

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4806645号
(P4806645)

(45) 発行日 平成23年11月2日 (2011. 11. 2)

(24) 登録日 平成23年8月19日 (2011. 8. 19)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/543 (2006. 01)

GO 1 N 33/543 5 2 1

GO 1 N 33/53 (2006. 01)

GO 1 N 33/53 K

GO 1 N 33/569 (2006. 01)

GO 1 N 33/543 5 4 1 A

GO 1 N 33/569 G

GO 1 N 33/53 N

請求項の数 22 (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願2007-77660 (P2007-77660)
 (22) 出願日 平成19年3月23日 (2007. 3. 23)
 (65) 公開番号 特開2008-241251 (P2008-241251A)
 (43) 公開日 平成20年10月9日 (2008. 10. 9)
 審査請求日 平成21年6月29日 (2009. 6. 29)

(73) 特許権者 510005889
 ベックマン コールター, インコーポレ
 イテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 928
 21, プレア, エス. クレーマー ブー
 ルバード 250
 (74) 代理人 100108855
 弁理士 蔵田 昌俊
 (74) 代理人 100091351
 弁理士 河野 哲
 (74) 代理人 100088683
 弁理士 中村 誠
 (74) 代理人 100109830
 弁理士 福原 淑弘

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫学的検査用担体及び該担体を用いた検査方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

内部に液体が充填される免疫学的検査用担体であって、
 溶液注入口を備えた反応部 A と、
 前記反応部 A において反応した抗原抗体反応物を未反応物から分離するための分離部 C
 と、
 前記反応部 A と分離部 C とを連結し、前記反応部 A 及び分離部 C の底面より高位置に底
 面を有する連結部 B と、
 前記抗原抗体反応物を捕捉し検出するための検出部 D とを備え、
 前記反応部 A、連結部 B、分離部 C、及び検出部 D が該順序で連通して配置されたこと
 を特徴とする免疫学的検査用担体。

10

【請求項 2】

さらに、前記検出部 D に続いて、非特異的抗体を固相化したコントロール部 E を備える
 ことを特徴とする、請求項 1 に記載の免疫学的検査用担体。

【請求項 3】

前記反応部 A の底面から前記連結部 B の底面まで連続する壁面、並びに、前記連結部 B
 の底面から前記分離部 C の底面まで連続する壁面が、曲面で構成されることを特徴とする
 、請求項 1 又は 2 に記載の免疫学的検査用担体。

【請求項 4】

前記検出部 D の内部底面に、抗ヒト Ig G 抗体が固相化されたことを特徴とする、請求

20

項 1 ～ 3 の何れか 1 項に記載の免疫学的検査用担体。

【請求項 5】

前記検出部 D の内部底面に、A 型赤血球及び / 又は B 型赤血球に対する抗体が固相化されたことを特徴とする、血液型検査に用いるための請求項 1 ～ 3 の何れか 1 項に記載の免疫学的検査用担体。

【請求項 6】

前記検出部 D に、抗原抗体反応物を捕捉するためのフィルターを備えたことを特徴とする、請求項 1 ～ 3 の何れか 1 項に記載の免疫学的検査用担体。

【請求項 7】

請求項 2 又は 3 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、

10

前記反応部 A に磁性担体で標識化された抗原又は抗体を含む試薬と、検出されるべき抗体又は抗原を含む検体溶液を注入して、抗原抗体反応をさせる工程と、

前記反応部 A の外部底面から磁石を接近させて、該反応部 A の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集する工程と、

前記担体の外部底面に沿って前記磁石を移動させて、前記内部底面に収集された反応物を連結部 B へ移動し、さらに分離部 C を通過させることによって、該反応物と未反応物とを分離する工程と、

さらに前記磁石を移動させて、前記反応物を検出部 D、及びコントロール部 E まで移動させる工程と、

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記磁性標識化された抗原抗体反応物が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

20

を具備する、免疫学的検査方法。

【請求項 8】

請求項 2 又は 3 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、

前記反応部 A に磁性担体で標識化された抗原又は抗体を含む試薬と、検出されるべき抗体又は抗原を含む検体溶液を注入して、抗原抗体反応をさせる工程と、

前記連結部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E の下方に、該順序で磁力が増加するように磁石を設置することによって、前記反応部 A の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集させ、前記内部底面に収集された反応物を前記連結部 B を通過させて前記コントロール部 E まで移動させる工程と、

30

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記磁性標識化された抗原抗体反応物が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

を具備する、免疫学的検査方法。

【請求項 9】

請求項 2 又は 3 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、

前記反応部 A において、抗原又は抗体を磁性担体で標識化する工程と、

該反応部 A に、検出されるべき抗体又は抗原を含む検体溶液を注入して、前記磁性標識化された抗原又は抗体と抗原抗体反応をさせる工程と、

40

前記反応部 A の外部底面から磁石を接近させて、該反応部 A の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集する工程と、

前記担体の外部底面に沿って前記磁石を移動させて、前記内部底面に収集された反応物を連結部 B へ移動し、さらに分離部 C を通過させることによって、該反応物と未反応物とを分離する工程と、

さらに前記磁石を移動させて、前記反応物を検出部 D、及びコントロール部 E まで移動させる工程と、

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記磁性標識化された抗原抗体反応物が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

