

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-518969

(P2015-518969A)

(43) 公表日 平成27年7月6日(2015.7.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 K	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 W	
	GO 1 N 33/543 5 2 5 C	
	GO 1 N 33/543 5 2 5 U	
	GO 1 N 33/543 5 2 5 G	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁)

(21) 出願番号 特願2015-515577 (P2015-515577)
 (86) (22) 出願日 平成25年6月11日 (2013.6.11)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年2月6日 (2015.2.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/FR2013/051358
 (87) 国際公開番号 W02013/186482
 (87) 国際公開日 平成25年12月19日 (2013.12.19)
 (31) 優先権主張番号 1255452
 (32) 優先日 平成24年6月11日 (2012.6.11)
 (33) 優先権主張国 フランス (FR)

(71) 出願人 514313579
 アベオ・ディアジェ
 フランス・F-33650・マルティヤック・アレ・イザック・ニュートン・12
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100064908
 弁理士 志賀 正武
 (74) 代理人 100089037
 弁理士 渡邊 隆
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (72) 発明者 ナジム・シャイビ
 フランス・33140・ヴィルナーヴ・ドルノン・アヴニュー・デ・シアンス・6
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インビトロ診断装置及びその使用

(57) 【要約】

本発明は血液またはその成分の一つの試料中の、赤血球の表現型の抗原と、特に前記抗原に対する抗体との少なくとも一つの反応を検出するためのインビトロ診断装置(10)に関連する。上記装置は、基板(12)、及び厚さが0.5mmから1.5mmであり、孔の直径が2から30µmの疎水性の多孔質膜(14)を備えることを特徴とし、前記膜は上記試料を受けることを意図された少なくとも一つの親水性の反応ゾーン(16)を備える。本発明は免疫血液学における前記装置の使用にも関連する。

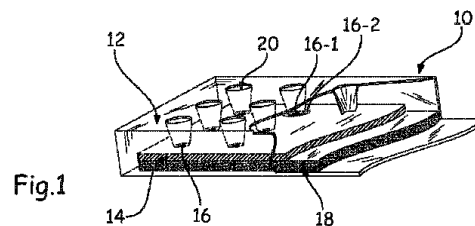


Fig.1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

血液またはその成分の一つの試料から、赤血球の表現型の抗原と、特にこの抗原に対する抗体との少なくとも一つの反応を検出するためのインビトロ診断装置（10）であって、

- 支持（12）、及び

- 0.05 mmから1.5 mmの厚さで、孔の直径が2 μmから30 μmの疎水性の多孔質膜（14）であって、前記膜が前記試料を受けると意図された少なくとも一つの親水性の反応領域（16）を備え、前記親水性の反応領域（16）の表面が前記疎水性の多孔質膜（14）の表面よりも小さい、疎水性の多孔質膜（14）、を備えることを特徴とするインビトロ診断装置（10）。 10

【請求項 2】

前記多孔質膜（14）の前記親水性の反応領域（16）が、前記多孔質膜の先行する化学的または物理的な処理によって多孔質基板の化学的機能を変更することなく、洗剤で親水性にされることを特徴とする、請求項 1 に記載の診断装置（10）。

【請求項 3】

前記洗剤が非イオン性の表面活性剤であることを特徴とする、請求項 2 に記載の診断装置（10）。

【請求項 4】

前記洗剤が0.01から2%（重量/体積）の量で使用されることを特徴とする、請求項 2 または 3 に記載の診断装置（10）。 20

【請求項 5】

前記多孔質膜（14）が前記支持（12）に配され、前記支持（12）が少なくとも一つの開口部（20）を備え、各開口部（20）が前記多孔質膜の各親水性の反応領域（16）に垂直であることを特徴とする、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。

【請求項 6】

前記支持（12）が硬質プラスチック支持であることを特徴とする、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。

【請求項 7】

前記多孔質膜（14）の下方に配された吸収性膜（18）も備えることを特徴とする、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。 30

【請求項 8】

前記多孔質膜（14）の前記親水性の反応領域（16）が捕捉剤も備えることを特徴とする、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。

【請求項 9】

前記捕捉剤が赤血球の型/表現型の抗原を備えることを特徴とする、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。

【請求項 10】

前記捕捉剤がヘモグロビンを欠いた赤血球であることを特徴とする、請求項 9 に記載の診断装置（10）。 40

【請求項 11】

前記捕捉剤が抗体であることを特徴とする、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。

【請求項 12】

前記捕捉剤がポリカチオン性のポリマーであることを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。

【請求項 13】

前記反応領域（16）が前記多孔質膜の厚さに全体にわたって親水性であることを特徴とする、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の診断装置（10）。 50

【請求項 14】

前記反応領域(16)が前記反応領域の表面で親水性であることを特徴とする、請求項1から13のいずれか一項に記載の診断装置(10)。

【請求項 15】

前記反応領域(16)が二つの親水性の領域(16-1、16-2)を備え、前記反応領域の中央(16-1)で、周辺(16-2)よりも親水化度が高いことを特徴とする、請求項1から14のいずれか一項に記載の診断装置(10)。

【請求項 16】

前記反応領域(16)が、異なる親水化度を有する二つの親水性の領域を有し、一方は表面、他方は厚さ中であることを特徴とする、請求項1から14の何れか一項に記載の診断装置(10)。

10

【請求項 17】

前記反応領域(16)が、前記多孔質膜の先行する化学的または物理的な処理によって多孔質基板の化学的機能を変更することなしに、二つの異なる洗剤で親水性にされることを特徴とする、請求項15または16に記載の診断装置(10)。

【請求項 18】

請求項1から17のいずれか一項に記載の装置(10)の製造方法であって、以下のステップを備えることを特徴とする製造方法：

- 0.05mmから1.5mmの厚さで、孔の直径が2μmから30μmの疎水性の多孔質膜(14)を、少なくとも一つの洗剤によって、前記膜の少なくとも一つの領域(16)上で親水化するステップ、

20

- 選択的に捕捉剤溶液を堆積するステップ、

- 乾燥するステップ、

- 前記多孔質膜(14)、及び選択的に、前記多孔質膜(14)の下方に配された吸収性膜(18)を、支持(12)と組み合わせるステップ。

【請求項 19】

血液またはその成分の一つの試料から、ABO血液型の同定及び決定、拡張Rhesus表現型検査、異常な凝集素の探索、自己抗体の探索、寒冷凝集素の探索、及び/またはクロス検証をするための、請求項1から17のいずれか一項に記載の装置の使用。

【請求項 20】

赤血球の試料から、抗原の二つの異なる分布の存在を検出するために、赤血球の血液型を表現型検査するプロセスであって、以下のステップを含むことを特徴とする表現型検査プロセス：

30

- 請求項1から7のいずれか一項に記載の装置(10)の前記反応領域の中央で前記多孔質膜(14)を水和するために溶液を堆積するステップであって、前記反応領域(16)が二つの親水性の領域(16-1、16-2)を備え、前記反応領域の中央(16-1)で周辺(16-2)よりも親水化度が高く、前記中央で抗体を含む捕捉剤を備えるステップ、

- 表現型検査される前記赤血球をバッファ液中で希釈するステップ、

- 表現型検査される前記赤血球を含むこの溶液を、前記反応領域の前記中央で加えるステップ、

40

- 保温するステップ、

- 前記反応領域上にリンス液を堆積するステップ。

【請求項 21】

赤血球の試料からの、赤血球の血液型の表現型検査プロセスであって、以下のステップを備えることを特徴とする表現型検査プロセス：

- 前記多孔質膜(14)を請求項1から7のいずれか一項に記載の装置(10)の前記反応領域(16)の位置で水和するために溶液を堆積するステップであって、前記反応領域(16)が単一の親水性の領域を備え、かつ、抗体を含む捕捉剤を備えるステップ、

- 選択的に、表現型検査される前記赤血球をバッファ液中で希釈するステップ、

50

- 表現型検査される前記赤血球を含むこの溶液を、前記反応領域の前記中央に加えるステップ、

- 保温するステップ、
- 前記反応領域上にリンス液を堆積するステップ。

【請求項 2 2】

血漿、血清、または完全の血液の試料から、血液中に存在する多価抗体を検出するためのプロセスであって、以下のステップを備えることを特徴とするプロセス：

- 試験される試料を、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の装置（10）の前記反応領域（16）上に堆積するステップであって、前記反応領域（16）が抗原を含む捕捉剤を備えるステップ、

- 前記捕捉剤と同一の抗原を含む、既知の表現型の赤血球試験を加えるステップ、
- 混合物を前記親水性の領域に通すステップ、
- リンス液を前記反応領域上に堆積するステップ。

10

【請求項 2 3】

血漿、血清、または完全の血液の試料から、血中に存在する抗赤血球抗体の検出、クロス検証、または自己抗体若しくは寒冷凝集素の探索のためのプロセスであって、以下のステップを備えることを特徴とするプロセス：

- バッファ、既知の表現型の赤血球試験とともに、試験される試料を保温するステップ、

- この混合物に赤血球を凝集させることが可能な作用物質を加えるステップ、

- 請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の装置（10）の前記反応領域（16）上に、前記混合物を堆積するステップ、

20

- 前記赤血球を凝集させることが可能な作用物質を含む溶液を、前記反応領域上に堆積するステップ、

- クームス、人間の抗グロブリン、または抗補体試薬を、前記反応領域上に堆積するステップ、及び

- 前記反応領域上にリンス液を堆積するステップ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、赤血球抗原と、特にこれらの抗原に対する抗体との反応を検出するための、血液の試料または血液の成分の試料からの、インビトロ（*in-vitro*）診断装置に関連する。

30

【0002】

本発明は、血液型の同定及び決定のための、この装置の使用にも適用する。

【背景技術】

【0003】

免疫血液学的診断の目的は、抗体による赤血球の攻撃を提供又は診断することである。このために、その存在または不存在が血液型を決定する、赤血球の表面に存在する抗原を決定するためのツールを持つことだけでなく、血液が赤血球の既知の抗原に対する一つ以上の抗体を含むかどうかを同定することが必要であり、抗体の存在は不適合の可能性を意味する。

40

【0004】

従って慣習上の技術は、赤血球の表面の血液型抗原の存在または不存在を探索し同定すること及び/または血漿中で血液型の抗抗原（*anti-antigen*）抗体の存在または不存在を探索し同定することからなる。

