

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-37445

(P2004-37445A)

(43) 公開日 平成16年2月5日(2004.2.5)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 27/447	GO 1 N 27/26 3 O 1 C	
GO 1 N 33/53	GO 1 N 33/53 T	
GO 1 N 33/566	GO 1 N 33/566	
	GO 1 N 27/26 3 1 5 D	
	GO 1 N 27/26 3 1 5 J	
審査請求 有 請求項の数 42 O L 外国語出願 (全 89 頁)		

(21) 出願番号	特願2003-30102 (P2003-30102)	(71) 出願人	592023759
(22) 出願日	平成15年2月6日 (2003.2.6)		セビア
(31) 優先権主張番号	0201433		SEBIA
(32) 優先日	平成14年2月6日 (2002.2.6)		フランス国、92130 イシーレームリ
(33) 優先権主張国	フランス (FR)		ノー、リュ・マクシミリアン・ロベスピエール 23
		(74) 代理人	100109726
			弁理士 園田 吉隆
		(74) 代理人	100101199
			弁理士 小林 義教
		(72) 発明者	フランク ベロン
			フランス国 91160 ロンジュモー、
			シュマン デ ザジョン 12

(54) 【発明の名称】 分析用支持体上に試薬を沈着および分配するためのマスク

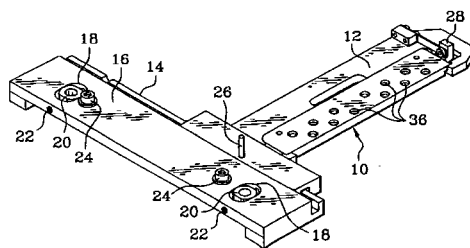
(57) 【要約】

【課題】

【解決手段】本発明は、分析用支持体、特に例えば電気泳動用ゲルのような電気泳動支持体上に1つ以上の試薬を分配するためのマスクに関する。マスク(10)(移動マスクと呼ぶ)はマスク保持具12に保持され、分析用支持体上の規定の領域の上部を移動するように設計されており、分析用支持体上に試薬を分配するための貫通する穴36を備えている。

本発明は、例えば生体サンプル内に存在する成分の検出および特徴付けの分野で利用できる。特に検出は免疫固定により行われる。

【選択図】 図2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生体サンプルのための分析用支持体上に試薬を沈着および分配するためのマスクであって、

・マスクの厚さを構成する距離だけ離間した、少なくとも部分的に互いに平行な下表面および上表面と

・それぞれ水平面に対して傾斜を構成する部分を含む、マスクの下表面から突出する要素（突出要素）（32）を備え、マスクの下表面の高さに配設された1つ以上の規定領域（レーン）と

・マスクの上表面上にある上側の穴（36）からレーンの傾斜部の最下点の近傍にあるレーンの下側の穴（34）までマスクの全厚さを貫通する、各レーンに伴う開口部と

を備え、
マスクが備える1または複数のレーンは、毛管作用により、マスクを配置したときにマスクが面する分析用支持体の表面とレーンとの間に、各開口部に充填されて分析用支持体上に沈着される試薬を保持することができるマスク。

【請求項 2】

生体サンプルのための分析用支持体上に試薬を分配するのに適したマスクであって、

・マスクの厚さを構成する距離だけ離間した、少なくとも部分的に互いに平行な下表面および上表面と

・それぞれ水平面に対して傾斜を構成する部分を含む、マスクの下表面から突出する細長い形状の突出要素（32）を、それぞれが備える1つ以上のレーンと

・マスクの上表面上にある上側の穴（36）からレーンの傾斜部の最下点の近傍にあるレーンの下側の穴（34）まで、マスクの全厚さを貫通する、各レーンに伴う開口部と

を備え、
マスクが備える1または複数のレーンは、毛管作用により、マスクを配置したときにマスクが面する分析用支持体の表面とレーンとの間に、各開口部に充填されて分析用支持体上に沈着される試薬を保持することができる請求項1に記載のマスク。

【請求項 3】

生体サンプルのための分析用支持体上に試薬を分配するのに適したマスクであって、

・マスクの厚さを構成する距離だけ離間した、少なくとも部分的に互いに平行な下表面および上表面と

・平行六面体を切り取った形状の隆起から成り、水平面に対する傾斜を構成する部分を備える、マスクの下表面から突出する突出要素（32）を、それぞれが備える1つ以上のレーンと

・マスクの上表面上にある上側の穴（36）からレーンの傾斜部の最下点の近傍にあるレーンの下側の穴（34）まで、マスクの全厚さを貫通する、各レーンに伴う開口部と

を備え、
マスクが備える1または複数のレーンは、毛管作用により、マスクを配置したときにマスクが面する分析用支持体の表面とレーンとの間に、各開口部に充填されて分析用支持体上に沈着される試薬を保持することができる請求項1に記載のマスク。

【請求項 4】

生体サンプルのための分析用支持体上に試薬を沈着および分配するのに適したマスクであって、

・マスクの厚さを構成する距離だけ離間した、少なくとも部分的に互いに平行な下表面および上表面と

・それぞれがマスクの下表面および上表面に平行な上面および下面を有する、マスクの下表面から突出する要素（突出要素）（32）を備えるマスクの下表面に配設された1つ以上の規定の領域（レーン）と

・マスクの上表面上にある上側の穴（36）から、使用位置にあるときマスクを分析用支持体に対して傾けることによりレーンの傾斜部の最下点となる地点の近傍にあるレーンの

10

20

30

40

50

下側の穴(34)まで、マスクの全厚さを貫通する、各レーンに伴う開口部とを備え、

マスクが備える1または複数のレーンは、毛管作用により、マスクを配置したときにマスクが面する分析用支持体の表面とレーンとの間に、各開口部に充填されて分析用支持体上に沈着される試薬を保持することができるマスク。

【請求項5】

マスクは硬質であるか、または補剛されていること特徴とする請求項1に記載のマスク。

【請求項6】

マスクは硬質であるか、または補剛されていること特徴とする請求項4に記載のマスク。

【請求項7】

開口部は、充填された試薬の貯留部を構成できるような容積を有する請求項1に記載のマスク。

10

【請求項8】

開口部は、充填された試薬の貯留部を構成できるような容積を有する請求項4に記載のマスク。

【請求項9】

各レーンの開口部は、突出要素(32)の厚さを含むマスクの厚さを垂直方向に貫通しており、該開口部は円筒形の下側の穴(34)で終端する錐台形の部分(38)を備えている請求項1に記載のマスク。

【請求項10】

開口部は、充填された試薬の貯留部を構成できるような容積を有する請求項4に記載のマスク。

20

【請求項11】

マスクの長さに亘って配設された複数の互いに平行なレーンを備える請求項1に記載のマスク。

【請求項12】

マスクの長さに亘って配設された互いに平行な複数のレーンを備える請求項4に記載のマスク。

【請求項13】

・第1の列に整列した互いに平行な第1組のレーンと
・第1の列に平行なで、第1の列からずれた第2の列に整列した互いに平行な第2組のレーンと
を備える請求項11に記載のマスク。

30

【請求項14】

・互いに平行に並んでいる第1列のレーンと
・第1の列に平行なで、第1の列からずれた第2の列に整列した互いに平行な第2組のレーンと
を備える請求項12に記載のマスク。

【請求項15】

各傾斜部の長さがレーンの長さに一致する請求項1に記載のマスク。

40

【請求項16】

各傾斜部の長さがレーンの長さに一致する請求項4に記載のマスク。

【請求項17】

マスクの分析用支持体から最も離れた地点と分析用支持体との距離が2mm以下、およびマスクの分析用支持体に最も近い地点と分析用支持体との距離が0.1以上から0.5mm以下の範囲となるようにマスクを配置したとき、マスクの各開口部内の4から15mmの範囲の量の各試薬を沈着させ、毛管作用により該試薬をマスクのレーンと分析用支持体の間に保持するための、請求項1に記載のマスク。

【請求項18】

マスクの分析用支持体から最も離れた地点と分析用支持体との距離が2mm以下、および

50

マスクの分析用支持体に最も近い地点と分析用支持体との距離が0.1以上から0.5 m m以下の範囲となるようにマスクを配置したとき、マスクの各開口部内の4から15 m lの範囲の量の各試薬を沈着させ、毛管作用により該試薬をマスクのレーンと分析用支持体の間に保持するための、請求項4に記載のマスク。

【請求項19】

レーンは1.5 m m以上の距離で互いに離間している請求項1に記載のマスク。

【請求項20】

レーンは1.5 m m以上の距離で互いに離間している請求項4に記載のマスク。

【請求項21】

レーンは、毛管作用によりマスクと分析用支持体の間に保たれる試薬が、該分析用支持体上に沈着および分配する間に相互作用しないような大きさおよび間隔を有する請求項1ないし4のいずれか1項に記載のマスク。 10

【請求項22】

レーンの幅が2.5 m mである請求項1に記載のマスク。

【請求項23】

各レーンの長さは6から7 m mの範囲である請求項1または4ないし19のいずれか1項に記載のマスク。

【請求項24】

固定剤のためのレーンは、隣接する第1のレーンに対して5から7 m mの距離だけずれている請求項1または4に記載のマスク。 20

【請求項25】

各レーンの傾斜部は水平面に対して1度から10度傾いている請求項1または4に記載のマスク。

【請求項26】

マスクの各レーンは、
 ・長さ3から15 m m、
 ・幅1から10 m m、
 ・傾斜部の傾きが水平面に対し1度から10度
 である請求項1に記載のマスク。

【請求項27】

分析用支持体上に試薬を沈着および分配するためにマスクが接近する分析用支持体の表面の近傍にマスクを保持する位置決め手段を伴う請求項1または4に記載のマスク。 30

【請求項28】

1つ以上の試薬を生体サンプルのための分析用支持体上に沈着および分配するための装置であって、

a) 請求項1に記載のマスク(10)と

b) マスクのレーンと一列に並ぶ分析用支持体の規定の領域それぞれに行き渡るように試薬を沈着および分配するために、マスクを分析用支持体の表面の近傍に保持でき、およびマスクが分析用支持体の表面をスイープするように支持体の表面に平行な水平面内を誘導できる、位置決めおよび誘導手段(12、14、16)と 40

を備える装置。

【請求項29】

1つ以上の試薬を生体サンプルのための分析用支持体上に沈着および分配するための装置であって、

a) 請求項1に記載のマスク(10)と

b) マスクのレーンと一列に並ぶ分析用支持体の規定の領域それぞれに行き渡るように試薬を沈着および分配するために、マスクを分析用支持体の表面に近接する位置に保持でき、およびマスクが分析用支持体の表面をスイープできるように支持体の表面に対して傾いている平面内を誘導できる、位置決めおよび誘導手段(12、14、16)と 50

を備える装置。

【請求項 3 0】

マスク (1 0) の位置決めおよび誘導手段は、分析用支持体とこの支持体に最も近いマスク上の位置 (傾斜部の最下点に一致) の間の距離を 0 . 1 m m から 0 . 5 m m の範囲に設定することができる請求項 2 8 または 2 9 に記載の装置。

【請求項 3 1】

位置決めおよび誘導手段は、分析用支持体に沿うマスク (1 0) の移動を自動化できる請求項 2 8 または 2 9 に記載の装置。

【請求項 3 2】

1 つ以上の試薬を生体サンプルを含む分析用支持体上に沈着および分配するための方法であって、

- ・請求項 1 に記載のマスク (1 0) を分析用支持体の近傍に配置して分析用支持体上に 1 または複数の試薬を沈着させ、毛管作用により該支持体とマスクの 1 または複数のレーンの傾斜部との間に試薬を保持する段階と

- ・ 1 または複数の試薬をマスク (1 0) に充填して分析用支持体上に 1 または複数の試薬を沈着させ、毛管作用により該支持体とマスクの 1 または複数の傾斜部との間に試薬を保持する段階と

- ・分析用支持体の表面をスweepしてマスク (1 0) を移動させ、分析用支持体上の生体サンプルの構成成分と相互作用するのに十分な量の 1 または複数の試薬を、分析用支持体上の規定の領域 (定温培養領域と呼ぶ) に分配する段階と

を含む方法。

【請求項 3 3】

1 つ以上の試薬を生体サンプルを含む分析用支持体上に沈着および分配するための方法であって、

- ・試薬をマスクに充填して分析用支持体上に試薬を沈着させ、該支持体と、マスクの 1 または複数のレーンもしくは傾斜部との間に毛管作用により試薬を保持する段階と

- ・請求項 1 に記載のマスク (1 0) を分析用支持体の近傍に配置して分析用支持体上に 1 または複数の試薬を沈着させ、毛管作用により該支持体とマスクの 1 または複数のレーンの傾斜部との間に試薬を保持する段階と

- ・分析用支持体の表面をスweepしてマスクを移動させ、分析用支持体上の生体サンプルの構成成分と相互作用するのに十分な量の 1 または複数の試薬を、分析用支持体上の規定の領域 (定温培養領域と呼ぶ) に分配する段階と

を含む方法。

【請求項 3 4】

生体サンプルの構成成分を含む分析用支持体の表面の領域から離してマスクに 1 または複数の試薬を充填する請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

支持体の近傍にマスクを配置する段階の前に、マスクに試薬を充填し、マスクに空気圧を加えた結果生じる衝撃により、または試薬と分析用支持体の間の機械的な連結部により、または試薬を支持体上に射出することにより、またはレーンの傾斜部の最下点でマスクと分析用支持体をわずかに接触させることにより、分析用支持体上に試薬を沈着させる請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

マスク (1 0) への 1 または複数の試薬の充填、およびマスクの移動が自動化された請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

分析用支持体は、その上で 1 つ以上の生体サンプルの構成成分が電気泳動により分離される電気泳動支持体である、請求項 3 2 または 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 8】

1 または複数の試薬は、電気泳動により分離された生体サンプルの構成成分を免疫固定するためのものである請求項 3 7 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 39】

免疫固定により 1 つ以上の生体サンプルの構成成分を検出するための方法であって

- ・構成成分を分離するために 1 または複数の生体サンプルの電気泳動を電気泳動支持体上で行う段階と
- ・請求項 32、または 33 ないし 44 のいずれか 1 項に記載の方法を用いて、1 または複数の試薬を電気泳動支持体上に沈着および分配をする段階と
- ・電気泳動により分離された生体サンプルを分配された 1 または複数の試薬とで定温培養し、免疫固定する段階とを含む方法。

【請求項 40】

- ・1 つ以上の請求項 1 に記載のマスクと
 - ・1 つ以上の分析用支持体と
- を備えるキット。

【請求項 41】

- ・電気泳動により分離されたサンプルの構成成分を免疫固定するための試薬と
 - ・各サンプルの電気泳動により分離された構成成分の集合体を固定するための固定剤と
- をさらに備える請求項 40 に記載のキット。

【請求項 42】

マスクに充填された試薬を凍結乾燥された状態にする請求項 1 に記載のマスク。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、分析用支持体、特に例えばアガロースゲルのような電気泳動支持体上に、1 つ以上の試薬を沈着および分配するためのマスクに関する。本発明は、例えば、生体サンプル内、特に血清、尿、または脳脊髄液といった生体液内に存在する構成成分の検出および特徴付けの分野で使用するのに適している。特に、例えば電気泳動を用い、生体サンプルから該構成成分を分離した後でそのような検出を行うことができる。とりわけ検出は、サンプルから分離された構成成分に試薬を接触させ、支持体の規定の領域内において生体サンプルから分離された構成成分と分析用試薬との免疫学的認識反応を生じさせるために定温培養することが必要な、周知の免疫固定技術を用いて行うことができる。

【0002】

本発明は、特に臨床分析に関して行われる種類の、日常的な分析に有利に用いることができる。

本発明はまた、1 つ以上の試薬を分析用支持体上に沈着および分配するためのマスクに関し、該マスクが取り付けられる装置は、試薬を沈着および分配するためにマスクを用いるとき、分析用支持体の近傍に、該支持体に対してマスクを位置付けることができる位置決め手段を有する。

【0003】

また、該位置決め手段は、マスクが分析用支持体の近傍に配置されたとき、試薬とサンプルの構成成分とを定温培養するための領域を含む支持体の規定の領域に試薬を分配することが可能になるように、マスクを移動させることができる誘導手段を取り付けることができるか、または該誘導手段を備えることができる。

【0004】

本発明による装置では、試薬を手動で沈着または分配することができる。また、これらの試薬を自動的に沈着させ、および随意で自動的に分配することもできる。

一部の実施形態では、試薬をマスクに充填する段階も、手動で、または自動的に行うことができる。有利なことに、本発明によるマスクは従来のマスクに比べて充填が容易である。

本発明の別の実施形態は、分析用支持体上に試薬を沈着および分配する方法を提供するも

10

20

30

40

50

のである。

本発明によるある特定の実施例では、本発明の方法を用いて試薬を沈着および分配し、免疫固定を行って生体サンプル内に含まれる特定の構成成分を検出および場合によっては定量する。該構成成分は、アガロースゲルのような支持体上における電気泳動により前もって分離しておく。

【0005】

本発明は、前記マスクを用いる免疫固定方法にも関する。

他の実施態様では、本発明は、本発明によるマスクを含むキットを提供する。

本発明によるキットは、本発明のマスクを用いる免疫固定方法に有利に適用される。

本発明はまた、マスクの位置決め、および誘導手段にも関する。

10

免疫固定は、含有されるパラプロテインを分類するために生体サンプルを分析することができ、特に臨床分析を行う研究所で広く行われている日常的分析であることに注意されたい。

【0006】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】

電気泳動と、電気泳動ゲル上での沈殿物の形成を組み合わせた技術は、かなり以前から知られている。その技術は特に、Alper CAおよびJohnson AM共著、Vox. Sang. 17: 445 (1969年)、Cawley LP他共著、Clin. Chem. 22: 1262 (1976年)、Ritchie RFおよびSmith R共著、Clin. Chem. 22: 497, 1735, 1982 (1976年)などに開示されている。それによると、様々な生体サンプル内、特に血清、尿、または脳脊髄液といった生体液内の異常を識別することができる。

20

その技術は、主に：

- 1) ゲル、例えばアガロースゲルなどの支持体上で電気泳動を行い、試験用血清または液体からタンパク質構成成分を分離する段階、
 - 2) 該分離したタンパク質を特定の抗体と免疫的に反応させる段階、及び
 - 3) 形成された免疫学的複合体を明らかにする段階
- を含む。

これらの段階を行う条件は、先行技術で開示されている。

使用する装置はまた、同じ電気泳動支持体上、特に同じゲル上に、基準レーン(トラック)を生成することができ、該基準レーンは、サンプル上に存在する分離されたタンパク質すべてを、例えば多価抗血清を含むタンパク質固定剤を用いてサンプル上に固定することにより得られる。

30

分析する生体サンプルの適用、制御温度における泳動、および試薬(例えば抗血清および固定剤を含む)の沈着のための新しい半自動式の技術は、感度および解像度を十分に維持したまま免疫固定のプロファイルを小型化できる。小型化により、多くのサンプルを同じ電気泳動用の支持体上、特に同じゲル上で分析することができる。

【0007】

したがって、1枚の8×10cmの電気泳動ゲル上で(例えば、Hydragel 9 IFの登録商標でセビア(SEBIA)から販売されている免疫固定キットを用いて)免疫固定できる数は、この数年で1から9に増えた。これにより、分析時間を節約でき、消費する試薬も減るので、分析コストが減少している。

40

そのような条件下で免疫固定を行うための試薬の沈着について、例えばEP-B1-0526271号は、従来の技術による装置またはマスクが有する問題の一部を解決し、より安全且つ使用が容易な、試薬(通常は特定の抗血清および固定剤)を分配するためのマスクまたは装置を開示している。したがって、例えば欧州特許番号B1-0526271号に開示されたマスクを用い、9つの免疫固定、例えば同じ電気泳動ゲル上のそれぞれ3つのサンプルを含む3列の免疫固定を行う場合、各サンプルに対し、6つの試薬(固定剤、抗-IgG抗血清、抗-IgA抗血清、抗-IgM抗血清、抗-k抗血清、および抗-1抗血清)をピペットで導入する必要があるので、すなわち合計で54回ピペット操作を行

50

わなくてはならない。

これらの手動のピペット操作は反復投与ピペットを用いたとしても、時間がかかり、困難であることがわかる。

【0008】

本発明の第1の目的は、試薬のピペット操作および使用する試薬の量を低減できるマスクを提供することにより、マスクを用いて分析用支持体上へ試薬の沈着および分配を行う条件を改善することである。本発明に関して提案した手段は、分析用支持体上への試薬の沈着を制御する必要があるいかなる分析技術にも用いることができる。この点において、電気泳動分離後の免疫固定、または、例えば乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)またはクレアチンキナーゼ(CK)の検査のための、酵素を成長させるための特定の基材上への分配と

10

といった技術を挙げることができる。
本発明の第1の態様は、分析用支持体上の規定の領域に試薬を分配する段階を行うための移動を含めた使用を考慮して設計された、試薬を分析用支持体上に沈着および分配するためのマスクを提供する。したがって、本発明のマスクは使用中に移動可能なマスクと考えてよい。

本発明はまた、試薬、特に高価な製品である抗血清、および免疫固定反応の場合は固定剤の消費を制限するので、分析コストを低減できる。また、特にピペット操作回数の低減および/またはマスクへの充填の自動化により、マスク内への試薬の充填を容易にする。

【0009】

さらに、提供されるマスクにより、操作条件が改善、または簡素化されることにより、結果に一定の質が保証される。特に、本発明による装置を用いて分配した試薬を定温培養した段階の後で、EP-B1-0526271号では除去する必要があったゲルとマスクの間に残った余分な試薬を、除去する必要がなくなる。

20

本発明のマスクを用いることにより、試薬を分散および分配すると、最初に導入された試薬全ては分析用支持体上に沈着するので、マスクと分析用支持体の間に試薬が残存することがなくなる。

このように、本発明は、生体サンプルを分析するための分析用支持体上に試薬を沈着および分配するためのマスクを提供するもので、該マスクは：

・マスクの厚さを構成する距離だけ離間した、少なくとも部分的に互いに平行な下表面および上表面と、

30

・それぞれ水平面に対して傾斜をなす部分を含む、マスクの下表面から突出する要素(突出要素)を備えており、マスクの下表面の高さに配設された1つ以上の規定領域(レーン)と、

・マスクの上表面上にある上側の穴から、レーンの傾斜部の最下点の近傍にあるレーンの下側の穴までマスクの全厚さを貫通する、各レーンに伴う開口部と

を備え、

マスクが備える1または複数のレーンは、毛管作用により、マスクを配置したときにマスクが面する分析用支持体の表面とレーンとの間に、各開口部に充填されて分析用支持体上に沈着される試薬を保持することができる。

【0010】

40

本発明で用いている「マスク」という表現は、通常、試薬をマスク内に充填し規定の領域に接触させたときに、必要であれば関連する手段と協働して、試薬が沈着および分配される分析用支持体上の規定領域に揃うように位置決めが可能に設計された平板を指す。