50

を具備する、免疫学的検査方法。

【請求項 10】

請求項 2 又は 3 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、
前記反応部 A において、抗原又は抗体を磁性担体で標識化する工程と、
該反応部 A に、検出されるべき抗体又は抗原を含む検体溶液を注入して、前記磁性標識化された抗原又は抗体と抗原抗体反応をさせる工程と、

前記連結部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E の外部下方に、該順序で磁力が増加するように磁石を設置することによって、前記反応部 A の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集させ、前記内部底面に収集された反応物を前記連結部 B を通過させて前記コントロール部 E まで移動させる工程と、

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記磁性標識化された抗原抗体反応物が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

を具備する、免疫学的検査方法。

【請求項 11】

前記検出部 D の内部底面に抗ヒト IgG 抗体が固相化された免疫学的検査用担体を用いる請求項 7 ~ 10 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法であって、

前記試薬に含まれる抗原が赤血球であり、

検出されるべき抗体が、前記磁性担体により磁性標識化された前記赤血球と結合し、さらに前記検出部 D に固相化された抗ヒト IgG 抗体と結合することによって固相化されることを特徴とする、抗体検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 12】

前記検出部 D の内部底面に抗ヒト IgG 抗体及び抗ヒト IgM 抗体が固相化された免疫学的検査用担体を用いる請求項 7 ~ 10 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法であって、

前記試薬に含まれる抗原が赤血球であり、

検出されるべき抗体が、前記磁性担体により磁性標識化された前記赤血球と結合し、さらに前記検出部 D に固相化された抗ヒト IgG 抗体又は抗ヒト IgM 抗体と結合することによって固相化されることを特徴とする、血液型うら検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 13】

前記検出部 D の内部にフィルターが備えられた免疫学的検査用担体を用いる請求項 7 ~ 10 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法であって、

前記試薬に含まれる抗原が赤血球であり、

検出されるべき抗体が、前記磁性担体により磁性標識化された前記赤血球と結合して凝集し、該凝集塊が検出部 D のフィルターに捕捉されることによって固相化されることを特徴とする、血液型うら検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 14】

請求項 5 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、

検体溶液に含まれる赤血球を磁性担体で標識化して前記反応部 A に注入するか、又は該反応部 A において赤血球を磁性標識化する工程と、

前記検査用担体の反応部 A の外部底面から磁石を接近させて、該反応部 A の内部底面に磁性標識化された赤血球を収集する工程と、

前記担体の外部底面に沿って前記磁石を移動させて、前記内部底面に収集された磁性標識化赤血球を連結部 B へ移動し、さらに分離部 C を通過させることによって、該磁性標識化赤血球と、前記検体中に含まれる抗体とを分離する工程と、

さらに磁石を移動させて、前記磁性標識化赤血球を検出部 D、及びコントロール部 E まで移動させる工程と、

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記磁性標識化赤血球が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

を具備する、血液型おもて検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 15】

請求項 5 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、

検体溶液中に含まれる赤血球を磁性担体で標識化して前記反応部 A に注入するか、又は該反応部 A において赤血球を磁性標識化する工程と、

前記連結部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E の下方に、該順序で磁力が増加するように磁石を設置することによって、前記反応部 A の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集させ、前記内部底面に収集された反応物を前記連結部 B を通過させて前記コントロール部 E まで移動させる工程と、

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記磁性標識化赤血球が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

を具備する、血液型おもて検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 16】

請求項 6 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、

検体溶液中に含まれる赤血球を磁性担体で標識化して前記反応部 A に注入するか、又は該反応部 A において赤血球を磁性標識化する工程と、

該反応部 A に、A 型赤血球又は B 型赤血球に対する抗体を含む試薬を注入し、磁性標識化された赤血球と凝集反応させる工程と、

前記反応部 A の外部底面から磁石を接近させて、該反応部 A の内部底面に磁性標識化された凝集塊を収集する工程と、

前記磁石を、前記担体の外部底面に沿ってコントロール部 E まで移動させて、前記凝集塊を検出部 D のフィルターに捕捉させる工程と、

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記凝集塊が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

を具備する、血液型おもて検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 17】

請求項 6 に記載の免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、

検体溶液中に含まれる赤血球を磁性担体で標識化して前記反応部 A に注入するか、又は該反応部 A において赤血球を磁性標識化する工程と、

該反応部 A に、A 型赤血球又は B 型赤血球に対する抗体を含む試薬を注入し、磁性標識化された赤血球と凝集反応させる工程と、

前記連結部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E の下方に、該順序で磁力が増加するように磁石を設置することによって、前記反応部 A の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集させ、前記内部底面に収集された反応物を前記連結部 B を通過させて前記コントロール部 E まで移動させる工程と、

前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記凝集塊が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程と、

を具備する、血液型おもて検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 18】

前記担体の下方に、該担体底面に対して磁石を垂直方向に斜めになるように配置することによって、前記連結部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E の順序で磁力を増加させることを特徴とする、請求項 8、10、15 及び 17 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法。

【請求項 19】

前記連結部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E の下方に、磁力の異なる永久磁石を配置することによって、該順序で磁力を増加させることを特徴とする、請求項 8、10、15 及び 17 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法。

【請求項 20】

前記担体の下方に電磁石を配置し、該電磁石の磁力を調節することによって、前記連結

10

20

30

40

50

部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E の順序で磁力を増加させることを特徴とする、請求項 8、10、15 及び 17 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法。

【請求項 21】

前記検出部 D の内部底面に抗ヒト IgG 抗体が固相化された免疫学的検査用担体を用いる請求項 7～10 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法であって、

