

(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2010-505107

(P2010-505107A)

(43) 公表日 平成22年2月18日 (2010.2.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543	5 8 1 B
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	K

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2009-529758 (P2009-529758) (86) (22) 出願日 平成19年9月27日 (2007. 9. 27) (85) 翻訳文提出日 平成21年5月13日 (2009. 5. 13) (86) 国際出願番号 PCT/GB2007/003664 (87) 国際公開番号 W02008/037993 (87) 国際公開日 平成20年4月3日 (2008. 4. 3) (31) 優先権主張番号 0619016.9 (32) 優先日 平成18年9月27日 (2006. 9. 27) (33) 優先権主張国 英国 (GB)	(71) 出願人 509084437 プロキマ テクノロジーズ リミテッド イギリス国 ウィルシャー ソールズベリ ー ポートン ダウン テトリクス サイ エンス パーク ビルディング 1 1 4 (74) 代理人 100106002 弁理士 正林 真之 (74) 代理人 100120891 弁理士 林 一好 (72) 発明者 ボンド ダミアン ジョセフ ピーター イギリス国 ペーキャップ ランカシャー トッドモーデン ロード ザ グリーン ズ 3 コンサルティング リミテッド デービー5 最終頁に続く
---	--

(54) 【発明の名称】 超音波法

(57) 【要約】

本発明は、定在波の波節において保持される粒子上の反応から生成物を検出する方法および装置を提供する。方法および装置は、特に血液型の決定およびクームス法に関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

粒子上の反応から生成物を検出する方法であって、

(i) 粒子の懸濁液を導管内に導入するステップであって、定在波の波節において前記粒子が保持されるように前記定在波を提供する手段に関連する、ステップと、

(i i) 1 つ以上の反応物を前記導管内に導入するステップと、

(i i i) 前記定在波における前記反応の生成物から、反応しなかった任意の粒子または変異しなかった任意の粒子を分離するために、前記導管を通る流動を提供するステップと、

(i v) 前記反応から生成物を検出および / または回収するステップとを含む、ことを特徴とする方法。 10

【請求項 2】

前記反応の生成物が、前記定在波において凝集し、前記導管を通る所定の流量が、前記定在波における前記凝集粒子を、集合粒子から分離、検出および / または回収することを可能にする、ことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

1 つ以上の反応物を導入する前に、前記導管を通る洗浄溶液の流れを確立するステップを更に備える、ことを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記導管を通る洗浄流体の流れによって前記流動が提供される、ことを特徴とする請求項 1 乃至 3 のいずれか 1 項に記載の方法。 20

【請求項 5】

前記粒子の懸濁液が 1 つ以上の血液試料を含み、前記粒子が赤血球である、ことを特徴とする請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の血液型決定のための方法。

【請求項 6】

前記 1 つ以上の反応物が、赤血球凝集反応を提供する、ことを特徴とする請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

(i) 赤血球の懸濁液を導管に導入するステップであって、前記赤血球が定在波の波節において保持されるように前記定在波を提供する手段に関連づけられる、ステップと、 30

(i i) 赤血球凝集反応を提供する 1 つ以上の反応物を前記導管内に導入するステップと、

(i i i) 前記導管を通して所定の流量で流動を提供することによって前記赤血球の集合にわたって赤血球凝集反応を検出するステップであって、それによって前記所定の流量は、前記定在波における赤血球凝集反応の存在を、前記赤血球の集合から区別することを可能にする、ステップとを含む、ことを特徴とする、赤血球凝集反応を検出するための請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記赤血球凝集反応を提供する前記反応物が、モノクローナル免疫グロブリン M 抗体を含む、ことを特徴とする請求項 7 に記載の方法。 40

【請求項 9】

クームス法を実行する、ことを特徴とする請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

前記赤血球の懸濁液が、血液試料の混合物である、ことを特徴とする請求項 7 乃至 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記粒子および前記反応物が、前記導管に導入される前に混合される、ことを特徴とする請求項 1 乃至 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

導管と、前記導管内に配置されて波節を有する定在波を生成する手段と、流動を提供す 50

る手段とを含む、ことを特徴とする請求項 1 乃至 11 のいずれか 1 項に記載の方法を実行する装置。

【請求項 13】

請求項 12 の前記装置と 1 つ以上の反応物とを含む、ことを特徴とする請求項 1 乃至 10 のいずれか 1 項に記載の方法を実行するためのキット。

【請求項 14】

血液型決定のための請求項 7 または 8 に記載の方法の使用。

【請求項 15】

クームス法を実行するための請求項 7 に記載の方法の使用。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、粒子上の反応から生成物、特に粒子凝集の生成物を検出するために、超音波定在波を利用する方法および装置に関する。

【背景技術】

【0002】

反応とは、例えば、分子の環境、または他の分子および / または粒子の活動によって、分子または粒子が変化を受けるときに生じるものである。

反応は、例えば、荷電、化学結合、または相補的分子（抗原に対する抗体、相補配列に対する核酸など）によって、2 つの実体（例えば 2 つの粒子）の間の結合の形成に関わることがある。

20

科学者は、反応条件を最適化する（特に速度、効率および収率を増加させる）ように常に努めている。

最適化とは、多くの場合、反応混合物からの干渉物質（例えば反応の阻害剤）の除去、環境のいくつかの変化（例えば複合反応の異なるステップのための流体（緩衝液）間の運動）、および反応の生成物の濃縮、精製および検出に関わるものである。

最初の試料マトリックスにおける干渉物質の存在は、反応の結果に影響を及ぼし、それらの効果は「マトリックス効果」と呼ばれることが多い。

例えば、マトリックス効果とは、試料中の関連する分子または粒子との共反応または非特異的反応の結果として、所望の反応が影響を受けるかまたは抑制されるものである。

30

従って、最適化された作業工程は、達成するのに手間がかかり、数多くのステップ（特に干渉物質を取り除く反復洗浄ステップ）を含むことがある。

従って、最適化を保持しつつ、反応を実行する複雑さを低減する、という要求がある。

【0003】

生体反応とは、生物学的起源の 1 つ以上の物質（例えば植物、動物および微生物において生じる物質）に関わる反応である。

そのような物質は、タンパク質、核酸、脂質、炭水化物、およびそれらの合成変異体および誘導体を含む。

物質は、反応における原因物質（例えば酵素変異のために酵素を使用するなど）、または反応によって変異する実体でもよい。

40

また、物質は、タンパク質ベースの認識要素（例えば抗体、バクテリオファージ、レクチン、リポカリン、およびそれらの断片および誘導体）、および核酸ベースの認識要素（例えばポリヌクレオチド、アプタマ、およびそれらの断片および誘導体）などの認識要素であってもよいが、これらに限定されるものではない。

