

(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2005-509158
(P2005-509158A)

(43) 公表日 平成17年4月7日(2005.4.7)

(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 4
GO 1 N 21/05	GO 1 N 33/543 5 4 5 Z	2 G O 5 7
GO 1 N 21/77	GO 1 N 21/05	
GO 1 N 33/53	GO 1 N 21/77 B	
GO 1 N 37/00	GO 1 N 33/53 D	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 24 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2003-542923 (P2003-542923)
 (86) (22) 出願日 平成14年10月21日 (2002.10.21)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年5月7日 (2004.5.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/SE2002/001906
 (87) 国際公開番号 W02003/040721
 (87) 国際公開日 平成15年5月15日 (2003.5.15)
 (31) 優先権主張番号 0103688-8
 (32) 優先日 平成13年11月7日 (2001.11.7)
 (33) 優先権主張国 スウェーデン (SE)

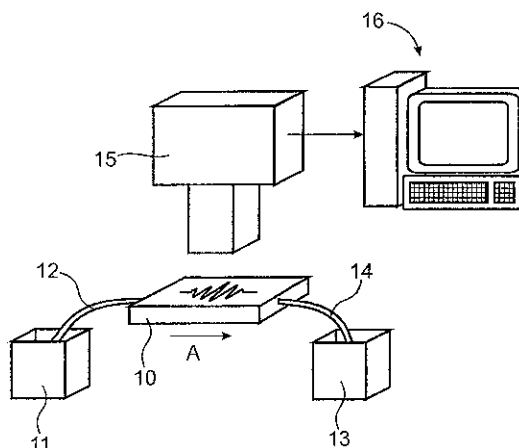
(71) 出願人 504177882
 プロライト ダイアグノースティクス ア
 クチ ボラゲット
 スウェーデン エス-223 70 ルン
 ド イデオン (番地なし)
 (74) 代理人 100077481
 弁理士 谷 義一
 (74) 代理人 100088915
 弁理士 阿部 和夫
 (72) 発明者 マサウド カヤミ
 スウェーデン エス-223 55 ルン
 ド カルホーグストルグ 4 ビー
 Fターム(参考) 2G054 AB03 AB04 CA23 EA01 FA19
 FA33

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロチップ型酵素結合免疫吸着検定 (ELISA) 用の濃度測定装置及び濃度測定方法

(57) 【要約】

本発明は、酵素結合免疫吸着検定 (ELISA) によるサンプル中の生物活性物質の濃度測定方法及びその装置に関する。濃度測定装置は、免疫吸着剤を結合するチューブ17内の固体支持部と、流体注入口18, 19と、チューブ17内の活動による放射を検出する検出器15とを備え、チューブ17が、ほぼ単一面内を延びるマイクロチップ10内部に配置され、それによって、このマイクロチップ10の面に沿って流体が送られる。チューブ17により、広い検出領域22を有する反応セルが形成される。マイクロチップ10の反応セルは、検出器15に直交して配置される。この方法は、チューブ17内に流体を導入するステップと、放射放出活動が行われる反応セルを形成するチューブ17を通してこの流体を送るステップと、この面にほぼ直交してこの反応セルから放射される光を検出するステップとを含む。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫吸着剤を受け取り、該免疫吸着剤を結合し、かつ酵素で標識された免疫反応物及び酵素基質などの酵素結合免疫吸着検定に関連する流体を受け取るチューブ(17)内の固体支持部と、前記チューブ(17)内の活動による放射を検出する検出器(15)と、該検出器(15)により検出された放射を表示するディスプレイとを備え、酵素結合免疫吸着検定によるサンプル中の生物活性物質の濃度測定装置であって、

前記チューブ(17)は、ほぼ単一面内を延びるマイクロチップ(10)の内部に配置され、

前記チューブ(17)は、前記マイクロチップ(10)の前記面内を延びる反応セルを形成し、

前記マイクロチップ(10)の前記反応セルは、前記検出器(15)にほぼ直交して配置されていることを特徴とする濃度測定装置。

【請求項 2】

前記マイクロチップ(10)は、前記チューブ(17)内に第1流体を導入する第1注入口(18)と、前記チューブ(17)内に第2流体を導入する第2注入口(19)とを備えていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 3】

前記マイクロチップ(10)は、前記チューブ(17)内に複数の流体を導入する複数の注入口(21)を備えていることを特徴とする請求項2に記載の濃度測定装置。

【請求項 4】

前記マイクロチップ(10)は、前記反応セルと前記検出器(15)の間に透明又は光透過性材料を備えていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 5】

前記マイクロチップ(10)は、前記検出器(15)と反対方向に光反射層(25)を備えていることを特徴とする請求項4に記載の濃度測定装置。

【請求項 6】

前記マイクロチップ(10)は、前記検出器(15)と反対方向に、光の散乱を少なくするための光を透過しない材料を備えていることを特徴とする請求項4に記載の濃度測定装置。

【請求項 7】

前記マイクロチップ(10)は、ポリスチレンなどのプラスチック材料又はポリマー材料で形成されていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 8】

前記マイクロチップ(10)は、射出成型品又は圧縮成型品であることを特徴とする請求項7に記載の濃度測定装置。

【請求項 9】

前記検出器(15)は、前記反応セルから放出される光を検出するためのフォトダイオード、光電セル、光ファイバ、固体センサ又は光電子増倍管のいずれかであることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 10】

前記チューブ(17)の断面は、前記検出器(15)に向かって前記放出光を反射するように設けられていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 11】

前記チューブ(17)は、矩形、三角形、円形又は半円形断面のいずれかを有するように設けられていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 12】

前記チューブ(17)の前記断面は、前記検出器(15)に面して延びる平坦な面及び前記マイクロチップ(10)の前記面に直交して反対方向に延びる頂点又は円弧を有するように設けられていることを特徴とする請求項11に記載の濃度測定装置。

10

20

30

40

50

【請求項 13】

前記チューブ(17)の複数の湾曲部は、広い検出領域(22)を有する反応セルを形成していることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 14】

前記チューブ(17)の前記湾曲部は、前記マイクロチップ(10)の前記面内を延びていることを特徴とする請求項13に記載の濃度測定装置。

【請求項 15】

前記反応セルの前記チューブ(17)の湾曲部は、1つおきにほぼ180°右方向に湾曲し、残りの湾曲部は、ほぼ180°左方向に湾曲していることを特徴とする請求項14に記載の濃度測定装置。

10

【請求項 16】

前記チューブ(17)の各湾曲部の間隔は、前記反応セルの中央位置に向かう方向に広くなり、前記反応セルの前記中央位置から離れる方向に狭くなっていることを特徴とする請求項15に記載の濃度測定装置。

【請求項 17】

前記チューブ(17)の前記湾曲部は、中央部に排出口(20)を有する螺旋状に設けられていることを特徴とする請求項14に記載の濃度測定装置。

【請求項 18】

前記マイクロチップ(10)の前記面内を延びる前記チューブ(17)の一部は幅が広がるように配置されて、広い検出領域(22)を有する反応セルが形成されていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

20

【請求項 19】

前記マイクロチップ(10)は、複数の物質を同時に検定するために複数の別々に配置された反応セルを備えていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 20】

前記検出器(15)は、各反応セルから放出される光を別々に検出するように配置されていることを特徴とする請求項19に記載の濃度測定装置。

【請求項 21】

前記検出器(15)は、複数の反応セルから放出される光を合成して検出するために、複数の反応セルを同時に対象となるように配置されることを特徴とする請求項19に記載の濃度測定装置。

30

【請求項 22】

様々な生物学的な物質のマルチ分析用に構成されていることを特徴とする請求項19に記載の濃度測定装置。

【請求項 23】

急性期タンパク質のマルチ分析用に構成されていることを特徴とする請求項22に記載の濃度測定装置。

【請求項 24】

梗塞マーカのマルチ分析用に構成されていることを特徴とする請求項23に記載の濃度測定装置。

40

【請求項 25】

前記マイクロチップ(10)は、前記マイクロチップ(10)内に配置された、流体を入れるための複数の流体だめ(22~24)を備えていることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 26】

