



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **323875**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

G01N 33/558 (2006.01)

G01N 30/92 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/544 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	19985037	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1997.04.28 PCT/IB97/00450
(22)	Inng.dag	1998.10.29	(85)	Videreføringsdag	1998.10.29
(24)	Løpedag	1997.04.28	(30)	Prioritet	1996.05.02, JP, 111744/96
(41)	Alm.tilgj	1999.01.04			
(45)	Meddelt	2007.07.16			
(73)	Innehaver	Dainabot Co Ltd, 9-9, Roppongi 1-chome, Roppongi First Bldg., Minato-ku, Tokyo 106, JP			
(72)	Oppfinner	Eiji Kobayashi, Tokyo, JP			
(74)	Fullmektig	Oslo Patentkontor AS, Postboks 7007 Majorstua , 0306 OSLO			
(54)	Benevnelse	Anordning for immunokromatografisk assay			
(56)	Anførte publikasjoner	EP-A-0 268 410, EP-A-0 454 437, EP-A-0 520 411, US-A-4328184			
(57)	Sammendrag				

En kromatografisk assayanordning som kan bli brukt lettere, er beskrevet, og som er beskyttet fra fuktighet og/eller oksygen mer effektivt og som kan bli produsert ved en lavere kostnad enn kjente kromatografi-immunoassayanordninger. Kromatografi-immunoassayanordningen er en hvor en eller flere kromatografiske strimler er plassert på et substrat dannet av en plate, hvor hver av kromatografistrimlene er forseglet ved nært å feste en substrat-del som omgir hver kromatografistrimmel, til en forseglingsfilm som ligger på kromatografistrimmelen, og forseglingsfilmen og/eller substratet har en film som inneholder et avfuktende middel og/eller en film inneholdende et oksygen-absorberende middel.

Foreliggende oppfinnelse angår anordninger for kromatografiske immunoassays hvor det blir benyttet kromatografistrimler. Mer spesielt angår oppfinnelsen en anordning for kromatografisk immunoassay hvor en eller flere kromatografistrimler ligger på et substrat hvor hver av kromatografistrimlene er forseglet mellom substratet og en forseglingsfilm som fullstendig dekker de kromatografiske strimler og forseglingsfilmen og/eller substratet består av en film inneholdende et avfuktende middel og/eller en film inneholdende et oksygenabsorberende middel og hvor anordningen for øvrig omfatter de trekk som går frem av krav 1.

Bakgrunn for oppfinnelsen

Kromatografiske immunoassayanordninger hvor kromatografistrimler blir benyttet er anordninger som immunologisk påviser eller måler tilstedeværelsen eller mengden av substanser som skal undersøkes og som er inneholdt i prøver hvor anordningen har minst en prøvetilsettende innretning og en påvisende innretning. I enkelte tilfeller har kromatografistrimmelen også en markerende innretning og en slik innretning er velkjent og mye brukt som beskrevet for eksempel i JP-A-61-145459 (uttrykket "JP-A" som benyttet heri betyr en "ubehandlet, publisert japansk patentsøknad") JP-A-1-63865 og JP-W-1-503174 (uttrykket "JP-W" som benyttet heri betyr en "ubehandlet, publisert japansk internasjonal patentsøknad").

Hver kromatografistrimmel må bli beskyttet på en passende måte så som med en innpakning for å beskytte antistoff og lignende reagenser i kromatografistrimmelen fra nedbryting forårsaket av oksygen, fuktighet og lignende, og å beskytte strimmelen i seg selv fra forurensning forårsaket av berøring eller fra deformasjon og lignende. Beskyttelse ved innpakning eller på lignende måte blir generelt utført ved å feste eller plassere en eller et antall kromatografistrimler på et substrat, plassere det resulterende preparat i en beskyttende beholder og så forsegle beholderen i en

pose. Alternativt blir hver kromatografistrimmel forseglet med en laminatfilm som beskrevet i WO 94/24563. Når pakket i en pose, blir kromatografistrimmelen forseglet sammen med et avfuktende middel for å minimalisere fuktighetsabsorpsjonen av kromatografistrimmelen.

Imidlertid krever i den konvensjonelle kromatografiimmunoassayanordning hver kromatografistrimmel et beskyttende deksel, et avfuktende middel og en pakning hvor en kromatografistrimmel er forseglet, noe som således er kostbart ved innpakning. I et tilfelle hvor et antall kromatografistrimler blir plassert på et substrat blir alle kromatografistrimlene pakket i en enkelt pose sammen med en nødvendig mengde av et avfuktende middel og forseglet med et pakkemateriale som i hovedsak er vannugjennomtrengelig.

Selv om denne metoden kan redusere kostnadene som er nødvendig ved innpakning av materiale og avfuktende middel, forårsaker åpning av posen for å bruke den første kromatografistrimmelen eksponering av andre kromatografistrimler for luften eller fuktighet og oksygen, og utgjør således et problem forårsaket av deres nedbrytning. Således er det nødvendig å ta spesielle beskyttende og lagrende tiltak fordi de lagrede kromatografistrimler blir verdiløse når de ikke er passende beskyttet og lagret. Sak WO 94/24563, anvender kromatografistrimler som kan bli isolert fra luften, men ingen ytterligere tiltak er gitt for å beskytte kromatografistrimlene fra fuktighet og oksygen.

Oppsummering av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse løser de tidligere nevnte problemer ved kromatografiimmunoassayanordningene ifølge tidligere teknikk ut fra deres virkemåte og innpakning for derved å fremskaffe en kromatografiimmunoassayanordning som er lettere å bruke, kan bli isolert fra fuktighet og/eller oksygen mer effektivt, tillater lagring over en lengre tidsperiode og er i stand til å bli fremstilt med lavere kostnader.

En kromatografiimmunoassayanordning har blitt utviklet som kan bli lettere brukt, er beskyttet fra fuktighet og/eller oksygen mer effektivt og har lave produksjonsomkostninger. Foreliggende oppfinnelse er en kromatografiimmunoassayanordning som omfatter de trekk som går frem av krav 1 og spesielt hvor en eller flere kromatografistrimler er lagt på et substrat hvor hver av kromatografistrimlene er forseglet mellom substratet og en forseglingsfilm som fullstendig dekker kromatografistrimlene og hvor forseglingsfilmen og/eller substratet har en film som inneholder et avfuktende middel og/eller en film inneholdende et oksygenabsorberende middel.

Følgelig ligger hovedsaken ved foreliggende oppfinnelse i en kromatografiimmunoassayanordning hvor: (1) en eller flere kromatografistrimler som har minst en prøvetilsettende anordning og en påvisende anordning ligger ved visse intervaller på et substrat som består av en plate med eller uten en strimmelstøtte, (2) en forseglingsfilm som fullstendig dekker kromatografistrimlene er lagt på den tidligere nevnte kromatografistrimmel med eller uten et beskyttende laminat, (3) deler av nevnte substrat og forseglingsstrimmel er festet omkring hver av de kromatografiske strimler for å forsegle hver kromatografiske strimmel, (4) den tidligere nevnte adhesjon mellom forseglingsfilmen og substratet blir oppnådd på en slik måte at forseglingsfilmen lett kan bli skrellet bort fra substratet, i det minste i det prøvetilsettende området, (5) med hensyn til forseglingsfilmen og substratet, (i) enten forseglingsfilmen eller substratet har både en film inneholdende et avfuktende middel og en film inneholdende et oksygenabsorberende middel, (ii) forseglingsfilmen har enten en film inneholdende et avfukningsmiddel eller en film inneholdende et oksygenabsorberende middel og substratet har den andre filmen, (iii) enten forseglingsfilmen eller substratet har enten filmen inneholdende det avfuktende middel eller filmen inneholdende et oksygenabsorberende middel og den andre har både filmen inneholdende et avfuktende middel og filmen in-

neholdende et oksygenabsorberende middel, (iv) både forseglingsfilmen og substratet inneholder hver både filmen inneholdende et avfuktende middel og filmen inneholdende et oksygenabsorberende middel og (6) når den forseglende film
5 og/eller substratet omfatter et fuktighetsfjernende/fuktighetsbindende middel er forseglingsfilmen og substratet i hovedsak vannimperiable, i det minste ved den delen hvor forseglingsfilmen ikke er nært festet til substratet når forseglingsfilmen og/eller substratet har filmen inneholdende et avfuktende middel, og forseglingsfilmen og substratet er i hovedsak oksygenimperiable, idet minst den delen hvor forseglingsfilmen ikke er nært festet til substratet når forseglingsfilmen og/eller substratet har filmen inneholdende et oksygenabsorberende middel.

15 **Effekt av oppfinnelsen**

En kromatografiimmunoassayanordning er beskrevet som lett kan bli brukt og som er beskyttet fra fuktighet og/eller oksygen og har lave produksjonskostnader. Foreliggende oppfinnelse er en kromatografiimmunoassayanordning hvor en
20 eller flere kromatografistrimler er festet på et substrat laget av en enkel plate hvor hver av kromatografistrimlene er forseglet nært ved å feste en substratdel omliggende hver kromatografistrimmel til en forseglingsfilm plassert på tidligere nevnte kromatografistrimmel og forseglingsfilmen og/eller substratet omfatter en film inneholdende et avfuktende middel og/eller en film inneholdende et oksygenabsorberende middel. Siden kromatografistrimler blir isolert fra fuktighet og/eller oksygen med forseglingsfilmen og substratet, kan de bli lagret over en lengre tidsperiode.
25 I tillegg, selv i tilfelle med en anordning hvor et antall kromatografistrimler er festet til et substrat når en kromatografistrimmel blir brukt, blir de gjenværende kromatografistrimler ikke eksponert for luft ulikt lignende typer konvensjonelle anordninger som for tiden er i bruk.
30 I tillegg kan en kromatografistrimmel ifølge oppfinnelsen heri være atskilt fra andre strimler sammen med substratet

uten å eksponere denne for luft før dens bruk. I tillegg krever ikke kromatografiimmunoassayanordningen ifølge foreliggende oppfinnelse arbeid for innpakning, noe som er nødvendig for å danne kromatografistrimlene ifølge den tidligere teknikk. Således kan strimlene beskrevet heri bli fremstilt med en lavere kostnad.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

I en kromatografistrimmel er minst en prøvetilsettende anordning og en påvisende anordning anbrakt på en kromatografibærer. En prøveopløsning som har en mulighet for å inneholde en substans som skal undersøkes beveger seg gjennom kromatografibæreren med kapillærvirkning når den tilsettes til den prøvetilsettende anordning og en merket substans som er inneholdt i en merkende anordning anbrakt på kromatografistrimmelen på forhånd eller en merket substans som tilsettes sammen med prøveopløsningen til kromatografistrimmelen blir akkumulert i den påvisende anordning i direkte eller invers mengde til tilstedeværelsen eller mengden av substansen som skal undersøkes i prøveopløsningen utført med en immunologisk reaksjon slik at tilstedeværelsen eller mengden av substansen som skal undersøkes i prøveopløsningen kan bli funnet ved å måle tilstedeværelsen eller mengden av den således akkumulerte merkede substans. Forskjellige typer kromatografistrimler er kjent, og alle av disse kjente kromatografistrimler innbefattende dem som vil bli beskrevet senere kan bli brukt i foreliggende oppfinnelse. Uttrykket "kromatografi immunoassayanordning" som brukt heri betyr en kromatografistrimmel som er dannet på en slik måte at den kan bli brukt i et immunoassay og er i stand til å bli lagret og transportert.