本発明によるマスクの大きさは、操作のためにマスクを分析用支持体に近づけたとき、マスクに充填した試薬が沈着および分配される分析用支持体の全表面を覆わないような大きさである。マスクの幅(レーンの長さを含む)は、分析用支持体の電気泳動レーンの長さに比べて特に短い、それはマスクのレーンの長さが分析用支持体の電気泳動レーンの長さに比べて短いからである。したがって、分析用支持体上でのマスクの移動(後述)、およびマスクのレーン構造により可能となる該支持体上での試薬の移動の結果として、これらのレーンに試薬が分配される。

50

したがって、本発明のマスクは、試薬の分配を可能にするために、分析用支持体上を移動するものである。

「各レーンに伴う」と述べた開口部は、本発明の場合、マスクの開口部に充填した試薬が、分析用支持体上に沈着され、毛管作用により支持体とレーンとの間に保持されるようにレーンの傾斜部に供給され、マスクが移動する間に分析用支持体上に分配されるように、下側の穴が位置していることを意味する。

【0011】

前記開口部は、例えばマスクの上表面に垂直な、マスクの一方の表面から他の表面へと貫通する穴である。開口部の下側の穴は、傾斜部内の、該傾斜部の最下点近傍にあるのが望ましい。レーンの - 水平面に対する - 傾斜部の最下点「近傍」に位置していることにより、試薬がレーンに沿って上昇するので、開口部の下側の穴からレーン内の液体試薬を分配することが可能になる。

10

開口部の上側の穴を下側の穴の鉛直線上に配置できる。或いは、この試薬を分析用支持体上に沈着および分配するのに適する条件の下で、試薬が下側の穴に供給される限りにおいて、開口部の上側の穴をこの鉛直線に対して傾斜した面に沿って配置できる。

【0012】

このレーンに伴う開口部は、マスクの上表面に垂直な、一方からもう一方へ貫通する穴であり、マスクの上表面の円形の穴の先端を切断した錐の形に延ばし、例えば、レーンの傾斜部の最下点の近傍に配置した穴を介してマスクの下表面に開口する円筒形部分で終端させるのが有利である。下側の穴に開口する円筒形部分の存在により、例えば試薬を充填するときピペットにより下側の穴の縁にかかるような圧力を分散させることができ、よってマスクの強度が向上する。

20

また、先端を切断した形の開口部は、充填ピペットを有利に誘導し、レーンと分析用支持体の間に試薬を注入するときピペットの終端とマスクの間をシールすることができる。

必要であれば、円の断面を有する円筒部分を介して錐部分が上側の穴まで延びるように上記の開口部を変更できる。

本発明の特定の実施例では、上述のように開示した開口部は、上側の穴を下側の穴より大きくすることができ、例えば穴が円形の場合、上側の穴の直径は下側の直径より大きい。

【0013】

生体サンプルのための分析用支持体上へ試薬を分配するのに適した、上記に定義される特定のマスクは：

30

・マスクの厚さを構成する距離だけ離間した、少なくとも部分的に互いに平行な下表面および上表面と、

・水平面に対して傾斜をなす部分を備えた、マスクの下表面に突出した細長い形状の突出要素をそれぞれが備える1または複数のレーンと、

・上表面上にある上側の穴から、レーンの傾斜部の最も低い地点の近傍にある下側の穴までマスクの全厚さを貫通する、各レーンに伴う開口部と

を備え、

マスクが備える1または複数のレーンは、マスクを配置したときに、毛管作用により、各開口部に充填されて分析用支持体上に沈着される試薬をマスクが面する分析用支持体の表面とレーンとの間に保持することができる」と定義することができる。

40

【0014】

マスクのレーンは細長い形状で、ランプとも呼ばれる。それらの傾斜部は全部同じ方向に傾いている。

該傾斜部は、上記に述べたように毛管作用によって試薬を保持するためのものであり、またマスクを移動させたときに試薬を分配するために試薬が傾斜部の最下点にくることを確実にするためのものである。

【0015】

特に、上記に定義したような本発明によるさらに好適なマスクは：

・マスクの厚さを構成する距離だけ離間した、少なくとも部分的に互いに平行な下表面お

50

よび上表面と、

・水平面に対して傾斜をなす部分を備えた、マスクの下表面に突出した平行六面体を切り取った形状の隆起から成る突出要素をそれぞれが備える1または複数のレーンと、

・上表面上にある上側の穴から、レーンの傾斜部の最も低い地点の近傍にある下側の穴までマスクの全厚さを貫通する、各レーンに伴う開口部と

を備え、

マスクが備える1または複数のレーンは、毛管作用により、各開口部に充填されて分析用支持体上に沈着される試薬をマスクを配置したときにマスクが面する分析用支持体の表面とレーンとの間に保持することができる。

【0016】

突出要素が細長い形状の要素から構成される場合、または切り取られた平行六面体の形状の隆起から構成される場合、この突出要素は、該突出要素が配設されるマスクの下表面に一致する上面と、その上側の表面とは水平方向に対する1つ以上の傾斜部を隔てて離間する下面とを有し、各レーンの開口部の下側の穴の近傍に位置する傾斜部の最下点は、対面する分析用支持体に最も近い点であり、使用位置では分析用支持体の近傍に位置する。

【0017】

マスクの下表面から突出し、傾斜部を備える突出要素は、この支持体に対して水平な平面内を、マスクの1または複数のレーンに対面する分析用支持体の領域に沿ってマスクを移動させることより、マスクに充填した試薬を有利に沈着および分配できる。

本発明の他の実施形態では、マスクは1以上のレーンを有し、該レーンのそれぞれはマスクの下表面の下方に突き出している突出要素を備え、該突出要素は、試薬で覆う分析用支持体の幅に適応する大きさの、試薬を受容するための半球形の空間を含み、該試薬は毛管作用により半球形の空間に保持されて、マスクを移動すると該半球部分に開けた穴から分析用支持体上に分配される。そのようなマスクもまた、細長い形状の突出要素について上記で定義した特徴を有する。

【0018】

本発明の特定の実施形態では、マスクの下表面および上表面は互いに完全に平行で、レーンを構成する領域から離れている、すなわちレーンの傾斜部を構成する領域から離れている。

本発明による上述の実施形態では、突出要素の形状に関わらず、マスクの各レーンにおいて傾斜部は該レーンに一致する。

或いは、レーンの一部分のみが傾斜していてもよい。例示したように、その傾斜部の最下点に下側の穴を備えているレーンは、その傾斜部から、例えば水平方向にさらに延びていてもよい。他の変型形態では、傾斜部が複数の傾斜から構成されていてもよい。

本発明によるマスクを、例えば電気泳動ゲルのような支持体と共に用いて生体サンプルを分析するとき、このマスクを分析用支持体の「近傍」に近づける。すなわち、マスクは、試薬が沈着および分配される支持体の領域（試薬定温培養領域）と接触せず、またその支持体上に沈着した試薬は、毛管作用によりマスクのレーンと分析用支持体の間の保持され、よって支持体の上部で、分析用支持体と平行にマスクを移動させる間、マスクのレーンに対面する位置にある該分析用支持体の規定の領域全体に試薬を分配することができる。

さらに詳細には、本発明の特定の実施形態では、上述の「接触しない」ということは、試薬を沈着および分配できるように試薬が降下し始めた後、それに続く接触が起こらないということである。本発明の特定の実施形態では、後述および図示するように、この降下に関して実際には分析用支持体とのわずかな接触が起こる。

【0019】

マスクの各レーンの突出要素に形成された傾斜部は、その最下点と言われる地点が使用の際に分析用支持体が構成する水平面に最も接近する地点となるよう設計されている。このため、操作位置にあるとき、該レーンの傾斜部の最高点と言われる地点は、分析用支持体が構成する水平面から最も遠い地点である。したがって、支持体に面しているマスクの各レーンの下面は、水平面に対して傾いている。

10

20

30

40

50

分析用支持体上に沈着させた試薬を分配する間、分析用支持体を含む水平面に対するレーンの位置および各レーンに伴う開口部の下側の穴の位置のために、レーンの傾斜部の最下点において試薬にかかる毛管力が最大になるので、試薬がレーンの傾斜部の最下点へ確実に到達する。

試薬となる液体を、レーン全体にまたはレーンの一部にのみ充填することができる。

【0020】

本発明によるマスクを用いて、1または複数の試薬を、マスクのレーンと分析用支持体を接触させることなく、分析用支持体の規定の領域全体に制御しながら沈着または分配することができる。

マスクが移動するときは、損傷を与えることなくこの分析用支持体に沿って支持体に平行に滑ることができるので、使用中にはマスクのレーンと一直線上にある分析用支持体の該領域から離れると、マスクと分析用支持体は接触することができる。

10

【0021】

本発明の特定の実施形態の1つでは、分析用支持体に近接させて配設できるマスクの領域を除くと、使用中にマスクのいかなる地点も分析用支持体と接触しない。

分析用支持体の近傍にマスクを配置するためにマスクを支持する必要があるとき、該分析用支持体から離れて、例えば支持体が配置されている平面（またはプレート）上で達成されるのが好ましい。

マスク、レーンまたは傾斜部の上表面および下表面を考えると、これらの概念は、水平位置にある分析用支持体の上部にあるマスクの位置に関するものとする。言い換えれば、マスクが使用位置にあるとき、マスクの下表面および各レーンまたは各傾斜部の下表面は分析用支持体に面している。したがって、水平位置で使用するとき、突出要素の傾斜部の基準となる水平面は、分析用支持体の水平面であり。

20

【0022】

本発明はまた、本発明の原理を利用して分析用支持体上に試薬を沈着および分配するため、すなわち、毛管作用によりマスク内に規定された傾斜部と該レーンに面している分析用支持体上の領域の間に試薬を保持するために使用するマスクに関し、該マスクは、マスクの各レーンに構成されている傾斜部が、使用時に分析用支持体に対してマスクを傾けることにより生じる点が上記で詳細を述べたマスクとは異なる。この場合マスクの下表面と分析用支持体に面する突出要素の下面は平行で、マスクが分析用支持体に対して傾斜位置にあるために傾斜部ができる。

30

この特定の実施形態では、分析用支持体に対してマスクを傾けることにより傾斜部が構成されるとき、傾斜部がレーンに統合されているマスクに規定されたレーンの特徴は変型可能である。

レーンが細長い形状の場合、該レーンは平行六面体の形状を有することができ、その形状がレーンと分析用支持体の間で毛管作用により試薬を保持するための領域を規定する。使用の際、マスクを貫通する開口部は、分析用支持体に対するマスクの相対的な傾斜により形成される傾斜部の最下点の近傍の、レーンの一地点上に位置する。

【0023】

本発明によるマスクの大きさは、例えば生体サンプルの構成成分を定温培養するために、試薬を沈着および分配する分析用支持体の大きさに適応し、このマスクのレーンの形状および大きさは、分析用支持体上に沈着および分配する液体試薬の容積ならびに試薬を沈着および分配する分析用支持体上の規定の領域の形状および大きさに適応する。

40

マスクおよび分析用支持体が互いに平行に配置されているとき、1つ以上の試薬を生体サンプル分析用支持体上に沈着および分配するには、分析用支持体の平面の上方の水平面内で、マスクを最初に配置した、試薬の最初の沈着点に対応する分析用支持体の領域から、マスクのレーンに面する分析用支持体の該領域上を移動させ、試薬を分配する。

マスクのレーンの傾斜部が、レーンの構造によるものでなく、分析用支持体に対してマスクを傾斜させた（または、マスクに対して分析用支持体が傾斜している）ことにより生じている場合、1つ以上の試薬をサンプル分析用支持体上に沈着および分配するには、構造

50

的に傾斜を含むレーンを備えたマスクについて開示したものと同一の特徴を呈するように、マスクを所定の角度で傾斜させたまま移動させる。

【0024】

マスクが、試薬を受容する分析用支持体の規定の領域全体の上部を通過する1回の移動を「スイープ」と呼ぶ。例えば、最初のスイープを電気泳動支持体の陽極に相当する領域から該支持体の陰極に相当する領域へ向かって、または陰極側から陽極側へ、つまり反対の方向へ行って、電気泳動支持体（例えばゲル）の場合には電気泳動レーンに対応する、試薬を受容すべき規定の領域全体を網羅することができる。ここまでの記載と同様に、以降の段落では、試薬を沈着させる位置または移動方向を指す場合に陽極と言った時、この位置または移動方向は反対に陰極でもよいと理解されたい。

10

【0025】

よって、それぞれのレーンに伴う開口部から試薬を充填した後、分析用支持体の規定の表面をスイープにより移動している間、本発明によるマスクは、マスクの移動方向にある検査生体サンプル全部について、前記試薬を分析用支持体の規定の領域全体に及ぶように沈着および分配できる。

したがって、処理するサンプルそれぞれについて、各試薬のピペット操作を繰り返す必要がない。ピペット操作の数は、分析用支持体の一列上に沈着される試薬の数に一致し、したがってマスクの全レーンを使用するときは、通常マスクに配設された開口部の数に一致する。

さらに、分析用支持体上の各サンプルに対して各試薬を充填しなくてはならない場合に通常用いる試薬の量に比べて、マスク内に充填する各試薬の量をかなり減らすことができる。

20

【0026】

一例として、すでに電気泳動により分離されている生体サンプルの特定の構成成分を検出するために免疫固定を行うために試薬を沈着および配置する目的で本発明のマスクを用いる場合、各検査サンプルに対し6つの試薬（すなわち、通常は、電気泳動支持体上に基準プロファイルを生成するためサンプルの構成成分を固定できる固定剤、および特定の抗-IgG、IgA、IgM、kおよびl抗血清）を用いるとき、EP-B1-0526271号で開示されているような固定マスクを用いて処理する各サンプルについて充填された量と比較して、マスク内に充填する各試薬の量は4.5分の1に低減される。

30

【0027】

マスクの各レーンに充填される各試薬の量は、この試薬で覆う定温培養領域の大きさの関数として決まり、例えばマスクの移動方向にあるサンプルの列の数の関数として決まる。免疫固定のための試薬を沈着および分配するためにマスクを用いる場合、定温培養領域は、分析するサンプルのための電気泳動プロファイルを有する電気泳動支持体の領域を備えるか、または該領域に一致する。

一例として、1列に並ぶ6レーンの組を3組備えるマスクを用いて、9サンプル、さらには12あるいは18サンプル（例えば、3つの異なるサンプルの列をつくり、各サンプルが電気泳動のための分析用支持体上の、したがってマスクの、6レーンを占めるようにする）の免疫固定を行うことができる。

40

【0028】

有利には、試薬が分配される分析用支持体上の規定の各領域に、1度のスイープで試薬が均一に行き渡るような試薬の量をマスクに充填する。各試薬について充填する量を決定するために、1スイープ毎の分析用支持体上のマスクの経路および分析用支持体上で覆われる領域の幅を考慮に入れる。通常、充填する各試薬の量は4mlないし15mlの間で変化し、例えば試薬毎の量は15、10、8、6または4mlである。

一例として、均一に、つまり分析用支持体に 0.02 ml/mm^2 試薬を分配して分析用支持体の表面 175 mm^2 を覆うのに容積4mlの試薬で十分であった。

【0029】

好適には、本発明によるマスクは硬質のマスク、または例えばマスクの位置決めおよび/

50

または案内を行うことのできる補剛手段で補剛されているマスクである。

マスクを製造するために用いる材料の選択は原則的には限定されない。

例えばマスクは滑らかな表面を生成するために、特にプラスチック材料のような鑄型形成される材料で製造することができる。

材料は透明または半透明でよく、そのような材料の例としてはポリカーボネート、ポリメタクリル酸メチル、ポリエチレン、結晶性ポリスチレン、およびプレキシグラスが挙げられる。

本発明によるマスクは使い捨てにもできる。

【0030】

適切な位置決め手段および適当な誘導手段に、例えばスナップ締結などで取り付けられているとき、マスクは与えられた剛性により、分析用支持体に対して水平なまたは傾斜した所望の平面を移動できる。 10

本発明の好適な実施例では、上記に詳細を述べた特徴を有するマスクは、マスクの全長に亘り複数の互いに平行なレーンを備える。

最も多い事例であるが、マスクが互いに平行な複数のレーンを備える場合、レーン間の距離（レーン間距離）はマスク上のレーン数の関数として、および試薬間、特に固定剤と抗血清の間の相互作用を防ぐ必要性を考慮して決定される。

平行なレーン間の距離は一定であるのが有利である。この距離は短くてよく、特に隣接するレーンの固定剤と抗血清の間の相互作用を防ぐために、例えば3 mm未満、特に2.5 mm程度、好適には2 mm以下である。 20

【0031】

各試薬を分配する分析用支持体の領域の幅は、該領域に面するマスクのレーンの幅以上である。

一例として、分析用支持体上の電気泳動プロファイルの分布に一致させることができるレーンの幅および定温培養表面の幅は、同じく約2.5 mmである。他の例では問題にしている幅は3.5 mmである。

隣りの試薬との相互作用を防ぐために、試薬を沈着する異なる領域が重ならないように、または分析用支持体上に沈着させた試薬の拡散領域が重ならないように、マスクのレーンを配置することができ、または相互作用の可能性がないように、試薬の充填および分析用支持体上への降下を行うことができる。試薬の充填および降下を可能にする一部の実施形態について後で述べるが、それらは必ずというわけではないが例えば分析用支持体から外れた位置での充填段階を含んでおり、そのような種類の相互作用を防ぐ一方、レーンを平行に、および整列させた状態で維持する。 30

【0032】

上述の相互作用について、特に各サンプルについて基準プロファイルを生成するための試薬が、サンプルの特定構成成分の誤検出を招く特定の試薬（特に抗血清）との相互作用を確実に防ぐことが適切である。

このために、マスクの構造内に特定手段があるとき、マスクの全長に亘り一定間隔でならば互いに平行な複数レーンを備えるマスクの第1の実施形態では、該レーンは、マスクの全長に亘る互いに平行な第1のレーンの列と、第1のレーンに平行で互いに平行な第2のレーンの列とから成り、それらの下側の穴は同一水平面上にあって、この第2のレーンが並んでいる直線と第1のレーンが並ぶ直線はずれている。 40

【0033】

変型形態のマスクでは、第2のレーンの列をずらす代わりに、第1のレーンの列と第2のレーンの列の間隔を増やしている。

第1のレーンに対して第2のレーンの列をずらすこと、または第1のレーンに対してこのレーンの列の間隔を開けるのは、分析用支持体上に試薬を沈着させる際に、第2のレーンの列の試薬と他のレーンの試薬の間の相互作用を防ぐためである。通常、これらのずらしたレーン、またはより間隔をあけたレーンは、免疫固定のための固定剤を入れるためのもので、基準プロファイルを生成するために電気泳動プロファイルのタンパク質を固定でき 50

る。

マスクに、ずれたレーンの列または他の列のレーンに比べて異なる間隔のレーンの列もない場合、問題となっている試薬間の相互作用は、必要に応じて、例えばこれらの試薬の充填および分析用支持体上への沈着を2回のスイープに分けて行うことによって避けることができる。

例として、固定剤を電気泳動支持体の陽極側に沈着させ、スイープして分配した後、例えば陽極側にずらした位置で、例えば第1の充填操作の位置に対して5mm陰極側に寄った位置で抗血清を充填する。或いは、抗血清を陰極側で充填することができる。

【0034】

しかし2段階の充填がいつも必要とは限らず、特に試薬の充填操作によって試薬間の憂慮すべき相互作用が起こらないときは不要である。そのような相互作用は、例えば全試薬を憂慮すべき相互作用を引き起こすことなく分析用支持体上で同時に降下させることができる場合は、全試薬を分析用支持体表面の外側で同時に充填を行っても防ぐことができる。レーンの傾斜部が、レーンの構造によるものでなく、分析用支持体に対してマスクが傾いているために生じている場合、レーンをずらすまたはレーンをグループに分ける必要はなく、試薬の性質によって数段階で試薬を充填および沈着できる。

本発明によるマスクは、複数のグループに分かれるレーンを備えるように製造することができ、例えば各グループの1つのレーンは整列した他のレーンに対してずれた位置にあり、整列したレーンより前方にある。

さらに、本発明のマスクは、その構造および必要に応じて使用条件によって、分析用支持体の異なる領域上への試薬の沈着および分配を相互作用なしに行うことができるようになっている。

【0035】

特に、分析支持体上の最初に試薬を沈着させる領域では、分配の前に、分析用支持体上でこの試薬の局所的な拡散現象が有ることが観察されている。

試薬を沈着したことによる局所的な拡散現象の影響を避けるために、マスクにより試薬を沈着するときに、検査するサンプルの構成成分を含む可能性のある分析用支持体の領域、つまり例えば電気泳動プロファイルを備える領域から離して試薬を沈着させることを選ぶのが有利である。

免疫固定の場合には、例えば、電気泳動プロファイルに対応する位置から離れた位置にある領域、例えばこれらのプロファイルに対して支持体の陽極側にこの試薬を沈着させる。本発明によるマスクでは、有利にはマスクの一方の表面から他方の表面へ貫通する開口部がマスクの上表面および下表面に対して垂直である。

マスクの開口部の形状は、マスクに試薬を再充填することなく、分析用支持体の規定の領域全体に試薬を沈着および分配するのに十分な量の試薬を内部に含有できなくてはならない。

【0036】

さらに、この開口部の形状および位置は、分析支持体上に試薬を分配する操作の間に導入された量がなくなるまで、規定の量の試薬を毛管作用によってマスクのレーンと分析用支持体の間に沈着および保持するのに適している。

試薬を分析用支持体上に沈着させるとき、分析用支持体の上部においてマスクに試薬を充填するとき、マスクとピペットまたはマスク内に試薬を充填するための他の手段の終端との間を気密にするとよい。

開口部の容積は、分析用支持体の外側で試薬の充填ができるように設計されており、この場合、分析用支持体上に沈着されるまで、試薬全部が毛管作用により開口部内に保持される。この場合、その後マスクに含まれている試薬を確実に分析用支持体上に沈着できるように位置決めを行う。したがってこの位置決めは、液体と分析用支持体の間の接触を、場合によっては特定の機構を用いて確実にしなければならない。

各レーンの開口部は反応に必要な量の試薬以上の過剰な試薬を受容できるのが有利である。

。

10

20

30

40

50

【0037】

本発明のマスクは、もっと少ない量、例えば約15mlまたは10mlの試薬を分配するのにも使用できる。しかし、これらの試薬を受容するためのマスクを貫通している開口部の大きさは、効果的な量の試薬より多い量の試薬を受容できるように決めることができる。例として、開口部は約30mlまでの量の試薬を受容できるような容積にすることができる。

マスクの幾何学的な特徴、特にレーンの数およびレーン間の距離（レーン間距離）を、分析用支持体上に列状に形成される沈着の数、沈着の幅、およびこれらの沈着の間隔に合わせる。このように本発明のマスクは、列状に形成される複数のレーンを備えるために十分な長さを有し、操作中にマスクが移動するときこのレーンが面する分析用支持体の定温培養表面の電気泳動レーンの長さに対して限定された（それよりも小さい）幅を有している。

10

同一ゲル上に同数で大きさの特徴が同じ複数の沈着の列を生成するのに同じマスクを用いることができると理解されるべきで、そしてこれが本装置の特徴を構成する。分析用支持体上に沈着されるこれらの列は、互いに平行で、電気泳動の方向に垂直である。

