

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5090734号
(P5090734)

(45) 発行日 平成24年12月5日(2012.12.5)

(24) 登録日 平成24年9月21日(2012.9.21)

(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

請求項の数 15 (全 20 頁)

(21) 出願番号	特願2006-518154 (P2006-518154)	(73) 特許権者	506262852
(86) (22) 出願日	平成16年7月8日(2004.7.8)		メディオン ダイアグノスティクス アク
(65) 公表番号	特表2009-513939 (P2009-513939A)		チェンゲゼルシャフト
(43) 公表日	平成21年4月2日(2009.4.2)		スイス国, 3 1 8 6 デュディンゲン ボ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2004/007536		ンシュトラーセ 9
(87) 国際公開番号	W02005/005991	(74) 代理人	100099759
(87) 国際公開日	平成17年1月20日(2005.1.20)		弁理士 青木 篤
審査請求日	平成19年6月28日(2007.6.28)	(74) 代理人	100077517
(31) 優先権主張番号	10330982.9		弁理士 石田 敬
(32) 優先日	平成15年7月9日(2003.7.9)	(74) 代理人	100087871
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100087413
			弁理士 古賀 哲次
		(74) 代理人	100108903
			弁理士 中村 和広

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液型抗原を同時に決定するための装置及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

血液及び血液成分から選ばれる液体試料中の複数の被分析物を同時に且つ定性的又は定量的に決定するための装置であって、該被分析物は血液型抗原又は抗原エピトープであり、膜を含み、該膜が

- 該液体試料を塗布するためのチャージ・ゾーンと、
- 該分析物と相互作用可能な2つ以上のインジケータ・ゾーンと、
- 該インジケータ・ゾーン通過後の該液体を吸収する1つ以上の吸収領域と

を有しており、

該インジケータ・ゾーンが該チャージ・ゾーンと該吸収領域との間に設けられている形式のものにおいて、

流動方向が該チャージ・ゾーンから、それぞれのインジケータ・ゾーンを通過して、1つの吸収領域に向かって(流動軌跡)、ほぼ平行に形成されており、そして2つ以上の異なる流動軌跡が存在し、

該インジケータ・ゾーンは、1流動軌跡当たりの試料液体が、2つ以上のインジケータ・ゾーンを貫流しないように配置されており、そして当該インジケータ・ゾーンが、血液型抗原に対する抗体若しくは抗体断片、及び/又は血液型抗原に対するレクチン若しくはその断片を含み、

該インジケータ・ゾーンは、流動方向で互いに前後に且つ対角線方向に延びる直線上に列を成して配置されている、装置。

10

20

【請求項 2】

該インジケータ・ゾーンが、抗A、抗B、抗AB、抗D、抗C、抗c、抗E、抗e、抗Cw及び/又は抗K抗体もしくは抗体断片を含む、請求項1に記載の装置。

【請求項 3】

該膜が、ポリエチレン、ニトロセルロース、又はナイロンから成っている、請求項1又は2に記載の装置。

【請求項 4】

該チャージ・ゾーンの後ろ且つ該インジケータ・ゾーンの前で、該膜上に、1つ以上のシール部材が配置されている、請求項 1 から3のいずれか1項に記載の装置。

【請求項 5】

機械的な強化のための該装置の構成部分が、支持体層上に被せられている、請求項 1 から4のいずれか1項に記載の装置。

【請求項 6】

該装置の構成部分がハウジング内に一体的に組み込まれている、請求項 1 から5のいずれか1項に記載の装置。

【請求項 7】

血液の分析のための、請求項 1 から6のいずれか1項に記載の装置の使用。

【請求項 8】

血液型抗原もしくは血液型抗原エピトープの決定のための、請求項7に記載の使用。

【請求項 9】

A、B、AB、D、C、c、E、e、Cw及び/又はK血液型抗原もしくは抗原エピトープの同時決定のための、請求項7に記載の装置の使用。

【請求項 10】

血液及び血液成分から選ばれる液体試料中の複数の被分析物又はこれらの誘導体を決定する方法であって：

請求項 1 から6のいずれか1項に記載の装置の膜のチャージ・ゾーン上に試料を塗布することを含み、該試料液体が吸収領域の方向に該インジケータ・ゾーンを貫流するようにするのに十分な量であり、そして該試料液体中の被分析物又はこれらの誘導体が、該インジケータ・ゾーン内で複合体を形成するようにするのに十分な量で前記試料が存在する、方法。

【請求項 11】

該被分析物は、A、B、AB、D、C、c、E、e、Cw及び/又はK血液型抗原もしくは抗原エピトープを含む、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

該被分析物A、B、AB、D、C、c、E、e、Cw及び/又はK血液型抗原もしくは抗原エピトープが同時に決定される、請求項10又は11に記載の方法。

【請求項 13】

該インジケータ粒子が赤血球である、請求項10から12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 14】

該膜が、該インジケータ粒子塗布後に洗浄される、請求項10から13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 15】

該洗浄緩衝液が低浸透圧性である、請求項14に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特に、血液型血清学の分野における、液体試料中の複数の被分析物を同時に且つ定性的又は定量的に決定するための、横方向-対角線方向-流動マルチパラメータ試験用装置であって、膜を含み、該膜が、該液体試料を塗布するためのチャージ・ゾーンと

10

20

30

40

50

、該分析物と相互作用可能な2つ以上のインジケータ・ゾーンと、該インジケータ・ゾーン通過後の該液体を吸収する1つ以上の吸収領域とを有しており、該インジケータ・ゾーンが該チャージ・ゾーンと該吸収領域との間に設けられている形式のものにおいて、流動方向が該チャージ・ゾーンから、それぞれのインジケータ・ゾーンを通して、該吸収領域に向かって(流動軌跡)、ほぼ平行に形成されており、そして2つ以上の異なる流動軌跡が存在することを特徴とする、装置に関する。

【0002】

本発明はさらに、特に血液型抗原を同時に決定するために、液体試料中の複数の被分析物を決定する方法であって、本発明による装置の膜のチャージ・ゾーン上に試料を塗布することを含み、該試料液体が吸収領域の方向に該インジケータ・ゾーンを貫流するようにするの十分な量であり、そして該試料液体中の被分析物又はこれらの誘導体が、該インジケータ・ゾーン内で複合体を形成するようにするの十分な量で前記試料が存在する、方法に関する。

【背景技術】

【0003】

血液型血清学的診断においては、一般に、特に輸血もしくは新生児溶血性疾患Morbus Haemolyticus Neonatorumとの関連において有意義なパラメーターが検出される。中でも、血液型にとって特徴的な赤血球の表面における抗原の検出が行われる。別の重要な抗原系が、輸血及び移植において所定の役割を演じる血小板、顆粒球、リンパ球上にも位置している。

【0004】

周知のように、血液型抗原を決定するために、被験者(ドナー又はレシピエント)の赤血球を、血液型特異的抗体を含有する試薬と合体させる。通常、赤血球保持試料と、所定の血液型特徴に対する抗体を含有する試料とを混合することにより、試験調製物を形成する液体試験が行われる。この試験調製物は次いで、定義された時間にわたって、そして定義された条件下でインキュベートされ、そしてインキュベーション終了後、又は直接的に、又は遠心分離ステップ後に、視覚的に又は光学法によって、赤血球の凝集又は吸着に対して試験される。血液型血清学における大部分のエンドポイント測定は、赤血球凝集の前と同じように後にも行われる。決定すべき各血液型に対して、固有の調製物がピペット供給されなければならない。すなわち、例えば9種の重要な血液型A、B、D、C、c、E、e、Cw及びKを決定するためには、対照なしで9種の別個の調製物が必要となる。

