

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6804635号  
(P6804635)

(45) 発行日 令和2年12月23日 (2020. 12. 23)

(24) 登録日 令和2年12月4日 (2020. 12. 4)

(51) Int. Cl.	F I	
GO 1 N 35/02 (2006. 01)	GO 1 N 35/02	E
GO 1 N 33/543 (2006. 01)	GO 1 N 33/543	5 O 1 A
GO 1 N 21/78 (2006. 01)	GO 1 N 33/543	5 4 1 A
C 1 2 M 1/26 (2006. 01)	GO 1 N 35/02	A
	GO 1 N 21/78	C

請求項の数 37 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-512606 (P2019-512606)	(73) 特許権者	519068582
(86) (22) 出願日	平成29年8月29日 (2017. 8. 29)		インビトロン リミテッド
(65) 公表番号	特表2019-533804 (P2019-533804A)		イギリス国, モンマスシャー エヌビー2
(43) 公表日	令和1年11月21日 (2019. 11. 21)		5 3 エスアール, モンマス, ワイアスト
(86) 国際出願番号	PCT/GB2017/052522		ン ビジネス パーク
(87) 国際公開番号	W02018/046890	(74) 代理人	100149294
(87) 国際公開日	平成30年3月15日 (2018. 3. 15)		弁理士 内田 直人
審査請求日	令和2年8月27日 (2020. 8. 27)	(72) 発明者	ウッドヘッド, アンドリュウ ジェームズ
(31) 優先権主張番号	1615320. 7		イギリス国, モンマス エヌビー2 5 4
(32) 優先日	平成28年9月9日 (2016. 9. 9)		キューエス, ザ ナース, コニーズ オー
(33) 優先権主張国・地域又は機関	英国 (GB)	(72) 発明者	ウッドヘッド, ジェームズ スチュアート
早期審査対象出願			イギリス国, アースク, エヌビー1 5 2
			エルディー, ラグラン, ワレッジ ロード
			, ストーンウォール コテージ
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ポイントオブケア検査用の装置プラットフォーム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

複数のコンパートメントを備える、試料分析を実施するためのカートリッジであって、第1のコンパートメント(2)が、前記試料を保持し、かつ、その表面の少なくとも一部に捕捉試薬を付着した少なくとも1つの反応チャンバ(8)を備え、第2のコンパートメント(3)が、少なくとも1つの試薬を収容するための少なくとも1つの容器(11)を備え、前記試薬が、前記第1のコンパートメントと流体連通した状態であり、

前記第1のコンパートメント又は前記第2のコンパートメントと一体であるか又はそれらとは別々の第3のコンパートメント(1)が、試薬及び/又は未反応の生成物を前記反応チャンバ(8)から除去するために、前記反応チャンバと流体連通した状態、及び/又は動作可能に連通した状態である抽出装置を備え、

前記抽出装置が、可動部材にマウントされて前記部材に対して可動なウィッキング又は吸収性材料(5)を備えることにより、前記材料が前記反応チャンバへと送り出され及び/又は前記反応チャンバから引き戻され得ることを特徴とする、カートリッジ。

【請求項 2】

前記可動部材がスプール(4)であり、前記吸収性材料(5)が、スプール(4)にマウントされ、前記スプールの第1の方向での円運動により前記材料が送り出され、前記スプールの反対方向の円運動により前記材料が引き戻される、請求項1に記載のカートリッジ

。

## 【請求項 3】

前記可動部材がコンベアであり、前記吸収性材料(5)が、コンベアにマウントされ、前記コンベアの第1の方向での運動により前記材料が送り出され、前記コンベアの反対方向の運動により前記材料が引き戻される、請求項1に記載のカートリッジ。

## 【請求項 4】

前記可動部材が、前記材料が送り出されたときには前記反応チャンバに浸漬し、引き戻されたときには前記反応チャンバ(8)から取り出されるように構成される、請求項1から3のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 5】

前記可動部材が、前記吸収性材料を切断するブレードを付属する、請求項1から4のいずれか一項に記載のカートリッジ。

10

## 【請求項 6】

前記試料が、生物試料である、請求項1から5のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 7】

前記捕捉試薬が、可逆的に又は非可逆的に、前記生物試料中の標的分析物に結合することができる物質又は試薬である、請求項6に記載のカートリッジ。

## 【請求項 8】

前記捕捉試薬が、抗体、アプタマー及びそのフラグメント、オリゴヌクレオチド、又は前記分析物に対する他の特異的なリガンドもしくは受容体を含む群から選択される、請求項7に記載のカートリッジ。

20

## 【請求項 9】

前記捕捉試薬が、前記反応チャンバの表面の少なくとも一部に直接的に結合される、請求項1から8のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 10】

前記捕捉試薬に結合するアンカー物質の使用により、前記捕捉試薬が、前記反応チャンバの表面の少なくとも一部に間接的に結合される、請求項1から8のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 11】

前記アンカー物質が、レクチン、アビジン、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、タンパク質、及びレクチンを含む群から選択される、請求項10に記載のカートリッジ。

30

## 【請求項 12】

前記アンカー物質がアビジンであり、前記捕捉試薬がビオチン結合パートナーを含むか、又はその逆である、請求項11に記載のカートリッジ。

## 【請求項 13】

前記アンカー物質がストレプトアビジンであり前記捕捉試薬がビオチン結合パートナーを含むか、又はその逆である、請求項12に記載のカートリッジ。

## 【請求項 14】

前記反応チャンバが、基部を備えるウェルの形をとり、前記基部が、前記捕捉試薬及び/又はアンカー物質で被覆される、請求項1から13のいずれか一項に記載のカートリッジ。

40

## 【請求項 15】

前記第1のコンパートメント(2)が、複数の反応チャンバ(8a-8n)を備える、請求項1から14のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 16】

前記第1のコンパートメント(2)が、ウェルの形をとる反応チャンバ(8)を備え、前記試料中の異なる標的分析物に対してそれぞれ特異的である複数の捕捉試薬が、前記反応チャンバの下部に付けられる、請求項1から15のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 17】

前記捕捉試薬及び/又はアンカー物質が、常磁性粒子にカップリングされる、請求項1から16のいずれか一項に記載のカートリッジ。

50

## 【請求項 18】

前記第2のコンパートメント(3)が、複数の異なる試薬を収容するための複数の容器(11a-11n)を備え、各容器が、前記反応チャンバと流体連通した状態である、請求項1から17のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 19】

複数の別のコンパートメントを備え、少なくとも1つが、試薬を収容するための少なくとも1つの容器を含み、前記試薬が、前記反応チャンバと流体連通した状態である、請求項1から18のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 20】

前記第2のコンパートメントの前記試薬(12)が、洗浄試薬、標識試薬もしくは標識済み試薬、検出試薬、又は捕捉試薬を含む群から選択される、請求項1から19のいずれか一項に記載のカートリッジ。

10

## 【請求項 21】

前記標識試薬又は標識済み試薬が、酵素、発色団、又は発光団；蛍光、リン光、化学発光又は生物発光の分子又はイオンからの放射のモジュレータ；化学発光反応又は生物発光反応の補因子；色を付けた粒子、磁気粒子、ELISAシステム、着色したインジケータシステム、抗体、アプタマー及びそのフラグメント、他の特異的なリガンド又は受容体、ならびにアクリジニウムエステル(AE)分子を含む群から選択される、請求項20に記載のカートリッジ。

## 【請求項 22】

前記検出試薬が、酸中の過酸化水素及び/又はアルカリ性溶液である、請求項20又は21に記載のカートリッジ。

20

## 【請求項 23】

前記容器のうちの少なくとも1つが、洗浄試薬を収容し、前記容器のうちの少なくとも1つが、検出試薬を収容し、前記容器のうちの少なくとも1つが、標識試薬もしくは標識済み試薬、又は捕捉試薬を収容する、請求項18、又は、請求項18に従属する場合の請求項19から22のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 24】

前記容器のうちの少なくとも1つが、洗浄試薬を収容し、前記容器のうちの少なくとも1つが、第1の検出試薬を収容し、前記容器のうちの少なくとも1つが、第2の検出試薬を収容し、前記容器のうちの少なくとも1つが、捕捉試薬を収容し、前記容器のうちの少なくとも1つが、標識試薬又は標識済み試薬を収容する、請求項18から22のいずれか一項に記載のカートリッジ。

