

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6187828号  
(P6187828)

(45) 発行日 平成29年8月30日 (2017. 8. 30)

(24) 登録日 平成29年8月10日 (2017. 8. 10)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/553 (2006. 01)

GO 1 N 33/553

GO 1 N 1/00 (2006. 01)

GO 1 N 1/00

Z

請求項の数 5 (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2014-559146 (P2014-559146)  
 (86) (22) 出願日 平成25年2月15日 (2013. 2. 15)  
 (65) 公表番号 特表2015-512038 (P2015-512038A)  
 (43) 公表日 平成27年4月23日 (2015. 4. 23)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2013/053072  
 (87) 国際公開番号 W02013/131733  
 (87) 国際公開日 平成25年9月12日 (2013. 9. 12)  
 審査請求日 平成27年12月11日 (2015. 12. 11)  
 (31) 優先権主張番号 12001451. 9  
 (32) 優先日 平成24年3月3日 (2012. 3. 3)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 514180890  
 エアバス デーエス ゲーエムペーハー  
 ドイツ国 8 2 0 2 4 タウフキッケン,  
 ロバート - コウチ - ストリート 1  
 (74) 代理人 100091683  
 弁理士 ▲吉▼川 俊雄  
 (74) 代理人 100179316  
 弁理士 市川 寛奈  
 (72) 発明者 ケルン, ペーター  
 ドイツ国 8 8 6 2 6 サレム, アークス  
 ター. 3 / 2  
 (72) 発明者 バックス, ハルベルト  
 ドイツ国 6 6 1 3 0 サアルブリュッケ  
 ン, アイム コーニスフェルド 6 6 ビー

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 無重力状態で免疫学的測定を実施する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

沈降または熱対流が生じない、無重力または低重力状態にある試料容量 ( 1 ) 中で磁性担体 ( 2 ) を用いて免疫学的測定を実施する方法であって、

前記方法は、混合ステップ、液体交換又は洗浄ステップ、および検出ステップを含み、  
 前記混合ステップでは、外部磁場によって試料容量 ( 1 ) 中の磁性担体 ( 2 ) が移動し、  
 反応相手の積極的かつ制御された対流混合がもたらされ、

前記磁性担体 ( 2 ) は、前記試料容量 ( 1 ) の空間軸 ( x 、 y 、 z ) の少なくとも 1 つの方向に対して同位相に移動可能に配置された複数の永久磁石 ( 3 a , 3 b ) を用いて移動させられ、

前記液体交換又は洗浄ステップでは、前記磁性担体 ( 2 ) は、目的に合わせて活性化可能な指向性磁場によって特定領域に収集または固定させられ、

前記検出ステップでは、前記磁性担体 ( 2 ) は、目的に合わせて活性化可能な指向性磁場によってある平面に位置が調整され、

位置が調整された前記磁気担体 ( 2 ) は、前記検出ステップが終了するまで前記位置にとどまることを特徴とする、方法。

【請求項 2】

前記永久磁石 ( 3 a 、 3 b ) が、前記試料容量 ( 1 ) に対して互いに正反対に配置されることを特徴とする、  
 請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記試料容量 ( 1 ) 内の面 ( 5 ) 上で磁性担体を位置決めするために、永久磁石 ( 3 a 、 3 b ) が、面 ( 5 ) に対し垂直な空間軸 ( x 、 y 、 z ) 上に配置され、前記永久磁石 ( 3 a 、 3 b ) は、前記面 ( 5 ) に対し、位置決めすべき磁性担体 ( 2 ) と正反対に対向しており、第 1 の段階において前記試料容量 ( 1 ) の方向 ( B M 1 ) に移動し、第 2 の段階において前記試料容量 ( 1 ) から移動 ( B M 2 ) することを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

各ステップにおいて使用しないときには、前記永久磁石 ( 3 a 、 3 b ) を遮蔽された停止位置 ( P ) に移動させることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のうちいずれか一項に記載の方法。

10

## 【請求項 5】

前記検出ステップにおいて、位置が調整されるある平面とは顕微鏡の焦点面であることを特徴とする、請求項 1 ~ 4 のうちいずれか一項に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、請求項 1 の特徴に従った免疫学的測定を実施するために、試料容量中の磁性担体の動きを制御する方法に関する。

