

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-534956  
(P2008-534956A)

(43) 公表日 平成20年8月28日(2008.8.28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 1	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 X	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 25 頁)

(21) 出願番号 特願2008-504026 (P2008-504026)  
 (86) (22) 出願日 平成18年1月19日 (2006.1.19)  
 (85) 翻訳文提出日 平成19年9月28日 (2007.9.28)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/002252  
 (87) 国際公開番号 W02006/107371  
 (87) 国際公開日 平成18年10月12日 (2006.10.12)  
 (31) 優先権主張番号 11/094,498  
 (32) 優先日 平成17年3月30日 (2005.3.30)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504460441  
 キンバリー クラーク ワールドワイド  
 インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 54  
 956 ニーナ ノース レイク ストリ  
 ート 401  
 (74) 代理人 100082005  
 弁理士 熊倉 禎男  
 (74) 代理人 100084009  
 弁理士 小川 信夫  
 (74) 代理人 100084663  
 弁理士 箱田 篤  
 (74) 代理人 100093300  
 弁理士 浅井 賢治

最終頁に続く

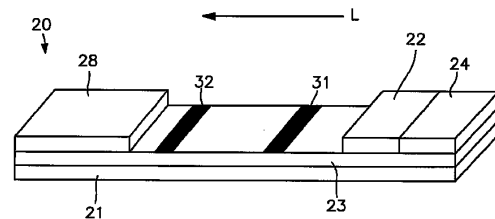
(54) 【発明の名称】 内部較正システムを用いる診断キット

(57) 【要約】

【課題】 ラテラルフローアッセイのための正確な内部較正システムを提供する。

【解決手段】 試験サンプル内の試験検体を検出するためにラテラルフローアッセイ装置及び複数のアッセイ試薬を用いる診断キット。アッセイ試薬は、試験サンプル中の試験検体の存在又は量を表す検出信号を生成することができる検出プローブを含む。検出精度を更に高めるために、較正検体の存在又は量を表す較正信号を生成することができる較正プローブも用いられる。較正信号を利用して検出信号を較正することができる。

【選択図】 図1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

試験サンプル内の試験検体の存在又は量を検出するための診断キットであって、  
該診断キットは、ラテラルフローアッセイ装置と複数のアッセイ試薬とから構成され、  
該ラテラルフローアッセイ装置は、検出区域及び較正区域を形成する多孔性膜を含み、  
該検出区域内に第 1 の受容材料が不動化され、該較正区域内に第 2 の受容材料が不動化され  
ており、

該アッセイ試薬の 1 つ又はそれよりも多くが該ラテラルフローアッセイ装置上に配置され  
ており、かつ該アッセイ試薬は、較正検体、検出プローブ及び較正プローブを含み、該  
検出プローブは、該試験検体、該第 1 の受容材料又はそれらの組合せと優先的に結合する  
ように構成された第 1 の特異的結合メンバーに接合されており、該較正プローブは、該較  
正検体、該第 2 の受容材料又はそれらの組合せと優先的に結合するように構成された第 2  
の特異的結合メンバーに接合されている、前記キット。

10

**【請求項 2】**

前記第 1 の特異的結合メンバー、前記第 2 の特異的結合メンバー、前記第 1 の受容材料  
及び前記第 2 の受容材料が、免疫反応性結合メンバーである請求項 1 に記載の診断キット  
。

**【請求項 3】**

前記較正検体及び前記試験検体が、同じタンパク質ファミリーのメンバーである請求項  
1 又は 2 に記載の診断キット。

20

**【請求項 4】**

前記較正検体及び前記試験検体が、異なるタンパク質ファミリーのメンバーである請求  
項 1 又は 2 に記載の診断キット。

**【請求項 5】**

前記試験検体、前記較正検体又はその両方が、ペントラキシンタンパク質である請求項  
1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の診断キット。

**【請求項 6】**

前記試験検体が、C 反応性タンパク質である請求項 5 に記載の診断キット。

**【請求項 7】**

前記較正検体が、ホスホコリン結合ペントラキシンタンパク質である請求項 5 に記載の  
診断キット。

30

**【請求項 8】**

前記第 1 の特異的結合メンバーが、前記試験検体と結合するように構成され、前記第 2  
の特異的結合メンバーが、前記較正検体と結合するように構成されている請求項 1 ~ 7 の  
いずれか 1 項に記載の診断キット。

**【請求項 9】**

前記第 1 の受容材料が、前記試験検体と結合してサンドイッチ錯体を形成するように構  
成されており、前記第 2 の受容材料が、前記較正検体と結合してサンドイッチ錯体を形成  
するように構成されている請求項 8 に記載の診断キット。

**【請求項 10】**

前記第 1 の受容材料及び試験検体が、前記第 1 の特異的結合メンバーと競合的に結合す  
るよう構成されており、前記第 2 の受容材料及び較正検体が、前記第 2 の特異的結合メ  
ンバーと競合的に結合するよう構成されている請求項 8 に記載の診断キット。

40

**【請求項 11】**

前記第 1 の特異的結合メンバー及び前記試験検体が、前記第 1 の受容材料と競合的に結  
合するよう構成されており、前記第 2 の特異的結合メンバー及び前記較正検体が、前記  
第 2 の受容材料と競合的に結合するよう構成されている請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に  
記載の診断キット。

**【請求項 12】**

前記較正区域が、前記検出区域の下流に位置している請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に

50

記載の診断キット。

【請求項 13】

前記ラテラルフローアッセイ装置が、前記多孔性膜と流体連通した接合パッドを更に含み、

前記アッセイ試薬の1つ又はそれよりも多くが、前記接合パッド上に配置されている、請求項1～12のいずれか1項に記載の診断キット。

【請求項 14】

前記検出プローブ及び校正プローブが、前記接合パッド上に配置されている請求項13に記載の診断キット。

【請求項 15】

前記接合パッドの上流に配置されており、かつ前記試験サンプルを適用する箇所を画成するサンプルパッドを更に含み、

前記校正検体が、前記サンプルパッド上に配置されている、請求項13又は14に記載の診断キット。

【請求項 16】

第1の特異的結合メンバーに接合した検出プローブと第2の特異的結合メンバーに接合した校正プローブとに連通して検出区域及び校正区域を形成する多孔性膜を含むラテラルフロー装置を用いて、試験サンプル内の試験検体を定量的又は半定量的に検出する方法であって、

- i) ラテラルフロー装置を校正検体に接触させる工程と、
  - ii) 前記ラテラルフロー装置を試験サンプルに接触させる工程と、
  - iii) 検出区域で生成された検出信号の強度を測定する工程と、
  - iv) 校正区域で生成された校正信号の強度を測定する工程と、
- を含み、

試験検体の量が、前記校正信号の前記強度で校正したときの前記検出信号の前記強度に比例する、前記方法。

【請求項 17】

前記ラテラルフロー装置と接触させる前に前記校正検体を前記試験サンプルと混合する工程を更に含む請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

校正検体と、第1の特異的結合メンバーに接合した検出プローブと、第2の特異的結合メンバーに接合した校正プローブとに連通して検出区域及び校正区域を形成する多孔性膜を含むラテラルフロー装置を用いて、試験サンプル内の試験検体を定量的又は半定量的に検出する方法であって、

- i) ラテラルフロー装置を試験サンプルに接触させる工程と、
  - ii) 検出区域で生成された検出信号の強度を測定する工程と、
  - iii) 校正区域で生成された校正信号の強度を測定する工程と、
- を含み、

試験検体の量が、前記校正信号の前記強度で校正した時の前記検出信号の前記強度に比例する、前記方法。

【請求項 19】

前記試験検体の前記量が、前記校正信号の前記強度で校正した時の前記検出信号の前記強度に正比例する請求項16～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 20】

前記試験検体の前記量が、前記校正信号の前記強度で校正した時の前記検出信号の前記強度に反比例する請求項16～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 21】

複数の所定の検体濃度に対して前記校正信号強度に対する前記検出信号強度の比をプロットすることによって校正曲線を作成する工程を更に含む請求項16～20のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【発明の詳細な説明】

## 【背景技術】

## 【0001】

試験サンプルに存在すると考えられる検体の存在及び/又は濃度を判断するために、アッセイには様々な分析的手順及び装置が一般的に用いられる。例えば、イムノアッセイは、病原性であるか又は生物体に対して異物である抗原の存在に応答して抗体が生成される免疫系の機構を用いる。これらの抗体及び抗原、すなわち、免疫反応物質は、互いに結合することができ、それによって生物学的サンプル中のその特定の抗原の存在又は濃度を判断するのに用いることができる非常に特異的な反応機構を引き起こすことができる。

## 【0002】

検体を分析的に検出することができるように検出可能な成分でラベル付けした免疫反応物質を用いるいくつかの公知のイムノアッセイ法が存在する。例えば、「サンドイッチ型」アッセイ型式は、一般的に、試験サンプルを、検体が検体と接合プローブの間に錯体を形成するための特異的結合メンバー（例えば、抗体）に接合した検出プローブと混合する工程を含む。これらの錯体は、次に、検出区域内に不動化された受容材料（例えば、抗体）と接触させられる。検体/プローブ接合錯体と不動化された受容材料の間に結合が起こると、それによって検体の存在を示すのに検出可能な「サンドイッチ」錯体が局在化する。この技術を用いて、定量的又は半定量的な結果を得ることができる。このようなサンドイッチ型アッセイの一部の例は、Grubb他に付与された米国特許第4,168,146号、及びTom他に付与された第4,366,241号に説明されている。代替的な技術は、「競合型」アッセイである。競合的アッセイでは、ラベル付けされたプローブは、一般的に、検体と同一又は類似する分子に接合される。従って、ラベル付けプローブは、利用可能な受容材料に関して関連の検体と競合する。競合的アッセイは、一般的に、ハプテンのような検体を検出するのに用いられ、各ハプテンは一価であり、かつ1つの抗体分子とのみ結合することができる。競合的イムノアッセイ装置の例は、Deutsch他に付与された米国特許第4,235,601号、Liottaに付与された第4,442,204号、及びBuechler他に付与された第5,208,535号に説明されている。

