

(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
2013年5月23日(23.05.2013)



(10) 国際公開番号

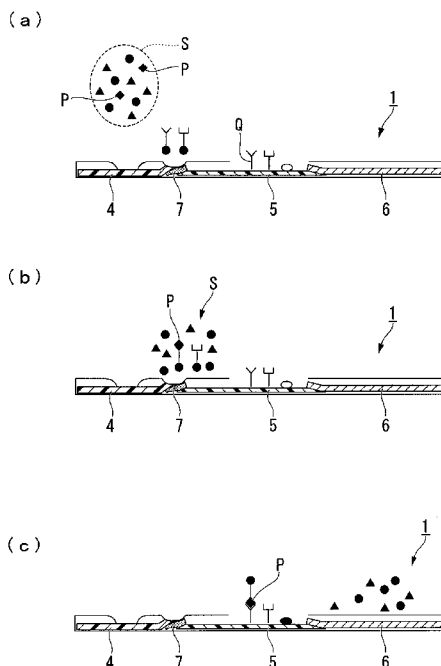
WO 2013/073558 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/543 (2006.01) B01D 39/20 (2006.01)
B01D 29/01 (2006.01) G01N 1/10 (2006.01)
B01D 39/16 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/079476
- (22) 国際出願日: 2012年11月14日(14.11.2012)
- (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 2011-249130 2011年11月14日(14.11.2011) JP
- (71) 出願人: ロート製薬株式会社(ROHTO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5448666 大阪府大阪市生野区▲巽▼西一丁目8番1号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 金子 輝(KANEKO Akira); 〒5448666 大阪府大阪市生野区▲巽▼西一丁目8番1号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP). 小池 哲央(KOIKE Tetsuo); 〒5448666 大阪府大阪市生野区▲巽▼西一丁目8番1号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 志賀 正武, 外(SHIGA Masatake 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, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: LIQUID SAMPLE INSPECTION METHOD, NOZZLE FOR SPECIMEN EXTRACTION, CONTAINER FOR SPECIMEN EXTRACTION AND LIQUID SAMPLE INSPECTION KIT

(54) 発明の名称: 液体試料検査方法及びに検体抽出ノズル、検体抽出容器及び液体試料検査キット



(57) Abstract: The present invention relates to a liquid sample inspection method which comprises: filtering, through a filtration filter, a liquid sample that is obtained by preparing specimen; and then detecting or qualifying a substance to be detected in the liquid sample on a liquid sample inspection instrument that comprises a chromatographic medium, to said chromatographic medium a substance capable of capturing the substance to be detected being bonded. In the liquid sample inspection method, the filtration filter comprises a glass fiber filter having a pore size of 2.5 μm or greater and a resin filter formed of an expandable organic polymer resin material. According to the present invention, a substance to be detected in a specimen can be detected by the immunoassay method at a high accuracy without causing errors in development.

(57) 要約: 本発明は、検体を調製した液体試料を濾過フィルターによって濾過した後に、被検出物を捕捉する物質を結合させたクロマト媒体を有する液体試料検査具上で、前記液体試料中の前記被検出物を検出又は定量する液体試料検査方法において、前記濾過フィルターは、2.5 μm 以上の孔径を有するガラス繊維製フィルターと、有機ポリマーの発泡性樹脂材料よりなる樹脂製フィルターとを備えている液体試料検査方法に関する。本発明によれば、検体中の被検出物を、免疫アッセイ法により、展開不良を起こすことなく、精度よく検出することができる。



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

液体試料検査方法並びに検体抽出ノズル、検体抽出容器及び液体試料検査キット

技術分野

[0001] 本発明は、イムノアッセイ法を用いた液体試料検査方法並びに検体抽出ノズル、検体抽出容器及び液体試料検査キットに関する。本願は、2011年11月14日に、日本に出願された特願2011-249130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] 従来より、細菌やウイルス等の病原体の感染、妊娠の有無、血糖値の測定など、様々な検査を数分から十数分の短時間で行うことができる簡易検査試薬又はキットが提供されている。これらの検査キットによる検査方法としては、より簡便で、より短時間での検出が可能であることから、イムノアッセイ法が広く用いられている。

しかし、イムノアッセイ法により検査した場合、患者から実際に採取された検体の分析において、被検出物が検体中に存在しないにも関わらず陽性と判定してしまったり（いわゆる偽陽性）、被検出物が検体中に存在するのに陰性と判断してしまったり（いわゆる偽陰性）、と誤判定が生じることがあった。かかる誤判定は、原因の特定を遅らせ、早期治療、早期処置に支障をきたしかねないため、誤判定を抑制する濾過フィルターや、該濾過フィルターを有したアッセイキットが開発されている。

[0003] 誤判定は、アッセイ装置のクロマト媒体上に添加された検体中に含まれる混入物が該クロマト媒体中の細孔を塞ぎ、溶液中の成分の移動が阻害される結果、非特異的な反応が起こることによって発生すると考えられる。そこで、検体を適当な緩衝液で希釈することにより調製された液体試料を予め濾過することにより、誤判定を抑制し得ることが期待できる。また、クロマト媒

体に滴下された検体が十分に展開されない場合には、クロマト媒体上がブロードに染色されてしまい、陽性か陰性かの判断自体が困難な場合がある。そこで、検体を適当な緩衝液で希釈し、得られた液体試料を濾過することにより、予め検体中に含まれる混入物を除去して、このような展開不良も軽減し得る。

[0004] 液体試料の濾過において、目詰まりを防止するとともに、緩衝液の増加による被検出物の検出感度の低下を防止するために、特許文献1では、特に目詰まりの発生がフィルターの孔ないし気孔の変形に基づくものであることに着目して、濾過チューブに強剛性フィルターを用いることとしている。

当該特許文献1では、濾過チューブ中に検体抽出液に検体を抽出させた液体試料を入れて、先端に取り付けた濾過フィルターを通して濾過し、濾液をイムノアッセイ装置中のクロマト媒体に滴下する際に、濾過フィルターとして、フィルターの厚さ方向に潰れにくく、または、湾曲等の変形をしにくい剛性を備えている強剛性フィルターを採用している。より具体的には、液体試料を濾過する時の液体や空気によるフィルターにかかる圧力が0.2 MPaを超えても、濾過前対濾過時の厚さの変化量が5%以上とならず、好ましくは2%以上とならず、また、湾曲等の変形をしにくい剛性を備えているとは、上記同様の圧力がかかっても濾過時のフィルターの曲率半径が2 cm以下とならないフィルターを用いている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開2009-36781号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 特許文献1に記載の方法では、偽陽性の軽減についての記載はあるが、クロマト展開の不良によりクロマト媒体がブロードに染色される結果、陽性か陰性かの判断自体が困難な場合の改善については一切記載がない。

[0007] そこで、本発明は、展開不良を防止し、検査時においても良好な操作性を備え、容易かつ低コストで作製できる検体抽出ノズル、検体抽出容器及びこれを備えた液体試料検査キット、及びこれらの検体抽出ノズル、検体抽出容器又は液体試料検査キットを用いた液体試料検査方法を提供する。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明は、以下に関する。

[1] 検体を調製した液体試料を濾過フィルターによって濾過した後に、被検出物を捕捉する物質を結合させたクロマト媒体を有する液体試料検査具上で、前記液体試料中の前記被検出物を検出又は定量する液体試料検査方法において、前記濾過フィルターは、 $2.5\mu\text{m}$ 以上の孔径を有するガラス繊維製フィルターと、有機ポリマーの発泡性樹脂材料よりなる樹脂製フィルターとを備えている液体試料検査方法。

