

(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2005-529325

(P2005-529325A)

(43) 公表日 平成17年9月29日(2005.9.29)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543	GO 1 N 33/543 5 2 1	2 G O 5 8
GO 1 N 33/53	GO 1 N 33/543 5 4 1 Z	
GO 1 N 33/545	GO 1 N 33/543 5 7 5	
GO 1 N 33/553	GO 1 N 33/53 X	
GO 1 N 35/00	GO 1 N 33/545 A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-511788 (P2004-511788)
 (86) (22) 出願日 平成15年6月6日 (2003.6.6)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年12月6日 (2004.12.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2003/017792
 (87) 国際公開番号 W02003/104764
 (87) 国際公開日 平成15年12月18日 (2003.12.18)
 (31) 優先権主張番号 60/387, 287
 (32) 優先日 平成14年6月7日 (2002.6.7)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

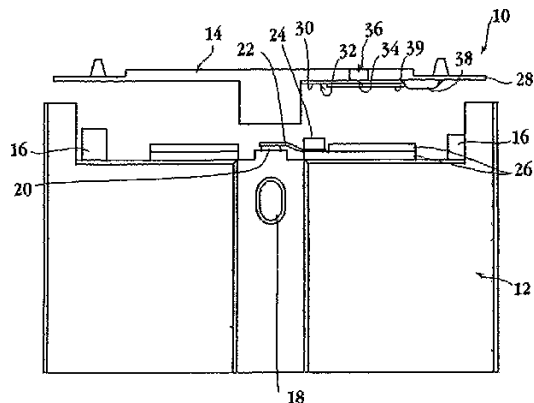
(71) 出願人 504276727
 コレステック コーポレイション
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 945
 45-3877, ハイワード, インベ
 ストメント プールバード 3347
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100062409
 弁理士 安村 高明
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (72) 発明者 ヌジェント, アンソニー ジェイ.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 945
 68, ダブリン, アスペン ストリ
 ト 5308

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自動化イムノアッセイカセット、装置および方法

(57) 【要約】

液体体液サンプル中の分析物を検出するための、イムノアッセイカセット、装置、および方法が開示される。このカセットは、ボディ、ならびにサンプル移送位置に向けておよびサンプル移送位置から離れた移動のための、ボディに積載された支持体(14)を有する。カセットボディ中のサンプルウェルに供給されるサンプルは、改変されたサンプルを形成するために有効な第1試薬組成物を含む試薬レザバ(24)によって吸収される。支持体(14)は、支持体が移送位置にある場合にレザバ(24)と接触させられる移送ゾーン(32)、移送ゾーン(32)の下流に位置する検出ゾーン(34)、および改変されたサンプルと反応して検出可能な分析物依存性産物を形成するために有効な第2試薬組成物を有する試薬ストリップ(30)を提供する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

液体体液サンプル中の分析物を検出するために使用するためのイムノアッセイカセットであって、該カセットは、以下：

(a) 該サンプルを受け取るためのサンプルウェルを有するカセットボディ；

(b) 該ボディに担持された、(i) サンプルが該サンプルウェルからレザバへと移動するにつれて、一つ以上のサンプル成分と反応して、改変されたサンプルを形成するために有効な第 1 試薬組成物を含むレザバ；

(c) 移送位置に向けておよび移送位置から離れての移動のための、該ボディに積載された支持体；ならびに

(d) 該ボディに担持された、該レザバ中で形成された改変されたサンプルと反応して、検出可能な分析物依存性産物を形成するために有効な第 2 試薬組成物を含む試薬ストリップであって、該ストリップは、該支持体とそのサンプル移送位置へと移動するにつれて該試薬レザバと接触させられる移送ゾーン、および該移送ゾーンの下流に位置する検出ゾーンを有する、ストリップ

を備え、ここで、その移送位置へのおよびその移送位置からの、該支持体の制御された移動が、該レザバから該試薬ストリップへのサンプル流れの体積および速度を測定するために有効である、カセット。

10

【請求項 2】

液体体液サンプル中の多価分析物を検出するための、請求項 1 に記載のカセットであって、前記試薬レザバ中の前記第 1 試薬組成物が、抗分析物抗体および検出可能なレポーター基の非固定化結合体を含み、改変されたサンプルを形成する前記反応が、サンプル分析物へと該結合体を結合して、分析物 - 結合体複合体を形成することを含み、前記試薬ストリップ中の前記試薬組成物は、該試薬ストリップ中の検出領域に固定された抗分析物抗体を含み、そして検出可能な分析物依存性産物を形成する前記反応が、該固定化抗体へと複合体を結合させて、該複合体中の該検出可能なレポーターを検出ゾーンに局在させることを含む、カセット。

20

【請求項 3】

請求項 2 に記載のカセットであって、前記非固定化結合体が、抗分析物抗体と、金属粒子、着色部分または蛍光部分で標識された粒子、着色部分または蛍光部分で標識されたポリマー、粒子、および着色分子または蛍光分子からなる群より選択される検出可能なレポーターとの結合体である、カセット。

30

【請求項 4】

血液サンプル中の C 反応性タンパク分析物を検出するために使用するための、請求項 3 に記載のカセットであって、前記試薬レザバ中の前記非固定化結合体中の前記抗分析物抗体および前記試薬ストリップ中の前記固定化抗分析物抗体が、C 反応性タンパク質中の共通エピトープに対して特異的な抗体である、カセット。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載のカセットであって、前記支持体が、試薬パッドストリップ中の反応ゾーンにおける検出可能な反応を見ることができるウインドウを含む、カセット。

40

【請求項 6】

請求項 4 に記載のカセットであって、前記試薬ストリップ中の前記検出ゾーンが、前記ウインドウと対向しているストリップ表面において反射フィルムによって覆われており、その結果、該検出ゾーンを通るサンプル液体の流れが、該ウインドウを通して測定可能な第 1 の反射率変化を生じ、そして該検出ゾーンでの分析物依存性反応の存在が、該ウインドウを通して測定可能な第 2 の反射率変化を生じる、カセット。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のカセットであって、前記試薬ストリップに移送されたサンプル液体を受け取るための、前記支持体に担持された吸収レザバを、前記検出ゾーン

50

の下流に、そして前記ストリップと流体流れ連絡してさらに備える、カセット。

【請求項 8】

液体流体サンプル中の分析物を検出するために使用するための装置であって、該装置は、以下：

A) カセットであって、以下：

(a) 該サンプルを受け取るためのカセットボディサンプルウェル、

(b) ベースに担持された、(i) サンプルが該サンプルウェルからレザバへと移動するにつれて、一つ以上のサンプル成分と反応して、改変されたサンプルを形成するために有効な第 1 試薬組成物を含む試薬レザバ；

(c) 移送位置に向けておよび移送位置から離れての移動のための、該ベースに関して積載された支持体、 10

(d) 該支持体に担持された、該改変されたサンプルと反応して、検出可能な分析物依存性産物を形成するために有効な第 2 試薬組成物を含む試薬ストリップであって、該支持体は、該支持体とその移送位置へと移動するにつれて該レザバと接触させられるサンプル移送ゾーン、および該移送ゾーンの下流の検出ゾーンを備える、ストリップ；
を有する、カセット；ならびに