## 【0003】

これらのアッセイの多くは、特に半定量的及び定量的検出に対して有効で意味のある結果を得るために較正に依存する。外部較正システムでは、通常は、一連の既知の量の検体を含有する標準サンプルから標準曲線が得られ、その後、サンプルから得られた結果を標準曲線と比較し、サンプル中の検体の存在及び/又は量を抽出する。外部較正法は、設計することが比較的容易で実施することが簡単である。しかし、これは、環境からの干渉及びバッチ毎の変動性を受けることが多く、従って、信頼性がない。

## 【0004】

従って、これらの問題を克服するために、一部の内部較正システムが開発されている。例えば、Selmer他に付与された米国特許第5,387,503号は、既知の容積のサンプルを所定の量の較正用検体と混合し、この混合物を固形支持体に接触させる工程を伴う内部較正技術を説明している。固形支持体は、第1の個別の区域の試験検体を選択的に結合することができる試薬と、第2の個別の区域の較正用検体を選択的に結合することができる試薬とを含有する。試験検体のためのラベル付けされた試薬及び較正用検体のための同様のラベル付け試薬の混合物も固形支持体に適用される。サンプル中の試験検体の量は、それぞれ試験及び較正用検体に結合されたラベル付け試薬のレベルを比較することによって判断される。不都合なことには、このような内部較正技術は、クロマトグラフ法を用いる検体の不均一な分離を伴うラテラルフロー装置に容易に組み込まれるわけではない。更に、アッセイ試薬を予め混合する要件は、特に、最終的な使用者が訓練を受けた医療専門家又は技術者でない処置時点用途では、厄介で複雑すぎる。

従って、正確であり、しかも比較的廉価かつ単純で用いるのが容易なラテラルフローアッセイのための正確な内部較正システムに対する必要性が現在存在している。

10

20

30

40

50

## 【発明の開示】

## 【0005】

本発明の一実施形態により、試験サンプル内の試験検体の存在又は量を判断するための診断キットを開示する。診断キットは、多孔性膜を含むラテラルフローアッセイ装置を含む。多孔性膜は、検出区域及び校正区域を形成する。第1の受容材料が、検出区域内に不動化され、第2の受容材料が、校正区域内に不動化される。ラテラルフローアッセイ装置以外に、診断キットは、複数のアッセイ試薬も含み、その1つ又はそれよりも多くは、ラテラルフローアッセイ装置上に配置される。アッセイ試薬は、校正検体、検出プローブ、及び校正プローブを含む。検出プローブには、試験検体、第1の受容材料、又はその組合せに優先的に結合するように構成された第1の特異的結合メンバーが接合されている。校正プローブには、校正検体、第2の受容材料、又はその組合せに優先的に結合するように構成された第2の特異的結合メンバーが接合されている。

10

## 【0006】

本発明の別の実施形態により、ラテラルフロー装置を用いて試験検体を定量的又は半定量的に検出する方法を開示する。装置は、第1の特異的結合メンバーに接合した検出プローブと、第2の特異的結合メンバーに接合した校正プローブとに連通した多孔性膜を含む。多孔性膜はまた、検出区域及び校正区域も形成する。本方法は、ラテラルフロー装置を校正検体に接触させる工程と、ラテラルフロー装置を試験サンプルに接触させる工程と、検出区域で生成された検出信号の強度を測定する工程と、校正区域で生成された校正信号の強度を測定する工程とを含む。試験検体の量は、校正信号の強度で校正された時の検出信号の強度に比例する。

20

## 【0007】

本発明の更に別の実施形態により、ラテラルフロー装置を用いて試験検体を定量的又は半定量的に検出する方法を開示する。装置は、校正検体と、第1の特異的結合メンバーに接合した検出プローブと、第2の特異的結合メンバーに接合した校正プローブとに連通した多孔性膜を含む。多孔性膜はまた、検出区域及び校正区域も形成する。本方法は、ラテラルフロー装置を試験サンプルに接触させる工程と、検出区域で生成された検出信号の強度を測定する工程と、校正区域で生成された校正信号の強度を測定する工程とを含む。試験検体の量は、校正信号の強度で校正された時の検出信号の強度に比例する。

30

本発明の他の特徴及び態様を以下でより詳細に説明する。

当業者向けの本発明の最良のモードを含むその完全かつ権限賦与する開示内容は、添付図面を参照する本明細書の残りの部分により詳細に示すものとする。

本明細書及び図面で繰返して用いる参照文字は、本発明の同じか又は類似の特徴又は要素を表すものとする。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0008】

定義

本明細書において、「検体」という用語は、一般的に、検出される物質を意味する。例えば、検体は、抗原性物質、ハプテン、抗体、及びその組合せを含むことができる。検体には、以下に限定されるものではないが、毒素、有機化合物、タンパク質、ペプチド、微生物、アミノ酸、核酸、ホルモン、ステロイド、ビタミン、薬物（治療目的で投与されるもの、並びに違法な目的で投与されるものを含む）、薬物中間物又は副産物、細菌、ウイルス粒子、及び以上の物質のいずれかの代謝産物又は抗体が含まれる。一部の検体の特定の例には、フェリチン；クレアチニンキナーゼMB（CK-MB）；ジゴキシン；フェニトイン；フェノバルビタール；カルバマゼピン；バンコマイシン；ゲンタマイシン；テオフィリン；バルプロ酸；キニジン；黄体形成ホルモン（LH）；卵胞茂樹ホルモン（FSH）；エストラジオール、プロゲステロン；C反応性タンパク質；リポカリン；IgE抗体；サイトカイン；ビタミンB2マイクログロブリン；糖化ヘモグロビン（Gly-Hb）；コルチゾール；ジギトキシン；N-アセチルプロカインアミド（NAPA）；プロカインアミド；風疹-IgG及び風疹IgMのような風疹抗体；トキソプラズマ症IgG（

40

50

T o x o - I g G ) 及びトキソプラズマ症 I g M ( T o x o - I g M ) のようなトキソプラズマ症抗体 ; テストステロン ; サリチレート ; アセトアミノフェン ; B 型肝炎ウイルス表面抗原 ( H B s A g ) ; 抗 B 型肝炎コア抗原 I g G 及び I g M ( 抗 H B C ) のような B 型肝炎コア抗原抗体 ; ヒト免疫不全ウイルス 1 型及び 2 型 ( H I V 1 型及び 2 型 ) ; ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型及び 2 型 ( H T L V ) ; 肝炎 B e 抗原 ( H B e A g ) ; 肝炎 B e 抗原抗体 ( 抗 H B e ) ; インフルエンザウイルス ; 甲状腺刺激ホルモン ( T S H ) ; チロキシン ( T 4 ) ; トータルトリヨードチロニン ( トータル T 3 ) ; フリートリヨードチロニン ( フリー T 3 ) ; ガン胎児性抗原 ( C E A ) ; リポタンパク質、コレステロール、及びトリグリセリド ; 及び フェトプロテイン ( A F P ) が含まれる。乱用薬物及び規制物質には、限定することを意図しないが、アンフェタミン ; メタンフェタミン ; アモバルピタル、セコバルピタル、ペントバルピタル、フェノバルピタル、及びバルピタルのようなバルピツレート ; リブリウム及びバリウムのようなベンゾジアゼピン ; ハシシュ及びマリファナのようなカンナビノイド ; コカイン ; フェンタニール ; L S D ; メタカロン ; ヘロイン、モルヒネ、コデイン、ヒドロモルフォン、ヒドロコドン、メサドン、オキシコドン、オキシモルフォン及びアヘンのようなオピエート ; フェンシクリジン ; 及びプロポキシフェンが含まれる。他の可能な検体は、E v e r h a r t 他に付与された米国特許第 6 , 4 3 6 , 6 5 1 号、及び T o m 他に付与された第 4 , 3 6 6 , 2 4 1 号に説明されていると考えられる。

#### 【 0 0 0 9 】

本明細書において、「試験サンプル」という用語は、一般的に、検体を含有することが疑われる生物学的材料を意味する。試験サンプルは、血液、間質液、唾液、眼水晶体液、脳脊髄液、汗、尿、乳汁、腹水、粘液、鼻汁、痰、滑液、腹腔液、膿液、月経、羊水、及び精液などを含む生理液のようなあらゆる生物学的供給源からの由来とすることができる。生理液以外に、環境又は食品アッセイを行うために、水及び食品などのような他の液体サンプルを用いることもできる。更に、検体を含有することが疑われる固体材料も試験サンプルとして用いることができる。試験サンプルは、生物学的供給源から得られた時に直接用いることができ、又はサンプルの特性を修正する前処理の後に用いることができる。例えば、このような前処理には、血液から血漿を調製する工程及び粘性流体を希釈する工程などを含むことができる。前処理の方法はまた、濾過、沈殿、希釈、蒸留、濃縮、妨害成分の不活化、試薬の添加、溶解などを伴う場合がある。更に、固体試験サンプルを修正して液体媒体を形成するか又は検体を放出することも有利である場合がある。

#### 【 0 0 1 0 】

##### 詳細な説明

ここで、1 つ又はそれよりも多くの実施例を以下に示す本発明の様々な実施形態を詳細に以下に参照する。各実施例は、本発明の説明のために挙げたものであり、本発明を制限するものではない。実際、本発明には、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく様々な修正及び変形を行うことができることが当業者には明らかであろう。例えば、一実施形態の一部として示すか又は説明する特徴を別の実施形態に用いて更に別の実施形態を生成することができる。従って、本発明は、特許請求の範囲及びその均等物の範囲に含まれるこのような修正及び変形を網羅するものとする。