【0005】

例えば ABO システムについては、Beth-Vincent 試験が、赤血球によって運ばれる抗原を決定し、補完的な Simonin-Michon 試験または血清クロスチェックが血清中を循環する抗体を決定する。

50

【0006】

Beth-Vincent 試験では、個々の赤血球は既知の特異性の抗体の試薬と一緒にされる。一般に、この試験は、抗体が対応する赤血球の抗原を認識した時に、赤血球の癒着を観察することによって可視的にされる。

【0007】

Simonin 試験では、個々の血漿は、それぞれが ABO システムの精確な抗原性グループに属する赤血球と一緒にされる。これは、赤血球試験 (red blood cell test) と個々の血漿との癒着試験である。

【0008】

所謂、不規則性抗体の探索には、個々の血液中における様々な赤血球抗原に対する免疫グロブリンの存在または不存在の検出が必要である。自己抗体研究の場合、すでにインビボ (in vivo) で固定された抗体が直接試験で個々内を直接探索される。アロ抗体探索の場合、間接クームス法を用いて、抗原が既知である赤血球試験上へのこれらの免疫グロブリンの固定を明らかにすることが目的である。

10

【0009】

免疫血液学の分野で表現型検査に使用されるプロセス及び装置は非常にたくさんあるが、血液型の既存の表現型検査技術は多くの不利点を有する。

【0010】

例えばマイクロプレート技術は、遠心分離フェーズに続く攪拌段階を必要とする。支持上に同時に存在する複数の反応は同一の再懸濁キネティックを有さないので、攪拌段階は重要である。従って、強力な癒着を再懸濁することに成功することなく弱い癒着が進行する危険性が存在する。それらは目視チェックの下で行わなければならない、一部の試薬の付着現象には特に注意が払われなければならない。

20

【0011】

同様に、ゲル試験による濾過技術が実行される際、特に ABO 型の血漿試験中に一部の癒着が検出されない危険性がやはり存在する。ゲルへと通っていく際の、小さな癒着の切断による分離のためである。

【0012】

また、これら全ての技術は、赤血球をデカントするため、またはゲルを通すために、遠心分離段階を必要とするので、大きな不利がある。それは膨大な時間と分析コストを追加し、扱うのが困難なかさばる遠心分離器の使用を必要とする制限的な段階である。

30

【0013】

例えば特許文献 1 に記述されるように免疫濾過法もまた周知であり、試料中に存在する分析物を、捕捉要素を運びながら多孔質膜を通過する際に捕捉するステップと、表出要素 (revelation element) によってその存在を明らかにするステップとからなる。このタイプの装置は試料の堆積領域、親水性の多孔質膜を備え、膜上に捕捉試薬が堆積され、膜下に吸収性膜が配置される。このタイプの試験の実行は、試料堆積領域に純粋または希釈された試料を堆積するステップからなり、それは多孔質膜を通過して吸収性膜で終了する。毛管現象による多孔質膜へのこの移動中に、試料中に捕捉要素に対応する分析物が存在する場合、分析物は捕捉剤によって固定化される。さらに、捕捉領域上の分析物の存在を検出可能であり、要素を視覚的に検出させる (着色した生成物)、または物理的若しくは化学的方法で明らかにされるようにするのを耐える表出剤 (revelation agent) によって好ましい分析物の捕捉スポット上の存在を明らかにする必要がある。

40

【0014】

しかしこの方法は著しい感度及び特異性の問題を有する。試料が堆積すると、多孔質膜を広がり浸透し、多くの分析物が多孔質膜のデッドボリューム中で失われるか、捕捉領域の外側を通過するからである。表出液についても同様である。従って、より大きな体積の試験される試料及び表出液を堆積することが可能であるために吸収システムを過大寸法にする必要があり、縮小可能な試験の実行を妨げ、その反応速度は制御され、表出剤を受け

50

ることは免除され、ロボットピペッタを利用可能である。

【0015】

この問題を解決し、信号を濃縮する試みで、親水性の多孔質膜の上及び下に、流れが捕捉スポットを通過するように強制する貫通した疎水性の構造を挿入することが特許文献2または特許文献3に提案されている。しかし、これらの装置にはスポットからの遠心拡散の問題が依然として存在し、捕捉スポットを通過し、それに固定されていない表出要素は、親水性の多孔質膜中を遠心的に拡散可能であり、スポットの外周に蓄積され得る。表出要素はその後、やはりスポット上に集中される洗浄を逃れるだろう。求心拡散によるスポットへのリターンの形態で、この表出要素のリターン現象が存在し、好ましい分析物が存在しない場合でもスポットの再着色を引き起こす。この現象は、誤った陽性結果が表れてしまうので、試験の読み取り（一般に5分から15分）を非常に急に妨げる。疑い、人的エラー、または情報の喪失の場合に、これらの装置は後に装置を再解釈しないので、これは大きな問題である。

10

【0016】

今日既存の免疫濾過装置の別の主要な問題は、動作速度及びいくつかの場合にはプレインキュベーション時間の制御である。捕捉要素と分析物との、及び分析物と表出要素との相互作用が特定の反応速度を有するので、これらの時間は重要である。これらの反応速度は時間の関数として実行される相互作用の数を表す。従って捕捉剤/分析物結合及び表出/分析剤の関数として、十分な信号を得るためには、各結合に対して十分な数の相互作用が保証されなければならない。従って、相互作用剤/分析物捕捉がより遅いイベントでは、膜を横切る試料の通過速度は制限されねばならない。制限的な、表出要素と分析物との相互作用であるイベントでは、表出要素及び分析物が捕捉スポット上を混合するプレインキュベーション時間を伴って進む必要がある。特定のシステムなしには、親水性の膜の通過は急である（500 $\mu\text{l}/\text{min}$ ）。

20

【0017】

流れを制御するために、ピストンの活用が、特に特許文献4で提案された。

【0018】

プレインキュベーション時間を制御するために、特許文献5では二つの部分で装置を使用することが提案された：試料収集領域及び多孔質膜を備える上部と、多孔質膜及び吸収性膜を備える下部である。初期位置では、毛管現象で流体が移動できないので、これら二つのブロックは通信しない。機械的な取扱いの後、二つの領域は接触し、流体は毛管現象で流れることができる。疎水性の膜上に捕捉要素を堆積し、界面活性剤の添加によって通過を活性化することも提案された。

30

【0019】

機械的なアプローチは、専用のシステムの開発及び使用を必要とするので、ロボットの使用を排除するのが難しい。またそれらは取り扱い中、全ての投影に専門家をさらす。

【0020】

システムを下塗り（prime）するために試験が実行される際に表面活性剤を添加するのは、捕捉剤/分析物相互作用に著しく干渉するので、非常に有害である。また、免疫血液学の特定の場合には、表出剤として使用される赤血球は、液体状の表面活性剤と相性がよくない。赤血球の膜が溶解し、それらのヘモグロビンを全て放出するからである。

40

【0021】

特許文献6に開示された別の方法は流れを制御するために第一の下に追加の膜を使用することからなるが、提案された装置は親水性の多孔質膜中の試料及び表出要素の拡散に関連する問題を解決していない。

【0022】

従って、既存の免疫血液学的診断試験は多くの不利点を有する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0023】

50

【特許文献1】欧州特許出願第2167967号明細書

【特許文献2】加国登録特許1312265号明細書

【特許文献3】国際公開第02/052263号

【特許文献4】米国特許出願公開第2008/0318342号明細書

【特許文献5】国際公開第03/016902号

【特許文献6】欧州特許出願第0334015号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0024】

また本願発明は毛管現象によるインビトロの免疫血液学的診断用に適合され、信頼でき、速く、可動性で、安価で、製造及び使用が単純で、小型化及び自動化可能で、相当な感度を有する装置を提案することで、従来技術の不利点を修正することを目的とする。

10

【課題を解決するための手段】

【0025】

この目的に応えるために本発明は、血液またはその成分の試料から、表現型の抗原赤血球と、特にこの抗原に対する抗体との少なくとも一つの反応を検出するためのインビトロ診断装置を提案し、該装置は、

- 支持、及び

- 0.05mmから1.5mmの厚さで、孔の直径が2μmから30μmの疎水性の多孔質膜であって、上記膜が上記試料を受けるように意図された少なくとも一つの親水性の反応領域を備え、上記反応領域が疎水性の多孔質膜の表面よりも小さな表面を有する疎水性の多孔質膜を備えることを特徴とする。

20

【0026】

本発明はこの装置の使用、特に赤血球的血液型の表現型検査及び抗体の検出、この装置の実行のためのプロセスにも関連する。

【0027】

有利に、本発明は今日既存の免疫濾過試験から生じる全ての不利点を、特に、

- 偽陽性の原因となる表出剤のリターンを防止する

- より小さな体積の使用からの高められた感度

- システムの小型化及び自動化

- 装置の機械的な取扱いの必要なく、反応の反応速度の制御、によって改善する。

30

【0028】

他の特徴及び利点は、添付図面についてのみの例示として与えられる、本発明の以下の説明から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】本発明に係る装置の特定の実施形態の図解を示す透視図である。

【図2A】親水性の反応領域の第一の変形を伴う、本発明に係る装置の疎水性の多孔質膜及び吸収性膜を示す図である。

【図2B】親水性の反応領域の第二の変形を伴う、本発明に係る装置の疎水性多孔質膜を示す図である。

40

【図3A】図2Aに示された変形に対応する、疎水性の多孔質膜を伴う、本発明に係る装置の断面図である。

【図3B】図2Bに示された変形に対応する、疎水性の多孔質膜を伴う、本発明に係る装置の断面図である。

【図4A】図2Aに示された疎水性の多孔質膜の反応領域及び下方の吸収性膜の一部上の、本発明に係る装置を使用した後に得られる結果を示す図である。

【図4B】図2Bに示された疎水性の多孔質膜の反応領域上の、本発明に係る装置の使用後に得られた結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

50

【 0 0 3 0 】

本発明に係る装置 1 0 は、血液またはその成分の 1 つの試料から、赤血球の表現型の抗原と、特にこの抗原に対する抗体との少なくとも一つの反応を検出するためのインビトロ診断装置である。