【0038】

本発明のマスクの形状は、マスクと分析用支持体の間の距離が2mm以下、好ましくは0.1から1.5mmの場合、マスクの各レーンと分析用支持体の間に毛管作用により試薬を沈着および保持できる。マスクと分析用支持体の間のこの距離は考慮しているマスク上の位置により変わり、特に、この距離は支持体に最も近いマスク上の位置（マスクのレーンまたは傾斜部の最下点に一致する）で約0.1から0.5mmであるのが好ましく、また、分析用支持体から最も遠いマスク上の位置（マスクのレーンまたは傾斜部の最高点に一致する）で、好ましくは2mm未満、有利には1.5mm以下である。

20

これらの範囲内で、傾斜部の傾きは、分析用支持体とマスクの間の距離によりレーンと分析用支持体の間に試薬を維持する毛管力が働くような傾きでなくてはならない。

【0039】

一例として、本発明のマスクは、レーンが互いに1.5mm以上離れているように製造される。好ましくは、このレーン間の距離は2.5mmである。このレーンの幅は2.5mmであるのが有利である。

固定剤のために確保したマスクのレーンをずらすことができる。例えば、マスクが使用位置、つまり電気泳動ゲルにより構成される分析用支持体に近接しているとき、他のレーンよりも陽極に近い位置にする。

30

特定のマスクは、固定剤のためのレーンが他のレーンとは一直線上になく、他のレーンにより形成される列に対して約5mm、好ましくは6から7mmずれていることを特徴とする。

【0040】

本発明に適する特定のマスク、特に長さ10cm、幅8cm（陽極と陰極の間隔）の電気泳動ゲルに用いるのに適している特定のマスクは、マスクの各レーンが次の様な大きさを有する：

40

- ・長さ3から15mm、
- ・幅1から10mm、
- ・傾斜部の傾きが水平面に対し1度から10度。

上記のゲルに用いるのに適切な特に好ましいマスクは、マスクの各レーンが次のような大きさを有する：

- ・長さ7mm、
- ・幅2.5mm、
- ・傾斜部の傾きが水平面に対し5度。

【0041】

これらの特定の実施形態において、上記のマスクの他の特徴を、必然的に前記の特徴に関連付けることができる。特に、レーン間の距離は有利には2.5mmおよび/または特定

50

の試薬のためのレーンの列と固定剤のためのレーンの列の間のずれは6から7mmである。

本発明の1つの有利な実施形態では、上記の特徴を有するマスクを貫通する開口部が、角度約50度を形成している円筒部分を有する。

本発明の他の実施形態では、マスクの厚さが1から10mmの範囲であるのが有利である。

【0042】

本発明のマスクを電気泳動支持体上への試薬の沈着および分配に用いる場合、ここでも電気泳動支持体上で分離された生体サンプルの局在化の特徴に対応する特徴を有することができる、特にこのマスクは：

- ・マスクのレーンの列を電気泳動の方向に対して垂直になるように並べることができる。
- ・毛管作用によりマスクのレーンと分析用支持体の間に試薬を保持できるように、分析用支持体の近傍に位置することができる。
- ・分析用支持体上で行われる電気泳動の列とマスクレーンの列の位置が揃うように、電気泳動の方向と垂直に位置することができる。

10

【0043】

複数の分析用支持体に用いるために、一例として、本発明によるマスクは1ないし24の、好ましくは6ないし24の、特に6、9、12、15または18のレーンを備えることができる。

電気泳動分離の後の免疫固定反応に使用する場合、18レーンを備えるマスクは、電気泳動支持体の同じ列を占めている3つの異なるサンプルに対して、および規定数（例えば2つ以上、特に3つまたは4つ）のサンプルに対して、基準プロファイルを生成するための固定剤、および特に抗-IgG、抗-IgA、抗-IgM、抗kおよび抗λのような抗血清などの5つの特定の試薬を各サンプルに沈着させることができる。同じ特徴を利用して6または12レーンのマスクを製造することもできる。

20

【0044】

本発明は位置決め手段を備えた上記に詳細を述べたマスクにも関し、該位置決め手段は、分析用支持体上に試薬を沈着および分配する際にマスクを接近させるとき、分析用支持体の表面の近傍にマスクのレーンの下面を保持する。

適切な位置決め手段は、生体サンプルを含む定温培養表面から離して分析用支持体上に載せることができる受け部からなり、これらの受け部の大きさは、試薬の定温培養表面に相当する部分においてマスクが分析用支持体と接触しないような大きさにする。

位置決め手段はまた、前述のように、制御しながらマスクをして分析用支持体の上部を移動させることができる、マスクの誘導手段を伴うこともできる。

30

【0045】

このように、さらなる特徴として、本発明は、1つ以上の試薬を生体サンプルの分析用支持体上に沈着および分配するための装置であって：

- a) 上記に詳細を述べたようなマスクと
- b) マスクのレーンと一列に並ぶ分析用支持体の規定の領域それぞれに行き渡るように試薬を沈着および分配するために、マスクを分析用支持体の表面の近傍に保持でき、およびマスクが分析用支持体の表面をスイープするように支持体の表面に平行な水平面内を誘導できる、位置決めおよび誘導手段とを備える装置を提供する。

40

【0046】

本発明の変型形態では、マスクを分析用支持体に対して傾けることによりレーンの傾斜部が生じるマスクを用いる。この場合、本発明は、1つ以上の試薬を生体サンプルの分析用支持体上に沈着および分配するための装置であって、

- a) 上記に詳細を述べたようなマスクと
- b) マスクのレーンと一列に並ぶ分析用支持体の規定の領域それぞれに行き渡るように試薬を沈着および分配するために、マスクを分析用支持体の表面の近傍に保持でき、および

50

マスクが分析用支持体の表面をスイープするように支持体の表面に対して傾いている規定の平面を誘導できる、位置決めおよび誘導手段とを備える装置を提供する。

【0047】

本発明の特定の実施形態では、上記に特徴を述べた装置におけるマスクの位置決めおよび誘導手段は、分析用支持体とこの支持体に最も近いマスク上の位置（傾斜部の最下点に一致）の間の距離を0.1mmから0.5mmの範囲に、およびマスクと、分析用支持体から最も遠い位置（傾斜部の最高点に一致）との間の距離を、2mm未満、好ましくは1.5mm以下に設定することができる。

分析用支持体と該支持体に最も近いマスク上の位置との距離は0.5mmであるのが望ましい。 10

【0048】

本発明のマスクの位置決めおよび誘導手段は、電気泳動装置内に取り付けるのにふさわしければ、任意の適切な手段でよい。例えば経路限定器を受け部とすることができる。マスクの移動経路を限定するために、誘導手段は経路限定器を備えるのが有利である。本発明の特定の実施形態では、位置決めおよび誘導手段により分析用支持体に沿ったマスクの移動を自動化できる。しかし、本発明のマスクは手動で容易に移動させることができ、スイープにより分析用支持体上の規定の領域全体をマスクに含まれる試薬で覆うことができる。これは、適切である限りにおいて、複数の往復移動により行われる。

【0049】

本発明はまた、1つ以上の試薬を生体サンプルを含む分析用支持体上に沈着および分配するための方法に関し、その方法は：

・前記に詳細を述べたようなマスクまたは上記に述べたような装置を分析用支持体の近傍に配置する段階と

・1または複数の試薬をマスクに充填して分析用支持体上に試薬を沈着させ、毛管作用により該支持体とマスクのレーンの間に該試薬を保持する段階と

・分析用支持体をスイープしてマスクを移動させることにより、分析用支持体上の生体サンプルの構成成分と相互作用するのに十分な量の1または複数の試薬を、分析用支持体上の規定の領域に分配する段階と

を含む。 30

【0050】

マスクのレーンが傾斜部分を備える場合、マスクは、分析用支持体の上部を該支持体に平行に、支持体の平面に対して水平な面内を移動する。

マスクのレーンが傾斜部を備えていない場合、つまり傾斜部を形成するためにマスクを分析用支持体に対して傾けて配設する場合、マスクの傾斜に関係なく水平な位置にある分析用支持体の面に平行にマスクは移動する。

マスクが分析用支持体の近傍に位置するとき、試薬が分析用支持体に接触するとすぐ、マスクは分析用支持体をスイープするように移動することができる。

【0051】

分析用支持体の規定の領域、例えば生体サンプルの電気泳動レーンに一致する領域に分配されると、これらの領域は該サンプルの構成成分と試薬を定温培養する領域となる。 40

本発明のマスクを利用する1つの利点は、分配を終えた時点でマスクに充填された試薬全量が無くなっており、分析用支持体の定温培養領域を構成する規定の領域からすぐにマスクを取り除くことができるという点である。

本発明のマスクの使用に関する他の利点は、定温培養領域全体に、試薬を均一に分配できる点である。

【0052】

サンプルの構成成分および試薬の定温培養が行われる分析用支持体の領域を覆うのに必要な量に対し、過剰な量の試薬を用いるのが有利である。過剰な量の試薬とは、分析用支持体上部を速度約2cm/sで1回通過（1スイープ）したときに分配される量よりも多い 50

量の試薬ということである。

分析用支持体のスイープされた表面の単位面積当たりの試薬の残量は、表面面積、および特にスイープ長に依存する。スイープする速度が遅くなると試薬の残量は増える。

分析用支持体に対するマスクの移動速度は通常 0.5 から 2 cm/s の範囲である。

【0053】

例として、試薬を陽極と陰極の間（スイープする長さに一致）に画定される幅 8 cm の電気泳動支持体上に分配するために、それぞれが往復移動を含む 2 度の移動を行うことができ、それぞれの移動には約 3 秒を要する。この場合、沈着できる試薬の量はレーン当たり 6 ml から 10 ml の範囲である。

もっと遅い速度、すなわち約 0.5 cm/s で、幅 2.5 mm のレーンに分配を行うと、レーンの下に導入される 3 - 4 ml の試薬は 70 mm 進んだ時点でなくなる。

2.5 mm 幅のレーンに対し、マスクが分析用支持体に対してスイープする経路が 70 mm であるとき、試薬の量をレーン当たり約 8 から 10 ml にするのが有利である。

【0054】

最初のスイープを実行したとき、0.5 cm/s でゆっくり移動させた場合、また特に平均速度 2 cm/s で移動させた場合は、いくらかの試薬がレーンの下に残る。

導入された試薬が完全に無くなるまで、さらにスイープする必要がある。スイープの回数は各レーンに導入された試薬の量の関数として変化する。

実際には、各試薬の量は、試薬を使い果たすのに 4 回のスイープで十分であるような量である。

それぞれの開口部に 10 ml 充填した場合、マスクは、例えば、2 往復、距離 70 mm スイープする。これらの 4 回の通過で全試薬を表面上に分配した後、意図しない分配をする危険性を伴わずにマスクを取り除き、適切な定温培養段階を始める。

【0055】

本発明による特定の実施形態では、分析用支持体上に試薬を分配するのに 2 度のスイープ（1 往復）を行う。スイープした後に分析用支持体上に試薬が少量残っても、定温培養の前に除去する必要はない。マスクの操作状態により均一に分配される。

スイープ長が短い場合、レーン毎に分配される試薬の量を低減するのが有利である。

前述で、1 つ以上の試薬を分析用支持体上に沈着および分配するための方法を実行するために用いるマスクでは、基準プロファイルを生成するために生体サンプルの構成成分を固定できる固定剤のためのレーンが、他のレーンに対してずれていると有利であるということを示唆した。

【0056】

例えば特定の抗血清のためのレーンと、固定剤のレーンとのこのずれにより、分析用支持体上に沈着される際の試薬間の相互作用を防止することができる。このずれは全ての試薬をマスクに充填して同時に沈着させる場合、特に有効である。

或いは、例えば固定剤のためのレーンがずれていない場合、マスクを 2 段階で充填し、最初に抗血清を、次いで固定剤を沈着させることができる。或いは、この 2 段階の充填は、最初に固定剤を充填および沈着し、その後特定の試薬を充填および沈着して実行することもできる。

また或いは、試薬間、特に特定の試薬と固定剤を使用する場合は固定剤の間の相互作用を引き起こすことなく分析用支持体上に試薬を沈着できる状態であれば、充填を 1 段階で行うことができる。

レーン内に傾斜部を形成するために、分析用支持体に対して傾けて使用しなくてはならないマスクの場合、レーンは互いにずれていないが、相互作用が許されない試薬（例えば固定剤と抗血清）の充填は、最初に充填した試薬をスイープにより分配してから第 2 段階の試薬を充填するという 2 段階で行うか、または試薬を分析用支持体上に沈着させるとき、憂慮すべき相互作用を避けることができるような状態で行う。

【0057】

特定の実行例では、本発明の沈着および分配の方法は、生体サンプルを含む分析用支持

10

20

30

40

50

体の表面の領域から離れたところで、マスクに試薬を充填する。

多少の時間（30秒から2分）を要するこの充填を行う。この位置において試薬で覆われる分析用支持体の領域は拡散の結果レーン自体より広くなる。明らかにしようとしているサンプルの構成成分のプロファイルを備える領域に対して充填が鉛直に行われると、この拡散はプロファイルの異常な拡大を引き起こすことがあり、それは試薬を生体サンプルとともに定温培養した後で明らかになる。

サンプルの構成成分を含む分析用支持体の領域から離してマスクを充填すると、試薬が沈着領域から拡散するというこの欠点は生じない。

分析用支持体の表面の大きさが許せば、該充填を該サンプルの電気泳動プロファイルが位置する領域外の陽極部分で行うことができる。或いは該充填を該サンプルの電気泳動プロファイルが位置する領域外の陰極部分で行うことができる

10

【0058】

分析用支持体の表面の大きさのために、サンプル電気泳動プロファイルを含む領域外での沈着ができない場合、マスクを支持体表面外で、例えばプラスチックの薄いシート上で充填することができる。このシートは分析用支持体に接触しており、また該支持体表面と同一平面内にあるが、該支持体表面から外れて伸びている。

本発明はまた、生体サンプルを含む分析用支持体上に1つ以上の試薬を沈着および分配する方法であって：

- ・分析用支持体上に試薬を沈着させるため、試薬をマスクに充填し、該支持体とマスクのレーンの間に毛管作用により試薬を保持する段階と

20

- ・前記に詳細を述べたようなマスクまたは上記に述べたような装置を分析用支持体の近傍に配置する段階と

- ・分析用支持体をスワイプしてマスクを移動させることにより、分析用支持体上の生体サンプルの構成成分と相互作用するのに十分な量の1または複数の試薬を、分析用支持体上の規定の領域に分配する段階と

を含む方法に関する。

【0059】

沈着および分配方法を行う際の前述の特徴は、この場合にも当てはまる。

分析用支持体の上部で位置決めする前に充填を行う可動マスクの実行例では、全ての試薬はマスクの各レーンに伴う上側の穴から導入され、その後該穴は貯留部として機能する。各開口部は下側の穴を有しているにも関わらず、これらの試薬は毛管作用によって該開口部の内部に保持される。

30

上述の構成において、マスクを分析用支持体の上部で充填する場合、マスクを予め該支持体から規定の距離（最下点までは約0.5mm）だけ離れた位置に配設し、試薬をマスクのレーンと分析用支持体の間に直接導入する。

【0060】

このために、ピペットのチップ部に保持されていた試薬を放出する段階では、このチップ部の末端とマスクの上側の穴の間を気密にする。例えばチップ部をマスクの開口部の下側の穴に近い錐部分の底部に軽くあて、ピペットを鉛直位置に保持する。下の錐部分が円筒部分となって延びており、この円筒部分の直径（例えば0.8mm）はピペットのチップ部が通過できない大きさである。これはレーンに伴う開口部の下側の穴から試薬が「外力により」放出されることを確実にし、この下側の穴から滴下する小滴が近傍の（0.5mm）分析用支持体と接触し、毛管作用によりレーンと支持体の間に分配される。ピペットのチップ部と上側の穴の間が気密でないときは、試薬は上側の穴に残り分析用支持体上に降下しない。

40

【0061】

これはまさに、気密にはなっているが、下側の穴が分析用支持体の表面の近傍にない、すなわち分析用支持体から離れて充填を行う場合に当たる。

このような状態では、滴下し（しかし容積が10ないし15mlと非常に小さいので落下しない）、毛管作用のために下側の穴の付近に付着したままの小滴は、ピペットを取り除

50

くと、「チップ部分/上側の穴の接触」が無くなり、上側の穴により構成される貯め部分内へと上昇する。

充填してから分析用支持体の上部に配置するマスクを用いたこの特定の実施例は、自動で行うことができるという利点を有し、例えばHydraplusSEBIA自動化装置を用いると、手動でのピペット操作の必要性がなくなり、マスクの充填をさらに単純化する。

【0062】

貯留部として機能する上側の穴の中に試薬を分配して充填したマスクは、使用前に湿潤空間内で数分から数時間保持することができる。

マスク内に充填された試薬を分析用支持体上に沈着させるための他の方法を考えることができる。 10

第1の実施形態では、異なる試薬を充填したマスクおよびマスク保持具組立体（マスク保持具はマスクの位置決めをする手段を構成している）を、誘導レールに取り付け、陽極位置の受け部に導いて分析用支持体の上部に配置する。マスク組立体は、上側の穴全部を覆い、マスクの周縁部に当接する（平らな表面が平らな表面を密閉している）小さなチャンバで覆われている（図3）。このチャンバは取り付け部品を伴い、それを通じて少量（50から200ml）の空気を素早く注入する（例えば注射器を用いて）。これにより密閉された空間の圧力が高まると、各試薬がマスクレーンの下に滴下し、次いでこれらの試薬はゲルに接触する。この分析用支持体との接触に続いて、それらは毛管作用によりマスクのレーンと分析用支持体の間に同時に分配される。その後分析用支持体の表面をスweepする。 20

【0063】

他の実施形態では、前もって充填したマスクおよびマスク保持具組立体を、マスク保持具を案内レールに取り付け、陽極位置の受け部に導いて分析用支持体の上部に配置する。

マスクの下側の穴の直径（例えば0.5mm）より小さい直径を有する、親水性の材料（例えばステンレス鋼）からなる円筒形のロッドを、上側の穴それぞれの中に鉛直に導入し分析用支持体に接触させると、貯留部として機能しているマスクの上側の穴から分析用支持体上に試薬を落下させることができる。

このロッドは上側の穴に導入された液体と分析用支持体の間の接合を確立する。導入された液体全部は毛管作用によりロッドに沿って降下し、レーンと分析用支持体の間に分配される。 30

マスクの上側の穴それぞれにロッドを鉛直に且つ同時に導入すると、全試薬を同時に降下させることができる。これらのロッドは、同じ長さ（5から10mm）の棒を、例えばマスクと同じ大きさの、マスクの穴の配置を正確に再現した構造を有する長方形のプレキシグラスプレートに挿入することにより、互いに一体形成したものである。全ての試薬がマスクのレーンと分析用支持体の間に分配されたら、ロッドを伴うプレキシグラスプレートを取り除き、ゲル表面に沿ってマスクをスweepする。

【0064】

本発明の他の実施形態として、全試薬を同時にゲル上に滴下させることができる第3の方法は、分析用支持体の上部でマスクを受け部（特に陽極または陰極の受け部）に位置決めした後で、機械的な衝撃を加えることからなる。この衝撃は、例えば充填したマスクをマスク支持器にスナップ締結することにより得られる。 40

この衝撃により、それまで毛管作用によりマスクの貯留部内に保持されていた試薬に慣性が働き、滴として分析用支持体上に放出することができ、したがってレーンの下側の穴におけるマスクレーンの最下点と分析用支持体との間の接合が確立され、貯留部内の全試薬を毛管作用によりマスクレーンと分析用支持体の間に分配できる。その後、ゲル表面をスweepできる。

【0065】

また他の実施例では、マスクを分析用支持体から離して充填する場合、試薬を上側の穴に分配しマスクを分析用支持体の上部に取り付けた後で、マスクのレーンの傾斜部の最下点 50

を分析用支持体に少しの間接触させる。そのような接触の目的は、分配を始める前に、全試薬を分析用支持体の上に落下させるためである。

充填したマスクを前述の実施例のうちの1つの使用位置に配置し、すなわち各レーンが規定量の試薬を収容してから、誘導手段を用いてマスクを分析用支持体に平行に電気泳動の方向に移動させる。移動の結果、マスクのレーンと一直線になる分析用支持体の表面をスイープすることにより、マスクのレーンと分析用支持体の間にある液体は引き延ばされることになる。毛管作用によりマスクと分析用支持体の間に保持されている液体は、特に移動の間試薬を最下点にもたすことができるレーンの傾斜部のために引きずられ、一定量の試薬はその後分析用支持体上に沈着し、浸透して留まる。スイープが進むにつれ、レーンの下方に含まれる液体は分析用支持体内に浸透するので消費され低減する。

10

【0066】

本発明はまた、マスクに試薬を充填する段階が自動化された、試薬を分析用支持体上に沈着および分配する方法に関する。

本発明のさらなる実施例では、分析用支持体をスイープする段階が自動化されている。

本発明の方法は前もって電気泳動により分離された生体サンプルの構成成分を有利に検出する。この検出は場合によっては免疫固定を含み、この場合の試薬は特定の抗血清および好ましくは基準電気泳動プロファイルを生成するための固定剤である。

本発明のそのような方法は、電気泳動および免疫固定技術を行う通常の状態で行うことができる。用いる試薬は通常の試薬であるが、これらの試薬は通常用いられる試薬の量と比較して、本発明では少ない量を用いている点が有利である。

20

【0067】

本発明はまた、免疫固定により1つ以上の生体サンプルの構成成分を検出するための方法を提供し、その方法は：

- ・ 1または複数の構成成分を分離するために生体サンプルの電気泳動を行う段階と
- ・ 電気泳動支持体、本発明の場合好ましくはアガロースゲル上に試薬を沈着および分配する方法を行う段階と
- ・ 免疫固定するために、電気泳動により分離された生体サンプルを分配された1または複数の試薬と共に定温培養する段階とを含む。

そのような検出方法はまた、免疫固定された生体サンプルの構成成分を明らかにする段階と、適切であれば、明らかにされた構成成分の定量をする段階とをさらに含む。

30

これらの検出および定量化の段階は知られている方法を用いて行うことができる。

有利には、本発明において上記で規定した方法は、それぞれ18、12、または6つの分析用レーンを有するマスクを用いて、 n を沈着の列の数を表す自然数とすると、それぞれ $3n$ 、 $2n$ または n 個の生体サンプルを同時に分析できる。 n は2、3または4であるのが好ましい。

しかし、原理的にはマスク上のレーン数についての制限はない。

【0068】

マスクの構造およびその使用の際の特徴により、マスクの各レーンに充填される試薬それぞれの量、すなわち各レーンの各開口部に導入されて毛管作用により各レーンの下に保持される量を、有利に低減することができ、例えば1レーンにつき15ml未満にすることができる。1レーンあたりの量は10ml未満であるのが好ましい。

40

試薬を分析用支持体上に沈着するとき、試薬は液体である。したがって、本発明はマスクを充填するための液体試薬の使用に関する。本発明はまた、液体試薬を充填したマスクを、沈着段階で試薬を溶解してマスクを用いるまで、マスクの開口部内に含まれる試薬を凍結乾燥するためにその後マスクを凍結乾燥するようなマスクの使用法に関する。