30

## 【請求項 25】

前記第1の検出試薬が、酸中の過酸化水素であり、前記第2の検出試薬が、アルカリ溶液であり、前記捕捉試薬が、ビオチン化した抗体であり、前記標識試薬が、AE標識済み抗体である、請求項24に記載のカートリッジ。

## 【請求項 26】

前記容器が、前記反応チャンバに前記試薬をポンピングするための少なくとも1つのポンプを含む、請求項1から25のいずれか一項に記載のカートリッジ。

40

## 【請求項 27】

前記容器が、前記反応チャンバへの試薬の流れを制御するための弁を含む、請求項1から26のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 28】

各試薬が、前記容器の中に収められる密封パウチに収容され、前記パウチが、前記反応チャンバへと至る導管のすぐ近くに存在し、それにより、アクティベータによる前記パウチへの圧力の印加により、前記パウチが前記導管にその内容物を放出し、それを前記反応チャンバに送達する、請求項1から27のいずれか一項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 29】

前記反応チャンバへの試薬の流れと前記吸収性材料の使用を同期させる制御装置(16)

50

をさらに備える、請求項 1 から 28 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 30】

攪拌部材をさらに備え、それにより、前記反応チャンバの中の成分が混合される、請求項 1 から 29 のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 31】

請求項 1 から 30 のいずれか一項に記載のカートリッジと、読取り装置とを備え、前記読取り装置は、前記カートリッジが前記読取り装置(14)と機能的に連通した状態で配置されることを可能にするように構成される、ポイントオブケアアッセイ装置。

【請求項 32】

前記読取り装置が、ドッキング手段又は位置合わせ手段を備えて、前記カートリッジが前記読取り装置に挿入される、配置される、又は付けられることを可能にする、請求項 31 に記載のポイントオブケアアッセイ装置。

10

【請求項 33】

前記読取り装置が、前記捕捉試薬及び/又は標識試薬もしくは標識済み試薬を検出するための検出器(17)を備える、請求項 31 又は 32 に記載のポイントオブケアアッセイ装置。

【請求項 34】

前記読取り装置(14)が、モータ(15)を備え、前記モータは、前記カートリッジが前記読取り装置に挿入されたとき、前記カートリッジの前記可動部材(4)に係合し、それによって前記吸収性材料(5)の送り出し及び引戻しを可能にするように構成される、請求項 31 から 33 のいずれか一項に記載のポイントオブケアアッセイ装置。

20

【請求項 35】

前記読取り装置(14)が、前記反応チャンバへの前記試薬の流れと前記吸収性材料及び/又は前記モータの使用を同期させる制御装置(16)を備える、請求項 31 から 34 のいずれか一項に記載のポイントオブケアアッセイ装置。

【請求項 36】

前記読取り装置が、試薬及び/又は洗浄溶液の投入後、前記反応チャンバ又はその内容物の攪拌を引き起こす装置を備える、請求項 31 から 35 のいずれか一項に記載のポイントオブケアアッセイ装置。

【請求項 37】

30

ポイントオブケアアッセイ(POCT)装置用パーツのキットであって、請求項 1 から 30 のいずれか一項に記載の少なくとも1つのカートリッジと、前記カートリッジと機能的に連通するように構成された少なくとも1つの読取り装置(14)とを備え、それにより、前記カートリッジ内のアッセイ試薬を使用して、生物試料中の少なくとも1つの分析物を識別するためのPOCTを行うことができる、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、持ち運び可能なポイントオブケア検査装置(POCT)において試料分析を実施するためのカートリッジ、前記カートリッジと前記カートリッジを収納するための読取り装置とを備え、試料中の分析物を検出及び/又は定量化するためのポイントオブケアアッセイ装置、ならびに前記ポイントオブケアアッセイ装置の前記構成要素を備えるパーツのキットに関する。

40

【背景技術】

【0002】

診断、スクリーニング、疾患のステージ分類、法医学的分析、妊娠検査、薬物検査、及び他の理由のために、生物試料に対する試験室検査が従来から使用されている。妊娠検査などの少数の定性検査は、患者が自宅で使用するために簡易なキットにされている。多数の定量検査では、精巧な機器を使用する試験室環境において、訓練された技能者の専門技術をしばしば必要とする複雑な手順が依然として必要とされる。近年、試料分析用のセン

50

サ及び計算電子装置を組み入れた手持ち式検査装置を使用することにより、これらの検査のうちいくつかは、ポイントオブケア（POC）分析において利用可能になってきている。

#### 【0003】

したがって、ポイントオブケア検査（POCT）は、通例の分析試験室の外で実施される、「患者に近い」診断検査である。患者の近くで行われるPOCTは、場合によっては結果を迅速に提供することができる。それにより、医者がより迅速に行動し、救命し、患者の転帰を改善し、医療制度の全体的なコストを低減することが可能になるので有利である。

#### 【0004】

通常のPOC装置の一例は、（ニトロセルロースストリップなどの）メンブレン上に固定化された捕捉試薬を使用して試料から分析物を捕捉し、この分析物がラテラルフロー/毛管作用のプロセスによってメンブレンを通り抜けることに依拠する、ラテラルフローイムノアッセイに基づくものである。捕捉試薬は、通常は抗体であり、結合した分析物は、普通、金コロイドなどの視覚的に検出可能な物質で標識された第2の抗体を用いて検出される。この手法は、POCTにおいて、たとえば尿中のヒト絨毛性ゴナドトロピン（HCG）を検出するものである妊娠の自己検査において、広く使用されてきた。一般に、イムノアッセイPOCTは高感度が必要とされない用途で使用されており、それにより、視覚的なエンドポイントを提供する標識が大きな成功を収めてきた。その結果は、視覚的に報告される場合もあり（たとえばHCG妊娠検査）、電子読取り装置（たとえばAlere DDD S 2乱用薬物検査システム）を使用して報告される場合もある。

#### 【0005】

POCTに関連するターンアラウンドタイムの短縮は、痕跡量の特定の分析物又は化合物を検出するために極めて高感度の検出が必要とされる場合、非常に望ましい目標であることが、今では広く理解されている。しかし、エンドポイントとして金コロイドを使用する従来のラテラルフロー法では、必要とされる感度を実現することができない。残念ながら、通例の試験室分析機器によって実現される高感度の検出には、患者の近くで行う検査には適当でない複雑な計測がしばしば必要とされる。このことにより、マイクロ流体（ラボオンチップ）方法への関心が、著しく、ますます高まってきている。現在に至るまで、マイクロ流体をベースとしたPOCTの構想の中で市場に出ているのは、Abbott i-STAT心筋トロポニン（数滴の血液で行われる、狭心症及び冠動脈閉塞の早期検出のための酵素イムノアッセイ）検査、ならびにAlere Triage Ctn1（蛍光イムノアッセイ）検査に代表されるごく一部である。

#### 【0006】

したがって、現在のPOCTが標準的な試験室検査の分析性能を欠いていることは広く認められており、これにより、POCTが提供できる価値が低く見られ、又はそのような感度を得るための複雑で高額なシステムが求められる。主要な一例が、心筋梗塞のマーカとしての心筋トロポニンの測定である。この場合、分析感度が迅速で正確な診断を制限する因子になり得るので、臨床化学試験室の使用が必要とされる。したがって、急速に成長している臨床診断分野において迅速で高感度のPOCTを提供できる技術が求められている。

#### 【0007】

アクリジニウムエステル（AE）をベースとする化学発光では、イムノアッセイ及び遺伝子プローブアッセイのために開発された最も感度の高いエンドポイントの1つが提供され、通例の臨床試験室において、幅広い分析物に対して適用されている。AE標識をベースとするアッセイの高感度は、事実上ゼロであるバックグラウンドから化学発光出力を検出できるということに由来する。この感度を実際に活用するためには、化学発光反応を開始する前に、未反応の標識すべてが反応サイトから除去されなければならないという要件が存在する。すなわち、AE技術の使用においては、信号/バックグラウンドの明確な分離が必要とされる。したがって、AE標識技法を利用する従来のアッセイ方法は、通常は

