

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3818967号

(P3818967)

(45) 発行日 平成18年9月6日(2006.9.6)

(24) 登録日 平成18年6月23日(2006.6.23)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 33/543 (2006.01)

GO 1 N 33/543 5 2 1

請求項の数 6 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2003-7092 (P2003-7092)	(73) 特許権者	500126257
(22) 出願日	平成15年1月15日(2003.1.15)		セレックス、インコーポレイテッド
(62) 分割の表示	特願平6-523425の分割		アメリカ合衆国 ニュージャージー 07
原出願日	平成6年4月13日(1994.4.13)		607, メイウッド, ウェスト パサ
(65) 公開番号	特開2003-232792 (P2003-232792A)		イック ストリート 230
(43) 公開日	平成15年8月22日(2003.8.22)	(74) 代理人	100064746
審査請求日	平成15年1月15日(2003.1.15)		弁理士 深見 久郎
(31) 優先権主張番号	08/047, 156	(74) 代理人	100085132
(32) 優先日	平成5年4月13日(1993.4.13)		弁理士 森田 俊雄
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100096781
前置審査			弁理士 堀井 豊
		(72) 発明者	リー・オウン, エフ・ビクター
			アメリカ合衆国、07921 ニュー・ジ
			ャージー州、ベッドミンスター、オータム
			・リッジ・ロード、110
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 フロースルーまたはディップスティック形式の免疫クロマトグラフィアッセイのための一体化したパッケージホルダ装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

検出ゾーンを規定し、試料を吸収する、試料中に分析物があるかどうかを検出するために免疫クロマトグラフィアッセイを行うための手段と、

前記アッセイ手段を実質的に気密でかつ液体の漏れのない態様でシールするための積層手段であって、前記アッセイ手段と接触しかつこれを支持する積層シール手段とを含み、

前記積層シール手段は、アッセイ手段の端部を露出させ、露出した端部が試料の入る唯一利用可能なアクセスチャネルとなるように切断され得る、免疫クロマトグラフィアッセイ装置。

【請求項 2】

前記積層シール手段が、前記シール手段を切断することによって前記アッセイ手段を露出するように適合される、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

前記積層シール手段が、アッセイ結果を見るための、試験ゾーンと整合した透明な窓を規定する、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 4】

前記シール手段に結合され、前記装置を堅くするための剛性体手段をさらに含む、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 5】

前記シール手段および前記剛性体手段は、実質的に透明であり、前記装置は、前記剛性

10

20

体手段に結合され前記剛性体手段および前記シール手段を介して試験ゾーンを見るための窓を規定する実質的に不透明な層をさらに含む、請求項4に記載の装置。

【請求項6】

前記アッセイ手段は、膜、コーティングされたプラスチック、コーティングされたガラス、フィルタ、シリカゲル、紙、アガロースゲル、ポリアクリルアミド、ゼラチンからなる群から選択される材料を含む、請求項1に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、試料中に分析物があるかどうかを検出するためのアッセイ装置に関する。このアッセイは、実験室またはフィールドで用いるために1つの装置で行なうことができる。

【0002】

【従来の技術】

免疫クロマトグラフィアッセイ装置

ディップスティック (dipstick) またはフロースルー (flow-through) 装置において固体支持体として膜を用いる免疫クロマトグラフィアッセイは、臨床実験室、および代替として、すなわち実験室でない、現場での試験で用いるために、現在、確立されている。この形式を用いるアッセイは、濫用薬物 (コカイン、カンナビノイド、アンフェタミン、アヘン剤、PCP)、妊娠および排卵 (それぞれhCGおよびhLH)、ならびに感染症 (クラミジア、Strept A、感染性単核症 (IM)) に対して利用可能である。

【0003】

免疫クロマトグラフィアッセイ装置は、プラスチックホルダに密閉された膜 (セルロース系または非セルロース系) を一般に提示する。この装置はさらに、環境制御物として作用する、シールされた箔またはプラスチックポーチで1つずつまたはまとめて包装される。パッケージの完全性は、室温での装置の安定性を長く保つためには不可欠である。

【0004】

プラスチックホルダは、確実に装置全体を正しく機能させるために、適切な構成で膜を保持する。一般にホルダには1ないし3の窓がある。結果の観測を可能にするのに役立つ試験窓が常にある。試験窓はまた、たとえば試験が適切に行なわれているのを確かめるために、コントロール反応を見るのを可能にし、代替として、コントロール窓が結果窓から離されてもよい。さらに、(開いた窓での試料の接触を可能にしながら) 装置を試料の中に直接置くことによって、または窓において滴下手段によって試料を与えることによって、液体試料を膜に与えるのを可能にする、第3の窓があってもよい。プラスチックホルダはまた、一般に、ウィック (wick) (毛管作用体) として働くパッド (セルロース系または非セルロース系) と接触させて膜を保持する。一般に、試料を与える窓または試料が与えられる部位にアプリケータパッドがあり、膜の反対側の端部にパッドがある。プラスチックホルダは、パッドを膜と接触させて保持し、したがって、アプリケータから膜を通して上方に、およびアプリケーションパッドから上部パッドに、試料を吸い上げるための連続体を与える。

【0005】

アッセイ装置の基本的な構造の多くの変更例がある。たとえば、リトマン (Litman) 他 (たとえば、特許文献1および特許文献2参照。) は、試料中に最小量の分析物があるかどうかを測定するためのアッセイ方法および装置を説明している。ウルマン (Ullman) 他 (たとえば、特許文献3および特許文献4参照。) は、試料の流れを助けるために、予め含まされた液体試薬を含むアッセイ膜を収容する装置を説明している。ダフオーン (Dafforn) 他 (たとえば、特許文献5参照。) は、試料および追加の液体を与えるためのポート (出入口) を備えた装置を説明している。アッセイ装置はまた、コर्टィ (Corti) 他 (たとえば、特許文献6参照。) 、グリーンキスト (Greenq

u i s t) 他 (たとえば、特許文献7参照。) およびバーガー (B e r g e r) 他 (たとえば、特許文献8参照。) により説明されている。

【0006】

膜およびパッドを含むプラスチック装置は、一般に、乾燥剤とともにまたは乾燥剤なしで、シールされた箔またはプラスチックポーチで包装される。外側のパッケージポーチは、環境制御物として、特に、膜ストリップの外の環境への露出を制限し、試験の完全性を確実にするのに不可欠である。室温での装置の安定性を長く保つためには、パッケージ内の湿度が低いことが不可欠であり、したがって一般に乾燥剤がある。シールされたパッケージ内に、または装置と一体的に、湿度インジケータを加えることにより、使用前の装置の完全性を確実にする。