Det følgende beskriver et typisk eksempel på en kromatografistrimmel. Når en markørinnretning er til stede, kan en prøvetilsettende anordning ligge enten på samme sted hvor markørinnretningen er til stede eller ved en oppstrøms posisjon for markørinnretninger (heretter blir bevegelses-

- retningen for en prøveoppløsning forårsaket av kapillær-
virkning kalt "nedstrøms" og den motsatte retning blir kalt
"oppstrøms"), med oppstrøms for markørinnretningen generelt
foretrukket. Når en prøveoppløsning som har en mulighet
5 for å inneholde en substans som skal undersøkes blir inn-
ført i den prøvetilsettende anordning, beveger prøveoppløs-
ningen seg gjennom kromatografibæreren i nedstrøms retning
sammen med substansen som skal undersøkes forårsaket av ka-
pillærvirkning. Typisk er substansen som skal undersøkes
10 en forbindelse som befinner seg på en spesifikk måte til en
innfangende substans festet til påvisningsanordningen, el-
ler den er en forbindelse som binder seg på en spesifikk
måte til et konjugat som binder seg spesifikt til den inn-
fangende substans. For eksempel er substansen som skal un-
15 dersøkes et antistoff når den innfangende substans er et
antigen eller konjugatet inneholder et antigen og substan-
sen som skal undersøkes er et antigen når den innfangende
substans er et antistoff eller konjugatet inneholder et an-
tistoff.
- 20 Når den prøvetilsettende anordning ligger ved en oppstrøms
posisjon for en merkende anordning (et tilfelle hvor en
merkende anordning er til stede), kan den merkende anord-
ning være anbrakt ved siden av den prøvetilsettende anord-
ning eller ved en posisjon som er uavhengig av den prøve-
25 tilsettende anordning. Typisk er en merket substans som
binder spesifikt til en substans som skal undersøkes eller
binder spesifikt til en innfangende substans i konkurranse
med substansen som skal undersøkes, anbrakt i den merkende
anordning.
- 30 Når en merkende anordning ikke er til stede, kan en merket
substans bli tilsatt til den prøvetilsettende anordning
sammen med en prøveoppløsning, men tilsetning av den mer-
kede substans kan bli utført på forskjellige måter, for ek-
sempel ved å tilsette den til en gitt posisjon utenfor det
35 kromatografibindende sete etter tilsetning av prøveoppløs-
ningen.

Markøren kan være en radioaktiv isotop, et enzym eller en farget substans så som gullkolloid eller lignende. Disse markører er også velkjent.

5 Siden den merkede substans er anbrakt på en slik måte at den beveger seg ved kapillærvirkningen av en prøveoppløsning, beveger den merkede substans seg i nedstrøms retning når prøveoppløsningen blir tilsatt til den prøvetilsettende anordning.

10 Den påvisende anordning ligger generelt ved nedstrøms posisjon fra den merkende anordning og ved en gitt avstand fra den merkende anordning. I den påvisende anordning er en innfangende substans som binder seg kun til en substans som skal undersøkes eller et konjugat på en spesifikk måte eller binder spesifikt til hver av substansene som skal
15 undersøkes og en merket substans festet til kromatografi-bærematerialet. Følgelig i en utførelsesform binder substansen som skal undersøkes (enkelte ganger bundet til en merket substans) beveget av kapillærvirkningen av prøveoppløsningen til den innfangende substans eller til et konjugat
20 som i sin tur binder seg til den innfangende substans. Den merkede substans binder til den således bundne substans som skal undersøkes for derved å få i stand akkumulering av den merkede substans i den påvisende anordning som respons til tilstedeværelsen eller mengden av substansen som skal
25 undersøkes. Alternativt binder den merkede substans og substansen som skal undersøkes beveget av kapillærvirkningen seg kompetitivt til den innfangende substans eller til et konjugat som i sin tur binder seg til den innfangende substans for derved å fremskaffe akkumulering av den
30 merkede substans i invers grad til mengden av substansen som skal undersøkes.

Det finnes et tilfelle hvor en viss merket substans binder til både den innfangende substans (eller et konjugat som i sin tur binder seg til den innfangende substans) og en substans som skal undersøkes, men ikke samtidig, og i dette
35

tilfelle binder substansen som skal undersøkes seg først til den merkede substans og den gjenværende merkede substans som ikke binder seg til substansen som skal undersøkes binder seg til den innfangende substans. Følgelig kan nær-
været eller mengden av substansen som skal undersøkes bli
5 analysert ved å måle den merkede substans akkumulert i den påvisende innretning.

Etter behov ligger forskjellige substanser oppstrøms for den påvisende anordning. For eksempel kan et konjugat
10 ligge slik på en bevegelig måte. Et konjugat er et kompleks av en forbindelse som binder seg spesifikt til en substans som skal undersøkes eller en merket substans og en annen forbindelse som spesifikt binder seg til den innfangende substans og den binder seg til både substansen som
15 skal undersøkes og den innfangende substans eller den merkede substans og den innfangende substans på en spesifikk måte. Eksempler på kombinasjonen av en forbindelse som binder seg spesifikt til en innfangende substans og den tilsvarende innfangende substans innbefatter biotin og avidin
20 (hvor hver kan være den innfangende substans), et antistoff og dets tilsvarende antigen (hvor begge ikke har noe relasjon til en prøve som skal undersøkes) og lignende.

I enkelte tilfeller kan en eller flere ytterligere påvisningsanordninger bli anbrakt nedstrøms for første påvisende anordning. I tillegg kan den nedstrøms for de påvisende anordningene være en ytterligere utvidelse av kromatografibæreren, slik at en prøveoppløsning kan bli ført ut fullstendig, eller bæreren kan være utstyrt med et materiale for
30 bruk i absorpsjonen av prøveoppløsningen.

Kromatografibæreren er et bæremiddel av prøvetilsettende anordninger, de merkede anordninger og de påvisende anordninger, som forbinder disse anordninger på en slik måte at
35 prøveoppløsningen kan beveges med kapillærvirking. Et antall materialer har blitt foreslått som kromatografibærematerialer, og ethvert av disse materialer kan bli brukt

som kromatografibæreren ifølge foreliggende oppfinnelse. For eksempel blir cellulose, nitrocellulose, celluloseacetat og lignende svært ofte brukt som kromatografibærere.

5 Således kan tilstedeværelsen eller mengden av en substans som skal undersøkes i en prøveopløsning bli funnet ved å måle tilstedeværelsen eller mengden av en merket substans akkumulert i den påvisende anordning. I et tilfelle kan dette bli utført visuelt.

10

Etter behov kan kromatografiske strimler bli festet til en strimmelstøtte på en slik måte at en av dets sider settes i kontakt med strimmelstøtten (nedenfor blir siden som i kontakt med strimmelstøtten kalt for "baksiden" av den kromatografiske strimmelen). Strimmelstøtten blir i hovedsak
15 brukt for å forhindre bevegelse av de prøvetilsettende anordninger, de merkede anordninger og lignende. Festing av kromatografiskstrimmelen på strimmelstøtten må blir foretatt på en slik måte at kapillærvirkningen av en prøveløsning i kromatografibæreren ikke blir forstyrret slik at
20 følsomheten overfor påvisning av en substans som skal undersøkes, ikke bli redusert. I enkelte tilfeller kan strimmelstøtten bli brukt på en slik måte at en del av den prøvetilsettende anordning ikke blir dekket.

25

Også etter behov kan et beskyttende laminat bli festet på den motsatte side av den strimmelstøttefestede side av den kromatografiske strimmelen (nedenfor blir denne side eller siden motstående den substratfestede side, kalt "forsiden"
30 av den kromatografiske strimmelen). Det beskyttende laminatet blir i hovedsak brukt for å sikre adhesjon av den prøvetilsettende anordning og den merkede anordningen, og for å forhindre farging og andre feil fra å inntreffe for den kromatografiske strimmelen når den brukes. I det minste en
35 del av det beskyttende laminat, hvor dette dekker den påvisende anordning, må være gjennomsiktig, og den prøvetilsettende del av den prøvetilsettende anordning må ikke være dekket av det beskyttende laminat. Festing av den kromato-

grafiske strimmelen til det beskyttende laminat må bli foretatt på en slik måte at kapillærvirkningen av en prøveoppløsning i kromatografibæreren ikke blir forstyrret, eller slik at følsomheten for påvisning av en substans som skal undersøkes ikke blir redusert.

Polyetylentereftalat (nedenfor referert til som "PET") blir ofte brukt som strimmelstøtte og beskyttende laminat; polypropylen (nedenfor referert til som "PP"), polyvinylklorid og lignende kan også bli brukt.

Adhesjon av den kromatografiske strimmelen til strimmelstøtten eller det beskyttende laminat, eller adhesjon av strimmelstøtten til substratet som vil bli beskrevet senere, kan bli utført ved bruk av en festende gummi, akryl eller vinyleterpolymer.