[2] 前記液体試料中の前記被検出物を検出又は定量する方法が、被検出物を含む溶液と、被検出物に特異的に結合する標識物質とを、被検出物と特異的に結合する捕捉試薬が塗布されたクロマト媒体に対して、垂直方法に通過させるか、或いは、水平方向に展開させることにより行う[1]に記載の液体試料検査方法。

[3] 前記クロマト媒体の平均孔径が $0.5\sim 50\mu\text{m}$ 、好ましくは、 $10\sim 30\mu\text{m}$ である[1]又は[2]に記載の液体試料検査方法。

[4] [1]～[3]のいずれか1つに記載の液体試料検査方法において、前記樹脂製フィルターの気孔率は、70%以上である液体試料検査方法。

[5] [1]～[4]のいずれか1つに記載の液体試料検査方法において、前記樹脂製フィルターは、ポリビニルアルコールを用いて形成されている液体試料検査方法。

[6] 被検出物が、インフルエンザウィルス、アデノウィルス、肺炎マイコプラズマ若しくはノロウィルス、又はこれら病原微生物由来のタンパク質若しくはこれらに対する抗体である[1]～[5]に記載の液体試料検査方法。

〔 7 〕 検体を含む液体試料を濾過フィルターで濾過して液体試料検査具に滴下する検体抽出ノズルにおいて、前記濾過フィルターは、 $2.5\mu\text{m}$ 以上の孔径を有するガラス繊維製フィルターと、有機ポリマーの発泡性樹脂材料よりなる樹脂製フィルターとを備えている検体抽出ノズル。

〔 8 〕 前記検体抽出ノズルが、

検体抽出容器本体の開口端部に液密に内嵌される嵌合部と、

前記開口端部の端縁に係合させるフランジと、

液体試料の量を絞りつつ流動させ液体試料を好適に滴下できるようにしたノズル部と、を備えており、

前記濾過フィルターが前記嵌合部内に備えられている、〔 7 〕 に記載の検体抽出ノズル。

〔 9 〕 〔 7 〕 又は〔 8 〕 に記載の検体抽出ノズルにおいて、前記樹脂製フィルターの気孔率は、 70% 以上である検体抽出ノズル。

〔 10 〕 〔 7 〕 ～〔 9 〕 のいずれか1つに記載の検体抽出ノズルにおいて、前記有機ポリマーとして、ポリビニルアルコールを用いている検体抽出ノズル。

〔 11 〕 〔 7 〕 ～〔 10 〕 のいずれか1つに記載の検体抽出ノズルと、この検体抽出ノズルを装着させる容器本体とを備えている検体抽出容器。

〔 12 〕 前記容器本体が、前記容器本体の一端側が開口し、他端が閉塞した有底筒状であり、前記開口端部に蓋が被冠できるように構成されている〔 11 〕 に記載の検体抽出容器。

〔 13 〕 前記開口端部の外周面に雄螺子部が形成されており、前記雄螺子部の終端側近傍に外方に張り出したフランジ部を有している〔 12 〕 に記載の検体抽出容器。

〔 14 〕 前記蓋が、円形の天板部と天板部の外縁から立ち上がる側壁部を有しており、前記側壁部の内壁に前記容器本体の雄螺子部に螺合することのできる雌螺子部が形成されている〔 12 〕 又は〔 13 〕 に記載の検体抽出容器。

〔１５〕被検出物を捕捉する物質を結合させたクロマト媒体を有する液体試料検査具と、〔１１〕～〔１４〕のいずれか１つに記載の検体抽出容器とを備えている液体試料検査キット。

発明の効果

〔０００９〕 本発明によれば、検体中の被検出物を、イムノアッセイ法により、展開不良を起こすことなく、精度よく検出することができるという効果を奏する。また、検査時においても、良好な操作性を有し、容易かつ低コストで検査具が製造できるという効果も奏する。

図面の簡単な説明

〔００１０〕〔図１〕本発明の一実施形態として示した液体試料検査キットの液体試料検査具を示した断面図であって、同図（ａ）～（ｃ）は、液体試料が検査される各工程を示したものである。

〔図２〕本発明の一実施形態として示した液体試料検査キットの容器本体及びその蓋を、一部を断面視して示した側面図である。

〔図３Ａ〕本発明の一実施形態として示した液体試料検査キットの検体抽出ノズルの側面図である。

〔図３Ｂ〕本発明の一実施形態として示した液体試料検査キットの検体抽出ノズルの底面図である。

〔図４〕本発明の一実施形態として示した液体試料検査キットの濾過フィルターを模式的に示した斜視図である。

〔図５〕実施例１、比較例１～５の抽出ノズルを用いた液体試料検査具に、液体試料を滴下して展開させた後のメンブレン上の染色結果を示した図である。

〔図６〕ＲＧＢ比を用いて展開が不良であるか否かを判定する場合の、メンブレンの分割方法の一例を示した図である。

発明を実施するための形態

〔００１１〕 以下、本発明の実施形態に係る液体試料検査方法及び液体試料検査キットについて、詳細に説明する。

本発明の方法は、被検出物を捕捉するための捕捉物質が結合したクロマト

媒体を有する液体試料検査具（いわゆるテストストリップ）を用いて液体試料中の被検出物を検出する、いわゆるイムノアッセイ法で、検体を調製した液体試料を濾過フィルターによって濾過した後、前記液体試料検査具上で該液体試料中の被検出物を検出又は定量する液体試料検査方法であって、前記液体試料を、 $2.5\mu\text{m}$ 以上の孔径を有するガラス繊維製フィルターと、有機ポリマーの発泡性樹脂材料よりなる樹脂製フィルターとを備えた濾過フィルターに濾過させることを特徴とする方法である。

[0012] このイムノアッセイ法とは、いわゆるサンドイッチ法として総称される測定原理を利用するものが一般的であり、被検出物、被検出物に特異的に結合する捕捉物質、被検出物に特異的に結合する標識物質の3種の複合体をクロマト媒体上に形成させて、標識物質を検出し、前記複合体すなわち被検出物を検出又は定量する方法である。被検出物と捕捉物質と標識物質との間の反応としては、抗原抗体反応、リガンドとレセプターとの結合反応等が挙げられる。

[0013] 上記方法を用いた本発明の液体試料検査キットは、図1に示す、被検出物を捕捉する物質Qを結合させたクロマト媒体5を有する液体試料検査具1と、図2、図3A、Bに示す、液体試料を濾過して図1に示す液体試料検査具1上に滴下する検体抽出ノズル9を具備した検体抽出容器2とを備えたものであって、検体抽出ノズル9の濾過フィルター3が、 $2.5\mu\text{m}$ 以上の孔径を有する図4に示すガラス繊維製フィルター3aと、有機ポリマーの発泡性樹脂材料よりなる樹脂製フィルター（以下、「発泡性樹脂フィルター」ということがある。）3bとを備えて構成されている。

[0014] 図1は、液体試料検査具1を長手方向に直交する方向から見た断面図であり、同図(a)～(c)は、液体試料検査具1により被検出物Pを検査する各工程を模式的に示している。液体試料検査具1は、図1(a)に示すように、短冊上に形成された基板上の一端側から順に、調製された検体である液体試料Sを滴下するためのサンプルパッド4、被検出物Pに特異的に結合する抗体等の捕捉物質Qが結合したクロマト媒体5、及び吸収パッド6が配列

され、更にサンプルパッド4とクロマト媒体5との間に介在させるコンジュゲートパッド7とを備えて構成されている。ここで、液体試料検査具1は、裏側片と検査結果を視認できる判定表示窓を有する表側片とを備え、これらを嵌合等させて互いに組み付けた棒状の容器にサンプルパッド4、クロマト媒体5、吸収パッド6及びコンジュゲートパッド7を収容して使用することができる。また、裏側片と表側片とは一体成形されていてもよい。容器としてはプラスチック、エラストマー等の樹脂材料など、公知の素材が使用でき、透明性、不透明性、成形性、強度等、目的に応じ適宜選択可能である。