さらなる実施例では、本発明は：

- ・ 上記に詳細を述べたような1つ以上のマスクと
- ・ 特に関電泳動支持体である、1つ以上の分析用支持体と

50

を備えるキットであって、

- ・電気泳動により分離されたサンプルの構成成分を免疫固定するための試薬と
- ・電気泳動により分離された構成成分の集合体である各サンプルを固定するための固定剤をさらに備えるキットを提供する。

該キットはまた、分析用支持体上にサンプルを沈着するための1つ以上の櫛を備えることができる。

【0069】

電気泳動支持体から離してマスクを充填しなくてはならない場合、該キットは、例えば上記のような、マスク内の試薬を開口部から分析用支持体上に落下させる手段を備えることができる。

そのようなキットは、好ましくは、18レーンを備えるマスクを用いて、各電気泳動支持体上で9またはさらに12個のサンプルの分離を同時に行うのに適している。

好ましくは、そのようなキットは各電気泳動支持体上で18サンプルを同時に分離できる。

本発明によるキットはまた、マスクに充填される試薬の量および/または、スイープ速度あるいは推奨されるスイープの回数など、マスクの移動の条件に関する情報を含め、例えば使用の指示の形態で、本発明のマスクの使用に関する表示も含むことができる。

必要であれば、本発明によるキットの特定の実施例では、マスクは別に調達可能な分析用支持体を伴わない。

【0070】

本発明によるマスクは、有利には試薬で充填される。

さらに、本発明は少なくとも1列が3サンプルからなる3列9個の生体サンプルを分離するための電気泳動支持体に関し、免疫固定の場合は、該支持体は少なくとも18泳動レーンを備え、該レーンは互いに2mm離れ、幅は3mmで、泳動レーンの全長は63mm以下である。

本発明の他の特徴、利点および詳細は、添付の図面を参照する以下の記述で明らかにする。

マスク貯め部分に充填された試薬が降下するように、マスク保持具に圧力をかける。それによりバネリーブ(spring leaves)47が曲がり、充填コンジットの下側の穴34が位置するレーンの最下点が、ゲルと接触する(受け部システムにより、ゲルを破壊しないようにバネの曲がりを制限できる)。

ベアリング領域46を開放すると、マスクは上昇して最初の位置に戻ることができ、該コンジット36に含まれる試薬が毛管作用によりレーンの下の部分およびゲルの間に分配される。

その後ハンドル26を用いてマスクを前後に移動させる。

【0071】

図1ないし図3に示す装置は、支持アーム12に着脱可能に取り付けられた概ねC字型の本発明によるマスク10を備え、該マスクの支持アームは滑り面16のレール14に取り付けられて該レール上を平行移動するようにガイドされ、分析用支持体(例えばアガロースゲル)を搭載するプレート(図示せず)上で位置決めおよび固定される。

滑り面16は、このプレートの一端に亘って電気泳動の方向と平行に伸び、貫通する2つの溝穴18を有しており、該溝穴18内にはプレートの端部と一体の別の滑り面21に搭載される中空のピン20が嵌合する。該ピン20の中空部は泳動プレートから伸びる止め金(図示されていない)に嵌合し、それがネジ22と協働して滑り面16の横位、つまりプレートおよび分析用支持体に対するマスク10の位置を調整する。この滑り面はまた、調整後に滑り面を固定できるネジ24を備える。

【0072】

レール14は電気泳動の方向と平行に延び、アーム12の一方の終端にある対応する溝と係合している。この終端はレール14上で、一方向またはその反対方向への平行移動を行うためのハンドルまたはロッド26を有する。

10

20

30

40

50

変型形態では、駆動軸がチェーンまたはベルトとそれぞれ協働する歯車またはプーリを駆動する電動モータをアーム 1 2 に接続するなどして、アーム 1 2 の移動を自動化するための動力手段を滑り面 1 6 に取り付けることができる。

マスク 1 0 は、例えば 2 8 に示したような弾性スナップ締結のような、任意の適切な手段を用いてアーム 1 2 に固定されており、横方向、すなわち電気泳動の方向に垂直に延びる、平坦で細長い概ね長方形の平板として形成される。

この平板は、アーム 1 2 の下表面に形成または固定される突出ピンまたはブロック 3 0 によって、分析用支持体上に、該支持体から規定の距離をおいて保持される。該ピンまたはブロック 3 0 は、上述のプレートの縁に配設される。

【0073】

マスク 1 0 の下表面は、傾斜部を有する互いに平行な一連のレーン（またはランプ）3 2 を備え、該レーンは例示したように千鳥状に互いにずれて、横方向の 2 列に配設されている。このレーン（またはランプ）3 2 は電気泳動の方向と平行に延び、同一方向に傾いている。それらの最下点は分析用支持体上に試薬を沈着するための穴 3 4 を備える。この穴 3 4 は、マスク 1 0 をその全厚さに亘って横断するコンジットまたは通路の下側の穴で、直径が下側の穴 3 4 の直径よりはるかに大きい穴 3 6 を経てマスクの上表面に開口している。

【0074】

図 4 ないし図 6 に示す 1 つの実施形態では、これらの穴 3 4 および 3 6 は小さな円筒形のコンジットの端部であって円形の断面を有し、錐台形のコンジット 3 8 を介して互いに連結されている。

マスク保持具 1 2 およびスナップ締結されたマスク 1 0 を誘導レール 1 4 に取り付け、ネジ 2 2 を用いて横方向の調整をすることにより、マスクのランプとサンプルの泳動レーンの縦方向の位置合わせを行うことができる。これは、沈着したサンプルにプロモフェノールブルーなどの適切な着色剤を添加して可視化できる。

マスクは、ハンドル 2 6 を用いて手動で、または上述の動力手段を用いて、分析用支持体上をスイープできる。

【0075】

図 3 で略図を示したように、マスク 1 0 の上にカバー 4 0 を配置しその上に固定して、マスク 1 0 内に形成されたコンジット 3 4、3 6、3 8 を概ね気密に封止することができる。カバー 4 0 上のチューブ 4 2 はこれらコンジットの上側の穴 3 6 の上で開口しており、マスクとカバーの間に少量の空気を導入して、マスクのコンジット内にある試薬に圧力をかけ、コンジット内を落下させて分析用支持体と接触させることができる。

試薬を用いるには、試薬をマスク 1 0 のコンジット内に充填し、これらのコンジットをカバー 4 0 により実質的に気密となるように封止し、マスク 1 0 / カバー 4 0 組立体を異動して分析用支持体の上に配置する。

【0076】

図 7 および図 8 は、マスク 1 0 の 2 つの変型形態の略図を示しており：

- ・ 図 7 に示す変型形態は、互いに平行で千鳥状にずれた 2 列に配設された、1 8 個の貫通するコンジットを備え、

- ・ 図 8 に示す変型形態は、6 個の貫通するコンジットからなるグループを 2 つ備え、該 2 つのグループはマスクの長さによって一列に並んでおり、各グループは 1 直線上にある 5 個のコンジットとずれた 1 個のコンジットを備える。

【0077】

【発明の実施の形態】

例 1

1 8 レーンを有する可動式マスク（図 4）を用いた 9 サンプルの同時免疫固定

操作はセビア（SEBIA）の Hydrasys R 電気泳動装置を用いて、大きさ 0 . 7 × 8 3 × 1 0 1 mm の免疫固定用のゲル上で行われた。

電気泳動支持体上にサンプルを沈着させるため、2 mm 間隔で配設された 3 mm の歯を 1

10

20

30

40

50

8個備えるアプリケーション（仏国特許出願公開FR-A-2671290号および欧州特許出願公開EP-A-0493996号）を用いた。各サンプルを連続する6個の歯に充填した。したがって各アプリケーションは3つの異なるサンプルを電気泳動ゲル上に沈着させることができるので、9つのサンプルを分析するために3つのアプリケーションを使用した。Hydrasys R装置を用いて、ゲルの陰極端からそれぞれ18、38、58mmの距離にある平行な3列に、ゲル上への沈着を行った。電気泳動は、温度を20℃に制御し、一定電力20Wで、31ボルト時間に亘って行った。

【0078】

泳動が完了した後、レーンの幅2.5mm、長さ7mm、レーン間の距離2.5mm、レーン傾斜5度という幾何学的特徴を有する、18レーンを備える本発明による可動式マスクを取り付けた。3レーンからなる（固定剤のための）列を、15レーンからなる（抗血清のための）列に対して5.5mmずらした。

Hydrasys R装置の泳動プレート上にある2つの止め金上に、誘導レールのピン20内の中空を配置した。

誘導レールに取り付けたマスク保持装置12に18レーンのマスクをスナップ締結した。マスクおよびそのマスク保持装置を、高い位置、すなわちゲルの陽極側に当接させた。ゲル上に配置されたサンプルに、着色剤、プロモフェノール・ブルーを取り込ませると、分析支持体上の電気泳動レーンの位置が見えるようになった。横方向の調整手段20、22を用いて、マスクのレーンまたはランプと、サンプルの泳動レーンの縦方向の位置を合わせた。

【0079】

次いで免疫固定に必要な様々な試薬を、1レーン当たり10mlずつ、一般的な順、すなわち固定剤、抗IgG、抗IgA、抗IgM、抗カップ、抗ラムダの順にレーンの上側の開口部（36）から導入してマスクを充填した。固定剤は3つの陽極側にずれたレーンの下に導入された。

これらの充填された試薬10mlは、レーンとゲルの間に導入された後、陽極側の、後述する検出領域から外れた位置に5-6mmに、各レーンの下に分配された。

マスクを充填した後、ハンドル（26）を用いて誘導レールに沿って滑らしながら移動させた。この移動は、ゲルの高い位置（陽極側）から低い位置（陰極側）へ向かって、経路63mmに亘る経路上を、反射動作なく概ね一定の速度で行なわれた。このスイープは約3秒で行った。

【0080】

マスクが陰極位置側の受け面に当接した後、同じ条件で反対方向にスイープした。これらの2回のスイープを再び繰り返した。ここまでの、最初にレーンの下部に導入された試薬全部は、電気泳動領域の上のゲルに沈着した。20℃で5分間行われるゲル上の試薬の定温培養の前に、マスクを取り除くことができた。

その後、通常の免疫固定プロトコルを用いて、吸水、乾燥、洗浄、染色、脱色、および乾燥段階を進めた。

【0081】

例2

18レーンを有する可動式マスク（図4）を用いた12サンプルの同時免疫固定

前例の手順を繰り返したが、18歯のアプリケーション4つそれぞれに、3つのサンプルを充填した。Hydrasys R装置を用い、ゲル上に、ゲルの陰極端からそれぞれ18、33、48、63mmの距離にある平行な4列に沈着させた。泳動は、20℃、一定電力20Wで、28ボルト時間に亘って行った。その方法は前の例で記述した。

【0082】

例3

12レーンを有する可動式マスク（図8）を用いた4サンプルの同時免疫固定

2mm間隔で配設された幅4mmの歯15個を具備するアプリケーションを用いて、サンプルをゲル上に沈着させた。各アプリケーションに2個のサンプルを充填した（サンプル番号1を

10

20

30

40

50

歯 2 ないし 7 へ、およびサンプル番号 2 を歯 9 ないし 1 4 へ充填)。

Hydrasys R 装置を用い、ゲルの陰極端からそれぞれ 2 3 および 5 3 mm の距離にある平行な 2 列に、ゲル上への沈着を行った。

泳動は、温度を 20 に制御し、一定電力 20 W で、4 2 ボルト時間を行った。

泳動が完了した後、レーンの幅 3 . 5 mm、レーンの長さ 7 mm、レーン間の距離 2 . 5 mm、レーンの傾斜 5 度という幾何学的特徴を有する、1 2 レーンを備える本発明による可動式のマスクを据え付けた。2 レーン(固定剤を充填するためのレーン)から成る列は、1 0 レーン(抗血清を充填するためのレーン)から成る列から 5 . 5 mm ずれている。

【0083】

Hydrasys R 装置の泳動プレート上の 2 つの止め金上に誘導レールのピン 2 0 内の空洞を配置した。誘導レールに取り付けられているマスク保持具 1 2 に 1 2 レーンのマスクをスナップ締結し、組立体を高い位置に当接させた。

横方向の調整手段を用いて、マスクのレーンをサンプルの電気泳動のレーンに位置合わせした(例 1 と同様)。

1 レーン当たり 1 4 ml の試薬を導入してマスクを充填した。

前述の例で開示したように、マスクを 4 回スワイプして試薬を分配した。

該分配により試薬全部がゲルの表面上に沈着しており、マスクを取り除いた。

その後、定温培養し、さらに通常の免疫固定プロトコルを用いて吸水、乾燥、洗浄、染色、脱色、および乾燥段階を進めた。

【0084】

例 4

1 8 レーンを有する可動式マスク(図 4)を用いた 3 6 I F p e n t a 技術の実行

I F p e n t a 技術は、単クローンまたはオリゴクローン免疫グロブリンバンドの形態の、分析されたサンプル中のパラプロテインの存在を検出するために日常的に用いられている。

この技術は、五価抗血清、すなわち抗 I g G、抗 I g A、抗 I g M、抗カッパおよび抗ラムダの特性を備えた抗血清を用いて免疫固定を行うことにより、総タンパク質のプロファイルおよび全免疫グロブリンのプロファイルを分析した各サンプルについて、並行発現を行うことにより実行される。

【0085】

この例では、セビア(S E B I A)の Hydrasys R 電気泳動装置を用いて、免疫固定用の大きさ 0 . 7 x 8 3 x 1 0 1 mm のアガロースゲルを用いて操作を行った。2 mm 間隔に配設された 3 mm の歯 1 8 個を有する櫛を用いた。分析する各サンプルには平行して 2 度沈着を行った。すなわち、1 つのアプリケーションにつき 9 サンプルの沈着を行った。3 6 サンプルの沈着を行うために、4 つのアプリケーションを用いた。

Hydrasys R 装置を用い、ゲルの陰極端からそれぞれ 1 8、3 3、4 8、および 6 3 mm の距離にある平行な 4 列にゲル上への沈着を行った。次いで、温度を 20 に制御し、一定電力 20 W で、2 8 ボルト時間に亘って泳動を行った。その後、図 7 に示す本発明による 1 8 レーンの可動式マスクを据え付けた。

【0086】

このマスクはそれぞれ 9 レーンを有し、互いに 5 . 5 mm ずれている 2 列から構成される。陽極側の 9 レーンは固定剤を収容するため、他の 9 レーンは 5 価抗血清を収容するために使用した。各レーンは、幅 2 . 5 mm、長さ 7 mm、レーン間の距離 2 . 5 mm で、5 度の傾斜を有するものであった。

マスクをマスク保持具にスナップ締結し、陽極側の高い位置に当接させた。

1 レーン当たり 1 0 ml の試薬を導入した。

その後例 1 ないし例 3 の手順を行った。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明によるマスク保持具装置を下から見た概略的な斜視図である。

【図 2】本装置を上から見た概略的な斜視図である。

10

20

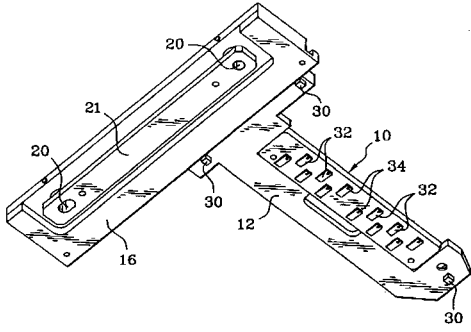
30

40

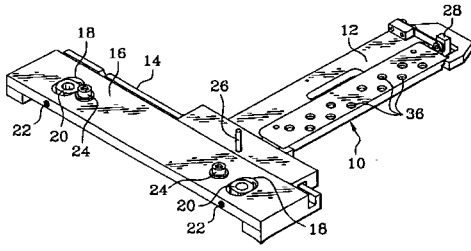
50

- 【図 3】本装置、およびそのカバーを上から見た概略的な斜視図である。
- 【図 4】本発明によるマスクを下から見た図である。
- 【図 5】本発明によるマスクを横から見た図である。
- 【図 6】図 4 の線 V I - V I における断面図である。
- 【図 7】変型形態の概略的な斜視図である。
- 【図 8】別の変型形態の概略的な斜視図である。
- 【図 9】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、電気泳動支持体上でマスクの位置決めをするため、および該支持体上で、規定の方向ならびに回数でマスクの移動をするための誘導手段を上から見た図である。
- 【図 10】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、スライド 49 によりレール 14 上に取り付けられるキャリッジを上から見た図および下から見た図である。キャリッジは、電気泳動ゲルが配置される平面上で、ゲルのいずれかの側に配置される足 30 を 4 つ備える。足 30 はこの平面上を滑ることができる。 10
- 【図 11】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、切り欠き部 43 およびバネ 28 によりマスクを受容し保持するマスク保持具を上から見た図および下から見た図である。マスク保持具は、マスクを動かしてゲルと接触させるために圧力をかけるベアリング領域 46 を備える。
- 【図 12】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、リベット 48 が保持する 2 つのパネリーブ 47 により連結されたキャリッジとマスク保持具の組立体である。この組立体がスライド 49 により誘導レール 14 上に取り付けられると、マスクは、ゲルに接触することなくゲルの近傍で、ゲルに対して平行に保持される。 20
- 【図 13】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、キャリッジ、マスク保持具およびマスクを備える組立体を上から見た図である。
- 【図 14】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、電気泳動プレート上の位置決め棒 50 に取り付けられたマスクおよび誘導組立体がスイープの端の位置にある状態を示す。
- 【図 15】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、電気泳動プレート上の位置決め棒 50 に取り付けられたマスクおよび誘導組立体がスイープの端の位置にある状態を示す。
- 【図 16】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、電気泳動プレート上の位置決め棒 50 に取り付けられたマスクおよび誘導組立体がスイープの端の位置にある状態を示す。 30
- 【図 17】1 列のみのレーンを有する本発明の別の実施形態であって、電気泳動プレート上の位置決め棒 50 に取り付けられたマスクおよび誘導組立体がスイープの端の位置にある状態を示す。

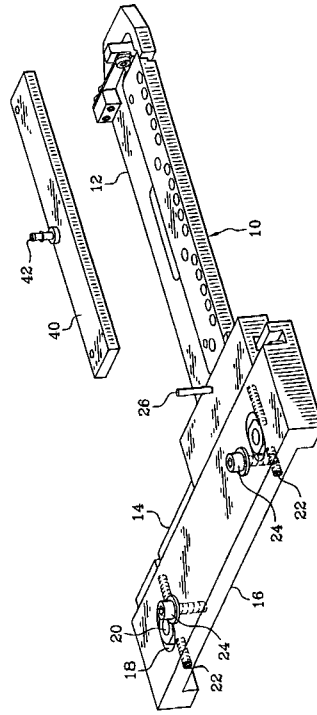
【 図 1 】



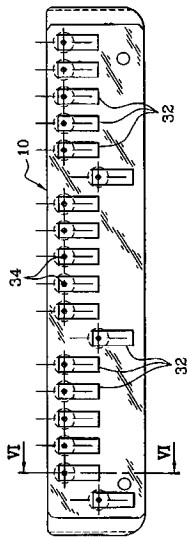
【 図 2 】



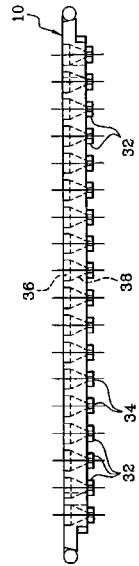
【 図 3 】



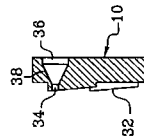
【 図 4 】



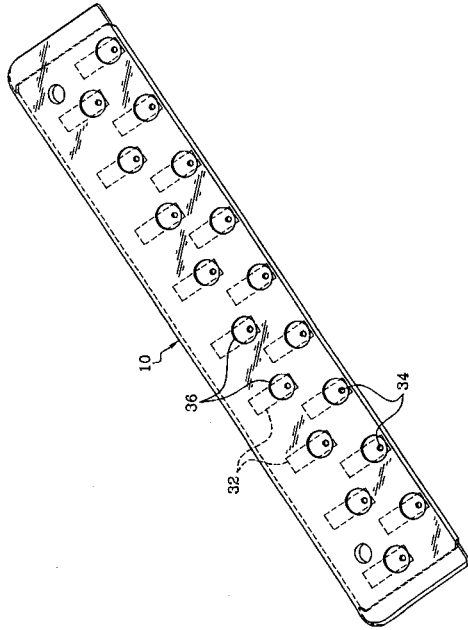
【 図 5 】



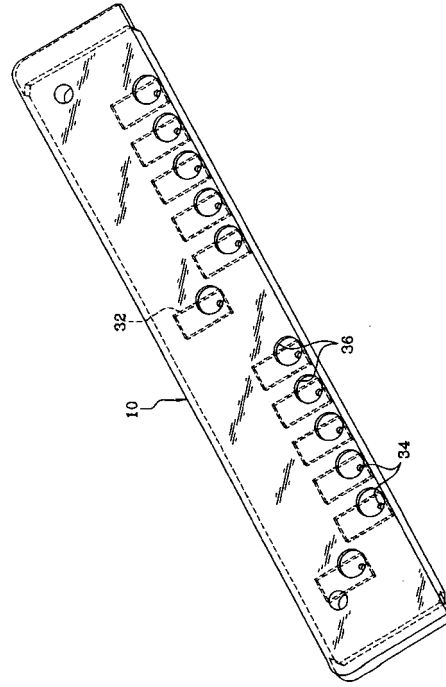
【 図 6 】



【図7】



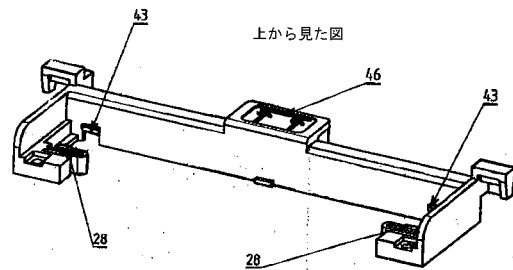
【図8】



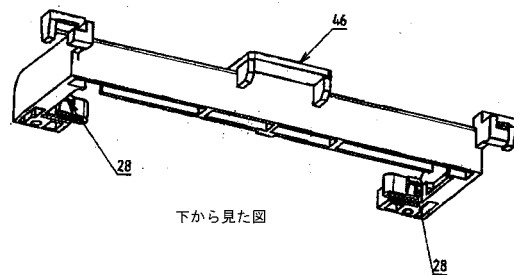
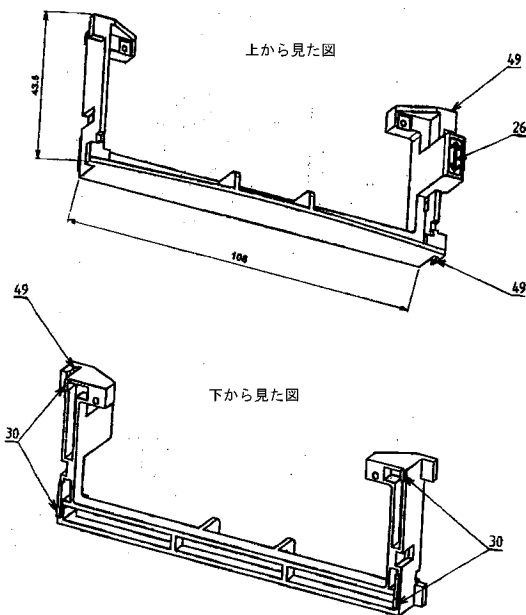
【図9】

公序良俗違反のため不掲載

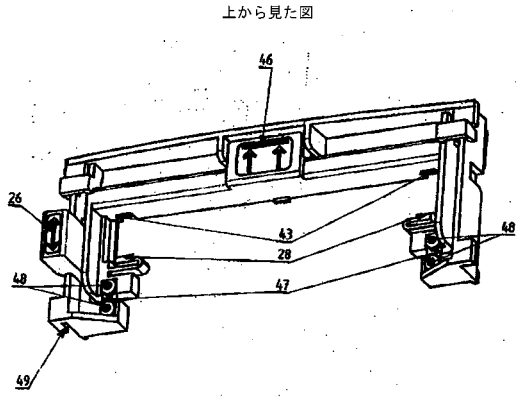
【図11】



【図10】



【 図 1 2 】



【 図 1 3 】

公序良俗違反のため不掲載

【 図 1 4 】

公序良俗違反のため不掲載

【 図 1 5 】

公序良俗違反のため不掲載

【 図 1 6 】

公序良俗違反のため不掲載

【 図 1 7 】

公序良俗違反のため不掲載

【 図 1 8 】

公序良俗違反のため不掲載

【外国語明細書】

Title of Invention

MASK FOR DEPOSITING AND DISTRIBUTING REAGENTS ON AN ANALYTICAL SUPPORT

Claims

1. A mask for depositing and distributing reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

- a lower surface and an upper surface that are at least partially mutually parallel, separated by a distance constituting the thickness of the mask;

- one or more delimited zones (lanes) located on the level of the lower surface of the mask and comprising an element (32) that projects (projecting element) from the lower surface of the mask, each projecting element comprising a portion constituting a slope with respect to a horizontal plane;

- associated with each lane, an opening traversing the mask over the whole of its thickness from an upper orifice (36) on the upper surface of the mask to a lower orifice (34), said lower orifice being located in the lane in the proximity of the lowest point of the slope of the lane;

the mask being such that the lane or lanes it comprises can hold reagents loaded into each opening and deposited on the analytical support by capillary action between the lane and the surface of the analytical support facing which the mask is to be placed.