【 0 0 3 1 】

これは、特にインビトロの免疫血液学的な診断に適応された、毛管現象を介したインビトロ診断用の装置である。

【 0 0 3 2 】

赤血球の表現型の抗原、または赤血球の型 (g r o u p) の抗原、または血液型の抗原は、それに対する抗体の生成を引き起こすことができ、及び / または認識し、その後免疫システムによる赤血球の破壊を可能にすることが必要な、赤血球の表面に存在する全ての免疫原性の分子を意味する。

10

【 0 0 3 3 】

赤血球の表現型の抗原と、特にこの抗原に対する抗体との反応は、抗原 - 抗体反応であり、本明細書を通して呼ばれる。

【 0 0 3 4 】

血液またはその成分の 1 つの試料とは、完全な血液または、特に赤血球片、白血球片、血漿、若しくは血清から選択される成分の一つを意味する。

【 0 0 3 5 】

図 1 に示される通り、本発明に係る装置 1 0 は :

20

- 支持 1 2、及び
- 試験される試料を受けるように意図される親水性の反応領域 1 6 を少なくとも 1 つ備える疎水性の多孔質膜 1 4、を備える。

【 0 0 3 6 】

多孔質膜 1 4 は 0 . 0 5 m m から 1 . 5 m m の厚さを有し、好ましくは 0 . 1 m m から 1 m m であり、更により好ましくは 0 . 4 m m から 0 . 8 m m である。

【 0 0 3 7 】

孔の直径は 2 から 3 0 μ m であり、好ましくは 7 から 1 2 μ m である。

【 0 0 3 8 】

疎水性の多孔質膜 1 4 は、水性溶媒によって変化しない任意の材料を含み得る。この材料は、例えばニトロセルロースポリマー、セルロース等の、化学的に変更されているか、変更されていない天然高分子、または例えばポリエチレン、高密度ポリエチレン (H D P E)、若しくは P V D F 等のフッ素化ポリマー等の合成高分子から特に選択され得る。この材料は最初に疎水性でなければならず、適切な処理によって疎水性にされる。これらのポリマーは後に使用される捕捉剤とリンクを形成可能な試薬グループ (r e a g e n t g r o u p) で官能化されてもされなくてもよい。

30

【 0 0 3 9 】

疎水性の多孔質膜 1 4 は少なくとも一つの親水性の反応領域 1 6 を備える。反応領域 1 6 は、疎水性の多孔質膜 1 4 の表面よりも小さな表面を有する、つまり膜 1 4 は完全には親水化されない。

40

【 0 0 4 0 】

多孔質膜 1 4 の親水性の反応領域 1 6 は、好ましくは、先行する疎水性の多孔質膜 1 4 の化学的または物理的な処理によって多孔質基板の化学的機能を変更することなく、局所的な洗剤の添加によって親水性にされる。

【 0 0 4 1 】

洗剤とは任意の親水化剤を意味し、つまり、疎水性の膜 1 4 を親水性にすることが可能な任意の物質を意味する。

【 0 0 4 2 】

使用される洗剤は、天然洗剤、化学的に変更された、若しくは化学合成によって得られた天然洗剤から選択され得る。好ましくは、これは非イオン性の界面活性剤であり、例え

50

ば Triton X - 100、Tween 20 または saponin である。

【0043】

洗剤は水溶液またはエタノールなどの有機溶剤で0.01から5%まで希釈され得る。好ましくは、膜14を局所的に親水性にするために使用される洗剤は0.01から2% (重量/体積) のドーズ (dose) で使用される。

【0044】

膜の他の特性 (特に空隙率と厚さ) に関連する、使用される洗剤の量は、膜を通過する流体の動作速度を制御する。捕捉要素を受けよう意図される膜を親水性にするために、Triton X - 100 に関しては0.1%、Tween については0.05%の最大ドーズを超える必要はないことが一般的に認められる。しかし、本発明に係る膜14の特定の特性のために、この膜を局所的に親水性にすることが可能な洗剤は、領域の反応性を妨害することなく、特にTriton X - 100 または Tween - 20 については、2%まで使用することができ、これによって膜14の親水化が容易になる。

10

【0045】

同じ疎水性の膜14は、親水性の反応領域が交わらないという条件で、いくつかの親水性の反応領域16を備えることができる。

【0046】

反応領域16はいかなる幾何学的な形態でもよいが、直径0.3mmから20mm円形の円形またはスポットの形態が好ましい。

【0047】

反応領域16は多孔質膜14の厚さ全体及び/または表面で親水性であり得る。

20

【0048】

図2A、3A、及び4Aに示されるように、反応領域16は単一の親水化度を有し得る。この構成は分析される試料中の抗体の特定の存在の検出に特に適合される。

【0049】

変形によれば、反応領域16は異なる親水化度を有するいくつかの領域を備え得る。

【0050】

図2B、3B及び4Bに示される通り、反応領域16は二つの親水性の領域16-1、16-2を有し得り、周辺の16-2よりも反応領域の中央16-1で親水化度が大きい。これらの親水性の領域は膜14の表面のみであることが好ましい。

30

【0051】

反応領域16は異なる親水化度を有し、一方は表面に、他方は厚さに、二つの親水性の領域を備えることもできる。

【0052】

反応領域16が二つの親水性の領域を備える場合、反応領域16は、先行する多孔質膜の化学的または物理的な処理によって多孔質基板の化学的な機能を変更することなく、二つの異なる洗剤で親水化される。

【0053】

有利に、図2B、3B及び4Bで示されるように、特に表面で、異なる親水化を有する二つの領域を有する反応領域16の構成は、特に二重分布 (double population) と呼ばれる現象である、一方は陽性であり、他方は陰性である二つの分布の任意の共存を区別するという、輸血の専門家の特定の関心事に於ける。この構成は特に試験される試料中の特定の抗原の検出及び同定に適応される。

40

【0054】

多孔質膜14の親水性の領域16は捕捉剤を含み得る。捕捉剤は膜14に吸収され、または共有結合的に結合される。

【0055】

捕捉剤は、単独または表出剤と複合された、試験される試料中に含まれる関連する分析物を保持可能な、領域16上に固定された任意の化学的または生物的な要素を意味する。

【0056】

50

試験される試料中の特定の抗体の存在を同定することが目的の時は、これらの捕捉剤は特定の赤血球の表現型の抗原を備える。それらは断片の精製された、若しくは精製されない抗原、または抗原、ポイドセルを運ぶ、若しくは抗原を運ばないセルの膜、または合成によって得られる組換蛋白質若しくは組替抗原でもよい。好ましくは、捕捉剤は抗原を運ぶ、ヘモグロビンを欠いた赤血球である。

【0057】

試験される試料中の特定の抗原の存在を同定することが目的の際は、捕捉剤は抗体である。

【0058】

捕捉剤は、反応領域16上に存在する時、反応領域16を区切るために、膜14を親水化する役割の洗剤と同時に堆積されてもよく、親水化の後で洗剤とは独立に堆積されてもよい。

10

【0059】

捕捉剤は、pH4からpH10、好ましくはpH6.5からpH7.8、より一層好ましくはpH7からpH7.5で安定化されたpH溶液を含む非変性バッファ中で、反応領域16上に堆積され得る。捕捉剤は吸収されても、共有結合的に結合されてもよい。

【0060】

捕捉剤は、アジ化ナトリウム、抗生物質等の微生物学的な安定性を維持することを意図された補助剤、砂糖（スクロース、ブドウ糖、トレハロース）等の立体配座安定性を意図された補助剤、同様にこれらの機能を実施するために当業者に知られた任意の他の作用剤に添加され得る。

20

【0061】

捕捉剤は領域16の全体に、または一部にだけ存在することができる。

【0062】

洗剤及び/または捕捉剤は、ロボットのまたは手動のピペッタで堆積可能な溶液の形態が好ましい。有利に、これらの溶液は、毛管現象によって好ましい体積を保持する針を用いて簡単に堆積することもできる。これらの針は任意の材料で作ることが可能だが、より好ましくは金属製であり、疎水コートを有するか、有さない。それらの末端は平坦であるか、所定の大きさの切り目を有することができる。

【0063】

洗剤及び/または捕捉剤溶液の堆積の後に、膜の乾燥が続かねばならず、乾燥の期間は適用される温度に依存する：室温では少なくとも4時間、37℃では少なくとも1時間である。

30

【0064】

本発明に係る装置は、吸収性膜18を多孔質膜14の下に備えることができる。この膜18は、特に反応領域16が膜14の厚さ全体にわたって親水性である時に、膜14によって保持されない、反応領域16の位置に堆積された液体を吸収する。

【0065】

膜18は、吸収紙、セルロース等、毛管現象によって受動的な吸収を可能にする材料を含むか、吸収性ポリマーからなり得る。例示として、以下の製品が挙げられる：

40

- ・ Millipore C048、C068、C083、C248
- ・ Whatman CF3、CF4、CF10、Grade 470、CF5、CF6、CF7、Grade 900、Grade 300
- ・ Ahlstrom Grades 601、642、631、238、237、222、243、320
- ・ Pall Grades 111、113、133、165、197、8975、8964、8301、Accuwik（登録商標）Ultra
- ・ Cleanis Gelmax超吸収性パッド
- ・ 綿

【0066】

50

吸収性膜 18 の組成及び寸法は、試験中に使用される全溶液を吸収可能なように選択されねばならない (μl での V_{total})。各膜は吸収容量 ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$ での C) によって特徴づけられ、膜及びその寸法 (cm^2 での D) は以下の式を満たすように選択される：

$$D > V_{\text{total}} / C$$

【0067】

代替的に、液体は膜上の領域と膜下の領域との圧力差によって吸収され得る。例えば部分的な真空を伴う吸引システムの使用である。

【0068】

膜 14 及び選択的に膜 18 は支持 12 内に配される。

10

【0069】

本発明に係る装置 10 の支持 12 は好ましくは硬質の (*rigid*) 支持である。それは例えばシェルであり得る。

【0070】

好ましくは、支持は液体を逃がさない硬質の材料を含む。これは特にポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレン、アクリロニトリルブタジエンスチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート、ポリアミド、ポリ塩化ビニル、ポリメタクリル酸メチル等のプラスチック材料であり得る。

【0071】

好ましくは、支持 12 は少なくとも一つの開口部 20 を備え、各開口部 20 は、多孔質膜 14 の各親水性の反応領域 16 に直角である。この開口部 20 は親水性の反応領域 16 上に堆積された試料の収集領域に対応する。この親水性の領域 16 は、二つの親水性の領域が常に膜 14 上の疎水性の領域によって分けられているならば、開口部の基底部と同一の、より小さな、またはより大きな寸法でよい。