抗原に対する抗体の結合、および相補的ポリヌクレオチド配列またはオリゴヌクレオチド配列に対するポリヌクレオチドの結合は、極めて特異的であることが多いので、様々な診断試験（例えば免疫測定法および分子アッセイ）において利用されてきた。

【0004】

化学反応は、沈殿または凝集などの形態変化を含む化学変化をもたらす化学経路におけるありとあらゆるステップを含む。

50

【 0 0 0 5 】

超音波または音波の定在波場は、場の波節または波腹において、液体内の粒子を局在化することができる。

局在化は、粒子および流体の相対密度および圧縮率を含む多数の異なる要因に依存する。

【 0 0 0 6 】

音波の定在波場は、反対方向に伝わる同一周波数の2つの波（2つの異なる源から生成、または固体の境界から反射される1つの源から生成されるもの）を重ね合わせることで発生する。

そのような波は、半分の波長の空間的周期性を有するゼロ局部圧力の領域（音波の波腹）と、それらの領域の間に生じる最高圧力の領域（音波の波節）とによって特徴づけられる。

【 0 0 0 7 】

超音波は、20,000ヘルツ（Hz）を超える周波数を有する音である。

超音波定在波共振器において生成される音響放射力が、局部的な波節または波腹の平面に対して、水性懸濁液内の均一に分散された粒子／細胞をもたらす、ということが確立されて久しい。

放射力が生じる理由は、伝播段階における任意の不連続性（例えば粒子、細胞、液滴または泡）が、音場内にあることによって、位置に依存する音波位置エネルギーを獲得するからである。

従って、懸濁粒子は、最小限の音波位置エネルギーの位置に向かって移動して集中する傾向がある。

放射力の側方成分（軸性成分より約2桁小さい）は、平面内で作用し、単層において細胞／粒子を濃縮する。

国際特許出願公開第WO 02 / 072236号明細書に記載されるように、この現象は、懸濁液から粒子を分離（特に血漿から血液細胞を分離）するために、首尾よく利用されている。

【 0 0 0 8 】

国際特許出願公開第WO 04 / 033087号明細書（引用によって本願明細書に援用する）は、流体間で粒子を移動させる装置および方法を開示しており、特に微生物学的試料の洗浄に向けられるものであるが、そののみに向けられるものではない。

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 9 】

本発明は一般に、粒子上の反応から生成物を検出する方法および装置を提供することを目的としており、当該方法および当該装置は、干渉物質の除去を容易にすること、流体間での粒子の移動を提供すること、および得られる生成物を検出することが可能であり、さらに速度を向上させ、反応の複雑さを低減する。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 0 】

本発明は、超音波定在波場内で粒子を捕えることによって、上記を行うことを目的とする。それによって、1つの（または場合によっては複数の）位置において反応を行うことを可能にするプラットフォームを提供する。

超音波プラットフォームはまた、反応の前に、任意の干渉物質および／または混在物質の全てまたは大部分から粒子を分離することを可能にする。

【 0 0 1 1 】

本明細書で用いられる粒子は、特に、細菌細胞、血液細胞、血小板、細胞断片、孢子、プラスミドまたはウイルスを意味するが、1つ以上の異なる化学的または生物学的な部分またはその合成誘導体を有する合成粒子（変異またはコーティングをしてもしなくてもよい）をも含む。

10

20

30

40

50

合成粒子の例は、ポリマー（例えばラテックスおよびポリスチレン）、複合体（例えばポリスチレンで被覆した金）、正磁性核を有する粒子およびガラス/二酸化ケイ素ビーズ（タンパク質で被覆してもしなくてもよい）、捕捉残基、認識要素、リガンド、増幅部分、または他の化学的または生物学的な作用因子を含むが、これらに限定されるものではない。

【 0 0 1 2 】

血液型決定および血液型判定は、患者に輸血する血液を準備する際に利用される。

ヒト血液型判定が異なるということは、赤血球表面から延びるグリコホリンとして公知の膜貫通タンパク質の有無に起因する。例えば、グリコホリン A は、血液型 A を決定する。

10

遺伝的に決定される血液型群系は、20種類を超える。

【 0 0 1 3 】

血液型決定の従来の方法は、特異的なグリコホリンに対する免疫グロブリン M 抗体に関わる。

免疫グロブリン M は、複数の血液細胞上の抗原に結合することができ、架橋することによって細胞の複合体を形成する。

複数の架橋は、凝集物形成をもたらし、凝集物は多数の手段によって測定できる。

R h プラスおよび R h マイナスの血液因子は、同様の方法で決定できる。

【 0 0 1 4 】

A B O / R h 血液型決定のための従来の方法は、長所および短所を有する。

20

例えば、試験カードのラテックス粒子凝集（L P A）は、質的な指標であって、多くの場合、非感受性であり、非定量的であり、解釈が困難である（メイン J および ラム G, 1999 病理学, 31, 67 - 69）。

固相付着法（S P A M；シノー L Tら, 1985 トランスフュージョン誌, 25, 21 - 23）は、明確な終留点反応を与えるものであり、陽性および陰性の結果を容易に区別できる。

しかしながら、この方法は、高度に精製された抗体でマイクロプレートを被覆するという不利な必要条件を有する。

【 0 0 1 5 】

血液型決定は、重要である。なぜなら、供血者の血液抗体は、患者の血液試料に適合しないことがあり（またはその逆も同じ）、それによって抗体は、免疫系を活性化する外来性血液細胞表面上の抗原に付着し、その血液細胞を異質粒子として攻撃し、溶血反応を活性化することがあるからである。このことは、致命的である場合もある。

30

最も一般的な抗原は、（R h の）A、B および D である。

臨床的に重要な更なる抗原は、26種類ある。

従って、供血者または患者から血液を入手する際に、血液の A B O D 分類を決定し、かつ血液が任意の重要な抗原または抗体を含むかどうかを更に調べるために、血液の特性を明らかにする。