## 【背景技術】

20

## 【0002】

生化学分析において、免疫学的測定は広く用いられている。この方法により、例えば血液、血漿、血清、尿、唾液、涙液、汗、培養基、細胞抽出物、細胞懸濁液など、多数の成分を含有している可能性のある、複雑であることの多い生体マトリックスにおいて、単一 (モノプレックス) または多項目同時 (マルチプレックス) の分析パラメーターの選択的定量または定性的測定が可能となる。

## 【0003】

免疫学的測定の一般原則において、目的の分析物は、タンパク質ベースの特異的捕捉抗体、または特異的 DNA、RNA もしくはそれに基づく機能的サブグループもしくは断片 ( Capture Antibody = c A B ) と選択的に結合し、検出抗体 ( Detection Antibody = d A B ) によってマーキングされる。c A B は、大抵の場合、固定担体 (固相、solid phase) 上に位置する。

30

## 【0004】

標準的な文献において、「免疫学的測定 ( Immuno Assay ) 」という用語の体系は統一されていない。さらに、「免疫学的測定」という用語は、古典的な免疫学的測定についても、酵素を使用した E L I S A ( E L I S A = E n z y m e L i n k e d I m m u n o S o r b e n t A s s a y ) についても、以下のように理解される：

a ) 古典的な免疫学的測定では、d A B が色素またはフルオロフォアを運び、この色素またはフルオロフォアを分光分析または蛍光分析で検出する。

b ) それ以外の免疫学的測定法のひとつに、E L I S A ( E L I S A = E n z y m e L i n k e d I m m u n o S o r b e n t A s s a y ) がある。この測定法では、d A B と結合した酵素を機能的な標識元素として用いる。R I A (放射免疫測定) に取って代わった E L I S A では、1980 年代初頭以降、標識として放射性同位体を用いていた。d A B を介して分析物 - 抗体複合体と結合した酵素は、添加した酵素特異的基質を検出可能な物質に変換し、この物質を、分光光度分析または蛍光分析で、またはその他の物理的作用、例えば化学発光などを用いて、溶液中で検出することができる。

40

## 【0005】

地上使用時には、さまざまな溶液や材料を順次添加する。遊離した、結合していない物質や反応物は洗浄工程で取り除く。形成された複合体は、固定相と結合することにより反応容器内にとどまり、この容器内で検出することができる。

50

## 【 0 0 0 6 】

固相の特別な形態に移動担体がある。移動担体は、表面に c A B 分子が結合した、いわゆるビーズ（直径：nm ~ mm、ただし多くの場合、わずか  $\mu\text{m}$ ）である。洗浄工程後に、この担体は遠心分離によって、または磁性担体の場合は強力磁石を用いて、上清または残液から分離する。免疫学的測定的全反応の終了後、標識した担体は、地上使用では、フローサイトメーター、マルチウェルプレート用の読取装置、またはアレイリーダーのいずれかで読み取る。これは、積分測定値として、または個々の担体もしくは各アレイスポットの画像処理を用いて行うことができる。

## 【 0 0 0 7 】

記載する工程は、免疫学的測定のサンドイッチ測定法、競合法、または E L I S A の形態にも適用される。

10

## 【 0 0 0 8 】

免疫学的測定は、宇宙飛行時にも低重力から無重力（ $\mu\text{g}$ ）までの状態で使用できなければならない。これは、重力が低減または無重力化することにより、物質輸送または物質分離が遅延または完全に阻害されることを意味する。試料準備の際、地球上では反応相手を特殊電動ミキサー（オービタルミキサー、オービタルシェーカーなど）内で動かす。重力により観察のための沈降が生じる。

## 【 0 0 0 9 】

磁性担体を用いた免疫学的測定は、地球上での適用では  $1\mu\text{g}$  未満で広く普及している。しかしながら、これまで、磁性担体は洗浄工程中に主に分離のために利用されていた。免疫学的測定における細胞濃縮または分離のための地上での実施工程は、宇宙での使用には適していない。

20

## 【 発明の概要 】

## 【 発明が解決しようとする課題 】

## 【 0 0 1 0 】

本発明の課題は、無重力または低重力状態で、磁性担体を用いた免疫学的測定の実施を可能にする方法を提示することである。

## 【 発明を解決するための手段 】

## 【 0 0 1 1 】

この課題は、請求項 1 に記載の特徴に従った方法により解決される。本発明の有利な実施形態は、従属請求項の対象となる。

30

## 【 0 0 1 2 】

本発明に従って、無重力状態で免疫学的測定を実施するために、試料容量中の磁性担体の動きを制御するために、試料容量の少なくとも 1 つの空間軸に対して移動可能に配置された永久磁石を用いて試料容量内で磁性担体を移動させ、また、磁性担体を混合するために、空間軸上に配置された永久磁石を同位相で移動させる。