20

【0072】

開口部 20 は、必要であれば、下方の信号を見るために、透明なエッジを有してもよい。

【0073】

収集領域は、反応膜 16 上に堆積される、試験される試料の最大体積を少なくとも含むことができるような寸法でなければならない。

30

【0074】

各反応領域 16 の独立は反応領域間の疎水性の膜によって構成されるバリアによって得られる。この独立は単一の膜を備える同一の装置上でいくつかの異なる診断を実行する。変形によると、この独立は、支持 12 を、仕切りによって分けられた、それぞれが独自の膜を有する物理的に独立したユニットに分割することによって選択的に実施されてもよい。

【0075】

さらに、開口部 20 の周り、開口部の底、前記開口部 20 の開口部の反対側のドームの過剰な厚さをつくることによって、膜 14 及び 18 間の接触を改善することができる。

【0076】

支持 12 は標準的な SBS / AINSI と外部寸法で適合する寸法を有する、いくつかの開口部 20 を有するシェルであり得る。

40

【0077】

本発明に係る装置 10 は、毛管現象によって、特に血液またはその成分の一つである生物学的な流体中の分析物の存在または不存在を決定するのに使用され得る。この分析物は、赤血球の表現型の抗原またはこの抗原に対する抗体であり得る。

【0078】

装置 10 は特に以下のために利用される：

- 赤血球を表現型検査する、つまり、それらの表面の抗原を決定すること。
- アンチ A または アンチ B 抗体の存在を同定するシモニン (*Simonin*) 試験。

50

- 特にアロ抗体、自己抗体、またはさらに寒冷凝集素の探索の点から赤血球の、細胞性抗原に対する抗体の探索または同定。

【0079】

具体的に、従って本発明の目的は、血液またはその成分の一つの試料から、A B O血液型の同定及び決定、拡張 R h e s u s 表現型検査、異常な凝集素の探索、自己抗体の探索、寒冷凝集素の探索、及び/またはクロス検証のための装置 10 の使用である。

【0080】

本発明に係る装置 10 の使用は表出剤の使用を必要とする。好ましくは、これは赤血球である。これらの赤血球は：

- 抗体を探索するための装置の使用、またはシモン試験のための、赤血球試験と呼ばれる既知の表現型の赤血球
- 表現型検査用の装置の使用のために試験される試料中に含まれる赤血球、である。

10

【0081】

試験される試料中の存在を検出することが目的である分析物の関数として、捕捉剤の性質、表出剤の性質、親水化方法（単一または複数、厚さ中または表面）、及び追跡の実験計画の全ては変わる必要がある。

【0082】

全ての場合において、反応領域上で試験される試料の堆積に先行して、バッファ液によって反応領域 16 の水和を進めることができる。このバッファは pH 6 から pH 8 . 5、好ましくは pH 6 . 5 から pH 7 . 8、特に pH 7 から pH 7 . 5 の安定化された pH の溶液を含み得り、250 m O s m から 800 m O s m、好ましくは 300 m O s m から 600 m O s m のモル浸透圧濃度を有し得る。この溶液は、選択的に、低濃度の洗剤（0 . 01 から 0 . 05 % m / v の T w e e n 20）、飽和剤（B S A）、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。

20

【0083】

同様に、結果を読むためには、バッファのすすぎを用いる必要がある。好ましくは、このバッファの洗浄は、pH が 2 から 10、好ましくは 5 から 9 の、P B S、T B S、または食塩水を含む。バッファのモル浸透圧濃度は、赤血球の溶血を避けるために制御されなければならない。バッファは、捕捉剤に直接的にまたは間接的に固定された表出剤または着色された分析物を引き離さないように選択されなければならない。驚くべきことに、本発明に係る装置の使用のために、N a C l 等の塩類溶液作用因子、または例えばグリシンまたはタウリン等の非イオン性のオスモライトの存在によって得られる少し高浸透圧の洗浄液（つまり 300 m O s m から 800 m O s m）を使用することが好ましい。このバッファは表出剤の色と対照的な色で着色され得る。例えば、表出剤が赤血球の場合、洗浄バッファ液は青または緑に着色され得る。バックグラウンドノイズを消すために洗浄液に少量の界面活性剤を添加することもできる。これらの界面活性剤は、好ましくは非イオン性の表面活性剤であり、特に糖のエステル、とりわけソルビタンのポリオキシエチレンエステル（T w e e n）である。

30

【0084】

装置 10 の使用中、液体はとりわけピペッタシステムまたは毛管現象の複製システムによって堆積され得る。

40

【0085】

有利に、本発明に係る装置は遠心分離も、攪拌も、真空引きも、特別な装置も必要としない。またそれは手動で完全に自律的に使用され得、ロボット上で簡単に自動化され得る。膜 14 の異なる特性は動作速度を制御し、膜 14 の穴のサイズが如何に大きくても、抗原 - 抗体反応を可能とするのに十分な長さの動作時間を生成する。

【0086】

第一の変形によれば、本発明の目的は、赤血球の表現型検査のための装置 10 の使用である。

【0087】

50

目的は赤血球の表面の抗原を探索することである。この場合、抗体または抗体の混合物が捕捉剤として使用され、具体的に問題の抗原または抗原の変形を認識することができる。抗体は、精製または半精製された単一クローンの (monoclonal) 抗体、単一クローンの抗体を含む培養表面活性剤 (culture surfactant) (表1参照)、または多クローンの抗体、抗血清であり得る。凝集素またはレクチンも使用され得る。

【0088】

単一クローンの抗体の非網羅的なライブラリは以下である：

【0089】

【表1】

表1: 小球の表現型検査に利用可能な捕捉の抗体の非網羅的なリスト

好ましい抗原	捕捉要素	参照クローンの例	表出要素
A	Ac Anti-A	BIRMA-1,	試料の赤血球
B	Ac Anti-B	LB-2及び/またはES-4	試料の赤血球
AB	Ac Anti-AB	ES-4及び/またはES-15及び/ またはBH517	試料の赤血球
D (RH1)	Ac Anti-D	RUM-1及び/またはMS-201及び/ またはMAD-2及び/または TH-28及び/またはMS-26	試料の赤血球
C (RH2)	Ac Anti-C	MS-273またはMS-24	試料の赤血球
c (RH4)	Ac Anti-c	MS-33	試料の赤血球
E (RH3)	Ac Anti-E	MS-258, MS-80	試料の赤血球
e (RH5)	Ac Anti-e	MS-16, MS-21, MS-63	試料の赤血球
K	Ac Anti-K	MS-56	試料の赤血球
Fya (FY1)	Ac Anti-Fya	P3TIM	試料の赤血球
Fyb (FY2)	Ac Anti-Fyb		試料の赤血球
Jka (JK1)	Ac Anti-Jka	MS-15	試料の赤血球
Jkb (JK2)	Ac Anti-Jkb	MS-8	試料の赤血球
S (MNS3)	Ac Anti-S	MS-94	試料の赤血球
s (MNS4)	Ac Anti-s	P3BER L	試料の赤血球
Lea (LE1)	Ac Anti-Lea	LM112/161	試料の赤血球
Leb (LE2)	Ac Anti-Leb	LM129/181	試料の赤血球
M (MNS1)	Ac Anti-M	M110/140	試料の赤血球
N (MNS2)	Ac Anti-N		試料の赤血球
P1	Ac Anti-P1	P3MON23	試料の赤血球
Kpa (KEL3)	Ac Anti-Kpa		試料の赤血球
Lua (LU1)	Ac Anti-Lua		試料の赤血球
Lub (LU2)	Ac Anti-Lub		試料の赤血球
k, cellano (KEL 2)	Ac Anti-k		試料の赤血球
Kpb (KEL4)	Ac Anti-Kpb		試料の赤血球
Cw	Ac Anti-Cw		試料の赤血球

10

20

30

40

50

【 0 0 9 0 】

特定の実施形態によると、本発明の目的は、陽性の表現型の分布と陰性の表現型の分布（二重分布）とを同時に検出するために、赤血球（純粋な赤血球または完全な血液）の試料から赤血球の血液型を表現型検査するプロセスであり、以下のステップを備える：

【 0 0 9 1 】

- 本発明に係る装置 1 0 の反応領域の中央で多孔質膜 1 4 を水和するために溶液を堆積するステップ。前記反応領域 1 6 は二つの親水性の領域 1 6 - 1、1 6 - 2 を備え、周辺の 1 6 - 2 よりも反応領域の中央 1 6 - 1 で親水化度が大きく、中央で抗体を含む捕捉剤を備え；膜の水和のための溶液は免疫血液学的反応に望ましいと知られる溶液であり、選択的に、例えば pH 6 から pH 8 . 5、好ましくは pH 6 . 5 から pH 7 . 8、特に pH 7 から pH 7 . 5 の pH で安定化され、2 5 0 m O s m から 8 0 0 m O s m、好ましくは 3 0 0 m O s m から 6 0 0 m O s m のモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファなどの添加物を含む。この溶液は、選択的に、低濃度の洗剤（特に 0 . 0 1 から 0 . 0 5 % m / v の T w e e n 2 0）、飽和剤（例えば B S A）、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。このバッファは選択的にプロテアーゼ活性を有し得、例えばパインまたはプロメラインなどの酵素を添加することによって得られ得る。このバッファは選択的に、反応の可能性を持たせ、小球と捕捉要素とのより長い接触を維持するために、ポリブレンまたはポリリジン等のポリカチオン性の作用物質を含み得る；

- バッファ液中で、特に、選択的に、例えば pH 6 から pH 8 . 5、好ましくは pH 6 . 5 から pH 7 . 8、特に pH 7 から pH 7 . 5 の pH で安定化され、2 5 0 m O s m から 8 0 0 m O s m、好ましくは 3 0 0 m O s m から 6 0 0 m O s m のモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファなどの添加物を含む、免疫血液学的反応に望ましいと知られているバッファ液中で、表現型検査される赤血球を希釈するステップ。この溶液は、選択的に、低濃度の洗剤（特に 0 . 0 1 から 0 . 0 5 % m / v の T w e e n 2 0）、飽和剤（例えば B S A）、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。このバッファは選択的にプロテアーゼ活性を有し得、例えばパインまたはプロメラインなどの酵素を添加することによって得られ得る。このバッファは選択的に、反応の可能性を持たせ、赤血球の捕捉要素とのより長時間の接触を維持するために、ポリブレンまたはポリリジン等のポリカチオン性の作用物質を含み得る；

