

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-146236

(P2017-146236A)

(43) 公開日 平成29年8月24日(2017.8.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 G	2 G 0 4 5
GO 1 N 33/545 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 1	
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/545 A	
	GO 1 N 33/48 S	

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 44 頁)

(21) 出願番号	特願2016-29092 (P2016-29092)	(71) 出願人	000006747
(22) 出願日	平成28年2月18日 (2016.2.18)		株式会社リコー
			東京都大田区中馬込 1 丁目 3 番 6 号
		(74) 代理人	100107515
			弁理士 廣田 浩一
		(72) 発明者	小林 理恵
			東京都大田区中馬込 1 丁目 3 番 6 号 株式
			会社リコー内
		(72) 発明者	平田 美由希
			東京都大田区中馬込 1 丁目 3 番 6 号 株式
			会社リコー内
		Fターム(参考)	2G045 CA25 CB03 FB03 FB07 FB15 JA08

(54) 【発明の名称】 検査装置及びその製造方法、並びに検査キット、及び検査装置用転写媒体

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】均一かつ高濃度な発色が得られ、正確度の高い検査を行うことができる検査装置を提供する。

【解決手段】検体を流すための流路を有する多孔質の流路部材と、前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられた樹脂層と、を有し、前記樹脂層の前記流路部材に対向する面に前記検体と反応する抗体を含む固相化試薬を有し、前記抗体の密度が、前記流路の上流端部側よりも前記流路の下流端部側のほうが大きい検査装置。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

検体を流すための流路を有する多孔質の流路部材と、
前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられた樹脂層と、を有し、
前記樹脂層の前記流路部材に対向する面に前記検体と反応する抗体を含む固相化試薬を有し、
前記抗体の密度が、前記流路の上流端部側よりも前記流路の下流端部側のほうが大きいことを特徴とする検査装置。

【請求項 2】

前記抗体の密度が、前記樹脂層における前記流路部材に対向する面において、前記流路の前記上流端部側から前記下流端部側に亘って大きくなる請求項 1 に記載の検査装置。 10

【請求項 3】

少なくとも一箇所の前記樹脂層における前記流路部材に対向する面において、前記流路の前記上流端部側から前記下流端部側にかけて前記抗体の密度が異なる複数の領域を有する請求項 1 から 2 のいずれかに記載の検査装置。

【請求項 4】

前記複数の領域において、前記上流端部側よりも前記下流端部側のほうが、前記抗体の密度が大きい請求項 3 に記載の検査装置。

【請求項 5】

前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられ、前記流路部材に対向する面に捕捉抗体が固相化された第 1 の樹脂層と、 20

前記流路部材上に設けられ、前記流路部材に対向する面に標識抗体が固相化された第 2 の樹脂層と、を有する請求項 1 から 4 のいずれかに記載の検査装置。

【請求項 6】

請求項 1 から 5 のいずれかに記載の検査装置と、
検体を採取するための検体採取手段、及び前記検体を処理するための液体から選択される少なくとも 1 つと、を有することを特徴とする検査キット。

【請求項 7】

支持体と、
前記支持体上に設けられた剥離層と、
前記剥離層上に設けられた試薬固相化層と、を有し、
前記試薬固相化層の表面において、検体が流入する部分に対応する端部よりも、前記検体が流出する部分に対応する端部が、前記検体と反応する抗体の密度が大きくなるように、前記抗体が固相化されていることを特徴とする検査装置用転写媒体。 30

【請求項 8】

前記抗体の密度が、前記試薬固相化層の前記表面において、前記検体が流入する部分に対応する端部から前記検体が流出する部分に対応する端部に亘って大きくなる勾配を有する請求項 7 に記載の検査装置用転写媒体。

【請求項 9】

前記試薬固相化層が、前記剥離層を兼ねた剥離層兼試薬固相化層である請求項 7 から 8 のいずれかに記載の検査装置用転写媒体。 40

【請求項 10】

請求項 7 から 8 のいずれかに記載の検査装置用転写媒体の前記試薬固相化層、及び請求項 9 に記載の剥離層兼試薬固相化層のいずれかと、多孔質の流路部材とを接触させて、前記試薬固相化層及び前記剥離層兼試薬固相化層のいずれかを前記流路部材に転写する工程を含むことを特徴とする検査装置の製造方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、検査装置及びその製造方法、並びに検査キット、及び検査装置用転写媒体に 50

関する。

【背景技術】

【0002】

免疫測定法は、抗原と抗体の反応を利用して抗原又は抗体を検出及び定量する方法として、例えば、血液、DNA、食品あるいは飲料などの検体の検査を行う目的で、検体を流すための流路が形成された検査装置が用いられている。前記検査装置は、例えば、検査液の受液部としてのサンプルパッド、前記サンプルパッドから供給された前記検査液を反応させるコンジュゲートパッド、前記コンジュゲートパッドから供給された検査液を流すメンブレン膜から構成されている。

このような検査装置としては、毛細管現象による検査液の拡散を防止する目的で、予め制御ラインを形成しておき、その近傍に検査液を塗布したものが提案されている（例えば、特許文献1参照）。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

本発明は、均一かつ高濃度な発色が得られ、正確度の高い検査を行うことができる検査装置を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0004】

前記課題を解決するための手段としての本発明の検査装置は、検体を流すための流路を有する多孔質の流路部材と、前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられた樹脂層と、を有し、前記樹脂層の前記流路部材に対向する面に前記検体と反応する抗体を含む固相化試薬を有し、前記抗体の密度が、前記流路の上流端部側よりも前記流路の下流端部側のほうが大きい。

20

【発明の効果】

【0005】

本発明によると、均一かつ高濃度な発色が得られ、正確度の高い検査を行うことができる検査装置を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0006】

30

【図1】図1は、本発明における樹脂層の抗体の密度分布の一例を示す模式図である。

【図2】図2は、本発明における樹脂層の抗体の密度分布の他の一例を示す模式図である。

。

【図3A】図3Aは、本発明における樹脂層の抗体の密度分布の他の一例を示す模式図である。

【図3B】図3Bは、本発明における樹脂層の抗体の密度分布の他の一例を示す模式図である。

【図3C】図3Cは、本発明における樹脂層の抗体の密度分布の他の一例を示す模式図である。

【図4】図4は、本発明の検査装置の一例を示す上面図である。

40

【図5】図5は、図4の検査装置のC-C'での断面図である。

【図6】図6は、流路部材及び樹脂層の対向部における検査装置の一例を示す断面図である。

【図7A】図7Aは、流路部材及び樹脂層の対向部における検査装置の他の一例を示す断面図である。

【図7B】図7Bは、流路部材及び樹脂層の対向部における検査装置の他の一例を示す断面図である。

【図8A】図8Aは、流路部材及び樹脂層の対向部における検査装置の他の一例を示す断面図である。

【図8B】図8Bは、流路部材及び樹脂層の対向部における検査装置の他の一例を示す断

50

面図である。

【図 9】図 9 は、従来の検査装置におけるコンジュゲートパットの概念図である。

【図 10】図 10 は、従来の検査装置におけるメンブレンの概念図である。

【図 11 A】図 11 A は、本発明の検査装置用転写媒体の一例を示す概略断面図である。

【図 11 B】図 11 B は、本発明の検査装置用転写媒体の他の一例を示す概略断面図である。

【図 12】図 12 は、本発明の検査キットの一例を示す概略図である。

【図 13 A】図 13 A は、実施例で用いた検査装置の一例を示す上面図である。

【図 13 B】図 13 B は、図 13 A の D-D' での断面図である。

【図 13 C】図 13 C は、図 13 A のテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。 10

【図 13 D】図 13 D は、図 13 A のテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。

【図 14 A】図 14 A は、比較例で用いた検査装置の一例を示す上面図である。

【図 14 B】図 14 B は、図 14 A の E-E' での断面図である。

【図 14 C】図 14 C は、図 14 A のテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。

【図 15 A】図 15 A は、比較例で用いた検査装置の一例を示す上面図である。

【図 15 B】図 15 B は、図 15 A の F-F' での断面図である。

【図 15 C】図 15 C は、図 15 A のテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。 20

【図 16 A】図 16 A は、実施例で用いた検査装置の他の一例を示す上面図である。

【図 16 B】図 16 B は、図 16 A の G-G' での断面図である。

【図 16 C】図 16 C は、図 16 A のテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。

【図 17 A】図 17 A は、実施例で用いた検査装置の他の一例を示す上面図である。

【図 17 B】図 17 B は、図 17 A の H-H' での断面図である。

【図 17 C】図 17 C は、図 17 A のテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。

【発明を実施するための形態】 30

【0007】

(検査装置)

本発明の検査装置は、検体を流すための流路を有する多孔質の流路部材と、前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられた樹脂層と、を有し、前記樹脂層の前記流路部材に対向する面に前記検体と反応する抗体を含む固相化試薬を有し、前記抗体の密度が、前記流路の上流端部側よりも前記流路の下流端部側のほうが大きい。

【0008】

本発明の検査装置は、従来の検査装置では、テストラインに固相化した抗体が、前記流路部材の検体の進行方向（以下、「流路方向」、又は「展開方向 X」と称することもある。）において発色の濃淡が生じやすいという知見に基づくものである。 40

また、本発明の検査装置は、従来の検査装置において、抗体を流路部材に直接塗布してテストラインを形成した場合では、前記抗体の密度が連続的に分布していることにより、ラインの発色濃度にグラデーションがかかりやすく、前記流路の上流端部側が濃くなり、前記流路の下流端部側にいくほど発色が薄くなるため、ライン内において発色の濃い部分が非常に細くなり、視認性が低下するという知見に基づくものである。

【0009】

本発明の検査装置は、図 1 に示すように、前記抗体の密度が、前記流路の上流端部側よりも下流端部側のほうが大きくなることにより、ラインの発色濃度にグラデーションがかかりにくくなるため、均一かつ高濃度な発色が得られ、正確度の高い検査を行うことができる。 50

また、前記検査装置は、図2に示すように、前記抗体の密度が、前記樹脂層における前記流路部材に対向する面において、前記流路の前記上流端部側から前記下流端部側に亘って大きくなることが好ましい。前記流路の前記上流端部側から前記下流端部側に亘って大きくなるようにすると、前記抗体の密度が漸次増加するため、更にラインの発色濃度にグラデーションがかかりにくくなる点で有利である。

【0010】

前記検査装置は、図3A～図3Cに示すように、少なくとも一箇所の前記樹脂層における前記流路部材に対向する面において、前記流路の前記上流端部側から前記下流端部側にかけて前記抗体の密度が異なる複数の領域を有することが好ましく、図3Aに示すように、前記複数の領域において、前記上流端部側よりも前記下流端部側のほうが、前記抗体の密度が大きいことが好ましい。前記抗体の密度が異なる前記複数の領域を有すると、前記抗体の密度が異なる複数の前記樹脂層を作製し、複数の前記樹脂層の抗体を含む面をそれぞれ前記流路部材に接触させることにより、前記抗体の密度が異なる領域を設けることが容易になる点で有利である。

10

また、前記複数の領域では、それぞれの領域で一定の前記抗体の密度を有していてもよく、非連続な前記抗体の密度を有していてもよい。

【0011】

前記検査装置は、前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられ、前記流路部材に対向する面に捕捉抗体が固相化された第1の樹脂層と、前記流路部材上に設けられ、前記流路部材に対向する面に標識抗体が固相化された第2の樹脂層とを有することが好ましい。

20

前記第1の樹脂層は、複数設けることが好ましい。前記第1の樹脂層が複数であると、前記流路部材内を前記検体が問題なく展開していることを容易に確認できる点で有利である。

【0012】

前記検査装置においては、従来のELISA (Enzyme Linked Immuno Solvent Assay) 法のように、前記樹脂層の前記流路部材に対向する面に前記捕捉抗体を固相化することにより、検体を樹脂層側で検出することが可能となるが、前記捕捉抗体を高密度に固相化できるため、検体を感度よく検出することができる。また、前記検査装置においては、従来のイムノクロマト法のように、前記検体を含む検査液が毛細管現象を駆動力として前記流路部材 (流路) 内に展開しながら反応が進むため、迅速かつ高感度な測定ができるとともに、鮮明な判定ラインを得ることができる。

30

【0013】

前記抗体の密度 (抗体の固相化量) としては、前記樹脂層の前記上流端部側 (α) よりも前記下流端部側 (β) のほうが大きければ特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

前記上流端部側 (α) の前記抗体の密度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、 500 ng/cm^2 以上が好ましい。前記抗体の密度が 500 ng/cm^2 以上であると、前記抗体の固相化量が適切となり、ラインの発色強度が十分に得られる点で有利である。

40

ここで、前記流路の前記上流及び下流とは、前記流路における前記検体の進行方向の上流及び下流を意味しており、前記検査液を前記流路に滴下する側を上流とし、前記検査液が前記流路内を展開する側を下流としている。

【0014】

前記樹脂層の表面に存在する前記抗体の固相化量の分析方法としては、例えば、X線光電子分光法 (XPS) などが挙げられる。

前記X線光電子分光法 (XPS) による前記抗体の固相化量の分析方法としては、前記X線光電子分光法 (XPS) により前記樹脂層の表面に存在する元素の結合エネルギーを測定し、C1s、N1s、O1s等に対応するピークの面積から換算することによって元素組成 (atom%) を算出する。なお、前記樹脂層の表面に存在する抗体量は、前記抗体にのみ由来する元素成分から算出でき、この際、前記抗体の固相化量を変えたサンプル

50

を5つ程度用意し、前記抗体に由来する元素組成の割合の違いから検量線を作成することにより、前記樹脂層の表面における抗体量を測定することができる。

また、前記抗体を固相化するとき、前記樹脂層の表面に塗布した抗体溶液は、そのまま乾燥して固相化されるので、前記抗体溶液の塗布量から固相化量を推定することも可能である。

【0015】

前記複数の領域のうち、前記上流端部側（ α ）を含む領域の前記抗体の密度としては、前記下流端部側（ β ）を含む領域の前記抗体の密度に対して10%以上90%以下が好ましく、20%以上85%以下がより好ましい。前記上流端部側（ α ）を含む領域の前記抗体の密度が前記下流端部側（ β ）を含む領域の前記抗体の密度に対して10%以上であると、前記下流端部側（ β ）を含む領域との発色のバランスが良好となるとともに、ライン全体として視認性が高くなる点で有利である。また、90%以下であると、ライン全体として発色強度を均一にする効果を担保することができる点で有利である。

10

【0016】

前記検査装置の前記樹脂層における前記領域の数としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、少なくとも2つ以上が好ましい。前記領域の数が少なくとも2つ以上であると、前記樹脂層の前記上流端部側（ α ）から前記下流端部側（ β ）にかけて密度勾配を持たせることができる点で有利である。また、前記領域が3つ以上になる場合、前記検体の進行方向に密度勾配を有していれば、個々の領域の前記抗体の密度については、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

20

【0017】

前記領域の前記流路方向における長さ（図13C等参照）としては、特に制限はなく、前記樹脂層（ライン）全体の前記流路方向における長さ、及び検査キットの目的などに応じて適宜選択することができる。

前記上流端部側（ α ）を含む領域の前記流路方向における長さとしては、特に制限はなく目的に応じて適宜選択することができるが、前記樹脂層全体の前記流路方向における長さに対して10%以上50%以下が好ましい。前記上流端部側（ α ）を含む領域の前記流路方向における長さが、前記樹脂層全体の前記流路方向における長さに対して10%以上であると、ライン状に検出したときに密度勾配の違いを発色強度で確認ができ、50%以下であると、前記樹脂層の前記下流端部側（ β ）を含む領域との発色のバランスが良好となり、ライン全体として視認性が高くなる点で有利である。

30

前記樹脂層全体の前記流路方向における長さとしては、特に制限はなく目的に応じて適宜選択することができるが、0.5mm以上2.0mm以下が好ましい。前記樹脂層全体の前記流路方向における長さが0.5mm以上であると、ラインとして細すぎず視認性が担保でき、2.0mm以下であるとラインとして認識できる形状を維持することができる点で有利である。

【0018】

前記検査装置に、前記検体を含む前記検査液を滴下して反応させた後のラインの発色均一性（D）は、0.80以上が好ましく、値が大きいほどより好ましい。前記発色の均一性が0.80以上であると、ライン全体の発色が均一になり、視認性が高くなる点で有利である。

40

【0019】

前記反応させた後の発色の分布の解析方法としては、例えば、画像解析による数値処理により濃度分布を定量化する方法などが挙げられる。以下、本実施形態における前記発色均一性（D）の求め方について説明する。