En eller flere kromatografiske strimler kan være plassert på et strimmelsubstrat med eller uten strimmelstøtte. Uttrykket "å plassere" som brukt heri, betyr at de kromatografiske strimlene enkelt blir plassert på substratet eller, i et annet tilfelle blir de festet på strimmelstøtten, når den er tilstede, eller på substratet, når strimmelstøtten ikke er tilstede. Uttrykket "å feste", som brukt heri, betyr at enten hele overflaten eller bare en del av kromatografisk strimmelen blir festet til substratet. I et annet tilfelle er festing av den kromatografiske strimmelen effektiv dersom den ikke lett skiller seg fra strimmelstøtten eller substratet under dets produksjon eller når den blir brukt. I enkelte tilfeller kan substratet være festet med en pasta slik at den lett kan bli skrellet bort fra den kromatografiske strimmelen eller strimmelstøtten.

Når strimmelstøtten ikke blir brukt, kan substratet også ha funksjonen av en strimmelstøtte.

Når et antall kromatografiske strimler er plassert på substratet, er det ønskelig fra et produksjonssynspunkt å

gjøre nedstrøms- og oppstrømsendene av hver kromatografiske strimmel uniforme slik at de er parallelle. Disse kromatografiske strimler ligger på substratet og i en viss avstand fra hverandre.

5

Substratet består av en enkel plate og er festet på strimmelstøtten når den er tilstede, eller på baksiden av den kromatografiske strimmelen.

- 10 Den kromatografiske strimmelen er forseglet ved nært å være festet til en forseglingsfilm som vil bli beskrevet senere, og til substratet ved det perifere område av hver kromatografiske strimmel som er plassert på substratet, nemlig rommet mellom de kromatografiske strimler når et antall av
- 15 strimlene ligger på substratet.

Forseglingsfilmen er et filmark som kan dekke hele delen av den kromatografiske strimmelen og ligger på den kromatografiske strimmelen med eller uten et beskyttende laminat.

20

- Dersom substratet er nært festet til forseglingsfilmen med varmemeforsegling, må den indre siden av substratet (siden hvor den kromatografiske strimmelen er tilstede) og den indre siden av forseglingsfilmen (siden hvor den kromatografiske strimmelen er tilstede) være i stand til å bli varmemeforseglet, dvs. de må inneholde materialer som er varmemeforseglbare. Eksempler på slike varmemeforseglbare materialer for forseglingsfilmen og substratet innbefatter en kombinasjon av en film som har polyetylen (nedenfor referert
- 25 til som "PE") eller PP på sin indre side og en film hvis indre side er belagt med et tilsvarende varmsmeltende klebemiddel eller en kombinasjon av en film som har PE på sin indre side og en film som har en PP-PE kopolymerfilm på sin indre side.

30

35 Dersom forseglingsfilmen er klebet på substratet med pasta, kan dette bli utført med en kombinasjon av en eventuell

forseglingsfilm og et substrat som har på sin indre side et gummi, akrylisk- eller vinyleterpolymer festemiddel.

Nær adhesjon av forseglingsfilmen og substratet bør bli foretatt på en slik måte at substratet og forseglingsfilmen lett kan bli fjernet fra hverandre når de brukes, minst ved posisjonen til den prøvetilsettende anordningen. For å danne lett avskrelling av substratet og forseglingsfilmen og for å opprettholde tilstrekkelig forseglende effekt, er en avskrellingsstyrke på 1,5 til 2,0 kg vekt per 15 mm bredde ønskelig.

Med hensyn til forseglingsfilmen og substratet, (i) har hver forseglingsfilm eller substratet begge en film inneholdende et avfuktende middel og en film inneholdende et oksygenabsorberende middel, (ii) forseglingsfilmen har enten en film inneholdende et avfuktende middel, eller en film inneholdende et oksygenabsorberende middel, og substratet har den andre film, (iii) hver av forseglingsfilmen eller substratet har enten film inneholdende et avfuktende middel eller film inneholdende et oksygenabsorberende middel, og den andre har både film inneholdende et avfuktende middel og film inneholdende et oksygenabsorberende middel, (iv) både forseglingsfilmen og substratet har hver både film inneholdende et avfuktende middel og film inneholdende et oksygenabsorberende middel, (v) forseglingsfilmen og substratet inneholder begge samme film hvor enten filmen inneholder et avfuktende middel eller filmen inneholder et oksygenabsorberende middel, eller (vi) hver av forseglingsfilmen eller substratet inneholder enten filmen et avfuktende middel eller filmen inneholder et oksygenabsorberende middel. Når forseglingsfilmen og/eller substratet har film inneholdende et avfuktende middel, er forseglingsfilmen og substratet i hovedsak vannimpermeable, i det minste ved den delen hvor forseglingsfilmen ikke er festet nært til substratet, og når forseglingsfilmen og/eller substratet har film inneholdende et oksygenabsorberende middel, er forseglingsfilmen og substratet i hovedsak oksygenimpermeable, i

det minste ved den delen hvor forseglingsfilmen ikke er festet nært til substratet.

Når forseglingsfilmen har filmen inneholdende et avfuktende middel, har forseglingsfilmen et vannimpermeabelt lag på sin utside. I tillegg når forseglingsfilmen har filmen inneholdende et oksygenabsorberende middel har forseglingsfilmen et oksygenimpermeabelt lag på sin utside. På samme måte når substratet har filmen inneholdende et avfuktende middel har substratet et vannimpermeabelt lag på sin utside, og når substratet har filmen inneholdende et oksygenabsorberende middel, har substratet et oksygenimpermeabelt lag på sin utside. I mange tilfeller blir den ytterste side av forseglingsfilmen fremstilt på en slik måte at det kan bli skrevet på denne.

Når forseglingsfilmen og/eller substratet ikke har filmen inneholdende et avfuktende middel og filmen inneholdende et oksygenabsorberende middel, kan forseglingsfilmen og/eller substratet være en enkeltlagsfilm eller en multippellagsfilm som blir dannet ved en eventuell kombinasjon av en oksygenimpermeabel film, en vannimpermeabel film, en film egnet for varmeforsegling, en ytterste PET-film og lignende.

Når substratet og forseglingsfilmen begge ikke har noe oksygenabsorberende middel, er substratet og forseglingsfilmen ikke nødvendigvis oksygenimpermeable, og substratet og forseglingsfilmen er ikke nødvendigvis vannimpermeabel når substratet til forseglingsfilmen begge ikke har noe avfuktende middel. Det vil si at det ikke er nødvendig å bruke en avfuktende middelinneholdende film eller en vannimpermeabel forseglingsfilm og substrat når den kromatografiske strimmelen ikke blir brutt ned av fuktighet, eller ved å bruke en oksygenabsorberende middelinneholdende film eller en oksygenimpermeabel forseglingsfilm og substrat når den kromatografiske strimmelen ikke blir brutt ned av oksygen.

- Den avfuktende middelinnholdende film kan bli fremstilt ved å kna et termoplastisk høymolekylvektsresin, fortrinnsvis et polyolefin og mer foretrukket ett valgt fra lavtett-
hets polyetylen, lineær lavtetthets polyetylen, etylenvi-
nyloksid kopolymerer, etylenakrylsyre kopolymerer, etylen-
metakrylsyre kopolymerer, etylenakrylester kopolymerer og
ionomerer basert på akryl- og metakrylsyre kopolymerer, med
en passende mengde kalsiumklorid, silikagel, molekylsikt-
materiale, silisumdioksid, aluminium, zeolittmagnesiumsul-
fat, gips og lignende som blir brukt som desikkerende mid-
ler. Eksempler på avfuktende middelinnholdende filmer inn-
befatter dem som er beskrevet i japansk patent publikasjon
08-026348 (26348/96), "Moisture Guard" (fremstilt av Toyo
Seikan) og "Hisent Dry Film" (fremstilt av Marutani Kako-
ki). En spesiell foretrukket avfuktende middelinnholdende
film er 110 mikrometer og består av omkring 10 mikrometer
lav tetthet PE (LDPE), omkring 90 mikrometer desikkerings-
lag, inneholdende forskjellige mengder av en høymolekyl-
vektsresin, så som LDPE, og et desikkeringsmiddel så som
zeolitt, molekylsikt og lignende, og omkring 10 mikrometer
LDPE. Egnede avfuktende middelinnholdende filmer har fort-
rinnsvis et lag med et desikkeringsmiddelinnhold på mellom
omkring 0,1 og 50 vekt %, fortrinnsvis mellom 10% og 50%.
Et totalt desikkeringsmiddelinnhold på mellom omkring 8 og
50 gram per kvadratmeter er spesielt foretrukket. Det er
foretrukket å bruke et desikkeringsmiddel med en gjennom-
snittlig partikkelstørrelse på mellom omkring 5 og 70 μm
for å fremstille laget inneholdende desikkeringsmidlet.
- Den oksygenabsorberende middelinnholdende film kan bli
fremstilt ved å kna et termoplastisk høymolekylvektsresin
med en passende mengde av aktiv jernoksid, pyrogallol og
lignende oksygenabsorberende midler. Et eksempel på en ok-
sygenabsorberende middelinnholdende film er "Oxy Guard"
(fremstilt av Toyo Seikan).

I enkelte tilfeller er forseglingsfilmen en film som har
både et avfuktende middel og et oksygenabsorberende middel.

En slik type forseglingsfilm kan her enten bli kalt en avfuktende middelinnholdende film eller en oksygenabsorberende middelinnholdende film. På samme måte kan substratet være en film som har både et avfuktende middel og et oksygenabsorberende middel. En slik type substrat kan her enten
5 bli kalt en avfuktende middelinnholdende film eller en oksygenabsorberende middelinnholdende film.