- 表現型検査される赤血球を含むこの溶液を反応領域の中央 1 6 - 1 に加えるステップ；

- 好ましくは 1 5 から 4 0、特に 1 8 から 2 5 の温度で、6 0 秒から 1 5 分、特に 2 分から 1 0 分の間、保温 (i n c u b a t e) するステップ；

- 反応領域上にリンス液を堆積するステップ；リンス液は抗原 - 抗体反応に対して有害ではないと知られている溶液であり、赤血球の保全性を維持し、非特異的な相互作用を緩めることができ、例えば pH 6 から pH 8 . 5、好ましくは pH 6 . 5 から pH 7 . 8、特に pH 7 から pH 7 . 5 の pH で安定化され、2 5 0 m O s m から 8 0 0 m O s m、好ましくは 3 0 0 m O s m から 6 0 0 m O s m のモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファ等である。この溶液は、選択的に、低濃度の洗剤（特に 0 . 0 1 から 0 . 0 5 % m / v の T w e e n 2 0）、飽和剤（例えば B S A）、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。ポリカチオン性の作用物質の先行する使用の場合、このバッファは、例えばこのタイプの添加物によって生じる非特異的な相互作用を緩めることが可能なように 1 0 0 m M より多い N a C l を含むなど、強いイオン性であろう。

【 0 0 9 2 】

堆積される試料は、赤血球または完全な血液でよい。試料は、p H 6 から p H 8 . 5、好ましくは p H 6 . 5 から p H 7 . 8、特に p H 7 から p H 7 . 5 の p H で安定化され、2 5 0 m O s m から 8 0 0 m O s m、好ましくは 3 0 0 m O s m から 6 0 0 m O s m のモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファ中で希釈され得る。この溶液は、選択的に、低濃度の洗剤（特に 0 . 0 1 から 0 . 0 5 % m / v の T w e e n 2 0）、飽和剤（例えば B S A

)、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。このバッファは選択的に、例えばパパインまたはプロメラインなどの酵素の添加によって得られるプロテアーゼ活性を有し得る。

【0093】

このプロセスを実行するために用いられる装置10の膜14の反応領域16の親水化は、好ましくは表面親水化である。

【0094】

親水化は例えば、0.1% m/v から1% m/v、好ましくは0.2% m/v から1% m/vの濃度の、2 µl から40 µl、好ましくは5 µl から20 µlの体積の、エタノール中のTween 20溶液を用いて実行され得り、親水化領域は、その中央に、0.1% m/v から2% m/v、好ましくは0.5% m/v から1% m/vの濃度、25 nl から15 µl、好ましくは100 nl から10 µlの体積のTriton X100の水溶液を用いて、厚さ中に作られる。

10

【0095】

試料中に存在する赤血球が捕捉要素によって認識された抗原を予期した場合、赤血球は洗浄にもかかわらず膜14の反応領域16の中央に固定化されたままであり、中央反応領域16-1は赤を維持する。試料中に存在する赤血球が捕捉要素によって認識される抗原を運ばない場合、赤血球は洗浄によって洗い流される：中央領域16-1は白のままであり、周辺領域16-2で赤いリングが形成する。試料が二つの異なる分布を有する場合、中央の赤22-1及び赤い周辺リング22-2の両方が観測される。

20

【0096】

結果を読むのは視覚的でも自動でも可能である。

【0097】

他の特定の実施形態によると本発明の目的は、二重分布の検出を許さず、赤血球（精製された赤血球または完全な血液）の試料から、赤血球の血液型を表現型検査するためのプロセスであり、以下のステップを含む：

- 本発明に係る装置10の反応領域の中央で多孔質膜14を水和するために溶液を堆積するステップ。上記反応領域16は単一の親水性の領域を備え、抗体を含む捕捉剤を含み、膜の親水化のための溶液は、選択的に、例えばpH6からpH8.5、好ましくはpH6.5からpH7.8、特にpH7からpH7.5のpHで安定化され、250 mOsm から800 mOsm、好ましくは300 mOsmから600 mOsmのモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファ等の添加物を含む、免疫血液学的反応に望ましいと知られている溶液である。この溶液は選択的に低濃度の洗剤（特に0.01から0.05% m/vのTween 20）、飽和剤（例えばBSA）、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。このバッファは選択的にプロテアーゼ活性を有し得、例えばパパインまたはプロメラインなどの酵素を添加することによって得られ得る。このバッファは選択的に、反応の可能性を持たせ、赤血球の捕捉要素とのより長時間の接触を維持するために、ポリブレンまたはポリリジン等のポリカチオン性の作用物質を含み得る。

30

- 選択的に、バッファ液中で、特に、選択的に、例えばpH6からpH8.5、好ましくはpH6.5からpH7.8、特にpH7からpH7.5のpHで安定化され、250 mOsmから800 mOsm、好ましくは300 mOsmから600 mOsmのモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファなどの添加物を含む、免疫血液学的反応に望ましいと知られているバッファ液中で、表現型検査される赤血球を希釈するステップ。この溶液は選択的に低濃度の洗剤（特に0.01から0.05% m/vのTween 20）、飽和剤（例えばBSA）、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。このバッファは選択的にプロテアーゼ活性を有し得、例えばパパインまたはプロメラインなどの酵素を添加することによって得られる。このバッファは選択的に、反応の可能性を持たせ、赤血球の捕捉要素とのより長時間の接触を維持するために、ポリブレンまたはポリリジン等のポリカチオン性の作用物質を含み得る。

40

50

- 表現型検査される赤血球を含むこの溶液を反応領域の中央に添加するステップ。
- 好ましくは15 から40、特に18 から25 の温度で、2秒から15分、特に1分から10分の間、保温するステップ。

- 抗原 - 抗体反応に有害ではないと知られている溶液であり、赤血球の保全性を維持し、非特異的な相互作用を緩めることができ、例えばpH6からpH8.5、好ましくはpH6.5からpH7.8、好ましくはpH7からpH7.5のpHで安定化され、250mOsmから800mOsm、好ましくは300mOsmから600mOsmのモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファ等のリンス液を反応領域上に堆積するステップ。この溶液は選択的に低濃度の洗剤（特に0.01から0.05% m/vのTween 20）、飽和剤（例えばBSA）、及び/または抗原 - 抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。ポリカチオン性の作用物質の先行する使用の場合、このバッファは、例えばこのタイプの添加物によって生じる非特異的な相互作用を緩めることが可能なように100mMより多いNaClを含むなど、強いイオン性であろう。

【0098】

このプロセスを実行するために使用される装置10の膜14の反応領域16の親水化は、厚み親水化であり得る。装置10は、膜14の下方に、例えば吸収性膜18などの吸収システムを備えることも必要である。

【0099】

親水化は、0.1% m/vから2% m/v、好ましくは0.5% m/vから1% m/vの濃度、25nlから15 μ l、好ましくは100nlから10 μ lの体積のTriton X100の水溶液を用いて実施され得る。

【0100】

試料中に存在する赤血球が捕捉要素によって認識される抗原を運ぶ場合、赤血球は、洗浄にもかかわらず膜14の反応領域16の中央22に固定化されたままであり、反応領域16は赤いままである。試料中に存在する赤血球が、捕捉要素によって認識される抗原を運ばない場合、赤血球は洗浄によって洗い流され、反応領域16は白を維持する。吸収性膜18は膜14に固定されない全てを吸収する（領域24）。

【0101】

結果を読むのは視覚的でも自動でも可能である。

【0102】

第二の変形によると、本発明の目的は血液中の多価抗体を検出するための、またはシモンソン試験のための装置10の使用である。

【0103】

目的は特定の抗体の探索である。従って捕捉要素は好ましい抗体を対象とする抗原を含む。

【0104】

固定化された抗原は、ポリマーまたは蛋白質構造に結合する、または結合しない合成抗原であり得る。これらは抗原または好ましい変形の抗原の混合の一つ以上のシーケンスを含む組換え蛋白質でもあり得る。固定化された抗原は、セルまたはセルの断片、特に、膜状の断片または細胞内容を欠いたセルの上でもあり得る。これらのセルは特に、「ゴースト(ghost)」とも呼ばれる、細胞質を欠いた赤血球であり得る。

【0105】

試料が問題の抗原に対する抗体を有する場合、抗体は反応領域16の位置で膜14の表面に捕捉されたままである。

【0106】

これらの抗体の存在を明らかにするためには、それらの抗体の性質を認識することによって(anti-IgG、anti-IgM)、または、使用される抗体が多価(いくつかの抗原を同時に検出可能)である場合には、問題の抗原も運んでいる表出要素も利用され得る、表出要素を使用する必要がある。

【0107】

10

20

30

40

50

【表 2】

表2:免疫血液学の分野における抗体の探索例

好ましい抗原	捕捉要素	表出要素
IgM Anti-A	ゴースト A	赤血球試験 A1
IgM Anti-B	ゴースト B	赤血球試験 B

【0108】

従って本発明の別の目的は、血漿、血清、または完全の血液の試料から、血液中に存在する多価抗体の検出用のプロセスであり、以下のステップを備える：

- 試験される試料を装置 10 の反応領域 16 上に堆積するステップであって、上記反応領域 16 が抗原を含む捕捉剤を含むステップ、
- 捕捉剤と同じ抗原を備える、既知の表現型の赤血球試験を添加するステップ、
- 混合物を親水性の領域を透過させるステップであって、上記親水性の領域が 1 分から 45 分、好ましくは 3 分から 15 分の通過時間を可能にする特性を有するステップ、
- 例えば pH 6 から pH 8.5、好ましくは pH 6.5 から pH 7.8、特に pH 7 から pH 7.5 の pH で安定化され、250 mOsm から 800 mOsm、好ましくは 300 mOsm から 600 mOsm のモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファ等のリンス液を反応領域上に堆積するステップ。この溶液は選択的に低濃度の洗剤（特に 0.01 から 0.05 % m/v の Tween 20）、飽和剤（例えば BSA）を含み得る。