前記試薬に含有され、磁性標識化される抗原がウイルス抗原であり、

前記反応部 A において、検出されるべき抗体が前記磁性標識化ウイルス抗原と結合し、さらに前記検出部 D において固相化された抗ヒト IgG 抗体と結合することによって固相化されることを特徴とする、ウイルス検査のための免疫学的検査方法。

【請求項 22】

10

前記検出部 D の内部底面に抗ウイルス抗原抗体が固相化された免疫学的検査用担体を用いる請求項 7～10 の何れか一項に記載の免疫学的検査方法であって、

前記試薬に含有され、磁性標識化される抗体が抗ウイルス抗原抗体であり、

前記反応部 A において、検出されるべきウイルス抗原が前記磁性標識化抗体と結合し、さらに前記検出部 D において固相化された抗ウイルス抗原抗体と結合することによって固相化されることを特徴とする、ウイルス検査のための免疫学的検査方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫学的検査に用いるための担体に関し、また、該担体を用いた検査方法に関する。

20

【背景技術】

【0002】

抗原抗体反応を利用する免疫学的検査の代表的な例は血液型判定である。血液型判定の一つである抗赤血球抗体検査は、一般に凝集塊をガラスやポリマー粒子で捕捉させる凝集法によって行われる（特許文献 1 を参照）。この凝集法は、生じた凝集塊を遠心分離によってふるいをかけて捕捉し、また、遠心分離によって比重で血球のみを沈降させて B/F 分離をする。よって、凝集法では遠心分離が必須であり、操作が煩雑で時間がかかる。また、自動化する際の課題ともなっている。

【0003】

30

免疫学的検査の他の方法として、固相法（Solid phase法）が Immucor 社、Olympus 社、及び Biotest 社などから考案されている。この方法は、感作された血球をマイクロプレートなどの固相面に付着させて沈降させる方法である。この沈降は、自然沈降でも可能であるが、一般に遠心分離によって行っている。また、固相面に固相化した血球を洗浄して B/F 分離している。このような洗浄による操作は、洗浄液の発生、廃液の発生、洗浄効果の確認の課題がある。さらに以上のような方法は、インジケータ粒子（標識血球、標識人工粒子）が必要であるという問題がある。

【特許文献 1】特表平 8 - 7215 号

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

40

【0004】

上記問題に鑑み、本発明は、抗原抗体反応物を検出する際に、遠心分離をすることなく容易に B/F 分離が可能であり、簡便且つ短時間で反応結果を判定できる免疫学的検査用担体を提供し、また、該担体を用いた検査方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明に従って、内部に液体が充填される免疫学的検査用担体であって、溶液注入口を備えた反応部 A と、前記反応部 A において反応した抗原抗体反応物を未反応物から分離するための分離部 C と、前記反応部 A と分離部 C とを連結し、前記反応部 A 及び分離部 C の底面より高位置に底面を有する連結部 B と、前記抗原抗体反応物を捕捉し検出するための

50

検出部 D とを備え、前記反応部 A、連結部 B、分離部 C、及び検出部 D が該順序で連通して配置されたことを特徴とする免疫学的検査用担体が提供される。

【0006】

該免疫学的検査用担体は、さらに前記検出部 D に続いて、非特異的抗体を固相化したコントロール部 E を備えることが好ましい。また、前記反応部 A の底面から前記連結部 B の底面まで連続する壁面、並びに、前記連結部 B の底面から前記分離部 C の底面まで連続する壁面が、曲面で構成されることが好ましい。

【0007】

本発明の他の側面から、上記免疫学的検査用担体を用いた免疫学的検査方法であって、前記反応部 A に磁性担体で標識化された抗原又は抗体を含む試薬と、検出されるべき抗体又は抗原を含む検体溶液を注入して、抗原抗体反応をさせる工程と、前記反応部 A の外部底面から磁石を接近させて、該反応部 A の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集する工程と、前記担体の外部底面に沿って前記磁石を移動させて、前記内部底面に収集された反応物を連結部 B へ移動し、さらに分離部 C を通過させることによって、該反応物と未反応物とを分離する工程と、さらに前記磁石を移動させて、前記反応物を検出部 D、及びコントロール部 E まで移動させる工程と、前記検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、前記磁性標識化された抗原抗体反応物が該検出部 D で検出された場合に陽性と判定し、前記コントロール部 E で検出された場合に陰性と判定する工程とを具備する、免疫学的検査方法が提供される。上記免疫学的検査方法では、前記試薬に含まれる抗原又は抗体は、反応部 A において磁性標識化されてもよい。

【発明の効果】

【0008】

本発明によれば、遠心分離をすることなく容易に B / F 分離が可能であり、簡便且つ短時間で反応結果を判定することができる免疫学的検査用担体を提供することができる。また、該担体を用いた検査方法を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

本発明によれば、抗原抗体反応を利用する免疫学的検査のための担体が提供される。本発明の免疫学的検査用担体は、反応物を磁性担体、例えば磁性粒子で標識化することを特徴とする検査方法のために用いられる。この検査方法では、担体の外部底面に磁石を接近させることによって磁性標識化された反応物を担体の内部底面に集め、次いで磁石を移動させることによって反応物を移動させ、適切な方法で固相化して検出する。