#### 【 0 0 1 1 】

一般的に、本発明は、試験サンプル内の試験検体を検出するためのラテラルフローアッセイ装置及び複数のアッセイ試薬を用いる診断キットに関する。アッセイ試薬には、試験サンプル中の試験検体の存在又は量を表す検出信号を生成することができる検出プローブが含まれる。検出精度を更に改善するために、較正信号を生成することができる較正プローブも用いられる。較正信号を用いて検出信号を較正することができる。

#### 【 0 0 1 2 】

較正検体は、試験検体と較正検体とが容易に区別されるように、通常は、試験サンプルに対して異物であるか、又は一定の濃度で存在するかのいずれかである。更に、較正検体は、試験検体に対して p H、温度、塩濃度等の条件に関して同様の分解プロフィール ( 又

は経時的に活性が失われること)を示すことも通常望ましい。このようにして、校正検体は、校正検体の校正曲線が試験検体の校正曲線と実質的に同様とされることになるように、同じ反応条件及び保存時間では同様の挙動を示すことになる。必要に応じて、例えば、校正検体は、試験検体と同じタンパク質ファミリーのメンバーとすることができる。一実施形態では、試験検体は、C反応性タンパク質(CRP)であり、これは、連鎖球菌肺炎の体細胞性C多糖類と共に沈殿物を形成するグロブリンである。CRPは、タンパク質の「ペントラキシン」群に属し、これは、5つの非共有結合サブユニットの5角形の周期的対称を有するオリゴマーの血漿タンパク質である。「ペントラキシン(pentraxin)」ファミリー、すなわち、「CRP状」タンパク質及び血清アミロイドP(SAP)状タンパク質には、2つの共通する分岐がある。ホスホコリンに結合するタンパク質は、CRP状であると考えられ、炭水化物成分に結合するタンパク質は、SAP状であると考えられる。従って、CRPが試験検体である実施形態では、選択した校正検体は、ペントラキシン群のメンバーとすることができ、より望ましくは、ホスホコリンと結合するペントラキシンタンパク質とすることができる。このようなホスホコリン結合ペントラキシンタンパク質の例の一部には、以下に限定されるものではないが、ペントラキシン3(PTX3)、ニューロンペントラキシン1、及びニューロンペントラキシン2が含まれる。例えば、Michael S. Rolph他著「動脈硬化、血栓症、及び血管生物学：進行型アテローム硬化プラークにおける長いペントラキシンPTX3の生成」、2002年、22:e10を参照されたい。しかし、校正検体が試験検体と同じ群のメンバーであることは必ずしも必要ではない。実際、多くの用途は、低レベルの校正精度しか必要でなく、従って、比較的廉価で容易に入手可能な校正検体を用いることができる。一実施形態では、例えば、CRPに対する校正検体は、アルブミン、ウシ血清アルブミン(BSA)、 $\kappa$ -カゼイン、又はhCGのようなタンパク質の非ペントラキシン群(例えば、二量体、三量体等)から選択されるタンパク質とすることができ、その全ては、CRPと同様の分解プロフィールを有すると考えられている。

10

20

#### 【0013】

上述のように、本発明では、試験検体及び校正検体をそれぞれ検出するために、検出及び校正プローブが用いられる。校正プローブは、一般的に、検出プローブと同じ種類の検出可能な物質を含む。検出又は校正プローブとして、視覚的に又は計器装置により検出可能な信号を生成することができるあらゆる物質を用いることができる。適切な検出可能物質は、例えば、発光化合物(例えば、蛍光、燐光等);放射性化合物;可視化合物(例えば、着色染料又は金のような金属物質);リポゾーム又は信号生成物質を含む他の小胞;酵素及び/又は基質などを含むことができる。他の適切な検出可能物質は、Jou他に付与された米国特許第5,670,381号、及びTarcha他に付与された第5,252,459号に説明されていると考えられ、これらは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。検出可能物質が有色である場合には、理想的な電磁放射は、相補的な波長の光である。例えば、青色の検出プローブは、赤色光を強力に吸収する。

30

#### 【0014】

一部の実施形態では、検出可能物質は、光学的に検出可能な信号を生成する発光化合物とすることができる。例えば、適切な蛍光分子は、以下に限定されるものではないが、蛍光色素、ユウロピウムキレート、フィコビリタンパク質、ローダミン、及びその誘導体及び類似物を含むことができる。他の適切な蛍光化合物は、一般的に「量子ドット」と呼ばれる半導体ナノ結晶である。例えば、このようなナノ結晶は、式CdX(ここで、Xは、Se、Te、及びSなどである)のコアを含むことができる。更に、ナノ結晶は、式YZ(ここで、Yは、Cd又はZn、Zは、S又はSeである)の上を覆うシェルで不動態化することができる。更に、適切な半導体ナノ結晶の他の例は、Barbera-Guillem他に付与された米国特許第6,261,779号、及びDappriichに付与された第6,585,939号に説明されていると考えられ、これらは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。

40

50

## 【0015】

更に、適切な蛍光化合物は、ルテニウム、オスミウム、レニウム、イリジウム、ロジウム、プラチナ、インジウム、パラジウム、モリブデン、テクネチウム、銅、鉄、クロム、タンゲステン、及び亜鉛などのような1つ又はそれよりも多くの金属の金属錯体を含むことができる。特に好ましいのは、ルテニウム、レニウム、オスミウム、プラチナ、及びパラジウムである。金属錯体は、水性又は非水性環境での錯体の溶解度を高める1つ又はそれよりも多くの配位子を含むことができる。例えば、配位子の一部の適切な例には、以下に限定されるものではないが、ピリジン；ピラジン；イソニコチンアミド；イミダゾール；ピピリジン；ターピリジン；フェナントロリン；ジピリドフェナジン；ポルフィリン、ポルフィン、及びその誘導体が含まれる。このような配位子は、例えば、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、置換アラルキル、カルボキシレート、カルボキサリド、カルボキサミド、シアノ、アミノ、ヒドロキシ、イミノ、ヒドロキシカルボニル、アミノカルボニル、アミジン、グアニジン、ウレイド、イオウ含有基、リン含有基、及びNヒドロキシスクシンイミドのカルボン酸エステルで置換することができる。

10

## 【0016】

ポルフィリン及びポルフィン金属錯体は、メチレン橋と共に連結して環状構造を形成するピロール基を有し、金属が内腔をキレート化する。これらの分子の多くは、室温で適切な溶媒（例えば、水）中かつ無酸素の環境で強い燐光特性を示している。燐光特性を示すことができる一部の適切なポルフィリン錯体には、以下に限定されるものではないが、プラチナ（II）コプロポルフィリンI及びIII、パラジウム（II）コプロポルフィリン、ルテニウムコプロポルフィリン、亜鉛（II）-コプロポルフィリンI、及びその誘導体等が含まれる。同様に、燐光特性を示すことができる一部の適切なポルフィン錯体には、以下に限定されるものではないが、プラチナ（II）テトラ-メソ-フルオロフェニルポルフィン及びパラジウム（II）テトラ-メソ-フルオロフェニルポルフィンが含まれる。更に別の適切なポルフィリン及び/又はポルフィン錯体は、Schmidt他に付与された米国特許第4,614,723号；Henri xに付与された第5,464,741号；Soiniに付与された第5,518,883号；Ewart他に付与された第5,922,537号；Sagner他に付与された第6,004,530号；及びPonomarev他に付与された第6,582,930号に説明されており、これらは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。

20

30

## 【0017】

また、燐光化合物としてピピリジン金属錯体を用いることができる。適切なピピリジン錯体の一部の例には、以下に限定されるものではないが、ビス〔（4,4'-カルボメトキシ）-2,2'-ピピリジン〕2-[3-(4-メチル-2,2'-ピピリジン-4-イル)プロピル]-1,3-ジオキソランルテニウム（II）；ビス（2,2'-ピピリジン）〔4-(ブタン-1-アル)-4'-メチル-2,2'-ピピリジン〕ルテニウム（II）；ビス（2,2'-ピピリジン）〔4-(4'-メチル-2,2'-ピピリジン-4'-イル)-酪酸〕ルテニウム（II）；トリス（2,2'-ピピリジン）ルテニウム（II）；（2,2'-ピピリジン）〔ビス-ビス（1,2-ジフェニルホスフィノ）エチレン〕2-[3-(4-メチル-2,2'-ピピリジン-4'-イル)プロピル]-1,3-ジオキソランオスミウム（II）；ビス（2,2'-ピピリジン）〔4-(4'-メチル-2,2'-ピピリジン)-ブチルアミン〕ルテニウム（II）；ビス（2,2'-ピピリジン）〔1-プロモ-4(4'-メチル-2,2'-ピピリジン-4-イル)ブタン〕ルテニウム（II）；ビス（2,2'-ピピリジン）マレイミドヘキサ酸、及び4-メチル-2,2'-ピピリジン-4'-ブチルアミドルテニウム（II）等が含まれる。燐光特性を示すことができる更に別の適切な金属錯体は、Richter他に付与された米国特許第6,613,583号；Massey他に付与された第6,468,741号；Meade他に付与された第6,444,423号；Massey他に付与された第6,362,011号；Bard他に付与された第5,731,147号；及びMa

40

50

ss ey他に付与された第5, 591, 581号に説明されていると考えられ、これらは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。

【0018】

場合によっては、発光化合物は、比較的長い放出寿命及び比較的大きな「ストークスシフト」を有することができる。「ストークスシフト」という用語は、一般的に、発光放射のスペクトル線又は帯域を励起線又は帯域よりも長い放出波長に偏倚させることであると定められる。ストークスシフトが比較的大きければ、発光化合物の励起波長は、その放出波長から遠く離れて留まることができ、かつこれは、励起波長と放出波長の間の差が大きいと放出信号から反射励起放射を消失させることが容易になるので望ましい。更に、ストークスシフトが大きければ、サンプル中の発光分子からの妨害及び/又は体液の一部（例えば、血液）に存在するタンパク質又はコロイドによる光散乱が最低になる。更に、ストークスシフトが大きければ、背景干渉を消失させるための高価な高精度フィルタの必要性も最低になる。例えば、一部の実施形態では、発光化合物のストークスシフトは、約50ナノメートルよりも大きく、一部の実施形態では、約100ナノメートルよりも大きく、一部の実施形態では、約100～約350ナノメートルである。