第1流体だめ(22)及び第2流体だめ(23)は、前記検定を実施するための流体を入れるように配置され、前記流体だめ(22、23)は、前記反応セルに連結されて、前記検定が開始されたときに所定の順序で前記反応セルに前記流体を送り、廃棄用流体だめ(24)は廃棄流体用に配置されていることを特徴とする請求項25に記載の濃度測定装置。

50

【請求項 27】

前記チューブ(17)は、Maxisorp(登録商標)又は化学的な被覆で処理された表面であることを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

【請求項 28】

前記チューブ(17)は、生物活性分子を前記生物活性分子の末端基によって共有結合させるように活性化した支持材料を含み、(ガラス粒子、コロイドシリカ、CPG、ヒドロゲルなどのシリカ質材料の)前記支持材料上の機能性部分は、非活性時にはヒドロキシル又はスルフ-ヒドリル部分であり、塩素原子はヒドロキシル又はスルフ-ヒドリル部分に置き換わって、前記生物活性分子が前記生物活性分子の末端アミノ基によって共有結合することを特徴とする請求項1に記載の濃度測定装置。

10

【請求項 29】

チューブ(17)内の固相上で実施される放射放出型酵素結合免疫吸着検定(ELISA)により、前記チューブ(17)内で放出される被検定生物活性物質の量に比例する放射を検出器(15)により検出して定量することによるサンプル中の前記生物活性物質の濃度測定方法であって、

前記チューブ(17)を備え、ほぼ単一面内を延びるマイクロチップ(10)内にELISAに関連する流体を導入するステップと、

前記放射放出活動が行われる反応セルを得るためにほぼ単一面内を延びる前記チューブ(17)を通して前記流体を送るステップと、

前記反応セルから、湾曲部が延びる面にほぼ直交して放出される光を検出するステップと

20

を有することを特徴とする濃度測定方法。

【請求項 30】

汚染を防ぐために、第1注入口(18)を通して前記チューブ(17)内に第1流体を導入し、第2注入口(19)を通して前記チューブ(17)内に第2流体を導入するステップを有することを特徴とする請求項29に記載の濃度測定方法。

【請求項 31】

排出口(20)を通して廃棄部(13)に前記流体を送るステップを有することを特徴とする請求項29に記載の濃度測定方法。

【請求項 32】

複数の注入口(21)を通して前記チューブ(17)内に複数の流体を導入するステップを有することを特徴とする請求項29に記載の濃度測定方法。

30

【請求項 33】

フォトダイオード、光電セル、光ファイバ、固体センサ又は光電子増倍管のいずれかによって、前記反応セルから放出される光を検出するステップを有することを特徴とする請求項29に記載の濃度測定方法。

【請求項 34】

前記チューブ(17)の複数の湾曲部を通して前記流体を送るステップを有することを特徴とする請求項29に記載の濃度測定方法。

【請求項 35】

複数の物質を同時に検定するために、複数の別々に配置された反応セルに流体を送るステップを有することを特徴とする請求項29に記載の濃度測定方法。

40

【請求項 36】

様々な生物学的な物質を検定するステップを有することを特徴とする請求項35に記載の濃度測定方法。

【請求項 37】

急性期タンパク質を検定するステップを有することを特徴とする請求項36に記載の濃度測定方法。

【請求項 38】

梗塞マーカを検定するステップを有することを特徴とする請求項37に記載の濃度測定

50

方法。

【請求項 39】

各反応セルから放出される光を別々に検出するステップを有することを特徴とする請求項 35 に記載の濃度測定方法。

【請求項 40】

複数の反応セルから放出される光を合成して検出するステップを有することを特徴とする請求項 35 に記載の濃度測定方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、マイクロチップ型酵素結合免疫吸着検定 (ELISA) 用の濃度測定装置及び濃度測定方法に関し、より詳細には、チューブ内で実施される ELISA により、検定される生物活性物質の量に比例してチューブから放出される放射を検出して定量することによるサンプル中の生物活性物質の濃度測定方法に関する。また、本発明は、ELISA によって、サンプル中のこのような生物活性物質の濃度測定装置に関する。

【背景技術】

【0002】

発光反応は、固相系に基づく一部の免疫学的検定 (immunoassay) で用いられてきた。これらの検定 (assay) は、血液や尿など生理学的なサンプル中のある種の免疫原性種に関する定量的かつ定性的な情報をもたらすものであり、1つ又は複数の特異的な認識分子を用いる。これらの反応種の少なくとも1つが固相に付着し、他の反応種がサンプルを含む液体媒質に接している。得られた免疫複合体は、反応の程度を求める方法として用いることができる。この反応の程度は、未知のサンプル中の検出物の量を示すものであり、様々な形態で用いることができる。

【0003】

酵素結合免疫吸着検定 (ELISA; enzyme-linked immunosorbent assay) では、例えば、酵素で標識した免疫吸着剤 (抗原又は抗体) 及び免疫吸着剤 (固体支持部に結合した抗原又は抗体) を利用する。この感度の高い分析技術では、酵素と抗原又は抗体の複合体が形成される。複合体の形成に関与した過剰な物質を洗浄によって除去し、次いで基質を加え、それによって、結合した量、すなわち濃度に正比例する活性が生じる。

【0004】

この技術は、いくつかの組合せで実施することができる。最も多く用いられている方法は、マイクロタイタプレート (microtiter plate) のウエル (well) に抗原を被覆し、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (horseradish peroxidase) 又はアルカリ性ホスファターゼ (alkaline phosphatase) など適切な酵素に結合 (conjugate) した抗体と反応させることである。あるいは、これらのウエルにモノクローナル抗体を被覆し、次いで、抗原と反応させる。その後、この抗原を適切な酵素に結合した別のモノクローナル抗体と反応させる。前者を直接 ELISA 法と呼び、後者をサンドイッチ ELISA 法と称する。他の方式では、ウエルに抗原を被覆し、次いでモノクローナル抗体と反応させ、さらにそれを、第1の抗体に特異的な別の抗体-酵素結合と反応させる。このような検定では、酵素は反応の程度を測定するタグとして働く。例えば、ウエルに結合した酵素分子の数により、ウエル中に存在する抗原の量が示される。

【0005】

ポリマーチューブの内壁上に抗原を吸着させ、サンプル溶液中で抗原抗体反応を行わせることによって少量の抗原溶液を定量する固相免疫学的検定が示されている (例えば、特許文献1参照)。

【0006】

半透明キャピラリチューブ内で、特に乳中の抗生物質を検出するための免疫学的検定が

10

20

30

40

50

示されている（例えば、特許文献2参照）。タンパク質に共有結合したハプテンであるタンパク質結合が用いられる。蛍光標識に結合した特定の結合対部分を照射することによって検出が行われる。

【0007】

同様に、競合免疫学的検定で除草剤が定量されている（例えば、非特許文献1参照）。金を被覆したガラスキャピラリチューブが、画像ELISA法における支持体として働き、発光基質の酵素分解から放出される化学発光を定量することによって、結合状態の除草剤/ウシ血清アルブミンの結合が定量される。このキャピラリチューブ全長に沿って光が放出されるので、得られたデータの解釈が複雑になっている。

【0008】

ELISAは、上述したすべてのタンパク質の濃度を測定するのに感度の高い分析的な免疫化学的方法であるが、依然としてより高感度の方法が求められている。従来、急性期タンパク質など生理学的に重要な物質は約 10^{-7} Mという範囲内で測定され、殺虫剤は 10^{-10} Mという濃度まで検出されている。

【0009】

ただし、従来技術に記載されているELISA系を用いて、急性期タンパク質などの物質の濃度を求める極めて感度の高い方法もある。このような感度の高い方法の一つが、キャピラリチューブ内でELISAを実施し、このチューブから光が放出される方法として開示されている（例えば、特許文献3参照）。この光を検出し定量するが、検出はキャピラリチューブのほぼ長手方向から行われる。

【0010】

【特許文献1】JP-A-62179054

【特許文献2】米国特許第5,624,850号明細書

【特許文献3】国際公開第9920998号パンフレット

【非特許文献1】Dzgoev他、Analytica Chimica Acta 347(2097)87-93

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

従来技術の濃度測定方法及び濃度測定装置に伴う1つの問題は、時間がかかり、かつ高価なことである。したがって、例えば生理学的なサンプルの洗浄手順が簡略化された、より安価でより高速な検定法が求められている。現場でも使用することができる堅固な検定系を実現することも望まれる。