【0010】

以下、本発明の検査用担体の構造を説明する。本発明の検査用担体は、内部に液体が充填される検査用担体であって、溶液注入口を備えた反応部 A と、前記反応部 A において反応した抗原抗体反応物を未反応物から分離するための分離部 C と、前記反応部 A と分離部 C とを連結し、前記反応部 A 及び分離部 C の底面より高位置に底面を有する連結部 B と、前記抗原抗体反応物を捕捉し検出するための検出部 D とを備え、前記反応部 A、連結部 B、分離部 C、及び検出部 D が該順序で連通して配置される。

【0011】

本発明の検査用担体の外形は、例えば細長いセル状とすることができるが、他の形状であってもよい。担体は液体を充填することができるように、溶液注入口の他は密閉状態に構成される。担体は、ガラスや樹脂など、検出時の観察を妨げず、また磁力を妨げないものであれば、いずれの材質を用いて製造してもよい。

【0012】

図 1 に示したように、担体の端部には、上面に溶液注入口 1 を備えた反応部 A が配置される。反応部 A は、試薬と検体を反応させるためのスペースであり、溶液注入口 1 は、担体の充填液や試薬、検体、磁性粒子などを注入するために備えられる。

【0013】

反応部 A に続いて、連結部 B 及び分離部 C が備えられる。連結部 B は、図 1 に示したよ

10

20

30

40

50

うに、反応部 A と分離部 C とを連結するが、反応部 A 及び分離部 C の底面より高位置に底面を有することを特徴とする。このように、底面を高くして連結する構造によって、反応部 A と分離部 C との間で磁性標識化された抗原又は抗体、及び磁性標識化された抗原又は抗体との反応物の移動が可能でありながら、反応部 A に充填された液体と試薬と検体との混合液と、分離部 C に充填された液体とが混合することを防ぐことができる。液体の混合を防ぐことにより、反応部 A に存在する反応物や未反応物が、分離部 C に流入するのを抑制することができる。

【 0 0 1 4 】

なお、反応部 A の底面から連結部 B の底面まで連続する壁面、並びに、連結部 B の底面から分離部 C の底面まで連続する壁面は、曲面で構成されることが好ましい。即ち、図 1 のようにスロープ状に形成することが好ましい。この壁面をなだらかにすることによって、反応物の滑らかな移動を可能にし、反応物の損失を抑制すると共に、未反応物が共に移動することを減少させることができる。この壁面は、撥水性の素材で構成されることが好ましい。撥水性とすることにより、反応部 A と分離部 C の間の液体の移動及び混合を最小限にすることができる。

【 0 0 1 5 】

連結部 B に続いて備えられる分離部 C は、反応物を磁力によって移動させることにより、磁性標識化された抗原又は抗体、及び磁性標識化された抗原又は抗体との反応物のみを移動させるために備えられる。この分離部 C は、反応物と未反応物が充分に分離されるために必要な長さを有することが好ましく、これは適宜決定すればよい。

【 0 0 1 6 】

次に、分離部 C に続いて検出部 D が備えられる。一つの態様において、検出部 D には抗体が固相化される。固相化される抗体は、検査対象に応じて適宜選択される。例えば、抗ヒト Ig G 抗体、抗ヒト Ig M 抗体が固相化される。また、血液型検査において赤血球を検出する場合は、A 型赤血球及び / 又は B 型赤血球に対する抗体が固相化される。また、ある種のウイルスを検出する場合には、そのウイルスに特異的な抗体が固相化される。

【 0 0 1 7 】

もう一つの態様において、検出部 D にはフィルターが備えられる（図 2）。このフィルターは、反応物が凝集塊を生じる場合に、凝集塊を捕捉するために用いられる。フィルターは、検出部 D の底面付近に備えてもよいが、検出部 D の全面に備えられることが好ましい。フィルターは、ガラスやポリマー粒子、繊維等から製造されたものであってよく、凝集塊は捕捉されるが未反応分子は通過するものを用いる。

【 0 0 1 8 】

以上の検査用担体には、さらに任意に、検出部 D に続いてコントロール部 E が備えられる。コントロール部 E は、反応が正常に行われていることを確認するために備えられ、反応物と非特異的に結合する抗体が固相化される。この抗体は、検査対象に依存して適宜選択され、例えば、レクチンや抗赤血球抗体等を用いることができる。

【 0 0 1 9 】

連結部 B は、抗原抗体反応物が通過可能であるように、約 0.1 mm ~ 1 mm の高さを有することが好ましく、約 0.5 mm ~ 1 mm の高さを有することがより好ましい。担体の全長、即ち、反応部 A の端部からコントロール部 E の端部までの長さや高さなどのサイズは、適宜設定してよい。

【 0 0 2 0 】

次に、本発明の検査用担体を用いた検査方法を説明する。まず、検査用担体に溶液を充填する。充填溶液は、生理食塩水や緩衝液であってよく、反応を阻害しない溶液が適宜選択される。次に、反応部 A に磁性粒子で標識化された抗原又は抗体を含む試薬と、検出されるべき抗体又は抗原を含む検体溶液を注入して反応させる。ここで、試薬に含まれる抗原又は抗体の磁性標識化は、当該分野で周知の方法に従って行えばよい。他の方法として、磁性体粒子に赤血球などを付着させることにより標識化してもよく、この方法の方が容易である。磁性粒子体は、例えば、磁性体含有ゼラチン / アラビアゴムコアセルバートが