[0015] イムノアッセイ法には、フロースルー方式とイムノクロマト方式（ラテラルフロー方式）が知られている。フロースルー方式は被検出物Pを含む溶液と、被検出物に特異的に結合する標識物質とを、被検出物Pと特異的に結合する捕捉試薬が塗布されたクロマト媒体5に対して垂直方向に通過させ、被検出物Pに特異的に結合する捕捉物質Q、被検出物P、標識物質の複合体を膜上に形成させて、標識を検出あるいは定量することで、被検出物の検出又は定量を行う。イムノクロマト方式は、同様なクロマト媒体5を用い、被検出物Pを検出する原理はフロースルー方式と同様であるが、該クロマト媒体5に対して被検出物Pを含む液体試料Sを水平方向に展開させる点でフロースルー方式と異なる。2種類の方法のうち、簡便さ、迅速さの面からイムノクロマト方式がより好ましい。

なお、イムノクロマト方式においては、クロマト媒体5上に、被検出物Pに特異的に結合する検出試薬である標識物質を滴下等により添加し、捕捉試薬、被検出物及び標識物質の複合体を形成させる方法と、被検出物Pに特異的に結合する抗体等の捕捉物質Qに結合した標識化合物を含むコンジュゲートパッド7をあらかじめ液体試料検査具1に組み込んでおく方法とがある。

このような液体試料検査具1としては、一般にイムノクロマト方式として知られる方法を利用するものであることが、展開不良を解消するという効果からも好ましい。

[0016] 本明細書に係る液体試料検査において、用いた液体試料のメンブレン（ク

ロマト媒体)の検出領域における展開が不良であるか否かの判定は、以下の目視による方法によって確認することができる。

(目視による判定方法)

被検出物を含む液体試料がクロマト媒体のメンブレン中を展開後、メンブレン上の目的のバンドが検出される領域(検出領域)まで展開されているかを目視で確認する。

[0017] 目視により、展開が不良であるか否かを確認する場合には、目的のバンドが検出され、かつ、メンブレン上のその他の領域がほとんど染色されないと、展開が良好であると判定する。一方、メンブレン上の目的のバンドが検出される領域の手前までが濃く染色されており、かつ、目的のバンド検出領域まで展開されていない場合や、メンブレン全体が染色されており、かつ、目的のバンドが検出される領域付近が濃くブロードに染色される場合には、展開が不良であると判定する。

[0018] 上記目視によって判定した展開が不良であるか否かは、例えば、以下のRGB比を用いて数値化して確認することもできる。

[0019] (RGB比を用いた判定方法)

メンブレン上の領域のうち、バンドの視認性に影響する1又は2以上の領域につき、各領域の色を抽出し、RGB値の解析を行い、RGB比を算出する。

RGB比を算出することによって展開が不良であるか否かを確認する場合につき、図6を用いて具体的に説明する。

まず初めに、メンブレン26を、図6のように、バンドを含む1又は2以上の領域(図6では、7~9の3領域)とそれ以外の領域とに分割する。

なお、メンブレンの分割方法は、バンドを含む少なくとも1箇所を設定し、フィルターメンブレンの検出領域のサイズによって、適宜、分割数を設定できる。

次に、バンドの視認性に影響する領域(図6では、7~9の3領域)について、各領域の色を抽出し、RGB値の解析を行う。

各領域のRGB値の測定は、市販のRGB測定装置或いはソフトを用いて行えばよく、例えば、カラーアナライザーRGB-1002（（株）佐藤商事製）等の装置や、汎用のペイントソフト（Microsoft Paint（マイクロソフト社製）、Photoshop（Adobe社製）、Corel Painter（Corel社製）等）を用いることができる。なお、RGB測定装置を用いない場合は、判定部分の画像をPCに取り込み、画像解析ソフトを用いてRGB値を算出することができる。

上記で測定した各領域のRGB値から、RGB比を求める。

RGB比は、R値－（G値とB値の平均値）により求めることができる。

RGB比が低いほど、色味は白色に近づくため、展開が良好であると考えられる。また、RGB比が高いほど、色味は赤色に近づくため、展開が不良であると考えられる。本発明に係る液体試料検査方法においては、RGB比が15以下であると、展開が良好であると判断し、15より大きい場合には、展開が不良であると判断した。

[0020] クロマト媒体5は、紙やガラス繊維ろ紙、ニトロセルロースなどの多孔質物質が挙げられ、特に好ましい原料としてはニトロセルロースが挙げられる。上記クロマト媒体5の平均孔径は0.5～50 μ mが用いられることが多く、10～30 μ mが好ましい。

[0021] 検体抽出容器2は、図2に示す、検体抽出液Wに検体を抽出させた液体試料Sを収容する容器本体10と、容器本体10に連結させて用いる図3A、Bに示す検体抽出ノズル9とを備えたものである。

図2に示すように、容器本体10は、一端側が開口し他端が閉塞した有底筒状に形成されており、開口端部10aに蓋11が被冠できるようになっている。

[0022] 容器本体10は、合成樹脂により形成されており、開口端部10aの外周面には雄螺子部12が形成されるとともに、雄螺子部12の終端側（容器本体10底部側）近傍に外方に張り出したフランジ部13を有している。また、検査時において、検体抽出容器2から液体試料検査具1に検体抽出液Wを滴下させる操作を伴うことを考慮すると、容器本体10は弾性変形可能な素

材を含み構成されていることが好ましい。弾性変形可能な素材としては、弾力性と可撓性とを有する素材であって、耐薬性、成形性を有するものであればよく、臭気を伴わないものがより好ましい。具体的には、熱可塑性樹脂、シリコン樹脂、熱可塑性エラストマー等が例示される。これらの樹脂を組み合わせてもよい。熱可塑性樹脂の場合、例えば、オレフィン系樹脂の場合、熱可塑性樹脂エラストマー、水素添加スチレン系熱可塑性樹脂エラストマーと組み合わせることで成形性が向上することが知られている。熱可塑性樹脂としては、高密度ポリエチレン（HDPE）、低密度ポリエチレン（LDPE）、メタロセン触媒直鎖状低密度ポリエチレン（LLDPE）等のポリエチレンや、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ポリスチレン、EVA等が挙げられる。これらは、2種類以上を組み合わせたポリマーブレンド、ポリマーアロイでもよい。

[0023] 蓋11は、円形の天板部11aと天板部11aの外縁から立ち上がる側壁部11bを有しており、側壁部11bの内壁には容器本体10の雄螺子部13に螺合自在な雌螺子部14が形成され、容器本体10に対して蓋11が着脱自在とされている。

[0024] 図3Aに示すように、検体抽出ノズル9は、その基端部側9aを容器本体10の開口端部10aに嵌着させて、ノズル先端9b側から検体を含ませた液体試料Sを滴下させるものである。この検体抽出ノズル9は、容器本体10の開口端部10aに液密に内嵌される嵌合部15と、開口端部10aの端縁に係合させるフランジ16と、液体試料Sの量を絞りつつ流動させ液体試料Sを好適に滴下できるようにしたノズル部17とを備えて形成されているとともに、嵌合部15内に濾過フィルター3を備えている。

[0025] ノズル部17の内径17aは、該嵌合部15の内径15aよりも僅かに小径に形成されて嵌合部15との間に幅狭の段部19を有し、該濾過フィルター3を嵌合部15内に配置した際に濾過フィルター3の周縁部18を段部19に係止できるようになっている。