Illustratoriske eksempler på substratene som i hovedsak er vannimpermeable innbefatter PE på 300 μm eller mer, PP på 300 μm eller mer, en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller PP] på 300 μm eller mer og polyvinylidenklorid (som skal refereres til som "PVDC" nedenfor) på omkring 15 μm , og multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller PP] på omkring 70 μm , PET på omkring 125 μm og PVDC omkring 15 μm . Illustratoriske eksempler på substrater som i hovedsak er vannimpermeable og inneholder en avfuktende middelinnholdende film innbefatter "Moisture Guard" på 300 μm og en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, "Moisture Guard" på omkring 110 μm , PET på omkring 125 μm og PVDC på omkring 15 μm . Illustratoriske eksempler på substrater som er i hovedsak oksygenimpermeable innbefatter en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller PP] på omkring 150 μm eller mer, polyvinylalkoholsaponifikat på omkring 15 μm og [PE eller PP] på 150 μm eller mer. De overnevnte eksempler er alle gjennomskjennelige.
10
15
20
25

Illustratoriske eksempler på substrater som er i hovedsak vann- og oksygenimpermeable innbefatter en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller PP] på 150 μm eller mer, PVDC på omkring 30 μm og [PE eller PP] på 50 μm eller mer. Illustratoriske eksempler på substrater som er i hovedsak vann- og oksygenimpermeable og opake innbefatter en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller PP] på 200 μm eller mer, aluminiumsfolie (referert til nedenfor som "Al") på omkring 7 μm og PET på omkring 15 μm ; en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller
30
35

PP] på 70 μm , PET på omkring 125 μm , Al på omkring 7 μm og PET på 12 μm ; og en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller PP] på omkring 70 μm , polystyren på omkring 125 μm , Al på omkring 7 μm og PET på 12 μm .

5

Et foretrukket substrat består av, fra innsiden, omkring 30 μm av et lag som letter fjerning av forseglingsfilmen og består av en blanding av PE og PP, omkring 188 μm hvitt PET (for fargekontrast), omkring 7 μm Al (som en oksygen- og fuktighetsbarriere) og omkring 12 μm PET. Et spesielt foretrukket substrat består av, fra innsiden, omkring 30 μm av et lag som letter fjerning av forseglingsfilmen og består av en blanding av PE og PP, omkring 50 μm hvitt PET, omkring 7 μm Al, og omkring 188 μm PET.

15

Et substrat som er i hovedsak vann- og oksygenimpermeabelt og inneholder en avfuktende middel- og/eller oksygenabsorberende middelinnholdende film, kan bli dannet ved å erstatte innefilmen av den ovenfor nevnte multippellagsfilm som er i hovedsak vann- og oksygenimpermeabel med "Moisture Guard" på 110 til 250 μm og/eller "Oxy Guard" på 110 til 250 μm .

20

Etter behov kan pasta av gummi, akryl eller et vinyleterpolymersystem bli påført sidene, spesielt på innsiden av substratet. I dette tilfellet blir frigjøringspapir eller frigjøringsfilm laminert på den pastapåførte siden til de er brukt opp. Papir, PET, PP eller lignende kan bli brukt som frigjøringspapir eller frigjøringsfilm uten noen spesiell begrensning.

30

Som illustratoriske eksempler på forseglingsfilmen vil slike som i hovedsak er vannimpermeable innbefatte en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, [PE eller PP] på omkring 70 μm og PET på omkring 12 μm . Dem som er i hovedsak oksygenimpermeable innbefatter en flerlagsfilm bestående av, fra innsiden, PE eller PP på omkring 70 μm , polyvinylalkoholsaponifikat på omkring 15 μm , PP på omkring 12

35

µm og PET på omkring 12 µm. Dem som er i hovedsak vann- og oksygenimpermeable innbefatter en flerlagsfilm bestående av, fra innsiden, PE eller PP på omkring 70 µm, PVDC på omkring 30 µm og PET på omkring 12 µm. Alle de ovennevnte eksemplere er gjennomsiktige.

Illustratoriske eksempler på forseglingsfilmer som er i hovedsak vannimpermeable og inneholder en avfuktende middelinnholdende film innbefatter en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, "Moisture Guard" på 110 µm og PET på omkring 12 µm (gjennomsiktig) og en spesiell foretrukket multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, "Moisture Guard" på omkring 110 µm, Al på omkring 7 µm og PET på omkring 12 µm (opak). Et illustratorisk eksempel på en forseglingsfilm som er i hovedsak oksygenimpermeabel og inneholder en oksygenabsorberende middelinnholdende film er en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, "Oxy Guard" på 110 µm, Al på 7 µm og PET på 12 µm (opak). Et illustratorisk eksempel på en forseglingsfilm som er i hovedsak vann- og oksygenimpermeabel og inneholder en avfuktende middelinnholdende film og en oksygenabsorberende middelinnholdende film er en multippellagsfilm bestående av, fra innsiden, "Moisture Guard" på 110 µm, "Oxy Guard" på 110 µm, Al på omkring 7 µm og PET på 12 µm (opak).

Multippellagsfilmen kan bli fremstilt ved å feste dets enkeltfilmer sammen med et passende festemiddel eller ved å laminere deler av dets enkeltfilmer ved hjelp av koekstruksjon og så, om nødvendig, ved å kle de gjenværende enkeltmaterialer sammen med et passende festemiddel.

Kromatografiimmunoassayanordningen kan bli fremstilt ved først å fremstille de tidligere nevnte kromatografiske strimler og, om nødvendig, å bruke en strimmelstøtte og/eller et beskyttende laminat på tidligere nevnte måte, eller å fremstille kromatografiske strimler og samtidig feste en prøvetilsettende anordning og lignende sammen og

forsegle kromatografistrimmelen ved tett adhesjon av tidligere nevnte substrat til forseglingsfilmen.

Kromatografiimmunoassayanordningen ifølge foreliggende oppfinnelse blir brukt på følgende måte. Kun en enkel kromatografisk strimmel som skal bli brukt blir skåret av sammen med substratet. Forseglingsfilmen, eller i det minste en del som dekker den prøvetilsettende anordning blir skrellet av, og en prøveoppløsning blir tilsatt til den således eksponerte prøvetilsettende anordning. I tilfellet med en spesiell form av forseglingsfilmen, kan det være nødvendig å skrelle av all forseglingsfilmen som dekker den kromatografiske strimmelen. Når et antall kromatografiske strimler ligger på substratet og en kromatografisk strimmel blir brukt uten først å skjære den av, blir den generelt skåret vékk etter bruk. I enkelte tilfeller kan anordningen bli brukt ved å avskille substratet fra strimmelstøtten.

Foreliggende oppfinnelse er ytterligere beskrevet under henvisning til tegningene. Fig. 1 er en skjematisk illustrasjon som viser et eksempel av kromatografiimmunoassayanordningen ifølge foreliggende oppfinnelse. I tegningene er a et plansnitt, b er et delsnitt og c er et annet delsnitt. Fig. 2 er en skjematisk illustrasjon som viser et eksempel av den kromatografiske strimmelen. Fig. 3 er en skjematisk illustrasjon som viser et annet eksempel av den kromatografiimmunoassayanordningen ifølge foreliggende oppfinnelse. I disse tegningene angir 1 en kromatografisk strimmel, 2 angir et substrat, 3 angir en forseglingsfilm, 4 indikerer et kromatografisk bærer, 5 indikerer en prøvetilsettende anordning, 6 angir en merkeanordning, 7 angir en påvisende anordning, 8 indikerer en strimmelstøtte, 9 angir et beskyttende laminat, 10 angir en perforering og 11 (skrålinjer) angir nært festede deler av substratet og forseglingsfilmen.

Den kromatografiske strimmelen 1 ligger på substratet 2, og, sammen med en avfuktende middel- og/eller oksygenabsor-

berende middelinneholdende film, kromatografisk strimmel 1 er forseglet og isolert fra luften ved nært å feste forseglingsfilmen 3 til den kromatografiske strimmelen i det perifere området 11 av substratet 2 (Fig. 1).

5

Når et kamtype substrat blir brukt som vist i Fig. 3, blir den prøvetilsettende anordning av hver kromatografiske strimmel fullstendig isolert slik at det ikke er noen mulighet for at prøveopløsning feilaktig strømmer inn i den tilstøtende kromatografiske strimmelen når prøven blir til-

10 satt.

Den kromatografiske strimmelen 1 dannes ved å anbringe den prøvetilsettende anordning 5, merket anordning 6 og påvisende anordning 7 på kromatografibæreren 4 (Fig. 2). Etter behov blir den kromatografiske strimmelen støttet eller beskyttet av strimmelstøtten 8 og det beskyttende laminat 9.

15

Perforeringen 10 blir eventuelt anbrakt når den er nødvendig for å fremskaffe enkel fjerning av en enkel kromatografisk strimmel fra kromatografiimmunoassayanordningen når et antall kromatografiske strimler ligger på substratet. Perforeringen 10 kan brukes på en slik måte at den enkelte kromatografiske strimmelen kan fjernes eller flere kromatografiske strimler kan fjernes samtidig.

20

25

Kort beskrivelse av figurene

Fig. 1 er en skjematisk illustrasjon som viser et eksempel på kromatografiimmunoassayanordning ifølge foreliggende oppfinnelse, hvor a er et plansnitt, b er et oversiktsbilde fra siden og c er et oversiktsbilde.

30

Fig. 2 er en skjematisk illustrasjon som viser et eksempel på den kromatografiske strimmelen.

35

Fig. 3 er en skjematisk illustrasjon som viser et annet eksempel av kromatografiskeimmunoassayanordningen ifølge foreliggende oppfinnelse.

5 Beskrivelse av markeringer

1. en kromatografisk strimmel
2. et substrat
3. en forseglingsfilm
- 10 4. et kromatografisk bærermateriale
5. en prøvetilsettende anordning
6. en merkende anordning
7. en påvisende anordning
8. en strimmelstøtte
- 15 9. et beskyttende laminat
10. en perforering
11. nært festet del av substratet og forseglingsfilmen

Eksempler

20

Eksempel 1 - Effekt av forseglingsfilmen og substratkombinasjoner

Kombinasjoner av forseglingsfilmer og substrater, vist i Tabell 1, ble fremstilt. Hver flerlagsfilm ble fremstilt ved å plassere respektive enkeltlagsfilmer sammen med et festemiddel.