【0005】

横方向流動試験は今日、感染マーカーを決定するための高速テスト、例えば妊娠テストとして、又は薬物スクリーンとして多様に利用されている。横方向流動試験装置は、周知のように、固い支持体と、支持体上に被せられた被験試料のためのチャージ・ゾーンと、結合要素、例えば捕捉抗体もしくは捕捉抗原が結合されて結合反応を検出することができる隔膜と、被験試料が線状に隔膜を貫流するようにさせる吸引力吸収領域とから成っている。

【0006】

従来の横方向流動試験の隔膜は通常、クロマトグラフィに類似した分離によって説明される。試料中の被分析物は、膜内に固定された結合要素に特異的に結合する。これらの結合要素は通常、互いに前後もしくは互いに上下に位置するバンド内にインジケータ・ゾーンとして配置されて存在している。結合複合体はインジケータ粒子によって目に見えるようにされる。インジケータ粒子は通常、接合-解放パッド内に乾燥させられた状態で、装置内に既に存在している。接合-解放パッドは典型的にはチャージ・ゾーンと膜との間に取り付けられている。予めコーティングされた着色インジケータ粒子は、例えば、検索される被分析物に対する抗体でコーティングされている。

【0007】

一般の横方向流動試験フォーマットは、いわゆる「サンドイッチ・アッセイ」のフォーマットである。サンドイッチ・アッセイでは、インジケータ・ゾーンにもインジケータ粒

10

20

30

40

50

子にも、検索される被分析物に対するリガンド、通常の場合抗体が被覆されている。この場合、リガンド(結合要素)は膜に固定化されている。検出体試薬、通常の場合、着色されたポリスチロール粒子又はコロイド金属に結合された抗体は、接合-解放パッド内に交換可能にデポジットされている。この結合複合体は、インジケータ粒子として役立つ。被験試料の塗布後、試料は接合-解放パッドを極めて急速に湿らせ、これによりインジケータ粒子が可動化される。インジケータ粒子は、多孔質膜に沿って液体前部と一緒に移動する。試料中に位置する被分析物は、インジケータ粒子にカップリングされた抗体によって結合される。試料がインジケータ・ゾーンを通過すると、インジケータ・ゾーン内の被分析物/インジケータ粒子複合体は、被分析物がインジケータ・ゾーン内で結合された抗体と反応することにより固定化され、このことは可視シグナルを生じさせる。

10

【0008】

2種の抗体と同時には結合することができないただ1つの抗原決定基だけを有する小さな分析物のための別の周知の試験フォーマットが、いわゆる「競合アッセイ」である。インジケータ粒子に結合された検出体試薬は、通常の場合、被分析物と同一又は類似の分子である。インジケータ粒子は接合-解放パッド内にデポジットされる。インジケータ粒子は、多孔質膜に沿って液体前部と一緒に移動する。試料が被分析物を含有し、そしてインジケータ粒子(効果的にはやはり被分析物を含有する)がインジケータ・ゾーンを通過すると、試料中の被分析物分子の一部及びインジケータ粒子の一部が結合する。被分析物が試料中に多く位置すればするほど、被分析物はインジケータ粒子の結合とより効果的に競合するようになり、シグナルはより弱くなる。

20

【0009】

周知のように、これらのインジケータ粒子は大部分がコロイド金又はポリスチロールから成っており、これらは当業者に知られた方法で製造されコーティングされる。典型的な横方向流動試験フォーマットにおいて、被分析物は間接的に決定される。被分析物の直接的な決定とはここでは、被分析物がすでにインジケータ粒子(例えば赤血球)に自然の状態に結合されているものを意味する。被分析物の間接的決定の通常の場合、被験試料は通常、細胞結合されていない、例えば血漿成分を分析物として含有し、そして被験試料の他には、2種の試薬成分、つまりインジケータ粒子及び結合要素が必要とされる。間接的な決定の場合、被分析物は、接合-解放パッドから解放されたインジケータ粒子に先ず結合し、その後、このような複合体は次いで、インジケータ・ゾーン内の結合要素との第2の反

30

【0010】

決定されるべき被分析物、例えば血液型特異的抗原に結合しているインジケータ粒子として赤血球を使用する従来の横方向流動試験を用いた場合、従来は、インジケータ・ゾーン内に、対応血液型抗原に対する抗体が、ただ1つの流動軌跡の互いに前後にもしくは互いに上下に位置するバンド内に結合要素として配置される。この抗体の例は、血液型抗原AもしくはBに対する抗A、抗B、又はRh血液型系の抗原に対する抗体である。この場合、従来の横方向流動試験の欠点は、抗体に結合された赤血球が、さらに検査されるべき被分析物、例えば別の細胞会合された抗原に対する流動バリアを試料中に形成することによって、被験試料中の、特に細胞もしくは細胞断片に会合された更なる被分析物は、これ以上解放されて可視的に分離することはなく、従って一義的もしくは完全に検出することができない。このことは、血液型AB Rh Dプラスの人物の場合、Bバンド及びDバンドの弱化もしくは排除を招き、このことは血液型A Rhマイナスであるという誤った解釈を招くおそれがある。従って、従来、特に血液型血清学的な診断においては、2つ以上のインジケータ・ゾーンを有する横方向流動試験を用いることはできなかった。より多くの、特に細胞及び血漿の血液型パラメータを測定するために、従来は個別パラメータ試験を別々に行わなければならない。

40

【発明の開示】**【0011】**

50

本発明の課題は、従来技術に関して挙げられた欠点、特に互いに前後にもしくは互いに上下に位置する従来の横方向流動試験のインジケータ・ゾーンもしくは検出ゾーンの欠点を、種々の試料パラメーター、特に細胞及び血漿のパラメーターを同時に測定するために克服することである。

【0012】

この課題は本発明によれば、一方では、1種又は2種以上の液体試料中の1種又は2種以上の被分析物を同時に且つ定性的又は定量的に決定するための装置であって、膜を含み、該膜が、該液体試料を塗布するためのチャージ・ゾーンと、該分析物と相互作用可能な2つ以上のインジケータ・ゾーンと、該インジケータ・ゾーン通過後の該液体を吸収する1つ以上の吸収領域とを有しており、該インジケータ・ゾーンが該チャージ・ゾーンと該吸収領域との間に設けられている形式のものにおいて、流動方向が該チャージ・ゾーンから、それぞれのインジケータ・ゾーンを通過して、1つの吸収領域に向かって(これらは流動軌跡を形成する)、ほぼ平行に形成されており、そして2つ以上の異なる流動軌跡が存在することを特徴とする、装置によって解決される。

10

【0013】

本発明の装置のインジケータ・ゾーンは、膜上に位置しており、結合要素を有している。結合要素は、試料中の決定されるべき被分析物を捕捉もしくはこれに結合する。インジケータ・ゾーン内では、被分析物と結合要素との間の結合反応が検出される。

【0014】

本発明の1実施態様の場合、インジケータ・ゾーンは、1流動軌跡当たりの試料液体が、2つ以上のインジケータ・ゾーンを貫流しないように配置されている。例えばインジケータ・ゾーンは膜上でずらされて配置されている。インジケータ・ゾーンの配置関係は好ましくは、近位側から遠位側に向かって又はその逆に、対角線方向に延びる列を成して形成されている。特別な実施態様は、V字形、W字形、M字形、又はN字形或いは逆V字形、逆W字形、逆M字形、又は逆N字形に形成されている。別の実施態様の場合、インジケータ・ゾーンは平行に相並んでずらされて、直線状の列を成して配置されている。

20

【0015】

平行にずらされたインジケータ・ゾーンを導入することにより、横方向配置でインジケータ粒子として赤血球を有するマルチ・パラメーター試験が初めて可能になる。対角線方向配置の特に好ましい実施態様の利点は、結果の表示が特に実用的であり、本発明による装置上に容易に読み取り可能にこれを取り付けることができることである。それというのも、本発明による装置の配置関係を縦座標(流動方向の平面)及び横座標(塗布ゾーンの平面)を有する座標系と見なすと、検出されるべきパラメーターは定義されたX位置及びY位置を有しているからである。