10

【0007】

一般的な試験方法は、外側のパッケージを開けてプラスチック装置を取出し、(装置を試料の中に浸漬することにより、または試料を試料窓の上に滴下することにより) 試料窓において試料を与え、アッセイを実施するための、勧められた時間を待ち、陽性または陰性の結果について結果窓を検査し、テストが正確に行なわれたかどうかを判定するためにコントロール窓を検査することを伴う。

【0008】

テスト装置に必要なパッケージにはいくつかの欠点がある。たとえば、装置がまとめて包装される場合、偶然に破れるのであれ、試験のために装置を取出すためであれ、パッケージのいかなる破損も、装置の貯蔵寿命を制限する。各テスト装置を個々に包装することは、費用がかかり、余分な固体廃棄物を生じる。

20

【0009】

競合アッセイにおける分析物の検出

微量分析のための常法である競合アッセイは、分析物がある場合には「陰性」のシグナルをもたらし、分析物がない場合には「陽性」のシグナルをもたらし。したがって、分析物の存在はシグナルの存在に反比例する。シグナルと分析物の存在との間の、この逆の関係は、素人により観測される場合、重大な影響を与える可能性がある。この逆の相関関係は、混乱させるものであり、非論理的で、この分野におけるそのような試験の有用性を制限する。

【0010】

標準的な競合免疫クロマトグラフィ装置において、マーカーで標識をつけられた分析物または受容体のいずれかであり得る標識試薬は、トラップに移動し、(標識試薬が分析物である場合は) 受容体で、(標識試薬が受容体である場合は) 分析物で、膜コーティングされる。試料が分析物を含む場合、それは受容体(移動相または固定相のいずれか)に結合し、マーカーがトラップにより捕えられず、「陰性」のシグナルをもたらし。試料が分析物を含まない場合、マーカーがトラップにより捕えられ、スポット、すなわち「陽性」のシグナルが現われる。そのため標準的な競合アッセイにおいて、陰性の結果は陽性のシグナルを有する。

30

【0011】

陽性のシグナルを試料中の微量分析物の存在と相関させるために、他の方法が提案されている。しかしながら、これらは、正確に力価検定されている追加のトラップを、アッセイ膜に与えることを必要とする。そのような方法は、有用なアッセイ装置を提供するが、製造の複雑さを増大させ、したがって装置の費用を増大させる。

40

【0012】

【特許文献1】

米国特許第5, 156, 952号

【0013】

【特許文献2】

米国特許第5, 030, 558号

【0014】

50

【特許文献3】

米国特許第5, 137, 808号

【0015】

【特許文献4】

米国特許第4, 857, 453号

【0016】

【特許文献5】

米国特許第4, 981, 768号

【0017】

【特許文献6】

欧州特許出願第89118378. 2号

【0018】

【特許文献7】

米国特許第4, 806, 312号

【0019】

【特許文献8】

米国特許第5, 114, 673号

【0020】

【発明が解決しようとする課題】

したがって、この発明の目的は、一体化したパッケージホルダの免疫クロマトグラフィアッセイ装置を提供することである。さらに他の目的は、別個のプラスチックホルダおよび外側のパッケージの必要をなくす装置を提供することである。

【0021】

また、この発明のさらなる目的は、試料が分析物を含む場合には競合イムノアッセイのフォーマットにおいて明らかな「陽性」のシグナルを与え、試料が分析物を欠く場合には明らかな「陰性」のシグナルを与えるアッセイ装置を提供することである。

【0022】

【課題を解決するための手段】

この発明は、フロースルーおよびディップスティック免疫クロマトグラフィアッセイのための一体化したパッケージホルダ積層物に関する。この装置は、免疫クロマトグラフィアッセイを行なうための手段、たとえば、アッセイ試薬が前もって含浸されている膜を含み、これは、実質的に気密なかつ実質的に液体の漏れない態様の、免疫クロマトグラフィアッセイ手段をシールするための手段、たとえばマイラー、プラスチックまたは他の適切な支持体によって、完全に囲まれる。シール手段は、アッセイ手段と接触しかつこれを支持し、さらにアッセイ手段を露出するために開けられるように適合される。

【0023】

積層物は、気密なかつ液体の漏れない態様で膜ストリップ（膜片）を同様に封じ込める、両面テープもしくは接着フィルム、または音波溶接などのいかなる他の方法でもシールされ得る。したがって、積層物は、膜のための一体的ホルダ、およびパッケージポーチとして作用する。構成物は、1つの積層物に1つのストリップまたは多数のストリップを含み、1つのストリップは、同時に多数の試験を実施する能力を有し得る。

【0024】

この発明は好ましくは、両面テープまたは接着フィルムとして供給された積層接着剤と全表面が直接的に接触することにより全体が封じ込められた試験ストリップ膜（試験片膜）を含む。次に、ストリップは、必要に応じて、裏（見えない）側にプラスチック、マイラー、または他の適切な材料を敷くことにより、支持体を与えられる。表（見える側）は、透明なプラスチックでカバーされ得る。次に、不透明な材料（白または着色されたプラスチック、テープ、カード、紙、塗料、顔料など）のさらなる層が、結果を見るための適切な窓を残しながら、接着剤により透明なプラスチック（表）の上に直接的に付与される。積層物は、それ自身の専用ホルダ／パッケージポーチ内にこのように与えられ、完全に閉

10

20

30

40

50

に込められた試験ストリップ膜を、外の雰囲気から隔離して含む。これは、この装置のための別個のパッケージ（プラスチック／箔ポーチまたはブリスターパック）の必要をなくす。

【0025】

この発明は、免疫クロマトグラフィアッセイ、たとえば「競合」および「サンドイッチ」アッセイと適合する、いかなるアッセイフォーマット（様式）で用いられてもよい。

【0026】

この発明の免疫クロマトグラフィアッセイ装置がそれ自身のパッケージ材料を与えることは、特に利点である。

【0027】

アッセイ装置が、試料の移動を増加させるために外来のウィックまたはパッドを必要とせず、試料の移動のために追加の流体が必要でないことは、さらなる利点である。

【0028】

この発明は、気密なかつ液体の漏れない態様でシールされている、ナイロンストリップなどの免疫クロマトグラフィアッセイ支持体を、免疫クロマトグラフィアッセイにおいて用いることができるという、驚くべき発見に基づく。