10

【0019】

例えば、ストークスシフトが大きな例示的な燐光化合物には、サマリウム(Sm(III))、ジスプロシウム(Dy(III))、ユウロピウム(Eu(III))、及びテルビウム(Tb(III))のランタニドキレートが含まれる。このようなキレートは、実質的に短い波長でキレートを励起した後は、強く赤方シフトした狭帯域の長寿命放出を示すことができる。一般的に、キレートは、分子内のランタニドの近くに位置する発色団のために、強い紫外線励起帯域を有する。発色団による励起に続き、励起エネルギーは、励起発色団からランタニドに移行することができる。この後、ランタニドの燐光放出特性が生じる。例えば、ユウロピウムキレートのストークスシフトは、燐光色素に対しては僅か約28ナノメートルであることに比較して、約250～約350ナノメートルである。更に、ユウロピウムキレートの燐光は、長寿命であり、寿命は、他の燐光ラベル付けでは約1～約100ナノ秒であるのに比較して、約100～約1000マイクロ秒である。更に、これらのキレートは、狭い放出スペクトルを有し、一般的に、帯域幅は約50%放出で約10ナノメートル未満である。適切なユウロピウムキレートの1つは、N-(p-イソチオシアナトベンジル)-ジエチレントリアミン四酢酸-Eu<sup>+3</sup>である。

20

30

【0020】

また、本発明には、溶解度が限定されており水溶液又は懸濁液の急冷問題を有するキレートを保護するために用いられることが多いミセル形成試薬の必要性をなくすために、水溶液又は懸濁液中で不活性かつ安定であり、本質的に蛍光性であるランタニドキレートをを用いることができる。このようなキレートの一例は、4-[2-(4-イソチオシアナトフェニル)エチニル]-2,6-ビス([N,N-ビス(カルボキシメチル)アミノ]メチル)-ピリジンである[参照: Lovgren, T. 他、Clin. Chem., 第42巻、1196～1201頁(1996年)]。更に、いくつかのランタニドキレートは、例外的に高いSN比も示している。例えば、このようなキレートの1つは、四座-ジケトネート-ユウロピウムキレートである[参照: Yuan, J. 及びMatsumoto, K., Anal. Chem., 第70巻、596～601頁(1998)]。上述の蛍光ラベル付けに加えて、本発明に用いるのに適切な他のラベル付けは、Mullinax他に付与された米国特許第6,030,840号; Davidsonに付与された第5,585,279号; Singer他に付与された第5,573,909号; Wieder他に付与された第6,242,268号; 及びHemmilla他に付与された第5,637,509号に説明されていると考えられ、これらは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。

40

【0021】

上述のような検出可能物質は、単独で用いることができ、又は粒子(「ビーズ」又は「マイクロビーズ」と呼ばれることもある)と組み合わせて用いることができる。例えば、

50

核、マイコプラズマ、プラスミド、プラスチック、哺乳類細胞（例えば、赤血球ゴースト）、単細胞生物（例えば、細菌）、多糖類（例えば、アガロース）などのような天然からの粒子を用いることができる。更に、合成粒子を用いることもできる。例えば、一実施形態では、蛍光又は有色染料でラベル付けされたラテックス微粒子が用いられる。本発明にはあらゆる合成粒子を用いることができるが、粒子は、一般的に、ポリスチレン、ブタジエンスチレン、スチレンアクリル-ビニルターポリマー、ポリメチルメタクリレート、ポリエチルメタクリレート、スチレン-無水マレイン酸コポリマー、ポリビニルアセテート、ポリビニルピリジン、ポリジビニルベンゼン、ポリブチレンテレフタレート、アクリロニトリル、塩化ビニル-アクリレートなど、又はそのアルデヒド、カルボキシル、アミノ、ヒドロキシル、又はヒドラジド誘導体で形成される。他の適切な粒子は、Jou他に付与された米国特許第5,670,381号及びTarcha他に付与された第5,252,459号に説明されていると考えられる。適切な蛍光粒子の市販の例には、「Molecular Probes, Inc.」により商品名「FluoSphere」（赤色580/605）及び「TransFluoSphere」（543/620）で販売されている蛍光カルボキシル化微小球、並びにこれも「Molecular Probes, Inc.」により販売されている「Texas Red」及び5-及び6-カルボキシテトラメチルローダミンが含まれる。更に、適切な着色ラテックス微粒子の市販の例には、「Bang's Laboratory, Inc.」により販売されているカルボキシル化ラテックスビーズが含まれる。更に、本発明には、金属粒子（例えば、金粒子）を用いることができる。

10

20

#### 【0022】

用いる場合には、粒子の形状は、一般的に様々とすることができる。例えば、1つの特定の実施形態では、粒子の形状は球形である。しかし、本発明では、板状、ロッド、円板、バー、管、不規則な形状などのような他の形状も意図されることを理解すべきである。更に、粒子の大きさも様々とすることができる。例えば、粒子の平均の大きさ（例えば、直径）は、約0.1ナノメートル~約1,000ミクロンとすることができ、一部の実施形態では、約0.1ナノメートル~約100ミクロン、一部の実施形態では、約1ナノメートル~約10ミクロンとすることができる。

#### 【0023】

それぞれの検体又はそれぞれの受容材料に更に容易に結合することができるように、検出及び較正プローブを何らかの様式で修正することが一般的に望ましい。このような場合には、プローブは、接合プローブを形成するようにそれに付着する特定の特異的結合メンバーで修飾することができる。特異的結合メンバーとは、一般的に、特定の結合対、すなわち、分子の1つが化学的及び/又は物理的に第2の分子に結合する2つの異なる分子のメンバーを意味する。特異的結合メンバーの選択は、一般的に、関連の試験検体及び対応する較正検体に依存する。独立したアッセイの性能を保証するために、検出プローブには、較正プローブと異なる特異的結合対のメンバーを接合されることが通常望ましい。従って、接合較正プローブは、較正検体に結合されるか（サンドイッチ及び間接アッセイ型式）又は較正検体に対する特異的結合メンバーに結合される（競合的アッセイ型式）ことが好ましいことになる。しかし、接合較正プローブは、一般的に試験検体にも結合されず、試験検体に対する特異的結合メンバーにも結合されないことになる。従って、アッセイは、実質的な交差反応の恐れなく試験検体及び較正検体に対して同時に実施することができる。従って、試験抗原を較正するのに較正検体アッセイを用いることができる。更に、較正検体と試験検体の間の関係と同様に、特異的結合メンバーは、pH、温度、塩濃度、保存時間等の条件に関して同様の分解プロフィールを示すことが通常望ましい。

30

40

#### 【0024】

本発明で用いることができる適切な免疫反応性特異的結合メンバーの一部の例には、以下に限定されるものではないが、抗原、ハプテン、アプタマー、抗体（1次又は2次）、及び組換えDNA法又はペプチド合成によって形成されるものを含むその錯体が含まれる。抗体は、単クローン性又は多クローン性抗体、組換えタンパク質又はその混合物又は断

50

片、並びに抗体及び他の特異的結合メンバーの混合物とすることができる。このような抗体の調製の詳細及びそれが特異的結合メンバーとして用いるのに適することは、当業者には公知である。他のよく用いられる特異的結合対には、以下に限定されるものではないが、ビオチン及びアビジン（又はその誘導体）、ビオチン及びストレプトアビジン、炭水化物及びレクチン、相補的ヌクレオチド配列（ターゲット核酸配列を検出するのにDNAハイブリッド形成アッセイに用いられるプローブ及び捕捉核酸配列を含む）、組換え法によって形成されたものを含む相補的ペプチド配列、エフェクター及びレセプター分子、ホルモン及びホルモン結合タンパク質、酵素補助因子及び酵素、及び酵素阻害剤及び酵素等が含まれる。更に、特異的結合対は、元の特異的結合メンバーの類似物であるメンバーを含むことができる。例えば、検体と少なくとも1つのエピトープを共通に有する限り、検体の誘導体又は断片、すなわち、検体類似物を用いることができる。

10

#### 【0025】

特異的結合メンバーは、一般的に、様々な公知の技術のいずれかを用いてプローブに付着させることができる。例えば、特異的結合メンバーが検出プローブ（例えば、粒子）に共有結合する工程は、カルボキシル、アミノ、アルデヒド、プロモアセチル、ヨードアセチル、チオール、エポキシ及び他の反応基又は連結官能基、並びにタンパク質連結反応を達成することができる残留フリーラジカル及びラジカル陽イオンを用いて達成することができる。更に、プローブの表面は、比較的高い表面濃度の極性基を含むことができるために、官能化モノマーとして表面官能基を組み込むことができる。更に、プローブは、合成後に、例えば、ポリ（チオフェノール）で官能化されることが多いが、プローブは、更に修飾することを必要とせずタンパク質と直接共有結合することができることもある。例えば、一実施形態では、接合の第1の工程は、カルボジイミドを用いてプローブ表面上のカルボキシル基を活性化することである。第2の工程では、活性化カルボン酸基が抗体のアミノ基と反応してアミド結合を形成する。活性化及び/又は抗体連結は、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）（例えば、pH 7.2）又は2-（N-モルホリノ）エタンスルホン酸（MES）（例えば、pH 5.3）のような緩衝液中で行うことができる。得られるプローブは、次に、エタノールアミンと接触させ、例えば、あらゆる残りの活性化部位を遮断することができる。全体として、この工程では、抗体がプローブに共有的に付着する接合プローブを形成する。更に、本発明には、共有結合以外に、物理的吸着のような他の付着技術を用いることができる。