10

20

30

40

50

使用できる。

【 0 0 2 1 】

なお、上記のとおり予め磁性粒子で標識化された試薬を注入してもよいが、試薬と磁性粒子とを反応部 A に注入し、反応部 A において磁性標識化を行ってもよい。

【 0 0 2 2 】

また、試薬と検体溶液は同時に注入してもよく、連続的に投入してもよく、さらに、予め混合して反応させた反応溶液を注入してもよい。

【 0 0 2 3 】

反応がほぼ完了するのに十分な時間が経過した後、磁石を反応部 A の外部底面に接近させて、該担体の内部底面に磁性標識化された抗原抗体反応物を収集する。次いで、担体の外部底面に沿って磁石を移動させて、担体の内部底面に収集された反応物を連結部 B、分離部 C に移動させる。連結部 B を通過することによって、反応溶液から反応物のみを分離部 C に移動させることができる。さらに、反応物が分離部 C を移動する際、充填された溶液はほとんど流動しないため、反応物のみが分離部 C を移動し、反応物に付着していた未反応物が取り残され、B / F 分離することができる。

10

【 0 0 2 4 】

さらに磁石を移動させて、反応物を検出部 D、及び任意にコントロール部 E まで移動させる。検出部 D には、上記のように反応物を特異的に結合する抗体が固相化されており、反応が陽性である場合には、反応物が検出部 D に固相化される。反応が陰性である場合には、反応物は検出部 D では固相化されずにコントロール部 E まで移動し、このコントロール部 E には上記したように非特異的に結合する抗体が固相化されているため、反応物はここで固相化される。

20

【 0 0 2 5 】

従って、検出部 D 及びコントロール部 E を観察し、磁性標識化された抗原抗体反応物が検出部 D で検出された場合には陽性と判定し、コントロール部 E で検出された場合には陰性と判定することができる。

【 0 0 2 6 】

反応物の検出は、視覚で行うことができ、或いは、吸光度や濁度を測定することによっても検出することができる。赤血球を試薬として用いる場合は、予め蛍光色素で標識化しておき、蛍光を検出してもよい。

30

【 0 0 2 7 】

次に、具体的な検査のための検査用担体と検査方法を説明する。

< 抗体検査 >

血清等の検体中に存在する特定の抗体を検出する場合を説明する。この場合は、検出部 D の内部底面に抗ヒト Ig G 抗体を固相化し、コントロール部 E の内部底面にレクチンや抗赤血球抗体等の赤血球と非特異的に結合する非特異的抗体を固相化した検査用担体を用いる。試薬には、赤血球抗原を用い、予め磁性粒子で標識化しておくか、或いは反応部 A において標識化する。なお、これ以後、磁性標識化赤血球を M - R B C と称する。

【 0 0 2 8 】

まず、試薬及び検出されるべき抗体が含まれる検体溶液を反応部 A に注入して反応させる。検体中に所望の抗体が含まれている場合は、M - R B C と該抗体が結合する。反応がほぼ完了した後に、上記したように磁石を用いて M - R B C を連結部 B、分離部 C、検出部 D、及びコントロール部 E まで移動させる。

40

【 0 0 2 9 】

前記したように、検出部 D には抗ヒト Ig G 抗体が固相化されている。抗ヒト Ig G 抗体は、非特異的に抗体と結合するため、移動してきた M - R B C に所望の抗体が結合している場合は、該抗体が抗ヒト Ig G 抗体と結合し、これによって、M - R B C が検出部 D に固相化される。一方、検体中に所望の抗体が含まれていなかった場合、移動してきた M - R B C には抗体が結合していない。従って、M - R B C は検出部 D では固相化されず、コントロール部 E に固相化されている抗体と結合して固相化される。

50

【 0 0 3 0 】

M-RBCの移動が終了した後に担体を観察し、M-RBCが検出部Dで検出された場合は陽性、即ち、検体中に目的の抗体が含まれていると判定される。反対に、M-RBCがコントロール部Eで検出された場合は陰性、即ち、検体中に目的の抗体が含まれていないと判定される。

【 0 0 3 1 】

< 血液型うら検査Ⅰ >

抗体を検出して血液型を判定する、血液型うら検査について説明する。この場合は、検出部Dの内部底面に抗ヒトIgG抗体及び抗ヒトIgM抗体を固相化し、コントロール部Eの内部底面に非特異的抗体を固相化した検査用担体を用いる。抗ヒトIgG抗体及び抗ヒトIgM抗体は、混合して固相化されていてもよく、或いは、それぞれの抗体毎に固相化されていてもよい。

10

【 0 0 3 2 】

試薬には、磁性標識化赤血球(M-RBC)を用いる。検出されるべき抗体は、A型赤血球又はB型赤血球に対する抗体であり、ここでは抗A抗体及び抗B抗体と称する。例えばB型のヒトの場合、血清中には抗A抗体が存在する。このとき、試薬のM-RBCにA型赤血球を用いると、検体中の抗A抗体と結合し、さらに検出部Dに固相化された抗ヒトIgG抗体及び抗ヒトIgM抗体と結合する。

【 0 0 3 3 】

よって、A型赤血球試薬による検査でのみ陽性であった血液はB型であり、B型赤血球試薬による検査でのみ陽性であった血液はA型であり、両方の検査でともに陽性であった血液はO型であり、いずれの検査でも陰性であった血液はAB型であると判定される。

20

【 0 0 3 4 】

< 血液型うら検査Ⅱ >

次に、血液型うら検査のもう一つの態様について説明する。この場合は、検出部Dに赤血球と抗体で形成される凝集塊を捕捉するためのフィルターを備え、コントロール部Eの内部底面に非特異的抗体を固相化した検査用担体を用いる。