(B) カセット操作機器であって、以下：

(a) サンプルアッセイの間に該カセットが取り外し可能に配置される、カセットホルダ、

(b) 該支持体を該カセット中でそのサンプル移送位置に向けておよびサンプル移送位置から離れて移動させることに作動可能なアクチュエータ、 20

(c) 該試薬ストリップ中での該検出ゾーンでの分析物特異的反応を検出することに作動可能な検出器、ならびに

(d) アッセイ手順の間の該試薬レザバから該試薬ストリップへのサンプルの移送の体積および速度を制御するための、該アクチュエータに作動可能に接続された制御ユニット

を有する、カセット操作機器

を備える、装置。

【請求項 9】

液体体液サンプルの多価分析物を検出するための、請求項 8 に記載の装置であって、前記試薬レザバ中の前記第 1 試薬組成物が、抗分析物抗体および検出可能なレポーター基の非固定化結合体を含み、改変されたサンプルを形成する前記反応が、サンプル分析物へと該結合体を結合して、分析物 - 結合体複合体を形成することを含み、前記試薬ストリップ中の該試薬組成物は、該試薬ストリップ中の検出領域に固定された抗分析物抗体を含み、そして検出可能な分析物依存性産物を形成する前記反応が、該固定化抗体へと複合体を結合させて、該複合体中の該検出可能なレポーターを検出ゾーンに局在させることを含む、装置。 30

【請求項 10】

請求項 9 に記載の装置であって、前記非固定化結合体が、抗分析物抗体と、金属粒子、着色部分または蛍光部分で標識された粒子、着色部分または蛍光部分で標識されたポリマー、粒子、および着色分子または蛍光分子からなる群より選択される検出可能なレポーターとの結合体である、装置。 40

【請求項 11】

血液サンプル中の C 反応性タンパク分析物を検出するために使用するための、請求項 10 に記載の装置であって、前記試薬レザバ中の前記非固定化結合体中の前記抗分析物抗体および前記試薬ストリップ中の前記固定化抗分析物抗体が、C 反応性タンパク質中の共通エピトープに対して特異的な抗体である、装置。

【請求項 12】

請求項 8 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の装置であって、前記支持体が、試薬パッドストリップ中の反応ゾーンにおける前記検出器によって検出される検出可能な反応を見ること 50

ができるウインドウを含む、装置。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の装置であって、前記試薬ストリップ中の前記検出ゾーンが、前記ウインドウと対向しているストリップ表面において反射フィルムによって覆われており、その結果、該検出ゾーンを通るサンプル液体の流れが、該ウインドウを通して測定可能な第 1 の反射率変化を生じ、そして該検出ゾーンでの分析物依存性反応の存在が、該ウインドウを通して測定可能な第 2 の反射率変化を生じる、装置。

【請求項 14】

請求項 13 に記載の装置であって、前記検出器が、測定された第 1 の光学反射率変化によって、前記検出ゾーンを通る液体流れを検出することに作動可能であり、そして測定された第 2 の光学反射率変化によって、該検出ゾーンでのその後の分析物依存性反応を測定することに作動可能である、装置。

10

【請求項 15】

請求項 8 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の装置であって、前記制御ユニットが、以下：

(i) サンプルが前記レザバから前記試薬ストリップへと最初に移送される前のサンプルインキュベーション期間、

(i i) 前記アクチュエータが、前記支持体をその移送位置に向けておよびその移送位置から離れて移動させる、サイクル頻度、

(i i i) 各サイクルの間に該支持体をその移送位置に保持する、接触時間、ならびに

(i v) 移送サイクルの総数

20

のうちの 1 以上を制御することにより、前記試薬レザバから該試薬ストリップへのサンプル移送の体積および速度を制御することが作動可能である、装置。

【請求項 16】

請求項 15 に記載の装置であって、前記制御ユニットが、

(i) 前記アクチュエータが、前記支持体をその移送位置に向けておよび移送位置から離れて移動させる、サイクル頻度、ならびに

(i i) 各サイクルの間に該支持体をその移送位置に保持する、接触時間

を制御することにより、前記レザバから前記試薬ストリップへのサンプル移送の速度を制御することに作動可能である、装置。

【請求項 17】

30

体液分析物についてアッセイを実施する方法であって、以下：

該分析物を含む体液を、一つ以上のサンプル成分と反応して、改変されたサンプルを形成するために有効な第 1 試薬組成物を含む吸収レザバに導入する工程、

吸収された体液サンプルを含む該レザバを、該レザバ中で形成された改変されたサンプルと反応して、検出可能な分析物依存性産物を生成するために有効な第 2 試薬組成物を含む試薬ストリップと繰返し接触させる工程；ならびに

該繰返し接触させる工程の頻度および持続時間を制御し、それにより、該レザバからパッドへのサンプル流体の移送の体積および速度を制御する工程を包含する、方法。

【請求項 18】

40

請求項 17 に記載の方法であって、試薬パッドが、サンプル移送ゾーンを有する細長い試薬ストリップであり、該サンプル移送ゾーンにおいて前記レザバが、該ストリップと接触しており、そして検出ゾーンが、該移送ゾーンの下流に位置する、方法。

【請求項 19】

液体体液サンプル中の多価分析物を検出するための、請求項 18 に記載の方法であって、前記試薬レザバ中の前記第 1 試薬組成物が、抗分析物抗体および検出可能なレポーター基の非固定化結合体を含み、改変されたサンプルを形成する前記反応が、サンプル分析物へと該結合体を結合して、分析物 - 結合体複合体を形成することを含み、前記試薬ストリップ中の前記試薬組成物は、該試薬ストリップ中の検出領域に固定された抗分析物抗体を含み、そして検出可能な分析物依存性産物を形成する前記反応が、該固定化抗体へと複合

50

体を結合させて、該複合体中の該検出可能なレポーターを検出ゾーンに局在させることを含む、方法。

【請求項 20】

請求項 19 に記載の方法であって、前記非固定化結合体が、抗分析物抗体と、金属粒子、着色部分または蛍光部分で標識された粒子、着色部分または蛍光部分で標識されたポリマー、粒子、および着色分子または蛍光分子からなる群より選択される検出可能なレポーターとの結合体である、方法。

【請求項 21】

血液サンプル中の C 反応性タンパク分析物を検出するために使用するための、請求項 20 に記載の方法であって、前記試薬レザバ中の前記非固定化結合体中の前記抗分析物抗体および前記試薬ストリップ中の前記固定化抗分析物抗体が、C 反応性タンパク質中の共通エピトープに対して特異的な抗体である、方法。

10

【請求項 22】

血液サンプル中の分析物を検出するための、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の装置の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、選択された分析物について体液サンプルをアッセイするために使用するための、特に自動化された複数段階アッセイにおいて使用するための、カセット、装置および方法に関する。

20

【背景技術】

【0002】

(参考文献)

【0003】

【数 1】

De Maat, M.P.M. ら, *Fibrinolysis* 8(Suppl 2):50-52 (1994).

Grau, A.J. ら, "Clinical and Biochemical Analysis in Infection-Associated Stroke." *Stroke* 26(9):1520-1526 (1995).

30

Harlow, E. ら, "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Lab (1988).

Hewett, G.E., 米国特許第 5,110,724 号 (1992).

Hewett, G.E. ら, 米国特許第 5,171,688 号 (1992).

Kuller, L.H. ら, *Am J Epidemiol.* 144:537-5547 (1996).

Leuvering ら, 米国特許第 4,313,734 号 (1982).

Liuzzo G, M.D. ら, *N Engl J Med* 331(7):417-424 (1994).

40

Mendall, M.A. ら, *British Med. J.* 312:1061-1065 (1996).

Thompson, S.G. ら, *N Engl J Med* 332:635-641 (1995).

Tracy, R.P. ら, *Circulation*, 93(3):8 (1996).