（1）検査装置に検査液を滴下し、展開が完了してラインの発色が完了した状態で、ラインの全体像が分かるような任意の範囲の画像を取得する。画像の取得は例えば光学顕微鏡を用いて行うことができるが、これに限定されるものではない。なお、少なくとも幅1mm×長さ2mmの視野範囲の画像を取得することが好ましく、画像解析に用いる画像の解像度は20dot/mm以上が好ましく、40dot/mm以上がより好ましい。

50

(2) 得られた画像を、画像処理ソフトを用いて解析し、検体が流入する側の端部 (α) 及び検体が流出する側の端部 (β) を含む範囲について、展開方向に沿ったピクセル輝度を二次元グラフに変換し、ラインの発色分布を数値化する。

(3) 発色分布に対してベースラインを引きピークを求め、ピーク面積 (S_p) と発色領域面積 (S_a) を算出し、下記式に代入し、発色均一性 (D) を求める。ここで、ピーク面積 (S_p) とは、ピークの立ち上がりから終了までとベースラインに囲まれた領域を示し、発色領域面積 (S_a) とは、ピークに含まれるベースラインを底辺、ピークの頂点とベースラインの距離を高さとしたとき、これらをそれぞれ 1 辺とした長方形のうち、ピークに外接する最小の矩形領域を示す。

[発色の均一性の算出式]

発色の均一性 (D) = ピーク面積 (S_p) / 発色領域面積 (S_a)

【0020】

ここで、図面を参照して、本発明の検査装置について説明する。図4～図6、図7A及び図7B、並びに、図8A及び図8Bは、検査装置の全体構成を示す図面である。図4は、本発明の検査装置の一例を示す上面図である。図5は、図4の検査装置のC-C'での断面図である。図6は、流路部材及び樹脂層の対向部における検査装置の一例を示す断面図である。図7A～図8Bは、流路部材及び樹脂層の対向部における検査装置の他の一例を示す断面図である。

【0021】

図4～図8Bに示すように、検査装置10は、血液、髄液、尿、又は検体抽出液（例えば、スティック等の検体採取手段により採取した検体を含む液）等のように親水性の検査液30（検体の一例）を流すための流路が形成された多孔質の流路部材12と、流路部材12上に設けられた樹脂層（15a, 15b, 15c）とを有している。樹脂層（15a, 15b, 15c）における流路部材12に対向する面には、検査液30に含まれる抗原と反応する標識抗体16、抗原を捕捉する捕捉抗体17、及び標識抗体を捕捉する捕捉抗体（又は抗原）18がそれぞれ固相化されている。これにより、樹脂層（15a, 15b, 15c）毎に、樹脂層（15a, 15b, 15c）と試薬との相互作用の強さを調整できるので、流路部材12を目的に応じて任意に選択した場合でも、標識抗体16の放出や捕捉抗体17、18の固定化を制御しやすくなる。

なお、本実施形態における標識抗体16、捕捉抗体17、捕捉抗体18の少なくともいずれか一つの前記抗体の密度は、樹脂層15の流路部材12に対向する面において、上流側端部 (α) よりも下流側端部 (β) が大きくなるように形成されている。

【0022】

本実施形態では、検査装置10において、流路部材12が基材11上に設けられ、基材11及び流路部材12上に吸収部材14が設けられている場合について説明するが、本発明はこのような形態に限定されるものではない。

本実施形態において、流路部材12上に設けるとは、検査装置10を配置したときの向きとは関係なく、流路部材12に接して設けることを意味している。また、樹脂層（15a, 15b, 15c）のうち、任意の樹脂層を示す場合には、樹脂層15と表す。なお、捕捉抗体18は、共有結合、水素結合、金属結合等の任意の化学結合、付着、凝着、吸着、ファンデルワールス結合等の任意の相互作用により固相化されていけばよい。

【0023】

以下、検査液30が、血液、髄液、尿、又は検体抽出液（例えば、スティック等の検体採取手段により採取した検体を含む液）等のように親水性の検査液である場合について説明を続ける。

図6に示したように、検査装置10の樹脂層15a（第2の樹脂層）は、親水基152を多く有する両親媒性樹脂151を含有する。

親水基152の含有量としては、樹脂層15a全量に対して、50質量%以上が好ましい。

ここで、前記親水基とは、水分子と水素結合などによる弱い結合を作る原子団であり、

10

20

30

40

50

水との間に親和性があることを意味する。前記両親媒性とは、水及び有機溶媒の両方に親和性があることを意味する。

【0024】

標識抗体16は、親水性の部位16gを有することにより、樹脂層15aの流路部材12に対向する面に固相化される。一方、流路部材12及び樹脂層15aの対向部に形成される隙間に検査液30が充填されたときには、標識抗体16の親水性の部位16gと親水性の検査液30とが親和して、両親媒性樹脂151から、標識抗体16が放出される。また、検査液30に抗原31が含まれている場合には、抗原抗体反応により、放出された標識抗体16と抗原31とが反応して結合する。なお、標識抗体16と抗原31との結合が阻害されることを防ぐため、両親媒性樹脂151は、水不溶性樹脂であることが好ましい。

10

ここで、前記水不溶性とは、実質的に水に不溶であることを指す。前記実質的に水に不溶であるとは、25℃で24時間、大量の水中に浸漬した後、真空乾燥等の方法によって十分に乾燥した際の、樹脂の質量変化量が1質量%以下であることを意味する。樹脂の質量が変化するの、樹脂生成物中に含まれる副生成物（モノマー成分など）が水中に溶け出して質量が減少するためである。

【0025】

図7A及び図7Bに示すように、樹脂層15b（第1の樹脂層）としては、疎水基153を有する樹脂であることが好ましい。具体的には、樹脂層15bは、疎水性樹脂155又は疎水基153を多く有する両親媒性樹脂154を含有しており、前記疎水性樹脂155又は両親媒性樹脂154を主成分（含有量が50質量%以上）として構成されていることが好ましい。

20

ここで、前記疎水基とは、水となじみにくい原子団のことであり、水に対する親和性が低く、水に溶解しにくい、あるいは水と混ざりにくいことを意味する。

【0026】

捕捉抗体17は、疎水性の部位17gを有しており、疎水性の部位17gが分子間力により結合することにより、樹脂層15bの流路部材12に対向する面に固相化される。流路部材12及び樹脂層15bの対向部に形成される隙間に検査液30が充填されたときに、捕捉抗体17は、標識抗体16に結合した状態の抗原31を捕捉する。これにより、抗原31及び標識抗体16が固定化されて呈色するため、樹脂層15bを、抗原31の有無を判定するためのラインとして用いることができる。

30

疎水性樹脂155及び両親媒性樹脂154としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、それぞれ前記水不溶性樹脂であることが好ましい。疎水性樹脂155及び両親媒性樹脂154がそれぞれ前記水不溶性樹脂であると、ラインの滲みを防ぐことができる点で有利である。

【0027】

図8A及び図8Bに示すように、樹脂層15c（第1の樹脂層）は疎水性樹脂155又は疎水基153を多く有する両親媒性樹脂154を含有しており、疎水性樹脂155又は両親媒性樹脂154を主成分（含有量が50質量%以上）として構成されていることが好ましい。

40

樹脂層15cの流路部材12に対向する面には、捕捉抗体18の疎水性の部位が分子間力により結合することにより、捕捉抗体18が固相化されている。

捕捉抗体18としては、標識抗体16を捕捉するものであれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、標識抗体16と特異的に結合する抗体、抗原などが挙げられる。これにより、標識抗体16が固定化されて呈色するため、樹脂層15cを、標識抗体16が到達したことを示すコントロールラインとして用いることができる。

疎水性樹脂155及び両親媒性樹脂154としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、それぞれ前記水不溶性樹脂であることが好ましい。疎水性樹脂155及び両親媒性樹脂154がそれぞれ前記水不溶性樹脂であると、コントロールラインの滲みを防ぐことができる点で有利である。

50

【0028】

前記樹脂層としては、特に制限はなく目的に応じて適宜選択することができるが、非孔質体であることが好ましい。前記非孔質体とは、実質的に空隙を含まない非孔質の構造体であり、メンブレン等の液体の吸収を促進するために設けられた空隙を含む多孔質材料とは相反する構造体を指す。前記非孔質体としては、例えば、製造工程に偶発的に含まれてしまった気泡であって液体の吸収作用の促進に寄与しないような気泡を僅かに含むものについては前記非孔質体の範疇に含まれる。

【0029】

従来のテストライン及びコントロールラインの形成は、親水性の多孔質材料からなる流路部材に、捕捉抗体が溶解した液を直接塗布することにより行われていた。したがって、前記捕捉抗体は、液体の浸透に伴い前記多孔質材料の内部に拡散する。しかし、前記多孔質材料の内部に存在する前記捕捉抗体と結合する金コロイド粒子等の標識用粒子の発色は、光の散乱が起こるために実際には検知することはできない。つまり、前記捕捉抗体の殆どが有効に利用されていないことになる。

一般的に、多孔質材料で検知できる発色粒子は、表面から5 μ m程度の深さまでとされる。前記5 μ mの深さの領域に、検査に必要な前記捕捉抗体を固定させるには、厚み方向への拡散を考慮して多量の前記捕捉抗体を塗布しなければならない。即ち、前記捕捉抗体の塗布量は、前記多孔質材料の平均厚みに比例して増加することになる。

【0030】

本発明の検査装置においては、前記捕捉抗体の固定化には疎水基を多く含む前記非孔質体からなる前記樹脂層を使用するため、前記捕捉抗体は、前記樹脂層の内部に入り込むことがなく、前記樹脂層の表面にのみ固定化される。前記樹脂層表面に固定化された前記捕捉抗体に標識用粒子が結合することにより発色するが、光が散乱しにくい前記非孔質体からなる前記樹脂層を通して検知することができるため、前記標識用粒子による発色の利用効率を大幅に向上させることができる。また、厚み方向に余分な前記標識用粒子（発色粒子）が存在しないので、前記捕捉抗体の塗布量が極めて少なくてもよいというメリットが生じる。例えば、親水性多孔質材料からなる前記流路部材の平均厚みを100 μ mとした場合、表面から5 μ m部分の厚みの発色しか利用できていないと仮定すると、同じ発色強度を得るのに使用する前記捕捉抗体の塗布量を、1/20に減らすことができる。

即ち、前記捕捉抗体の固定化に疎水基を多く含む前記非孔質体からなる樹脂層を使用するため、前記標識用粒子による発色の利用効率を大幅に向上させることができ、厚み方向に余分な前記発色粒子が存在することがないので、前記捕捉抗体の塗布量を従来よりも低減させることができる。

【0031】

本実施形態では、検査液30に含まれる抗原31の有無を検査するための検査装置10について説明するが、本発明の検査装置は、抗原抗体反応を用いたものに限定されない。例えば、前記検査装置は、試薬として、構造変化により色相が変化する試薬を用いることで、検査液30に含まれる特定の成分を検査するものであってもよい。

【0032】

以下、検査装置10を構成する各部材について詳細に説明する。

<基材>

基材11としては、特に制限はなく、目的に応じて選択することができ、例えば、有機、無機、又は金属製のものが挙げられる。

基材11は、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、少なくとも1面が疎水性樹脂で覆われていることが好ましい。

検査装置10をセンサチップに使用する場合には、軽量で柔軟性があり、かつ安価である合成樹脂を基材11として用いることが好ましい。

本実施形態によると、プラスチックシート等の耐久性が高い基材11を選択することができるので、結果として検査装置10の耐久性も向上する。

【0033】

基材 1 1 の材質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリ塩化ビニル、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリ酢酸ビニル、ポリカーボネート、ポリアセタール、変性ポリフェニルエーテル、ポリブチレンテレフタレート、ABS 樹脂などが挙げられる。これらの中でも、低価格で汎用性が高い点から、ポリエチレンテレフタレートが好ましい。

【0034】

基材 1 1 の形状としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、シート状が好ましい。

基材 1 1 の平均厚みは、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.01 mm 以上 0.5 mm 以下が好ましい。前記平均厚みが、0.01 mm 以上であると、基材 1 1 としての強度が良好であり、0.5 mm 以下であると、基材のフレキシブル性が良好であり、センサとして好適に用いることができる。

ここで、前記平均厚みとは、例えば、測定対象物の厚みを長手方向（長さ方向）に 5 箇所、幅方向に 3 箇所、測定箇所がほぼ均等の間隔となるように合計 15 箇所をマイクロメーター（MDH-25M、株式会社ミットヨ製）で測定したときの厚みの平均値とすることができる。また、本実施形態において、前記厚みとは、基材 1 1 と流路部材 1 2 との接触面に対して垂直方向の対象物の長さとするすることができる。

【0035】

<流路部材>

検査装置 1 0 の流路部材 1 2 としては、検査液 3 0 を流すことが可能な部材であれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、親水性多孔質材料などが挙げられる。

前記親水性多孔質材料によって構成される流路部材 1 2 は、空隙（12a, 12b）を有しており、検査液 3 0 が空隙（12a, 12b）内を流れることによって流路が形成される。

図 6～図 8 B において、空隙 12a は、各断面に形成された空隙であり、空隙 12b は、断面の奥側の空隙である。親水性多孔質材料の内部には、気泡が存在し、気泡同士が繋がって連続気泡となっていることが好ましい。

前記連続気泡とは、気泡同士が繋がっていない独立気泡とは区別されるものである。前記連続気泡においては、気泡同士の壁に小さな孔が開いているため、毛細管現象によって液体を吸い込んだり気体を通過させたりする機能を有する。流路部材 1 2 は、空隙（12a, 12b）において、毛細管現象を利用して検査液 3 0 を移送するので、ポンプ等の外部駆動装置が不要である。

【0036】

前記親水性多孔質材料としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、親水性を示し空隙率が高い材質が好適に用いられる。

前記親水性多孔質材料とは、水溶液が容易に浸透可能な多孔質材料を意味する。前記容易に浸透可能とは、120℃で 1 時間乾燥した板状試験片の表面に純水 0.01 mL を滴下する水浸透性の評価試験で、純水 0.01 mL が 10 分間以内にすべて浸透することという。

【0037】

前記親水性多孔質材料の空隙率は、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、40%以上90%以下が好ましく、65%以上80%以下がより好ましい。前記空隙率が90%以下であると、基材の強度が良好である。また、前記空隙率が40%以上であると、検査液の浸透性が良好となる。

ここで、前記空隙率は、例えば、親水性多孔質材料の坪量（ g/m^2 ）、平均厚み（ μm ）、組成分比重から、下記の計算式 1 により求めることができる。

〔計算式 1〕

空隙率（%）＝ $\{1 - [\text{坪量（g}/\text{m}^2\text{）} / \text{平均厚み（}\mu\text{m）} / \text{組成分比重}]\} \times 100$

10

20

30

40

50

【0038】

前記親水性多孔質材料としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、メンブレン膜等のろ紙、普通紙、上質紙、水彩紙、ケント紙、合成紙、合成樹脂フィルム、コート層を有する専用紙、布地、繊維製品、フィルム、無機基板、ガラスなどが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。これらの中でも、メンブレン膜等のろ紙、布地が好ましく、高い空隙率及び良好な親水性の点から、メンブレン膜等のろ紙がより好ましい。

前記布地としては、例えば、レーヨン、ベンベルグ、アセテート、ナイロン、ポリエステル、ビニロン等の人造繊維、綿、絹等の天然繊維、又はこれらの混紡繊維、あるいはこれらの不織布などが挙げられる。

10

【0039】

前記親水性多孔質材料の形状については、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、シート状が好ましい。

前記親水性多孔質材料の平均厚みは、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.01mm以上0.3mm以下が好ましい。前記平均厚みが0.01mm以上であると、基材の強度が良好となる点で有利である。また、前記平均厚みが0.3mm以下であると、検査液の必要量の適正化が図れる点で有利である。

【0040】

<樹脂層>

本発明における樹脂層15の機能について、図9及び図10に示す従来の検査装置と対比しながら説明する。

20

図9は、従来の検査装置におけるコンジュゲートパットの概念図である。図10は、従来の検査装置におけるメンブレンの概念図である。

従来の検査装置において、コンジュゲートパットの親水性が高すぎると、コンジュゲートパッドに検査液が残り易くなり、メンブレンへ移行しにくくなっていた。逆にコンジュゲートパットの疎水性が高すぎると、メンブレンへの検査液の移行は早くなるが、サンプルパッドからの検査液の吸水性が落ちるため、検査時間が長くなったり、多量の検査液を要するようになっていた。このため、コンジュゲートパットとして使用可能な繊維F1は限定されていた。更に、従来の検査装置において、標識抗体16がコンジュゲートパットを構成する繊維F1に固相化されているため（図9参照）、コンジュゲートパットから放出させることが可能な標識抗体16としては、繊維F1との結合力が弱いものに限定されることになる。即ち、従来の検査装置は、設計上、使用可能な繊維F1や標識抗体16が限られたものになる。