図3A、Bに示すように、ノズル部17の内孔は、断面略円形に形成され

ており、段部 19 から先端に向かって漸次縮径した第 1 テーパ部 20 と、第 1 テーパ部 20 の先端側でノズル部 17 先端に向かって内壁が漸次拡開するように形成された第 2 テーパ部 21 とを備えており、更に第 1 テーパ部 20 と第 2 テーパ部 21 の壁面には、段部 19 からノズル部 17 先端に向かってそれぞれ形成された突条 22 A, 22 B が等間隔に環状配置されている。

[0026] 図 4 に示すように、濾過フィルター 3 の外形は、少なくとも $2.5\ \mu\text{m}$ 以上の孔径を有するガラス繊維製フィルター 3 a と、発泡性樹脂フィルター 3 b とを積層させて円板形状に形成されているとともに、図 3 A に示す検体抽出ノズル 9 の嵌合部 15 内径よりも僅かに大寸法となっている。また、濾過フィルター 3 において、発泡性樹脂フィルター 3 b はガラス繊維製フィルター 3 a よりも検体抽出ノズル 9 の先端側、基端側、又はその双方に配されて、ガラス繊維製フィルター 3 a を保護するとともに液体試料を濾過するようになっている。

また、容器本体 10 内の検体抽出液 W に取り込まれた鼻ぬぐい液等の検体は、鼻腔等の検体採取部位から剥離した細胞や分泌物等の成分を含んでいるため、濾過フィルター 3 の内部には所定の孔径を有する気孔 25 が多数形成されており、図 1 に示す液体試料検査具 1 のクロマト媒体 5 において誤判定をすることを防止し得るように、所期の被検出物 P を好適に濾過できるようになっている。

[0027] 濾過フィルター 3 は、3 種類以上のフィルターを組み合わせで作製されたものであってもよい。

濾過フィルター 3 に孔径又は保留粒子径の異なるものをいくつか組み合わせる場合は、孔径又は保留粒子径の大きなフィルターを上流側（容器本体 10 側）に、小さなフィルターを下流側（ノズル部 17 側）に、両フィルターが重なるように配置することが、濾過時における液体試料 S の目詰まりを回避する上で好ましい。例えば、2 つのフィルターを組み合わせる場合、1 段目のフィルターに孔径又は保留粒子径が大きいフィルターを用い、2 段目のフィルターに孔径が小さいフィルターを用いることが好ましい。

[0028] 濾過フィルター3を構成するフィルターの中で最小孔径又は保留粒子径を有するフィルターの最小孔径又は保留粒子径は、クロマト媒体5の孔径以下であることが好ましい。すなわち、例えば用いるクロマト媒体5の孔径が $10\mu\text{m}$ 以上の場合、濾過フィルター3の少なくとも1つは、気孔25の孔径が $10\mu\text{m}$ 以下であることが好ましい。

[0029] 濾過フィルター3は精密濾過用としても、粗濾過用としても用いることができるが、少なくとも1種類の濾過フィルター3の気孔25の孔径又は保留粒子径はクロマト媒体5の孔径以下であり、 $10\mu\text{m}$ 以下が好ましい。

[0030] 本発明及び本願明細書において、「孔径」とは、フィルターの気孔25のうち最大の孔のことをいい、例えばバブルポイント法により測定することができる。また、「保留粒子径」とは、濾過フィルターを通過する粒子の直径の最大値のことをいい、これは、例えばJIS 3801、JIS Z 8901で規定される硫酸バリウムなどを自然濾過したときに漏洩粒子径の最大値により求める、あるいは、超純水(Milli-Q Water)にて希釈した一定粒子径のラテックス粒子を自然濾過し、濾過前後の溶液の吸光度から、粒子保留率を算出することにより求めることができる。保留粒子径は、実質的には濾過フィルターの孔径に相当する。

また、気孔率とは、空隙率ということもでき、全自動細孔径分布測定装置(水銀ポロシメーター)により測定される。

[0031] ガラス繊維製フィルター3aと、発泡性樹脂フィルター3bのそれぞれの厚みは、 $0.05\text{mm}\sim 35\text{mm}$ であればよく、 $0.1\text{mm}\sim 10\text{mm}$ が好ましく、 $1\text{mm}\sim 5\text{mm}$ であるのがより好ましい。濾過フィルター3が2種類以上の柔軟性を持つフィルターを組み合わせで作製された場合、フィルター全体の厚みは $0.1\sim 50\text{mm}$ が好ましく、 $0.5\sim 30\text{mm}$ がより好ましく、 $1\sim 10\text{mm}$ がさらに好ましい。なお、ガラス繊維製フィルター3aと、発泡性樹脂フィルター3bの厚みは、図4に示した比率となるものに限定されるものではない。

[0032] 本発明において用いられる濾過フィルター3は、ガラス繊維製フィルター

3 a と、発泡性樹脂フィルター 3 b とを備えている。濾過フィルター 3 が、ガラス繊維製フィルター 3 a 及び発泡性樹脂フィルター 3 b から形成されている場合、濾過フィルター 3 を構成するガラス繊維製フィルター 3 a は、1 枚であってもよく、同種類又は異種類のガラス繊維製フィルター 3 a を 2 枚以上組み合わせてもよい。同様に、濾過フィルター 3 を構成する発泡性樹脂フィルター 3 b も、1 枚であってもよく、同種類又は異種類の発泡性樹脂フィルター 3 b を 2 枚以上組み合わせてもよい。

[0033] ガラス繊維製フィルター 3 a は、孔径又は保留粒子径が $2.5 \mu\text{m}$ 以上、好ましくは $2.5 \sim 3.5 \mu\text{m}$ となるようにガラス繊維を重ねたものである。本発明で用いられるガラス繊維製フィルター 3 a は、孔径又は保留粒子径が比較的大きいため、柔軟性を有している。濾過フィルター 3 が備えるガラス繊維製フィルター 3 a の厚みは特に制限はないが、濾過性と柔軟性の点から、 $200 \mu\text{m} \sim 1500 \mu\text{m}$ であることが好ましい。

[0034] また、本発明において用いられるガラス繊維製フィルター 3 a の空隙率は、40% から 90% の範囲内であることが好ましい。ガラス繊維製フィルター 3 a の空隙率が 40% 以上であることにより、液体試料中の異物などにより目詰まりが生じ難く、また、検体が生体試料の場合には、生体試料の吸着が生じた場合に目詰まりし難くなり、連続測定を行った場合にも、目詰まりによるフィルターの濾過圧力の上昇を抑制できる。また、ガラス繊維製フィルター 3 a の空隙率が 90% 以下であることにより、フィルター内における液体試料の過度の拡散を抑制でき、より正確な測定が可能になる。また、フィルターに適度な強度を備えさせられるため、フィルターの取り扱い時や測定時の液体移動相の圧力などによる破損を抑制し得る。

[0035] 発泡性樹脂フィルター 3 b は、ガラス繊維製フィルター 3 a を保護し、濾過圧力による破損から防止する機能を備える。このため、発泡性樹脂フィルター 3 b は、ガラス繊維製フィルター 3 a の全面を覆う必要はなく、リング状等のように、ガラス繊維製フィルター 3 a の一部のみを覆うように積層させてもよい。なお、発泡性樹脂フィルター 3 b は、濾過フィルターとして