(発明の背景)

体液サンプル中の種々の分析物の存在およびレベルを検出するためのアッセイは、公知である。このようなアッセイは、人員が臨床アッセイ手順またはアッセイ結果の解釈においてほとんど訓練を有さないかもしれない医師のオフィスまたは他の臨床環境において確実に行われ得るように、使用の単純性のためにしばしば設計される。操作者の関与の必要性を最小化するために、アッセイが自動化様式または自給様式で実施されることが好まし

50

い。

【0004】

このような自給様式アッセイは代表的に、操作の単純さのために、1段階アッセイ手順に制限されている。しかし、多数の有用なアッセイは、事実上複数段階であり、1より多くの反応工程または結合工程を必要とする。さらに、これらの工程のうちの1以上は、律速であり得るか、または局在した試薬濃度によって影響を受け得る。代表的には、複数段階アッセイは、それほど容易には自動化されず、一般に、使用者からのより多くの入力を必要とし、従って、誤りの可能性を増加させる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0005】

それゆえ、複数段階アッセイ（特に、工程の1以上が律速であるかまたは最終アッセイの結果が局在した試薬の分析物濃度によって影響を受ける、複数の反応工程または結合工程を含む複数段階アッセイ）を実施し得る、複数段階が自動化された自給式アッセイデバイスを提供することが望ましい。

【課題を解決するための手段】

【0006】

（発明の要旨）

一つの局面では、本発明は、液体体液サンプル中の分析物を検出するために使用するためのイムノアッセイカセットを含み、これが開示される。このカセットは、サンプルを受け取るためのサンプルウェル、移送位置に向けてそして移送位置からの移動のための、ボディに積載された支持体、ならびにそれぞれ、ボディおよび支持体に担持される、試薬レザバおよび試薬ストリップを有するカセットボディを提供する。この試薬レザバは、サンプルがサンプルウェルからレザバへと移動するにつれて、一つ以上のサンプル成分と反応して、改変されたサンプルを形成するために有効な第1試薬組成物を含む。この試薬ストリップは、改変されたサンプルと反応して、検出可能な分析物依存性産物を形成するために有効な第2試薬組成物を含む。この試薬ストリップは、この支持体とそのサンプル移送位置へと移動するにつれてこのレザバと接触させられる移送ゾーン、およびこの移送ゾーンの下流に位置する検出ゾーンを有する。その移送位置へのおよびその移送位置からの、該支持体の移動を制御することにより、このレザバからこのストリップへのサンプル流れの体積および速度が制御されて、このアッセイにおけるサンプル移送条件を最適化および/または標準化し得る。

20

30

【0007】

液体体液サンプル中の多価分析物を検出するために使用するために、この試薬レザバ中の第1試薬組成物は、抗分析物抗体と検出可能なレポーター基との非固定化結合体を含み得、ここで、改変されたサンプルを形成する反応は、サンプル分析物へと結合体を結合して、分析物-結合体複合体を形成することを含む。この試薬ストリップ中の第2の試薬組成物は、ストリップのサンプル移送領域の下流に位置する、試薬ストリップ中の検出領域に固定された抗分析物抗体を含み得、ここで、検出可能な分析物依存性産物を形成する反応は、固定化抗体へと複合体を結合させて、複合体中の検出可能なレポーターを検出ゾーンに局在させることを含む。この実施形態において非固定化結合体は、抗分析物抗体と、可視レポーター（例えば、金属粒子、着色部分もしくは蛍光部分で標識された粒子、着色部分もしくは蛍光部分で標識されたポリマー、粒子、または着色分子もしくは蛍光分子）との結合体であり得る。

40

【0008】

血液サンプル中のC反応性タンパク分析物を検出するために使用するためには、試薬レザバ中の非固定化結合体中の抗分析物抗体および試薬ストリップ中の固定化抗分析物抗体は、C反応性タンパク質中の共通エピトープに対して特異的な抗体であり得る。あるいは、これらの2つの抗体は、異なるC反応性タンパク質エピトープに対して指向され得る。

【0009】

50

この支持体は、試薬ストリップ中の検出ゾーンにおける複合体の結合を見ることができ
るウィンドウを含み得る。さらに、この試薬ストリップ中の検出ゾーンは、このウィンド
ウと対向しているストリップ表面において反射フィルムによって覆われ得る。

【0010】

このカセットは、試薬ストリップを通して移送されたサンプル液体を受け取るための、
この支持体に担持された吸収レザバを、この検出ゾーンの下流にさらに備え得る。

【0011】

別の局面では、本発明は、液体体液サンプル中の分析物を検出する際に使用するための
装置を包含する。この装置は、上記の型のカセットおよびカセット操作機器を備える。こ
の機器は、以下を有する：(a) サンプルアッセイの間にカセットが取り外し可能に配置
される、カセットホルダ、(b) この支持体をこのカセット中でそのサンプル移送位置に
10 向けておよびサンプル移送位置から離れて移動させることに作動可能なアクチュエータ、
(c) この試薬ストリップ中でのこの検出ゾーンでの分析物特異的反応を検出することに
作動可能な検出器、ならびに(d) この試薬レザバからこの試薬ストリップへのサンプル
材料の移動の体積、タイミングおよび速度を制御するための、このアクチュエータに作動
可能に接続されたプロセッサを有する。

【0012】

1つの実施形態では、このカセット中のこの試薬ストリップ中のこの検出ゾーンは、ウ
ィンドウと対向しているストリップ表面において反射フィルムによって覆われており、そ
の結果、この検出ゾーンを通るサンプル液体の流れが、このウィンドウを通して測定可能
20 な第1の反射率変化を生じ、そしてこの検出ゾーンでの分析物依存性反応の存在は、この
ウィンドウを通して測定可能な第2の反射率変化を生じる。この検出器は、測定された第
1の光学反射率変化によって、この検出ゾーンを通る液体流れを検出することに作動可能
であり得、そして測定された第2の光学反射率変化によって、その検出ゾーンでのその後
の分析物依存性反応を測定することに作動可能である。

【0013】

この制御ユニットは、以下のうちの1以上を制御することにより、この試薬レザバから
この試薬ストリップへのサンプル移送の体積および速度を制御することが作動可能であり
得る：(i) サンプルがこのレザバからこの試薬ストリップへと最初に移送される前のサ
ンプルインキュベーション期間、(ii) このアクチュエータが、この支持体をその移送
30 位置に向けておよびその移送位置から離れて移動させる、サイクル頻度、(iii) 各サ
イクルの間にこの支持体をその移送位置に保持する接触時間、ならびに(iv) 移送サイ
クルの総数。好ましくは、このユニットは、以下を制御することにより、このレザバから
この試薬ストリップへのサンプル移送の体積および速度を制御することに作動可能である
：(i) このアクチュエータが、この支持体をその移送位置に向けておよび移送位置から
離れて移動させる、サイクル頻度、ならびに(ii) 各サイクルの間にこの支持体をその
移送位置に保持する、接触時間。

【0014】

さらに別の局面では、本発明は、以下の工程による、体液分析物についてアッセイを実
施する方法を包含する：(a) この分析物を含む体液を、一つ以上のサンプル成分と反応
40 して、改変されたサンプルを形成するために有効な第1試薬組成物を含む吸収レザバに導
入する工程、(b) 吸収された体液サンプルを含むようなこのレザバを、このレザバ中で
形成された改変されたサンプルと反応して、検出可能な分析物依存性産物を生成するた
めに有効な第2試薬組成物を含む吸収試薬パッドと繰返し接触させる工程；ならびに(c)
この接触させる工程の頻度および持続時間を制御し、それにより、このレザバからパ
ッドへのサンプル流体の移送の体積および速度を制御する工程。

【0015】

1つの一般的な実施形態では、この試薬パッドは、サンプル移送ゾーンを有する細長い
試薬ストリップであり、このサンプル移送ゾーンにおいて、このレザバは、このストリ
ップと接触しており、そして検出ゾーンが、この移送ゾーンの下流に位置する。

10

20

30

40

50

【0016】

液体体液サンプル中の多価分析物（例えば、血液サンプルまたは血清サンプル中のC反応性タンパク質）を検出するために、この試薬レザバ中のこの第1試薬組成物は、抗分析物抗体および検出可能なレポーター基の非固定化結合体、ならびに試薬ストリップ中の試薬組成物、この試薬ストリップ中の検出領域に固定された抗分析物抗体を含み得る。

【0017】

本発明のこれらおよび他の目的および特徴は、本発明の以下の詳細な説明を添付の図面とともに読むと、より十分に明らかになる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

