



등록특허 10-2034915



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년10월21일  
(11) 등록번호 10-2034915  
(24) 등록일자 2019년10월15일

- (51) 국제특허분류 (Int. Cl.)  
*G01N 33/543* (2006.01) *B01L 3/00* (2006.01)  
*G01N 33/52* (2006.01) *G01N 33/80* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*G01N 33/54386* (2013.01)  
*B01L 3/5023* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7000619
- (22) 출원일자(국제) 2013년06월11일  
심사청구일자 2017년07월27일
- (85) 번역문제출일자 2015년01월09일
- (65) 공개번호 10-2015-0040269
- (43) 공개일자 2015년04월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/FR2013/051358
- (87) 국제공개번호 WO 2013/186482  
국제공개일자 2013년12월19일
- (30) 우선권주장  
12 55452 2012년06월11일 프랑스(FR)

## (56) 선행기술조사문현

EP00408378 A2\*

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 29 항

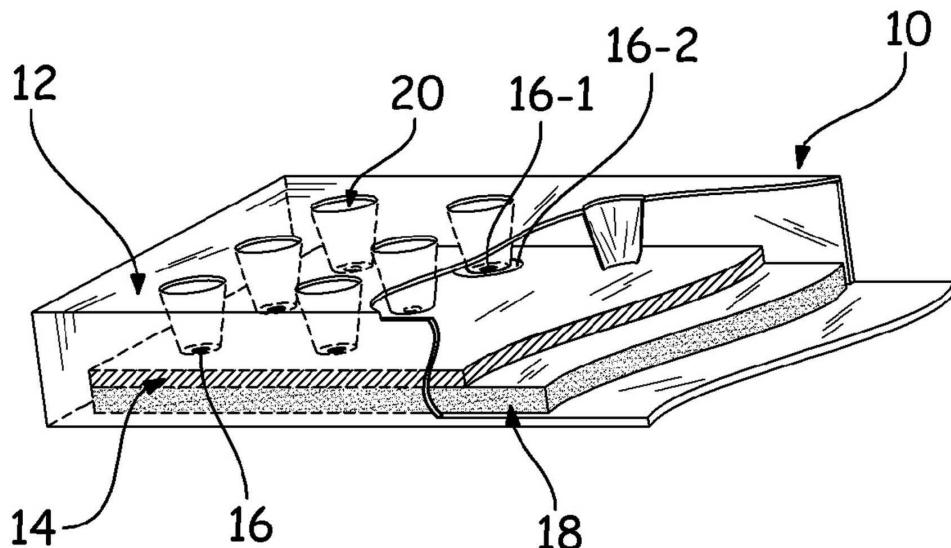
심사관 : 박성철

## (54) 발명의 명칭 체외 진단 장치 및 그 사용방법

## (57) 요약

본 발명은 혈액 시료 또는 그 성분 중 어느 하나로부터 적혈구 표현형 항원과 상기 항원에 대하여 특이적으로 지칭하는 항체 사이의 적어도 하나의 반응을 탐지하기 위한 체외 진단 장치(10)에 관한 것이다. 장치는: 지지체(12), 및 두께 0.05mm 내지 1.5mm의 소수성 다공성 막(14)으로서, 그 구멍의 지름은 2 내지 30 $\mu$ m이며, 상기 막은 상기 시료를 수용하도록 의도된 적어도 하나의 친수성 반응 영역(16)을 포함하는, 소수성 다공성 막(14)을 포함하는 것을 특징으로 한다. 또한, 본 발명은 면역혈액학에서 상기 장치의 사용방법에 관한 것이다.

## 대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*B01L 3/5085* (2013.01)  
*G01N 33/525* (2013.01)  
*G01N 33/54393* (2013.01)  
*G01N 33/80* (2013.01)  
*B01L 2300/0663* (2013.01)  
*B01L 2300/069* (2013.01)  
*B01L 2300/0829* (2013.01)  
*B01L 2300/161* (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020060126964 A\*  
KR1020110017387 A\*  
US05185127 A\*  
US20080261248 A1\*  
US20100184102 A1\*  
JP61152700 A\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

혈액 시료 또는 그 성분 중 어느 하나로부터, 적혈구 표현형의 항원과 상기 항원에 대해 특이적인 항체 사이의 적어도 하나의 반응을 검출하기 위한, 체외(in-vitro) 진단 장치(10)로서,

- 지지체(12), 및

- 두께 0.05mm 내지 1.5mm의 소수성 다공성 막(14)으로서, 그 구멍의 지름은 2 내지 30μm이며, 상기 다공성 막(14)은 상기 지지체(12) 내에서 배열되고, 상기 막은 상기 시료를 수용하도록 의도된 적어도 하나의 친수성 반응 영역(16)을 포함하며, 상기 친수성 반응 영역(16)의 표면은 상기 소수성 다공성 막(14)의 표면보다 작은, 소수성 다공성 막

을 포함하며,

상기 다공성 막(14)의 상기 친수성 반응 영역(16)은, 다공성 막의 화학적 또는 물리적 사전 처리에 의한 다공성 기판의 화학적 기능의 변형 없이 세제(detergent)로 친수성화된 것임을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 세제는 비이온 계면활성제인 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 세제는 0.01 내지 2%(중량/부피)의 용량으로 사용되는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 지지체(12)는 적어도 하나의 개구부(20)를 포함하며, 각각의 개구부(20)는 상기 다공성 막의 각각의 친수성 반응 영역(16)까지 뻗어 있는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 5

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 지지체(12)는 강성의 플라스틱 지지체인 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 6

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 진단 장치는 상기 다공성 막(14) 아래에 배열된 흡수성 막(18)을 더 포함하는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 7

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 다공성 막(14)의 상기 친수성 반응 영역(16)은 포착제(capturing agent)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 포착제는 적혈구 그룹/표현형의 항원을 포함하는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 포착제는 혜모글로빈이 없는 적혈구인 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 10

제 7 항에 있어서,

상기 포착제는 항체인 것을 특징으로 하는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 11

제 7 항에 있어서,

상기 포착제는 다중양이온성(polycationic) 중합체인 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

#### 청구항 12

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 반응 영역(16)은 상기 다공성 막의 전체 두께에 걸쳐 친수성인 것을 특징으로 하는,  
진단 장치(10).

### 청구항 13

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 반응 영역(16)은 상기 반응 영역의 표면에서 친수성인 것을 특징으로 하는,  
진단 장치(10).

### 청구항 14

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 반응 영역(16)은, 반응 영역의 주변부(16-2)에서보다 반응 영역의 중심부(16-1)에서 친수성화도가 더 큰,  
두 개의 친수성 영역(16-1, 16-2)을 포함하는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

### 청구항 15

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 반응 영역(16)은, 친수성화도가 상이한 두 개의 친수성 영역을 포함하고, 하나의 친수성 영역은 표면에 있고 다른 하나의 친수성 영역은 두께 부분에 있는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

### 청구항 16

제 14 항에 있어서,

상기 반응 영역(16)은 상기 다공성 막의 화학적 또는 물리적 사전 처리에 의한 다공성 기판의 화학적 기능의 변형 없이 두 개의 상이한 세제로 친수성화된 것임을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

### 청구항 17

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 장치(10)의 제조 방법으로서,

- 두께가 0.05mm 내지 1.5mm이며 구멍의 지름은 2 내지 30μm인 소수성 다공성 막(14)을, 상기 막의 적어도 하나의 영역(16)에서, 적어도 하나의 세제에 의하여 친수성화하는 단계,
  - 건조하는 단계, 및
  - 상기 다공성 막(14) 및 임의로 상기 다공성 막(14) 아래에 배열된 흡수성 막(18)을 지지체(12)와 함께 조립하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는,
- 장치(10)의 제조 방법.

**청구항 18**

제 17 항에 있어서,  
포착제 용액에 침착시키는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는,  
장치(10)의 제조 방법.

**청구항 19**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

혈액 시료 또는 그 성분 중 어느 하나로부터, ABO 혈액형, 확장된 레수스(Rhesus) 표현형, 비정규 응집소의 탐색, 자가항체의 탐색, 한냉 항글로불린의 탐색 및/또는 교차 검증을 식별하고 결정하기 위해 사용되는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

**청구항 20**

항원의 두 개의 상이한 집단의 존재를 검출하기 위해 적혈구(red globule)의 시료로부터 적혈구 혈액형의 표현형 판정방법으로서,

- 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 장치(10)의 반응 영역의 중심부에 다공성 막(14)을 수화시키기 위한 용액을 침착시키는 단계로서, 상기 반응 영역(16)은 반응 영역의 주변부(16-2)에서보다 반응 영역의 중심부(16-1)에서 친수성화도가 더 큰 두 개의 친수성 영역(16-1, 16-2)을 포함하고 상기 중심부에 항체를 포함한 포착제를 포함하는 것인, 침착 단계,
- 버퍼 용액에 표현형이 판정될 적혈구를 희석시키는 단계,
- 반응 영역의 중심부에 표현형이 판정될 적혈구를 함유한 상기 용액을 추가하는 단계,
- 인큐베이션 단계, 및
- 반응 영역에 린스 용액을 침착시키는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는,

표현형 판정방법.