10

20

30

40

50

、未結合の A E 標識（バックグラウンド）を除去するいくつかの洗浄ステップを含み、そのようにして所望の信号特異性を実現する。この点に関連して、通常の P O C T アッセイフォーマットでは、特異的に結合した標識済み抗体を適切に洗浄して、A E 検出に関するこの要件が満たされたのを確実にすることができない。その結果、現在に至るまで、ポイントオブケアフォーマットでのこの高感度技術の応用は成功していない。

【発明の概要】

【0008】

本明細書では、新規な技術を使用して、信号ノバックグラウンド間の明確な分離に基づくことにより、高感度アッセイでの使用に必要とされる感度を提供する P O C T を提供する。

10

【0009】

本発明の第1の態様によれば、試料分析を実施するためのカートリッジが提供され、当該カートリッジは複数のコンパートメントを備え、

第1のコンパートメントが、試料を保持し、かつその表面の少なくとも一部に捕捉試薬が付着した少なくとも1つの反応チャンバを備え、

第2のコンパートメントが、少なくとも1つの試薬を収容するための少なくとも1つの容器を備え、前記試薬が前記第1の反応チャンバと流体連通した状態であり、

前記第1のコンパートメント又は前記第2のコンパートメントと一体又は別体の第3のコンパートメントが、試薬及び/又は未反応の生成物を前記反応チャンバから除去するために、前記反応チャンバと流体連通した状態及び/又は動作可能に連通した状態である抽出装置を備え、当該第3のコンパートメントが試薬及び/又は未反応物を前記反応チャンバから除去するためのものである。

20

【0010】

好ましい一実施形態では、前記抽出装置は、ウィッキングもしくは吸収性材料、毛細管チューブ/送り装置、又は負圧装置を備える。最も好ましくは、カートリッジは、ある部材にマウントされて前記部材に対して動くことができるウィッキング又は吸収性材料を備え、その結果、前記ウィッキング/材料は、前記反応チャンバへと送り出され、かつ/又は前記反応チャンバから引き戻され得る。

【0011】

前記試料は、生物試料であることが好ましい。本明細書での生物試料という記載は、細胞、細胞集団、バイオプシー、組織、臓器、血液、血漿、血清、痰、腹膜液、C S F、関節液、精子、母乳、気管支肺胞洗浄液、羊水、悪性腹水、胸膜液、精液、涙液、尿、便及び唾液を含むがこれらに限定はされない、被験者の身体から分離された任意の試料を指す。

30

【0012】

別法として、前記生物試料は細胞株でもよく、培地に保持された細胞からの上澄み液でもよい。

【0013】

本明細書での捕捉試薬という記載は、可逆的又は非可逆的に（生物試料から標的分析物を捕捉することによって）前記生物試料中の標的分析物に結合することができる任意の物質又は試薬を指す。当業者には理解されるように、この方式では、標的分析物を有するか又は有すると疑われる生物試料が、使用者によって少なくとも1つの反応チャンバに加えられ、前記分析物が存在するならば、捕捉試薬によって特異的に認識及び結合される。したがって、捕捉試薬を使用して、分析物を識別及び/又は定量化することができる。

40

【0014】

本発明の第1の態様の好ましい一実施形態では、前記捕捉試薬には、抗体、アプタマー及びそのフラグメント、オリゴヌクレオチド、又は生物試料中の標的分析物に対する特異的結合パートナーを備える他の特異的なりガンドもしくは受容体が含まれるが、これらに限定はされない。

【0015】

50

本発明の別の好ましい実施形態では、前記捕捉試薬は、吸着による固定化又は化学的カップリングによる固定化などであるがこれらに限定はされない、当業者には知られている任意の手段により、反応チャンバの表面の少なくとも一部に直接的に結合される。

【0016】

別法として、前記捕捉試薬は、捕捉試薬に結合するアンカー物質の使用により、反応チャンバの表面の少なくとも一部に間接的に結合される。したがって、この実施形態では、前記反応チャンバの表面の少なくとも一部はアンカー物質で被覆され、前記捕捉試薬は、アンカー物質に結合する結合パートナーを含む。前記アンカー物質は、捕捉試薬の結合パートナーに結合することにより反応チャンバ表面の少なくとも一部に捕捉試薬を結合させる、アビジン、オリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチド、タンパク質、又はレクチンを含む群から選択されることが最も理想的である。

10

【0017】

当業者には知られているように、アビジンは、高い親和性及び特異性でビオチンに結合するその能力によって機能的に定義され、それによってビオチンの特異的結合パートナーとして機能する、アビジン、ストレプトアビジン、及びニュートラアビジンを含むタンパク質ファミリーのメンバーである。非共有結合であるにもかかわらず、ビオチンに対するアビジンの結合親和性は非常に高いので、その結合は非可逆的であると考えられ得る。したがって、この実施形態では、前記捕捉試薬はビオチン化される。多くの因子が、通常は化学的手段又は酵素的手段によってビオチン化され得ることは、当業者にはよく知られている。前記ビオチン化した捕捉試薬は、ビオチン化した抗体であることが最も理想的である。

20

【0018】

レクチンは、典型的な糖鎖(sugar moiety)などの炭水化物群に選択的に結合する、炭水化物に特異的に結合する天然起源のタンパク質である。レクチンは、細胞レベル及び分子レベルでの認識を行い、細胞、炭水化物、及びタンパク質に関係する生物学的認識現象において多くの役割を果たす。したがって、この実施形態では、前記レクチンは、抗体及びそのフラグメントに生じる炭水化物群などであるが、これに限定はされない、捕捉試薬の炭水化物群に結合する。

【0019】

オリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドは、相補的ヌクレオチド分子を介して捕捉試薬に結合することができ、これらの相補的ヌクレオチドを使用して、必要な結合を誘発するために捕捉試薬を修飾することができる。

30

【0020】

前記アンカー物質はアビジンであり前記捕捉試薬はビオチン結合パートナーを含むか又はその逆であることが、より理想的である。前記アンカー物質はストレプトアビジンであり前記捕捉試薬はビオチン結合パートナーを含むか又はその逆であることが、最も理想的である。

【0021】

本発明の第1の態様の、さらに別の好ましい実施形態では、前記反応チャンバは、底部を備えるウェルの形をとり、前記底部は、捕捉試薬及び/又はアンカー物質で被覆される。

40

【0022】

さらに別の好ましい実施形態では、前記第1のコンパートメントは、複数の反応チャンバを備える。

【0023】

別の好ましい実施形態では、前記第1のコンパートメントは、ウェルの形をとる反応チャンバを備え、前記試料中の異なる標的分析物に対してそれぞれ特異的である複数の捕捉試薬が、理想的には個別のサイトで、反応チャンバの底部に付けられる。当業者には理解されるように、これにより、単一試料の中のいくつかの異なる分析物の分析が可能になる。さらに、CCD、CMOSセンサ、フォトダイオードアレイなどであるがこれらに限定

50

はされない種々の光測定技術の使用により、空間的に隔てられた複数の光源からの光出力が解像され得ることが、当業者には理解されよう。

【0024】

別の好ましい実施形態では、反応チャンバの内容物は培養中に混合される。攪拌の方法には、カートリッジの揺動もしくは振動、粒子もしくは攪拌要素の磁気混合、又は超音波処理などであるがこれに限定はされない他の攪拌方法が含まれ得る。

【0025】

捕捉試薬又はアンカー物質は、懸濁液として反応チャンバに加えられ得る常磁性粒子にカップリングされ得ることが、当業者には理解されよう。本発明の好ましい一実施形態は、標的分析物及び粒子状捕捉試薬の投入を含み、粒子は、未反応の成分を除去する前に、  
10 適当に配置された電磁石によって懸濁液から除去され得る。

【0026】

別の好ましい実施形態では、前記第2のコンパートメントは、いくつかの異なる試薬を収容するための複数の容器を備え、各容器は、反応チャンバと流体連通した状態である。別法として、前記カートリッジは、いくつかの別のコンパートメントを備え、少なくとも1つは、試薬を収容するための少なくとも1つの容器を含み、前記試薬は、前記反応チャンバと流体連通した状態である。前記別のコンパートメントのすべてが少なくとも1つの容器を含むことが理想的である。