患者血液もまた、供血者試料がそれに適合することを保障するために、輸血を実施する前に検査される。

40

最後に、輸血されるすべての供血者試料は、有害反応が生じないことを保証するために、患者血液によって交差反応させられる。

【 0 0 1 6 】

凝集とは、粒子が架橋結合作用因子または標的分析物の存在下で架橋結合することを指す一般用語である。

凝集は通常、抗体および抗原によって媒介され、粒子は一般的に、ポリスチレン球（一般に「ラテックス凝集反応」試薬と呼ばれる）である。

凝集は、粒子の架橋結合を提供する他の作用因子によって媒介されることにより、複合体（例えばビオチン - アビジン）を形成することもある。

赤血球凝集反応とは、凝集の一種であり、粒子はそれによって赤血球となっている。

50

【 0 0 1 7 】

血液型判定の決定は、凝集反応に基づくものであり、血液試料はそれによってグリコホリンに特異的な架橋剤と混合される。

モノクローナル免疫グロブリン M 抗体は、一般的に、主要な血液型（例えば A、B および D）のための架橋結合作用因子として用いられる。

免疫グロブリン M は、複数の血液細胞上の抗原に結合し、複合体を形成するように架橋し、赤血球の血球凝集反応をもたらす。

赤血球凝集反応の生成物は、多数の手段によって測定することができる。

【 0 0 1 8 】

しかしながら、モノクローナル免疫グロブリン M 抗体は、患者 / 供血者交差適合試験法で不適合性を決定するためには適切でない。

この場合には、供血者の赤血球上の抗原に結合できる I g G 抗体を患者の血清が含むか否か（またはその逆も同じ）を決定する試験が用いられる。

この中間的および一般的な方法は、クームス法またはクームス試験と呼ばれる。これによって、患者試料および供血者試料は、試薬（クームス試薬として公知のもの）と混合されて処理される。

この試薬は、抗ヒト免疫グロブリン G および抗補体 C 3（C 3 b + C 3 d）抗体、ならびに抗免疫グロブリン M および抗免疫グロブリン A 抗体を備える。これらは、血液中の免疫グロブリン G 抗体に結合できる。

クームス試薬が、赤血球上の抗原に付着した免疫グロブリン G 抗体に結合する場合、凝集が生じる。

クームス法はまた、非細胞結合性抗体を除去するために、試薬を追加する前に、洗浄するステップを含む。

このことは、患者血清の非細胞結合性免疫グロブリン G 抗体が試薬に結合することによって誤った結果をもたらすことを防止する。

【 0 0 1 9 】

クームス法において、非結合性免疫グロブリン G 抗体は、干渉物質である。これらの干渉物質を除去する必要性から、血液型判定のための試験装置の設計がもたらされた。この試験装置は、クームス反応を実行する前に、基本的にゲルを用いることによって、異なるサイズの母集団を分離するシステムによって達成される。

この方法の欠点として、遠心分離ステップの必要性が挙げられる。

そのような方法は、米国特許第 5 4 6 0 9 4 0 号明細書に記載されている。

【 0 0 2 0 】

本発明はまた、粒子凝集（特に赤血球凝集反応）の生成物を検出する方法および装置を提供することを目的とする。

【 0 0 2 1 】

従って、本発明は、第 1 の態様において、粒子上の反応から生成物を検出する方法を提供し、当該方法は、

（ i ）粒子の懸濁液を導管内に導入するステップであって、定在波の波節において粒子が保持されるように定在波を提供する手段に関連する、ステップと、

（ i i ） 1 つ以上の反応物を導管内に導入するステップと、

（ i i i ）反応から生成物を検出および / または回収するステップとを含む。

【 0 0 2 2 】

好ましい実施形態において、ステップ（ i i i ）は、導管を通して所定の流量で流動を提供することによって反応から生成物を検出することを含む。それによって、所定の流量は、反応しなかった粒子または変異しなかった粒子にわたって、定在波における生成物の存在を検出することを可能にする。

【 0 0 2 3 】

流動は、好ましくは、導管を通る洗浄流体の流れによって提供される。

所定の流量は、一定の規模でもよく、またはそれに代わって不定の規模でもよい。例え

10

20

30

40

50

ば、所定の流量は、直線的に、あるいは一様なまたは一様でない所要時間の階段状増加で、流動の規模を増加および／または減少させることを含んでもよい。

【 0 0 2 4 】

生成物を検出することは、所定の流量で定在波において反応の生成物を保持すること、または所定の流量で定在波から反応の生成物を事実上除去することを含んでもよい。

所定の流量は、例えば、反応しなかった粒子または変異しなかった粒子を、定在波から一掃または除去することを可能にしてもよく、その間、反応の生成物は、定在波において保持または維持されたままになる。

それに代わって、所定の流量は、定在波から反応の生成物を一掃または除去することを可能にする結果として、生成物に特異的な流量または流量の範囲にわたって、生成物を定在波から一掃または除去してもよい。

10

【 0 0 2 5 】

好ましい実施形態において、上記方法は、粒子凝集の生成物を検出するためのものであり、ステップ (i i) は、粒子凝集を提供する 1 つ以上の反応物を導管内に導入することを含み、ステップ (i i i) は、導管を通して所定の流量で流動を提供することによって粒子凝集を検出することを含む。

より好ましい実施形態において、ステップ (i i i) は、導管を通して所定の流量で流動を提供することによって粒子集合にわたって粒子凝集を検出することを含む。それによって、所定の流量は、粒子集合にわたって定在波における粒子凝集の存在を検出することを可能にする。

20

【 0 0 2 6 】

出願人は、意外にも、流動の適用によって、超音波定在波において保持される粒子凝集の生成物を、定在波において保持される粒子集合の生成物から区別できる、ということを見いだした。