2. A mask according to claim 1, suitable for distributing reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

- a lower surface and an upper surface that are at least partially mutually parallel, separated by a distance constituting the thickness of the mask;

- one or more lanes each comprising a projecting element (32) of elongate shape emerging beneath the lower surface of the mask, said projecting element comprising a portion constituting a slope with respect to a hor

horizontal plane;

- associated with each lane, an opening traversing the mask over the whole of its thickness from an upper orifice (36) on the upper surface of the mask to a lower orifice (34), said lower orifice being located in the lane in the proximity of the lowest point of the slope of the lane; the mask being such that the lane or lanes it comprises can hold reagents loaded into each opening and deposited on the analytical support by capillary action between the lane and the surface of the analytical support facing which the mask is to be placed.

3. A mask according to claim 1, suitable for distributing reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

- a lower surface and an upper surface that are at least partially mutually parallel, separated by a distance constituting the thickness of the mask;

- one or more lanes each comprising a projecting element (32) emerging beneath the lower surface of the mask, constituted by a protuberance in the shape of a truncated parallelepiped, said projecting element comprising a portion constituting a slope with respect to a horizontal plane;

- associated with each lane, an opening traversing the mask over the whole of its thickness from an upper orifice (36) on the upper surface of the mask to a lower orifice (34), said lower orifice being located in the lane in the proximity of the lowest point of the slope of the lane; the mask being such that the lane or lanes it comprises can hold reagents loaded into each opening and deposited on the analytical support by capillary action between the lane and the surface of the analytical support facing which the mask is to be placed.

4. A mask suitable for depositing and distributing reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

- a lower surface and an upper surface that are at least partially mutu

ally parallel, separated by a distance constituting the thickness of the mask;

- one or more delimited zones (lanes) located in the lower surface of the mask and comprising an element (32) that projects (projecting element) from the lower surface of the mask, each projecting element comprising a lower surface and an upper surface that are mutually parallel and parallel to the lower and upper surface of the mask;

- associated with each lane, an opening traversing the mask over the whole of its thickness from an upper orifice (36) on the upper surface of the mask to a lower orifice (34), said lower orifice being located in the lane in the proximity of the lowest point of the slope of the lane, produced by inclining the mask with respect to the analytical support in the position of use;

the mask being such that the lane or lanes it comprises can hold reagents loaded into each opening and deposited on the analytical support by capillary action between the lane and the surface of the analytical support facing which the mask is to be placed.

5. A mask according to claim 1, characterized in that it is rigid or stiffened.

6. A mask according to claim 4, characterized in that it is rigid or stiffened.

7. A mask according to claim 1, in which the volume of the opening is such that it can constitute a reservoir for the loaded reagents.

8. A mask according to claim 4, in which the volume of the opening is such that it can constitute a reservoir for the loaded reagents.

9. A mask according to claim 1, in which the opening for each lane traverses the thickness of the mask including the thickness of the projecting element (32) in a perpendicular manner, the opening comprising a portion in the shape of a truncated cone (38) terminated by a lower orifice (3

- 4) that is cylindrical in shape.
10. A mask according to claim 4, in which the volume of the opening is such that it can constitute a reservoir for the loaded reagents.
11. A mask according to claim 1, comprising a plurality of mutually parallel lanes, distributed over the length of the mask.
12. A mask according to claim 4, comprising a plurality of mutually parallel lanes, distributed over the length of the mask.
13. A mask according to claim 11, comprising:
- a first series of mutually parallel lanes disposed in a first alignment;
 - a second series of mutually parallel lanes that are parallel to the lanes of the first series, and forming a second alignment offset with respect to the first alignment.
14. A mask according to claim 12, comprising:
- a first series of mutually parallel lanes disposed in a first alignment;
 - a second series of mutually parallel lanes that are parallel to the lanes of the first series, and forming a second alignment offset with respect to the first alignment.
15. A mask according to claim 1, in which the length of the slope of each lane coincides with the length of that lane.
16. A mask according to claim 4, in which the length of the slope of each lane extends over the length of that lane.
17. A mask according to claim 1, for depositing each reagent in a quantity equal to or in the range 4 to 15 ml in each opening of the mask and holding said reagents between the lanes of the mask and the analytical support by capillary action, when the mask is brought to a distance from the analytical support of 2 mm or less from the point of the mask that is furthest from the analytical support and to a distance from the analyti

cal support equal to or in the range 0.1 to 0.5 mm from the point of the mask that is closest to the analytical support.

18. A mask according to claim 4, for depositing each reagent in a quantity equal to or in the range 4 to 15 ml in each opening of the mask and holding said reagents between the lanes of the mask and the analytical support by capillary action, when the mask is brought to a distance from the analytical support of 2 mm or less from the point of the mask that is furthest from the analytical support and to a distance from the analytical support equal to or in the range 0.1 to 0.5 mm from the point of the mask that is closest to the analytical support.

19. A mask according to claim 1, in which the lanes are separated from each other by a distance of 1.5 mm or more.

20. A mask according to claim 4, in which the lanes are separated from each other by a distance of 1.5 mm or more.

21. A mask according to claim 1 or claim 4, in which the dimensions of the lanes and their spacing are such that the reagents held by them between the mask and the analytical support by capillary action do not interact during deposition or distribution onto said analytical support.

22. A mask according to claim 1, in which the lane width is 2.5 mm.

23. A mask according to claim 1 or claims 4 to 19, in which the length of each lane is in the range 6 to 7 mm.

24. A mask according to claim 1 or claim 4, in which the lane intended for the fixative is offset with respect to the neighbouring first lane by a distance of 5 to 7 mm.

25. A mask according to claim 1 or claim 4, in which the slope of each lane forms an angle in the range 10 to 100 to a horizontal plane.

26. A mask according to claim 1, in which each lane of the mask has the following dimensions:

- length: 3 to 15 mm;

- width: 1 to 10 mm;
- inclination of the slope: 10 to 100 to the horizontal.

27. A mask according to claim 1 or claim 4, associated with positioning means intended to hold the mask in the proximity of the surface of the analytical support close to which the mask will be brought for deposition and distribution of reagents on the analytical support.

28. A device for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

a) a mask (10) according to claim 1;

b) means (12, 14, 16) for positioning and guiding the mask allowing the mask to be positioned so that the mask is held in the proximity of the surface of the analytical support and allowing the mask to be guided by sweeping the surface of the analytical support in a horizontal plane parallel to the surface of said support to allow deposition and distribution of the reagents over each of the predetermined zones of the analytical support coming into line with the lanes of the mask.

29. A device for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

a) a mask (10) according to claim 1;

b) means (12, 14, 16) for positioning and guiding the mask allowing the mask to be positioned so that the mask is held in the proximity of the surface of the analytical support and allowing the mask to be guided by sweeping the surface of the analytical support in an inclined plane with respect to the surface of said support, to allow deposition and distribution of the reagents over each of the predetermined zones of the analytical support coming into line with the lanes of the mask.

30. A device according to claim 28 or claim 29, in which the means for positioning and guiding the mask (10) can establish a distance between the analytical support and the point on the mask that is closest to said s

upport in the range 0.1 mm to 0.5 mm.

31. A device according to claim 28 or claim 29, in which the positioning and guiding means allow automatic displacement of the mask (10) along the analytical support.

32. A method for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support comprising biological samples, the method comprising the steps of:

- positioning a mask (10) according to claim 1 in the proximity of the analytical support to deposit the reagent or reagents on the analytical support and hold them between said support and the slope of the lane or lanes of said mask by capillary action;
- loading the reagent or reagents onto the mask (10) to deposit the reagent or reagents on the analytical support and hold them between said support and the slope or slopes of said mask by capillary action;
- displacing the mask (10) by sweeping the surface of the analytical support to distribute the reagent or reagents on the analytical support in delimited zones of said support (termed incubation zones), the reagent or reagents being distributed in a quantity sufficient to allow their interaction with the constituents of the biological samples present on said analytical support.

33. A method for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support comprising biological samples, comprising the steps of:

- loading the reagent or reagents onto a mask (10) to allow the reagent or reagents to be deposited on the analytical support, and being held between said support and the slope or the lane or lanes of said mask by capillary action;
- positioning a mask (10) according to claim 1 in the proximity of the analytical support to deposit the reagent or reagents on the analytical

support and hold them between said support and the slope of the lane or lanes of said mask by capillary action;

• displacing the mask by sweeping the surface of the analytical support to distribute the reagent or reagents on the analytical support in delimited zones of said support (termed incubation zones), the reagent or reagents being distributed in a quantity sufficient to allow their interaction with the constituents of the biological samples present on said analytical support.

34. A method according to claim 33, in which the mask is loaded with the reagent or reagents away from the zone of the surface of the analytical support comprising the constituents of the biological samples.

35. A method according to claim 34, in which the mask is loaded with the reagent or reagents prior to the step for positioning the mask in the proximity of the analytical support and in that the reagents are deposited on the analytical support following an impulse resulting from air pressure exerted on the mask, or by a mechanical junction between the reagents and the analytical support, or by projecting the reagents onto the support, or by brief contact between the mask and the analytical support at the lowest point of the slope of the lane.

36. A method according to claim 35, in which loading of the mask (10) with the reagent or reagents and/or displacement of the mask is in an automated manner.

37. A method according to claim 32 or claim 33, in which the analytical support is an electrophoresis support on which the constituents of one or more biological samples have been separated by electrophoretic migration.

38. A method according to claim 37, in which the reagent or reagents are intended to allow immunofixation of the constituents of biological samples separated by electrophoresis.

39. A method for detecting the constituents of one or more biological samples by immunofixation, comprising the steps of:

- carrying out electrophoresis on an electrophoresis support of the biological sample or samples to separate out the constituents;
- depositing and distributing one or more reagents on an electrophoresis support, using a method according to any one of claims 32 or 33 to 44;
- incubating the biological samples separated by electrophoresis with the reagent or reagents to allow their immunofixation.

40. A kit comprising:

- at least one mask according to claim 1;
- at least one analytical support.

41. A kit according to claim 40, further comprising:

- reagents for immunofixation of the constituents of samples separated by electrophoresis;
- a fixative for fixing each sample of the assembly of constituents separated by electrophoresis.

42. A mask according to claim 1, in which the reagents are loaded into the mask and are in the freeze dried form.

Detailed Description of Invention

The invention relates to a mask for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support, in particular a support for electrophoresis, for example agarose gel.

The invention is suitable for use, for example, in the field of detecting and characterizing constituents present in a biological sample, in particular a biological liquid such as serum, urine or cerebrospinal fluid. In particular, such detection can be carried out following separation of said constituents from a biological sample, for example, using electrophoresis. Detection can then be carried out in particular using known

immunofixation techniques, which require bringing reagents into contact with the constituents separated from the sample and incubating them to produce an immunological recognition reaction of the constituents separated from the biological sample with the reagents in predetermined zones of an analytical support.

The invention is advantageously used for routine analyses, particularly of the type carried out in the context of clinical analyses.

The invention also relates to a mask intended for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support, associated in a device with positioning means that allow the mask to be positioned with respect to the analytical support, in the proximity of said support, when the mask is used to deposit and distribute the reagents.

These positioning means can also be associated with guide means or can comprise guide means for displacing the mask when it is positioned in the proximity of the analytical support, to allow the reagents to be distributed onto delimited zones of the support, including zones designated for incubation of the reagents with the constituents of the sample.

The device of the invention allows reagents to be deposited or distributed manually. It can also be arranged for automated deposition of these reagents and optionally for automated distribution.

In some embodiments of the invention, the step for loading the reagents into the mask can also be carried out manually or in an automated manner. Advantageously, the mask of the invention is more easily loaded than available prior art masks.

In a further aspect, the invention provides a method for depositing and distributing reagents on an analytical support.

In one particular implementation of the invention, the method is used to deposit and distribute reagents intended to carry out immunofixation to detect and possibly quantify specific constituents contained in

a biological sample, said constituents having already been separated by electrophoresis on a support such as agarose gel.

The invention also concerns an immunofixation method employing said mask.

In a further aspect, the invention provides a kit comprising a mask in accordance with the invention.

A kit in accordance with the invention is advantageously adapted to carry out an immunofixation method using the mask of the invention.

The invention also concerns means for positioning and guiding the mask.

It should be remembered that immunofixation, which can analyse biological samples with a view to typing the paraproteins they contain, is a widely practised routine analysis carried out in clinical analysis laboratories in particular.

That technique, which combines electrophoresis with the formation of precipitates on the electrophoresis gel, has been known for a long time. The technique has in particular been described by Alper CA and Johnson AM Vox. Sang. 17: 445 (1969), Cawley LP et al., Clin. Chem. 22: 1262 (1976), Ritchie RF and Smith R Clin. Chem. 22: 497, 1735, 1982 (1976).

It allows the identification of anomalies in different biological samples, in particular in biological liquids, for example serum, urine or cerebrospinal fluid.

The technique principally comprises the following steps:

- 1) separating protein constituents from the test serum or liquid by electrophoresis on a support such as a gel, for example agarose gel;
- 2) an immunological reaction with specific antibodies for the separated proteins;
- 3) revealing the immunological complexes formed.

The conditions for carrying out these steps have been described i

n the prior art.

The devices used also comprise the possibility of producing a reference lane (track) on the same electrophoresis support, in particular on the same gel, obtained by fixing all of the separated proteins present on the sample using a protein fixative including, for example, a polyvalent antiserum.

New semi-automatic techniques for applying the biological samples to be analysed, for migration under controlled temperature and for depositing the reagents (including, for example, the antisera and fixatives) allow immunofixation profiles to be miniaturised while keeping the sensitivities and resolutions satisfactory. Miniaturisation allows a larger number of samples to be analysed on the same electrophoresis support, in particular on the same gel.

Thus, in a few years we have advanced from carrying out one to carrying out nine immunofixations on a single 8 x 10 cm electrophoresis gel (using, for example, an immunofixation kit sold by SEBIA under the trademark Hydragel 9 IF). This saves time as regards the analysis and reduces reagent consumption, resulting in a reduction in analytical costs.

To deposit the reagents with a view to carrying out immunofixation under such conditions, European patent EP-B1-0 526 271, for example, describes a mask or device for distributing reagents, generally specific antisera and a fixative, that can overcome some of the problems posed by prior art devices or masks and that is safer and easier to use. Thus, to carry out 9 immunofixations, for example, on the same electrophoresis gel in three rows of three samples using the mask described in EP-B1-0 0 526 271, for each sample, 6 reagents have to be pipetted out (fixative, anti-IgG antiserum, anti-IgA antiserum, anti-IgM antiserum, anti-k antiserum and anti-l antiserum), i.e., a total of 54 pipetting operations

These manual pipetting operations can prove to be long and difficult even if repetitive dosing pipettes are used.

The primary aim of the present invention is to improve the conditions for depositing and distributing reagents on an analytical support using masks, by proposing a mask that can reduce the number of reagent pipetting operations and which can reduce the quantity of reagents used. The means proposed in the context of the invention can be used in any analytical technique requiring controlled deposition of reagents on an analytical support. In this respect, the following techniques can be mentioned: immunofixation following electrophoretic separation; or distribution onto a specific substrate for enzymatic developing, for example for assaying lactodehydrogenase (LDH) or creatine kinase (CK).

In a first aspect, the invention provides a mask for depositing and distributing reagents on an analytical support the design of which takes into account its use including its displacement to carry out the step of distributing reagents onto predetermined zones on an analytical support. The mask of the invention can therefore be considered to be a movable mask when in use.

The present invention also limits reagent consumption, in particular that of antiserums, which are expensive products, and fixative in the case of immunofixation reactions, and can thus reduce the cost of the analyses carried out. It also facilitates loading the reagents into the mask, in particular by limiting the number of pipetting operations and/or by enabling the mask to be loaded automatically.

Further, the proposed mask ensures a consistent quality of the result, under improved or even simplified manipulation conditions. In particular, after the phase for incubating the reagents distributed using the device of the invention, it is no longer necessary to eliminate excess reagents that remain between the gel and the mask, as is the case when

using a mask proposed in EP-B1-0 526 271

With the mask of the invention, after spreading and distributing the reagents, no more free reagent is present between the mask and analytical support, as all of the reagents that were initially introduced have been deposited on the analytical support. Thus, it is not necessary to pump off any excess reagents that may be present on the analytical support.

Thus, the invention provides a mask for depositing and distributing reagents on an analytical support for analysing biological samples, comprising:

- a lower surface and an upper surface that are at least partially mutually parallel, separated by a distance constituting the thickness of the mask;
- one or more delimited zones (lanes) located on the level of the lower surface of the mask and comprising an element that projects (projecting element) from the lower surface of the mask, each projecting element comprising a portion constituting a slope with respect to a horizontal plane;
- associated with each lane, an opening traversing the mask over the whole of its thickness from an upper orifice on the upper surface of the mask to a lower orifice, said lower orifice being located in the lane in the proximity of the lowest point of the slope of the lane;

the mask being such that the lane or lanes it comprises can hold reagents loaded into each opening and deposited on the analytical support by capillary action between the lane and the surface of the analytical support facing which the mask is to be placed.

The expression "mask" as used in the present invention generally designates a plate designed to allow positioning in alignment with delimited zones on an analytical support, if necessary in conjunction with

associated means, in which reagents must be deposited and distributed when they are loaded into the mask and brought into contact with the delimited zones.

The dimensions of the mask of the invention are such that it does not cover the whole surface of the analytical support on which the reagents loaded on the mask are deposited and distributed, when the mask is brought in proximity of the analytical support, for operation. The width of the mask (comprising the length of its lanes) is in particular inferior to the length of the electrophoretic migration lanes of the analytical support, since the length of the lanes of the mask is smaller than the length of the electrophoretic migration lanes of the analytical support. The distribution of the reagents on these lanes results thus from the displacement of the mask above the analytical support as disclosed hereafter, and from the moving of the reagents on said support which is permitted as a consequence of the structure of the lanes of the mask.

The mask of the invention is thus intended for displacement above the analytical support, in order to enable the distribution of the reagents.

The opening is stated to be "associated with each lane", which in the context of the present invention means that its lower orifice is located so as to supply the reagent loaded into the opening in the mask to the slope of the lane, to allow the reagent to be deposited on the analytical support and to hold it by capillary action between the support and the lane and to distribute it on the analytical support during displacement of the mask.

Said opening is, for example a hole, perpendicular to the upper surface of the mask, traversing the mask from one side to the other. The lower orifice of the opening is preferably located in the slope, in the proximity of the lowest point of the slope. By being located "in the

proximity of" the lowest point - with respect to a horizontal plane - of the slope of the lane, the lower orifice of the opening enable to distribute the liquid reagent in the lane, as the reagent rises along the lane.

The upper orifice of the opening can be vertical to the lower orifice. Alternatively, it can be positioned along an inclined plane with respect to this vertical provided that it allows the reagent to be supplied to the lower orifice under conditions compatible with the deposit and distribution of this reagent on the analytical support.

Advantageously, an opening associated with a lane, constituted by a hole perpendicular to the upper surface of the mask and traversing it from side to side is formed by a circular orifice opening in the upper surface of the mask, which is extended by a truncated conical portion ending, for example, in a cylindrical portion opening into the lower surface of the mask, via an orifice located in the slope of the lane in the proximity of the lowest point of the slope. The presence of a cylindrical portion opening into the lower orifice can distribute the pressure that can, for example, be exerted by a pipette on the edges of the lower orifice when loading the reagents, thus improving the strength of the mask.

The truncated opening can also advantageously guide a filler pipette and provide a seal between the end of the pipette and the mask when injecting the reagent between the lane and the analytical support.

If necessary, the above opening can be modified in that the conical portion extends to the upper orifice of the opening via a cylindrical portion with a circular cross section.

According to a particular embodiment of the invention, the opening thus disclosed can also be such that the upper orifice is larger than the lower orifice of the opening, for instance its diameter of the upper

orifice is larger than the diameter of the lower orifice if the orifices are circular one.

A particular mask as defined above that is suitable for distributing reagents on an analytical support for biological samples can be defined as comprising:

- a lower surface and an upper surface that are at least partially mutually parallel, separated by a distance constituting the thickness of the mask;
 - one or more lanes each comprising a projecting element of elongate shape emerging beneath the lower surface of the mask, said projecting element comprising a portion constituting a slope with respect to a horizontal plane;
 - associated with each lane, an opening traversing the mask over the whole of its thickness from an upper orifice on the upper surface of the mask to a lower orifice, said lower orifice being located in the lane in the proximity of the lowest point of the slope of the lane;
- the mask being such that the lane or lanes it comprises can hold reagents loaded into each opening and deposited on the analytical support by capillary action between the lane and the surface of the analytical support facing which the mask is to be placed.

The lanes of the mask are elongate in shape and can also be termed ramps. Their slopes are all inclined in the same direction.