## 【 0 0 1 3 】

磁性担体を、例えば固相として使用することにより、例えば連続的にさまざまな方向から作用する外部磁場によって、反応相手の積極的かつ制御された対流混合が可能となる。さらに、物質輸送が改善し、反応速度が向上する。この他の利点は、実施工程が無重力状態で再現可能となることである。

40

## 【 0 0 1 4 】

最終的に、目的に合わせて活性化可能な指向性磁場によって、所定の時点で、検出を目的とした磁性担体の平面の位置調整が可能である（顕微鏡の焦点においてなど）。

## 【 0 0 1 5 】

さらに、例えば液体交換中または洗浄工程中に、目的に合わせて活性化可能な指向性磁場によって、特定領域の磁性担体を収集または固定することができる。

## 【 0 0 1 6 】

加えて、c A B が付着した磁性担体は、特定の細胞型または膜受容体への結合に用いることができ、また、低重力の宇宙空間実験において、これを分離または濃縮すること、ま

50

たは機械的移動により検出に供することができる。

【0017】

宇宙空間で免疫学的測定を実施する場合は、磁性担体を一貫して使用することにより、無重力または低重力状態が補整される。磁性担体は工程段階に応じて、制御された外部の活性化磁場の影響を受ける。

【0018】

試料容量中の磁性担体を混合するために、有利には、永久磁石は試料容量に対して正反対に配置する。

【0019】

試料容量内で磁性担体を1つの面上に位置付けるために、有利には、面に対して垂直な空間軸上の永久磁石であって、面に対し、位置決めすべき磁性担体と正反対に対向する永久磁石が、第1の段階において試料容量の方向に移動し、第2の段階において試料容量から離れる。

10

【図面の簡単な説明】

【0020】

本発明および本発明の別の有利な実施形態について、以下に図面に基づいて詳述する。図面は次のとおりである：

【図1】図1は、本発明に従った方法を実施するための第1の適用例の概略配置例である。

【図2】図2は、本発明に従った方法を実施するための第2の適用例の概略配置例である。

20

【図3】図3は、永久磁石の実施例である。

【0021】

図1は、試料容量1内で磁性担体2を混合するための概略配置例を示す。試料容量1の外部に、永久磁石3a、3bが、試料容量1の空間軸x、y、z上に配置されている。図面の参照を容易にするために、図1では空間軸x上の2つの永久磁石3のみ図示している。当然ながら、その他の空間軸y、z上にはその他の永久磁石3a、3bを配置することができる。

【0022】

2つの永久磁石3a、3bは、試料容量1に対して互いに正反対に配置されている。つまり、2つの永久磁石3aと3bの間にある領域Cに試料容量1を収容することができる。周知のとおり、永久磁石3a、3bはそれぞれ北極Nと南極Sから成る。合目的に、2つの永久磁石3a、3bはそれぞれ北極と南極とが対向するように配置されている。

30

【0023】

図1は、第1の位置Aにおける試料容量1を含む配置を示し、位置Aにおいて、試料容量1は2つの永久磁石3aと3bの間にある領域Bの外部に位置する。試料容量1を、矢印方向BVに従って位置Bに移動させることにより、試料容量1は領域Cに位置する。当然ながら、2つの永久磁石3a、3bを相応に移動させることも可能である。

【0024】

試料容量1中の磁性担体2を混合するために、試料容量1を位置Bに移動させる。次に、2つの永久磁石3a、3bを矢印方向BMに従って同位相で往復移動させる。そうすると、磁性担体2は、試料容量1において近接磁場に応じて交互に調整され、交互に移動する。2つの永久磁石3a、3bの同位相での往復運動により、試料容量1において磁性担体2の混合がもたらされる。