【0027】

好ましい一実施形態では、前記試薬には洗浄試薬、標識試薬又は標識済み試薬、検出試薬、捕捉試薬などが含まれるが、これらに限定されない。  
20

【0028】

本明細書での洗浄試薬という記載は、緩衝液、界面活性剤、及び標識済み試薬の特異的でない結合を減らすように設計された他の化合物を含む溶液を指す。

【0029】

本明細書での標識試薬又は標識済み試薬という記載は、標的分析物に結合する任意の試薬を指し、前記標識試薬又は標識済み試薬は、発色を触媒する酵素、発色団、又は発光団（たとえば蛍光マーカ、リン光マーカ、生物発光マーカ、又は化学発光マーカ）；蛍光、リン光、化学発光又は生物発光の分子又はイオンからの放射のモジュレータ；化学発光反応又は生物発光反応の補因子；色を付けた粒子又は磁気粒子などであるがこれらに限定は  
30 されない検出可能マイクロ粒子又はナノ粒子などのインジケータシステム又は標識システムに、直接的又は間接的にリンクされる。より好ましくは、インジケータシステム又は標識システムには、従来のELISAシステム、又は生物発光インジケータシステム、化学発光インジケータシステム、もしくは着色したインジケータシステムが含まれるが、これらに限定はされない。最も好ましくは、前記標識試薬又は標識済み試薬には、限定はされないが、抗体、アプタマー及びそのフラグメント、又は他の特異的なリガンドもしくは受容体が含まれ、前記標識試薬は、化学発光標識システムの一部を形成するアクリジニウムエステルを含む。

【0030】

本明細書での検出試薬という記載は、生物発光反応又は化学発光反応などの発光反応を開始するのに必要とされる任意の因子を指す。前記試薬は、酸化剤でも、触媒でも、基質でもよく、たとえば、アクリジニウムエステルはアルカリ条件での酸化剤の存在下で発光反応を起こすので、検出試薬は、酸化剤及び/又はアルカリ性溶液を含む。当業者には理解されるように、検出試薬の性質は、インジケータシステム又は標識システムの性質に依存することになる。最も好ましくは、前記検出因子は、酸中の過酸化水素及びアルカリ性溶液が順次加えられた後に発光反応を起こす化学発光標識を検出するためのものであり、したがって、前記検出試薬は、酸中の過酸化水素、及び/又はアルカリ性溶液である。  
40

【0031】

さらに、当業者には理解されるように、捕捉試薬に結合するアンカー物質の使用によって前記捕捉試薬が反応チャンバの表面の少なくとも一部に間接的に被覆される実施形態で  
50

は、前記捕捉試薬は、容器に收容されてもよい。この方式では、前記捕捉試薬は、次いで、反応チャンバに加えることができ、次いで捕捉試薬はアンカー物質に結合する。これにより、有利なことに、複数の反応チャンバを使用するとき、異なる反応チャンバに異なる捕捉因子を加えて、異なる分析物を検出することができる。さらに、各反応チャンバを被覆するために単一のアンカー物質が使用され得る。次いで、各反応チャンバには、検出すべき異なる分析物に応じて異なる捕捉試薬が提供され得るので、これは製造の観点からも有利である。

**【0032】**

好ましい一実施形態では、前記容器のうちの少なくとも1つは、洗浄試薬を收容し、前記容器のうちの少なくとも1つは、検出試薬を收容し、前記容器のうちの少なくとも1つは、捕捉試薬を收容する。より理想的には、前記容器のうちの少なくとも1つは、洗浄試薬を收容し、前記容器のうちの少なくとも1つは、第1の検出試薬を收容し、前記容器のうちの少なくとも1つは、第2の検出試薬を收容し、前記容器のうちの少なくとも1つは、捕捉試薬を收容し、前記容器のうちの少なくとも1つは、標識試薬を收容する。最も理想的には、第1の検出試薬は酸中の過酸化水素であり、第2の検出試薬はアルカリ溶液であり、捕捉試薬はビオチン化した抗体であり、標識試薬はAE標識済み抗体である。

10

**【0033】**

さらに別の好ましい実施形態では、前記容器は、前記反応チャンバに前記試薬をポンピングするためのポンプを含む。任意選択で、前記容器は、前記反応チャンバへの試薬の流れを制御するための弁も含む。カートリッジは、様々な流体（たとえば様々な試薬及び/又は流体試料）の動きを制御する単一のポンプを含んでもよく、別法として、複数のポンプを含み、そのうちの1つがたとえば流体試料の動きを制御し、そのうちの少なくとも1つが複数の様々な試薬の動きを制御してもよい。一態様では、カートリッジは複数のポンプを含み、様々な流体のそれぞれの動きは、異なるポンプによって制御される。

20

**【0034】**

代替の一実施形態では、各試薬は、容器の中に収められる密封パウチに收容され、前記パウチは、反応チャンバへと至る導管のすぐ近くに存在する。アクティベータによるパウチへの圧力の印加により、パウチが導管にその中身を放出し、それを前記反応チャンバに送達する。

**【0035】**

反応チャンバへの1つ又は複数の任意の試薬の流れの順序及びタイミングは、利用する検査、及び各容器に収められる流体のタイプに応じて変動し得る。

30

**【0036】**

一実施形態では、第1の容器が、標識試薬又は標識済み試薬を備え、第2の容器が、洗浄試薬を備え、第3の容器が、検出器試薬を備える。このような実施形態では、分析すべき試料が反応チャンバに加えられ、試料中の任意の標的解析物が、順次、又は同時に、標識済み試薬及び前記捕捉試薬と反応する。当業者には明らかであるように、こうして捕捉され得るのは、加えられた標識済み試薬の一部のみである。未反応のいかなる材料も確実に除去するために、反応チャンバへと送り出される吸収性材料を使用して、反応チャンバの中の流体が除去される。その結果、捕捉された分析物に付いた標識済み試薬のみが反応チャンバに結合され、後に残ることになる。任意選択で、上記の吸収性材料の使用前又は使用後に、洗浄試薬が用いられてもよい。このように使用すると、洗浄試薬は、未結合の分析物及び望ましくない材料を除去する助けとなり、したがって残存するバックグラウンドノイズを低減する。このように、吸収性材料は、反応チャンバの中の液体を除去するために使用される。この洗浄ステップは、必要に応じて繰り返されてもよい。最後に、検出試薬が加えられ、その性質は、利用される標識試薬又は標識済み試薬のタイプに依存することになる。次いで、発された光信号の測定を使用して、試料中の標的解析物が検出及び定量化され得る。

40

**【0037】**

理解されるように、反応チャンバに捕捉試薬を結合するためにアンカー物質が使用され

50

る代替の実施形態では、カートリッジは、捕捉試薬がアンカー物質に結合することができるように、吸収性材料の最初の使用前に反応チャンバに加えられ得る捕捉試薬を備える追加の容器をさらに備えてもよい。捕捉試薬は、標識試薬又は標識済み試薬と同時に加えられることが好ましい。

【0038】

好ましい一実施形態では、前記吸収性材料は、スプールにマウントされ、スプールの第1の方向での円運動により前記材料が送り出され、スプールの逆方向の円運動により前記材料が引き戻される。別法として、前記材料は、コンベアにマウントされ、コンベアの第1の方向での運動により前記材料が送り出され、コンベアの逆方向の運動により前記材料が引き戻される。前記可動部材は、前記材料が、送り出されたときには反応チャンバに浸漬し、引き戻されたときには前記反応チャンバから取り出されるように構成されることが理想的である。

10

【0039】

本発明のいくつかの実施形態では、前記可動部材は、吸収性材料が使用された後に前記吸収性材料を切断するブレードを付属している。

【0040】

本発明の代替の実施形態では、未反応のいかなる材料も反応チャンバから確実に除去するために、反応チャンバの中の流体は、吸引装置を使用して、又は毛細管流動装置によって除去される。