Said slopes are intended to retain the reagents by capillary action as indicated above and to ensure that the reagent is brought at the lowest point of the slope in order to permit its distribution when the mask is displaced.

A further particularly preferred mask of the invention as defined above comprises:

- a lower surface and an upper surface that are at least partially mutu

ally parallel, separated by a distance constituting the thickness of the mask;

- one or more lanes each comprising a projecting element emerging beneath the lower surface of the mask, constituted by a protuberance in the shape of a truncated parallelepiped, said projecting element comprising a portion constituting a slope with respect to a horizontal plane;
- associated with each lane, an opening traversing the mask over the whole of its thickness from an upper orifice on the upper surface of the mask to a lower orifice, said lower orifice being located in the lane in the proximity of the lowest point of the slope of the lane;

the mask being such that the lane or lanes it comprises can hold reagents loaded into each opening and deposited on the analytical support by capillary action between the lane and the surface of the analytical support facing which the mask is to be placed.

When the projecting element is constituted by an element with an elongate shape or is constituted by a protuberance in the shape of a truncated parallelepiped, said projecting element has an upper surface coinciding with the portion of the lower surface of the mask from which it emerges, and a lower surface that is separate from the upper surface along at least one slope to the horizontal, the lowest point of said slope located in the proximity of said lower orifice of the opening of each lane being the point that is closest to the analytical support facing it and in the proximity of which it is brought when in the position of use.

The projecting element comprising a slope emerging from the lower face of the mask can advantageously allow deposition and distribution of reagents loaded into the mask by displacing the mask along a zone of the analytical support that comes to face the lane or lanes of the mask in a plane that is horizontal with respect to this support.

In a further embodiment of the invention, the mask is provided wi

th one or more lanes each comprising a projecting element emerging beneath its lower surface, said projecting element including a hollow sphere the cavity of which is intended to receive a reagent, and the dimensions of which are adapted to the width of the zone of the analytical support that has to be covered by the reagent, said reagent being held in the sphere cavity by capillary action and distributed over the analytical support as the mask is displaced, via a hole formed in the sphere. Such a mask will also have the characteristics defined above for the projecting elements with an elongate shape.

In a particular embodiment of the invention, the lower and upper surfaces of the mask are completely parallel to each other, away from the zones constituting the lanes, namely away from the zones constituting the slopes of the lanes.

In the context of the embodiments of the invention described above, the slope coincides with the lane at each lane of the mask regardless of the shape of the projecting element.

Alternatively, the slope can extend over only a portion of the lane. As an example, the lane comprising the lower orifice at the lowest point of its slope can be extended beyond said slope, for example in a horizontal plane. In a further variation, the slope can be constituted by a plurality of slopes.

When a mask in accordance with the invention is used in association with a support for analysing biological samples, for example an electrophoresis gel, this mask is brought "into the proximity of" the analytical support: this means that the mask does not come into contact with the zones of the support onto which the reagents are to be deposited and distributed (the reagent incubation zones) and that the reagent or reagents deposited on said support are held by capillary action between the lanes of the mask and said analytical support, which allows them to be d

istributed over the predetermined zones of this analytical support located facing the lanes of the mask during its displacement parallel to the analytical support, above that support. The above absence of contact is more specifically, in particular embodiments of the invention, an absence of contact which follows the initiation of the descent of the reagents to allow their deposit on the analytical support, this descent indeed involving, according to a particular embodiment of the invention, a brief contact with the analytical support, as described and illustrated hereafter.

The slope formed at the projecting element of each mask lane is such that its point said to be the lowest is the point that is closest to the horizontal plane constituted by the analytical support in the position of use. As a result, the point termed the highest point of the slope of said lane is the point furthest from the horizontal plane constituted by the analytical support in this operational position. The lower face of each lane of the mask facing the support is thus inclined with respect to the horizontal.

During distribution of the reagents deposited on the analytical support, the position of the lanes with respect to the horizontal plane of the analytical support and the position of the lower orifice of the opening associated with each lane ensures that the reagents reach the lowest point of the slope of the lane, as at that point, the capillary forces exerted on the reagents are at their greatest.

The liquid constituting the reagent can be distributed over the whole of the lane or over only a portion of the lane.

The reagent or reagents can be deposited or distributed using the mask of the invention in a controlled manner over the delimited zones of the analytical support without establishing any contact between the lanes of the mask and the analytical support.

Away from the zones of the analytical support that come into line with the lanes of the mask during use, contact can be established between the mask and the analytical support since on moving, the mask can slide parallel to the analytical support along this support without damaging it.

In one particular embodiment of the invention, no point of the mask comes into contact with the analytical support during use, with the possible exception of zones of the mask that allow it to be positioned in the proximity of the analytical support.

Preferably, when the mask has to be supported to position it in the proximity of the analytical support, this is accomplished away from said analytical support, for example on the plane (or plate) on which the support is deposited.

When considering the upper surface and the lower surface of the mask, of the lanes or the slopes, these notions are considered to be made with reference to the position of the mask above an analytical support that is itself in the horizontal position. In other words, the lower surface of the mask and the lower surface of each lane or each slope are facing the surface of the analytical support when the mask is in the position of use. The horizontal plane with respect to which the slope of the projecting element is defined can thus be that of the analytical support when it is used in a horizontal position.

The invention also concerns a mask the use of which to deposit and distribute reagents on an analytical support calls on the principle of the invention, namely holding the reagents by capillary action between a slope defined in the mask and a zone of the analytical support facing said lane, said mask being distinguished from the mask defined above in that the slope constituted in each lane of the mask is produced by the inclination conferred on the mask with respect to the analytical support

during its use. The lower surface of the mask in this case is parallel to the lower surface of the projecting element which comes to face the analytical support, the slope resulting from the inclined position of the mask with respect to the analytical support.

In the context of this particular embodiment, the characteristics of the lanes defined for masks wherein the slope is integrated into the lane are transposable when the slope is constituted by using the mask in an inclined position with respect to the analytical support.

When the lane is elongate in shape, it can have a parallelepipedal shape, its shape delimiting the zone for holding the reagents by capillary action between the lane and the analytical support. When in use, the opening traversing the mask is located at a point on the lane that is in the proximity of the lowest point of the slope formed by the relative inclination of the mask with respect to the analytical support.

The mask of the invention has dimensions that are compatible with the dimensions of the analytical support on which the reagents are to be deposited and distributed and the lanes of this mask have shapes and dimensions that are compatible with the volume of the liquid reagent that is to be deposited and distributed on the analytical support and with the shape and the dimensions of the delimited zones on the analytical support on which said reagents are to be deposited and distributed, for example with a view to their incubation with the constituents of the biological sample.

To deposit and distribute one or more reagents on the biological sample analytical support when the mask and the analytical support are disposed parallel to each other, the mask is displaced in a horizontal plane above the plane of the analytical support from the zone of the analytical support at the level of which the mask is initially positioned and which corresponds to the initial deposition point of the reagents, to d

istribute the reagents on the zones of the analytical support coming to face the lanes of the mask.

To deposit and distribute one or more reagents on the sample analytical support, when the slope of the lanes of the masks does not result from the structure of the lanes but from the inclination endowed on the mask with respect to the analytical support (or vice versa), the mask is displaced in a given inclined plane employing features that are identical to those described for the mask in which the lanes comprise a slope in their structure.

Each displacement permitting passage of the mask above the totality of the delimited zones of the analytical support that are to receive the reagents is termed a "sweep". A first sweep can, for example, be carried out from the zone corresponding to the anode of an electrophoresis support towards the zone corresponding to the cathode of such a support, or in the opposite direction from the cathode to the anode, to cover the whole of the delimited zones that have to receive the reagents, these zones corresponding to the electrophoretic migration lanes in the case of an electrophoresis support (such as a gel). In the following paragraphs, according to the above indications, when the anode is referred to in order to locate the deposit of the reagent or the moving direction of the mask with respect to the analytical support, it must be understood that this location or this movement can, opposite, be performed starting from the cathode.

During its displacement by sweeping the predetermined surface of the analytical support after loading the reagents into the opening associated with each lane, the mask of the invention can thus deposit and distribute said reagents over the totality of the predetermined zones on the analytical support for all of the test biological samples found in the direction of displacement of the mask.

Thus, it becomes unnecessary to multiply pipetting of each reagent for each sample to be treated. The number of pipetting operations to be carried out corresponds to the number of reagents that have to be deposited over one row of the analytical support and thus normally corresponds to the number of openings provided in the mask when all of the lanes of the mask are used.

Further, the quantity of each reagent loaded into the mask can be considerably reduced compared with the quantity of each reagent normally used when each reagent has to be loaded for each of the samples present on the analytical support.

By way of example, if the mask of the invention is intended to deposit and distribute reagents to carry out immunofixation to detect particular constituents of a biological sample that has already been analysed by electrophoresis, when using 6 reagents for each test sample (i.e., generally a fixative that is capable of fixing the constituents of the sample to produce a reference profile on the electrophoresis support, and specific anti-IgG, IgA, IgM, k and l antiserums), the quantity of each reagent loaded into the mask is reduced by 4.5 times compared with the quantity loaded for each sample to be treated when using a fixed mask such as that described in EP-B1-0 526 271.

The quantity of each reagent loaded onto each lane of the mask is determined as a function of the dimensions of the incubation zone to be covered using this reagent, for example as a function of the number of rows of samples found in the direction of displacement of the mask. When the mask is used to deposit and distribute reagents for immunofixation, the incubation zone comprises or coincides with the zone of the electrophoresis support that comprises the electrophoretic profile for the samples to be analyzed.

By way of example, a mask comprising three groups of six lanes or

er a row can be used to carry out immunofixation of nine samples, or even 12 or 18 samples (distributed, for example, in rows of 3 different samples, each sample occupying 6 lanes of the analytical support for electrophoresis and thus of the mask).

The mask is advantageously loaded with a quantity of reagents such that each predetermined zone on the analytical support on which the reagent has to be distributed is already homogeneously covered with that reagent, in one sweep. To determine the loaded volume of each reagent, we take into account the path of the mask per sweep of the analytical support and of the width of the zone to be covered on the analytical support. Generally, the quantity of each loaded reagent varies between 4 ml and 15 ml, and is a quantity of 15, 10, 8, 6 or 4 ml per reagent, for example.

By way of example, we observe that a volume of 4 ml of reagent is sufficient to cover an analytical support surface of 175 mm^2 , in a homogeneous manner, corresponding to a distribution of reagent of 0.02 ml/mm^2 of analytical support.

Preferably, the mask of the invention is a rigid mask, or stiffened by association with stiffening means which can, for example, participate in positioning and/or guiding the mask.

The choice of material used to produce the mask is not limited in principle.

The mask can, for example, be produced from a material that can be moulded to produce a smooth surface, in particular a plastic material.

The material may be transparent or translucent; examples are materials such as polycarbonate, polymethacrylate, polyethylene, crystalline polystyrene, and Plexiglas.

The mask of the invention can be disposable.

The stiffness conferred on the mask can allow it to be displaced

in a predetermined plane, which may be horizontal or inclined, with respect to the analytical support, when associated, for example snap fitted, into suitable positioning means and appropriate guide means.

In a preferred embodiment of the invention, a mask with the characteristics defined in the foregoing pages comprises a plurality of mutually parallel lanes distributed over the length of the mask.

When, as is most frequently the case, the mask comprises a plurality of mutually parallel lanes, the distance between the lanes (inter-lane distance) is determined as a function of the number of lanes on the mask, and the necessity of preventing any interactions between the reagents, in particular between the fixative and the antiserums.

Advantageously, the distance between the different parallel lanes is constant. This distance can be small, for example less than 3 mm, in particular of the order of 2.5 mm, preferably 2 mm or more, in particular to prevent any interaction between the fixative and the antiserum of the neighbouring lane.

The width of the zone of the analytical support at which distribution of each of the reagents has occurred is at least equal to the width of the mask lane brought to face that zone.

By way of example, the width of the lane and the width of the incubation surface, which can correspond with the distribution of the electrophoretic profile on the analytical support, are similar and about 2.5 mm. In a further example, the width in question is 3.5 mm.

To prevent an interaction between neighbouring reagents, it is also possible to dispose the lanes of the mask to prevent overlapping of the different zones for depositing the reagents or of any possible diffusion zones for the reagents deposited on the analytical support, or it is possible to carry out the loading of the reagents and their descent on the analytical support in such a way that a possible interaction is p

revented. Some embodiments to enable loading and descent of the reagents are described hereafter, including for example but not necessarily, a loading step outside of the analytical support, which permits to avoid such type of interaction but permits to maintain the lanes parallel and aligned.

Regarding the above discusses interactions, it is appropriate in particular, to ensure that the reagent intended for producing the reference profile for each sample does not interact with the specific reagents (in particular antiserums), which could falsify detection of particular constituents of the sample.

To this end, when specific means are present in the structure of the mask, a first embodiment of the mask comprising a plurality of mutually parallel lanes distributed over the length of the mask with a constant spacing consists of providing a first series of mutually parallel lanes distributed over the length of the mask and a second series of mutually parallel lanes that are parallel to the first series of lanes and wherein the lower orifices are located in the same horizontal plane, this second series of lanes forming an alignment that is offset with respect to the alignment formed by the first series of lanes.

In a variation of the mask, the offset alignment of the second series of lanes is replaced by increasing the spacing between said lanes of said first series and the other lanes of said second series.

The offset of the second series of lanes or the spacing of this series of lanes compared with the lanes of the first series is intended to prevent interaction between the reagents of the second series of lanes and those of the other lanes during deposition onto the analytical support. In general, these offset lanes or more spaced lanes are intended to receive a fixative for immunofixation, capable of fixing proteins of the electrophoretic profile to produce a reference profile.

When the mask does not contain a series of offset lanes or a series having a different spacing compared with that of the other lanes, the interaction between the reagents in question can be avoided, if necessary and for example, by carrying out loading and deposition of these reagents onto the analytical support separately in two sweeps.

As an example, the fixative is deposited on the anode side of the electrophoresis support, then distributed by sweeping before loading with the antiserums, for example in the anodic but offset position, for example about 5 mm further towards the cathode with respect to the position of the first loading run. Alternatively, the antiserums can be loaded onto the cathode position.

Having recourse to a two-stage loading is however not always required, especially when the loading procedure of the reagent does not lead to a disturbing interaction between the reagents. Such interaction can, for example, be prevented even if all the reagents are loaded simultaneously outside of the surface of the analytical support and when the simultaneous descent of all the reagents can be performed on the analytical support without creating a disturbing interaction.

When the mask is produced so that the slope of the lanes results from the inclination of the mask with respect to the analytical support and not from the structure of the lanes, the offset of the lanes or groups of lanes is not necessary, and the reagents can then be loaded and deposited in several stages depending on their nature.

The mask of the invention can be produced so that the lanes are organised into a plurality of groups, each group, for example, being constituted by a lane positioned in an offset manner with respect to the other lanes aligned with respect to each other, and by the aligned lanes preceding the next offset lane.

Further, the mask of the invention is such that its structure, an

d if necessary the conditions of its use, allow the deposition and distribution of the reagents without interaction between the different reagents deposited on the different zones of the analytical support.

In particular for the zone for initial deposit of the reagents on to the analytical support, it has been observed that prior to their distribution, there is a localised diffusion phenomenon of said reagents on the analytical support.

To avoid any consequences of localised diffusion phenomena regarding the reagents on their deposition, it is advantageous to choose to deposit reagents with a mask away from the zone of the analytical support that is susceptible of carrying the constituents of the samples to be detected, thus for example away from the zone comprising the electrophoretic profiles.

In the case of immunofixation, said reagents are, for example, deposited in a zone located away from that corresponding to the electrophoretic profile, for example on the anode side of the support with respect to these profiles.

Advantageously, the mask of the invention is such that the opening traversing it from one side to the other is perpendicular to the upper and lower surfaces of the mask.

The shape of the openings of the mask must allow a sufficient quantity of reagents to be deposited therein to allow deposition and distribution of this reagent over the whole of the predetermined zone of the analytical support without having to reload the mask with said reagent.

Further, the shape and location of this opening is compatible with depositing and holding by capillary action a given quantity of reagent between the lane of the mask and the analytical support, until the quantity introduced during the operation for distributing the reagent on the analytical support is exhausted.

When depositing reagents on the analytical support, when the mask is loaded above the analytical support with the filling of the lanes being carried out as the reagents are loaded, it is appropriate to provide a seal between the mask and the end of the pipette or any other means used to load the reagents into the mask.

The volume of the opening can be designed to allow loading of the reagents externally of the analytical support, the reagents in this case having to be retained by capillary action in the opening in their entirety, until they are deposited on the analytical support. In this case, the mask is then positioned to ensure deposition of the reagents it contains, on the analytical support. This positioning must thus ensure that contact is established between the liquid and the analytical support, possibly using particular features.

Advantageously, in each lane, the opening can receive the excess reagent over the quantity of reagent required for the reaction.

The mask of the invention can employ reduced quantities of reagents, for example about 15 ml or 10 ml. However, the dimensions of the opening traversing the mask and intended to receive these reagents can be determined to allow a quantity of reagents that is higher than the effective quantity employed to be accepted. As an example, the volume of the opening can accept a quantity of reagent of up to about 30 ml.

The geometrical characteristics of the mask, in particular the number of lanes and the distance between the lanes (inter-lane distance) are adapted to the number of deposits, to their width and to the spacing of these deposits, formed in rows on the analytical support. The mask of the invention has thus a sufficient length to comprise several lanes formed in a row, and a limited width (smaller) with respect to the length of the electrophoretic migration lane of the incubation surface of the analytical support facing this lane when the mask is displaced when oper

ated.

It is understood, and this constitutes a characteristic of the present device, that the same mask can be used to produce a plurality of rows of deposits with the same number and dimensional characteristics on the same gel. These rows of deposits have been produced on the analytical support in rows that are mutually parallel, and perpendicular to the direction of electrophoretic migration.

Advantageously, the geometry of the mask of the invention allows deposition and holds the reagent by capillary action between each lane of the mask and the analytical support, when the distance between the mask and the analytical support is 2 mm or less, preferably in the range 0.1 to 1.5 mm. This distance between the mask and the analytical support varies depending on the point on the mask under consideration; in particular, this distance is preferably about 0.1 to 0.5 mm at the point on the mask that is closest to the support (corresponding to the lowest point on the slope of the lane or the slope of the mask) and this distance is preferably less than 2 mm, advantageously less than 1.5 mm or less, at the point on the mask that is furthest from the analytical support (corresponding to the highest point of the slope of the lane or the slope of the mask).

Within these limits, the inclination of the slope must be such that at the spacing of the mask from the analytical support is compatible with the capillary forces that maintain the reagent between the lane and the analytical support.

By way of example, a mask of the invention is produced so that the lanes are separated from each other by a distance of 1.5 mm or more. Preferably, the distance between the lanes is 2.5 mm. The lane width is advantageously 2.5 mm.

The mask lane reserved for the fixative can also be offset; for e

example, it can be in a position that is closer to the anode than the other lanes, when the mask is in the position of use, in the proximity of an analytical support constituted by an electrophoresis gel.

A particular mask is characterized in that the lane intended for fixative is not aligned with the other lanes and is offset compared with the alignment formed by the others, by a distance of 5 mm, preferably 6 to 7 mm.

A particular mask that is suitable for the invention, and in particular a mask that is suitable for use with a 10 cm long electrophoresis gel and with a width (between the anode and cathode poles) of about 8 cm is such that each lane of the mask has the following dimensions:

- length: 3 to 15 mm;
- width: 1 to 10 mm;
- inclination of the slope: 10 to 100 to the horizontal.

A particularly preferred mask that is suitable for use with the above gel is a mask in which each lane has the following dimensions:

- length: 7 mm;
- width: 2.5 mm;
- inclination of the slope: 50 to the horizontal.

In these particular embodiments, the other characteristics of the mask described above can, naturally, be associated with the particular characteristics given above. In particular, the inter-lane distance is advantageously 2.5 mm and/or the offset between the alignment of the lanes for the specific reagents and the alignment of the lanes for the fixative is 6 to 7 mm.

Again, in a particularly advantageous embodiment of the invention, the mask is such that the opening that traverses it having the characteristics given above in that regard has a conical portion forming an angle of about 50°.

In the context of the different embodiments of the invention, the thickness of the mask is advantageously in the range 1 to 10 mm.

When the mask of the invention is used to deposit and distribute the reagents on the electrophoresis support, it can again be characterized in that it is compatible with the characteristics of localisation of the biological samples separated on the electrophoresis support; in particular, said mask can:

- align the rows of lanes on the mask, perpendicular to the direction of electrophoretic migration;
- position the mask in the proximity of the analytical support, to hold the reagents by capillary action between the lanes of the mask and the analytical support;
- position the mask transversely with respect to the direction of electrophoretic migration to allow the alignment of the rows of the electrophoretic migration carried out on the analytical support with the rows of the mask lanes.

For use with different analytical supports, and by way of example, a mask in accordance with the invention can comprise in the range 1 to 24 lanes, preferably in the range 6 to 24 lanes, in particular 6, 9, 12, 15 or 18 lanes.

If intended for use in an immunofixation reaction following electrophoretic separation, a mask comprising 18 lanes can deposit, for three different samples occupying the same row of the electrophoresis support, and for a given number of rows of samples (for example 2 or more, in particular 3 or 4), a fixative to produce a reference profile and 5 specific reagents such as antisera, in particular anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-k and anti-l, for each sample. It is also possible to produce a mask with 6 or 12 lanes using the same features.

The invention also concerns a mask as defined above, associated w

ith positioning means intended to hold the lower surface of the lanes of the mask in the proximity of the surface of the analytical support close to which the mask will be brought to deposit and distribute the reagents on the analytical support.

Suitable positioning means can be constituted by abutments that can rest on the analytical support away from the incubation surface comprising the biological samples, the dimensions of these abutments being such that the mask does not come into contact with the analytical support over its portion corresponding to the incubation surface of the reagents

The positioning means can also be associated with means for guiding the mask to allow it to be displaced in a controlled manner above the analytical support, in accordance with the foregoing.

Thus, in a further aspect, the invention provides a device for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

- a) a mask as defined above;
- b) means for positioning and guiding the mask allowing the mask to be positioned so that the mask is held in the proximity of the surface of the analytical support and allowing the mask to be guided by sweeping the surface of the analytical support, in a horizontal plane parallel to the surface of said support, to allow to deposit and distribute the reagents over each of the determined zones of the analytical support coming into line with the lanes of the mask.

In a variation of the invention, the mask used is such that the slope of the lanes results from the inclination of the mask with respect to the analytical support. In this case, the invention provides a device for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support for biological samples, comprising:

- a) a mask as defined above;
- b) means for positioning and guiding the mask allowing the mask to be positioned so that the mask is held in the proximity of the surface of the analytical support and allowing the mask to be guided by sweeping the surface of the analytical support, in a determined plane inclined to the surface of said support, to allow to deposit and distribute the reagents over each of the determined zones of the analytical support coming into line with the lanes of the mask.

In a particular embodiment of the invention, the device defined above is such that the means for positioning and guiding the mask can establish a distance between the analytical support and the point on the mask that is closest to said support (corresponding to the lowest point of the slope) that is in the range 0.1 mm to 0.5 mm, and a distance of less than 2 mm, preferably 1.5 mm or less, from the point furthest from the mask and the support (corresponding to the highest point of the slope).