30

また、従来の検査装置において、捕捉抗体17がメンブレンを構成する繊維F2に固相化されているため（図10参照）、メンブレンに固定化させることが可能な捕捉抗体17としては、繊維F2との結合力が強いものに限定されることになる。即ち、従来の検査装置は、設計上、使用可能な繊維F2や捕捉抗体17が限られたものになる。

【0041】

本実施形態の検査装置10においては、樹脂層15（15a, 15b, 15c）に、標識抗体16、捕捉抗体17、捕捉抗体18などの試薬を固相化させている。このため、樹脂層15と、捕捉抗体17との相互作用の強さや、検査液30との親和性に応じて、標識抗体16の放出、又は捕捉抗体17の固定化を制御することができる。

40

【0042】

樹脂層15と捕捉抗体17との相互作用の強さや、検査液30との親和性を調整する方法としては、例えば、樹脂層15を構成する樹脂の種類や樹脂の組成比を対応する捕捉抗体17に応じて変更する方法などが挙げられる。樹脂層15を構成する樹脂において疎水性の割合が多いほど、樹脂層15は、疎水基を有する捕捉抗体17を疎水性相互作用により固定化しやすくなる。

【0043】

ここで、前記疎水性相互作用とは、水中で水になじめない疎水性分子や疎水基が集合す

50

る変化の原因（駆動力）を指す。詳細には、疎水性分子や疎水基を有する分子を水中に入れると、多くの場合、単に溶けないというだけではなく、疎水性分子や疎水基が互いに接した状態をとり、水分子との接触面積をできるだけ減らそうとする。その結果、疎水性分子種は互いに寄り集まるようになり、分子間に結合力が作用しているようにみえる現象のことを言う。

樹脂層 15 を構成する樹脂において親水性の割合が多いと、樹脂層 15 と、親水性の捕捉抗体との相互作用は強くなるが、結合部が親水性の検査液 30 と接触したときに、試薬は検査液 30 と親和して検査液 30 中に放出されやすくなると推定している。

【0044】

樹脂層 15 を構成する樹脂としては、水不溶性樹脂であることが好ましい。樹脂層 15 を構成する樹脂が前記水不溶性樹脂であると、前記樹脂が検査液 30 に溶解して、前記流路を詰まらせたり、コントロールライン又はテストラインが滲むことを防ぐことができる。

【0045】

樹脂層 15 a を構成する両親媒性樹脂としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリビニルアルコール類、ポリビニルアセタール樹脂、ポリアクリル酸、アクリル酸－アクリルニトリル共重合体、酢酸ビニル－アクリル酸エステル共重合体、アクリル酸－アクリル酸エステル共重合体、スチレン－アクリル酸共重合体、スチレン－メタクリル酸共重合体、スチレン－メタクリル酸－アクリル酸エステル共重合体、スチレン－ α －メチルスチレン－アクリル酸共重合体、スチレン－ α －メチルスチレン－アクリル酸－アクリル酸エステル共重合体、スチレン－マレイン酸共重合体、スチレン－無水マレイン酸共重合体、ビニルナフタレン－アクリル酸共重合体、ビニルナフタレン－マレイン酸共重合体、酢酸ビニル－マレイン酸エステル共重合体、酢酸ビニル－クロトン酸共重合体、酢酸ビニル－アクリル酸共重合体、又はこれらの塩などが挙げられる。これらは、1 種単独で使用してもよく、2 種以上を併用してもよい。

これらの中でも、疎水性官能基を有するモノマーと親水性官能基を持つモノマーとの共重合体、疎水性官能基と親水性官能基とを併せ持つモノマーからなる重合体が好ましい。

前記共重合体の形態としては、ランダム共重合体、ブロック共重合体、交互共重合体、及びグラフト共重合体のいずれの形態でも用いることができる。

【0046】

樹脂層 15 b 及び樹脂層 15 c を構成する疎水性樹脂としては、例えば、ポリスチレン、アクリロニトリル－ブタジエン－スチレン共重合体等のポリスチレン系樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂、エチレン－プロピレン共重合体等のポリオレフィン系樹脂又は環状ポリオレフィン系樹脂、ポリカーボネート樹脂、ポリエチレンテレフタレート樹脂、ポリメチルメタクリレート樹脂等のメタクリル系樹脂、塩化ビニル樹脂、ポリブチレンテレフタレート樹脂、ポリアリレート樹脂、ポリサルホン樹脂、ポリエーテルサルホン樹脂、ポリエーテルエーテルケトン樹脂、ポリエーテルイミド樹脂、ポリテトラフルオロエチレン等のフッ素系樹脂、ポリメチルペンテン樹脂、ポリアクリロニトリル等のアクリル系樹脂、プロピオネート樹脂等の繊維素系樹脂などが挙げられる。これらは、1 種単独で使用してもよく、2 種以上を併用してもよい。

【0047】

樹脂層 15 b 及び樹脂層 15 c を構成する疎水性樹脂以外の化合物としては、例えば、蜜ロウ、カルナバワックス、鯨ロウ、木ロウ、キャンドリラワックス、米ぬかロウ、モンタンワックス等の天然ワックス；パラフィンワックス、マイクロクリスタリンワックス、酸化ワックス、オゾケライト、セレシン、エステルワックス、ポリエチレンワックス、酸化ポリエチレンワックス等の合成ワックス；マルガリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、フロイン酸、ベヘニン酸等の高級脂肪酸；ステアリンアルコール、ベヘニルアルコール等の高級アルコール；ソルビタンの脂肪酸エステル等のエステル類；ステアリンアミド、オレインアミド等のアミド類などが挙げられる。これらは、1 種単独で使用してもよく、2 種以上を併用してもよい。

樹脂層 15b、及び樹脂層 15c を構成する化合物の中でも、疎水性相互作用が強い点から、ポリスチレン樹脂、ポリオレフィン樹脂、カルナバワックス、ポリエチレンワックスが好ましい。

【0048】

各樹脂層 (15a, 15b, 15c) を構成する樹脂としては、それぞれ同種の樹脂を用いることも可能である。この場合、樹脂層 15a を構成する樹脂を、樹脂層 (15b, 15c) を構成する樹脂よりも、親水性の高いものとするのが好ましい。なお、同種の樹脂を用いる場合には、親水性を測定するまでなく、親水基の割合が高ければ、より親水性が高いということが出来る。

【0049】

樹脂層 15a に固相化させる標識抗体 16 としては、親水性の部位を有しており、抗原 31 と反応するものであれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、金コロイド標識 Ant i - h u m a n I g G 等の金コロイド標識抗体、各種アレルギーに対する標識抗体、その他の抗体を標識する粒子などが挙げられる。

前記その他の抗体を標識する粒子としては、金コロイド以外にも特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、金コロイド以外の金属コロイド、酵素を含有する酵素標識粒子、色素を含有する着色粒子、蛍光物質を含有する蛍光粒子、磁性体を含有する磁性体内包粒子などが挙げられる。これらは、1 種単独で使用してもよく、2 種以上を併用してもよい。

前記抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、F a b 抗体、及び (F a b)₂ 抗体のいずれの形態であってもよい。

【0050】

樹脂層 15b に固相化させる捕捉抗体 17 としては、疎水性の部位を有しており、抗原 31 と反応するものであれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、Ant i - h u m a n I g G 等の抗体、各種アレルギーに対する抗体、などが挙げられる。

前記抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、F a b 抗体、及び (F a b)₂ 抗体のいずれの形態であってもよい。

【0051】

樹脂層 15c に固相化させる捕捉抗体 18 としては、疎水基を有しており、標識抗体 16 と反応するものであれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、H u m a n I g G 等の標識抗体 16 に対する抗体、又は上記で挙げた抗体などが挙げられる。また、標識抗体 16 と反応する抗原そのものであってもよい。

【0052】

標識抗体 16、捕捉抗体 (17, 18) 等の試薬を、樹脂層 15 に固相化する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、捕捉抗体等の試薬を含む溶液を樹脂層 15 に塗布した後、急速乾燥してドライアップする方法、試薬を含む溶液を樹脂層 15 に塗布した後、塗布液が乾燥しないよう多湿環境下で静置 (インキュベート) した後、蒸留水等で無機塩等の抗体以外の成分を洗浄後、乾燥する方法などが挙げられる。

【0053】

本実施形態において、樹脂層 15 は流路部材 12 上に固定されていることが好ましい。

樹脂層 15 を流路部材 12 上に固定する方法としては、検査時に試薬と検査液 30 とが接触可能となるような状態で固定化する方法であれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、熱転写プリンタ等を用いて樹脂層を構成する樹脂を流路部材 12 上に熱転写する方法、ドットインパクトプリンタ等を用いて樹脂層を構成する樹脂に圧力を加えて転写する方法、樹脂層を構成する樹脂をテープや接着剤、粘着剤等で流路部材 12 上に貼り付ける方法などが挙げられる。

【0054】

< 吸収部材 >

10

20

30

40

50

吸収部材 14 は、水を吸収する部材であれば特に制限はなく、公知の材料の中から適宜選択することができる。

吸収部材 14 としては、例えば、紙、布等の繊維、カルボキシル基又はその塩を有する高分子化合物、カルボキシル基又はその塩を有する高分子化合物の部分架橋体、多糖類の部分架橋体などが挙げられる。

【0055】

<その他の部材>

前記その他の部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、保護部材、標識抗体保持パッド、サンプル滴下パッドなどが挙げられる。

【0056】

前記保護部材は、前記流路部材に手が触れたときの汚染を防ぐ目的の部材である。

前記保護部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、検査装置の全体を覆うハウジングや、流路部材上に設けられるフィルムなどが挙げられる。

前記保護部材を設ける場合、流路部材 12 の滴下部の上部には開口が設けられていることが好ましい。また、前記保護部材には、流路内の圧力を開放するための開口が設けられていることが好ましい。

【0057】

上記のとおり、各種方法により流路部材 12 上に樹脂層 15 を設けることができるが、その一例として熱転写方式を用いる場合について説明する。以下、熱転写方式で用いられる検査装置製造用転写媒体及び検査装置の製造方法について説明する。

【0058】

(検査装置製造用転写媒体)

本発明の検査装置製造用転写媒体の第 1 の実施形態では、支持体と、前記支持体上に設けられた剥離層と、前記剥離層上に設けられた試薬固相化層と、を有し、前記試薬固相化層の表面において、検体が流入する部分に対応する端部よりも、前記検体が流出する部分に対応する端部が、前記検体と反応する抗体の密度が大きくなるように、前記抗体が固相化されている。なお、前記試薬固相化層の表面が、検体と反応する試薬を有する。

前記抗体の密度が、前記試薬固相化層の前記表面において、前記検体が流入する部分に対応する端部から前記検体が流出する部分に対応する端部に亘って大きくなる勾配を有することが好ましい。

【0059】

本発明の検査装置製造用転写媒体の第 2 の実施形態では、第 1 の実施形態において、前記試薬固相化層が、前記剥離層を兼ねた剥離層兼試薬固相化層である。なお、前記剥離層兼試薬固相化層の表面が、検体と反応する試薬を有する。

【0060】

ここで、図面を参照して、流路部材上に、樹脂層を設けるときに用いられる検査装置製造用の転写媒体について説明する。図 11A は、本発明の検査装置用転写媒体の一例を示す概略断面図である。図 11B は、本発明の検査装置用転写媒体の他の一例を示す概略断面図である。

熱転写方式を用いる場合、予め捕捉抗体を均等に付着させた検査装置用転写媒体 100 を用いることができるので、テストライン又はコントロールラインにおける捕捉抗体 (17, 18) の濃度差が小さくなる。また、従来の方法により、捕捉抗体を塗布して配置した場合には、塗布可能な程度の粘度 (例えば、インクジェットプリンタによって吐出可能な程度) になるまで捕捉抗体を溶媒で希釈する必要があるが、熱転写により捕捉抗体を配置する場合には、予め、高濃度の捕捉抗体を付着させた検査装置用転写媒体を用いることで、高濃度の捕捉抗体を流路に配置できる。

【0061】

図 11A に示すように、検査装置用転写媒体 100 は、支持体 101 と、支持体 101 上に設けられた剥離層 102 と、剥離層 102 上に設けられた試薬固相化層 103 とを有

10

20

30

40

50

しており、試薬固相化層 103 の表面には、試薬が固相化されている。また、検査装置用転写媒体 100 は、更に必要に応じて、バック層 104 等のその他の層を有している。

図 11B の検査装置用転写媒体 110 に示すように、剥離層 102 と試薬固相化層 103 とは剥離層兼試薬固相化層 105 として兼ねることも可能である。

【0062】

<支持体>

支持体 101 としては、その形状、構造、大きさ、材質等については、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

前記支持体の構造としては、単層構造であってもよいし、積層構造であってもよい。

前記支持体の大きさとしては、検査装置 10 の大きさ等に応じて適宜選択することができる。

【0063】

支持体 101 の材質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリエチレンナフタレート（PEN）等のポリエステル、ポリカーボネート、ポリイミド樹脂（PI）、ポリアミド、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリスチレン、スチレン-アクリロニトリル共重合体、セルロースアセテートなどが挙げられる。これらは、1 種単独で使用してもよいし、2 種以上を併用してもよい。これらの中でも、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリエチレンナフタレート（PEN）が特に好ましい。

【0064】

支持体 101 の表面には、支持体 101 の上に設ける層との密着性を向上させるため、表面活性化処理を行うことが好ましい。前記表面活性化処理としては、例えば、グロー放電処理、コロナ放電処理などが挙げられる。

【0065】

支持体 101 は、試薬固相化層 103 を流路部材 12 に転写後、そのまま残しておいてもよく、また、試薬固相化層 103 を転写後、剥離層 102 で支持体 101 等を剥離し除去してもよい。剥離層兼試薬固相化層 105 を用いる場合は、剥離層兼試薬固相化層 105 は流路部材 12 に完全に転写されるか、又は試剥離層兼試薬固相化層 105 のうち、抗体が固相化された表面を含む部分は転写されるが、支持体 101 側に一部剥離層兼試薬固相化層 105 が残ってもよい。

【0066】

支持体 101 は、特に制限はなく、適宜合成したものであってもよいし、市販品を使用してもよい。

支持体 101 の平均厚みとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、3 μm 以上 50 μm 以下が好ましい。

【0067】

<剥離層>

剥離層 102 は、転写の際に、支持体 101 と試薬固相化層 103 との剥離性を向上させる機能を有する。また、剥離層 102 は、サーマルヘッド等の加熱加圧手段で加熱すると熱溶解して低粘度の液体となり、加熱部分と非加熱部分との界面近傍で、試薬固相化層 103 の切断を容易にする機能を有する。

【0068】

剥離層 102 は、ワックス及びバインダー樹脂を含有し、更に必要に応じてその他の成分を含む。

【0069】

前記ワックスとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、蜜ロウ、カルナバワックス、鯨ロウ、木ロウ、キャンドリラワックス、米ぬかロウ、モンタンワックス等の天然ワックス；パラフィンワックス、マイクロクリスタリンワックス、酸化ワックス、オゾケライト、セレシン、エステルワックス、ポリエチレンワックス、酸化ポリエチレンワックス等の合成ワックス；マルガリン酸、ラウリン酸、ミリスチン

10

20

30

40

50

酸、パルミチン酸、ステアリン酸、フロイン酸、ベヘニン酸等の高級脂肪酸；ステアリンアルコール、ベヘニルアルコール等の高級アルコール；ソルビタンの脂肪酸エステル等のエステル類；ステアリンアミド、オレインアミド等のアミド類などが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。これらの中でも、剥離性に優れている点から、カルナバワックス、ポリエチレンワックスが好ましい。

【0070】

前記バインダー樹脂としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、エチレンー酢酸ビニル共重合体、部分ケン化エチレンー酢酸ビニル共重合体、エチレンービニルアルコール共重合体、エチレンーメタクリル酸ナトリウム共重合体、ポリアミド、ポリエステル、ポリウレタン、ポリビニルアルコール、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、デンプン、ポリアクリル酸、イソブチレンーマレイン酸共重合体、スチレンーマレイン酸共重合体、ポリアクリルアミド、ポリビニルアセタール、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、イソプレングム、スチレンーブタジエン共重合体、エチレンープロピレン共重合体、ブチルゴム、アクリロニトリルーブタジエン共重合体などが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。

10

【0071】

剥離層102の形成方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ホットメルト塗工法、前記ワックス及び前記バインダー樹脂を溶剤に分散させた塗布液を塗布する方法などが挙げられる。

剥離層102の平均厚みは、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.5 μm 以上50 μm 以下が好ましい。

20

剥離層102の付着量は、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.5 g/m^2 以上50 g/m^2 以下が好ましい。

