

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2023年6月22日(22.06.2023)



(10) 国際公開番号

WO 2023/112859 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/543 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01) G01N 33/569 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2022/045497
- (22) 国際出願日: 2022年12月9日(09.12.2022)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2021-201692 2021年12月13日(13.12.2021) JP
- (71) 出願人: 積水メディカル株式会社 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 家治 翔平 (YAJI Shohei); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 伊藤 静夏 (ITO Shizuka); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 奥山 慎也 (OKUYAMA Shinya); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 西澤 和純, 外 (NISHIZAWA Kazuyoshi et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: IMMUNOCHROMATOGRAPHY TEST STRIP AND IMMUNOCHROMATOGRAPHY KIT, IMMUNOASSAY METHOD USING SAME, AND SAMPLE FILTRATION METHOD

(54) 発明の名称: イムノクロマトグラフィー用テストストリップ、イムノクロマトグラフィーキット、及びそれらを用いた免疫測定方法、並びにサンプルの濾過方法

(57) Abstract: The present invention provides an immunochromatography test strip for detecting a detection target substance, said test strip being equipped with a sample supply section to which a sample which may contain the detection target substance is supplied, a conjugate section containing a conjugate in which a marker and an antibody or antigen which immunologically reacts to the detection target substance are joined, and a detection section for capturing a compound which contains the detection target substance and the conjugate, wherein the detection target substance is a protein having an isoelectric point of 9.5 or higher, and the sample supply section and/or the conjugate section are formed on a polyester fiber pad or a polyolefin fiber pad.

(57) 要約: 本発明により、被検出物質を検出するためのイムノクロマトグラフィー用テストストリップであって、前記被検出物質を含有する可能性のあるサンプルが供給されるサンプル供給部と、前記被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原と標識体とが結合したコンジュゲートを含有するコンジュゲート部と、前記被検出物質と前記コンジュゲートとを含む複合体を捕捉する検出部と、を備え、前記被検出物質が、等電点9.5以上のタンパク質であり、前記サンプル供給部及び前記コンジュゲート部のいずれか一方又は両方が、ポリエステル繊維パッド上又はポリオレフィン繊維パッド上に形成されているイムノクロマトグラフィー用テストストリップが提供される。



添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称：

イムノクロマトグラフィー用テストストリップ、イムノクロマトグラフィーキット、及びそれらを用いた免疫測定方法、並びにサンプルの濾過方法

技術分野

[0001] 本発明は、等電点9.5以上のタンパク質からなる被検出物質を検出するためのイムノクロマトグラフィー用テストストリップに関する。また、本発明は、前記イムノクロマトグラフィー用テストストリップを含むイムノクロマトグラフィーキットに関する。本発明は、前記イムノクロマトグラフィー用テストストリップ又は前記イムノクロマトグラフィーキットを用いる、等電点9.5以上のタンパク質の免疫測定方法にも関する。本発明は、サンプルの濾過方法にも関する。

本願は、2021年12月13日に日本に出願された特願2021-201692号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 免疫測定方法は、抗原と抗体との反応を利用して、サンプルの中に含まれる物質のレベル（物質の量、濃度、又は存在若しくは不存在）を測定する方法である。免疫測定方法としては、ELISA、イムノクロマトグラフィー等が挙げられる。

[0003] 免疫測定方法は、体内に極微量に存在する異物又は代謝物の検出に用いられている。したがって、免疫測定方法は、それらの異物又は代謝物を高感度で検出できる必要がある。

[0004] 特許文献1では、ガラス製材料を含む検体濾過用のフィルターを用いてインフルエンザウイルスが検出されている。特許文献1に記載の技術のように、ガラス製材料は、検体濾過用の濾過部材のフィルターとして広く用いられている。また、多孔性材料として、グラスファイバーを採用しているイムノクロマトグラフィー用テストストリップも多い。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：日本国特開2012-233928号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明の課題は、等電点9.5以上のタンパク質を高感度で検出可能なイムノクロマトグラフィー用テストストリップ及びそれを用いた免疫測定方法を提供することである。本発明の別の課題は、等電点9.5以上の物質を濾過部材に吸着させない、サンプルの濾過方法を提供することである。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、等電点9.5以上のタンパク質と、ガラスファイバーとを接触させると、タンパク質がガラスファイバーに吸着し、測定感度が低下することを発見した。これまで、被検出物質がガラスファイバーに吸着することにより測定感度が低下すること、そして、そのような測定感度低下を抑制する方法については議論されてこなかった。

本発明者らはさらに検討を重ね、サンプル供給部及びコンジュゲート部のいずれか一方又は両方を、ポリエステル繊維パッド上又はポリオレフィン上に形成することにより、前記課題を解決できることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0008] 具体的に、本発明は以下のとおりである。

<1> 被検出物質を検出するためのイムノクロマトグラフィー用テストストリップであって、

前記被検出物質を含有する可能性のあるサンプルが供給されるサンプル供給部と、

前記被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原と標識体とが結合したコンジュゲートを含有するコンジュゲート部と、

前記被検出物質と前記コンジュゲートとを含む複合体を捕捉する検出部と

、を備え、

前記被検出物質が、等電点9.5以上のタンパク質であり、

前記サンプル供給部及び前記コンジュゲート部のいずれか一方又は両方が、ポリエステル繊維パッド上又はポリオレフィン繊維パッド上に形成されているイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<2> 前記サンプル供給部及び前記コンジュゲート部のいずれか一方又は両方が、ポリエステル繊維パッド上に形成されている、<1>に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<3> イムノクロマトグラフィー用テストストリップ上のサンプル展開方向における前記検出部よりも上流側に、グラスファイバー製の部材を含まない、<1>又は<2>に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<4> 前記コンジュゲート部が、サンプル展開方向における前記ポリエステル繊維パッド又は前記ポリオレフィン繊維パッドの下流端から13mm以内に形成されている、<1>~<3>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<5> 前記コンジュゲート部が、前記ポリエステル繊維パッド上にライン状に形成されている、<1>~<4>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<6> 前記等電点9.5以上のタンパク質が、呼吸器感染ウイルスに由来する、<1>~<5>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<7> 前記呼吸器感染ウイルスが、コロナウイルスである、<6>に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<8> 前記コロナウイルスが、SARS-CoV-2である<7>に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<9> カチオン性物質をさらに含む、<1>~<8>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<10> 前記カチオン性物質が、カチオン性ポリマー、カチオン性界面活性剤、及び金属塩から選択される少なくとも一つである、<9>に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

<11> カチオン性物質を含む検体希釈液と、<1>~<10>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップとを含むイムノクロマトグラフィーキット。

<12> 前記カチオン性物質が、カチオン性ポリマー、カチオン性界面活性剤、金属塩から選択される少なくとも一つである<11>に記載のイムノクロマトグラフィーキット。

<13> ポリエステル繊維製又はポリオレフィン繊維製の部材を含む検体濾過用のフィルターと、<1>~<10>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップとを含むイムノクロマトグラフィーキット。

<14> <1>~<10>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ、又は<11>~<13>のいずれかに記載のイムノクロマトグラフィーキットを用いた、等電点9.5以上のタンパク質の免疫測定方法。

<15> 被検出物質を含むサンプルの濾過方法であって、

前記サンプルを、ポリエステル繊維製又はポリオレフィン繊維製のフィルターを含む検体濾過用の濾過部材で濾過する工程を含み、

前記被検出物質が等電点9.5以上の物質である、サンプルの濾過方法。

<16> <15>に記載のサンプルの濾過方法により調製したサンプル中の前記等電点9.5以上の物質を、イムノクロマトグラフィーにより測定する工程を含み、

前記等電点9.5以上の物質が等電点9.5以上のタンパク質である、被検出物質の免疫測定方法。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、等電点9.5以上のタンパク質をイムノクロマトグラフィーを用いて高感度で分析することができる。また、本発明によれば、等電点9.5以上の物質を濾過部材に吸着させない、サンプルの濾過方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]従来の技術において効果が得られないと考えられるメカニズムを説明する図である。

[図2]本発明において効果が得られると考えられるメカニズムを示す図である。なお、図2に示されるポリエステルの構造は、本発明の原理の説明のために一般的なポリエステルの構造を示したものである。本発明に使用されるポリエステルの構造は、図2に記載のポリエステルの構造に限定されない。

[図3]作製例1で作製したイムノクロマトグラフィー用テストストリップの構成の模式図である。

[図4]サンプルパッド、及びコンジュゲートパッドを含むイムノクロマトグラフィー用テストストリップの実施形態の模式図である。コンジュゲートパッドには、ライン状のコンジュゲート部が配置されている。

[図5]ライン状のコンジュゲート部のライン幅(W)を示す図である。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明において、数値範囲を「～」を用いて表す場合、その数値範囲は「～」の両側の数値を含む。

以下では本発明の実施形態について詳細に説明するが、本発明は後述する実施形態に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない限り種々の変形が可能である。

[0012] [イムノクロマトグラフィー用テストストリップ]

本発明の一実施形態に係るイムノクロマトグラフィー用テストストリップは、被検出物質を検出するためのイムノクロマトグラフィー用テストストリップであって、前記被検出物質を含有する可能性のあるサンプルが供給され

るサンプル供給部と、前記被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原と標識体とが結合したコンジュゲートを含有するコンジュゲート部と、前記被検出物質と前記コンジュゲートとを含む複合体を捕捉する検出部と、を備え、前記被検出物質が、等電点9.5以上のタンパク質であり、前記サンプル供給部及び前記コンジュゲート部のいずれか一方又は両方が、ポリエステル繊維パッド上又はポリオレフィン繊維パッド上に形成されているイムノクロマトグラフィー用テストストリップである。