Tabell 1

30

Prøve Nr.	Forseglingsfilm	Substrat
1	MG/Al/PET ₁₂	PP70/PET ₁₂₅ /Al/PET ₁₂
2	MG/PVDC/PET ₁₂	PP ₃₀₀
3	MG/Al/PET ₁₂	MG/PET ₁₂₅ /Al/PET ₁₂
4	MG/OG/Al/PET ₁₂	PP70/PET ₁₂₅ /Al/PET ₁₂
5	OG/Al/PET ₁₂	MG/PET ₁₂₅ /Al/PET ₁₂
6	MG	PP ₃₀₀
7 (kontroll)	PP70/Al/PET ₁₂	PP70/PET ₁₂₅ /Al/PET ₁₂

MG: 110 μm "Moisture Guard" (fremstilt av Toyo Seikan)

OG: 110 μm "Oxy Guard" (fremstilt av Toyo Seikan)

Al: 7 μm Al

5 PET₁₂: 12 μm PET

PET₁₂₅: 125 μm PET

PP₇₀: 70 μm PP

PP₃₀₀: 300 μm PP

PVDC: 12 μm PVDC

10

A. Avfuktende effekttest 1

Forseglingsfilmer av prøver 1, 2, 3, 4 og 7, substrater av
 prøver 3 og 5 og kommersielt tilgjengelig innpakket granu-
 15 l r silikagel i respektive mengder som vist i Tabell 2, ble
 lagret i 3 dager ved romtemperatur (23°C, fuktighet 40%)
 eller i en ovn ved en konstant temperatur på 40°C. Deretter
 ble vekten av hver prøve målt, og økt mengde fra den opp-
 rinnelige vekt ble brukt som mengden av vannabsorpsjon. Re-
 20 sultatene er vist i Tabell 2.

Det er tydelig fra disse resultater at filmene som har et
 avfuktende middel hadde høy avfuktende kapasitet.

Tabell 2

25

Prøve	Kvantitet av prøve	Absorbert vann (mg)	
		23°C	40°C
Forseglingsfilm av prøve 1	300 cm ²	84,2	79,7
Forseglingsfilm av prøve 2	300 cm ²	84,0	79,5
Forseglingsfilm av prøve 3	300 cm ²	83,5	78,9
Forseglingsfilm av prøve 4	300 cm ²	83,7	78,6
Substrat av prøve 3	300 cm ²	84,9	80,3
Substrat av prøve 5	300 cm ²	84,1	79,9
Pakket granulær silikagel (kontroll)	5 g	892	288
Forseglingsfilm av prøve 7 (kontroll)	30 cm ²	0,1	-0,1

Det ovennevnte studium ble gjentatt ved å sammenligne den absorptive kapasitet av silkagel (5 g pakning) med forseglingsfilmen fra prøve 1 eller 3 inneholdende enten 0,75 g (forseglingsfilm A) eller 1,50 g desikkeringsmiddel/300 cm² (forseglingsfilm B). Lagringsbetingelser var i 6 dager ved 24°C med 50% relativ fuktighet, 40°C med 20% relativ fuktighet, eller 2-8°C med 90% relativ fuktighet. Prøver ble også lagret i 19 dager ved 2-8°C med 90% relativ fuktighet. Resultater (Tabell 3) ble regnet ut som ovenfor (mg vann absorbert) og også som g vann absorbert per gram desikkeringsmiddel %. Som kan bli observert fra disse resultater har filmene en høy fuktighetsabsorberende, avfuktende kapasitet. I tillegg er film B som også inneholder to ganger så mye desikkeringsmiddel som film A, i stand til å absorbere omtrent to ganger så mye vann som i film A.

Tabell 3

Prøve	Lagringsbetingelse (Temp/Rel fuktighet)	Lagringstid (Dager)	Absorbert Vann	
			(mg)	(g/g%)
Forseglingsfilm A	40°C/20%	6	129	17,26
"	24°C/50%	6	141	18,78
"	2-8°C/90%	6	76	10,17
"	2-8°C/90%	19	144	19,13
Forseglingsfilm B	40°C/20%	6	268	17,84
"	24°C/50%	6	292	19,45
"	2-8°C/90%	6	121	8,06
"	2-8°C/90%	19	277	18,47
Silikagel	40°C/20%	6	495	9,9
"	24°C/50%	6	1.472	29,44
"	2-8°C/90%	6	1.857	37,15
"	2-8°C/90%	19	1.937	38,74

20 B. Avfuktningseffektforsøk 2

Poser ble fremstilt (indre overflatearealet, 600 cm²) ved å bruke forseglingsfilmene fra prøver 1, 2, 3, 4 og 6 og substrater fra prøver 3 og 5 (se Tabell 1), og tre sider av

posene ble varmemforseglet. En del av fuktighetsindikatorpapi-
ret fremstilt av Humidial Company, U.S.A., ble plassert
i hver pose og så ble den gjenværende side varmemforseglet.
En lignende pose (indre overflatearealet, 600 cm²) ble
5 fremstilt ved å bruke forseglingsfilmen fra prøve 7. Fuk-
tighetsindikatorpapi- ret beskrevet ovenfor og 2 g pakket
gruanulær silikagel ble plassert i posen og den gjenværende
side ble varmemforseglet. Som en kontroll ble en lignende
pose (indre overflatearealet, 600 cm²) fremstilt ved å bru-
10 ke forseglingsfilmen fra prøve 7, hvor fuktighetsindikator-
papi- ret beskrevet ovenfor ble plassert i posen og så ble
den gjenværende side lukket ved varmemforsegling. De således
fremstilte poser ble tillatt å stå i 3 dager ved romtempe-
ratur og så åpnet, hvor fuktighetsindikatorpapi- ret ble av-
15 lest umiddelbart ved åpning av posen.

Fuktighetsindikasjonen var 45% i kontrollposen og 15% eller
mindre i alle de andre poser. Den minst målbare fuktigheten
med dette fuktighetsindikatorpapi- ret er 15%.

20

C. Oksygenabsorpsjonseffektforsøk

Poser ble fremstilt (indre overflatearealet, 600 cm²) ved å
bruke forseglingsfilmene fra prøver 4 og 5 (se Tabell 1),
25 og de fire sider av hver pose ble varmemforseglet. En del
naturlig gummi med en størrelse på 1 x 1 cm, ble plassert
på overflaten av posen med et klebemiddel. Ved å bruke en
sprøyte ble luft fullstendig sugd ut av posen gjennom den
naturlige gummidelen og så ble nøyaktig 20 ml luft inji-
30 sert. Etter 3 dagers oppbevaring ved romtemperatur ble en
del av luften i posen tatt ut gjennom den naturlige gummi-
del for å måle dens oksygenkonsentrasjon ved å bruke gass-
kromatografi med en kolonne pakket med en molekylsikt.

35 Oksygen ble ikke påvist i noen av de undersøkte poser. Ok-
sygenkonsentrasjonspåvisningsgrensen i dette forsøk er
0,01%. Det er klart fra resultatene at multippellagsfilmen

med et oksygenabsorberende middel har en oksygenabsorberende kapasitet.

På basis av de ovennevnte resultater kan det ventes at kromatografiimmunoassayanordningen fremstilt ved metoden beskrevet i Eksempel 2 nedenfor ved å bruke prøver 1, 2, 3, 4, 5 eller 6 forseglingsfilmer og substrater vil ha en høy avfuktende kapasitet. Det kan ventes at kromatografiimmunoassayanordningen fremstilt ved å bruke prøver 4 eller 5 forseglingsfilmene og substratene også vil ha en høy oksygenabsorberende kapasitet.

Eksempel 2 - Kromatografiimmunoassayanordningsstabilitet

15 A. Fremstilling av anordningen

En merket substans omfattende et antihumant hemoglobin antistoff merket med selenkolloid ble fremstilt på følgende måte. Først ble selenkolloid fremstilt ved å røre om 91 mM natrium L-askorbat og 32 mM selenoksid ved omkring 4°C i 15 minutter og så ved omkring 42°C i omkring 70 timer. Det således fremstilte selenkolloid ble fortynnet med 10 mM bis-tris buffer, pH 7,0 til en absorbans på 15 ved 550 nm. Den resulterende fortynning ble blandet med musemonoklonalt antihumant hemoglobin antistoff (0,02%) og omrørt ved romtemperatur i 1 time. Det således dannede selenkolloidmerkede anti-humane hemoglobine antistoff ble vasket med 10 mM Tris-HCl buffer, pH 7,2 og brukt som en merket substans.

30 En merket innretning ble fremstilt på følgende måte: den merkede substans ble tilsatt til 10 mM Tris-HCl buffer, pH 7,2 inneholdende 1% kasein, og absorbansen ved 550 nm ble justert til 1,0 for å fremskaffe en merket substanssuspensjon. En glassfibermembran (Lypore 9524, fremstilt av LYDALL, U.S.A.) ble trukket i den således fremstilte suspensjon og impregnert tilstrekkelig med denne og så ble glassfibermembranen tørket for å bli brukt som en merket anordning.

En påvisende anordning ble fremstilt på følgende måte: et musemonoklonalt anti-humant hemoglobin antistoff, hvis bindingssete til humant hemoglobin er forskjellig fra det tidligere nevnte anti-humane hemoglobine antistoffet ble tilsatt til 30 mM Tris-HCl buffer, pH 7,4 inneholdende 150 mM natriumklorid ved en sluttkonsentrasjon på 2 mg/ml. Atskilt fra dette, som en kromatografibærer, ble en rektangulær 0,4 x 4,5 cm del av en nitrocellulosemembran (fremstilt av Schleicher & Schuell, U.S.A.) med en porestørrelse på 5 μ m plassert på en strimmelstøtte (PE PET100 PE LR007A, fremstilt av Lintech) med en rektangulær størrelse på 0,4 x 6,0 cm og en tykkelse på 100 μ m, på en slik måte at nedstrømsendene av begge deler tilsvarte hverandre når de lengste sider ble anbrakt langsgående. En oppløsning blandet med antistoffet (anti-humant hemoglobin antistoff) ble tilsatt dråpevis til nitrocellulosemembranen plassert på strimmelstøtten, noe som danner en linje ved en posisjon omkring 1 cm fra oppstrømsenden av membranen. Dette ble tillat å tørke tilstrekkelig for å feste det anti-humane hemoglobine antistoffet til nitrocellulosen.

