

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4741517号
(P4741517)

(45) 発行日 平成23年8月3日(2011.8.3)

(24) 登録日 平成23年5月13日(2011.5.13)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N 33/53	K
GO 1 N 33/543	(2006.01)	GO 1 N 33/543	5 8 1 F
GO 1 N 33/531	(2006.01)	GO 1 N 33/543	5 4 1 Z
GO 1 N 33/545	(2006.01)	GO 1 N 33/53	L
GO 1 N 37/00	(2006.01)	GO 1 N 33/53	N

請求項の数 30 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-551791 (P2006-551791)
(86) (22) 出願日	平成17年2月2日(2005.2.2)
(65) 公表番号	特表2007-519938 (P2007-519938A)
(43) 公表日	平成19年7月19日(2007.7.19)
(86) 国際出願番号	PCT/EP2005/001029
(87) 国際公開番号	W02005/090970
(87) 国際公開日	平成17年9月29日(2005.9.29)
審査請求日	平成20年1月24日(2008.1.24)
(31) 優先権主張番号	102004005193.3
(32) 優先日	平成16年2月2日(2004.2.2)
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)

(73) 特許権者	506262852
	メディオン ダイアグノスティクス アク チェンゲゼルシャフト
	スイス国, 3 1 8 6 デュディンゲン ボ ンシュトラーセ 9
(74) 代理人	100099759
	弁理士 青木 篤
(74) 代理人	100092624
	弁理士 鶴田 準一
(74) 代理人	100102819
	弁理士 島田 哲郎
(74) 代理人	100123582
	弁理士 三橋 真二

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】凝集反応の可視化と分離により分析物を検出するための装置と方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプル中の1つ以上の分析物を検出する装置であって、サンプルを収容するのに適した1つ以上の反応チャンパー(1)と、選択的に1つ以上の試薬アプリケーションチャンネル(2)を備え、上記反応チャンパー(1)または上記試薬アプリケーションチャンネル(2)の後に続く1つ以上の毛管系(3)と、その毛管系(3)の後に続く1つ以上の陰性反応容器(4)とを含み、上記毛管系(3)が、複数の毛管面(3a)を備え、下に位置する毛管面(3a)の毛管ほど断面積が小さくなっている装置。

【請求項 2】

上記毛管系(3)が、1つの毛管面(3a)内に少なくとも1つの毛管(3b)を備えているか、1つ以上の毛管面(3a)内にあって断面積が小さくなっていく1つ以上の毛管(3b)を備えている、請求項1に記載の装置。

【請求項 3】

それぞれの毛管面(3a)内に、複数の毛管(3b)が、互いに隣接して、または束になって配置されている、請求項1または2に記載の装置。

【請求項 4】

1つの毛管面(3a)内の互いに隣接した毛管(3b)または束になった毛管(3b)が、毛管(3b)を互いに接続する接続ウェブ(8)を備える、請求項1から3のいずれか1項に記載の装置。

【請求項 5】

10

20

1つの毛管面(3a)内の互いに隣接した毛管(3b)または束になった毛管(3b)が、同じ内部断面積を持つ、請求項1から4のいずれか1項に記載の装置。

【請求項6】

上記毛管面(3a)の毛管(3b)の内部断面積が、上記反応チャンバー(1)から離れるほど、より小さくなっている、請求項1から5のいずれか1項に記載の装置。

【請求項7】

上記毛管系(3)の毛管面(3a)がチャンバー(7)によって互いに接続されており、そのチャンバーの内部断面積は、好ましくは最も広い毛管(3b)の内部断面積と同じである、請求項1から6のいずれか1項に記載の装置。

【請求項8】

上記試薬アプリケーションチャンネル(2)が、上記毛管(3b)と比べて、または上記毛管系(3)に上記陰性反応容器(4)を加えたものと比べて、体積が1.2倍である、請求項1から7のいずれか1項に記載の装置。

【請求項9】

上記陰性反応容器(4)が底部に向かって細くなる形状であり、例えば矢またはU字のように先が尖っている、請求項1から8のいずれか1項に記載の装置。

【請求項10】

1つまたは複数の換気チャンネル(6)が、好ましくは上記陰性反応容器のより幅広の上部から分岐している、請求項1から9のいずれか1項に記載の装置。

【請求項11】

上記毛管系(3)が、担持エレメント(5)と一体化した構成要素を形成している、請求項1から10のいずれか1項に記載の装置。

【請求項12】

サンプル流体中の1つ以上の分析物を凝集の可視化によって検出する方法であって、

a) サンプル流体を試薬と接触させ、

b) 得られた反応混合物に重力または磁気の効果を作させ、該反応混合物を請求項1から11のいずれか1項に記載の装置の陰性反応容器が後に続く請求項1から11のいずれか1項に記載の装置の毛管系を通過させ、

c) 分析物と上記試薬の間の反応を調べることを特徴とする方法。

【請求項13】

処理ステップb)の間に反応混合物をさらに別の試薬と接触させる、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

特に、重力または磁気を作させている間だけ上記サンプル流体を試薬と接触させる場合に、ステップa)とステップb)からなる個々の処理ステップの順番を逆転させる、請求項12に記載の方法。

【請求項15】

上記反応を光学的に調べる、請求項12から14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

上記サンプル流体および/または試薬が1つ以上の粒子を含む、請求項12から15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項17】

上記粒子が天然の色彩を有するか、着色されている、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

上記粒子が、色、放射能、蛍光、酵素のいずれかでコード化されている、請求項16または17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項19】

