

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2002-509252(P2002-509252A)

【公表日】平成14年3月26日(2002.3.26)

【出願番号】特願2000-540438(P2000-540438)

【国際特許分類】

G 01 N 33/543 (2006.01)

G 01 N 33/53 (2006.01)

G 01 N 33/566 (2006.01)

【F I】

G 01 N 33/543 5 2 1

G 01 N 33/53 D

G 01 N 33/566

【手続補正書】

【提出日】平成17年8月18日(2005.8.18)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】以下の段階：

i. 反応体I - - - 検体' - - - 反応体*

(a. 反応体*および反応体Iは検体に生物特異性を示す、

b. 反応体*は分析的に検出可能である、

c. 検体'は検体または検体関連反応体である)

からなる複合体の形成、続く

ii. 複合体中の反応体*由来の検出可能なシグナルの測定(サンプル値)、そして

iii. サンプル量と、各々標準量の検体に対応する1個またはそれ以上の量のキャリブレーター値との比較による、サンプル中の検体の量の獲得

を含み、キャリブレーター値の測定前に、(i)キャリブレーターまたは(ii)キャリブレーター用結合剤がマトリックスに結合されており、キャリブレーター用結合剤がマトリックスに結合されている場合、キャリブレーターが添加されるか、マトリックスに予め保持(deposit)されたキャリブレーターがキャリブレーター値決定時に放出され、マトリックスが反応体*のキャリブレーターへの結合が起こる液体媒体に不溶性であることを特徴とする、生物特異的親和性反応の利用を含む、サンプル中の検体の決定の段階のための方法。

【請求項2】キャリブレーターがキャリブレーター値の決定前にマトリックスに結合していることを特徴とする、請求項1記載の方法。

【請求項3】キャリブレーター用結合剤がキャリブレーター値の決定前にマトリックスに結合していることを特徴とする、請求項1記載の方法。

【請求項4】該キャリブレーター用結合剤が、特異的結合対のメンバーの一方であり、特異的結合対の他のメンバーがキャリブレーターに結合または接合していることを特徴とする、請求項1または3に記載の方法。

【請求項5】キャリブレーターおよび検体が、同等な結合部位を介して反応体*に生物特異的に結合できる能力を有することを特徴とする、請求項1から4のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】 a . マトリックスが 1 個またはそれ以上のキャリブレーターゾーンを呈示するフローマトリックスである (C Z 1 、 C Z 2 、 C Z 3 等) 、

b . (i) 各キャリブレーターゾーンが検体の標準量に対応する量でキャリブレーターを含む、または

(ii) 各キャリブレーターゾーンがキャリブレーター結合剤を含み、キャリブレーター結合剤の量およびキャリブレーターの量は検体の標準量に対応する、そして

c . 反応体^{*}が、反応体^{*}がキャリブレーターゾーンを介して輸送されることによりキャリブレーターに結合する

ことを特徴とする、請求項 1 から 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】 フローマトリックスが横向きのフローマトリックスである、請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】 a . キャリブレーターまたはキャリブレーター用結合剤を含む 2 個またはそれ以上のゾーン C Z 1 、 C Z 3 、 C Z 3 等が同じプロセスフローに位置し、ゾーンの少なくとも二つが検体の異なる標準量に対応する、そして

b . 反応体^{*}のマトリックスキャリブレーターへの結合のための種々の C Z への輸送が、このプロセスフローを介して行われる

ことを特徴とする、請求項 6 または 7 に記載の方法。

【請求項 9】 a . 別々のキャリブレーターゾーン (C Z) が別々のプロセスフローに位置する、そして

b . 反応体^{*}のマトリックスキャリブレーターへの結合のための種々の C Z への輸送が、各々のプロセスフローを介して行われる

ことを特徴とする、請求項 6 または 7 に記載の方法。

【請求項 10】 プロセスフローおよび複数のプロセスフローが、各々、検出ゾーンを欠く、そして

b . 複合体が、キャリブレーターゾーンを欠き、キャリブレーターゾーンと同じタイプのマトリックスに存在するプロセスフローの検出ゾーンで形成される

ことを特徴とする、請求項 8 または 9 に記載の方法。

【請求項 11】 マトリックスがフローマトリックスであり、一つの同じプロセスフローに沿って

a . 各々がマトリックスキャリブレーターまたはマトリックスキャリブレーター結合剤を呈示する 1 個またはそれ以上のキャリブレーターゾーン (C Z) 、

b . いずれもキャリブレーターゾーンと同位置でなく、捕獲体が堅く固定され、それが反応体 I または反応体 I に生物特異的に直接的または間接的に結合できる生物特異的親和性反応体である、 1 個またはそれ以上の検出ゾーン、