【0029】

この発明はさらに、アッセイストリップ上で、競合免疫クロマトグラフィアッセイの試料中に分析物があるかどうかを肯定的に（ポジティブに）検出するためのゾーンに関する。この発明に従うと、免疫クロマトグラフィアッセイは、移動可能な標識試薬を含み、そのため液体試料がある場合、標識試薬は試料とともに、アッセイストリップに沿って検出ゾーンに移動される。検出ゾーンは、検出ゾーンの領域内に固定化された標識を含み、そのため、標識と検出ゾーン内の膜ストリップとの間にはコントラストがある。アッセイの実施において、検出ゾーン内のコントラストシグナル（コントラストのあるシグナル）は、試料中に分析物があることを示し、検出ゾーン内の非コントラストシグナル（コントラストのないシグナル）は、試料中に分析物がないことを示す。

【0030】

【発明の実施の形態】

以下、実施の形態を示して本発明をより詳細に説明する。

【0031】

なお、この発明の装置は、後述する図により理解され得る。これらの図は概略図であり、同じスケールで描かれてはいない。

【0032】

この発明は、試料中に分析物があるかどうかを検出するための免疫クロマトグラフィアッセイ装置（図1、図2および図3）に関する。アッセイ装置は、免疫クロマトグラフィアッセイを行なうための手段12を含み、手段12は、シール手段（18aおよび18b）と接触し、これらの中に、実質的に気密なかつ実質的に液体の漏れない態様でシールされる。この発明はさらに、アッセイ手段を支持する支持手段20を含む。シール手段は、アッセイ手段と接触し、これを支持する。シール手段は、アッセイ手段へのアクセスを与えるために、すなわち試料を与えるために、ユーザにより開けられるように適合される。

【0033】

この発明はさらに、試料中に関心のある分析物がある場合、競合イムノアッセイにおいて陽性の結果を与える検出システムを提供する。

【0034】

ここで用いられるように、「試料」という用語は、関心のある分析物を含んでいると疑われる水溶液の試料を指す。そのような試料は、血液、血漿、血清、尿、唾液、汗、滲出液、体液、および適切な水溶性の溶媒、たとえば緩衝溶液で再構成されたかまたは溶解された材料を含むが、これらに限定されない。

【0035】

ここで用いられるように、「分析物」という用語は、関心のある分子を指す。分析物はい

10

20

30

40

50

かなる抗原でもよいが、小さい分析物（１００から１０００ドルトン（Dalton）のMW）がまず関心のあるところである。そのような分析物は、治療薬物およびその代謝物質、不法な薬物およびその代謝物質、ステロイド、ならびにペプチドホルモンを含む。それだけでなく、アッセイは、たとえばインシュリンなどのタンパク質ホルモン、またはウィルス性抗原、細菌性抗原、血清タンパク質、抗体もしくはいかなる関心のある抗原などの、より大きい分子に対するものであってもよく、これらは、高速、特異的で、感度の高いアッセイにおいて分析物があるか（またはないか）を検出することが望ましい。

【００３６】

免疫クロマトグラフィアッセイ

この発明の装置は、免疫クロマトグラフィアッセイを行なうための手段（「免疫クロマトグラフィアッセイ手段」）を含む。多くの免疫クロマトグラフィアッセイ手段およびフォーマット（形式）が、この技術分野において知られており（上のセクション２．１を参照のこと）、この発明を実施する際に用いられ得る。一般に、免疫クロマトグラフィアッセイは、液体を導くための固相支持体の使用を伴う。ここで用いられるように、「液体を導くための固相手段」という用語は、たとえば毛管作用によって、液体がそれを通して移動するのを可能にする固体支持体を指す。

10

【００３７】

この発明を実施するにおいて、固相支持体はヒドロゲルとして作用するべきである。いかなる特定の理論によっても限定されることを意図しないが、ヒドロゲル材料は、液体試料がこの発明の装置の実質的に気密な環境中に移動するのを可能にすると考えられる。適切な固相免疫クロマトグラフィアッセイ手段はナイロン膜であり、これはこの目的のための好ましい固相支持体であるが、試料の移動を可能にするいかなる固相が用いられてもよい。他の適切な固相支持体は、たとえば薄層クロマトグラフィのために用いられるようなコーティングされたプラスチックおよびコーティングされたガラス、フィルタ、ポリマービーズ、シリカゲル、紙、膜、アガロースゲル、ポリアクリルアミドゲル、ゼラチンなどを含むが、これらに限定されない。さらなる具体例において、固相支持体は、タンパク質（たとえばコラーゲン、ゼラチン、アルブミンなど）、ポリエチレングリコール、荷電されたまたは中性の多糖類（たとえばヒアルロン酸、キサンタン酸塩、アルギン酸塩、グアーガム、アガロースなど）およびデンプンなどのヒドロゲル材料で含浸され得るが、これらに限定されない。別の具体例において、免疫クロマトグラフィアッセイ手段をシールするの

20

30

【００３８】

この発明の免疫クロマトグラフィアッセイ手段は、好ましくは膜ストリップであり、より好ましくはナイロン膜ストリップである。しかしながら、免疫クロマトグラフィアッセイ手段が、たとえばディスク上のように、液体試料が放射状に移動するために、構成、配列され得ることが企図される。

【００３９】

この発明は、免疫クロマトグラフィアッセイに適合できるいかなるアッセイフォーマットでも用いられ得る。いかなる特定の例によっても限定されないが、一般に、アッセイフォーマットに依存して、免疫クロマトグラフィアッセイ手段は、移動可能な標識試薬と、標識試薬を検出するための検出ゾーンとを含む。ここで用いられるように、「標識試薬」という用語は、関心のある分析物に対して特異的な標識受容体、または標識分析物を指し、「移動可能な」という用語は、試薬が液体試料とともに固相支持体に沿って移動することを意味する。移動可能な標識試薬は、液体試料によって移動可能にされ、検出ゾーンに移動され得るように、固相支持体上に置かれる。以下の特定の具体例において、標識試薬は標識分析物である。競合アッセイフォーマットにおいて、検出ゾーンは、検出ゾーン内に固定化された標識試薬の特異的結合パートナー、すなわち、標識受容体が用いられる場合には分析物、または標識分析物が用いられる場合には受容体を含む（上のセクション２．２を参照のこと）。上のセクション２．２において指摘されたように、検出ゾーン内の標識の検出と試料中の分析物の存在との間には逆の相関関係がある。

40

50

【0040】

サンドイッチイムノアッセイフォーマットにおいて、1つの受容体が標識をつけられ、分析物と結合するための最初の受容体と競合しない別の受容体が、検出ゾーン内に固定化される。分析物がある場合、それは標識受容体および固定化された受容体の両方と結合し、したがって標識を検出ゾーン内の特定の領域に集中させる。この場合、シグナルは分析物の存在と直接的に相関関係にある。