20

30

#### 【0026】

検出プローブ及び較正プローブが形成される方式に関係なく、これらは、一般的に、試験サンプルを適用する前にアッセイ装置上に配置される。プローブをアッセイ装置に事前に適用すると、様々な利益が得られる。例えば、事前に適用すると、次の使用者が試薬を処理して試験サンプル又は希釈剤と混合する必要がなくなる。これは、使用者が一般的に訓練された検査技術者又は医療専門家でない処置時点用途では、特に有用である。一部の実施形態では、例えば、検出及び較正プローブは、試験サンプルを適用する箇所から下流に配置される。従って、試験サンプルは、適用するときにプローブを混合して任意的に再懸濁することができる。あるいは、プローブは、試験サンプルを適用する箇所よりも上流に配置することができる。例えば、アッセイを行うために、希釈剤を用いてプローブを再懸濁することができる。同様に、試験サンプルを適用する前に、較正検体をアッセイ装置に配置することができる。特定の位置は様々とすることができるが、一般的に、較正検体は、検出プローブ及び較正プローブの上流に適用される。従って、較正検体は、較正プローブに接触する前に試験サンプルと容易に混合され、それによってその間の結合を促進することができる。更に、較正検体は、アッセイ装置に適用する前に試験サンプルと混合することができる。従って、較正検体は、アッセイを行う前に試験検体と実質的に同じ条件にされる。それによって較正精度を更に最適化することができる。

40

#### 【0027】

今度は図1を参照して、本発明の内部較正システムと共に用いることができるラテラルフローアッセイ装置20の一実施形態をより詳細に以下に説明する。図示のように、装置

50

20は、任意的に剛性材料21により支持された多孔性膜23を含む。一般的に、多孔性膜23は、試験サンプルが通過することができる様々な材料で作ることができる。例えば、多孔性膜23を形成するのに用いられる材料には、以下に限定されるものではないが、天然、合成、又は多糖類（例えば、紙のようなセルロース材料及び酢酸セルロース及びニトロセルロースのようなセルロース誘導体）合成的に修飾された天然からの材料；ポリエーテルスルホン；ポリエチレン；ナイロン；ポリフッ化ビニリデン（P V D F）；ポリエステル；ポリプロピレン；シリカ；塩化ビニル、塩化ビニル-プロピレンコポリマー、及び塩化ビニル-ビニルアセテートコポリマーのようなポリマーの多孔性ポリマーマトリックス中に均一に分散された非活性化アルミナ、珪藻土、M g S O<sub>4</sub>、又は他の無機の微粉化材料のような無機材料；天然由来（例えば、綿）及び合成（例えば、ナイロン又はレーヨン）の両方の布；シリカゲル、アガロース、デキストラン、及びゼラチンのような多孔性ゲル；及びポリアクリルアミドのようなポリマーフィルムなど含むことができる。1つの特定の形態では、多孔性膜23は、ニトロセルロース及び/又はポリエーテルスルホン材料から形成される。「ニトロセルロース」という用語は、セルロースの硝酸エステルを意味し、これは、ニトロセルロース単独とすることができ、又は硝酸及び1~7炭素原子を有する脂肪族カルボン酸のような他の酸の混合エステルとすることができ、これを理解すべきである。

10

#### 【0028】

多孔性膜23の大きさ及び形状は、当業者には容易に理解されるように、一般的に様々とすることができる。例えば、多孔性膜ストリップの長さは、約10~約100ミリメートルとすることができ、一部の形態では約20~約80ミリメートル、一部の形態では、約40~約60ミリメートルとすることができる。更に、膜ストリップの幅は、約0.5~約20ミリメートルの範囲とすることができ、一部の形態では約1~約15ミリメートル、一部の形態では、約2~約10ミリメートルの範囲とすることができる。同様に、膜ストリップの厚みは、一般的に、透過に基づく検出を可能にするほど十分に小さい。例えば、膜ストリップの厚みは、約500マイクロメートル未満とすることができ、一部の形態では、約250マイクロメートル未満、一部の形態では、約150マイクロメートル未満とすることができる。

20

#### 【0029】

上述のように、支持体21は、多孔性膜23を支持する。例えば、支持体21は、図1に示すように多孔性膜23に直接隣接して位置決めすることができ、又は多孔性膜23と支持体21の間に1つ又はそれよりも多くの中間層を位置決めすることができる。とにかく、支持体21は、一般的に、多孔性膜23を支持することができるあらゆる材料で形成することができる。支持体21は、透明又は光学的散乱性（例えば、半透明）のような光を伝達することができる材料で形成することができる。更に、一般的に、支持体21は、膜23を通して流れる流体が支持体21を通して漏れないように液体不透過性であることが望ましい。支持体に適切な材料の例には、以下に限定されるものではないが、ガラス；及びポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエステル（例えば、「Mylar（登録商標）」フィルム）、ポリブタジエン、ポリ塩化ビニル、ポリアミド、ポリカーボネート、エポキシド、メタクリレート、及びポリメラミンのようなポリマー材料などが含まれる。多孔性膜23に十分な構造的支持を与えるために、支持体21は、一般的に、ある一定の最小厚みを有するように選択される。同様に、支持体21の厚みは、一般的に、その光学特性に悪影響を及ぼすほど大きくない。従って、例えば、支持体21の厚みは、約100~約5,000マイクロメートルの範囲とすることができ、一部の形態では、約150~約2,000マイクロメートル、一部の形態では、約250~約1,000マイクロメートルの範囲とすることができる。例えば、厚みが約125マイクロメートルの適切な膜ストリップの1つは、マサチューセッツ州ベッドフォード所在の「Millipore Corp.」から「SHF180UB25」という商品名で得ることができる。

30

40

#### 【0030】

当業技術で公知のように、多孔性膜23は、支持体21上に流し込むことができ、得ら

50

れる積層体は、望ましい大きさ及び形状にダイカットすることができる。あるいは、多孔性膜23は、単に、例えば、接着剤で支持体21に積層させることができる。一部の実施形態では、ニトロセルロース又はナイロンの多孔性膜が「Mylar（登録商標）」フィルムに接着される。感圧接着剤のような接着剤を用いて多孔性膜を「Mylar（登録商標）」フィルムに結合させる。この種類の積層体構造は、マサチューセッツ州ベッドフォード所在の「Millipore Corp.」から市販されていると考えられる。適切な積層体アッセイ装置構造の更に他の例は、Durlley, III他に付与された米国特許第5,075,077号に説明されており、これは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。

また、装置20は、吸収性パッド28を含むこともできる。吸収性パッド28は、一般的に、多孔性膜23全体を通して移行した流体を受け取る。当業技術で公知のように、吸収性パッド28は、膜23を通る毛管作用及び流体の流れを促進するのを助けることができる。

#### 【0031】

試験サンプル中の検体の検出を開始するために、使用者は、試験サンプルを多孔性膜23の一部に直接適用することができる、それを通して試験サンプルは、図1の矢印「L」で示す方向に進むことができる。あるいは、試験サンプルは、最初に多孔性膜23と流体連通したサンプルパッド24に適用することができる。サンプルパッド24を形成するのに用いることができる一部の適切な材料には、以下に限定されるものではないが、ニトロセルロース、セルロース、多孔性ポリエチレンパッド、及びガラス繊維濾紙が含まれる。必要に応じて、サンプルパッド24は、拡散性又は非拡散性のいずれかで付着した1つ又はそれよりも多くのアッセイ予備処理試薬を含むことができる。例えば、一実施形態では、較正検体は、それに適用されると試験サンプルに接触するようにサンプルパッド24上に配置することができる。

#### 【0032】

図示の実施形態では、試験サンプルは、サンプルパッド24からサンプルパッド24の一端と連通するように配置された接合パッド22まで進む。接合パッド22は、試験サンプルが通過することができる材料で形成されている。例えば、一実施形態では、接合パッド22は、ガラス繊維で形成される。1つの接合パッド22しか示していないが、本発明には複数の接合パッドを用いることができることを理解すべきである。本発明の1つの特定の実施形態では、検出及び較正プローブ（図示せず）は、接合パッド22に適用される。適用した後、プローブを乾燥させてそれから移動しないようにする。接合パッド22は、再水和されると自由に移動するようにプローブを堆積させるためのマトリックスを提供する。より詳細には、液体試験サンプルがプローブに接触すると、これらは、再水和されて再懸濁化及び/又は再可溶化される。勿論、プローブは、試験サンプルが接触すると再水和することができる限り、膜23に直接のようなアッセイ装置20の様々な他の部位に適用することができることを理解すべきである。

#### 【0033】

再び図1を参照すると、多孔性膜23は、アッセイを行うために構成された様々な区域も形成する。例えば、多孔性膜23は、膜23の長さを通過する接合検出プローブ（又はその錯体）を結合することができる第1の受容材料を含む検出区域31を形成する。第1の受容材料は、多孔性膜23上に不動化され、かつ上述の特異的結合メンバーと同じ材料から選択することができる、これには、例えば、抗原；ハプテン；Aタンパク質、Gタンパク質、又はA/Gタンパク質のような抗体結合タンパク質；ニュートラアビジン（脱グリコシル化アビジン誘導体）、アビジン（高陽イオン性66,000ダルトン糖タンパク質）、ストレプトアビジン（非グリコシル化52,800ダルトンタンパク質）、又はキャプトアビジン（ニトロ化アビジン誘導体）；1次又は2次抗体、及びその誘導体又は断片が含まれる。一部の実施形態では、第1の受容材料は、試験サンプル中の抗原に特異な抗体である。サンドイッチアッセイ型式では、例えば、第1の受容材料は、検体と接合検出プローブの間に形成された錯体に対する静止結合部位として働くことができる。より詳細

10

20

30

40

50

には、抗体、抗原などのような検体は、一般的に、2つ又はそれよりも多くの結合部位（例えば、エピトープ）を有する。検出区域31に到達すると、これらの結合部位の1つは、接合プローブの特異的結合メンバーに占有される。しかし、検体の自由な結合部位は、不動化された第1の受容材料に結合することができる。不動化受容材料に結合すると、錯化プローブは、新しい三重サンドイッチ錯体を形成する。