30

【0016】

インジケータ・ゾーンは、抗体もしくは抗体断片及び/又はレクチンもしくはこれらの断片を含み、これらは決定されるべき血液型抗原、ひいては、試料中のこれらの抗原を保持する細胞を捕捉もしくはこれらに結合する。好ましい結合要素として、考えられる全ての血液型系の抗原に対する抗体もしくは抗体断片及び/又はレクチンもしくはこれらの断片が、インジケータ・ゾーン内で多孔質膜に塗布される。好ましくは、1つのインジケータ・ゾーンにおいて、好ましくは、全ての残りのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されたインジケータ・ゾーンにおいて、対照結合要素(対照 = ctI)が塗布される。この対照結合要素は、インジケータ・ゾーンを通る試料の貫流をポジティブに示す。対照結合要素は好ましくはポリクローナルな抗赤血球抗体である。

40

【0017】

好ましい1実施態様の場合、それぞれ1つのインジケータ・ゾーンは、被験被分析物に対する結合要素、好ましくは抗体もしくは抗体断片を含む。インジケータ・ゾーン内の抗体もしくは抗体断片及び/又はレクチンもしくはこれらの断片の好ましくは実施態様は、ABO血液型系、Rh、Kell、ルイス、Hh、ダフィ、キッド、MNS、ルテラン、P系の抗原に対する抗体もしくはレクチンである。インジケータ・ゾーンの結合要素としてさらに有利なのは

50

、血液型系ディエゴ、Yt、シアナ、ドムブロック、コルトン、シド/ロジャーズ、ゲルビツヒ、クローマー、クノップス、ラントシュタイナー-ヴィーナー、Xg、Kx、インディアン、Ok、ラフ、ジョン・ミルトン・ハーゲン、ランゲライス、及び/又はシドの抗原に対する抗体である。本発明による装置の特に好ましい実施態様は、結合要素抗A、抗B、抗AB、抗D、抗C、抗c、抗E、抗e、抗Cw及び/又は抗K抗体もしくは抗体断片を含む。両抗Dは、2つの異なる抗体もしくはこれらの抗体断片である。特に患者、妊婦又は新生児において、これは好ましくは、D^{V1}-カテゴリーを捉えないIgMクラスのノモクローラル抗体である。ドナーの場合、これはD^{V1}-カテゴリーを捉える抗体、及びD^{V1}-カテゴリーを捉えない抗体である。

【0018】

本発明の装置により、血液型決定の際にもはやそれぞれ個々の決定のために別個にピペット供給する必要はなく、1つの試料で、被験血液型系の多量の所望の抗原、例えば、血液型特徴ABO、Rh及びKell(A、B、AB、D、C、c、E、e、Cw、K)の最も重要な血液型特徴を一度に決定することができる。このことは、作業過程の著しい合理化となる。対角線方向の配置関係において示された結果もより好ましく読み取られる。さらに、本発明による装置において、例えばABO特性及びRh特性を、1つの装置内で相並んだ状態で決定して読み取ることができる。当該患者に対する結果の対応付けも容易になる。反応の二次元の平面状の結果、並びに安定的なエンドポイントは、肉眼による読み取り、及び、慣用の画像分析法、例えばCCDカメラによる結果の自動読み取りを助成する。作業の手間は、マニュアルによる作業時でさえ軽減される。本発明による装置はさらに、環境への負荷を低減し、低廉な効果をもたらす。緊急の非常時でさえ、短時間で、ただ1つの検査装置内で、例えば完全ABO血液型/Rh下位群の決定を行うことができる。製造技術的に見て、横方向流動構造は、使用される試薬の消費量を著しく少なくし、そして多数の試験パラメーターをただ1つの装置内で提供することにより、従来技術に対して著しく大きな利点を有している。

【0019】

本発明による装置によって、特に血液型血清学的な診断のための横方向流動試験が提供され、これにより、赤血球がインジケータ粒子として使用され、そして試験調製物中で同時に複数の細胞抗原もしくは抗原エピトープ、特に赤血球抗原もしくは抗原エピトープ、血漿パラメーター及び/又は血液細胞特性、特に全血成分を、1被験試料で決定することができる。さらに、これにより、できる限り簡単に製造することができ、そして特にわずかな一連の検査でそして試料の前調製なしに、簡単に取り扱いできる低廉な試験システムが提供され、このシステムによって、1試料の種々の細胞パラメーター及び/又は血漿パラメーター、又は複数の被験試料、特に血液型特徴を同時に決定することができる。

【0020】

本発明の装置の膜は多孔質膜である。好ましい膜材料は例えばニトロセルロース(例えばSartoriusのUniS-art、MilliporeのHiFlow、Schleicher & SchuellのWhatman, AE99もしくはFF85/100)、ポリエチレン(Porex CorporationのLateral Flo)、又はナイロン(CUNOのNovylon)である。好ましくは膜は、できる限り大きな孔サイズを有している。なぜならば、膜の高い多孔率は、特に決定されるべき試料の細胞成分、例えば赤血球が多孔質構造内に侵入するのを助成するからである。特に有利なのは、吸収性の膜の使用である。しかし本発明による装置は、これらの特性に制限されない。好ましくは、高い毛管流動速度(毛管速度)を有する全ての膜が使用される。毛管流動速度とは、色素溶液が所与の膜上で40mmだけ進むのに必要な時間である。特に好ましいのは、毛管流動速度<100の膜である。

【0021】

本発明の好ましい実施態様の場合、流動方向で見て本発明の装置のチャージ・ゾーンの後ろ且つインジケータ・ゾーンの前で、多孔質膜上に、シール部材が配置されている。使用されるのは二次元又は三次元シール部材であり、これらのシール部材は多孔質膜上に位置決めされ、これらのシール部材によって、多孔質膜の残りの面から分離された試験塗布ゾーンが形成される。シール部材は本発明によれば、第1に、液体パリアの作用を有し、そして試料液体及び試験試薬の多孔質膜内への指向性の分配を可能にする。さらに、シ-

10

20

30

40

50

ル部材は本発明によれば、横方向流動装置の他の領域内に液体が望ましくないほど過剰に侵入するのを阻止するために、試薬塗布ゾーンをシールする。

【0022】

シール部材の好ましい実施態様は、ウェブ形又はトラフ形もしくは漏斗形である。シール部材の成形は、シール部材の製造のために使用される材料から、切削法によって行われる。漏斗形もしくはトラフ形の場合、シール部材は内側の開口を得る。この開口の好ましい変化実施態様は、円形、正方形又は方形であり、漏斗形の場合には、シール部材の下側(膜接触側)に向かって先細りした形である。

【0023】

シール部材のための好ましい材料は、非吸水性(疎水性)の材料である。特別な実施態様の場合、材料の一方の側には、接着剤フィルム、例えばアクリレート粘着剤が被覆されている。これにより、シール部材は、多孔質膜の表面上に直接的に接着することができる。或いは、シール部材は横方向流動ハウジングに結合、例えば接着されていてもよい。この実施態様の場合、シール部材の横方向流動ハウジングは、多孔質膜の表面に圧着し、ひいてはシール部材の機能が達成される。

10

【0024】

二次元シール部材を形成するための好ましい材料は、接着テープ又は接着フィルムのそれぞれの形態である(例えばBeiersdorf AGのTcsa 4124、Adhesives ResearchのARcare 7815)。

【0025】

三次元シール部材を形成するための好ましい材料は、フレキシブルな閉鎖孔性エラストマー材料、又は異なる材料厚、好ましくは3-5 mmのフレキシブルなシリコン材料(例えばPitznerのセルゴム EPDM140、Castanのシリコンゴム又は全ゴム、硬度40°以下)である。