【0072】

<試薬固相化層>

試薬固相化層103としては、検査装置10における樹脂層15を構成する樹脂を含んでいればよく、その材料に特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

試薬固相化層103の形成方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ホットメルト塗工法や、樹脂層15を構成する樹脂を溶剤に分散させた試薬塗布液を、グラビアコーター、ワイヤーバーコーター、ロールコーター等の一般的な塗布法により、試薬固相化層塗布液を支持体101上又は剥離層102上に塗布し、乾燥することにより形成することができる。

30

【0073】

試薬固相化層103の平均厚みとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、200 nm以上50 μm 以下が好ましい。前記平均厚みが200 nm以上であると、樹脂層15の耐久性が向上し、摩擦や衝撃などにより樹脂層15が破損することを防止できる。また、前記平均厚みが50 μm 以下であると、サーマルヘッドからの熱を均一に伝えることができ、鮮明性が良好となる。

【0074】

試薬固相化層103における試薬塗布液の付着量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.2 g/m^2 以上50 g/m^2 以下が好ましい。前記付着量が、0.2 g/m^2 以上であると、塗布量が適切であり、樹脂層に欠損が生じることない。また、前記付着量が50 g/m^2 以下であると、乾燥時間が適切であり、樹脂層にムラが生じない。

40

【0075】

<剥離層兼試薬固相化層>

剥離層兼試薬固相化層105は、剥離層102と試薬固相化層103の両方の機能を兼ね備えており、転写の際に支持体101と試薬固相化層103との剥離性を向上させ、かつ検査装置10における樹脂層15を構成する樹脂を含むことにより、捕捉抗体17、又は捕捉抗体18などの試薬を固相化することが可能である。

50

【0076】

剥離層兼試薬固相化層105は、サーマルヘッド等の加熱加圧手段で加熱すると支持体101に接している側面が熱溶融して低粘度の液体となる（加熱部分）。一方、試薬が固相化された側面は固体状態か又はそれに近い状態となり（非加熱部分）、加熱部分と非加熱部分との界面近傍での切断を容易にする機能を有する。

【0077】

剥離層兼試薬固相化層105は、ワックス、及びバインダー樹脂を含有し、更に必要に応じてその他の成分を含む。

【0078】

前記ワックスとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、剥離層102と同様のものが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。これらの中でも、剥離性と捕捉抗体の固定化能力（疎水性）に優れている点から、カルナバワックス、ポリエチレンワックスが好ましい。

【0079】

前記バインダー樹脂としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、剥離層102と同様のものが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。

【0080】

剥離層兼試薬固相化層105の形成方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ホットメルト塗工法、前記ワックス及び前記バインダー樹脂を溶剤に分散させた塗布液を塗布する方法などが挙げられる。

剥離層兼試薬固相化層105の平均厚みとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.5 μm 以上50 μm 以下が好ましい。前記平均厚みが0.5 μm 以上であると、剥離層兼試薬固相化層105（樹脂層15）の耐久性が向上し、摩擦や衝撃などによって樹脂層が破損することを防止できる。また、前記平均厚みが50 μm 以下であると、サーマルヘッドからの熱を均一に伝えることができ、鮮明性が良好となる。

剥離層兼試薬固相化層105の付着量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.5 g/m^2 以上50 g/m^2 以下が好ましい。前記付着量が0.5 g/m^2 以上であると、塗布量が適切であり剥離層兼試薬固相化層105（樹脂層15）に欠損が生じることがない。また、前記付着量が50 g/m^2 以下であると、乾燥時間が適切となり、剥離層兼試薬固相化層105にムラが生じることが少ない。

【0081】

－試薬の固相化－

塗布液を乾燥して試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105が形成された後、試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105の表面に、標識抗体16又は捕捉抗体（17, 18）を含む溶液を塗布し、塗膜を形成する。続いて、塗膜を乾燥させることにより、標識抗体16又は捕捉抗体（17, 18）を試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105の表面に固相化させることができる。

複数の検査装置用転写媒体を隙間なく転写することで領域Aと領域Bを備えるテストライン及びコントロールラインを形成する場合、前記塗膜としては、前記抗体の密度が均一になるように形成されたものが好ましい。また、検査装置用転写媒体の時点で複数の領域に分割されている場合、前記塗膜としては、前記樹脂層の前記上流端部側に対応する部分よりも、前記樹脂層の前記下流端部側に対応する部分のほうが、前記抗体の密度が大きくなるように形成されている。なお、前記塗膜としては、前記抗体の密度が、前記上流端部側から前記下流端部側に亘って勾配が大きくなるように塗膜が形成されていること、又は、前記上流端部側から前記下流端部側に亘って一定領域毎に異なる前記抗体の密度の試薬が塗布されていることが好ましい。

【0082】

－標識抗体の固相化－

前記標識抗体の固相化方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105表面に標識抗体による塗布液を塗布して水膜を形成し、自然乾燥、減圧乾燥、凍結乾燥などによりドライアップして固相化する方法、などが挙げられる。

前記水膜は、均一な厚みとなるように塗布されていることが好ましい。

前記標識抗体の塗布量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、標識抗体に金コロイド標識抗体を用いる場合は、OD（光学濃度）が1.0～2.0のものを樹脂層の単位面積（ cm^2 ）当り、20 μL 以上600 μL 以下塗布するのが好ましい。前記塗布量が20 μL 以上であると、金コロイド標識抗体の量が適切であり、ラインの呈色強度が良好となる。また、前記塗布量が600 μL 以下であると、金コロイド標識抗体の量が適切であり、ラインの呈色が良好となる。

10

前記塗布液の乾燥方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、通気乾燥、真空乾燥、自然乾燥、凍結乾燥などが挙げられる。これらの中でも、低湿度下での自然乾燥、又は減圧下乾燥が好ましい。

乾燥時の湿度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、相対湿度で30%以下が好ましい。乾燥時の湿度が前記相対湿度で30%以下であると、乾燥が適切となり、前記抗体を十分に固相化できる点で有利である。

前記塗布液の乾燥温度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、室温以上50℃以下が好ましい。前記乾燥温度が20℃以上であると、前記塗布液の乾燥を適切に行うことができるとともに生産性が向上し、また、50℃以下であると、試薬が熱により変性することを防止できる点で有利である。

20

前記塗布液の乾燥時間としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、30分間以上24時間以下が好ましい。前記乾燥時間が30分間以上であると、前記塗布液の乾燥を適切に行うことができ、24時間以下であると、生産性が向上するとともに変色を防止できる点で有利である。

【0083】

ー捕捉抗体の固相化ー

前記捕捉抗体の固相化方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105表面に前記捕捉抗体による塗布液を塗布して水膜を形成し、自然乾燥、減圧乾燥、凍結乾燥などによりドライアップして固相化する方法（ドライアップ法）、あるいは前記塗布液が乾燥しないよう多湿環境下で静置した後、試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105表面を蒸留水などで洗浄し、乾燥して固相化する方法（吸着後乾燥する方法）などが挙げられる。いずれも塗膜は、均一な厚みとなるように塗布されていることが好ましい。

30

【0084】

前記捕捉抗体をドライアップ法により固相化する場合の乾燥方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、通気乾燥、真空乾燥、自然乾燥、凍結乾燥などが挙げられる。これらの中でも、低湿度下での自然乾燥、又は減圧下乾燥させることが好ましい。

前記塗布液の乾燥時の湿度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、相対湿度で30%以下が好ましい。乾燥時の湿度が前記相対湿度で30%以下であると、乾燥が適切となり、前記抗体を十分に固相化できる点で有利である。

40

前記塗布液の乾燥温度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、室温以上50℃以下が好ましい。前記乾燥温度が20℃以上であると、前記塗布液の乾燥を適切に行うことができるとともに生産性が向上し、また、50℃以下であると、試薬が熱により変性することを防止できる点で有利である。

前記塗布液の乾燥時間としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、30分間以上24時間以下が好ましい。前記乾燥時間が30分間以上であると、前記塗布液の乾燥を適切に行うことができ、24時間以下であると、生産性が向上するとともに変色を防止できる点で有利である。

50

【0085】

前記捕捉抗体を吸着後に乾燥する方法により固相化する場合の静置条件としては、温度が0℃以上40℃以下であることが好ましい。前記静置条件の温度が0℃以上であると、前記捕捉抗体の固相化を適切に行うことができる。また、前記温度が40℃以下であると、前記捕捉抗体が変性することが少ない点で有利である。

前記静置条件の相対湿度としては、30%以上が好ましい。前記静置条件の相対湿度が30%以上であると、静置している間の水分揮発が少ないため、前記抗体以外の不要な成分が多量に固相化されることがない点で有利である。

静置後の洗浄方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、振とう機等を利用して固相化表面に単位面積(cm^2)当り、20 μL 以上100 μL 以下の蒸留水などを注いだ後、室温で緩やかに振とうして洗浄する方法などが挙げられる。

【0086】

洗浄後の乾燥方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、通気乾燥、真空乾燥、自然乾燥、凍結乾燥などが挙げられる。これらの中でも、低湿度下での自然乾燥、又は減圧下乾燥させることが好ましい。

乾燥時の湿度としては、相対湿度で30%以下が好ましい。前記相対湿度が30%以下であると、乾燥が適切であり抗体が十分に固相化できる。

乾燥温度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、室温(20℃)以上50℃以下が好ましい。前記乾燥温度が20℃以上であると、乾燥時間が適切であり生産性が向上する。また、前記乾燥温度が50℃以下であると、試薬が熱により変性することを防止できる。

乾燥時間としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、30分間以上24時間以下乾燥させるのが好ましい。前記乾燥時間が30分間以上であると、乾燥を適切に行うことができ、24時間以下であると、生産性が向上し、樹脂の変色を防止できる。

【0087】

前記捕捉抗体の固相化量としては、前記樹脂層の上流端部側(α)においては、500 ng/cm^2 以上が好ましい。前記捕捉抗体の固相化量が500 ng/cm^2 以上であると、固相化量が適切でありラインの発色強度が十分に得られる。

ここで、前記樹脂層の表面に存在する抗体の固相化量の分析方法としては、例えば、X線光電子分光法(XPS)などが挙げられる。

【0088】

また、前記標識抗体、及び前記捕捉抗体のいずれも、マスキングなどを用いて、異なる前記抗体の密度の塗布液を同じ前記樹脂層の表面に有するように形成してもよい。

【0089】

<バック層>

検査装置用転写媒体100には、支持体101の剥離層102側の面とは反対側の面に、バック層104が設けられていることが好ましい。前記反対側の面には、転写時に、サーマルヘッド等で樹脂層の形状に合わせて熱が直接印加される。このため、バック層104は、高熱への耐性、サーマルヘッド等との摩擦への耐性を有することが好ましい。

【0090】

バック層104は、バインダー樹脂を含有し、更に必要に応じて、その他の成分を含有する。

【0091】

前記バインダー樹脂としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、シリコーン変性ウレタン樹脂、シリコーン変性アクリル樹脂、シリコーン樹脂、シリコーンゴム、フッ素樹脂、ポリイミド樹脂、エポキシ樹脂、フェノール樹脂、メラミン樹脂、ニトロセルロースなどが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。

10

20

30

40

50

【0092】

前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、タルク、シリカ、オルガノポリシロキサン等の無機微粒子、滑剤などが挙げられる。

【0093】

バック層104の形成方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、グラビアコーター、ワイヤーバーコーター、ロールコーターなどが挙げられる。

バック層104の平均厚みとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.01 μm 以上1.0 μm 以下が好ましい。

10

【0094】

<アンダー層>

支持体101と剥離層102との間、剥離層102と試薬固相化層103との間、又は支持体101と剥離層兼試薬固相化層105との間には、アンダー層を設けることができる。

前記アンダー層は、樹脂を含有し、更に必要に応じて、その他の成分を含有してなる。

前記樹脂としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、試薬固相化層103、剥離層102、及び剥離層兼試薬固相化層105で用いた各種樹脂が使用可能である。

【0095】

20

<保護フィルム>

試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105上には、貯蔵の際の汚染及び損傷から保護するために保護フィルムを設けることが好ましい。

前記保護フィルムの材料としては、試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105から容易に剥がすことができるものであれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、シリコーン紙、ポリプロピレン等のポリオレフィンシート、ポリテトラフルオロエチレンシートなどが挙げられる。

前記保護フィルムの平均厚みは、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、5 μm 以上100 μm 以下が好ましく、10 μm 以上30 μm 以下がより好ましい。

30

【0096】

(検査装置の製造方法)

本発明の検査装置の製造方法の第1の実施形態では、本発明の前記第1の実施形態の検査装置用転写媒体の前記試薬固相化層と、多孔質の流路部材とを接触させて、前記試薬固相化層を前記流路部材に転写する工程（以下、「試薬固相化層の転写工程」と称することもある）を含み、更に必要に応じてその他の工程を含んでなる。

【0097】

本発明の検査装置の製造方法の第2の実施形態では、本発明の前記第2の実施形態の検査装置用転写媒体の前記剥離層兼試薬固相化層と、多孔質の流路部材とを接触させて、前記剥離層兼試薬固相化層を前記流路部材に転写する工程（以下、「剥離層兼試薬固相化層の転写工程」と称することもある）を含み、更に必要に応じてその他の工程を含んでなる。

40

【0098】

<試薬固相化層の転写工程又は剥離層兼試薬固相化層の転写工程>

試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105を流路部材12に熱転写する方法としては、検査装置用転写媒体100の試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105と、流路部材12とを接触させて、試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105を流路部材12に転写する方法などが挙げられる。

【0099】

前記熱転写に用いられるプリンタとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択す

50

ることができ、例えば、シリアルサーマルヘッド、ライン型サーマルヘッド等を有するサーマルプリンタなどが挙げられる。

前記熱転写における印加エネルギーは、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、 0.05 mJ/dot 以上 0.5 mJ/dot 以下が好ましい。前記印加エネルギーが 0.05 mJ/dot 以上であると、試薬固相化層103又は剥離層兼試薬固相化層105の溶融を効率よく行うことができる。また、前記印加エネルギーが 0.5 mJ/dot 以下であると、試薬の熱変性を防止でき、支持体101の溶解及びサーマルヘッドが汚れてしまうことがない。

【0100】

－検査装置の用途－

検査装置10の用途としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、血液検査やDNA検査向けの生化学センサ（センシングチップ）、食品や飲料の品質管理用途等における小型の分析機器（化学センサ）などが挙げられる。

【0101】

生化学の分野の検査に用いる試料（検体）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、細菌、ウイルス等の病原体、生体から分離された血液、唾液、組織病片等、糞尿等の排泄物などが挙げられる。更に、出生前診断を行う場合は、羊水中に存在する胎児の細胞、試験管内での分裂卵細胞の一部などであってもよい。また、これらの試料は、直接、又は必要に応じて遠心分離操作等により沈渣として濃縮した後、例えば、酵素処理、熱処理、界面活性剤処理、超音波処理、これらの組合せ等による細胞破壊処理を予め施していてもよい。

【0102】

本実施形態の検査装置10は、流路部材12が固定相として働くため、検査液をクロマトグラフィー（分離、精製）する機能も有する。この場合、内壁が親水性を示す連続気泡を有する流路部材12が固定相（担体）となる。検査液中の各成分は、流路内を浸透する過程で固定相との相互作用の違い、即ち、親疎水性の違いにより流路内を流れる速度に差が生じる。

これは、親水性の高い成分ほど、固定相である多孔質部に吸着しやすく、脱吸着を繰り返す回数が多いため、流路内を浸透する速度が遅くなる。反対に疎水性の高い成分は固定相に吸着することなく浸透するので、流路内をすばやく移動する。検査液中の移動速度の差を利用して、検査液30の対象成分を選択的に抽出して反応させることにより、検査装置10を高機能な化学又は生化学用途のセンサとして用いることができる。

【0103】

<検査方法>

本発明に関する検査方法は、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、検査装置10の流路部材12に、親水性の検査液を供給する工程と、樹脂層15aに固相化されている標識抗体16（試薬の一例）を、検査液30と接触させることにより、樹脂層15aから放出させる工程とを含み、更に必要に応じてその他の工程を含む。

【0104】

検査装置10を用いて検査する方法としては、検査装置10の流路部材12に、検査液30を供給する工程と、検査液30に抗原31が含まれる場合に、抗原31（検体の一例）を、樹脂層15bに固相化されている捕捉抗体17により捕捉させる工程とを含むものであってもよい。

【0105】

具体的な処理としては、まず、検査装置10の流路部材12に設けられた滴下部12c（図4参照）に親水性の検査液30を滴下して供給する。次いで、供給された検査液30と、樹脂層15aに固相化されている標識抗体16とを接触させ、樹脂層15aから標識抗体16を放出させる。検査液30に抗原31が含まれている場合、樹脂層15aから放出された標識抗体16は抗原31と反応して結合する（図6参照）。

