

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4980884号  
(P4980884)

(45) 発行日 平成24年7月18日(2012.7.18)

(24) 登録日 平成24年4月27日(2012.4.27)

(51) Int.Cl.

G O 1 N 33/543 (2006.01)  
G O 1 N 33/53 (2006.01)

F 1

G O 1 N 33/543 5 2 1  
G O 1 N 33/53 F

請求項の数 73 (全 64 頁)

(21) 出願番号 特願2007-506509 (P2007-506509)  
 (86) (22) 出願日 平成17年3月30日 (2005.3.30)  
 (65) 公表番号 特表2007-531882 (P2007-531882A)  
 (43) 公表日 平成19年11月8日 (2007.11.8)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/010678  
 (87) 国際公開番号 WO2005/098439  
 (87) 国際公開日 平成17年10月20日 (2005.10.20)  
 審査請求日 平成19年10月17日 (2007.10.17)  
 (31) 優先権主張番号 60/557,851  
 (32) 優先日 平成16年3月30日 (2004.3.30)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 598041463  
 ジーイー・ヘルスケア・バイオサイエンス  
 ・コーポレイション  
 アメリカ合衆国、ニュージャージー州・O  
 8855、ピスカタウェイ、センテニアル  
 ・アベニュー、800番  
 (74) 代理人 100140109  
 弁理士 小野 新次郎  
 (74) 代理人 100075270  
 弁理士 小林 泰  
 (74) 代理人 100080137  
 弁理士 千葉 昭男  
 (74) 代理人 100096013  
 弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】側方流動方式、材料、及び方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、モノリシックな単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、上記モノリシックな単一の親水性マトリクスは、  
 a . ポリマーと、ガラス纖維またはガラス微小纖維との混合物を含む、纖維の網織物、  
 b . i . 試料アプライゾーン；

i i . 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって

標識化結合試薬は、分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成し、

10

標識化結合試薬は、標識を含み、かつ、

標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接觸することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

i i i . 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

捕捉試験試薬は、分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成し、かつ、

捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、強く固定化されている、捕捉試験ゾーン；

i v . 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

捕捉対照試薬は、標識化結合試薬と結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含

20

む第3の複合体を形成し、かつ、

捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、強く固定化されている、捕捉対照ゾーン；及び

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン、を有する一連のゾーン、  
を備えた、試験ストリップ。

**【請求項2】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記一連のゾーンは、さらに、  
v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーンを有する、試験ストリップ。 10

**【請求項3】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記ポリマーは、ポリエステル、ポリエチレン、ポリプロピレン、ラテックス、ポリエーテルスルホン、フッ化ビニリデン樹脂、ポリエチレン、ナイロン、ポリテトラフルオロエチレン、または、セルロースアセテートを含む、試験ストリップ。

**【請求項4】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記ポリマーは、ラテックスを含む、試験ストリップ。

**【請求項5】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記単一の親水性マトリクスは、さらに結合剤を含む、試験ストリップ。 20

**【請求項6】**

請求項5に記載の試験ストリップであって、上記結合剤は、ポリビニルアクリルアミド、ポリビニルアクリル酸塩、ポリビニルアルコール、ポリスチレン、及びポリメチルメタアクリル酸塩、並びにゼラチンからなる集団から選択される、試験ストリップ。

**【請求項7】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記単一の親水性マトリクスは、運搬速度が、240秒で少なくとも4cmある、試験ストリップ。

**【請求項8】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記単一の親水性マトリクスは、運搬速度が、水に関し、100秒で少なくとも4cmある、試験ストリップ。 30

**【請求項9】**

請求項8に記載の試験ストリップであって、上記運搬速度が、水に関し、60秒で少なくとも4cmの範囲内である、試験ストリップ。

**【請求項10】**

請求項9に記載の試験ストリップであって、上記運搬速度が、水に関し、50秒で少なくとも4cmの範囲内である、試験ストリップ。

**【請求項11】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記単一の親水性マトリクスは、平均孔径が1.5ミクロン～25.0ミクロンの範囲内である、試験ストリップ。 40

**【請求項12】**

請求項11に記載の試験ストリップであって、上記単一の親水性マトリクスは、平均孔径が2.0ミクロン～7.0ミクロンの範囲内である、試験ストリップ。

**【請求項13】**

請求項11に記載の試験ストリップであって、上記平均孔径が3.0ミクロン～6.0ミクロンの範囲内である、試験ストリップ。

**【請求項14】**

請求項1に記載の試験ストリップであって、上記単一の親水性マトリクスは、50ミクロンと1000ミクロンとの間の厚さである、試験ストリップ。

**【請求項15】**

10

20

30

40

50

請求項 1 4 に記載の試験ストリップであって、上記単一の親水性マトリクスは、150ミクロンと500ミクロンとの間の厚さである、試験ストリップ。

【請求項 1 6】

請求項 1 に記載の試験ストリップであって、上記標識化結合試薬は、さらに、分析物と特異的に結合するリガンドを含む、試験ストリップ。

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載の試験ストリップであって、上記標識化結合試薬は、さらに、リガンドが接触する固体支持材を含む、試験ストリップ。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 に記載の試験ストリップであって、上記固体支持材が、金、ラテックス、セレン、白金、銅、または鉄を含む、試験ストリップ。 10

【請求項 1 9】

請求項 1 7 に記載の試験ストリップであって、固体支持材は、担体ビーズを含む、試験ストリップ。

【請求項 2 0】

請求項 1 9 に記載の試験ストリップであって、上記担体ビーズは、該担体ビーズが上記マトリクスを通って移動可能なサイズであり、上記ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、上記ビーズがマトリクス内を流動可能になる、試験ストリップ。

【請求項 2 1】

請求項 1 9 に記載の試験ストリップであって、担体ビーズの直径が、上記マトリクスの平均孔径の10%以下である、試験ストリップ。 20

【請求項 2 2】

請求項 1 9 に記載の試験ストリップであって、  
a . 上記マトリクスの平均孔径が4~6マイクロメートルの範囲内であり、かつ、  
b . 上記担体ビーズは、直径が20~80ナノメートルの範囲内である金ビーズを含む、試験ストリップ。

【請求項 2 3】

請求項 1 9 に記載の試験ストリップであって、  
a . 上記マトリクスの平均孔径が4~6マイクロメートルの範囲内であり、かつ、  
b . 上記担体ビーズは、直径が100~800ナノメートルの範囲内であるラテックスビーズを含む、試験ストリップ。 30

【請求項 2 4】

請求項 1 9 に記載の試験ストリップであって、上記担体ビーズは、比色色素、蛍光色素、常磁性のコア、プラズモン共鳴粒子、または量子ドットを有するラテックスビーズを含む、試験ストリップ。

【請求項 2 5】

請求項 1 に記載の試験ストリップであって、上記標識化結合試薬における標識は、比色指示薬、蛍光指示薬、測光的な指示薬、放射性指示薬、免疫指示薬、または色素を含む、試験ストリップ。

【請求項 2 6】

請求項 1 6 に記載の試験ストリップであって、上記リガンドは、  
a . ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、抗体、またはプリオン；  
b . 核酸、またはペプチド核酸；  
c . 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；または  
d . インプリントされたポリマー  
を含む、試験ストリップ。 40

【請求項 2 7】

請求項 1 6 に記載の試験ストリップであって、  
a . 上記分析物は、所望の標的配列を有する核酸を含み、かつ、上記リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも65%の配列と相補する核酸を含む。 50

b . 上記分析物は、抗原を含み、かつ、上記リガンドは、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む、

c . 上記リガンドは、抗原を含み、かつ、上記分析物は、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む、

d . 上記リガンドは、オリゴペプチドを含み、かつ、上記分析物は、上記オリゴペプチドと結合するタンパク質を含む、

e . 上記分析物は、薬物、または薬物の類似体を含み、かつ、上記リガンドは、上記薬物と結合するタンパク質を含む、

f . 上記リガンドは、薬物、または薬物の類似体を含み、かつ、上記分析物は、上記薬物と結合するタンパク質を含む、または

g . 上記リガンドは、インプリントされたポリマーを含み、かつ、上記分析物は、

i . ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、抗体、またはプリオン；

ii . 核酸、またはペプチド核酸；または

iii . 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；を含む、試験ストリップ。

#### 【請求項 28】

請求項 1 に記載の試験ストリップであって、上記捕捉試験試薬は、さらに、分析物または第 1 の複合体と特異的に結合するリガンドを含む、試験ストリップ。

#### 【請求項 29】

請求項 28 に記載の試験ストリップであって、上記リガンドの、分析物または第 1 の複合体との結合は、分析物または第 1 の複合体を濃縮する、試験ストリップ。

#### 【請求項 30】

請求項 28 に記載の試験ストリップであって、上記リガンドは、

a . ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、または抗体；

b . 核酸、またはペプチド核酸；

c . 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；または

d . インプリントされたポリマー

を含む、試験ストリップ。

#### 【請求項 31】

請求項 28 に記載の試験ストリップであって、

a . 上記分析物は、露出した所望の標的配列を有する核酸を含み、かつ、上記リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも 65 % の配列と相補する核酸を含む、

b . 上記分析物または第 1 の複合体は抗原を含み、かつ、上記リガンドは、上記抗原と特異的に結合する抗体を含み、該抗体は、分析物非存在下で、標識化結合試薬と有意に結合しない、

c . 上記リガンドは、抗原を含み、かつ、上記分析物または第 1 の複合体は、上記抗原と特異的に結合する抗体を含み、標識化結合試薬は、分析物非存在下で、抗原と有意に結合しない、

d . 上記リガンドは、オリゴペプチドを含み、かつ、上記分析物または第 1 の複合体は、上記オリゴペプチドと結合するタンパク質を含み、標識化結合試薬は、分析物非存在下で、オリゴペプチドと有意に結合しない、または

e . 上記リガンドは、インプリントされたポリマーを含み、かつ、上記分析物または第 1 の複合体は、上記インプリントされたポリマーと結合する物質を含み、標識化結合試薬は、分析物非存在下で、インプリントされたポリマーと有意に結合しない、試験ストリップ。

#### 【請求項 32】

請求項 1 に記載の試験ストリップであって、上記捕捉対照試薬は、さらに、標識化結合試薬と特異的に結合するリガンドを含む、試験ストリップ。

#### 【請求項 33】

請求項 32 に記載の試験ストリップであって、上記リガンドの標識化結合試薬との結合は、標識化結合試薬を濃縮し、第 3 の複合体の存在を示す標識の検出を可能にする、試験

10

20

30

40

50

ストリップ。

**【請求項 3 4】**

請求項 3 3 に記載の試験ストリップであって、

- a . 上記標識化結合試薬は、負の総電荷になっており、かつ
- b . 上記捕捉対照試薬は、正の総電荷になっている、試験ストリップ。

**【請求項 3 5】**

請求項 3 3 に記載の試験ストリップであって、

- a . 上記標識化結合試薬は、負電荷の金担体ビーズを含み、かつ
- b . 上記捕捉対照試薬は、
  - i . 正電荷のポリマー；または
  - ii . 正電荷のリガンドを含む、試験ストリップ。

10

**【請求項 3 6】**

請求項 3 3 に記載の試験ストリップであって、

- a . 上記標識化結合試薬は、正の総電荷になっており、かつ
- b . 上記捕捉対照試薬は、負の総電荷になっている、試験ストリップ。

**【請求項 3 7】**

請求項 3 2 に記載の試験ストリップであって、上記リガンドは、

- a . ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、または抗体；または
- b . 核酸、またはペプチド核酸；
- c . 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；または
- d . インプリントされたポリマー

20

を含む、試験ストリップ。

**【請求項 3 8】**

請求項 3 7 に記載の試験ストリップであって、

- a . 上記標識化結合試薬は、露出した所望の標的配列を有する核酸を含み、かつ、上記リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも 65 % の配列と相補する核酸を含む、
- b . 上記標識化結合試薬は抗原を含み、かつ、上記リガンドは、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む、
- c . 上記リガンドは、抗原を含み、かつ、上記標識化結合試薬は、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む、
- d . 上記リガンドは、オリゴペプチドを含み、かつ、
- e . 上記標識化結合試薬は、上記オリゴペプチドと結合するタンパク質を含む、または、
- f . 上記リガンドは、インプリントされたポリマーを含み、かつ、上記標識化結合試薬は、上記インプリントされたポリマーと結合する物質を含む、試験ストリップ。

30

**【請求項 3 9】**

請求項 1 に記載の試験ストリップであって、上記捕捉試験試薬または上記捕捉対照試薬は、さらに、リガンドが接触する固体支持材を含む、試験ストリップ。

**【請求項 4 0】**

請求項 3 9 に記載の試験ストリップであって、上記固体支持材が、ラテックス、シリカ、ガラス、アルミナ、セルロース、または糖を含む、試験ストリップ。

40

**【請求項 4 1】**

請求項 4 0 に記載の試験ストリップであって、以下の少なくとも 1 つ

- a . 上記捕捉試験試薬は、捕捉試験ビーズを有する固体支持材を含む、または
  - b . 上記捕捉対照試薬は、捕捉対照ビーズを有する固体支持材を含む、
- を備えた、試験ストリップ。

**【請求項 4 2】**

請求項 4 1 に記載の試験ストリップであって、

- a . 上記捕捉試験ビーズ、または上記捕捉対照ビーズは、物理的にタンパク質に結合し、スルフェート末端化されたラテックスビーズを含む、または、
- b . 上記捕捉試験ビーズ、または上記捕捉対照ビーズは、共有結合ラテックスビーズを含

50

む、試験ストリップ。

【請求項 4 3】

請求項 4 1 に記載の試験ストリップであって、上記捕捉試験ビーズまたは上記捕捉対照ビーズのサイズは、マトリクスを介したその移動を阻害する、試験ストリップ。

【請求項 4 4】

請求項 4 1 に記載の試験ストリップであって、上記捕捉試験ビーズまたは上記捕捉対照ビーズのサイズが、上記マトリクスの平均孔径の 20 % ~ 70 % の範囲内である、試験ストリップ。

【請求項 4 5】

請求項 4 1 に記載の試験ストリップであって、上記捕捉試験ビーズまたは上記捕捉対照ビーズのサイズが、上記マトリクスの平均孔径の 30 % ~ 60 % の範囲内である、試験ストリップ。 10

【請求項 4 6】

上記補足試験試薬は、さらに、捕捉試験ビーズ、および上記分析物または上記第 1 の複合体に特異的に結合するリガンドを含み、

上記リガンドの分析物または第 1 の複合体への結合は、上記標識化結合試薬を濃縮して、上記第 2 の複合体の存在を示す上記標識の検出を可能にする、請求項 3 9 に記載の試験ストリップ。

【請求項 4 7】

上記捕捉試験ビーズは、凝集剤を含むラテックス捕捉ビーズを含む、請求項 4 6 に記載の試験ストリップ。 20

【請求項 4 8】

上記凝集剤は、ポリエチレングリコール ( P E G ) を含む、請求項 4 7 に記載の試験ストリップ。

【請求項 4 9】

上記捕捉対照試薬は、さらに捕捉対照ビーズを含み、

該捕捉対照ビーズは、凝集剤を含むラテックス捕捉ビーズを含む、請求項 3 9 に記載の試験ストリップ。

【請求項 5 0】

上記凝集剤は、ポリエチレングリコール ( P E G ) を含む、請求項 4 9 に記載の試験ストリップ。 30

【請求項 5 1】

上記液体試料は、血液、血漿、血清、鼻汁、尿、唾液、精液、臍帯下、汗、涙、リンパ液、胃腸液、懸濁液またはコロイド状の混合物、脳脊髄液、バクテリア培養液、組織培養液、ファージ溶解物、水、飲料水、有機溶媒、水性または有機性の溶液、細胞懸濁液、ウイルス懸濁液、他の複製体の懸濁液、またはコロイド状の混合物である、請求項 1 に記載の試験ストリップ。

【請求項 5 2】

上記分析物は、ポリペプチド、オリゴヌクレオチド、抗体、抗原、プリオン、核酸、薬物、または薬物の類似体を含む、請求項 1 に記載の試験ストリップ。 40

【請求項 5 3】

上記分析物の存在または非存在は、生理的状態に対するマーカーを含む、請求項 1 に記載の試験ストリップ。

【請求項 5 4】

上記生理的状態は、妊娠、授乳、疾患、表現型、遺伝子型、または異常な生理的状態である、請求項 5 3 に記載の試験ストリップ。

【請求項 5 5】

上記分析物は、薬物または薬物の類似体を含む、請求項 1 に記載の試験ストリップ。

【請求項 5 6】

a . 上記分析物は、ヒト総毛性ゴナドトロピン ( h C G ) を含み、

50

b . 上記標識化結合試薬は、抗ヒト総毛性ゴナドトロピン マウスモノクローナル抗体を含み、

c . 上記捕捉対照試薬は、非ヒト、非ネズミ科の抗マウス抗体を含み、

d . 上記液体試料中のヒト総毛性ゴナドトロピンの存在は、上記生理的状態である妊娠のマーカーである、請求項 1 に記載の試験ストリップ。

【請求項 5 7】

液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための器具であって、

a . 請求項 1 に記載の試験ストリップ

b . 上記試験ストリップ収容する筐体であって、

i . 上記液体試料をアプライするために、上記試料アプライゾーン中の試験ストリップの表面を露出させる少なくとも 1 つの開口；  
10

ii . 試験結果を検出するために、上記捕捉試験ゾーンおよび捕捉対照ゾーン中の試験ストリップの表面を露出させる開口；及び、

iii . 上記試料アプライゾーン、捕捉試験ゾーン、捕捉対照ゾーンを識別するための印；を有する筐体

を備えた、器具。

【請求項 5 8】

試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップの使用方法であって、

a . 請求項 1 に記載の試験ストリップを準備する工程；  
20

b . 液体試料を取得する工程；

c . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記液体試料をアプライする工程；

d . 上記单一の親水性マトリクスを介して、上記液体試料を上記抱合放出ゾーンへと運搬する工程；

e . 上記標識化結合試薬と上記液体試料とを接触させて、上記液体試料が分析物を含んでいる場合には、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに上記第 1 の複合体の形成を可能にする工程；

f . 上記液体試料および標識化結合試薬を、単体の状態であろうが第 1 の複合体を形成しているようが、上記单一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運搬する工程；  
30

g . 上記捕捉試験試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、単体の状態であろうが第 1 の複合体を形成しているようが、上記第 1 の複合体が存在する場合には上記第 2 の複合体の形成を可能にする工程；

h . 上記单一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第 2 の複合体を濃縮する工程；

i . 上記捕捉試験ゾーン中の第 2 の複合体の存在を検出する工程；

j . 上記液体試料および標識化結合試薬を、上記单一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運搬する工程；

k . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、第 3 の複合体の形成を可能にする工程  
40

l . 上記单一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第 3 の複合体を濃縮する工程；及び、

m . 上記捕捉対照ゾーン中の第 3 の複合体の存在を検出する工程；  
を含む、方法。

【請求項 5 9】

上記試験ストリップは、競合アッセイに用いられる、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

液体生体試料中の生理的状態に関連した分析物の存在を検出することによって、非ヒト生体中の生理的状態を診断する方法であって、

a . 請求項 1 に記載の試験ストリップを準備する工程；  
50

- b . 非ヒト生体から液体生体試料を取得する工程 ;
  - c . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記液体生体試料をアプライする工程 ;
  - d . 上記単一の親水性マトリクスを介して、上記液体生体試料を上記抱合放出ゾーンへと運ぶ工程 ;
  - e . 上記標識化結合試薬と上記液体生体試料とを接触させて、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに上記第1の複合体の形成を可能にする工程 ;
  - f . 上記液体生体試料、標識化結合試薬および第1の複合体を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運搬する工程 ;
  - g . 上記捕捉試験試薬と、上記液体生体試料、標識化結合試薬および第1の複合体とを接觸させて、第2の複合体の形成を可能にする工程 ;
  - h . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第2の複合体を濃縮する工程 ;
  - i . 上記捕捉試験ゾーン中の第2の複合体の存在を検出する工程 ;
  - j . 上記液体試料および標識化結合試薬を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運搬する工程 ;
  - k . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接觸させて、第3の複合体の形成を可能にする工程 ;
  - l . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第3の複合体を濃縮する工程 ;
  - m . 上記捕捉対照ゾーン中の第3の複合体の存在を検出する工程 ; 及び、
  - n . 上記非ヒト生体の生理的状態を診断する工程 ;
- を含む、方法。

#### 【請求項 6 1】

上記生理的状態は、妊娠、授乳、疾患、遺伝子型、表現型、遺伝的多型および異常な生理的状態からなる群より選択される、請求項 6 0 に記載の方法。

#### 【請求項 6 2】

上記疾患は、癌、心臓病、高血圧症、コレステロール値の上昇、高血糖症、低血糖症、糖尿病、マラリア、結核、後天性免疫不全症候群（AIDS）、性感染症、デング熱、ラッサ熱、肝炎、肺炎および遺伝病からなる群より選択される、請求項 6 1 に記載の方法。

#### 【請求項 6 3】

試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、

上記単一の親水性マトリクスは、

- a . ポリマーと、ガラス纖維またはガラス微小纖維との混合物を含む、纖維の網織物を含むモノリシックな親水性マトリクス ;
- b . i . 試料アプライゾーン ;

i i . 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

( a ) 上記標識化結合試薬は、

( i ) 標識 ;

( i i ) 担体ビーズを含む固体担体であって、該担体ビーズおよび上記マトリクスが湿っている場合には、上記担体ビーズが上記マトリクスの中を流動可能である固体支持材 ; および

( i i i ) 上記分析物に特異的に結合して、標識化結合試薬および分析物を含む第1の複合体を形成するリガンド、を含み、

( b ) 上記標識化結合試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、液体試料と接觸することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン ;

i i i . 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

10

20

30

40

50

( a ) 上記捕捉試験試薬は、

( i ) 捕捉試験ビーズを含む固体担体；および

( i i ) 上記分析物または第1の複合体に特異的に結合して、上記標識化結合試薬、分析物および捕捉試薬を含む第2の複合体を形成するリガンド、を含み、

( b ) 上記捕捉試験試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能である、捕捉試験ゾーン；

i v . 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

( a ) 上記捕捉対照試薬は、

( i ) 捕捉対照ビーズを含む固体担体；および

( i i ) 上記標識化結合試薬に特異的に結合して、上記標識化結合試薬および捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成するリガンド、を含み、10

( b ) 上記捕捉対照試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能である、捕捉対照ゾーン；

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン、を有する一連のゾーン、  
を備えた、試験ストリップ。

#### 【請求項 6 4】

試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップの製造方法であって、上記試験ストリップは、モノリシックな親水性マトリクスを含む単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、20