En kromatografistrimmel ble fremstilt på følgende måte. Den tidligere nevnte merkende anordning ble skåret til en firkantet del på 0,4 x 0,4 cm og plassert på strimmelstøtten oppstrøms for den påvisende anordningen inneholdende den anti-humane hemoglobinfikserte nitrocellulosemembranen, på en slik måte at den så vidt berørte nitrocellulosemembranen. Som en prøvetilsettende anordning ble ikkevevd stoff (Sontara 8801, fremstilt av Du Pont) skåret til en størrelse på 0,4 x 1,3 cm plassert på strimmelstøtten oppstrøms for den merkende anordning på en slik måte at den så vidt berørte den merkende anordning. På dette ble det ytterligere plassert en beskyttende film (PET25 PE LR007A, fremstilt av Lintech) med en rektangulær størrelse på 0,4 x 5,1 cm, på en slik måte at dens øvre ende tilsvarte den hos nitrocellulosemembranen når deres lengste sider var anbrakt langsgående, for derved å danne kromatografistrimmelen.

Kromatografistrimmelen ble plassert på substratet på følgende måte: baksiden av strimmelstøtten av hver av totalt 10 kromatografistrimler ble plassert på substratet av prøve 1 eller 7 (se Tabell 1), ved 1,8 cm intervaller, i parallell, ved å anbringe deres øvre ender uniformt.

Forseglingsfilmen ble nært plassert på substratet med varmemeforsegling på følgende måte: substratet på hvilket kromatografistrimlene har blitt plassert, ble oppdelt i to like deler, og en av delene ble varmemeforseglet med filmen fra prøve 1 på en slik måte at et 0,25 cm perifert område omkring hver kromatografisk strimmel ikke var varmemeforseglet. Varmeforseglingen ble utført ved en forseglingsstemperatur på 120°C, i en forseglingsperiode på 1,5 sekunder og under et forseglingstrykk på 3,0 kg/cm². Dette ble ytterligere oppdelt i to deler og en av disse ble stanset som vist i Fig. 1 ved å bruke en skjæredyse. Dette ble brukt som anordning A. Ved å bruke en annen skjæreanordning ble den gjenværende del laget til anordning B med en kromatografisk strimmel.

Som en kontroll ble den gjenværende del av substratet på hvilket 5 kromatografiske strimler har blitt plassert, sammen med 5 g kommersielt tilgjengelig pakket granulær silikagel plassert i en pose (25 x 15 cm i størrelse) fremskaffet ved å varmemeforsegle tre sider av prøve 7 forseglingsfilm, og den resulterende pose ble varmemeforseglet. Dette ble brukt som anordning C.

Som en annen kontroll ble substratet fra prøve 6 på hvilket den kromatografiske strimmelen har blitt plassert varmemeforseglet med forseglingsfilmen fra prøve 7 på samme måte som beskrevet ovenfor, for å bli brukt som anordning D.

35 B. Lagring under vanskelige betingelser

De således fremstilte anordninger A, B, C og D ble tillatt å stå i en dag ved 25°C under en relativ fuktighet på 60%

og så i 28 dager ved 40°C under en relativ fuktighet på 70%. Etter lagring av anordninger A, B, C og D under slike vanskelige betingelser, ble de tillatt å stå i 2 timer ved 25°C og så ble anordninger A, B og D som sådan, og anordningen C etter åpning, tillatt å stå i 24, 48 og 96 timer ved 25°C under en relativ fuktighet på 60%, med anordninger eksponert til omliggende luft.

En prøveoppløsning ble fremstilt ved å løse opp 0, 5, 10, 25, 50, 100, 200 eller 500 ng/ml humant hemoglobin (fremstilt av Sigma, U.S.A.), 0,1% bovinserumalbumin (fremstilt av Seikagaku Kogyo), 0,9% natriumklorid og 0,1% natriumazid i 0,1 M Tris-HCl buffer, pH 7,6. En 25 µl del av den således fremstilte prøveoppløsning ble tilsatt til den kromatografistrimmelprøvetilsettende anordning av hver av anordninger A, B, C og D tidligere, like etter eller etter 24, 48 eller 96 timer av deres lagring under vanskelige betingelser. Resultatene ble justert ved å avlese den selenkolloidstammende "rødhet", som ville oppstå dersom en prøve ble påvist som positiv på den påvisende anordning av strimmelen, med det blotte øye 7 minutter etter tilsetning av prøveoppløsningen. Sensitivitet var basert på den minste hemoglobinkonsentrasjonen hvorved "rødheten" ble observert med det blotte øye. Resultatene er vist i Tabell 4.

25

Tabell 4

Før/etter lagring under vanskelige betingelser					
Anordning	før	like etter	24 t etter	48 t etter	96 t etter
A	25 ng/ml	25 ng/ml	25 ng/ml	25 ng/ml	25 ng/ml
B	25 ng/ml	25 ng/ml	25 ng/ml	25 ng/ml	25 ng/ml
C	25 ng/ml	25 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml	100 ng/ml
D	25 ng/ml	200 ng/ml	200 ng/ml	500 ng/ml	500 ng/ml

Slik det går fram fra Tabell 4, viste kromatografistrimmelen fra anordninger A, B og C like etter sin lagring under de vanskelige betingelser den samme følsomhet som de kromatografiske strimlene før lagring under de vanskelige be-

30

tingelser, og deres stabilitet under de vanskelige lag-
ringsbetingelser var utmerket. Ettersom lagringsperioden
under de vanskelige betingelser utviklet seg fram til 24
timer, 48 timer og så til 96 timer, endret ikke følsomheten
5 for anordninger A og B seg, men følsomheten for anordning C
sank gradvis. Dette viser at denne uforseglede anordning C
hadde dårlig stabilitet. Anordning D som ikke hadde noe av-
fuktende middel eller desikkeringsmiddel, viste betraktelig
reduksjon i sin følsomhet under vanskelige betingelser.

10 Slik det kan forstås fra dette forsøk, kan ikke konvensjo-
nelle produkter bli preservert ved romtemperatur etter at
enkelte av kromatografistriplene er brukt, og krever såle-
des lagring i et kaldt rom. En anordning som blir fremstilt
15 på konvensjonell måte kan ikke bli brukt raskt, for eksem-
pel dersom nødttesting er nødvendig, etter lagring i et
kaldt rom, siden det først er nødvendig å varme anordningen
til romtemperatur for å utføre assayet. Imidlertid kan an-
ordning A behandle nødsituasjonen på grunn av sin evne til
20 å bli lagret ved romtemperatur. I tillegg kan den bli brukt
som sikkerhet, fordi stabiliteten av dens kromatografi-
strimler er sikret inntil dens forseglingsfilm blir skrel-
let av. Siden forseglingsfilmen lett kan bli skrellet av,
krever bruk av anordning A knapt noe arbeid.

25 Med hensyn til produksjonsomkostningene, krever produktene
ifølge tidligere teknikk pakking og forsegling av den frem-
stilte anordning sammen med et avfuktende middel og lignen-
de i en pose, hvilket i hovedsak er impermeabel for vann og
30 lignende, mens anordning A ikke krever noen slik håndtering
slik at dens fremstillingskostnader kan reduseres mye, noe
som oppveier for en lett økning i kostnadene av dens sub-
strat og forseglingsfilm. Arbeidskraften og assosierte
kostnader som er nødvendige for å fremstille anordning A
35 bør også være lavere enn samtidige produkter.

C En månedsstabilitet

Kromatografistrimler for påvisningen av human hemoglobin ble fremstilt som i Eksempel 2.A. ovenfor, og 13 strimler
5 ble innpakket enten i en aluminiumspute uten noen desikkeringsmidler (A), pakking med 67,8 cm² av en forseglingsfilm bestående av 110 µm MG (laget av 10 µm PE/PS (PS er definer-
nert heri som polystyren), 90 µm desikkeringslag innehold-
ende 11,9 g/m² og 10 µm PE/PS)/15 µm Al/12 mikromolar PET-
10 (B), pakking med 678,6 cm² av samme forseglingsfilm (C) eller i en aluminiumspute ved konvensjonelle desikkeringsmidler bestående av 1,3 g silikagel (D). Alle strimler ble eksponert over natten til 65% relativ fuktighet ved 25°C før innpakning og varmeforsegling. Silikagelen og forseglingsfilmen som ble benyttet, ble eksponert til 65% relativ fuktighet ved 25°C i 6 timer før de ble brukt.

Etter at strimlene var varmeforseglet under innpakkingsbetingelsene beskrevet ovenfor, ble de lagret i en 25°C inkubator og undersøkt 16 og 29 dager senere (25°C lagring), eller de ble lagret i en dag i en 25°C inkubator, og derpå flyttet til en 37°C inkubator og undersøkt 15 og 28 dager etter å ha blitt overført til 37°C (37°C lagring).

25 Testing ble foretatt som i B. ovenfor ved å bruke prøver inneholdende 0 (negativ kontroll), 10, 25, 50, 100 eller 500 ng/ml human hemoglobin. Resultater ble avlest 7 minutter etter prøvene var tilsatt og er angitt i Tabell 5 som minimum hemoglobinkonsentrasjon hvor signalet kunne bli observert med det blotte øye.
30

TABELL 5

Paknings- betingelse	Forsøksfølsomhet (ng/ml) med:			
	25C-lagring		37C-lagring	
	16 dager	29 dager	16 dager	29 dager
A(ingen desikke- ringsmiddel)	25	50	100	500
B(1 x forseglings- film)	25	25	25	25
C(10 x forseglings- film)	25	25	25	25
D(Silikagel)	25	25	25	25

5 Strimler innpakket uten noen desikkeringsmidler viste dår-
lig følsomhet og således dårlig stabilitet etter lagring i
en måned ved enten 25°C eller 37°C. Ingen minskning i for-
søksfølsomhet ble observert under noen av lagringsbeting-
elsene når strimler ble pakket med desikkeringsmidler.
10 Strimler som var pakket med forseglingsfilm inneholdende
desikkeringsmidler opprettholdt lignende effekt som strim-
ler pakket med silikagel, hvor 1 x forseglingsfilmen ga
like gode resultater som når 10 ganger mer forseglingsfilm
ble brukt. Således er forseglingsfilmen inneholdende desik-
keringsmidler i stand til å opprettholde forsøksfølsomhet
15 og vise god stabilitet under lagringsbetingelser opp til en
måned.