【0106】

次に、標識抗体 16 及び抗原 31 を含む検査液 30 は、流路部材 12 に沿って展開され樹脂層 15 b が配置された領域に到達する。樹脂層 15 b における流路部材 12 に対向する面に固相化されている捕捉抗体 17 は、標識抗体 16 が結合した状態の抗原 31 とも結合して捕捉する。なお、捕捉抗体 17 は、疎水基 17 g により樹脂層 15 b に固相化されているので、検査液 30 と接触しても検査液 30 には親和せず放出されにくい。また、一部の捕捉抗体 17 が検査液 30 中に放出されたとしても、流路部材 12 を構成する繊維に即座に結合する。これにより、標識抗体 16 は、樹脂層 15 b の近傍に固定化されることになるのでテストラインが明瞭に呈色する（図 7 A 及び図 7 B 参照）。

【0107】

樹脂層 15 b において捕捉されずに通過した標識抗体 16 は、流路部材 12 に沿って展開され樹脂層 15 c が配置された領域に到達する。本実施形態において、樹脂層 15 c における流路部材 12 に対向する面には、疎水基を有する捕捉抗体 18 が固相化されている。標識抗体 16 は、この捕捉抗体 18 と結合することにより、捕捉される。

捕捉抗体 18 は、疎水基により樹脂層 15 c に固相化されているので、検査液 30 と接触しても検査液 30 には親和せず放出されにくい。また、一部の捕捉抗体 18 が検査液 30 中に放出されたとしても、流路部材 12 を構成する繊維に即座に結合する。これにより、標識抗体 16 は、樹脂層 15 c の近傍に固定化されることになるのでコントロールラインが明瞭に呈色する（図 8 A 及び図 8 B 参照）。

【0108】

（検査キット）

本発明の検査キットは、本発明の前記検査装置と、検体を採取するための検体採取手段、及び前記検体を処理するための液体から選択される少なくとも 1 つと、を有し、更に必要に応じてその他の部材を有してなる。

【0109】

図 12 に示したように、前記検査キットは、本発明の検査装置 10 と、検体を採取するための器具（検体採取手段の一例）、及び検体を処理するための液体の少なくとも 1 つと、を有する。

前記検体を採取する器具としては、例えば、咽頭又は鼻腔等から検体を採取するための滅菌綿棒 51 などが挙げられる。

前記検体を処理するための液体としては、例えば、検体を希釈するための希釈液 52、検体を抽出するための抽出液などが挙げられる。

前記その他の部材としては、例えば、取り扱い説明書、などが挙げられる。

【0110】

前記実施形態では、樹脂層 15 に固相化されている試薬が抗原又は抗体である場合について説明したが、本発明はこの実施形態に限定されるものではない。例えば、ケミカルアッセイで用いられる指示薬を利用した検査装置にも展開できる。

ここで、ケミカルアッセイで用いられる指示薬としては、溶液の化学的性質を指示する試薬を指し、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、pH 指示薬、鉛イオン、銅イオン、亜硝酸イオン等の各種イオンと反応して変色する各種イオノフォア、各種農薬と反応して変色する試薬などが挙げられる。

【0111】

前記実施形態では、転写の際に、検査装置用転写媒体 100 における支持体 101 と試薬固相化層 103 又は剥離層兼試薬固相化層 105 とを熱により剥離する例について説明したが、本発明はこの実施形態に限定されるものではない。例えば、支持体 101 と試薬固相化層 103 又は剥離層兼試薬固相化層 105 とを光によって剥離してもよい。この場合、剥離層 102 又は剥離層兼試薬固相化層 105 に、カーボンブラック等の光吸収剤を混ぜておいて、それに光を吸収させて熱を生じさせることにより、剥離層 102 又は剥離層兼試薬固相化層 105 を溶融させ、試薬固相化層 103 又は剥離層兼試薬固相化層 105 剥離してもよい。あるいは、剥離層 102 又は剥離層兼試薬固相化層 105 に、光照射によって変質する材料を混ぜておき、それに光を吸収させて剥離層 102 を脆くすること

10

20

30

40

50

により、試薬固相化層 103 又は剥離層兼試薬固相化層 105 を剥離してもよい。

なお、前記熱転写以外の転写方法としては、例えば、試薬が固相化された試薬固相化層 103 又は剥離層兼試薬固相化層 105 からなるシートをテープなどで流路部材 12 上に貼り付ける方法などが挙げられる。

【0112】

前記実施形態では、流路部材 12 の全体に流路が形成されている例を示したが本発明はこれに限定されない。流路部材 12 の一部に流路を形成する方法としては、例えば、公知の方法により、流路部材 12 の空隙に、疎水性の材料を充填することにより、流路の外縁となる流壁を形成する方法などが挙げられる。

【0113】

前記実施形態では、流路部材 12 上の複数個所に樹脂層 15 が設けられている例を示したが、試薬の種類によっては、流路部材 12 上の一箇所に樹脂層 15 が設けられていてもよい。例えば、検査液 30 中の成分 A と特異的に結合する試薬が固相化された樹脂層 15 a 1 と、それらを捕捉する試薬が固相化された樹脂層 15 b 1 及び 15 c 1 を設けた流路部材 12 上に、更に、検査液中の成分 B と特異的に結合する試薬が固相化された樹脂層 15 a 2 と、それらを捕捉する試薬が固相化された樹脂層 15 b 2 及び 15 c 2 を設けた場合、同時に多成分の検出が可能な検査装置を得ることができる。

【0114】

前記実施形態では、検査液 30 が親水性の場合について説明したが、検査液は親水性に限定されない。検査液 30 としては、例えば、メチルアルコール、エチルアルコール、1-プロピルアルコール、2-プロピルアルコール等のアルコール類、アセトン、MEK（メチルエチルケトン）等のケトン類などの有機溶媒を含む親溶媒性のものであってもよい。この場合、前記実施形態における、「親水性」は「疎水性」に置き換えられ、「疎水性」は「親水性」に置き換えられることになる。

【実施例】

【0115】

以下、本発明の実施例を説明するが、本発明は、これらの実施例に何ら限定されるものではない。

【0116】

（調製例 1）

－バック層塗布液の調製－

シリコン系ゴムのエマルジョン（信越化学工業株式会社製、KS779H、固形分 30 質量％）16.8 質量部、塩化白金酸触媒 0.2 質量部、及びトルエン 83 質量部を混合し、調製例 1 のバック層塗布液を調製した。

【0117】

（調製例 2）

－剥離層兼試薬固相化層（固定用）塗布液の調製－

カルナバワックス 90 質量部、エチレン－酢酸ビニル共重合体 1 質量部、スチレン－ブタジエン共重合体 4 質量部、ブタジエンゴム 4 質量部、アクリロニトリル－ブタジエン共重合体 1 質量部、及びトルエン／メチルエチルケトン（体積比 7／3）溶媒からなる塗布液（株式会社リコー製、B110AX 剥離液）を混合し、調製例 2 の剥離層兼試薬固相化層（固定用）塗布液を調製した。

【0118】

（調製例 3）

－試薬固相化層（放出用）塗布液の調製－

ポリビニルブチラル樹脂（積水化学工業株式会社製、BL-1、ブチラル化度 64 mol％）5 質量部、及びエタノール 95 質量部を混合し、調製例 3 の試薬固相化層（放出用）塗布液を調製した。

【0119】

（調製例 4）

ーテストライン用試薬塗布液の調製ー

Ant i - h u m a n I g G a n t i b o d y (シグマ アルドリッチ社製、I 1 8 8 6) に抗体希釈液としてダルベッコ リン酸緩衝生理食塩水 (C a、M g 不含有、D - P B S (-)、ナカライテスク株式会社製、1 4 2 4 9 - 9 5) を加え、前記抗体の濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ とし、調製例 4 のテストライン用試薬塗布液を調製した。

【0120】

(調製例 5)

ーテストライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 4 において、前記抗体の濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $250\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 4 と同様にして、調製例 5 のテストライン用塗布液を調製した。

10

【0121】

(調製例 6)

ーテストライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 4 において、前記抗体の濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $300\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 4 と同様にして、調製例 6 のテストライン用塗布液を調製した。

【0122】

(調製例 7)

ーテストライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 4 において、前記抗体の濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $350\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 4 と同様にして、調製例 7 のテストライン用塗布液を調製した。

20

【0123】

(調製例 8)

ーテストライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 4 において、前記抗体の濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $900\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 4 と同様にして、調製例 8 のテストライン用塗布液を調製した。

【0124】

(調製例 9)

ーコントロールライン用試薬塗布液の調製ー

H u m a n I g G (シグマ アルドリッチ社製、I 2 5 1 1 - 1 0 M G) に抗体希釈液として前記 D - P B S (-) を加え、 $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ とし、調製例 9 のコントロールライン用試薬塗布液を調製した。

30

【0125】

(調製例 10)

ーコントロールライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 9 において、濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $250\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 9 と同様にして、調製例 10 のコントロールライン用試薬塗布液を調製した。

【0126】

(調製例 11)

ーコントロールライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 9 において、濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $300\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 9 と同様にして、調製例 11 のコントロールライン用試薬塗布液を調製した。

40

【0127】

(調製例 12)

ーコントロールライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 9 において、濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $350\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 9 と同様にして、調製例 12 のコントロールライン用試薬塗布液を調製した。

【0128】

(調製例 13)

ーコントロールライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 9 において、濃度を $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ から $900\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、

50

調製例 9 と同様にして、調製例 13 のコントロールライン用試薬塗布液を調製した。

【0129】

(調製例 14)

ー標識抗体用試薬塗布液の調製ー

金コロイド標識 *Anti-Human IgG antibody* (BAW社製、Gold、平均粒径 40 nm、OD = 15) を調製例 14 の標識抗体用試薬塗布液として調製した。

【0130】

(調製例 15)

ーテストライン用試薬塗布液の調製ー

Anti-hCG モノクローナル抗体 (Medix Biochemica社製、*Anti-Alpha subunit 6601 SPR-5*) に抗体希釈液としてダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (Ca、Mg 不含有、D-PBS (-)、ナカライテスク株式会社製、14249-95) を加え、 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ とし、調製例 15 のテストライン用試薬塗布液を調製した。

【0131】

(調製例 16)

ーテストライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 15 において、濃度を $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ から $250 \mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 15 と同様にして、調製例 16 のテストライン用試薬塗布液を調製した。

【0132】

(調製例 17)

ーコントロールライン用試薬塗布液の調製ー

Anti-mouse IgG antibody (和光純薬工業株式会社製、566-70621) に抗体希釈液として前記 D-PBS (-) を加え、 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ とし、調製例 17 のコントロールライン用試薬塗布液を調製した。

【0133】

(調製例 18)

ーコントロールライン用試薬塗布液の調製ー

調製例 17 において、濃度を $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ から $250 \mu\text{g}/\text{mL}$ に変更した以外は、調製例 17 と同様にして、調製例 18 のコントロールライン用塗布液を調製した。

【0134】

(調製例 19)

ー標識抗体用試薬塗布液の調製ー

金コロイド溶液 (BBI社製、EMGC50) 9 mL に 50 mM に調製した KH_2PO_4 バッファー (pH 7.0) 1 mL を加えた後、更に $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ に調製した *Anti-hCG* モノクローナル抗体 (Medix Biochemica社製、*Anti-hCG 5008 SPR-5*) を 1 mL 加えて攪拌した。これを 10 分間静置した後、1 質量% ポリエチレングリコール水溶液 (和光純薬工業株式会社製、168-11285) を $550 \mu\text{L}$ 加えて攪拌した後、更に、10 質量% BSA 水溶液 (シグマ アルドリッチ社製、A-7906) を 1.1 mL 加えて攪拌した。

【0135】

次に、この溶液を 30 分間遠心した後、1 mL 程度を残して上清を取り除き、超音波洗浄機により金コロイドを再分散した。なお、遠心は遠心分離機 (日立工機株式会社製、himac CF16RN) を用い、遠心加速度 8,000 $\times g$ 、4 $^{\circ}\text{C}$ の条件にて行った。その後、金コロイド保存液 (20 mM Tris-HCl バッファー (pH 8.2)、0.05 質量% ポリエチレングリコール、150 mM NaCl、1 質量% BSA 水溶液、0.1 質量% NaN_3 水溶液) 20 mL に分散し、再び上記と同様の条件にて遠心した後、1 mL 程度を残して上清を取り除き、超音波洗浄機により金コロイドを再分散した。これらの操作を繰り返し、金コロイド保存液の OD が 15 になるようにし、調製例 19 の標識

10

20

30

40

50

抗体用試薬塗布液を調製した。

【0136】

(調製例20)

ー制御ライン用試薬塗布液の調製ー

純水にトリス塩酸塩(シグマ アルドリッチ社製、T5941)及びトリス塩基(シグマ アルドリッチ社製、T6791)を溶かしてpH8.2に調製し、10mMTri s-HCl溶液を得た。更に、10mMTri s-HCl溶液にカゼイン(ナカライテスク社製、25328-02)を溶かして2質量%カゼイン溶液を調製し、調製例20の制御ライン用試薬塗布液を得た。

【0137】

(実施例1)

＜テストライン用熱転写媒体の作製＞

ーバック層の形成ー

支持体としての平均厚み4.5μmのポリエチレンテレフタレート(PET)フィルム(東レ株式会社製、ルミラーF57)の片面に、調製例1のバック層塗布液を塗布し、80℃で10秒間乾燥して、平均厚み0.02μmのバック層を形成した。

【0138】

ー剥離層兼試薬固相化層(固定用)の形成ー

次に、前記PETフィルムにおけるバック層が形成された面とは反対側の面に、調製例2の剥離層兼試薬固相化層(固定用)塗布液を塗布し、40℃で10分間乾燥して、平均厚み20μmの剥離層兼試薬固相化層を形成した。

【0139】

ーテストライン(領域A)用熱転写媒体の作製ー

次に、前記剥離層兼試薬固相化層(固定用)上に、調製例4のテストライン用試薬塗布液を単位面積(cm^2)当たり12μLになるように塗布し水膜を形成した後、前記水膜が乾燥しないよう相対湿度80%に保った容器内に前記テストライン用試薬塗布液が塗布された熱転写媒体を設置して25℃で10分間静置した。静置後、振とう機(WR-3636を装着したShake-XR、共にタイテック株式会社製)に熱転写媒体を、試薬を固相化した側をおもて(表)にして貼り付け、固相化表面に単位面積(cm^2)当たり100μLとなるように蒸留水を注いだ後、25℃で振とう速度を20r/minとして1分間緩やかに振とうした。振とう終了後、熱転写媒体表面から洗浄後の上澄み液をよく切り洗浄した。洗浄後、前記熱転写媒体をそのままの状態温度25℃、相対湿度20%のデシケータ内で15分間乾燥し、剥離層兼試薬固相化層(固定用)に試薬を固相化させた。以上により、テストライン(領域A)用熱転写媒体を得た。

【0140】

ーテストライン(領域B)用熱転写媒体の作製ー

前記テストライン(領域A)用熱転写媒体の作製において、調製例4のテストライン用試薬塗布液を調製例5のテストライン用試薬塗布液に変更した以外は、前記テストライン(領域A)用熱転写媒体の作製と同様にして、テストライン(領域B)用熱転写媒体を得た。

【0141】

ーコントロールライン(領域A)用熱転写媒体の作製ー

前記テストライン(領域A)用熱転写媒体の作製において、調製例4のテストライン用試薬塗布液を調製例9のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例1のコントロールライン(領域A)用熱転写媒体を得た。

【0142】

ーコントロールライン(領域B)用熱転写媒体の作製ー

前記テストライン(領域B)用熱転写媒体の作製において、調製例5のテストライン用試薬塗布液を調製例10のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、前記テス

10

20

30

40

50

トライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例 1 のコントロールライン（領域 B）用熱転写媒体を得た。

【0143】

＜標識抗体用熱転写媒体の作製＞

支持体としての平均厚み 4.5 μm のポリエチレンテレフタレート（PET）フィルム（ルミラー F57、東レ株式会社製）の片面に、前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、バック層及び剥離層兼試薬固相化層（固定用）を形成した後、前記剥離層兼試薬固相化層（固定用）上に、調製例 3 の試薬固相化層（放出用）塗布液を塗布し、40 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間乾燥して、平均厚み 5 μm の試薬固相化層（放出用）を形成した。

次に、前記試薬固相化層（放出用）上に、調製例 14 の標識抗体用試薬塗布液を 14 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ となるように塗布し、真空乾燥機内で、25 $^{\circ}\text{C}$ で 5 時間乾燥して、試薬固相化層（放出用）に試薬を固相化させた。以上により、実施例 1 の標識抗体用熱転写媒体を得た。