The distance between the analytical support and the point on the mask that is closest to said support is preferably 0.5 mm.

The means for positioning and guiding the mask of the invention can be any suitable means, if appropriate present in an electrophoresis instrument. A course limiter can, for example, be an abutment.

The guide means advantageously comprise a course limiter to delimit the mask displacement course.

In one particular embodiment of the invention, the positioning and guiding means can allow automated displacement of the mask along the analytical support. However, the mask of the invention can readily be manually displaced, to cover the whole of the determined zones on the analytical support with the reagents contained in the mask by sweeping, if appropriate by means of a plurality of outward-and-return displacements.

The invention also concerns a method for depositing and distribut

ing one or more reagents on an analytical support comprising biological samples, the method comprising the steps of:

- positioning a mask as hereinbefore defined or a device as defined above in the proximity of the analytical support;
- loading the reagent or reagents onto the mask to deposit the reagent or reagents onto the analytical support, holding them between said support and the lanes of said mask by capillary action;
- displacing the mask by sweeping the analytical support to allow distribution of the reagent or reagents on the analytical support into the delimited zones of said support, the reagent or reagents being distributed in a quantity sufficient to allow their interaction with the constituents of the biological samples present on said analytical support.

When the lanes of the mask comprise a sloped portion, the mask is displaced in a horizontal plane with respect to the plane of the analytical support above the support and parallel to the support.

When the lanes of the mask do not comprise a slope and are therefore positioned in an inclined manner with respect to the analytical support to produce the slope, the mask is displaced parallel to the plane of the analytical support that is itself in the horizontal position if the mask is inclined.

When the mask is positioned in the proximity of the analytical support, and as soon as the reagents come into contact with the analytical support, it can be displaced immediately by sweeping above said analytical support.

When the reagents are distributed over the determined zones of the analytical support, for example over zones corresponding to the electrophoretic migration lanes of the biological samples, these zones constitute the incubation zones for said reagents with the constituents of the samples.

One advantage of using the mask of the invention lies in the fact that when distribution is terminated, the mask can immediately be removed from the delimited zones constituting the incubation zones of the analytical support, the quantity of reagent loaded into the mask having been exhausted.

One further advantage linked to the use of the mask of the invention is to allow uniform distribution of the reagents over the incubation zones.

Advantageously, an excess quantity of reagent is used with respect to the quantity required to cover the zones of the analytical support where incubation between the constituents of the samples and the reagents takes place. An excess of reagent is a quantity more than that distributed by a single passage (one sweep) at a sweep rate over the analytical support of about 2 cm/s.

The quantity of reagent left on the analytical support per unit area of swept surface depends on the surface area and in particular on the sweep length. It rises as the sweep rate reduces.

The rate of displacement of the mask with respect to the analytical support is normally in the range 0.5 to 2 cm/s.

By way of example, to distribute the reagents on an electrophoresis support with a width of 8 cm determined between the anode and cathode (corresponding to the sweep length), two displacements each comprising an outward and a return trip can be carried out, each displacement taking about 3 seconds. In this case, a quantity of reagent per lane in the range 6 ml to 10 ml can be deposited.

At slow rates, i.e., at about 0.5 cm/s, and for a lane width of 2.5 mm, a reagent in a quantity of 3-4 ml introduced beneath the lane will be exhausted after a path of 70 mm.

For 2.5 mm wide lanes and with a sweep path for the mask of 70 mm

compared with the analytical support, the volume of reagent advantageously employed is about 8 to 10 ml/lane.

When the first sweep has been carried out, some reagent is left under the lane even if the displacement is slow, at 0.5 cm/s, and especially if the displacement is at an average rate of 2 cm/s.

Other sweeps will be necessary to completely exhaust the reagents introduced. The number of sweeps can vary as a function of the volume of reagent introduced into each lane.

In practice, the volume of each reagent employed is such that 4 sweeps are sufficient to exhaust the reagent.

With 10 ml loaded into each opening, the mask then, for example, undergoes 2 outward and return trips for a sweep length of 70 mm. Once all of the reagents have been distributed onto the surface after these 4 passes, the mask is withdrawn with no risk of unintentional distribution and the incubation phase proper is commenced.

According to a particular embodiment of the invention, two sweeps (one outward-and-return displacement) to distribute the reagents on the analytical support. Even if after the sweeps, a small quantity of reagent remains on the analytical support, it is not necessary to remove it before incubation. The operating conditions of the mask enable a uniform distribution.

If the sweep length is reduced, the quantity of reagent distributed per lane is advantageously reduced.

We indicated above that the mask used to carry out the method for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support is advantageously a mask in which the lanes intended for the fixative capable of fixing the constituents of the biological samples to produce a reference profile are offset with respect to the other lanes, as described above.

This offset between the fixative lane and, for example, the lanes intended for the specific antiserums, avoids an interaction between the reagents when being deposited on the analytical support. This offset is particularly justified when all of the reagents are loaded onto the mask and deposited together.

Alternatively, for example when the lanes intended for the fixative are not offset, the mask is loaded in two runs, to deposit firstly antiserums and then the fixative. This two-step loading can alternatively be carried out by initially loading and depositing the fixative then loading and depositing the specific reagents.

Alternatively also, the loading can be carried out in one step, if the conditions for the deposit of the reagents on the analytical support are such that they do not lead to interactions between the reagents, in particular between the specific reagents and the fixative if any.

When the mask is such that it has to be used in an inclined position to produce the slope in the lanes compared with the analytical support, the lanes are not offset from each other, but loading of reagents which must not be allowed to interact (for example, fixative and antiserums) is carried out in either in two stages: the initially loaded reagent is distributed by sweeping prior to loading the reagent (for example antiserum) loaded in a second stage, or in conditions allowing to avoid disturbing interactions when depositing the reagents on the analytical support.

In a particular implementation, the deposition and distribution method of the invention is carried out so as to load the mask with the reagents away from the zone of the surface of the analytical support comprising the biological samples.

When carrying out this loading, which takes a certain amount of time (30 seconds to 2 minutes), the zone of the analytical support covered

d by the reagents at this location is wider than the lane itself as a result of diffusion. This diffusion could cause abnormal enlargement of the profile, revealed after incubation of the reagent with the constituents of the biological sample, should this loading be carried out vertically to a zone comprising a profile of the constituents of the samples that are to be revealed.

If the mask is loaded away from the zones of the analytical support comprising the constituents of the samples, this disadvantage resulting from diffusion of the reagents from the deposition zone does not occur.

When the size of the surface of the analytical support allows it, said loading can be carried out in the anode portion beyond the zone in which the electrophoretic migration profiles for said samples are located. The loading can alternatively be carried out in the cathode portion beyond the zone in which the electrophoretic migration profiles for said samples.

When the size of the surface of the analytical support does not allow such deposition beyond the zone containing the sample electrophoretic migration profiles, the mask can be loaded outside the support surface, for example onto a thin sheet of plastic, this sheet coming into contact with the analytical support and in the plane of the surface of this support but extending beyond this surface.

The invention also concerns a method for depositing and distributing one or more reagents on an analytical support comprising biological samples, the method comprising the steps of:

- loading the reagent or reagents onto the mask to allow the reagent or reagents to be deposited on the analytical support, and being held between said support and the lane or lanes of said mask by capillary action;
- positioning a mask as hereinbefore defined or a device as hereinbefore

e defined in the proximity of the analytical support;

- displacing the mask by sweeping the analytical support to distribute the reagent or reagents on the analytical support in delimited zones on said support, the reagent or reagents being distributed in a quantity sufficient to allow them to interact with the constituents of the biological samples present on said analytical support.

The features indicated above for carrying out the deposition and distribution method are applicable in this instance.

In this implementation of the mobile mask loaded prior to positioning it above the analytical support, all of the reagents have been introduced into the upper orifices of the openings associated with each lane of the mask, which then act as reservoirs. These reagents are held in them due to capillary action despite the presence of a lower orifice for each opening.

In the configurations described above, when the mask is loaded above the analytical support, the mask already having been placed at the required distance (about 0.5 mm for the lowest point) from said support, the reagents are introduced directly between the lanes of the mask and the analytical support.

To this end, during the phase for expelling the reagent that has been held in the tip of the pipette, a seal is provided between the end of this tip and the upper orifice of the mask, for example by holding the pipette in the vertical position with the tip bearing lightly against the bottom of the opening in the mask in the conical portion close to the lower orifice of the opening. When this lower conical portion is extended by a cylindrical portion, the diameter of this latter (for example 0.8 mm) does not allow passage of the pipette tip. This ensures "forced" expulsion of the reagent via the lower orifice of the opening associated with the lane, the droplet that beads out from this lower orifice c

oming into contact with the analytical support located in its proximity (0.5 mm) and distributing itself by capillary action between the lane and the support. When the pipette tip/upper orifice seal is not obtained, the reagent remains in the upper orifice and does not descend onto the analytical support.

This is precisely the case when the seal is provided but when the lower orifice is not in the proximity of the analytical support surface, i.e., when loading is carried out away from the analytical support.

Under these conditions, the droplet that has beaded out (but has not fallen because of its very small volume of 10 to 15 μ l) and has remained attached by capillary action close to the lower orifice, rises into the well constituted by the upper orifice when the "tip/upper orifice contact" is destroyed by removing the pipette.

This particular implementation of the mask with loading prior to positioning it above the analytical support has the advantage of being capable of being carried out automatically, for example by means of the Hydraplus SEBIA automated instrument, removing the need for any manual pipetting and further simplifying loading of the mask.

The mask loaded with reagents distributed in the upper orifices acting as a reservoir can be kept in a moist chamber for a period of a few minutes to a few hours prior to use.

Different means can be envisaged for bringing the reagents loaded into the mask into deposition on the analytical support.

In a first embodiment, the mask and mask holder assembly (the mask holder constituting a means for positioning the mask) loaded with different reagents is positioned above the analytical support by attaching it to a guide rail and bringing it into abutment in the anode position. The mask assembly is covered with a small chamber (Figure 3) covering all of the upper orifices and bearing on the periphery of the mask (a plan

ar surface sealing against a planar surface). This chamber is provided with a fitting via which a small volume of air, 50 to 200 ml, is rapidly injected (for example using a syringe). This increase in pressure in the sealed chamber causes each of the reagents to bead out below the mask lanes and these reagents then touch the gel. Following this contact with the analytical support, they are simultaneously distributed between the lanes of the mask and the analytical support by capillary action. The surface of the analytical support is then swept.

In a further embodiment, the mask and mask holder assembly that has already been loaded is positioned above the analytical support by attaching the mask holder to the guide rail and is brought into abutment in the anode position.

The reagents can be caused to fall onto the analytical support from the upper orifices of the mask that act as a reservoir by introducing, vertically into each of the upper orifices, a cylindrical rod with a diameter that is lower than that of the lower orifice of the mask (for example 0.5 mm) constituted by a material with a hydrophilic nature (for example stainless steel) until the rod comes into contact with the analytical support.

This rod can establish a junction between the liquid introduced into the upper orifice and the analytical support. All of the liquid introduced then descends by capillary action along the rod and distributes itself between the lane and the analytical support.

The simultaneous descent of all of the reagents onto the analytical support can be achieved by introducing a rod into each of the upper orifices of the mask vertically and simultaneously, these rods of the same length (5 to 10 mm) being rendered integral with each other, for example by insertion into a rectangular Plexiglas plate with the same dimensions as the mask and with a geometry such that it exactly reproduces the

disposition of the orifices of the mask. When all of the reagents have been distributed between the lanes of the mask and the analytical support, the Plexiglas plate provided with the rods is withdrawn and the mask is swept across the gel surface.

In a further implementation of the invention, a third method that allows all of the reagents to be dropped simultaneously onto the gel consists of providing it with a mechanical impulse, after positioning the mask in abutment (especially in anodic or in cathodic abutment) above the analytical support. This impulse can, for example, be obtained by snapping fitting the loaded mask into the mask support.

This impulse can project a drop of reagent, until then held by capillary action in the reservoir of the mask, onto the analytical support by inertia, and thus establishes a junction between the lowest point of the mask lanes at the lower orifice of the lanes and the analytical support so that all of the reagents located in the reservoirs are distributed by capillary action between the mask lanes and the analytical support. The gel surface can then be swept.

In a still further implementation, when the mask is loaded away from the analytical support, after distributing the reagents into the upper orifices and installing the mask above the analytical support, the mask is briefly brought into contact with the analytical support at the lowest point of the slope of the lanes. The purpose of such contact is to allow all of the reagents to fall onto the analytical support before distribution is commenced.

Once the loaded mask is in the position of use in one of the above implementations, i.e., when each lane has received a predetermined quantity of reagent, the mask is displaced parallel to the analytical support in the direction of electrophoretic migration, using guide means. The result of this displacement is to entrain the liquid located between t

he lanes of the mask and the analytical support by sweeping the surface of the analytical support coming into line with the lanes of the mask. The liquid held between the mask and the analytical support by capillary action is entrained in particular due to the slope of the lanes which enable that the reagent be brought at its lowest point during the displacement and a certain quantity of reagent is then deposited on the analytical support into which it penetrates and remains. As sweeping progresses, the volume of liquid contained beneath the lane is consumed by penetration into the analytical support and reduces.

The invention also concerns a method for depositing and distributing reagents on an analytical support, in which the step for loading the mask with the reagent or reagents is automated.

In a further implementation of the invention, the step for displacing the mask for sweeping the analytical support is automated.

The method of the invention is advantageously carried out to detect biological sample constituents, previously separated by electrophoretic migration, this detection possibly involving immunofixation, the reagents in this case being specific antisera and preferably a fixative to produce a reference electrophoretic profile.

Such a method of the invention can be carried out under the usual conditions for carrying out electrophoresis and immunofixation techniques. The reagents used are the usual reagents, but these reagents are advantageously being used in a quantity that is lower in the invention compared with the quantities normally employed.

The invention also provides a method for detecting the constituents of one or more biological samples by immunofixation, comprising:

- carrying out electrophoresis of the biological sample or samples to separate out the constituents;
- carrying out a method for depositing and distributing reagents on an

electrophoresis support, preferably an agarose gel, in accordance with the invention;

• incubating the biological samples separated by electrophoresis with the distributed reagent or reagents to allow immunofixation.

Such a detection method can also be characterized in that it further comprises a step for revealing the constituents of immunofixed biological samples and if appropriate, a step for quantifying the revealed constituents.

These revealing and quantification steps can be carried out using any known means.

Advantageously, in the context of the invention, the methods defined above can simultaneously analyse $3n$, $2n$ or n biological samples respectively, n being a whole number representing the number of rows of deposits, using a mask with 18, 12 or 6 analytical lanes respectively. Preferably, n is 2, 3 or 4.

However, in principle, there is no limit to the number of lanes on the mask.

Because of the structure of the mask and the features of its use, the quantity of each reagent loaded onto each lane of the mask, i.e., introduced into each opening of each lane and held by capillary action beneath each lane, can advantageously be reduced, and is, for example, less than 15 ml/lane. Preferably, the quantity is 10 ml/lane or less.

When the reagents are deposited on the analytical support, they are in the liquid form. Thus, the invention concerns the use of liquid reagents to load the mask. The invention also concerns the use of a mask loaded with liquid reagents, the mask then being freeze dried so that the reagents contained in the openings of the mask are freeze dried until the mask is used when the reagents are in the form of solutions for the deposition step.

In a further aspect, the invention provides a kit comprising:

- at least one mask as defined above;
- at least one analytical support, in particular an electrophoresis support.

Such a kit can also comprise:

- reagents for immunofixation of the constituents of samples separated by electrophoresis;
- a fixative for fixing each sample of the ensemble of constituents separated by electrophoresis.

The kit can also comprise at least one comb for depositing samples on the analytical support.

If the mask has to be loaded away from the electrophoresis support, the kit can comprise means, for example as described above, to cause the reagents to fall from the openings in the mask onto the analytical support.

Such a kit is preferably suitable for simultaneous separation of 9 or even 12 samples on each electrophoresis support, using a mask with 18 lanes.

Preferably, such a kit can allow simultaneous separation of 18 samples on each electrophoresis support.

A kit in accordance with the invention can also contain indications relating to the use of the mask of the invention, for example in the form of instructions for use including information regarding the quantities of reagents to be loaded onto the mask and/or on the conditions for displacing the mask, such as the sweep rate or the recommended number of sweeps.

If need be, according to a particular embodiment of the kit of the invention, the mask is not with the analytical support which can be obtained independently.

The mask of the invention can advantageously be loaded with the reagents.

Further, the invention concerns an electrophoresis support for separating at least 9 biological samples disposed in 3 rows of 3 samples, for immunofixation, said support comprising at least 18 migration lanes, said lanes being spaced from each other by a distance of 2 mm and being 3 mm wide, and the total length of the migration lanes being at most 63 mm.

Other characteristics, advantages and details of the invention will become apparent from the following description, made with reference to the accompanying drawings

In order that the reagents loaded in the mask wells may descend, a pressure is applied on the mask holder. This causes a bending of the spring leaves 47 and the lowest part of the lanes, where the lower orifice of the filling conduits 34 is situated, comes into contact with the gel (an abutment system permits to limit the bending in order not to damage the gel).

By releasing the pressure at the bearing zone 46, the mask is allowed to move up and returns to its initial position and the reagents contained in the conduits 36 are distributed by capillarity between the lower part of the lanes and the gel.

The mask is then moved forth and back by means of the handle 26.

The device shown in Figures 1 to 3 comprises a mask 10 in accordance with the invention, removably mounted on a support arm 12, substantially in the shape of a C, which is attached to and guided in translation on a rail 14 of a slide 16 for positioning and fixing on a plate (not shown) that carries the analytical support (for example agarose gel).

Slide 16 extends over one edge of this plate parallel to the direction of electrophoretic migration and comprises two transverse slots 18

in which are engaged hollow pins 20 carried by a further slide 21 that is integral with the edge of the plate, the hollows in pins 20 nesting into dogs emerging from the migration plate (not shown) and associated with screws 22 for adjusting the transverse position of slide 16 and thus of mask 10 with respect to the plate and analytical support. This slide also includes screws 24 that can lock the slide after adjustment.

Rail 14 extends parallel to the direction of electrophoretic migration and is engaged in a corresponding groove at one end of arm 16. This end carries a handle or rod 26 for translational displacement on rail 14 in one direction or the other.

In a variation, motorised means can be provided on slide 16 for a automated displacement of arm 12, for example an electrical motor the drive shaft of which bears on a toothed wheel or pulley co-operating with a chain or belt respectively, connected to arm 12.

Mask 10 is fixed to arm 12 using any suitable means, for example an elastic snap fit as shown at 28, and is formed by a flat elongate substantially rectangular plate that extends transversely, i.e., perpendicular to the direction of electrophoretic migration.

This plate is held above the analytical support at a predetermined distance therefrom by projecting pins or blocks 30 formed on or fixed to the lower face of arm 12 and which are intended to rest on the edges of the plate described above.

The lower face of mask 10 comprises a series of oblique lanes (or ramps) 32, which are mutually parallel and arranged in two transverse rows that are mutually offset in a staggered pattern in the example shown. These lanes (or ramps) 32 extend parallel to the direction of electrophoretic migration and are all inclined in the same direction. Their lowest extremity comprises an orifice 34 for depositing the reagent on the analytical support. This orifice 34 is the lower orifice of a cond

uit or passage traversing the mask 10 over its whole thickness and opening into the upper face of the mask via an orifice 36 with a diameter that is much larger than that of the lower orifice 34.

In one embodiment of the invention shown in Figures 4 to 6, these orifices 34 and 36 are the ends of small cylindrical conduits with a circular cross section connected to each other via a truncated conical conduit 38.

The mask holder 12 and snap fitted mask 10 are attached to guide rail 14, and so transverse adjustment using screw 22 can bring the ramps of the mask into vertical alignment with the sample migration lanes, which can be visualised by adding a suitable dye such as bromophenol blue to the deposited samples.

The mask can be manually swept over the top of the analytical support using handle 26 or using the motorised means described above.

As shown diagrammatically in Figure 3, a cover 40 can be placed on the mask 10 and fixed thereon to close conduits 34, 36, 38 formed in mask 10 in a substantially sealed manner. A tube 42 on cover 40 opens above the upper orifices 36 of these conduits and allows injection of a small quantity of air between the mask and the cover, to exert a pressure on the reagents contained in the conduits of the mask and to cause them to fall into the conduits to bring them into contact with the analytical support.

The reagents can be deposited in the conduits of mask 10, these conduits can be closed in a substantially tight manner by cover 40, the mask 10/cover 40 assembly can be transported and placed above the analytical support before using the reagents.

Figures 7 and 8 diagrammatically illustrate two variations of mask 10:

- that of Figure 7 comprises 18 traversing conduits arranged in two row

s that are parallel and offset in a staggered pattern from one row to another;

• that of Figure 8 comprises two groups of six traversing conduits, the two groups being aligned over the length of the mask and each comprising five aligned conduits and one offset conduit.

EXAMPLES USING THE MASK OF THE INVENTION

Example 1

Simultaneous immunofixation of 9 samples using a mobile mask with 18 lanes (Figure 4)

Manipulation was carried out using SEBIA' s HydrasysR electrophoresis instrument on a gel intended for immunofixation with dimensions of 0.7 x 83 x 101 mm.

To deposit samples on the electrophoresis support, we used applicators (French patent FR-A-2 671 290 and European patent EP-A-0 493 996) comprising 18 x 3 mm teeth spaced 2 mm apart. Each sample was deposited on 6 consecutive teeth, and thus each applicator could deposit 3 different samples on the electrophoresis gel, and 3 applicators were used to obtain the 9 samples for analysis. The deposits were made on the gel using the HydrasysR instrument, in 3 parallel rows respectively located 18, 38 and 58 mm from the cathode edge of the gel. Electrophoretic migration was carried out at a controlled temperature of 20°C at a constant power of 20 W and for a period so that 31 volt hours were accumulated.

Once migration was complete, the mobile mask of the invention with 18 lanes with the following geometrical characteristics was installed: lane width 2.5 mm, lane length 7 mm, inter-lane distance 2.5 mm, slope of lanes 5°. A row of 3 lanes (intended for the fixative) was offset by 5.5 mm with respect to the row of 15 lanes (intended for the antiserums).

The hollows in pins 20 of the guide rail were positioned on the t

two dogs carried on the migration plate of the HydrasysR instrument.

The 18 lane mask was snap fitted into the mask holder 12, which itself had been attached to the guide rail. The mask and its mask holder were brought into abutment in the high position, i.e., on the anode side of the gel. A dye, bromophenol blue, incorporated into the samples deposited on the gel, allowed the position of the electrophoretic lanes on the analytical support to be visualised. Using transverse adjustment means 20, 22, the lanes or ramps of the mask were brought into vertical alignment with the migration lanes of the samples.

The mask was then loaded by introducing the different reagents required for immunofixation via the upper openings of the lanes (36), in an amount of 10 ml of reagent per lane and in the usual order: fixative, anti IgG, anti IgA, anti IgM, anti kappa and anti lambda. The fixative was introduced beneath the 3 offset anode side lanes.