【0109】

堆積される試料は、pH 6 から pH 8.5、好ましくは pH 6.5 から pH 7.8、特に pH 7 から pH 7.5 の pH で安定化され、250 mOsm から 800 mOsm、好ましくは 300 mOsm から 600 mOsm のモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファ中で希釈された、又は希釈されていない、血漿、血清、または完全の血液であり得る。この溶液は選択的に低濃度の洗剤（例えば 0.01 から 0.05 % m/v の Tween 20）、飽和剤（例えば BSA）、及び/または抗原-抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。このバッファは、好ましくは NaCl の 100 mM 未満の塩分濃度である。

【0110】

このプロセスを実行するために使用される装置 10 の膜 14 の反応領域 16 の親水化は、好ましくは厚さで実行される。従って、装置 10 は、膜 14 の下方の吸収システム、例えば吸収性膜 18、も備える必要がある。

【0111】

親水化は 0.3 % m/v から 2 % m/v、好ましくは 0.5 % m/v から 1 % m/v の濃度、25 nL から 15 μ L、好ましくは 100 nL から 10 μ L の体積の Triton X 100 の水溶液を用いて実施され得る。捕捉剤は、洗剤と混合されて、または反応領域 16 の親水化後に、膜上に堆積され得る。

【0112】

試験される血漿が、捕捉剤中及び表出剤（赤血球試験）中に存在する抗原に対する抗体を含む場合、反応領域 16 に赤い中央 22 が現れる。白い中央は、試験される血漿中に、捕捉剤中及び表出剤（赤血球試験）中の両方に存在する抗原に対する抗体が存在しないことを知らせる。吸収性膜 18 は、膜 14 に固定されていない全てを吸収する（領域 24）。

【0113】

結果を読むのは視覚的でも自動でも可能である。

【0114】

第三の変形によると、本発明の目的は、血中の異常な凝集素を探索するための装置 10 の使用である。

10

20

30

40

50

【0115】

目的は、試料の血漿抗体によって、または後続の補足の活性化によって感作された赤血球の存在を同定することである。

【0116】

この形式では、捕捉剤が存在しないか、後者はポリカチオン性のポリマー等の凝集剤である。

【0117】

血漿とともに赤血球パネル試験を保温した後、混合物に赤血球を可逆的に凝集させることが可能な作用物質を添加する。この可逆的凝集剤は、例えばポリブレン、ポリリジンまたはポリエチレンジイミン (polyethyleneimine) 等のポリカチオン性のポリマーから選択され得る。形成される凝集体の寸法は膜を介してそれらを通すには大きすぎるので、赤血球は保持されたままであり、小球のボタンを形成する。小球は、ボタンの不安定化を避けるために、やはり凝集剤を含む溶液を用いて、非特異的なグロブリンの過剰量で洗浄される。これらの保持された小球の洗浄後、後者が感作されている場合、ボタンのセルの細網化を実行するために、多価クームス試薬が添加される。低ドーズの界面活性剤を含む食塩水パフアの添加は感作されていないセルの凝集をほどこき、網状の感作細胞の凝集を維持する。

【0118】

【表3】

表3:異常な凝集素の探索に利用可能な抗体の非網羅的なリスト

好ましい分析物	細網化剤	参照クローン	
赤血球試験上の IgG human	Anti-IgG, protein A, protein G.	MS-278, Protein A, G, A/G	赤血球試験
赤血球試験上の IgM human	Anti-IgM		赤血球試験
赤血球試験上の C3d human	Anti-C3d	BRIC-8	赤血球試験

【0119】

これらのプロセスを実行するために、このプロセスを実行するために使用される装置10の膜14の反応領域16の親水化が好ましくは厚さで実行される。従って装置10は膜14の下方の吸収システム、例えば吸収性膜18、も備える必要がある。

【0120】

親水化は0.3% m/vから2% m/v、好ましくは0.5% m/vから1% m/vの濃度、25 n lから15 μ l、好ましくは100 n lから10 μ lの体積のTriton X 100の水溶液を用いて実施され得る。有利に可逆的な凝集剤が添加され得、好ましくは例えばポリブレン、ポリリジンまたはポリエチレンジイミン (polyethyleneimine) 等のポリカチオン性のポリマーから選択され得る。

【0121】

この第3の変形によると、従って、本発明の別の目的は、血漿、血清、または完全の血液の試料から、血中に存在する抗赤血球抗体の検出、クロス検証、または自己抗体若しくは寒冷凝集素の探索のためのプロセスであり、以下のステップを備えることを特徴とする

- アロ抗体の探索のために、試験される試料を、パフア、既知の表現型の赤血球試験、及び赤血球を凝集することが可能な作用物質とともに、15 から40 ° C、好ましくは約37 ° Cの温度で、3分から60分、好ましくは5分から30分の間、予め保温するステップ。パフアは、L I S Sパフア (例えば50 m Mより少ないNaClを含む)

等の低イオン力のバッファである。自己抗体の探索のためには、予め保温しない試料の赤血球を含む試料を単に用いる。

- この混合物に小球を凝集させることが可能な作用物質、例えばヘキサジメトリンプロマイドの溶液を添加するステップ。

- 好ましくは15秒から5分の期間の後、本発明に係る装置10の反応領域16上に混合物を堆積し、それを流すステップ；それはスポットの上にセルのボタンを形成する。

【0122】

反応領域上に、赤血球を凝集させることが可能な作用物質を含む溶液を堆積するステップであって、赤血球を凝集させることができる作用物質は、例えばヘキサジメトリンプロマイドの溶液であってよく、好ましくは溶液中のヘキサジメトリンプロマイドの濃度が0.01から2% (m/v) であり、更により好ましくは0.05から0.5%の範囲であるステップ；この作用物質は非特異的な蛋白質の洗浄を実施し、セルのボタンの保全性を維持する。

- クームス、人間の抗グロブリン、または抗補体試薬を反応領域上に堆積するステップ。

- 例えばpH6からpH8.5、好ましくはpH6.5からpH7.8、好ましくはpH7からpH7.5のpHで安定化され、300mOsmから800mOsmのモル浸透圧濃度の高調食塩水等のリン溶液を反応領域上に堆積するステップ。この溶液は、選択的に低濃度の洗剤（例えば0.01から0.05% m/vのTween 20）及び赤と対照的な色（青または緑）の色素を含み得る。

【0123】

堆積される試料は、pH6からpH8.5、好ましくはpH6.5からpH7.8、特にpH7からpH7.5のpHで安定化され、250mOsmから800mOsm、好ましくは300mOsmから600mOsmのモル浸透圧濃度の溶液を含むバッファ中で希釈された、又は希釈されていない、血漿、血清、または完全の血液であり得る。この溶液は選択的に低濃度の洗剤（例えば0.01から0.05% m/vのTween 20）、飽和剤（特にBSA）、及び/または抗原-抗体反応の可能性を持たせることが可能な作用物質を含み得る。このバッファは、好ましくはNaClの50mM未満の塩分濃度を有する。

【0124】

試験される血漿が表出剤（赤血球試験）中に存在する抗原に対する抗体を含む場合、または試料の赤血球がすでにインピボで感作されている場合、赤い中央22が反応領域16に現れる。白い中央は表出剤（赤血球試験）中に存在する抗原に対する抗体の不存在、または検出不能な量を知らせる。吸収性膜18は膜14に固定されていない全てを吸収する（領域24）。

【0125】

結果を読むのは視覚的でも自動でも可能である。

【0126】

本発明に係る装置10は、最も頻繁に実施される適切な補完的な試験を組み合わせる範囲に従って、提供され得、同一のカード上で専門家によって同時に提供され得、全ての試験は同様に実施され、解釈される。

【0127】

各カード上で、インラインに配置された、いくつかの試料（ドナーまたは患者）用のカラム内に配置されたいくつかの分析物が検出され得る。これは、例えば、

- ABO-D血液分類、
- Rhesus-Kell分類、
- 異常な凝集素の探索（3つの赤血球表現型）、
- 異常な凝集素の同定（10の赤血球表現型）、
- 拡張表現型検査、
- 抗グロブリンを伴う直接制御、

10

20

30

40

50

- 直接互換性試験、のためのカードであり得る。

【 0 1 2 8 】

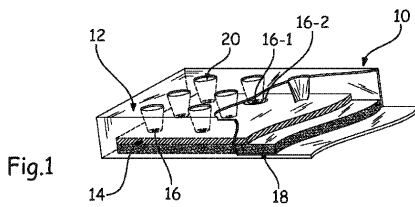
本発明に係る装置 10 は、やはり上記装置の使用のプロセスの少なくとも一つを実行するのに必要な試薬を備えるキット中に存在し得る。

