

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-71886

(P2007-71886A)

(43) 公開日 平成19年3月22日(2007.3.22)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/531 (2006.01)	GO 1 N 33/531 Z	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 525G	

審査請求 有 請求項の数 9 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2006-313203 (P2006-313203)	(71) 出願人	591125371
(22) 出願日	平成18年11月20日 (2006.11.20)		デンカ生研株式会社
(62) 分割の表示	特願2002-53372 (P2002-53372)		東京都中央区日本橋茅場町三丁目4番2号
	の分割	(74) 代理人	100059959
原出願日	平成14年2月28日 (2002.2.28)		弁理士 中村 稔
		(74) 代理人	100067013
			弁理士 大塚 文昭
		(74) 代理人	100082005
			弁理士 熊倉 禎男
		(74) 代理人	100065189
			弁理士 穴戸 嘉一
		(74) 代理人	100084009
			弁理士 小川 信夫
		(74) 代理人	100086771
			弁理士 西島 孝喜

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 着色担体を用いたアッセイ装置及びその作製方法

(57) 【要約】

【課題】 使用する際に、リガンドの担体への固定化のし忘れや、リガンドを固定した担体への検体の入れ忘れを軽減させることが可能となるアッセイ装置を提供すること。

【解決手段】 リガンドが固定化されている担体を含み、前記担体の固定化されている部分が着色されていることを特徴とするアッセイ装置、及び固定化しようとするリガンド液を着色剤で着色し、前記リガンド液を担体に固定化する前記アッセイ装置の作製方法を用いる。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

リガンドが固定化されている担体を含み、前記担体のリガンドが固定化されている部分が着色されていることを特徴とするアッセイ装置。

【請求項 2】

リガンドが抗原又は抗体であることを特徴とする請求項 1 に記載のアッセイ装置。

【請求項 3】

担体が膜又はフィルターであることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のアッセイ装置。

【請求項 4】

リガンドが複数存在し、担体の各々のリガンドが固定化されている各部分がリガンドの種類に応じて互いに異なる色で着色されている、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のアッセイ装置。

【請求項 5】

免疫測定法において使用される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のアッセイ装置。

【請求項 6】

固定化しようとするリガンド液を着色剤で着色し、前記リガンド液を担体に固定化する請求項 1 に記載のアッセイ装置の作製方法。

【請求項 7】

リガンドが抗原又は抗体であることを特徴とする請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

担体が膜又はフィルターであることを特徴とする請求項 6 または 7 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は免疫測定法に使用するアッセイ装置及びその作製方法に関するものであり、リガンドが固定化されている担体において、固定化されている部分が着色されていることを特徴とするアッセイ装置及びその作製方法に関するものである。

【背景技術】**【0002】**

従来、メンブランを用いたフロースルー型イムノアッセイ装置に代表される臨床診断用免疫測定装置において、その製造工程において担体にリガンドを固定化する際には、固定化に最適な無色な溶液にリガンドを溶解して、これをメンブラン上にスポットすることにより固定化を行っていた。従って、リガンド固定化後の確認が困難であり、固定化し忘れしたり、重複して固定化するという操作ミスを招くという欠点があった。また、従来法では固定化するリガンドが複数種であった場合でも、無色の溶液で固定化を行っていたため、固定化後や免疫測定法における使用時において各リガンドの固定化状況の確認が困難であるという欠点があった。

【発明の開示】**【発明が解決しようとする課題】****【0003】**

本発明は担体のリガンドへの固定化において、目視による担体へのリガンドの固定化の確認が出来ないという欠点を克服する、アッセイ装置及びその作製方法を提供することを目的とする。また本発明は、アッセイ装置を製造する場合、リガンドを固定化し忘れしたり、重複して固定化したりする操作ミスを無くし、大量に生産する際に有用な方法を提供することを目的とする。

また、本発明は、使用する際に、リガンドが固定化されている担体に、検体を入れたか容易に判断でき、検体の入れ忘れを軽減させることが可能となるアッセイ装置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】

10

20

30

40

50

【 0 0 0 4 】

本発明は、リガンドが固定化されている担体を含むアッセイ装置において、固定化されている部分が着色されていることを特徴とするアッセイ装置に関する。

また本発明は、固定化しようとするリガンド液を着色剤で着色し、前記リガンド液を担体に固定化する上記アッセイ装置の作製方法に関する。

また本発明はリガンドが抗原又は抗体であることを特徴とする上記装置または方法に関する。また本発明は担体が膜又はフィルターであることを特徴とする上記装置または方法に関する。