#### 【0034】

また、アッセイ装置20は、較正区域32も含む。この実施形態では、較正区域32は、多孔性膜23上に形成され、検出区域31の下流に位置決めされる。しかし、あるいは、較正区域32は、検出区域31の上流に位置決めすることもできる。較正区域32には、膜23の長さを通過する接合較正プローブ（又はその錯体）に結合することができる第2の受容材料を備える。第2の受容材料は、較正プローブを接合するのに用いられる特定の結合対のメンバーとすることができる。このようにして、第2の受容材料は、較正プローブ（又はその錯体）に優先的に結合する。例えば、較正検体が抗原である場合には、第2の受容材料は、抗体（例えば、サンドイッチ又は競合的アッセイ型式）とすることができる。又は抗原（例えば、間接的アッセイ型式）とすることができる。更に、上述のように、第1及び第2の受容材料は、pH、温度、塩濃度、保存期間等の条件に対して同様の分解プロフィールを示すことが通常望ましい。

10

#### 【0035】

検出区域31及び較正区域32は、各々、使用者が試験サンプル内の検体の濃度を確実に判断することができるように、あらゆる数の個別の検出領域を備えることができる。各領域は、同じ受容材料を含むことができ、又は異なる受容材料を含むことができる。例えば、領域は、2つ又はそれよりも多くの個別の領域（例えば、線、点等）を含むことができる。領域は、試験サンプルがアッセイ装置20を通る流れに実質的に垂直な方向の線の形態に配置することができる。同様に、一部の実施形態では、領域は、試験サンプルがアッセイ装置20を通る流れに実質的に平行な方向の線の形態に配置することができる。

20

#### 【0036】

試験サンプル中の検体の濃度を半定量的又は定量的に判断することが望ましい場合には、検出区域31で生成された検出信号「 $I_s$ 」の強度を較正区域32で生成された較正信号「 $I_c$ 」の強度と比較することができる。例えば、一部の実施形態（例えば、サンドイッチアッセイ型式）では、検体の量は、 $I_s : I_c$ 比に正比例する。別の実施形態（例えば、競合的及び間接的アッセイ型式）では、所定の基本量を超える検体の量は、 $I_s : I_c$ 比に反比例する。この比が減少する範囲に基づいて、検体に対する総濃度の範囲を判断することができる。必要に応じて、既知の検体濃度の範囲で $I_s : I_c$ 比を検体濃度に対してプロットし、較正曲線を生成することができる。所定の基本量を超える未知の試験サンプル内の検体の量を判断するために、信号比は、較正曲線に従って検体濃度に変換することができる。 $I_s$ と $I_c$ の間の別の数学的関係を検体濃度に対してプロットし、較正曲線を生成することができることに注意すべきである。例えば、一実施形態では、 $I_s / (I_s + I_c)$ の値を検体濃度に対してプロットし、較正曲線を生成することができる。いずれにせよ、較正及びサンプル試験は、同時にほぼ同じ条件で行い、それによって感度が改善した信頼することができる定量的又は半定量的結果を得ることができる。

30

40

#### 【0037】

必要に応じて、一部の実施形態では、光学式読取装置を用いて、検出区域31及び/又は較正区域32でのプローブの強度を測定することができる。光学式読取装置の実際の構成及び構造は、当業者には容易に理解されるように、様々とする事ができる。例えば、用いることができる光学的検出技術には、以下に限定されるものではないが、発光（例えば、蛍光、燐光等）、吸収（例えば、蛍光又は非蛍光）、回折等が含まれる。適切な反射率分光光度計の1つは、例えば、Kaylorに付与された米国特許出願公開第2003/0119202号に説明されており、これは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。別の実施形態では、反射-モード蛍光分光光度計を用いて、蛍光を示すプローブの存在を検出することができる。適切な蛍光分光光度計

50

及び関連検出技術は、例えば、Song他に付与された米国特許出願公開第2004/0043502号に説明されており、これは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。同様に、透過-モード検出システムを用いて検出プローブの存在を検出することができる。

#### 【0038】

一般的に、光学読取装置は、電磁放射を放出することができる照明光源、及び信号（例えば、透過又は反射光、放出蛍光又は蛍光等）を記録することができる検出装置を含む。照明光源は、可視又は近可視域の光（例えば、赤外線光又は紫外線光）のような電磁放射を与えることができる当業技術で公知のあらゆる装置とすることができる。例えば、本発明に用いることができる適切な照明光源には、以下に限定されるものではないが、発光ダイオード（LED）、せん光電灯、冷陰極蛍光灯、及びエレクトロルミネセントランプ等が含まれる。照明は、多重化することができる、及び/又はコリメートすることができる。場合によっては、照明は、パルス化してあらゆる背景干渉を低減することができる。更に、照明は、連続的とすることができ、又は連続波（CW）及びパルス化照明を組み合わせることができ、この場合、多重照明ビームが多重化され（例えば、パルスビームがCWビームと多重化され）、CW供給源により生成された信号とパルス供給源により生成された信号との間で信号を区別することを可能にする。例えば、一部の実施形態では、LED（例えば、アルミニウムガリウムヒ素化合物赤色ダイオード、リン化ガリウム緑色ダイオード、ガリウムヒ素リン緑色ダイオード、又は窒化インジウムガリウム紫/青色/紫外線（UV）ダイオード）をパルス照明光源として用いる。本発明に用いるのに適する適切なUVのLED励起ダイオードの市販の一例は、「モデルNSHU550E」（Nichia Corporation）であり、これは、順方向電流が10ミリアンペア（3.5～3.9ボルト）でビーム内に光パワー750～1000マイクロワットを放出し、半値全幅10度、ピーク波長370～375ナノメートル、スペクトル半値幅12ナノメートルである。

10

20

#### 【0039】

場合によっては、照明光源は、アッセイ装置に拡散照明を与えることができる。例えば、複数の点光源（例えば、LED）のアレイを単純に用いて、比較的拡散照明を与えることができる。比較的廉価に拡散照明を与えることができる別の特に望ましい照明光源は、エレクトロルミネセンス（EL）装置である。EL装置は、一般的に、電極間に挟まれた発光材料（例えば、燐光体粒子）を用いるコンデンサ構造であり、その少なくとも1つは、光が逃がすために透明である。電極間に電圧を掛けると、発光材料内に電界の変化が起こり、それによって光が放出される。

30

#### 【0040】

検出装置は、一般的に、信号を検知することができる当業技術で公知のあらゆる装置とすることができる。例えば、検出装置は、空間識別するように構成された電子撮像検出装置とすることができる。このような電子撮像センサの一部の例には、高速線形電荷結合装置（CCD）、電荷注入装置（CID）、及び相補形金属酸化膜半導体（CMOS）装置等が含まれる。例えば、このような画像検出装置は、一般的に電子光センサの2次元のアレイであるが、例えば、走査画像に用いるもののような単一の線の検出装置ピクセル又は光センサを含む線形撮像検出装置（例えば、線形CCD検出装置）を用いることもできる。各アレイは、「アドレス」と呼ばれることもある既知の独特の位置の組を含む。画像検出装置内の各アドレスは、区域（例えば、一般的に箱又は矩形の形状の区域）を含むセンサにより占有される。この区域は、一般的に、「ピクセル」又はピクセル区域と呼ばれる。例えば、検出装置ピクセルは、CCD、CID、又はCMOSセンサとすることができ、又は光を検出又は測定するあらゆる他の装置又はセンサとすることができる。検出装置ピクセルの大きさは、幅広く変動させることができ、場合によっては、直径又は長さは、0.2マイクロメートル程の小さいものにすることができる。

40

#### 【0041】

他の実施形態では、検出装置は、空間識別機能のない光センサとすることができる。例

50

えば、このような光センサの例には、光電子増倍管装置、及びアバランシェフォトダイオード又はシリコンフォトダイオードのようなフォトダイオードなどを含むことができる。シリコンフォトダイオードは、廉価で感度がよく、高速運転することができ（立ち上がり時間が短く／バンド幅が高い）、殆どの他の半導体技術及びモノリシック回路網に容易に組み込まれるという点で有利であろう。更に、シリコンフォトダイオードは、物理的に小さく、それによって膜ベースの装置と用いるためのシステムに容易に組み込むことができる。シリコンフォトダイオードを用いる場合には、放出信号の波長範囲は、その感度の範囲とすることができ、これは、400～1100ナノメートルである。

#### 【0042】

検出及び較正は、本発明により自動及び／又は手動で行うことができる。例えば、マイクロプロセッサを任意的に用いて、検出装置からの信号強度を変換し、定量的又は半定量的に検体の濃度を示す結果を得る。マイクロプロセッサは、使用者が最後のいくつかの結果を再表示させることができるようにメモリ機能を含むことができる。当業者には、RAM、ROM、EPROM、EEPROM、フラッシュメモリカード、デジタルビデオディスク、及び「ベルヌーイ」カートリッジなどのようなあらゆる適切なコンピュータ可読メモリ装置を用いることができることを認めるであろう。必要に応じて、結果は、液晶（LCD）又はLEDディスプレイを用いて使用者に伝えられる。