【0012】

従来技術による濃度測定方法及び濃度測定装置に伴う1つの欠点は、それらが大量のボリュームの流体を必要とすることである。このため、その後、キャピラリチューブ内での流体の拡散性が悪くなる。

【0013】

従来技術の濃度測定方法及び濃度測定装置に伴う他の問題は、再現性が不十分であり、それが検定の精度に影響を及ぼすことである。例えば、キャピラリチューブを用い、そこから光が放出され、その光の検出がキャピラリチューブの長手方向から行われる方法による検定の結果は、キャピラリチューブ内の流体表面と検出器の距離によって決まる。したがって、再現性を得るには、各キャピラリチューブが厳密に同じ高さに満たされていなければならない。

【0014】

従来技術の濃度測定方法及び濃度測定装置に伴う他の問題は、流体の流れの取扱いが難しいことである。また、従来技術による濃度測定方法及び濃度測定装置に伴うもう1つの欠点は、静的なプロセスしか検定することができないことである。

【0015】

本発明は、このような問題に鑑みてなされたもので、その目的とするところは、検定を

10

20

30

40

50

短時間で実施する効率的なマイクロチップ型酵素結合免疫吸着検定 (E L I S A) 用の濃度測定装置及び濃度測定方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0016】

本発明による濃度測定装置及び濃度測定方法は、サンプル中の物質の未知の濃度を検定するために開発されたものであり、この物質は、チューブ内の検定系において、この検定系から放出される光などの放射を検出し定量することによって検定される。放射性的放射など当業者には明らかな他のタイプの放射を利用することもできる。ただし、光を用いることが好ましい。

【0017】

検定される物質は、天然タンパク性物質又は前記物質に自発的に結合した分子とし得る。例えば、この物質は、タンパク質、急性期タンパク質、ウイルス、細菌などの生物活性物質である。急性期タンパク質の一例は、F A B P (脂肪酸結合タンパク質)、C K - M B、トリポニン - T 又はトリポニン - I、ミオグロビン及び G P B B (グリコーゲンホスホラーゼアイソザイム B B) などの心筋梗塞マーカである。タンパク質の一例は、腎障害用のマーカとして使用し得るシスタチン C である。もちろん、当業者には明らかな他の物質を検定することができる。

【0018】

本発明は、E L I S A 用の反応セルとして働くチューブの形の固体支持部を備える。このチューブはマイクロチップ内に配置され、マイクロチップの少なくとも一部は放射又は光を透過する。このマイクロチップは、ほぼ単一面内を延びる。したがって、このマイクロチップは、表面が平坦である薄いプレートとすることができる。このマイクロチップには、マイクロチップの面に沿ってチューブを設けることができ、このチューブにより、マイクロチップの面を通して流体が送られる。

【0019】

このマイクロチップは、ガラス、プラスチック材料、ポリマー、シリコン又はシリコン化合物などの材料で形成し得る。好ましくは、このマイクロチップはポリスチレンで形成する。このマイクロチップは、検出器に向かう方向に光が透過するように、すなわち、透明になるように形成し得る。また、このマイクロチップは、検出器と反対の方向には光が透過しないように形成することができ、それによって、光の散乱が減少し、光が検出器に向かって集光又は反射される。あるいは、このマイクロチップに光を反射する層又はプレートを配置して、放出された光を検出器に向かう方向に反射させることができる。例えば、このマイクロチップは、検出器と光反射層の間に配置される。このマイクロチップは、射出成型品又は圧縮成型品とすることができる。すなわち、従来方式で、チューブを備えたマイクロチップを形成し得る。さらに、このチューブは、マイクロチップのベースプレート中に適当な溝を機械加工し、次いで、このベースプレートにカバープレートを設けることによって形成することができ、ベースプレートとカバープレートによりマイクロチップが形成される。ただし、この方法は、比較的広範囲の労力が必要なため、少量生産のマイクロチップに用いるのが好ましい。

【0020】

このマイクロチップは、チューブ内に流体を導入する少なくとも1つの注入口と、少なくとも1つの流体排出口とを備えている。このマイクロチップは、汚染を防止するために複数の注入口を含み得る。例えば、このマイクロチップは、タンパク質用の第1注入口と、洗浄媒質用の第2注入口と、例えば基質などのための別の注入口とを備えている。このように、このマイクロチップは、チューブ内に複数の流体を導入する複数の注入口を含み得る。これらの流体は、従来方式でマイクロチップのチューブ内に導入することができる。これらの流体は、やはり従来方式で、例えば、圧力又は毛管力によってチューブを通して送ることができる。本発明の一実施形態では、これらの流体は、ぜん動ポンプ (p e r i s t a l y i c p u m p) によって送ることができる。排出口は、流体を廃棄部 (w a s t e) に送るように配置し得る。

10

20

30

40

50

【0021】

本発明の他の実施形態では、このマイクロチップは、マイクロチップ内に配置された流体だめを含み得る。この流体だめは、流体だめから反応セルに流体を送る管によってチューブ又は反応セルに連結し得る。この流体だめは、検定を実施するための適切な流体であらかじめ満たすことができ、この流体は、検定が開始されたときに所定の順序で反応セルに送ることができる。

【0022】

このチューブの表面は、プラズマなどで物理的に、あるいは化学的に処理して、この表面への吸着又は共有結合を改善することができる。例えば、(デンマーク国Roskilde所在のNUNC A/S社の)Maxisorp(登録商標)などでこの表面を処理する。Maxisorp(登録商標)は、極性基に対する親和性が高いポリスチレンベースの改質表面であり、一般にELISAとともに用いられる。あるいは、ゾルゲルタイプの被覆でこのチューブの表面を処理することができる。このゾルゲルタイプの被覆は、ガラス製のマイクロチップ用に使用し得る。

10

【0023】

このマイクロチップは、チューブから放出される光の検出が行われるように検出器に向かって配置し得る。すなわち、マイクロチップの面は検出器に対してほぼ直交し、流体の流れも検出器にほぼ直交し得る。こうすると、検定系からの光は、本発明によるマイクロチップの面にほぼ直交する方向から検出される。この検出器は、マイクロチップから適切な距離のところの配置された光電セル、フォトダイオード、光ファイバ、(光感受性セルアレイを備える)固体センサ又は光電子増倍管などの光感受性検出器とすることができる。この検出器を、従来方式でディスプレイ、コンピュータ及びレコーダに接続して、得られた結果を処理し表示することができる。

20

【0024】

このチューブにより広い活動表面積が提供される。このチューブは、広い検出領域及び良好な流体の流れ特性を有する反応セルが得られる構成でマイクロチップ内に配置される。この反応セルは、反応が行われ、検出器により検出動作が行われるチューブの一部にほぼ相当する。本発明の一実施形態では、このチューブは湾曲しており、反応セルは、検出領域内の複数の湾曲部で構成される。すなわち、反応セルのチューブの湾曲部は1つおきにほぼ180°右方向に湾曲し、残りの湾曲部は、ほぼ180°左方向に湾曲する。さらに、各湾曲部の間隔は、1つ又は複数の注入口から反応セルの中央位置に向かう方向に広くなり、反応セルの中央位置から排出口に向かって狭くなる。他の構成の反応セルチューブも可能である。本発明の代替実施形態では、反応セルのチューブを螺旋状に設計し、この螺旋の中央に排出口を位置させることができる。本発明の他の実施形態では、反応セル領域内でチューブの幅が広くなるように設計することができる。これによって広い検出領域が得られる。例えば、このチューブは、マイクロチップ面内を延びる部分を含み、その部分内に流体を分散させて、広い検出領域を有する反応セルを得ることができる。1つのマイクロチップに、複数のチューブ及び複数の反応セルを含めることもでき、それによって、複数のサンプル中の物質を同時に検定し検出することが可能になる。検出器は、各反応セルから放出される光を個別に検出するか、あるいは複数の反応セルから合成して検出するように配置し得る。このように、このマイクロチップは、複数のタンパク質を同時に検定するマルチ分析検定系(multi-analytic assay system)を提供し得る。例えば、このマイクロチップは、3つ以上の独立した反応セルを備え、各反応セルから放出される光を検出することができる。