上記方法は、

a . ポリマーと、ガラス纖維またはガラス微小纖維との混合物を含む、纖維の網織物を含むモノリシックな親水性マトリクスを準備する工程；

b . 上記モノリシックな親水性マトリクス上に抱合放出ゾーンを形成する工程であって、当該工程は、

i . 標識化結合試薬を準備する工程であって、上記標識化結合試薬は、  
標識；

担体ビーズを含む固体担体であって、該担体ビーズおよび上記マトリクスが湿っている場合には、上記担体ビーズが上記マトリクスの中を流動可能である固体担体；および30

上記分析物に特異的に結合して、上記標識化結合試薬および分析物を含む第1の複合体を形成するリガンド、を含む工程；

i i . 上記標識化結合試薬を緩衝液中に懸濁する工程；

i i i . 上記標識化結合試薬の懸濁液を、上記モノリシックな親水性マトリクスの第1のゾーンにアプライする工程、によって形成される工程；

c . 上記モノリシックな親水性マトリクス上に捕捉試験ゾーンを形成する工程であって、当該工程は、

i . 捕捉試験試薬を準備する工程であって、上記捕捉試験試薬は、  
捕捉試験ビーズを含む固体担体；

上記分析物または第1の複合体に特異的に結合して、標識化結合試薬、分析物および捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成するリガンド、を含む、工程；40

i i . 上記捕捉試験試薬を緩衝液中に懸濁する工程；

i i i . 上記捕捉試験試薬の懸濁液を、上記モノリシックな親水性マトリクスの第2のゾーンにアプライする工程であって、上記第2のゾーンは上記第1のゾーンの下流にある工程、によって形成される工程；

d . 上記モノリシックな親水性マトリクス上に捕捉対照ゾーンを形成する工程であって、当該工程は、

i . 捕捉対照試薬を準備する工程であって、上記捕捉対照試薬は、  
捕捉対照ビーズを含む固体担体；および

上記標識化結合試薬に結合して、上記標識化結合試薬および捕捉対照試薬を含む50

第3の複合体を形成するリガンド、を含む工程；

i i . 上記捕捉対照試薬を緩衝液中に懸濁する工程；

i i i . 上記捕捉対照試薬の懸濁液を、上記モノリシックな親水性マトリクスの第3のゾーンにアプライする工程であって、上記第3のゾーンは上記第2のゾーンの下流にある工程、によって形成される工程；

e . 上記モノリシックな親水性マトリクスを乾燥させて乾燥多孔質媒体を形成する工程、を含む方法。

【請求項65】

試験ストリップにアプライされた液体試料中の複数の分析物のうちの何れかの存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを含む乾燥多孔質媒体を備え、10

上記単一の親水性マトリクスは、

a . ポリマーと、ガラス纖維またはガラス微小纖維との混合物を含む、纖維の網織物を含むモノリシックな親水性マトリクス；

b . 一連のゾーンであって、当該一連のゾーンは、

i . 試料アプライゾーン；

i i . 複数の標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

(a) 上記標識化結合試薬の各々は、

(i) 標識；

(ii) 担体ビーズを含む固体担体であって、該担体ビーズおよび上記マトリクスが湿っている場合には、上記担体ビーズが上記マトリクスの中を流動可能である固体担体；および20

(iii) 上記分析物の1つに特異的に結合して、上記標識化結合試薬および分析物を含む第1の複合体を形成するリガンド、を含み、

(b) 上記標識化結合試薬の各々は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、液体試料と接触することで移動形態に放出され、

(c) 上記標識化結合試薬の各々は、試験の複数の分析物間で異なる分析物に特異的に結合する、抱合放出ゾーン；

i i i . 複数の捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

(a) 上記捕捉試験試薬の各々は、

(i) 捕捉試験ビーズを含む固体担体；および

(ii) 上記分析物の1つ、または上記第1の複合体の1つに特異的に結合して、上記標識化結合試薬、分析物および捕捉試薬を含む第2の複合体を形成するリガンド、を含み、30

(b) 上記捕捉試験試薬の各々は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能であり、

(c) 上記捕捉試験試薬の各々は、上記複数の分析物および試験の複数の第1の複合体間で異なる分析物または第1の複合体に特異的に結合する、捕捉試験ゾーン；

i v . 少なくとも1つの捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

(a) 上記捕捉対照試薬は、

(i) 捕捉対照ビーズを含む固体担体；および

(ii) 上記標識化結合試薬に特異的に結合して、上記標識化結合試薬および捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成するリガンド、を含み、40

(b) 上記捕捉対照試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能である、捕捉対照ゾーン；

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン、を含む一連のゾーン、

を備えた試験ストリップ。

【請求項66】

液体生体試料中の疾患、表現型、遺伝子型、または正常若しくは異常な生理的状態に関

50

連した少なくとも 1 つの分析物の存在を検出することによって、生体中の疾患、表現型、遺伝子型、または正常若しくは異常な生理的状態を診断するための試験方法であって、

- a . 請求項 6 5 に記載の試験ストリップを準備する工程；
- b . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記液体生体試料をアプライする工程；
- c . 上記単一の親水性マトリクスを介して、上記液体生体試料を上記抱合放出ゾーンへと運搬する工程；
- d . 上記標識化結合試薬と上記液体生体試料とを接触させて、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに、少なくとも 1 つの第 1 の複合体の形成を可能にする工程；
- e . 上記液体生体試料、標識化結合試薬、および 1 つ以上の第 1 の複合体を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運搬する工程；
- f . 上記捕捉試験試薬と、上記液体生体試料、標識化結合試薬および 1 つ以上の第 1 の複合体とを接触させて、少なくとも 1 つの第 2 の複合体の形成を可能にする工程；
- g . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、1 つ以上の第 2 の複合体を濃縮する工程；
- h . 上記捕捉試験ゾーン中の第 2 の複合体の存在を検出する工程；
- i . 上記液体試料および標識化結合試薬を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運搬する工程；
- j . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、少なくとも 1 つの第 3 の複合体の形成を可能にする工程；
- k . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第 3 の複合体を濃縮する工程；
- l . 上記捕捉対照ゾーン中の第 3 の複合体の存在を検出する工程；及び、  
を含む、方法。

#### 【請求項 6 7】

1 つよりも多い、疾患、表現型、遺伝子型、または正常若しくは異常な生理的状態が、同時に診断され得る、請求項 6 6 に記載の方法。

#### 【請求項 6 8】

上記分析物の各々は、異なる疾患、表現型、遺伝子型、または正常若しくは異常な生理的状態を診断するために用いられる、請求項 6 6 に記載の方法。

#### 【請求項 6 9】

上記疾患、表現型、遺伝子型または生理的状態の少なくとも 1 つは、妊娠、授乳、癌、心臓病、高血圧症、コレステロール値の上昇、高血糖症、低血糖症、糖尿病、マラリア、結核、後天性免疫不全症候群（AIDS）、性感染症、デング熱、エボラ、ラッサ熱、肝炎、肺炎、遺伝的多型および遺伝病からなる群より選択される、請求項 6 6 に記載の方法。

#### 【請求項 7 0】

a 、 b 、 c の各病原体の存在を試験する、請求項 6 8 に記載の方法。

a . ヒト免疫不全ウイルス

b . 結核

c . マラリア

#### 【請求項 7 1】

血液試料中の構成を分離する方法であって、

a . 請求項 6 5 に記載の試験ストリップを準備する工程であって、当該試験ストリップは、

i . タンパク質

i i . 免疫グロブリン（IgG）

i i i . コレステロール

のうち、少なくとも 1 つを検出する、工程；

b . 血液試料を取得する工程；

10

20

30

40

50

- c . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記血液試料をアプライする工程
  - d . 上記単一の親水性マトリクスを介して、上記血液試料を上記抱合放出ゾーンへと運搬する工程；
  - e . 上記標識化結合試薬と上記血液試料とを接触させて、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに、少なくとも 1 つの第 1 の複合体の形成を可能にする工程；
  - f . 上記血液試料、標識化結合試薬、および 1 つ以上の第 1 の複合体を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運搬する工程；
  - g . 上記捕捉試験試薬と、上記血液試料、標識化結合試薬および 1 つ以上の第 1 の複合体とを接触させて、少なくとも 1 つの第 2 の複合体の形成を可能にする工程；
  - h . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、  
1 つ以上の第 2 の複合体を濃縮する工程；
  - i . 上記捕捉試験ゾーン中の第 2 の複合体の存在を検出する工程；
  - j . 上記血液試料および標識化結合試薬を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運搬する工程；
  - k . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、少なくとも 1 つの第 3 の複合体の形成を可能にする工程；
  - l . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、  
第 3 の複合体を濃縮する工程；
  - m . 上記捕捉対照ゾーン中の第 3 の複合体の存在を検出する工程；及び、
  - n . 上記試験ストリップから血漿を除去する工程；
- 20  
を含む、方法。

#### 【請求項 7 2】

モノリシックな親水性マトリクスを含む多孔質媒体中の試薬を濃縮する方法であって、  
a . モノリシックな親水性マトリクスを準備するとともに試薬を準備する工程であって  
、上記試薬は、

- i . 固体担体；および
  - i i . 水性液体と接触することで活性化される凝集剤、  
を含む、工程；
  - b . 上記試薬を緩衝液中に懸濁して試薬懸濁液を得る工程；
  - c . 上記モノリシックな親水性マトリクスに上記試薬懸濁液をアプライする工程；
  - d . 上記モノリシックな親水性マトリクス上で、上記試薬懸濁液を乾燥させる工程；及  
び、
  - e . 上記多孔質媒体のモノリシックな親水性マトリクス上で上記試薬を濃縮するため  
に、上記試薬の上記固体担体を自己凝集させることを目的として、多孔質媒体に水性液体を  
アプライして上記凝集剤を活性化させる工程；  
を含み、
  - f . 上記モノリシックな親水性マトリクスは、ポリマーと、ガラス纖維またはガラス微  
小纖維との混合物を含む、纖維の網織物を含み、
  - g . 上記試薬の固体担体は、ビーズを含み、
  - h . 上記凝集剤は、ポリエチレングリコール ( P E G ) を含む、方法。
- 30  
40

#### 【請求項 7 3】

モノリシックな親水性マトリクスを含む多孔質媒体中の試薬を濃縮する方法であって、

- a . モノリシックな親水性マトリクスを準備する工程；
  - b . 試薬を準備する工程であって、上記試薬は、
  - i . 負に帯電した固体担体
  - i i . 上記固体担体に付着された、正に帯電したリガンド  
を含む、工程；
  - c . 上記試薬を緩衝液中に懸濁して試薬懸濁液を得る工程；
  - d . 上記モノリシックな親水性マトリクスに、上記試薬懸濁液をアプライする工程；
  - e . 上記モノリシックな親水性マトリクス上で、上記試薬懸濁液を乾燥させる工程；
- 50

f . 上記リガンドと、当該リガンドの pH よりも低い pH あるとともに当該リガンドが結合する担体を含む水性液体とを接触させる工程；及び、

g . 上記多孔質媒体のモノリシックな親水性マトリクス中で上記試薬を濃縮するために、上記試薬を自己凝集させることを目的として、上記試薬の総電荷を変える工程；を含み、

h . 上記モノリシックな親水性マトリクスは、ポリマーと、ガラス纖維またはガラス微小纖維との混合物を含む、纖維の網織物を含み、

i . 上記試薬の上記負に帯電した固体担体は、ビーズを含み、

j . 上記正に帯電したリガンドは、タンパク質を含み、

k . 上記タンパク質は、抗体または抗原を含む、方法。 10

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【0001】

##### 〔関連出願の相互参照〕

本願は、2004年3月30日に出願された先の米国特許出願(60/557,851)の優先権を主張するものであり、上記米国特許出願の記載を引用するものである。

#### 【0002】

##### 〔発明の分野〕

本願発明は、様々な用途で用いる、側方流動方式、材料、及び方法を提供するものである。 20

#### 【0003】

##### 〔発明の背景〕

通常、側方流動試験(lateral flow test)は、所定の試験試料を輸送するために、側方液または懸濁流の概念を利用している。これらの形式の試験は、診断法(例えば妊娠及びその他の形式の医療試験)及び環境試験を含む、多種多様の用途に用いられている。

#### 【0004】

通常、側方流動試験は、試験を最適化するために、5つだけの別個の材料を必要とする。上記材料は、試験のために試料を輸送するウィック(wick)としての機能、不要な粒子を除去する濾過材料としての機能、検出試薬が乾燥時に固定される一方湿潤時に移動する放出パッド抱合体としての機能、捕捉試薬が固定された反応マトリクスとしての機能、及び試料が吸収され試験方式に沿って液体が流される吸収剤としての機能を果たす。 30

#### 【0005】

多様な利用に関わらず、側方流動試験は、しばしば流動の問題が生じ、製造が複雑になる。これらの試験は、複雑な複数パートのアッセイであり、このアッセイは、試験ストリップ上に並べられた、異なるタイプの材料からなる重複パッド列上で行われる。材料の不適合性、接触問題(contact issues)、及び不完全な材料特性から、問題が生じる。セグメント間の境界は、優先的に、流動特性に影響を与える。材料が異なれば、流動、運搬、速度が大きく異なり、材料を通過し流動する分子に対して異なる影響がある。

#### 【0006】

近年、各部品に必要な物理特性が大きく異なることにより、上記試験の各部分に、異なる材料が用いられている。例えば、試料ウィックは、速く運搬し、非常に隙間がある構造である必要がある。濾過材料は、不要な粒子を除去するために、孔のサイズが正確である必要がある。抱合放出体は、タンパク質に結合していない必要がある。反応マトリクスは、タンパク質に結合し動かないようになっている必要がある。上記の異なる特性が必要になることにより、試験は、通常、数個の異なる材料が重なり合ったパッドで構成される。一般的に、ニトロセルロース膜といった膜が反応マトリクスとして用いられる。ガラス纖維または人工纖維(例えばセルロース)が、試料アプライ/濾過層、及び放出層抱合体に用いられる。そして、セルロースまたはガラス纖維材料が吸収材に用いられる(What man plc)。 40

#### 【0007】

10

20

30

40

50

通常、試料は、試料アプライウィック（例えば、ガラス纖維、キャストセルロースアセテート、融解ポリエチレン（P E）、またはセルロース纖維）に配置される。ここで運搬工程が開始される。隨意的に、試料はウィックを通過し、濾過パッド（例えば、ガラス纖維、ガラス膜、セルロース纖維、キャストセルロースアセテート、融解ポリエチレン、人工纖維、及び、人工纖維とセルロース纖維との混合物）に入り通過する。この濾過パッドは、夾雜物を除去する、すなわち、例えば、試料中の赤血球を排除する、または赤血球の赤色が後続の変色指示薬に干渉するのを防止するために、血液試料中の赤血球を除去する。次に、試料は、抱合パッド（例えば、ガラス纖維、またはポリエステル）内に運ばれる。抱合パッドでは、抱合パッドでは、抱合試薬が放出されることにより、試料の液体または懸濁が、着色された抱合試薬（例えば抗体）と混合する。試料が陽性である場合、抱合体は分析物と結合する。結合及び非結合の抱合体は、抱合パッドを通って、捕捉領域パッド内に側方流動する。捕捉領域パッドは、通常、ニトロセルロースである。いくつかの例では、捕獲領域パッドは、ニトロセルロース膜上で垂直に縞状に配されたタンパク質の2ラインを備えている。一方のライン（試験）は、（存在している場合）分析物に結合し、他方のライン（対照）は、陽性または陰性の結果に関わらず試験自体が成功したことを示すためのものであり、抱合体に結合する。それゆえ、成功した陽性試験では、2ライン（試験及び対照）を示す一方、成功した陰性試験では、1ライン（対照のみ）を示す。吸収パッドは、通常セルロースまたはガラス纖維であり、上記細片を通して液体を吸込む吸収剤として機能する。パッドが重なった（各パッドは1つ以上の層を有している）集合体全体は、シート集合体に接触している。シート集合体は、様々な材料（例えばプラスチック）からなり、試験を相互作用していない。10

#### 【0008】

材料の不適合性、及び接觸問題に起因する流動の問題を低減し、開発時間を減少させ、側方流動試験結果の精度及び効率を向上させ、優れた性能を有し、かつ、その使用を容易にする単層側方流動方式を有することが望ましい。20

#### 【0009】

##### 〔発明の概要〕

1つの局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、上記単一の親水性マトリクスは、30

a . 繊維の網織物；及び

b . i . 試料アプライゾーン；

i i . 好ましくは標識化結合試薬を含む、抱合放出ゾーンであって

標識化結合試薬は、分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成し、

標識化結合試薬は、標識を含み、かつ、

標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接觸することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

i i i . 好ましくは捕捉試験試薬を含む、捕捉試験ゾーンであって、

捕捉試験試薬は、分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成し、かつ、40

捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、強く固定化されている、捕捉試験ゾーン；

i v . 好ましくは捕捉対照試薬を含む、捕捉対照ゾーンであって、

捕捉対照試薬は、標識化結合試薬と結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成し、かつ、

捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、強く固定化されている、捕捉対照ゾーン；及び

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン、を有する一連のゾーン、50

を備えた、試験ストリップを提供する。

【0010】

他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための器具であって、上記器具は、

- a . 上述の試験ストリップ；
- b . 上記試験ストリップを収容する筐体であって、該筐体が少なくとも1つの開口部を備え、試験ストリップ表面が、液体試料アプライのための上記アプライゾーンで露出している、筐体を備えた器具を提供する。

【0011】

他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、上記単一の親水性マトリクスは、

- a . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び

- b . i . 試料アプライゾーン；

i i . 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

標識化結合試薬は、

標識；

担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；

分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

- i i i . 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

捕捉試験試薬は、

捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉試験ゾーン；

- i v . 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

捕捉対照試薬は、

捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；及び

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン；を有する一連のゾーン、

を備えた、試験ストリップを提供する。

【0012】

他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップであって、モノリシックな親水性マトリクスを含む単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備えた試験ストリップの製造方法であって、上記方法は、

- a . モノリシックな親水性マトリクスを準備する工程であって、モノリシックな親水性マトリクスは、繊維の網織物を含む工程；

- b . i . 標識；

担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；

10

20

30

40

50

分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成する、リガンド；を含む標識化結合試薬を準備する工程；

i i . 標識化結合試薬を緩衝液に懸濁する工程；

i i i . 標識化結合試薬の懸濁液を、モノリシックな親水性マトリクスにおける第1のゾーンにアプライする工程；により、モノリシックな親水性マトリクスに抱合放出体ゾーンを形成する工程；

c . i . 捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成する、リガンド；を含む捕捉試験試薬を準備する工程；

10

i i . 捕捉試験試薬を緩衝液に懸濁する工程；

i i i . 捕捉試験試薬の懸濁液を、モノリシックな親水性マトリクスにおける、上記第1のゾーンの後段にある第2のゾーンにアプライする工程；により、モノリシックな親水性マトリクスに捕捉試験ゾーンを形成する工程；

d . i . 捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成する、リガンド；を含む捕捉対照試薬を準備する工程；

i i . 捕捉対照試薬を緩衝液に懸濁する工程；

i i i . 捕捉対照試薬の懸濁液を、モノリシックな親水性マトリクスにおける、上記第2のゾーンの後段にある第3のゾーンにアプライする工程；により、モノリシックな親水性マトリクスに捕捉対照ゾーンを形成する工程；及び

20

e . モノリシックな親水性マトリクスを乾燥し、乾燥多孔質媒体を產生する工程；を含む方法を提供する。

### 【0013】

さらに他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップの利用方法であって、

a . 単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備えた試験ストリップを準備する工程であって、上記単一の親水性マトリクスは、

i . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び

i i . ( a ) 試料アプライゾーン；

30

( b ) 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

( i ) 標識化結合試薬は、

標識；

担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿润時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；

分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

( c ) 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

40

( i ) 捕捉試験試薬は、

捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉試験ゾーン；

( d ) 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

( i ) 捕捉対照試薬は、

捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬

50

を含む第3の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；

( e ) 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸收ゾーンを有する、一連のゾーンを備えた、工程；

b . 液体試料を得る工程；

c . 液体試料を試験ストリップの試料アプライゾーンにアプライする工程；

d . 単一の親水性マトリクスを介して、液体試料を抱合放出ゾーンへ運搬する工程；

e . 液体試料に標識化結合試薬を接触させ、標識化結合試薬を流動可能にし、液体試料が分析物を含む場合に第1の複合体を形成させる工程；

f . 単一の親水性マトリクスを介して、液体試料及び標識化結合試薬を、単独であるか第1の複合体内にあるかに関わらず、捕捉試験ゾーンへ運搬する工程；

g . 単独であるか第1の複合体内にあるかに関わらず、液体試料及び標識化結合試薬に捕捉試験試薬を接触させ、第1の複合体が存在する場合に第2の複合体を形成させる工程；

h . 第2の複合体を、単一の親水性マトリクスの捕捉試験ゾーンにおける、繊維の網織物に濃縮する工程；

i . 捕捉試験ゾーンにて、第2の複合体の存在を検出する工程；

j . 単一の親水性マトリクスを介して、液体試料及び標識化結合試薬を捕捉対照ゾーンへ運搬する工程；

k . 液体試料及び標識化結合試薬に捕捉対照試薬を接触させ、第3の複合体を形成させる工程；

l . 第3の複合体を、単一の親水性マトリクスの捕捉対照ゾーンにおける、繊維の網織物に濃縮する工程；及び

m . 捕捉対照ゾーンにて、第3の複合体の存在を検出する工程；

を含む方法を提供する。

#### 【 0 0 1 4 】

さらに他の局面では、本発明は、疾患、表現型、遺伝子型、または生体の生理的状態に関わる分析物を検出することにより、疾患、表現型、遺伝子型、または生体の生理的状態を診断する方法であって、

a . 単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備えた試験ストリップを準備する工程であって、上記単一の親水性マトリクスは、

i . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び

i i . ( a ) 試料アプライゾーン；

( b ) 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

( i ) 標識化結合試薬は、

標識；

担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿润時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；

分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

( c ) 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

( i ) 捕捉試験試薬は、

捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉試験ゾーン；

( d ) 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

10

20

30

40

50

( i ) 捕捉対照試薬は、

捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( ii ) 捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；

( e ) 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーンを有する、一連のゾーンを備えた、工程；

b . 生体から液体生体試料を得る工程；

c . 液体生体試料を試験ストリップの試料アプライゾーンにアプライする工程； 10

d . 単一の親水性マトリクスを介して、液体生体試料を抱合放出ゾーンへ運搬する工程；

e . 液体生体試料に標識化結合試薬を接触させ、標識化結合試薬を流動可能にし、液体試料が分析物を含む場合に第1の複合体を形成させる工程；

f . 単一の親水性マトリクスを介して、液体生体試料、標識化結合試薬、及び第1の複合体を捕捉試験ゾーンへ運搬する工程；

g . 液体生体試料、標識化結合試薬、及び第1の複合体に捕捉試験試薬を接触させ、第2の複合体を形成させる工程；

h . 第2の複合体を、単一の親水性マトリクスの捕捉試験ゾーンにおける、繊維の網織物に濃縮する工程；

i . 捕捉試験ゾーンにて、第2の複合体の存在を検出する工程； 20

j . 単一の親水性マトリクスを介して、液体試料及び標識化結合試薬を捕捉対照ゾーンへ運搬する工程；

k . 液体試料及び標識化結合試薬に捕捉対照試薬を接触させ、第3の複合体を形成させる工程；

l . 第3の複合体を、単一の親水性マトリクスの捕捉対照ゾーンにおける、繊維の網織物に濃縮する工程；及び

m . 捕捉対照ゾーンにて、第3の複合体の存在を検出する工程；及び

n . 疾患、表現型、遺伝子型、または生体の生理的状態を診断する工程；  
を含む方法を提供する。

**【 0 0 1 5 】 30**

さらに他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中における複数の分析物のうち任意の1つの存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、上記単一の親水性マトリクスは、

a . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び

b . i . 試料アプライゾーン；

ii . 複数の標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

( a ) 各標識化結合試薬は、

( i ) 標識；

( ii ) 担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質； 40

( iii ) 分析物のうち1つと特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 各標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出され、