**청구항 21**

적혈구 시료로부터 적혈구 혈액형의 표현형 판정방법으로서,

- 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 장치(10)의 반응 영역(16)의 레벨에 다공성 막(14)을 수화시키기 위한 용액을 침착시키는 단계로서, 상기 반응 영역(16)은 단일의 친수성 영역을 포함하고 항체를 포함한 포착제를 포함하는 것인, 침착 단계,
  - 반응 영역의 중심부에 표현형이 판정될 적혈구를 함유한 상기 용액을 추가하는 단계,
  - 인큐베이션 단계, 및
  - 반응 영역에 린스 용액을 침착시키는 단계
- 를 포함하는 것을 특징으로 하는,
- 표현형 판정방법.

**청구항 22**

제 21 항에 있어서,

버퍼 용액에 표현형이 판정될 적혈구를 희석시키는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는,  
표현형 판정방법.

**청구항 23**

혈장, 혈청, 또는 전체 혈액의 시료로부터 혈액 내에 존재하는 다가 항체의 검출방법으로서,

- 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 장치(10)의 반응 영역(16)에 피검 시료를 침착시키는 단계로서,  
상기 반응 영역(16)은 항원을 포함한 포착체를 포함하는 것인, 침착 단계,
- 상기 포착체와 동일한 항원을 포함하는, 공지된 표현형의 적혈구 검사체를 추가하는 단계,
- 상기 시료와 공지된 표현형의 적혈구 검사체의 혼합물을 친수성 영역을 통과시키는 단계, 및
- 반응 영역에 린스 용액을 침착시키는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는,

검출방법.

**청구항 24**

혈장, 혈청 또는 전체 혈액의 시료로부터 혈액 내에 존재하는 항-적혈구 항체의 검출, 자가항체 또는 한냉 응집 소의 교차 검증 또는 탐색을 위한 방법으로서,

- 피검 시료를 버퍼, 공지된 표현형의 적혈구 검사체와 인큐베이션하는 단계,
- 상기 시료와 공지된 표현형의 적혈구 검사체의 혼합물에 적혈구를 응집시킬 수 있는 제제를 추가하는 단계,
- 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 따른 장치(10)의 반응 영역(16)에 상기 혼합물을 침착시키는 단계,
- 반응 영역에 적혈구를 응집시킬 수 있는 제제를 포함하는 용액을 침착시키는 단계,
- 반응 영역에 쿰스(Coombs), 인체 항글로불린 또는 항-보체 시약을 침착시키는 단계, 및
- 반응 영역에 린스 용액을 침착시키는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는,

방법.

**청구항 25**

제 7 항에 있어서,

상기 진단 장치는 상기 다공성 막(14) 아래에 배열된 흡수성 막(18)을 더 포함하고, 상기 지지체(12)는 적어도 하나의 개구부(20)를 포함하며, 각각의 개구부(20)는 상기 다공성 막의 각각의 친수성 반응 영역(16)까지 뻗어 있는 것을 특징으로 하는,

진단 장치(10).

**청구항 26**

제 7 항에 있어서,

상기 반응 영역(16)은 상기 다공성 막의 전체 두께에 걸쳐 친수성인 것을 특징으로 하는,  
진단 장치(10).

### 청구항 27

제 7 항에 있어서,  
상기 반응 영역(16)은 상기 반응 영역의 표면에서 친수성인 것을 특징으로 하는,  
진단 장치(10).

### 청구항 28

제 7 항에 있어서,  
상기 반응 영역(16)은, 반응 영역의 주변부(16-2)에서보다 반응 영역의 중심부(16-1)에서 친수성화도가 더 큰,  
두 개의 친수성 영역(16-1, 16-2)을 포함하는 것을 특징으로 하는,  
진단 장치(10).

### 청구항 29

제 7 항에 있어서,  
상기 반응 영역(16)은, 친수성화도가 상이한 두 개의 친수성 영역을 포함하고, 하나의 친수성 영역은 표면에 있고  
다른 하나의 친수성 영역은 두께 부분에 있는 것을 특징으로 하는,  
진단 장치(10).

## 발명의 설명

### 기술 분야

- [0001] 본 발명은 체외(in-vitro) 진단 장치에 관한 것으로 혈액 또는 그 성분 중 어느 하나의 시료로부터 적혈구 항원과 이러한 항원에 대해 특이적으로 지시되는 항체 사이의 반응을 탐지하기 위한 것이다.
- [0002] 또한, 본 발명은 혈액형의 식별 및 결정을 위한 이러한 장치의 사용방법에 적용된다.

### 배경 기술

- [0003] 면역혈액학 진단 목적은, 항체에 의한 적혈구의 공격을 진단하고 제공하는 것이다. 이를 위하여, 혈액형을 규정하던 또는 그렇지 않던 적혈구 표면에 존재하는 항원을 결정하는 도구를 가질 필요가 있으며, 또한 부적합 가능성은 의미하는 항체의 존재인 혈액이 적혈구의 공지된 항원에 대하여 지칭되는 하나 또는 그 이상의 항체를 포함하는지 여부를 식별할 필요가 있다.
- [0004] 따라서, 관용적인 기술은 적혈구 표면에서 혈액형 항원의 존재 또는 부재를 검출하고 식별하도록 및/또는 혈장 내에서 혈액형의 비-항원 항체의 존재 또는 부재를 검출하고 식별하도록 이루어진다.
- [0005] 예를 들어, ABO 시스템에서, 베스-빈센트 검사는 적혈구에 의해 수반되는 항원을 결정하며, 상보적으로 시모닌-미콘 검사 또는 혈청 교차검사가 혈청에서 순환하는 항체를 결정한다.
- [0006] 베스-빈센트 검사에서, 개인의 적혈구는 공지된 특이성의 항체 시약과 함께 수반된다. 일반적으로, 이러한 검사는 항체가 상응하는 적혈구 항원을 인식한 경우 적혈구의 응집 관찰에 의하여 가시성이 있다.
- [0007] 시모닌 검사에서, 개인의 혈장은 적혈구 검사체와 함께 수반되어 각각이 ABO 시스템의 정확한 항원 형태에 속한

다. 이는 개인의 혈장으로 적혈구 검사체의 응집 검사이다.

[0008] 소위 비정규 항체로 지칭되는 검출은, 다양한 적혈구 항원에 대해 지칭되는 면역 글로불린 항체의 개별적 혈액 존재 또는 부재를 탐지한다. 자가항체 조사의 경우, 체내에 이미 고정된 항체는 직접 검사에서 개별적이며 직접적으로 검출된다. 동종항체 조사의 경우, 그 목적은 항원이 공지된 적혈구 검사체 상에서 이러한 면역 글로불린 항체의 고정을 간접 쿰스(Coombs) 기술로서 표출시키는 것이다.

[0009] 면역혈액학에서 표현형으로 표현되도록 사용되는 수많은 처리방법 및 장치가 있으나, 혈액형의 공지된 표현형 기술은 많은 문제를 갖는다.

[0010] 예를 들어, 마이크로플레이팅 기술은 교반 단계에 이어 원심 분리 상태를 필요로 한다. 교반 단계는, 지지체 상에 동시에 존재하는 많은 반응이 동일한 재부유 운동을 갖지 않기에 치명적이다. 따라서, 연속적인 강한 응집이 유지되지 않아 약한 응집이 해제될 위험성이 있다. 이들은 가시적 확인이 가능한 상태에서 수행되어야만 하며, 특히 소정의 시약에서 점착 현상에 주의를 기울여야 한다.

[0011] 유사하게, 겔 검사에 의한 여과 기술이 수행되면, 그 동안에는, 겔을 통과함에 따른 소량의 응집을 공유함에 기인한 해리로 인하여 ABO 형의 혈장 검사 동안 특히 소정의 응집을 탐지하지 못할 위험성이 있다.

[0012] 또한, 이러한 기술들은 적혈구를 봇거나 겔을 통과하는 원심 분리 단계와 상당 시간과 분석 비용을 추가로 요구하는 제한 단계를 필요로 하며, 조작이 어려운 부피가 큰 원심분리기의 사용을 필요로 하기에, 모든 기술들은 큰 단점을 갖는다.

[0013] 또한, 면역여과법은 공지되어 있는데, 예를 들어 EP 2167967 출원에 개시된 바와 같이, 시료에 존재하는 분석물질이 포착제(capturing element)를 수반하는 다공성 막을 통과함에 따라 포착되는 단계와, 표출 제제에 의하여 존재를 표출시키는 단계로 이루어진다. 이러한 형식의 장치는 시료 침착 영역, 포착제가 침착되는 친수성 다공성 막을 포함하며, 그 아래에 흡수성 막이 배열된다. 이러한 형식의 검사 수행은 시료 침착 영역에서 순 시료 또는 희석 시료를 침착시키는 단계로 이루어지며, 이는 다공성 막을 통과하여 흡수성 막에서 종료된다. 다공성 막 내에서 모세관 현상을 통한 이동 동안, 포착 부재에 상응하는 분석물질이 시료 내에 존재하는 경우, 포착제에 의하여 고정된다. 추가로, 포착 영역에서 분석물질의 존재를 탐지할 수 있는 표출 제제에 의하여 바람직한 분석물질의 포착 스팟 상에서 존재가 표출될 필요가 있으며, 이는 가시적(채색품)으로 탐지되도록 하는 부재에 의하여 또는 물리적이나 화학적 방법에 의하여 표출된다.

[0014] 그러나 이러한 방법은, 시료가 침착되면 다공성 막에 흡수되기에 심각한 민감도 및 특이도 문제가 있으며, 많은 분석물질을 다공성 막의 사장 용적에서 잃게 되거나 또는 포착 영역 밖으로 통과하게 된다. 동일하게, 표출 용액에도 적용된다. 따라서, 피검 시료 및 표출 용액보다 크도록 침착 가능한 흡수 시스템의 크기를 키워야 할 필요가 있어서, 수행되는 검사로부터 최소화된 검사를 방해하며, 제어되는 운동학이 표출 제제를 수용하지 못하고 로봇 피폐터를 사용할 수 없게 한다.