20

【0026】

これらの本発明による実施態様により、本発明による装置は、細胞を含有する液体試料、例えば全血を、細胞を濾過することなしに吸収することができる。さらに、シール部材は、より大きな試料容積を多孔質膜(チャージ・ゾーン)上に塗布することを可能にし、しかもこの場合、この膜に試料が氾濫することはない。これにより、シール部材は、多孔質膜の吸収性の利用を支援する。さらに、シール部材は、指向性の試料流動を保証する。しかし本発明による装置は、シール部材の有無にかかわらず良好に機能することができる。

30

【0027】

本発明による吸収の吸収領域(吸収パッド)のためには、好ましくは吸水能力20-30 g/100 cm²(例えばSchleicher & Schuell、ウィッキング紙、タイプ300)を有する機械的に安定的な材料が好ましい。本発明による装置の吸収パッドと横方向流動膜との接触は、圧着して多孔質膜とオーバーラップさせることにより形成される。膜上での吸収パッドの正確な位置決めは、吸収パッドを、横方向流動膜を支持する支持体層(バックング・シート)と貼り合わせるにより達成される。

【0028】

別の実施態様の場合、本発明による装置の成分は、機械的な強化のために、下層もしくは支持体層上に被せられている。しかし、本発明による装置は支持体層の有無にかかわらず機能することができる。好ましくは、接着剤フィルム、例えばアクリレート粘着剤(例えば0.005" ポリエステルW/GL-187, G & L)が一方の側又は両側に被覆された材料厚100 µm以上の機械的に安定な非吸水性材料が使用される。支持体層上に、多孔質膜及び吸収パッドが固定される。両面接着性の支持体層の場合、第2の接着性の側は、ステーブルを別の面、例えば横方向流動ハウジング内部の面に固定するために使用される。

40

【0029】

別の実施態様の場合、本発明による装置は、本発明による装置の構成部分が取り付けられた支持体を有するか又は有さずに、ハウジング内に一体的に組み込まれている。これにより、膜構成部分は互いに圧着され、ハウジングはシール部材機能を支持する。しかし本

50

発明による装置は、ハウジングの有無にかかわらず同じく良好に機能することができる。

【0030】

本発明の別の対象は、考えられる全ての血液型系、好ましくは赤血球の表面上のそれぞれの被分析物の血液型抗原もしくは血液型抗原エピトープを同時に決定するために、本発明による血液分析装置を使用することである。被験抗原もしくは抗原エピトープは例えば、ABO血液型系、Rh、Kell、ルイス、Hh、ダフィ、キッド、MNS、ルテラン、P系、血液型系ディエゴ、Yt、シアナ、ドムブロック、コルトン、シド/ロジャーズ、ゲルビッチ、クローマー、クノップス、ラントシュタイナー-ヴィーナー、Xg、Kx、インディアン、Ok、ラフ、ジョン・ミルトン・ハーゲン、ランゲライス、及び/又はシド、特にA1、A2、B、D、C、c、E、e、Cw、K、k、M、N、S、s、Jk(a)、Jk(b)、Fy(a)、Fy(b)、Kp(a)、Kp(b)、Js(a)、Js(b)、Le(a)、Le(b)、Lu(a)、Lu(b)、P1、I、H、Xg(a)、U、Vw、Wr(a)、Lanの抗原もしくは抗原エピトープである。

10

【0031】

本発明による装置の好ましい実施態様は、複数の血液型特徴、例えばA、B、AB、D、C、c、E、e、Cw、Kを同時に決定する。被験試料、例えば天然型又は抗凝固処理済の全血又は赤血球濃縮物又は希釈赤血球懸濁液は、本発明の装置のチャージ・ゾーン上に塗布される。被分析物を支持する、試料中に含有された赤血球は、インジケータ粒子として同時に役立つ。

【0032】

前記課題は本発明によれば、他方では、液体試料中の複数の被分析物又はこれらの誘導体を決定する方法であって、本発明による装置の膜のチャージ・ゾーン上に試料を塗布することを含み、該試料液体が吸収領域の方向に該インジケータ・ゾーンを貫流するようにするのに十分な量であり、そして該試料液体中の被分析物又はこれらの誘導体が、該それぞれのインジケータ・ゾーンに結合し、もしくは該インジケータ・ゾーン内で複合体を形成するようにするのに十分な量で前記試料が存在する、方法により解決される。

20

【0033】

本発明による方法において、決定されるべき被分析物は、血液型系全体の血液型抗原もしくは抗原エピトープ、好ましくは赤血球の表面上に位置する血液型抗原もしくは抗原エピトープである。被験抗原もしくは抗原エピトープは例えば、ABO血液型系、Rh、Kell、ルイス、Hh、ダフィ、キッド、MNS、ルテラン、P系、血液型系ディエゴ、Yt、シアナ、ドムブロック、コルトン、シド/ロジャーズ、ゲルビッチ、クローマー、クノップス、ラントシュタイナー-ヴィーナー、Xg、Kx、インディアン、Ok、ラフ、ジョン・ミルトン・ハーゲン、ランゲライス、及び/又はシド、特にA1、A2、B、D、C、c、E、e、Cw、K、k、M、N、S、s、Jk(a)、Jk(b)、Fy(a)、Fy(b)、Kp(a)、Kp(b)、Js(a)、Js(b)、Le(a)、Le(b)、Lu(a)、Lu(b)、P1、I、H、Xg(a)、U、Vw、Wr(a)、Lanの抗原もしくは抗原エピトープである。

30

【0034】

本発明による装置の好ましい実施態様は、複数の血液型特徴、例えばA、B、AB、D、C、c、E、e、Cw、Kを同時に決定する。被験試料、例えば天然型又は抗凝固処理済の全血又は赤血球懸濁液が、対照血液のような試験液体と共に又は伴わずに、本発明の装置のチャージ・ゾーン上に塗布される。被分析物を支持する、試料中に含有された赤血球は、インジケータ粒子として同時に役立つ。

40

【0035】

以下に本発明を図面及び実施例によってさらに詳しく説明する。これらの図面及び実施例は本発明を制限することはない。

【0036】

図1に、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この例において、装置は支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、ウェブ状に形成された二次元シール部材4とから成っている。多孔質膜2は、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に固定されている。吸収パッド3

50

も支持体層1上に固定されている。吸収パッド3の一部が多孔質膜2とオーバーラップしている。多孔質膜2の上側に固定されたシール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された分配を可能にする。チャージ・ゾーン5と、吸収パッド3と接触する多孔質膜2の領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6が配置されている。このインジケータ・ゾーン領域6は、定義されたX及びY位置に配置された、対角線方向にずらされた点状のインジケータ・ゾーンI-VIから形成され、インジケータ・ゾーンI-IVはインジケータ・ゾーン下記結合要素から成っている。

【0037】

【表1】

10

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様
I	抗体	抗A (モノクローナル)
II	抗体	抗B (モノクローナル)
III	抗体	抗AB (モノクローナル)
IV	抗体	抗D (モノクローナル)
V	抗体	抗CDE (モノクローナル)
VI	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)

20

【0038】

インジケータ・ゾーンVIは対照(ctI)であり、ポリクローナル抗赤血球抗体を含む。インジケータ・ゾーンVIは他の全てのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されている。

【0039】

図2に、図1に示された本発明による横方向流動試験用装置の分解図を示す。この装置は、支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、シール部材4という構成部分から成っている。シール部材4は、残りの膜からチャージ・ゾーン5を分離する。膜はやはりインジケータ・ゾーン領域6を含む。インジケータ・ゾーン領域6は、近位側から遠位側に向かって対角線方向にずらされて配置されたインジケータ・ゾーンI-VIを有する。

30

【0040】

図3には、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この例の場合、装置の構成部分は、図1に示した装置の構成部分に相当するが、ただしこの場合、多孔質膜2の上面に、三次元ウェブ形で形成されたシール部材4が固定されている。