も機能し得るため、ガラス繊維製フィルター 3 a の全面を覆うように形成させることが好ましい。

[0036] 発泡性樹脂フィルター 3 b は、比較的高い柔軟性を有していることが好ましい。このため、発泡性樹脂フィルター 3 b の気孔率は、70%以上が好ましく、70~98%がより好ましく、80%~98%がさらに好ましく、85%~98%がよりさらに好ましく、85%~95%であることが特に好ましい。また、本発明で用いる発泡性樹脂フィルター 3 b の孔径又は保留粒子径は、50~800 μm が好ましく、50~300 μm がより好ましく、50~100 μm がさらに好ましい。

[0037] 発泡性樹脂フィルター 3 b は、ポリアミド系ポリマー、ポリオレフィン系ポリマー、及びポリビニル系ポリマーからなる群より選択される1種以上の有機ポリマーの発泡体からなることが好ましい。具体的には、ポリアミド、アラミド、ポリカーボネート、ポリアセタール、ポリエステル、ポリフェニレンエーテル、ポリフェニレンスルフィド、ポリエーテルエーテルケトン、ポリアリルエーテルケトン、ポリアミドイミド、ポリイミド、ポリエーテルイミド、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリメチルペンテン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリメタクリル酸メチル、酢酸セルロース、ポリメチルペンテン、ポリブテン、ポリカーボネート、ポリアリレート、ポリエチレンオキサイド、ポリパラメチルスチレン、ポリアリルアミン、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセタール、ポリビニルエーテル、ポリビニルブチラール、ポリビニルホルマール、ポリブチレンテレフタレート、ポリエチレンテレフタレート、アクリル樹脂、メタクリル樹脂、キシレン樹脂、アミノ樹脂、グアナミン樹脂、メラミン樹脂、ユリア樹脂、不飽和ポリエステル樹脂、ビニルエステル樹脂、ジアリルフタレート樹脂、エポキシ樹脂、ポリウレタン、ケイ素樹脂、ポリイミド、アルキド樹脂、フラン樹脂、フェノール樹脂、フッ素樹脂、ポリ-p-ヒドロキシ安息香酸、およびマレイン酸樹脂よりなる群から選ばれた1種もしくは2種以上の混合物を、発泡体に成型したものが挙げられる。

本発明においては、ポリビニル系発泡性樹脂、とりわけ、ポリビニルアルコール（PVA）などのポリビニルアルコール系、ポリビニルアセタール系のいずれかで構成される発泡性樹脂からなるフィルターを用いることが好ましい。

[0038] 上記特許文献1に記載のイムノアッセイキットのように、濾過フィルター3として強剛性フィルターを用いた場合には、濾過フィルター3は検体抽出ノズル9に形成された嵌合部15内に嵌入させる際に嵌合部15内の形状に合わせて弾性変形しない。したがって、液体試料を確実にフィルタリングするためには、強剛性フィルターの寸法と嵌合部15内の寸法とを高精度に合わせて強剛性フィルターを嵌合部15内に密に嵌着させなければならないが、上記強剛性フィルターでは、嵌合部15内と強剛性フィルターとの間に物理的な寸法誤差が生じやすいため該強剛性フィルターの厚みを持たせる必要が生じ、全体として液体試料のフィルタリングに時間が掛かってしまうという問題があった。

また、嵌合部15内と強剛性フィルターとの間の物理的な寸法誤差を略無くして強剛性フィルターを作製したとしても、強剛性フィルターはその硬さゆえに、嵌合部15内に強剛性フィルターを挿入配置させ難く、検体抽出ノズル9を適切に製造し難いという問題があった。

一方で、検査操作時においても、検体溶液の前処理の際、圧力がかかりすぎて操作性が低下したり、フィルターが抜けるおそれがあるなど、検査従事者の操作性を考慮する上で改良すべき課題もあった。

[0039] これに対して、本発明においては、ガラス繊維製フィルター3aと発泡性樹脂フィルター3bとを積層させた濾過フィルター3が柔軟性を有することによって、図3Aに示すように、嵌合部15内に挿入配置する際に嵌合部15の内径に合わせて弾性変形（収縮）し、図4に示す濾過フィルター3の平板面3tが段部19を完全に覆うように配置された状態で弾性復帰して、濾過フィルター3の周面23が嵌合部15の内壁面24に付勢しながらフィットするようになっている。

すなわち、検体抽出容器 2 の濾過フィルター 3 は、柔軟性を有しているため、検体抽出容器 2 内にフィットさせて配置することができる。したがって、濾過フィルター 3 の寸法と嵌合部 15 内の寸法とを高精度に整合させる工程を省いて濾過フィルター 3 を嵌合部 15 内に容易に配置することができ、検体抽出容器 2 ないし液体試料検査キットの製造コストを抑えることができるという効果を奏する。

また、嵌合部 15 内と濾過フィルター 3 との間に物理的な寸法誤差が生じにくいため、液体試料 S を確実に濾過フィルター 3 に通すことができる。したがって、濾過フィルター 3 を可及的に薄くしつつ確実に濾過配置することができ、液体試料 S の濾過を短時間で確実に行うことができるという効果を奏する。

[0040] 被検出物 P としては、例えばインフルエンザウィルス、RS ウィルス、アデノウィルス、下痢症の原因微生物、肺炎マイコプラズマ、ロタウィルス、ノロウィルス等の病原微生物、若しくは該病原微生物由来のタンパク質等の物質又はそれらに対する抗体、生理活性物質の類、細菌等が産生する毒素、及び各種腫瘍マーカーを挙げることができる。上記の病原微生物若しくは該病原微生物由来のタンパク質等の物質又はそれらに対する抗体等を被検出物として用いる場合、特にインフルエンザウィルス、アデノウィルス、肺炎マイコプラズマ及びノロウィルス等のように、急性症状を呈する可能性があり、短時間で特定する必要がある病原体の診断に、極めて有用である。

[0041] 検体は、生体試料としては鼻腔拭い液、鼻腔吸引液、鼻汁、咽頭拭い液、唾液、痰などの粘膜分泌物、便懸濁液、尿、血液成分、臓器抽出液、各種組織抽出液、又はこれらを適当な緩衝液によって希釈した希釈液等が挙げられる。

また、非生体試料を検体として用いることも可能である。生体試料を検体とした場合では、本発明は、鼻腔拭い液、鼻腔吸引液、鼻腔洗浄液、咽頭拭い液、又は便懸濁液を検体とした場合に極めて有用である。

[0042] 被検出物 P を捕捉するための捕捉物質 Q は、被検出物 P と特異的反応によ

り結合して複合体を形成する物質である。従って、一般には被検出物 P が細菌、ホルモン、ウィルス等およびこれらに由来する物質、その他バイオマーカー等の場合には、これらに対し特異的に結合するポリクローナル抗体、モノクローナル抗体等が挙げられる。このような捕捉物質 Q を上述したクロマト媒体表面に結合させる方法としては、タンパク質をニトロセルロースメンブレン等に固定するための公知の方法で行うことができる。捕捉物質 Q が結合したクロマト媒体 5 の調製は、例えば、捕捉物質 Q を緩衝液等に希釈した溶液をクロマト媒体に吸着してその後乾燥することにより行われる。捕捉物質 Q は、例えばスポット状やライン状に固定すればよい。

[0043] 標識物質とは、被検出物に特異的に結合し、複合体を形成した後に何らかの手段で検出可能なように標識されたものである。一般的には、捕捉試薬について述べたものと同じものが酵素や貴金属コロイド等で標識化されたものが挙げられる。例えば、被検出物 P がウィルス等の抗原物質である場合には、該ウィルスに対する抗体であって、貴金属コロイド等で標識化された抗体が挙げられる。標識物質としては、具体的には、酵素、蛍光発光性標識、放射性同位元素、貴金属コロイド、着色ラテックス等が挙げられる。標識物質は、液体試料を液体試料検査具 1 に添加した後に、液体試料検査具 1 に添加してもよく、またあらかじめ液体試料検査具 1 に組み込んでおいてもよい。あらかじめ液体試料検査具 1 に組み込まれる場合、標識物質はコンジュゲートパッド 7 と呼ばれる形で、パッドに含まれた状態で組み込まれる。標識物質を含むパッドには、例えば、セルロース、ガラス繊維などでできた不織布等が用いられる。