[0013] 本発明の一実施形態に係るイムノクロマトグラフィー用テストストリップの構成について、図3又は図4を参照しながら以下に説明する。

[0014] 図3は、本実施形態に係るイムノクロマトグラフィー用テストストリップの一例の構成を示す模式図である。図3に示すイムノクロマトグラフィー用テストストリップ100は、バックシート101、コンジュゲートパッド102、吸収パッド103、及び不溶性メンブレン104を有する。イムノクロマトグラフィー用テストストリップ100では、サンプルの流れ方向の上流より下流に向かって、コンジュゲートパッド102、不溶性メンブレン104、吸収パッド103の順で配置されている。それぞれのパッドが、上下のパッドと少なくとも一部が重複するように配置される。コンジュゲートパッド102上には、サンプルの流れ方向の上流より下流に向かって、被検出物質を含有する可能性のあるサンプルが供給されるサンプル供給部（図示せず）及び前記被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原と標識体とが結合したコンジュゲートを含有するコンジュゲート部105が配置されている。前記サンプル供給部及びコンジュゲート部105のいずれか一方又は両方は、ポリエステル繊維パッド上又はポリオレフィン繊維パッド上に形成されている。コンジュゲートパッド102は、例えばポリエステル繊維パッド又はポリオレフィン繊維パッドである。不溶性メンブレン104上には、前記被検出物質と前記コンジュゲートとを含む複合体を捕捉するテストライン（検出部）106及びコントロールライン107が配置されている。

[0015] 図4は、本実施形態に係るイムノクロマトグラフィー用テストストリップ

の別の一例の構成を示す模式図である。図4に示すイムノクロマトグラフィー用テストストリップ200は、バックグシート201、コンジュゲートパッド202、吸収パッド203、不溶性メンブレン204、及びサンプルパッド208を有する。イムノクロマトグラフィー用テストストリップ200では、サンプルの流れ方向の上流より下流に向かって、サンプルパッド208、コンジュゲートパッド202、不溶性メンブレン204、吸収パッド204の順で配置されている。それぞれのパッドが、上下のパッドと少なくとも一部が重複するように配置される。サンプルパッド208上には、被検出物質を含有する可能性のあるサンプルが供給されるサンプル供給部（図示せず）が配置されている。コンジュゲートパッド202上には、前記被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原と標識体とが結合したコンジュゲートを含有するコンジュゲート部205が配置されている。前記サンプル供給部及びコンジュゲート部205のいずれか一方又は両方は、ポリエステル繊維パッド上又はポリオレフィン繊維パッド上に形成されている。サンプルパッド208及びコンジュゲートパッド202のいずれか一方又は両方は、例えばポリエステル繊維パッド又はポリオレフィン繊維パッドである。不溶性メンブレン204上には、前記被検出物質と前記コンジュゲートとを含む複合体を捕捉するテストライン（検出部）206及びコントロールライン207が配置されている。

[0016] 本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ100（200）では、イムノクロマトグラフィー用テストストリップ100（200）上のサンプル展開方向におけるテストライン（検出部）106（206）よりも上流側に、グラスファイバー製の部材を含まないことが好ましい。

[0017] （等電点9.5以上のタンパク質）

本発明において被検出物質となるのは、等電点9.5以上のタンパク質である。等電点9.5以上のタンパク質としては、抗原抗体反応を用いて検出できるものであれば特に限定されず、外因性物質（ウイルス、細菌、投与された薬剤など）、前記外因性物質に起因するタンパク質（外因性物質の代謝

物、細菌による分泌物など）、及び内因性物質（体内で生産される抗体、ホルモンなど）が挙げられる。等電点9.5以上のタンパク質としては、タンパク質の断片、すなわち、等電点9.5以上のペプチド断片も含まれる。

被検出物質は、等電点9.5以上、9.6以上、9.7以上、9.8以上、9.9以上、又は10.0以上のタンパク質であることができる。タンパク質の等電点は、UniProtKBをExPasy Compute pI/Mw (<https://www.expasy.org/resources/compute-pi-mw>) に入力することや、等電点電気泳動により算出することができる。

以下、等電点9.5以上のタンパク質を単に、被検出物質と称することができる。

[0018] 本発明における被検出物質は、好ましくはウイルスであり、より好ましくは呼吸器感染ウイルスであり、さらに好ましくはコロナウイルスであり、最も好ましくはSARS-CoV-2である。SARS-CoV-2は、coronavirus disease 2019 (COVID-19) を引き起こすウイルスである。

[0019] (サンプル)

本実施形態の免疫測定方法において、被検出物質を含有する可能性のあるサンプルとしては、主に生物由来の生体試料、又は生体試料から被検出物質を抽出した抽出液等が挙げられる。液体飲料、半固形食品、及び固形食品等に代表される食品検体、土壌、河川、及び海水等の自然界からのサンプリング検体、並びに工場内の生産ライン又はクリーンルームのふき取り検体も、被検出物質を含有する可能性のあるサンプルとして使用することが可能である。

本実施形態の免疫測定方法において、被検出物質を含有する可能性のあるサンプルとしては、生体試料が好ましい。生体試料としては、血液、血清、血漿、尿、涙液、耳漏、前立腺液、又は呼吸器分泌液が挙げられる。呼吸器分泌液がより好ましい。本明細書において、「呼吸器分泌液」とは、呼吸器の組織内又は表面において分泌される体液を意味する。呼吸器分泌液として

は、鼻孔、鼻腔、咽頭、鼻咽頭、口腔などにおいて分泌される体液が挙げられるが、鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液、唾液、又は喀痰が特に好ましい。なお、本明細書において「呼吸器」とは、呼吸に係る器官の総称であり、鼻前庭から、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、気管支、細気管支を経た肺胞（肺）までの器官をいう。

生体試料を採取する対象は、ヒト又は動物（例えばサル、イヌ、又はネコ）を含み、好ましくはヒトである。生体試料は、対象からの生体試料そのものであってもよく、採取した生体試料に通常行われる希釈、濃縮等の処理を行ったものであってもよい。なお、本発明に用いられる生体試料の採取や調製を行う者は、本実施形態の免疫測定方法を行う者と同一人物でもよく、別人物であってもよい。また、本実施形態の免疫測定方法に用いられる生体試料は、本実施形態の免疫測定方法の実施時に採取又は調製されたものでもよく、予め採取又は調製され保存されたものであってもよい。

[0020] 生体試料中に被検出物質としてSARS-CoV-2又はそのペプチド断片が含まれる場合、その濃度は、0.1~100,000TCID₅₀/mL、1~50,000TCID₅₀/mL、又は10~10,000TCID₅₀/mLであることができる。

[0021] (標識体)

本明細書において「標識体」とは、被検出物質と直接的又は間接的に結合した場合に、前記検出部においてシグナルを発生させる物質を意味する。標識体に由来するシグナルの測定は、公知の方法に従って行えばよい。標識体に由来するシグナルの測定は、例えば吸光度又は反射光の強度を測定することができる。標識体に由来するシグナルは、目視で確認してもよく、特定の測定器を用いて確認してもよい。

[0022] 本実施形態の免疫クロマトグラフィー用テストストリップにおいて使用される標識体としては、従来免疫クロマトグラフィー用テストストリップに用いられている公知の標識体を用いることができる。前記標識体としては、金コロイド粒子若しくは白金コロイド粒子などのコロイド状金属粒子、カ

ラテックス粒子、又は磁性粒子などが好ましく、特に金コロイド粒子が好ましい。前記標識体は、検出部において検出されるために、タグなどで修飾されるか、又は被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体若しくは抗原が固定化されていることが好ましい。

標識体の種類に応じて適当な粒径の標識体を用いることが好ましい。例えば標識体として金コロイド粒子を用いる場合、その粒径としては20～70 nmが好ましく、特に45～65 nmが好ましい。上記の金コロイド粒子は、一般に知られている方法、例えば加熱したテトラクロロ金(III)酸水溶液にクエン酸三ナトリウム水溶液を滴下攪拌することによって製造することができる。

[0023] (被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原)

本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップでは、被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原が固定化されている標識体を用いる。以下、被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原が固定化されている標識体をコンジュゲートと称することがある。尚、本明細書において、抗原又は抗体を固定化させるとは、標識体又は不溶性メンブレンに物理的あるいは化学的に抗原又は抗体を担持させることである。

抗体が標識体に固定化されている場合、標識体に固定化された被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体と、検出部に固定化された被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体とは、別のものであることがより好ましい。なお、別のものとは、種類が異なることをいい、異なるエピトープを認識する抗体をいう。標識体に固定化される抗体と、検出部に固定化される抗体とで、別のものを用いてイムノクロマトグラフィー用テストストリップを作製すると、被検出物質と検出部の抗体との反応と、未反応のコンジュゲートとの反応とが競合するのを抑制することができる。さらに、コンジュゲートと結合した被検出物質と検出部の抗体との反応性を上げることもできる。その結果としてイムノクロマトグラフィー用テストストリップの感度が良好になる。

本実施形態の免疫測定方法において使用される抗体は、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体のいずれも公知の方法に従って作製することができる。本実施形態の免疫測定方法において使用される抗体は、モノクローナル抗体が好ましい。モノクローナル抗体を用いることで、反応の特異性を上げることができる。

また、これらの抗体の分子全体のほかに、抗原抗体反応活性を有する抗体の機能性断片も本明細書では抗体に含まれる。抗体の機能性断片としては、動物への免疫工程を経て得られたもの、遺伝子組み換え技術を使用して得られたもの、そして、キメラ抗体が挙げられる。抗体の機能性断片としては、例えば $F(a b')_2$ 、 $F a b'$ などが挙げられる。これらの機能性断片は前記抗体をタンパク質分解酵素（例えばペプシン又はパパインなど）で処理することにより製造できる。

[0024] (コンジュゲート)

本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップで用いられる、被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原が固定化された標識体、すなわちコンジュゲートは、等電点9.5以上のタンパク質に結合するモノクローナル抗体が金コロイド粒子に固定化されたものが好ましい。

被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原を標識体へ固定化させる方法としては、物理吸着、化学結合等が挙げられる。物理吸着により固定化させることが一般的である。例えば等電点9.5以上のタンパク質に結合するモノクローナル抗体を金コロイド粒子へ固定化させる場合、通常緩衝液に金コロイド粒子及び等電点9.5以上のタンパク質に結合するモノクローナル抗体を添加し、物理吸着によって固定化させる。この際、抗体濃度は20~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に調整されることが好ましい。

コンジュゲートを配置するコンジュゲート部は、サンプルパッド上にライン状に設けてもよく、サンプルパッドと不溶性メンブレンとの間に、後述するコンジュゲートパッドとして設けてもよい。

[0025] (サンプルパッド)