【0041】

好ましくは、免疫クロマトグラフィアッセイ手段は、アッセイが正しく行なわれていることを示すためにコントロールを含む。コントロールは、検出ゾーンより、固相支持体上の試料を与えるポイントからより遠位の特異的結合スポットでもよく、分析物がある場合またはない場合に標識試薬に結合し、したがって、移動可能な受容体が液体試料とともに十分な距離を移動していて、意味のある結果を与えていることを示す。

10

【0042】

「受容体」という用語は、分析物に特異的に結合することができる分子を指す。この発明のアッセイにおいて用いるのに適切な受容体は、抗体、細胞表面受容体（もしくはリガンドおよび分析物の結合部位を含む細胞表面受容体のフラグメント）、酵素（もしくは酵素の基質結合部位）、またはリガンドと特異的に結合しこれと複合体を形成することができる、かつ分析物と特異的に結合しこれと複合体を形成することができる、いかなる他の分子もしくは巨大分子も含む。抗体および細胞表面受容体が好ましいが、抗体がより好ましい。好ましい具体例において、受容体は、分析物上の最もユニークなエピトープに対して特異的であるように生成されるかまたは選択される。

20

【0043】

適切な標識は、酵素、発蛍光団、発色団、放射性同位体、染料、コロイド状金、ラテックス粒子、および化学発光試薬を含む。コントロールマーカが用いられる場合、受容体およびコントロールマーカに対して同じまたは異なる標識が用いられてもよい。以下の特定の具体例において、標識は着色されたラテックス粒子である。

【0044】

装置のシールおよび支持

この装置はまた、シール部材とも呼ばれる、免疫クロマトグラフィアッセイ手段をシールするための手段（「シール手段」）を含む。ここで用いられるように、「シール手段」および「シール部材」という用語は、実質的に気密なかつ実質的に液体の漏れない態様で免疫クロマトグラフィアッセイ手段をシールするように用いられ得る材料を指す。シール手段はまた、実質的に湿潤可能でないとするべきであり、すなわち顕著な量の水を吸収しない。この発明に従うと、シール手段として有用な材料は、接着テープ、プラスチック、マイラーなどを含むが、これらに限定されない。1つの具体例において、シール手段は接着剤でシールされる。別の具体例において、シール手段は音波溶接でシールされる。特定の理論によって限定されることを意図しないが、接着剤でのシールは、装置に非剛性を与え、接着剤の隙間の空間への空気の移動、またはシール手段の僅かな分離を可能にし、固相支持体内での液体の移動を可能にすると考えられる。

30

【0045】

この装置はまた、支持部材とも呼ばれる、装置を支持するための手段（「支持手段」）を含む。ここで用いられるように、「支持手段」および「支持部材」という用語は、液体を導くための固相手段を強化する、すなわち膜ストリップを支えるかまたは補強するように作用し得る材料を指す。支持手段は、たとえば接着剤によってシール手段に付着され得る材料から選択される。特定の具体例において、支持手段はシール手段としても作用し得る。支持手段として用いる材料は、ガラス、プラスチック、マイラーなどを含むが、これらに限定されない。好ましい具体例において、支持手段は、ナイロン膜を支持するのに十分な剛性のある透明なプラスチックである。代替的に、比較的剛性のない材料に、適切な剛性体が付着されてもよい。

40

【0046】

50

この装置において、液体を導くための固相手段は、シール手段と支持手段との間に積層される。したがって、支持手段およびシール手段の両方の寸法は、免疫クロマトグラフィアッセイ手段の寸法より大きい。

【0047】

好ましくはこの装置は、アッセイの結果を見るための、試験ゾーンと適切な位置関係にある透明な窓を規定する。

【0048】

この発明はさらに、1つの装置内に1つを超える免疫クロマトグラフィアッセイ手段、たとえば膜ストリップをシールし、多数のアッセイを可能にすることを企図する。

【0049】

発明の好ましい実施の形態

ここで図1、図2および図3を参照する。特定の具体例において、アッセイ試薬が前もって含浸され、安定化されている膜ストリップ12は、両面テープもしくは接着フィルム18aまたは音波溶接などの任意の積層技術によって、シール部材10（プラスチック、マイラーまたは他の適切な材料）に直接的に付着される。次に、両面テープまたは接着フィルム18bが、残りの露出した膜表面にさらに与えられ、これに続いて、剛性のある、透明なプラスチックシート20の層が与えられ、膜ストリップを完全に密封する。代替的に、剛性のある、透明なプラスチックシート20は、音波溶接によってシール部材10にシールされ得る。

【0050】

さらなる具体例において、次に、透明なプラスチックシート20には、試験結果およびコントロール反応を見るのを可能にするために適切な窓14（または複数の窓）を残しながら、両面テープまたは接着フィルム18cが間接的に敷かれ、続いて白もしくは着色されたテープまたはプラスチック22が敷かれ（または代替的に、白もしくは着色された接着剤で裏打ちされたテープまたはプラスチック22が直接的に敷かれ）得る。代替的に、透明なプラスチックシート20は、窓14を規定するように塗料を塗られるか、染色されるか、または着色され得る。

【0051】

上で説明されたように製造されると、膜ストリップは、膜ホルダおよび防湿ポーチの二重機能を果たすパッケージ内の湿潤可能でないシート内に完全に封じ込められる。

【0052】

アッセイは、単に、たとえば積層物を切断することによって、または保護カバーをはがすことによって、膜ストリップの端部を露出することにより、実施される。好ましくは、装置の上に切断マーク16が示される。この露出した膜は、次に試料に浸漬され、試料は露出した端部を通して入り、膜を移動する。代替的に、装置をちょうど試料（たとえば十分な尿収集容器）に浸漬することができ、試料は膜の露出した端部（唯一の利用可能なアクセスチャネル）を通して入り、上方に移動する。別の具体例において、試料を露出した膜に与えることができる。その結果は、検出ゾーン内の標識の有無で読取られる。好ましい局面において、標識は観測窓14を介して観測される。さらに、この装置は、パッケージ内に完全に密封された免疫クロマトグラフィアッセイの一体的な配置であるために、試料から取出され、乾燥され、好ましくは（たとえば接着テープで）再びシールされ、永久的な記録装置として便宜に貯蔵され得る。

【0053】

膜および積層方法の選択は、そのような装置が、制御された細孔サイズを有し、赤血球などのあるサイズを超える粒子を効果的に除去し、そのような装置を全血に対して有用であるようにするように、制御され得る。