( c ) 各標識化結合試薬は、試験における複数の分析物の中で異なる分析物と特異的に結合している；抱合放出ゾーン；

ii . 複数の捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

( a ) 各捕捉試験試薬は、

( i ) 捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

50

( i i ) 分析物のうち 1 つ、または第 1 の複合体のうち 1 つと特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第 2 の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 各捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定され、

( c ) 各補足試験試薬は、試験における複数の分析物及び第 1 の複合体の中で異なる分析物及び第 1 の複合体と特異的に結合している、捕捉試験ゾーン；

i v . 少なくとも 1 つの捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

( a ) 捕捉対照試薬は、

( i ) 捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

( i i ) 標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第 3 の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；及び

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン；を有する一連のゾーン

を備えた、試験ストリップを提供する。

#### 【 0 0 1 6 】

他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出する競合アッセイのための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、上記単一の親水性マトリクスは、

a . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び

b . i . 試料アプライゾーン；

i i . 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

( a ) 標識化結合試薬は、

( i ) 標識；

( i i ) 担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；

( i i i ) 分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第 1 の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

i i i . 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

( a ) 捕捉試験試薬は、

( i ) 捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

( i i ) 分析物または分析物の類似体を含むリガンド；を含み、かつ、

( b ) 捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉試験ゾーン；

i v . 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

( a ) 捕捉対照試薬は、

( i ) 捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

( i i ) 標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第 3 の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；及び

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン；を有する一連のゾーン

を備えた、試験ストリップを提供する。

#### 【 0 0 1 7 】

10

20

30

40

50

さらに他の局面では、本発明は、モノリシックな親水性マトリクスを含む多孔質媒体内の試薬を濃縮する方法であって、

- a . モノリシックな親水性マトリクスを準備する工程；
  - b . i . 固体基質；及び
  - i i . 水系液体に接触することで活性化する凝集因子；を含む試薬を準備する工程；
  - c . 上記試薬を緩衝液に懸濁し、試薬懸濁液を產生する工程；
  - d . 試薬懸濁液をモノリシックな親水性マトリクスにアプライする工程；
  - e . モノリシックな親水性マトリクス上の試薬懸濁液を乾燥する工程；及び
  - f . 多孔質媒体のモノリシックな親水性マトリクス内の上記試薬を濃縮するために、水系液体を多孔質媒体にアプライし、自己凝集凝集因子を活性化し、試薬における固体基質を自己凝集する工程；
- 10  
を含む方法を提供する。

#### 【0018】

さらに他の局面では、本発明は、モノリシックな親水性マトリクスを含む多孔質媒体内の試薬を濃縮する方法であって、

- a . モノリシックな親水性マトリクスを準備する工程；
  - b . i . 負電荷の固体基質；及び
  - i i . 固体基質と接触する正電荷のリガンド；を含む試薬を準備する工程；
  - c . 上記試薬を緩衝液に懸濁し、試薬懸濁液を產生する工程；
  - d . 試薬懸濁液をモノリシックな親水性マトリクスにアプライする工程；
  - e . モノリシックな親水性マトリクス上の試薬懸濁液を乾燥する工程；及び
  - f . pHがpIよりも低く、リガンドが結合する物質を含む水系液体に、上記リガンドを接觸させる工程；
  - g . 多孔質媒体のモノリシックな親水性マトリクス内の上記試薬を濃縮するために、試薬の総電荷を変え、試薬を自己凝集する工程；
- 20  
を含む方法を提供する。

#### 【0019】

##### 〔図面の簡単な説明〕

図1Aは、筐体内の単層側方流動方式試験ストリップの一実施形態の分解図を示す。

#### 【0020】

図1Bは、支持ストリップ上の単層側方流動方式試験ストリップの一実施形態の分解図を示す。

#### 【0021】

図2A～2Dは、単層側方流動方式の好ましい形態の利用方法を示す。

#### 【0022】

図3は、他の材料と比較して、試験ストリップのモノリシックな親水性マトリクスの一実施形態の吸水度( $\text{mg} / \text{cm}^2$ )を測定した実験結果を示す棒グラフである。

#### 【0023】

図4は、3種のニトロセルロース膜と比較して、試験ストリップのモノリシックな親水性マトリクスの一実施形態の、4cmでの運搬速度(秒)を測定した実験結果を示す棒グラフである。

#### 【0024】

図5は、親水性マトリクスから標識化結合試薬の抱合放出(%)の比較を示す棒グラフである。ここで、標識化結合試薬は、金担体ビーズ(G)、またはラテックス担体ビーズ(L)を含む。

#### 【0025】

##### 〔発明の詳細な説明〕

本発明は、単層側方流動方式、及び材料、並びに様々な用途での方式の利用方法を提供する。1つの局面では、本発明における膜は、側方流動アッセイのための側方流動試験ストリップである。1つの実施形態では、試験及び対照ラインとしての抗体を縞状に配する

10

20

30

40

50

ための膜であり、試験及び対照ライン抗体の担体として機能する。1つの実施形態では、これらは、ラテックスに抱合されている。このラテックスにより、試験及び対照ライン抗体の膜への結合が可能になる。上記膜は、金抱合の安定性を維持し良好な抱合放出を可能にする、抱合放出パッドとしても機能する。最後に、上記膜は、試料パッドとして機能し、該試料パッドでは、膜は、試料／緩衝液を受け取り、試験ストリップの残余へ供給する。膜が分析物及び緩衝液を上記ストリップの残余へ通過させるときに、膜は単一濾過する。緩衝液及び分析物を、試料入口領域から、試験ストリップ上の抱合、試験及び対照ラインを通過して吸い込むのに、運搬材料が用いられていてもよい。

#### 【0026】

1つの局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、上記単一の親水性マトリクスは、

a. 繊維の網織物、

b. i. 試料アプライゾーン；

i i. 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって

標識化結合試薬は、分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成し、

標識化結合試薬は、標識を含み、かつ、

標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

i ii. 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

捕捉試験試薬は、分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成し、かつ、

捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、強く固定化されている、捕捉試験ゾーン；

i iii. 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

捕捉対照試薬は、標識化結合試薬と結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成し、かつ、

捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、強く固定化されている、捕捉対照ゾーン；及び

v. 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン、を有する一連のゾーン

を備えた、試験ストリップを提供する。

#### 【0027】

好ましい実施形態では、上記単一の親水性マトリクスは、ガラス、ポリマー、セルロースアセテート、またはそれらの組み合わせを含む。

#### 【0028】

好ましくは、上記ガラスは、ガラス纖維またはガラス微小纖維を含む。

#### 【0029】

好ましくは、上記ポリマーは、ポリエステル、ポリエチレン、ポリプロピレン、ラテックス、ポリエーテルスルホン、フッ化ビニリデン樹脂、ポリエチレン、ナイロン、ポリテトラフルオロエチレン、または、セルロースアセテートを含む。より好ましくは、上記単一の親水性マトリクスは、ガラス纖維及びポリマーの混合物を含む。なお好ましくは、不織布のプラスチックは、ラテックスを含む。

#### 【0030】

好ましい実施形態では、単一の親水性マトリクスは、さらに結合剤を含む。好ましくは、上記結合剤は、ポリビニルアクリルアミド、ポリビニルアクリル酸塩、ポリビニルアルコール、ポリスチレン、及びポリメチルメタアクリル酸塩、並びにゼラチンからなる集団から選択される。

#### 【0031】

10

20

30

40

50

好ましい実施形態では、単一の親水性マトリクスは、運搬速度が、水に関し、240秒で少なくとも4cmある。より好ましくは、単一の親水性マトリクスは、運搬速度が、水に関し、100秒で少なくとも4cmある。さらに好ましくは、運搬速度が、水に関し、60秒で少なくとも4cmの範囲内である。さらに好ましくは、運搬速度が、水に関し、50秒で少なくとも4cmの範囲内である。

#### 【0032】

他の好ましい実施形態では、単一の親水性マトリクスは、平均孔径が1.5ミクロン～25.0ミクロンの範囲内である。より好ましくは、平均孔径が2.0ミクロン～7.0ミクロンの範囲内である。さらに好ましくは、平均孔径が3.0ミクロン～6.0ミクロンの範囲内である。

10

#### 【0033】

他の好ましい実施形態では、単一の親水性マトリクスは、50ミクロンと1000ミクロンとの間の厚さである。より好ましくは、150ミクロンと500ミクロンとの間の厚さである。

#### 【0034】

他の好ましい実施形態では、標識化結合試薬は、さらに、分析物と特異的に結合するリガンドを含む。より好ましくは、標識化結合試薬は、さらに、リガンドが接触する固体支持材を含み、固体支持材が、金、ラテックス、セレン、白金、銅、または鉄を含む。さらに好ましくは、固体支持材は、担体ビーズを含む。特に好ましい実施形態では、担体ビーズは、該担体ビーズが上記マトリクスを通って移動可能なサイズであり、上記ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、上記ビーズがマトリクス内を流動可能になる。より好ましくは、担体ビーズの直径が、上記マトリクスの平均孔径の10%以下である。

20

#### 【0035】

好ましい実施形態では、  
a. 上記マトリクスの平均孔径が4.0～6.0マイクロメートルの範囲内であり、かつ  
、  
b. 上記担体ビーズは、直径が20～80ナノメートルの範囲内である金ビーズを含む。

#### 【0036】

好ましい実施形態では、  
a. 上記マトリクスの平均孔径が4.0～6.0マイクロメートルの範囲内であり、かつ  
、  
b. 上記担体ビーズは、直径が100～800ナノメートルの範囲内であるラテックスビーズを含む。

30

#### 【0037】

好ましい実施形態では、担体ビーズは、比色色素または蛍光色素を有するラテックスビーズを含む。他の好ましい形態では、担体ビーズは、常磁性のコア、プラズモン共鳴粒子、量子ドットを有するラテックスビーズを含む。

#### 【0038】

好ましい実施形態では、標識化結合試薬における標識は、比色指示薬、蛍光指示薬、測光的な指示薬、放射性指示薬、または免疫指示薬を含む。より好ましくは、上記標識は、色素を含む。

40

#### 【0039】

好ましい実施形態では、上記リガンドは、  
a. ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、抗体、またはプリオン；  
b. 核酸、またはペプチド核酸；  
c. 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；または  
d. インプリントされたポリマー  
を含む。

#### 【0040】

好ましくは、上記核酸は、DNA、PNA、またはRNAを含む。好ましくは、上記D

50

N Aは、ゲノムDNA、cDNA、プロモーター部分を含むタンパク質結合部位、または転写活性ドメインを含む。好ましくは、上記DNAは、1本鎖DNAを含む。好ましくは、上記RNAは、メッセンジャーRNA(mRNA)、または小さな干渉RNA(siRNA)を含む。

**【0041】**

好ましい実施形態では、

- a . 分析物は、所望の標的配列を有する核酸を含み、かつ
- b . リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも65%の配列と相補する核酸を含む。

**【0042】**

10

好ましくは、リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも75%の配列、より好ましくは少なくとも85%の配列、さらに好ましくは少なくとも95%の配列、なお好ましくは少なくとも97%の配列と相補する核酸を含む。

**【0043】**

他の好ましい実施形態では、

- a . 分析物は抗原を含み、かつ、
- b . リガンドは、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む。

**【0044】**

あるいは、

- a . リガンドは、抗原を含み、かつ、
- b . 分析物は、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む。

20

**【0045】**

他の好ましい実施形態では、

- a . リガンドは、オリゴペプチドを含み、かつ
- b . 分析物は、上記オリゴペプチドと結合するタンパク質を含む。

**【0046】**

さらに他の好ましい形態では、

- a . 分析物は、薬物、または薬物の類似体を含み、かつ
- b . リガンドは、上記薬物と結合するタンパク質を含む。

30

**【0047】**

あるいは、

- a . リガンドは、薬物、または薬物の類似体を含み、かつ
- b . 分析物は、上記薬物と結合するタンパク質を含む。

**【0048】**

さらに他の好ましい実施形態では、

- a . リガンドは、インプリントされたポリマーを含み、かつ
- b . 分析物は、
  - i . ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、抗体、またはプリオン；
  - ii . 核酸、またはペプチド核酸；または
  - iii . 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；を含む。

40

**【0049】**

他の好ましい実施形態では、捕捉試験試薬は、さらに、分析物または第1の複合体と特異的に結合するリガンドを含む。

**【0050】**

他の好ましい実施形態では、捕捉試験試薬は、さらに、リガンドが接触する固体支持材を含む。好ましくは、固体支持材が、ラテックス、シリカ、ガラス、アルミナ、セルロース、または糖を含む。

**【0051】**

特に好ましい実施形態では、固体支持材は、捕捉試験ビーズを含む。好ましくは、捕捉試験ビーズは、スルフェート末端化されたラテックスビーズを含む。

50

**【0052】**

好ましい実施形態では、スルフェート末端化されたラテックスビーズは、物理的に、タンパク質と結合する。

**【0053】**

他の好ましい実施形態では、捕捉試験ビーズは、共有結合ラテックスビーズを含む。

**【0054】**

さらに他の好ましい実施形態では、捕捉試験ビーズのサイズは、マトリクスを介したその移動をほとんど阻害する。好ましくは、捕捉試験ビーズのサイズは、マトリクスの平均孔径の20%～70%の範囲内である。より好ましくは、捕捉試験ビーズのサイズは、マトリクスの平均孔径の30%～60%の範囲内である。

10

**【0055】**

より好ましくは、

- a . マトリクスの平均孔径が、4.0～6.0マイクロメートルの範囲内であり、かつ、
- b . 上記捕捉試験ビーズは、直径が1.5～2.5ナノメートルの範囲内であるラテックスビーズを含む。

**【0056】**

好ましい実施形態では、リガンドの、分析物または第1の複合体との結合は、標識化結合試薬を濃縮し、第2の複合体の存在を示す標識の検出を可能にする。好ましくは、捕捉試験ビーズは、凝集因子を有するラテックス捕捉ビーズを含む。より好ましくは、凝集因子は、ポリエチレンギリコール(PEG)を含む。

20

**【0057】**

好ましい実施形態では、リガンドは、

- a . ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、または抗体；
  - b . 核酸、またはペプチド核酸；
  - c . 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；または
  - d . インプリントされたポリマー
- を含む。

**【0058】**

好ましくは、上記核酸は、DNA、RNA、またはRNAを含む。好ましくは、上記DNAは、ゲノムDNA、cDNA、タンパク質結合部位、オリゴヌクレオチド、プライマー、または、プロモーター部分もしくは転写活性化ドメインを有するタンパク質結合部位を含むDNAを含む。好ましくは、上記DNAは、1本鎖DNAを含む。好ましくは、上記RNAは、メッセンジャーRNA(mRNA)を含む。

30

**【0059】**

好ましい実施形態では、

- a . 分析物は、露出した所望の標的配列を有する核酸を含み、かつ
- b . リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも65%の配列と相補する核酸を含む。

**【0060】**

好ましくは、リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも75%の配列、より好ましくは少なくとも85%の配列、さらに好ましくは少なくとも95%の配列、なお好ましくは少なくとも97%の配列、さらになお好ましくは少なくとも99%の配列と相補する核酸を含む。

40

**【0061】**

好ましい実施形態では、

- a . 分析物または第1の複合体は抗原を含み、かつ、
- b . リガンドは、上記抗原と特異的に結合する抗体を含み、該抗体は、分析物非存在下で、標識化結合試薬と有意に結合しない。

**【0062】**

あるいは、

50

- a . リガンドは、抗原を含み、かつ、
- b . 分析物または第1の複合体は、上記抗原と特異的に結合する抗体を含み、標識化結合試薬は、分析物非存在下で、抗原と有意に結合しない。

**【 0 0 6 3 】**

好ましい実施形態では、

- a . リガンドは、オリゴペプチドを含み、かつ
- b . 分析物または第1の複合体は、上記オリゴペプチドと結合するタンパク質を含み、標識化結合試薬は、分析物非存在下で、オリゴペプチドと有意に結合しない。

**【 0 0 6 4 】**

他の好ましい実施形態では、

- a . リガンドは、インプリントされたポリマーを含み、かつ
- b . 分析物または第1の複合体は、上記インプリントされたポリマーと結合する物質を含み、標識化結合試薬は、分析物非存在下で、インプリントされたポリマーと有意に結合しない。

**【 0 0 6 5 】**

より好ましくは、インプリントされたポリマーと結合する物質は、タンパク質を含む。

**【 0 0 6 6 】**

他の実施形態では、捕捉対照試薬は、さらに、標識化結合試薬と特異的に結合するリガンドを含む。好ましくは、捕捉対照試薬は、さらに、リガンドが接触する固体支持材を含む。より好ましくは、固体支持材が、ラテックス、シリカ、ガラス、アルミナ、セルロース、または糖を含む。

**【 0 0 6 7 】**

特に好ましい実施形態では、固体支持材は、捕捉対照ビーズを含む。好ましくは、捕捉対照ビーズは、スルフェート末端化されたラテックスビーズを含む。より好ましくは、スルフェート末端化されたラテックスビーズは、物理的に、タンパク質と結合する。好ましくは、捕捉対照ビーズは、共有結合ラテックスビーズを含む。

**【 0 0 6 8 】**

好ましい実施形態では、捕捉対照ビーズのサイズは、マトリクスを介したその移動をほとんど阻害する。好ましくは、捕捉対照ビーズのサイズは、マトリクスの平均孔径の 20 % ~ 70 % の範囲である。より好ましくは、捕捉試験ビーズのサイズは、マトリクスの平均孔径の 30 % ~ 60 % の範囲である。

**【 0 0 6 9 】**

特に好ましい実施形態では、

- a . マトリクスの平均孔径が、4 . 0 ~ 6 . 0 マイクロメートルの範囲内であり、かつ、
- b . 上記捕捉試験ビーズは、直径が 1 . 5 ~ 2 . 5 ナノメートルの範囲内であるラテックスビーズを含む。

**【 0 0 7 0 】**

他の好ましい実施形態では、リガンドの標識化結合試薬との結合は、標識化結合試薬を濃縮し、第3の複合体の存在を示す標識の検出を可能にする。好ましくは、捕捉対照ビーズは、凝集因子を有するラテックス捕捉ビーズを含む。より好ましくは、凝集因子は、ボリエチレングリコール ( P E G ) を含む。

**【 0 0 7 1 】**

他の好ましい実施形態では、

- a . 標識化結合試薬は、負の総電荷になっており、かつ
- b . 捕捉対照試薬は、正の総電荷になっている。

**【 0 0 7 2 】**

より好ましくは、

- a . 標識化結合試薬は、負電荷の金担体ビーズを含み、かつ
- b . 捕捉対照試薬は、

i . 正電荷のポリマー；または

10

20

30

40

50

i i . 正電荷のリガンドを含む。

**【0073】**

他の好ましい実施形態では、

- a . 標識化結合試薬は、正の総電荷になっており、かつ
- b . 捕捉対照試薬は、負の総電荷になっている。

**【0074】**

他の好ましい実施形態では、リガンドは、

- a . ポリペプチド、オリゴペプチド、抗原、または抗体；
- b . 核酸、またはペプチド核酸；
- c . 薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物；または
- d . インプリントされたポリマー

を含む。

**【0075】**

好ましくは、上記核酸は、DNA、PNA、またはRNAを含む。好ましくは、上記DNAは、ゲノムDNA、cDNA、タンパク質結合部位、オリゴヌクレオチド、プライマー、または、プロモーター部分もしくは転写活性化ドメインを有するタンパク質結合部位を含むDNAを含む。好ましくは、上記DNAは、1本鎖DNAを含む。好ましくは、上記RNAは、メッセンジャーRNA(mRNA)を含む。

**【0076】**

好ましい実施形態では、

- a . 標識化結合試薬は、露出した所望の標的配列を有する核酸を含み、かつ
- b . リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも65%の配列と相補する核酸を含む。

**【0077】**

好ましくは、リガンドは、上記所望の標的配列における少なくとも75%の配列、より好ましくは少なくとも85%の配列、さらに好ましくは少なくとも95%の配列と相補する核酸を含む。

**【0078】**

好ましい実施形態では、

- a . 標識化結合試薬は抗原を含み、かつ、
- b . リガンドは、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む。

**【0079】**

あるいは、

- a . リガンドは、抗原を含み、かつ、
- b . 標識化結合試薬は、上記抗原と特異的に結合する抗体を含む。

**【0080】**

好ましい実施形態では、

- a . リガンドは、オリゴペプチドを含み、かつ
- b . 標識化結合試薬は、上記オリゴペプチドと結合するタンパク質を含む。

**【0081】**

他の好ましい実施形態では、

- a . リガンドは、インプリントされたポリマーを含み、かつ
- b . 標識化結合試薬は、上記インプリントされたポリマーと結合する物質を含む。

**【0082】**

より好ましくは、インプリントされたポリマーと結合する物質は、タンパク質を含む。

**【0083】**

他の実施形態では、液体試料は、血液、血漿、血清、粘液、尿、唾液、精液、臍帯下、汗、涙、リンパ液、胃腸液、懸濁またはコロイド混合物、脳脊髄液、細菌培養液、組織培養液、ファージ溶解物、水、飲料、有機溶媒、水溶性または有機性の溶液、細胞、ウィルス、またはその他の複製物の懸濁液、またはコロイド混合物を含む。

10

20

30

40

50

## 【0084】

さらに他の実施形態では、分析物は、ポリペプチド、オリゴヌクレオチド、抗体、抗原、プリオン、核酸、ペプチド核酸、薬物、薬物の類似体、または薬物代謝産物を含む。好ましくは、分析物の存在または非存在は、生理的状態のマーカーを含む。より好ましくは、上記生理的状態は、妊娠、授乳、疾患、表現型、遺伝子型、または、正常もしくは異常な生理的状態を含む。

## 【0085】

他の好ましい実施形態では、分析物は、核酸、及び遺伝子型を有する生理的状態を含む。より好ましくは、上記核酸は、遺伝子変異、または多形性を含む。

## 【0086】

10

他の好ましい実施形態では、分析物は、薬物、または薬物の類似体を含む。

## 【0087】

好ましい実施形態では、

- a . 分析物は、第1の哺乳類からの抗原を含み、かつ
- b . 標識化結合試薬は、上記抗原と特異的に結合する抗体を含み、該抗体は、第2の哺乳類からのものである。

## 【0088】

より好ましくは、

- c . 捕捉対照試薬は、第3の哺乳類からの抗体を有するリガンドを含む。

## 【0089】

20

特に好ましい一実施形態では、

- a . 分析物は、ヒト総毛性ゴナドトロピン（hCG）を含み、
- b . 標識化結合試薬は、抗ヒト総毛性ゴナドトロピンマウスモノクローナル抗体を含み、
- c . 捕捉対照試薬は、非ヒト、非ネズミ科の抗マウス抗体を含み、かつ
- d . 液体試料中のヒト総毛性ゴナドトロピンの存在が、妊娠の生理的状態のマーカーである。

## 【0090】

他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための器具であって、上記器具は、

- a . 上述の試験ストリップ；
- b . 上記試験ストリップを収容する筐体であって、該筐体が少なくとも1つの開口部を備え、試験ストリップ表面が、液体試料アプライのための上記アプライゾーンで露出している、筐体を備えた器具を提供する。