【0041】

さらに別の好ましい実施形態では、前記カートリッジは、反応チャンバへの試薬の流れと前記吸収性材料、又は吸引装置もしくは毛細管流動装置の使用を同期させる制御装置をさらに備える。理想的には、制御装置により、試薬が反応チャンバへと流れ、任意選択で、選択された培養時間の間そこでとどまり、その後、前記吸収性材料、又は吸引装置もしくは毛細管流動装置を使用して、反応チャンバ表面に提供又は被覆された捕捉試薬に結合していない、チャンバに残ったいかなる流体も抜き取られることが確実にされる。

20

【0042】

通常、生物試料は、対象となる標的分析物を含むことになる。生物試料中の前記分析物の決定、検出、及び/又は定量化は、カートリッジの中で実施される。この分析は、たとえば、血中のインスリン、プロインスリン又はCペプチド(糖尿病);心疾患マーカ(たとえば心筋トロポニン、NT-ProBNP)、甲状腺機能マーカ(たとえば甲状腺刺激ホルモン(TSH)の決定)、腫瘍マーカ、感染因子のマーカなどの、急性疾患を含めた他の特定の疾患のマーカなど、限定はされないが慢性代謝障害などである様々な障害に特異的な分析物の決定である場合がある。

30

【0043】

通常は、試料中の標的分析物が、捕捉手段を提供する1つ又は複数の結合パートナー及び検出可能物質で標識された1つ又は複数の結合パートナーと反応し、その結果、前記反応の後、前記検出可能物質の量が前記試料中に存在する前記分析物の量の関数又は逆関数になっている分析手順が行われることになる。本発明の好ましい一態様では、結合パートナーは抗体であり、検出可能物質は、生物発光反応又は化学発光反応などの発光反応に

40

【0044】

本発明のより好ましい一態様では、検出可能物質は、アクリジニウムエステルであり、アクリジニウムエステルは、酸中の過酸化水素及びアルカリ性溶液を加えた後、検出又は定量化されることになる。

【0045】

本発明の別の態様では、各分析物の検出に対して特異的な抗体を使用することにより、2つ以上の分析物が同じ反応チャンバで検出されることになり、前記抗体は、たとえば波長又は反応速度に関して個々の光放射特性を提供するように化学修飾されたアクリジニウムエステルで標識される。その結果、各標識済み抗体は、同じ反応チャンバ内の他の各標

50

識済み抗体から独立して定量化され得る。

【0046】

本発明の別の好ましい実施形態では、カートリッジは、反応チャンバの内容物を混合するための攪拌部材を備える。当業者には理解されるように、反応ベッセルの攪拌により、成分試薬の反応率が確実に最大化されることになる。このような攪拌は、たとえば反応チャンバを振動モータにリンクさせること、反応チャンバの中に磁気攪拌装置を組み込むこと、又は他の手段で反応チャンバを物理的に動かすことによって実現され得る。

【0047】

本発明の第2の態様によれば、本明細書に開示するカートリッジと、読取り装置とを備え、読取り装置は、カートリッジが前記読取り装置と機能的に連通した状態で配置されることを可能にするように構成される、ポイントオブケアアッセイ装置が提供される。たとえば、カートリッジは、読取り装置に挿入されても、配置されても、付けられてもよく、読取り装置は、スロットなどのドッキング手段、又は位置合わせ手段を備えて、カートリッジが読取り装置に適当に挿入される、配置される、又は付されることを可能にすることができる。

10

【0048】

本発明の第2の態様の好ましい一実施形態では、前記読取り装置は、捕捉試薬及び/又は標識試薬もしくは標識済み試薬を検出するための検出器を備える。当業者には理解されるように、検出器の性質は、捕捉因子のインジケータシステムもしくは標識システムの性質、及び/又は標識試薬の性質に応じて変動することになる。たとえば、蛍光強度又は波長の変化は、蛍光光度計を使用して監視することができ、化学発光の同様の变化は、ルミノメータを使用して監視することができる。最も理想的には、前記検出器は、光の放射を測定するための光学検出器である。追加的に、又は別法として、前記カートリッジが、検出器を備える。

20

【0049】

本発明の第2の態様の別の好ましい実施形態では、前記読取り装置は、モータを備え、モータは、カートリッジが読取り装置に挿入されたとき、前記カートリッジの可動部材に係合し、それによって前記吸収性材料の送り出し及び引戻しを可能にするように構成される。

【0050】

本発明の第2の態様の別の好ましい実施形態では、前記読取り装置は、吸引装置を作動させそれによって前記反応チャンバからの流体除去を行うように構成されたモータを備える。

30

【0051】

場合によっては、前記読取り装置は、反応チャンバへの試薬の流れと前記モータの使用を同期させる制御装置を備えてもよい。理想的には、制御装置は、反応チャンバへの試薬の流れを制御し、任意選択で、選択された培養時間の間の、反応チャンバでの試薬の滞留時間を制御し、その後、前記制御装置は、捕捉試薬に結合していない、チャンバに残ったいかなる流体も抜き取るように、前記吸収性材料の動き、又は前記吸引装置の吸引を制御する。

40

【0052】

本発明の第2の態様の別の好ましい実施形態では、反応チャンバの中身を混合するための攪拌部材が提供される。こうした攪拌は、たとえば反応チャンバを振動モータにリンクさせることによって、反応チャンバの中に磁気攪拌装置を組み込むことによって、又は他の手段で反応チャンバを物理的に動かすことによって実現され得る。この機能も、読取り装置によって制御されることが理想的である。追加的に、読取り装置は、こうした攪拌後の洗浄ステップに適用されて、未反応の成分試薬の除去を確実に最大化することができるように構成される。

【0053】

本発明の第3の態様によれば、ポイントオブケアアッセイ装置用パーツのキットであっ

50

て、

本明細書に開示する少なくとも1つのカートリッジと、

前記カートリッジと機能的に連通するように構成された少なくとも1つの読取り装置とを備え、それにより、前記カートリッジ内のアッセイ試薬を使用して、生物試料中の少なくとも1つの分析物を識別するためのPOCTを行うことができる、キットが提供される。

【0054】

本明細書の説明及び特許請求の範囲の全体を通して、「備える (comprise)」及び「含む (contain)」という語、並びに例えば「備えている (comprising)」及び「備える (comprises)」というこれらの語のバリエーションは、「～を含むがこれに限定はされない」ということを意味し、他の成分、添加物、構成要素、整数、又はステップを除外しない。本明細書の説明及び特許請求の範囲の全体を通して、そうでないことが文脈で要求されていない限り、単数形の語は複数形の語を包含する。具体的には、不定冠詞が使用されている場合、そうでないことが文脈で要求されていない限り、本明細書は単数だけではなく複数も企図していると理解されたい。

10

【0055】

本明細書に引用する、任意の特許又は特許出願を含めたあらゆる参考文献は、参考として本明細書に援用される。いかなる参照も、従来技術を構成するものであることを認めるものではない。さらに、従来技術のいずれも、当技術分野での通常の一般的知識の一部を構成するものであることを認めるものではない。

20

【0056】

本発明の各態様の好ましい特徴は、その他の任意の態様に関連して説明されることがある。

【0057】

本発明の他の特徴は、以下の例から明らかになる。一般に、本発明は、(添付の特許請求の範囲及び図面を含めた)本明細書に開示する特徴のうちの任意の新規な特徴、又は任意の新規な組合せに及ぶ。したがって、本発明の特定の態様、実施形態、又は例と共に記載される特徴、整数、特性、化合物、又は化学的成分は、それらと両立しない場合を除き、本明細書に記載の任意の他の態様、実施形態、又は例に適用可能であると理解されたい。

30

【0058】

さらに、否定することが明示されていなければ、本明細書に開示される任意の特徴は、同じ目的又は同様の目的を果たす代替の特徴で置き換えられてもよい。

【0059】

次に、一例として、下記の実施例及び以下の図のみを参照して、本発明について説明する。

【図面の簡単な説明】

【0060】

【図1】図1Aは、本発明に従って使用するためのカートリッジの上面図及び側面図である概略図であり、図1Bは、本発明に従って使用するための読取り装置の側面図である概略図である。