[0044] 検体抽出液 W とは、患者や環境等から採取した被検出物を含む可能性がある検体から、被検出物を抽出し懸濁するための溶液である。検体を検体抽出液 W により抽出又は懸濁した抽出液が、液体試料として液体試料検査具 1 に滴下等により添加されて、液体試料検査具 1 に供される。

[0045] 患者や環境から採取した検体の中には、検体抽出液 W の塩組成や pH に対して影響を与える物質が含まれる可能性がある。性状が変化した検体抽出液

Wを用いた場合、被検出物の検出に悪影響を与える可能性があるため、検体抽出液Wには、通常、塩及びpHを一定に維持するための緩衝剤が含まれる。緩衝液としては、免疫学的試験に通常使用される緩衝液等を使用することができ、トリス緩衝液、リン酸緩衝液、グッド緩衝液等が例示できる。さらに検体抽出液Wには特異的な凝集反応を阻害しない範囲で非特異反応を防止することを目的として界面活性剤を含有させることが可能である。界面活性剤としては、特に限定されず、公知の界面活性剤が使用できる。具体的には、B r i j i 3 5、ドデシル- β -D-マルトシド、オクチル- β -D-グルコシド、トリトンX-100、CHAPS、Z w i t t e r g e n t 3-12、ドデシル硫酸ナトリウム、T w e e n 20、T w e e n 80、ノニデットP40等が例示できる。これらは二種以上混合して使用することもできる。

[0046] 検体抽出液Wにはその他、非特異反応を防止することを目的として、ウシ血清アルブミン、イムノグロブリン、カゼイン等のタンパク質、グリシン等のアミノ酸、ウサギやマウス等の血清等を含有させることも可能である。

[0047] 次に、液体試料検査キットの使用方法和作用について、インフルエンザウィルス感染の診断を行うウィルス診断キットを例として説明する。

液体試料検査キットを用いてインフルエンザウィルスの有無を検査するにあたっては、まず、検体採取器具（不図示）として例えば綿棒を用い、綿棒を鼻腔内に挿入して鼻甲介を数回擦るようにして粘膜表皮を採取する。

[0048] 粘膜表皮の採取に合わせて、図2に示す蓋11を容器本体10から取り外し、検体を採取した綿棒を容器本体10内の検体抽出液Wに浸漬する。そして、容器本体10の外側から綿棒を数回つまんだり上下させたりして検体抽出液Wに綿棒を十分に浸透させた後、検体抽出液Wをしごく様に綿棒を容器本体10から引き抜く。

[0049] その後、図3Aに示すように、上記容器本体10の開口端部10aに検体抽出ノズル9の嵌合部15を内嵌させて液体試料を滴下できる検体抽出容器2とする。

そして、検体抽出容器2のノズル先端9b側を下方に向けて図2に示す容

器本体 10 の中間部（胴部） 10 b を把持すると、液体試料が容器本体 10 から検体抽出ノズル 9 に向かって流動し、嵌合部 15 に設置された濾過フィルター 3 を通る。

[0050] このようにして液体試料 S は、濾過フィルター 3 によって濾過されて検体抽出ノズル 9 のノズル部 17 先端に移動するので、更に容器本体 10 の胴部 10 b を強く把持することで、液体試料 S を図 1（a）に示す液体試料検査具 1 のサンプルパッド 4 上に滴下することができる。

[0051] 図 1（a）に示すように、サンプルパッド 4 に液体試料 S が添加されると、液体試料 S は、同図（b）に示すように、コンジュゲートパッド 7 に浸透しつつ該パッド 7 に担持された特異抗体と反応しながら同図（c）に示すようにクロマト媒体 5 に浸透する。そして、液体試料 S に被検出物 P である抗原が存在していると、この抗原とクロマト媒体 5 に固定された抗体とが抗原抗体反応を起こしてクロマト媒体 5 上に着色標識が現れる。そのため、この着色標識を、クロマト媒体 5 の判定領域において視認することにより検査結果を知ることができる。また、クロマト媒体 5 に浸透した余分な液体試料 S は、吸収パッド 6 によって吸収される。この際、吸収パッド 6 が着色されるため、この着色度合を液量確認領域において視認することにより液体試料の過不足を確認することができる。

[0052] 以上のように、本発明の検体抽出容器 2 及び液体試料検査キットによれば、濾過フィルター 3 が柔軟性を有しているため、該濾過フィルター 3 を検体抽出ノズル 9 の嵌合部 15 内にフィットさせて配置することができる。したがって、濾過フィルター 3 の径寸法と嵌合部 15 の内径寸法とを高精度に合わせる工程を省いて濾過フィルター 3 を嵌合部 15 内に容易に配置することができ、検体抽出容器 2 ないし液体試料検査キットの製造コストを抑えることができるという効果が得られる。

[0053] また、濾過フィルター 3 を嵌合部 15 の内壁に付勢させた状態で配置することができ、検体抽出ノズル 9 の嵌合部 15 と濾過フィルター 3 との間に物理的な寸法誤差が生じ難いため、液体試料 S を確実に濾過フィルター 3 によ

って濾過することができる。したがって、濾過フィルター3を可及的に薄くしつつ、液体試料Sの濾過を短時間で確実に行うことができるという効果が得られる。

実施例

[0054] 以下、実施例および比較例を示して本発明を詳細に説明する。ただし、本発明は以下の記載によっては限定されない。

[0055] [実施例1、比較例1～5]

(試験方法)

表1に記載のフィルター種、孔径のフィルターを濾過フィルターとして用いて、実施例1、比較例1～5の抽出ノズルを作成した。なお、実施例1の抽出ノズルについては、ノズルの滴下口側からガラス繊維フィルター、PVAフィルターの順に、また、比較例5の抽出ノズルについては、ノズルの滴下口側からガラス繊維フィルター、焼結フィルターの順に、各フィルターを積層した。

液体試料としては、市販のインフルエンザ検査キット（チェックFluA・B、アルフレッサファーマ製）に付属の検体抽出液に、生体由来粘性物質が40%相当量となるように添加して作成した擬似鼻腔ぬぐい液を用いた。

まず、検体抽出容器本体部（LLDPE製）に前記各抽出ノズルをセットして作成した検体抽出容器に液体試料を入れ、容器本体の中ほどをつまむことによって圧力を加えて濾過を行った。得られた濾液80 μ Lを前記キットのテストプレート滴下部（サンプルパッド）に添加し、展開させ、メンブレン（クロマト媒体）の判定領域における展開不良発生の有無を目視で確認した。結果を表1及び図1に示す。表1の「展開」の欄中、Aは展開が良好に起こり、目的のバンドが検出されたことを、Bは目的のバンドは検出されたものの、展開不良によってメンブレン上のその他の領域もブロードに染色されたことを、Cは展開不良によって、メンブレン上がブロードに染色され、かつ目的のバンドが検出できなかったことを、それぞれ意味する。

[0056]

[表1]

フィルター種	フィルター孔径 (μm)					
	実施例 1	比較例 1	比較例 2	比較例 3	比較例 4	比較例 5
ガラス繊維フィルター	3.1	—	—	3.1	1.0	1.0
PVAフィルター	300	300	—	—	—	—
焼結フィルター	—	—	50	—	—	50
展開	A	C	C	B	B	C*