#### 【0043】

図2を参照し、ここで、サンドイッチアッセイ型式を用いて試験抗原A（例えば、CRP）の存在を検出する方法の一実施形態をより詳細に以下に説明する。最初に、較正抗原A<sup>\*</sup>（例えば、PTX3）をサンプルパッド24に事前に適用し、接合検出プローブ41及び接合較正プローブ43を接合パッド22に事前に適用する。例えば、一実施形態では、検出プローブ41は、CRPに対する抗体（例えば、「CRP IgG1」）に接合した染色粒子であり、較正プローブ43は、他のペントラキシン群のメンバーと交差反応しないPTX3に対する抗体（例えば、ラット抗体PTX3（クローンMNB4））に接合した染色粒子である。アッセイを開始するために、試験抗原Aを含む試験サンプルをサンプルパッド22に適用し、そこで較正抗原A<sup>\*</sup>と混合する。試験抗原A及び較正抗原A<sup>\*</sup>は、方向「L」に接合パッド22まで進み、そこで検出プローブ41及び較正プローブ43と混合する。試験抗原Aは、検出プローブ41と結合し、検体／プローブ錯体49を形成し、較正抗原A<sup>\*</sup>は、較正プローブ43と結合して検体／プローブ錯体50を形成する。錯体49及び50は、次に、検出区域31に進むが、そこには、第1の受容材料51が不活化されている。例えば、第1の受容材料は、接合検出プローブの抗体（例えば、「抗CRP IgG2」）と異なるCRP抗体とすることができ、又は検出プローブに接合される抗体と同一のCRP抗体とすることができ、錯体49は、不活化受容材料51上の利用可能な結合部位に結合する。残りの錯体50は、次に、較正区域32に進むが、ここには、第2の受容材料53が不活化されている。例えば、第2の受容材料は、接合較正プローブの抗体（例えば、ラット抗体PTX3の異なるクローン）と同じか又は異なるPTX3の抗体とすることができ、錯体50は、不活化受容材料53上の利用可能な結合部位に結合する。次に、検出区域31で捕捉された検出プローブ41により生成された信号及び較正区域32で捕捉された較正プローブ43により生成された信号の強度を測定することができる。ここで、図3を参照し、間接的アッセイ型式を用いて試験抗原Aの存在を検出する方法の別の実施形態をより詳細に以下に説明する。この実施形態では、検出プローブ41は、試験抗原Aの抗体と接合され、較正プローブ43は、較正抗原A<sup>\*</sup>の抗体と接合される。更に、第1の受容材料51は、試験抗原Aと性質が類似しており、第2の受容材料53は、較正抗原A<sup>\*</sup>と性質が類似している。このようにして、試験抗原A及び第1の受容材料51は、接合検出プローブ41上の利用可能な結合部位に対して競合し、較正抗原A<sup>\*</sup>及び第2の受容材料53は、接合較正プローブ43上の利用可能な結合部位に対して競合する。

#### 【0044】

また、ここで図4を参照し、競合的アッセイ型式を用いて試験抗原Aの存在を検出する

方法の更に別の実施形態をより詳細に以下に説明する。この実施形態では、検出プローブ 4 1 は、試験抗原 A と性質が類似する抗原と接合し、較正プローブ 4 3 は、較正抗原 A<sup>\*</sup> と性質が類似する抗原と接合する。更に、第 1 の受容材料 5 1 は、試験抗原 A の抗体であり、第 2 の受容材料 5 3 は、較正抗原 A<sup>\*</sup> の抗体である。従って、試験抗原 A 及び接合検出プローブ 4 1 は、第 1 の受容材料 5 1 上の利用可能な結合部位に対して競合し、較正抗原 A<sup>\*</sup> 及び接合較正プローブ 4 3 は、第 2 の受容材料 5 3 上の利用可能な結合部位に対して競合する。

#### 【0045】

装置構成の様々な実施形態を上述したが、本発明の装置は、一般的に、あらゆる望ましい構成を有することができ、かつ上述の構成要素の全てを含む必要はないことを理解すべきである。例えば、様々な他の装置構成は、Lambotte 他に付与された米国特許第 5,395,754 号; Jou 他に付与された第 5,670,381 号; 及び Malick 他に付与された第 6,194,220 号に説明されており、これらは、全ての目的に対して本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。

本発明は、次の実施例を参照すると更に良好に理解することができる。

#### 【実施例 1】

#### 【0046】

本発明によりラテラルフローアッセイ装置を形成する機能を明らかにする。長さがほぼ 30 センチメートルのニトロセルロース多孔性膜 (「Millipore, Inc.」からの「HF 120」) を支持カード上に積層した。C 反応性タンパク質に対する単クローン性抗体を多孔性膜上に不動化し、検出区域を形成した。抗体は、「Bio Pacific, Inc.」から入手し (カタログ番号第 A58040136P 号)、濃度が 1 ミリグラム/ミリリットルであった。更に、hCG に対する単クローン性抗体 (1 ミリグラム/ミリリットル) も多孔性膜上に不動化し、較正区域を形成した。セルロース吸上げパッド (Millipore Co.) は、膜の (較正区域に近接する) 一端に積層した。膜サンプルは、次に、温度 37 で 1 時間乾燥させた。

#### 【0047】

粒子懸濁液は、抗 CRP 単クローン性抗体が接合された金粒子 (「Bio Pacific, Inc.」、カタログ番号第 A58110228P 号) 36 マイクロリットル、抗 hCG 単クローン性抗体が接合された金粒子 100 マイクロリットル、ショ糖水溶液 (20%) 500 ミリリットル、及び水 1200 マイクロリットルを混合することによって形成した。抗 CRP 単クローン性抗体が接合された金粒子の粒径は、40 ナノメートルで光学密度は 50.2 であり、これは、「British Biocell International.」から得られた。hCG 単クローン性抗体が接合された金粒子の粒径は 40 ナノメートルで光学密度は 10.1 であり、これは、「British Biocell International, Inc.」から得られた。次に、粒子懸濁液を 30 センチメートル長さのガラス繊維接合パッド (Millipore Co.) 上に装填した。ガラス繊維パッドは、次に、37 で 2 時間乾燥させ、接合パッドを形成した。接合パッドは、次に、多孔性膜の (検出区域に近い) 他端上に積層した。接合パッド上には、セルロース吸上げパッド (Millipore Co.) サンプルパッドを更に積層した。次に、積層した全カードを切断し、4 ミリメートル幅のラテラルフローアッセイ装置にした。

#### 【実施例 2】

#### 【0048】

本発明により CRP を検出する機能を明らかにする。実施例 1 に説明した通りに 5 つのラテラルフロー装置 (サンプル 1 ~ 5) が作られた。60 マイクロリットルの CRP (90 ナノグラム/ミリリットル) 及び 60 マイクロリットルの hCG (50 ナノグラム/ミリリットル) を含む混合溶液を 5 つのラテラルフロー装置の各々のサンプルパッドに加えた。室温で 30 分発色させた後、反射分光光度計を用いて検出区域及び較正区域の色濃度を測定した。各区域の色強度を以下の表 1 に列記する。

## 【 0 0 4 9 】

(表 1)

サンプル	検出区域強度 ( $I_d$ )	検出区域強度 ( $I_c$ )	$I_d / I_c$
1	88.285	95.279	0.92659
2	93.554	98.322	0.95115
3	91.850	98.873	0.92897
4	94.286	101.544	0.92852
5	92.580	99.990	0.92589

10

## 【 0 0 5 0 】

$I_d$ に対する平均、標準偏差、及び%CV(分散の係数、又は標準偏差対平均の比)は、それぞれ、92.111、2.33127、及び2.531であった。一方、 $I_d / I_c$ に対する平均、標準偏差、及び%CVは、それぞれ、0.9323、0.01081、及び1.1159であった。従って、示すように、標準偏差及び%CVは、較正信号強度に対しては、非較正信号強度に対してよりも遥かに低かった。

## 【実施例 3】

## 【 0 0 5 1 】

本発明によりCRPを検出する機能を明らかにする。実施例1に説明した通りに15つのラテラルフロー装置(サンプル1~15)を作り、3つの群に分けた。第1の群は室温で保存した。第2の群は、65で40分間加熱し、第3の群は、65で210分間加熱した。1%「Tween(登録商標)20」(ICI Americas)を有するトリス緩衝液中に60マイクロリットルのCRP(100ナノグラム/ミリリットル)及び60マイクロリットルの-hCG(50ナノグラム/ミリリットル)を含有する混合溶液を15個のラテラルフロー装置の各々のサンプルパッドに適用した。室温で30分発色させた後、反射分光光度計を用いて検出区域及び較正区域の色濃度を測定した。各群の色強度を以下の表2~4に列記する。

20

## 【 0 0 5 2 】

(表 2)

サンプル	検出区域強度 ( $I_d$ )	検出区域強度 ( $I_c$ )	$I_d / I_c$
1	94.303	99.106	0.95154
2	93.980	97.933	0.95964
3	94.719	97.618	0.97030
4	90.332	95.088	0.94998
5	93.343	96.032	0.97200

30

## 【 0 0 5 3 】

$I_d$ に対する平均、標準偏差、及び%CVは、それぞれ、93.3354、1.75261、及び1.878であった。一方、 $I_d / I_c$ に対する平均、標準偏差、及び%CVは、それぞれ、0.96069、0.01024、及び1.066であった。

40

## 【 0 0 5 4 】

(表 3)

50

サンプル	検出区域強度 ( $I_d$ )	検出区域強度 ( $I_c$ )	$I_d/I_c$
1	90.9110	94.189	0.96520
2	90.4130	94.266	0.95913
3	90.4860	93.614	0.96659
4	90.4399	96.666	0.97655
5	85.2780	88.978	0.95842

## 【0055】

$I_d$  に対する平均、標準偏差、及び%CVは、それぞれ、90.2974、3.25741、及び3.607であった。一方、 $I_d/I_c$  に対する平均、標準偏差、及び%CVは、それぞれ、0.96517、0.00732、及び0.758であった。

## 【0056】

(表 4)

サンプル	検出区域強度 ( $I_d$ )	検出区域強度 ( $I_c$ )	$I_d/I_c$
1	89.270	93.359	0.95620
2	87.707	91.698	0.95968
3	90.181	92.496	0.97497
4	84.396	89.233	0.94579
5	87.677	91.019	0.96328

## 【0057】

$I_d$  に対する平均、標準偏差、及び%CVは、それぞれ、87.842、2.204、及び2.509であった。一方、 $I_d/I_c$  に対する平均、標準偏差、及び%CVは、それぞれ、0.95935、0.01074、及び1.12であった。