本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップでは、コンジュゲートを保持可能なパッド状の多孔質材料を、サンプルパッドとして用いることができる。サンプルパッドは、ポリエステル繊維又はポリオレフィン繊維により形成されている。サンプルパッドは、その一部にサンプル供給部を有する。サンプル供給部は、被検出物質を含有する可能性のあるサンプルを供給する部位であり、サンプル供給部が存在する側がサンプルパッドの上流側となる。サンプル供給部に供給されたサンプルは、サンプルパッド上を展開して、標識部に到達する。

サンプルパッドが、サンプル供給部と後述するコンジュゲート部との両方を備えていてもよい。この場合、サンプル供給部とコンジュゲート部との両方を備えるパッドは、サンプルパッドであり、同時にコンジュゲートパッドでもある。

[0026] (コンジュゲート部)

本明細書において「コンジュゲート部」とは、イムノクロマトグラフィー用テストストリップにおいて、コンジュゲートを配置している部位である。コンジュゲート部は、ポリエステル繊維上又はポリオレフィン繊維上に形成される。

コンジュゲート部は、サンプルパッド上にライン状で存在してもよく、サンプルパッドと不溶性メンブレンとの間にサンプルパッドとは別体のコンジュゲートパッドとして存在してもよい。コンジュゲートパッドにおいて、コンジュゲートは全体に配置されていてもよく、ライン状に配置されていてもよい。また、コンジュゲート部は、不溶性メンブレン上に存在することもできる。コンジュゲート部は、サンプルパッド上又はコンジュゲートパッド上に、ライン状で存在することが好ましい。

[0027] ライン状のコンジュゲート部は、サンプル展開方向、即ち、サンプルパッドのサンプル供給部の中心と後述する不溶性メンブレンの下流側端部の中心を結ぶ線、に対して直行する方向にライン状に配置されていることが好ましい。換言すれば、ライン状のコンジュゲート部は、サンプルパッド及び不溶

性メンブレンの長手方向に対して垂直の方向にライン状に配置されていることが好ましい。

図5に、コンジュゲートパッド302及びコンジュゲートパッド302上に設けられたライン状のコンジュゲート部305を示す。ライン状のコンジュゲート部305のライン幅Wは、被検出物質の検出に必要な量のコンジュゲートを含有させられる程度の幅があればよく、2～8mmが好ましく、3～7mmがより好ましい。なお、本明細書では、ライン状のコンジュゲート部の、サンプルの展開方向における長さを「ライン幅」と称する。コンジュゲート部のサンプル展開方向における中心が、コンジュゲートパッドを構成するポリエステル繊維パッド又はポリオレフィン繊維パッドのサンプル展開方向における下流端から13mm以内に位置するようコンジュゲート部が形成されていることが好ましい。

[0028] コンジュゲートパッドには、必要に応じて、イムノクロマトグラフィーの信頼性を担保するための「コントロール試薬」、例えば標識体で標識された検体成分とは反応しない抗体、又は標識体で標識されたKLH（スカシ貝ヘモシアニン）などの高抗原性タンパク質などを含むことができる。これらのコントロール試薬は、サンプル中に存在する可能性が考えられない成分（物質）であり、適宜に選択可能である。

[0029] （不溶性メンブレン）

本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップは、被検出物質と前記コンジュゲートとを含む複合体を捕捉する検出部を少なくとも1つ備える。不溶性メンブレンが、検出部を備えることが好ましい。検出部は、ライン状であることが好ましい。検出部には、被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原が固定化されていることが好ましい。検出部がライン状である場合、サンプル展開方向、即ち、サンプルパッドのサンプル供給部の中心と不溶性メンブレンの下流側端部の中心を結ぶ線、に対して直行する方向にライン状に配置されていることが好ましい。換言すれば、ライン状の検出部は、不溶性メンブレンの長手方向に対して垂直の方向にライン状に

配置されていることが好ましい。被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原の不溶性メンブレンへの固定化は、従来公知の方法で実施することができる。

また、測定感度を考慮して、本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップにおいて検出部よりも上流側に、グラスファイバー製の部材を含まないことが好ましい。

[0030] 例えば抗体又は抗原の不溶性メンブレンへの固定化は、次のように行うことができる。上記の抗体又は抗原を所定の濃度で含有する液を調製する。次に、ノズルから液を一定の速度で吐出することのできる機構を有する装置などを用いて、上記液を不溶性メンブレンにライン状、例えばライン幅0.5～5 mm、又は0.5～2 mmのライン状に塗布する。塗布した液を乾燥させることにより、抗体又は抗原を固定化した不溶性メンブレンが得られる。なお、本明細書では、ライン状の検出部の、サンプル展開方向における長さを「ライン幅」と称する。検出部のライン幅は、ライン全体にわたりほぼ同一の幅であること（すなわち、ライン全体にわたり±0.2 mmの幅であること）が好ましい。

ライン状の検出部の一部が下流側及び／又は上流側に突出している場合も考えられる。この場合、突出していない部分及び突出した部分のいずれかが上記のライン幅を有すればよいが、突出していない部分が、上記のライン幅を有することが好ましい。

また、ライン状の検出部の全体に被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原を含む必要はなく、本実施形態の効果が得られる限りにおいて、ライン内に被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原を含まない箇所があってもよい。ライン内に被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原を含まない箇所を有する態様としては、例えばラインが点（ドット）により形成されている場合、細い（例えばライン幅1 mm）複数のラインにより形成されている場合等が考えられる。

[0031] また、上記の抗体又は抗原を所定の濃度で含有する液は、緩衝液に抗体又

は抗原を添加することにより調製することができる。前記緩衝液の種類としては、リン酸緩衝液、トリス緩衝液、グッド緩衝液など通常使用される緩衝液をあげることができる。緩衝液のpHは6.0～9.5の範囲が好ましく、6.5～8.5がより好ましく、7.0～8.0がさらに好ましい。緩衝液には、さらに塩化ナトリウムなどの塩類、スクロースなどの安定剤や保存剤、プロクリンなどの防腐剤等を含んでもよい。

なお、不溶性メンブレンには、従来イムノクロマトグラフィー用テストストリップで用いられているコントロール捕捉試薬を固定化してもよい。前記コントロール捕捉試薬は、アッセイの信頼性を担保するための試薬であって、コンジュゲート又はコンジュゲート部に含ませたコントロール試薬を捕捉するものである

[0032] 本発明で用いられる不溶性メンブレンを構成するメンブレンとしては、紙、セルロース混合物、ニトロセルロース、ポリエステル、アクリロニトリルコポリマー、レーヨン等のような不織繊維からなるパッドが挙げられる。グラスファイバー製のメンブレンは、使用しないことが好ましい。

不溶性メンブレンの全長、すなわち、不溶性メンブレン上流側の端部から下流側の端部までの長さは、当業者であれば適切な長さに調節することができるが、具体的には、15～40mm、18～35mm、又は20～30mmの長さに調節することができる。

[0033] (吸収パッド)

本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップにおいては、上記不溶性メンブレンの下流側端部に吸収パッドを設置することが好ましい。吸収パッドとは、不溶性メンブレンを移動・通過したサンプルを吸収することにより、サンプルの展開を制御する液体吸収性を有する部位である。吸収パッドとしては、従来イムノクロマトグラフィー用テストストリップに用いられている公知の吸収パッドが用いられ、例えばろ紙を用いることができる。

吸収パッドの全長、すなわち、吸収パッド上流側の端部から下流側の端部

までの長さは、当業者であれば適切な長さに調節することができると考えられるが、具体的には、5～100mm、20～80mm、又は20～60mmの長さに調節することができる。

[0034] (イムノクロマトグラフィー用テストストリップ)

イムノクロマトグラフィー用テストストリップは、プラスチック製粘着シートのような固相支持体上にサンプルパッド、不溶性メンブレン等を配置して作製することが好ましい。前記固相支持体は、サンプル及びコンジュゲートの毛管流を妨げない物質で構成する。また、イムノクロマトグラフィー用テストストリップを固相支持体上に接着剤等で固定化してもよい。この場合、接着剤の成分等においてもサンプル及びコンジュゲートの毛管流を妨げない物質で構成する。なお、不溶性メンブレンの機械的強度を上げ且つアッセイ中の水分の蒸発（乾燥）を防ぐ目的でポリエステルフィルムなどをトップフィルムとしてラミネートすることも可能である。前記イムノクロマトグラフィー用テストストリップは、テストストリップの大きさ、サンプルの添加方法及び添加位置、不溶性メンブレンの検出部の形成位置、シグナルの検出方法などを考慮した適当な容器（ハウジング）に格納又は搭載して使用することができ、このように格納又は搭載された状態を「デバイス」という。

本実施形態のイムノクロマトグラフィー用テストストリップは、サンプルパッドと不溶性メンブレンを含み、さらに測定条件、サンプルに応じて他の試薬や部材を含み得る。他の試薬としては、例えば非特異反応を防止するブロッキング剤が挙げられ、他の部材としては、例えばサンプル中における測定に不要な成分を除去するための追加のパッドが挙げられる。例えば被検出物質又は被検出物質を含む複合体が、不溶性メンブレンをスムーズに展開できるようにするために、サンプルパッドと多孔性メンブレンの間に追加のパッドを設けることができる。

[0035] (ポリエステル)

本明細書において、「ポリエステル」とは、多価カルボン酸と多価アルコールを脱水縮合して、エステル結合を形成させることによって合成される重

縮合体を意味する。ポリエステル繊維とは、ポリエステルにより調製されている繊維を意味する。

[0036] ポリエステル繊維としては、ポリエチレンテレフタレート、ポリトリメチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、又はポリエチレンナフタレートにより調製されたポリエステル繊維を用いることができる。

[0037] (ポリオレフィン)

本明細書において、「ポリオレフィン」とは、アルケン由来の構造単位が繰り返し連なった化合物を意味する。ポリオレフィン繊維とは、ポリオレフィンにより調製されている繊維を意味する。

[0038] ポリオレフィン繊維としては、例えばポリプロピレン、ポリエチレン、又はポリスチレンにより調製されたポリオレフィン繊維を用いることができる。

。ポリエステル繊維又はポリオレフィン繊維には、アクリル樹脂などの有機バインダー処理がされていてもよい。

[0039] ポリエステル繊維とポリオレフィン繊維は、その構造内に極性を有しない。したがって、後述するグラスファイバー等の極性を有する材料と比較して、等電点が9.5以上の物質の吸着が少なくなると考えられる。ポリエステル繊維において前記効果が得られたことから、ポリオレフィン繊維を使用した場合においても同様に効果が得られると考えられる。