【0041】

図4には、支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、三次元ウェブ形で形成されたシール部材4という構成部分を有する、図3に示された本発明による横方向流動試験用装置の分解図を示す。シール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離する。膜はやはりインジケータ・ゾーン領域6を含む。インジケータ・ゾーン領域6は、近位側から遠位側に向かって対角線方向にずらされて配置されたインジケータ・ゾーンI-VIを有する。

40

【0042】

図5には、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この例の場合、装置の構成部分は、図1に示した装置の構成部分に相当するが、ただしこの場合、多孔質膜2の上面に、三次元トラフ形で形成されたシール部材4が固定されている。

【0043】

50

図6には、支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、三次元ウェブ形で形成されたシール部材4という構成部分を有する、図5に示された本発明による横方向流動試験用装置の分解図を示す。シール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離する。膜はやはりインジケータ・ゾーン領域6を含む。インジケータ・ゾーン領域6は、近位側から遠位側に向かって対角線方向にずらされて配置されたインジケータ・ゾーンI-VIを有する。

【0044】

図7に、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この例において、装置は支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、ウェブ状に形成された二次元シール部材4とから成っている。多孔質膜2は、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に固定されている。吸収パッド3も支持体層1上に固定されている。吸収パッド3の一部が多孔質膜2とオーバーラップしている。多孔質膜2の上側に固定されたシール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された分配を可能にする。チャージ・ゾーン5と、吸収パッド3と接触する多孔質膜2の領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6が配置されている。このインジケータ・ゾーン領域6は、定義されたX及びY位置に配置された、対角線方向にずらされた点状のインジケータ・ゾーンI-XIから形成され、これらのインジケータ・ゾーンIは下記結合要素から成っている。

【0045】

【表2】

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様
I	抗体	抗A (モノクローナル)
II	抗体	抗B (モノクローナル)
III	抗体	抗AB (モノクローナル)
IV	抗体	抗D (モノクローナル)
V	抗体	抗C (モノクローナル)
VI	抗体	抗c (モノクローナル)
VII	抗体	抗E (モノクローナル)
VIII	抗体	抗e (モノクローナル)
IX	抗体	抗Cw (モノクローナル)
X	抗体	抗K (モノクローナル)
XI	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)

【0046】

インジケータ・ゾーンXIは対照(ctI)であり、ポリクローナル抗赤血球抗体を含む。インジケータ・ゾーンXIは他の全てのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されている。

【0047】

図8に、レシピエント及び保存血液のABO同一性を試験するための臨床試験として構成された、本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この例において、装置は支持体層1と、二重の構成で存在する多孔質膜2a及び2bと、吸収パッド3と、ウェブ状に形成された二次元シール部材4a及び4bとから成っている。両方の多孔質膜2a及び2bは

、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に平行にそして同じ配向で固定されている。吸収パッド3も支持体層1上に固定されている。吸収パッド3の一部が多孔質膜2a及び2bと同じ間隔でオーバーラップしている。多孔質膜2a及び2bの上側に固定されたシール部材4a及び4bは、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5a及び5bを分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された分配を可能にする。チャージ・ゾーン5aもしくは5bと、吸収パッド3と接触する多孔質膜2aもしくは2bの領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6a及び6bが配置されている。これらのインジケータ・ゾーン領域6a及び6bは、定義されたX及びY位置に配置された、対角線方向にずらされた点状のインジケータ・ゾーンIa-IIIaもしくはIb-IIIbから形成され、これらのインジケータ・ゾーンは下記結合要素から成っている。

【0048】

【表3】

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様
Ia, Ib	抗体	抗A (モノクローナル)
IIa, IIb	抗体	抗B (モノクローナル)
IIIa, IIIb	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)

10

20

【0049】

インジケータ・ゾーンIIIa及びIIIbは対照(ctI)であり、ポリクローナル抗赤血球を含む。インジケータ・ゾーンIIIa及びIIIbは他の全てのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されている。

【0050】

図9に、図8に示された本発明による横方向流動試験用装置の分解図を示す。この装置は、支持体層1と、多孔質膜2a及び2bと、吸収パッド3と、シール部材4a及び4bという構成部分から成っている。シール部材4a及び4bは、残りの膜からチャージ・ゾーン5a及び5bを分離する。膜はやはりインジケータ・ゾーン領域6aもしくは6bを含む。インジケータ・ゾーン領域6aもしくは6bは、近位側から遠位側に向かって対角線方向にずらされて配置されたインジケータ・ゾーンIa-IIIa及びIb-IIIbを有する。

30

【0051】

図10に、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この実施例は右利き用の横方向流動試験用装置であり、そして支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、ウェブ状に形成された二次元シール部材4とから成っている。多孔質膜2は、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に固定されている。吸収パッド3も支持体層1上に固定されている。吸収パッド3の一部が多孔質膜2とオーバーラップしている。多孔質膜2の上側に固定されたシール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された分配を可能にする。チャージ・ゾーン5と、吸収パッド3と接触する多孔質膜2の領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6が配置されている。このインジケータ・ゾーン領域6は、平行に相並んでずらされた、直線状の列を成して配置された、定義されたX及びY位置に配置された点状のインジケータ・ゾーンI-VIから形成され、これらのインジケータ・ゾーンは下記結合要素から成っている。

40

【0052】

【表4】

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様	
I	抗体	抗A (モノクローナル)	
II	抗体	抗B (モノクローナル)	
III	抗体	抗AB (モノクローナル)	
IV	抗体	抗D (モノクローナル)	10
V	抗体	抗CDE (モノクローナル)	
VI	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)	

【0053】

インジケータ・ゾーンVIは対照(ctI)であり、抗赤血球抗体を含む。インジケータ・ゾーンVIは他の全てのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されている。

【0054】

図11に、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この実施例は左利き用の横方向流動試験用装置であり、そして支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、ウェブ状に形成された二次元シール部材4とから成っている。多孔質膜2は、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に固定されている。吸収パッド3も支持体層1上に固定されている。吸収パッド3の一部が多孔質膜2とオーバーラップしている。多孔質膜2の上側に固定されたシール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された分配を可能にする。チャージ・ゾーン5と、吸収パッド3と接触する多孔質膜2の領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6が配置されている。このインジケータ・ゾーン領域6は、平行に相並んでずらされた、直線状の列を成して配置された、定義されたX及びY位置に配置された点状のインジケータ・ゾーンI-VIから形成され、これらのインジケータ・ゾーンは下記結合要素から成っている。

【0055】

【表5】

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様	
I	抗体	抗A (モノクローナル)	
II	抗体	抗B (モノクローナル)	
III	抗体	抗AB (モノクローナル)	40
IV	抗体	抗D (モノクローナル)	
V	抗体	抗CDE (モノクローナル)	
VI	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)	

【0056】

インジケータ・ゾーンVIは対照(ctI)であり、ポリクローナル抗赤血球抗体を含む。インジケータ・ゾーンVIは他の全てのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されてい

る。

【0057】

図12に、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この実施例は右利き用の横方向流動試験用装置であり、そして支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、ウェブ状に形成された二次元シール部材4とから成っている。多孔質膜2は、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に固定されている。吸収パッド3も支持体層1上に固定されている。吸収パッド3の一部が多孔質膜2とオーバーラップしている。多孔質膜2の上側に固定されたシール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された分配を可能にする。チャージ・ゾーン5と、吸収パッド3と接触する多孔質膜2の領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6が配置されている。このインジケータ・ゾーン領域6は、平行に相並んでずらされた、定義されたX及びY位置に配置された、長手方向に延びる、もしくは帯状のインジケータ・ゾーンI-VIから形成され、これらのインジケータ・ゾーンは下記結合要素から成っている。