[0015] 이러한 문제를 해결하고 신호를 집중하기 위한 시도로서, CA 1312265 또는 WO 02052263 출원에서는, 친수성 다공성 막의 위아래에 유체가 포착 스팟을 통과하는 것을 강제하도록 관통하는 소수성 구조체를 위치시키는 것이 제안되었다. 그러나, 이러한 장치에서 스팟으로부터의 원심 발산과, 포착 스팟을 통과하되 고정되지 않는 표출 부재가 친수성 다공성 막에서 원심으로 확산될 수 있으며 스팟 주변에 저장될 수 있다는 것이 문제되었다. 다음, 표출 부재는 스팟 상에 집중된 린싱에서 빠져나갈 것이다. 스팟을 향한 구심 확산에 의하여 회귀의 형태로 이러한 표출 부재의 회귀 현상이 있으며, 이는 바람직한 항원이 없는 경우에도 스팟의 재-착색을 야기한다. 이러한 현상은 실패한 양성 반응 결과가 나타나기에 검사 확인을 매우 신속하게 방해한다(일반적으로 5 내지 15 분). 의심이 있는 경우, 인간 예의의 경우, 또는 정보 손실의 경우, 장치가 향후 재해석을 하지 않기에, 큰 문제가 된다.

[0016] 오늘날 현존하는 면역여과법 장치의 다른 큰 문제점은, 운동 속도를 제어하고 소정의 경우 사전-인큐베이션 시간이 필요하다는 점이다. 포착 부재와 분석물질 사이는 물론, 분석물질과 표출 부재 사이의 상호작용은 중요한 운동학을 갖기에, 이러한 시간은 매우 중요하다. 이러한 운동학은 시간에 따라 수행되는 다수의 상호작용을 기술한다. 따라서, 포착제/분석물질 커플링 및 표출 제제/분석물질에 따라, 적절한 신호를 획득하도록 각각의 커플링을 위한 충분히 많은 개수의 상호작용이 보장되어야 한다. 포착제/분석물질 상호작용이 느린 경우, 시료의 막 통과 속도는 결과적으로 조절되어야 한다. 표출 제제와 분석물질 사이의 상호작용이 제한된 경우, 표출 제제와 분석 물질이 포착 스팟에서 혼합되는 사전-인큐베이션을 진행할 필요가 있다. 특정 시스템 없이, 친수성 막을 통과하는 것이 신속하다( $500\mu\text{l}/\text{분}$ ).

- [0017] 유동을 제어하도록, 특히, US 2008318342 출원에서 피스톤을 사용하는 것이 제안되었다.
- [0018] 사전-인큐베이션 시간을 제어하도록, WO 03016902 출원에서 2개의 부품에서 사용되는 장치가 제안되었으며: 상부 부품은 시료 수집 영역 및 다공성 막을 포함하고, 하부 부품은 다공성 막과 흡수성 막을 포함한다. 최초 위치에서 유체가 모세관 현상으로 이동할 수 없음에 따라 두 개의 블록은 상호 소통하지 않는다. 기계적 핸들링 이후, 두 개의 영역은 접촉하고 유체가 모세관 현상으로 소통할 수 있다. 또한, 소수성 막 상에서 포착 부재를 침착시키고 계면활성제의 추가로 통로를 활성화하는 것이 제안되었다.
- [0019] 기계적 접근 방법은 전용 시스템의 개발 및 사용을 필요로 하기에 로봇의 사용을 어렵게 한다. 또한, 핸들링 동안 어떠한 돌발 상황에도 전문가가 필요하다.
- [0020] 검사가 수행되는 동안 계면활성제의 추가는 이들이 포착체/분석물질 상호작용에서 심각하게 방해하므로 시스템을 매우 위험하게 한다. 또한, 면역혈액학의 특정 경우, 적혈구 막이 분해되고 혜모글로빈을 비우게 되므로, 표출 제제로 사용되는 적혈구가 액체 형태에서의 계면활성제에 적합하지 않다.
- [0021] EP 0334015에 개시된 다른 방법은, 먼저 유동을 제어하기 위하여 아래에 위치하는 부가적인 막을 사용하도록 구성되나, 제안되는 장치는 친수성 다공성 막에서 표출 제제와 시료의 확산에 연결된 문제를 해결하는 데 실패한다.
- [0022] 따라서, 존재하는 면역혈액학 진단 검사는 많은 문제점을 갖는다.

### 발명의 내용

- [0023] 본 발명의 목적은 종래 기술의 문제점을 해결하고자 하는 것으로, 모세관 현상에 의하여, 신뢰성 있고, 신속하며, 이동성이며, 그리고 경제적이며, 제조와 사용이 간단한, 체외 면역혈액학 진단에 적합한 장치를 제안하는 것이며, 이로써 최소화되고 자동화되며 실질적으로 민감성이 높을 수 있다.
- [0024] 이러한 목적을 해결하도록, 본 발명은 체외 진단 장치를 제안하며, 이는 혈액 또는 그 성분 중 어느 하나의 시료로부터 적혈구 표현형 항원과 이러한 항원에 대해 특이적으로 지시되는 항체 사이의 적어도 하나의 반응을 탐지하며, 아래를 포함하는 것을 특징으로 한다:
- 지지체, 및
- [0026] - 두께 0.05mm 내지 1.5mm의 소수성 다공성 막으로서, 그 구멍의 지름은 2 내지 30μm이며, 상기 막은 상기 시료를 수용하도록 의도된 적어도 하나의 친수성 반응 영역을 포함하며, 상기 반응 영역의 표면은 상기 소수성 다공성 막의 표면보다 작은, 소수성 다공성 막.
- [0027] 또한, 본 발명은 이러한 장치의 용도에 관한 것이며, 특히 이러한 장치를 사용하여 적혈구 혈액형을 표현형 판정하고 항체를 탐지를 위한 처리방법에 관한 것이다.
- [0028] 바람직하게, 본 발명은 오늘날 존재하는 면역여과법으로부터 일어나는 모든 문제점을 해결하며, 특히 아래에 의하여 해결한다:
- 실패한 양성 반응에 응답한 표출 제제의 회귀를 방지
  - 적은 부피로부터 높은 민감성
- [0031] - 시스템의 최소화 및 자동화
- [0032] - 장치의 기계적 핸들링의 필요 없이 반응의 운동학 조절.

### 도면의 간단한 설명

- [0033] 다른 특징들과 장점들은 아래의 본 발명의 상세한 설명에서 나타날 것이며, 첨부된 도면을 오직 예시로서만 참고하며, 상기의 도면은 아래와 같다:
- 도 1은 본 발명에 따른 장치의 특정 실시예의 다이어그램으로서 사시도로서 도시하며,