【 0 0 2 7 】

所定の流量の流動は、特に、粒子凝集の生成物すなわち定在波における凝集体を、粒子集合の生成物すなわち定在波における集合体から区別することができる。

また、流動は、粒子凝集および粒子集合の両方を含む生成物の存在を区別することができる。

定在波において保持される凝集体は、定在波において保持される集合体よりも、はるかに高い流量に耐えることができる。

30

粒子凝集の生成物、粒子集合の生成物、および任意の中間生成物は、いずれも所定の流量の適用によって検出でき、互いに区別することができる。

【 0 0 2 8 】

本明細書で用いられる集合とは、特に定在波の単数または複数の波節において粒子が保持されるときに粒子が凝集する現象である。

集合体は、集合の生成物である。

【 0 0 2 9 】

本明細書で用いられる凝集とは、架橋結合作用因子または標的分析物（例えば抗体）の存在下で粒子が互いに架橋結合する現象である。

40

従って、粒子は、物理的および／または化学的に互いに付着する。

凝集体は、凝集の生成物である。

【 0 0 3 0 】

ステップ (i) の懸濁液および／またはステップ (i i) の 1 つ以上の反応物は、ある流量で導入してもよい。しかしながら、それに代わって、反応物と、定在波の波節において保持される粒子との間に、ほとんどまたはまったく相対運動がないときに（すなわち静的システムにおいて）、反応が実行されてもよい。

【 0 0 3 1 】

上記方法のステップ i は、定在波の単数または複数の波節において粒子が保持されるように定在波を提供することを含んでもよい。

50

【 0 0 3 2 】

上記方法は、好ましくは、導管を通る洗浄溶液の流れを確立する更なるステップを含み、その後、1つ以上の反応物を導入し、定在波において保持されない懸濁液の成分の除去を可能にし、およびそれに加えてまたはそれに代わって定在波において保持される粒子の洗浄を可能にする。

このステップは、特に、粒子を保持しながら、懸濁液からマトリックス効果を除去できるので、干渉なしに粒子が反応を受けることができる。

【 0 0 3 3 】

さらに、本出願人は、定在波において波節から波腹へと移動する粒子または集合粒子を有する流動に対して垂直に音響流が生じることを見いだした。

このことは、特に、そうした定在波による流体および可溶性材料の移動を補助し、粒子または集合体に反応物を導入し、共洗混合を促進する粒子または集合体から非結合材料を除去する際に、有効である。

【 0 0 3 4 】

反応の生成物の回収は、好ましくは、導管を通して流動を所定の流量で提供することによって可能となる。それによって、所定の流量は、定在波から生成物を一掃または除去することを可能にする。

生成物は、一定の流量における定在波から一掃されてもよく、またはそれに代わって流量の範囲にわたって一掃されてもよい。流量は、反応の生成物に対して特異的であってもよい。

それに代わって、反応の生成物の回収は、上記定在波を除去することによって、または粒子の除去が可能になる開口部に定在波が至るまで導管を移動させることによって、または粒子と生成物との重量、密度またはサイズの差異を手段とした定在波からの生成物の自動的遊離によって、可能にしてもよい。その結果、生成物は、定在波の単数または複数の波節において保持されなくなる。

【 0 0 3 5 】

上記方法は、ステップ (i i i) の前に、1つ以上の反応物を導管に導入する複数のステップを含んでもよく、各複数のステップの間に、導管を通る洗浄溶液の流れを確立するステップを挿入してもよい。

このことは、複合反応 (複数のステップを含む) を単一の導管の中で実行することを可能にする。

本明細書で用いられる複数のステップは、2つ、3つ、4つまたは5つのステップを含むが、これらに限定されるものではない。

【 0 0 3 6 】

粒子は、好ましくは、細菌細胞、血液細胞、血小板、細胞断片、孢子、プラスミドまたは他のDNA、ウイルス、大きなタンパク質分子、またはポリスチレンまたは他の合成物質であり、1つ以上の異なる化学的または生物学的な部分 (例えば抗体またはその合成誘導体) によって変異または被覆されてもされなくてもよい。

【 0 0 3 7 】

上記方法は、特に血液型決定の方法、特に赤血球凝集反応 (すなわち赤血球の凝集) を検出する方法に関する。それによって、所定の流量は、定在波における赤血球凝集反応の存在を、赤血球の単なる集合にわたって検出することを可能にする。

【 0 0 3 8 】

従って、第2の態様において、本発明は、赤血球凝集反応を検出する方法を提供し、当該方法は、

(i) 赤血球の懸濁液を導管に導入するステップであって、赤血球が定在波の波節において保持されるように定在波を提供する手段に関連づけられる、ステップと、

(i i) 赤血球凝集反応を提供する1つ以上の反応物を導管内に導入するステップと、

(i i i) 導管を通して所定の流量で流動を提供することによって赤血球の集合にわたって赤血球凝集反応を検出するステップであって、それによって所定の流量は、定在波にお

10

20

30

40

50

ける赤血球凝集反応の存在を、赤血球の集合にわたって検出することを可能にする、ステップとを含む。

【0039】

上記方法は、好ましくは血液型決定のためのものであり、従って赤血球の懸濁液は、好ましくは1つ以上の血液試料である。

上記方法は、超音波（定在波）および所定の流量を用いることにより、安定した陽性の（血球凝縮した）試料を、弱い陽性の試料、陰性（集合単細胞または血球凝縮していない単細胞）の試料から識別する。

弱い陽性は、部分的な赤血球凝集反応（架橋結合のための抗体または抗原がほとんどないもの）、または弱い凝集（抗原に対する結合活性が低い抗体）の結果である。

例えば、定在波の単数または複数の波節において保持される血球凝縮した赤血球は、30ボルト（V）のトランスデューサに対する印加電圧において35ミリリットル（ml）/時の流量に耐えるが、定在波の単数または複数の波節において保持される集合赤血球は、耐えられない。

一般的に、血球凝縮した赤血球は、集合赤血球に比較して、2～3倍の流量に耐えることができる。

【0040】

赤血球凝集反応を提供する反応物は、赤血球を直接的に架橋できるモノクローナル免疫グロブリンM抗体、または表面に付着した免疫グロブリンG抗体を有する赤血球を架橋できるクームス試薬を含んでもよい。

【0041】

上記方法は、より好ましくは、クームス法を実行するため、またはそれに代わってクームス法を改変した血液型決定のために用いられる。それによって、赤血球の懸濁液は、血液試料の混合物であり、好ましくは、患者血液試料と予測される供血者血液試料との混合物である。

上記方法の好ましい実施形態において、導管を通る洗浄溶液の流れを用いることにより、1つ以上の反応物を導管に導入する前に、不必要な成分（例えば赤血球の表面に結合していない望ましくない免疫グロブリンG抗体（「マトリックス効果」））を除去する。

1つ以上の反応物は、好ましくは、血液免疫グロブリンG抗体（例えば抗ヒト免疫グロブリンG抗体および/または抗補体C3抗体）への結合に適した抗体、最も好ましくは、クームス法における使用に適した反応物を含む。