また本発明は、リガンドが複数存在し、担体の各々のリガンドが固定化されている各部分がリガンドの種類に応じて互いに異なる色で着色されているアッセイ装置に関する。

10

また本発明は、免疫測定法において使用される上記アッセイ装置に関する。

また本発明は、固定化しようとするリガンド液を着色剤で着色し、前記リガンド液を担体に固定化する上記記載のアッセイ装置の作製方法に関する。

また本発明は、上記方法において、リガンドが抗原又は抗体であることを特徴とする方法に関する。

また本発明は、上記方法において担体が膜又はフィルターであることを特徴とする方法に関する。

【 発明の効果 】

【 0 0 0 5 】

本発明のアッセイ装置の作製方法により、アッセイ装置の製造時において、固定化工程の操作ミスを軽減することができる。また、固定化の確認工程における確認作業の効率を上げることができる。

20

また、本発明のアッセイ装置により、検体の入れ忘れなど検体取り扱い時の操作ミスを軽減することができる。

特に迅速簡便な試薬、例えば臨床診断用フロースルー型及びラテラルフロー型免疫測定装置の場合、操作ミスを起こすと、迅速簡便の意味が失われてしまうので、操作ミスを減らすことができることは、非常に有利である。

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 0 6 】

(アッセイ装置)

30

本発明のアッセイ装置は、リガンドが固定化されている担体を含み、前記担体の固定化されている部分が着色されていることを特徴とするアッセイ装置である。

本発明のアッセイ装置は、フロースルー型またはラテラルフロー型イムノアッセイ等の免疫測定法において使用することができる。

本明細書においてリガンドとは、分析対象物を捕捉するための受容体であって、担体に固定化されるものを意味する。具体例としては、抗ウイルス抗体、ウイルス抗原、遺伝子組換えウイルス中空粒子、遺伝子組換え大腸菌発現タンパク質等が挙げられる。またこれらのポリクローナル抗体、モノクローナル抗体が挙げられる。

【 0 0 0 7 】

担体は、リガンドを固定化するために用いる水に不溶性の支持体である。好ましい例としては膜またはフィルターが挙げられる。より具体的には、例えばニトロセルロースメンブレン、ナイロンメンブレン、P V D F (ポリビニリデンジフルオライド)メンブレンが挙げられる。

40

リガンドの担体への固定化方法は、例えば、膜またはフィルターに、リガンドを物理的に吸着または化学的に結合させ、乾燥させる方法が用いられる。

着色剤は、好ましくは固定化するリガンドの種類に応じて増やし、着色が明瞭であり、各々の着色と区別が容易なものを用いる。但し、着色剤は固定化および、リガンドの反応を阻害しないものが望ましく、また着色剤の濃度は反応後に判定に影響しない濃度が望ましい。具体的には、0.01~0.5% (w/v) の範囲が好ましい。

また、着色リガンド液を作製する際の溶媒としては、水、クエン酸緩衝液 (pH 4.5

50

～ 5.5) 等の緩衝液が挙げられる。

例えば着色剤には、合成色素、天然色素、pH指示薬等が挙げられる。より具体的には以下に示すものが挙げられる。

【0008】

合成色素

合成色素の例としては、食用赤色2号、食用赤色3号、食用赤色40号、食用赤色102号、食用赤色104号、食用赤色105号、食用赤色106号、食用青色1号、食用青色2号、食用黄色4号、食用黄色5号等が挙げられる。

【0009】

天然色素

天然色素の例としては、クチナシ黄色素、ベニバナ黄色素、ウコン色素、ベニコウジ黄色素、ベニコウジ色素、クチナシ赤色素、ベニバナ赤色素、ビートレッド、コチニール色素、ラック色素、アカネ色素、シソ色素、アカキャベツ色素、アカダイコン色素、ムラサキイモ色素、ブドウ果皮色素、エルダーベリー色素、トウガラシ色素、アナトー色素、クロロフィル、クチナシ青色素、スピルリナ色素、カカオ色素、タマリンド色素、カキ色素、コウリヤン色素、植物炭末色素等挙げられる。