【0144】

＜検査装置の作製＞

以下のようにして、図 13A、図 13B、及び図 13C に示す検査装置を作製した。図 13A は、実施例で用いた検査装置の一例を示す上面図である。図 13B は、図 13A の D-D' での断面図である。図 13C は、図 13A のテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。

【0145】

－紙基板の作製－

幅 40 mm × 長さ 80 mm にカットした PET フィルム（東レ株式会社製、ルミラー S10、平均厚み 50 μm ）11 の上部に熱可塑性樹脂としてポリエステル系ホットメルト系接着剤（東亜合成株式会社製、アロンメルト PES375S40）を、ロールコーターを用いて前記 PET フィルム上に平均厚みが 50 μm となるように、190 $^{\circ}\text{C}$ に加熱後、塗工して接着剤層を形成した。

前記接着剤層を形成した PET フィルム 11 を 2 時間以上静置した後、前記接着剤層表面に幅 40 mm × 長さ 70 mm にカットしたニトロセルロースメンブレン（メルクミリポア社製、HF180、空隙率 70%）を、前記接着剤層面の長軸側の一端と各種部材の長軸側の一端（この端を上流端、反対側を下流端とする）を揃えるように重ね、150 $^{\circ}\text{C}$ の温度で 10 秒間、1 kgf/cm² の荷重をかけた。最後に長軸方向に沿って幅 4 mm × 長さ 80 mm となるように切断し、紙基板 12 を得た。

【0146】

ここで、紙基板 12 の空隙率は、紙基板 12 の坪量（g/m²）、平均厚み（ μm ）、及び組成分比重から、下記の計算式 1 により求めたところ、前記紙基板の空隙率は 70% であった。なお、前記紙基板の空隙率が 40% 以上 90% 以下であると、前記紙基板は多孔質であるといえる。

〔計算式 1〕

空隙率（%）＝{1－[坪量（g/m²）／平均厚み（ μm ）／組成分比重]}×100

【0147】

－標識抗体の転写－

紙基板 12 と前記標識抗体用熱転写媒体の試薬が固相化されている側とを対向させて重ね合わせた後、熱転写プリンタを用いて、図 13A～図 13C に示したように、紙基板 12 の上流端から 20 mm 離れた位置に、前記標識抗体用熱転写媒体を幅 3 mm × 長さ 10 mm のパターン状に転写した（樹脂層 15a）。

前記熱転写プリンタは、ドット密度 300 dpi（TDK 株式会社製）のサーマルヘッドを有し、印字速度 8.7 mm/sec、印字エネルギー 0.35 mJ/dot の評価系システムを構築したものである。

【0148】

ーテストライン及びコントロールラインの転写ー

図13A～図13Cに示したように、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15mm離れた位置に、まず、前記テストライン（領域A）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.4mmのライン状に転写した。次に、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15.4mm離れた位置に、領域Aと隙間がないようにして前記テストライン（領域B）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.4mmのライン状に転写した（樹脂層（テストライン）15b）。

更に、前記テストライン用熱転写媒体の転写位置から5mm離れた位置に前記コントロールライン（領域A）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.4mmのライン状に転写した。次に、前記テストライン用熱転写媒体の転写位置から5.4mm離れた位置に、領域Aと隙間がないようにして前記コントロールライン（領域B）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.4mmのライン状に転写した（樹脂層（コントロールライン）15c）。なお、各ラインは、前記標識抗体の転写と同様の印字条件で形成した。

【0149】

ー吸収部材の作製ー

図13A～図13Bに示したように、吸収部材14（メルクミリポア社製、S u r e w i c k C 2 4 8）を設けることにより、実施例1のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を得た。

【0150】

<ライン評価>

ー検査液の調製ー

展開液として、0.1質量% T w e e n 2 0（シグマ アルドリッチ社製、P 9 4 1 6 - 5 0 M L）のD - P B S（-）溶液を調製した。

次に、H u m a n I g Gに前記展開液を加え、前記抗体の濃度を500 μ g/mLに調製した検査液を得た。

【0151】

ー反応ー

図13A～図13Cに示すイムノクロマトアッセイの上流端部に、前記検査液を100 μ L滴下し、展開の様子を観察した。

【0152】

ーラインの発色均一性の評価ー

反応が終了したイムノクロマトアッセイのテストラインについて、以下のようにして、画像解析による数値処理（発色のピーク面積率の算出）により発色性の評価を行った。

具体的には、まず、光学顕微鏡（キーエンス社製、デジタルマイクロスコープV H X - 5 0 0 0）を用いて、発色したテストラインを倍率100倍で拡大し、デジタル画像として記録した。得られたデジタル画像を、画像処理ソフト（I m a g e J）を用いて、スムージング及び背景減算の画像処理を行った。次に、デジタル画像の流路部材における検体が流れる方向（展開方向X）について、実際のサイズに換算して幅2.5mm×高さ2mm相当の長方形でテストラインをまたぐように範囲を選択して、展開方向Xに沿ったピクセル輝度を二次元グラフに変換することでテストラインの発色分布を得た。ここで、二次元グラフのx軸は展開方向Xに沿った距離、y軸は展開方向Xに垂直方向のピクセル輝度（g l a y v a l u e）の平均値を示す。なお、y軸は、発色していない部分よりも、発色している部分のほうが、ピクセル輝度の数値が低くなる。最後にベースラインを引き、ピークの立ち上がりから終了までとベースラインに囲まれた範囲を発色のピーク面積（S p）とした。また、ピークに含まれるベースラインを底辺、ピークの頂点とベースラインの距離を高さとしたとき、これらをそれぞれ1辺とした長方形のうち、ピークに外接する最小の矩形領域を発色領域面積（S a）とし、それぞれ算出した。

以上のようにしてテストラインの発色ピークに関する面積S p、S aを測定し、下記算出式から発色領域面積に占めるピーク面積の割合を求め、評価基準に基づき発色の均一性を評価した。結果を表4に示す。

10

20

30

40

50

なお、評価基準の例を表 1 に示す。表 1 は、それぞれ評価後のテストラインのデジタル画像と画像解析した発色の分布図（二次元グラフ）であり、x 軸の 0 mm 側は検体が流入する側の端部（α）を含む領域での発色であり、2.5 mm 側は検体が流出する側の端部（β）を含む領域での発色である。

〔発色の均一性の算出式〕

発色の均一性（D）＝ピーク面積（S_p）／発色領域面積（S_a）

〔発色の均一性の評価基準〕

○： 0.70 < D ≤ 1.00 （発色が均一である）

△： 0.55 < D ≤ 0.70 （発色がやや不均一である）

×： 0.00 ≤ D ≤ 0.55 （発色が不均一である）

10

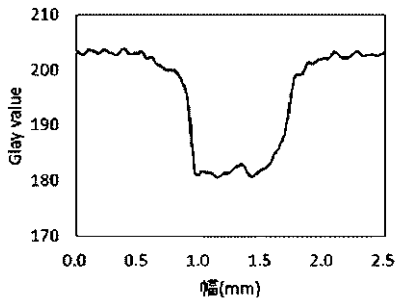
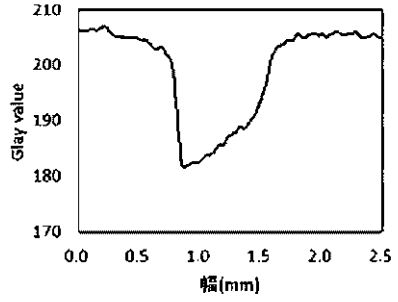
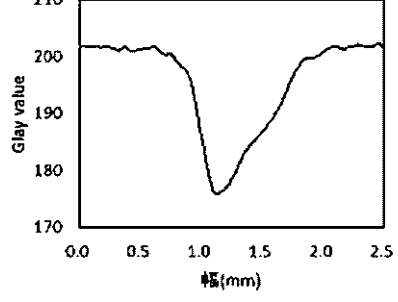
なお、D 値が小さいほどラインの発色が不均一であることを示し、D 値が大きくなるほど、ライン全体が均一に発色していることを示す。

【0153】

また、コントロールラインについても同様に発色の均一性を評価した。結果を表 5 に示す。

【0154】

【表 1】

評価	発色の分布とラインの拡大画像
○	
△	
×	

20

30

40

【0155】

（実施例 2）

<テストライン用熱転写媒体の作製>

50

ーテストライン（領域 A）用熱転写媒体の作製ー

実施例 1 において、前記テストライン用熱転写媒体の作製における前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体の作製で、前記剥離層兼試薬固相化層（固定用）上に、調製例 4 のテストライン用試薬塗布液の塗布量を単位面積（ cm^2 ）当たり $11 \mu\text{L}$ になるように変更した以外は、前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体と同様にして、実施例 2 のテストライン（領域 A）用熱転写媒体を得た。

【0156】

ーテストライン（領域 B）用熱転写媒体の作製ー

実施例 1 において、前記テストライン用熱転写媒体の作製における前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体の作製で、前記剥離層兼試薬固相化層（固定用）上に、調製例 4 のテストライン用塗布液を調製例 6 のテストライン用塗布液に変更し、調製例 6 のテストライン用塗布液の塗布量を単位面積（ cm^2 ）当たり $11 \mu\text{L}$ になるように変更した以外は、前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体と同様にして、実施例 2 のテストライン（領域 B）用熱転写媒体を得た。

【0157】

<コントロールライン用熱転写媒体の作製>

ーコントロールライン（領域 A）用熱転写媒体の作製ー

実施例 2 の前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体の作製において、調製例 4 のテストライン用試薬塗布液を調製例 9 のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例 2 のコントロールライン（領域 A）用熱転写媒体を得た。

【0158】

ーコントロールライン（領域 B）用熱転写媒体の作製ー

実施例 2 の前記テストライン（領域 B）用熱転写媒体の作製において、調製例 6 のテストライン用試薬塗布液を調製例 11 のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例 2 のコントロールライン（領域 B）用熱転写媒体を得た。

【0159】

次に、実施例 1 において、実施例 2 のテストライン用熱転写媒体、及び実施例 2 のコントロールライン用熱転写媒体を用いた以外は、実施例 1 と同様にして、実施例 2 のイムノクロマトアッセイ（検査装置 10）を作製し、実施例 1 と同様の評価を行った。結果を表 4 及び表 5 に示した。

【0160】

（実施例 3）

<テストライン用熱転写媒体の作製>

ーテストライン（領域 A）用熱転写媒体の作製ー

実施例 1 の前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体の作製において、前記剥離層兼試薬固相化層（固定用）への調製例 4 のテストライン用試薬塗布液の塗布量を単位面積（ cm^2 ）当たり $12 \mu\text{L}$ から $10 \mu\text{L}$ になるように変更した以外は、前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体と同様にして、実施例 3 のテストライン（領域 A）用熱転写媒体を得た。

【0161】

ーテストライン（領域 B）用熱転写媒体の作製ー

実施例 1 において、前記テストライン用熱転写媒体の作製における前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体の作製で、前記剥離層兼試薬固相化層（固定用）上に、調製例 4 のテストライン用塗布液を調製例 7 のテストライン用塗布液に変更し、調製例 7 のテストライン用試薬塗布液の塗布量を単位面積（ cm^2 ）当たり $12 \mu\text{L}$ になるように変更した以外は、前記テストライン（領域 A）用熱転写媒体と同様にして、実施例 3 のテストライン（領域 B）用熱転写媒体を得た。

以上により、実施例 3 のテストライン用熱転写媒体を得た。

10

20

30

40

50

【0162】

＜コントロールライン用熱転写媒体の作製＞

ーコントロールライン（領域A）用熱転写媒体の作製ー

実施例3の前記テストライン（領域A）用熱転写媒体の作製において、調製例4のテストライン用試薬塗布液を調製例9のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、実施例3の前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例3のコントロールライン（領域A）用熱転写媒体を得た。

【0163】

ーコントロールライン（領域B）用熱転写媒体の作製ー

実施例3の前記テストライン（領域B）用熱転写媒体の作製において、調製例7のテストライン用試薬塗布液を調製例12のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、実施例3の前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例3のコントロールライン（領域B）用熱転写媒体を得た。

10

【0164】

次に、実施例1において、実施例3のテストライン用熱転写媒体、及び実施例3のコントロールライン用熱転写媒体を用いた以外は、実施例1と同様にして、実施例3のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

【0165】

（実施例4）

20

＜テストライン用熱転写媒体の作製＞

ーテストライン（領域A1）用熱転写媒体の作製ー

実施例1のテストライン（領域A）用熱転写媒体と同様の方法により、テストライン（領域A1）用熱転写媒体を得た。

【0166】

ーテストライン（領域A2）用熱転写媒体の作製ー

実施例1の前記テストライン（領域A）用熱転写媒体の作製において、前記剥離層兼試薬固相化層（固定用）上に、調製例4のテストライン用試薬塗布液の塗布量を単位面積（ cm^2 ）当たり20 μL になるように塗布して水膜を形成した後、前記熱転写媒体をそのままの状態温度25℃、相対湿度20%のデシケータ内で30分間乾燥し、剥離層兼試薬固相化層（固定用）に試薬を固相化させた以外は、前記テストライン（領域A）用熱転写媒体と同様にして、実施例4のテストライン（領域A2）用熱転写媒体を得た。

30

【0167】

ーテストライン（領域B）用熱転写媒体の作製ー

実施例1のテストライン（領域B）用熱転写媒体と同様の方法により、テストライン（領域B）用熱転写媒体を得た。

【0168】

＜コントロールライン用熱転写媒体の作製＞

ーコントロールライン（領域A1及び領域A2）用熱転写媒体の作製ー

実施例4において、前記テストライン（領域A1）用熱転写媒体の作製、及び前記テストライン（領域A2）用熱転写媒体の作製で、調製例4のテストライン用試薬塗布液を調製例9のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例4のコントロールライン（領域A1及び領域A2）用熱転写媒体を得た。

40

【0169】

ーコントロールライン（領域B）用熱転写媒体の作製ー

前記テストライン（領域B）用熱転写媒体の作製で、調製例5のテストライン用試薬塗布液を調製例10のコントロールライン用試薬塗布液に変更した以外は、前記テストライン用熱転写媒体の作製と同様にして、実施例4のコントロールライン（領域B）用熱転写媒体を得た。

50

【0170】

ーテストライン及びコントロールラインの転写ー

図13A、図13B、及び図13Dに示したように、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15mm離れた位置に、まず前記テストライン（領域A1）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.2mmのライン状に転写した。

次に、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15.2mm離れた位置に、領域A1と隙間がないようにして前記テストライン（領域A2）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.2mmのライン状に転写し、更に、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15.4mm離れた位置に、領域A2と隙間がないようにして前記テストライン（領域B）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.4mmのライン状に転写した（樹脂層（テストライン）15b）。 10

また、前記テストライン用熱転写媒体の転写位置から5mm離れた位置に前記コントロールライン（領域A1）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.2mmのライン状に転写した。

次に、前記テストライン用熱転写媒体の転写位置から5.2mm離れた位置に、領域A1と隙間がないようにして前記コントロールライン（領域A2）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.2mmのライン状に転写した。更に、前記テストライン用熱転写媒体の転写位置から5.4mm離れた位置に、領域A2と隙間がないようにして前記コントロールライン（領域B）用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.4mmのライン状に転写した（樹脂層（コントロールライン）15c）。なお、各ラインは、実施例1における前記標識抗体の転写と同様の印字条件で形成した。 20

【0171】

上述のテストライン用熱転写媒体及びコントロールライン用熱転写媒体作製、またテストライン及びコントロールラインの転写以外は、実施例1と同様にして、実施例4のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

【0172】

（比較例1）

ーテストライン及びコントロールラインの転写ー

実施例1のテストライン（領域A）用熱転写媒体とコントロールライン（領域A）用熱転写媒体を用い、図14A～図14Cに示したように、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15mm離れた位置に、前記テストライン用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.8mmのライン状に転写した（樹脂層（テストライン）15b）。更に、前記テストライン用熱転写媒体の転写位置から5mm離れた位置に前記コントロールライン用熱転写媒体を幅4mm×長さ0.8mmのライン状に転写した（樹脂層（コントロールライン）15c）。なお、各ラインは、実施例1の前記標識抗体の転写と同様の印字条件で形成した。 30

【0173】

上述のテストライン及びコントロールラインの転写以外は、実施例1と同様にして、比較例1のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。 40