30

40

【0025】

このチューブの断面は矩形、三角形、円形、半円形その他の適切な形状とし得る。さらに、このチューブは、深さ約0.2mm、幅約0.2mmとし得る。

【0026】

したがって、本発明は、良好な拡散特性と、流体のボリュームを少量しか必要としない広い検出領域とを有する反応セルを提供する。その結果、より安価でより高速な検定が得

50

られ、使い易くなる。また、流体の流れの取扱いが容易になり、その場での診療用の機器に好ましい特徴となる。本発明による濃度測定装置及び濃度測定方法により、検定の再現性も極めて良好になり、検定の精度にプラスの影響を及ぼす。さらに、本発明では、流体の流れが連続的であり、拡散が良好に行われるため、動的なプロセスの検定が可能になる。本発明に伴う別の利点は、複数の物質を同時に検定するマルチ分析検定の可能性があることである。

【0027】

他の応用例では、食品などに含まれる病原性物質及び抗酸化物を検定して検出するのに本発明を利用することもできる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0028】

以下、図面を参照して本発明の実施の態様について説明する。

【0029】

図1は、本発明による酵素結合免疫吸着検定(ELISA)用の濃度測定装置の構成図である。本発明は、放射すなわち光を透過するマイクロチップ10内にELISA用の固体支持部を備えている。マイクロチップ10は、表面がほぼ平坦な薄いプレートとして形成されている。すなわち、マイクロチップ10はほぼ単一面内を延びている。マイクロチップ10は、マイクロチップ10の面を通して流体が送られるように形成されている。例えば、この流体は、マイクロチップ10内に導入される流体を含む少なくとも1つの容器11から少なくとも1つの注入管12を通してマイクロチップ10に送られる。この流体の流れは、マイクロチップ10を通過し、さらに廃棄管(waste tube)14を通して廃棄部(waste)13に排出される。マイクロチップ10を貫通する流体の流れの主方向を矢印Aで示す。この検定構成は、マイクロチップ10内に流体を導入する複数の容器11及び注入管12を含み得る。

【0030】

マイクロチップ10は、ELISA関連の反応によりマイクロチップ10から放出される光を検出するために、検出器15に向かって配置されている。すなわち、マイクロチップ10の面は検出器15に対してほぼ直交し、流体の流れも検出器15にほぼ直交する。このため、本発明によれば、この検定系からの光は、マイクロチップ10の面にほぼ直交する方向から検出される。例えば、検出器15は、マイクロチップ10から適切な距離のところ

【0031】

図1に示す実施形態では、検出器15は、コンピュータ16の形態で表す処理装置及びディスプレイに従来方式で接続され、それによって、得られた結果が処理され表示される。さらに、この検定系は、図示しない従来型の増幅器、コントローラ及びレコーダにも接続され、それによって、得られた結果の処理及び表示がさらに容易になる。

【0032】

図2及び図3は、本発明によるマイクロチップの構成図で、図2は、本発明の一実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図、図3は、本発明の他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【0033】

マイクロチップ10は、流体がマイクロチップ10内を送られるようにその内部に配置されたチューブ17を備えている。チューブ17の表面が、ELISAプロセス用の固体支持部を形成する。マイクロチップ10は、チューブ17内に流体を導入する少なくとも1つの注入口と、少なくとも1つの流体排出口とを備えている。マイクロチップ10は、汚染を防止するために異なる流体用の複数の注入口を含み得る。図2の実施形態では、マイクロチップ10は、このマイクロチップ10の内部のチューブ17内に第1流体を導入する第1注入口18と、チューブ17内に第2流体を導入する第2注入口19と、チュー

10

20

30

40

50

ブ 17 から廃棄部 13 に流体を排出する排出口 20 とを備えている。図 3 に示した実施形態では、マイクロチップ 10 は、洗浄流体などの別の流体をチューブ 17 内に導入する複数の注入口 21 も備えている。このように、マイクロチップ 10 は、チューブ 17 内に複数の流体を導入する複数の注入口 21 を備えている。図 3 に示した実施形態では、注入口 18、19、21 及び排出口 20 は、マイクロチップ 10 の面に直交して配置され、流体は検出器 15 とは反対の方向にマイクロチップ 10 内に導入される。例えば、流体は、圧力又は毛管力によってチューブ 17 内に導入され、それを通して送られる。例えば、流体は、ぜん動ポンプによってチューブ 17 内に導入され、それを通して送られる。

【0034】

チューブ 17 は、広い活動表面積が提供され、かつ広い検出領域 22 及び良好な流体の流れ特性を有する反応セルが得られる構成でマイクロチップ 10 内に配置されている。図において検出領域 22 を破線で示す。この反応セルは、ELISA 関連反応が行われるチューブ 17 の一部にほぼ相当する。チューブ 17 は、広い検出領域 22 を有する反応セルを形成する複数の湾曲部分を備えている。好ましくは、検出器 15 は、この反応セルから放出される光を検出するように配置される。

10

【0035】

図 2 及び図 3 に示す実施形態では、このチューブは湾曲しており、反応セルは、検出領域 22 内の複数の湾曲部で構成されている。すなわち、反応セルのチューブ 17 の湾曲部は、1 つおきにほぼ 180° 右方向に湾曲し、残りの湾曲部は、ほぼ 180° 左方向に湾曲する。さらに、各湾曲部の間隔は、第 1 注入口 18 及び第 2 注入口 19 から反応セルの中央位置に向かう方向に広くなり、反応セルの中央位置から排出口 20 に向かって狭くなり、それによって、良好な流体の流れ特性及び広い光放出領域を有する反応セルが得られる。チューブ 17 の湾曲部は、マイクロチップ 10 の面内を延びている。

20

【0036】

図 4 は、本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図で、マイクロチップ 10 内のチューブ 17 の構成の他の実施形態が示されている。チューブ 17 は、マイクロチップ 10 の面内を延びる螺旋状の湾曲部として形成されている。図 4 に示した実施形態では、排出口 20 は、この螺旋状の中央に配置され、反応セルのほぼ中央に配置されている。ただし、当業者には明らかな他の構成のチューブ 17 も本発明の技術的範囲に含まれる。

30

【0037】

図 5 は、本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【0038】

チューブ 17 は、反応セル領域内で幅が広くなるように形成され、広い検出領域 22 が得られる。図 5 に示した実施形態では、チューブ 17 は、マイクロチップ 10 の面内を延びる部分を含み、その部分内に流体を分散させて、広い検出領域 22 を有する反応セルを得ることができる。例えば、チューブ 17 の幅は、注入口 18、19 から反応セルの中央に向かう方向に広がり、反応セルの中央から排出口 20 に向かって狭くなり、チューブ 17 のほぼマイクロチップ 10 の面内を延びる部分により、ほぼ円形又は楕円形のキャビティが得られる。このように、チューブ 17 の寸法を変更して、広い検出領域 22 を有する適切な反応セルを得ることができる。マイクロチップ 10 の面に直交するチューブ 17 の寸法も変更することができる。ただし、当業者には明らかな他の構成のチューブ 17 も本発明の範囲に含まれる。

40

【0039】

図 6 及び図 7 は、本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【0040】

1 つのマイクロチップ 10 に、複数のチューブ 17 及び複数の反応セルを設けることができ、それによって、複数のサンプル中の物質を同時に検定し検出することが可能になる

50

。このように、マイクロチップ10は、複数のタンパク質を同時に検定するマルチ分析用の検定系を提供することができる。図6に示した実施形態では、マイクロチップ10は、3つの独立したチューブ17を備え、注入口18、19及び排出口20は、各チューブ17ごとに固有のものである。このように、マイクロチップ10は、複数の反応セルを提供する複数のチューブ17で構成され、各反応セルから放出される光が検出される。図6を参照すると、各反応セルから放出される光は別々に検出することができ、各反応セルは別々の検出領域22に相当する。図7を参照すると、複数の反応セルから放出される光を合成して検出することができ、検出領域22は複数の反応セルを含む。すなわち、検出器15は、複数の反応セルを同時に対象としている。ただし、当業者には明らかな他の構成及び数のチューブ17も本発明の技術的範囲に含まれる。