40

【図2】本発明が如何に作動するかを説明するステップを示す、本発明に従って使用するためのカートリッジの側面を示す概略図である。

【図3】図3A～Dは、イムノアッセイで使用されている本発明のカートリッジを示す図である。具体的には、図3Aは、分析物を認識する抗体が反応チャンバに加えられているのを示し、図3Bは、培養インターバルを示し、図3Cは、吸収性材料を使用した反応液体の除去を示し、図3Dは、洗浄ステップを示し、図3Eは、本発明がどのように働くかを説明するステップを示す。

【図4】図4A～Dは、反応チャンバに試料を加えた後(図3)、化学発光イムノアッセイで使用されている本発明のカートリッジを示す図である。具体的には、図4Aは、洗浄

50

の繰返しを示し、図4Bは、反応チャンバに検出試薬を加えることを示し、図4Cは、反応チャンバに第2の検出試薬を加えることを示し、図4Dは、反応信号のエミッタンスを示し、図4Eは、本発明が如何にして作動するかを説明するステップを示す。

【図5】プロインスリンの測定に使用したときの、本発明の装置の読取り値を示す図である。(表1) ストレプトアビジンで被覆した反応ウェルに捕捉されたビオチン化した抗体及び化学発光標識済み抗体の使用に基づいてヒト血漿中のcTnIを測定するための、開示した装置を使用した迅速なアッセイを示す表である。ヒト血漿中cTnIの連続的な希釈液は、濃度範囲6~390pg/mlにわたって、トロポニン標準物質に対応する応答を生じた。これらの結果は従来の試薬洗浄を使用したときの手順と比較可能であり、この迅速なアッセイがヒト試料中の低いレベルのcTnIの測定に適用され得ることを示している。(表2) 検査カートリッジを使用してインタクトプロインスリンを測定したときの検査試料の結果を示す表である。(表3) カートリッジ洗浄と従来のウェル洗浄の比較(残存する発光RLU)を示す表である。

【発明を実施するための形態】

【0061】

各図面を参照するにあたり、第一に図1Aを参照すると、コンパートメント1、2、及び3を備えるカートリッジの側面図が示してある。コンパートメント1及びコンパートメント3は、コンパートメント2の両側に配置され、開口6及び開口7を介して各々コンパートメント2に連結する。示されている実施形態では、各コンパートメントは異なる機能を有する。コンパートメント1は、1本の吸収性材料5が巻かれたスプール4を収容する。第1の(時計回り)方向でのスプール4の回転により、材料5がコンパートメント2に向かって送り出され、材料5は、開口6を介してコンパートメント2に挿入される。逆に、第2の(反時計回り)方向でのスプール4の回転により、材料5はコンパートメント2から引き戻される。スプール4に巻かれたウィッキング材料による試薬の除去が図示されているが、注目すべきことには、ウィッキング、毛細管力、又は負圧の使用などの当業者には知られている他の機構を使用して、コンパートメント2から試薬を除去することもできるが、これらの例示に限定されない。

【0062】

コンパートメント2は、ウェルなどの形をとる反応チャンバ8を備える。チャンバ8は、その内側下方表面(底面)9に捕捉試薬(図示せず)が付着されている。この試薬は、化学的又は他の吸引力を利用して直接的にチャンバ8に結合されるか、別法として(またより典型的には)化学的又は他の吸引力を利用して直接チャンバ8に結合されるアンカー物質の形態の仲介物を利用して間接的にチャンバ8に結合される。使用時、カートリッジは、チャンバ8に既に付着した捕捉試薬、又は後で使用するために容器に入れられた捕捉試薬とともに供給される。

【0063】

コンパートメント3は、試薬12を収容する容器11を備える。容器11は、導管13及び開口7を介してチャンバ8と流体連通した状態である。容器11に収容される試薬の性質は、アッセイすべき分析物の性質及び/又は使用すべき検出システムの性質を考慮して決定される。図示されていないが、容器11はポンプ装置も備え、それにより容器11に収容された試薬が選択的にチャンバ8へと移動するようにしてもよい。

【0064】

これまで説明した本発明は、最も簡単なバージョンのカートリッジに該当する。他の実施形態では、前記カートリッジには、すべて本発明のアッセイで使用される複数の異なる試薬を収容する別の容器11a、11b、11cなどが提供される。追加的に、又は別法として、前記カートリッジには、いくつかのアッセイを同時に又は連続して行うために、別の反応チャンバ8a、8b、8cなどが提供される。カートリッジの複雑さを問わず、カートリッジは、少なくとも、1つの吸収性材料又は1つの吸引装置もしくは1つの毛細管流動部材により、1つの反応チャンバ8との挿抜可能な接触がなされるように、かつ少なくとも1つの試薬を収容する少なくとも1つの容器11が、前記反応チャンバ8と流体連

10

20

30

40

50

通した状態になるように構成される。

【0065】

図1Bには、上記のカートリッジを収納するように構成される読取り装置14が示されている。この特定の例では、読取り装置14には、カートリッジを収納するのに適したサイズ及び形状の空洞が提供され、さらに、読取り装置14には、カートリッジと相互に作用する協働装置も提供されて、試薬と材料5とが同期して適時にチャンバ8へと移動するのを確実にする。代替の構成も同様に利用され得るが、具体的には、いくつかの実施形態では、前記読取り装置14には、スプール4を回転させるモータ15が提供され得る。さらに、読取り装置は、場合によっては、容器11から試薬12を流動させ始めるための作動装置16を備えることができる。さらに、分析物の検出及び/又は定量化のために反応チャンバ8から読取り値を検出するための、光学検出器などの検出器17が含まれてもよい。代替の検出器17が使用されてもよく、その選択は、利用される標識及び捕捉因子の性質によって決まることになる。

10

【0066】

図2に示すように、使用時には、生物試料18がチャンバ8に加えられ、次いで、チャンバ8は、読取り装置14の中に配置される。次いで、読取り装置14が起動され、読取り装置14は、チャンバ8に試薬を加えることを制御し、最終的に、試料18において検出される任意の分析物の測定を行う。

【0067】

図3には、イムノアッセイでのカートリッジの使用法が示されている。チャンバ8には、捕捉試薬が提供されている。試料がチャンバ8に加えられた後、分析物を認識する検出器AE標識済み抗体がチャンバ8に加えられ(図3A)、所定の時間培養され(図3B)、その後、材料5がチャンバ8に浸漬されて、反応流体を除去する(図3C)。この最後のステップは、吸引装置によって実施されても、毛細管装置によって実施されてもよい。洗浄溶液が別の容器11からチャンバ8に供給され、材料5がチャンバ8に再び浸漬される(図3Cを繰り返す)か、又は吸引装置が起動されるとき、場合によっては、この流体除去の後、少なくとも1つの洗浄ステップ(図3D)及びさらなる浸漬/除去ステップが続く。これらのステップは図3Eに示されている。

20

【0068】

図4では、洗浄ステップ(図4A)が、この実施形態では3回繰り返されることが示されている(洗浄ステップの存在及び回数は、アッセイの性質、及び分析物に対する試薬の相対的親和性を考慮して決定されることになる)。洗浄が完了した後、すなわち未使用の反応物が除去されたのを確実にすることができたとき、少なくとも1つの検出試薬、この例では第1の検出試薬がチャンバ8に加えられ(図4B)、次いで第2の検出試薬(図4C)がチャンバ8に加えられ。これらの試薬により、信号のエミッタンスがトリガされ(図4D)、信号は、読取り装置14によって読み取られ、前記捕捉試薬によって捕捉された分析物、すなわち前記生物試料中に存在する分析物の量を示す。

30

【0069】

好ましい場合は、前記読取り装置は、既知量の検出すべき分析物を使用して、使用前に較正してもよい。

40

【0070】

次に、本発明の作用を例示するために、本発明の実施形態の一例について一般的な用語で説明する。

【0071】

典型的には、カートリッジには、チャンバ8の下部に被覆したアンカー物質の層が供給される。この物質は、アビジン、レクチン、又はオリゴヌクレオチドなどの一般的なタイプのものであることが有利である。別の容器11a、11b、11cなどは、検出する分析物の性質及び/又はアッセイ反応の性質を考慮して、適した試薬で装填されるか又は適した試薬を収容する。しかし、容器のうち少なくとも1つは、検出すべき分析物とアンカー物質の両方に結合する捕捉試薬を収容する。少なくとも1つの他の容器は、やはり分