上記粒子が、赤血球および/または血小板および/または白血球、またはその一部を含む、請求項16から18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項20】

10

20

30

40

50

上記粒子をタンパク質分解酵素であらかじめ処理して反応を促進する、請求項16から19のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 1】

抗体、特にペプチド、タンパク質、炭水化物、脂質、核酸、ウイルス、細菌、寄生虫、ヒト細胞、動物細胞、植物細胞のいずれか、またはその一部を粒子と結合させる、請求項16から20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 2】

抗原またはそれ以外のリガンド、例えばペプチド、タンパク質、炭水化物、脂質、核酸、ウイルス、細菌、寄生虫、ヒト細胞、動物細胞、植物細胞、アレルゲンのいずれか、またはその一部を粒子と結合させる、請求項16から21のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項 2 3】

上記粒子が、特にポリスチレン、ポリプロモスチレン、ゼラチン、メラミン、重合したアガロース、ポリメタクリル酸メチルのいずれかを含む、請求項16から22のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 4】

上記粒子が磁性体または常磁性体である、請求項16から23のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 5】

上記サンプル混合物に遠心処理によって重力を作用させる、請求項12から24のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項 2 6】

上記サンプル混合物に磁気を作用させる、請求項12から25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 7】

上記サンプル流体が、ヒト材料、動物材料、植物材料のいずれか、特に血液または血液成分を含む、請求項12から26のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 8】

上記試薬が、特に抗体、試験細胞、合成粒子、緩衝液、ブースター溶液のいずれかを含む、請求項12から27のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 9】

溶液の比重を増大すべく、グリセリンまたはそれ以外の分子が試薬に添加される、請求項12から28のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項 3 0】

請求項1から11のいずれか1項に記載の装置を利用して、血液型と、血液型の特徴に対する抗体と、保管されている血液とレシipientの間の適合性を明らかにする、および/または血小板の特徴と、血小板に対する抗体を明らかにする、および/または白血球の特徴と、白血球に対する抗体を明らかにする、および/または赤血球を凝集させるウイルスを検出する、および/またはタンパク質、ウイルス、細菌、寄生虫に対する抗体を検出する、および/またはウイルス、細菌、寄生虫のいずれか、またはそれ以外の抗原を検出する、および/または自己抗体と、アレルゲンに対する抗体を検出する方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、凝集反応の可視化、特に赤血球凝集反応または粒子凝集反応の可視化によってサンプル流体中の1つ以上の分析物を検出するための装置と方法に関する。

【背景技術】

【0002】

赤血球凝集試験と粒子凝集試験によって分析物を検出する方法は公知である。遠心処理ステップにより、赤血球凝集物を凝集していない個々の赤血球から不活性マトリックス（不活性充てん材）を通じて分離するという赤血球凝集反応のための方法が公知である（例

50

えば、欧州特許出願公開第0194212号明細書（EP-A-0194212）、欧州特許出願公開第030537号明細書（EP-A-0305337）、欧州特許出願公開第0485228号明細書（EP-A-0485228）、欧州特許出願公開第0725276号明細書（EP-A-0725276））。この方法では、凝集した赤血球が不活性マトリックスの表面または内部に保持されるため、反応しなかった個々の赤血球から分離することができる。そしてその反応しなかった個々の赤血球はマトリックスを通過して反応容器の底に沈殿し得る。

【0003】

分離マトリックスは、通常は、多孔性マトリックス（例えばガラス製）；ゲル・ビーズ・マトリックス（例えばセファデックス、セファクリル、アガロース；欧州特許出願公開第9184212号明細書（EP-A-9184212）、欧州特許出願公開第0305337号明細書（EP-A-030537））；ガラス・ビーズ・マトリックス（欧州特許出願公開第0725276号明細書（EP-A-0725276））のいずれかである。

10

【0004】

このような総てのシステムは、分離マトリックスと担持エレメント・システムが、2つの別々の構成要素を備えている点で共通している。同じことが、これまでに開示されていて、ビーズの代わりに多孔性マトリックスまたはフィルタ・マトリックスが使用されている同様の方法にも当てはまる。担持エレメント・システムは、場合に応じ、従来の（マクロ）射出成形法で作ることができる。

【0005】

上記のマトリックスは、血液型の血清学的診断において、特に赤血球凝集反応を可視化するために使用される。これらは、特に輸血または新生児溶血病に関する重要なパラメータを一般に検出する。この場合には、特に、赤血球表面にある血液型に特徴的な抗原の検出が関係する。さらに、重要な抗原系は、輸血および/または移植で同様に役割を果たす血小板、顆粒球、リンパ球にも見いだされる。さらに、赤血球凝集反応を起こすウイルスも同様の方法で検出することができる。

20

【0006】

上記のマトリックス、特にゲル・ビーズ・マトリックスは、粒子凝集試験にも使用される。しかしこれまでのところ、特に赤血球よりも比重が大きくて直径が小さいという厳しい仕様に合致する合成粒子だけが使用されている（例えば比重が1.1以上で直径が5 μ m未満；欧州特許第0849595号明細書（EP-0849595）を参照のこと）。