30

## 【0091】

好ましくは、上記筐体は、開口部を備え、試験ストリップ表面が、試験結果を検出するための、捕捉試験ゾーン及び捕捉対照ゾーンで露出している。より好ましくは、上記筐体は、試料アプライゾーン、捕捉試験ゾーン、及び捕捉対照ゾーンを確認する印(indicia)を含む。

## 【0092】

40

他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、上記単一の親水性マトリクスは、

- a . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び
- b . i . 試料アプライゾーン；  
  - i i . 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、  
    - (a) 標識化結合試薬は、  
      - (i) 標識；  
        - (ii) 担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；  
          - (iii) 分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合

50

体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

i i i . 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

( a ) 捕捉試験試薬は、

( i ) 捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

( i i ) 分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉試験ゾーン；

i v . 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

( a ) 捕捉対照試薬は、

( i ) 捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

( i i ) 標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( b ) 捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；及び

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン；を有する一連のゾーン  
を備えた、試験ストリップを提供する。

### 【 0 0 9 3 】

さらに他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップの製造方法であって、上記試験ストリップは、モノリシックな親水性マトリクスを含む単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備え、

上記方法は、

a . 繊維の網織物を含むモノリシックな親水性マトリクスを準備する工程；

b . 上記モノリシックな親水性マトリクス上に抱合放出ゾーンを形成する工程であって、当該工程は、

i . 標識化結合試薬を準備する工程であって、上記標識化結合試薬は、

標識；

担体ビーズを含む固体担体であって、該担体ビーズおよび上記マトリクスが湿っている場合には、上記担体ビーズが上記マトリクスの中を流動可能である固体担体；および

上記分析物に特異的に結合して、上記標識化結合試薬および分析物を含む第1の複合体を形成するリガンド、を含む工程；

i i . 上記標識化結合試薬を緩衝液中に懸濁する工程；

i i i . 上記標識化結合試薬の懸濁液を、上記モノリシックな親水性マトリクスの第1のゾーンにアプライする工程、によって形成される工程；

c . 上記モノリシックな親水性マトリクス上に捕捉試験ゾーンを形成する工程であって、当該工程は、

i . 捕捉試験試薬を準備する工程であって、上記捕捉試験試薬は、

捕捉試験ビーズを含む固体担体；

上記分析物または第1の複合体に特異的に結合して、標識化結合試薬、分析物および捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成するリガンド、を含む、工程；

i i . 上記捕捉試験試薬を緩衝液中に懸濁する工程；

i i i . 上記捕捉試験試薬の懸濁液を、上記モノリシックな親水性マトリクスの第2のゾーンにアプライする工程であって、上記第2のゾーンは上記第1のゾーンの下流にある工程、によって形成される工程；

d . 上記モノリシックな親水性マトリクス上に捕捉対照ゾーンを形成する工程であって、

10

20

30

40

50

当該工程は、

- i . 捕捉対照試薬を準備する工程であって、上記捕捉対照試薬は、  
捕捉対照ビーズを含む固体担体；および  
上記標識化結合試薬に結合して、上記標識化結合試薬および捕捉対照試薬を含む  
第3の複合体を形成するリガンド；を含む工程；  
i i . 上記捕捉対照試薬を緩衝液中に懸濁する工程；  
i i i . 上記捕捉対照試薬の懸濁液を、上記モノリシックな親水性マトリクスの第3  
のゾーンにアプライする工程であって、上記第3のゾーンは上記第2のゾーンの下流にあ  
る工程、によって形成される工程；  
e . 上記モノリシックな親水性マトリクスを乾燥させて乾燥多孔質媒体を形成する工程、  
を含む。

**【0094】**

さらに他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための試験ストリップの使用方法であって、以下のa～mの工程を含む方法である。

- a . 単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備えた試験ストリップを準備する  
工程であって、上記単一の親水性マトリクスは、

i . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び

i i . (a) 試料アプライゾーン；

(b) 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

(i) 標識化結合試薬は、

標識；

担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿潤時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；

分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

(i i ) 標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥され  
てあり、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

(c) 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

(i) 捕捉試験試薬は、

捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析  
物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

(i i ) 捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥され  
ており、実質的に固定されている、捕捉試験ゾーン；

(d) 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

(i) 捕捉対照試薬は、

捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬  
を含む第3の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

(i i ) 捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥され  
ており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；

(e) 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い  
込む吸収ゾーンを有する、一連のゾーンを備えた、工程

b . 液体試料を取得する工程

c . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記液体試料をアプライする工程

d . 上記単一の親水性マトリクスを介して、上記液体試料を上記抱合放出ゾーンへと運  
ぶ工程

e . 上記標識化結合試薬と上記液体試料とを接触させて、上記液体試料が分析物を含ん  
でいる場合には、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに上記第1の複合体の形成

10

20

30

40

50

を可能にする工程

f . 上記液体試料および標識化結合試薬を、単体の状態であろうが第1の複合体を形成していようが、上記单一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運ぶ工程

g . 上記捕捉試験試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、単体の状態であろうが第1の複合体を形成していようが、上記第1の複合体が存在する場合には上記第2の複合体の形成を可能にする工程

h . 上記单一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第2の複合体を濃縮する工程

i . 上記捕捉試験ゾーン中の第2の複合体の存在を検出する工程

j . 上記液体試料および標識化結合試薬を、上記单一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運ぶ工程

k . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、第3の複合体の形成を可能にする工程

l . 上記单一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第3の複合体を濃縮する工程

m . 上記捕捉対照ゾーン中の第3の複合体の存在を検出する工程。

#### 【 0 0 9 5 】

さらに他の曲面では、本発明は、液体生体試料中の疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態に関連した分析物の存在を検出することによって、生体中の疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態を診断する方法であって、以下のa ~ nの工程を含む方法である。

a . 単一の親水性マトリクスを有する乾燥多孔質媒体を備えた試験ストリップを準備する工程であって、上記单一の親水性マトリクスは、

i . 繊維の網織物を含む、モノリシックな親水性マトリクス；及び

i i . ( a ) 試料アプライゾーン；

( b ) 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

( i ) 標識化結合試薬は、

標識；

担体ビーズを含む固体基質であって、担体ビーズ及びマトリクスが湿润時に、担体ビーズがマトリクス内を流動可能になる、固体基質；

分析物と特異的に結合し、標識化結合試薬及び分析物を含む第1の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 標識化結合試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

( c ) 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

( i ) 捕捉試験試薬は、

捕捉試験ビーズを含む固体基質；及び、

分析物または第1の複合体と特異的に結合し、標識化結合試薬、分析物、及び捕捉試験試薬を含む第2の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 捕捉試験試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉試験ゾーン；

( d ) 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

( i ) 捕捉対照試薬は、

捕捉対照ビーズを含む固体基質；及び、

標識化結合試薬と特異的に結合し、標識化結合試薬及び捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成する、リガンド；を含み、かつ、

( i i ) 捕捉対照試薬は、液体試料アプライ前に試験ストリップ上で乾燥されており、実質的に固定されている、捕捉対照ゾーン；

( e ) 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーンを有する、一連のゾーンを備えた、工程

10

20

30

40

50

- b . 生体から液体生体試料を取得する工程
  - c . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記液体生体試料をアプライする工程
  - d . 上記単一の親水性マトリクスを介して、上記液体生体試料を上記抱合放出ゾーンへと運ぶ工程
  - e . 上記標識化結合試薬と上記液体生体試料とを接触させて、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに上記第1の複合体の形成を可能にする工程
  - f . 上記液体生体試料、標識化結合試薬および第1の複合体を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運ぶ工程
  - g . 上記捕捉試験試薬と、上記液体生体試料、標識化結合試薬および第1の複合体とを接觸させて、第2の複合体の形成を可能にする工程 10
  - h . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第2の複合体を濃縮する工程
  - i . 上記捕捉試験ゾーン中の第2の複合体の存在を検出する工程
  - j . 上記液体試料および標識化結合試薬を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運ぶ工程
  - k . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接觸させて、第3の複合体の形成を可能にする工程
  - l . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第3の複合体を濃縮する工程 20
  - m . 上記捕捉対照ゾーン中の第3の複合体の存在を検出する工程
  - n . 上記生体の疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態を診断する工程。
- 【0096】**
- さらに他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の複数の分析物のうちの何れかの存在を検出するための試験ストリップであって、上記試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを含む乾燥多孔質媒体を備え、
- 上記単一の親水性マトリクスは、
- a . 繊維の網織物を含むモノリシックな親水性マトリクス；
  - b . 一連のゾーンであって、当該一連のゾーンは、
    - i . 試料アプライゾーン； 30
    - i i . 複数の標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、
      - (a) 上記標識化結合試薬の各々は、
        - (i) 標識；
        - (ii) 担体ビーズを含む固体担体であって、該担体ビーズおよび上記マトリクスが湿っている場合には、上記担体ビーズが上記マトリクスの中を流動可能である固体担体；および
        - (iii) 上記分析物の1つに特異的に結合して、上記標識化結合試薬および分析物を含む第1の複合体を形成するリガンド、を含み、
      - (b) 上記標識化結合試薬の各々は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、液体試料と接觸することで移動形態に放出され、
      - (c) 上記標識化結合試薬の各々は、試験の複数の分析物間で異なる分析物に特異的に結合する、抱合放出ゾーン；
    - i ii . 複数の捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、
      - (a) 上記捕捉試験試薬の各々は、
        - (i) 捕捉試験ビーズを含む固体担体；および
        - (ii) 上記分析物の1つ、または上記第1の複合体の1つに特異的に結合して、上記標識化結合試薬、分析物および捕捉試薬を含む第2の複合体を形成するリガンド、を含み、
      - (b) 上記捕捉試験試薬の各々は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能であり、

(c) 上記捕捉試験試薬の各々は、上記複数の分析物および試験の複数の第1の複合体間で異なる分析物または第1の複合体に特異的に結合する、捕捉試験ゾーン；

i v . 少なくとも1つの捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

(a) 上記捕捉対照試薬は、

(i) 捕捉対照ビーズを含む固体担体；および

(ii) 上記標識化結合試薬に特異的に結合して、上記標識化結合試薬および捕捉対照試薬を含む第3の複合体を形成するリガンド、を含み、

(b) 上記捕捉対照試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能である、捕捉対照ゾーン；

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン、を含む一連のゾーン、

を備えた試験ストリップである。

#### 【0097】

さらに他の局面では、本発明は、液体生体試料中の疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態に関連した少なくとも1つの分析物の存在を検出することによって、生体中の疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態を診断する方法であって、以下のa～nの工程を含む方法である。

#### 【0098】

a . 複数の分析物の何れかの存在を検出することができる上記試験ストリップを準備する工程

b . 生体から液体生体試料を取得する工程

c . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記液体生体試料をアプライする工程

d . 上記単一の親水性マトリクスを介して、上記液体生体試料を上記抱合放出ゾーンへと運ぶ工程

e . 上記標識化結合試薬と上記液体生体試料とを接触させて、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに、少なくとも1つの第1の複合体の形成を可能にする工程

f . 上記液体生体試料、標識化結合試薬、および1つ以上の第1の複合体を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運ぶ工程

g . 上記捕捉試験試薬と、上記液体生体試料、標識化結合試薬および1つ以上の第1の複合体とを接触させて、少なくとも1つの第2の複合体の形成を可能にする工程

h . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、1つ以上の第2の複合体を濃縮する工程

i . 上記捕捉試験ゾーン中の第2の複合体の存在を検出する工程

j . 上記液体試料および標識化結合試薬を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運ぶ工程

k . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、少なくとも1つの第3の複合体の形成を可能にする工程

l . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第3の複合体を濃縮する工程

m . 上記捕捉対照ゾーン中の第3の複合体の存在を検出する工程

n . 上記生体の疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態を診断する工程。

#### 【0099】

一実施形態では、1つよりも多い疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態が同時に診断され、当該実施形態では、各分析物は、異なる疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態の診断に用いられることが好ましい。上記疾患、表現型、遺伝子型、または生理的状態としては限定されないが、妊娠、癌、心臓病、高血圧症、コレステロール値の上昇、高血糖症、低血糖症、糖尿病、マラリア、結核、後天性免疫不全症候群（AIDS）、性感染症（例えば、梅毒、淋病、疱疹）、デング熱、エボラ、ラッサ熱、肝炎、肺炎（例えば、細菌性、ウイルス性）および遺伝病からなる群から選択されることが好ましい。

10

20

30

40

50

## 【0100】

- 一実施形態では、上記方法は、
  - a . ヒト免疫不全ウイルス
  - b . 結核
  - c . マラリア

の各病原体の存在を試験する方法である。

## 【0101】

さらに他の局面では、本発明は、血液試料中の構成を分離する方法であって、以下の a ~ n の工程を含む方法である。

## 【0102】

a . 複数の分析物の何れかの存在を検出することができる上記試験ストリップを準備する工程であって、当該試験ストリップは、

- i . タンパク質
  - i i . 免疫グロブリン ( Ig G )
  - i i i . コレステロール

のうち、少なくとも 1 つを検出する工程

- b . 血液試料を取得する工程
- c . 上記試験ストリップの試料アプライゾーンに、上記血液試料をアプライする工程
- d . 上記単一の親水性マトリクスを介して、上記血液試料を上記抱合放出ゾーンへと運ぶ工程

e . 上記標識化結合試薬と上記血液試料とを接触させて、上記標識化結合試薬を流動可能にするとともに、少なくとも 1 つの第 1 の複合体の形成を可能にする工程

f . 上記血液試料、標識化結合試薬、および 1 つ以上の第 1 の複合体を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉試験ゾーンへ運ぶ工程

g . 上記捕捉試験試薬と、上記血液試料、標識化結合試薬および 1 つ以上の第 1 の複合体とを接触させて、少なくとも 1 つの第 2 の複合体の形成を可能にする工程

h . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉試験ゾーンにある上記纖維の網織物中の、1 つ以上の第 2 の複合体を濃縮する工程

i . 上記捕捉試験ゾーン中の第 2 の複合体の存在を検出する工程

j . 上記血液試料および標識化結合試薬を、上記単一の親水性マトリクスを介して上記捕捉対照ゾーンへ運ぶ工程

k . 上記捕捉対照試薬と、上記液体試料および標識化結合試薬とを接触させて、少なくとも 1 つの第 3 の複合体の形成を可能にする工程

l . 上記単一の親水性マトリクスの上記捕捉対照ゾーンにある上記纖維の網織物中の、第 3 の複合体を濃縮する工程

m . 上記捕捉対照ゾーン中の第 3 の複合体の存在を検出する工程

n . 上記試験ストリップから血漿を除去する工程。

## 【0103】

さらに他の局面では、本発明は、試験ストリップにアプライされた液体試料中の見込まれる分析物の存在を検出するための競合アッセイに用いられる試験ストリップであって、当該試験ストリップは、単一の親水性マトリクスを含む乾燥多孔質媒体を備える試験ストリップであり、

上記単一の親水性マトリクスは、

- a . 繊維の網織物を含むモノリシックな親水性マトリクス；
- b . i . 試料アプライゾーン；

i i . 標識化結合試薬を含む抱合放出ゾーンであって、

( a ) 上記標識化結合試薬は、

( i ) 標識；

( i i ) 担体ビーズを含む固体担体であって、該担体ビーズおよび上記マトリクスが湿っている場合には、上記担体ビーズが上記マトリクスの中を流動可能である固体支

10

20

30

40

50

持材；および

( i i i ) 上記分析物に特異的に結合して、標識化結合試薬および分析物を含む第1の複合体を形成するリガンド、を含み、

( b ) 上記標識化結合試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、液体試料と接触することで移動形態に放出される、抱合放出ゾーン；

i i i . 捕捉試験試薬を含む捕捉試験ゾーンであって、

( a ) 上記捕捉試験試薬は、

( i ) 捕捉試験ビーズを含む固体担体；および

( i i ) 上記分析物または上記分析物の類似体を含むリガンド、を含み、

( b ) 上記捕捉試験試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能である、捕捉試験ゾーン；

i v . 捕捉対照試薬を含む捕捉対照ゾーンであって、

( a ) 上記捕捉対照試薬は、

( i ) 捕捉対照ビーズを含む固体担体；および

( i i ) 上記標識化結合試薬に特異的に結合して、上記標識化結合試薬および捕捉対照試薬を含む第2の複合体を形成するリガンド、を含み、

( b ) 上記捕捉対照試薬は、液体試料をアプライする前に試験ストリップ上にて乾燥されるとともに、実質的に流動可能である、捕捉対照ゾーン；

v . 試験ストリップの乾燥多孔質媒体を介して毛管作用により液体試料を吸い込む吸収ゾーン、を有する一連のゾーン、

を備えた、試験ストリップである。

#### 【 0 1 0 4 】

本発明はまた、標識を濃縮する方法を提供する。

#### 【 0 1 0 5 】

他の局面では、本発明は、モノリシックな親水性マトリクスを含む多孔質媒体中の試薬を濃縮する方法であって、以下の a ~ e の工程を含む方法である。

#### 【 0 1 0 6 】

a . モノリシックな親水性マトリクスを準備するとともに試薬を準備する工程であって、上記試薬は、

i . 固体担体；および

i i . 水性液体と接触することで活性化される凝集剤、  
を含む、工程

b . 上記試薬を緩衝液中に懸濁して試薬懸濁液を得る工程

c . 上記モノリシックな親水性マトリクスに上記試薬懸濁液をアプライする工程

d . 上記モノリシックな親水性マトリクス上で、上記試薬懸濁液を乾燥させる工程

e . 上記多孔質媒体のモノリシックな親水性マトリクス上で上記試薬を濃縮するために、上記試薬の上記固体担体を自己凝集させることを目的として、多孔質媒体に水性液体をアプライして上記凝集剤を活性化させる工程。

#### 【 0 1 0 7 】

上記モノリシックな親水性マトリクスは、纖維の網織物を含むことが好ましく、上記試薬の固体担体は、ビーズを含むことが好ましく、上記凝集剤は、ポリエチレングリコール(PEG)を含むことが好ましい。

#### 【 0 1 0 8 】

さらに他の局面では、本発明は、モノリシックな親水性マトリクスを含む多孔質媒体中の試薬を濃縮する方法であって、以下の a ~ g の工程を含む方法である。

#### 【 0 1 0 9 】

a . モノリシックな親水性マトリクスを準備する工程

b . 試薬を準備する工程であって、上記試薬は、

i . 負に帯電した固体担体

10

20

30

40

50

i i . 上記固体担体に付着された、正に帯電したリガンドを含む、工程

- c . 上記試薬を緩衝液中に懸濁して試薬懸濁液を得る工程
- d . 上記モノリシックな親水性マトリクスに、上記試薬懸濁液をアプライする工程
- e . 上記モノリシックな親水性マトリクス上で、上記試薬懸濁液を乾燥させる工程
- f . 上記リガンドと、当該リガンドのpIよりも低いpHであるとともに当該リガンドが結合する担体を含む水性液体とを接触させる工程
- g . 上記多孔質媒体のモノリシックな親水性マトリクス中で上記試薬を濃縮するために、上記試薬を自己凝集させることを目的として、上記試薬の総電荷を変える工程。

**【0110】**

10

上記モノリシックな親水性マトリクスは、纖維の網織物を含むことが好ましく、上記試薬の上記負に帯電した固体担体は、ビーズを含むことが好ましく、上記正に帯電したリガンドは、タンパク質を含むことが好ましい。さらに好ましくは、上記タンパク質は、抗体または抗原を含む。

**【0111】**

他の局面では、本発明は側方流動機能層を提供する。好ましい実施形態は、上記側方流動機能層はマトリクスを含み、より好ましくは、ガラス纖維、不織布ポリマーまたはこれらの混合物からなる一体型のマトリクスを含む。

**【0112】**

20

本発明の好ましい実施形態では、ポリマーとガラス纖維との混合物を含む単一の側方流動機能層を提供し、当該混合物は適当なマトリクスとして機能する。上記混合物は、試料パッドおよび吸収剤として機能すると同時に、血液分離器および放出抱合として機能することが好ましい。しかしながら、驚くべきことに、本発明は、単層の側方流動機能層の構成において、同一の構成が反応マトリクスとして使用し得ることを示している。

**【0113】**

30

上記親水性の混合物は低タンパク質結合性であり、上記捕捉試薬は、普通では、あまり結合しない。しかしながら、上記捕捉試薬が初めに担体粒子（例えば、ラテックスビーズ）上に固定されている場合には、上記ラテックスビーズはマトリクス中に効率的に保持される。なお、このとき上記担体粒子の直径は、細孔サイズの40～70%（または、98%の吸収効率があるが、上記マトリクス中に入るために十分なサイズよりも大きなサイズ）である。試験の感度は、加えられる担体ビーズの数、当該担体ビーズの表面積（ビーズの直径に関係する）、および当該担体ビーズの表面上に固定される捕捉試薬の量に依存する。後述するように、上記システムは、捕捉ビーズ（試験および対照の両方）上の凝集剤（例えば、ポリエチレングリコール）を用いること、または、負に帯電した捕捉ビーズ上の正に帯電したリガンドを使用することによって、更に改善され得る。

**【0114】**

このタイプの上記材料を用いれば、多くの利点がある。例えば、  
 1 ) 上記混合物は本質的に親水性であるので、膜のようにプロッキングする必要がない。  
 2 ) 上記混合物は低タンパク質であるので、バックグラウンドシグナルが低く、それ故、検出可能な最弱シグナルを下げる。

40

3 ) 膜中にて運搬領域が増大する（細孔サイズと関連）につれて、使用可能な膜表面（および、それ故に試験感度も）減少する。上記混合物のシグナルは、上記ビーズの表面積と関連しており、上記混合物とは関連していない。それ故、ビーズを同じ細孔サイズの材料に換えることによって、シグナルを制御することができる。

4 ) 小さな抗原は膜に上手く付着することができないが、上記抗原は、上記ビーズに共有結合によって結合され得る。それ故、上記混合物は、あらゆる試験に使用され得る。

5 ) 上記混合物の運搬速度は、膜よりも非常に高いので、試験は、より早く行われる（多くの試験開発者が求めるように）。

6 ) ビーズへの固定化は、架橋化学（linkage chemistry）のよりよい制御を可能にし、その結果、試験期間（test shelf life）を延ばす。その代わりに、上記期間を延ばす他

50

の材料も付着され得る。

**【0115】**

このように機能し得る材料のタイプは、あらゆる固定化ガラス纖維であり得るが、ラテックス結合ガラスである場合に、よい結果が得られている。

**【0116】**

このように、従来は、ガラス纖維またはポリマーとガラス纖維との混合物は、1つ以上の機能のために働くことが示されているが、本発明では、同一の材料が同時に5つの領域全てのために機能し得ることが示されている。この成果は、新しく、予期し得ない、そして全く驚くべきものである。

**【0117】**

図1Aは、本発明の一実施形態に係る透視図(分解図)である。上部筐体(30)および下部筐体(32)内に試験ストリップ(20)を備えている器具(10)が示されている。好ましい実施形態において、上部筐体(30)は2つの開口(34, 36)を有しており、これらの一方(34)は、使用者を試験ストリップ(20)の試料アプライゾーンにアクセスさせ、もう一方(36)は、使用者が、捕捉試験ゾーンおよび捕捉対照ゾーンにおける試験結果を可視化または検出することを可能にする。より好ましくは、印(40, 42, 44)は、試料アプライゾーン(例えば、S(40))、捕捉試験ゾーン(例えば、T(42))および捕捉対照ゾーン(例えば、C(44))の位置を示すために、上部筐体(30)に提供される。