Eksempel 3 - HIV-kromatografiimmunoassayanordning langtids- stabilitet

20 Kromatografistrimler ble fremstilt på en måte lik Eksempel
2.A. ovenfor, bortsett fra med passende modifikasjoner for
å tillate påvisning av HIV-antistoff. For eksempel var mar-
keringsanordninger som ble brukt et kommersielt tilgjengelig
25 polyklonalt eller monoklonalt antistoff mot den tunge
og/eller lette kjede av human IgG, og påvisningsanordninger
som ble benyttet var HIV-antigen. 22 strimler ble innpakket
enten i en aluminiumspute med 5 g silikagel som desikke-

ringsmiddel (A), i en aluminiumspute med 2,2 g silikagel som desikkeringsmiddel (B), i en aluminiumspute uten noe desikkeringsmiddel (C), ved påføring til et substrat bestående av 12 μm PET, 7 μm Al, 188 μm PET, 12 μm hvitt PET og et avskrellbart lag laget av blandet PE, og dekket med forseglingsfilmen fra prøve 1 eller 3 (Tabell 1) inneholdende enten 25 g/m^2 (D) eller 50 g/m^2 (E) desikkeringsmiddel. Strimlene, silikagel og forseglingsfilm som ble benyttet ble eksponert til 65% relativ fuktighet ved 27°C i 6 timer før bruk. Strimlene, innpakket under de 5 angitte betingelser ble så varmeforseglet.

Etter at strimlene var varmeforseglet under innpakkingsbetingelsene beskrevet ovenfor, ble de lagret i en 25°C inkubator i en dag og deretter overført enten til en 30°C inkubator, en 45°C inkubator eller til en 45°C kontrollert boks med 65% relativ fuktighet. Strimler ble fjernet og undersøkt etter 0,5, 1, 3 og 6 måneder lagring.

Testing ble foretatt som i Eksempel 2.B. ovenfor, i duplikat, ved å bruke normalt humant serum/plasma som en negativ kontroll og humant serum/plasma fra HIV-1- og HIV-2-infiserte individer som positive prøver inneholdende henholdsvis HIV-1- eller HIV-2-antistoff. To gangers serielle fortyndninger ble foretatt av HIV-1- og HIV-2-prøvene, og fem togangerfortyndninger, i området fra 2^{11} til 2^{15} for HIV-1, og 2^{10} til 2^{14} for HIV-2 ble undersøkt. Resultater ble avlest 15 minutter etter at prøvene ble tilsatt og er angitt i Tabeller 6, 7 og 8 som den høyeste HIV-prøvefortyning ved hvilken signalene kunne bli observert for det blotte øye. Alle negative kontrollprøver ga negative resultater med alle strimler ved alle pakkings- og lagringsbetingelser.

TABELL 6

Forsøksfølsomhet (2 ^x -fortynning) etter 30°C lagring										
tid (mos)	HIV-1					HIV-2				
	0	0,5	1	3	6	0	0,5	1	3	6
<u>Pkg</u>										
A	13	13	13	13	13/14	12	12	12	12	12
B	13	13	13/14	ND	ND	12	12	12	ND	ND
C	13	13	12	ND	ND	12	12	11	ND	ND
D	13	13/14	13	13	13/14	12	12	12	12	12
E	13	13	13	13	14	12	12	12	12	12

(ND = ikke bestemt)

5

TABELL 7

Forsøksfølsomhet (2 ^x -fortynning) etter 45°C lagring										
tid (mos)	HIV-1					HIV-2				
	0	0,5	1	3	6	0	0,5	1	3	6
<u>Pkg</u>										
A	13	13	13	13	13	12	12	12	12	12
B	13	13	13	ND	ND	12	12	11	ND	ND
C	13	13	<11	ND	ND	12	<10	<10	ND	ND
D	13	<11	13	13	13	12	12	12	12	12
E	13	13	13	13	13	12	12	12	12	12

(ND = ikke bestemt)

TABELL 8

Forsøksfølsomhet (2 ^x -fortynning) etter 45°C/65% Rel.Fuktighetslagring										
tid (mos)	HIV-1					HIV-2				
	0	0,5	1	3	6	0	0,5	1	3	6
<u>Pkg</u>										
A	13	13	13	13	13	12	12	12	12	12
B	13	13	13	ND	ND	12	12	12	ND	ND
C	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
D	13	13	13	13	13	12	12	12	12	12
E	13	13	13	13	13	12	12	12	12	12

(ND = ikke bestemt)

5

Kromatografistrimler pakket uten noe desikkeringsmiddel (C) viste den dårligste effekten, med tap av følsomhet over tid i lagring under alle de undersøkte betingelser. Strimler pakket med det høyeste nivå av silikagel desikkeringsmiddel (5 g) eller med forseglingsfilm inneholdende desikkeringsmiddel, opprettholdt effekt over 6 måneders lagring under alle de undersøkte forhold. Begge nivå av desikkeringsmiddel benyttet i forseglingsfilmen var like effektive. Således er forseglingsfilmen inneholdende desikkeringsmiddel i stand til å opprettholde testfølsomhet av kromatografiasayanordningen lagret innen i denne, og viser god effekt og stabilitet under langtidslagringsbetingelser.

10

15

P A T E N T K R A V

1. Immunokromatografisk assayanordning hvor:

- (1) en eller flere kromatografiske strimler med minst et prøvetilsetningssete og et påvisende sete er atskilt fra hverandre og plassert på et substrat omfattende en flat plate med eller uten en strimmelstøtte lagt mellom disse;
- (2) en forseglingsfilm er plassert på nevnte kromatografiske strimler med eller uten et beskyttende laminat som ligger mellom disse for å dekke alle de kromatografiske strimler;
- (3) deler av nevnte substrat og forseglingsfilm er festet omkring hver av de kromatografiske strimler for å forsegle hver kromatografiske strimmel;
- (4) nevnte adhesjon mellom forseglingsfilmen og substratet er slik at forseglingsfilmen lett kan bli skrellet av fra substratet i det minste ved prøvetilsetningssetet;
- (5) (i) enten forseglingsfilmen eller substratet omfatter hver eller begge en fuktighetsfjernings-/fuktighetsbindingsmiddelinnholdende film og et oksygenabsorpsjonsmiddel,
- (ii) den forseglende filmen omfatter enten en fuktighetsfjernings-/fuktighetsbindingsmiddelinnholdende film og en oksygenabsorpsjonsmiddelinnholdende film mens substratet omfatter den andre film,
- (iii) hver av den forseglende film og substratet omfatter enten en fuktighetsfjernings-/fuktighetsabsorpsjonsmiddelinnholdende film og en oksygenabsorpsjonsmiddelinnholdende film, eller

(iv) både den forseglende film og substratet omfatter hver eller begge en fuktighetsfjernings-/fuktighetsabsorpsjonsmiddelinnholdende film og en oksygenabsorpsjonsmiddelinnholdende film; og

5 (6) når den forseglende film og/eller substratet omfatter en fuktighetsfjernings/fuktighetsbindingsmiddelinnholdende film, er den forseglende film og substratet i hovedsak impermeable for vann i det minste ved deler andre enn nevnte festede deler; når forseglingsfilmen og/eller substratet
10 omfatter en oksygenabsorpsjonsmiddelinnholdende film, idet forseglingsfilmen og substratet i hovedsak er impermeable for oksygen ved minst deler andre enn nevnte festede deler.

2. Immunokromatografisk assayanordning ifølge krav 1, hvor den kromatografiske strimmelen i tillegg har et merket
15 sete.

3. Immunokromatografisk assayanordning ifølge krav 1 eller 2, hvor den forseglende film er en multippellagsfilm omfattende en metallfilm.

4. Immunokromatografisk assayanordning ifølge ethvert av
20 kravene 1 til 3, hvor substratet er en multippellagsfilm omfattende en metallfilm.

5. Immunokromatografisk assayanordning ifølge krav 3 eller 4, hvor metallfilmen er en aluminiumsfolie.

6. Immunokromatografisk assayanordning ifølge ethvert av
25 kravene 1 til 5, hvor 5 til 12 kromatografiske strimler er plassert på substratet.

7. Immunokromatografisk assayanordning ifølge ethvert av kravene 1 til 6, hvor forseglingsfilmen og substratet er festet med varmeforsegling.

8. Immunokromatografisk assayanordning som er motstandsdyktig overfor miljømessig nedbrytning ved virkningen av vann eller oksygen, omfattende et arkmateriale som er i stand til å opprettholde en kapillærstrøm hvorpå det er immobilisert et biologisk reaksjonsmiddel som er i stand til å reagere med en spesifikk reaksjonspartner under standard betingelser pakket mellom to flate materialer som er forseglet sammen på en måte som tillater dem lett og minst delvis å bli atskilt for å eksponere minst en del av kapillærstrømningsarket hvor minst et av de nevnte flate materialer bærer en fuktighetsfjernings-/fuktighetsabsorberingsmiddelinnholdende film eller en oksygen absorpsjonsmiddelinnholdende film eller begge deler på den overflaten som vender mot kapillærstrømningsarket.

9. Assayanordning ifølge krav 8, hvor minst en av de flate materialer bærer minst en fuktighetsfjernings/fuktighetsabsorberingsmiddelinnholdende film og begge flate materialer er i hovedsak impermeable for vann i det minste ved de deler som er forskjellige fra dem hvor de er festet til hverandre.

10. Assayanordning ifølge krav 9, hvor et merket biologisk reaksjonsmiddel som er i stand til å reagere med en spesifikk reaksjonspartner under normale betingelser, er avsatt på kapillærstrømningsarket på en måte som tillater den å bli båret sammen med en væskeprøve som blir beveget langs nevnte strømningsark ved kapillærvirkning.

11. Assayanordning ifølge krav 10, hvor markøren er en farget substans som blir synlig dersom en tilstrekkelig mengde er akkumulert med det immobiliserte biologiske reaksjonsmiddel som et resultat av det å utføre et assay.