【0054】

この発明の装置は、妊娠（hCG）、排卵（hLH）、感染性単核症（IM）、Strept A、クラミジアおよび濫用薬物に対して、ディップスティックまたはフロースルー形式で免疫クロマトグラフィアッセイに用いられるような、たとえば膜ストリップなどの

10

20

30

40

50

、いかなる免疫クロマトグラフィアッセイ手段も、膜の全面が接触され、膜が完全に密封されるように、積層を用いて密封する。次に、積層物は、剛性のためおよびまたは表面的な外観のため必要とされるような、プラスチック、マイラーまたは任意の他の材料によって、完成され得る。上で指摘されたように、こうして膜は、一体的ホルダおよびパッケージポーチとして働く装置内に保持される。

【0055】

別の具体例において、1991年7月29日に出願された米国特許出願第07/737,091号に記載されるような膜が、この装置内で用いられ得る。

【0056】

この発明の装置は、液体試料の移動を良好に制御する。なぜなら装置に入る試料の容量は、密封された試験ストリップ膜の物理的な寸法によって制限されるからである。試料の移動は、試験ストリップ膜を積層物内に閉じ込めることによって課される、物理的な制限によって厳しく制御される。入る試料の容量は、用いられる膜の面積によって制御される。

【0057】

1つの好ましい具体例において、積層物は、試験ストリップ膜および材料のシート（接着フィルム、テープ、透明なプラスチックシートなど）から組立てられ、最終的な積層物は所要の寸法にダイーカット（型で切断）される。これは、予め切断されまたは成形された構成要素を用いると必要になる費用を排除し、個々の構成要素を積層物に組立てると必要になる精密さを不要にする。

【0058】

ここで図4を参照する。別の好ましい具体例において、水分レベル（低い湿度に対しては青、高い湿度に対してはピンク）を示すことができる、着色された表示ストリップ20が、この装置に組入れられる。適切な表示ストリップは、マルチフォーム・デシカント（Multiform Desiccants）で販売される。代替的に、適切な湿度インジケータが、試料と接触することが意図されない固相支持体の一部分に含浸され得る。着色された領域は、積層物の上部または下部においてそれ自身の観測窓を与えられる。インジケータはパッケージの完全性の確認として役立つ。着色された領域がピンクである場合、すなわち高い湿度を示す場合、積層物の完全性は危うくなっており、試験に用いられるべきではない。満足のできるパッケージの一体性は、青のままである着色された領域によって示される。

【0059】

ここで図5を参照する。さらに別の具体例において、積層物は、尿収集容器などの試料収集容器30に組入れられ、したがって、収集容器内での直接的な試料試験を可能にする。収集容器は、結果を見るのを可能にするために透明であるべきである。この装置は、接着フィルム、両面テープ、または音波溶接によって収集容器の内壁に付着される。この具体例において、積層物が予め切断され、試験ストリップ膜が露出され得る（すなわち、試験を実施する準備ができているようにする）。次に収集容器は、パッケージの完全性をもたらすように、（ねじ締めされるキャップ32などで）シールされる。代替的に、この装置は、試験を実施する準備ができるまで膜ストリップが積層物内にシールされたままであるように、取外し可能な接着ストリップを含み得る。この場合、試料を加える前に接着ストリップが取外される。試料が容器に集められると、試験が自動的に実施される。集められる試料の量は、試験ストリップ膜が露出されたレベルを超えるだけでよい。

【0060】

この発明の好ましい検出ゾーン

一体的な免疫クロマトグラフィアッセイ装置に加えて、この発明は、競合アッセイフォーマットのための有利な検出ゾーンを設ける。この発明の検出ゾーンは、標準的な競合アッセイ技術（上のセクション2.2を参照のこと）とは対照的に、試料中に分析物がある場合には陽性のシグナルを与え、試料中に分析物がない場合には陰性のシグナルを与える。免疫クロマトグラフィアッセイは、移動可能な標識試薬を含み、それにより、液体試料がある場合、標識試薬が試料とともにアッセイストリップに沿って検出ゾーンに移動される

10

20

30

40

50

。標識は検出ゾーン全体ではなくその一部で固定化されており、そのため、標識と検出ゾーン内の膜ストリップとの間にはコントラストがある。検出ゾーンはまた、上で説明されたように、標識試薬の特異的結合パートナーを含む。しかしながら、標識試薬が検出ゾーン内の特異的結合パートナーに結合する場合、すなわち試料中に分析物がない場合、検出ゾーン内の標識と膜ストリップとの間のコントラストが失われる。標識試薬が検出ゾーンに結合しない場合、すなわち分析物がある場合、コントラストシグナルが残る。したがって、検出ゾーン内のコントラストシグナルは、試料中に分析物があることを示し、検出ゾーン内の非コントラストシグナルは、試料中に分析物がないことを示す。このように、シグナルは試料中の分析物の存在と直接的に相関関係がある。

【0061】

10

別の具体例において、検出ゾーンは、1つのセクションに標識試薬の特異的結合パートナーを含み、別の部分に標識試薬の非特異的な結合パートナー、すなわちコントロール結合パートナー（または代替的にコントロール標識試薬の結合パートナー）を含む。分析物がある場合、コントロール試薬は検出ゾーンのコントロール領域内で結合し、一方、標識試薬は結合せず、したがって検出ゾーンの標識領域と標識をつけられていない領域との間にコントラストを生じ、(1)「陽性」の結果と、(2)アッセイが正しく実施されたことを示す。分析物がない場合、検出ゾーン全体が標識をつけられ、(1)「陰性」の結果と、(2)アッセイが正しく実施されたことを示す。検出ゾーンが全く標識をつけられない場合、アッセイの実施は失敗である。

【0062】

20

検出ゾーン内のコントラスト領域が、「+」の印または文字などの形状に配置され得ることが容易に理解され得る。

【0063】

この技術分野における当業者によって理解され得るように、免疫クロマトグラフィアッセイのために通常用いられる、いかなる標識システムも、この発明に従って用いられ得る。

【0064】

この発明は、以下の例によってより明らかにされる。この例は、この発明の一例であり、発明を限定するものではないことが意図される。

【0065】

【実施例】

30

以下、実施例を挙げて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0066】

試料中のコチニン (C o t i n i n e) の検出

材料および方法

コチニンコーティングされた粒子の調製。青色に染色されたラテックス（直径0.318 μm 、セラディン (S e r a d y n)、IN (インディアナ州)) は、0.05 M のリン酸塩緩衝液、pH 7.2-7.5 において、室温で一晩、ウシ γ -グロブリンに化学結合されたコチニン (コチニン-BGG) の溶液でコーティングされた。青色のラテックスの最終的な濃度は0.25%であり、コチニン-BGGの最終濃度は3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。粒子はリン酸塩緩衝液、pH 7.2-7.5 中5 mg/ml のBSAで2回洗浄され、コーティングされたラテックス溶液は5 mg/ml のBSAを含むリン酸塩緩衝液で懸濁された。