10

【0058】

【表6】

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様
I	抗体	抗A (モノクローナル)
II	抗体	抗B (モノクローナル)
III	抗体	抗AB (モノクローナル)
IV	抗体	抗D (モノクローナル)
V	抗体	抗CDE (モノクローナル)
VI	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)

20

30

【0059】

インジケータ・ゾーンVIは対照(ctl)であり、ポリクローナル抗赤血球抗体を含む。インジケータ・ゾーンVIは他の全てのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されている。

【0060】

図13に、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この実施例は左利き用の横方向流動試験用装置であり、そして支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3と、ウェブ状に形成された二次元シール部材4とから成っている。多孔質膜2は、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に固定されている。吸収パッド3も支持体層1上に固定されている。吸収パッド3の一部が多孔質膜2とオーバーラップしている。多孔質膜2の上側に固定されたシール部材4は、残りの膜表面からチャージ・ゾーン5を分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された分配を可能にする。チャージ・ゾーン5と、吸収パッド3と接触する多孔質膜2の領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6が配置されている。このインジケータ・ゾーン領域6は、平行に相並んでずらされた、定義されたX及びY位置に配置された、長手方向に延びる、もしくは帯状のインジケータ・ゾーンI-VIから形成され、これらのインジケータ・ゾーンは下記結合要素から成っている。

40

【0061】

【表7】

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様
I	抗体	抗A (モノクローナル)
II	抗体	抗B (モノクローナル)
III	抗体	抗AB (モノクローナル)
IV	抗体	抗D (モノクローナル)
V	抗体	抗CDE (モノクローナル)
VI	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)

10

【0062】

インジケータ・ゾーンVIは対照(ctl)であり、ポリクローナル抗赤血球抗体を含む。インジケータ・ゾーンVIは他の全てのインジケータ・ゾーンに対して遠位側に配置されている。

【0063】

図14に、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、双方向流動を伴う本発明による横方向流動試験用装置の斜視図を一例として示す。この例において、装置は支持体層1と、多孔質膜2と、吸収パッド3a及び3bと、ウェブ状に形成された二次元シール部材4a及び4bとから成っている。多孔質膜2は、アクリレート粘着剤を備えた支持体層1上に固定されている。吸収パッド3a及び3bも支持体層1上に固定されている。吸収パッド3a及び3bの一部が多孔質膜2とオーバーラップしている。多孔質膜2の上側に固定されたシール部材4a及び4bは、膜の中央に設けられたチャージ・ゾーン5を、残りの膜表面から分離し、試験液体及び試験試薬の多孔質膜2内への指向された双方向分配を可能にする。チャージ・ゾーン5と、吸収パッド3a及び3bと接触する多孔質膜2の領域との間には、インジケータ・ゾーン領域6a及び6bが配置されている。このインジケータ・ゾーン領域6a及び6bは、対角線方向にずらされた、定義されたX及びY位置に配置された点状のインジケータ・ゾーンI-VIから形成され、インジケータ・ゾーンは、下記結合要素から成っている。

20

30

【0064】

【表8】

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様
I	抗体	抗A (モノクローナル)
II	抗体	抗B (モノクローナル)
III	抗体	抗AB (モノクローナル)
IV	抗体	抗D (モノクローナル)
V	抗体	抗CDE (モノクローナル)
VIa, VIb	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)

40

【0065】

インジケータ・ゾーンVIa, VIbは対照(ctl)であり、ポリクローナル抗赤血球抗体を含

50

む。インジケータ・ゾーンVIa, VIbはインジケータ・ゾーンI-IIIもしくはIV-Vに対して遠位側に配置されている。

【0066】

図15には、支持体層1と、多孔質膜2aと、吸収パッド3a及び3bと、シール部材4a及び4bという構成部分から成る、図14に示された本発明による双方向の流動を伴う横方向流動試験用装置の分解図を示す。シール部材4a及び4bは、中央に設けられたチャージ・ゾーン5を残りの膜面から分離する。これらの膜面は2つのインジケータ・ゾーン領域6a及び6bを含み、これらのインジケータ・ゾーン領域6a及び6bは、近位側から遠位側に向かって対角線方向にずらされて配置されたインジケータ・ゾーン領域I、II、III、VIaもしくはIV、V、VIbを有する。

10

【実施例】

【0067】

実施例1：血液型決定

試験片の製造：

試験片は、チャージ・ゾーンと、インジケータ・ゾーンと、吸収領域とから成っている。商品名Millipore HiFlow Plus 065の膜をストリップ状に、6スポット構成の場合には15 mm x 35 mm(幅/長さ;x/y)、もしくは11スポット構成の場合には26 mm x 40 mm、の大きさに正しく切断し、そして支持体層(例えばG & Lのバックング・シート)上に接着する。インジケータ・ゾーン領域内で、ディスペンサー、例えばAD3200(Biodot)を使用して、種々の血液型特異的なモノクローナル抗体の溶液0.2 μ lの点を、対角線方向にずらして又は直線的な列を成して塗布する。

20

【0068】

抗A-クローン Birma-1(Serologicals, TLJ0105)；抗B-クローン ES-4(Serologicals, NCA0201)；抗AB-クローン AB6, AB26, AB92(Medion Diagnostics, 010062)；抗D-クローン LDM3(SNBTS, Z7180100)；抗C-クローン MS-24(Serologicals, 未定式化、KGK0212)；抗c-クローン MS-33(Serologicals, KNI0207)；抗E-クローンMS-80 + MS-258(Serologicals, KXE0201)；クローン抗e MS-21 + MS-63(Serologicals, KLL0205+KQK0205)；抗Cw-クローンMS-100(Serologicals, JPK0201)；抗-K-クローンMS-26(Serologicals, KOA0201)。

【0069】

抗A抗体の位置決めを、位置x=3/y=10mmにおいて行う。全ての他の抗体を、抗A抗体の位置に対してx=1.5 mm/y=2.2mmの間隔を置いて、繰り返し計量分配する。抗赤血球特異的対照抗体(抗ヒトRBCのウサギIgG画分、Rockland, 209-4139)を、血液型特異的抗体列の最後のスポットに対してx=2/y=3.5mmずらして塗布する。抗体を15 mM リン酸カリウム緩衝液pH 7.5、10%(v/v)メタノール中に、以下のように希釈する：抗A抗体1:3、抗B抗体1:2、抗AB抗体1:4、抗D抗体1:4、抗RBC抗体1:3。全ての他の抗体溶液は前希釈せず、メタノールで10%(v/v)にする。

30

【0070】

抗体の計量分配後、20分間にわたって40℃で膜を乾燥させ、次いで、試験実施まで一定の空気湿度で保管する。チャージ・ゾーンに対して遠位端部に、膜と3mmだけオーバーラップする15 x 10 mmもしくは26 x 10 mmの大きさの吸収パッド(Schleicher & Schuell, 300)を接着する。位置y=5 mmで膜の全幅にわたって、1-2 mm幅の接着テープ(Tesa 4124)を貼付けることによって、チャージ・ゾーンを、残りの膜から分離する。

40

【0071】

試験調製物：

血液試料として、抗凝固処理済全血を使用する。実際の試験のために、希釈緩衝液(Enl isstII, Medion Diagnostics又はDiluent 1, DiaMed)中に1:6で希釈された100 μ lの血液(6スポット構成)もしくは150 μ lの血液(11スポット構成)を、チャージ・ゾーン内に塗布する。血液がチャージ・ゾーンを出たら、100 μ lもしくは150 μ lの希釈緩衝液又は好ましくは100 μ lの低浸透圧性洗浄緩衝液(15 mM のリン酸カリウム緩衝液pH 7.4, 0.3-0.45 %(w/v) NaCl)を一回チャージ・ゾーン上にピペット供給することにより、未結合の赤血