Once introduced between the lanes and the gel, these 10 ml reagent loads were distributed beneath each lane over about 5-6 mm beyond the zones, anode side, that were to be revealed.

Once the mask had been loaded, it was displaced using the handle (26) by sliding along the guide rail. This sweep was carried out smoothly without jerking at an approximately constant speed from the high position (anode side) to the low position (cathode side) of the gel, over a path of 63 mm. This sweep was carried out in about 3 seconds.

Once the mask had arrived in abutment in the cathode position, a sweep was carried out in the reverse direction under the same conditions. These two sweeps were repeated once again. The entire amount of reagents initially introduced beneath the lanes had then been deposited on the gel above the electrophoretic migration zones. The mask could be withdrawn before the phase for incubating the reagents on the gel, carried out for 5 minutes at 20°C.

We then proceeded to the pumping, drying, washing, staining, destaining and drying steps using the usual immunofixation protocols.

Example 2

Simultaneous immunofixation of 12 samples using a mobile 18 lane mask (Figure 4)

The procedure of the previous example was repeated, but 4 18 tooth applicators were loaded with 3 samples per applicator. Using the HydrasysR instrument, deposits were made on the gel in 4 parallel rows respectively located 18, 33, 48 and 63 mm from the cathode edge of the gel.

Migration was carried out for 28 volt hours at a constant power of 20 W, at 20°C. The method was then as described for the previous example.

Example 3

Simultaneous immunofixation of 4 samples using a mobile 12 lane mask (Figure 8)

The samples were deposited on the gel using applicators with 15 x 4 mm wide teeth spaced apart by 2 mm, the applicators being loaded in an amount of 2 samples per applicator (sample no 1, teeth 2 to 7; sample no 2, teeth 9 to 14).

The HydrasysR instrument was used to produce deposits on the gel in 2 parallel rows located respectively 23 and 53 mm from the cathode edge of the gel.

Migration at a controlled temperature of 20°C at a constant power of 20 W was carried out until 42 volt hours had been accumulated.

Once migration was complete, the mobile mask of the invention with 12 lanes with the following geometrical characteristics was installed: lane width 3.5 mm, lane length 7 mm, inter-lane distance 2.5 mm, slope of lanes 5°. A row of 2 lanes (for loading the fixative) was offset by 5.5 mm with respect to the row of 10 lanes (for loading the antisera).

The hollows in pins 20 of the guide rail were positioned on the t

two dogs carried by the migration plate of the HydrasysR instrument. The 12 lane mask was snap fitted into the mask holder 12, which itself had been attached to the guide rail, and the assembly had been brought into abutment in the high position.

Using the transverse adjustment means, the lanes of the mask were brought (as described in Example 1) into alignment with the electrophoretic migration lanes of the samples.

The mask was loaded by introducing 14 ml of reagent per lane.

The reagents were distributed as described in the preceding examples by carrying out 4 sweeps with the mask.

The entire quantity of the reagents had then been deposited on the surface of the gel and the mask was then withdrawn.

We then proceeded to incubation and to the pumping, drying, washing, staining, destaining and drying steps using the usual immunofixation protocols.

Example 4

Carrying out a 36 IF penta technique using an 18 lane mobile mask (Figure 4)

The IF penta technique is routinely used to detect the presence of paraproteins in analysed samples in the form of monoclonal or oligoclonal immunoglobulin bands.

This technique is carried out by side-by-side developing for each sample analysed of the total protein profile and the profile of all immunoglobulins by carrying out immunofixation using a pentavalent antiserum, i.e., having anti IgG, anti IgA, anti IgM, anti kappa and anti lambda specificities.

Manipulation was carried out in this example using an agarose gel intended for immunofixation with dimensions 0.7 x 83 x 101 mm using a S EBIA HydrasysR electrophoresis instrument. Combs with 18 x 3 mm teeth s

paced 2 mm apart were used. Each sample for analysis was deposited twice side by side, i.e., 9 samples per applicator.

4 applicators were used for the 36 samples.

The deposits were made on the gel using the HydrasysR instrument in 4 parallel rows respectively located 18, 33, 48 and 63 mm from the cathode edge of the gel. Migration was then carried out at a controlled temperature of 20°C at a constant power of 20 W to an accumulation of 28 volt hours. The 18 lane mobile mask of the invention corresponding to Figure 4 was then installed.

This mask was constituted by 2 rows of 9 lanes each, offset from each other by 5.5 mm. The 9 most anodic lanes were intended to receive the fixative and the 9 other lanes were intended to receive the pentavalent antiserum. Each lane was 2.5 mm wide, with a length of 7 mm, an inter-lane distance of 2.5 mm and a slope of 5°.

The mask was snap fitted in the mask holder and brought into abutment in the high anode side position.

The reagents were introduced in an amount of 10 ml/lane.

The procedure of Examples 1 to 3 was then followed.

Brief Description of Drawings

- Figure 1 is a diagrammatic perspective view from below of a mask holder device of the invention;
- Figure 2 is a diagrammatic perspective top view of this device;
- Figure 3 is a diagrammatic perspective top view of this device and its associated cover;
- Figures 4 and 5 are views from below and the side respectively of the mask of the invention;
- Figure 6 is a cross sectional view along line VI-VI of Figure 4;
- Figures 7 and 8 are diagrammatic perspective views of two variations;

- Figures 9 to 17 illustrate another embodiment of the invention where the lanes are formed in one row only.
- Figure 9: top view of the guide permitting to position the mask above the electrophoresis support and to displace the mask above the support (gel) in a given direction and on a given stroke;
- Figure 10: Top and bottom views of the carriage which is mounted on the rail 14 by means of a slide 49. The carriage has four feet 30 which are applied on a plane in which the electrophoresis gel is positioned, on either side of the gel. The feet 30 may slide on this plane.
- Figure 11: Top and bottom views of the mask holder which receives and maintains the mask by means of notches 43 and springs 28. The mask holder comprises a bearing zone 46 on which a pressure is applied to move the mask into contact with the gel.
- Figure 12: assembly of a carriage and a mask holder which are connected by two spring leaves 47 maintained by rivets 48. This assembly, when mounted on the guide rail 14 by the slide 49, permits to maintain the mask parallel to the gel and at the vicinity of the gel without contact.
- Figure 13: Top view of the assembly comprising the carriage, the mask holder and the mask.
- Figures 14 to 17: represent the mask and guide assembly mounted on the positioning bar 50 on the electrophoresis plate in its end sweep positions.

Abstract

The invention concerns a mask for distributing one or more reagents on an analytical support, in particular an electrophoresis support, for example an electrophoresis gel. The mask (10) (termed a mobile mask) held in a mask holder 12 is designed to be displaced above predetermined zones on an analytical support, and comprises traversing orifices 36 for distributing reagents on the analytical support.

The invention has application, for example, in the field of detecting and characterizing constituents present in a biological sample. In particular, detection can be accomplished by immunofixation.

Figure 2 to be published.

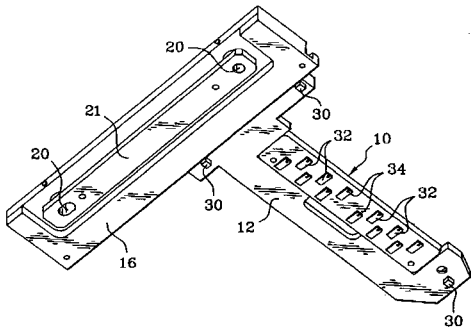


Fig. 1

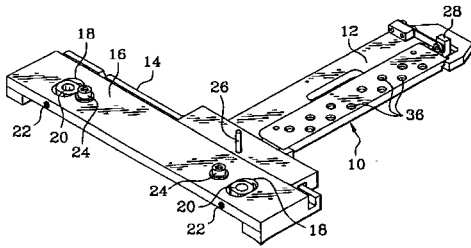


Fig. 2

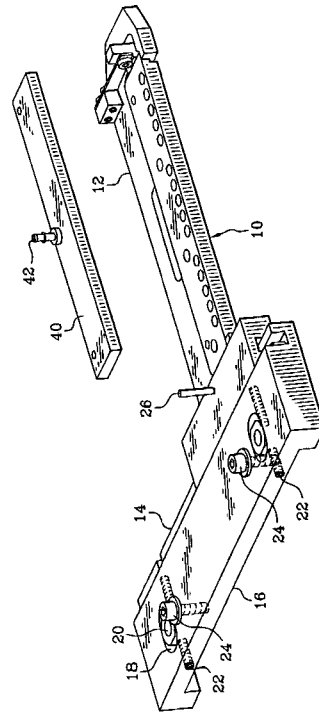


Fig. 3

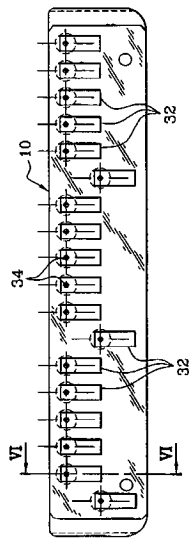


Fig. 4

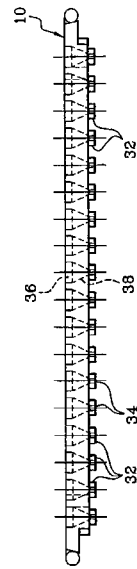


Fig. 5

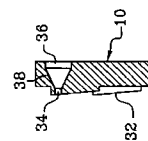


Fig. 6

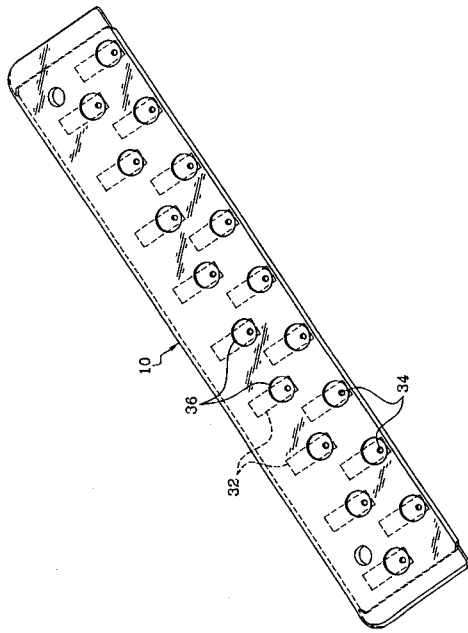


Fig. 7

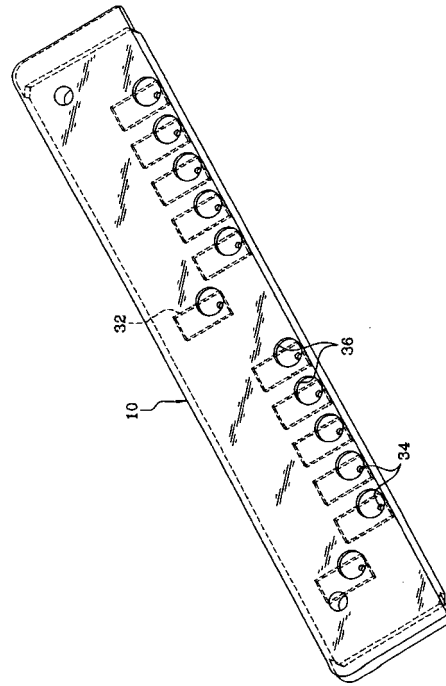


Fig. 8

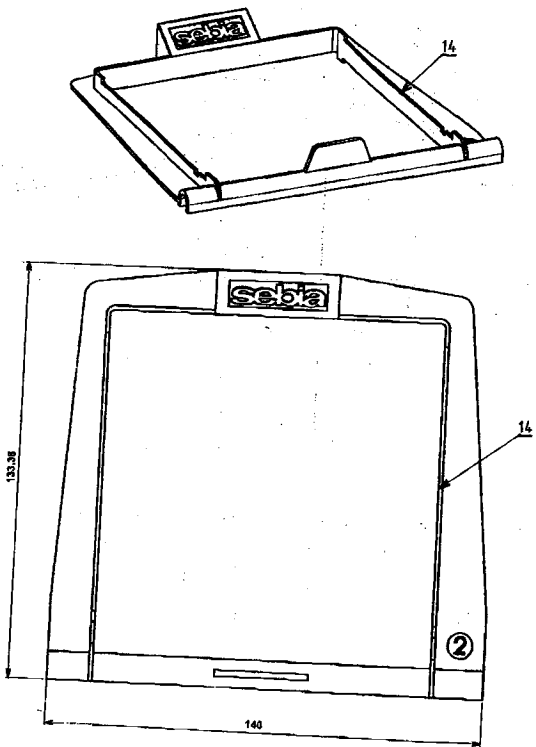


Fig. 9

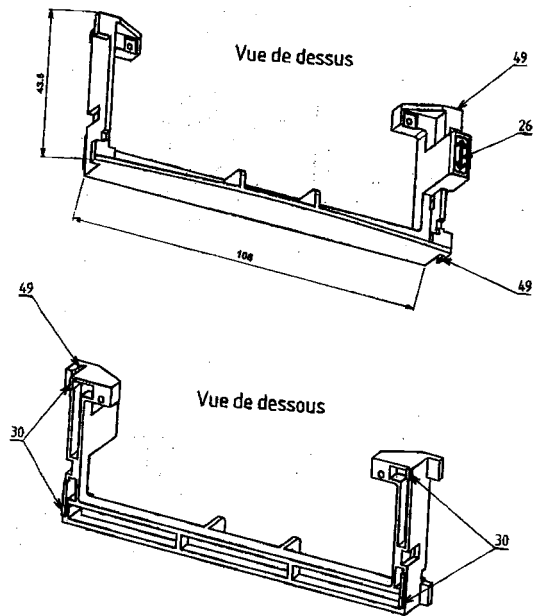


Fig. 10

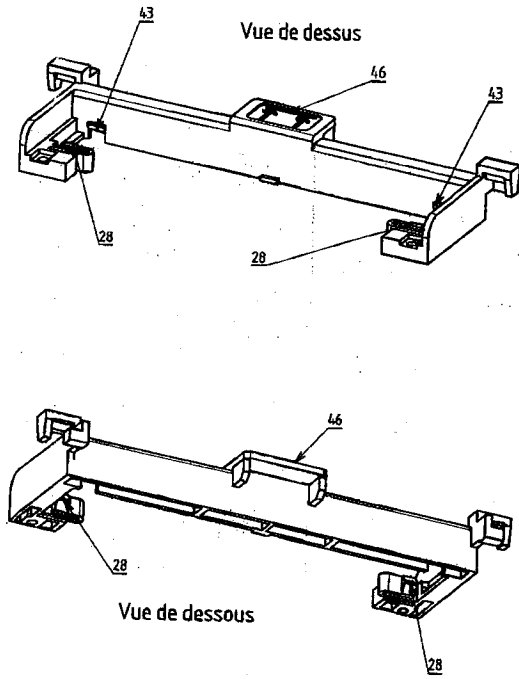


Fig. 11

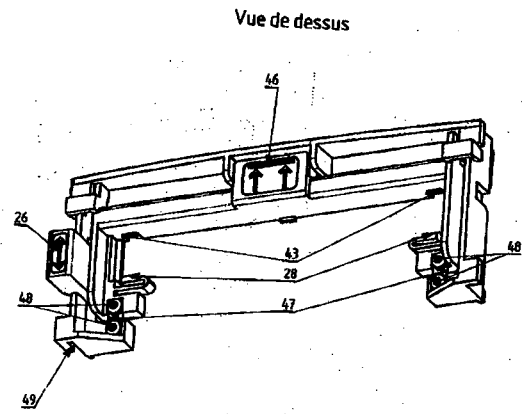


Fig. 12

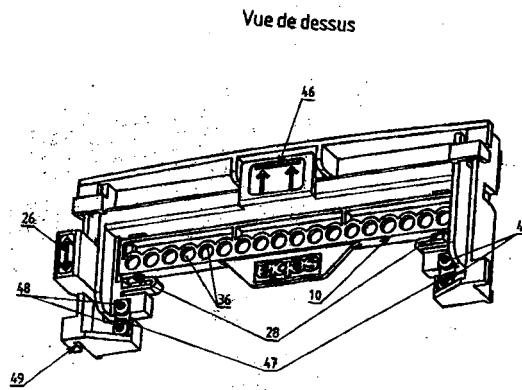


Fig. 13

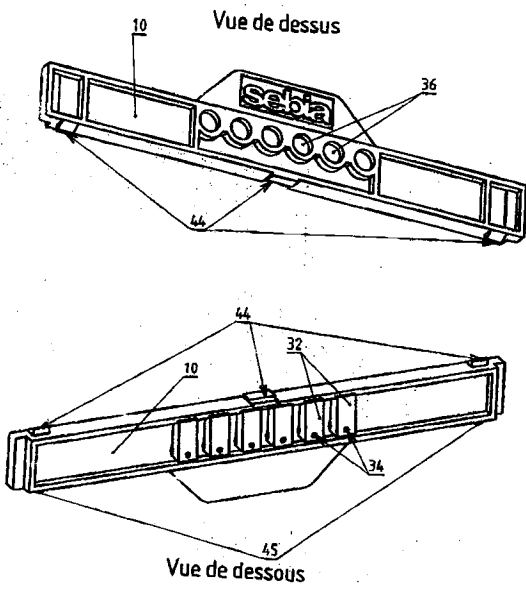


Fig. 14

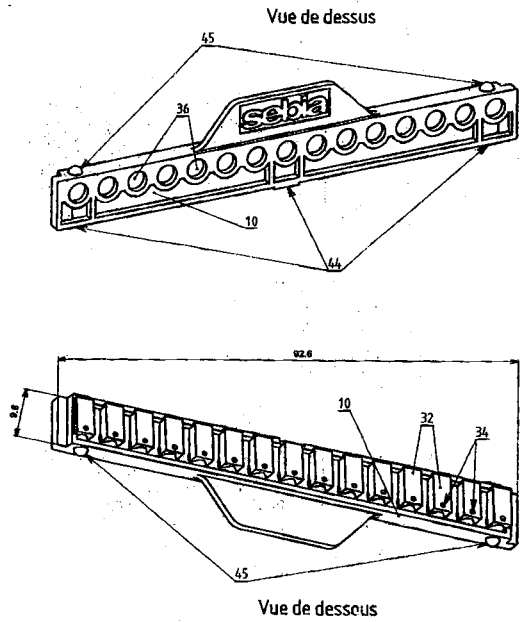


Fig. 15

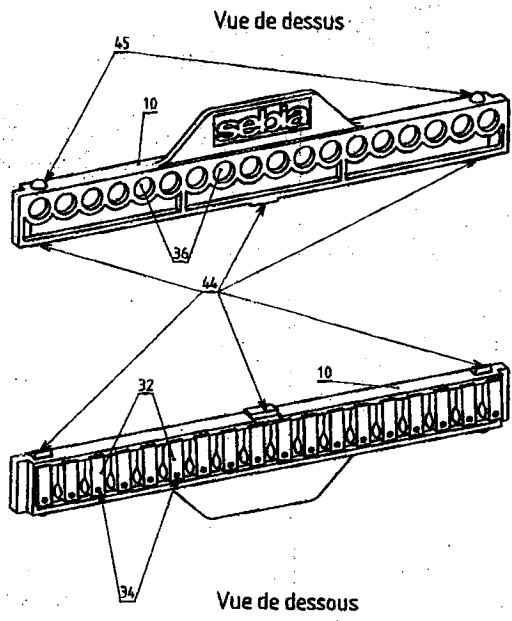


Fig. 16

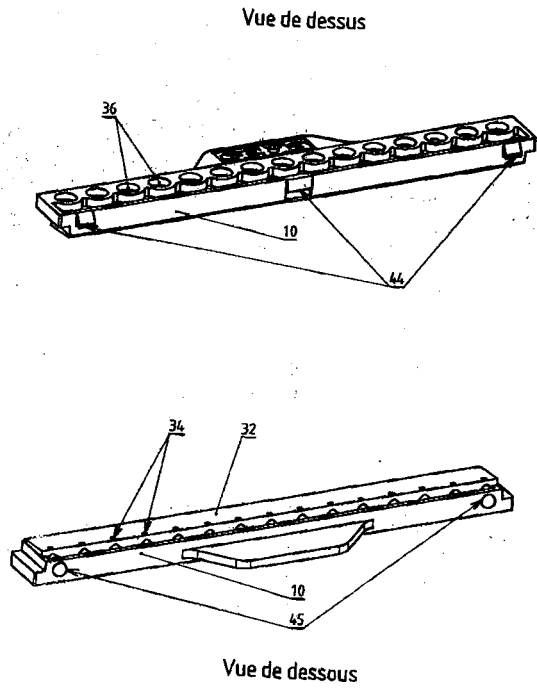


Fig. 17

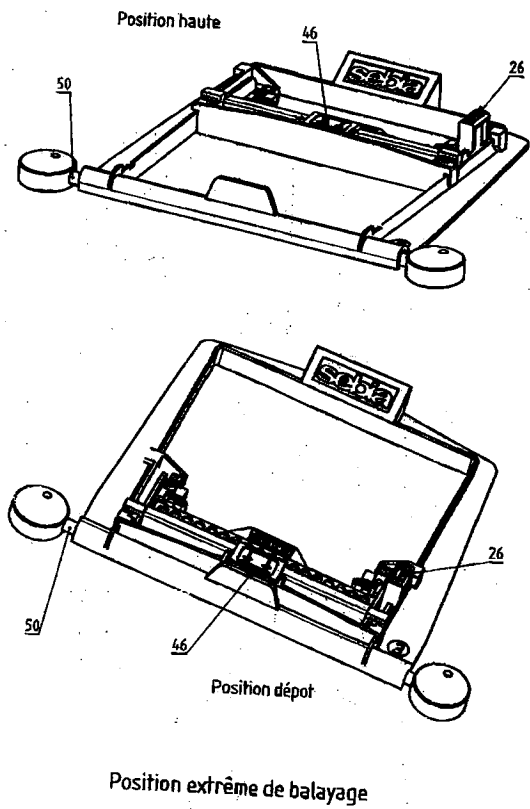


Fig. 18

专利名称(译)	用于在分析支持物上沉积和分配试剂的掩模		
公开(公告)号	JP2004037445A	公开(公告)日	2004-02-05
申请号	JP2003030102	申请日	2003-02-06
申请(专利权)人(译)	塞维尔		
[标]发明人	フランクペロン		
发明人	フランク ペロン		
IPC分类号	G01N33/53 G01N27/447 G01N33/561 G01N33/566		
CPC分类号	G01N33/561 G01N27/44717		
FI分类号	G01N27/26.301.C G01N33/53.T G01N33/566 G01N27/26.315.D G01N27/26.315.J G01N27/447.301.C G01N27/447.315.D G01N27/447.315.G G01N27/447.315.J		
优先权	2002001433 2002-02-06 FR		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

[问题] 本发明涉及一种分析载体，特别是一种用于在电泳载体如电泳凝胶上分配一种或多种试剂的掩模。掩模(10)(称为移动掩模)由掩模保持器12保持，并且被设计为在分析支撑物上的预定区域上方移动，并将试剂分配到分析支撑物上。有一个通孔36例如，本发明可用于检测和表征生物样品中存在的组分的领域。特别地，通过免疫固定进行检测。

[选择图]图2