30

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

従来の方法には多くの欠点がある。凝集反応した赤血球と個々の赤血球は遠心処理によって空間的に分離されるが、陽性反応と陰性反応のための反応マトリックスは単一のコンパートメントしか備えていないため、陰性（凝集しない）反応から陽性（凝集する）反応への移行は流動的になり、結果の評価がある程度主観的なものになる。特に、わずかに陽性反応の場合には、陰性結果との境界があいまいになって解釈が困難になる可能性がある。さらに、特にゲル・ビーズ・マトリックスを用いた公知の方法の再現性は、マトリックス（通常はポリアクリルアミド）の品質に大きく依存する。このようなゲルは一回装填するごとに異なっているため、検出反応において、同じサンプルでも検出される強度が大きく異なることになる。そのため、結果の標準化と再現がより困難である。さらに別の問題は、特にゲル粒子を破壊するあらゆるタイプの剪断力に対するゲル粒子の感度であり、この感度次第で反応結果が歪められる可能性がある。さらに、上記のすべてのマトリックスは、三次元であることと、マトリックス空間の大きな成分がマトリックス・ポリマーで構成されていることが共通しているため、着色した粒子の一部がマトリックスの中に閉じ込められて肉眼では見ることができない状態に取り残される。すなわち検出に寄与できない状態に取り残される。さらに、これらの方法は、完全な状態の血小板の性質を検出するのにほとんど適していない。なぜなら血小板はゲルをうまく通過しないからである。

40

【0008】

50

したがって本発明の1つの目的は、従来法の利点（例えばマトリックスに保持されている凝集体の物理的安定性（安定な終点））を失うことなく従来技術に関する上記の欠点を解決すること、特に公知のマトリックスにおいて陰性の反応からわずかに陽性の反応をうまく分離して検出できないという問題と、ゲル・マトリックスに1回装填するごとに違いがあるという問題を解決することである。特にゲル粒子のない分離マトリックスが提供される。すなわち、知られているより狭い意味のマトリックスなしの空間が提供されて、ここでは陽性反応と陰性反応のための領域が、流体の移動なしに空間的に分離される。

【課題を解決するための手段】

【0009】

この目的は、一方では、サンプル中の1つ以上の分析物を検出するための本発明による装置であって、1つまたは複数の反応チャンバーおよび/または1つまたは複数の試薬アプリケーションチャンネル（すなわち、試薬適用チャンネル）と、1つまたは複数の毛管系と、1つまたは複数の陰性反応容器を備えることを特徴とする装置によって実現される。

10

【0010】

本発明による装置の毛管系は、好ましくは反応チャンバーまたは試薬アプリケーションチャンネルに続いて担持エレメントと一体化した部分を形成している。この担持エレメントは、合成材料（例えばポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、トパス、ポリメタクリル酸メチル）でできていて、それ自体がマトリックスを含まないことが好ましい。

【0011】

毛管系は、1つの毛管面内に少なくとも1つの毛管を備えているか、1つまたは複数の毛管面内にあって分岐するか断面面積が小さくなっていく1つまたは複数の毛管を備えている。この装置の好ましい一実施態様では、装置は1つまたは複数の毛管を備えていて、その毛管は、互いに上下に配置されている毛管面内で先の毛管面に行くほど断面面積が小さくなっており、末端では陰性反応容器に集まっている。毛管系は、陰性反応容器を末端とする平面内に少なくとも1つの毛管を備えている。本発明の一実施態様では、複数の毛管が、毛管面ごとに、隣り合わせに、または束になって配置されている。1つの毛管面内で互いに隣接した毛管または束になった毛管は、テストする流体のために内部断面面積が同じであることが好ましい。毛管面内の毛管の内部断面面積は、反応チャンバーから離れるほどより小さくなっている。

20

【0012】

本発明による装置の一実施態様は、毛管面内に毛管を1つだけ含む毛管系を備えている。例えばこの場合には、毛管の内部断面面積は、 $250,000 \mu\text{m}^2$ 未満である。

30

【0013】

好ましい一実施態様では、毛管系の毛管面はチャンバーによって互いに接続されており、そのチャンバーの内部断面面積は最大直径を有する毛管の断面面積と同じであることが好ましい。この場合には、チャンバーは、換気または圧力バランスの機能を持つことが好ましい。本発明による装置のさらに別の一実施態様では、毛管面内に互いに隣接した状態で配置された毛管は、その毛管を互いに接続する接続用ウェブを備えている。

【0014】

好ましい一実施態様では、本発明による装置の毛管（2つ以上の毛管がある場合）は、互いに平行なそれぞれの面内に配置されていて、束にされていない。そのため検出を目的として粒子に最適な色を用いることが可能になる。

40

【0015】

本発明の装置は、試薬アプリケーションチャンネルを備えていることが好ましい。本発明による装置の特に好ましい一実施態様では、試薬アプリケーションチャンネルに試薬（例えば緩衝液、ブースター溶液、抗体）があらかじめ満たされている。一例として、試薬アプリケーションチャンネルは、毛管系に陰性反応容器を加えたものと比べて体積が1.2倍である。

【0016】

本発明による装置の好ましい一実施態様では、陰性反応容器は底部に向かって細くなり

50

、狭くなる形状であり、例えば矢またはU字のように下方に向かって尖っている。陰性反応容器の上縁部は、最下部の毛管面の毛管の合計幅と少なくとも同じ幅であることが好ましい。陰性反応容器の上縁部は、毛管系に対して直角に、または他の任意の角度（特に、より小さな角度）をなして延びている。一実施態様では、陰性反応容器は、使用する細胞または粒子の圧縮堆積物よりも大きな体積であることが好ましい。好ましい一実施態様では、陰性反応容器の体積は、全毛管系の体積の少なくとも0.8倍である。

【0017】

別の好ましい一実施態様では、少なくとも1つの換気チャンネルが陰性反応容器に設けられていて、その場所は、陰性反応容器の幅が最も広い部分であることが好ましい。その毛管系の下方の面と接続されている部分は、最下部の毛管面内にある毛管の合計幅よりも広いことが好ましく、換気チャンネルは上方へと延びて毛管系の外に出ていることが好ましい。