10

【0041】

図8は、本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【0042】

マイクロチップ10は、マイクロチップ10内に配置された流体だめ22~24を備えている。流体だめ22~24は、チューブ17又は反応セルに接続され、それによって流体だめ22~24から反応セルに流体が送られる。図8に示した実施形態では、マイクロチップ10は、第1流体を含む第1流体だめ22、第2流体を含む第2流体だめ23及び廃棄流体用の廃棄流体だめ24を備えている。例えば、検定を実施するための適切な流体で流体だめ22、23をあらかじめ満たし、この流体を、検定が開始されたときに所定の順序で反応セルに送ることができる。このような流体の例は、緩衝液、洗浄流体、基質、血漿などである。容器11及び廃棄部13の代わりに流体だめ22~24を使用し得る。当業者には明らかな他の構成及び数の流体だめ22~24も本発明の技術的範囲に含まれる。

20

【0043】

図9乃至図12は、マイクロチップの面内を延びるチューブの断面図で、図9は、本発明の一実施形態によるチューブを示す概略断面図、図10は、本発明の他の実施形態によるチューブを示す概略断面図、図11及び図12は、本発明のさらに他の実施形態によるチューブを示す概略断面図である。

【0044】

チューブ17の断面は、矩形、三角形、円形又は半円形とし得る。図9に示した実施形態では、チューブ17は、1つの面が検出器15に向かって方向づけられた矩形断面を有するように形成されている。三角形又は半円形の断面を用いると、チューブ17は、検出器15に向かって光を反射するように形成されている。すなわち、チューブ17の平坦な表面は、検出器15に向かう方向に配置されている。図10に示した実施形態では、チューブ17は、1つの面が検出器15に面して延び、頂点がマイクロチップ10の面に直交して反対方向に延びる正三角形断面で形成されている。図11に示した実施形態では、チューブ17は、1つの平坦な面が検出器15に面して延び、円弧がマイクロチップ10の面に直交して反対方向に延びる半円形断面で設計される。図12に示した実施形態では、チューブ17は円形断面で形成されている。チューブ17は、その中で流体の拡散が良好に行われるように寸法設定されている。好ましくは、チューブ17は、深さ約0.2mm、かつ検出器15に面して幅約0.2mmで構成されている。当業者には明らかな他の構成のチューブ17の断面及びチューブ17の寸法も本発明の技術的範囲に含まれる。

30

40

【0045】

図13及び図14は、他の実施形態によるマイクロチップを示す図で、図13は、本発明の他の実施形態によるマイクロチップ及び検出器を示す概略斜視図、図14は、図13に示した実施形態によるマイクロチップを示す概略断面図である。

【0046】

マイクロチップ10は、ベースプレート23及びカバープレート24を備えている。ベースプレート23には溝が配置されている。カバープレート24を検出器15に向かう方

50

向でベースプレート23上に配置してこの溝を覆い、それによってチューブ17が形成される。例えば、ベースプレート23は光を透過しない材料又は光を反射する材料で形成し、カバープレート24は光を透過する材料で形成し、それによって、反応セルから放出される光は検出器15に向かって方向づけられる。あるいは、マイクロチップ10に検出器15と反対方向のところに光を反射する層25を設ける。すなわち、図14に示したマイクロチップ10の下に光を反射する層25を配置し、マイクロチップ10は、光を反射する層25と検出器15の間に配置されている。光を反射する層25は、反応セルから放出される光を反射するように設けられ、それによって光の散乱が減少し、光は検出器15に向かって方向づけられている。

【0047】

本発明による濃度測定方法では、異なる材料のマイクロチップを用いることができる。例えば、マイクロチップは、ガラス、プラスチック材料、ポリマー、シリコン又はシリコン化合物などの材料で作製することができる。好ましくは、マイクロチップはポリスチレンで作製する。検出器に向かってマイクロチップを覆う1つ又は複数の材料は、チューブ内の検定系によって生成されるフォトン透過させることが好ましい。あるいは、検出器によって反応セルから放出される光を検出できるように、反応セル領域を透明な材料又は光を透過する材料で覆う。マイクロチップの残りの部分、すなわち、検出器と反対方向のマイクロチップの部分には、光を透過しない材料を用いて光の散乱を少なくすることができる。あるいは、検出器に向かう「ウインドウ」が得られるように、マイクロチップは、反応セルと検出器の間にだけ光を透過する材料を含む。このように、マイクロチップは、検出器に向かって光が集光するように構成することができる。例えば、マイクロチップは、射出成型品又は圧縮成型品とし得る。すなわち、従来方式で、チューブを備えたマイクロチップを形成し得る。あるいは、このチューブは、マイクロチップのベースプレート中に適当な溝を機械加工し、次いで、このベースプレートにカバープレートを搭載することによって形成することができ、ベースプレートとカバープレートによりマイクロチップが形成される。

【0048】

チューブの表面は、その能力が増すように、すなわち、その表面に付着又は結合する分子又は粒子の数が増えるように処理することができる。例えば、物理的又は化学的な表面処理方法で表面を処理する。固定化処理の前にチューブの表面を、(デンマーク国Roskilde所在のNUNC A/S社の)Maxisorp(登録商標)などで処理することができる。Maxisorp(登録商標)は、極性基に対する親和性が高いポリスチレンベースの改質表面であり、一般にELISAとともに用いられる。表面処理の他の例は、チューブ表面への共有結合を増すための処理であるプラズマ処理などである。例えば、ガラス製マイクロチップ内のチューブは、ゾルゲルタイプの被覆で処理する。このようなゾルゲルによる処理では、マイクロチップ内のチューブの形態の固相を、妨げとなる分子を除去する特定の試薬であらかじめ処理し、その後、シラン(silane)ベースの化合物で表面をシラン処理することができる。特に、シランの性質は、固相支持体への試薬の結合に及ぼす影響のために特定の興味の対象である。2種類の別々の手法を用いることができる。第1の方法は、シランに処理を限定し、好ましくは、そのシランによりチューブ内にゾルゲルタイプの被覆を形成することができる。第2の方法は、調製時間を比較的短くした混合シランを用いて、固相表面上に均一な基質を形成する。例えば、固体支持部に均一なシラン処理を施すのに適したシラン溶液の連続流を、ぜん動ポンプ(peristaltic pump)などによってガラス製マイクロチップ内に導入することができる。

【0049】

ゾルゲル被覆用シラン溶液の一例は、TMOS(テトラメトキシシラン)5ml、GPTMOS(3-グリシジルプロポキシ-トリメトキシシラン)5ml、脱イオン水90ml及び0.1M HCl 100 μ Lを混合することによって調製される。このシラン溶液のpHを10%酢酸溶液で4.0に調整し、この溶液を、気密容器内で4、200r

10

20

30

40

50

p mで終夜攪拌してシランを加水分解し、それによってゾル溶液が得られた。得られた透明な溶液を用いて、ゾルゲル被覆プロセスを行った。

【0050】

他の例は、生物活性分子をその末端基によって共有結合させるように活性化した支持材料を含む。この支持材料（例えば、ガラス粒子、コロイドシリカ、CPG、ヒドロゲルなどのシリカ質材料）上の機能性部分は、非活性時にはヒドロキシル又はスルフ-ヒドリル部分であり、塩素原子がヒドロキシル又はスルフ-ヒドリル部分に置き換わって、生物活性分子がその末端アミノ基によって共有結合する。

【0051】

次いで、放出された光は、マイクロチップから適切な距離のところに配置された検出器を用いて光感受性検出を行うことによって光学的にスクリーニングされる。本発明によるマイクロチップからの放出光は、マイクロチップにほぼ直交する方向から検出される。このような光検出器は、例えば、フォトダイオード、光電セル、光ファイバ、光電子増倍管又はAPD（アバランシェフォトダイオード）を含む。

10

【0052】

マイクロチップをこのように構成して配置することによって光の収集が極めて良好に行われ、検定の効率が、現況技術による検定法に比べて劇的に増加する。

【0053】

本発明による検定法は、比色系、蛍光系ならびに化学発光系から放出される光に適している。したがって、例えば、化学発光反応から放出信号が生成される定量検定を実施することができ、この信号を、例えば、マルチ分析機能を有する光学的な走査機構によって数値的にモニタする。