- 도 2a는 본 발명에 따른 소수성 다공성 막과 흡수성 막을 도시하며, 친수성 반응 영역의 제 1 변형예이며,
- 도 2b는 본 발명에 따른 소수성 다공성 막을 도시하며, 친수성 반응 영역의 제 2 변형예이며,
- 도 3a는 본 발명에 따른 단면도를 도시하며, 도 2a에 도시된 변형예에 상응하는 소수성 다공성 막이며,
- 도 3b는 본 발명에 따른 단면도를 도시하며, 도 2b에 도시된 변형예에 상응하는 소수성 다공성 막이며,
- 도 4a는, 도 2a에 도시된 소수성 다공성 막의 반응 영역과 기초 흡수성 막의 일부 상에서의, 본 발명에 따른 장치의 사용 이후 획득된 결과를 도시하며,
- 도 4b는, 도 2b에 도시된 소수성 다공성 막의 반응 영역 상에서의, 본 발명에 따른 장치의 사용 이후 획득된 결과를 도시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0034] 본 발명에 따른 장치(10)는, 혈액 또는 그 성분 중 어느 하나로부터, 적혈구 표현형의 항원과 상기 항원에 대해 특이적으로 지시되는 항체 사이의 적어도 하나의 반응을 탐지하기 위한 체외 진단 장치이다.
- [0035] 이는, 특히 체외에서 면역혈액학 진단을 위해 적용된 것으로 모세관 현상을 통한 체외 진단을 위한 장치이다.
- [0036] 적혈구 표현형의 항원 또는 적혈구 그룹의 항원 또는 혈액형의 항원은, 적혈구(red globules)의 표면에 존재하는 모든 면역 분자를 의미하며, 이를 직접 지칭하는 항체 생산을 야기할 수 있거나 및/또는 그 다음 면역 시스템에 의하여 적혈구의 파괴를 인지하는 것을 허용할 필요가 있다.
- [0037] 적혈구 표현형의 항원과 상기 항원에 대해 특이적으로 지시되는 항체 사이의 반응은 아래 설명에서 항원-항체 반응으로 지칭한다.
- [0038] 혈액 또는 그 성분 중 어느 하나의 시료는 전체 혈액 또는 적혈구 부분, 백혈구 부분, 혈장, 또는 혈청으로부터 특히 선택되는 그 성분 중 어느 하나를 의미한다.
- [0039] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 장치(10)는 아래를 포함한다:
- [0040] - 지지체(12), 및
- [0041] - 피검 시료를 수용하도록 의도된 적어도 하나의 친수성 반응 영역(16)을 포함하는 소수성 다공성 막(14).
- [0042] 다공성 막(14)은 0.05mm 내지 1.5mm의 두께를 가지며, 바람직하게는 0.1 내지 1mm, 보다 바람직하게는 0.4 내지 0.8mm이다.
- [0043] 구멍의 지름은 2 내지 30 $\mu$ m이며, 바람직하게는 7 내지 12 $\mu$ m이다.
- [0044] 소수성 다공성 막(14)은 수용액에 의하여 변형되지 않는 어떠한 물질도 포함할 수 있다. 이러한 물질은 특히 예를 들어 니트로셀룰로오스 중합체, 셀룰로오스와 같이 화학적으로 변화가 있거나 또는 그렇지 않은 자연적 중합체로부터 선택될 수 있으며, 또는 예를 들어 폴리에틸렌, 고밀도 폴리에틸렌(HDPE) 또는 PVDF와 같은 불화 중합체와 같은 합성 중합체로부터 선택될 수 있다. 이러한 물질은 초기에는 적절한 처리에 의하여 소수성화된 소수성이어야 한다. 이러한 중합체는 나중에 사용되는 포착제(capturing agent)와의 연결을 생성할 수 있는 시약형으로 기능화되거나 또는 그렇지 않을 수 있다.
- [0045] 소수성 다공성 막(14)은 적어도 하나의 친수성 반응 영역(16)을 포함한다. 반응 영역(16)은 소수성 다공성 막(14)의 표면보다 작은 표면을 가지며, 즉 막(14)은 완전히 친수성화될 수 없다.
- [0046] 다공성 막(14)의 친수성 반응 영역(들)(16)은, 소수성 다공성 막(14)의 화학적 또는 물리적 사전 처리에 의하여 다공성 기판의 화학적 기능을 변경하지 않고, 국부적인 세제(detergent)의 추가에 의하여 친수성화된 것이 바람직하다.
- [0047] 세제는 임의의 친수성 제제를 의미하며, 즉 소수성 막(14)의 친수성화를 이를 수 있는 임의의 물질을 의미한다.
- [0048] 사용되는 세제는 자연적 세제, 화학적으로 변형되거나 또는 화학적 합성제로부터 획득된 자연적 세제로부터 선택된 것일 수 있다. 이는 비이온 계면활성제이며, 예를 들어 Triton X-100, Tween 20 또는 사포닌인 것이 바람직하다.
- [0049] 세제는 수용액 또는 에탄올과 같은 유기 용액에서 0.01 내지 5%의 농도로서 희석될 수 있다. 막(14)을 생성하도

록 국부적으로 친수성화되어 사용된 세제는 0.01 내지 2%(중량/부피)의 용량으로 사용되는 것이 바람직하다.

[0050] 사용되는 세제의 양은 막의 다른 특성(다공성 및 특히 두께)과 관련 있으며, 이는 막을 통과하는 유체의 이동 속도를 제어한다. Triton X-100의 0.1%와 Tween의 0.05% 최대 용량이 포착 부재를 수용하도록 의도되는 막의 친수성을 형성하도록 과도할 필요가 없다는 것이 일반적으로 인정된다. 하지만, 본 발명에 따른 막(14)의 특별한 특징으로 인하여, 국부적으로 친수성인 이러한 막을 생성할 수 있는 세제는 특히 Triton X-100 또는 Tween 20에서 영역의 반응에 지장을 주지 않으면서 2%에 이르도록 사용될 수 있어서, 막(14)의 친수성화를 용이하게 이를 수 있다.

[0051] 동일한 소수성 막(14)은 이러한 영역이 방해하지 않는 조건 하에서 일부 친수성 반응 영역(16)을 포함할 수 있다.

[0052] 반응 영역(16)은 모든 기하학적 형태일 수 있으나, 바람직하게는 0.3mm 내지 20mm의 지름의 스팟 형태 또는 원형일 수 있다.

[0053] 반응 영역(16)은 다공성 막(14)의 전체 두께에 걸쳐 및/또는 표면에서 친수성일 수 있다.

[0054] 반응 영역(16)은 도 2a, 3a 및 4a에 도시되는 바와 같이 단일의 친수성화(hydrophilisation) 정도를 가질 수 있다. 이러한 구성은 특히 분석될 시료 내에서 항체의 특정 존재를 탐지하는데 적합하다.

[0055] 변형예에 따라, 반응 영역(16)은 상이한 정도의 친수성화를 갖는 소정의 영역들을 포함할 수 있다.

[0056] 도 2b, 3b 및 4b에 도시된 바와 같이, 반응 영역(16)은 두 개의 친수성 영역(16-1, 16-2)을 포함할 수 있으며, 반응 영역의 주변부(16-2)와 비교하여 중심부(16-1)의 친수성화 정도가 크다. 이러한 친수성 영역들은 막(14)의 표면에서만 바람직하다.

[0057] 또한, 반응 영역(16)은, 친수성화 정도가 상이한, 표면에 하나, 두꺼운 부분에 다른 하나의 친수성화 영역을 갖는, 두 개의 친수성화 영역을 포함할 수 있다.

[0058] 반응 영역(16)이 두 개의 친수성 영역을 포함하는 경우, 반응 영역(16)은 다공성 막의 화학적 또는 물리적 사전 처리에 의하여 다공성 기판의 화학적 기능의 변형 없이 두 개의 상이한 세제로 친수성화된 것이다.

[0059] 바람직하게는, 상이한 친수성화를 갖는 두 개의 영역을 구비한 반응 영역(16)의 구성은, 도 2b, 3b 및 4b에 도시된 바와 같이 특히 표면에서, 특히 두 개의 집단이 어떻게 공존하더라도 이를 구분하도록 전문적인 주입의 특정 선점에 반응하여 하나는 양성으로 다른 하나는 음성으로 반응하며, 이는 이중 집단(double population)으로 지칭되는 현상이다. 이러한 구성은 피검 시료 내에 특정 항원들의 탐지 및 식별에 특히 바람직하다.

[0060] 다공성 막(14)의 친수성 반응 영역(16)은 포착제를 포함할 수 있다. 포착제는 막(14)에 흡수되거나 이에 공유결합된다.

[0061] 포착제는, 단독으로 또는 표출 제제(revelation agent)와 복합적으로 피검 시료에 포함된 표출 분석물질을 유지할 수 있는 것으로, 영역(16)에 고정된 임의의 화학적 또는 생화학적 성분을 의미한다.

[0062] 그 목적이 피검 시료 내의 특정 항체의 존재를 식별하는 것인 경우, 이러한 포착제는 특정 적혈구 표현형의 항원을 포함한다. 이들은 항원을 수반하는 세포, 보이드 세포(void cell) 또는 항원을 수반하지 않는 세포의 세포막 또는 세포 일부의 정제되거나 정제되지 않은 항원일 수 있으며, 또는 합성에 의하여 획득된 항원이거나 재조합된 단백질일 수 있다. 바람직하게, 포착제는 헤모글로빈이 없는 적혈구이며, 항원을 수반한다.

[0063] 그 목적이 피검 시료 내의 특정 항원의 존재를 식별하는 것인 경우, 포착제는 항체이다.

[0064] 포착제는, 반응 영역(16) 상에 존재하는 경우 세제가 반응 영역(16)의 경계를 결정하도록 막(14)을 친수성화시키는 동시에 침착될 수 있으며, 또는 친수성화 이후에, 또는 세제와 독립적으로 침착될 수 있다.

[0065] 포착제는, 반응 영역(16) 상에서, pH 4 내지 pH 10에서 안정화되는, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8에서 안정화되는, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화되는 pH 용액을 포함하는 비-변성 버퍼(non-denaturing buffer) 내에 침착될 수 있다. 포착제는 흡수되거나 공유결합될 수 있다.

[0066] 포착제에는, 아지드화 나트륨, 항생제와 같은 마이크로생화학적 안정성을 유지하도록 의도된 보조제, 당(수크로오스, 텍스트로오스, 트레할로오스)과 같이 배좌 안정성을 유지하도록 의도되는 보조제는 물론 이러한 기능을 수행하는데 본 기술분야에서 공지된 다른 제제와 같은 보조제가 추가될 수 있다.

