

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5181058号
(P5181058)

(45) 発行日 平成25年4月10日(2013.4.10)

(24) 登録日 平成25年1月18日(2013.1.18)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 33/53 (2006.01) GO 1 N 33/53 K
GO 1 N 33/543 (2006.01) GO 1 N 33/543 5 2 1
 GO 1 N 33/543 5 2 5 U

請求項の数 6 (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願2011-510804 (P2011-510804)	(73) 特許権者	510315973
(86) (22) 出願日	平成21年3月26日 (2009.3.26)		英科新▲創▼(厦▲門▼) 科技有限公司
(65) 公表番号	特表2011-522228 (P2011-522228A)		中華人民共和国 3 6 1 0 2 2 福建省厦▲門
(43) 公表日	平成23年7月28日 (2011.7.28)		▼市海▲滄▼新▲陽▼工▲業▼区新光路 3
(86) 国際出願番号	PCT/CN2009/000322		3 2 号
(87) 国際公開番号	W02009/149615	(74) 代理人	100087767
(87) 国際公開日	平成21年12月17日 (2009.12.17)		弁理士 西川 恵清
審査請求日	平成22年11月30日 (2010.11.30)	(74) 代理人	100155745
(31) 優先権主張番号	200810111567.0		弁理士 水尻 勝久
(32) 優先日	平成20年6月10日 (2008.6.10)	(74) 代理人	100143465
(33) 優先権主張国	中国 (CN)		弁理士 竹尾 由重
		(74) 代理人	100155756
			弁理士 坂口 武
		(74) 代理人	100161883
			弁理士 北出 英敏

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト A B O / R H / M N 血液型を迅速に判定する方法及びキット

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

血液検体を、抗 A、抗 B、抗 D、抗 M、又は抗 N 血液型の抗体が予め被覆固定化されたテストストリップ上に滴下し、テストストリップの一端に洗浄液を滴下した後、洗浄液の泳動により、抗体との凝集反応が発生していない赤血球を滴下スポットから遠ざける一方、抗体と免疫凝集した赤血球を検体滴下スポットに残し、その後、反応スポットに凝集した赤血球が残されているか否かによって検体の血液型を判定することを含み、前記テストストリップが、洗浄パッドと、サンプルアプライパッドと、緩衝パッドと、吸水パッドと、防水テープと、内張りとしてのポリエステル板とからなり、前記洗浄パッドと、サンプルアプライパッドと、緩衝パッドと、吸水パッドとは、一定の孔径を有するガラス繊維により作製され、且つその孔径の大きさは少なくとも 1 個の赤血球を通過可能であり、血液型抗体が固定されたサンプルアプライパッド上に血液検体を滴下し、洗浄パッド上に洗浄液を滴下する、ヒト A B O / R h / M N 血液型の判定方法。

【請求項 2】

前記血液検体が、赤血球又は全血、或いは生理食塩水または等張のリン酸塩緩衝液で希釈した赤血球又は全血であってもよい、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記血液検体が、一部分の溶血又は高脂質含量の血液試料を含んでもよい、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記抗体は、物理的な吸着又は化学架橋法によりテストストリップに固定されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

反応スポットに凝集した赤血球が残されているか否かを、肉眼で、或いは光学信号または電気信号の採集機器によって判断する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の方法を完成するためのキットであって、判定用テストストリップと、洗淨液と、採血具とからなり、前記テストストリップが、洗淨パッドと、サンプルアブライパッドと、緩衝パッドと、吸水パッドと、防水テープと、内張りとしてのポリエステル板とからなり、前記洗淨パッドと、サンプルアブライパッドと、緩衝パッドと、吸水パッドとは、一定の孔径を有するガラス繊維により作製され、且つその孔径の大きさは少なくとも 1 個の赤血球を通過可能であり、血液型抗体が固定されたサンプルアブライパッド上に血液検体を滴下し、洗淨パッド上に洗淨液を滴下し、その後、サンプルアブライパッドに凝集した赤血球が残されているか否かによって血液検体の血液型を判定する、キット。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、人類の A B O / R h / M N 血液型を迅速に判定する方法及びその相応するキットに関する。