*フィルター破損

[0057] この結果、図5に示すように、実施例1の抽出ノズルを用いた場合には、目的のバンドが検出され、かつメンブレン上のその他の領域がほとんど染色されず、滴下した液体試料がメンブレン中を良好に展開したことが確認された。一方で、ガラス繊維フィルターを用いなかった比較例1及び2を用いた場合には、メンブレン上の目的のバンドが検出される領域の手前までが濃く染色されており、展開が不良であり、液体試料が目的のバンド検出領域まで展開されなかった。また、ガラス繊維フィルターのみを含む比較例3及び4を用いた場合には、目的のバンドは検出されたものの、その他の領域も広く染色されてバックグラウンドが高くなっており、やはり展開が上手くいっていなかった。さらに、ガラス繊維フィルターと焼結フィルターを組み合わせた比較例5の抽出ノズルを用いた場合には、液体試料はメンブレン上を、比較例1及び2の場合よりも長く展開されたものの、メンブレン全体が染色されており、特に目的のバンドが検出される領域付近が濃くブロードに染色されたため、目的のバンドは確認できなかった。

なお、メンブレン上の展開の程度につき、実施例1と目的のバンドが検出された比較例3、4を対象に、図6に示す1から9の領域のうちバンドの視認性に影響する3領域（7～9）につき、各領域の色を抽出し、RGB値の解析を行い、RGB比を算出した。なお、RGB比は下記式1より求めた。結果を表2に示した。

RGB値の測定については、PCに取り込んだ画像をMicrosoft Paint（マ

イクロソフト社製）を用いて算出し、下記式からRGB比を算出した。

$$\text{RGB比} = \text{R値} - (\text{G値とB値の平均}) \cdots (1)$$

この結果、比較例3、4は実施例1と比較して、RGB比が高いことから、展開不良であることが数値においても確認できた。

[0058] [表2]

		⑦	⑧	⑨	平均	ブランク補正
実施例1	R	202	205	206	204	—
	G	188	194	198	193	—
	B	173	178	181	177	—
	RGB比	21.5	19	16.5	19	9
比較例3	R	204	202	194	200	—
	G	190	175	152	172	—
	B	173	162	147	161	—
	RGB比	22.5	33.5	44.5	34	24
比較例4	R	199	202	190	197	—
	G	178	182	166	175	—
	B	163	166	155	161	—
	RGB比	28.5	28	29.5	29	19

産業上の利用可能性

[0059] 本発明の液体資料検査方法は、検体中の被検出物を、イムノアッセイ法により、展開不良を起こすことなく、精度よく検出することができるため、例えば、細菌やウイルス等の病原体の感染、妊娠の有無、血糖値の測定等に好適に用いることができる。

符号の説明

- [0060] 1 液体試料検査具
 2 検体抽出容器
 3 濾過フィルター
 3 a ガラス繊維製フィルター

3 b 樹脂製フィルター（発泡性樹脂フィルター）

5 クロマト媒体

9 検体抽出ノズル

P 被検出物

Q 捕捉物質

S 液体試料

W 検体抽出液

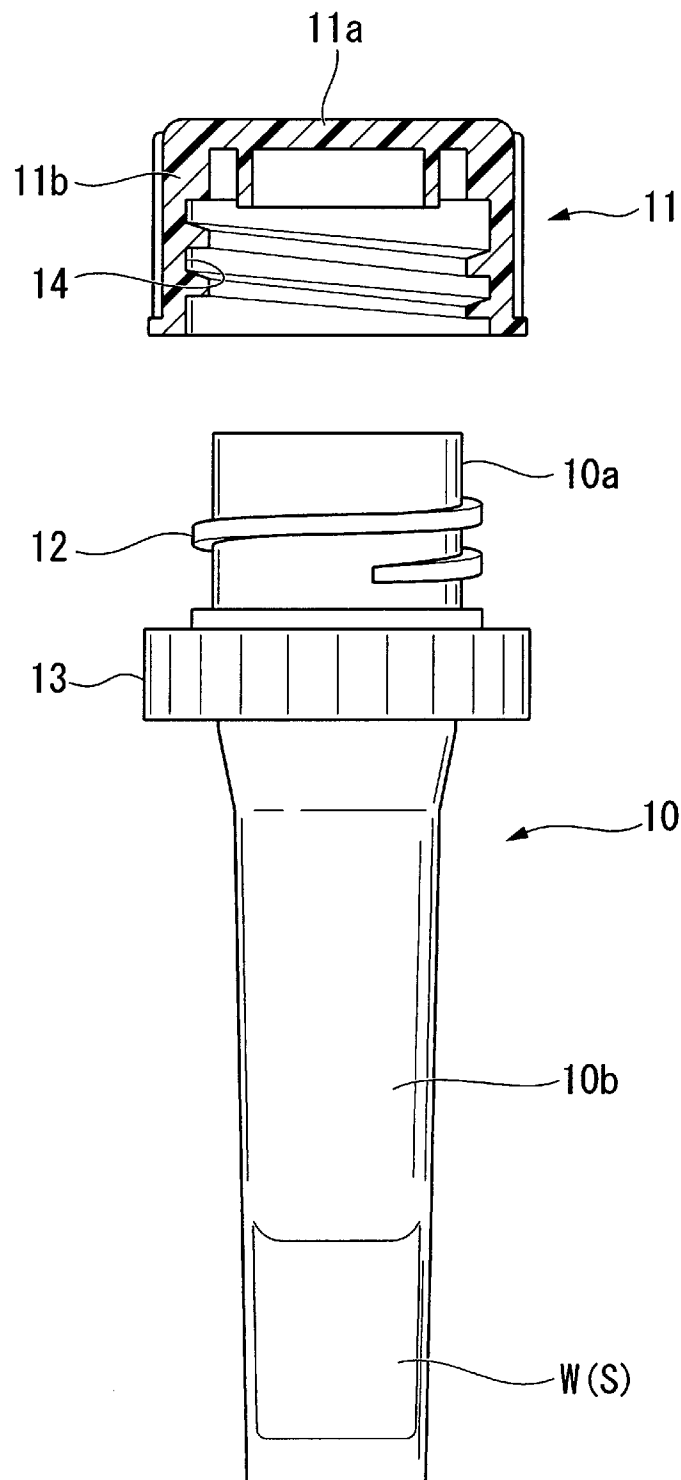
請求の範囲

- [請求項1] 検体を調製した液体試料を濾過フィルターによって濾過した後に、被検出物を捕捉する物質を結合させたクロマト媒体を有する液体試料検査具上で、前記液体試料中の前記被検出物を検出又は定量する液体試料検査方法において、
- 前記濾過フィルターは、 $2.5\mu\text{m}$ 以上の孔径を有するガラス繊維製フィルターと、有機ポリマーの発泡性樹脂材料よりなる樹脂製フィルターとを備えている液体試料検査方法。
- [請求項2] 請求項1に記載の液体試料検査方法において、
- 前記樹脂製フィルターの気孔率は、70%以上である液体試料検査方法。
- [請求項3] 請求項1又は2に記載の液体試料検査方法において、
- 前記樹脂製フィルターは、ポリビニルアルコールを用いて形成されている液体試料検査方法。
- [請求項4] 検体を含む液体試料を濾過フィルターで濾過して液体試料検査具に滴下する検体抽出ノズルにおいて、
- 前記濾過フィルターは、 $2.5\mu\text{m}$ 以上の孔径を有するガラス繊維製フィルターと、有機ポリマーの発泡性樹脂材料よりなる樹脂製フィルターとを備えている検体抽出ノズル。
- [請求項5] 請求項4に記載の検体抽出ノズルにおいて、
- 前記樹脂製フィルターの気孔率は、70%以上である検体抽出ノズル。
- [請求項6] 請求項4又は5に記載の検体抽出ノズルにおいて、
- 前記有機ポリマーとして、ポリビニルアルコールを用いている検体抽出ノズル。
- [請求項7] 請求項4～6のいずれか1項に記載の検体抽出ノズルと、この検体抽出ノズルを装着させる容器本体とを備えている検体抽出容器。
- [請求項8] 被検出物を捕捉する物質を結合させたクロマト媒体を有する液体試