10

【0018】

特に好ましい一実施態様では、少なくとも1つの反応チャンパーおよび/または1つの試薬アプリケーションチャンネルと、毛管系と、陰性反応容器とをそれぞれが備える本発明による複数の装置（反応装置）が互いに平行に組み合わされて統合担持エレメントになっている。この場合に換気チャンネルは、例えば担持エレメントを上方へと貫通している。さらに別の好ましい一実施態様では、反応装置の外壁の一部の領域（毛管系の領域であることが好ましい）を光学的レンズとして設計し、個々の反応装置の壁部または本発明の装置全体に拡大鏡の機能を与え、弱い反応の読み取りを容易にすることができる。

20

【0019】

本発明のさらに別の対象は、本発明の装置を利用して、特に血液型の血清学的診断において、ヒトおよび動物の血液型と、血液型に対する抗体を明らかにすること、血小板の特徴と、血小板に対する抗体を明らかにすること、白血球の特徴と、白血球に対する抗体を明らかにすること、赤血球を凝集させるウイルスを検出すること、ペプチド、タンパク質、炭水化物、核酸、ウイルス、細菌、寄生虫に対する抗体を検出すること、ウイルス、細菌、寄生虫、ならびにそれ以外の抗原を検出すること、および/または、自己抗体と、アレルギーに対する抗体を検出することである。

【0020】

本発明のさらに別の対象は、サンプル流体中の1つ以上の分析物を凝集の可視化によって検出する方法であって、a) サンプル流体を試薬と接触させ、b) 得られた反応混合物に、特に遠心処理による重力または磁気の効果を作させ、該反応混合物を請求項1から13のいずれか1項に記載の装置の陰性反応容器が後に続く請求項1から13のいずれか1項に記載の装置の毛管系を通過させ、c) 分析物と上記試薬の間の反応を調べることを特徴とする方法である。

30

【0021】

特別な一実施態様では、処理ステップb) の間に反応混合物をさらに別の試薬と接触させる。

【0022】

別の一実施態様では、a) とb) からなる個々の処理ステップの順番が入れ代わる。特に、重力または磁気を作させている間だけ、サンプル流体を試薬と接触させる。サンプル流体および/または試薬は、1種類以上の粒子を含んでいることが好ましい。

40

【0023】

本発明の方法では、特に赤血球、血小板、および/または白血球、またはその一部を粒子として使用するか、例えば材料と密度の異なるさまざまな合成粒子（ポリスチレン粒子、ポリプロモスチレン磁性粒子、ポリプロモスチレン常磁性粒子、メラミン粒子、ゼラチン粒子、重合したアガロース粒子、ポリメタクリル酸メチル粒子、またはこれら以外の合成粒子が好ましい）を粒子として使用する。

【0024】

陽性反応は、毛管系の一部が遠心処理後に目で見える色に着色されることを特徴とする

50

。細胞が上方に保持されるほど、反応はより陽性である。反応は、肉眼で、または光学的方法で、または電子的な方法で調べることが好ましい。

【0025】

特別な実施態様では、粒子は自然の色彩を有するか、着色されているか、あるいは、色、放射能、蛍光、酵素のいずれかでコード化されている。特別な一実施態様では、粒子をタンパク質分解酵素であらかじめ処理して反応を促進する。

【0026】

例えば試薬アプリケーションチャンネルに装填する好ましい試薬は、特に、血液型の特徴や、抗ヒトグロブリン抗体またはその断片に対するモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組み換え抗体、またはその断片の溶液であり、その溶液は、単独で用いられるか、10抗ヒト補体抗体またはその断片、および/または抗体を含まない緩衝溶液やブースター溶液と組み合わせて用いられる。

【0027】

より好ましい試薬としては、単独で使用する抗ヒトグロブリン抗体またはその断片や、抗ヒトグロブリン抗体またはその断片を抗ヒト補体抗体またはその断片と組み合わせたものがある。例えばグリセリン、デキストラン、ポリエチレングリコール、または他の合成ポリマーまたは天然ポリマーを添加することによって溶液の密度を大きくする。大きな密度は障壁を作るのに役立つため、遠心処理条件下でさえ赤血球が通過できる一方で、細胞を含まない血清または血漿は通過できずに戻される。このようにして、粒子に結合したIgG分子を粒子に結合していないIgG分子から分離することが可能になる。粒子に結合したIgG分子の検出は、例えば抗ヒトグロブリン試薬（濃縮溶液中に存在していることが好ましい）と反応させることによって行なう。この反応は、凝集によって目に見えるようになる。このことが可能であるためには、血清/血漿の中に存在する過剰な非特異的IgG分子で抗ヒトグロブリン試薬をあらかじめ中和してはならない。この工程により、リンス・ステップなしで間接的な抗ヒトグロブリン試験を実施することが可能になる。20

【0028】

本発明のさらに別の対象は、本発明の方法を利用して、特に、血液型と、血液型の特徴に対する抗体と、保管されている血液ユニットとレシピエントの間の適合性を明らかにすること、血小板の特徴と、血小板に対する抗体を明らかにすること、白血球の特徴と、白血球に対する抗体を明らかにすること、赤血球を凝集させるウイルスを検出すること、ウイルス、細菌、寄生虫に対する抗体を検出すること、ウイルスまたはそれ以外の抗原を検出すること、自己抗体またはアレルゲンに対する抗体を検出することである。30

【0029】

以下に、例示としての図面と実施例によって本発明をより詳しく説明する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0030】