- [0067] 포착제는 영역(16) 전체에 걸쳐 또는 그 일부에만 존재할 수 있다.
- [0068] 세제 및/또는 포착제는 로봇 또는 수동 피폐터에 의하여 침착될 수 있는 용액의 형태인 것이 바람직하다. 바람직하게는, 이러한 용액은 모세관 현상에 의하여 바람직한 부피를 유지할 수 있는 바늘을 사용하여 용이하게 침착될 수도 있다. 이러한 바늘은 모든 물질로 이루어질 수 있으나, 보다 바람직하게는 금속성이며, 소수성 코팅을 가질 수도 있으며 그렇지 않을 수도 있다. 그 말단은 평평할 수 있으며, 또는 결정된 부피의 노치(notch)를 가질 수 있다.
- [0069] 세제 및/또는 포착제 용액의 침착은 막의 건조 이후이어야 하며, 건조 시간은 적용되는 온도에 따른다: 상온에서 적어도 4시간이며, 37°C에서 적어도 1시간이다.
- [0070] 본 발명에 따른 장치는 다공성 막(14) 아래에 흡수성 막(18)을 포함할 수 있다. 막(18)은 반응 영역(16) 수준에서 침착된 액체를 흡수하는데, 이는 막(14)에 의하여 유지되지 않은 것이며, 특히 반응 영역(16)은 막(14)의 전체 두께에 걸쳐 친수성인 경우에 그러하다.
- [0071] 막(18)은 흡수성 지류, 셀룰로오스 등과 같이 모세관 현상에 의하여 능동적으로 흡수 가능한 물질을 포함할 수 있으며, 또는 흡수성 중합체로 이루어질 수 있다. 예를 들어, 아래의 제품들이 인용될 수 있다.
- [0072] · Millipore C048, C068, C083, C248
- [0073] · Whatman CF3, CF4, CF10, Grade 470, CF5, CF6, CF7, Grade 900, Grade 300
- [0074] · Ahlstrom Grades 601, 642, 631, 238, 237, 222, 243, 320
- [0075] · Pall Grades 111, 113, 133, 165, 197, 8975, 8964, 8301, Accuwik<sup>®</sup> Ultra
- [0076] · Cleanis Gelmax superabsorbent pad
- [0077] · Cotton
- [0078] 흡수성 막(18)의 조성과 그 크기는, 이들이 검사 동안 사용되는 용액 모두를 흡수할 수 있도록 선택되어야 한다 ( $\mu\ell$ 으로서의  $V_{total}$ ). 각각의 막은 흡수 용량( $\mu\ell/cm^2$ 으로서의 C)에 의하여 특징되어지며, 막과 그 치수( $cm^2$ 으로서의 D)는 아래의 수식을 만족하도록 선택된다:  $D > V_{total} > C$ .
- [0079] 대안적으로, 액체는 막 위의 영역과 그 아래 영역 사이의 차압에 의하여 흡수될 수 있다. 예를 들어, 부분 진공 흡인 시스템을 사용할 수 있다.
- [0080] 막(14)과 선택적으로 막(18)은 지지체(12) 내에 배열될 수 있다.
- [0081] 본 발명에 따른 장치(10)의 지지체(12)는 강성의 지지체인 것이 바람직하다. 예를 들어 쉘(shell)일 수 있다.
- [0082] 지지체는 액체 유출을 허용하지 않는 강성의 물질을 포함할 수 있는 것이 바람직하다. 이는 특히 플로프로필렌, 폴리에틸렌, 폴로스틸렌, 아크리오나트릴레 부타디엔 스티렌, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리카르보네이트, 폴리아미드, 폴리비닐 클로라이드, 메틸 폴리-메타크릴레이트와 같은 플라스틱 물질일 수 있다.
- [0083] 바람직하게, 지지체(12)는 하나 이상의 개구부(20)를 포함하고, 각각의 개구부(20)는 다공성 막(14)의 친수성 반응 영역(16) 각각에 직각이다. 개구부(20)는 친수성 반응 영역(16) 상에 침착된 시료의 수집 영역에 상응한다. 친수성 영역(16)의 크기는 개구부의 기저의 크기와 동일하거나, 보다 작거나, 보다 클 수 있으며, 두 개의 친수성 영역은 항상 막(14) 상에서 소수성 영역에 의하여 언제나 구분된다.
- [0084] 개구부(20)는 필요시 아래에서부터의 신호를 볼 수 있도록 투명한 가장자리를 가질 수 있다.
- [0085] 수집 영역은, 반응 막(16) 상에 침착되는 적어도 피검 시료의 최대 부피를 포함할 수 있는 크기이어야 한다.
- [0086] 반응 영역들 사이에서의 소수성 막에 포함되는 배리어(barrier)에 의하여, 각각의 반응 영역(16)의 독립성이 획득된다. 이러한 독립성은 단일 막을 포함하는 동일한 장치에서 몇몇의 상이한 진단을 수행한다. 변형예에 따라, 선택적으로, 이러한 독립성은 자체적인 막을 각각 함유하는 파티션에 의하여 물리적으로 구분된 유닛 내에서 지지체(12)를 분할함으로써 구현될 수도 있다.
- [0087] 추가로, 개구부(20) 둘레의 큰 두께를 생성함으로써, 근본적으로는 개구부(20)의 개구에 대향하여 돔(dome)을 개방하여, 막들(14와 18) 사이에서 접촉을 증진시키는 것이 가능하다.

- [0088] 지지체(12)는, 외부 치수가 표준 SBS/AINSI에 적합하도록 소정의 개구부(20)를 갖는 쉘일 수 있다.
- [0089] 본 발명에 따른 장치(10)는 생화학적 유체, 특히 혈액 또는 그 성분 중 어느 하나에서 모세관 현상에 의하여 분석물질의 존재 또는 부재를 결정하도록 사용될 수 있다. 이러한 분석물질은 적혈구 표현형의 항원이거나, 이러한 항원에 지칭되는 항체일 수 있다.
- [0090] 장치(10)는 특히 아래에 사용될 수 있다:
- 적혈구 표현형, 즉 그 표면의 항원의 결정
  - anti-A 또는 anti-B 항체의 존재를 식별하는 시모닌 검사
  - 동종항체, 자가항체 또는 한냉 응집소(cold agglutinin)의 탐색을 통한, 특히 적혈구에서 세포 단위 항원을 지칭하는 항체의 검출 또는 식별
- [0094] 따라서, 특히, 본 발명의 목적은, 혈액 또는 그 성분 중 어느 하나의 시료로부터 ABO 혈액형, 확장된 레수스(Rhesus) 표현형, 비정규 응집소의 검출, 자가항체의 검출, 한냉 항글로불린(cold antiglobulin) 및/또는 교차검증을 식별하고 결정하기 위한 장치(10)의 사용방법이다.
- [0095] 본 발명에 따른 장치(10)의 사용방법은 표출 제제의 사용을 필요로 한다. 바람직하게 이는 적혈구이다. 적혈구는:
- 공지된 표현형의 적혈구이며, 항체 검출을 위한 장치 또는 시모닌 검사의 사용을 위하여 적혈구 검사체(red blood cell tests)로 지칭되며,
  - 표현형을 위한 장치의 사용을 위하여 피검 시료에 포함된 것이다.
- [0098] 피검 시료 내의 존재를 탐지하는 것이 목적인 분석물질에 따라, 포착제의 성질, 표출 제제의 성질, 친수성화 방법(단일 또는 다중인지, 두께 또는 표면인지 여부), 이어지는 프로토콜 모두 변화가 필요하다.
- [0099] 모든 경우, 피검 시료가 반응 영역에서 침착되기 이전에, 베퍼 용액에 의하여 반응 영역(16)의 수화가 진행되는 것이 가능하다. 베퍼는, pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함할 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20), 포화 제제(BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다.
- [0100] 유사하게, 그 결과를 확인하도록, 베퍼 린싱을 사용하는 것이 필요하다. 이러한 워싱 베퍼는 바람직하게 PBS, TBS, 또는 2 내지 10, 바람직하게 5 내지 9의 pH의 염수 용액을 포함한다. 베퍼의 삼투도는 적혈구의 용혈을 방지하도록 조절되어야 한다. 베퍼는 표출 제제 또는 포착제에 직접 또는 간접적으로 고정된 채색 분석물질의 분리가 이루어지지 않도록 선택되어야 한다. 놀랍게도, 본 발명에 따른 장치의 사용을 위하여, 고삼투압 워싱 용액을 약간만 사용하는 것이 바람직하며(즉, 300mOsm 내지 800mOsm), 이는 NaCl과 같은 염수 제제 또는 예를 들어 글리신 또는 타우린과 같은 비-이온 삼투질의 존재에 의하여 획득된다. 이러한 베퍼는 표출 제제의 색상에 대비되는 색상으로 채색될 수 있다. 예를 들어, 표출 제제가 적혈구인 경우, 워싱 베퍼 용액은 청색 또는 녹색으로 채색될 수 있다. 또한, 배경 노이즈를 제거하기 위해 워싱 용액에 적은 용량의 계면활성제를 추가할 수도 있다. 이러한 계면활성제는 비-이온 계면활성제가 바람직하며, 특히 당 에스테르, 특히 소르비탄 폴리옥시에틸레닉 에스테르(Tween)가 바람직하다.
- [0101] 장치(10)의 사용 동안, 액체는, 특히 피페터 시스템에 의해 또는 모세관 응답 시스템에 의해 침착된다.
- [0102] 바람직하게, 본 발명에 따른 장치는 원심 분리, 교반, 진공화, 애드호크(ad hoc) 장치를 필요로 하지 않는다. 또한, 수동이며, 전체적으로 자체적인 사용이 가능하며, 그리고 로봇에 의한 자동화도 가능하다. 막(14)의 상이한 특징은 이동 속도를 제어하고, 막(14)의 다공성 크기와 무관하게 아무리 크더라도 항원-항체 반응을 가능하게 하기에 충분한 이동 시간을 제공한다.
- [0103] 제 1 변형예에 따른 본 발명의 목적은 적혈구 표현형을 위한 장치(10)의 사용이다.
- [0104] 그 목적은 적혈구 표면에서 항원을 검출하는 것이다. 이 경우, 항체 또는 항체 혼합물이 포착제로 사용되며, 확인하고자 하는 항원, 또는 항원 변형물을 특이적으로 인지할 수 있다. 항체는 순수하거나 반-정제된 단일클론 항체, 단일클론 항체(표 1 참조) 또는 다중클론 항체를 포함하는 배양 상청액, 항-혈청일 수 있다. 응집소 또는 렉틴이 사용될 수도 있다. 단일클론 항체의 비-배타적 예시는 아래와 같다:

표 1

바람직한 항원	포착 부재	참조 클론의 예시	표출 부재
A	Ac Anti-A	BIRMA-1,	샘플의 적혈구
B	Ac Anti-B	LB-2 and/or ES-4	샘플의 적혈구
AB	Ac Anti-AB	ES-4 and/or ES-15 and/or BH517	샘플의 적혈구
D (RH1)	Ac Anti-D	RUM-1 and/or MS-201 and/or MAD-2 and/or TH-28 and/or MS-26	샘플의 적혈구
C (RH2)	Ac Anti-C	MS-273 or MS-24	샘플의 적혈구
c (RH4)	Ac Anti-c	MS-33	샘플의 적혈구
E (RH3)	Ac Anti-E	MS-258, MS-80	샘플의 적혈구
e (RH5)	Ac Anti-e	MS-16, MS-21, MS-63	샘플의 적혈구
K	Ac Anti-K	MS-56	샘플의 적혈구
Fya (FY1)	Ac Anti-Fya	P3TIM	샘플의 적혈구
Fyb (FY2)	Ac Anti-Fyb		샘플의 적혈구
Jka (JK1)	Ac Anti-Jka	MS-15	샘플의 적혈구
Jkb (JK2)	Ac Anti-Jkb	MS-8	샘플의 적혈구
S (MNS3)	Ac Anti-S	MS-94	샘플의 적혈구
s (MNS4)	Ac Anti-s	P3BER L	샘플의 적혈구
Lea (LE1)	Ac Anti-Lea	LM112/161	샘플의 적혈구
Leb (LE2)	Ac Anti-Leb	LM129/181	샘플의 적혈구
M (MNS1)	Ac Anti-M	M110/140	샘플의 적혈구
N (MNS2)	Ac Anti-N		샘플의 적혈구
P1	Ac Anti-P 1	P3MON23	샘플의 적혈구
Kpa (KEL3)	Ac Anti-Kpa		샘플의 적혈구
Lua (LU1)	Ac Anti-Lua		샘플의 적혈구
Lub (LU2)	Ac Anti-Lub		샘플의 적혈구
k, cellano(KEL 2)	Ac Anti-k		샘플의 적혈구
Kpb (KEL4)	Ac Anti-Kpb		샘플의 적혈구
Cw	Ac Anti-Cw		샘플의 적혈구

[0105]

표 1: 혈구 표현형을 위하여 사용 가능한 포착 항체의 비-배타적 리스트

[0107]

특정 실시예에 따라, 본 발명의 목적은 양성 표현형 집단과 음성 표현형 집단의 동시 탐지를 위하여 적혈구 시료로부터 적혈구 혈액형 표현형을 위한 처리방법이며, 아래의 단계를 포함한다:

[0108]

- 본 발명에 따른 장치(10)의 반응 영역의 중심부에 다공성 막(14)을 수화시키도록 용액을 침착시키는 단계로서, 상기 반응 영역(16)은 두 개의 친수성 영역(16-1, 16-2)을 포함할 수 있으며, 반응 영역의 주변부(16-2)와 비교하여 중심부(16-1)의 친수성화 정도가 크며, 중심부에서 항체를 포함하는 포착제를 포함한다; 막의 수화를 위한 용액은 선택적으로 침가제를 포함하여 면역혈액학에서 공지된 용액인 것이 바람직하며, 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 버퍼일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05% $\text{m/v}$ 의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 버퍼는 예를 들어 파파인 또는 브로멜라인과 같은 효소 추가에 의하여 획득되는 프로테아제 작용을 선택적으로 가

질 수 있다. 이러한 버퍼는, 포착제와 접촉하는 동안 혈구와의 잠재적인 반응 및 유지를 위해, 폴리브렌 또는 폴리리신과 같은 다중양이온 제제를 선택적으로 포함할 수 있다;

[0109] - 버퍼 용액에서 표현형이 표현되는 적혈구를 희석하는 단계로서, 특히 버퍼 용액은 면역혈액학에서 공지된 것이 바람직하며, 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 버퍼와 같은 첨가제를 선택적으로 포함한다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 버퍼는 예를 들어 파파인 또는 브로멜라인과 같은 효소 추가에 의하여 획득되는 프로테아제 작용을 선택적으로 가질 수 있다. 이러한 버퍼는, 포착 부재와 접촉하는 동안 적혈구와의 잠재적인 반응 및 유지를 위해, 폴리브렌 또는 폴리리신과 같은 다중양이온 제제를 선택적으로 포함할 수 있다;

[0110] - 반응 영역의 중심부(16-1)에서 표현형이 표현되는 적혈구를 포함하는 이러한 용액을 추가하는 단계;

[0111] - 바람직하게 15 내지 40°C, 특히 18°C 내지 25°C에서, 60초 내지 15분, 특히 2분 내지 10분의 기간 동안, 인큐베이션하는 단계;

[0112] - 반응 영역에 린스 용액을 침착시키는 단계; 린스 용액은 항원-항체 반응에 해를 주지 않는 것으로 알려진 용액이며, 적혈구 특성을 유지하며 비특이 상호작용이 이루어지지 않게 하며, 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 버퍼와 같은 것일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 다중양이온 제제의 사전 사용의 경우, 이러한 버퍼는 강이온성일 수 있으며, 이는 100mM 초과의 NaCl을 포함할 수 있어서, 이러한 형식의 첨가제에 의하여 야기될 수 있는 비특이 상호작용이 이루어지지 않게 한다.

[0113] 침착되는 시료는 적혈구 또는 전체 혈액일 수 있다. 시료는 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 버퍼에서 희석될 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 버퍼는 예를 들어 파파인 또는 브로멜라인과 같은 효소 추가에 의하여 획득되는 프로테아제 작용을 선택적으로 가질 수 있다.

[0114] 이러한 처리방법을 수행하도록 사용되는 장치(10)의 막(14)의 반응 영역(16)의 친수성화는 표면 친수성화인 것이 바람직하다.

[0115] 친수성화는 예를 들어 Tween 20의 0.1m/v 내지 1m/v, 바람직하게는 0.2m/v 내지 1m/v 농도이며 2μl 내지 40μl, 바람직하게는 5μl 내지 20μl 부피인 에탄올 용액을 이용하여 수행될 수 있으며, 친수성화 영역의 중심부는 예를 들어 Triton X100의 0.1m/v 내지 2m/v, 바람직하게는 0.5m/v 내지 1m/v 농도이며 25nl 내지 15μl, 바람직하게는 100nl 내지 10μl 부피인 수용액을 이용하여 생성될 수 있다.

[0116] 시료의 적혈구가 포착 부재에 의하여 인지되는 항원의 정후를 갖는다면, 적혈구는 린성되는 대신 막(14)의 반응 영역(16)의 중심부에서 고정되어 유지되어, 반응 영역의 중심부(16-1)가 적색으로 유지된다. 시료 내에 존재하는 적혈구가 포착 부재에 의하여 인지되는 항원을 수반하지 않는다면, 적혈구는 린성에 의하여 씻겨진다: 중심부(16-1)는 백색으로 유지되고, 주변부(16-2)에 적색 고리가 형성된다. 시료가 두 개의 상이한 집단을 포함한다면, 적색의 중심부(22-1)와 적색 고리의 주변부(22-2)가 모두 관찰된다.

[0117] 결과를 확인하는 것은 가시적일 수도, 자동일 수도 있다.

[0118] 다른 특정 구현예에 따르면, 본 발명의 목적은 적혈구(순 적혈구 또는 전체 혈액) 시료로부터 적혈구형을 표현하기 위한 처리방법이며, 이중 집단을 탐지하는 것을 허용하지 않으며, 아래의 단계들을 포함한다:

[0119] - 본 발명에 따른 장치(10)의 반응 영역의 중심부에 다공성 막(14)을 수화시키도록 용액을 침착시키는 단계로서, 상기 반응 영역(16)은 단일 친수화 영역을 포함하며, 항체를 포함하는 포착제를 포함한다; 막의 수화를 위한 용액은 선택적으로 첨가제를 포함하여 면역혈액학에서 공지된 용액인 것이 바람직하며, 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며,

250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 벼퍼일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 벼퍼는 예를 들어 파파인 또는 브로멜라인과 같은 효소 추가에 의하여 획득되는 프로테아제 작용을 선택적으로 가질 수 있다. 이러한 벼퍼는, 포착 부재와 접촉하는 동안 혈구와의 잠재적인 반응 및 유지를 위해, 폴리브렌 또는 폴리리신과 같은 다중양이온 제제를 선택적으로 포함할 수 있다;

[0120]

- 벼퍼 용액에서 표현형이 표현되는 적혈구를 선택적으로 회석하는 단계로서, 특히 벼퍼 용액은 면역혈액학에서 공지된 것이 바람직하며, 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 벼퍼와 같은 첨가제를 선택적으로 포함한다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 벼퍼는 예를 들어 파파인 또는 브로멜라인과 같은 효소 추가에 의하여 획득되는 프로테아제 작용을 선택적으로 가질 수 있다. 이러한 벼퍼는, 포착제와 접촉하는 동안 적혈구와의 잠재적인 반응 및 유지를 위해, 폴리브렌 또는 폴리리신과 같은 다중양이온 제제를 선택적으로 포함할 수 있다;

[0121]

- 반응 영역의 중심부에서 표현형이 표현되는 적혈구를 포함하는 이러한 용액을 추가하는 단계;

[0122]

- 바람직하게 15 내지 40°C, 특히 18°C 내지 25°C에서, 2초 내지 15분, 특히 1분 내지 10분의 기간 동안, 인큐베이션하는 단계;

[0123]

- 반응 영역에 린스 용액을 침착시키는 단계; 린스 용액은 항원-항체 반응에 해를 주지 않는 것으로 알려진 용액이며, 적혈구 특성을 유지하며 비특이 상호작용이 이루어지지 않게 하며, 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 벼퍼와 같은 것일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 다중양이온 제제의 사전 사용의 경우, 이러한 벼퍼는 강이온성일 수 있으며, 이는 100mM 초과의 NaCl을 포함할 수 있어서, 이러한 형식의 첨가제에 의하여 야기될 수 있는 비특이 상호작용이 이루어지지 않게 한다.