## 【実施例 4】

## 【0058】

本発明によりラテラルフローアッセイ装置を形成する機能を明らかにする。長さがほぼ30センチメートルのニトロセルロース多孔性膜(「Millipore, Inc.」の「HF 120」)を支持カード上に積層した。C反応性タンパク質に対する単クローン性抗体を多孔性膜上に不動化し、検出区域を形成した。抗体は、「BioPacific, Inc.」(カタログ番号第A58040136P号)から得たものであり、濃度は、1ミリグラム/ミリリットルであった。更に、 $\beta$ -HCG(1ミリグラム/ミリリットル)に対する単クローン性抗体も多孔性膜上に不動化し、校正区域を形成した。セルロース吸上げパッド(Millipore Co.)を膜の(校正区域に近い)一端に積層した。次に、膜サンプルを1時間温度37℃で乾燥させた。

## 【0059】

抗CRP単クローン性抗体(「BioPacific, Inc.」、カタログ番号第A58110228P号)に接合した金粒子36マイクロリットル、抗 $\beta$ -hCG単クローン性抗体に接合した金粒子100マイクロリットル、ショ糖水溶液(20%)500ミリリットル、及び水1400マイクロリットルを混合することによって粒子懸濁液を形成した。抗CRP単クローン性抗体に接合した金粒子の粒径は、40ナノメートルで光学密度は50.2であり、これは、「British Biocell International.」から入手した。抗 $\beta$ -hCG単クローン性抗体を接合された金粒子の粒径は、40ナノメートルで光学密度は10.1であり、これも「British Biocell International.」から入手した。次に、粒子懸濁液は、30センチメートル長さのガラス繊維接合パッド(Millipore Co.)上に装填された。ガラス繊維パッドは、次に、37℃で2時間乾燥させ、接合パッドを形成した。接合パッドは、次に、多孔性膜の(検出区域に近い)他端上に積層した。セルロース吸上げパッド

(Millipore Co.) サンプルパッドを接合パッド上に更に積層した。次に、積層された全カードを切断し、4ミリメートル幅のラテラルフローアッセイ装置にした。

【実施例5】

【0060】

本発明によりCRPを検出する機能を明らかにする。実施例4に説明した通りに15個のラテラルフロー装置(サンプル1~15)を作り、3つの群に分けた。第1の群は室温で保存した。第2の群は、65℃で40分間加熱し、第3の群は65℃で210分間加熱した。1%「Tween(登録商標)20」(ICI Americas)を有する20ミリモルのHepes緩衝液(pH7.51)中に60マイクロリットルのCRP(100ナノグラム/ミリリットル)及び60マイクロリットルのhCG(50ナノグラム/ミリリットル)を含有する混合溶液を第1の群のサンプルパッドに適用した。1%「Tween(登録商標)20」(ICI Americas)を有する20ミリモルのHepes緩衝液(pH8.0)中に60マイクロリットルのCRP(100ナノグラム/ミリリットル)及び60マイクロリットルのhCG(50ナノグラム/ミリリットル)を含有する混合溶液を第2の群のサンプルパッドに加えた。1%「Tween(登録商標)20」(ICI Americas)を有する20ミリモルのHepes緩衝液(pH8.5)中に60マイクロリットルのCRP(100ナノグラム/ミリリットル)及び60マイクロリットルのhCG(50ナノグラム/ミリリットル)を含有する混合溶液を第3の群のサンプルパッドに適用した。

室温で30分発色させた後、反射分光光度計を用いて検出区域及び較正区域の色濃度を測定した。各群に対する統計的データを以下の表5に列記する。

【0061】

(表5)

表5：統計的データ					
装置	pH	信号強度	平均	標準偏差	%CV
1-5	7.51	$I_d$	88.720	2.885	3.252
		$I_d/I_c$	1.04440	0.00729	0.698
6-10	8.00	$I_d$	84.3080	1.5491	1.837
		$I_d/I_c$	1.20340	0.00769	0.639
11-15	8.50	$I_d$	88.910	2.675	3.009
		$I_d/I_c$	1.04715	0.00629	0.601

【0062】

示すように、検出区域に対する較正データの標準偏差及び%CVは、ある一定の範囲のpH値にわたって非較正データよりも遥かに低かった。

本発明をその特定のな実施形態に関して詳細に説明したが、以上の事項を理解すれば、当業者がこれらの実施形態に対する代替物、実施形態の変形、及び実施形態に対する均等物を容易に考えることができることは認められるであろう。従って、本発明の範囲は、特許請求の範囲及びそのあらゆる均等物の範囲であるとして判断されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【0063】

【図1】本発明のラテラルフローアッセイ装置の一実施形態の斜視図である。

【図2】本発明により用いることができるサンドイッチアッセイ型式の一実施形態の概略図である。

【図3】本発明により用いることができる間接アッセイ型式の一実施形態の概略図である。

【図4】本発明により用いることができる競合的アッセイ型式の一実施形態の概略図である。

【符号の説明】

【0064】

10

20

30

40

50

- 20 ラテラルフローアッセイ装置
- 23 多孔性膜
- 31 検出区域
- 32 較正区域

【図1】

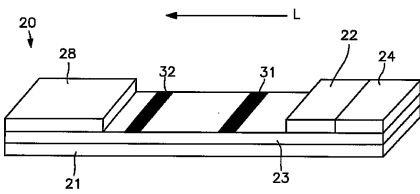


FIG. 1

【図2】

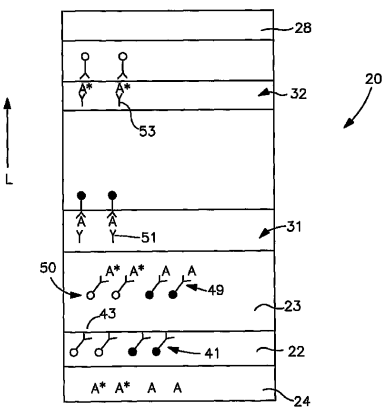


FIG. 2

【図3】

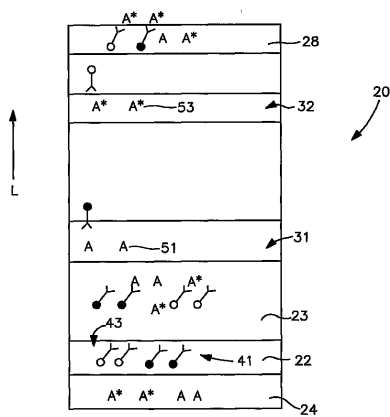


FIG. 3

【 図 4 】

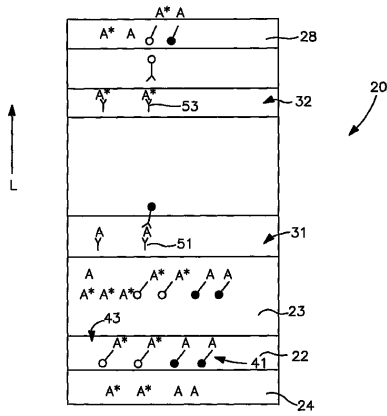


FIG. 4

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2006/002252
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/543  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	AU 759 407 B2 (BAYER CORPORATION) 17 April 2003 (2003-04-17) abstract page 12, line 17 - line 27; claim 1	1-15
X	WO 2004/034056 A (NYLESE, TARA) 22 April 2004 (2004-04-22) abstract page 7, line 17 - line 27 page 10, line 15 - line 26	1-21
A	EP 1 491 892 A (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD) 29 December 2004 (2004-12-29) the whole document	1-21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  12 June 2006		Date of mailing of the international search report  29/06/2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Weijland, A

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/US2006/002252

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
AU 759407	B2	17-04-2003	AU 4110199 A	17-02-2000
			CA 2269162 A1	27-01-2000
			EP 0987551 A2	22-03-2000
			JP 2000046831 A	18-02-2000
			US 6183972 B1	06-02-2001
WO 2004034056	A	22-04-2004	AU 2003277309 A1	04-05-2004
			CA 2501261 A1	22-04-2004
			GB 2409720 A	06-07-2005
EP 1491892	A	29-12-2004	CN 1522368 A	18-08-2004
			WO 03085402 A1	16-10-2003
			US 2004161857 A1	19-08-2004

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(72)発明者 ソン シュードン

アメリカ合衆国 ジョージア州 3 0 0 7 6 ロズウェル クラブアップル レイク サークル  
1 1 3 5

(72)発明者 チディベル - エズ チビューズ オビ

アメリカ合衆国 ジョージア州 3 0 3 3 1 アトランタ サウスウエスト ウルフ クリーク  
サークル 3 9 4 5

(72)発明者 ケイラー ローザン マリー マシューズ

アメリカ合衆国 ジョージア州 3 0 0 4 1 カミング ウィリアムズバーグ ドライヴ 7 4 8  
0

专利名称(译)	带内部校准系统的诊断套件		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008534956A</a>	公开(公告)日	2008-08-28
申请号	JP2008504026	申请日	2006-01-19
[标]申请(专利权)人(译)	金佰利-克拉克环球有限公司		
申请(专利权)人(译)	金佰利Worldwide公司		
[标]发明人	ソンシュードン チディベルエズチビューズオビ ケイラーローザンマリーマシューズ		
发明人	ソン シュードン チディベル-エズ チビューズ オビ ケイラー ローザン マリー マシューズ		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/558 Y10T436/10 Y10T436/105831		
FI分类号	G01N33/543.521 G01N33/53.X		
代理人(译)	小川伸男		
优先权	11/094498 2005-03-30 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

提供了用于侧向流动测定的准确的内部校准系统。一种诊断试剂盒，该试剂盒使用侧向流动测定装置和多种测定试剂来检测测试样品中的测试分析物。测定试剂包括能够产生指示测试样品中测试分析物的存在或数量的检测信号的检测探针。为了进一步提高检测精度，还使用能够产生代表校准分析物的存在或数量的校准信号的校准探针。校准信号可用于校准检测信号。[选型图]图1