c . C Z および D Z の上流に位置し、それに反応体^{*}が予め保持し得る反応体^{*}適用ゾーン A_R*Z 、

d . i . 検出ゾーンの上流または同位置

ii . A_R*Z の下流または上流または同位置 (A_S Z / A_R*Z)

iii . キャリブレーターゾーンの上流、下流または同位置

に位置するサンプル適用ゾーン (A_S Z)

が存在することを特徴とし、好ましくは、サンプル適用ゾーン (A_S Z) は検出およびキャリブレーターゾーンの両方の上流に位置し、反応体^{*}が予め保持されていない場合、反応体^{*}が A_R*Z に添加されるか、反応体^{*}が予め保持している場合、緩衝液が A_R*Z に添加され、サンプルが A_S Z に添加され、所望により、 A_S Z および A_R*Z が同一である場合、検体および反応体^{*}が同時に D Z に到着するように、または検体が D Z に反応体^{*}の前に到着するように予め混合されている、請求項 1 から 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】 キャリブレーターゾーンまたはゾーン群 (K Z) がキャリブレーター結合剤を呈示し、キャリブレーターがキャリブレーターゾーンまたはゾーン群の上流に予め保持されていることを特徴とする、請求項 11 記載の方法。

【請求項 13】 プロセスフローが 2 個またはそれ以上の該キャリブレーターゾーン

を含むことを特徴とする、請求項 1 1 または 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】 プロセスフローが 1 個または 2 個の該キャリブレーターゾーンを含み、サンプル中の検体のレベルを：

- a . 1 個またはそれ以上の別々に得られたキャリブレーター値への接近、そして
- b . 該検出ゾーンと同じプロセスフローに位置するキャリブレーターゾーンのキャリブレーター値(陽性内部キャリブレーター = PIC)の、1 個またはそれ以上の別々に得たキャリブレーター値との比較、
- c . 検出ゾーンからの測定シグナルの、別々のキャリブレーター値由来の PIC の測定シグナルの偏差への適用、および、続く
- d . 1 個またはそれ以上の別々に得たキャリブレーター値との比較による、サンプル中の検体のレベルの獲得

(または段階 c および d に関して、何を適合させ、何を比較するかは逆であることのある)

により得ることを特徴とする、請求項 1 1 または 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 5】 a . $A_s Z$ は (i) $A_R * Z$ と共通である ($= A_s Z / A_R * Z$) または (ii) $A_R * Z$ の上流に位置する、そして

b . (i) の別法として、共通ゾーン $A_s Z / A_R * Z$ に添加される前にサンプルが反応体^{*} と予め混合されている、またはサンプルを予備保持した反応体^{*} を含む共通ゾーン $A_s Z / A_R * Z$ に適合させ、(ii) の別法として、サンプルを $A_R * Z$ の上流に位置し、それが予め保持した反応体^{*} を含む $A_s Z$ に添加する

ことを特徴とする、請求項 1 1 から 1 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 6】 検出ゾーンが粒子を介してマトリックスに固定されている場合、反応体^{*} が分析的に検出可能な基および / またはキャリブレーターまたはキャリブレーター結合剤および / または捕獲体の粒子を有することを特徴とする、請求項 6 から 1 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 7】 検体が反応体 I または反応体^{*} に方向付けされた抗体であり、
a . 検体が反応体 I に方向付けされた抗体である場合、反応体^{*} が検体に方向付けされた抗体であり、反応体 I が抗原 / ハプテンである、そして
b . 検体が反応体^{*} に方向付けされた抗体である場合、反応体^{*} が抗原またはハプテンであり、反応体 I が検体に方向付けされた抗体である