【背景技術】

20

【0002】

血液型分型方法は、ヒト血液赤血球を A、B、A B 及び O の四型、並びに R h 血液型系と M N 血液型系に分類する一般的な方法である。血液型の判定の一般的な方法としては、検体赤血球と、血液型の抗体を含有する試薬とを混合して両者を反応させた後、赤血球の細胞凝集が発生しているか否かを観察することによって検体赤血球の血液型を判定する方法である。このような方法では、まず患者の血清中から赤血球を分離し、適量の赤血球と、試験管中またはガラス板上に導入された試験溶液（抗 A 血清、抗 B 血清、或いは抗 D 血清または抗 M 血清、抗 N 血清）とを混合し、ここで免疫反応の進行に有利なその他の試薬を添加してもよく、保温、遠心と攪拌を行った後、肉眼で観察し、細胞の凝集が発生しているか否かを確認する。

30

【0003】

試料は、抗 A 試薬の存在下で細胞の凝集が発生し、抗 B 試薬の存在下で凝集が発生しない場合には、A 型血液と判定される。試料は、抗 B 試薬の存在下で細胞の凝集が発生しているが、抗 A 試薬の存在下で凝集が発生しない場合には、B 型血液と判定される。試料は、抗 A 試薬と抗 B 試薬とともに凝集している場合には、試料が A B 型血液と判定される。試料は、抗 A 試薬と抗 B 試薬とともに反応しない場合には、O 型血液と判定される。試料と抗 D 試薬とが凝集する場合は、血液試料は R h 陽性血液型であり、試料と抗 D 試薬とが凝集しない場合は、血液試料は R h 陰性血液型である。M N 血液型は対応の凝集反応が発生しているか否かによって M、N 及び M N の三型に分けられる。

【0004】

40

現在、ヒト A B O / R h / M N 血液型の検定技術は二つに分けることができ、一つは細胞膜上に結合した血液型の抗原を検定する技術であり、赤血球の生理食塩水凝集法、中和実験、吸収実験、解離実験および混合凝集反応等を含む。もう一つは遊離の血液型の抗原を直接に検定する技術であり、協同凝集反応、放射免疫反応等を含む。

【0005】

現在よく使われている赤血球生理食塩水凝集法は、既知の I g M または I g G 型抗体を新鮮な赤血球表面の血液型の抗原と結合させることにより、赤血球を凝集させて、血液検体の血液型を判断する。この方法は臨床輸血の前の血液型検査（配型）に広く使用されている。しかし、このような方法では相応の試薬を組合わせて使用する必要があり、且つ試薬の低温保存が必要であり、結果も判断し難い。

50

【0006】

その他の血液型検定方法も各自の欠点を有しており、例えば中和実験方法では時間が長くかかり、且つ感度が比較的低い。解離実験と混合凝集反応法では操作に対する要求が高く、毎回の実験において繰り返して条件を確立する必要があり、その感度も高くない。協同凝集反応方法はI g G型抗体感作の黄色ブドウ球菌プロテインA (S P A) を用いて、ブドウ球菌の凝集の有無を観察することによって検体試料の血液型を判断するが、当該方法では試薬の保存に対する要求が高い。放射免疫と酵素免疫法は感度が高いが、かかる時間が比較的長く、一人分の検定に不適切で、また現場での検定も不可能である。

【0007】

つまり、現在よく使われている臨床の血液型検定方法は、検定時間が長く、人手による操作の度合いが大きく、さらに結果が主観的な偏差に大きく影響されるとともに汚染される可能性がある等の問題がある。従って、伝統的な血液型の検定方法に対して実質的な改善が必要とされている。

【発明の開示】

【0008】

本方法の一つの目的は、血液検体を、抗A、抗B、抗D、抗M、又は抗N血液型の抗体が予め被覆固定化されたテストストリップ上に滴下し、テストストリップの一端に洗浄液を滴下した後、洗浄液の泳動により、抗体との凝集反応が発生していない赤血球を滴下スポットから遠ざける一方、抗体と免疫凝集した赤血球を検体滴下スポットに残させ、その後、反応スポットにおいて凝集された赤血球が残されているか否かによって検体の血液型を判定することを含む、ヒトA B O / R h / M N血液型の判定方法を提供することにある。