[0040] ポリエステル繊維パッド又はポリオレフィン繊維パッドは、本発明の効果が得られる限りにおいて、ポリエステル繊維又はポリオレフィン繊維以外の構成繊維を含んでもよいが、ポリエステル繊維のみからなるパッド又はポリオレフィン繊維のみからなるパッドを用いることが好ましい。ポリエステル繊維又はポリオレフィン繊維以外の構成繊維としては、例えば合成繊維ならポリアミド又はアクリル等が挙げられる。天然繊維としては、木綿又は麻等が挙げられる。

[0041] (グラスファイバー)

本明細書において、「グラスファイバー」とは、二酸化ケイ素 (SiO_2)

を構成成分として用いている繊維を意味する。二酸化ケイ素 (SiO_2) を構成成分として用いているガラス 11 では、ガラス転移点よりも低温側では、ケイ素原子 11a 及び酸素原子 11b を頂点とする、 SiO_4 の四面体を基本としたネットワーク構造を持っている (図 1)。このネットワーク構造において、ケイ素原子 11a に結合している酸素原子 11b は、負に帯電している。この負に帯電している酸素原子 11b に、等電点 9.5 以上のタンパク質 12 が吸着して、測定感度が低下すると考えられる (図 1)。

これに対し、本発明では、サンプル供給部及びコンジュゲート部のいずれか一方又は両方を、ポリエスエル又はポリオレフィン 13 で構成された繊維パッド上に形成することにより、等電点 9.5 以上のタンパク質 12 のサンプル供給部又はコンジュゲート部への吸着を抑制することができるので、測定感度が低下しないと考えられる (図 2)。

[0042] (カチオン性物質)

本明細書において、「カチオン性物質」とは、カチオン性の官能基を有することにより、水と接触したときに正電荷を帯びる物質をいう。カチオン性物質が、カチオン性の官能基とアニオン性の官能基の両方を有する場合には、分子全体で正電荷を帯びていればよい。カチオン性物質は、被検出物質と、被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原が結合する際に共存していることが好ましい。

[0043] カチオン性の官能基としては、例えば、1級アミノ基、2級アミノ基、3級アミノ基等のアミノ基；4級アンモニウム基、ホスホニウム基等のオニウム塩基；アルギニル基、リシル基、ヒスチジル基、グアニジル基等のアミノ酸残基；イミダゾール基等の複素環基等を挙げることができる。

カチオン性物質としては、金属塩、カチオン性ポリマー、カチオン性界面活性剤、及びカチオン性ペプチドから成る群から選択される少なくとも一つを挙げることができる。カチオン性物質としては、金属塩、カチオン性ポリマー、又はカチオン性界面活性剤が好ましく、カチオン性ポリマー又はカチオン性界面活性剤がより好ましく、カチオン性ポリマーが最も好ましい。

[0044] (金属塩)

金属塩としては、水溶液内で電離して金属イオンを生じるものを、制限なく使用することができる。上記のようなカチオン性の官能基を有しなくとも、水と接触したときに電離する金属塩は、金属イオンがカチオン性となる。金属イオンとしては、アルカリ金属イオン、アルカリ土類金属イオン、その他の金属イオンが挙げられ、アルカリ金属イオン又はアルカリ土類金属イオンが好ましい。アルカリ金属イオンとしては、例えばリチウムイオン、ナトリウムイオン、カリウムイオンなどを挙げることができ、アルカリ土類金属イオンとしては、例えばマグネシウムイオン又はカルシウムイオンなどを挙げる事ができ、その他の金属イオンとしては、例えば銅イオンなどを挙げる事ができる。アルカリ金属イオンとしてはナトリウムイオンが好ましく、アルカリ土類金属イオンとしてはマグネシウムイオンが好ましい。アルカリ金属塩としては、塩化ナトリウム又はクエン酸ナトリウムが好ましく、アルカリ土類金属塩としては硫酸マグネシウムが最も好ましい。

[0045] (カチオン性ポリマー)

本明細書において、「カチオン性ポリマー」とは、側鎖にカチオン性の官能基を側鎖として有するポリマーを意味する。側鎖となるカチオン性の官能基は、第四級アンモニウム基であることが好ましい。カチオン性ポリマーとしては、臭化ヘキサジメトリン (CAS RN 28728-55-4) 又は 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリンを構成単位として有するカチオン性ポリマーが好ましく、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリンを構成単位として有するカチオン性ポリマーで水に0.5質量%濃度で溶解した水溶液が、25℃において $20 \sim 60 \text{ m}^2/\text{s}$ の動粘度を呈し、かつ、水に0.1質量%濃度で溶解した水溶液が、25℃において $70 \times 10^{-3} \sim 80 \times 10^{-3} \text{ N/m}$ の表面張力を呈し、質量平均分子量 (Mw) が $50 \sim 600 \text{ kDa}$ であるカチオン性ポリマーが最も好ましい。なお、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリンを構成単位として有するカチオン性ポリマーは、Lipidure (登録商標) -BL502として市

販されている。

前記カチオン性ポリマーの水溶液の0.5質量%濃度水溶液の25℃における動粘度 η [m^2/s]は、前記カチオン性ポリマーを水に0.5質量%濃度で溶解した水溶液を25℃においてウベローデ粘度計で測定して得られる粘度 μ [$\text{Pa}\cdot\text{s}$]を前記水溶液の25℃における密度 ρ [kg/m^3]で除して得ることができる。

前記カチオン性ポリマーの0.1質量%濃度水溶液の25℃における表面張力 γ [mN/m]は、前記カチオン性ポリマーを水に0.1質量%濃度で溶解した水溶液を25℃においてデュ・ニュイリング法、ウィルヘルミープレート法、又は滴重法で測定して得ることができる。

前記カチオン性ポリマーの質量平均分子量(Mw)は、ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC: Gel Permeation Chromatography)法によって求めることができる。標準物質としてポリエチレングリコールを用いる。

[0046] (カチオン性界面活性剤)

本明細書において、「カチオン性界面活性剤」とは、水溶液に溶解したときに、界面活性剤において疎水基が結合している部分が、正に帯電している界面活性剤を意味する。カチオン性界面活性剤としては、アルキルアミン塩型界面活性剤又は第四級アンモニウム塩型界面活性剤が挙げられる。

アルキルアミン塩型界面活性剤としては、例えばモノドデシルアミン、モノオクタデシルアミン、ジオクタデシルアミン、トリオクタデシルアミン等の炭素数8~22のアルキル基を1~3つ含むアミンと、塩酸、硫酸等の無機酸あるいは酢酸、乳酸、クエン酸等の低級カルボン酸等との塩等が挙げられる。具体的には、例えばステアリルアミンアセテート[CAS番号: 2190-04-7、製品名: アセタミン86、花王株式会社製]などが挙げられる。

第四級アンモニウム塩型界面活性剤としては、ドデシルトリメチルアンモニウム、オクタデシルトリメチルアンモニウム、ヘキサデシルトリメチルア

ンモニウム、ジデシルジメチルアンモニウム、ベンジルメチルテトラデシルアンモニウム等の炭素数8～22のアルキル基を1～3つ含むアンモニウムと塩素、臭素等との塩等が挙げられる。具体的には、例えばラウリルトリメチルアンモニウムクロリド [CAS番号：112-00-5、製品名：コータミン（登録商標）24P、花王株式会社製] 及びドデシルトリメチルアンモニウムブロミド [CAS番号：1119-94-4、東京化成工業株式会社製] が挙げられる。

[0047] (カチオン性ペプチド)

カチオン性ペプチドは、水に溶解又は分散させた時にカチオン性を示すペプチドを意味する。カチオン性ペプチドは、ペプチドを構成するアミノ酸残基に塩基性アミノ酸残基（アルギニン（Arg）、リシン（Lys）、又はヒスチジン（His））を多く含むものであることができる。

[0048] カチオン性物質の濃度は、被検出物質の種類、サンプルの種類、及び免疫測定方法の種類に応じて、適宜修正することができるが、以下に濃度を例示する。なお、以下の濃度は、カチオン性物質が後述の検体希釈液に含まれる場合とカチオン性物質が検体希釈液ではなくイムノクロマトグラフィー用テストストリップに添加されている場合とのいずれにおいても適用できる。

カチオン性物質の濃度は、金属塩であれば、検体希釈液又はイムノクロマトグラフィー用テストストリップへの添加液基準で、例えば0.1～1,000mM、1～750mM、2～500mM、又は50～500mMである。また、カチオン性ポリマー、カチオン性界面活性剤、又はカチオン性ペプチドであれば、検体希釈液又はイムノクロマトグラフィー用テストストリップへの添加液基準で、例えば0.0001～20質量%、0.0005～10質量%、0.001～5質量%、0.01～1質量%、又は0.01～0.5質量%である。

[0049] [イムノクロマトグラフィーキット]

本実施形態のイムノクロマトグラフィーキットは、検体希釈液と、上述したイムノクロマトグラフィー用テストストリップと、を含む。

[0050] (検体希釈液)

検体希釈液が、販売時にカチオン性物質を含んでいることが好ましいが、イムノクロマトグラフィーキットが、検体希釈液とは別途カチオン性物質を含んでいてもよい。この場合、イムノクロマトグラフィーを行う者が、カチオン性物質と検体希釈液とを混合することができる。なお、「カチオン性物質を含む検体希釈液」とは、販売時に、カチオン性物質が、前記検体希釈液に溶解されている実施形態、及び、販売時には、カチオン性物質が、前記検体希釈液に溶解されていないが、測定時にイムノクロマトグラフィーを行う者が、カチオン性物質を検体希釈液に溶解させる実施形態を含むものとする。