図1は、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)の供給端と、毛管系(3)の試薬アプリケーションチャンネル(2)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。毛管系(3)は、複数の毛管(3b)を備えていて、断面積が小さくなっていく複数の毛管面(3a)からなり、より上方にある面内に存在する個々の毛管の直径は、より下方にある面内に存在する毛管の直径よりも大きくなっている。40

【0031】

図2は、本発明による装置の一例の側面図であり、この装置は、毛管系(3)の試薬アプリケーションチャンネル(2)と、担持エレメントの中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。毛管系(3)は、複数の毛管(3b)を備えていて、複数の毛管面(3a)からなり、より上方にある面内に存在する個々の毛管の直径は、より下方にある面内に存在する毛管の直径よりも大きくなっている。

【0032】

図3aは、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)と、試薬50

アプリケーションチャンネル(2)と、1つの毛管面の1つの毛管からなる毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。

【0033】

図3bは、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)と、試薬アプリケーションチャンネル(2)と、1つの毛管面の断面積が小さくなっていく毛管からなる毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。

【0034】

図3cは、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)と、試薬アプリケーションチャンネル(2)と、3つの毛管面からなり、それぞれの毛管面に1つの毛管がある毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。

10

【0035】

図3dは、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)と、試薬アプリケーションチャンネル(2)と、チャンバー(7)によって隔てられた3つの毛管面からなり、それぞれの毛管面に1つの毛管がある毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。

【0036】

図3eは、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)と、試薬アプリケーションチャンネル(2)と、1つの毛管面(3a)にある3つの毛管(3b)からなる毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。

20

【0037】

図3fは、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)と、試薬アプリケーションチャンネル(2)と、1つの毛管面内で接続ウェブ(8)によって互いに接続された4つの毛管からなる毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えている。

【0038】

図3gは、本発明による装置の一例であり、この装置は、反応チャンバー(1)と、試薬アプリケーションチャンネル(2)と、1つの毛管面の1つの毛管からなる毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれた陰性反応容器(4)とを備えており、陰性反応容器(4)の上縁部から2つの換気チャンネル(6)が上方に向かって延びている。

30

【0039】

図4は、本発明による6つの装置(反応装置)を備える1枚のカードの一例であり、それぞれの装置が、反応チャンバー(1)と、試薬アプリケーションチャンネル(2)と、複数の毛管を有する複数の毛管面からなり、より上方にある面内に存在する個々の毛管の直径は、より下方にある面内に存在する毛管の直径よりも大きくなっている毛管系(3)と、担持エレメント(5)の中に埋め込まれていて、上縁部において1つの換気チャンネル(6)が上方に向かって延びている陰性反応容器(4)とを備えている。カードの個々の反応装置は、毛管系(3)内において異なる陽性の測定結果を示す。すなわち陰性反応容器(4)の中では、強い陽性反応(9)、陽性の反応(10)、より弱い陽性反応(11)、わずかに陽性の反応(12)、陰性反応(13)が示される。

40

【0040】

実施例

1. 血液型の判定

a) 両方の反応パートナーをピペットで反応容器に入れる

5 μ lのリン酸緩衝液をピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。この緩衝液をID遠心分離装置(ダイア-メド社)の中で遠心処理する(10分間、85 \times g)。血液型A細胞の懸濁液(リバースサイトA1(ReverseCyte A1)、メディオン・ディアグノスティック社)を0.8%に希釈したものを25 μ lをピペットで反応チャンバーに入れた後

50

、5 μ lの抗A (BIRMA-1、セロロジカルズ社)を入れる。カードを再びID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：赤血球凝集体が毛管系に保持される。陰性反応容器は細胞なしのままである。リバーサイトA1細胞の代わりにリバーサイトB細胞を用いるのであれば、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に細胞が回収されるのが見える。

【0041】

b) 凝集試薬をあらかじめピペットで入れる

5 μ lの抗A (BIRMA-1、セロロジカルズ社)をピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する(10分間、85 \times g)。血液型A細胞の懸濁液(リバーサイトA1、メディオン・ディアグノスティック社)を0.8%に希釈したものを25 μ lをピペットで反応チャンバーに入れる。カードを再びID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：赤血球凝集体が毛管系に保持される。陰性反応容器は細胞なしのままである。リバーサイトA1細胞の代わりにリバーサイトB細胞を用いるのであれば、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に細胞が回収されるのが見える。

10

【0042】

c) 凝集試薬をあらかじめピペットで入れる、プロメリン試薬で希釈した全血

5 μ lの抗A (BIRMA-1、セロロジカルズ社)をピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する(10分間、85 \times g)。血液型Aの一人の人の抗凝固処理した全血の懸濁液50 μ lをプロメリン試薬(希釈液1、ダイアメド社)500 μ lと混合し、室温で10分間放置する。その後、この懸濁液10 μ lをピペットで反応チャンバーに入れる。ただちにカードをID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：赤血球凝集体が毛管系に保持される。陰性反応容器は細胞なしのままである。血液型A細胞の代わりに血液型B細胞を用いるのであれば、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に細胞が回収されるのが見える。

20

【0043】

d) 凝集試薬をあらかじめピペットで入れるがあらかじめ遠心処理しない、プロメリン試薬で希釈した全血

5 μ lの抗A (BIRMA-1、セロロジカルズ社)をピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。血液型Aの一人の人の抗凝固処理した全血の懸濁液50 μ lをプロメリン試薬(希釈液1、ダイアメド社)500 μ lと混合し、室温で10分間放置する。その後、この懸濁液10 μ lをピペットで反応チャンバーに入れる。ただちにカードをID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：赤血球凝集体が毛管系に保持される。陰性反応容器は細胞なしのままである。血液型A細胞の代わりに血液型B細胞を用いるのであれば、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に細胞が回収されるのが見える。