Fig. 1

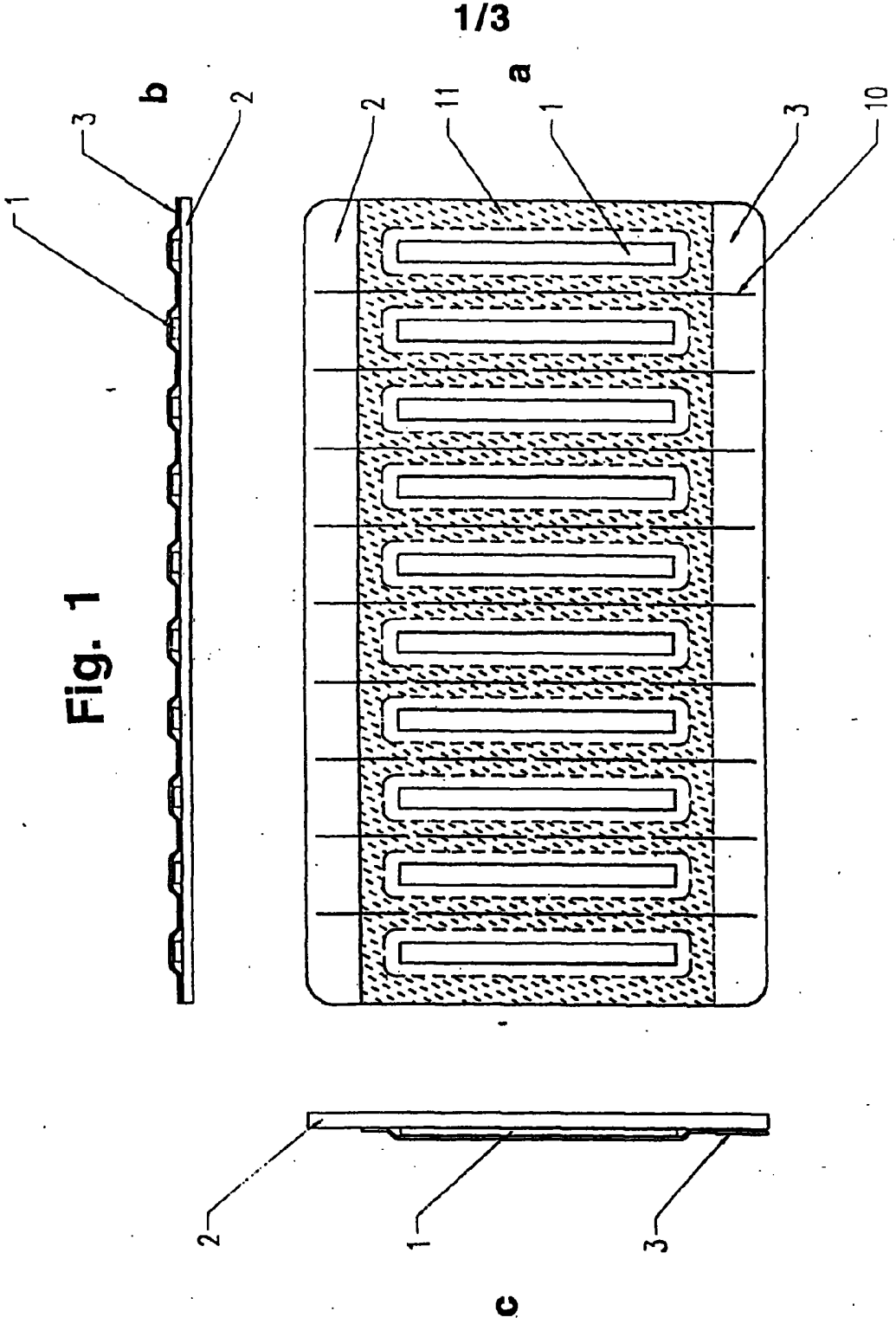
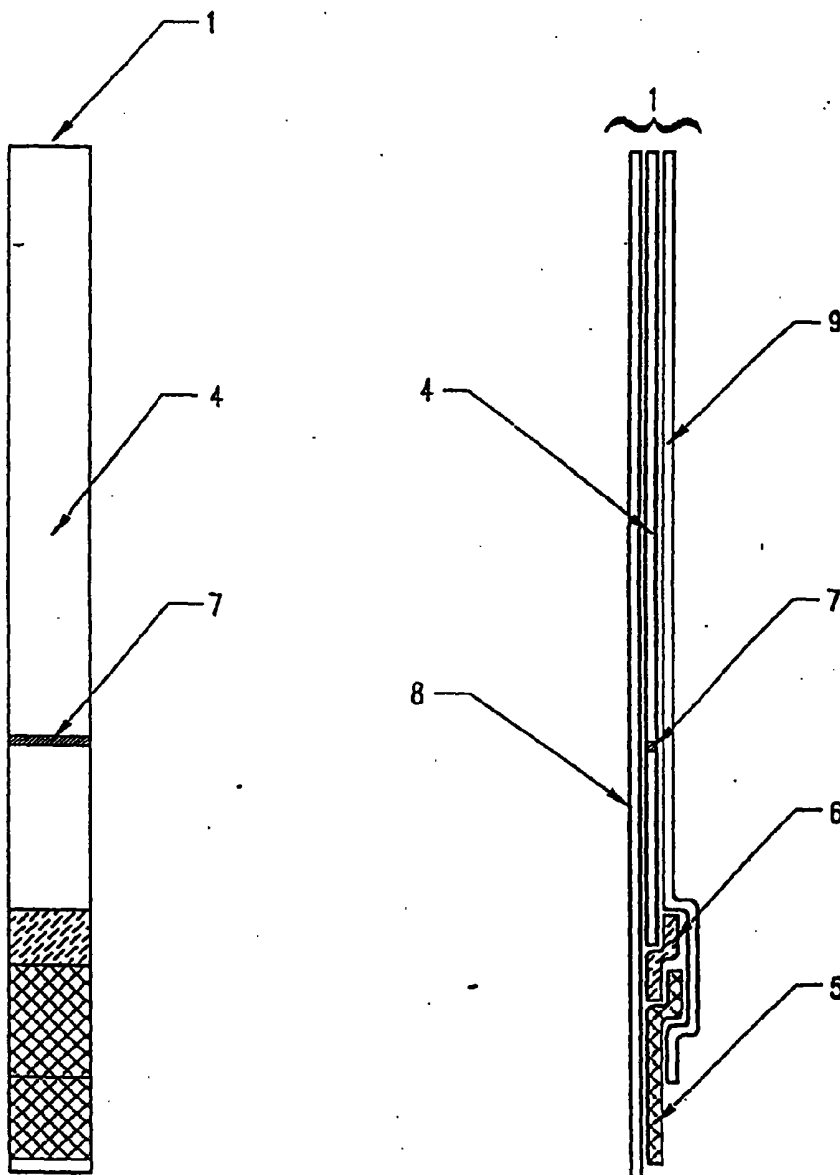


Fig. 2



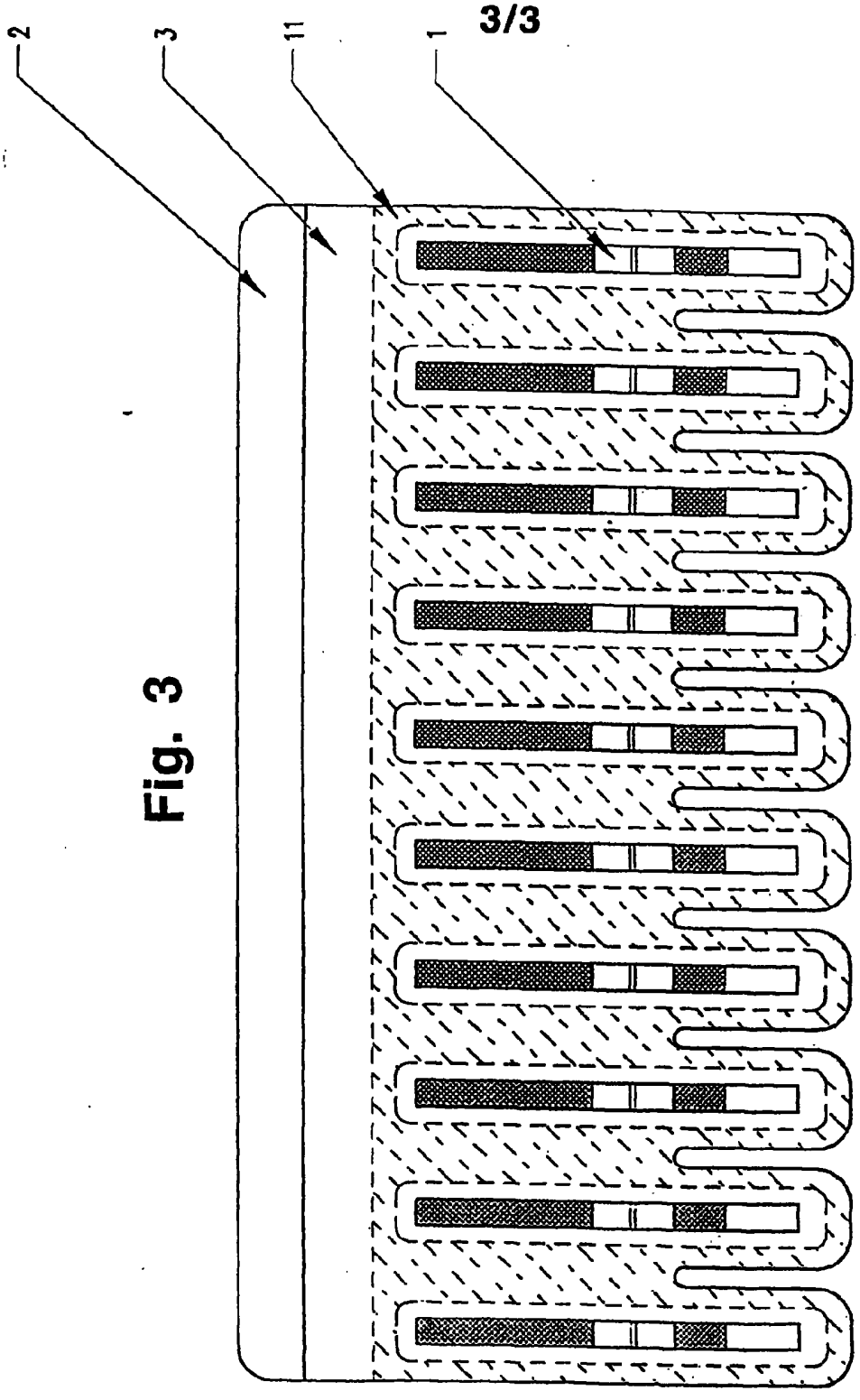


Fig. 3