50

析物に結合するが活性化されたときにそれ自体が信号を発するか、又は活性化されたときに他の容器の1つの中の少なくとも1つの他の試薬と共働して信号を発する検出試薬を収容する。さらに、材料5は、通常は格納した形で供給される。また、容器の1つは洗浄溶液を備えることが理想的である。

【0072】

使用時、生物試料18がチャンバ8に加えられ、カートリッジは、読取り装置14に挿入される。次いで、読取り装置14は、1つ又は複数の試薬が1つ又は複数の容器11からチャンバ8へと加えられる順序及びタイミングを制御する。所望の反応が終了したとき、必要に応じて洗浄溶液がチャンバ8に加えられ、次いで、読取り装置14は、チャンバ8への材料5の浸漬を制御して、未使用の/余分な反応流体を回収する。捕捉試薬が（直接的又は間接的に）チャンバ8に結合されていることにより、材料5を使用した後でも分析物がチャンバ8に保持されていることが当業者には理解されよう。したがって、次いで、少なくとも1つの検出器試薬をチャンバ8に加えることができ、（他の試薬又は適したトリガの使用により）捕捉試薬に捕捉された分析物の性質及び/又は量を示す信号のエミッタンス（放射）を開始する条件が満たされる。

10

【実施例】

【0073】

次に、本発明の働きを示すために、本発明の複数の例示的な実施形態についてより具体的な用語で説明する。

【0074】

20

（実施例1）

心筋梗塞のマーカとしての心筋トロポニン検出

材料及び方法

検査カートリッジを使用したトロポニンIの測定

心筋トロポニンI (cTnI) に対するモノクローナル抗体を、Hytest (Turku, Finland) から入手した。抗体を、2,6-ジメチル-4-(*N*-スクシンイミジルオキシカルボニル)フェニル10-メチル-アクリジニウム-9-カルボキシレートトリフルオロメタンスルホナート (AE) で標識した。通常、抗体は水溶液中で15分間AEと反応させ、生成物をゲル濾過によって精製した。AE標識済み抗体を、ウシ血清アルブミン及びアジ化ナトリウムを含む緩衝液中に保管した。

30

【0075】

水溶液中の抗体をビオチン-LC-LC-N-ヒドロキシスクシンイミド (Life Technologies, Renfrew, UK) と18時間反応させることによってビオチン化した抗体を調製し、生成物をゲル濾過によって精製した。ビオチン化した抗体を、ウシ血清アルブミン及びアジ化ナトリウムを含む緩衝液中に保管した。

【0076】

ポリスチレンの反応チャンバを、希釈炭酸/重炭酸緩衝液中の、濃度5 µg/mlのストレプトアビジン (Sigma-Aldrich, Poole, UK) で被覆した。ウェルを、4 °Cの温度で一晩被覆した。反応チャンバを、洗浄剤tween-20 (0.1%) を含むリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で洗浄 (3 × 300 µl) し、次いで、室温で2時間、ウシ血清アルブミン (1%) を含むPBSでブロッキングした。流体をデカントした後、プレートを減圧下で一晩乾燥させた。ストレプトアビジンで被覆したプレートを、ホイルパウチ内に密封して2 ~ 8 °Cの温度で保存した。

40

【0077】

ウマ血清 (Sigma Aldrich, Poole, UK) に組換え型心筋トロポニン (Abeam, Cambridge, UK) を加えることにより、一連の標準的な濃度のcTnIを調製した。1mlのアリコートをし、栓をしたガラスバイアル内において真空下で凍結乾燥した。凍結乾燥した標準物質 (standard) を、2 ~ 8 °Cで保存した。

【0078】

50

アッセイの目的のために、ストレプトアビジンで被覆した個々の反応チャンバを組み立てて、組み上がった検査カートリッジにした。A E 標識済み抗体とビオチン化した抗体の混合物 (50  $\mu$ l) 及び試料 (50  $\mu$ l) を反応チャンバに投入し、反応を10分間進めた。次いで、ウィックを短時間降下することにより、反応混合物をウェルから除去した。適当なポートから洗浄緩衝液 (100  $\mu$ l) を加え、次いでウィッキングによって除去した。この洗浄をあと2回繰り返し、過酸化水素 (0.5%) を含む硝酸 (0.1 M) を注入し、それに続いて0.25 Mの水酸化ナトリウムを注入することにより、発光反応を開始させた。1秒の時間期間にわたって取り込まれた光の全放射を、光電子増倍管を使用して測定した。結果を表1に示す。示されているように、ヒト血漿中 c T n I の連続的な希釈液は、濃度範囲6 ~ 390 pg / ml にわたって、トロポニン標準物質に対応する応答を生じた。これらの結果は、この迅速なアッセイが、最小限のバックグラウンド干渉で、又はバックグラウンド干渉なしで、ヒト試料中の低いレベルの c T n I の測定に適用され得ることを示している。

10

【0079】

【表1】

表 1.

血漿中の相対濃度(%)	平均 RLU	測定された cTnl(pg/ml)
100	4985	390.1
50	2830	187.8
25	1780	86.1
12.5	1240	42.6
6.25	930	21.6
3.12	810	13.5
1.56	700	6.1

20

【0080】

(実施例2)

検査カートリッジを使用したインタクトプロインスリンの測定

一連の標準的な濃度のヒトプロインスリン (1st International Reference Preparation 84/611, NIBSC, Pottermore Bar, EN6 3QG, UK) を、ウマ血清中で調製した。アッセイの目的のために、ストレプトアビジンで被覆した個々の反応チャンバを組み立てて、組み上がった検査カートリッジにした。A E 標識済み抗体とビオチン化した抗体の混合物 (100  $\mu$ l) 及び試料 (25  $\mu$ l) を反応チャンバに投入し、反応を10分間進めた。次いで、前の実施例で説明したように反応混合物を除去し、洗浄を行った。上で説明したように発光反応を開始させ、1秒間、測定を行った。結果は図5に示してあり、7つの検査試料に関する結果は表2に示してある。結果を、従来の(3時間の)インタクトプロインスリンマイクロプレートイムノアッセイ (ELISA) で得られた結果と比較する。

40

【0081】

【表 2】

表 2.

試料番号	POCT	ELISA
1	2.3	2.0
2	16.2	16.2
3	3.9	3.8
4	16.8	16.8
5	8.4	9.6
6	1.5	1.6
7	12.8	16.4

10

20

【0082】

(実施例 3)

本発明のカートリッジ内で洗浄したウェルと試験室プレートウォッシュで洗浄したウェルの比較

ストレプトアビジンで被覆したウェルをカートリッジに組み付け、A E 標識済みプロインスリン抗体とビオチン化したプロインスリン抗体の混合物(100 μl)を各ウェルに加えた。各ウェルに加えられた標識済み抗体は、試験室マイクロプレートルミノメータにおいて3, 416, 600 RLUの発光測定値を与えた。15分後、カートリッジのウィック機構を用いてウェルを洗浄した(3 × 150 μl 洗浄緩衝液)。次いで、ウェルを取り出し、試験室ルミノメータで光出力を測定した。結果を、同じ抗体混合物を加えたが次いで試験室プレートウォッシュで洗浄したウェルと比較した。表3に示すように、残存活性は本質的に同じ(すなわち、加えた発光活性の0.02%)であった。

30

【0083】

【表 3】

表 3. カートリッジ洗浄と従来のウェル洗浄の比較(残存する発光 RLU)

カートリッジ 洗浄	試験室ウォッシュ(2台)	
790	730	770
720	710	690
680	690	720
750	730	580
930	680	700
730	620	700
840	710	750
870	690	660
<b>平均= 789</b>	<b>平均= 696</b>	