30

【0044】

e) 抗ヒトグロブリン試験における弱い血液型特性の判定：Dweak

10%グリセリンを含むPBS (pH7.4)に入れた抗IgG 5 μ lをピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する(10分間、85 \times g)。弱い血液型D (Dweak)である一人の人の抗凝固処理した全血の懸濁液50 μ lを希釈溶液(希釈液2、ダイアメド社)500 μ lと混合する。この懸濁液から25 μ lをピペットで採取して反応チャンバーに入れた後、市販のIgG抗D製品(ESD-1、ダイアメド社)25 μ lを入れる。37 $^{\circ}$ Cにて15分間にわたってインキュベート(すなわち定温放置)した後、ID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：赤血球が凝集し、赤血球凝集体が毛管系に保持される。陰性反応容器は細胞なしのままである。血液型D陽性細胞の代わりに血液型D陰性細胞を用いるのであれば、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に細胞が回収されるのが見える。

40

【0045】

2. 血清カウンター試験

5 μ lの低イオン緩衝液(ダイアメド社、希釈液2)をピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。その後、A1試験細胞、A2試験細胞、B試験細胞、O試験細胞(ダイアメド社、ID-DiaCell ABO)の各懸濁液10 μ lをピペットで採取して担持工

50

レメントの4つの異なる反応チャンバーに入れた後、血液型Aの一人の被験者の血漿10 μ lもピペットで採取してその反応チャンバーに入れ、得られた混合物を室温(18~25)にて10分間にわたってインキュベートする。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：B試験細胞が反応をして陽性を示し、赤血球凝集体が毛管系に保持される。この反応装置の陰性反応容器は細胞なしのままである。使用した血漿中のイソアグルチニンと反応しない他の3種類の細胞(A1、A2、O)は、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に回収されるのが見える。

【0046】

3. 抗体試験

a) 間接的な抗ヒトグロブリン試験(間接クームス試験)

抗IgGと抗C3d(メディオオン・ディアグノスティックス社)の混合物を10%グリセリン(w/v)によって密度を大きくしたものの5 μ lをピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する(10分間、85 \times g)。抗体探索試験のための血液型O試験細胞(スクリーンサイト0.8% I、II、III、メディオオン・ディアグノスティックス社)25 μ lをピペットで反応チャンバーに入れた後、患者の血清25 μ lを入れる。37 にて15分間にわたってインキュベートした後、ID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：細胞のうちの1つに存在している抗原に対する変則的な抗体が患者の血清に含まれている場合には、対応する試験細胞の赤血球が凝集し、赤血球凝集体が毛管系に保持される。細胞のうちの1つに存在している抗原に対する変則的な抗体が患者の血清に含まれていない場合には、赤血球は凝集しない。それらは遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に赤く見える“ボタン”として回収される。

【0047】

b) 酵素試験

i) 一相試験

5 μ lのリン酸緩衝液(pH7.4)をピペットで採取して担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する(10分間、85 \times g)。抗体探索試験のための血液型O試験細胞(スクリーンサイトI、II、III)25 μ lをピペットで反応チャンバーに入れた後、酵素試薬(希釈液1、ダイアメド社)25 μ lと患者の血清25 μ lを入れる。37 にて15分間にわたってインキュベートした後、ID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：細胞のうちの1つに存在している抗原に対する変則的な抗体が患者の血清に含まれている場合には、対応する試験細胞の赤血球が凝集し、赤血球凝集体が毛管系に保持される。細胞のうちの1つに存在している抗原に対する変則的な抗体が患者の血清に含まれていない場合には、赤血球は凝集しない。それらは遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に赤く見える“ボタン”として回収される。

【0048】

ii) 二相試験

5 μ lのリン酸緩衝液(pH7.4)をピペットで採取して担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する(10分間、85 \times g)。抗体探索試験のためのパライン化した血液型O試験細胞(ID-DiaCell IP、IIP、IIIP、ダイアメド社)25 μ lをピペットで反応チャンバーに入れた後、患者の血清25 μ lを入れる。37 にて15分間にわたってインキュベートした後、ID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：細胞のうちの1つに存在している抗原に対する変則的な抗体が患者の血清に含まれている場合には、対応する試験細胞の赤血球が凝集し、赤血球凝集体が毛管系に保持される。細胞のうちの1つに存在している抗原に対する変則的な抗体が患者の血清に含まれていない場合には、赤血球は凝集しない。それらは遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に赤く見える“ボタン”として回収される。

【0049】

c) 適合性試験(クロスチェック)

抗IgGと抗C3d(メディオオン・ディアグノスティックス社)の混合物を10%グリセリン(w/v)によって密度を大きくしたものの5 μ lをピペットで担持エレメントの試薬アプリケー

10

20

30

40

50

ションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する（10分間、85×g）。保管しておいた1単位の血液の希釈を、10μlの細胞沈殿物を1mlの希釈溶液（希釈液2、ダイアメド社）と混合することによって行なう。その後、その保管血液の希釈液25μlをピペットで反応チャンパーに入れた後、患者の血清25μlを入れる。37℃にて15分間にわたってインキュベートした後、ID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：保管血液の赤血球の抗原に対する抗体が患者の血清に含まれている場合には、その血液が凝集し、赤血球凝集体が毛管系に保持される（ドナーとレシピエントが不適合）。不適合な抗体が患者の血清に含まれていない場合には、遠心処理後に赤血球が陰性反応容器の下方領域に赤く見える“ボタン”として回収される。