【 符号の説明 】

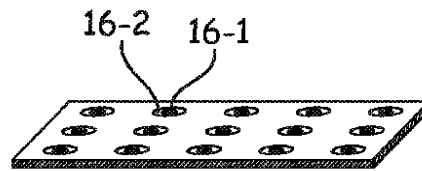
【 0 1 2 9 】

- 10 診断装置
- 12 支持
- 14 多孔質膜
- 16 反応領域
- 16 - 1 中央
- 16 - 2 周辺
- 18 吸収性膜
- 20 開口部

【 図 1 】



【 図 2 B 】



【 図 2 A 】

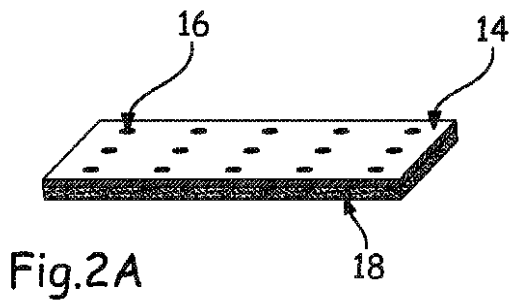


Fig.2B

【 図 3 A 】

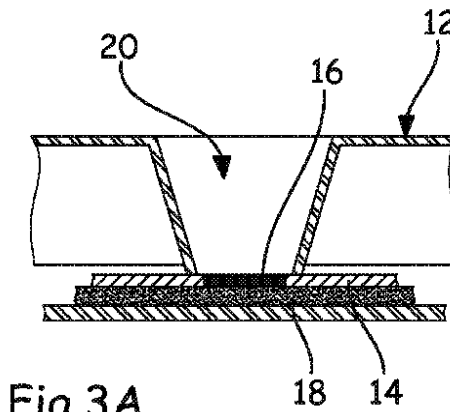


Fig.3A

【 図 3 B 】

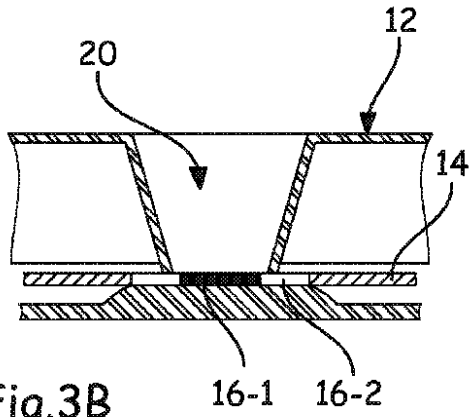


Fig.3B

【 図 4 B 】

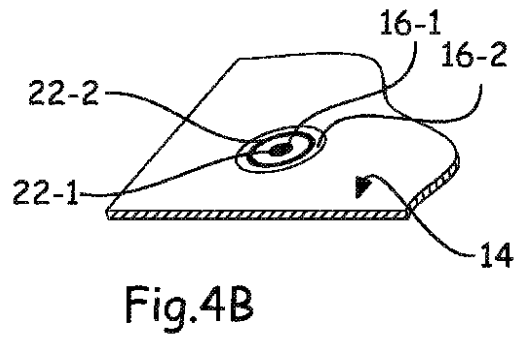


Fig.4B

【 図 4 A 】

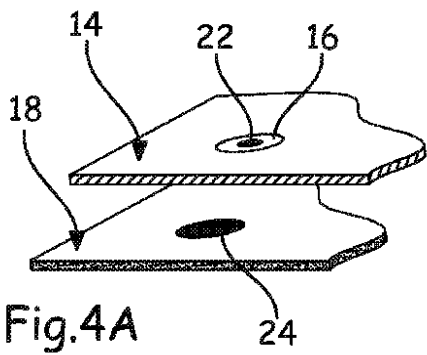


Fig.4A

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2013/051358

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	G01N33/52 G01N33/543 G01N33/68 G01N33/80	B01D67/00
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
G01N B01L B01D		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 408 378 A2 (GORE W L & ASS UK [GB]) 16 January 1991 (1991-01-16)	18
Y	the whole document page 3, lines 28-58; claims 1-21	1-17, 19-23
Y	FR 2 892 820 A1 (DIAGAST SOC PAR ACTIONS SIMPLI [FR]) 4 May 2007 (2007-05-04) pages 5-7; claims 1-35; figures 1-4 pages 24-28; examples 1,3	1-23
Y	EP 0 367 468 A1 (IMMUCOR INC [US]) 9 May 1990 (1990-05-09) the whole document column 2, line 57 - column 3, line 63 column 8, line 49 - column 9, line 2 examples 1-9	1-23
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
3 September 2013		17/09/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Boiangiu, Clara

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2013/051358

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2005/124077 A1 (COLE ROBERT A [AU] ET AL COLE ROBERT ALAN [AU] ET AL) 9 June 2005 (2005-06-09) the whole document paragraphs [0012] - [0061]; claims 1-23; figures 1-5d -----	1-23
Y	US 5 185 127 A (VONK GLENN P [US]) 9 February 1993 (1993-02-09) column 3, line 61 column 2, lines 1-42; claims 1-20; figures 1-3 -----	1-23
Y	WO 03/008933 A2 (ZHOU SILIANG [US]) 30 January 2003 (2003-01-30) the whole document page 1, line 24 - page 13, line 20 page 14, line 28 - page 15, line 19 page 16, lines 6-12; claims 1-39 -----	1-23
Y	WO 98/20348 A1 (MERCURY DIAGNOSTICS INC [US]; GRAGE HENRY M JR [US]; DOUGLAS JOEL S [U]) 14 May 1998 (1998-05-14) the whole document page 3, line 9 - page 5, line 9 page 14, line 21 - page 16, line 7 -----	1-23
Y	WO 2012/010666 A1 (DIAGAST [FR]; FAUCONNIER LAURENCE [FR]; BARBREAU YVES [FR]; BOULET ARN) 26 January 2012 (2012-01-26) the whole document page 6, line 26 - page 16; claims 1-55 -----	1-23
Y	WO 2010/056889 A2 (UNIV PENNSYLVANIA [US]; FRIEDBERG JOSEPH [US]; FOGT FRANZ [US]) 20 May 2010 (2010-05-20) the whole document paragraphs [0009], [0018], [0019], [0032] - [0035], [0075], [0080] - [0088]; claims 40-83; examples 2,10,14 -----	1-23
Y	FR 2 917 174 A1 (BIO RAD PASTEUR SA [FR]) 12 December 2008 (2008-12-12) the whole document claims 1-16 -----	1-23
Y	WO 2007/064462 A1 (UNIV PENNSYLVANIA [US]; SCRIPPS RESEARCH INST [US]; SIEGEL DONALD [US]) 7 June 2007 (2007-06-07) the whole document -----	1-23
Y	WO 98/25758 A1 (MEMTEC AMERICA CORP [US]) 18 June 1998 (1998-06-18) the whole document -----	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2013/051358

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 0408378	A2	16-01-1991	EP 0408378 A2	16-01-1991
			GB 2235690 A	13-03-1991
			HK 13194 A	18-02-1994
			JP H03137927 A	12-06-1991
			US 5041225 A	20-08-1991

FR 2892820	A1	04-05-2007	EP 1957978 A1	20-08-2008
			FR 2892820 A1	04-05-2007
			JP 5223676 B2	26-06-2013
			JP 2009515179 A	09-04-2009
			US 2009269776 A1	29-10-2009
			US 2012040447 A1	16-02-2012
			WO 2007051844 A1	10-05-2007

EP 0367468	A1	09-05-1990	AT 131870 T	15-01-1996
			AU 623441 B2	14-05-1992
			AU 651699 B2	28-07-1994
			AU 1831692 A	10-09-1992
			AU 4283789 A	10-05-1990
			CA 1320690 C	27-07-1993
			DE 68925185 D1	01-02-1996
			DE 68925185 T2	09-05-1996
			EP 0367468 A1	09-05-1990
			ES 2081307 T3	01-03-1996
			GR 3019134 T3	31-05-1996
			JP 3030710 B2	10-04-2000
			JP H02151765 A	11-06-1990
			NZ 230909 A	29-01-1992
			US 5030560 A	09-07-1991

US 2005124077	A1	09-06-2005	AT 539816 T	15-01-2012
			CA 2457930 A1	27-02-2003
			EP 1419387 A1	19-05-2004
			JP 4264348 B2	13-05-2009
			JP 2004538488 A	24-12-2004
			US 2005124077 A1	09-06-2005
			US 2007190667 A1	16-08-2007

US 5185127	A	09-02-1993	NONE	

WO 03008933	A2	30-01-2003	AU 2002330899 B2	06-03-2008
			CA 2452948 A1	30-01-2003
			EP 1417491 A2	12-05-2004
			JP 2004538453 A	24-12-2004
			US 2003032196 A1	13-02-2003
			US 2010092945 A1	15-04-2010
			WO 03008933 A2	30-01-2003

WO 9820348	A1	14-05-1998	AU 5166198 A	29-05-1998
			DE 19781288 B4	29-09-2005
			DE 19781288 T1	11-03-1999
			GB 2321967 A	12-08-1998
			US 5968765 A	19-10-1999
			WO 9820348 A1	14-05-1998

WO 2012010666	A1	26-01-2012	AR 082317 A1	28-11-2012
			EP 2596370 A1	29-05-2013
			FR 2963108 A1	27-01-2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2013/051358

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		TW 201217784 A	01-05-2012
		US 2013130280 A1	23-05-2013
		WO 2012010666 A1	26-01-2012

WO 2010056889	A2 20-05-2010	US 2011306065 A1	15-12-2011
		WO 2010056889 A2	20-05-2010

FR 2917174	A1 12-12-2008	AU 2008258505 A1	11-12-2008
		AU 2008258509 A1	11-12-2008
		CA 2687756 A1	11-12-2008
		CA 2687829 A1	11-12-2008
		CN 101711363 A	19-05-2010
		CN 101715558 A	26-05-2010
		EA 200971114 A1	30-06-2010
		EA 200971124 A1	30-06-2010
		EP 2158492 A1	03-03-2010
		EP 2160609 A1	10-03-2010
		FR 2917174 A1	12-12-2008
		JP 2010529444 A	26-08-2010
		JP 2010529445 A	26-08-2010
		KR 20100043180 A	28-04-2010
		KR 20100046138 A	06-05-2010
		NZ 581716 A	30-11-2012
		NZ 581717 A	30-03-2012
		US 2010178656 A1	15-07-2010
		US 2010184101 A1	22-07-2010
		WO 2008148886 A1	11-12-2008
		WO 2008148890 A1	11-12-2008
		ZA 201000095 A	29-09-2010

WO 2007064462	A1 07-06-2007	EP 1963494 A1	03-09-2008
		US 2010015595 A1	21-01-2010
		WO 2007064462 A1	07-06-2007

WO 9825758	A1 18-06-1998	AU 5596498 A	03-07-1998
		CA 2274783 A1	18-06-1998
		CN 1254308 A	24-05-2000
		DE 69735554 T2	28-12-2006
		EP 0946354 A1	06-10-1999
		JP 4461205 B2	12-05-2010
		JP 2001505818 A	08-05-2001
		US 6045899 A	04-04-2000
		US 6565782 B1	20-05-2003
		US 2004065607 A1	08-04-2004
		US 2005011834 A1	20-01-2005
		WO 9825758 A1	18-06-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2013/051358

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE		
INV.	G01N33/52 B01L3/00	G01N33/543 G01N33/68 G01N33/80 B01D67/00
ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) G01N B01L B01D		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 408 378 A2 (GORE W L & ASS UK [GB]) 16 janvier 1991 (1991-01-16)	18
Y	le document en entier page 3, ligne 28-58; revendications 1-21 -----	1-17, 19-23
Y	FR 2 892 820 A1 (DIAGAST SOC PAR ACTIONS SIMPLI [FR]) 4 mai 2007 (2007-05-04) pages 5-7; revendications 1-35; figures 1-4 pages 24-28; exemples 1,3 -----	1-23
Y	EP 0 367 468 A1 (IMMUCOR INC [US]) 9 mai 1990 (1990-05-09) le document en entier colonne 2, ligne 57 - colonne 3, ligne 63 colonne 8, ligne 49 - colonne 9, ligne 2 exemples 1-9 ----- -/--	1-23
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent		*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
E document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date		*X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
L document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)		*Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
O document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens		*Z* document qui fait partie de la même famille de brevets
P document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
3 septembre 2013	17/09/2013	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé	
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Boiangiu, Clara	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2013/051358