抗体は、好ましくは、ヒト免疫グロブリンG抗体に対する一般的な特異性を有する。

【0042】

上記方法は、1つの連続工程において、超音波装置の導管の中で、赤血球の保持、望ましくない非特異的免疫グロブリンG抗体の除去、赤血球凝集反応、生成物の検出および回収を可能にする。

上記方法は、標準的なクームス法を実行する際の多くの問題を解決する。

【0043】

第3の態様において、本発明は、第1の態様の方法を実行する装置を提供し、当該装置は、導管と、導管内に配置されて単数または複数の波節を有する定在波を生成できる手段と、流動を提供できる手段とを備える。

【0044】

上記装置は、好ましくは、国際特許出願公開第WO 04/033087号明細書に開示される装置の特徴のうちの1つ、2つ以上、またはすべてを備える。

【0045】

第4の態様において、本発明は、第1の態様の方法を実行するキットを提供し、当該キットは、第2の態様の装置および1つ以上の反応物を含む。

【0046】

一実施形態において、反応物は、血液型決定のための免疫グロブリンM抗体を含む。

第2の実施形態において、試薬は、クームス法の実行または改変を可能にする抗ヒト免

10

20

30

40

50

疫グロブリン G 抗体および / または抗補体 C 3 抗体を含む。

【発明を実施するための形態】

【0047】

< 実施例 >

超音波定在波技術は、免疫測定技術の多くの提示に適用されている。

ほとんどの免疫測定試験は、抗体（血清学）、あるいはサンドイッチ形式または競合形式の抗原を検出する。

血清学試験は、血液試料中の特異抗体の存在を検出するものであり、免疫グロブリン G または免疫グロブリン M 抗体を測定したり、疾病経過を判定したりするために一般的に用いられるものであるが、他の種類の抗体（例えば免疫グロブリン A、免疫グロブリン D または免疫グロブリン E）を検出することもできる。

【0048】

血液型判定実験のために用いた洗浄溶液または洗浄流体は、脱イオン水を用いて調製した 0.01 M リン酸緩衝食塩水（英国のシグマ社）であった。

血液型判定のために使用できる他の洗浄溶液は、(i) ダルベッコ燐酸緩衝生理食塩水 (PBS)（イスラエルのベイト ハアメクのバイオロジカル工業社から入手）、(ii) 4% (w/v) ポリエチレングリコール (PEG) 15000 - 20000 MW（フラッカ社）および 0.3% (w/v) 硫酸デキストランソーダ塩（アマーシャン生命科学社）を用いて水中で 1:1 希釈した PBS から作る溶液、および (iii) 0.001 - 0.01% (w/v) ポリオキシエチレン - 10 - トリデシルエーテル（シグマ社）を用いた PBS 溶液を含む。

【0049】

血液型判定実験のために用いる赤血球懸濁液および反応物は、ダイアメッド社およびイムコ・ガンマ社から入手した。

用いた懸濁液は、以下の通りである。

(1) ダイアメッド社の緩衝懸濁液 3 における A₁、A₂、B および O のヒト起源赤血球。
防腐剤：抗生トリメトプリムおよびスルファメトキサゾール。

(2) ダイアメッド社の緩衝懸濁液 4 における A₁、A₂、B および O のヒト起源赤血球。
防腐剤：抗生トリメトプリムおよびスルファメトキサゾール。

(3) ダイアメッド社の緩衝懸濁液 4 における、免疫グロブリン G によって感度を高められる「クームス制御免疫グロブリン G」ヒト起源赤血球。

防腐剤：抗生トリメトプリムおよびスルファメトキサゾール。

(4) ダイアメッド社の緩衝懸濁液 3 におけるダイアセル・ヒト起源赤血球 I、II および III。

(5) 3 種類の血漿：抗 D / C N⁰10、抗 D / C N⁰19、および抗 C N⁰25。

(6) 抗ヒトグロブリン、抗免疫グロブリン G（マウスモノクローナル）、C3d（イムコ・ガンマ社）。

防腐剤：0.1% アジ化ナトリウム。

(7) キャプチャ - R（登録商標）、陽性および陰性の管理血清（イムコ・ガンマ社）。

防腐剤：0.1% アジ化ナトリウム。

【0050】

赤血球の必要な濃度は、最初の懸濁液を PBS または ID 希釈液 2（ダイアメッド社）で希釈することによって得られた。

超音波チャンバに導入される最終的な赤血球濃度は、特に明記しない限り 0.3% であった。

【0051】

ダイアクロン抗 A、抗 B および抗 D 抗体（ダイアメッド社）は、PBS または ID 希釈液 2 を用いて、必要な濃度に希釈した（特に明記しない限り、通常は 20 倍の希釈）。

【0052】

クームス試薬は、(i) ダイア・クロン・クームス試薬（ダイアメッド社）および多

10

20

30

40

50

特異性 A H G (ウサギ抗免疫グロブリン G、モノクローナル抗 C 3 d、細胞系 C 1 3 9 - 9 (ダイアメッド社)) (防腐剤として 0.1%未満のアジ化ナトリウムを含む)、および (i i) 抗ヒトグロブリン、抗免疫グロブリン G (マウスモノクローナル) (防腐剤として - C 3 d (イムコ・ガンマ社) 0.1%アジ化ナトリウム) を含んだ。

ダイヤ・クローン抗血清抗体 (ダイアメッド社) および抗免疫グロブリン G (マウスモノクローナル)、- C 3 d (イムコ・ガンマ社) は、P B S または I D 希釈液 2 (ダイアメッド社) を用いて、必要な濃度に希釈した。

【0053】

血液型決定実験のために用いた超音波装置は、ディスク圧電トランスデューサと、石英ガラス反射器と、試料溶液のためのスペーサ層と、スペーサ層からトランスデューサを分離する連結ステンレス鋼層とを含んだ。

10

上記装置は、L. A. クズネツォワら (ラングミュア 2007、23、3009 - 3016) に記載されている。

注射器によって赤血球懸濁液をスペーサ層に充填した。

スペーサ層への入口は、K D S 100 シリンジポンプ (米国マサチューセッツ州 K D サイエントフィック社) に再接続され、このシリンジポンプが、チャンバを通して、P B S、抗体懸濁液またはクームス試薬を注入した。