【0009】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、テストストリップ上に滴下する血液検体の体積は、1 ~ 10 μ l と微小であってもよい。前記洗浄液は10 m Mのリン酸塩緩衝液 (P B S)、生理食塩水またはその他の等張溶液である。前記血液検体は検査用テストストリップのサンプルアプライパッド上に滴下される。

【0010】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記血液型の抗体を固定する方法としては物理的な吸着または化学架橋等の方法であってもよい。

【0011】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記血液検体は、赤血球又は全血、或いは生理食塩水、リン酸塩緩衝液等の等張溶液で希釈した赤血球又は全血の懸濁液であってもよい。また、前記血液試料は、一部分の溶血又は高脂質含量の血液試料を含んでいてもよい。

【0012】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、検定結果の判断は、肉眼で、或いは光学信号または電気信号の採集機器によって判断することができる。

【0013】

簡単に言うと、血液試料は、相応する血液型の抗体を結合させたサンプルアプライパッドと接触して反応した後、サンプルアプライパッド上において相応する抗体と免疫結合反応が起こる。洗浄液体で洗浄した後、免疫結合反応が発生した試料はサンプルアプライパッド上に顕著な赤色の物質として残し、免疫結合反応が発生していない血液試料は洗浄液の洗浄によりサンプルアプライパッドから離され、検体滴下スポットに赤色の物質の残留がない。よって、赤血球と相応する抗体との免疫反応後、サンプルアプライパッド上に赤色の物質の残留があるか無いかによって赤血球と血液型の抗体とが免疫反応したかどうかを判断し、さらに血液試料のA B O / R h / M N血液型を判定する。

【0014】

本発明のもう一つの目的は、上記検定方法を完成するためのキットを提供することであって、当該キットは、検定用テストストリップ、洗浄液と採血具とからなり、その検定用

10

20

30

40

50

テストストリップは、洗浄パッド、サンプルアプライパッド、緩衝パッド、吸水パッド、防水テープ及び内張りとしてのポリエステル板とからなる。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】図1は本発明の血液型検定キットにおける、A B O血液型の迅速判定用テストストリップを示す模式図である。

【図2】図2は本発明の血液型検定キットにおける、A B O血液型の迅速判定用テストストリップを示す更なる模式図である。ここで、1は洗浄パッド、2は防水テープ、3は血液型の抗体を含有するサンプルアプライパッド、4は緩衝パッド、5は吸水パッド、6は内張りとしてのポリエステル板である。

【図3】図3は本発明の血液型検定キットにおける、R h血液型の迅速判定用テストストリップを示す模式図である。ここで、1は洗浄パッド、2は防水テープ、3は抗D抗体を含有するサンプルアプライパッド、4は緩衝パッド、5は吸水パッドである。

【図4】図4は本発明の血液型検定キットにおけるM N血液型の迅速判定用テストストリップを示した模式図である。

【図5】図5は血液型の抗体を固定させたガラス繊維パッド上に陽性の血液試料を滴下した後の、反応の概略図である。ここで、1は赤血球、2は血液型の抗体、3はガラス繊維サンプルアプライパッドである。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本発明は、人類の血液検体のA B O / R h / M N血液型を迅速に判定する方法及びその相応するキットに関する。

【0017】

まず、本発明は人類の血液検体のA B O / R h / M N血液型を判定する方法を提供する。前記方法は、血液検体を、抗A、抗B、抗D、抗M、又は抗N血液型の抗体が予め被覆固定化されたテストストリップ上に滴下し、テストストリップの一端に洗浄液を滴下した後、洗浄液の泳動により、抗体との凝集反応が発生していない赤血球を滴下スポットから遠ざける一方、抗体と免疫凝集した赤血球を検体滴下スポットに残させ、その後、反応スポットにおいて凝集された赤血球が残されているか否かによって検体の血液型を判定することを含む。

【0018】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記血液検体は、赤血球又は全血、或いは生理食塩水またはリン酸塩緩衝液(P B S)などの等張溶液で希釈した赤血球の懸濁液又は全血の希釈液であってもよい。また、前記血液試料は、溶血試料又は高脂質含量の血液試料を含んでもよい。