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	US 2005/124077 A1 (COLE ROBERT A [AU] ET AL COLE ROBERT ALAN [AU] ET AL) 9 juin 2005 (2005-06-09) le document en entier alinéas [0012] - [0061]; revendications 1-23; figures 1-5d -----	1-23
Y	US 5 185 127 A (VONK GLENN P [US]) 9 février 1993 (1993-02-09) colonne 3, ligne 61 colonne 2, ligne 1-42; revendications 1-20; figures 1-3 -----	1-23
Y	WO 03/008933 A2 (ZHOU SILIANG [US]) 30 janvier 2003 (2003-01-30) le document en entier page 1, ligne 24 - page 13, ligne 20 page 14, ligne 28 - page 15, ligne 19 page 16, ligne 6-12; revendications 1-39 -----	1-23
Y	WO 98/20348 A1 (MERCURY DIAGNOSTICS INC [US]; GRAGE HENRY M JR [US]; DOUGLAS JOEL S [U]) 14 mai 1998 (1998-05-14) le document en entier page 3, ligne 9 - page 5, ligne 9 page 14, ligne 21 - page 16, ligne 7 -----	1-23
Y	WO 2012/010666 A1 (DIAGAST [FR]; FAUCONNIER LAURENCE [FR]; BARBREAU YVES [FR]; BOULET ARN) 26 janvier 2012 (2012-01-26) le document en entier page 6, ligne 26 - page 16; revendications 1-55 -----	1-23
Y	WO 2010/056889 A2 (UNIV PENNSYLVANIA [US]; FRIEDBERG JOSEPH [US]; FOGT FRANZ [US]) 20 mai 2010 (2010-05-20) le document en entier alinéas [0009], [0018], [0019], [0032] - [0035], [0075], [0080] - [0088]; revendications 40-83; exemples 2,10,14 -----	1-23
Y	FR 2 917 174 A1 (BIO RAD PASTEUR SA [FR]) 12 décembre 2008 (2008-12-12) le document en entier revendications 1-16 -----	1-23
Y	WO 2007/064462 A1 (UNIV PENNSYLVANIA [US]; SCRIPPS RESEARCH INST [US]; SIEGEL DONALD [US]) 7 juin 2007 (2007-06-07) le document en entier -----	1-23
Y	WO 98/25758 A1 (MEMTEC AMERICA CORP [US]) 18 juin 1998 (1998-06-18) le document en entier -----	1-23

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2013/051358

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0408378	A2	16-01-1991	EP 0408378 A2	16-01-1991
			GB 2235690 A	13-03-1991
			HK 13194 A	18-02-1994
			JP H03137927 A	12-06-1991
			US 5041225 A	20-08-1991

FR 2892820	A1	04-05-2007	EP 1957978 A1	20-08-2008
			FR 2892820 A1	04-05-2007
			JP 5223676 B2	26-06-2013
			JP 2009515179 A	09-04-2009
			US 2009269776 A1	29-10-2009
			US 2012040447 A1	16-02-2012
			WO 2007051844 A1	10-05-2007

EP 0367468	A1	09-05-1990	AT 131870 T	15-01-1996
			AU 623441 B2	14-05-1992
			AU 651699 B2	28-07-1994
			AU 1831692 A	10-09-1992
			AU 4283789 A	10-05-1990
			CA 1320690 C	27-07-1993
			DE 68925185 D1	01-02-1996
			DE 68925185 T2	09-05-1996
			EP 0367468 A1	09-05-1990
			ES 2081307 T3	01-03-1996
			GR 3019134 T3	31-05-1996
			JP 3030710 B2	10-04-2000
			JP H02151765 A	11-06-1990
			NZ 230909 A	29-01-1992
			US 5030560 A	09-07-1991

US 2005124077	A1	09-06-2005	AT 539816 T	15-01-2012
			CA 2457930 A1	27-02-2003
			EP 1419387 A1	19-05-2004
			JP 4264348 B2	13-05-2009
			JP 2004538488 A	24-12-2004
			US 2005124077 A1	09-06-2005
			US 2007190667 A1	16-08-2007

US 5185127	A	09-02-1993	AUCUN	

WO 03008933	A2	30-01-2003	AU 2002330899 B2	06-03-2008
			CA 2452948 A1	30-01-2003
			EP 1417491 A2	12-05-2004
			JP 2004538453 A	24-12-2004
			US 2003032196 A1	13-02-2003
			US 2010092945 A1	15-04-2010
			WO 03008933 A2	30-01-2003

WO 9820348	A1	14-05-1998	AU 5166198 A	29-05-1998
			DE 19781288 B4	29-09-2005
			DE 19781288 T1	11-03-1999
			GB 2321967 A	12-08-1998
			US 5968765 A	19-10-1999
			WO 9820348 A1	14-05-1998

WO 2012010666	A1	26-01-2012	AR 082317 A1	28-11-2012
			EP 2596370 A1	29-05-2013
			FR 2963108 A1	27-01-2012

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2013/051358

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
		TW 201217784 A	01-05-2012
		US 2013130280 A1	23-05-2013
		WO 2012010666 A1	26-01-2012

WO 2010056889	A2 20-05-2010	US 2011306065 A1	15-12-2011
		WO 2010056889 A2	20-05-2010

FR 2917174	A1 12-12-2008	AU 2008258505 A1	11-12-2008
		AU 2008258509 A1	11-12-2008
		CA 2687756 A1	11-12-2008
		CA 2687829 A1	11-12-2008
		CN 101711363 A	19-05-2010
		CN 101715558 A	26-05-2010
		EA 200971114 A1	30-06-2010
		EA 200971124 A1	30-06-2010
		EP 2158492 A1	03-03-2010
		EP 2160609 A1	10-03-2010
		FR 2917174 A1	12-12-2008
		JP 2010529444 A	26-08-2010
		JP 2010529445 A	26-08-2010
		KR 20100043180 A	28-04-2010
		KR 20100046138 A	06-05-2010
		NZ 581716 A	30-11-2012
		NZ 581717 A	30-03-2012
		US 2010178656 A1	15-07-2010
		US 2010184101 A1	22-07-2010
		WO 2008148886 A1	11-12-2008
		WO 2008148890 A1	11-12-2008
		ZA 201000095 A	29-09-2010

WO 2007064462	A1 07-06-2007	EP 1963494 A1	03-09-2008
		US 2010015595 A1	21-01-2010
		WO 2007064462 A1	07-06-2007

WO 9825758	A1 18-06-1998	AU 5596498 A	03-07-1998
		CA 2274783 A1	18-06-1998
		CN 1254308 A	24-05-2000
		DE 69735554 T2	28-12-2006
		EP 0946354 A1	06-10-1999
		JP 4461205 B2	12-05-2010
		JP 2001505818 A	08-05-2001
		US 6045899 A	04-04-2000
		US 6565782 B1	20-05-2003
		US 2004065607 A1	08-04-2004
		US 2005011834 A1	20-01-2005
		WO 9825758 A1	18-06-1998

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 シルヴァイン・マルゴージェ

フランス・33170・グラディニャン・アレ・デュ・オー・ヴィニョー・26・レジデンス・レ
・クロ・ドゥ・ベルヴェ・アパルトマン・10

(72)発明者 メグミ・リュカ

フランス・33650・マルティヤック・ルート・ドゥ・ラ・ジョルゲール・52

专利名称(译)	体外诊断仪器及其用途		
公开(公告)号	JP2015518969A	公开(公告)日	2015-07-06
申请号	JP2015515577	申请日	2013-06-11
[标]申请(专利权)人(译)	乐骋鹿杰弗里斯		
申请(专利权)人(译)	乐骋, Diaje		
[标]发明人	ナジムシャイビ シルヴァインマルゴリーエ メグミリュカ		
发明人	ナジム・シャイビ シルヴァイン・マルゴリーエ メグミ・リュカ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	B01L3/5023 B01L3/5085 B01L2300/0663 B01L2300/069 B01L2300/0829 B01L2300/161 G01N33/525 G01N33/54386 G01N33/54393 G01N33/6854 G01N33/80 Y10T29/49826 B01L3/00 G01N33/543 G01N2800/22		
FI分类号	G01N33/53.K G01N33/543.525.W G01N33/543.525.C G01N33/543.525.U G01N33/543.525.G		
代理人(译)	村山彦 渡边 隆		
优先权	2012055452 2012-06-11 FR		
其他公开文献	JP6339562B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种体外诊断装置(10),用于检测红细胞表型抗原与血液样品或其中一种组分中特异性针对所述抗原的抗体之间的至少一种反应。该装置的特征在于它包括:基板(12);疏水性多孔膜(14)的厚度为0.5mm至1.5mm,孔径为2至30μm,所述膜包括至少一个用于接收样品的亲水反应区(16)。本发明还涉及所述装置在免疫血液学中的用途。

(21) 出願番号	特願2015-515577 (P2015-515577)	(71) 出願人	514313579 アベオ・ディアジェ
(86) (22) 出願日	平成25年6月11日 (2013.6.11)		フランス・F-33650・マルティヤック・アレ・イザック・ニュートン・12
(83) 翻訳文提出日	平成27年2月6日 (2015.2.6)	(74) 代理人	100108453 弁理士 村山 精彦
(86) 国際出願番号	PCT/FR2013/051358	(74) 代理人	100064908 弁理士 志賀 正武
(87) 国際公開番号	W02013/186482	(74) 代理人	100089037 弁理士 渡邊 隆
(87) 国際公開日	平成25年12月19日 (2013.12.19)	(74) 代理人	100110364 弁理士 岡田 信哉
(31) 優先権主張番号	1255452	(72) 発明者	ナジム・シャイビ フランス・33140・ヴィルナーヴ・ド ルノン・アヴニュー・デ・シアンヌ・6
(32) 優先日	平成24年6月11日 (2012.6.11)		最終頁に続く
(33) 優先権主張国	フランス (FR)		