[0051] 検体希釈液は、緩衝液を含むことが好ましい。「緩衝液」は、pHの緩衝作用を有する溶液を意味する。

本発明において用いられる緩衝液は、以下に限定されるものではないが、例えばPBS (phosphate buffered saline)、MES (2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid)、PIPES (piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid)、ACES (N-(2-Acetamido)-2-aminoethanesulfonic acid)、ADA (N-(2-Acetamido)iminodiacetic acid)、Bis-Tris (2,2-Bis(hydroxyethyl)-(iminotris)-(hydroxymethyl)-methane)、Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethane)、MOPS (3-Morpholinopropanesulfonic acid)、HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)、クエン酸緩衝液、グリシン緩衝液、ホウ酸緩衝液又はリン酸緩衝液などの公知の緩衝液を適宜用いることができる。本発明において用いられる緩衝液は、好ましくはリン酸緩衝液である。

[0052] 本実施形態のイムノクロマトグラフィーキットは、検体濾過用のフィルター、検体採取用の綿棒、標準抗原物質、精度管理用抗原試料といった、他の検査試薬及び／又は使用説明書などを含むこともできる。

[0053] [サンプルの濾過方法]

本実施形態のサンプル濾過方法は、被検出物質を含むサンプルの濾過方法

であって、前記サンプルを、ポリエステル繊維製又はポリオレフィン繊維製のフィルターを含む検体濾過用の濾過部材で濾過する工程を含む。前記被検出物質が等電点9.5以上の物質である。

本実施形態のサンプル濾過方法によれば、検体濾過用のフィルターに被検出物質が吸着するのを防止することができる。したがって、免疫測定や核酸検出等の幅広い用途において、測定又は検出前に、被検出物質が検体濾過用のフィルターに吸着することを防止することができる。

[0054] 本実施形態のサンプルの濾過方法は、サンプルをポリエステル又はポリオレフィン製のフィルターを含む検体濾過用の濾過部材で濾過する工程、を含む。濾過部材は、ポリエステル繊維製又はポリオレフィン繊維製のフィルターを1つ含んでもよく、2つ以上を含んでもよい。フィルターの保留粒子径、厚さなどは、本発明の効果が得られる限りにおいて、特に限定されない。

特許文献1に記載のように、検体濾過用の濾過部材のフィルターの材料としてグラスファイバーを採用している濾過部材も多い。本発明では、サンプルをポリエステル繊維製又はポリオレフィン繊維製のフィルターを含む検体濾過用の濾過部材で濾過することにより、等電点9.5以上の物質（タンパク質、核酸など）が、グラスファイバーに吸着することを防止することができる。

[0055] 本実施形態のサンプルの濾過方法は、濾過する工程の前に、必要に応じて、サンプルを検体希釈液で希釈する工程を含むことができる。

[0056] 等電点9.5以上の物質が、等電点9.5以上のタンパク質である場合は、サンプルをポリエステル又はポリオレフィン製のフィルターを含む検体濾過用の濾過部材で濾過する工程により調製したサンプル中の等電点9.5以上の物質を、イムノクロマトグラフィーにより測定することができる。

実施例

[0057] 次に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。なお、特に説明のない限り、%は質量%を意味する。

[0058] ≪作製例1≫ SARS-CoV-2測定用イムノクロマトグラフィー用テストストリップの作製

1) 抗SARS-CoV-2モノクローナル抗体の調製

以下の試験に用いた抗SARS-CoV-2モノクローナル抗体は、リコンビナントSARS-CoV-2核タンパクでマウスを免疫し、当業者がモノクローナル抗体を製造するために通常行う方法により得た。

[0059] 2) 金コロイド標識抗SARS-CoV-2抗体（コンジュゲート）の作製

1 OD/mLの金コロイド溶液20 mLに、25 μg/mLの抗SARS-CoV-2抗体を含むりん酸バッファー1 mLを添加し、室温で10分間攪拌した。続いて金コロイド溶液に10%BSA溶液2 mLを添加し、室温で5分間攪拌した。得られた溶液を、10℃、10,000 rpmで45分間遠心し上清を除去した。残渣を、Conjugate Dilution Buffer（Scripps社）で懸濁し、金コロイド標識抗SARS-CoV-2抗体液を得た。

[0060] 3) コンジュゲートパッドの作製

2)で調製した金コロイド標識抗体液を、1.33%カゼイン、4%スクロース溶液（pH7.5）で4 OD/mLに希釈しコンジュゲート液を調製した。コンジュゲート液をグラスファイバー製パッドにライン幅5 mmのライン状に塗布し、コンジュゲート液を乾燥させてコンジュゲートパッドを得た。

[0061] 4) 抗体固相化メンブレンの作製

0.75 mg/mLの抗SARS-CoV-2抗体及び2.5%スクロースを含むPBSを調製し、テストライン塗布液とした。1.0 mg/mLヤギ抗マウスIgGモノクローナル抗体及び2.5%スクロースを含むPBSを調製し、コントロールライン塗布液とした。イムノクロマト法用ディスペンサー「XYZ3050」（BIO DOT社）を用い、ニトロセルロースメンブレン上に、テストライン塗布液及びコントロールライン塗布液をそれぞれ1.0 μL/cmで塗布し、乾燥させることで、抗体固相化メンブレンを

得た。

[0062] 5) イムノクロマトグラフィー用テストストリップの作製

プラスチック製粘着シートに抗体固相化メンブレン、コンジュゲートパッド、吸収パッドを貼付し、5 mm幅に裁断することで、SARS-CoV-2測定用イムノクロマトグラフィー用テストストリップ（以下、単に「イムノクロマトグラフィー用テストストリップ」ともいう。）を得た。

このイムノクロマトグラフィー用テストストリップの構成を図3に示す。本作製例のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ100において、バックグシート101は、プラスチック製粘着シートからなる。

[0063] ≪実施例1≫コンジュゲートパッド素材によるウイルス抗原測定感度への影響評価1

以下の抗原を、ラピッドテスト FLU・NEXT（積水メディカル社）に付属の検体希釈液にそれぞれ添加し、サンプルを調製した。

A型インフルエンザウイルス（FLU A）抗原：Kitakyusyu 159/93株由来

B型インフルエンザウイルス（FLU B）抗原：Lee 40株由来

RSウイルス抗原：RSV Antigen, Long strain inactivated antigen（Meridian社）

アデノウイルス抗原：Adenovirus Antigen（Fitzgerald社）

SARS-CoV-2抗原：SARS-CoV-2 Nucleocapsid Recombinant Protein（Icosagen社）

サンプル120 μL当たり140 mm²のコンジュゲートパッド素材を10分間浸漬し、パッド部材浸漬サンプルを得た。サンプル及びパッド部材浸漬サンプルを表1に示す条件で測定し、ラピッドテストリーダー（積水メディカル社）でテストラインの吸光度を算出した。パッド部材をサンプルに浸漬した際の抗原の回収率を、下記式により算出した。

回収率（%）＝フィルター部材浸漬サンプル測定時吸光度／サンプル測定時

吸光度×100

各部材をサンプルに浸漬した際の抗原の回収率を表2に示す。FLU A、FLU B、RSウイルス、及び、アデノウイルス抗原は、サンプルにいずれのパッド部材を浸漬した場合にも、抗原回収率が100%±15%以内と良好であった。一方SARS-CoV-2抗原では、サンプルにグラスファイバーパッドを浸漬した場合に抗原回収率が大きく低下した。

[0064] [表1]

抗原	測定試薬	試料量 [μL]	測定時間 [分]
FLU A	ラピッドテスト FLU・NEXT テストデバイス	120	15
FLU B	ラピッドテスト FLU・NEXT テストデバイス	120	15
RS ウイルス	ラピッドテスト RSV-アデノ・NEXT テストデバイス	120	10
アデノ ウイルス	ラピッドテスト RSV-アデノ・NEXT テストデバイス	120	10
SARS-CoV-2	SARS-CoV-2測定用 イムノクロマトグラフィー用 テストストリップ	120	15

[0065] [表2]

抗原	抗原回収率[%]			
	グラス ファイバー パッド1	グラス ファイバー パッド2	ポリエステル 繊維 パッド1	ポリエステル 繊維 パッド2
FLU A	89	92	114	100
FLU B	95	106	106	100
RSウイルス	94	110	101	107
アデノウイルス	107	111	93	102
SARS-CoV-2	51	81	102	104

[0066] 抗原とグラスファイバーとが接触することにより、その後のイムノクロマトグラフィーに供される抗原量が減少し、回収率が低下したと考えられた。

ここで、実施例1に用いた各抗原に含まれ、各測定試薬が検出するタンパク質、及びそれに類似するタンパク質の等電点を表3に示す。各タンパク質の等電点は、UniProtKBをExPASy Compute pI/Mw (<https://www.expasy.org/resources/compute-pi-mw>) に入力することにより算出した。表3より、コロ

ナウイルスであるSARS-CoV-2、MERS-CoV、SARS-CoVのNucleocapsid proteinの等電点のみが9.5以上と高いことが分かる。グラスファイバーは中性の検体希釈液と接触すると負の電荷をもつのにに対し、等電点が10.07のSARS-CoV-2のNucleocapsid proteinは正の電荷をもつ。よって、SARS-CoV-2のNucleocapsid proteinは等電点が9.5未満の他の抗原タンパク質と比較してグラスファイバーに吸着し易いと考えられる。一方、ポリエステルは中性の検体希釈液を接触した際に電荷をもたないため、抗原タンパク質の等電点によらず、抗原タンパク質のパッドへの吸着を認めなかったと考えられる（図2）。

[0067] [表3]

抗原	試薬が検出するタンパク質	UniProtKB	等電点
A型インフルエンザウイルス	Nucleocapsid protein	091743 (NCAP_I93A0)	9.35
B型インフルエンザウイルス	Nucleocapsid protein	P04665 (NCAP_INBLE)	9.40
RSウイルス	Fusion glycoprotein F0	P03420 (FUS_HRSVA)	9.10
アデノウイルス	Hexon protein	P03277 (CAPSH_ADE02)	5.06
SARS-CoV-2	Nucleocapsid protein	PODTC9 (NCAP_SARS2)	10.07
MERS-CoV	Nucleocapsid protein	K9N4V7 (NCAP_MERS1)	10.05
SARS-CoV	Nucleocapsid protein	P59595 (NCAP_SARS)	10.11