**【0118】**

図1Aおよび1Bに示されるように、支持ストリップ(50)によって試験ストリップ(20)が付加的に支持されてもよい。支持ストリップ(50)は、プラスチック(例えば、ポリスチレン、PETまたはビニル)または支持に適切な他のいくつかの材料(material)から構成されてもよい。

**【0119】**

図2A～2Dは、使用されている状態の試験ストリップの概略的な上方図を示す。試験ストリップは、試料アプライゾーン(A)、標識された結合剤(80)を含む抱合放出ゾーン(B)、捕捉試験試薬(90)を含む捕捉試験ゾーン(C)、捕捉対照試薬(100)を含む捕捉対照ゾーン(D)および吸収(absorbent)ゾーン(E)を含む一連のゾーンを有している。

**【0120】**

図2Aに示される実施形態は、担体ビーズおよび抗体リガンドを含む標識された結合剤(80)、補足ビーズおよび抗体リガンドを含む捕捉試験試薬(90)、ならびに補足ビーズおよび抗体リガンドを含む補足対照試薬(100)を示す。

**【0121】**

図2Bにおいて、分析物(110)を含む試料は、試料アプライゾーン(A)にアプライされ、そして毛細管現象によって試験ストリップを介して抱合放出ゾーン(B)へ運ばれる。抱合放出ゾーン(B)において、試料は、標識化結合試薬(80)のいくつかに結合して第1の複合体(120)を形成する。第1の複合体は分析物(110)および標識化結合試薬(80)を含む(図2Cもまた参照のこと)。

**【0122】**

図2Cにおいて、第1の複合体(120)および結合していない標識化結合試薬(80)のいくつかが、試験ストリップを介して捕捉試験ゾーン(C)に運ばれる。捕捉試験ゾーン(C)において、第1の複合体(120)および結合していない標識化結合試薬(80)は、捕捉試験試薬(90)と接触する。この実施形態において、捕捉試験試薬(90)はまた、分析物(110)を認識し、これにより、第1の複合体(120)に結合して第2の複合体(130)を形成する。第2の複合体(130)は、試験ストリップのマトリクスに強く固定化されており、陽性の試験結果を示すラインを形成する。「強く固定化される(されている)」は、捕捉試験ビーズ(90)が揺さぶられても、回転されても、凝集されても、抱合放出ゾーンの標識化結合試薬と同様に、マトリクスを介して流れない

10

20

30

40

50

ことを意味する。捕捉試験試薬(90)は、結合していない標識化結合試薬(80)を認識しない。

#### 【0123】

図2Dにおいて、結合していない標識化結合試薬(80)は、試験ストリップを介して捕捉対照ゾーン(D)に運ばれ続ける。捕捉対照ゾーン(D)において、結合していない標識化結合試薬(80)は、捕捉対照試薬(100)と接触する。この実施形態において、捕捉対照試薬(100)は、結合していない標識化結合試薬(80)上の未結合抗体を認識しあつ結合し、そして第3の複合体(140)を形成する。第3の複合体(140)は、試験ストリップのマトリクスに強く固定化されており、試料の運搬が吸收ゾーン(E)に到達したことと試験が実行されたこととを示す対照ラインを形成する。「強く固定化される(されている)」は、捕捉試験ビーズ(90)のように、捕捉対照ビーズ(100)が揺さぶられても、回転されても、凝集されても、抱合放出ゾーンの標識化結合試薬と同様に、マトリクスを介して流れることを意味する。10

#### 【0124】

図2A～2Dに示される試験において、陽性の結果は、対照試験ゾーン(C)での試験ラインおよび捕捉対照ゾーン(D)での対照ラインの両方を有しているが、陰性の結果は、捕捉対照ゾーン(D)での対照ラインのみを有している。

#### 【0125】

一実施形態において、複数の捕捉ラインが存在し、各ラインが(対応する標識化結合試薬とともに)別々の分析物について試験し、1つの試料をいくつかの分析物について同時に試験することを可能にする20

この実施形態は、所定の疾患、表現型、遺伝子型または生理的状態について、単一の試料にて複数の試験を行うことを可能にする。このタイプの試験能力は、例えば、所定の疾患、表現型、遺伝子型または生理的状態についての試験が高率の疑陽性および疑陰性を有する場合、特に有用である。

#### 【0126】

あるいは、単一の試料は、複数の疾患、表現型、遺伝子型または生理的状態についての試験を行い得る。このタイプの試験能力は、広範な適用(医者の集団へのアクセスおよび/または患者の医者へのアクセスが制限されている遠隔地(例えば、産業国および発展途上国の両方の田舎)での医学試験のための;大規模な試験設定(例えば、伝染病または都市での大規模な貧しい集団)のための;患者を伴う実地調査のため;および限られた量のみの試料用具(material)が利用可能である場合の試験のための(例えば、法医学目的のための、または大量の血液を失ったか、血液もしくは他の体液の量が減少している外傷患者および他の患者のための)、毎年の医学的試験、肉体的試験における慣用的なスクリーニングを含むがこれに限定されない。)に有用である。例えば、世界の多くの地域において、冷蔵、実験器具または輸送手段がほとんどないか全くない場所で、多くの疾患の1つ以上(特に、感染性疾患)についての、容易に持ち運び可能でありかつ容易に分解されない器具または用具を用いる、迅速、低成本、かつ有効な方式での単純な試験法が必要とされている。複数の疾患が一般に同一の患者を冒している地域または状況において、単一の試料が、いくつかの疾患について同時に試験され得る。例えば、本発明を用いてヒト免疫不全ウイルス(HIV;後天性免疫不全症候群(AIDS))、結核、エボラ熱、マラリア熱、ラッサ熱、肝炎(A型、B型、C型、D型またはE型)および/またはテング熱の感染を試験し得ることが、想像される。あるいは、患者が疾患(例えば、遺伝的ヘモグロビン疾患)を有している場合、本発明は、鎌状赤血球貧血およびいくつかのタイプの地中海貧血についての遺伝型を同時に試験し得る。30

#### 【0127】

別の実施形態において、この試験方式を使用して、遺伝的変異または多型を検出する。

#### 【0128】

別の実施形態において、この試験方式は、結合試薬または捕捉試薬の1つが分析物と同一(またはそのアナログ)である競合アッセイを含む。この競合アッセイ方式は、立体的40

な問題に起因して「サンドイッチ」アッセイを形成するのは困難である小さな分析物（例えば、薬物）を試験する際に特に有用である。

#### 【0129】

好ましい実施形態において、本発明は、単一の側方流動機能層を提供する。この側方流動機能層は、タンパク質をほとんど結合しない材料を備え、速い運搬速度を有し、繊維の網織物を備えている。好ましくは、この材料は親水性である。より好ましくは、この材料はガラス纖維またはマイクロ纖維の網織物を備えている。さらにより好ましくは、この材料はガラス纖維をポリマーと組み合わせて備えている。ガラスまたはガラス・ポリマー纖維の網織物は、複合体が付着するビーズ（例えば、ラテックス、金）、または捕捉試験試薬または捕捉対照試薬として使用するためのビーズを維持し得る。他の物質としては、キャストまたは成形された酢酸セルロースおよび融合されたポリエチレンが挙げられる。孔（例えば、纖維網織物の間の孔）のサイズは、ビーズのサイズおよび目的（すなわち、複合体 対 捕捉）に依存し、また、試料の状態および分離またはろ過が所望されるか否かに依存する。赤血球の除去が所望される場合、この材料は、赤血球を保持する孔径（98%保持効率 - 約3.5ミクロン未満）を有する必要がある；しかし、赤血球の除去が所望されない場合は、孔径はより大きくなり得る。孔径が大きいほど、捕捉されることが必要とされるビーズのサイズは大きい。しかし、ビーズのサイズが大きくなるにつれて、タンパク質固定化に利用可能な表面積は減少し、感度の低下を招く。

10

#### 【0130】

本発明に適切ではない材料は、セルロースおよびニトロセルロースである。セルロースは、材料を介する試料の流れを迅速にし得ず、複合体を放し得ない。セルロースはまた、血液分離が要求される実施形態において、血液分離器(separator)として十分に機能しない。ニトロセルロース膜は、タンパク質を結合し、疎水性になりがちである。材料は、ニトロセルロースを機能させるためにブロッキングされることを必要とする。血液分離に必要とされる孔径は小さく、それゆえに、試験時間は非常に長くなる。また、ニトロセルロースは、試料の運搬および吸収として作用するための正確な吸光特性を有していない。材料に沿って流れる時間は、運搬距離が増加するにつれて対数的に増加する。例えば、0.5 cmの流れに5秒間を費やし、1 cmの流れに15秒間を費やし、1.5 cmの流れに30秒間を費やし、2 cmの流れに90秒間を費やす、などである。さらに、ニトロセルロースは、多量の試料の運搬には十分に機能しない。少量（例えば、30 μl未満）の場合、ニトロセルロースは機能し得るが、より多い量では機能しない。ニトロセルロースのみを含むストリップについては、材料の長さは約6～8 cmであり、試験時間は非常に長い。この速度では、試料が、試験ストリップの長さまで運ばれる前に乾燥する危険性がある。3つのニトロセルロース膜の運搬速度を本発明に係る実施形態の運搬速度と比較した試験結果については、実施例2および図4を参照のこと。

20

30

#### 【0131】

にもかかわらず、ニトロセルロース材料およびセルロース材料（例えば、酢酸セルロース）は、いくつかの実施形態において、なお有用であり得る。泡（完全にまたは部分的に開放したセル状の泡を含み、特に、固定化された微粒子を含む。）もまた本発明に有用であり得る。

40

#### 【0132】

ガラス纖維に加えて、単独でかまたはポリマーおよび織り込まれていない(non-woven)プラスチックと組み合わせて、適当なサイズの孔径を有する、塩基性でありかつ疎水性の材料（例えば、疎水性膜（例えば、ポリエステルスルファン（PES）、フッ化ポリビニリデン（PVDF）、融合ポリエチレン（PE）、織り込まれていない(non-woven)プラスチック、および成形された酢酸セルロース））が使用され得る。孔径が大きすぎる場合（例えば、ポリプロピレンメッシュの場合）、膜は、効率的に粒子を捕獲しないので、機能しない。結果として、抱合放出に首尾よいことが当該分野において公知である多くの材料は、本発明において必ずしも十分に機能しない。

#### 【0133】

50

より好ましい実施形態において、本発明は、ポリマー - ガラス纖維マトリクスを含む、単層の側方流動方式を提供する。これは、本来親水性であり、実質的にはタンパク質を結合せず、流れが速く、高感度で低バックグラウンドを有し、製造するに単純である。より好ましくは、ポリマー - ガラス纖維マトリクスは、ラテックス結合（例えば、ポリスチレン（PS）またはポリメチルメタクリレート（PMMA））ガラス纖維マトリクスを含む。この実施形態において、マトリクスは、試料運搬、フィルタ／分離器（例えば、血液分離器）、抱合放出パッド、反応膜および吸収剤（absorbent）として同時に働く。（さらなる吸収パッドが追加され得るが、必要ではない。）好ましくは、本来の親水性が、プロッキングの必要性を不要にする。より好ましい実施形態において、材料は、Wh at man F U S I O N 5<sup>TM</sup> マトリクス、ラテックス結合ガラス纖維を含むWh at man S L F 5<sup>TM</sup> 単層側方流動方式を備えており、表1に示す特性を有している。

## 【0134】

【表1】

重要な特性	明細	
	理論値	範囲
グラマージ(Grammage), gsm	75	65-85
厚さ, $\mu\text{m}$ @ 53kPa	370	Max 400
Gurley sec/100ml/0l.1 sq in	16	14-22
M/D 張力, N/15mm		Min 15
M/D 湿った際の張力, N/15mm		Min 5
滴下圧力 mm H <sub>2</sub> O @ 10.5 fpm	16	13-18
平均孔径, $\mu\text{m}$	5.1	4.6-5.6

## 【0135】

適切な緩衝液中の抱合体が試験ストリップ上に放たれる(strip)。抱合体の性質は、実施される試験の性質に依存し、以下により完全に記載される。

## 【0136】

好ましい実施形態において、リガンドは、担体ビーズに付着して抱合体を形成する。標識化結合試薬として使用される担体ビーズは、網織物構造内に（例えば、物理的吸着を介して）残存しなければならないが、液体試料との接触の際に移動形態に放出され得なければならない。ビーズは好ましくは金であり、タンパク質またはヌクレオチドに結合し得るべきである。あるいは、ビーズはラテックス、セレンまたは適切な他の材料であってもよい。結合試薬（例えば、抗体またはオリゴヌクレオチド）は、側方流動試験ストリップ上に放たれる担体ビーズに固定化される。（あるいは、混合物が、ドットされても、単層の側方流動方式の使用に適切な、他の任意の形状を探ってもよい。）しかし、一般に、検出ビーズは特定の任意の形状を有している必要はなく、ビーズアプライの形状は、主に捕捉ラインに関連する。1つの好ましい実施形態において、担体ビーズは、40~80nmの金ビーズを含む。別の好ましい実施形態において、担体ビーズは、100~800nmのラテックスビーズを含む。

## 【0137】

捕捉試験試薬および捕捉対照試薬として使用される捕捉ビーズは、網織物構造内に（例えば、物理的な捕捉を介して）残存しなければならず、側方流動試験ストリップの使用の間、液体試料と接触した際であっても実質的に不動であらねばならない。ビーズは好ましくはラテックスであるが、担体ビーズ上の標識を干渉しない（すなわち、固有の色を有していないか、ストリップ自体に対して目立つ色を有していない）任意の材料であり得る。潜在的な他の材料としては、シリカ、ガラス、アルミナ、セルロースまたは糖（例えば、デキストランなど）が挙げられる。理論的にいえば、捕捉ビーズは、強固な構成(tight f

10

20

30

40

50

ormation)を形成し、その結果、捕捉ビーズによって細くされる担体ビーズ上の標識が容易に読み取られ得る。捕捉試験試薬または捕捉対照試薬(例えば、抗体またはオリゴヌクレオチド)は、それぞれ捕捉試験ビーズまたは捕捉対照ビーズに固定化され、これらのビーズは、側方流動試験ストリップ上に(適切な緩衝液中にコロイド上の混合物として)放たれる。(あるいは、混合物はドットされても、他の任意の形状(例えば、「+」形状または「×」形状、あるいは単層の側方流動方式の使用に適切な、他の任意の形状)を探つてもよい。)

好ましい実施形態において、ラテックスビーズ(例えば、PMMA、PSなど)は、スルフェート末端化されたビーズを含む。これらの材料は、物理的結合(電荷または疎水性)に起因してタンパク質を結合する。あるいは、共有結合ラテックスビーズが使用されてもよい。好ましい実施形態の例としては、Estapor MicrospheresまたはBangs Laboratories, Incによって製造されたラテックスビーズが挙げられる。ビーズのサイズは、材料内に侵入するに十分小さくなければならないが、捕捉されるに十分大きくなければならない。FUSION 5™(Whatman)について、最適なビーズサイズは、約2ミクロンであり; FUSION 5™材料は、約2.5ミクロンのビーズに対して98%の残存高率を有する。2.5ミクロンのビーズは、通常マトリクス内に侵入しないが、1.5ミクロンを下回るビーズはマトリクスから押し出される。

#### 【0138】

ビーズをアプライするための典型的なプロトコルは以下の通りである: 抱合放出ゾーンでは、モノクローナル抗hCGに抱合されている40nmの金コロイド(標識化結合試薬)がアプライされ、濃縮される(OD520 = 1.0)。抗体は、しばしばマウスモノクローナル抗体である。ホウ酸緩衝液(1% Tween 20、0.5% PVAおよび0.2% BSAを含む)からFUSION 5™へアプライされる。捕捉ゾーン(それぞれ捕捉試験ゾーンおよび捕捉対照ゾーン)では、別々の2つのライン、1つは、抗hCGに抱合されている2ミクロンのラテックスビーズ(捕捉試験試薬)であり、2つ目は、抗マウスIgGに抱合されている2ミクロンのラテックスビーズ(捕捉対照試薬)である。対照抗体は、しばしば抗マウスAb(例えば、ヤギ抗マウス)であり、時々、金に固着されたものである。乾燥試験では、乾燥後に試料をアプライする。いくつかの実施形態において、ビーズのアリコート(100μl)が使用され、アプライされる試料の量およびビーズの量は、使用される材料に依存してかなり変動する。

#### 【0139】

いくつかの実施形態において、特に、過剰量の第1の複合体が存在する場合および捕捉対照ビーズによる結合が特異的でないかまたは分析物の存在下もしくは非存在下で置換され得る場合、捕捉対照ビーズは第1の複合体(例えば、分析物および標識化結合試薬を含む複合体)に結合することが可能であり得る。試験試料が捕捉試験ゾーンに最初に到達するので、捕捉対照ゾーンでの結合は、試験結果に影響しない。捕捉対照ゾーンの目的の1つは、結果が疑陰性の試験結果を含まない確からしさを提供するために、試料が、捕捉試験ゾーンを越えて流動されたか、または移動されたかを示すことである。

#### 【0140】

好ましい実施形態において、ポリエチレングリコール(PEG)が、ビーズの凝集を改善するために添加される。捕捉試薬の量は、使用されるラテックスビーズの表面積に比例する。感度を改善するためには、表面積を増加させる必要がある;しかし、このアプローチは、より小さなビーズの使用を必要とし、このビーズはマトリクスに放たれない。この問題を解決するために、乾燥の際に凝集する小さなビーズを使用することが可能である。ラテックスビーズの自己凝集は、ビーズを放つ因子(例えば、PEG)が含まれていることによって、ビーズ表面上のタンパク質のpI未満であるpHで作用することによって、または高イオン強度(例えば、高塩濃度)で作用することによって、達成され得る。さらなるアイデアは、ビーズを乾燥する際に水がこの系から放出される(water leaves the system)という事実に依存する。したがって、システムを乾燥させた場合に添加物の元々の

10

20

30

40

50

濃度が凝集を引き起こさないのであれば、添加物の効果的な濃度は、ビーズが自己凝集する臨界点に達するまで増加する。凝集剤(agglutinating agent)は、好ましくはPEGまたは他のいくつかの親水剤もしくはポリマーであり、ビーズ表面上のタンパク質に接着する試薬であり得る。pHの変化の観点から、ビーズの電荷の反発により、通常は互いに離れているが、ビーズ表面上のタンパク質が他の複合体を引き寄せる場合、ビーズは互いに固着する。典型的には、ラテックスビーズは負に帯電しており、よって、これらを引き寄せ、溶液のpHの低下によりタンパク質は正に帯電する。あるいは、電解質(すなわち、高塩濃度)を用いることによってもまた、ビーズの凝集が生じ得る。凝集させる因子または手順が使用される場合、捕捉試験ビーズおよび捕捉対照ビーズのサイズは低減されてもよい。理論的に結合することが望まれない場合、ビーズの塊を含む粗い集団は、大きなビーズよりむしろより大きな表面積を有している。塩濃度の増加もまた、コロイド粒子の能の低下に起因して凝集を引き起す。

## 【0141】

好ましくは、本発明は、脊椎動物の処置に使用され；脊椎動物の細胞、細胞株、組織もしくは器官の処置に使用され；これらに関連する研究目的に使用され；あるいは、上述した記載に包含される他の任意の目的に使用される。より好ましくは、本発明は、哺乳動物の処置に使用され；哺乳動物の細胞、細胞株、組織もしくは器官の処置に使用され；これらに関連する研究目的に使用され；あるいは、上述した記載に包含される他の任意の目的に使用される。さらにより好ましくは、本発明は、哺乳動物の処置に使用され；哺乳動物の細胞、細胞株、組織もしくは器官の処置に使用され；これらに関連する研究目的に使用され；あるいは、上述した記載に包含される他の任意の目的に使用される。

## 【0142】

以下の定義は、本明細書中における記載に使用される特定の用語について提供される。

## 【0143】

本明細書および特許請求の範囲において使用される場合、単数形態「a」、「a n」および「the」は、他に明示しない限り複数を示すことも包含する。例えば、用語「a molecule」は、分子(单数)だけでなく分子(複数)をも包含する。

## 【0144】

本明細書中で使用される場合、「分析物」は、試験ストリップによって検出されるべき試料の成分である。いくつかの実施形態において、分析物の存在または非存在は、その試料が得られた生体の生理学的状態を決定するために使用され得る。あるいは、分析物の存在または非存在は、例えば、試料の夾雜を検出するために使用され得る。広範な他の用途が当業者には明らかである。

## 【0145】

本明細書中で使用される場合、「多孔質媒体」は、均一な孔を有していても不均一な孔を有していてもよい。あるいは、「多孔質媒体」は、例えば、より小さなサイズの材料が適切に通過し得る「マトリクス」または「纖維の網織物」を備えていてもよい。

## 【0146】

本明細書中で使用される場合、用語「孔径」は、膜上または膜中に残存される粒子の最小サイズをいう。よって、約0.45ミクロンの孔径を有する膜は、約0.45ミクロンより大きな粒子が膜上または膜中に残存し、約0.45ミクロンより小さな粒子が通過して残存しないことを意味する。纖維の網織物において、孔径は、標準サイズの孔を有する膜または媒体においてよりもより変動する。「平均孔径」は範囲として示され得、「最大孔径」および「最小孔径」はかなり変動し得る。

## 【0147】

本明細書中で使用される場合、基質と「安定に結合した」は、ポリマー化しあつ架橋された表面修飾分子と、水溶液中および/または有機溶媒(例えば、アルコール)中で1回以上の洗浄後に残存する基質との間の相互作用をいい、より好ましくは、少なくとも約5回、または少なくとも約10回の洗浄の後でも相互作用し続ける。好ましくは、基質と「安定に結合した」分子は、少なくとも約90で少なくとも約2時間曝露した後に基質に

10

20

30

40

50

結合し続ける分子である。「安定な結合」は、機能喪失した本発明に係る表面修飾分子で被覆されている基質の湿潤度（すなわち、親水度）を評価することによりモニタリングされ得る。

**【0148】**

本明細書中で使用される場合、「親水性の」基質は、水を吸収するものであるが、「疎水性の」基質は水を吸収しないものである。

**【0149】**

本明細書中で使用される場合、「濡らすことができる(wettable)」は、疎水状態の部分(phobic patch)を有することなくその表面全体にわたって湿っている膜をいう。

**【0150】**

本明細書中で使用される場合、「フロースルー(flow-through)法」は、基質を溶液で被覆するために、溶液が基質を介して流動される方法である。

**【0151】**

本明細書中で使用される場合、用語「機能的に結合した（結合している）」は、被覆が配置され、吸収され、さもなくば、本発明の支持体と結合されて、その結果、支持体と被覆とが一緒に機能することを意味する。すなわち、被覆は、媒体と機能的な関係で吸収され、被覆され、さもなくば、配置される。

**【0152】**

媒体は、纖維と一緒に保持する「結合剤」と結合され得る。当該分野において周知である結合剤の例のいくつかは、ポリビニルアクリルアミド、ポリビニルアクリレート、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリスチレン(PS)、ポリメチルメタクリレート(PMMA)およびゼラチンである。