（発明の詳細な説明）

（I. イムノアッセイカセット）

便宜のために、類似した要素番号付けは、同様の構造特徴を識別するために、全ての図において保持される。

【0019】

図1Aおよび図1Bは、本発明の一実施形態に従って構築されるイムノアッセイカセット10を示す。このカセットは、標準的な成形方法または機械加工方法によって生成され得る、2つの板状部材、ベース部材またはボディ12、および支持体または支持部材14を含む。この支持体は、これらの図において、図1Aに見られる静止位置から、図1Bに見られるサンプル移送位置への垂直方向での移動のために、ボディ上に積載される。より詳細には、この支持体は、サンプル移送位置に向けておよびサンプル移送位置からの移動のために積載される。

【0020】

ボディ上に支持体を積載する構造体は、16に示されるような支持体の対向端を支持する、圧縮可能なブロック（例えば、エラストマーのブロック）であり得る。これらのブロックは、支持体はその静止位置（ここでは、ブロックは実質的に圧縮されていない）からサンプル移送位置（ここでは、ブロックは最大に圧縮される）へと移動するにつれて圧縮される。種々の圧縮可能な構造体（例えば、パネまたは磁石）が、サンプル移送位置に向けておよびサンプル移送位置からの偏った移動のために、カセットボディ上の支持体上に積載されることが認識される。

【0021】

ボディ12内に提供されるのは、分析されるべき体液サンプルを受け取るためのサンプルウェル18である。このウェルは、代表的には約20 μ lと約60 μ lとの間の体積を有する、体液サンプル（例えば、血液サンプルまたは血清サンプル）を受け取るように設計される。このサンプルウェルは、サンプルをセンターパッド20へと移送する。次いで、このセンターパッドは、キャピラリーウィック22（本明細書中では、拡張層（spreading layer）とも呼ばれる）を通して、記載される第1試薬または第1試薬組成物を含む試薬パッド、すなわちレザバ24と連絡する。サンプル液体がウェル18に配置される場合、これは、毛管現象によって、センターパッドを通して、そしてセンターパッドから、拡張層を通して、レザバ24へと移動する。分析されるサンプルが血液サンプルである場合、サンプルウェルとレザバとの間、ならびに代表的にはセンターパッドおよび/または拡張層の間の流路におけるエレメントの1以上（one of more）は、赤血球の流れを除去または遅延させるために有効であり得、その結果、レザバに到達するサンプル物質は、血球も他の粒子状成分も含まない。この目的に適切なガラス繊維および他のマトリックス材料は、周知である。

【0022】

あるいは、またはさらに、流路における要素の1以上は、所望でない成分に対して特異的な、固定した結合剤（例えば、抗体）の使用により所望でないサンプル成分を除去するために有効であり得る。望ましくないサンプル成分はまた、このサンプルを、所望でないサンプル成分を選択的に沈澱させるために有効な沈澱剤に流路中で曝露することにより除

10

20

30

40

50

去され得る。例えば、デキストラン硫酸は、血液サンプルの特定のリポタンパク質を選択的に沈澱させるために用られ得る。沈澱した粒子は、流路を通した移動がブロックされるか、または流れが遅延するかのいずれかである。センターパッド、サンプル移送ストリップ、およびレザバは、好ましくは、毛細管流れにより流体を汲み上げ得る、吸収性の繊維状材料から形成される。種々の繊維状材料（例えば、繊維状マットフィルタにおいて通常用いられる材料（セルロース、酢酸セルロースおよびガラス製の繊維状マトリックスが挙げられる））が、移送ストリップに適切な材料である。この繊維は、所望の場合、架橋剤、熱溶解などにより架橋され得る。また適切なものは、その湿潤性および間隙寸法が、表面の濡れによってストリップ中への水性媒体の移動を促進するような、多孔質材料（例えば、焼結ガラス、溶融ポリマービーズなど）である。1つの例示的な材料は、約 0.2 g/cm^3 ~ 約 0.5 g/cm^3 の充填密度を有する、ガラス繊維フィルタである。センターガラス、拡張層およびレザバは、ボディに直接的に積載され得るか、またはプラスチックもしくは他の不活性支持体材料のバックングを通して、ボディ上に積載され得る。

10

【0023】

示したカセットの実施形態は、これらの図におけるカセットの右側において、単一アッセイについて設計されるが、このカセットが、このカセットの左側において、さらなるアッセイに適応され得ることが認識される。さらに、このさらなるアッセイは、同じ流体流れ様式を有してもよく、または異なる様式（例えば、センターパッドは、カセットボディの上側の左縁領域に沿って延びる細長い反応ストリップと連絡し得る）を有してもよい。

【0024】

20

カセットボディの記載の最後に、センターパッドのいずれかの側における一对のエラストマーブロック26は、支持体はそのサンプル移送位置に向かって移動するにつれて支持体の移動を和らげて制限するのに役立つ。

【0025】

支持体14は、図1Aおよび図1Bに示すように、支持体の中心から外側に向かって延びる一对の細長い反応棒（例えば、棒28）を有する。細長い試薬ストリップ30は、示すように、支持体の下側の内向きの表面に固定され、そしてその表面に沿って延びる。このストリップは、上流のサンプル移送ゾーン32、および支持体棒中に形成されたウィンドウ36の直下に位置する下流の検出ゾーン34を有する。図1Bで見られるように、ブロック16が圧縮した状態での、そのサンプル移送位置への支持体の移動は、サンプル移送ゾーンを、カセットボディ上の試薬レザバと接触させて、レザバから試薬ストリップへの毛細管流体流れを促進する。

30

【0026】

この試薬ストリップは、このストリップを通る毛細管の流れを促進する、多孔質材料または繊維状材料で形成される。好ましい材料としては、多孔質ポリマー、溶融ポリマーまたは細孔ポリマーメンブレン（例えば、ポリスルホン、ポリプロピレン、ナイロン、ニトロセルロース、テフロン(TM)またはポリ塩化ビニル細孔メンブレン）が挙げられる。本発明の場合、ニトロセルロース（例えば、Sartoriusから入手可能）が特に好ましく、このようなものは、それぞれ、5~20mm、1~5mm、および0.1~0.5mmの長さ、幅および厚みの寸法を有する。

40

【0027】

ストリップ30の下流端部は、サンプル移送ゾーンでストリップに供給されるサンプル液体を汲み上げ、そして下流方向（図の右に）に、検出ゾーンへと、そして検出ゾーンを通して流すためのレザバとして機能する吸収パッド38と接触している。このパッドは、適切な吸収材料（例えば、繊維状ガラスまたはセルロース）から形成される。このパッドの吸収度体積は好ましくは、添加されるサンプル体積の少なくとも半分である（例えば、 $10 \mu\text{l}$ ~ $30 \mu\text{l}$ ）。

【0028】

試薬ストリップによって規定される流体経路中に配置されるのは、以下にさらに記載される、検出ゾーンにて検出される、検出可能な分析物依存性反応産物を生成するために有

50

効な試薬である。それゆえ、種々のアッセイは、以下に記載するとおり、カセットを使用して実施され得る。

【0029】

サンプル移送ゾーンの下流の、試薬ストリップの外向きの表面は、不透過性の反射フィルム39（例えば、マイラーフィルム）によって覆われる。特に、このフィルムは、試薬ストリップ中の検出ゾーンの上を越えて延び、そして検出ゾーンは、支持体ウィンドウと反射フィルムとの間に挟まれる。反射ストリップの目的は、以下でさらに議論されるように、支持体ウィンドウを通して見た場合の、試薬ストリップの反射率を増強すること、特に、ストリップが湿った場合に観察される、および検出ゾーンで生じた分析物特異的反応に反応して観察される、反射率変化を増強することである。