50

球を膜から洗浄する。或いは、試料塗布は、50 μ lの1:3に希釈された又は未希釈の血液で行うこともできる。このような試料の場合には、膜を希釈緩衝液で2回、もしくは希釈緩衝液で1回、そして次いで低浸透圧性洗浄緩衝液で洗浄する。

【0072】

1:6の希釈を選択すると、2分間後に抗RBC対照を、成功した試験のインジケータとして見ることができる。希釈していない血液を使用した場合、試験はより長くなる。

【0073】

結果：

抗RBC対照が明確に陽性のシグナル(赤い点)を示す場合に、この試験は有効である。それぞれの血液型抗原の存在又は不在に応じて、対応する位置に、赤い点(陽性)又は膜のほぼ白い背景色(陰性)が出現する。

10

【0074】

実施例2：臨床試験

試験片の製造：

試験片は、支持体層(バックグ・シート)上に固定された各2つの膜(「保存」「レシピエント」)から成る。これらの膜はそれぞれ、チャージ・ゾーンと、インジケータ・ゾーン領域と、吸収領域とから成っている。

【0075】

商品名Millipore HiFlow Plus 065の膜をストリップ状に、12.5 mm x 30 mm(幅/長さ;x/y)の大きさに正しく切断し、そしてこれらのそれぞれ2つを1つの支持体層(例えばG & Lのバックグ・シート)上に5 mmの間隔を置いて接着することにより、アセンブリ全体が30 x 30 mmの大きさを有するようにする。

20

【0076】

ディスペンサー、例えばAD3200(Biodot)を使用して、両膜上に、対角線方向にずらして下記それぞれ同じ塗布を行う：位置x=4/y=12 mmの抗A-クローン Birma-1(Serologicals, TLJ0105)；位置x=7/y=14 mmの抗B-クローン ES-4(Serologicals, NCA0201)のモノクローナル抗体の溶液0.2 μ lの点。抗赤血球特異的対照抗体(抗ヒトRBCのウサギIgG画分、Rockland, 209-4139)を、抗Bスポットに対してx=3/y=4 mmずらして塗布する。抗体を15 mM リン酸カリウム緩衝液 pH 7.5、10%(v/v)メタノール中に、以下のように希釈する：抗A抗体1:3、抗B抗体1:2、抗RBC抗体1:3。

30

【0077】

抗体の計量分配後、20分間にわたって40 で膜を乾燥させ、次いで、試験実施まで一定の空気湿度で保管する。チャージ・ゾーンに対して遠位端部に、両膜と3mmだけオーバーラップする30 x 10 mmの大きさの吸収パッド(Schleicher & Schuell, 300)を接着する。位置y=5 mmで膜の全幅にわたって、試験片毎に1-2 mm幅の接着テープ(Tesa 4124)を貼付けることによって、チャージ・ゾーンを、残りの膜から分離する。

【0078】

試験調製物：

試料として、膜「保存」に対しては赤血球濃縮物を；膜「レシピエント」に対しては全血を使用する。

40

【0079】

実際の試験のために、「レシピエント」側に50 μ lの全血を、そして「保存」側に50 μ lの赤血球濃縮物をそれぞれのチャージ・ゾーン内に塗布する。膜によって血液を完全に吸い上げた後、その都度2 x 100 μ lの希釈緩衝液で、もしくは希釈緩衝液で1回、そして続いて低浸透圧性洗浄緩衝液で洗浄する。

【0080】

結果：

成功した試験のインジケータとしての抗RBC対照を、約2分後に両膜において見ることができる。

【0081】

50

抗RBC対照が明確に陽性のシグナル(赤い点)を示す場合に、この試験は有効である。それぞれの血液型抗原の存在又は不在に応じて、対応する位置に、赤い点(陽性)又は膜のほぼ白い背景色(陰性)が出現する。「レシピエント」及び「保存」に対応する像が同一の場合、このことはレシピエントと保存血液との間のABOが同一であることを意味する。

【 0 0 8 2 】

実施例3：双方向横方向流動試験による血液型決定

試験片の製造：

試験片は、膜の中央に設けられたチャージ・ゾーンと、2つのインジケータ・ゾーンと、2つの吸収領域とから成っている。商品名Millipore HiFlow Plus 065の膜をストリップ状に、15 mm x 50 mm(幅/長さ;x/y)の大きさに正しく切断し、そして支持体層(例えばG & Lのバックグ・シート)上に接着する。インジケータ・ゾーン領域内で、種々の血液型特異的なモノクローナル抗体の溶液0.2 μ lの点を、対角線方向にずらして又は直線的な列を成して塗布する。試験片長の中央(y=0 mm)は、インジケータ・ゾーンのy方向における位置決めのための基準値である。ディスペンサー、例えばAD3200(Biodot)を使用して、下記抗体を計量分配する。

【 0 0 8 3 】

抗A -クローン Birma-1(Serologicals, TLJ0105) ; 抗B -クローン ES-4(Serologicals, NCA0201) ; 抗AB-クローンAB6, AB26, AB92(Medion Diagnostics, 010062) ; 抗D-クローン LDM3(SNBTS, Z7180100) ; 抗C-クローン MS-24(Serologicals, 未定式化, KGK0212) ; 抗E-クローンMS-80 + MS-258(Serologicals, KXE0201)。抗CDEインジケータ・ゾーンに対しては抗D及び抗C抗体を2倍、抗E抗体を3倍濃縮し、そして、同じ容積部で混合する。

【 0 0 8 4 】

インジケータ・ゾーンを対角線方向にずらす構成において、位置x=4/y=10 mmで抗A抗体の計量分配を行う。抗B及び抗ABの位置決めを、抗A抗体の位置に対してx=3.5/y=2 mmの間隔を置いて、繰り返し行う。抗赤血球特異的対照抗体(抗ヒトRBCのウサギIgG画分、Rockland, 209-4139)を、抗A、抗B及び抗AB抗体の列の最後のスポットに対してx=3.5/y=3.5mmずらして塗布する。抗D抗体の計量分配を、位置x=4/y=-10mmで行い、抗CDE抗体の計量分配をx=3.5/y=-2mmの間隔を置いて行う。抗赤血球特異的対照抗体を、抗CDE抗体のスポットに対してx=3.5/y=-3.5mmずらして塗布する。抗体を15 mM リン酸カリウム緩衝液 pH 7.5、10%(v/v)メタノール中に、以下のように希釈する：抗A抗体1:3、抗B抗体1:2、抗AB抗体1:4、抗D抗体1:3、抗RBC抗体1:3。抗体混合物抗CDEは前希釈せず、メタノールで10%(v/v)にする。

【 0 0 8 5 】

抗体の計量分配後、20分間にわたって40 $^{\circ}$ Cで膜を乾燥させ、次いで、試験実施まで一定の空気湿度で保管する。膜の、チャージ・ゾーンに対して遠位端部に、膜と3mmだけオーバーラップする15 x 10 mmの大きさの吸収パッド(Schleicher & Schuell, 300)を接着する。位置y=3 mmもしくはy=-3 mmで膜の全幅にわたって、1-2 mm幅の2つの接着テープ(Tesa 4124)を貼付けることによって、チャージ・ゾーンを、残りの膜から分離する。

【 0 0 8 6 】

試験調製物：

血液試料として、抗凝固処理済全血を使用する。実際の試験のために、希釈緩衝液(Enliss II, Medion Diagnostics)中に1:6で希釈された100 μ lの血液を、チャージ・ゾーン内に塗布する。血液がチャージ・ゾーンを出たら、100 μ lの希釈緩衝液もしくは100 μ lの低浸透圧性洗浄緩衝液(15 mM のリン酸カリウム緩衝液pH 7.4, 0.3-0.45 %(w/v) NaCl)を一回チャージ・ゾーン上にピペット供給することにより、未結合の赤血球を膜から洗浄する。或いは、試料塗布は、50 μ lの1:3に希釈された又は未希釈の血液で行うこともできる。このような試料の場合には、膜を希釈緩衝液で2回、もしくは希釈緩衝液で1回、そして次いで低浸透圧性洗浄緩衝液で洗浄する。