細胞運動は、オリンパス B X 41 M 落射蛍光顕微鏡、または T V ズームレンズを有する標準 P A L C C D J V C ビデオカメラ (日本のビクター社) を用いて観察した。

カメラは、0.5 顕微鏡アダプタを介して接続され、画像は、標準ビデオテープ上に記録された。

20

【0054】

予備的な電圧 / 周波数走査は、最適周波数を確立した。

注射器によって P B S およびヒト赤血球の懸濁液をスペーサ層に注入した。

トランスデューサの公称共振周波数 (1.5 M H z) に近い範囲において周波数をわずかに増加させながら掃引し、最小限の電圧で周波数を識別することによって、走査を実行した。

確立された共振周波数は、血液型判定実験を通じて手作業で維持された。

【0055】

選択された周波数における音圧振幅は、L. A. クズネツォワら (ラングミュア誌 2007, 23, 3009 - 3016) に記載されるように、軸方向の直接放射力と懸濁液内の粒子に作用する重力とのバランスから、実験的に推定した。

30

1.3 ボルト (V) の閾電圧における音圧振幅 P_0 は、 $3.9 \times 10^3 \text{ N/m}^2$ (39 キロパスカル (k P a)) であったが、これは P_0 対 V 一次従属性から実験条件における評価を可能にするものである。

【0056】

実験ごとに、赤血球懸濁液の新たな部分をチャンバに注入した。

定在波を加えると、赤血球は、音響放射力によって波節平面に駆動され、そこで波節における集合体を形成した。

集合体と凝集体との間の差異は、水力学的な流れを加えた際に明瞭に観察された。

40

各実験の後、スペーサ層は、洗剤によって洗浄し、脱イオン水ですすいだ。

チャンバは、アルコールによって殺菌した。

【0057】

流れの中で超音波によって形成される集合体の安定性は、音圧振幅に依存する。音圧振幅は、トランスデューサ全体の電圧と直線的に比例する。

特に明記しない限り、実験用に 30 ボルト (V) の電圧を選択した。

【0058】

< 実施例 1 > 赤血球凝集反応の負の対照実験

負の対照実験は、抗 B 抗体を有する A グループ細胞、抗 A 抗体を有する B グループ細胞、抗 D 抗体を有する A_1 、 A_2 または B グループ細胞、および抗 A 抗体および抗 B 抗体の両

50

方を有する O 赤血球の相互作用を含んだ。

【 0 0 5 9 】

等しい体積のグループ A₁ および A₂ 赤血球懸濁液および抗 B 抗体を、予備混合し、スぺーサ層に注入し、超音波に露出した。

スぺーサ層の中央において大きな集合体が成長するのが観察された。

その成長の主な誘因は、いくつかの単細胞株および小さな細胞凝集であった。

チャンバの周辺には、より小さな集合体があり、その一部が最終的に中央集合体と連結し、主集合体の再編成をもたらした。

超音波に露出した 1 分以内に、直径約 2 ミリメートル (mm) の集合体が形成された。

その直後に、8 ミリリットル (ml) / h の速度で、洗浄溶液の流れが開始した。

その結果、主集合体の端から、遅いが連続的な単細胞分離が生じ (2 倍 ~ 5 倍の顕微鏡拡大で明瞭に観察された)、より小さい集合体の迅速な崩壊がチャンバの周辺に散乱した。

。流量が増加すると、中央集合体の崩壊も増加した。

35 ミリリットル (ml) / h ~ 40 ミリリットル (ml) / h の間において、集合体が約 2 分以内に完全に分離する、ということが判明した。

【 0 0 6 0 】

変更した実験手順は、A グループ細胞を含む懸濁液をスぺーサ層に注入し、超音波を開始し、中央細胞集合を形成することに関わった。

その後、不適合の抗 B 抗体を、2 分間にわたって 8 ミリリットル (ml) / h の流量でチャンバに注入した。

流量が増加するにつれて、集合体分離のパターンは、上述と同じであった。

凝集は、観察されなかった。

【 0 0 6 1 】

等しい体積の A₁、A₂ または B グループ細胞および抗 D 抗体の予備混合された懸濁液を、超音波に露出すると、波節平面において細胞集合がもたらされた。

集合体は、35 ミリリットル (ml) / h において崩壊し、流失した。

前もって作った細胞集合体を、遅い流量で不適合抗体の流れの中で洗浄し、次に 35 ミリリットル (ml) / h のより高い流量にさらしたときに、同一の結果が得られた。

【 0 0 6 2 】

予備混合した O グループ赤血球および抗 A 抗体および抗 B 抗体の懸濁液を、超音波に露出すると、細胞集合がもたらされた。

分離は、上記の通りであった。

【 0 0 6 3 】

< 実施例 2 > 赤血球凝集反応の正の対照実験

正の対照実験は、抗 A 抗体を有する A グループ赤血球、抗 B 抗体を有する B グループ赤血球、および抗 D 抗体を有する O グループ赤血球の相互作用を含んだ。

【 0 0 6 4 】

等しい体積のグループ A₁ および A₂ 赤血球懸濁液を抗 A 抗体に予備混合、またはグループ B 赤血球懸濁液を抗 B 抗体に予備混合し、超音波に露出した結果、露出の 1 分以内に定在波の波節において凝集体が生成された。

実施例 1 において説明したように、形成のパターンは、集合のパターンとは非常に異なる。

単細胞が放射力によって引き寄せられて中央集合体を形成するのではなく、小さいサイズから中間サイズの凝集体が放射力によって引き寄せられて中央凝集体を形成する。

超音波に露出した 1 分以内に、1 つの大きな中央凝集体と、いくつかの小さい周辺凝集体とが形成された。

その直後に、流れを開始した。

低い流量および中間の流量において、中央凝集体は、流れの方向に位置が僅かに移動したものの、崩壊の徴候を示さず、そのまま残った。一方、より小さい凝集体は、流れによ

10

20

30

40

50

ってその場から一掃された。

場合によっては、より小さい凝集体は、主凝集体を通り過ぎて一掃されたが、接触が生じた場合は主凝集体に付着した。

主凝集体は、流れを80ミリリットル(m l) / h ~ 110ミリリットル(m l) / hに増加させるまでは、そのまま残ったが、その後、凝集体は全体として流失した。すなわち、実施例1に示すような集合体に関する単細胞の分離は、凝集体には生じなかった。