【0019】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記滴下させた血液検体の体積は10 μ l以下である。前記洗浄液は10mMリン酸塩緩衝液、生理食塩水またはその他の溶液である。

【0020】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記血液型の抗体を固定する方法としては物理的な吸着または化学架橋等の方法であってもよい。

【0021】

本発明は、さらに上記検定方法を完成するためのキットを提供する。当該キットは、検定用テストストリップ、洗浄液と採血具とからなり、その検定用テストストリップは、洗浄パッド、サンプルアプライパッド、緩衝パッド、吸水パッド、防水テープ及び内張りとしてのポリエステル板とからなる(図1を参照)。

【0022】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記洗浄パッド、サンプルアプライパッド、緩衝パッド、吸水パッドは、一定の孔径を有する多孔質高分子材料により作製され、且

10

20

30

40

50

つその孔径の大きさは少なくとも1個の赤血球を通過可能である。その材質の選択により、その洗浄パッド、サンプルアプライパッド、及び緩衝パッドはガラス繊維パッドと総括的に称する場合もある。

【0023】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記血液検体はサンプルアプライパッド上に滴下され、また、前記洗浄液体は洗浄パッド上に滴下される。サンプルアプライパッドは血液型の抗体を固定した多孔質キャリアである。

【0024】

また、血液型の抗体を固定する方法は物理的な吸着または化学架橋法等の方法がある。

【0025】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記血液試料は、ある程度の溶血または脂肪含量が比較的高い血液試料を含む。

【0026】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、その検定結果の判断は、肉眼で、或いは光学信号または電気信号の採集判定機器によって完成することができる。具体的には、本発明のキットを用いたヒトA B O / R h / M N血液型の検定は、以下の操作ステップを含む：

【0027】

1) ヒトA B O / R h / M N血液型の抗体を直接または間接的にサンプルアプライパッド3 (図2) 上に固定する：物理的な吸着または化学架橋手段により、血液型の抗体を一定の孔径を有するガラス繊維パッド上に固定する。ここで、採用した物理的または化学的な固定方法は抗体の生理活性に対してあまり影響しない上、固定化された抗体には抗体タンパク質保存剤が添加されている。保護剤としては、ウシ血清アルブミン、胎児牛血清、ペプトン、蔗糖、ポリビニルピロリドン及びこれらの組み合わせから選択することができる。

【0028】

高力価のヒトA B O / R h / M N血液型モノクローナル抗体を取り、5 mMリン酸塩緩衝液で適当な力価に希釈し、また抗体のガラス繊維パッド上の固定と保存のために抗体固定保護剤を添加する。後継の免疫反応の進行を促進するために希釈後の抗体溶液中に反応増強剤を添加してもよい。希釈後の抗体1.5 mL当たり5 cm x 5 cmの繊維パッドに広げる比率で、抗体を予め活性化したガラス繊維パッド上に被覆して37℃で乾燥した後密封して保存する。

【0029】

2) サンプルアプライパッド3上に検体の滴下を行った後、洗浄パッド1 (図3) 上に洗浄液体を滴下させる。サンプルを添加して洗浄液を滴下させた後、免疫結合反応が発生するとともに結果が現れる。

【0030】

3) 反応が完成して洗浄した後、サンプルアプライパッド上において赤色の残留物の有無によって、血液検体試料の血液型を判定する。

【0031】

A B O血液型検定用テストストリップにおいて、反応物が洗浄された後、抗A抗体を含有するサンプルアプライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がある場合、血液検体は相応する抗A抗体に捕らえられ、抗A抗体と凝集反応が発生した(即ち陽性反応)ことを表す。洗浄後、抗A抗体を含有するサンプルアプライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がない場合、血液検体は抗A抗体と凝集反応が発生していない(即ち陰性反応)ことを表す。反応と洗浄が完了した後に、抗B抗体を含有するサンプルアプライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がある場合、血液検体は抗B抗体と凝集反応が発生したことを表す。洗浄後に、抗B抗体を含有するサンプルアプライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がない場合、血液検体は抗B抗体と凝集反応が発生していないことを表す。従って、検定結果により、抗A抗体と抗B抗体とともに凝集反応が発生した血液試料の血液型はA B型で、抗A抗