【 0 0 8 7 】

1:6の希釈を選択すると、2分間後に抗RBC対照を、成功した試験のインジケータとして

て見る事ができる。希釈していない血液を使用した場合、試験はより長くかかる。

【0088】

結果：

抗RBC対照が明確に陽性のシグナル(赤い点)を示す場合に、この試験は有効である。それぞれの血液型抗原の存在又は不在に応じて、対応する位置に、赤い点(陽性)又は膜のほぼ白い背景色(陰性)が出現する。

【図面の簡単な説明】

【0089】

【図1】図1は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

10

【図2】図2は、図1に示された本発明による横方向流動試験用装置を示す分解図である。

【図3】図3は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための本発明による横方向流動試験用装置を、ウェブ形の三次元シール部材を有するように構成された状態で示す斜視図である。

【図4】図4は、図3に示された本発明による横方向流動試験用装置を示す分解図である。

【図5】図5は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための本発明による横方向流動試験用装置を、トラフ形の三次元シール部材を有するように構成された状態で示す斜視図である。

【図6】図6は、図5に示された本発明による横方向流動試験用装置を示す分解図である。

【図7】図7は、血液型特徴A、B、AB、D、C、c、E、e、Cw及びKを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

20

【図8】図8は、レシピエント及び保存血液のABO同一性を試験するための臨床試験として構成された、本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

【図9】図9は、図8に示された本発明による横方向流動試験用装置を示す分解図である。

【図10】図10は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

【図11】図11は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

【図12】図12は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

30

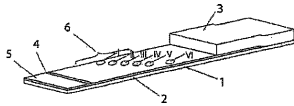
【図13】図13は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

【図14】図14は、血液型特徴A、B、AB、D及びCDEを同時に決定するための、双方向流動を伴う本発明による横方向流動試験用装置を示す斜視図である。

【図15】図15は、図14に示された本発明による横方向流動試験用装置を示す分解図である。

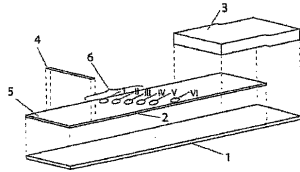
【 図 1 】

Figur 1



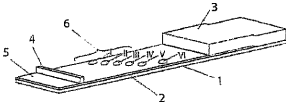
【 図 2 】

Figur 2



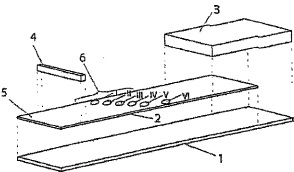
【 図 3 】

Figur 3



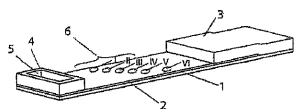
【 図 4 】

Figur 4



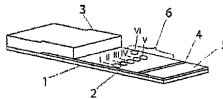
【 図 5 】

Figur 5



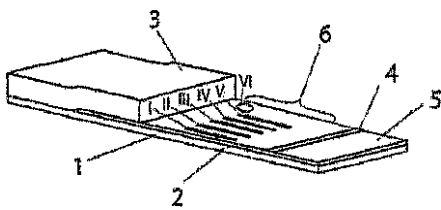
【 図 10 】

Figur 10



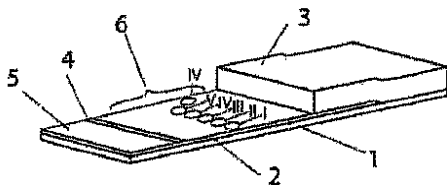
【 図 11 】

Figur 11



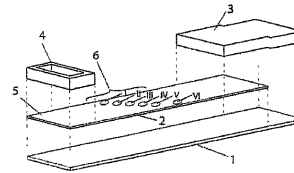
【 図 12 】

Figur 12



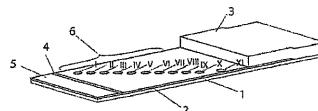
【 図 6 】

Figur 6



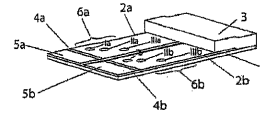
【 図 7 】

Figur 7



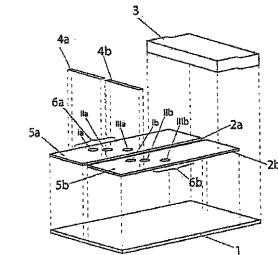
【 図 8 】

Figur 8



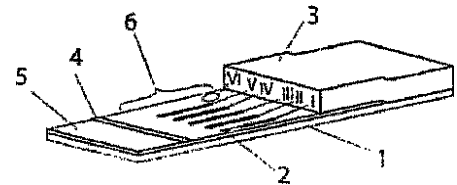
【 図 9 】

Figur 9



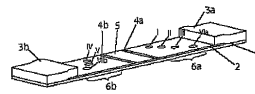
【 図 13 】

Figur 13



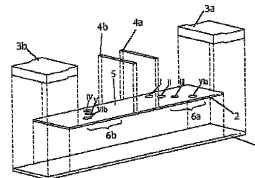
【 図 14 】

Figur 14



【 図 15 】

Figur 15



フロントページの続き

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100134784

弁理士 中村 和美

(72)発明者 シュビント, ペーター

スイス国, 1700 フリブール, シュマン デュ カルベール 4

(72)発明者 ロスター, クレメンス

ドイツ連邦共和国, 16562 ベルクフェルデ, シーゲルシュトラッセ 4

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 米国特許第06203757(US, B1)

特開平11-108927(JP, A)

国際公開第97/031268(WO, A1)

特開2001-056341(JP, A)

米国特許出願公開第2003/0045001(US, A1)

特表平07-505293(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98

专利名称(译)	用于同时测定血型抗原的装置和方法		
公开(公告)号	JP5090734B2	公开(公告)日	2012-12-05
申请号	JP2006518154	申请日	2004-07-08
[标]申请(专利权)人(译)	MEDI-的诊断遗传学GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru霍夫Tsongu		
申请(专利权)人(译)	Medion公司诊断遗传学GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	MEDION诊断股份公司		
[标]发明人	シュビントペーター ロスタークレメンス		
发明人	シュビント,ペーター ロスター,クレメンス		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 G01N33/558 G01N33/80		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/80 Y10S435/97 Y10S436/808 Y10S436/81		
FI分类号	G01N33/543.521 G01N33/53.K		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 中村弘 渡边洋一 喀米·金加繆拉		
优先权	10330982 2003-07-09 DE		
其他公开文献	JP2009513939A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种用于同时，定性或定量鉴定液体样品中的多种分析物的装置。该装置包括膜，该膜具有：用于施加液体样品的充电区；至少两个可与分析物相互作用的指示区和至少一个吸收区域，其在通过指示区后吸收液体，由此指示区位于充电区和吸收区之间。本发明的特征在于，从充电区通过各个指示区到吸收区（流动路径）的流动方向基本上是平行的，并且存在至少两个不同的流动路径。本发明还涉及用于鉴定液体样品中的多种分析物或其衍生物的方法。该方法包括将样品施加到装置膜的充电区，由此该样品的存在量足以使样品液体通过指示剂区域流向吸收区域，并且用于引起分析物或其样品液体中的衍生物在指示剂区域中形成复合物。

インジケータ・ゾーン	結合要素	仕様
I	抗体	抗A (モノクローナル)
II	抗体	抗B (モノクローナル)
III	抗体	抗AB (モノクローナル)
IV	抗体	抗D (モノクローナル)
V	抗体	抗CDE (モノクローナル)
VI	抗体	抗赤血球 (ポリクローナル)