20

【0054】

例えば、特異的な結合試薬を検定媒質内に分布させるのではなく固相に限定させ、発光から信号を生成する系を用いることによって定量的な検定結果を得ることができる。これは、マイクロチップ内の固相から生成される信号を光感受性素子によって記録すれば実現することができる。したがって、コストのかかる光学的なモニタシステムが不要になり、生成された信号を、時間と強度の関係のプロフィールとして直接記憶させることができる。この形式の分析結果は、大量のサンプルをスクリーニングする際に特に有用である。この構成により、本発明の濃度測定方法に従ってサンプル中の物質を 10^{-19} Mという低濃度で測定することができる。

30

【0055】

本発明による濃度測定方法を用いることによって、免疫学的検定において生理学的な検出物の濃度を求めるのに用いることができる堅固で簡単な測定が提供される。より詳細には、検出物の定量に用いられる信号を適当なインターフェースを用いてパーソナルコンピュータに直接記録する、サンプル中の生物活性物質用の測定が提供される。このように記録される光は、マイクロチップ内の光源から得られるものであり、その強度は検出物濃度の尺度である。

【0056】

さらに、本発明の濃度測定方法を用いることによって、サンプル中の天然タンパク質又はそれに自発的に結合した分子の存在を判定する検定が提供される。酵素免疫学的検定において固相に結合させる免疫吸着剤は、例えば、抗原タンパク質又はそれに対する抗体とすることができる。

40

【0057】

対象とする急性期タンパク質の例は、FABP、CK-MB、トロポニン-T、トロポニン-I、ミオグロビン、GPBB及びシスタチンである。他の古典的な急性期タンパク質の例は、セルロプラスミン、補体C3及びC4、オロソムコイド、 γ_1 -抗トリプシン、 γ_1 -抗キモトリプシン、ハプトグロビン、フィブリノーゲン、C-反応性タンパク質及び血清アミロイドAである。これらのタンパク質の他の例は、RBP（レチノール結合タンパク質）及びMBP（マンノース結合タンパク質）である。酵素で標識された免疫反

50

応物は、問題のタンパク質又はそれに自発的に結合した分子に対する抗体とすることができる。

【0058】

この酵素標識は、好ましくは発光反応に、最も好ましくは化学発光反応に關与するものである。この放出光を、免疫吸着剤と酵素で標識された反応物の複合体形成の程度を求め手段として用いる。次いで、この標識された試薬の固相への結合を、化学発光信号をモニタする検出器によって検出し、その電気信号を、例えばパーソナルコンピュータに記録する。このように、マイクロチップから適切な距離のところマイクロチップ内の反応セルから生成される強度の単位として反応の程度をモニタする。

【0059】

反応の程度は、検定混合物に追加の化合物を加えた後で求めることもできる。特に興味深いのは、光化学的手段、化学的手段又は電気化学的手段によって発光させることができる化合物である。フォトルミネセンスでは、化合物が、例えば、蛍光又はリン光の形で電磁放射を吸収するプロセス中に発光するように誘起される。化学発光では、問題の化合物への化学的なエネルギー移動によって発光種が生成される。

【0060】

このような化合物が、化学的手段によって発光状態に励起されると、例えば、化学酸化によって高エネルギー誘導体が得られる。酸化されると、化学発光種は光子を放出する。ルミノール (luminol) など発光ベースの方法で用いることができるある種の化合物は、検出可能なイベントの性質が反復性のものではなく、1分子当たり1回しか光子を生成しない。このような化合物は、本発明とともに用いるのに特に適している。ルミノールは、化学発光物質として特に好ましい。ただし、イソルミノール (isoluminol)、ルシフェリン (luciferin) 及び他のアクリジニウムエステル (acridinium ester) など、ある範囲の代替化合物を用いることができる。

【0061】

このように、例えば、反応媒質中のルミノール及び (H_2O_2 などの) 過酸化水素とともにホースラディッシュペルオキシダーゼ (horseradish peroxidase) の標識によって、有効な検出システムが提供される。

【0062】

一般に、化学発光反応は寿命が短く、そのため実験手順において時間的な制約がある。これは、光放出の有効持続時間を改善するエンハンサを用いることによって克服することができる。このような試薬により、放出時間が適切な長さに延長され、適切な測定を行うことができる。

【0063】

このように、化学的に十分に不活性で過酸化水素反応の影響を受けない適切なエンハンサを反応媒質に加えることによって、この媒質から、反応後の信号の増強を可能にするのに十分に高い適切な波長の光が得られる。好ましくは、化学発光反応の増強は、本質的に置換フェノールである p-ヨードフェノールなどの化合物を用いることによって実現される。このように、適切な化学発光混合物は、ルミノール 0.5 mM、4-ヨードフェノール 0.01 mM 及び 50% 過酸化水素の溶液を含む。

【0064】

反応混合物中に、化学発光による光を吸収し、異なる波長で光を放出することができる蛍光系を組み込むと有利である。このような系は、バルクサンプル中で生成される光の効果を、特にこの放出光を適当なフィルタによって観察する場合にスクリーニングする助けとなる。例えば、ルミノールからの青色光はクマリン (coumarin) によって吸収され、クマリンは黄緑色の光を放出することになる。この蛍光物質は、信号感知手段の上又はその近くに配置する。あるいは、この蛍光体をバルクサンプル中に分布させたマーカとして用いることができ、それによって、局所的に生成される化学発光だけが検出されることになる。

10

20

30

40

50

【0065】

好ましい優れた設計のサンドイッチ免疫学的検定では、検出物（例えば、タンパク質）に特異的に反応する第1の特定の試薬（モノクローナル抗体）を固相上に固定する。この点に関し、特定の抗体とは、いくつかの類似の適切な抗体から選択された抗体を意味する。

【0066】

一般に水性である検定媒質は、検出物に対する特異性及び付着した標識を有する第2結合試薬を含む。検出物が存在しないと、第1試薬との結合が行われず、したがって、検出可能な信号は生成されないことになる。このサンドイッチ構成では、この検出物は、本質的に、標識されていない（第1の）特定の試薬と標識された（第2の）特定の試薬の間の結合分子として働き、結合の程度により、サンプル中の検出物濃度の尺度が得られる。

【0067】

一般に、典型的な直接免疫学的検定（immunoassay）法は、固相に接触する水性媒質中で実施される。この固相は、定量される認識分子（すなわち、モノクローナル抗体）に対するある種の特異性を有する特定の固定された分子（すなわち、既知量の被検出物）を含む。この検定媒質は、過剰な量の標識されたモノクローナル抗体（又は同じ認識部位を処理するその類似物）からなり、このモノクローナル抗体を様々な量の固定された検出物と反応させる。このようにして、較正曲線が得られる。未知量の検出物は、チューブ壁上に検出物を固定し、固相の未反応部位を不活性タンパク質（例えば、ゼラチン断片）で埋めることによって定量される。次いで、この検出物を、特定の標識された試薬と反応させる。この反応の程度は、標識された試薬からの信号によって求められ、検出可能な放出光を生成する酵素検定を用いることによってモニタされる。この光は、例えば、蛍光又はリン光とし、それを適切な検出器を用いることによってモニタすることができる。この放出光を、標準の結果、すなわち、検出物が存在しない場合に得られた結果と比較し、サンプル中の検出物濃度の尺度が得られる。

【0068】

一般に、固定された特異的なモノクローナル抗体を含む固相に接触する水相で実施される競合免疫学的検定では、検出物は液相である。標識された検出物と標識されていない検出物の間で競合が生じる。検出物がサンプル中に存在する場合、適切な比率の標識された検出物とサンプルを混合し、固定された固相の特定の試薬と反応させる。コントロールは、固定された固相と反応させた標識された検出物によって得られ、それが全反応の尺度になる。サンプル中に標識されていない検出物が存在すると、ある割合の信号が失われ、それがサンプル中の標識されていない検出物の尺度になる。通常、サンプルの希釈度により、サンプル中の元の検出物濃度をどのように計算すべきかが決まる。