【0174】

（比較例2）

<検査装置の作製>

ーテストライン及びコントロールラインの形成ー

実施例1のテストライン及びコントロールラインの転写において、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15mm離れた位置、さらにそこから0.4mm離れた位置に、実施例1のテストライン（領域A及び領域B）用熱転写媒体をそれぞれ転写する代わりに、調製例8のテストライン用試薬塗布液を、陽圧噴霧装置（BioDot社製、BioJet）を用いて幅4mm×長さ0.8mmのライン状に単位面積（ cm^2 ）当り16 μL になるように塗布した（テストライン15b）。図15Aは、比較例で用いた検査装置の一 50

例を示す上面図である。図15Bは、図15AのF-F'での断面図である。図15Cは、図15Aのテストライン及びコントロールラインの一例の示す部分拡大説明図である。

更に、前記テストラインの位置から5mm離れた位置に、調製例13のコントロールライン用塗布液を、陽圧噴霧装置を用いて幅4mm×長さ0.8mmのライン状に単位面積(cm^2)当たり16 μL になるように塗布した(コントロールライン15c)。塗布後、20℃で相対湿度20%の環境下で16時間乾燥した。

このとき、塗布液は毛細管現象により多孔質内を拡散するため、ラインの前記抗体の密度は連続的に分布しており、液体の拡散によりぬれ広がった部分(ラインの両端)にいくほど前記抗体の密度が低くなっていると推察される。これにより、 α と β の前記抗体の密度は等しくなっているものと考えられる。

10

【0175】

次に、実施例1において、テストライン及びコントロールラインの転写を上述の通りに変更した以外は、実施例1と同様にして、比較例2のイムノクロマトアッセイ(検査装置)を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

【0176】

(比較例3)

<検査装置の作製>

ーテストライン及びコントロールラインの形成ー

比較例1のテストライン及びコントロールラインの転写において、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から14mm離れた位置にテストライン用制御ラインとして、調製例20の制御ライン用試薬塗布液を、陽圧噴霧装置(BioDot社製、BioJet)を用いて幅4mm×長さ1.0mmのライン状に単位面積(cm^2)当たり50 μL になるように塗布し、更に、前記テストライン用制御ラインの位置から5mm離れた位置に、コントロールライン用制御ラインとして、調製例20の制御ライン用試薬塗布液を、陽圧噴霧装置を用いて幅4mm×長さ1.0mmのライン状に単位面積(cm^2)当たり50 μL になるように塗布し、20℃で相対湿度20%の環境下で1時間乾燥した。

20

次に、前記テストライン用制御ラインの近傍(前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から15mm離れた位置)に調製例8のテストライン用試薬塗布液を、比較例2と同様に陽圧噴霧装置を用いて幅4mm×長さ0.8mmのライン状に塗布した(樹脂層(テストライン)15b)。

30

更に、前記コントロールライン用制御ラインの近傍(前記テストラインの位置から5mm離れた位置)に調製例13のコントロールライン用試薬塗布液を、比較例2と同様に陽圧噴霧装置を用いて幅4mm×長さ0.8mmのライン状に塗布した(樹脂層(コントロールライン)15c)。

塗布後、20℃で相対湿度20%の環境下で16時間乾燥した。このとき、塗布液は毛細管現象により多孔質内を拡散するため、ラインの前記抗体の密度は連続的に分布しており、液体の拡散によりぬれ広がった部分(ラインの両端)にいくほど前記抗体の密度が低くなっていると推察されるが、制御ラインによって毛細管現象による拡散が抑制されることで、 β よりも α のほうが前記抗体の密度が高くなっているものと考えられる。

【0177】

実施例1において、テストライン及びコントロールラインの転写を上述の通りに変更した以外は、実施例1と同様にして、比較例3のイムノクロマトアッセイ(検査装置)を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

40

【0178】

(実施例5)

実施例1において、テストライン(領域A)用熱転写媒体の作製に調製例4のテストライン用試薬塗布液を用いる代わりに、調製例15のテストライン用試薬塗布液を用い、テストライン(領域B)用熱転写媒体の作製に調製例5のテストライン用試薬塗布液を用いる代わりに、調製例16のテストライン用試薬塗布液を用いた。

また、コントロールライン(領域A)用熱転写媒体の作製に調製例9のテストライン用

50

試薬塗布液を用いる代わりに、調製例 17 のコントロールライン用試薬塗布液を用い、コントロールライン（領域 B）用熱転写媒体の作製に調製例 10 のテストライン用試薬塗布液を用いる代わりに、調製例 18 のコントロールライン用試薬塗布液を用いた。

実施例 1 において、前記標識抗体用熱転写媒体の作製に調製例 14 の標識抗体用試薬塗布液を用いる代わりに、調製例 19 の標識抗体用試薬塗布液を用いた以外は、実施例 1 と同様にして、実施例 5 のイムノクロマトアッセイ（検査装置 10）を作製した。

【0179】

＜ライン評価＞

－検査液の調製－

展開液として、0.1 質量% Tween 20（シグマ アルドリッチ社製、P9416－50 mL）／D－PBS（－）溶液を調製した。次に、hCG（アールアンドディーシステムス社製、リコンビナント hCG、7727－CG－010）に上述の展開液を加え、50 mL に調製し、検査液を得た。

【0180】

－反応－

イムノクロマトアッセイの上流端部に前記検査液を 100 μ L 滴下し、15 分間後、イムノクロマトアッセイを観察した。

【0181】

－ライン濃度の測定、及びラインの発色均一性評価－

実施例 1 と同様にして、ライン濃度、及びラインの視認性の評価を実施した。結果を表 4 及び表 5 に示した。

【0182】

（比較例 4）

－テストライン及びコントロールラインの転写－

実施例 5 のテストライン（領域 A）用熱転写媒体とコントロール（領域 A）用熱転写媒体を用い、図 14A～図 14C に示したように、前記標識抗体用熱転写媒体の転写位置から 15 mm 離れた位置に、前記テストライン用熱転写媒体を幅 4 mm×長さ 0.8 mm のライン状に転写した（樹脂層（テストライン）15b）。更に、前記テストライン用熱転写媒体の転写位置から 5 mm 離れた位置に前記コントロールライン用熱転写媒体を幅 4 mm×長さ 0.8 mm のライン状に転写した（樹脂層（コントロールライン）15c）。なお、各ラインは、実施例 1 の前記標識抗体の転写と同様の印字条件で形成した。

【0183】

上述のテストライン及びコントロールラインの転写以外は、実施例 5 と同様にして、比較例 4 のイムノクロマトアッセイ（検査装置 10）を作製し、実施例 5 と同様の評価を行った。結果を表 4 及び表 5 に示した。

【0184】

（実施例 6）

実施例 1 において、前記標識抗体用熱転写媒体の作製で、実施例 1 の標識抗体用熱転写媒体を作製する代わりに、図 16A～図 16C に示したように、幅 10 mm×長さ 3 mm のパターン状に金コロイド標識抗体として金コロイド標識 anti-human IgG（Gold 40 nm、OD=15、BAW 社製）を 5 μ L 塗布して、コンジュゲートエリア 19 を作製した。なお、図 16A～図 16C 中 12 はニトロセルロースメンブレンフィルター、14 は吸収部材、11 は PET フィルムを示す。また、図 16C 中の破線は、テープを示す。

【0185】

次に、実施例 1 における前記テストライン及びコントロールラインの転写で、標識抗体用熱転写媒体の転写位置から 10 mm 離れた位置にテストライン（領域 A）用熱転写媒体及びテストライン（領域 B）用熱転写媒体をそれぞれ幅 4 mm×長さ 0.4 mm のライン状に転写する代わりに、テストライン（領域 A）用熱転写媒体及びテストライン（領域 B）用熱転写媒体をそれぞれ幅 4 mm×長さ 0.4 mm のライン状に切り抜き、テストライ

ン（領域A）用フィルム及びテストライン（領域B）用フィルムを作製した。更に、前記テストライン（領域A）用フィルム及びテストライン（領域B）用フィルムの試薬が固相化されている側を紙基板に対向させて重ね合わせた。次に、テストライン（領域A及び領域B）用フィルムを被うように幅4mm×長さ3.0mmのライン状に切り抜いた粘着テープ（スリーエムジャパン株式会社製、スコッチメンディングテープ 810-1-18）を、前記テストライン（領域A及び領域B）用フィルムと前記粘着テープの長軸方向の中心線が重なるように貼り付け、テストライン15bを形成した。

次に、テストライン用熱転写媒体から5mm離れた位置に、前記テストライン15bの場合と同様にして、コントロールライン（領域A）用熱転写媒体及びコントロールライン（領域B）用熱転写媒体をそれぞれ幅4mm×長さ0.4mmのライン状に切り抜き、コントロールライン（領域A）用フィルム及びコントロールライン（領域B）用フィルムを作製した。更に、前記コントロールライン（領域A）用フィルム及びコントロールライン（領域B）用フィルムの試薬が固相化されている側を紙基板に対向させて重ね合わせた。次に、コントロールライン（領域A及び領域B）用フィルムを被うように幅4mm×長さ3.0mmのライン状に切り抜いた粘着テープ（スリーエムジャパン株式会社製、スコッチメンディングテープ 810-1-18）を、前記コントロールライン（領域A及び領域B）用フィルムと前記粘着テープの長軸方向の中心線が重なるように貼り付け、コントロールライン15cを形成した。

【0186】

実施例1において、上記の点を変更した以外は、実施例1と同様にして、実施例6のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

【0187】

（比較例5）

実施例6において、前記テストライン及びコントロールラインの転写で、実施例1のテストライン（領域A及び領域B）用熱転写媒体及びコントロールライン（領域A及び領域B）用熱転写媒体の代わりに、テストライン（領域A）用熱転写媒体及びコントロールライン（領域A）用熱転写媒体を用い、それぞれを幅4mm×長さ0.8mmに切り抜き、テストライン用フィルム及びコントロールライン用フィルムを作製した。

【0188】

上述の工程以外は、実施例6と同様にして、比較例5のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

【0189】

（実施例7）

実施例1において、前記検査装置の作製で、実施例1の紙基板を作製する代わりに、以下の手順によりテストストリップを作製した。

【0190】

＜テストストリップの作製＞

－標識抗体保持パッドの作製－

金コロイド標識抗体として、金コロイド標識 *anti-human IgG*（Gold 40nm、OD=15、BAW社製）を、幅3.5mm、長さ16mmに切断したグラスファイバーパッド（GFCP203000、メルクミリポア社製）に1.5μL/cm²となるように塗布し、5時間減圧乾燥し、標識抗体保持パッドを作製した。

【0191】

－テストライン及びコントロールラインの形成－

次に、幅3.5mm×長さ38mmに切断したニトロセルロースメンブレンフィルター（HF180、メルクミリポア株式会社製、空隙率70%）上の、図17A～図17Cに示した位置に、実施例1と同様にして、テストライン15b及びコントロールライン15cを形成した。

【0192】

10

20

30

40

50

－組み立て－

図17A～図17Cに示したように、テストライン15b及びコントロールライン15cを形成したニトロセルロースメンブレンフィルター12を、幅3.5mm×長さ76mmに切断したPETフィルム（ルミラーS10、東レ株式会社製、平均厚み100μm）11の長軸側の一端から32mm離れた位置に、試薬塗布面とは反対側とPETフィルム11とが対向するように接着した。

次に、上記で作製した標識抗体保持パッド15aを、ニトロセルロースメンブレンフィルター12の上面に、ニトロセルロースメンブレンフィルターの上流端が2mm重なるように配置して貼り付けた。更に、幅3.5mm×長さ34mmのサンプルパッド（旭化成せんい株式会社製、ベンコットM-3II）を標識抗体保持パッドの上面に16mm重なるように配置して貼り付け、サンプル滴下パッド20とした。

次に、吸収部材14としての幅3.5mm×長さ25mmの吸収パッド（メルクミリポア社製、Surewick C248）をニトロセルロースメンブレンフィルター12の上面に、PETフィルム11の下流端と19mm重なるように配置して貼り合わせ、テストストリップを得た。

【0193】

－ハウジング－

測定用のハウジングケースに、前記テストストリップを収め、実施例7のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を得た。

【0194】

－評価－

作製した実施例7のイムノクロマトアッセイについて、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

【0195】

（比較例6）

実施例7において、実施例1のテストライン（領域A及び領域B）用熱転写媒体及びコントロールライン（領域A及び領域B）用熱転写媒体を、テストライン（領域A）用熱転写媒体及びコントロールライン（領域A）用熱転写媒体に代えてテストライン15b及びコントロールライン15cを形成した以外は、実施例1と同様にして、比較例6のイムノクロマトアッセイ（検査装置10）を作製し、実施例1と同様の評価を行った。結果を表4及び表5に示した。

【0196】

次に、実施例1～7及び比較例1～6の内容をまとめて表2及び表3に示した。

【0197】

10

20

30

【表 2】

	標識抗体		テストライン											
	抗体種	調製例	抗体種	領域Aの調製例	領域Bの調製例	塗布濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		B	塗布量 ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)		B	抗体密度 (ng/cm^2)		B
						A	A2		A	A2		A	A2	
						A1		A1	A2		A1	A2		
実施例1	金標識 αhIgG	14	αhIgG	4	5	100		250	12		12	1,200		3,000
実施例2	金標識 αhIgG	14	αhIgG	4	6	100		300	11		11	1,100		3,300
実施例3	金標識 αhIgG	14	αhIgG	4	7	100		350	10		12	1,000		4,200
実施例4	金標識 αhIgG	14	αhIgG	4	5	100	100	250	12	20	12	1,200	2,000	3,000
比較例1	金標識 αhIgG	14	αhIgG	4		100			12			1,200		
比較例2	金標識 αhIgG	14	αhIgG	8		900			16			14,400		
比較例3	金標識 αhIgG	14	αhIgG	8		900 ^{*1}			16			14,400		
実施例5	金標識 αhCG	19	αhCG	15	16	100		250	12		12	1,200		3,000
比較例4	金標識 αhCG	19	αhCG	15		100			12			1,200		
実施例6	金標識 αhIgG	-	αhIgG	4	5	100		250	12		12	1,200		3,000
比較例5	金標識 αhIgG	-	αhIgG	4		100			12			1,200		
実施例7	金標識 αhIgG	-	αhIgG	4	5	100		250	12		12	1,200		3,000
比較例6	金標識 αhIgG	-	αhIgG	4		100			12			1,200		

10

20

【0198】

【表 3】

	標識抗体		コントロールライン											
	抗体種	調製例	抗体種	領域Aの調製例	領域Bの調製例	塗布濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		塗布量 ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)			抗体密度 (ng/cm^2)			
						A		B	A		B	A		B
						A1	A2		A1	A2		A1	A2	
実施例1	金標識 αhIgG	14	hIgG	9	10	100		250	12		12	1,200		3,000
実施例2	金標識 αhIgG	14	hIgG	9	11	100		300	11		11	1,100		3,300
実施例3	金標識 αhIgG	14	hIgG	9	12	100		350	10		12	1,000		4,200
実施例4	金標識 αhIgG	14	hIgG	9	10	100	100	250	12	20	12	1,200	2,000	3,000
比較例1	金標識 αhIgG	14	hIgG	9	-	100			12			1,200		
比較例2	金標識 αhIgG	14	hIgG	13	-	900			16			14,400		
比較例3	金標識 αhIgG	14	hIgG	13	-	900 ^{*1}			16			14,400		
実施例5	金標識 αhCG	19	αmIgG	17	18	100		250	12		12	1,200		3,000
比較例4	金標識 αhCG	19	αmIgG	17	-	100			12			1,200		
実施例6	金標識 αhIgG	-	hIgG	9	10	100		250	12		12	1,200		3,000
比較例5	金標識 αhIgG	-	hIgG	9	-	100			12			1,200		
実施例7	金標識 αhIgG	-	hIgG	9	10	100		250	12		12	1,200		3,000
比較例6	金標識 αhIgG	-	hIgG	9	-	100			12			1,200		

30

40

【0199】

表 2 及び表 3 中の「金標識 αhIgG 」は、金コロイド標識 $\text{Anti-Human IgG antibody}$ を示す。

表 2 及び表 3 中の「 αhIgG 」は、 $\text{Anti-human IgG antibody}$ を示す。

表 2 中の「 αhCG 」は、 Anti-hCG モノクローナル抗体を示す。

表 3 中の「 αmIgG 」は、 $\text{Anti-mouse IgG antibody}$ を示す

50

。

＊１：テストライン及びコントロールライン用制御ライン近傍に塗布

【０２００】

【表４】

	テストラインの発色均一性	
	D値	均一性
実施例１	0.82	○
実施例２	0.79	○
実施例３	0.76	○
実施例４	0.81	○
比較例１	0.63	△
比較例２	0.51	×
比較例３	0.49	×
実施例５	0.80	○
比較例４	0.62	△
実施例６	0.77	○
比較例５	0.59	△
実施例７	0.78	○
比較例６	0.60	△

