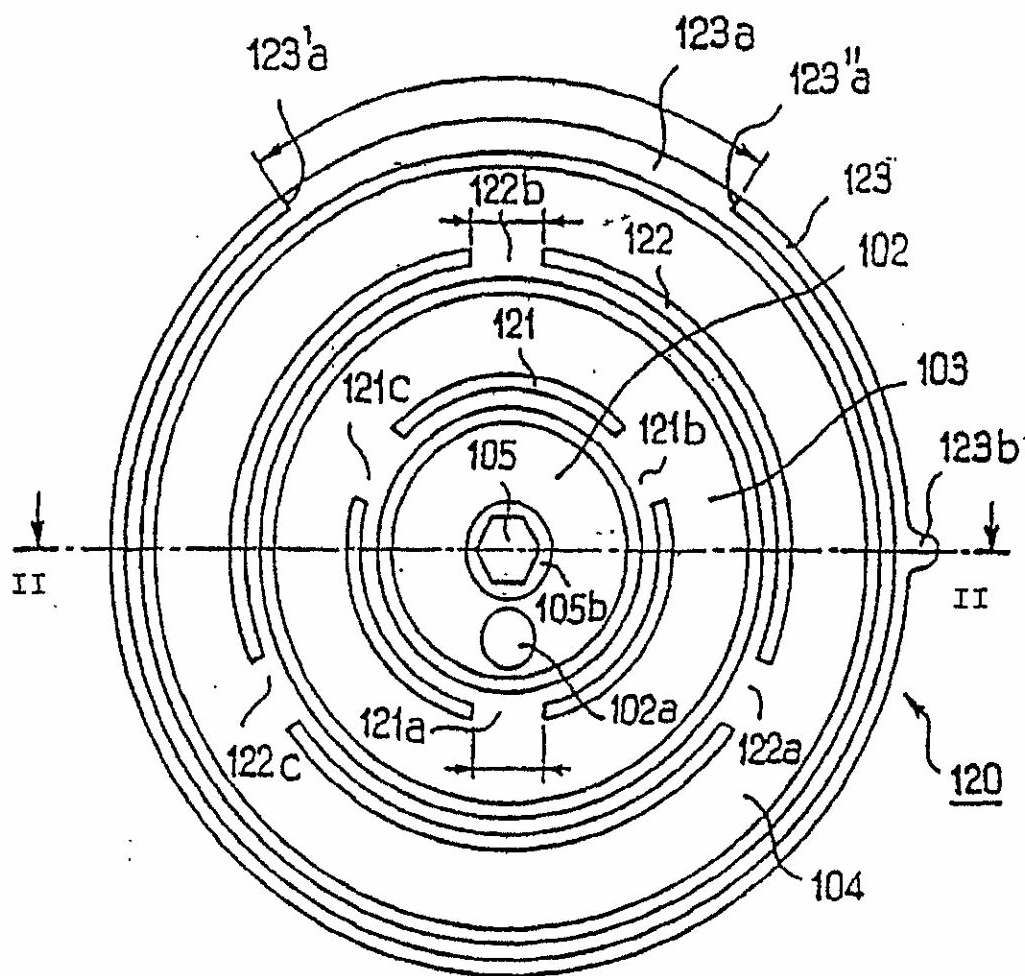


FIG. 1

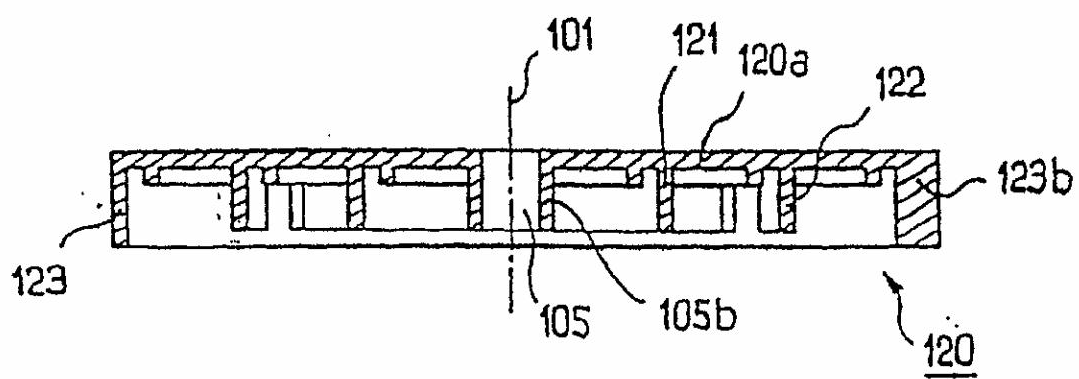


FIG. 2