[0124]

이러한 처리방법을 수행하도록 사용되는 장치(10)의 막(14)의 반응 영역(16)의 친수성화는 두께에 결친 친수성화일 수 있다. 또한, 장치(10)가 막(14) 아래에서 흡수성 막(18)과 같은 흡수 시스템을 포함하는 것이 필요하다.

[0125]

친수성화는 예를 들어 Triton X100의 0.1%m/v 내지 2%m/v, 바람직하게는 0.5%m/v 내지 1%w/v 농도이며 25nl 내지 15μl, 바람직하게는 100nl 내지 10μl 부피인 수용액을 이용하여 이루어질 수 있다.

[0126]

시료 내에 존재하는 적혈구가 포착 부재에 의하여 인지되는 항원을 수반한다면, 적혈구는 린싱되는 대신 막(14)의 반응 영역(16)의 중심부(22)에서 고정되어 유지되어, 반응 영역(16)이 적색으로 유지된다. 시료 내에 존재하는 적혈구가 포착 부재에 의하여 인지되는 항원을 수반하지 않는다면, 적혈구는 린싱에 의하여 씻겨지고 반응 영역(16)이 백색으로 유지된다. 흡수성 막(18)은 막(14)에 고정되지 않은 모든 것을 흡수한다(영역 (24)).

[0127]

결과를 확인하는 것은 가시적일 수도, 자동일 수도 있다.

[0128]

제 2 변형예에 따르면, 본 발명의 목적은 혈액 내의 다가 항체의 탐지 또는 시료된 검사를 위한 장치(10)의 사용이다.

[0129]

목적은 특정 항체를 검출하는 것이다. 따라서, 포착 부재는 바람직한 항체가 지칭되는 항원을 포함한다.

[0130]

고정된 항원은 커플링된 합성 항원이거나 아닐 수도 있으며, 중합체이거나 단백질 구조일 수 있다. 또한, 이는 항원의 하나 또는 그보다 많은 시퀀스를 함유하는 재조합 단백질일 수 있으며, 또는 바람직하게는, 변형된 항원 혼합물일 수 있다. 또한, 고정된 항원은 세포 또는 세포의 일부 상에 있을 수 있으며, 특히 세포질 내용물이 없는 막 부분 또는 세포에 있을 수 있다. 이러한 세포는 특히 세포질이 없는 적혈구일 수 있으며, <<고스트(ghost)>>로 지칭되기도 한다.

[0131]

시료가 확인하고자 하는 항원을 지칭하는 항체를 갖는 경우, 이들은 반응 영역(16) 수준에서 막(14)의 표면에

포착되어 남을 것이다.

[0132] 항체 특성을 인지함으로써 항체의 존재를 표출시키는 표출 제제를 사용하는 것이 필요한 경우(anti-IgG, anti-IgM), 또는 (소정의 항원들을 동시에 탐지할 수 있는) 다가 항체가 사용된 경우, 확인하고자 하는 항원을 수반하는 표출 제제가 사용될 수 있다.

## 표 2

바람직한 항원	포착 부재	표출 부재
IgM Anti-A	Ghosts A	적혈구 검사 A1
IgM Anti-B	Ghosts B	적혈구 검사 B

표 2: 면역혈액학 분야에서 항체 검출을 위한 예시

[0135] 따라서 본 발명의 다른 목적은 혈장, 혈청, 또는 전체 혈액 시료로부터 혈액 내에 존재하는 다가 항체의 탐지를 위한 처리방법이며, 아래의 단계를 포함한다.

[0136] - 장치(10)의 반응 영역(16) 상에 피검 시료를 침착시키는 단계로서, 상기 반응 영역(16)은 항원을 포함하는 포착제를 포함한다.

[0137] - 공지된 표현형의 적혈구 검사체를 추가하는 단계로, 포착제와 동일한 항원을 포함한다.

[0138] - 혼합물이 친수성 영역을 통과하게 하는 단계로, 친수성 영역은 1 내지 45분, 바람직하게 3 내지 15분의 통과 시간을 가능하게 하는 특징을 갖는다.

[0139] - 반응 영역 상에 린스 용액을 침착시키는 단계로, 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 버퍼와 같은 것일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA)를 포함할 수 있다.

[0140] 침착되는 시료는 혈장, 혈청 또는 회석되거나 버퍼 내에 있지 않은 전체 혈액일 수 있으며, 버퍼는 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액을 포함하는 버퍼와 같은 것일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 버퍼는 100mM 미만의 염도를 갖는 NaCl을 포함하는 것이 바람직하다.

[0141] 이러한 처리방법을 수행하도록 사용되는 장치(10)의 막(14)의 친수성화는 두께에 걸쳐 이루어지는 것이 바람직하다. 따라서, 장치(10)는 막(14) 아래에서 예를 들어 흡수성 막(18)과 같은 흡수 시스템을 더 포함하는 것이 필요하다.

[0142] 친수성화는 Triton X100의 0.3%m/v 내지 2%m/v, 바람직하게는 0.5%m/v 내지 1%w/v 농도이며 25nl 내지 15μl, 바람직하게는 100nl 내지 10μl 부피인 수용액을 이용하여 이루어질 수 있다. 포착제는 막 상에서 침착되거나, 세제와 혼합되거나, 또는 반응 영역(16)의 친수성화 이후에 이루어질 수 있다.

[0143] 검사되는 혈장이 포착제 및 표출 제제(적혈구 검사체)에 존재하는 항원에 대하여 지칭되는 항체를 포함하는 경우, 적색의 중심부(22)가 반응 영역(16)에서 나타난다. 백색의 중심부는 포착제와 표출 제제(적혈구 검사체) 모두에서 항원에 대하여 지칭되는 항체가 존재하지 않음을 지시한다. 흡수성 막(18)은 막(14)에 고정되지 않은 모든 것을 흡수한다(영역 (24)).

[0144] 결과를 확인하는 것은 가시적일 수도, 자동일 수도 있다.

[0145] 제 3 변형예에 따라, 본 발명의 목적은 혈액 내의 비정규 응집소를 검출하는데 장치(10)가 사용되는 것이다.

[0146] 목적은, 시료의 혈장 항체에 의하여 또는 후속적 보체의 활성화에 의하여 민감하게 되는 적혈구의 존재를 식별

하는 것이다.

[0147] 이러한 형식에서, 어떠한 포착제도 없거나, 또는 포착제는 다중양이온 중합체와 같은 응집 제제이다.

[0148] 적혈구 패널 검사체를 혈장과 인큐베이션한 후, 적혈구를 가역적으로 응집시킬 수 있는 제제가 혼합물에 추가된다. 이러한 가역적 응집 제제는 예를 들어 폴리브렌, 폴리리신, 또는 폴리에틸레네이민과 같은 다중양이온 중합체로부터 선택될 수 있다. 적혈구는 유지되어 남겨지며 형성된 응집체의 크기가 막을 통과하기에 너무 크기 때문에 혈구 버튼을 형성한다. 혈구는, 버튼의 불안정화를 방지하도록 응집 제제도 포함하는 용액에 의하여 비-특이 글로불린의 과도한 부분이 린싱된다. 이렇게 유지된 혈구가 린싱된 이후, 다가 쿰스 시약이 추가되어, 민감화된 경우 버튼의 세포의 망상 조직이 수행된다. 낮은 용량의 계면활성제를 포함하는 염수 버퍼의 추가는, 비-민감화된 세포의 응집을 방지하고, 망상 조직 민감화 세포의 응집을 유지한다.

표 3

바람직한 분석물질	Reticulation Agent	참조 클론	
적혈구 검사 상 IgG human	Anti-IgG, protein A, protein G.	MS-278, Protein A, G, A/G	적혈구 검사
적혈구 검사 상 IgM human	Anti-IgM		적혈구 검사
적혈구 검사 상 C3d human	Anti-C3d	BRIC-8	적혈구 검사

[0149]

표 3: 비정규 응집을 검출하도록 사용될 수 있는 항체의 비-베타적 리스트

[0151] 이러한 처리방법을 수행하기 위하여, 이러한 처리방법에 사용되는 장치(10)의 막(14)의 반응 영역(16)의 친수성화가 두께에 걸쳐 수행되는 것이 바람직하다. 따라서, 장치(10)는 막(14) 아래에서 예를 들어 흡수성 막(18)과 같은 흡수 시스템을 더 포함하는 것이 필요하다.

[0152] 친수성화는 Triton X100의 0.3%m/v 내지 2%m/v, 바람직하게는 0.5%m/v 내지 1%w/v 농도이며 25nL 내지 15 $\mu$ L, 바람직하게는 100nL 내지 10 $\mu$ L 부피인 수용액을 이용하여 이루어질 수 있다. 가역적 응집 제제가 추가되는 것이 바람직하며, 바람직하게는 예를 들어 폴리브렌, 폴리리신, 또는 폴리에틸레네이민과 같은 다중양이온 중합체로부터 선택될 수 있다.