【 0 0 3 5 】

試薬及び検体は上記血液型うら検査Ⅰと同じである。但し、この検査では、M-RBCと抗体とが結合することによって生じた凝集塊を磁力によって移動させて、検出部Dのフィルターに捕捉させる。凝集が生じなかった場合は、M-RBCは検出部Dでは捕捉されずにコントロール部Eまで移動して固相化される。従って、上記と同様に、検出部Dで検出された場合は陽性、コントロール部Eで検出された場合は陰性と判定される。

30

【 0 0 3 6 】

< 血液型おもて検査Ⅰ >

次に、赤血球を検出して血液型を判定する、血液型おもて検査について説明する。この場合は、検出部Dの内部底面に、A型赤血球及び/又はB型赤血球に対する抗体を固相化し、コントロール部Eの内部底面に非特異的抗体を固相化した検査用担体を用いる。

【 0 0 3 7 】

このおもて検査Ⅰでは、試薬は不要であり、検査対象の赤血球を含む検体のみを用いればよい。検査対象の赤血球は、予め磁性粒子で標識化しておくか、或いは反応部Aにおいて標識化する。磁性標識化された赤血球(M-RBC)を、上記と同様に磁力によって移動させ、検出部D又はコントロール部Eに固相化させる。検出部Dに固相化された抗体がA型赤血球に対する抗体(抗A抗体)であるときにM-RBCが検出された場合は、検体中の赤血球はA型赤血球であると判定される。一方、検出部Dに固相化された抗体がB型赤血球に対する抗体(抗B抗体)であるときにM-RBCが検出された場合は、検体中の赤血球はB型赤血球であると判定される。

40

【 0 0 3 8 】

この検査では、検出部Dに抗A抗体と抗B抗体を別個に固相化してもよい。この場合、M-RBCがいずれの抗体に結合したかを検出することによって、一度の検査で血液型を

50

判定することができる。

【 0 0 3 9 】

< 血液型おもて検査II >

次に、血液型おもて検査のもう一つの態様について説明する。この場合は、検出部 D に赤血球と抗体から形成される凝集塊を捕捉するためのフィルターを備え、コントロール部 E の内部底面に非特異的抗体を固相化した検査用担体を用いる。

【 0 0 4 0 】

試薬には、抗 A 抗体又は抗 B 抗体を用いる。検査対象の赤血球は、上記と同様に磁性標識化する (M - R B C)。この検査では、M - R B C と抗体とが結合することによって生じた凝集塊を磁力によって移動させて、検出部 D のフィルターに捕捉させる。凝集が生じなかった場合は、M - R B C は検出部 D では捕捉されずにコントロール部 E まで移動して固相化される。従って、M - R B C が検出部 D で検出された場合は陽性、コントロール部 E で検出された場合は陰性と判定される。試薬に抗 A 抗体を用いた検査で陽性であった場合は、検査対象の赤血球は A 型と判定される。同様に、試薬に抗 B 抗体を用いた検査で陽性であった場合は、検査対象の赤血球は B 型と判定される。いずれの抗体を用いた検査でも陽性であった場合は A B 型であり、いずれの抗体を用いた検査でも陰性であった場合は O 型であると判定される。

【 0 0 4 1 】

< ウイルス検査 I >

次に、特定のウイルスに対する抗体が検体溶液中に存在しているか否かを検査するウイルス検査方法について説明する。この場合は、検出部 D の内部底面に抗ヒト I g G 抗体を固相化し、コントロール部 E の内部底面に、ウイルス抗原に特異的或いは非特異的に結合する抗体を固相化した検査用担体を用いる。

【 0 0 4 2 】

試薬にはウイルス抗原を用い、磁性粒子に結合させて標識化したものを用いる。或いは、反応部 A において磁性標識化する。検体中に目的の抗体、例えば肝炎ウイルス検査の場合は抗 H B s 抗体が含まれているとき、反応部 A において該抗体がウイルス抗原 (例えば肝炎ウイルス) と結合する。ウイルス抗原は磁性標識化されているため、上記の方法と同様に磁力によって移動され、検出部 D 及びコントロール部 E まで移動される。ここで、ウイルス抗原に抗体が結合していた場合は、該抗体が抗ヒト I g G 抗体と結合することによって固相化される。検体中に抗体が含まれていない場合は、ウイルス抗原は検出部 D では固相化されずにコントロール部 E まで移動し、ウイルス抗原に特異的或いは非特異的に結合する抗体によって固相化される。従って、検出部 D で磁性粒子が検出された場合は陽性、即ち、検体中に検出対象の抗体が含まれていると判定され、磁性粒子がコントロール部 E で検出された場合は陰性、即ち、検体中に目的の抗体が含まれていないと判定することができる。

【 0 0 4 3 】

< ウイルス検査 II >

次に、特定のウイルスが検体中に存在しているか否かを検査するウイルス検査方法について説明する。この場合は、検出部 D の内部底面に、検出対象であるウイルスに特異的に結合する抗体 (例えば肝炎ウイルス検査の場合は抗 H B s 抗体) を固相化し、コントロール部 E の内部底面には抗体と非特異的に結合する非特異的抗体を固相化した検査用担体を用いる。

【 0 0 4 4 】

試薬には、検出対象ウイルスに特異的に結合する抗体を用い、磁性粒子に結合させて標識化したものを用いる。検体中に目的のウイルスが含まれている場合、反応部 A において磁性標識化された抗体と該ウイルスが結合する。この反応物は、上記の方法と同様に磁力によって移動され、検出部 D 及びコントロール部 E まで移動される。