40

【0067】

コチニンに対するウサギ抗体。コチニン誘導体に対して増されるウサギ抗体は、1991年7月29日に出願された米国特許出願第07/737,526号および1993年2月18日に発行された国際特許公報WO 93/03367に記載された標準的な方法を用いて、トランス-4-ヒドロキシコチニン-KLH抱合体に対して調製された。抗体は、セファロース-コチニン (S e p h a r o s e - c o t i n i n e) 上のアフィニティクロマトグラフィによってアフィニティ精製されたバッチのものであった。アフィニティ

50

精製された材料は、 $350\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度に 0.5M の炭酸ナトリウム、 $\text{pH}9.5$ で希釈された。

【0068】

コントロール抗体。ウサギ抗ヒツジ抗体（ジャクソン・イムノリサーチ・ラボ（Jackson ImmunoResearch Labs））が、 0.5M の炭酸ナトリウム、 $\text{pH}9.3$ 中 $1.2\text{mg}/\text{ml}$ に希釈された。

【0069】

試験ストリップ膜の調製。ナイロン膜（バイオダイナミクス（Biodyne A）、細孔サイズ $5\mu\text{m}$ 、ポール・バイオメンブレイン（Pall Biomembranes）、NY（ニューヨーク州））が、 $7\times 10\text{cm}$ のシートに切断された。アフィニティ精製されたウサギ抗コチニン抗体およびコントロール抗体は、ライン（1ライン当たり $20\mu\text{l}$ 、 $2.5\mu\text{l}/\text{cm}$ の割合で 8cm の長さ）としてナイロンのシートに塗布された。ライン幅は、 10cm の辺に平行に、シートの下端部からそれぞれ 2cm および 2.5cm であった。この塗布は、 $25-75\text{psi}$ の窒素で、機械化されたエアブラシアプリケータを用いて行なわれた。次にシートは、室温で1時間風乾され、続いてインキュベータにおいて 37°C で30分風乾された。次にシートは、 0.5% カゼイン、 5% スクロース、 0.1% TRITON X-100、 0.05M トリス、 0.003M MgCl_2 、 0.9% NaCl 、 0.02% NaN_3 、 $\text{pH}8.0$ の水溶液に、攪拌下、30分間、浸漬された。シートは室温で少なくとも4時間風乾された。

【0070】

20% のスクロースで 0.25% に希釈されたコチニン-BGGでコーティングされた青色ラテックスが、アフィニティ精製されたウサギ抗コチニンのラインに隣接しかつこれと平行なゾーンとしてナイロンのシートに塗布された。各ゾーンは約 $0.3\times 0.5\text{cm}$ であり、各ゾーン間の空隙は約 1.5mm であった。空隙は目で見えるものであった。ゾーンはシートの下端部から約 1.5cm 離れて塗布された。この塗布は、 $25-75\text{psi}$ の窒素で機械化されたエアブラシアプリケータを用いて行なわれた。次にシートは室温で風乾された。

【0071】

$7\times 10\text{cm}$ のシートは、 $0.5\times 7\text{cm}$ のストリップに切断され、各ストリップは、目に見える青のラテックスゾーンならびにアフィニティ精製された抗コチニンのラインおよびコントロール抗体ゾーンを有する。

【0072】

試験ストリップ膜の、その一体化したホルダ/パッケージポーチへの組立。

(a) 図6および図7を参照して、試験ストリップ膜12が、アークラド（ArcLad）7148両面テープ60（アドヒーズブズ・リサーチ（Adhesives Research）、PA（ペンシルバニア州））の小片（ $2\times 8\text{cm}$ ）の上に置かれた。膜のコーティングされていない表面（コーティングされた青色ラテックスおよび抗体が含浸されていない側）が、テープの露出した表面に付着され、膜がテープの小片の中央に置かれた。膜12がテープ60の上に置かれ、青色ラテックスのストリップ62がほぼ図6に示されるように位置決めされた。

【0073】

(b) ここで図8および図9を参照して、膜ストリップ12は、アークラド7530接着フィルム66（アドヒーズブズ・リサーチ、PA）の小片（ $2\times 8\text{cm}$ ）で膜の露出した表面および接着剤をカバーすることにより、完全に密封された。7530の第2の接着表面の上のカバーが除去され、露出した表面（上表面）が透明なプラスチックフィルム64、すなわち支持部材でカバーされた。接着フィルムおよびプラスチックフィルムは、すべての接着表面を完全に接触させ、膜をアセンブリ内に完全にシールするのを可能にするように、全面がしっかりと押圧された。

【0074】

(c) ここで図10および図11を参照する。次に、透明なプラスチックの上表面が、

試験結果およびコントロール反応を見るのを可能にするために、膜ストリップ12上のアフィニティ精製された抗コチニンラインおよびコントロール抗体ラインの上で適切な窓14（または複数の窓）を残しながら、白もしくは着色されたテープまたはプラスチック70でカバーされた。（接着剤で裏打ちされた材料で直接カバーされるが、同じ効果が、両面テープまたは接着フィルム、続いて白もしくは着色されたテープまたはプラスチックで、間接的に達成することができた。）さらに、積層物の下方端部が、コーティングされた青色ラテックスのストリップ62のすぐ下で、2つのライン16でマークをつけられた。試験を実施するために試験ストリップ膜12を試料に曝露するため、2つのライン間のスペースが切断された。アセンブリ全体、すなわち一体化したホルダパッケージポーチ内の試験ストリップ膜全体が、コチニンに関するアッセイのための装置である。

10

【0075】

コチニンに関するアッセイ。装置の下部の、2つのマーカラインにより示されているところを切断することにより、試験キットを用いる準備ができた。これは試験ストリップ膜の端部を露出した。

【0076】

装置の切断された端部が試料と接触するように、装置が試料中に置かれた。装置は10分間試料中に置かれたままにされ、その時間の後結果が読取られた。試料は既知の量のコチニンを含む尿試料であった。

【0077】結果

20

疾病管理センター（Centers for Disease Control）（CDC）から受取られる既知のコチニン濃度を有する尿試料で、60の試験が実施された。この装置を用いるアッセイの結果（「本装置を用いた検出（Detection with the Device）」）は、以下の表1～表3に示され、試料のコチニン濃度と、CDCにより提出された100 ng/mlの陽性のカットオフ値と比較される。