ことを特徴とする、請求項 1 から 1 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 8】 検体が抗原であり、反応体^{*} および反応体 I が検体に方向付けされた抗体であることを特徴とする、請求項 1 から 1 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 9】 方法をアレルギーまたは自己免疫疾患の診断の一部として行うことを特徴とする、請求項 1 から 1 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 2 0】 キットが：

a 反応体^{*} の輸送のためのプロセスフローの領域があるフローマトリックス、そして該領域は

- i . マトリックスに堅く固定されたキャリブレーター、またはキャリブレーター用結合剤を含む 1 個またはそれ以上のキャリブレーターゾーン (CZ 1、CZ 2 等)(キャリブレーターまたはキャリブレーター結合剤の量が各々少なくとも二つのキャリブレーターゾーンに関して異なり、キャリブレーターは、反応体^{*} がキャリブレーターゾーンを通って輸送されるとき、反応体^{*} が結合し得る結合部位を呈示する)
- ii . 該 1 個またはそれ以上のキャリブレーターゾーンの上流に位置する反応体^{*} の適用ゾーン ($A_R * Z$)

を呈示することを特徴とする、サンプル中の検体の量に比例した量で反応体^{*} を含む複合体を形成させることによる、複合、分析的検出可能反応体 (= 反応体^{*}) に関連する測定シグナル値を、サンプル中の検体の量の測定のために生物特異的親和性反応を用いる分析法の実施に関連して、サンプル中の検体の実際の量に変えるための装置。

【請求項 2 1】 キャリブレーター結合剤がマトリックスに堅く固定され、装置がキ

キャリブレーターゾーンの上流、例えば、 $A_s Z$ に予め保持しているキャリブレーターを含むことを特徴とする、請求項 20 記載の装置。

【請求項 22】 装置が $A_R * Z$ に予め保持された反応体^{*}を含むことを特徴とする、請求項 20 または 21 記載の装置。

【請求項 23】 プロセスフローが $A_R * Z$ の下流または同位置に位置する検出ゾーン(DZ)、それを介して反応体^{*}が DZ に結合できる堅く固定された捕獲体、および該 DZ の上流または同位置に位置するサンプル適用ゾーン $A_s Z$ を含むことを特徴とする、請求項 20、21 または 22 に記載の装置。

【請求項 24】 $A_R * Z$ が $A_s Z$ の上流または下流または同位置に位置し、上流または下流位置が好ましいことを特徴とする、請求項 23 に記載の装置。

【請求項 25】 堅く固定された反応体(捕獲体)が検体または検体関連反応体に生物特異的親和性を有することを特徴とする、請求項 23 から 24 のいずれかに記載の装置。

【請求項 26】 堅く固定された反応体(捕獲体)が、検体または検体関連反応体に生物特異的親和性を有する第 2 反応体に生物特異的親和性を有することを特徴とする、請求項 23 から 24 のいずれかに記載の装置。

【請求項 27】 該 1 個またはそれ以上のキャリブレーターゾーンが DZ の上流に位置することを特徴とする、請求項 23 から 26 のいずれかに記載の装置。

【請求項 28】 $A_s Z$ が全てのキャリブレーターゾーンの上流に位置することを特徴とする、請求項 23 から 27 のいずれかに記載の装置。

【請求項 29】 請求項 20 から 28 のいずれかに記載の装置を含むことを特徴とする、キット。

【請求項 30】 キットが反応体^{*}を含むことを特徴とする、請求項 29 記載のキット。

【請求項 31】 該装置がマトリックスに結合したキャリブレーター結合剤を有するとき、キットがキャリブレーターを含むことを特徴とする、請求項 29 または 30 記載のキット。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

プロセスフロー

流れの方向は、サンプルおよび / または反応体の適用ゾーンから、存在するキャリブレーターおよび検出ゾーン(各々 CZ および DZ)に向かう。正確にプロセスフローがどのゾーンを通過するかは当該試験プロトコールにより決定される。プロセスフローは放射状に広がり、円形周辺の形の流れ先端の点またはその一部から出発し得る。プロセスフローはまたバンドの形のゾーンから出発し得、流れの方向に垂直の真直ぐな流れ先端を有し得る。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