[0153] 따라서, 이러한 제 3 변형예에 따라, 본 발명의 다른 목적은, 예를 들어, 혈청, 혈장, 또는 전체 혈액의 시료로부터, 혈액 내에 존재하는 항-적혈구 항체의 탐지, 자가항체 또는 한냉 응집소의 교차 검증이나 검출을 위한 처리방법이며, 아래의 단계를 포함한다:

[0154] - 동종항체를 검출하기 위해서는, 15 내지 40°C, 바람직하게는 약 37°C의 온도에서, 3 내지 60분, 바람직하게는 5 내지 30분의 시간 동안 적혈구를 응집할 수 있는 제제, 공지된 표현형의 적혈구 검사체 및 버퍼를 이용하여 피검 시료의 사전 인큐베이션을 하는 단계로서; 버퍼는 LISS 버퍼(예를 들어 50mM 미만의 NaCl을 함유)와 같은 저이온력의 버퍼이며; 자가항체를 검출하기 위해서는 사전 인큐베이션 없이 시료의 적혈구를 함유한 시료를 사용하는 단계;

[0155] - 이러한 혼합물에, 예를 들어 헥사디메스린 브로마이드 용액과 같이 혈구를 응집할 수 있는 제제를 추가하는 단계;

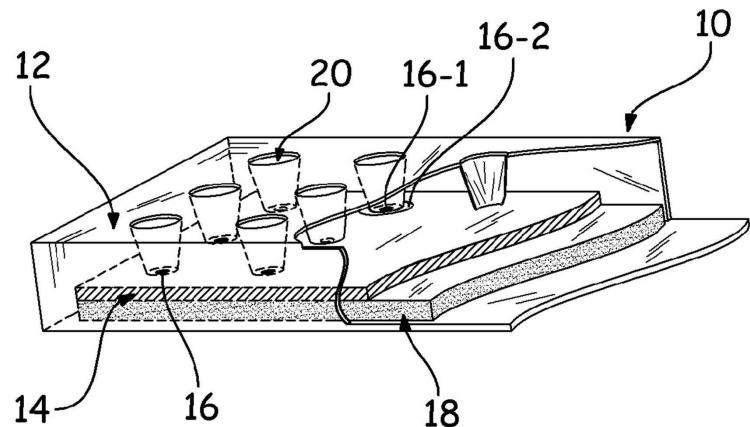
[0156] - 바람직하게 15초 내지 5분의 간격 이후, 본 발명에 따른 장치(10)의 반응 영역(16)에 혼합물을 침착시키고, 흐르도록 하는 단계로서; 이는 스팟 상에서 세포 버튼 내에 형성됨,

[0157] - 반응 영역에서 적혈구를 응집할 수 있는 제제를 포함하는 용액을 침착시키는 단계로서, 적혈구를 응집할 수 있는 제제는 예를 들어 헥사디메스린 브로마이드 용액일 수 있으며, 바람직하게는 0.01 내지 2%(m/v), 보다 바람직하게는 0.05 내지 0.5%의 농도인 헥사디메스린 브로마이드 용액이 바람직하며; 이러한 제제는 비-특이 단백질을 린싱하고 세포의 버튼의 온전한 상태를 유지함;

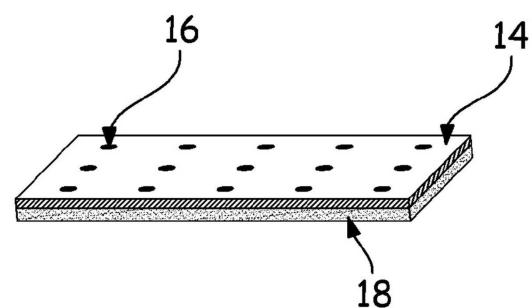
- [0158] - 쿰스 인간 항글로불린 또는 항-보체 시약을 반응 영역에 침착시키는 단계, 및
- [0159] - 반응 영역에 린스 용액을 침착시키는 단계로서, 이는 예를 들어 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 300mOsm 내지 800mOsm의 삼투도를 갖는 고장성 염수 용액일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며 적색에 대조되는 색상의 염색제(청색 또는 녹색)을 포함할 수 있다.
- [0160] 침착되는 시료는 혈장, 혈청 또는 희석되거나 버퍼 내에 있지 않은 전체 혈액일 수 있으며, 버퍼는 예를 들어 pH 6 내지 pH 8.5, 바람직하게는 pH 6.5 내지 pH 7.8, 보다 바람직하게는 pH 7 내지 pH 7.5에서 안정화 pH이며, 250mOsm 내지 800mOsm, 바람직하게는 300mOsm 내지 600mOsm의 삼투도를 갖는 용액일 수 있다. 이러한 용액은 선택적으로 저농도 제제(특히 0.01 내지 0.05%m/v의 Tween 20)를 포함할 수 있으며, 포화 제제(예를 들어, BSA) 및/또는 항원-항체 반응을 잠재적으로 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 이러한 버퍼는 50mM 미만의 염도를 갖는 NaCl을 포함하는 것이 바람직하다.
- [0161] 항원에 대하여 지칭되는 항체를 포함하는 검사되는 혈장이 표출 제제(적혈구 검사체) 내에 존재하거나, 또는 시료의 적혈구가 이미 체내에서 민감화된 경우, 적색의 중심부(22)가 반응 영역(16)에서 나타난다. 백색의 중심부는 표출 제제(적혈구 검사체)에서 항원에 대하여 지칭되는 항체가 존재하지 않음을 지시한다. 흡수성 막(18)은 막(14)에 고정되지 않은 모든 것을 흡수한다(영역 (24)).
- [0162] 결과를 확인하는 것은 가시적일 수도, 자동일 수도 있다.
- [0163] 본 발명에 따른 장치(10)는, 동일 카드 상에서 전문가에 의하여 가장 빈번하고 동시에 수행되는 적절한 상보적 검사의 조합 범위에 따라 제공될 수 있으며, 모든 검사는 유사하게 수행되고 유사하게 이해될 것이다.
- [0164] 카드 각각에서, 일렬로 배열된 소정의 시료들(기증자 또는 환자)을 위한 칼럼에 배열된 소정의 분석물질들이 탐지될 수 있다. 이는 예를 들어 아래를 위한 카드일 수 있다:
- [0165] - ABO-D 혈액형
  - [0166] - 레수스-켈(Rhesus-Kell)형
  - [0167] - 비정규 응집소의 검출 (3 적혈구 표현형)
  - [0168] - 비정규 응집소의 식별 (10 적혈구 표현형)
  - [0169] - 확장된 표현형
  - [0170] - 항글로불린으로서 직접 제어
  - [0171] - 직접 적합성 검사
- [0172] 본 발명에 따른 장치(10)는 상기 장치의 사용의 처리방법 중 적어도 하나를 수행하기에 필요한 시약을 포함하는 키트(kit) 내에 존재할 수도 있다.

도면

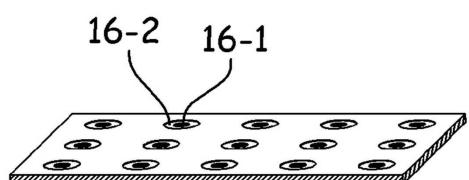
도면1



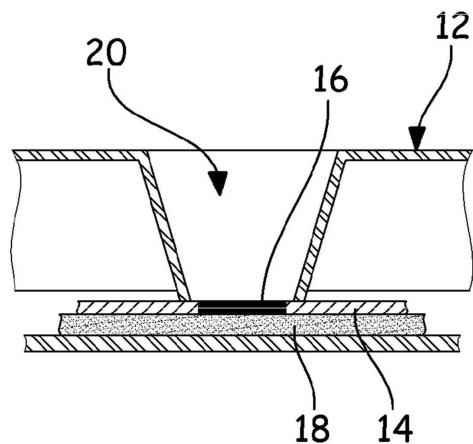
도면2a



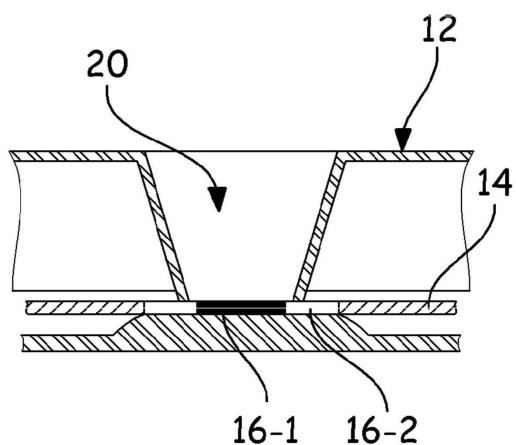
도면2b



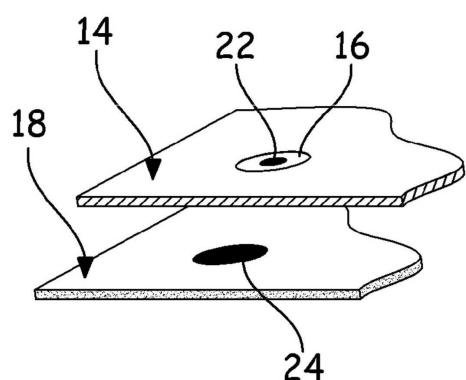
도면3a



도면3b



도면4a



도면4b