**【0153】**

本明細書中で使用される場合、「インプリントされたポリマー」は、その製造の間に纖維状のマトリクス内に構成されているポリマー（例えば、ガラス纖維マトリクスまたは他の纖維マトリクス内におかれたポリマー）である。

**【0154】**

本明細書中で使用される場合、「モノリシックな親水性マトリクス」は、単一の一片としてキャストされている親水性マトリクスである。あるいは、「モノリシックな親水性マトリクス」は、連結部または継ぎ目なしに形成されているかまたは材料を構成している親水性マトリクスであるか、あるいは単一のユニットからなるかまたは単一のユニットから構成されている親水性マトリクスである。

**【0155】**

本明細書中で使用される場合、「試料アプライゾーン」は、試料がアプライされる、試験ストリップの部分をいう。

**【0156】**

本明細書中で使用される場合、「抱合放出ゾーン」は、分析物が存在する場合に分析物を認識する「複合体」（例えば、「標識化結合試薬」）を最初に含む、試験ストリップの部分をいう。

**【0157】**

本明細書中で使用される場合、「捕捉ゾーン」は、「捕捉試験ゾーン」および「捕捉対照ゾーン」を含む、試験ストリップの部分をいう。「捕捉試験ゾーン」は「捕捉試験試薬」を含む、試験ストリップの部分をいい、「捕捉試験試薬」は、分析物、または分析物および標識化結合試薬を含む第1の複合体のいずれかを認識する。「捕捉対照ゾーン」は、分析物の存在下または非存在下で標識化結合試薬を認識する「捕捉対照試薬」を含む、試験ストリップの部分である。

**【0158】**

本明細書中で使用される場合、「吸收ゾーン」は、運搬または毛細管現象によって液体試料が試験ストリップを介して引く、試験ストリップの部分である。

**【0159】**

10

20

30

40

50

本明細書中で使用される場合、「特異性」は抗原決定基の間を区別する抗体の能力をいう。「特異性」はまた、特定のレセプターまたは抗体によって認識される、正味の決定基をいう。「特異性」はまた、基質（例えば、薬物）の間を区別するレセプターの能力をいう。核酸の観点から、「特異性」は、それぞれ競合または認識／結合の機能としての同一性または相補性をいう。認識または結合の「特異性」は、認識または結合が行われる条件（例えば、pH、温度、塩濃度、および当該分野で公知の他の因子）によって影響を受け得る。

#### 【0160】

本明細書中で使用される場合、「強く固定された」または「強く固定化された」は、基質（例えば、捕捉ビーズ）が、揺さぶられても、回転されても、凝集されても、マトリクスを介して流動または運搬されないことを意味する。10

#### 【0161】

本明細書中で使用される場合、「凝集」または「自己凝集」は、基質または一部分（ビーズを含むがこれに限定されない）の凝集（clumping）、クラスタリング、塊状になること、または集積をいう。

#### 【0162】

材料の「運搬速度」は、時間経過の期間にわたる、材料の特定距離の湿潤（wetting）の関数として測定され得る。運搬速度は、材料の性質、湿潤に用いられる物質の性質および種々の他の条件に依存する。種々の材料の「運搬速度」が比較され得る。

#### 【0163】

本明細書中で使用される場合、「ラインランピング（ramping）」は、ラインアプライの開始後に、ストリップを介する流体流れの速度が一定速度に到達するに費やす時間をいう。「ラインランピング」は、アプライする操作者（applicator）の操作速度（plunger）の加速度によって影響を受け得る。20

#### 【0164】

本明細書中で使用される場合、「リガンド」は、別の分子または分子複合体によって結合され得る分子または分子複合体である。リガンドは、レセプターまたは核酸の相補的フラグメントによって結合される分子または分子複合体であるがこれらに限定されない。

#### 【0165】

本明細書中で使用される場合、「キメラDNA」は、少なくとも2つの同一視し得るDNAセグメントであり、このセグメントは、天然には見出されない結合状態にある。対立遺伝子バリエーションまたは天然に存在する変異事象は、本明細書中で規定されるキメラDNAを形成しない。30

#### 【0166】

本明細書中で使用される場合、「キメラタンパク質」または「融合タンパク質」は、少なくとも2つの同一視し得るセグメントであり、このセグメントは、天然には見出されない形態にある。1つの実施形態において、キメラタンパク質は、例えば、タンパク質として発現され得るキメラDNAの発現から生じ得る。このキメラDNAは、各セグメントの少なくとも一部を单一のタンパク質として発現し得る、作動可能に連結された少なくとも2つのDNAを有している。他の実施形態は、それ自体当該分野に示唆する。40

#### 【0167】

本明細書中で使用される場合、用語「ポリヌクレオチド」および「核酸分子」は、任意の長さのポリマー形態のヌクレオチドと交換可能に用いられ、これは、任意の三次元構造を有し得、既知または未知の、任意の機能を奏し得る。ポリヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド（DNA）、リボヌクレオチド（RNA）および／またはこれらのアナログ（一本鎖または二本鎖の三次元らせん分子、遺伝子または遺伝子フラグメント、エクソン、イントロン、メッセンジャーRNA（mRNA）、トランスクアーナ（tRNA）、リボソームRNA（rRNA）、小さな干渉RNA（siRNA）、リボザイム、アンチセンス分子、相補的DNA（cDNA）、ゲノムDNA、組換えポリヌクレオチド、分枝ポリヌクレオチド、アパタマー、プラスミド、ベクター、任意の配列の単離されたD50

N A , 任意の配列の単離された R N A 、核酸プローブ、ペプチド核酸( P N A )、およびプライマーが挙げられるが、これらに限定されない。)を含み得る。核酸分子はまた、改変された核酸分子(例えば、改変された塩基、糖、および/または分子間リンカーを含む。)を含んでもよい。

#### 【 0 1 6 8 】

「核酸材料」または「核酸由来の材料」は、核エンベロープおよび核の要素を含み、ゲノム D N A ( g D N A )またはプラスミド D N A が挙げられる。「核の非核酸要素」は、核エンベロープの成分、および核酸ではない核の他のタンパク質または他の物質を含む。

#### 【 0 1 6 9 】

「核酸」は、種々のタイプのデオキシリボヌクレオチド( D N A )およびリボヌクレオチド( R N A )を含み、ゲノム D N A ( g D N A )、メッセンジャー R N A ( m R N A )およびこれらの誘導体(例えば、改変された D N A または R N A (ペプチド核酸( P N A ))を含む。)が挙げられる。「ペプチド核酸」( P N A )はポリヌクレオチドアナログであり、糖-リン酸骨格がアミノ基によって置き換えられている。「遺伝物質」は、ゲノム D N A ( g D N A )またはゲノム R N A を含む。g D N A は、1つのタイプの D N A であり、遺伝情報をコードする。

#### 【 0 1 7 0 】

本明細書中で使用される場合、「遺伝的改変」は、細胞の正常なヌクレオチドに対する任意の付加、欠失または崩壊( disruption )である。抗原提示細胞( A P C )の遺伝的改変を達成し得る任意の方法は、本発明の精神および範囲内である。当該分野において認識されている方法としては、ウイルス媒介遺伝子移入、リポソーム媒介移入、形質転換、トランスフェクトおよび形質導入が挙げられる。

#### 【 0 1 7 1 】

本明細書中で使用される場合、「遺伝的変異」は遺伝的変更であり、「遺伝的改変」の1タイプである。

#### 【 0 1 7 2 】

本明細書中で使用される場合、「多型」または「遺伝的多型」は、遺伝的なバリエーションであり、一塩基多型( S N P )を含むがこれに限定されない。

#### 【 0 1 7 3 】

本明細書中で使用される場合、「遺伝型」は生物の遺伝的組成であり、「表現型」は生物の物理的外観または特徴である。

#### 【 0 1 7 4 】

「ペプチド」は、2つ以上のサブユニットアミノ酸、アミノ酸アナログ、またはペプチド模倣物(peptidomimetics)の化合物である。サブユニットは、ペプチド結合または他の結合(例えば、エステル結合、エーテル結合など)によって連結され得る。

#### 【 0 1 7 5 】

「アミノ酸」は、天然のアミノ酸および/または非天然のアミノ酸あるいは合成のアミノ酸のいずれかをいい、グリシン、D型またはL型の光学的なアイソマー、アミノ酸アナログおよびペプチド模倣物を含む。「アミノ酸」はまた、イミン酸(imino acid)を含む。「オリゴペプチド」は、3個以上のアミノ酸の短いペプチド鎖をいう。ペプチド鎖が長い(例えば、約10アミノ酸より長い)場合、ペプチドは「ポリペプチド」または「タンパク質」である。用語「タンパク質」は、用語「ポリペプチド」を包含し、「ポリペプチド」はタンパク質全長より長くてもよい。

#### 【 0 1 7 6 】

「タグペプチド配列」は、3個以上のアミノ酸の、短いペプチドまたはポリペプチドである。これは、目的のタンパク質に連結されている。好ましい実施形態において、ポリペプチド、タンパク質またはキメラタンパク質は、タグペプチド配列を含み、これは、精製、検出または他のいくつかの機能(例えば、抗体に特異的に結合することにより)のために使用される。抗体は、溶液中にあっても、(例えば、ビーズ、フィルターまたは他の材料の)表面に結合されていてもよい。タグペプチド配列は、ポリペプチド、タンパク質ま

10

20

40

50

たはキメラタンパク質の残りの機能を干渉すべきではない。本発明に有用なタグペプチド配列の例は、カルボキシ末端で融合されている6つのH<sub>15</sub>s残基を伴う短いc-Mycタグである。他の例は当業者に周知である。

#### 【0177】

本明細書中で使用される場合、「発現」は、ポリヌクレオチドがmRNAに転写される過程および/またはペプチド、ポリペプチドもしくはタンパク質に翻訳される過程をいう。ポリヌクレオチドがゲノムDNAに由来する場合、発現は、ゲノムDNAから転写されたmRNAのスプライシング、mRNAの5'末端のキャッピング、mRNAの3'末端のポリアデニル化、または他のプロセッシング改変もしくはプロセッシング事象を含み得るが、これらを含むことが要求されているわけではない。

10

#### 【0178】

本明細書中で使用される場合、「シグナル配列」または「分泌配列」は、小胞体移動配列(endoplasmic reticulum translocation sequence)をいう。この配列は、「シグナル配列」、「分泌ペプチド」または「分泌ドメイン」をコードし、これらは、(例えば、化学的な結合を介して)連結されているポリペプチドを、小胞体のベジクル画分に指向し、エクソサイトーシス/エンドサイトーシス器官に侵入させ、このペプチドを細胞性のベジクル画分もしくは細胞表面に送達させるかまたは分泌するように、細胞と連絡(communicate)する。このシグナル配列は、タンパク質の成熟の間に、細胞により切断され得る。種々の種の分泌配列および分泌ドメインが当該分野において周知である。

#### 【0179】

「ドメイン」は、重要な三次元構造を有するタンパク質またはポリペプチドの領域である。

20

#### 【0180】

ドメイン配列の「保存的に改変された改変体」はまた、本発明の範囲内に提供され得る。特定の核酸配列の観点で、保存的に改変された改変体は、同一または実質的に同一なアミノ酸配列をコードする核酸をいい、この核酸がアミノ酸をコードしない場合は、実質的に同一な配列をいう。本質的には、縮重コドン置換は、1つ以上の選択されたコドン(または全てのコドン)の第3位が、混合された塩基および/またはデオキシイノシン残基と置換されている配列を生成することにより達成され得る。あるいは、1つ以上のアミノ酸が、同様の構造、活性、電荷または他の特性を有しているアミノ酸と置換され得る。機能的に類似するアミノ酸を提供する保存的置換の表は当該分野において周知である(例えば、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919(1992)を参照のこと)。

30

#### 【0181】

核酸またはタンパク質の供給源は、細胞全体を含む生物学的試料であり得る。細胞全体は、血液、細菌培養物、細菌コロニー、こうぞ細胞、組織培養細胞、唾液、尿、飲料水、血漿、便(stool)試料、精液、膣試料、痰、植物細胞試料、または科学的、医学的、法医学的および他の分野で公知の、種々の他の細胞供給源であり得るが、これらに限定されない。試料は、当該分野において公知の種々の手段により収集され、試験ストリップに移動され、次いでアブライされ得る。

40

#### 【0182】

「宿主生物」は、生物、すなわち、生存する実在物であり、これは、原核生物、真核生物、単細胞または多細胞であり得、外因性の核酸分子、ポリヌクレオチドおよび/またはタンパク質のレシピエントであることが望ましく、あるいはこのようなレシピエントである。好ましくは、「宿主生物」は、細菌、酵母または真核生物多細胞の生存する実在物(好ましくは動物、より好ましくは哺乳動物、さらにより好ましくはヒト)である。

#### 【0183】

「哺乳動物」としては、マウス、サル、ヒト、家畜、競争用動物および愛玩動物が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0184】

50

用語「ポリペプチド」および「タンパク質」は、交換可能に使用され、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合を介して連結されているアミノ酸の任意のポリマー（ジペプチド以上）をいう。よって、用語「ポリペプチド」および「タンパク質」としては、オリゴペプチド、タンパク質フラグメント、融合タンパク質などが挙げられる。本明細書中で使用される場合、用語「ポリペプチド」および「タンパク質」は一部分（例えば、リボタンパク質および糖タンパク質）を含むことが認識されるべきである。

#### 【0185】

「抗体」（A b）は、「抗原」（A g）（下記にて詳述している。）として知られている特定の物質に特異的に結合するタンパク質である。「抗体」は任意の免疫グロブリンであり、特定のエピトープを結合する抗体およびそのフラグメントを含む。この用語は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体およびキメラ抗体（例えば、多特異性抗体）を包含する。天然には、抗体は、通常、免疫チャレンジ（例えば、感染または免疫化）に応答したリンパ球によって生成される。「抗体結合部位」は、重鎖および軽鎖の可変領域および超可変領域を構成する、抗体分子の構造的部分であり、これらの領域は、抗原に特異的に結合する。抗体の例は、インタクトな免疫グロブリン分子、実質的にインタクトな免疫グロブリン分子、およびパラトープを含む免疫グロブリン分子の部分（F a b 部分、F a b' 部分、F ( a b' ) 2 部分およびF ( v ) 部分を含む。）である。軽鎖の可変（V）領域を含む小さな単鎖F ( v ) は、特に組織透過が所望される場合に使用され得る。

10

#### 【0186】

抗原（A g）は、抗原またはTリンパ球（T細胞）と特異的に反応する任意の物質である、「抗原結合部位」は、抗原を特異的に結合する免疫グロブリン分子の一部である。さらに、抗原結合部位は、任意の抗原結合分子上に存在する任意のこのような部位を含み、MHC分子またはT細胞レセプターが挙げられるが、これらに限定されない。「抗原プロセッシング」は、抗原がフラグメントに分解すること（例えば、タンパク質からペプチドへの分解）をいい、「抗原提示細胞」によって特定のT細胞に提示するために、これらのフラグメントの1つ以上がMHC分子と結合する。

20

#### 【0187】

用語「抗原性物質」は、先天的な免疫応答または適応性の免疫応答を誘発する任意の物質を包含する。本明細書中で使用される場合、「抗原性物質の部分」は、任意の抗原性物質またはそのフラグメントを包含し、そのフラグメントが不完全な表現型であったり、全体としての抗原性物質の一部分であったりしても、これらは、先天的な免疫応答または適応性の免疫応答を誘発し得る。1つの実施形態において、抗原性物質は、T細胞によって認識されるMHCに結合される場合、特異的な免疫応答を誘発するために必要とされる最小限の抗原配列（好ましくは約8～15アミノ酸残基長）を含む。

30

#### 【0188】

「エピトープ」または「抗原決定基」は、通常、短いペプチド配列またはオリゴ糖から構成される構造であり、これは、免疫系の構成要素によって特異的に認識されるかまたは特異的に結合される。「エピトープ」または「抗原決定基」は、抗体によって認識される抗原上の部位である。例えば、上述したように、T細胞エピトープは、抗原提示細胞による抗原プロセッシングの間の、タンパク質抗原に由来する短いペプチドの少なくとも一部である。T細胞エピトープは、通常線状のオリゴペプチドであることが示されている。2つのエピトープが同一の抗体によって特異的に結合され得る場合、これらのエピトープは互いに対応する。2つのエピトープの両方が同一のB細胞レセプターまたは同一のT細胞レセプターに結合し得る場合、これらのエピトープは互いに対応し、1つの抗体のそのエピトープに対する結合は、他のエピトープによる結合を実質的に阻害する。

40

#### 【0189】

「ケモカイン」は、食細胞およびリンパ球を含む細胞の移動および活性化に関連する小さなサイトカインであり、炎症性応答において役割を担う。ケモカインの例としては、IL8、RANTES、MDC、IL10、MIP1aおよびMIPが挙げられるが、これらに限定されない。

50

## 【0190】

「サイトカイン」は、細胞（サイトカインが作用する細胞）表面上の「サイトカインレセプター」を介して他の細胞の挙動に影響を与える細胞によって生成されるタンパク質である。リンパ球によって製造されるサイトカインは、しばしば「リンホカイン」とよばれる。サイトカインの例としては、IL1<sup>+</sup>、IL1<sup>-</sup>、TNF、IL6、IL12 (p40)、およびIFN<sup>+</sup>が挙げられるが、これらに限定されない。

## 【0191】

ケモカインおよびサイトカインは、広範な認識（すなわち、多くの型のケモカイン、サイトカインまたは他の分子を結合）から高度に特異的な認識（例えば、小群の関連分子の結合、かなり関連する分子のみの結合、または1つの型の分子のみの結合）までの特異性に狙いを定める「レセプター」に結合し得る。「ケモカインレセプター」の例としては、CCR2、CCR5、CCR6 および CCR7 が挙げられるが、これらに限定されない。本発明に関する目的の「表面レセプター」の例としては、マンノースレセプター（例えば、C1型）マクロファージスカベンジャー-レセプター（例えば、スカベンジャーR2）およびプロラクチンレセプターが挙げられるが、これらに限定されない。

10

## 【0192】

ケモカイン、サイトカイン、レセプター、マーカーまたは目的の他のタンパク質の発現または分泌は、当業者に公知の広範な方法を使用して、直接的にかまたは間接的に測定され得る。方法は、タンパク質アッセイ、免疫沈降法、ウエスタンブロッティングおよび他の型の直接的または間接的な免疫プロッティング、分光測定法(spectrophotometry)または紫外線(UV)法が挙げられる。サイトカインまたはケモカインに特異的な抗体、ならびに細胞表面抗原および他のマーカーに特異的な抗体は、市販されている。使用する方法に依存して、タグ化タンパク質または標識化タンパク質、レセプタープラスマド、（例えば、放射標識同位体（例えば、<sup>35</sup>S-Met または <sup>35</sup>S-Cys）を使用する）放射線標識、化学的標識または染色、蛍光標識、免疫標識を使用して、あるいは当該分野において公知の他の検出法を使用して、検出が行われ得る。1つの好ましい実施形態において、検出は、タンパク質レベルを測定するために、定量的であるか、定量性であり得る。例えば、タンパク質は、血中にて、単離された血液細胞（例えば、白血球）の試料にて、リンパにて、唾液にて、または他の型の生物学的試料にて検出され得る。これらの方法は、本発明の医療適用に特に有用である。

20

## 【0193】

あるいは、所定のサイトカイン、ケモカイン、レセプター、マーカーまたは目的の他のタンパク質についての対応するmRNAのレベルが、当業者に公知の種々の方法を介して直接的にかまたは間接的に検出または測定され得る。同様に、目的の（例えば、遺伝的試験のための、DNAフィンガープリントングのための、変異を検出するための、当該分野において公知の他の目的のための）配列を有するDNAの存在が検出または測定され得る。さらに、試験はまた、タンパク質（例えば、ポリメラーゼ、アクチベータまたはインヒビタ）のDNAまたはmRNAのフラグメント（例えば、プロモータまたはエンハンサー）に対する結合を検出または測定し得る。試験はまた、物質（例えば、薬物）のタンパク質に対する結合を検出または測定し得る。これらの方法としては、ノザンプロッティング（（例えば、オリゴヌクレオチドまたはより長い核酸配列（これらは、放射標識されても、化学的に標識されいても、免疫標識されいても、蛍光標識されいてもよい。）を用いる）ハイブリダイゼーション検出が挙げられるが、これらに限定されない。PCR法は、定性的であり得、より好ましくは、定量的（例えば、定量的PCR）であり得る。mRNAは、インビボ、インサイチュまたはインビトロで検出され得る。例えば、タンパク質は、血液にて、単離された血液細胞（例えば、白血球）の試料にて、リンパにて、唾液にて、または他の型の生物学的試料（細胞試料（例えば、骨髄、リンパ節）を含む。）にて検出され得る。ハイブリダイゼーションまたはPCRに使用される核酸は、特異的であっても変性していてもよい。さらに、これらは、試料が得られる動物種に対応してもよく、その配列は、異なる種に対応（例えば、ラット、ヒトまたはニワトリの試料をプロ

30

40

50

ープするためにマウス配列を使用)してもよい。

【0194】

細胞の「単離された」または「精製した(精製された)」集団は、天然では結合している細胞および物質を実質的に含まない。実質的に含まないA P Cまたは実質的に精製されたA P Cによって、少なくとも50%のA P C集団が意図され、天然では結合しているA P Cではない細胞を、好ましくは少なくとも70%、より好ましくは少なくとも80%、さらにより好ましくは少なくとも90%含まない。

【0195】

「免疫原」は、免疫応答を惹起し得る物質である。各免疫グロブリン分子は、その独特の特性(すなわち、「イディオタイプ」)で指向される種々の抗体を潜在的に結合し得、イディオタイプは一連の「イディオタイプ」から構成される。「イディオタイプ」は、抗体の可変領域またはT細胞レセプター上の単一の抗原決定基である。これは、抗体を独特にするイディオタイプを含む抗体上のイディオタイプのセットである。「ドミナントなイディオタイプ」は、抗原に応答して生成される抗体の主要な機能に対して見出されるイディオタイプである。

10

【0196】

「ベクター」は、レプリコン(例えば、プラスミド、ファージまたはコスミド)である。このレプリコンは、別のDNAセグメントにアタックし、その結果、アタックされたセグメントの複製をもたらす。「レプリコン」は、DNA自己複製ユニットとしてインビボで機能する(すなわち、自己の制御下で複製し得る。)任意の遺伝的エレメント(例えば、プラスミド、染色体、ウイルス)である。

20

【0197】

「プリオン」は複製し得るタンパク質またはタンパク質フラグメントである。

【0198】

「病原性生物」としては、ウイルス、微生物または寄生虫が挙げられる。病原性生物は、異常な生理学的状態もしくは疾患または異常な生理学的応答を引き起こし得る。病原性生物は、感染性であり得る。

【0199】

「生物学的試料」は、組織、細胞、血液、体液または生物(biological organism)由来の他の材料を含む。生物学的試料はまた、生物、細胞、ウイルス、または他の複製可能な実在物を含む。また、固体培養物(例えば、細菌培養物または組織培養物)も含まれる。また、固体試料(食品、粉末および他の固体(非生物学的固体(生物、細胞、ウイルスまたは他の複製可能な実在物を含む。))を含む。)が挙げられるが、これらに限定されない。)も含まれる。また、洗浄、ホモジナイズ、超音波処理、および固体試料の同様の処理も含まれる。同様に、この用語は非生物学的試料を含む。