【図面の簡単な説明】

【0069】

【図1】本発明による酵素結合免疫吸着検定（ELISA）用の濃度測定装置の構成図である。

【図2】本発明の一実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【図3】本発明の他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【図4】本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【図5】本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【図6】本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【図7】本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

10

20

30

40

50

【図 8】本発明のさらに他の実施形態によるマイクロチップをマイクロチップ面に直交する方向から示す概略図である。

【図 9】本発明の一実施形態によるチューブを示す概略断面図である。

【図 10】本発明の他の実施形態によるチューブを示す概略断面図である。

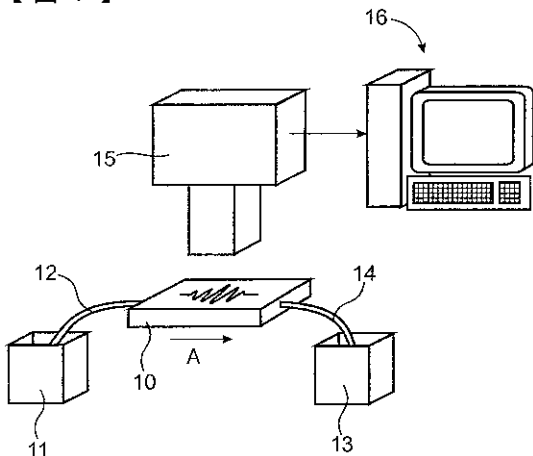
【図 11】本発明のさらに他の実施形態によるチューブを示す概略断面図である。

【図 12】本発明のさらに他の実施形態によるチューブを示す概略断面図である。

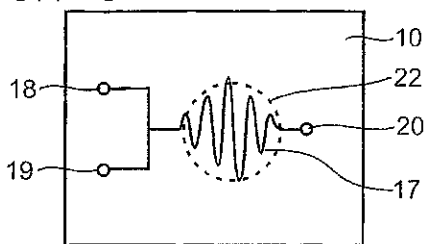
【図 13】本発明の他の実施形態によるマイクロチップ及び検出器を示す概略斜視図である。

【図 14】図 13 に示した実施形態によるマイクロチップを示す概略断面図である。

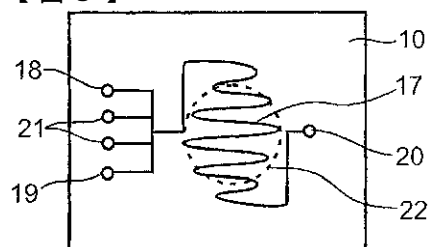
【図 1】



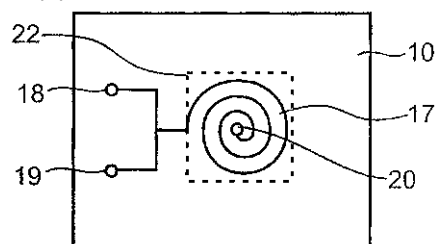
【図 2】



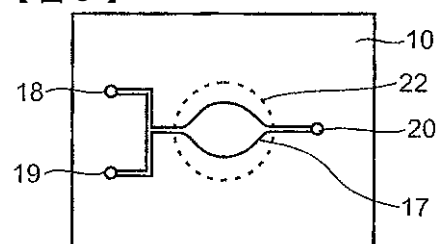
【図 3】



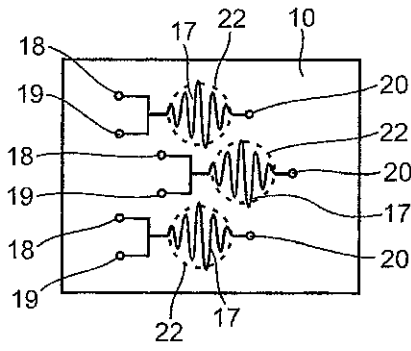
【図 4】



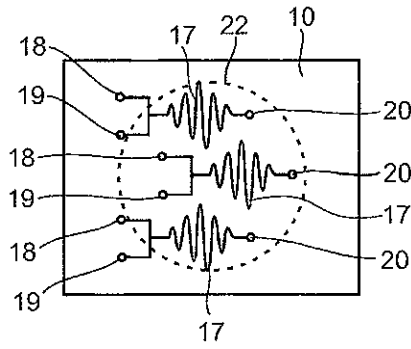
【図 5】



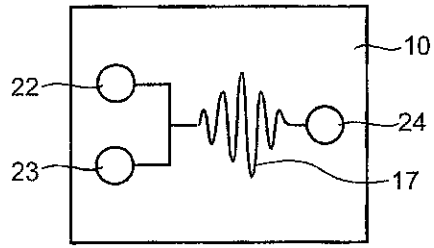
【 図 6 】



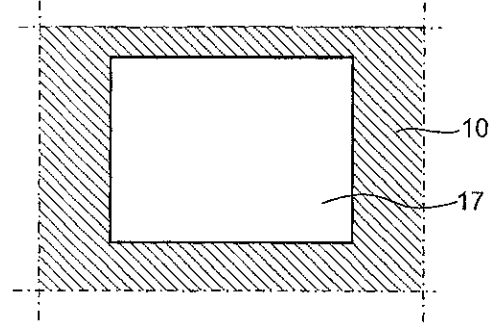
【 図 7 】



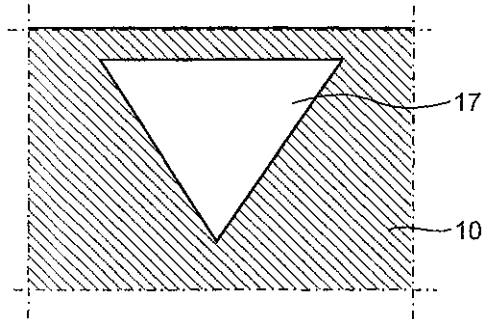
【 図 8 】



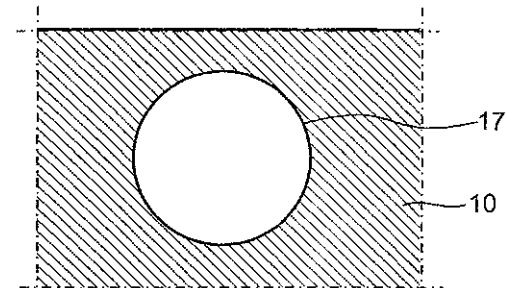
【 図 9 】



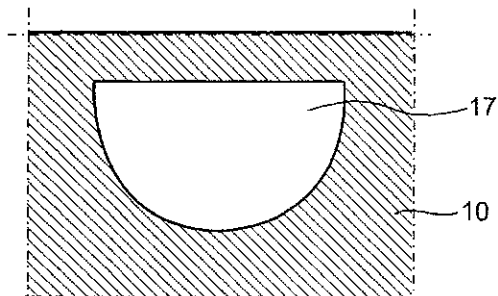
【 図 10 】



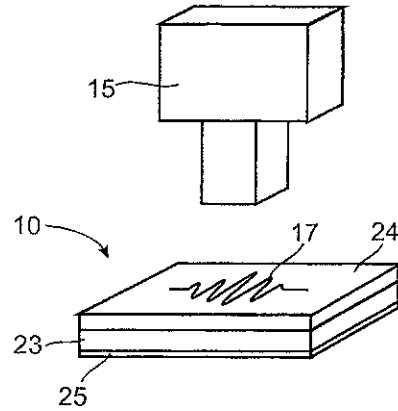
【 図 12 】



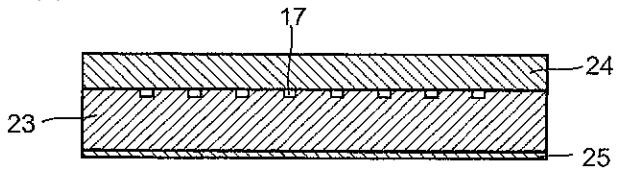
【 図 11 】



【 図 13 】



【 図 1 4 】



【 国際調査報告 】

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 02/01906

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC7: G01N 33/543 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)		
IPC7: G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
SE,DK,FI,NO classes as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-INTERNAL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5313264 A (IVARSSON ET AL), 17 May 1994 (17.05.94), claim 1, figures 1,3,4,13,14,16, columns 8-9,14-19	1-11,13,15, 19-22,25-26, 39,40
Y	--	1-40
X	US 6020209 A (NARANG ET AL), 1 February 2000 (01.02.00), figures 1a-c, column 9	1-10,13,14, 19-22,25-36, 19,40
Y	--	1-40
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
14 February 2003	18-02-2003	
Name and mailing address of the ISA/ Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86	Authorized officer CARL-OLOF GUSTAFSSON/BS Telephone No. +46 8 782 25 00	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 02/01906