【0065】

抗D抗体を有するOグループ赤血球の等しい体積の予備混合した懸濁液を超音波に露出すると、凝集体がチャンバの中央に形成され、その凝集体は、80ミリリットル(m l) / hの流速で全体として一掃されるまでは、崩壊の徴候を示さなかった。

10

定在波の波節において凝集したOグループ赤血球に対する抗D抗体の導入も、同一の効果を有した。

この場合、凝集は、Rhプラスの血液型を示す。

【0066】

実施例1および実施例2における実験は、30ボルト(V)のトランスデューサ電圧で実行した。

なお、より低い電圧においては、集合体生成物が定在波から一掃された流量と、凝集体生成物が定在波から一掃された流量との間の差異がより少なかったので、陰性の結果から陽性の結果を区別することは、達成がより困難な場合もある。

50ボルト(V)を越える電圧においては、空洞化気泡が作業工程を妨げることが多かった。

20

【0067】

<実施例3> クームス法

クームス法は、実際には、直接クームス試験および間接クームス試験という2つの異なる試験を含む。

直接クームス試験は、生体内で赤血球表面抗原に結合した抗体または補体系要因を検出するために用いられる。それに対して、間接クームス試験は、輸血前に患者または供血者の血漿中または血清中に存在する低濃度の抗体を検出するために用いられる。

2つの試験は、抗ヒト抗体(免疫性を与えられたヒト以外の種によって生成されるもの)が、ヒト抗体(一般に免疫グロブリンGまたは免疫グロブリンM)に結合する、というコンセプトに基づく。

30

また、動物性抗ヒト抗体は、赤血球の表面上に固定するヒト抗体に結合し、そのような赤血球は、適切な試験管条件において凝集する。

【0068】

直接クームス試験 - 正

0.4%クームス対照免疫グロブリンGを予め加えた細胞の懸濁液(すなわち品質管理試験として使用するためにすでに付着した免疫グロブリンG抗体を有する細胞)を、チャンバに流し込み、超音波に露出した。

細胞は、チャンバの中央の波節において凝集した。

クームス血清の10倍希釈溶液を、チャンバを通して8ミリリットル(m l) / hの流量で流し込むと、細胞凝集がもたらされた。

40

凝集体は、80ミリリットル(m l) / hの流量で、全体として流失した。

【0069】

0.8%クームス対照免疫グロブリンGの予め加えた細胞およびクームス血清の10倍希釈溶液の等しい体積の予備混合された懸濁液(最終的な細胞濃度を0.4%とする)を超音波場に露出したときにも、凝集が生じた。

凝集体は、この場合も80ミリリットル(m l) / hにおいてそのまま流失した。

【0070】

直接クームス試験 - 負の対照

クームス血清の10倍希釈溶液を有する0.6%のグループA₁、A₂、BまたはO赤血

50

球の10倍希釈溶液の予備混合された等しい体積の懸濁液（最終的な細胞濃度を0.3%とする）を超音波に露出すると、波節平面において細胞集合がもたらされた。

凝集は生ぜず、集合体は、35ミリリットル（ml）/hの流量で流失した。

【0071】

クームス試薬滴定

細胞凝集をもたらしクームス試薬の最小限の濃度を決定するために、滴定を実行した。

最初のクームス試薬濃度を10倍および100倍に希釈したときに、安定した細胞凝集が生じる、ということが判明した。

凝集体は、安定性を示し、80～110ミリリットル（ml）/hの流量においてのみ、全体として超音波場から一掃された。

1000倍希釈溶液において、部分的な細胞凝集が観察され、小さな細胞集合は中間の流量で中央凝集体/集合体から流失した。

10,000倍および100,000倍希釈溶液において、細胞は、遅い流量で中央凝集体/集合体から流失し始めた。

【0072】

間接クームス試験 - 負の対照

ダイアセルIIIおよび血漿抗D/C Nr 10の等しい体積の予め混合された懸濁液を、室温で15分間温置し、超音波に露出した。

赤血球集合体は、チャンバの中央に形成された。

集合体を8ミリリットル（ml）/hの流量で2分間にわたりPBS内で洗浄することにより、血漿内に存在する非結合性抗体分子を除去した。

クームス法が直面する問題の一つは、血漿内に存在する抗体分子によるクームス試薬の「中和」という問題である。

本方法は、赤血球を洗浄することができるので、この問題を回避する。

クームス試薬の10倍希釈溶液を、8ミリリットル（ml）/hでチャンバに注入した。

流量が12ミリリットル（ml）/hに増加すると、集合体は細胞を失い始め、35ミリリットル（ml）/hにおいて、急速な集合体分離が生じた。

このことは、血漿が、抗体を含まない、または不適合な抗体を含む、ということを示した。

従って、クームス検査は、陰性であった。

【0073】

間接クームス試験 - 正

ダイアセルIおよび血漿抗D/C Nr 10の等しい体積の予備混合した懸濁液を、負の対照のために用いられる手順に露出した。

クームス試薬の10倍希釈溶液を導入すると、凝集がもたらされた。

凝集体は、80ミリリットル（ml）/hにおいて、全体として流失した。

【0074】

<実施例4> 免疫測定法

単純な免疫測定法の一例に応用されるような超音波定在波システムは、関連する抗体（例えば梅毒またはトキソプラズマ症）に対する抗原によって被覆されたポリスチレンなどの合成粒子を使用する。