30

【0200】

「非固体生物学的試料」は、組織または器官ではないものが含まれる。例としては、血液、血漿、血清、粘液、尿、唾液、精液、膣排泄物(vaginal discharge)、汗、涙、リンパ、胃腸内懸濁物または懸濁液、および脳脊髄液が挙げられるが、これらに限定されない。また、培養物(例えば、細菌培養物または組織培養物)およびファージ溶解物が含まれる。また、液体試料(水および飲料(生物、細胞、ウイルスまたは他の複製可能な実在物が含まれている。))が挙げられるが、これらに限定されない。)が含まれる。また、懸濁物およびコロイド混合物(mixt)が含まれる。

40

【0201】

「非生物学的試料」は、生物から得られない試料を含む。このような試料は生物学的試料が夾雜するような場合を除く。非生物学的試料は液体形態、気体形態または固体形態であり得る。非生物学的試料としては、非生物学的固体試料、液体試料、気体試料、溶液、懸濁液、コロイド状混合物およびエアロゾルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0202】

「非生物学的固体試料」は、広範な種々の品目(木、コンクリート、泥、プラスチック

50

、および夾雜する可能性のある他の任意の固体が挙げられるが、これらに限定されない。)より得られる試料を含む。これらの試料は、粉碎されても、超音波処理されても、細かく刻まれても、切り刻まれても、すりつぶされても、さもなくば、微粒子に粉碎されてもよく、次いで、本発明に係る器具における分離の前に、コロイド状の混合物または懸濁物として調製されてもよい。より好ましくは、非生物学的固体試料は、溶液中に溶解される。

#### 【0203】

「非生物学的液体試料」は、広範な試料(水、有機溶媒、水溶液または有機溶液などを含むがこれらに限定されない。)を含む。

#### 【0204】

細胞(例えば、組織、器官または多細胞生物の細胞)を分離する方法は、物理的方法、化学的方法、および酵素的方法を含む。例としては、好ましくは、生理学的緩衝液(例えば、本明細書中に記載されるものまたは当業者に公知のもの)中における、ホモジナイズ、超音波処理およびすりつぶしが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0205】

当業者は、非生物学的試料の調製に使用するための方法のいくつかを容易に適応する。

#### 【0206】

好ましくは、細胞は、白血球、上皮細胞、口腔内細胞、組織培養細胞、精液、腔内細胞(vaginal cell)、尿路細胞、結腸直腸の細胞、植物細胞、細菌細胞および酵母細胞からなる群より選択される。

#### 【0207】

1つの実施形態において、本発明の方法は、任意の全細胞懸濁物に対して都合よく適用され得る。あるいは、細胞は、試験ストリップに曝露する前に器官および/または核酸を放出するために溶解され得る。

#### 【0208】

検出プロセスは、指示薬(indicator)の使用を含み得る。本発明の指示薬によって生成されるシグナルは、基板上での所定の核酸またはタンパク質の存在についての陽性の同定結果を提供する。例えば、核酸は、特異的または非特異的な核酸プローブまたは他のシグナル生成器(signal generator)および1つの型の免疫アッセイの使用によって検出(および好ましくは、定量)され得る。タンパク質は、免疫アッセイの使用によって検出(および好ましくは、定量)され得る。好ましくは、指示薬は、蛍光指示薬、着色指示薬、または光度指示薬(photometric indicator)を含む。あるいは、ビオチンおよびポリアビシン-西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)と抱合された抗体が使用され得る。あるいは、ポリエチレンイミン-ペルオキシダーゼ複合体(PEI-PO)を使用するアッセイが使用され得る。なお、ポリエチレンイミンはDNAと相互作用し、このアッセイは、当該分野において公知である。他の検出法は当業者に明らかである。

#### 【0209】

いくつかの実施形態において、特に光感受性の実施形態において、一般には光および/または特に特定の波長の光への曝露を阻害する上部筐体および下部筐体を提供することが必要であり得る。指示薬が試験ストリップ材料上に常に存在しない場合、指示薬が添加されても、必要であれば、筐体内の試験ストリップとともにインキュベートされてもよい。指示薬は、試験ストリップ材料を介して容易に滴下され、廃棄される。ブロッキング試薬および洗浄が、同様に試験ストリップ材料を介して回され得るが、好ましい実施形態において、ブロッキングは必要でない。調製工程が完了した場合、光の非存在下(または指示薬の反応に対する波長の光の非存在下)で筐体が開けられ、試験ストリップ材料は、光度反応(photometric reaction)を引き起こすために所望の光に曝露される。

#### 【0210】

「生理学的状態(条件)」は、正常であっても異常であってもよい。生理学的状態は、生物の遺伝的な形成(種々のタンパク質の発現を含むがこれに限定されない。)から、環境的因素(薬物、毒物、食物および飲料、ならびに毒性物質または非毒性物質への生物の

10

20

30

40

50

曝露を含むが、これらに限定されない。)から、疾患(感染性または非感染性の両方)から、傷害から、代謝性障害から、妊娠または授乳から、ならびに当該分野において公知の広範な他の環境から、生じ得る。例としては、妊娠、授乳、後天性免疫不全症候群(AIDS; 例えば、ヒト免疫不全症候群(HIV))または他の性的に伝染された疾患(例えば、梅毒、淋病、ヘルペス)、結核、エボラ熱、マラリア熱、ラッサ熱、肝炎(A、B、C、DまたはE)、テング熱、肺炎(例えば、細菌性肺炎、ウイルス性肺炎)、ならびに遺伝的疾患、症候群、または生物の遺伝型および/または表現型に関連する多型が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0211】

例えば、妊娠したヒト妊婦が、自身の血中および尿中に、漸増レベルのヒト絨毛膜刺激ホルモン(hCG)を有しており、hCGが妊娠試験のマーカーとして使用され得ることは、当該分野において周知である。10

#### 【0212】

「異常な生理学的状態または疾患」および「異常な生理学的応答」の例としては、ガン、非免疫原性腫瘍の増殖、アレルギー、喘息、自己免疫疾患、感染性疾患および炎症が挙げられるが、これらに限定されない。ガン細胞および非免疫原性腫瘍細胞は、しばしば異常なタンパク質発現(変異したヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質の発現、異常レベルのタンパク質発現、またはタンパク質の不適切な発現を含む。)によって特徴付けられる。アレルギーおよび喘息(特に、アレルギー性喘息)は、しばしばマスト細胞、骨髄由来細胞の異常な集積によって特徴付けられる。これらの細胞は、脱顆粒してヒスタミンを放出し、アレルゲンに応答する多くの刺激(例えば、IgE)による異常な活性化に応じてヒスタミンを合成する。自己免疫疾患は、「自己」に対して指向し、異常レベルのMHCクラスII細胞によって特徴付けられ、T細胞(特に、CD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞)を自己活性化する。感染性疾患による感染は、事故応答を引き起こす。感染、傷害または自己免疫傷害に起因し得る炎症は、免疫応答に類似する応答を引き起こす。これらの状態は、いくつかのタンパク質の上方制御および他のタンパク質の下方制御によって特徴付けられる。20

#### 【0213】

用語「ガン」および「新生物」は、交換可能に使用され、単数形態または複数形態であり、宿主生物に対して病原性を与える悪性の形質転換が進行する細胞をいう。本明細書中で使用される場合、ガン細胞の規定は、ガンの初代細胞だけでなく、ガン細胞の祖先に由来する任意の細胞ならびにガン細胞に由来するインビトロでの培養物および細胞株が含まれる。用語「腫瘍」は、単数形態または複数形態であり、「ガン」および「新生物」の両方を含み、非悪性であるが異常である細胞の増殖も含む。ガン/新生物腫瘍細胞と非悪性腫瘍細胞との間の区別は、種々の試験、特に組織学的検査を使用して決定され得る。30

#### 【0214】

「有効量」は、有益または所望の結果をもたらすに十分な量である。有効量は、有益または所望の結果を達成するために1回以上投与され得る。

#### 【0215】

本明細書中で使用される場合、「治療的有効量」は、異常な生理学的応答を防ぐ、補正するおよび/または正常化するに十分な量を意味して本明細書中で使用される。1つの局面において、「治療的有効量」は、臨床的に重要な病原性の特性(例えば、腫瘍容積、抗体産生、サイトカイン、熱または白血球数)を少なくとも約30%、より好ましくは少なくとも50%、最も好ましくは少なくとも90%低減するに十分な量である。さらに、治療的有効量は、臨床的に重要な病原性の特性(例えば、サイトカイン産生)を少なくとも約30%、より好ましくは少なくとも50%、最も好ましくは少なくとも90%低減するに十分な量である。40

#### 【0216】

本明細書中で使用される場合、「薬物」は、生理学的状態のための医薬であっても他の処理であってもよく、生理学的状態を変更するに採用される任意の物質であってもよい。50

「薬物」としては、化学的医薬、生物学的医薬、放射線学的医薬、および他の医薬、処置、製薬、または生理学的状態を変更するために採用される物質（食品以外）が挙げられるが、これらに限定されない。「薬物」はまた、治療剤または物質（食品以外）を含み、疾患の予防、診断、緩和、処置または治療(cure)に用いられる。

#### 【0217】

本明細書中で使用される場合、「代謝」は、「生物形質転換(biotransformation)」を含み、「薬物代謝」は薬物の「生物形質転換」をいう。「代謝」はまた、組織内で生じる化学的变化および物理的变化の合計をいい、同化（小さな分子を大きな分子に変換する反応）および異化（大きな分子を小さな分子に変換する反応）からなり、内因性の大きな分子および生体異物の生分解を含む。同様に、「薬物代謝」は、薬物の生分解を含む。「一次代謝」は、中枢からマスト細胞への代謝プロセス（例えば、巨大分子の生合成、エネルギー産生、ターンオーバーなど）をいう。「二次代謝」は、物質（例えば、ピグメント、アルカロイド、テルペンなど）が、特定の組織または細胞内でのみ合成されるか、特定の条件下でのみ合成される代謝プロセスをいう。

#### 【0218】

本明細書中で使用される場合、「代謝産物(metabolite)」または「代謝物(metabolin)」は、「代謝または代謝的プロセスによって產生される任意の物質」を含み、「薬物代謝産物」または「薬物代謝物」は、薬物代謝によって、または薬物の投与により生じる代謝プロセスによって產生される任意の物質を含む。「代謝産物」または「代謝物」はまた、代謝（特に異化）の任意の産物（食料、中間体、消費(waste)産物）を含み、「一次代謝」または「二次代謝」のいずれであってもよい。「一次代謝産物」は、一次代謝の工程において合成されるが、「二次代謝産物」は二次代謝の工程において合成される。「薬物代謝産物」または「薬物代謝物」はまた、薬物代謝の任意の産物を含む。

#### 【0219】

薬物と種々のタンパク質および他のリガンドとの相互作用を試験するに本発明が有用であることが想定される。

#### 【0220】

既に知られている種々のリガンドとの相互作用に基づいて、薬物の存在について生物学的試料を試験するに本発明が有用であることもまた想定される。

#### 【0221】

本明細書中で使用される場合、用語「完全な保持器(maintainer)」または「完全に保持する(maintenance)手段」は、マトリクスの分解および／または喪失を防ぐ、封入可能な部材が意図される。好ましくは、本発明の完全な保持器は、気密シールを生成し、よって、空気、細菌または他の夾雑物がマトリクスおよび生成した核酸と接触することを防ぐ。完全な保持器は、シールを伴うかまたは伴わないプラスチックバッグ、セロハン、封入可能なコンテナ、パラフィンなどの形態であり得る。

#### 【0222】

他に示さない場合、「実質的」は、「特定されるものについて、十分に、しかし完全ではなく」を意味する。

#### 【0223】

本発明の種々の局面および実施形態が、実施例によってより詳細に記載される。他の実施例は、それ自体を当業者に示唆する。これらの実施例は、本発明を単に例示することが意図され、いかなる方法においても本発明を限定することは意図されない。詳細の改変は本発明の範囲から逸脱することなく明らかである。

#### 【0224】

##### 〔実施例〕

##### 〔実施例1：FUSION 5<sup>TM</sup>と他の材料との吸収性の比較〕

本発明の好ましい実施形態において、親水性マトリクスとして使用され得るFUSION 5<sup>TM</sup>(Whatman plc)の吸収性を、工業的標準品として一般的である他の3つの材料(CF3、CF4およびCF5)の吸収性と比較した。CF3、CF4およ

10

20

30

40

50

び CF 5 は、側方流動アッセイについての産業において典型的に使用され、当該分野において周知であるセルロース吸収体である。

【 0 2 2 5 】

< プロトコル : >

10 m l の脱イオン水を、ペトリ皿内に配置した。5 cm<sup>2</sup> 片の吸収体を、水内に配置する前に秤量し、10 秒間静置した。この吸収体を取り出して再度秤量した。湿潤重量から乾燥重量を差し引いて、5 cm<sup>2</sup> 片についての水吸収性を得た。この手順を各吸収体について 5 回行った。

【 0 2 2 6 】

< 結果 : >

実験結果を図 3 の棒グラフに示す。他の 3 つの材料についての水吸収性 / cm<sup>2</sup> の範囲は、30 mg / cm<sup>2</sup> からほぼ 100 mg / cm<sup>2</sup> であったが、FUSION 5<sup>TM</sup> 材料の吸収性は 40 mg / cm<sup>2</sup> であった（表 2 参照）。

【 0 2 2 7 】

【 表 2 】

材料	水吸収度 (mg/cm <sup>2</sup> )
FUSION 5 <sup>TM</sup>	40 mg/cm <sup>2</sup>
CF3	31
CF4	46
CF5	98

【 0 2 2 8 】

これらの結果は、FUSION 5<sup>TM</sup> 材料の水吸収性が、工業的標準品として使用される材料の水吸収性の範囲内であることを示す。

【 0 2 2 9 】

[ 実施例 2 : FUSION 5<sup>TM</sup> とニトロセルロース膜との運搬速度の比較 ]

本発明の好ましい実施形態において親水性マトリクスとして使用され得る FUSION 5<sup>TM</sup> (Whatman plc) の運搬速度を、3 つのニトロセルロース膜 (RP、FP および SP) の運搬速度と比較した。ニトロセルロース膜の中で、RP 膜は最も大きい平均孔径を有しているが、SP 膜は最も小さい平均孔径を有している。

【 0 2 3 0 】

< プロトコル : >

10 m l の脱イオン水を、ペトリ皿内に配置した。運搬用材料を 5 cm 長に切断し、頂端から下端まで 0.5 mm の鉛筆で印をつけた。運搬材料をクランプスタンドから垂直に垂らし、水が 0.5 mm の印に届くまで水中に下ろした。水が頂端の印に運搬されるための時間を記録した。この手順を各材料について 3 回行った。

【 0 2 3 1 】

< 結果 : >

実験結果を、図 4 の棒グラフに示す。各試料についての運搬速度を、材料の 4 cm 運搬するために必要な時間 (秒) として測定した。RP、FP および SP のニトロセルロース膜と比較して、FUSION 5<sup>TM</sup> 試料の 4 cm が 40 秒間で運搬された。これらの結果は、FUSION 5<sup>TM</sup> 材料の上方への試料運搬速度が、試験したニトロセルロース膜の運搬速度を上回ったことを示す。

【 0 2 3 2 】

10

20

30

40

【表3】

材料	4 cmの運搬速度(秒)
FUSION 5 <sup>TM</sup>	40 秒
RP	87
FP	175
SP	238

10

## 【0233】

FUSION 5<sup>TM</sup>のさらなる試験では、7.5 cmについて140秒間の運搬速度を得た。

## 【0234】

〔実施例3：金およびラテックスの担体ビーズを用いるFUSION 5<sup>TM</sup>の抱合放出〕

金担体ビーズとラテックス担体ビーズとの間での比較として、FUSION 5<sup>TM</sup>の抱合放出特性を調べた。

20

## 【0235】

<プロトコル：>

抱合体（Alchemy Labs, Dundee, UKからの40 nm金複合体；288 nmの色素化ラテックス（Estapor, Paris, France））を、18.2 MQ水（ミリQ水）または適切な緩衝液のいずれかで、公知の吸光度（520 nmでのOD1.0）に希釈した。抱合体（60 μl）を、FUSION 5<sup>TM</sup>抱合パッドのセグメントにピペットからアプライし、抱合パッドを定常レベルの乾燥度にまで乾燥した（37度2時間、続いて乾燥シリカゲルで覆って最低限12時間の貯蔵）。この抱合パッドを18.2 MQ水（試験管内に1 ml）中に配置することによって、放出量を測定した。抱合放出量を、吸光光度計内で金については520 nmにて、ラテックスについては280 nmにて吸光度を読み取ることにより測定した。

30

## 【0236】

<結果：>

実験結果を、図5の棒グラフに示す。試験管内の水への曝露45秒間後に、吸光度測定は、94%を超える金抱合担体ビーズ（G）の放出、および83%を超えるラテックス抱合担体ビーズ（L）の放出を示した。

## 【0237】

〔実施例4：血液分離器としてのFUSION 5<sup>TM</sup>の使用〕

FUSION 5<sup>TM</sup>血液分離器を調製して、血液分離器として使用した。

## 【0238】

<プロトコル：>

血液分離器を0.5 × 5 cmのストリップに切断し、各ストリップを秤量した。ストリップの表面上に全血（40 μl）をアプライし、分離器上でロードした。血液は側方に分離し得た。一旦分離を完了し、血漿含有セクションを切断し、秤量した。分離が完了するまでの時間を記録した。血漿含有材料を、遠心分離を利用する、ポリプロピレンメッシュを有する分離器（Whatman 6838-0005）に移した。血漿を13000 rpmで20分間スピナウトし、市販の試験（Sigma, St Louis）を用いて分析物全てについて分析した。各試験を10回繰り返した。36%のヘマトクリット値を有する婦人から得た血液について、結果を報告した。

40

## 【0239】

50

## &lt;結果:&gt;

側方流動方式では、FUSION 5<sup>TM</sup>ストリップは86%の効率(血清回収率)を有し、下方流動方式では、FUSION 5<sup>TM</sup>ストリップは67%の効率(血清回収率)を有した。分析物回収の証拠はない。

## 【0240】

側方流動方式を血液分離器として使用した結果を、遠心分離した血清と比較して表4に示す。

## 【0241】

## 【表4】

試験に利用可能な%*	FUSION 5 <sup>TM</sup>
血清容量	86%
総タンパク質*	98%±1.7%
IgG*	99%±1.1%
コレステロール*	101%±2.1%

10

\* 対 遠心分離した血清

20

## 【0242】

〔実施例5: FUSION 5<sup>TM</sup>材料のさらなる特性〕

FUSION 5<sup>TM</sup>のさらなる特性を研究した。結果を表5に示す。

## 【0243】

## 【表5】

試験／特性	結果
厚さ (μm @ 5 KPa)	370
クレム (Klemm) 運搬 (7.5 cm)	2:40 (min/sec)
最大孔径 (μm)	11.0
平均孔径 (μm)	4.6-5.6
水吸収度 (mg/cm <sup>2</sup> )	40
粒子保存 (μm)	2.3
金複合体の放出%	>94
ラテックス複合体の放出%	>83
得られた血清の利用可能な%	86

30

40

## 【0244】

〔実施例6: 妊娠試験のための全血を用いたFUSION 5<sup>TM</sup>の使用〕

(A. 妊娠試験のためのFUSION 5<sup>TM</sup>の調製)

8cm幅で50m長のFUSION 5<sup>TM</sup>のリールを用いた。操作中にさらなる機械強度を提供するために、FUSION 5<sup>TM</sup>マトリクスを、圧力感受性のPEカードに

50

貼り合わせた。

【0245】

<試験ライン：>

捕捉ゾーン（材料の端から約2.5cm）にて、モノクローナル抗hCG抗体に抱合された2ミクロンのラテックスビーズを、適切な緩衝液（例えば、10mMホスフェート（pH7.2））からFUSION 5<sup>T M</sup>マトリクスにアプライした。

【0246】

<対照ライン：>

対照ゾーン（材料の端から約2.7cm）にて、ヤギ抗マウスIgG抗体に抱合された2ミクロンのラテックスビーズを、適切な緩衝液（例えば、10mMホスフェート（pH7.2））からFUSION 5<sup>T M</sup>マトリクスにアプライした。 10

【0247】

<抱合放出：>

抱合放出ゾーン（材料の端から約1cm）にて、モノクローナル抗hCG抗体に抱合された150nm青色ラテックスコロイドを、適切な緩衝液（上記参照）からFUSION 5<sup>T M</sup>マトリクスにアプライした。

【0248】

ラインのアプライ後（同時に行われ得る）、ストリップ化したFUSION 5<sup>T M</sup>材料を、37°で少なくとも3時間乾燥した。 20

【0249】

FUSION 5<sup>T M</sup>を、5mm幅のストリップに切断し、プラスチック筐体内に配置した。

【0250】

（B.全血を用いるFUSION 5<sup>T M</sup>妊娠試験ストリップの使用）

100μlの全血を試験ストリップにアプライした。全血試料がストリップを流動するにつれて、全血の細胞成分がFUSION 5<sup>T M</sup>によって捕捉され、赤血球以外の非細胞成分の流動を可能にする。非細胞成分は抱合放出ゾーンに到達し、ラテックス複合体を懸濁する。試料および再懸濁された抱合体は、捕捉ラインまで流動し、存在する任意のhCGが、捕捉ライン上に存在する抗hDG抗体に到達し、サンドイッチを形成して、着色したラテックスが捕捉ラインで残存する。（捕捉ラインでの青色ラインの出現によって示される）陽性の結果は、漸増レベルのhCG（ヒトにおいて妊娠に関連するホルモン）の存在を示す。対照ラインでは、抱合体上の抗マウスIgGがモノクローナル抗体と相互作用する。漸増レベルのhCGが存在してもしなくても、対照ラインは青に変わる。 30

【0251】

〔実施例7：妊娠試験のための尿を用いるFUSION 5<sup>T M</sup>の使用についてのプロトコル〕

（A.妊娠試験のためのFUSION 5<sup>T M</sup>の調製

8cm幅で50m長のFUSION 5<sup>T M</sup>のリールを用いた。操作中にさらなる機械強度を提供するために、FUSION 5<sup>T M</sup>マトリクスを、圧力感受性のPEカードに貼り合わせた。 40

【0252】

<試験ライン：>

捕捉ゾーン（材料の端から約2.5cm）にて、モノクローナル抗hCG抗体に抱合された2ミクロンのラテックスビーズを、適切な緩衝液（例えば、10mMホスフェート（pH7.2））からFUSION 5<sup>T M</sup>マトリクスにアプライした。

【0253】

<対照ライン：>

対照ゾーン（材料の端から約2.7cm）にて、ヤギ抗マウスIgG抗体に抱合された2ミクロンのラテックスビーズを、適切な緩衝液（例えば、10mMホスフェート（pH7.2））からFUSION 5<sup>T M</sup>マトリクスにアプライした。 50