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages.	Relevant to claim No.
X	WO 0050172 A1 (CALIPER TECHNOLOGIES CORP.), 31 August 2000 (31.08.00), pages 11-14, line 2, page 71-74, page 94-95	1-10,13,14, 19-22,25-36, 39,40
Y	--	1-40
X	US 5485277 A (FOSTER), 16 January 1996 (16.01.96), column 3, line 5 - column 5, column 17, lines 47-60, figures 4,5,8	1-11,13,14, 19-22,25-36, 39,40
Y	--	1-40
X	US 6222619 B1 (HERRON ET AL), 24 April 2001 (24.04.01), column 9, line 32 - column 12, figure 9, column 13, examples 7-9	1-11,13,14, 19-22,25-36, 39,40
Y	--	1-40
X	US 6306659 B1 (PARCE ET AL), 23 October 2001 (23.10.01), figure 1, example 2, column 11, line 64 - column 12, figure 1, columns 23-24	1-11,13,14, 19-22,25-36, 39,40
Y	--	1-40
X	US 6046056 A (PARCE ET AL), 4 April 2000 (04.04.00), column 16, line 1 - line 19, figure 5	1-11
Y	--	
Y	US 5814565 A (REICHERT ET AL), 29 Sept 1998 (29.09.98), example 4	1-40
	-- -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

30/12/02

International application No.

PCT/SE 02/01906

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5313264 A	17/05/94	AT 100197 T	15/01/94
		AT 181423 T	15/07/99
		DE 68912343 D,T	05/05/94
		DE 68929019 D,T	07/10/99
		EP 0442921 A,B	28/08/91
		SE 0442921 T3	
		EP 0534941 A,B	07/04/93
		SE 0534941 T3	
		JP 3064313 B	12/07/00
		JP 3294605 B	24/06/02
		JP 4501462 T	12/03/92
		JP 4504765 T	20/08/92
		SE 462408 B,C	18/06/90
		SE 8804075 A	10/11/88
		US 5164589 A	17/11/92
		WO 9005295 A	17/05/90
		WO 9005317 A	17/05/90
		SE 8900641 D	00/00/00
US 6020209 A	01/02/00	US 6323042 B	27/11/01
WO 0050172 A1	31/08/00	AU 3372800 A	14/09/00
		AU 3498900 A	14/09/00
		EP 1163052 A	19/12/01
		EP 1163369 A	19/12/01
		WO 0050642 A	31/08/00
US 5485277 A	16/01/96	NONE	
US 6222619 B1	24/04/01	AU 9397498 A	05/04/99
		CA 2303794 A	25/03/99
		EP 1019717 A	19/07/00
		JP 2001516879 T	02/10/01
		US 2001019405 A	06/09/01
		US 2001030741 A	18/10/01
		WO 9914594 A	25/03/99

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

30/12/02

International application No.

PCT/SE 02/01906

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6306659 B1	23/10/01	US 6399389 B	04/06/02
		US 6267858 B	31/07/01
		US 6274337 B	14/08/01
		US 6413782 B	02/07/02
		US 6429025 B	06/08/02
		US 6479299 B	12/11/02
		AU 729537 B	01/02/01
		AU 3499097 A	21/01/98
		BR 9710054 A	11/01/00
		CA 2258489 A	08/01/98
		CN 1262629 A	09/08/00
		EP 0907412 A	14/04/99
		EP 1145760 A	17/10/01
		EP 1271148 A	02/01/03
		JP 2001502790 T	27/02/01
		KR 2000022329 A	25/04/00
		NZ 333346 A	27/03/00
		US 6046056 A	04/04/00
		WO 9800231 A	08/01/98
		US 5942443 A	24/08/99
		US 6150180 A	21/11/00
		US 6406905 B	18/06/02
		US 2002031821 A	14/03/02
		US 2002039751 A	04/04/02
		US 2002090665 A	11/07/02
		US 2002102742 A	01/08/02
		US 2002146845 A	10/10/02
		US 2002168688 A	14/11/02

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

30/12/02

International application No.
PCT/SE 02/01906

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6046056 A	04/04/00	AU 729537 B	01/02/01
		AU 3499097 A	21/01/98
		BR 9710054 A	11/01/00
		CA 2258489 A	08/01/98
		CN 1262629 A	09/08/00
		EP 0907412 A	14/04/99
		EP 1145760 A	17/10/01
		EP 1271148 A	02/01/03
		JP 2001502790 T	27/02/01
		KR 2000022329 A	25/04/00
		NZ 333346 A	27/03/00
		US 6267858 B	31/07/01
		US 6274337 B	14/08/01
		US 6306659 B	23/10/01
		US 6399389 B	04/06/02
		US 6413782 B	02/07/02
		US 6429025 B	06/08/02
		US 6479299 B	12/11/02
		WO 9800231 A	08/01/98
		US 5942443 A	24/08/99
		US 6150180 A	21/11/00
		US 6406905 B	18/06/02
		US 2002031821 A	14/03/02
		US 2002039751 A	04/04/02
		US 2002090665 A	11/07/02
		US 2002102742 A	01/08/02
		US 2002146845 A	10/10/02
		US 2002168688 A	14/11/02
JS 5814565 A	29/09/98	NONE	

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 37/00 1 0 1

(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, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, 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, N O, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 2G057 AA04 AA14 AC01 BA03 BA05 BB01 BB04 BB06

专利名称(译)	用于微芯片型酶联免疫吸附测定 (ELISA) 的密度测量装置和浓度测量方法		
公开(公告)号	JP2005509158A	公开(公告)日	2005-04-07
申请号	JP2003542923	申请日	2002-10-21
[标]申请(专利权)人(译)	国际专业灯光诊断北焦散激活宝来获得		
申请(专利权)人(译)	国际专业灯光诊断北焦散激活Boragetto		
[标]发明人	マサウドカヤーマ		
发明人	マサウド カヤーマ		
IPC分类号	G01N33/543 C12M1/34 G01N G01N21/05 G01N21/77 G01N33/53 G01N33/537 G01N37/00 G06K9/00		
CPC分类号	B01L3/502715 B01L2200/10 B01L2300/025 B01L2300/0816 B01L2300/0819 B01L2300/0848 B01L2300/0858 B01L2300/0867 B01L2300/0883 B01L2300/0887 B01L2300/168 G01N21/6428 G01N21/76 G01N33/54386 G01N2021/0346		
FI分类号	G01N33/543.521 G01N33/543.545.Z G01N21/05 G01N21/77.B G01N33/53.D G01N37/00.101		
F-TERM分类号	2G054/AB03 2G054/AB04 2G054/CA23 2G054/EA01 2G054/FA19 2G054/FA33 2G057/AA04 2G057/AA14 2G057/AC01 2G057/BA03 2G057/BA05 2G057/BB01 2G057/BB04 2G057/BB06		
代理人(译)	谷义 安倍晋三和夫		
优先权	0103688 2001-11-07 SE		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

技术领域本发明涉及用于通过酶联免疫吸附测定 (ELISA) 测量样品中的生物活性物质的浓度的方法和设备。浓度测量装置包括用于结合免疫吸附剂的管17中的固体支持部分，流体入口18, 19和用于检测由于管17中的活动引起的辐射的检测器15，其中管17布置在基本上在单个平面中延伸的微芯片10内，由此沿着该微芯片10的表面流体发送。通过管17形成具有宽检测区域22的反应池。微芯片10的反应单元与检测器15正交地配置。该方法包括以下步骤：将流体引入管17中，将该流体送入管17，形成反应池，在该反应池中发生辐射发射活动，并从反应池发射，该反应池大致垂直于该平面。并检测光线。