10

【0030】

支持体上の種々の層の構築は、図2の分解組立図において例示される。ここに示されるのは、ウィンドウ36が存在する支持体棒28、ならびに上流のサンプル移送ゾーン32および検出ゾーン34を有する試薬ストリップ30である。このストリップは、取り外し可能なバックング45で最初に覆われた両面接着剤ストリップ44を用いて支持体棒に取り付けられる。示されるように、接着剤ストリップは、支持体ウィンドウおよび検出ゾーンに対応する空間によって隔てられる。吸収パッド38は、試薬ストリップ30の下流の端部と重なるように配置され、そして反射フィルムは、ストリップ30中のサンプル移送領域のすぐ下流の点から、吸収パッドを越えた点まで延びるように配置される。構築において、上記の構成要素は、示されるように配置され、そして接着剤バックング44を除去し、そしてこのアセンブリの接着剤側を支持体棒に対してしっかりと押すことにより、支持体棒へと、および互いに、取り付けられる。

20

【0031】

このカセットは、分析物アッセイのために特に設計され、ここでは、(i) サンプル成分（これは、代表的に、分析物自体を含む）は、レザバ中の1以上の試薬と反応して、改変されたサンプルを形成する、および(ii) この改変されたサンプル（代表的には、改変された分析物）は、第2試薬組成物と反応して、検出可能な分析物依存性産物を生成する。すなわち、試薬レザバおよび試薬ストリップは両方とも、この好ましい実施形態において、これらの反応を実施するための1以上の試薬を含む。このレザバおよびストリップにおける1以上の試薬はまた、本明細書中で、それぞれ、第1試薬組成物および第2試薬組成物といわれ、そして以下でさらに考察するような、1以上の酵素、抗体、標識抗体、または酵素基質、結合剤、および/または沈澱剤を包含し得る。

30

【0032】

多価抗原分析物の検出のための1つの例示的なカセットでは、このレザバ中の試薬組成物は、標識された（例えば、検出可能なレポーター（例えば、金属粒子、蛍光分子もしくは着色分子、結合した着色部分もしくは蛍光部分を含む分枝ポリマー、およびコーティングされた粒子（例えば、蛍光でコーティングされたラテックス粒子））と共有結合した）、分析物特異的な非固定化抗体を含む。「非固定化」により、この試薬がレザバ内を自由に移動可能であることを意味する。従って、分析物をこのレザバに添加した場合、これは、抗体試薬と特異的に反応して、移動可能な標識された分析物-抗体複合体を形成する。他の実施形態では、この試薬組成物は、試薬が分析物とともに移動しなければならないか、および/または試薬が最終分析物の決定を妨害すると予想されるかに依存して、固定化されても、非固定化されてもよい。

40

【0033】

結合剤（例えば、標識抗体）を標識する方法（放射性標識、蛍光標識、または別々の基質を検出可能な種へと変換する連結された酵素の使用が挙げられる）は、当該分野で公知である。種々のレポーター標識抗体（例えば、酵素標識抗体）は、市販されるか、または公知の方法に従って容易に調製され得る（例えば、Harlow, 319-358頁を参照のこと）。光学的に検出可能な標識方法は、本発明のイムノアッセイカセットについての使用に関して好ましい。基質と反応して可視の反応産物を生成する酵素は、この目的で

50

広範に用いられる。特に好ましい標識試薬は、可視の粒子（例えば、着色ラテックスビーズまたはコロイド状金）に結合体化された、分析物特異的抗体である。このような結合体は、米国特許第4,313,734号（Leuvering）に記載され、そしてまた、製造業者（例えば、BB International（Cardiff, UK）およびNanoProbes（Stony Brook, NY））から入手され得る。

【0034】

試薬ストリップ中の試薬組成物（これは、1以上の試薬を含み得る）は、固定化形態または非固定化形態で、このストリップ全体に分布してもよく、またはこのストリップ上で（例えば、サンプル移送ゾーンに、移送ゾーンのすぐ下流に、または検出ゾーンに）局在してもよい。多価分析物の検出のための上記の実施形態では、第2試薬組成物は、検出ゾーンに固定された抗分析物抗体を含む。この様式では、レザバから試薬ストリップへと移送された、標識された分析物-抗体複合体は、ストリップの下流方向に移動し、ここで、この複合体は、検出ゾーンで捕捉される。検出可能な反応産物を形成する工程は、検出可能な複合体を検出ゾーンにおいて捕捉することを包含する。

10

【0035】

他の実施形態では、この第2試薬組成物は、固定化または非固定化された、酵素、基質、標識結合試薬、光増感剤、還元剤もしくは酸化剤、ならびに/または公知の2段階反応手順（本発明では、工程の1つは、試薬レザバ中で実施され、そして第2の工程は、試薬ストリップ中で実施される）に従って分析物検出反応の一部としてタンパク質およびヒドロキシリオンを供与し得る、酸性基もしくは塩基性基を含み得る。

20

【0036】

より詳細には、この検出ゾーンは、未標識の抗体-分析物複合体を用いて検出可能な反応産物を生成するために有効な試薬を含み得る。例えば、この検出ゾーンは、オキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、および検出可能種（例えば、色素）へと酸化し得る化合物を含み得る。分析物-抗体複合体がオキシダーゼについての基質を含む場合、得られた反応において生成された H_2O_2 は、ペルオキシダーゼによって触媒されて、酸化可能な化合物と反応して、検出可能な色素を生成する。このようなアッセイは、例えば、Hewettらに記載されている。

【0037】

この試薬は、レザバ材料もしくはストリップ材料をこの試薬の溶液に浸漬し、続いて乾燥することにより、またはこの試薬材料の溶液をストリップ全体もしくはストリップの局所領域に添加し、続いて乾燥することにより、レザバおよびストリップに取り込まれ得る。試薬が固定される場合、このレザバ領域またはストリップ領域は、天然で提供し得るか、または表面反応性基（例えば、アミン基、カルボキシル基、スルフヒドリル基、またはアルデヒド基）を有するように公知の方法に従って化学的に改変されて、活性化剤または二官能性カップリング剤の使用による共有結合を可能にし得る。

30

【0038】

1つの特定の実施形態では、このカセットは、（特に、血液サンプルまたは血清サンプル中で測定される）C反応性タンパク質の検出のために設計される。この実施形態では、レザバ中の試薬組成物は、C反応性タンパク質エピトープ（すなわち、C反応性タンパク質中の5つの同一のサブユニットのうちの一つに存在するエピトープ）に対して特異的な非固定化モノクローナル抗体である。1つの例示的な抗C反応性タンパク質抗体は、クローン番号CC002によって同定され、かつScrripps Laboratories（San Diego, CA）から入手可能な細胞株によって生成される、モノクローナル抗体である。この抗体は、標準方法（例えば、Chandlerら, The place of gold in rapid tests, IVD Technology, 6(2)37-49(2000)に記載されるとおり）に従った金微粒子への結合体化によって標識される。第2試薬は、C反応性タンパク質に特異的かつ検出ゾーンに固定される抗体である。例示的な抗体は、第1（レザバ）抗体試薬において用いられる抗体と同じである。アッセイの詳細を実施例1に示す。

40

50

【0039】

図3Aおよび図3Bは、カセット作動の間のカセットの流体流れ要素への、そして流体流れ要素からの、サンプル液体の流れを例示する。図3Aに見られるように、サンプルウェル18に適用される液体サンプルは、毛管現象によりセンターパッド20へと汲み上げられ、そしてここから、拡張層を通して、レザバ24へと汲み上げられる。ここで、このサンプルは、所望のインキュベーション時間にわたって、第1試薬の存在下で保持され得る。代表的なインキュベーション時間は、数秒間から10分間以上まで変化し得る。