【0010】

pH指示薬

pH指示薬の例としては、アリザリンイエロー (Alizarin Yellow)、アニリンブルー (Aniline Blue)、ブリリアントイエロー (Brilliant Yellow)、プロモクレゾールパープル (Bromocresol Purple)、クロロフェノールレッド (Chlorophenol Red)、コンゴレッド (Congo Red)、m-クレゾールパープル (m-Cresol Purple)、クレゾールレッド (Cresol Red)、デキストランレッド (Dextran Red)、ローズアニリン (Rosaniline)、ヘマトキシリン (Hematoxylin)、インジゴカルミン (Indigo Carmine)、メタニルイエロー (Metanil Yellow)、メチルグリーン 塩化亜鉛複塩 (Methyl Green Zinc Chloride Double Salt)、ニュートラルレッド (Neutral Red)、フェノールレッド (Phenol Red)、フェノールバイオレット (Phenol Violet)、カルボシアニン D B T C (Carbocyanin DBTC) 等が挙げられる。

【0011】

(アッセイ装置の作製方法)

上記アッセイ装置は、固定化しようとするリガンド液を上記着色剤で着色し、前記リガンド液を担体に上述した方法で固定化することにより製造することができる。

【実施例】

【0012】

以下の試薬及び装置を用いた。

抗体固定化用溶液

抗A型インフルエンザ抗体希釈液

食用色素赤色102号(株式会社三幸製)0.05%(w/v)を含むクエン酸緩衝液(pH5.0)

【0013】

抗B型インフルエンザ抗体希釈液

食用色素緑色(食用青色1号(3%)と食用黄色4号(7%)の混合物)を0.05%(w/v)を含むクエン酸緩衝液(pH5.0)

【0014】

測定用溶液

酵素標識抗体A型

アルカリフォスファターゼ標識抗A型インフルエンザモノクローナル抗体、及びアジ化ナトリウム(保存剤)を0.08%(w/v)を含む溶液

【0015】

酵素標識抗体B型

10

20

30

40

50

アルカリフォスファターゼ標識抗 B 型インフルエンザモノクローナル抗体、及びアジ化ナトリウム（保存剤）を 0.08%（w/v）を含む溶液

【0016】

洗浄液

保存剤としてアジ化ナトリウムを 0.08%（w/v）含む、トリス塩酸緩衝塩化ナトリウム液（pH 7.0）

【0017】

基質液

5-プロモ-4-クロロ-3-インドリルリン酸（150 μg/ml）、及びニトロテトラゾリウムブルー（300 μg/ml）を含む溶液（SIGMA社製）

10

反応停止液

クエン酸水溶液（21 mg/ml）

【0018】

アッセイ装置

アッセイに使用した装置の模式図を図 1 および図 2 に示す。図 1 は装置の平面図であり、図 2 は、図 1 の I I' 切断端面図である。図 1 及び 2 において、a は調製した試料を滴下する開口部を有し、底面部に試料が通過するための穴（A ホール及び B ホール）を備えたアダプターである。b はリガンドが固定化された担体であり、c は液体を吸収する部材である。

【0019】

20

固定化は、2種の抗体溶液をニトロセルロースメンブレンへ適量をスポットして行った。装置の A ホールには抗 A 型インフルエンザモノクローナル抗体（10 μg）溶液、B ホールには抗 B 型インフルエンザモノクローナル抗体（5 μg）溶液をそれぞれスポットし、その際の抗原及び抗体希釈液は着色剤を含む物と、含まない物を用意し、比較を行った。スポット後、45 の乾燥室で 40 分間乾燥を行い、測定に用いた。固定化後、着色剤により鮮やかな着色が確認された。

一方、着色剤未添加の物は、目視での識別は不可能であった。

【0020】

測定は、固定化されたデバイスに対して、陽性検体として希釈したインフルエンザ A 型及び B 型ウイルス、陰性検体として P B S（-）を使用して行った。試料を A ホール、B ホールに 150 μl ずつ気泡を入れないように滴下し、メンブレン上に液がなくなるまで常温に静置した。その後 A ホールに酵素標識抗体 A 型、B ホールに酵素標識抗体 B 型を 150 μl 滴下しメンブレン上に液がなくなるまで常温に静置した。A ホール、B ホールのアダプターを取り外した。その後、A ホール、B ホールそれぞれに洗浄液を 150 μl 滴下し、メンブレン上に液がなくなるまで常温に静置した。A ホール、B ホールそれぞれに基質液を 150 μl 滴下し、常温に 10 分間静置した。A ホール、B ホールそれぞれに反応停止液を 150 μl 滴下しメンブレン上に液がなくなるまで常温に静置した。反応停止後、目視で判定した。