[0068] ≪作製例2≫FLU・SARS-CoV-2測定用イムノクロマトグラフィ用テストストリップの作製

1) 抗FLUモノクローナル抗体の調製

以下の試験に用いた抗FLU Aモノクローナル抗体及び抗FLU Bモノクローナル抗体は、FLU A又はFLU B抗原でマウスを免疫し、当業者がモノクローナル抗体を製造するために通常行う方法により得た。

[0069] 2) 金コロイド標識抗FLU抗体（コンジュゲート）の作製

前述の《作製例1》「2) 金コロイド標識抗SARS-CoV-2抗体（コンジュゲート）の作製」と同様の操作で、金コロイド標識抗FLU A抗体液、及び、金コロイド標識抗FLU B抗体液を得た。

[0070] 3) コンジュゲートパッドの作製

2) で調製した金コロイド標識SARS-CoV-2抗体液、金コロイド標識抗FLU A抗体液、及び、金コロイド標識抗FLU B抗体液を、それぞれ40D/mLの濃度で添加した、1.33%カゼイン、4%スクロース溶液（pH7.5）を調製しコンジュゲート液とした。コンジュゲート液をグラスファイバー製パッド、又は、ポリエステル製パッドにライン状に塗布し、コンジュゲート液を乾燥させてコンジュゲートパッドを得た。

[0071] 4) 抗体固相化メンブレンの作製

0.75mg/mLの抗SARS-CoV-2抗体及び2.5%スクロースを含むPBSを調製し、SARS-CoV-2テストライン塗布液とした。同様に、FLU Aテストライン塗布液及びFLU Bテストライン塗布液をそれぞれ調製した。1.0mg/mLヤギ抗マウスIgGモノクローナル抗体及び2.5%スクロースを含むPBSを調製し、コントロールライン塗布液とした。イムノクロマト法用ディスペンサー「XYZ3050」（BIO DOT社）を用い、ニトロセルロースメンブレン上に、テストライン塗布液及びコントロールライン塗布液をそれぞれ1.0μL/cmで塗布し、メンブレンを乾燥させることで、抗体固相化メンブレンを得た。各ラインは、検体展開の上流から、FLU Aテストライン、FLU Bテストライン、SARS-CoV-2テストライン、コントロールラインの順に配置した。

[0072] 5) イムノクロマトグラフィー用テストストリップの作製

プラスチック製粘着シートに抗体固相化メンブレン、コンジュゲートパッド、吸収パッドを貼付し、5mm幅に裁断することで、FLU・SARS-CoV-2測定用イムノクロマトグラフィー用テストストリップを得た。

[0073] 《実施例2》コンジュゲートパッド素材によるウイルス抗原測定感度への影響評価2

ラピッドテスト FLU・NEXTに付属の検体希釈液に、SARS-CoV-2 Nucleocapsid Recombinant Protein (Icosagen社)を450 TCID₅₀/mLの濃度で添加したもの、Kitakyusyu 159/93株由来のFLU A抗原を6.25×10³ TCID₅₀/mLの濃度で添加したもの、又は、Lee 40株由来のFLU B抗原を1.0×10⁵ TCID₅₀/mLの濃度で添加したものをサンプルとした。サンプル120μLをそれぞれFLU・SARS-CoV-2測定用イムノクロマトグラフィー用テストストリップに滴下した。抗原液添加から10分後、ラピッドテストリーダー（積水メディカル社）でテストラインの吸光度を測定した。結果を表4に示す。吸光度はN=3測定の平均値である。コンジュゲートパッド素材を変更した際のFLU A及びFLU Bテストラインの吸光度変動は軽微であった。一方、ポリエステル製のコンジュゲートパッドを使用した場合のSARS-CoV-2テストライン吸光度は、ガラスファイバー製のコンジュゲートパッドを使用した場合の1.4倍に上昇した。ポリエステル製のコンジュゲートパッドを用いることにより、SARS-CoV-2抗原のコンジュゲートパッドへの吸着が抑制され、テストラインに到達する抗原量が増加したことにより、感度が上昇したと考えられる。

[0074] [表4]

コンジュゲートパッド素材	吸光度 [mAbs]	
	ガラスファイバー	ポリエステル
FLU A	32.1	37.2
FLU B	31.0	29.9
SARS-CoV-2	36.0	51.9

[0075] 《実施例3》コンジュゲート部の位置及び測定時間と感度の関係評価

コンジュゲート部の位置及び測定時間を変動させることにより、抗原とパ

ッドとの接触時間が変動した場合の感度を評価した。パッド素材としてグラスファイバー製パッドに加えてポリエステル製パッドを使用したこと、コンジュゲートパッドの検体展開方向の下流端から3、8、又は13mmの位置にコンジュゲートをライン状に塗布したこと以外は、《作製例1》に従ってSARS-CoV-2測定用イムノクロマトグラフィー用テストストリップを作製した。作製したテストストリップに《実施例2》と同様のSARS-CoV-2サンプルを滴下し、5、10、及び15分後にラピッドテストリーダー（積水メディカル社）を用いてテストラインの吸光度を測定した。結果を表5に示す。吸光度はN=3測定の平均値である。いずれのコンジュゲート位置、測定時間においても、パッド素材をグラスファイバーからポリエステルに変更することによって測定感度が上昇した。コンジュゲート位置がコンジュゲートパッド下流端から遠い場合、つまり、抗原とコンジュゲートとの複合体がコンジュゲートパッド上を移動する距離が長い場合に、パッド素材をグラスファイバーからポリエステルに変更した際の測定感度の上昇率が高くなった。また、測定時間が短く、コンジュゲートパッドを通過する抗原量が少ない場合にも、同様の傾向がみられた。

[0076] [表5]

コンジュゲート ライン位置 [mm]	測定時間 [min]	感度[mAbs]		感度比
		グラス ファイバー	ポリエステル	ポリエステル /グラス ファイバー
13	5	7.2	21.9	3.1
8	5	10.8	21.3	2
3	5	18.0	28.4	1.6
13	10	20.0	52.7	2.6
8	10	36.0	51.9	1.4
3	10	27.7	40.9	1.5
13	15	39.0	69.9	1.8
8	15	47.8	60.4	1.3
3	15	28.4	43.0	1.5

[0077] 《実施例4》カチオン性物質の添加による臨床検体測定感度への影響

ラピッドテスト F L U ・ N E X T に付属の検体希釈液（リン酸緩衝液を

含む)に、終濃度で0.05% Lipidure-BL502 (カチオン性ポリマー、日油社)を溶解し、カチオン性物質を含む検体希釈液を調製した。ラピッドテスト FLU・NEXTに付属の検体希釈液、及びカチオン性物質を含む検体希釈液にSARS-CoV-2陽性検体5例をそれぞれ懸濁後、ラピッドテスト FLU・NEXTに付属の検体濾過フィルターで濾過したものをサンプルとした。ポリエステル製パッドを用いてコンジュゲートパッドを作製した以外は、《作製例1》と同様に作製したSARS-CoV-2測定用イムノクロマトグラフィー用テストストリップにサンプル120μLを滴下し、サンプル滴下から10分後、ラピッドテストリーダー (積水メディカル社)でテストラインの吸光度を測定した。結果を表6に示す。いずれの検体についても、検体希釈液にカチオン性ポリマーを添加した場合に感度が上昇した。カチオン性ポリマーの共存下で免疫測定を行なうことによって、等電点が高いSARS-CoV-2核タンパクのイムノクロマトグラフィー用テストストリップへの吸着をさらに抑制できた。

[0078] [表6]

	感度 [mAbs]	
	検体希釈液	カチオン添加 検体希釈液
検体1	21.3	46.5
検体2	45.2	53.6
検体3	35.6	54.5
検体4	21.2	28.3
検体5	104.0	112.7

産業上の利用可能性

[0079] 本発明によれば、等電点9.5以上のタンパク質を高感度で検出可能なイムノクロマトグラフィー用テストストリップを提供することができる。

符号の説明

- [0080] 11 ガラス
- 11a ケイ素原子
- 11b 酸素原子

- 1 2 等電点9.5以上のタンパク質
- 1 3 ポリエステル又はポリオレフィン
- 1 0 0, 2 0 0 イムノクロマトグラフィー用テストストリップ
- 1 0 1, 2 0 1 バッキングシート
- 1 0 2, 2 0 2, 3 0 2 コンジュゲートパッド
- 1 0 3, 2 0 3 吸収パッド
- 1 0 4, 2 0 4 不溶性メンブレン
- 1 0 5, 2 0 5 コンジュゲート部
- 1 0 6, 2 0 6 テストライン (検出部)
- 1 0 7, 2 0 7 コントロールライン
- 2 0 8 サンプルパッド
- 3 0 5 ライン状のコンジュゲート部
- W ライン幅

請求の範囲

- [請求項1] 被検出物質を検出するためのイムノクロマトグラフィー用テストストリップであって、
前記被検出物質を含有する可能性のあるサンプルが供給されるサンプル供給部と、
前記被検出物質に対して免疫学的に反応する抗体又は抗原と標識体とが結合したコンジュゲートを含有するコンジュゲート部と、
前記被検出物質と前記コンジュゲートとを含む複合体を捕捉する検出部と、を備え、
前記被検出物質が、等電点9.5以上のタンパク質であり、
前記サンプル供給部及び前記コンジュゲート部のいずれか一方又は両方が、ポリエステル繊維パッド上又はポリオレフィン繊維パッド上に形成されているイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。
- [請求項2] 前記サンプル供給部及び前記コンジュゲート部のいずれか一方又は両方が、ポリエステル繊維パッド上に形成されている、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。
- [請求項3] イムノクロマトグラフィー用テストストリップ上のサンプル展開方向における前記検出部よりも上流側に、グラスファイバー製の部材を含まない、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。
- [請求項4] 前記コンジュゲート部が、サンプル展開方向における前記ポリエステル繊維パッド又は前記ポリオレフィン繊維パッドの下流端から13mm以内に形成されている、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。
- [請求項5] 前記コンジュゲート部が、前記ポリエステル繊維パッド上にライン状に形成されている、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。
- [請求項6] 前記等電点9.5以上のタンパク質が、呼吸器感染ウイルスに由来

する、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

[請求項7] 前記呼吸器感染ウイルスが、コロナウイルスである、請求項6に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

[請求項8] 前記コロナウイルスが、SARS-CoV-2である請求項7に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