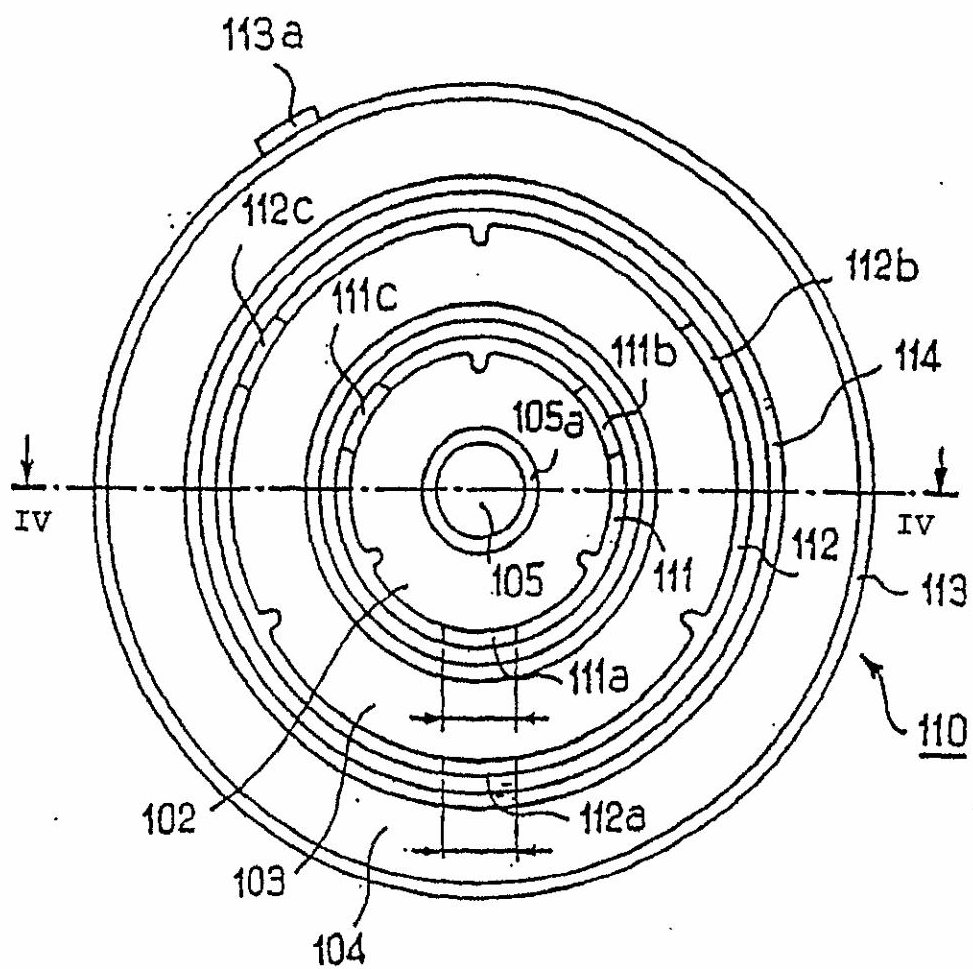


Fig. 3

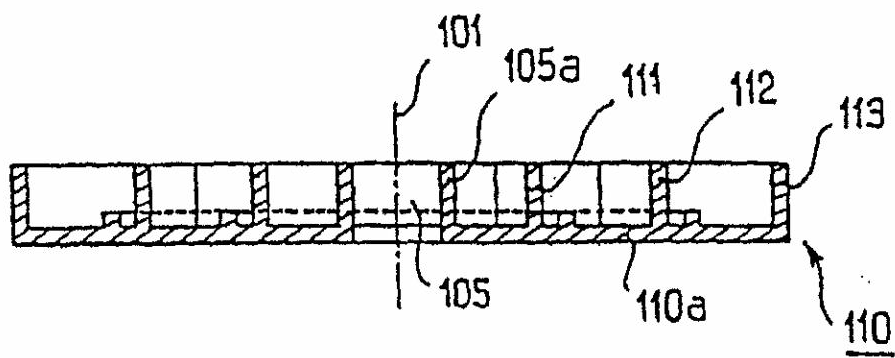