10

20

30

40

50

体のみと凝集反応が発生した血液試料の血液型はA型で、抗B抗体のみと凝集反応が発生した血液試料の血液型はB型で、抗A抗体と抗B抗体のいずれにも凝集反応が発生していない血液試料の血液型はO型であると判定できる。

【0032】

Rh血液型検定用テストストリップにおいて、反応して洗浄を完了した後に、抗D抗体を含有するサンプルアブライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がある場合、血液検体は抗D抗体と凝集反応が発生していることを表す。反応して洗浄を完了した後に、抗D抗体を含有するサンプルアブライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がない場合、血液検体は抗D抗体と凝集反応が発生していないことを表す。従って、検定結果により、抗D抗体と凝集反応が発生した血液試料の血液型はRh陽性血液型、抗D抗体と凝集反応が発生していない血液試料の血液型はRh陰性血液型であると判定できる。

10

【0033】

MN血液型検定用テストストリップにおいて、反応物が洗浄された後に、抗M抗体を含有するサンプルアブライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がある場合、血液検体は相応する抗M抗体に捕らえられ、抗M抗体と凝集反応が発生したことを表す。洗浄後に、抗M抗体を含有するサンプルアブライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がない場合、血液検体は抗M抗体と凝集反応が発生していないことを表す。反応して洗浄を完了した後に、抗N抗体を含有するサンプルアブライパッド上に顕著な赤色の物質の残留がある場合、血液検体は抗N抗体と凝集反応が発生したことを表す。従って、検定結果により、抗M抗体と抗N抗体とともに凝集反応が発生した血液試料の血液型はMN型で、抗M抗体のみと凝集反応が発生した血液試料の血液型はM型で、抗N抗体のみと凝集反応が発生した血液試料の血液型はN型であると判定できる。

20

【0034】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、その迅速判定用テストストリップは、内張り、洗浄パッド、サンプルアブライパッド、緩衝パッド、吸水パッド、防水テープとからなる。内張りの上に順次に、洗浄パッド、サンプルアブライパッド、緩衝パッド、吸水パッド、及び防水テープを貼り付ける。サンプルアブライパッドの縁部は洗浄パッドの縁部上に重なり、緩衝パッドの縁部はサンプルアブライパッドの縁部上に重なり、吸水パッドの縁部は緩衝パッドの縁部上に重なり、防水テープは洗浄パッドとサンプルアブライパッドとの重なった縁部上に貼り付けられることで、洗浄液体がサンプルアブライパッドの表面から広がることを防止している。内張りはポリエステル材料からなっているが、これに制限されない。

30

【0035】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、ここでいう抗体の固定とは、物理的または化学架橋等の方法を利用して、抗A、抗B、抗D、抗Mあるいは抗N等の抗体を、一定の孔径を有するガラス繊維パッドまたはその他の類似する孔径のキャリア上に固定することを指す。固定する前に、抗体の力価に基づいて抗体に対して一定比率の希釈を行って、それを使用に適した濃度にする。浸漬、均一塗布あるいはスプレーの方法を採用して抗体をガラス繊維パッド(サンプルアブライパッド)上に固定することができる、その後、凍結乾燥または加熱乾燥処理を行う。ここで、前記抗体は予め架橋剤であるグルタルアルデヒドで処理したものである。

40

【0036】

本発明の一つの好ましい実施形態によれば、前記血液検体は、赤血球または全血、或いは10mMリン酸塩緩衝液(PBS)、生理食塩水等の等張溶液で希釈した赤血球懸濁液(希釈度通常2-50%)であってもよい。ある程度の溶血または比較的高い脂肪含量の血液試料も、本発明のキットに適している。

【0037】

適当に希釈したまたは未希釈の検体全血或いは血細胞試料を、血液型の抗体を含有するサンプルアブライパッド上に添加して、免疫結合反応を待った後に洗浄液でサンプルアブライパッドを洗浄する。洗浄液は、10mMリン酸塩緩衝液(PBS)またはその他の溶