【0040】

カセット中の支持体はそのサンプル移送位置へと移動する場合、図3Bに示すように、サンプル液体は、ストリップの移送ゾーンをレザバと接触させた場合、毛管現象により、ストリップの移送ゾーンへと流れる。移送ゾーンから、サンプル液体は、検出ゾーンへと、そして検出ゾーンを通過して、最終的には吸収パッド38へと、下流方向に移動する。カセットサンプルウェルへのサンプル材料の添加と、そのサンプル移送位置への支持体の最初の移動との間の遅延を制御することにより、このカセットは、サンプルがレザバから試薬ストリップへと最初に移送される前に、サンプルインキュベーション期間を制御するように作動され得る。

【0041】

さらに、液体移送速度および移送される総サンプル体積は、以下を制御することによって制御され得る：(i)このアクチュエータが、この支持体をその移送位置に向けておよび移送位置から離れて移動させる、サイクル頻度、(ii)各サイクルの間にこの支持体をその移送位置に保持する、接触時間、ならびに(iii)移送サイクルの総数。次の節で考察するように、この制御は、本発明の別の局面に従って構築されたアッセイ装置において、カセット操作機器によって便利に提供される。

【0042】

(II. カセット操作機器)

図4は、本発明に従って構築されたカセット操作機器48の斜視図であり、そして図5は、線図の形態でこの機器の重要な機能的要素を示す。この機器は、アーム50によって表されるカセットホルダを備え、このカセットホルダは、サンプル液体がこのカセットに添加された場合に、このカセットを受け取って操作可能な状態で保持するように適応している。特に、アーム50は、カセットボディ中のガイドノッチ(例えば、ノッチ52)と係合して、カセットをホルダ中に所望の位置で係留するように偏っている。

【0043】

この機器は、この機器中の制御ユニット55から動作されると、カセット支持体と係合してこの支持体をその弛緩状態からそのサンプル移送位置へと移動させるように作動可能な、54に示されるソレノイド起動ピストンまたはプッシャを有するアクチュエータ53をさらに備える。特に、この制御ユニットは、以下のアクチュエータ変数のうちの1以上を制御するようにプログラミングまたは使用者調整され得る：

(i) サンプル添加と、ストリップへのカセットサンプルの移送との間の期間。この時間は、第1試薬組成物へのサンプル液体曝露および第1試薬組成物との反応のインキュベーション期間にほぼ対応し、そして第1サンプル反応の性質に依存して、数秒間から10分間以上まで変化し得る。

【0044】

(ii) アクチュエータが支持体をその移送位置に向けておよびその移送位置から離れて移動させるサイクル頻度。この頻度は、1回のアッセイあたり1回から、1分間に数回~1秒間に1回まで変動し得る。

【0045】

(iii) 各サイクルの間にこの支持体をその移送位置に保持する接触時間。頻度とともに、この変数は、サンプル流体が試薬ストリップに移送される総速度を決定する。この速度は、異なる種類のアッセイ化学について最適化され得る。例えば、これは、サンプルウェルから試薬レザバを通る物質の流れを調節して、試薬レザバ中での十分な反応時間を

10

20

30

40

50

確実にするために、または試薬ストリップを通る流速を測定してストリップ内での適切な反応時間を確実にするために、所望され得る。

【0046】

(iv) 移送サイクルの総数。これは、各サイクル中での接触時間とともに、カセットボディからストリップへと移送された総体積を決定する。移送された総体積を制御することにより、分析物量/サンプル体積として表される、分析物濃度のより定量的な尺度が決定され得る。特に、検出ゾーンを通過する体積は、所定の量から、検出ゾーンの上流のストリップの部分に残る移送総量を差し引いたものである。

【0047】

この制御ユニットが、アッセイにおける液体移送を、任意の選択された型のアッセイ化学について最適化された様式で制御するようにプログラミングされ得ることが認識される。本発明を用いて達成され得る種々の液体移送プロフィールは、以下で考慮される。

10

【0048】

また、図5に示すとおり、このカセット操作機器は、ウィンドウ36を通して観察されたとおりの検出ゾーンの反射率変化を検出するために作動可能な光検出器56を備える。この場合の光検出器は、検出ウィンドウが光源(例えば、LED; これもまた検出器の一部を形成する)によって照射される場合、ウィンドウにおける反射光強度を測定するための単純なデバイスであり得る。他の実施形態では、この検出器は、選択された波長の蛍光励起ビームおよび発光検出器、または選択された波長の可視光源および検出表面での光吸収を測定するための光検出器を備え得る。

20

【0049】

特に、光検出器が、検出ゾーンにおける試薬ストリップ表面からの反射率を測定するように設計される場合、反射フィルムは、増強する(すなわち、反射強度を増幅する)ために有効であり、従って、解像度および精度を改善するために有効である。次の節で見られるように、増強された反射はまた、検出ゾーンが、試薬ストリップを通る流体の流れをモニタリングするための「コントロール」として役立つことを可能にする。

【0050】

(III. 性能特徴)

上記のように、本発明の1つの特徴は、1つの反応領域から別の領域への流体流れの速度および体積を、従って、反応および総アッセイ体積の反応速度を制御する能力である。この特徴は、アッセイ反応のうちの1以上が律速である場合または反応速度の終点をアッセイすることが所望される場合に重要である。この特徴はまた、検出ゾーン中の分析物の濃度を定量するために、検出ゾーンへとおよび検出ゾーンを通過して流れるサンプル液体の総量を制御する際に重要である。

30

【0051】

図6Aおよび図6Bは、本発明において達成され得る異なるサンプル移送特徴を例示する、2つのサンプル移送曲線を例示する。図6Aに例示される第1の場合、サンプルは、時間 t_0 にてカセットに添加され、時間 t_1 (このとき、このカセット中の支持体バーは、レザバと接触させられる)まで試薬レザバ中でインキュベートされる。支持体バーを、長期間にわたってレザバと接触させ続けた場合、時間の関数としてサンプル体積として表される、ストリップへのサンプル移送は、ストリップおよびパッドの両方が十分に飽和する(サンプル蒸発効果は無視する)時間 t_f になるまで直線的に増加する。

40

【0052】

図6Bでは、サンプルインキュベーション時間(t_0 から t_1 まで)は、図6Aにおいてと同じであるが、サンプル移送は、支持体が移動してレザバと接触しなくなり、そして経時的な体積蓄積が平坦になる間隔にて散在した3つの別個の移送事象によってもたらされる。認識され得るように、後者のアプローチは、サンプル移送が途切れのない事象を伴って生じる場合よりも制御され、代表的にはよりゆっくりした速度の体積移送を可能にする。

【0053】

50

図7は、C反応性タンパク質分析物が、カセットレザバ中の標識抗分析物抗体と最初に反応して、検出可能な分析物-抗体複合体を形成し、次いでこの複合体が試薬ストリップ（ここで、これは、検出ゾーンにおける固定化抗分析物抗体によって捕捉される）へと移送されるアッセイについての例示的な反射率曲線を示す。支持体へのサンプル移送後の最初の数秒間における最初の反射率は、乾燥ストリップの反射率に対応する。反射率における激しい低下は、移送されたサンプルの先端が検出ゾーンを通過するとき生じる。反射率における低下は、検出ゾーンにおけるストリップの濡れおよび複合体形態または非複合体形態のいずれかのコロイド状金標識抗体の存在の両方に起因する。

【0054】

検出ゾーンを通るサンプル物質の連続した流れに伴い、反射率のレベルは、複合体化抗体結合体および非複合体化抗体結合体の相対濃度に依存して（すなわち、サンプル分析物濃度に依存する）、経時的に変化し始める。比較的多くの結合体が非複合体化形態にあり、そして比較的少ない結合体が検出ゾーンに捕捉される、より低い分析物濃度では、反射率は、ゾーンを通じたサンプル移送によってより多くの結合体が検出ゾーンの外側に運ばれるほど、経時的に増加し始める。これは、図7における「菱形」プロットに見られる。逆に、より高い分析物濃度では、同じ図の「三角形」プロットに示されるように、徐々により多くの結合体が検出ゾーンに捕捉され、サンプルはこのゾーンを流れて、経時的に反射率を減少させるように作用する。