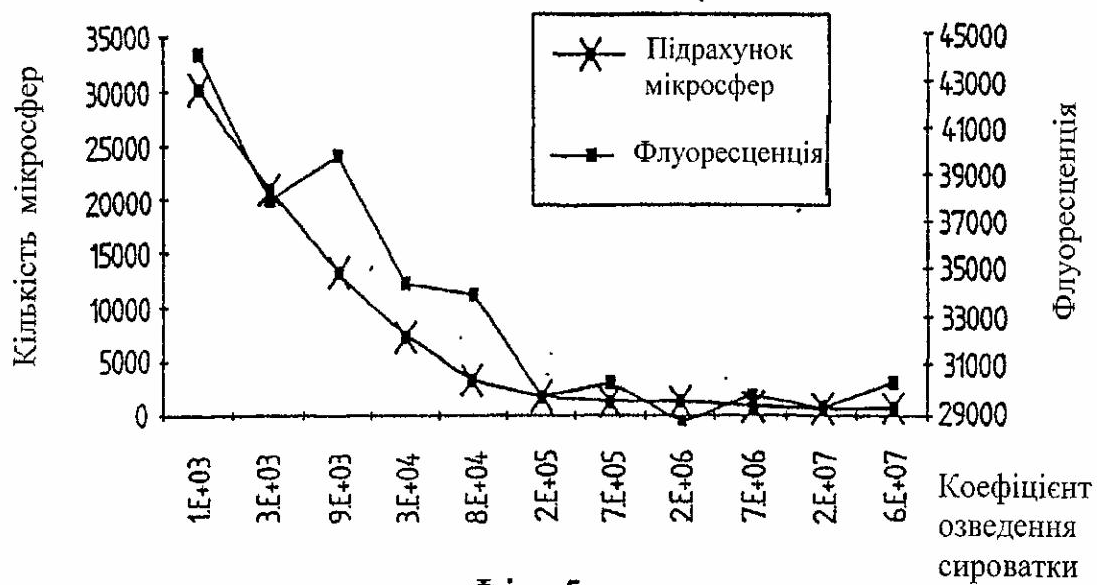
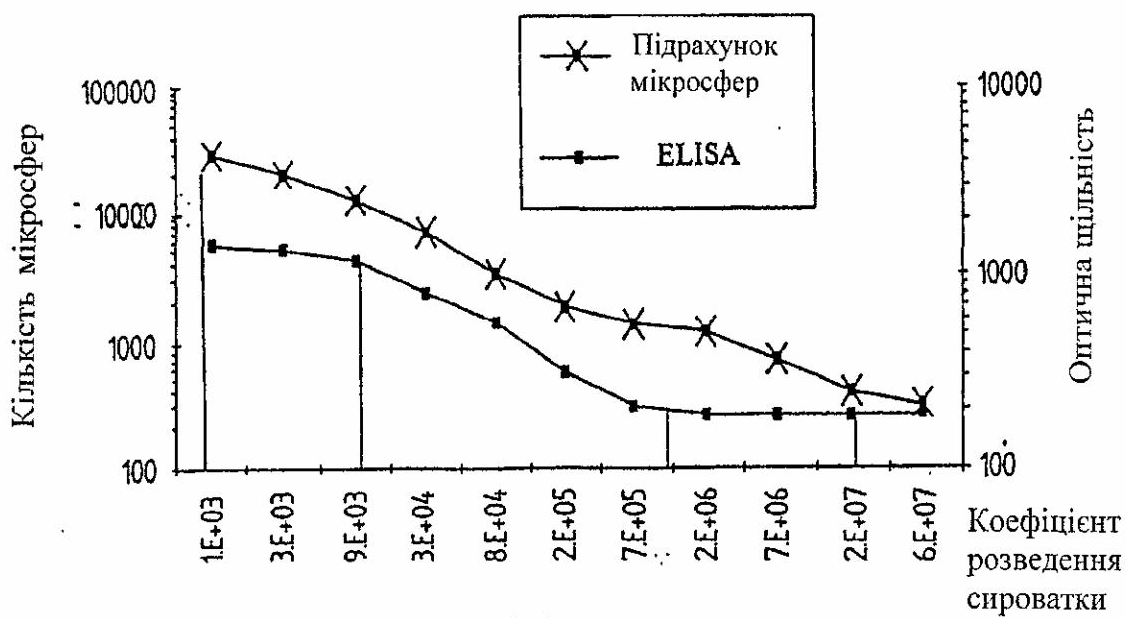


Fig. 4





Фіг. 5



Фіг. 6