50

液であってもよい。免疫反応後の凝集した赤血球の存在は、肉眼でも容易に観察でき、また、光信号又は電気信号の採集判断機器によって、大量の試料の血液型の検定結果を読み取ることができる。

【0038】

例えば、A B O血液型の検定を行う際に、実際の操作は、一枚のポリエステル板基材上に区分して並列され、それぞれサンプルアプライパッド上に抗Aまたは抗B血液型の抗体を固定させた二本の検定用テストストリップ上で完成することができる。

【0039】

例えば、M N血液型の検定を行う際に、実際の操作は、一枚のポリエステル板内張り上に区分して並列され、それぞれサンプルアプライパッド上に抗Mまたは抗N血液型の抗体を固定させた二本の検定用テストストリップ上で完成することができる。

10

【0040】

本発明のヒトA B O / R h / M N血液型を迅速に判定するキットは、血液センターの血液型のスクリーニング、街の採血及び家庭用A B O / R h / M N血液型自己検査に適用される。迅速な免疫反応及び簡便な結果読み取り手段によって、血液型の迅速且つ簡単正確な検定を達成した。当該方法は、操作が簡単且つ容易で、その他の抗ヒトグロブリン等の試薬の添加を必要としない。本発明の方法において、血液検体試料のサンプル添加量は10マイクロリットルを超えず、全部の検定過程は2分間を超えない。

【0041】

本発明のヒトA B O / R h / M N血液型を迅速に判定する方法およびキットは、免疫クロマトグラフィー法の原理に基づいて、血液型物質の抗原と抗体との反応後に、赤血球の凝集により残留した赤色の物質の有無によって、血液型の判断を実現するものである。本発明の方法は、操作が簡単で、従来の通常の血液型検定方法の各種欠陥を避けることができる。本発明の方法は、一人分または複数人分の迅速な判定に適している。特に、採血現場におけるA B O / R h / M N血液型の迅速な判定及び家庭用血液型の自己検定に適している。相応する機器と組合わせて使用すれば、当該方法は血液センターに適用して大量の血液試料に対するA B O / R h / M N血液型人群の迅速なスクリーニングを行うことができる。

20

【0042】

以下の実施例は本発明に対して更なる例を挙げて説明したものであり、これらの実施例は、本発明に対しいかなる限定もしない。本発明の技術的な解決案から外れない前提で、本発明に対する当業者が容易に実現できるいかなる変更や変化も、いずれも本発明の特許請求の範囲に該当する。

30

実施例1：ヒトA B O血液型キットにおける検定用テストストリップの作製及び検定ステップ

(1) サンプルアプライパッド上における血液型の抗体の固定(抗A、抗B抗体)：

【0043】

高力価の血液型モノクローナル抗A抗B抗体(長春博徳生物技術有限公司製)を取り、5mMリン酸塩緩衝液で1mlになるまで希釈した。最終の力価は64であった。ガラス繊維パッド上の抗体の固定と保存を促進するために、希釈後の抗体液中に抗体固定保護剤(5%ウシ血清アルブミン、5%蔗糖、5%PVP、5%胎児牛血清のリン酸塩緩衝液からなる)を添加した。希釈後の抗体1.5ml当たりを5cm×5cmのガラス繊維パッドに広げる比率で、抗体を予め活性化したガラス繊維パッド上に被覆して37℃で乾燥した後密封して保存した。

40

(2) 迅速判定用テストストリップの実装：

【0044】

幅が約5-10cmの長方形のポリエステル板の内張りの中央部に幅が20mmの洗浄

50

ガラス繊維パッドを貼り付け、その後両辺に幅が10mmのサンプルアプライパッド、緩衝パッド及び幅が30mmの吸水パッドを順次に貼り付けて、最後に洗浄パッドとサンプルアプライパッドとの重なる部位に防水テープを貼り付けることで、貼り付けたパッドの剥離及び添加されたサンプルや洗浄液の広がりを防止する。その後、各層の貼り付け済みのポリエステル板を幅5mmのストリップに切って長さが約5-10cm、幅が約5mmの検定用テストストリップ(図1と図2を参照)を得た。

(3) 試料検定:

【0045】

テストストリップのサンプルアプライパッド上に、5 μ lの全血試料を滴下した。検体試料を滴下した後、洗浄パッド1の上にゆっくりと均速で反応洗浄液を5滴滴下した。洗浄液のクロマトグラフィの後、サンプルアプライパッドの色を観察した。サンプルアプライパッド3の上に顕著な赤色の物質の残留がある場合、陽性反応とし、サンプルアプライパッド3の上に赤色の物質の残留がない場合、陰性反応とした。ABO血液型の抗体と赤血球との反応関係に基づいて、容易に検体試料の血液型を検定できる。また、光信号または電気信号の採集システムによりサンプルアプライパッド上に残留した赤色の物質を採集して、その結果に対し自動的に判断することも可能で、これにより大量の血液試料のABO血液型に対する迅速なスクリーニングが実現される。

10

実施例2: ヒトRh血液型検定キットにおける検定用テストストリップの作製及び検定ステップ

20

(1) サンプルアプライパッド上における血液型の抗体の固定(抗D抗体):

【0046】

高力価の血液型モノクローナル抗D抗体(米国MILLIPORE社製)を取り、5mMリン酸塩緩衝液で1mlになるまで希釈した。最終力価は32であった。ガラス繊維パッド上の抗体の固定と保存を促進するために、希釈後の抗体液中に抗体固定保護剤(5%白蛋白、5%蔗糖、5%PVP、5%胎児牛血清のPBS溶液からなる)を添加し、さらに後継の免疫反応の進行を促進するために反応増強剤(2%Tween20と2%Triton X-100を含むリン酸塩緩衝液)を添加した。希釈後の抗体1.5ml当たりを5cm \times 5cmの繊維パッドに広げる比率で、抗体を予め活性化したガラス繊維パッド上に被覆して37 $^{\circ}$ Cで乾燥させた後密封して保存する(図3を参照)。

30

【0047】

その他のステップは、ABO血液型キットの迅速判定用テストストリップの作製及び検定ステップと同様にした。

実施例3: ヒトMN血液型検定キットにおける検定用テストストリップの作製及び検定ステップ

【0048】

ヒトMN血液型検定キットの迅速判定用テストストリップの作製及び検定ステップはヒトRh血液型検定キットの迅速判定用テストストリップの作製及び検定ステップと類似し、異なるのは、判定用テストストリップに固定された抗体を抗Mや抗N抗体に替えたことのみにある(図4を参照)。

40

実施例4: 本発明の血液型検定方法と従来の一般的な方法との比較

【0049】

我々は、伝統的な血液型検定方法と本発明の方法およびキットとを使用して、同時に、一般の人の1500例の個体(ドナー)に対し二重盲検法による血液型検定を行ったところ、本方法の検定結果は、既知の血球液体凝集法と比べて、合致率が100%であった。本発明の検定可能な検体の範囲が比較的広く、部分溶血、高脂質血等の検体に対しても検

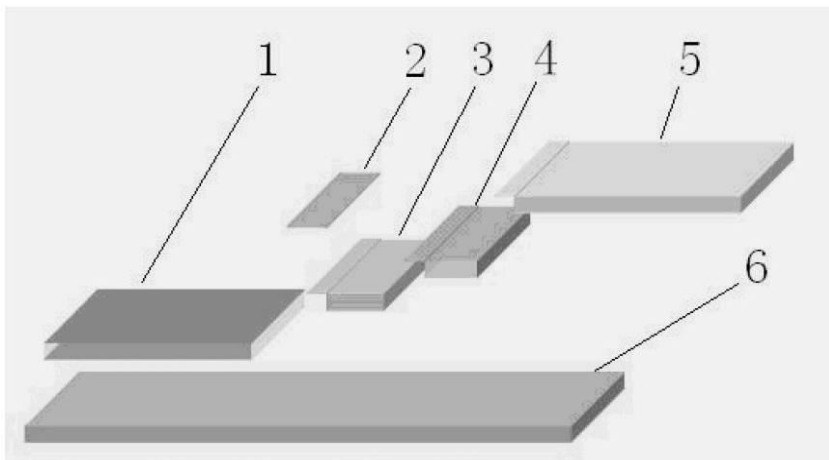
50

定可能である。また、本発明のキットの検定方法は、現在よく使われている臨床の血液型検定方法が有する、検定時間が長く、人手による操作の度合いが大きく、さらに結果が操作者の主観的な偏差に大きく影響されるとともに汚染される可能性がある等の問題を回避することができる。