40

【0025】

空間軸y、z上のその他の永久磁石を相応に配置および移動させることにより、混合を改善することができる。

【0026】

図2は、試料容量1内で磁性担体2を位置付けするための概略配置例を示す。この図は、図1の位置Bにおける試料容量を示している。面5上で磁性担体2を位置決めするため

50

に、さらに、位置決め永久磁石と称される永久磁石 3 a を用い、この永久磁石 3 a は、位置決め面 5 に対し垂直な軸 x 上に配置される。位置決め面に対し、位置決めすべき磁性担体 2 と正反対に対向するこの永久磁石 3 a は、矢印方向 B M 1、B M 2 に従って移動させることができる。

【 0 0 2 7 】

空間軸 x 上において、試料容量 1 に対して位置決め永久磁石 3 a と正反対に配置される別の永久磁石 3 b は、停止位置 P に移動させ、遮蔽装置 4 を用いて防御することにより、永久磁石 3 b の磁場が、試料容量 1 中の磁性担体 2 に影響を及ぼさないようにする。

【 0 0 2 8 】

試料容量 1 中の磁性担体 2 を位置付けするために、位置決め永久磁石 3 a は、面 5 の B M 1 の方向に移動させる。これにより、磁性担体 2 は面 5 の方向に整列して移動する。次いで、位置決め永久磁石 3 a を B M 2 に移動させ、さらに、対応する停止位置 P ( 図示せず ) に移動させる。

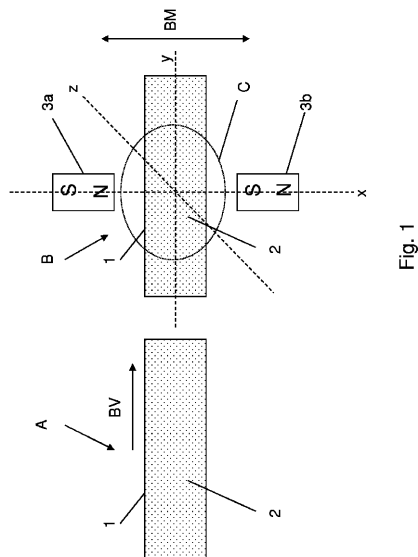
【 0 0 2 9 】

宇宙空間で適用する際、低重力であるために試料容量中で沈降または熱対流が生じないことから、磁性担体は検出終了時までこの位置にとどまる。

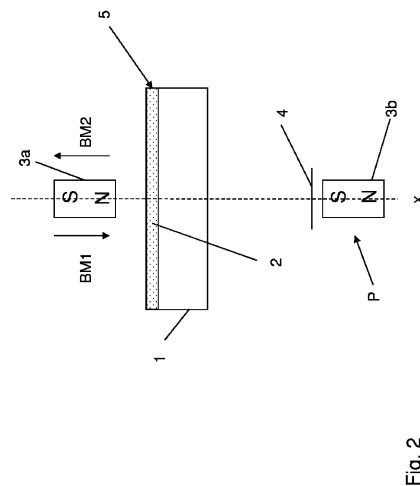
【 0 0 3 0 】

図 3 は、永久磁石の実施例を示す。有利には、永久磁石はマトリックスとして構成されている。永久磁石 3 a は複数の永久磁石 3 0 a を含み、この永久磁石 3 0 a はマトリックスとして合目的に配置されており、永久磁石 3 0 a は交互に配置される。

【 図 1 】



【 図 2 】



10

20

【 図 3 】

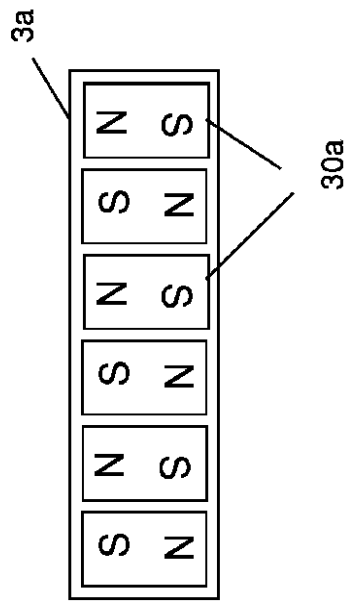


Fig. 3

---

フロントページの続き

審査官 草川 貴史

- (56)参考文献 特表2010-512531(JP,A)  
特開2010-230683(JP,A)  
特開2006-112824(JP,A)  
米国特許出願公開第2005/0250141(US,A1)  
特表平06-508203(JP,A)  
特表2005-511264(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G01N 33/48-33/98  
G01N 35/00