【 0 0 4 5 】

ここで、磁性標識化された抗体にウイルスが結合している場合、該ウイルスがさらに検

10

20

30

40

50

出部 D に固相化されている特異的抗体と結合し、これによって磁性標識化された抗体が検出部 D に固相化される。即ち、固相化された抗体と磁性標識化された抗体とでウイルスを挟みサンドイッチ状に結合する。これによって、磁性粒子が検出部 D に固相化されて検出可能となる。

【 0 0 4 6 】

一方、検体中に目的のウイルスが含まれていない場合は、磁性標識化抗体はコントロール部 E まで移動されて固相化される。従って、検出部 D で磁性粒子が検出された場合は陽性、コントロール部 E で検出された場合は陰性と判定することができる。

【 0 0 4 7 】

以上に記載したように、本発明の検査用担体を用いることによって、遠心操作や洗浄操作が不要であり、また、B / F 分離を容易に行うことが可能である。さらに、溶液中での反応でありながら、磁力によって反応物を収集して反応させるため、反応物の密度を高くすることができ、固相法の利点であった高感度測定を達成することが可能である。さらに、反応途中での試薬の添加やインジケータの添加も必要ないため、簡便且つ低コストで検査を行うことができる。

【 0 0 4 8 】

なお、本発明の検査用担体は、図 1 に示した形状の他にも種々の形状を有することができる。例えば、図 3 に示したように、注入口 1 を上方に伸長させ、充填溶液や試薬等の注入を容易にすることができる。また、図 4 に示したように、反応部 A の上面を液中に沈めてもよい。

【 0 0 4 9 】

図 5 は、分離部 C からコントロール部 E までの領域の高さを低めたものであり、このような形状にすることによって、充填液の容量を減少することが可能であると共に、固相化反応の反応密度を上昇させ、さらに高感度の測定を可能にすることができる。

【 0 0 5 0 】

図 6 は、分離部 C を長くした変形例である。分離部 C を長くすることによって、B / F 分離の精度をさらに上昇させることができる。図 7 は同様に分離部 C を長くした変形例の平面図であり、直線状ではなく波型として分離部 C を長くしてもよい。同様に図 8 は曲線状の分離部 C を備えた変形例の平面図である。

【 0 0 5 1 】

さらに、図 9 は、連結部 B の上部に気泡を有する担体の例である。このような形状では、反応物が連結部 B の上部において液外を通るため、反応物と共に移動する反応液が減少される。よって、未反応物などの不純物の除去が促進され、検出部 D における反応精度を上昇させることができる。

【 0 0 5 2 】

また、例えば図 10 のように、連結部 B が反応部 A に対して低めに配置された形状の担体を用い、該担体の下方、反応部 B からコントロール部 E にわたって、磁石を担体底面に対して垂直方向に斜めになるように、反応部 A における反応が終了してから設置してもよい。この構成では、反応部 B からコントロール部 E に向けて磁力を徐々に強めることができ、磁石を移動させることなく磁性標識化反応物を自動的に移動させることができる。また、例えば図 11 のように、4 段階の異なる磁力を有する永久磁石を順に配置してもよい。この場合、永久磁石を検査用担体と平行に設置して、磁力を順次強くする。例えば、最も磁力の弱い磁石 51、次に磁力の弱い磁石 52、中程度の磁力の磁石 53、強い磁石 54 の順に配置する。また、例えば図 12 のように、電磁石 55 を配置することによって、無段階に弱い磁力から強い磁力へと磁力の分布状態を調節することができる。電磁石 55 を用いる場合は、磁性粒子の移動に合わせて、A ~ E の各部において順次磁力を発生させてもよい。

【 0 0 5 3 】

またさらに他の態様として、連結部 B が板状のしきりによって反応部 A と分離部 C とを隔てる構成であってもよい。

【 0 0 5 4 】

上記した本発明の担体は、反応部 A からコントロール部 E までは水平方向に配置された状態を基準に記載したが、コントロール部 E を下にした縦方向に設置して用いてもよい。

【 0 0 5 5 】

なお、本発明の担体は、例えば充填液を充填し、注入口を封着した状態で提供されることもできる。また、特定の検査のための担体と、検査に用いるための磁性粒子、及び反応に必要な試薬、緩衝液などを具備する検査キットとして提供することもできる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 5 6 】