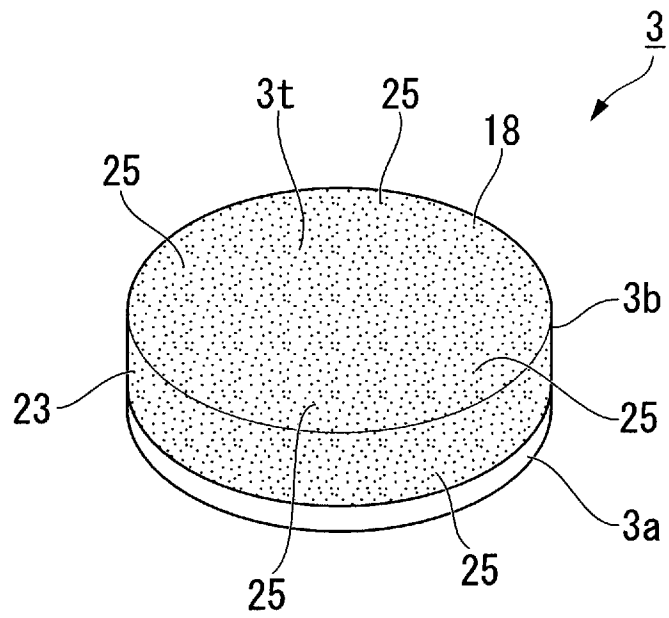
料検査具と、請求項 7 に記載の検体抽出容器とを備えている液体試料検査キット。

A cross-sectional view of a semiconductor device. The device consists of a substrate (1) with a top layer (4) and a bottom layer (6). A central region (5) contains a vertical structure (P) and a horizontal structure (7). A layer (8) is located between the central region and the right side. The right side features a series of vertical structures (9) and a layer (10) on top.

[図2]

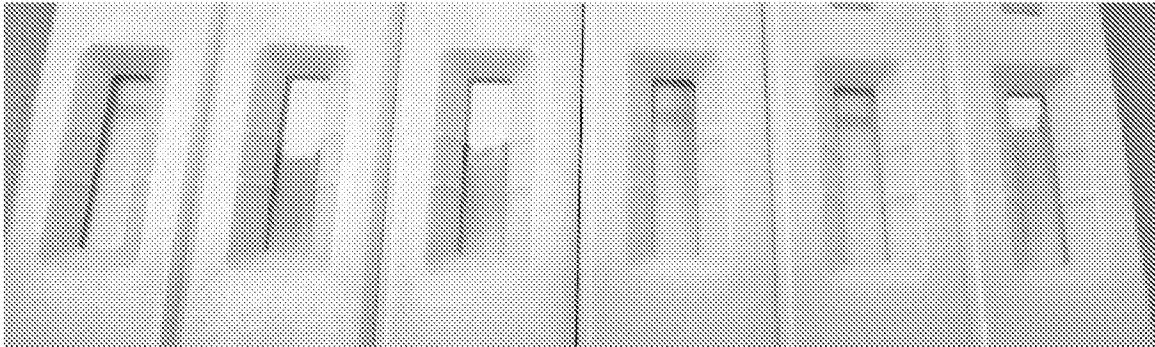


[図4]

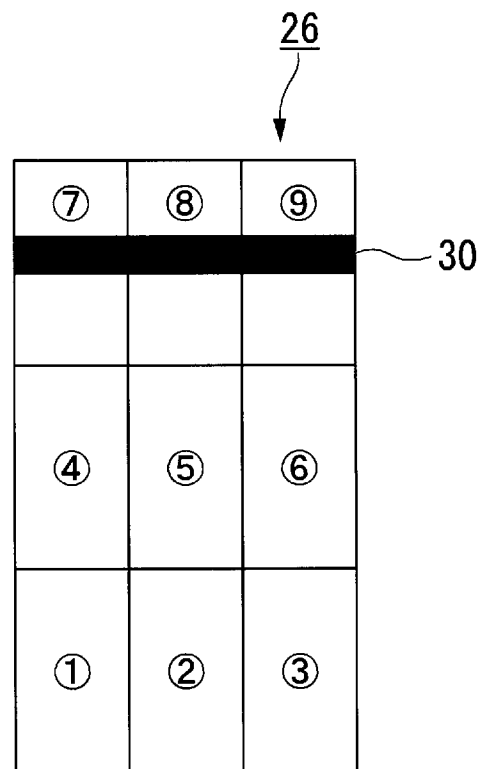


[図5]

実施例 比較例 1 比較例 2 比較例 3 比較例 4 比較例 5



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/079476

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/543(2006.01)i, B01D29/01(2006.01)i, B01D39/16(2006.01)i, B01D39/20(2006.01)i, G01N1/10(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i

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, B01D29/01, B01D39/16, B01D39/20, G01N1/10, G01N33/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

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 2000-088851 A (International Reagents Corp., Nissho Corp.), 31 March 2000 (31.03.2000), entire text; all drawings; particularly, claims (Family: none)	1-8
X	JP 08-075725 A (Eiken Chemical Co., Ltd., Toyo Seikan Kaisha, Ltd.), 22 March 1996 (22.03.1996), entire text; all drawings; particularly, paragraph [0035]; fig. 1 & US 5514341 A & EP 638803 A1 & WO 1994/015212 A1 & DE 69330461 D & DE 69330461 T & ES 2157974 T & CN 1094164 A	1-8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ 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
15 January, 2013 (15.01.13)

Date of mailing of the international search report
29 January, 2013 (29.01.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/079476

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2010-044094 A (Denka Seiken Co., Ltd.), 25 February 2010 (25.02.2010), entire text; all drawings; particularly, claims; paragraphs [0005], [0011], [0012]; fig. 3, 4 (Family: none)	1-8

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N33/543(2006.01)i, B01D29/01(2006.01)i, B01D39/16(2006.01)i, B01D39/20(2006.01)i,
G01N1/10(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N33/543, B01D29/01, B01D39/16, B01D39/20, G01N1/10, G01N33/48

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

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 3 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 3 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 3 年

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)

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	JP 2000-088851 A (国際試薬株式会社、株式会社ニッショー) 2000.03.31, 全文・全図、特に、【特許請求の範囲】等参照 (ファミリーなし)	1-8
X	JP 08-075725 A (栄研化学株式会社、東洋製罐株式会社) 1996.03.22, 全文・全図、特に、段落【0035】、【図1】等参照 & US 5514341 A & EP 638803 A1 & WO 1994/015212 A1 & DE 69330461 D & DE 69330461 T & ES 2157974 T & CN 1094164 A	1-8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「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
「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)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「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

「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矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「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
「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
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 5 . 0 1 . 2 0 1 3

国際調査報告の発送日

2 9 . 0 1 . 2 0 1 3

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

草川 貴史

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

2 J

4 0 7 5

C (続き) . 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	JP 2010-044094 A (デンカ生研株式会社) 2010.02.25, 全文・全図、特に、 【特許請求の範囲】、段落【0005】、【0011】、【0012】、【図3】、 【図4】等参照 (ファミリーなし)	1-8