粒子サイズは、直径約1μm～50μmであるが、好ましくは約3μmである。

定在波場の条件は、粒子の理化特性、流れセル特性の物理的な大きさ、および粒子が保持される媒体の構成に従って、最適化される。

粒子は、定在波の範囲内、好ましくは定在波の波節において保持されるが、溶液または懸濁液は、導管を通過する。

不純物は、流失する。

化学的または生物学的な試薬を含む第2溶液は、反応を促進する導管を通して洗浄される。

10

20

30

40

50

反応の生成物は、流量が増加する流動を加えることによって、検出および区別される。

【 0 0 7 5 】

< 実施例 5 > 抗体サンドイッチアッセイ

抗体の種類の有無を検出する一般的な方法は、その種類に対して二次抗体を用いるものである。

二次抗体は、標識を含んでもよい。標識は、多くの場合は酵素であるが、可視の標識（例えばナノ粒子、磁性粒子、蛍光化合物、または量子ドット）であってもよい。

一実施例において、反応物は、光を反射する金のナノ粒子によって標識付けされる免疫グロブリン G または免疫グロブリン M 抗体に対する抗体を含む。

特異的標識のための適切な検出システムを使用することにより、信号を検出することができる。 10

例えば、レーザおよび光学素子を使用することにより、散乱する光量を測定することができ、従って最初の試料に存在する抗体の量を測定することができる。

【 0 0 7 6 】

サンドイッチ免疫測定法は、表面に抗体が付着したポリスチレン粒子を用いる。

粒子は、定在波において保持されるが、懸濁液の他の構成要素は、導管を通して洗浄されるので、すなわち定在波において保持されない。

定在波は、粒子の特定のサイズまたはサイズ範囲に最適化される。

抗体に対して特異的な抗原を含む第 2 溶液は、定在波によって流される。それによって、抗原は、粒子に結合した抗体によって捕えられる。 20

第 3 溶液は、抗原に対する 1 つ以上の二次抗体を含む第 4 溶液（更なる反応物）を導入する前に、非結合材料を洗浄するために用いてもよい。

1 つ以上の二次抗体は、サンドイッチを形成する抗原に結合する。信号は、標識から検出されるものであり、最初の試料における抗原の量と関連してもよい。

【 0 0 7 7 】

< 実施例 6 > 競合免疫測定法

競合免疫測定法は、抗体に結合できる部位を 1 つしか有しない小さな抗原に特に適したものである。

分析物は、標識が付着した既知量の抗体を含む。

この抗体は、定在波において粒子の表面上の結合部分に結合することができ、検出可能な信号を提供することができる。 30

抗体のみを含む分析物によって生成される信号は、100% 結合と呼ばれる値を示す。

ここで、抗体に特異的な抗原もまた分析物内に存在する場合、その抗原は抗体と反応する。

このことにより、抗体は、定在波における粒子の表面上の結合部分に結合することができない。抗体の抗体結合部位は、ブロックされ、このことにより、導管を通して流れて流失する。

従って、システムにおける抗原の存在は、溶液中の抗原の量に比例して、検出可能な信号の減少をもたらす。

【 0 0 7 8 】

< 実施例 8 > ポリヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドの検出

ポリヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドの検出は、ハイブリッド形成法のステップを含む。

この実施例において、定在波によって保持される粒子は、1 つ以上のオリゴヌクレオチドにおいて被覆される。

試料中の標的ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドの分析物は、一本鎖形態で生成でき、定在波を通過できる。このことによって、粒子上の 1 つ以上のオリゴヌクレオチドとのハイブリッド形成が生じる。

非結合材料は、流失する。

第 2 オリゴヌクレオチドが付着した標識付きの粒子を含む反応物を導入することは、サ 50

ンドイッチアッセイフォーマットを可能にする。

金または銀のナノ粒子は、粒子として用いることができるので、好ましくは回折または光散乱による光学的検出を可能にする。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2007/003664

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/49 G01N33/80 B01J19/10		
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 B01J		
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 practical, 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	WO 2005/089082 A (AAMIC AB [SE]; BERGMAN DAVID [SE]; MENDEL-HARTVIG IB [SE]; UHRBERG SIM) 29 September 2005 (2005-09-29) the whole document	1,6,12,13
X	DOUBROVSKI V A ET AL: "Ultrasonic wave action upon the red blood cell agglutination in vitro" ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY, NEW YORK, NY, US, vol. 26, no. 4, May 2000 (2000-05), pages 655-659, XP004295608 ISSN: 0301-5629 the whole document	1
-/-		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.		
☒ 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 "E" earlier document but published on or after the international filing date "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) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 "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 "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. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
6 February 2008		14/02/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Joyce, David

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2007/003664

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2004/033087 A (SECR DEFENCE [GB]; HAWKES JEREMY JOHN [GB]; COAKLEY WILLIAM TERENCE [G] 22 April 2004 (2004-04-22) cited in the application the whole document	1
A	WO 02/072236 A (ERYSAVE AB [SE]; JOENSSON HENRIK [SE]; LAURELL THOMAS [SE]; ALLERS MAT) 19 September 2002 (2002-09-19) cited in the application the whole document	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2007/003664

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005089082 A	29-09-2005	AU 2005222775 A1	29-09-2005
		BR PI0508878 A	04-09-2007
		CN 1933909 A	21-03-2007
		EP 1732690 A2	20-12-2006
		JP 2007530938 T	01-11-2007
		US 2007266777 A1	22-11-2007
WO 2004033087 A	22-04-2004	AU 2003274312 A1	04-05-2004
		CA 2501612 A1	22-04-2004
		CN 1703271 A	30-11-2005
		EP 1549430 A1	06-07-2005
		JP 2006501994 T	19-01-2006
		US 2006163166 A1	27-07-2006
WO 02072236 A	19-09-2002	NONE	

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, KM, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

专利名称(译)	超音波法		
公开(公告)号	JP2010505107A	公开(公告)日	2010-02-18
申请号	JP2009529758	申请日	2007-09-27
申请(专利权)人(译)	Purokima科技有限公司		
[标]发明人	ボンダミアンジョセフピーター		
发明人	ボンダ ミアン ジョセフ ピーター		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/49		
FI分类号	G01N33/543.581.B G01N33/53.K		
代理人(译)	Seihayashi正幸 和义林		
优先权	2006019016 2006-09-27 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了一种用于检测驻留在驻波节点中的粒子上的反应产物的方法和装置。方法和装置技术领域本发明尤其涉及血型确定和Coombs方法。 【选择图】无

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category	Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
X	WO 2005/089082 A (AAMIC AB [SE]; BERGMAN DAVID [SE]; MENDEL-HARTWIG 18 [SE]; UHRBERG SIM) 29 September 2005 (2005-09-29) the whole document
X	DOUBROVSKI V A ET AL: "Ultrasonic wave action upon the red blood cell agglutination in vitro" ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY, NEW YORK, NY, US, vol. 26, no. 4, May 2000 (2000-05), pages 655-659, XP004295608 ISSN: 0301-5629 the whole document
Further documents are listed in the continuation of Part C.	
Date of the actual completion of the international search 6 February 2008	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.O. Box 5018, Wiesbaden 2 Tel. (+359-743) 940-2040, Telex 31 051 apco m, Fax (+359-743) 940-2018	
Date of mailing of the international search report 14/02/2008	
Authorized officer Joyce, David	