[請求項9] カチオン性物質をさらに含む、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

[請求項10] 前記カチオン性物質が、カチオン性ポリマー、カチオン性界面活性剤、及び金属塩から選択される少なくとも一つである、請求項9に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ。

[請求項11] カチオン性物質を含む検体希釈液と、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップを含むイムノクロマトグラフィーキット。

[請求項12] 前記カチオン性物質が、カチオン性ポリマー、カチオン性界面活性剤、金属塩から選択される少なくとも一つである請求項11に記載のイムノクロマトグラフィーキット。

[請求項13] ポリエステル繊維製又はポリオレフィン繊維製の部材を含む検体濾過用のフィルターと、請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップとを含むイムノクロマトグラフィーキット。

[請求項14] 請求項1に記載のイムノクロマトグラフィー用テストストリップ、又は請求項11に記載のイムノクロマトグラフィーキットを用いた、等電点9.5以上のタンパク質の免疫測定方法。

[請求項15] 被検出物質を含むサンプルの濾過方法であって、

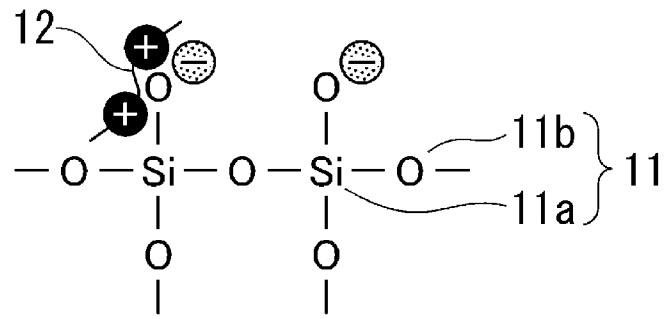
前記サンプルを、ポリエステル繊維製又はポリオレフィン繊維製のフィルターを含む検体濾過用の濾過部材で濾過する工程を含み、

前記被検出物質が等電点9.5以上の物質である、サンプルの濾過

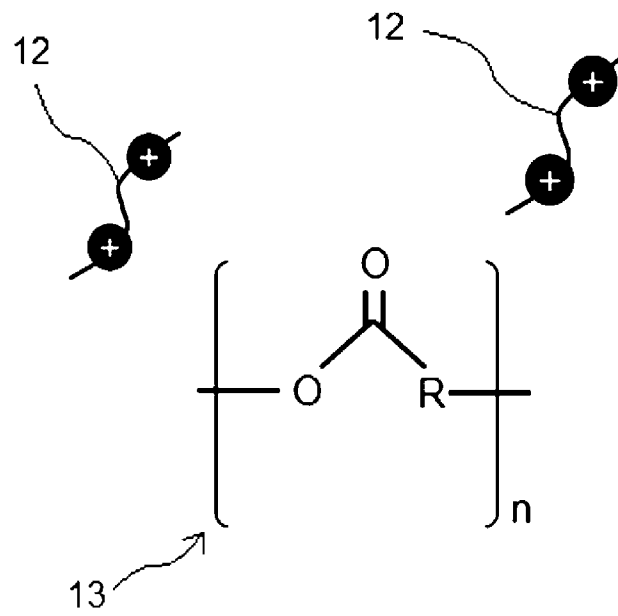
方法。

- [請求項16] 請求項15に記載のサンプルの濾過方法により調製したサンプル中の前記等電点9.5以上の物質を、イムノクロマトグラフィーにより測定する工程を含み、
前記等電点9.5以上の物質が等電点9.5以上のタンパク質である、被検出物質の免疫測定方法。

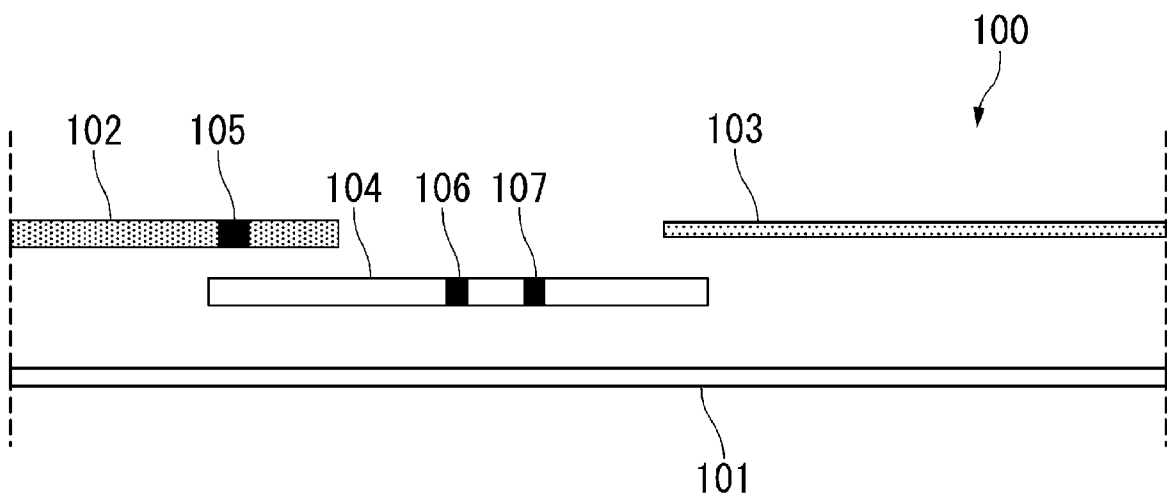
[図1]



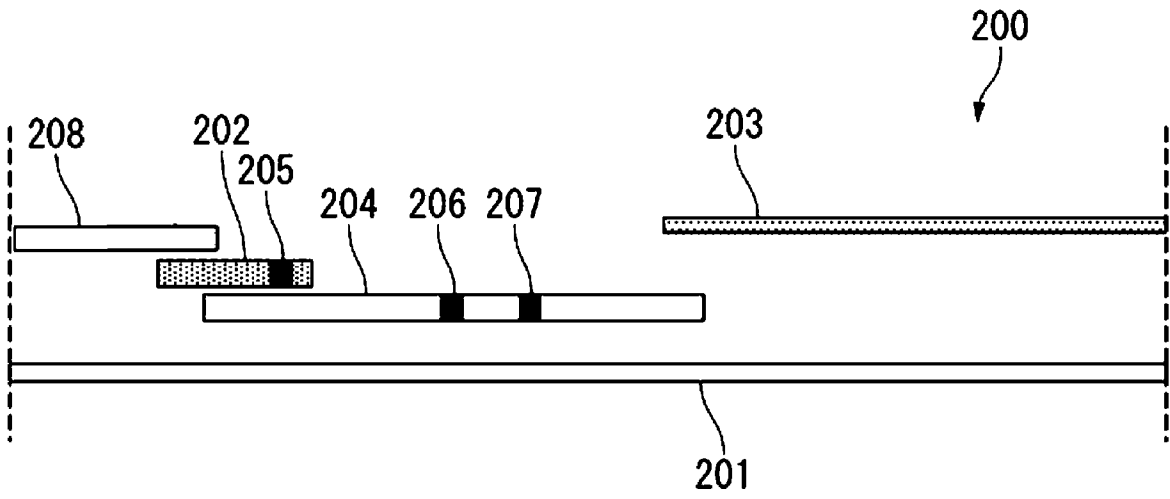
[図2]



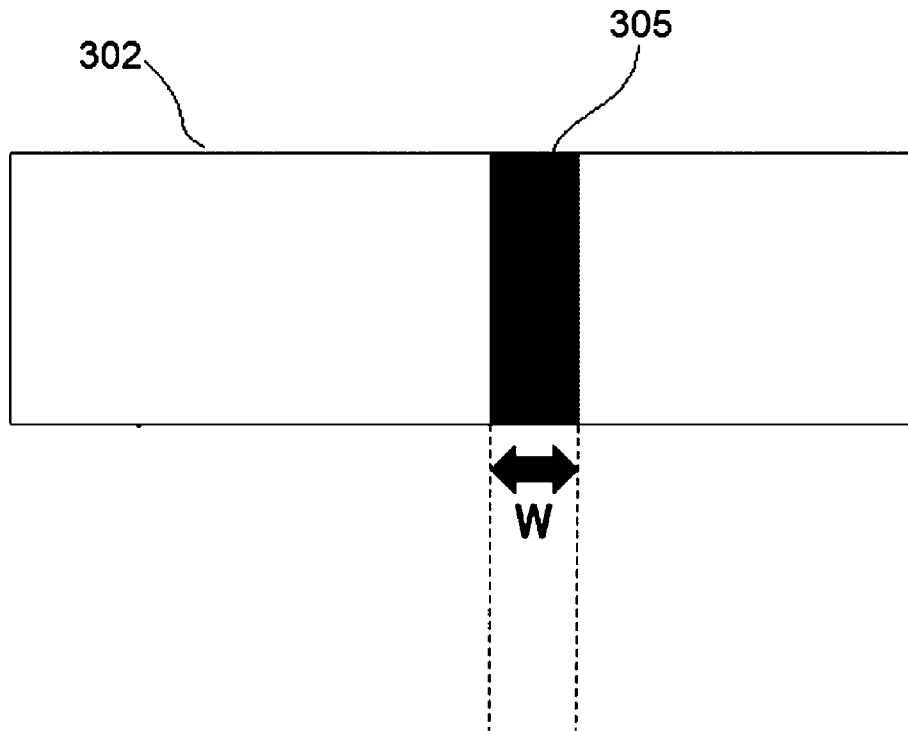
[図3]



[図4]



[図5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/045497

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 33/543</i> (2006.01)i; <i>G01N 33/48</i> (2006.01)i; <i>G01N 33/53</i> (2006.01)i; <i>G01N 33/569</i> (2006.01)i FI: G01N33/543 521; G01N33/53 D; G01N33/569 L; G01N33/543 501M; G01N33/48 A		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N33/543; G01N33/48; G01N33/53; G01N33/569		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2018-44920 A (OHKURA PHARMACEUTICAL COMPANY, LIMITED) 22 March 2018 (2018-03-22) paragraphs [0035], [0037], [0053], [0055], [0056]	1-6, 14
Y		7-16
Y	CN 111733141 A (TSINGHUA SHENZHEN INTERNATIONAL GRADUATE SCHOOL) 02 October 2020 (2020-10-02) summary, fig. 2	7-8
Y	JP 2020-56590 A (ASAHI KASEI CORPORATION) 09 April 2020 (2020-04-09) paragraphs [0024], [0029], [0052]	9-10
Y	JP 2017-67731 A (LABORIE MEDICAL TECHNOLOGIES CANADA UNLIMITED LIABILITY COMPANY) 06 April 2017 (2017-04-06) abstract, claims 1, 17	9-10
Y	WO 2020/196296 A1 (SEKISUI MEDICAL COMPANY, LIMITED) 01 October 2020 (2020-10-01) paragraph [0029], claim 1	9-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 03 February 2023		Date of mailing of the international search report 21 February 2023
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/045497