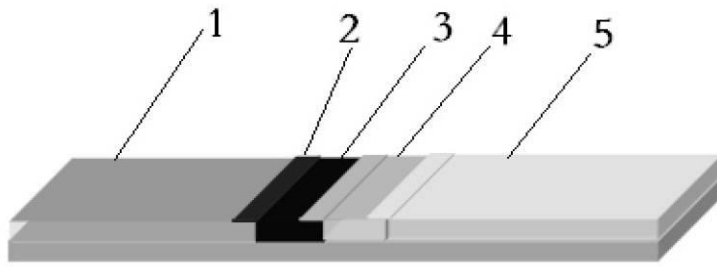
【図1】



【図2】



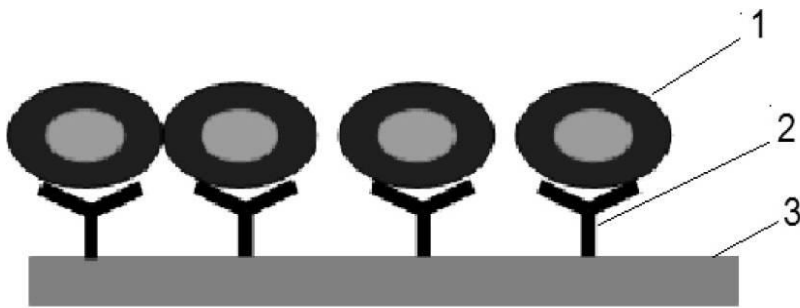
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

(74)代理人 100167830

弁理士 仲石 晴樹

(74)代理人 100136696

弁理士 時岡 恭平

(74)代理人 100162248

弁理士 木村 豊

(72)発明者 汪 大明

中華人民共和国 3 6 1 0 2 2 福建省廈門 市海滄 新陽工業区新光路 3 3 2 号

(72)発明者 楊 文

中華人民共和国 3 6 1 0 2 2 福建省廈門 市海滄 新陽工業区新光路 3 3 2 号

(72)発明者 肖 江群

中華人民共和国 3 6 1 0 2 2 福建省廈門 市海滄 新陽工業区新光路 3 3 2 号

(72)発明者 王 保丹

中華人民共和国 3 6 1 0 2 2 福建省廈門 市海滄 新陽工業区新光路 3 3 2 号

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 特開昭 6 2 - 0 8 8 9 6 3 (J P , A)

特開 2 0 0 1 - 0 5 6 3 4 1 (J P , A)

国際公開第 2 0 0 5 / 0 0 5 9 9 1 (W O , A 1)

特開平 1 1 - 3 2 6 3 2 7 (J P , A)

特表 2 0 0 1 - 5 0 0 2 4 9 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N 33/53-33/543

专利名称(译)	用于快速测定人ABO / RH / MN血型的方法和试剂盒		
公开(公告)号	JP5181058B2	公开(公告)日	2013-04-10
申请号	JP2011510804	申请日	2009-03-26
[标]申请(专利权)人(译)	英科新创(厦门)科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	英科新▲创▼(厦▲门▼)科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	英科新▲创▼(厦▲门▼)科技有限公司		
[标]发明人	汪大明 楊文 肖江群 王保丹		
发明人	汪 大明 ▲楊▼ 文 肖 江群 王 保丹		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/80		
FI分类号	G01N33/53.K G01N33/543.521 G01N33/543.525.U		
代理人(译)	竹尾 由重 坂口武 Tokioka恭平 木村裕		
优先权	200810111567.0 2008-06-10 CN		
其他公开文献	JP2011522228A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

一种快速测定人ABO / Rh / MN血型的方法及其检测试剂盒。将待检测的血液样品施加到预先涂有抗A或抗B或抗M或抗N抗体的测试条上，将冲洗溶液滴在测试条的一端，然后滴加血液通过残留在反应部位的凝集红细胞的存在来确定血样的组。

【图 2】