【０２０１】

【表５】

	コントロールラインの発色均一性	
	D値	均一性
実施例１	0.83	○
実施例２	0.80	○
実施例３	0.79	○
実施例４	0.83	○
比較例１	0.66	△
比較例２	0.53	×
比較例３	0.50	×
実施例５	0.81	○
比較例４	0.63	△
実施例６	0.80	○
比較例５	0.61	△
実施例７	0.79	○
比較例６	0.62	△

【０２０２】

表４及び表５の結果から、実施例１～７は、テストライン及びコントロールラインが前記抗体の密度の異なる領域からなり、前記検体が流入する側の端部（ α ）を含む領域よりも、検体が流出する側の端部（ β ）を含む領域のほうが前記抗体の密度が大きくなっているため、全体が均一に発色したラインを確認できた。

これに対して、比較例 1～6 は、ラインの幅方向に発色の濃淡が生じ、特に比較例 2、3 では細長く視認性の低いラインが認められた。これは、テストラインに固相化した抗体の前記抗体の密度が連続的に分布しており、前記抗体の密度の高い部分がラインの前記流路の前記上流端部側か中央部にあるため、前記流路の下流端部側にいくほど発色が薄くなっていると考えられる。

【0203】

本発明の態様は、例えば、以下のとおりである。

<1> 検体を流すための流路を有する多孔質の流路部材と、前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられた樹脂層と、を有し、前記樹脂層の前記流路部材に対向する面に前記検体と反応する抗体を含む固相化試薬を有し、前記抗体の密度は、前記流路の上流端部側よりも前記流路の下流端部側のほうが大きいことを特徴とする検査装置である。

<2> 前記抗体の密度が、前記樹脂層における前記流路部材に対向する面において、前記流路の前記上流端部側から前記下流端部側に亘って大きくなる前記<1>に記載の検査装置である。

<3> 前記上流端部側の前記抗体の密度が、 500 ng/cm^2 である前記<1>から<2>のいずれかに記載の検査装置である。

<4> 少なくとも一箇所の前記樹脂層における前記流路部材に対向する面において、前記流路の前記上流端部側から前記下流端部側にかけて前記抗体の密度が異なる複数の領域を有する前記<1>から<3>のいずれかに記載の検査装置である。

<5> 前記樹脂層の前記上流端部側を含む領域の前記抗体の密度が、前記下流端部側を含む領域の前記抗体の密度に対して10%以上90%以下である前記<4>に記載の検査装置である。

<6> 前記複数の領域において、前記上流端部側よりも前記下流端部側のほうが、前記抗体の密度が大きい前記<4>から<5>のいずれかに記載の検査装置である。

<7> 前記樹脂層の前記上流端部側を含む領域の流路方向の長さが、前記樹脂層全体の前記流路方向の長さに対して、10%以上50%以下である前記<4>から<6>のいずれかに記載の検査装置である。

<8> 前記樹脂層の全体の前記流路方向の長さが、0.5mm以上2.0mm以下である前記<4>から<7>のいずれかに記載の検査装置である。

<9> 前記検査装置に前記検体を含む前記検査液を滴下して反応させた後の前記樹脂層の発色均一性(D)が、0.80以上である前記<1>から<8>のいずれかに記載の検査装置である。

<10> 前記流路部材の空隙率が、40%以上90%以下である前記<1>から<9>のいずれかに記載の検査装置である。

<11> 前記流路部材の材料が、ろ紙、普通紙、上質紙、水彩紙、ケント紙、合成紙、合成樹脂フィルム、コート層を有する専用紙、布地、繊維製品、フィルム、無機基板、ガラスから選択される少なくとも1種である前記<1>から<10>のいずれかに記載の検査装置である。

<12> 前記流路部材上の少なくとも一箇所に設けられ、前記流路部材に対向する面に捕捉抗体が固相化された第1の樹脂層と、前記流路部材上に設けられ、前記流路部材に対向する面に標識抗体が固相化された第2の樹脂層と、を有する前記<1>から<11>のいずれかに記載の検査装置である。

<13> 前記第1の樹脂層の樹脂が、ポリビニルアルコール類、ポリビニルアセタール樹脂、ポリアクリル酸、アクリル酸-アクリルニトリル共重合体、酢酸ビニル-アクリル酸エステル共重合体、アクリル酸-アクリル酸エステル共重合体、スチレン-アクリル酸共重合体、スチレン-メタクリル酸共重合体、スチレン-メタクリル酸-アクリル酸エステル共重合体、スチレン- α -メチルスチレン-アクリル酸共重合体、スチレン- α -メチルスチレン-アクリル酸-アクリル酸エステル共重合体、スチレン-マレイン酸共重合体、スチレン-無水マレイン酸共重合体、ビニルナフタレン-アクリル酸共重合体、ビニルナフタレン-マレイン酸共重合体、酢酸ビニル-マレイン酸エステル共重合体、酢酸

10

20

30

40

50

ビニルクロトン酸共重合体、酢酸ビニルアクリル酸共重合体、又はこれらの塩から選択される少なくとも1種である前記<12>に記載の検査装置である。

<14> 前記第2の樹脂層の樹脂が、ポリスチレン、ポリスチレン系樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ポリオレフィン系樹脂又は環状ポリオレフィン系樹脂、ポリカーボネート樹脂、ポリエチレンテレフタレート樹脂、ポリメチルメタクリレート樹脂等のメタクリル系樹脂、塩化ビニル樹脂、ポリブチレンテレフタレート樹脂、ポリアリレート樹脂、ポリサルホン樹脂、ポリエーテルサルホン樹脂、ポリエーテルエーテルケトン樹脂、ポリエーテルイミド樹脂、フッ素系樹脂、ポリメチルペンテン樹脂、アクリル系樹脂、繊維素系樹脂から選択される少なくとも1種である前記<12>から<13>のいずれかに記載の検査装置である。

10

<15> 前記<1>から<14>のいずれに記載の検査装置と、検体を採取するための検体採取手段、及び前記検体を処理するための液体から選択される少なくとも1つと、を有することを特徴とする検査キットである。

<16> 支持体と、前記支持体上に設けられた剥離層と、前記剥離層上に設けられた試薬固相化層と、を有し、前記試薬固相化層の表面において、検体が流入する部分に対応する端部よりも、前記検体が流出する部分に対応する端部のほうの前記抗体の密度が大きくなるように前記検体と反応する抗体が固相化されていること特徴とする検査装置用転写媒体である。

<17> 前記抗体の前記抗体の密度が、前記試薬固相化層の前記表面において、前記検体が流入する部分に対応する端部から前記検体が流出する部分に対応する端部に亘って大きくなる前記<16>に記載の検査装置用転写媒体である。

20

<18> 前記試薬固相化層が、剥離層を兼ねた剥離層兼試薬固相化層である前記<16>から<17>のいずれかに記載の検査装置用転写媒体である。

<19> 前記<16>から<17>のいずれかに記載の検査装置用転写媒体の前記試薬固相化層、及び前記<18>に記載の剥離層兼試薬固相化層のいずれかと、多孔質の流路部材とを接触させて、前記試薬固相化層及び剥離層兼試薬固相化層のいずれかを前記流路部材に転写する工程を少なくとも含むことを特徴とする検査装置の製造方法である。

<20> 前記<1>から<14>のいずれかに記載の検査装置の流路部材に、検体を供給する工程と、前記検体の一部を、前記樹脂層に固相化されている試薬により捕捉させる工程と、を含むことを特徴とする検査方法である。

30

【0204】

前記<1>から<14>のいずれかに記載の検査装置、前記<15>に記載の検査キット、前記<16>から<18>のいずれかに記載の検査装置用転写媒体、前記<19>に記載の検査装置の製造方法、及び前記<20>に記載の検査方法は、従来における前記諸問題を解決し、前記本発明の目的を達成することができる。

【符号の説明】

【0205】

10	検査装置
11	基材
12	流路部材
14	吸収部材
15	樹脂層
15a	樹脂層
15b	樹脂層（テストライン）
15c	樹脂層（コントロールライン）
16	標識抗体（試薬の一例）
17	捕捉抗体（試薬の一例）
18	捕捉抗体（試薬の一例）
30	検査液（検体の一例）
50	検査キット

40

50

1 0 0	検査装置用転写媒体
1 1 0	検査装置用転写媒体
1 0 1	支持体
1 0 2	剥離層
1 0 3	試薬固相化層
1 0 4	バック層
1 0 5	剥離層兼試薬固相化層
A	領域
A 1	領域
A 2	領域
B	領域

10

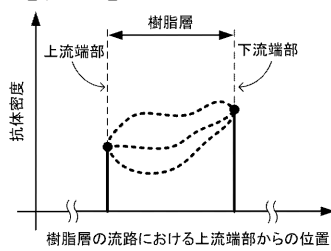
【先行技術文献】

【特許文献】

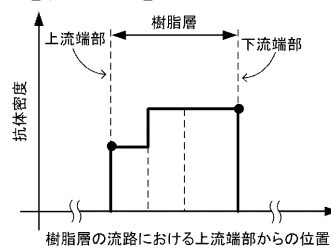
【0206】

【特許文献1】特開2009-264879号公報

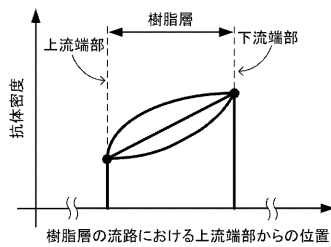
【図1】



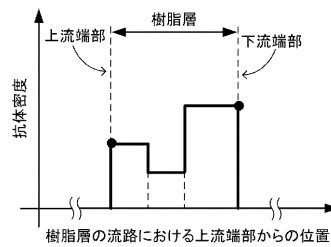
【図3B】



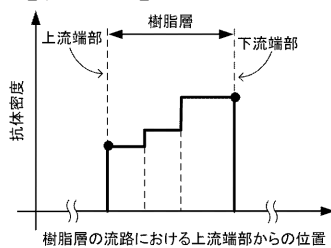
【図2】



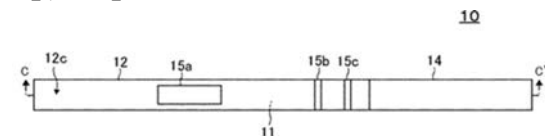
【図3C】



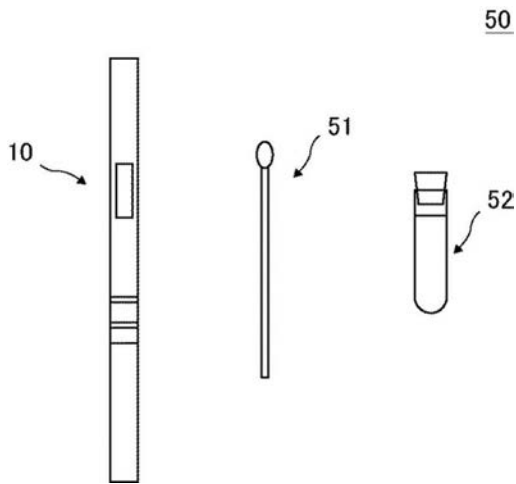
【図3A】



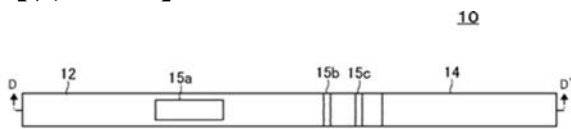
【図4】



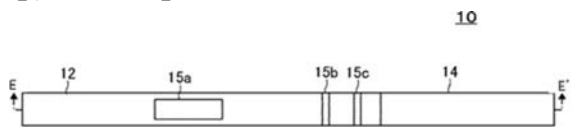
【図 1 2】



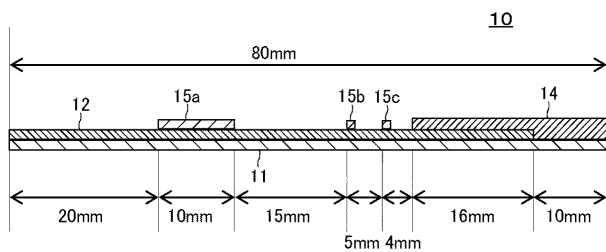
【図 1 3 A】



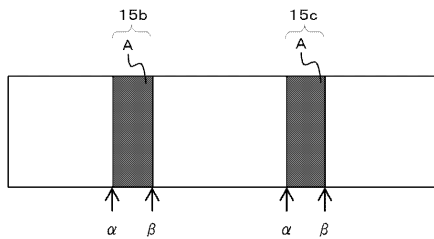
【図 1 4 A】



【図 1 4 B】



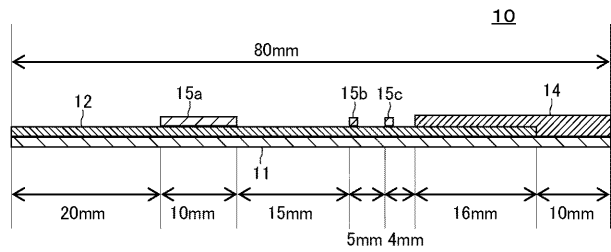
【図 1 4 C】



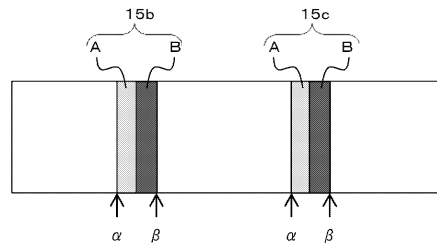
【図 1 5 A】



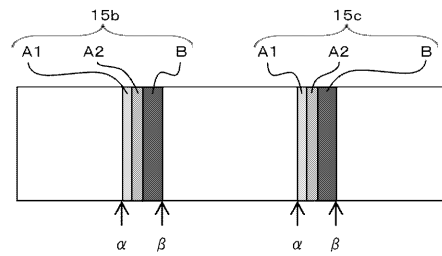
【図 1 3 B】



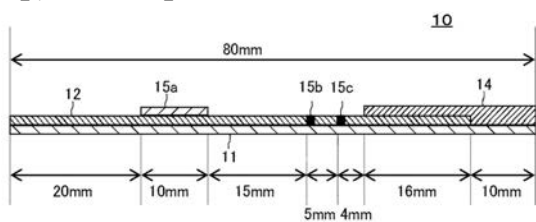
【図 1 3 C】



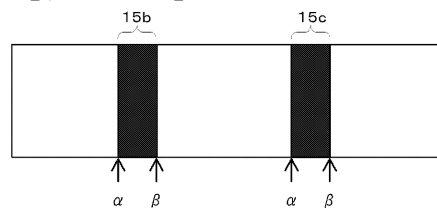
【図 1 3 D】



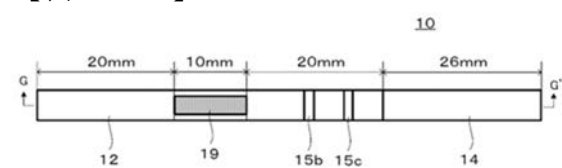
【図 1 5 B】



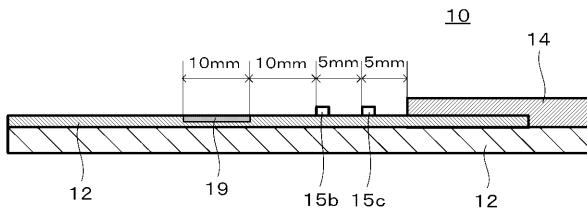
【図 1 5 C】



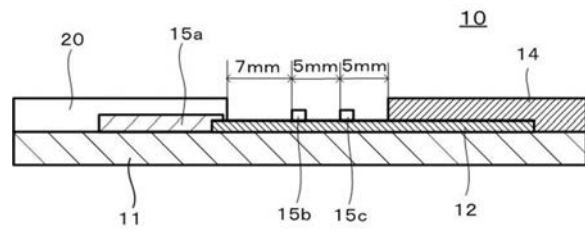
【図 1 6 A】



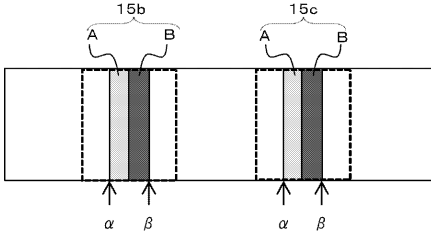
【図 16 B】



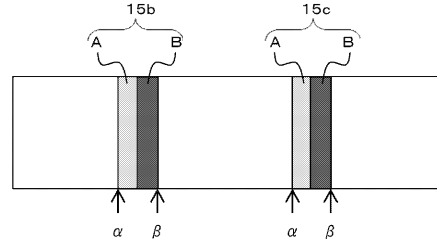
【図 17 B】



【図 16 C】



【図 17 C】



【図 17 A】