フローマトリックスのキャリブレーターおよび検出ゾーン

好ましい態様で使用するフローマトリックスは、キャリブレーターを備えた 1 個またはそれ以上の別のゾーンを有する(キャリブレーターゾーン、CZ1、CZ2、CZ3 等)。各キャリブレーターゾーンは、流れが通過したときにゾーン内で検出する反応体^{*}からの測定シグナル(キャリブレーター値)が、サンプル中の一定量(標準量)に明白に対応するよ

うな量でマトリックスキャリブレーターに含まれる。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0043

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0043】

反応体Iが溶解形で存在する場合、検出ゾーンに堅く固定された捕獲体が存在するのと同時に、マトリックスはその適用ゾーンを有する。捕獲体が反応体Iと結合するために付加的な生物特的親和性反応体を必要とする場合(下記“技術分野”参照)、これらの反応体の適用ゾーンが存在する。捕獲体でないとき、反応体Iおよび他の付加的反応体の適用ゾーンは、反応体Iが検体'の前にまたは同時に検出ゾーンに到達するように位置しなければならない。反応体Iが可溶性形である場合、捕獲体は好ましくは特異的結合対の一つのメンバーであり、その他のメンバーは反応体Iに結合または接合している。例示的な特異的結合対は、抗原-抗体およびハプテン-抗体、ビオチン-アビジンまたは-ストレプトアビジン、レクチン-糖、ホルモン-ホルモンレセプター、核酸二本鎖のような免疫学的結合対である。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0055

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0055】

関連試験プロトコール

本発明は、主に非競合的(非阻害)試験変法に適応されるが、複合体が反応体Iと反応体*の間の検体関連反応体を形成させることを含む場合、競合的(阻害)試験変法にも適用し得る。プロトコールは同時または連続変法として流し得る。同時法は、反応体*および検体'が、検出ゾーンに向かって少なくとも輸送の間の一部分同時輸送され、好ましくは後者に同時に到達することを意味する。連続法は、検体'が、検出ゾーンに向かう輸送の少なくとも一部分、反応体*の前を移動し、好ましくは検出ゾーンに反応体*の前に到着することを意味する。説明的例示は下記に示す。“-”は最初からのマトリックスへの堅い固定に関する。“---”は生物特異的親和性を介した結合に関する。反応体が利用する結合部位に関して単官能性であることが仮定される。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0071

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0071】

実施例

実施例1：炭素粒子接合体およびマトリックスに結合したキャリブレーターによる樺(birch)特異的IgEの測定

方法および材料

フェニルデキストランのポリスチレン粒子への吸着：

フェニルデキストラン(置換度：5個のモノサッカライド単位当り1フェニル基=20%、Mwデキストラン40,000、Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden)をポリスチレン粒子(0.49 μ m Bangs Laboratories, USA)に、脱イオン化水に、1) 5 mg/ml、10%粒子懸濁液、RT 1 h、2) 5 mg/ml、5%粒子懸濁液、RT 1 h、3) 20 mg/ml、1%粒子懸濁液、RT一晩、15 hで搅拌下溶解させたフェニルデキストランとインキュベーションすることにより吸着させた。粒子を繰り返し脱イオン水で洗浄した。粒

子懸濁液を各インキュベーション間に遠心し、洗浄した(12,100×g、25分、Beckman, J-21, JA-20, 10,000rpm)。粒子懸濁液を最後に超音波処理した(超音波浴、Branson 5210, 5分)。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0077

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0077】

t3粒子の検出ゾーン内の膜への保持：ポリエステル裏打ちのあるニトロセルロースのシート(Whatman, 8 μm、5cm幅)上に、4%の上記の結合粒子を、直線ゾーンとして1 μl/sおよび1 μl/cmの流れで、Linear Striper(IVEK Corporation)で適用した。シートを1時間、30℃で乾燥させ、その上でシートをゾーンに対する適当な角度で、0.5cm切片に切断した(Matrix 1201 Membrane Cutter, Kinematics Automation)。