40

50

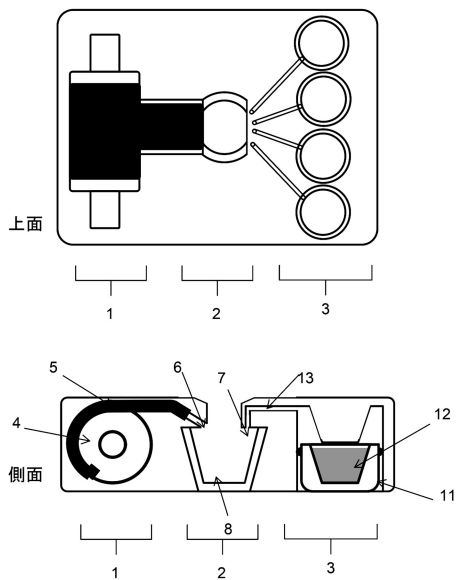
【符号の説明】

【0084】

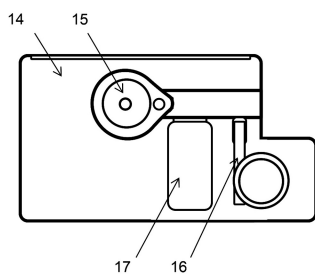
1、2及び3：コンパートメント；4：スプール；5：吸収性材料；6及び7：開口；8：反応チャンバ；11：容器；12：試薬；13：導管；14：読取り装置；15：モータ；18：生物試料

【図1】

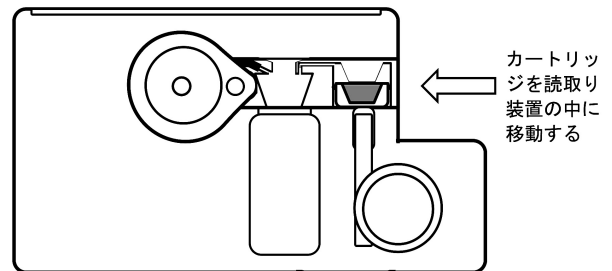
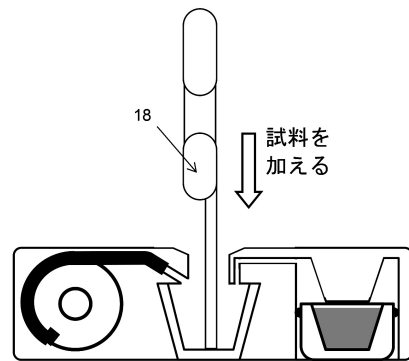
A.



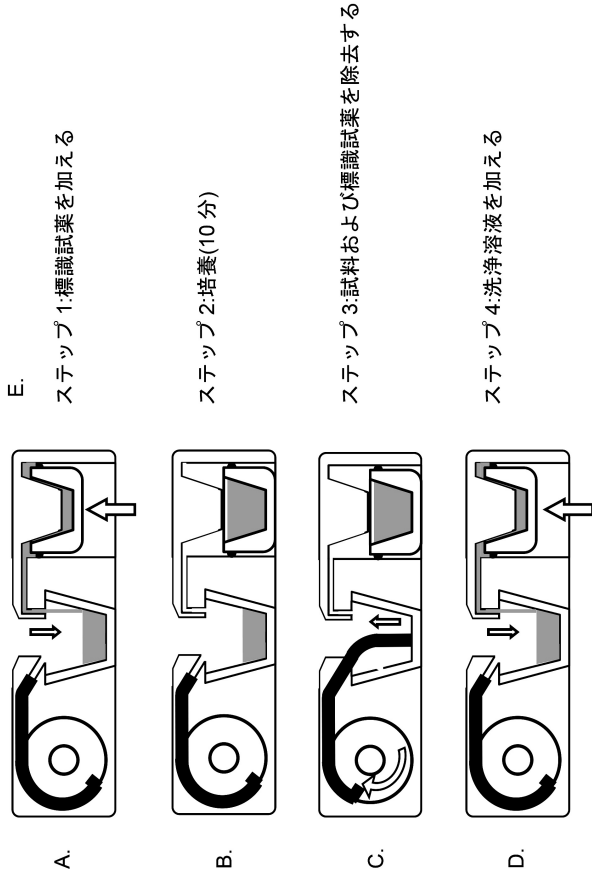
B.



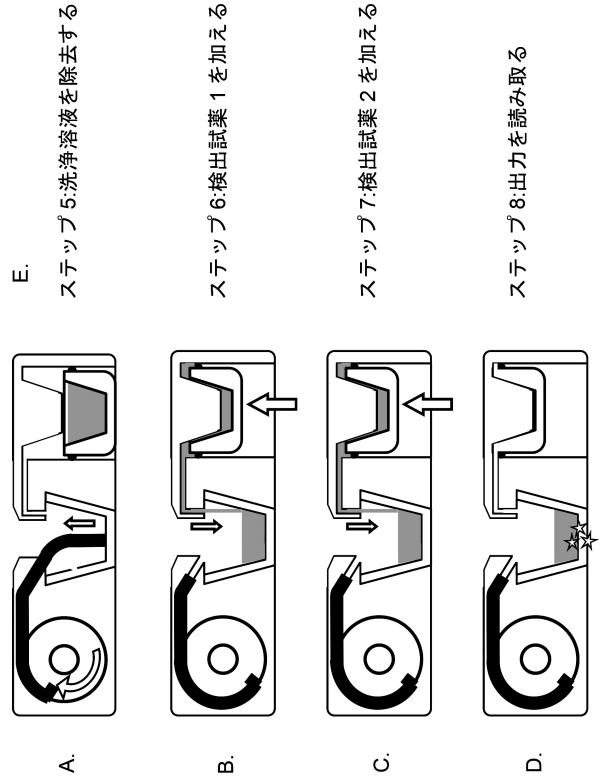
【図2】



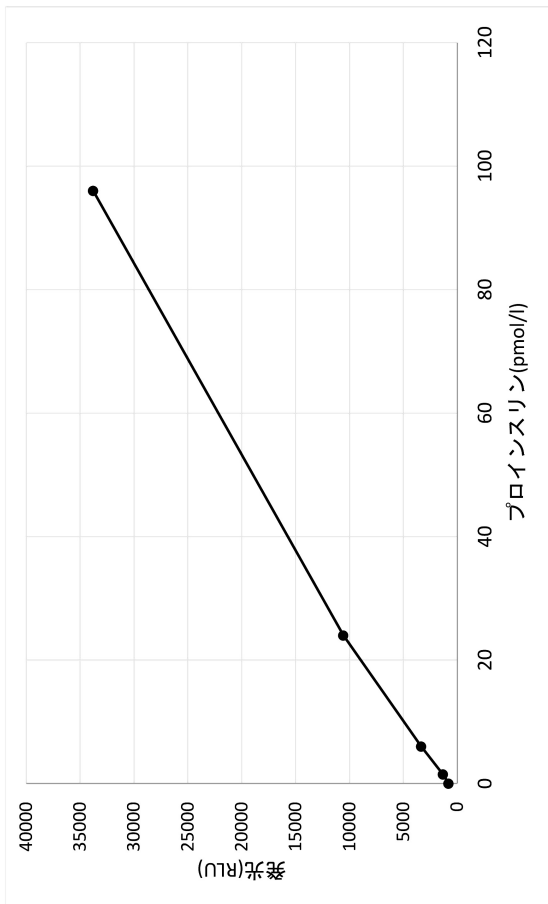
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

C 1 2 M 1/26

審査官 三木 隆

(56)参考文献 特開2020-046263(JP,A)  
国際公開第2006/132074(WO,A1)  
国際公開第2016/208713(WO,A1)  
特表2015-524566(JP,A)  
特開2018-028437(JP,A)  
特表平09-511572(JP,A)  
特表2014-511494(JP,A)  
特開2008-183409(JP,A)  
米国特許出願公開第2015/0044696(US,A1)  
国際公開第2016/121886(WO,A1)  
国際公開第2017/018014(WO,A1)  
特表2009-501908(JP,A)  
米国特許出願公開第2007/0087357(US,A1)  
特表2003-532118(JP,A)  
特表平06-510602(JP,A)  
特表2013-511442(JP,A)  
特表2009-529883(JP,A)  
特表2008-538077(JP,A)  
米国特許出願公開第2015/0285794(US,A1)  
米国特許出願公開第2012/0258472(US,A1)  
米国特許出願公開第2008/0038810(US,A1)  
登録実用新案第3157523(JP,U)  
特表2017-520239(JP,A)  
特表2016-512339(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 N 3 5 / 0 2  
C 1 2 M 1 / 2 6  
G 0 1 N 2 1 / 7 8  
G 0 1 N 3 3 / 5 4 3