【0055】

分析物濃度は、選択された終点（例えば、4分間）での測定された反射率を、公知の分析物濃度からの標準的な反射率測定と比較することにより測定される。測定された反射率は、例えば、最終反射率パーセントの、最初の反射率パーセントに対する比として表され得る。図8に示されるプロットに見られるように、この比のプロットは、 $0 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 8 \mu\text{g}/\text{ml}$ のC反応性タンパク質濃度にわたる、分析物依存性曲線を示す。

【0056】

上記のことから、どのようにして本発明の種々の目的および特徴が達成されるかが認識され得る。このカセットは、連続した分析物依存性反応が、1つの反応領域から別の反応領域への移送の体積および速度を制御することにより、制御された様式で実施され得る、乾燥ストリップアッセイ形式を提供する。さらに、このカセットは、分析物濃度のより定量的な決定のために、検出ゾーンを通る、制御されかつ測定された体積のサンプルを可能にするように設計される。このカセット様式は、同じカセットにおける、そして同じサンプルから供給される、複数アッセイが可能である。最後に、支持体バーにおける反射器ストリップは、反射率変化を増強するように作用し、アッセイの信頼性および解像度を増強する。

【0057】

好ましくは、本発明のカセットには、再充填された溶液および試薬が供給され、従って、完全に自給式であり、操作者による液体ローディングを必要としない。このカセットを備えるリーダは、カセットを指定された時間においてその異なる操作位置に調整するようにプログラミングされ得る。従って、複数段階アッセイは、カセットリーダ中に含まれるカセットを用いて実施され得、外側の操作者の入力を必要としない。

【実施例】

【0058】

（IV．実施例）

（実施例1：C反応性タンパク質についてのアッセイ）

本発明のデバイスの特定の適用では、血液サンプルを、C反応性タンパク質のレベルについて分析した。この化合物の変化したレベルは、大脳血管虚血および発作、ならびに虚血性心疾患および発作についての危険因子によって特徴付けられる障害の診断レベルであることが示されている（例えば、De Maat、Grau、Kuller、Liuzzo、Mendall、Thompson、およびTracyを参照のこと）。

【0059】

10

20

30

40

50

このアッセイについてのカセットを、以下の通りに調製した：センターパッドは、約 20 μ l の液体を吸収し得るガラス繊維パッドであった。拡張層もまたガラス繊維であった。レザバは、約 6 μ l の総吸収体積を有する多孔質プラスチック材料であった。レザバを、BB International (Cardiff, UK) から入手した C 反応性タンパク質に対して特異的な抗体とコロイド状金を結合体化することによって形成された、抗体結合体の 6 μ l の 20 O.D. 溶液に最初に浸漬した。次いで、レザバを乾燥した。

【0060】

カセット中の試薬ストリップは、Sartorius (Goettingen, GmbH) から入手した、10ミル(0.25mm)未満の厚みを有する、11mm x 3mmのニトロセルロースストリップであった。C 反応性タンパク質に対する抗体を、ニトロセルロースとの疎水性相互作用を通して検出領域に結合した。検出領域は、サンプル移送領域から約 6mm に位置した。このストリップの下流端における吸収パッドは、約 25 μ l の総吸収体積を有する、セルロース繊維材料であった。

10

【0061】

このアッセイ方法では、50 μ l のヒト血液サンプルを、カセット中のサンプルウェルに適用した。3分間のインキュベーション期間の後、この支持体を、4分間かけて、そのサンプル移送位置へと移動させた。このストリップへのサンプル液体の流れの間、支持体パーウィンドウにおける反射率をモニタリングした。約4分間にて、安定な終点に達した(図8)。終点反射率の、最初の反射率に対するシグナル比を決定し、そしてこれを用いて、既知量の C 反応性タンパク質を有するサンプルによって作成した標準曲線から分析物濃度を算出した。

20

【0062】

(実施例2：アッセイカセットを用いる使用のための装置)

カセットを、実質的に実施例1に記載されるとおりに調製する。このカセットを、サンプルアッセイの間、カセットホルダ中に取り外し可能に配置する。このカセットを、アクチュエータによってサンプル移送位置に向けておよびサンプル移送位置から移動させて、試薬のインキュベーションをもたらす。試薬ストリップの検出ゾーン中の分析物特異的な反応を、検出器によって検出する。アッセイ手順の間の上記試薬レザバから試薬ストリップへのサンプル移送の体積および速度を、このアクチュエータに接続している制御ユニットによって制御する。

30

【0063】

(実施例3：分析物アッセイ)

目的の分析物を含む疑いのある体液を、1以上のサンプル成分と反応して改変されたサンプルを形成するために有効な試薬組成物を含む吸収レザバへと導入する。吸収された体液サンプルを含む吸収レザバを、レザバ中で形成された改変されたサンプルと反応して検出可能な分析物依存性産物を生成するために有効な第2試薬組成物を含む試薬ストリップと繰り返し接触させる。繰り返された接触の頻度および持続時間を制御して、レザバからパッドへのサンプル流体の移送の体積および速度を制御する。分析物依存性産物を、任意の公知の手段によって検出する。

40

【0064】

本発明を特定の方法および実施形態を参照して記載したが、本発明から逸脱することなく種々の改変が行われ得ることが認識される。

【図面の簡単な説明】

【0065】

【図1A】図1Aは、カセットが最初のサンプルローディング位置にある、本発明の1つの実施形態に従って構築されたイムノアッセイカセットの平面図である。

【図1B】図1Bは、カセットがサンプル移送位置にある、本発明の1つの実施形態に従って構築されたイムノアッセイカセットの平面図である。

【図2】図2は、検出ゾーンの領域におけるカセット支持体の拡大断面図である。

50

【図3A】図3Aは、カセット中のサンプル流体移送前のサンプル流体の分布を図示する。

【図3B】図3Bは、カセット中のサンプル流体移送後のサンプル流体の分布を図示する。

【図4】図4は、本発明の1つの実施形態に従って構築されたカセット操作機器の斜視図である。

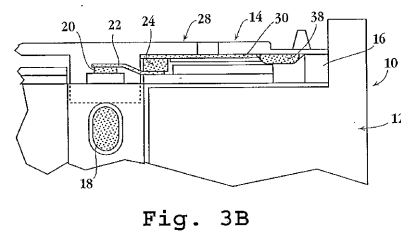
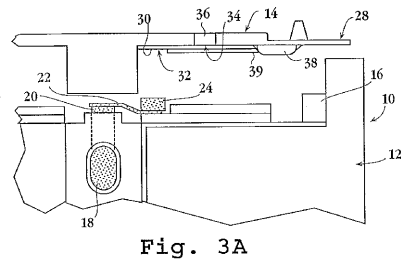
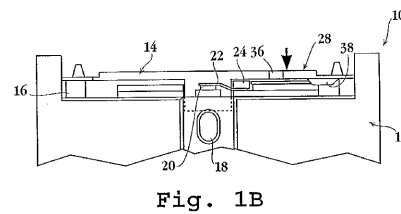
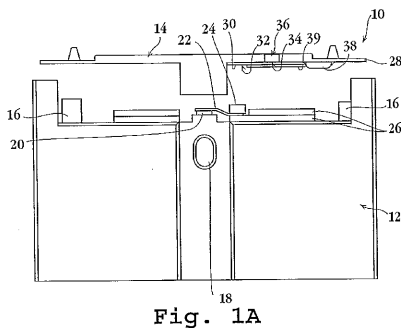
【図5】図5は、本発明のイムノアッセイカセットに対する関係において、カセット操作機器の種々の機能的構成要素を図示する。

【図6A】図6Aは、本発明によって達成され得るあるサンプル - 体積移送プロフィールを図示する。

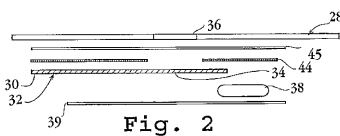
【図6B】図6Bは、本発明によって達成され得る別のサンプル - 体積移送プロフィールを図示する。