**【0254】**

<抱合放出 : >

抱合放出ゾーン（材料の端から約1cm）にて、モノクローナル抗hCG抗体に抱合された150nm青色ラテックスコロイドを、適切な緩衝液（上記参照）からFUSION<sup>TM</sup> N-5<sup>TM</sup>マトリクスにアプライした。

**【0255】**

ラインのアプライ後（同時に行われ得る）、ストリップ化したFUSION<sup>TM</sup> 5<sup>TM</sup> 材料を、37℃で少なくとも3時間乾燥した。

**【0256】**

FUSION<sup>TM</sup> 5<sup>TM</sup> を、5mm幅のストリップに切断し、プラスチック筐体内に配置した。 10

**【0257】**

（B. 尿を用いるFUSION<sup>TM</sup> 妊娠試験ストリップの使用）

100μlの全血を試験ストリップにアプライした。捕捉ゾーンに到達するまで、尿がストリップを流動する。尿は抱合体を懸濁し、尿試料と抱合体との相互作用を可能にする。存在する抗hDG抗体が、存在する金複合体に結合する。試料および再懸濁された金複合体は、捕捉ラインに向けて流動し、（捕捉ラインでの赤色ラインの出現によって示される）陽性の結果は、漸増レベルのhCG（ヒトにおいて妊娠に関連するホルモン）の存在を示す。漸増レベルのhCGが存在してもしなくても、対照ラインは赤に変わる。

**【0258】**

任意の過剰な金がラインを通過し、試験ストリップの先端に残存する。

20

**【0259】**

〔実施例8：ラインと対照ラインの分配、FUSION<sup>TM</sup> 膜上でのヒトIgGアッセイのための試験プロテインA - 金複合体の噴霧および乾燥〕

以下のプロトコルを用いて、FUSION<sup>TM</sup> 5<sup>TM</sup> 試験ストリップを作製した。

**【0260】**

（A. 必要な品目：）

**【0261】**

## 【化1】

名称	提案する 製造業者	
FUSION 5 <sup>TM</sup> 膜	Whatman	
60 mm backing	G&L (Los Angeles, CA)	
ラテックスプロテインA @ 20 mg/ml	DCN (San Diego, CA)	10
ラテックスマウス IgG @ 20 mg/ml	DCN	
セルロース グレード470	Schleicher & Schuell	
プロテインA金複合体， OD=20.0	DCN	
ヤギ抗マウス金複合体， OD=10.0	DCN	
下述するような適切な 緩衝液および安定化剤	Sigma または他の販売元	20

(吸光度(O. D.)を520nmで測定した。)

## 【0262】

(B. 必要な備品：)

100 μmセラミックチップを有するBIODOTTM AD5000<sup>TM</sup>、吸引ポンプ、および洗浄用設備(wash station)

FUSION 5<sup>TM</sup>膜上への液体アプライを制御するためのスクリプト

プローブ超音波処理器

30

ミニボルテックス

96穴ソースプレート

AIRJETQUANTI 3000<sup>TM</sup>ディスペンサーを有するXYZ3050(プリントヘッドに対して膜を移動してラインを生成するXY盤)

乾燥オーブン

BIODOT<sup>TM</sup> CM4000<sup>TM</sup> カッター

裁断器(slitter)またはペーパーカッター

5mmカセット

ロッカー

乾燥剤

40

ホイル袋。

## 【0263】

(C. 試験カード/ストリップ調製)

1. 上記のバッチの詳細を記録する。

2. FUSION 5<sup>TM</sup>膜を44mmストリップに切断する。

3. FUSION 5<sup>TM</sup>膜の44mmストリップを、裏打ちカード上に、カードの下端で整列するように貼り付ける。

4. AD5000およびコンピュータを作動する。スクリプトをロードしてFUSION 5<sup>TM</sup>膜上への液体のアプライを制御する

5. 試験ライン試薬および対照ライン試薬を各々1分間超音波処理する。96穴プレート

50

の適切なソースウェル内で、各試薬を、ボルテックスし、ピペッティングする。各カードは約 $200\mu l$ の各試薬を使用する。

6. スクリプトを実行する。

7. プロテインA - 金複合体(OD = 20.0にて)およびヤギ抗マウス金複合体(OD = 10.0にて)の両方に、20重量%のスクロースおよび5重量%のトレハロースを添加する。(ここで、DCN貯蔵緩衝液を使用した。10mMホウ酸溶液(pH 8.2)も使用し得る。しばしば、抱合体製造器(manufacturer)が、緩衝液を提供、指名または規定する。)完全に溶解または懸濁されるまでロッカー上に配置する。

8. プロテインA - 金複合体を、OD = 20.0、速度 $10\mu l/cm$ 、psi約1、マイクロメーター開口 = 1.0の条件で噴霧する。

9. カードを37で1時間乾燥する。

10. ヤギ抗マウス金複合体を、OD = 10.0、速度 $10\mu l/cm$ 、psi約1、マイクロメーター開口 = 1.0の条件で噴霧する。

11. カードを37で1時間乾燥する。

12. グレード470のセルロースを18mmストリップに切断し、カードの頂端で整列するように貼り付ける。

13. ラインランピングする流出物(line ramping issue)に起因して、各ラインの最初の15mmが消える(mark off)。運搬物(wick)が頂端になるようにカードを配置する。「0」がカードの左方になるように運搬物上に定規を整列する。58mm、115mm、173mmおよび231mmの点で開始する15mmラインを消す。カッターでカードをストリップに切断した後、これらのセクションを破棄する。

14. カードを5mmストリップに切断する。

15. 熱シールしあつ乾燥したホイル袋を試験の準備まで保存する。

【0264】

〔実施例9：FUSION 5<sup>TM</sup>試験ストリップを用いるヒトIgGアッセイの試験〕

(A. 必要な品目：)

【0265】

【化2】

名称

ヒトIgGアッセイ	, FUSION 5 <sup>TM</sup> 試験ストリップ
正常ヒト血漿	
1X PBS/0.1% TWEEN <sup>TM</sup> 20*	

【0266】

\* 1×リン酸緩衝化生理食塩水(PBS)/0.1% TWEEN<sup>TM</sup> 20を、10×PBS(137mM NaCl; 2.7mM KCl; 5.4mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1.8mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; pH 7.4)およびTWEEN<sup>TM</sup> 20から調製する。TWEEN<sup>TM</sup> 20(Sigma)は、ソルビタンモノ9オクタデセノエートポリ(オキシ-1,1-エタネドリル)、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、およびポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレートの名前で知られている。

【0267】

(B. 必要な備品：)

ピペット

試験管。

【0268】

(C. 試験：)

1. 泳動されるべき陽性ストリップの全てについて、1μlのヒト血漿または血清を、1

10

20

30

40

50

4 9  $\mu$  l の泳動用緩衝液と予め混合し、各カセットの試料侵入孔に添加する。

2 . 泳動されるべき陰性ストリップの全てについて、1 5 0  $\mu$  l の泳動用緩衝液を添加する。

3 . 各ストリップを1 5 分間泳動する；ストリップを1 5 分間泳動した後の結果を記録する。

### 【 0 2 6 9 】

〔実施例10：F U S I O N 5<sup>TM</sup>膜でのヒト免疫グロブリンアッセイ〕

材料の組成：

試料 / 抱合体パッド：F U S I O N 5<sup>TM</sup>（幅4 4 mm）（W h a t m a n ）膜

試験ライン試薬：L a t e x - P r o t e i n A @ 2 0 m g / m l および2 . 0 1 6 10  
 $\mu$  l / c m , D C N

対照ライン試薬：L a t e x - M o u s e I g G @ 2 0 m g / m l および2 . 0 1 6  
 $\mu$  l / c m , D C N

金複合体：プロテインA金複合体，OD = 2 0 . 0 , D C N

ヤギ抗マウス金複合体，OD = 1 0 . 0 , D C N

（吸光度（OD）を5 2 0 n mで測定した。）

頂部（t o p ）パッド：C e l l u l o s e 4 7 0 , 幅1 8 mm , S c h l e i c h e  
r & S c h u e l l / W h a t m a n

背部（b a c k i n g ）カード：6 0 mm b a c k i n g , G & L

カセット：5 mmカセット，D C N。

### 【 0 2 7 0 】

#### 【化3】

名称	提案する 製造業者 (必要な場合)	パート 番号
プロテインA金複合体， OD=20.0	DCN	PACO-010
ヤギ抗マウス金複合体， OD=10.0	DCN	PACG-010
下述するような適切な 緩衝液および安定化剤	Sigma	
1xPBS	Sigma	P-3813
TWEEN <sup>TM</sup> 20	Sigma	P-1379

（吸光度（O. D. ）を520nmで測定した。）

### 【 0 2 7 1 】

〔実施例11：膜でのヒトI g Gアッセイ - 標準的操作手順〕

（A . F U S I O N 5<sup>TM</sup>膜 - 材料の組成）

試料 / 抱合体パッド / : F U S I O N 5<sup>TM</sup>（幅4 4 mm）（W h a t m a n ）膜

試験ライン抗体：L a t e x - P r o t e i n A @ 2 0 m g / m l および2 . 0 1 6  $\mu$   
 $\mu$  l / c m , D C N

対照ライン抗体：L a t e x - M o u s e I g G @ 2 0 m g / m l および2 . 0 1 6  $\mu$   
 $\mu$  l / c m , D C N

頂部パッド：C e l l u l o s e 4 7 0 , 幅1 8 mm , S & S

背部カード：6 0 mm b a c k i n g , G & L

カセット：5 mmカセット，D C N

泳動用緩衝液：1 × P B S ( p H = 7 . 4 ) , 0 . 1 % T w e e n 2 0 。

### 【 0 2 7 2 】

(B . ラテックス - プロテイン A 抱合体およびラテックス - マウス IgG 抱合体)

捕捉抗体をラテックスに抱合する。抗体は分析物(ヒト IgG)および金複合体を捕捉するように働くが、ラテックスは、抗体を試験ライン上および対照ライン上の位置にアンカリングするように働く。ラテックスは白色であり、FUSION 5™ 膜の白色バックグラウンドに対してほとんど可視ではない。

【0273】

これらの抱合体は、BIOTET™ バルブのマイクロソレノイドバルブを介して泳動さえる際に変性される。この理由のために、試薬は分配のために吸引されなければならず、試薬がマイクロソレノイドバルブに到達する前に吸引され得る限定量が存在する。よって、試験ラインおよび対照ラインは約 5.8 mm ラインより短く並列することによってストリップされる。典型的には、吸引操作および分配操作は、実際のカード上で分配前に示される実際の速度を分配するためのディスペンサーをプライムする「予備分配」の使用を包含する。この手順は、試験カード上で「ラインランピング」の量を制限する。量が制限された試薬が存在するので、この工程は「バイパスされ」なければならず、ストリッピング後の余分な工程が、「ラインランピング」が通常生じる領域を廃棄するために、追加されなければならない。本質的に装備された BIODOT™ AD5000 は、試薬がマイクロソレノイドバルブに侵入する前により多くの容量を使用者が吸引することを可能にするべきである。これにより、試験カード上で「ラインランピング」の量を制限する。

【0274】

(C . 5 mm カセット)

5 mm カセットの使用により、試料パッドを欠くストリップ構成が可能になる。標準的な側方流動ストリップにおいて、試料パッドの重要な機能の 1 つは、分析物および緩衝液を、ストリップの残部に徐々に導入することである。これがない場合にストリップの「注入」が生じ得、分析物および緩衝液が、膜を通過するよりむしろ膜を素通りすること生じさせる。カセットは、試験する流体の流動を調節する(meter)ように働き、流体がストリップを徐々に泳動することを可能にする。

カセットは、この事象を、試料が領域に侵入する後にストリップをコンパクトにすることによって実行し、よって試験する流体がストリップの残部に徐々に導入される。

【0275】

(D . 乾燥)

乾燥工程は、棚(shelf)の寿命を長くすることを補助する。不完全な乾燥は、試験の価値低下を招く。各構成要素、特に、乾燥剤が完全に乾燥されるべきである。全ての乾燥剤が再度乾燥され、乾燥剤の使用および曝露が制御される。パッキングは低湿度(理想的には、相対湿度(R.H.) 20%未満)で行われるべきである。試験および乾燥剤曝露は、最小限であるべきであり、好ましくは最大限として数分間であるべきである。

【0276】

(E . アッセイ手順)

陽性試験結果キットのために、1 μl の正常ヒト血漿を、149 μl の泳動用緩衝液と予め混合する。試料全量を試料侵入口に添加する。陰性試験結果キットのために、150 μl の泳動用緩衝液を試料侵入口に添加する。ストリップを 15 分間展開させる。運搬パッドを使用する場合、ストリップの頂部で運搬パッドを剥がす(カセットの内部からストリップを除去する)ことによってアッセイを終える(top)。約 15 分間の時点で結果を読み取る。

【0277】

[実施例 12 ~ 14 : 同一プラットフォーム上での異なる捕捉抗体またはスクレオチド]

試験ストリップは複数の捕捉ラインを有し得る。その各々が異なる捕捉抗体を有している。実施例 12 において、各捕捉ラインが、同一の疾患についての異なる試験に向けられる。実施例 13 において、各捕捉ラインが、異なる試験に向けられ、各試験が、疾患の異

10

20

30

40

50

なる改変体もしくは種に向けられる、または密接に関連する疾患のファミリーにおける異なる疾患に向けられる。実施例 1 4において、各捕捉ラインは、異なる疾患についての試験に向けられる。

**【 0 2 7 8 】**

〔実施例 1 5 : H I V 、結核および / またはマラリア感染の同時試験〕

試験ストリップは、単一の血液試料を用いて感染症について患者を試験するための、複数の捕捉ラインを有している。ラインの 1 つが、後天性免疫不全症候群 ( A I D S ) を引き起こすヒト免疫不全ウイルス ( H I V ) を有する患者の感染について試験する ; ほかのラインは結核感染について試験し ; 別のラインはマラリアについて試験する。

**【 0 2 7 9 】**

10

本明細書中に記載される事項のバリエーション、改変およびほかの実行が、本発明の精神および範囲を逸脱することなく当業者に明らかである。

**【 0 2 8 0 】**

前述の実施例は、本発明を作製および実行する際に本発明者によって実施または完成された実験を例証する。これらの実施例が、本発明の属する技術分野を明らかにしあつその有用性を実証するために働くと考えられる。本明細書中に開示される技術および実施形態が好ましい実施携帯であり、一般に、同一の結果を達成するために、多数の等価な方法および技術が使用され得るということが、当業者には明らかである。

**【 0 2 8 1 】**

本明細書中にて上記および下記にて示される参考文献の全てが、本発明の実施形態の 1 つ以上を実施するために重要であり得る組成物および / または方法を記載し、示し、提供し、あるいは可能にする範囲まで、本明細書において参考として明らかに援用される。

20

**【 0 2 8 2 】**

〔参考文献〕

- 1 . 米国特許第 5 , 6 2 2 , 8 7 1 号 ( 1 9 9 7 年 4 月 2 2 日特許 )
- 2 . 米国特許第 4 , 4 7 7 , 5 7 5 号 ( 1 9 8 4 年 1 0 月 1 6 日特許 )
- 3 . 米国特許第 4 , 7 0 3 , 0 1 7 号 ( 1 9 8 7 年 1 0 月 2 7 日特許 )
- 4 . 米国特許第 5 , 0 7 5 , 0 7 8 号 ( 1 9 9 1 年 1 2 月 2 4 日特許 )
- 5 . 米国特許第 4 , 3 1 3 , 7 3 4 号 ( 1 9 8 2 年 2 月 2 日特許 )。

**【 図面の簡単な説明 】**

30

**【 0 2 8 3 】**

【 図 1 A 】筐体内の单層側方流動方式試験ストリップの一実施形態の分解図を示す。

【 図 1 B 】支持ストリップ上の单層側方流動方式試験ストリップの一実施形態の分解図を示す。

【 図 2 A 】单層側方流動方式の好ましい形態の利用方法を示す。

【 図 2 B 】单層側方流動方式の好ましい形態の利用方法を示す。

【 図 2 C 】单層側方流動方式の好ましい形態の利用方法を示す。

【 図 2 D 】单層側方流動方式の好ましい形態の利用方法を示す。

【 図 3 】他の材料と比較して、試験ストリップの モノリシック な親水性マトリクスの一実施形態の吸水度 ( m g / c m <sup>2</sup> ) を測定した実験結果を示す棒グラフである。

40

【 図 4 】3 種のニトロセルロース膜と比較して、試験ストリップの モノリシック な親水性マトリクスの一実施形態の、 4 c m での運搬速度 ( 秒 ) を測定した実験結果を示す棒グラフである。

【 図 5 】親水性マトリクスから標識化結合試薬の抱合放出 ( % ) の比較を示す棒グラフである。ここで、標識化結合試薬は、金担体ビーズ ( G ) 、またはラテックス担体ビーズ ( L ) を含む。

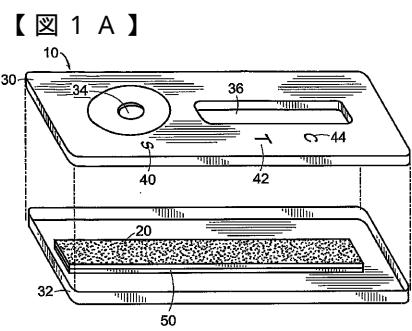


FIG. 1A



FIG. 1B

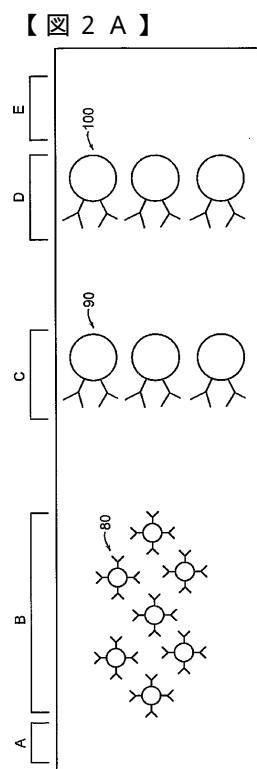


FIG. 2A

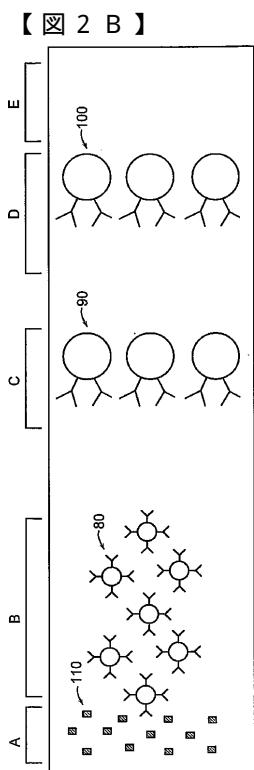


FIG. 2B

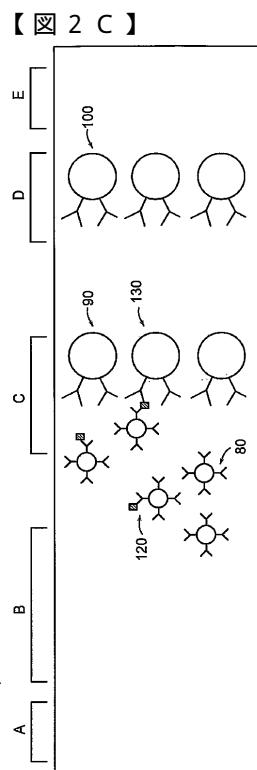


FIG. 2C

【図2D】

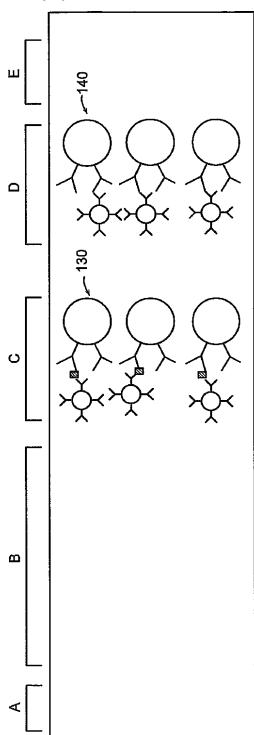
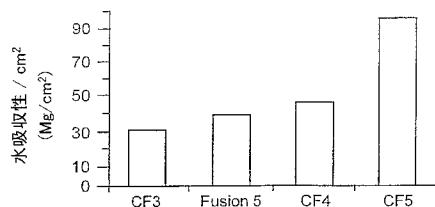
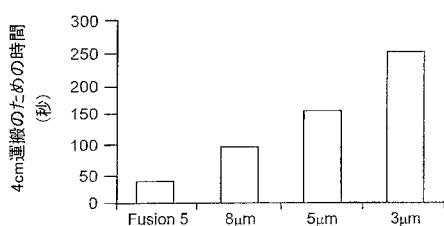


FIG. 2D

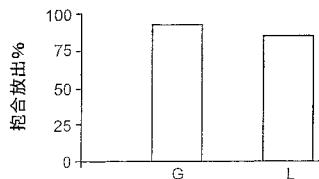
【図3】



【図4】



【図5】



---

フロントページの続き

(74)代理人 100091638

弁理士 江尻 ひろ子

(72)発明者 ジョーンズ, ケヴィン

アメリカ合衆国, 07005 ニュージャージー州, ブーントン, レイク ドライブ 13

(72)発明者 コックス, ディヴィッド

イギリス, エヌジー2 7イーピー ノッティンガム, ウエスト ブリッジフォード, レプトン  
ロード 31

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 特開平02-261395 (JP, A)

特開平08-220097 (JP, A)

特開平09-178748 (JP, A)

特開平07-325085 (JP, A)

特表平08-501628 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/53-33/543

专利名称(译)	侧方流动方式、材料、及び方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP4980884B2</a>	公开(公告)日	2012-07-18
申请号	JP2007506509	申请日	2005-03-30
[标]申请(专利权)人(译)	通用电气健康护理生物科学股份公司		
申请(专利权)人(译)	瓦特曼公司		
当前申请(专利权)人(译)	GE医疗集团生物科学公司		
[标]发明人	ジョーンズケヴィン コックスデイヴィッド		
发明人	ジョーンズ,ケヴィン コックス,デイヴィッド		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 G01N33/558		
CPC分类号	B82Y5/00 B82Y10/00 G01N33/558 Y02A50/53 Y02A50/58 Y10S436/805 Y10S436/81		
FI分类号	G01N33/543.521 G01N33/53.F		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	60/557851 2004-03-30 US		
其他公开文献	JP2007531882A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

### 摘要(译)

本发明提供横向流动格式以及在各种应用中使用该格式的材料和方法。更具体地，本发明提供了单层横向流动形式，材料和方法，用于使用包含含有单一亲水基质的干燥多孔介质的测试条检测分析物的存在。还提供了设备以及制作和使用该格式的方法。该格式对于诊断生理和遗传条件特别有用。此外，本发明提供了用于将试剂浓缩在多孔介质中的方法和材料。

重要な特性	明細	
	理論値	範囲
グラマージ(Grammage), gsm	75	65-85
厚さ, $\mu\text{m}$ @ 53kPa	370	Max 400
Gurley sec/100ml/0.1 sq in	16	14-22
M/D 張力, N/15mm		Min 15
M/D 湿った際の張力, N/15mm		Min 5
滴下圧力, mm H <sub>2</sub> O @ 10.5 fpm	16	13-18
平均孔径, $\mu\text{m}$	5.1	4.6-5.6