【0050】

10

4. 直接的な抗ヒトグロブリン試験（直接クームス試験）

抗IgGと抗C3d（メディオン・ディアグノスティックス社）の混合物を10%グリセリン（w/v）によって密度を大きくしたものの5μlをピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する（10分間、85×g）。IgGを添加したクームスコントロール細胞（クームスコントロール、メディオン・ディアグノスティックス社）10μlをピペットで反応チャンパーに入れる。ただちにID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：クームスコントロール細胞にはIgGが添加されているため赤血球が凝集し、赤血球凝集体が毛管系に保持される。IgGが添加されていない細胞は、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に赤く見える“ボタン”として回収される。

【0051】

20

5. 粒子-凝集体の遠心処理：梅毒トレポネーマに対する抗体の検出

抗ヒトIgG（メディオン・ディアグノスティックス社）を10%グリセリン（w/v）を用いて密度を大きくしたものの5μlをピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する（10分間、85×g）。組み換えの梅毒トレポネーマ抗原（TpN15、TpN17、TpN47）でコーティングした粒子試薬（ダイアメド社、梅毒ポリマー粒子）を最高設定にして5秒間攪拌する。その後、患者の血清5μlと粒子試薬25μlをピペットで反応チャンパーに入れる。室温にて5分間にわたってインキュベートした後、ID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：粒子上の1つ以上の梅毒抗原に対する抗体を含んでいる患者の血清は粒子を凝集させるため、それらが赤血球と同様に毛管系に保持される。感染していない人の血清は粒子を凝集させない。すると遠心処理中に自由粒子が、陰性反応容器の下方領域に茶色っぽく見える“ボタン”として沈澱する。

30

【0052】

6. 粒子-凝集体の磁気分離：梅毒トレポネーマに対する抗体の検出

抗ヒトIgG（メディオン・ディアグノスティックス社）を10%グリセリン（w/v）を用いて密度を大きくしたものの5μlをピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。カードをID遠心分離装置の中で遠心処理する（10分間、85×g）。組み換え梅毒トレポネーマ抗原（TpN15、TpN17、TpN47）でコーティングした常磁性粒子（エスタポア・マイクロソフィア、フランス国）を最高設定にして5秒間攪拌する。その後、患者の血清5μlと粒子試薬25μlをピペットで反応チャンパーに入れる。室温にて5分間にわたってインキュベートした後、磁石（ライフセップ1.5S磁性分離ユニット、デクスター・マグネティック・テクノロジーズ社、アメリカ合衆国）を陰性反応容器の底部に取り付ける。結果：粒子上の1つ以上の梅毒抗原に対する抗体を含んでいる患者の血清は粒子を凝集させるため、それらが赤血球と同様に毛管系に保持される。感染していない人の血清は粒子を凝集させない。すると自由粒子が、陰性反応容器の下方領域に茶色っぽく見える“ボタン”として沈澱する。

40

【0053】

7. ヒト・パルボウイルスB19抗原の判定

5μlのPBS緩衝液（滴定してpH5.8にする）をピペットで担持エレメントの試薬アプリケーションチャンネルに入れる。その後、血液型抗原Pを持つパバイン化した試験細胞の懸濁

50

液10 μ lをピペットで反応チャンバーに入れる。そこで組み換えVP2粒子の溶液10 μ lをピペットでこの反応チャンバーに入れ、得られた混合物をただちにID遠心分離装置の中で遠心処理する。結果：細胞が凝集し、赤血球凝集体が毛管系に保持される。この反応装置の陰性反応容器は細胞なしのままである。VP2粒子の代わりにウイルスに感染していない人の血清を用いる場合には、赤血球が、遠心処理後に陰性反応容器の下方領域に回収されるのが見える。

【図面の簡単な説明】

【0054】

【図1】本発明による装置の図であり、複数の毛管面内に複数の毛管が互いに隣接して配置されており、より上にある面内に存在する個々の毛管の直径は、より下の面内に存在する個々の毛管の直径よりも大きくなっている。

10

【図2】複数の毛管面を備える本発明の装置の側面図である。

【図3 a】1つの毛管面に1つの毛管を備える本発明の装置の図である。

【図3 b】1つの毛管面に断面積が小さくなっていく毛管を備える本発明の装置の図である。

【図3 c】3つの毛管面を備えていて、それぞれの毛管面に1つの毛管がある本発明の装置の図である。

【図3 d】3つの毛管面を備えていて、それぞれの毛管面に1つの毛管があり、2つのチャンバーが毛管面の間に配置されている本発明の装置の図である。

【図3 e】1つの毛管面に3つの毛管がある本発明の装置の図である。

20

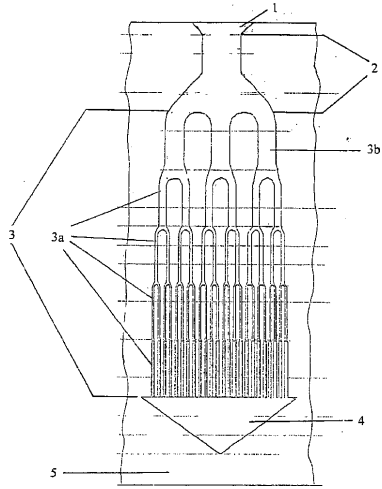
【図3 f】接続ウェブを有する1つの毛管面に4つの毛管を備える本発明の装置の図である。