【図7】図7は、本発明の1つの実施形態に従ったアッセイ手順の間の、3つの異なる濃度におけるC反応性タンパク質分析物についての反射率プロフィールを図示する。

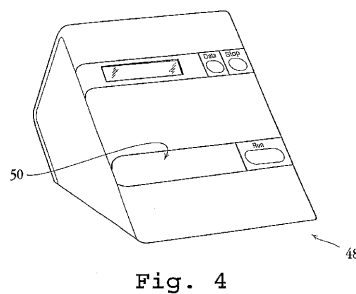
【図8】図8は、本発明に従って作成された、C反応性タンパク質分析物濃度の関数としての、測定された反射率のプロットである。



【図2】



【図4】



【 図 5 】

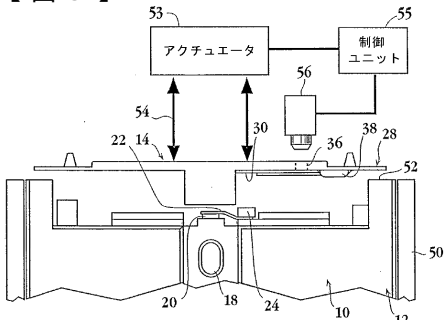


Fig. 5

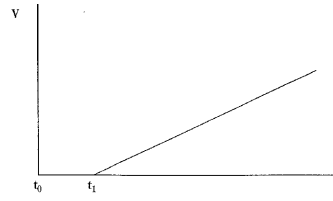


Fig. 6A

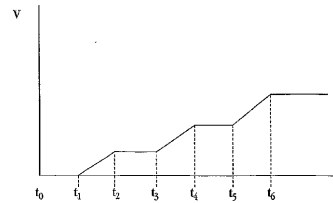


Fig. 6B

【 図 7 】

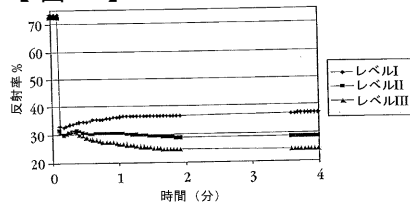


Fig. 7

【 図 8 】

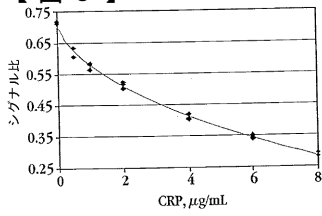


Fig. 8

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US03/17792

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : G01N 33/543 US CL : 436/518		
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) U.S. : Please See Continuation Sheet		
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)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4,943,522 A (EISINGER et al) 24 July 1990 (24.07.1990), see entire document.	1-6, 8-14 and 17-21
A	US 5,137,808 A (ULLMAN et al) 11 August 1992 (11.08.1992), see entire document.	1-6, 8-14 and 17-21
A	US 4,956,275 A (ZUK et al) 11 September 1990 (11.09.1990), see entire document.	1-6, 8-14 and 17-21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date		"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
"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)		"&" document member of the same patent family
"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		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
13 December 2003 (13.12.2003)	11 FEB 2004	
Name and mailing address of the ISA/US	Authorized officer	
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450	Chris L. Chitt	
Facsimile No.	Telephone No. (703) 308-0196	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/17792

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 1:

422/50, 55, 56, 57, 58, 63, 67, 68.1;
435/7.1, 287.1, 287.2, 287.7, 287.9, 288.5, 288.7, 805, 810, 970;
436/43, 514, 518, 530, 805, 810

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US03/17792

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claim Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claim Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claim Nos.: 7, 15-16 and 22
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 35/02	G 0 1 N 33/553	
	G 0 1 N 35/00	E
	G 0 1 N 35/02	A

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, 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, IT, LU, MC, NL, 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, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 コウリー, リーン エム.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 6 5 1 3 8, サン ノゼ, グレゴリッチ ドライブ 6 9
 3 0, ユニット ジー

(72) 発明者 ベレット, ニール エフ.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 9 8, ウォルナット クリーク, コミスタス ドラ
 イブ 2 5 6 6

(72) 発明者 シンデルマン, ジェフリー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 5 2, カストロ バレー, ラリアット レーン 6
 9 2 4

(72) 発明者 レオス, マイケル イー.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 3 4, フェアフィールド, ノースウッド ドライブ
 1 5 5 3

(72) 発明者 ウォージー, トーマス イー.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 9 8, ウォルナット クリーク, メンロ コート
 3 4 7

(72) 発明者 ヘイリー, キンバーリー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 0 2, ベルモント, ケンブリッジ ストリート 5
 4 9

Fターム(参考) 2G058 AA09 CC05 CC08 EA14 GA02

专利名称(译)	自动免疫测定盒，装置和方法		
公开(公告)号	JP2005529325A	公开(公告)日	2005-09-29
申请号	JP2004511788	申请日	2003-06-06
申请(专利权)人(译)	科雷棒公司		
[标]发明人	ヌジェントアンソニージェイ コウリーリーンエム ベレットニールエフ シンデルマンジェフリー レオスマイケルイー ウォージートーマスイー ハイリーキンバーリー		
发明人	ヌジェント, アンソニー ジェイ. コウリー, リーン エム. ベレット, ニール エフ. シンデルマン, ジェフリー レオス, マイケル イー. ウォージー, トーマス イー. ハイリー, キンバーリー		
IPC分类号	B01L3/00 B01L9/00 C12M1/34 C12M1/40 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/545 G01N33/553 G01N35/00 G01N35/02		
CPC分类号	B01L9/52 B01L3/5023 B01L2300/0825 B01L2300/0887 B01L2400/0406 B01L2400/0633 G01N33/5304 G01N33/54306 G01N33/54366 G01N33/54386 Y10S435/805 Y10S435/81 Y10S435/97 Y10S436/81		
FI分类号	G01N33/543.521 G01N33/543.541.Z G01N33/543.575 G01N33/53.X G01N33/545.A G01N33/553 G01N35/00.E G01N35/02.A		
F-TERM分类号	2G058/AA09 2G058/CC05 2G058/CC08 2G058/EA14 2G058/GA02		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	60/387287 2002-06-07 US		
其他公开文献	JP4532266B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了一种用于检测液体体液样品中的分析物的免疫测定盒10，装置和方法。盒10具有主体12和安装在主体12上的支撑件，用于朝向和远离样品转移位置移动。提供给盒体12中的样品孔18的样品被含有第一试剂组合物的试剂贮存器24吸收，所述第一试剂组合物有效地与一种或多种样品组分反应以形成改性样品。支撑件12提供试剂条30，其具有转移区32，当支撑件14移动到其转移位置时，转移区32与贮存器24接触，位于转移区32下游的检测区34和第二试剂有效地与改性样品反应形成可检测的分析物依赖性产物的组合物。通过控制支撑件14朝向和远离其转移位置的移动，可以控制样品从贮存器24流到条带30的体积和速率，以优化和/或标准化测定中的样品转移条件。公开了一种用于检测液体体液样品中的分析物的免疫测定盒10，装置和方法。盒10具有主体12和安装在主体12上的支撑件，用于朝向和远离样品转移位置移动。提供给盒体12中的样品孔18的样品被含有第一试剂组合物的试剂贮存器24吸收，所述第一试剂组合物有效地与一种或多种样品组分反应以形成改性样品。支撑件12提供试剂条30，其具有转移区32，当支撑件14移动到其转移位置时，转移区32与贮存器24接触，位于转移区32下游的检测区34和第二试剂有效地与改性样品反应形成可检测的分析物依赖性产物的组合物。通过控制支撑件14朝向和远离其转移位置的移动，可以控制样品从贮存器24流到条带30的体积和速率，以优化和/或标准化测定中的样品转移条件。