【図 1】検査用担体の一実施形態の斜視図。

10

【図 2】検査用担体の一実施形態の部分斜視図。

【図 3】検査用担体の一実施形態の部分斜視図。

【図 4】検査用担体の他の実施形態の側面模式図。

【図 5】検査用担体の他の実施形態の側面模式図。

【図 6】検査用担体の他の実施形態の側面模式図。

【図 7】検査用担体の他の実施形態の平面模式図。

【図 8】検査用担体の他の実施形態の平面模式図。

【図 9】検査用担体の他の実施形態の側面模式図。

【図 10】検査用担体の他の実施形態の側面模式図。

【図 11】検査用担体の他の実施形態の側面模式図。

20

【図 12】検査用担体の他の実施形態の側面模式図。

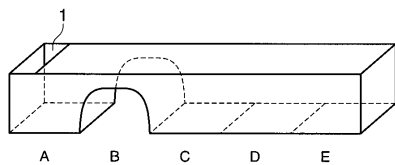
【符号の説明】

【 0 0 5 7 】

1 ... 溶液注入口、5 ... 磁石、55 ... 電磁石。

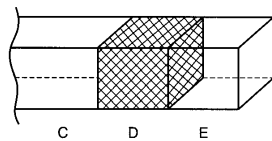
【図 1】

図 1



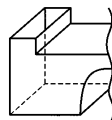
【図 2】

図 2



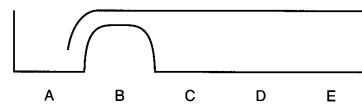
【図 3】

図 3



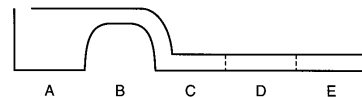
【図 4】

図 4



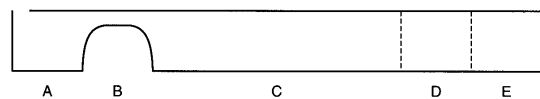
【図 5】

図 5



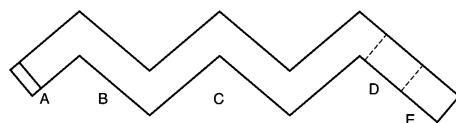
【図 6】

図 6



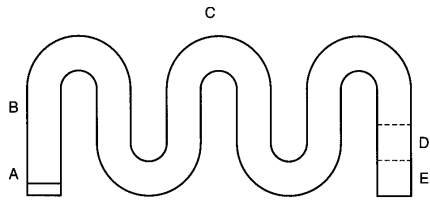
【図 7】

図 7



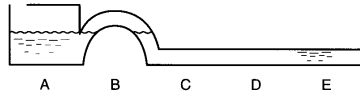
【図 8】

図 8



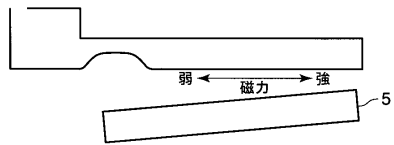
【図 9】

図 9



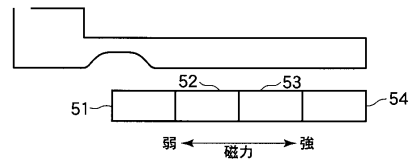
【図 10】

図 10



【図 11】

図 11



【図 12】

図 12



フロントページの続き

- (74)代理人 100075672
弁理士 峰 隆司
- (74)代理人 100095441
弁理士 白根 俊郎
- (74)代理人 100084618
弁理士 村松 貞男
- (74)代理人 100103034
弁理士 野河 信久
- (74)代理人 100119976
弁理士 幸長 保次郎
- (74)代理人 100153051
弁理士 河野 直樹
- (74)代理人 100140176
弁理士 砂川 克
- (74)代理人 100101812
弁理士 勝村 紘
- (74)代理人 100124394
弁理士 佐藤 立志
- (74)代理人 100112807
弁理士 岡田 貴志
- (74)代理人 100111073
弁理士 堀内 美保子
- (74)代理人 100134290
弁理士 竹内 将訓
- (74)代理人 100127144
弁理士 市原 卓三
- (74)代理人 100141933
弁理士 山下 元
- (72)発明者 玉井 豊廣
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス株式会社内
- (72)発明者 北野 宏能
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス株式会社内
- (72)発明者 小林 由美
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス株式会社内
- (72)発明者 田窪 健
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス株式会社内
- (72)発明者 吉村 成明
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス株式会社内

審査官 海野 佳子

- (56)参考文献 特開 2 0 0 6 - 3 0 8 5 7 2 (J P , A)
特開 2 0 0 2 - 1 2 2 5 9 9 (J P , A)
特開 2 0 0 5 - 3 0 8 6 6 8 (J P , A)
特開 2 0 0 4 - 0 7 7 2 5 8 (J P , A)

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
G 0 1 N 3 3 / 5 4 3

专利名称(译)	免疫学测试载体和使用所述载体的测试方法		
公开(公告)号	JP4806645B2	公开(公告)日	2011-11-02
申请号	JP2007077660	申请日	2007-03-23
[标]申请(专利权)人(译)	奥林巴斯株式会社		
申请(专利权)人(译)	奥林巴斯公司		
当前申请(专利权)人(译)	贝克曼库尔特有限公司		
[标]发明人	玉井豊廣 北野宏能 小林由美 田窪健 吉村成明		
发明人	玉井 豊廣 北野 宏能 小林 由美 田窪 健 吉村 成明		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 G01N33/569		
FI分类号	G01N33/543.521 G01N33/53.K G01N33/543.541.A G01N33/569.G G01N33/53.N		
代理人(译)	河野 哲 中村诚 河野直树 冈田隆 山下 元		
其他公开文献	JP2008241251A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种免疫学检查载体，其能够在不进行离心分离的情况下容易地分离B / F，并且在检测抗原 - 抗体反应物时在短时间内简单地确定反应结果，以及使用该载体的检查方法。 ŽSOLUTION：填充液体的免疫检查载体包括配备有溶液倾倒口的反应部分A，用于分离反应部分A中反应的抗原 - 抗体反应物与未反应物质的分离部分C，连接部分B连接反应部分A和分离部分C并且其底部的水平高于反应部分A和分离部分C的底部，以及用于捕获和检测抗原 - 抗体反应物的检测部分D.反应部分A，连接部分B，分离部分C和检测部分D按此顺序连通和排列。 Ž