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2005-291783 A (DENKA SEIKEN COMPANY, LIMITED) 20 October 2005 (2005-10-20) claim 2, paragraphs [0005], [0037]	11-16
X	JP 3-503807 A (EASTMAN KODAK COMPANY) 22 August 1991 (1991-08-22) claims 1, 4	15
Y		13, 15-16
Y	JP 2020-66716 A (TEIJIN LIMITED) 30 April 2020 (2020-04-30) abstract, paragraphs [0004], [0124], [0125]	13, 15-16
X	WO 2019/059182 A1 (ASAHI KASEI CORPORATION) 28 March 2019 (2019-03-28) paragraphs [0029], [0030], [0032], [0061], [0062], [0064]	1, 3-6, 14
Y		7-16
Y	ボクテム(R) インフルエンザA/B 添付文書 2005年10月改訂, October 2005, (POCTEM (R) Influenza A/B appended documents. revised October 2005) usage and dosage (operation method) 2.3)4)	15-16
P, X	JP 2021-188960 A (SEKISUI MEDICAL COMPANY, LIMITED) 13 December 2021 (2021-12-13) paragraphs [0018], [0020], [0041]	1-6
E, A	JP 7216949 B1 (SEKISUI MEDICAL COMPANY, LIMITED) 02 February 2023 (2023-02-02) entire text, all drawings	1-16
A	JP 2008-122372 A (DENKA SEIKEN COMPANY, LIMITED) 29 May 2008 (2008-05-29) paragraphs [0097]-[0099]	1-16
A	WO 2021/221148 A1 (SEKISUI MEDICAL COMPANY, LIMITED) 04 November 2021 (2021-11-04) entire text, all drawings	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/045497

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2018-44920	A	22 March 2018	(Family: none)	
CN	111733141	A	02 October 2020	(Family: none)	
JP	2020-56590	A	09 April 2020	(Family: none)	
JP	2017-67731	A	06 April 2017	(Family: none)	
WO	2020/196296	A1	01 October 2020	EP 3951392 A1 paragraph [0052], claim 1	
				US 2022/0187290 A1	
				CN 113661393 A	
JP	2005-291783	A	20 October 2005	(Family: none)	
JP	3-503807	A	22 August 1991	WO 1990/009588 A1 claims 1, 4	
				US 4948561 A	
				EP 423256 A1	
				KR 10-1991-0700458 A	
JP	2020-66716	A	30 April 2020	WO 2020/085449 A1	
				KR 10-2021-0055091 A	
				CN 112912165 A	
WO	2019/059182	A1	28 March 2019	US 2021/0080455 A1 paragraphs [0064], [0065], [0067], example 1	
				KR 10-2020-0028445 A	
				CN 111108387 A	
				TW 201920958 A	
JP	2021-188960	A	13 December 2021	(Family: none)	
JP	7216949	B1	02 February 2023	(Family: none)	
JP	2008-122372	A	29 May 2008	JP 2009-36781 A	
				JP 2013-200313 A	
				JP 2014-206544 A	
				JP 2015-14618 A	
WO	2021/221148	A1	04 November 2021	(Family: none)	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>G01N 33/543(2006.01)i; G01N 33/48(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i; G01N 33/569(2006.01)i FI: G01N33/543 521; G01N33/53 D; G01N33/569 L; G01N33/543 501M; G01N33/48 A</p>																										
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>G01N33/543; G01N33/48; G01N33/53; G01N33/569</p> <p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2023年</td> </tr> </table> <p>国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）</p>			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年																
日本国実用新案公報	1922 - 1996年																									
日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年																									
日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年																									
日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年																									
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>JP 2018-44920 A (大蔵製薬株式会社) 22.03.2018 (2018 - 03 - 22) [0035][0037][0053][0055][0056]</td> <td>1-6, 14</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>7-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 111733141 A (TSINGHUA SHENZHEN INTERNATIONAL GRADUATE SCHOOL) 02.10.2020 (2020 - 10 - 02) 摘要 図2</td> <td>7-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2020-56590 A (旭化成株式会社) 09.04.2020 (2020 - 04 - 09) [0024][0029][0052]</td> <td>9-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2017-67731 A (ラボリエ メディカル テクノロジーズ カナダ ユーエルシー) 06.04.2017 (2017 - 04 - 06) [要約][請求項1][請求項17]</td> <td>9-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2020/196296 A1 (積水メディカル株式会社) 01.10.2020 (2020 - 10 - 01) [0029][請求項1]</td> <td>9-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2005-291783 A (デンカ生研株式会社) 20.10.2005 (2005 - 10 - 20) [請求項2][0005][0037]</td> <td>11-16</td> </tr> </tbody> </table> <p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p> <p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</p> <p>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</p> <p>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X	JP 2018-44920 A (大蔵製薬株式会社) 22.03.2018 (2018 - 03 - 22) [0035][0037][0053][0055][0056]	1-6, 14	Y		7-16	Y	CN 111733141 A (TSINGHUA SHENZHEN INTERNATIONAL GRADUATE SCHOOL) 02.10.2020 (2020 - 10 - 02) 摘要 図2	7-8	Y	JP 2020-56590 A (旭化成株式会社) 09.04.2020 (2020 - 04 - 09) [0024][0029][0052]	9-10	Y	JP 2017-67731 A (ラボリエ メディカル テクノロジーズ カナダ ユーエルシー) 06.04.2017 (2017 - 04 - 06) [要約][請求項1][請求項17]	9-10	Y	WO 2020/196296 A1 (積水メディカル株式会社) 01.10.2020 (2020 - 10 - 01) [0029][請求項1]	9-10	Y	JP 2005-291783 A (デンカ生研株式会社) 20.10.2005 (2005 - 10 - 20) [請求項2][0005][0037]	11-16
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																								
X	JP 2018-44920 A (大蔵製薬株式会社) 22.03.2018 (2018 - 03 - 22) [0035][0037][0053][0055][0056]	1-6, 14																								
Y		7-16																								
Y	CN 111733141 A (TSINGHUA SHENZHEN INTERNATIONAL GRADUATE SCHOOL) 02.10.2020 (2020 - 10 - 02) 摘要 図2	7-8																								
Y	JP 2020-56590 A (旭化成株式会社) 09.04.2020 (2020 - 04 - 09) [0024][0029][0052]	9-10																								
Y	JP 2017-67731 A (ラボリエ メディカル テクノロジーズ カナダ ユーエルシー) 06.04.2017 (2017 - 04 - 06) [要約][請求項1][請求項17]	9-10																								
Y	WO 2020/196296 A1 (積水メディカル株式会社) 01.10.2020 (2020 - 10 - 01) [0029][請求項1]	9-10																								
Y	JP 2005-291783 A (デンカ生研株式会社) 20.10.2005 (2005 - 10 - 20) [請求項2][0005][0037]	11-16																								
<p>国際調査を完了した日</p> <p>03.02.2023</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>21.02.2023</p>																									
<p>名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>三木 隆 2J 3312</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3252</p>																									

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	JP 3-503807 A (イーストマン コダック カンパニー) 22.08.1991 (1991 - 08 - 22) 特許請求の範囲1,4	15 13,15-16
Y	JP 2020-66716 A (帝人株式会社) 30.04.2020 (2020 - 04 - 30) [要約][0004][0124][0125]	13,15-16
X Y	WO 2019/059182 A1 (旭化成株式会社) 28.03.2019 (2019 - 03 - 28) [0029][0030][0032][0061][0062][0064]	1,3-6,14 7-16
Y	ボクテム (R) インフルエンザA/B添付文書2005年10月改訂, 2005.10 用法・用量 (操作法 2. 3) 4)	15-16
P, X	JP 2021-188960 A (積水メディカル株式会社) 13.12.2021 (2021 - 12 - 13) [0018][0020][0041]	1-6
E, A	JP 7216949 B1 (積水メディカル株式会社) 02.02.2023 (2023 - 02 - 02) 全文・全図	1-16
A	JP 2008-122372 A (デンカ生研株式会社) 29.05.2008 (2008 - 05 - 29) [0097]-[0099]	1-16
A	WO 2021/221148 A1 (積水メディカル株式会社) 04.11.2021 (2021 - 11 - 04) 全文・全図	1-16

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2022/045497

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2018-44920 A	22.03.2018	(ファミリーなし)	
CN 111733141 A	02.10.2020	(ファミリーなし)	
JP 2020-56590 A	09.04.2020	(ファミリーなし)	
JP 2017-67731 A	06.04.2017	(ファミリーなし)	
WO 2020/196296 A1	01.10.2020	EP 3951392 A1 [0052] Claim1 US 2022/0187290 A1 CN 113661393 A	
JP 2005-291783 A	20.10.2005	(ファミリーなし)	
JP 3-503807 A	22.08.1991	WO 1990/009588 A1 Claim1,4 US 4948561 A EP 423256 A1 KR 10-1991-0700458 A	
JP 2020-66716 A	30.04.2020	WO 2020/085449 A1 KR 10-2021-0055091 A CN 112912165 A	
WO 2019/059182 A1	28.03.2019	US 2021/0080455 A1 [0064][0065] [0067]Example1 KR 10-2020-0028445 A CN 111108387 A TW 201920958 A	
JP 2021-188960 A	13.12.2021	(ファミリーなし)	
JP 7216949 B1	02.02.2023	(ファミリーなし)	
JP 2008-122372 A	29.05.2008	JP 2009-36781 A JP 2013-200313 A JP 2014-206544 A JP 2015-14618 A	
WO 2021/221148 A1	04.11.2021	(ファミリーなし)	