【0078】**【表1】**

尿試料中のコチンに関する試験の結果

試料#	試料中の コチン濃度 ng/ml	CDC に基づく 検出カットオフ 100ng/ml*	本装置を 用いた検出
1	3080	+	+
2	1360	+	+
3	2860	+	+
4	1250	+	+
5	2450	+	+
6	37	-	-
7	194	+	-
8	23	-	-
9	6.9	-	-
10	590	+	-
11	102	+	-
12	25.5	-	-
13	540	+	+
14	6460	+	+
15	32.2	-	-
16	17.5	-	-
17	520	+	+
18	50.5	-	-
19	56.2	-	-
20	24.2	-	-

* 試料は検出されたコチンの濃度に基づいて
CDC によって陽性または陰性と分けられた。
陰性<100ng/ml、陽性>100ng/ml。

【 0 0 7 9 】

【表 2】

10

20

30

尿試料中のコチンに関する試験の結果

試料#	試料中の コチン濃度 ng/ml	CDC に基づく 検出カットオフ 100ng/ml	本装置を 用いた検出
21	2310	+	-
22	1060	+	-
23	15.3	-	-
24	230	+	+
25	276	+	+
26	122	+	+
27	122	+	-
28	320	+	+
29	510	+	+
30	9.5	-	-
31	590	+	+
32	960	+	+
33	1450	+	+
34	890	+	+
35	27.3	-	-
36	13.8	-	-
37	232	+	-
38	272	+	+
39	590	+	+
40	26.1	-	-

* 試料は検出されたコチンの濃度に基づいて
CDC によって陽性または陰性と分けられた。
陰性<100ng/ml、陽性>100ng/ml。

【 0 0 8 0 】

【表 3】

10

20

30

尿試料中のコチニンに関する試験の結果

試料#	試料中の コチニン濃度 ng/ml	CDC に基づく 検出カットオフ 100ng/ml	本装置を 用いた検出
41	55.2	-	-
42	326	+	+
43	106	+	+
44	780	+	+
45	2070	+	+
46	510	+	+
47	670	+	+
48	54	-	-
49	67.8	-	-
50	570	+	-
51	1500	+	+
52	154	+	+
53	200	+	-
54	164	+	+
55	176	+	-
56	1500	+	-
57	7470	+	+
58	1860	+	+
59	5860	+	+
60	238	+	-

* 試料は検出されたコチニンの濃度に基づいて
CDC によって陽性または陰性と分けられた。
陰性<100ng/ml、陽性>100ng/ml。

【0081】

表4で表1～表3の結果を要約した。CDC標準の下でおよびこの装置を用いて、コチニンに関して陽性と記録された試料の数は、「+、+」スクエアの(32)であり、この発明の装置を用いて陽性と記録されたがCDC標準に従うと陰性であった試料の数は、「+、-」スクエアに示されるように(0)であり、この装置を用いて陰性と記録されたがCDC標準に従うと陽性であった試料の数は、「-、+」スクエアの(11)であり、この装置を用いて陰性と記録された一方CDC標準に従い陰性であった試料の数は、「-、-」スクエアに示される。

コチニンアッセイ結果のまとめ

【0082】

【表4】

10

20

30

40

コチンアッセイ結果のまとめ

		結果、カットオフ 100ng/ml コチン	
		+	−
装置	+	32	0
	−	11	17

【0083】

精度（この装置を用いた、正確なアッセイ結果の比率）、感度（この装置を用いた、正確な陽性の結果の比率）および特異性（この装置を用いた、正確な陰性の結果の比率）について以下の所見を、表4のデータから得ることができる。陽性の結果に対するカットオフが100ng/mlである、既知のコチニン濃度の試験試料に対して、この発明の装置を用いるアッセイの全精度は、81.6%（60のうち49）である。この値は、「+、+」および「−、−」の値をすべて加算し、試験の総数で割ることによって計算される。陽性と記録された試料の数を、CDC標準に従う陽性の試料の総数で割ることから計算される、この装置を用いるアッセイの感度は、74.4%（43のうち32）であった。陰性と記録された試料の数を、CDC標準に従う陰性の試料の総数で割ることから計算される、この装置の特異性は、100%（17/17）であった。

10

【0084】

この結果は、この発明が尿試料中のコチニンを検出することができることをはっきりと示す。

20

【0085】

この発明は、ここで説明された特定の具体例による範囲内に限定されるべきではない。それどころか、ここで説明されたものに加えてこの発明のさまざまな変形例が、上述の説明および添付の図面から当業者には明らかになるであろう。そのような変形例は、添付された請求の範囲の範囲内にあることが意図される。

【0086】

さまざまな公報をここに引用したが、その開示の全体を引用により援用する。

【図面の簡単な説明】

30

【図1】 この発明の装置の上面図である。

【図2】 図1の装置の端から見た断面図である。

【図3】 図1の装置の横から見た断面図である。

【図4】 この発明の装置の別の具体例の上面図である。

【図5】 この発明の装置のさらに別の具体例の側面図である。

【図6】 この発明の特定の具体例の部分的な構成を示す概略上面図である。

【図7】 図6に示された装置の切断断面図である。

【図8】 図6に示された、完成された装置の上面図である。

【図9】 図8に示された装置の切断端面図である。

【図10】 この発明の別の装置の特定の具体例を示す上面図である。

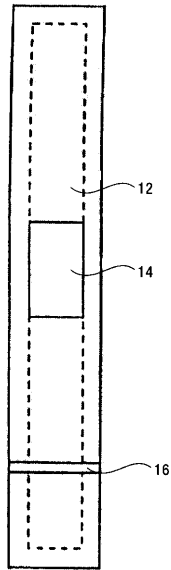
40

【図11】 図10に示された装置の切断端面図である。

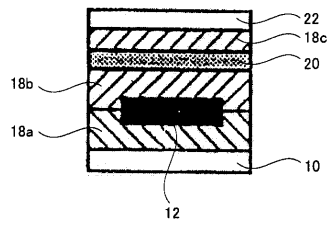
【符号の説明】

10 シール部材、12 免疫クロマトグラフィアッセイを行なうための手段（膜または膜ストリップまたはストリップ膜）、14 窓、16 切断マークまたはライン、18a、18b、18c シール手段（両面テープまたは接着フィルム）、20 支持手段（プラスチックシートまたは表示ストリップ）、22 テープまたはプラスチック、30 試料収集容器、32 キャップ、60 テープ、62 ストリップ、64 プラスチックフィルム、66 接着フィルム、70 テープまたはプラスチック。