30

【0021】

判定の結果、着色の有無による抗体及び抗原固定相への影響及び、抗原抗体反応への影響は見られなかった。

40

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図 1】本発明のアッセイ装置の一例の平面図である。

【図 2】図 1 の I I' 切断端面図である。

【符号の説明】

【0023】

A：穴

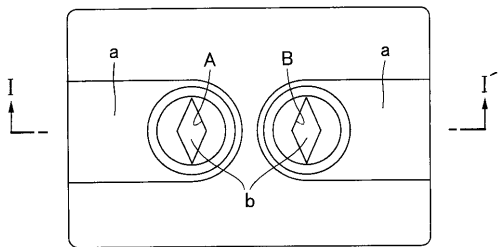
B：穴

a：アダプター

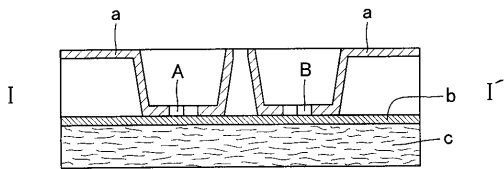
50

b : 担体
c : 液体吸取部材

【 図 1 】



【 図 2 】



【手続補正書】

【提出日】平成18年12月28日(2006.12.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

リガンドが固定化されている担体を含むアッセイ装置を用いる免疫測定方法であって、前記アッセイ装置の担体上の着色を確認することにより担体へのリガンドの固定化状況を確認する工程を含む、免疫測定方法。

【請求項2】

リガンドが抗原又は抗体であることを特徴とする請求項1に記載の免疫測定方法。

【請求項3】

担体が膜又はフィルターであることを特徴とする請求項1または2に記載の免疫測定方法。

【請求項4】

リガンドが複数存在し、担体の各々のリガンドが固定化されている各部分がリガンドの種類に応じて互いに異なる色で着色されている、請求項1～3のいずれか一項に記載の免疫測定方法。

【請求項5】

リガンドが固定化されている担体を含む免疫測定用アッセイ装置であって、前記装置の使用時に担体へのリガンドの固定化状況を確認するための着色を含む装置。

【請求項6】

リガンドが抗原又は抗体であることを特徴とする請求項5に記載の免疫測定用アッセイ装置。

【請求項7】

担体が膜又はフィルターであることを特徴とする請求項5または6に記載の免疫測定用アッセイ装置。

【請求項8】

リガンドが複数存在し、担体の各々のリガンドが固定化されている各部分がリガンドの種類に応じて互いに異なる色で着色されている、請求項5～7のいずれか一項に記載の免疫測定用アッセイ装置。

【請求項9】

請求項1～4のいずれか一項に記載の免疫測定方法に用いるための免疫測定用アッセイ装置。

フロントページの続き

(74)代理人 100084663

弁理士 箱田 篤

(72)発明者 加藤 大介

新潟県五泉市南本町 1 丁目 2 番 2 号 デンカ生研株式会社内

(72)発明者 鎌田 公仁夫

新潟県五泉市南本町 1 丁目 2 番 2 号 デンカ生研株式会社内

专利名称(译)	使用有色载体的分析装置及其制造方法		
公开(公告)号	JP2007071886A	公开(公告)日	2007-03-22
申请号	JP2006313203	申请日	2006-11-20
[标]申请(专利权)人(译)	电化生研株式会社		
申请(专利权)人(译)	デンカ生研株式会社		
[标]发明人	加藤大介 鎌田公仁夫		
发明人	加藤 大介 鎌田 公仁夫		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/543		
FI分类号	G01N33/531.Z G01N33/543.525.G		
代理人(译)	中村稔 小川伸男 西岛隆义		
其他公开文献	JP4616819B2 JP2007071886A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种能够减少忘记将配体固定在载体上或忘记将样品放在固定配体的载体上的测定装置。 解决方案：测定装置的特征在于其包含其上固定有配体的载体，其中载体的固定部分是有色的，和测定装置，其特征在于用着色剂着色配体溶液以固定化。 ，并将配体溶液固定在载体上。 【选择图】无

【图 1】