【図3 g】1つの毛管面に1つの毛管を備えていて、陰性反応容器の外に通じる2つの換気チャンネルが設けられている本発明の装置の図である。

【図4】1枚のカード内に本発明による複数(6つ)の装置(反応装置)が存在している場合の図であり、それぞれの装置には、換気チャンネルと、異なる陽性の測定結果および陰性の測定結果が含まれている。

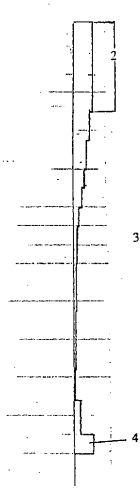
【 図 1 】

FIG.1



【 図 2 】

FIG.2



【 図 3 】

FIG.3

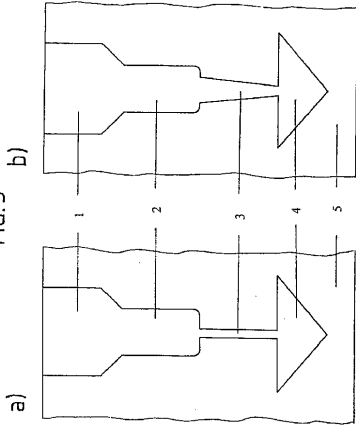


FIG.3

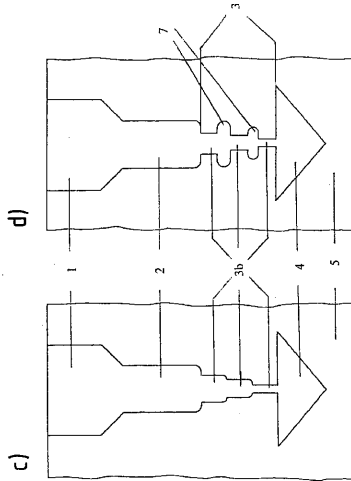
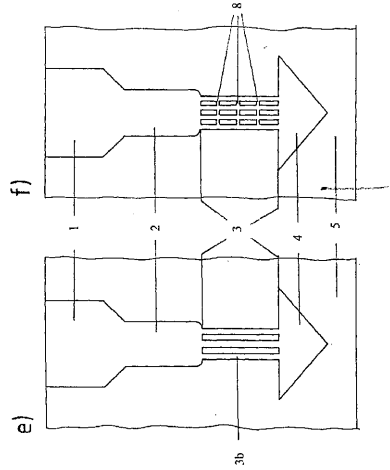


FIG.3



フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I		
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	Q
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)	G 0 1 N	33/531	B
C 1 2 Q	1/70	(2006.01)	G 0 1 N	33/543	5 4 1 A
			G 0 1 N	33/545	B
			G 0 1 N	37/00	1 0 1
			C 1 2 Q	1/02	
			C 1 2 Q	1/68	A
			C 1 2 Q	1/70	

(72)発明者 シュウイン, ペテル
 スイス国, セアッシュ - 1 7 0 0 フリブルグ, シュマン デュ カルベル 4

(72)発明者 モノ, フィリップ
 スイス国, セアッシュ - 1 7 2 5 ポジュー, アンパス シュール - ラ - コンバ ニュメロ 2

審査官 浅野 美奈

(56)参考文献 特開平 1 0 - 0 0 2 9 0 0 (J P , A)
 特表 2 0 0 2 - 5 0 1 1 7 3 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B名)

G01N 33/53
 C12Q 1/02
 C12Q 1/68
 C12Q 1/70
 G01N 33/531
 G01N 33/543
 G01N 33/545
 G01N 37/00

专利名称(译)	通过可视化和分离凝集反应来检测分析物的装置和方法		
公开(公告)号	JP4741517B2	公开(公告)日	2011-08-03
申请号	JP2006551791	申请日	2005-02-02
[标]申请(专利权)人(译)	麦迪奥诊断产品有限公司		
申请(专利权)人(译)	MEDION诊断股份公司		
当前申请(专利权)人(译)	MEDION诊断股份公司		
[标]发明人	シュウインペテル モノフィリップ		
发明人	シュウイン,ペテル モノ,フィリップ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/531 G01N33/545 G01N37/00 C12Q1/02 C12Q1/68 C12Q1/70 B01L3/00 G01N15/02		
CPC分类号	B01L3/50273 B01L3/502746 B01L3/502761 B01L2200/0684 B01L2300/0654 B01L2300/0681 B01L2300/0816 B01L2300/0864 B01L2400/0406 B01L2400/0409 B01L2400/043 B01L2400/0457 G01N15/0255 Y10S435/96 Y10S436/805		
FI分类号	G01N33/53.K G01N33/543.581.F G01N33/543.541.Z G01N33/53.L G01N33/53.N G01N33/53.Q G01N33/531.B G01N33/543.541.A G01N33/545.B G01N37/00.101 C12Q1/02 C12Q1/68.A C12Q1/70		
代理人(译)	青木 笃 岛田哲朗		
优先权	102004005193 2004-02-02 DE		
其他公开文献	JP2007519938A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

用于证明样品中一种或多种分析物存在的组件，包括一个反应室，该反应室细分为一系列平面，每个平面具有平行的毛细管通道阵列和一个或多个带有一个或多个负容器的毛细管系统。还包括独立的权利要求，其用于证明样品流体中一种或多种分析物的存在的方法，该方法包括使凝集的存在可见，其中首先使样品与试剂接触，然后通过重力或重力分离反应混合物。磁性，并通过毛细血管释放到阴性血管，在分析物和试剂之间发生反应。