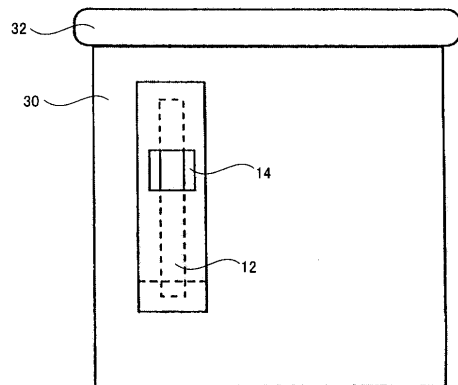
【図 1】



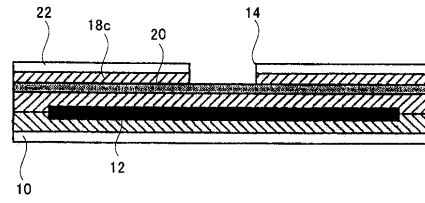
【図 2】



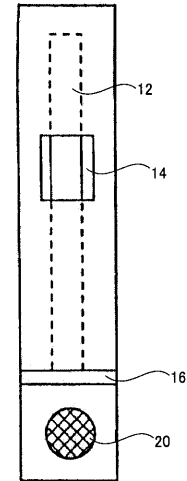
【図 5】



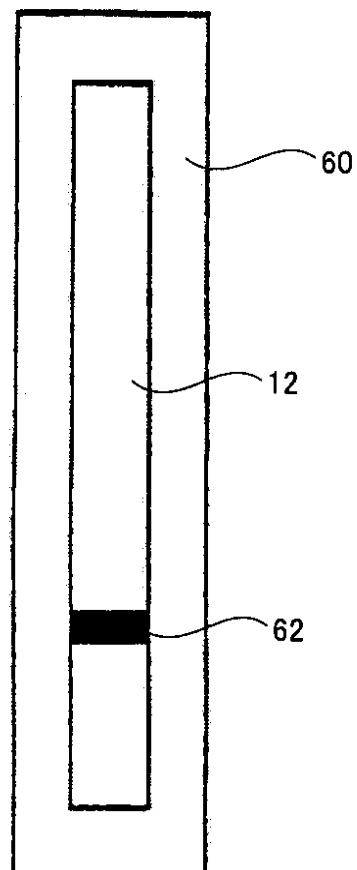
【図 3】



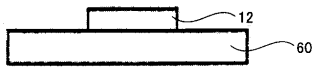
【図 4】



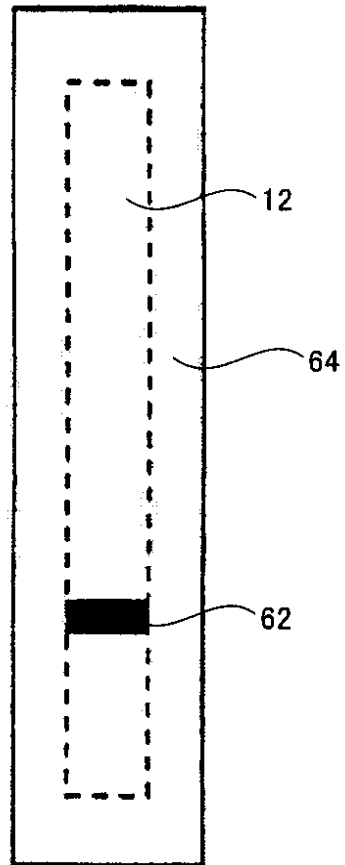
【図 6】



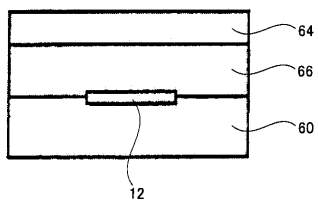
【図 7】



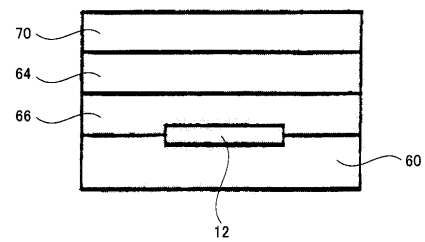
【図 8】



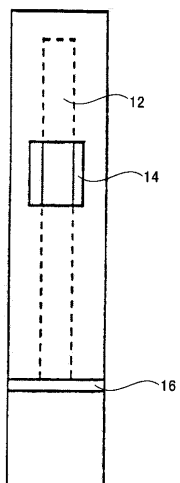
【図 9】



【図 11】



【図 10】



フロントページの続き

(72)発明者 フィッツパトリック, ジュディース
アメリカ合衆国、07670 ニュー・ジャージー州、テナフライ、ハイウッド・アベニュー、23
6

審査官 竹中 靖典

(56)参考文献 実開昭62-046369 (JP, U)
特表平01-503174 (JP, A)
特開昭64-032169 (JP, A)
特開昭57-063454 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/543

专利名称(译)	用于流通或试纸形式的免疫色谱测定的集成包装夹持装置		
公开(公告)号	JP3818967B2	公开(公告)日	2006-09-06
申请号	JP2003007092	申请日	2003-01-15
[标]申请(专利权)人(译)	塞莱克斯公司		
申请(专利权)人(译)	仙丽施公司		
当前申请(专利权)人(译)	仙丽施公司		
[标]发明人	リー・OWN エフ・ビクター フィッツパトリック・ジュディース		
发明人	リー・OWN, エフ・ビクター フィッツパトリック, ジュディース		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/537 G01N33/558 G01N37/00		
CPC分类号	G01N33/558 Y10S435/97		
FI分类号	G01N33/543.521		
代理人(译)	森田俊夫 堀井裕		
优先权	08/047156 1993-04-13 US		
其他公开文献	JP2003232792A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供集成包装支架的免疫色谱分析，无需单独的塑料和外包装。解决方案：免疫层析测定法包括用于将测定装置密封在基本上气密且基本上不是液体的泄漏状态的装置。使密封装置与测定装置接触以支持测定装置，并进一步适于使测定装置暴露于液体样品。 Z

尿試料中のコチンに関する試験の結果

試料#	試料中の コチン濃度 ng/ml	CDC に基づく 検出カットオフ 100ng/ml*	本装置を 用いた検出
1	3080	+	+
2	1360	+	+
3	2860	+	+
4	1250	+	+
5	2450	+	+
6	37	-	-
7	194	+	-
8	23	-	-
9	6.9	-	-
10	590	+	-
11	102	+	-
12	25.5	-	-
13	540	+	+
14	6460	+	+
15	32.2	-	-
16	17.5	-	-
17	520	+	+
18	50.5	-	-
19	56.2	-	-
20	24.2	-	-