

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3655990号

(P3655990)

(45) 発行日 平成17年6月2日(2005.6.2)

(24) 登録日 平成17年3月11日(2005.3.11)

(51) Int.Cl.⁷

GO 1 N 33/543

F I

GO 1 N 33/543 5 2 1

GO 1 N 33/543 5 9 1

請求項の数 8 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願平9-201888	(73) 特許権者	000109015
(22) 出願日	平成9年7月28日(1997.7.28)		アボットジャパン株式会社
(65) 公開番号	特開平11-44689		東京都港区六本木1丁目9番9号
(43) 公開日	平成11年2月16日(1999.2.16)	(74) 代理人	100062007
審査請求日	平成12年9月4日(2000.9.4)		弁理士 川口 義雄
審査番号	不服2002-13504(P2002-13504/J1)	(72) 発明者	中屋 美保
審査請求日	平成14年7月18日(2002.7.18)		千葉県松戸市稔台344 ダイナボット株
			式会社 総合研究所内
		(72) 発明者	千葉 陵太郎
			千葉県松戸市稔台344 ダイナボット株
			式会社 総合研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫分析装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下面に基板が貼付され、上面に保護ラミネートが貼付されたクロマトグラフィーストリップを有し、前記クロマトグラフィーストリップが有する発色領域の少なくとも一部の領域の上面及び／又は下面に常時開放型の空間が設けられている、免疫分析装置。

【請求項2】

前記空間が、前記一部の領域とその領域に面する保護ラミネート及び基板の少なくとも一方の面とが糊付けされないことにより設けられている、請求項1に記載の免疫分析装置。

【請求項3】

前記一部の領域に面する保護ラミネート及び基板の少なくとも一方の面に糊を施さないことにより、前記一部の領域と前記少なくとも一方の面とが糊付けされない、請求項2に記載の免疫分析装置。

【請求項4】

前記一部の領域に面する保護ラミネート及び基板の少なくとも一方の面に糊の接着能を失わせる薬剤を施すことにより、前記一部の領域と前記少なくとも一方の面とが糊付けされない、請求項2に記載の免疫分析装置。

【請求項5】

前記空間が、前記一部の領域に面する保護ラミネート及び基板の少なくとも一方の面の部分を凹状とすることにより設けられている、請求項1に記載の免疫分析装置。

【請求項6】

前記空間が、前記一部の領域に面する保護ラミネート及び基板の少なくとも一方の面と前記一部の領域との間に薄膜を置くことにより設けられている、請求項１に記載の免疫分析装置。

【請求項７】

前記空間が、前記一部の領域を除く前記クロマトグラフィーストリップの連続していない二以上の箇所において前記保護ラミネート及び基板の少なくとも一方と前記クロマトグラフィーストリップが貼付されることにより設けられている、請求項１に記載の免疫分析装置。

【請求項８】

前記空間が、前記保護ラミネート又は基板が前記一部の領域を覆わないようにすることにより設けられている、請求項１に記載の免疫分析装置。 10

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】

この発明は、クロマトグラフィーストリップを用いる免疫分析装置に関する。詳しくは、下面に基板が貼付され、上面に保護ラミネートが貼付されたクロマトグラフィーストリップを有し、前記クロマトグラフィーストリップが有する発色領域の少なくとも一部の領域の上面及び／又は下面に空間が設けられている、免疫分析装置である。

【０００２】

【従来の技術】

20

クロマトグラフィーストリップを用いる免疫分析装置は、よく知られているように、添加された被検試料液体がクロマトグラフィーストリップ中を毛細管流により移動できるように設けられていて、かつ試料液体の添加領域より下流に被検出物質の検出領域が設けられている。検出領域は、そこに達した試料液体中に被検出物質が含まれていると、着色し又は着色程度が少なくなるように設けられているので、検出領域の発色程度により、被検出物質の有無又は量を検出又は測定できる。このような免疫分析装置は、特開昭６１－１４５４５９、特開昭６４－３２１６９、特開平１－１１３６６２、特開平１－２４４３７０、特開平１－６３８６５及び特表平１－５０３１７４等に記載されていて、これらの記載も、本明細書の記載の一部とする。

【０００３】

30

これら免疫分析装置は、下面に基板が、上面に保護ラミネートが、クロマトグラフィーストリップの保護及びバイオハザードの防止等のために貼付されたクロマトグラフィーストリップを有する。

【０００４】

本発明者らの研究によれば、試料液体の毛細管流は、クロマトグラフィーストリップが有する発色領域等の分析試薬が固定されている領域において、均一でないことがわかった。試料液体流が発色領域において均一でないと、発色領域の発色が不均一となり発色領域に白色斑点等が生じ、検出精度が低下する。

【０００５】

クロマトグラフィーストリップ中の試料液体の毛細管流を均一にしようとする試みとして、特許公報第２５９００５５号に記載されている、クロマトグラフィーストリップ長手方向の両端を連続歯状（凹凸）形状とすることが知られているが、これは、発色領域における流れを均一にしようとするものではない。 40

【０００６】

【発明が解決しようとする課題】

したがって、この発明の目的は、発色領域における試料液体の毛細管流が均一になるようにした、クロマトグラフィーストリップを用いる免疫分析装置を提供することにある。

【０００７】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、下面に基板と上面に保護ラミネートを有するクロマトグラフィーストリッ 50

プにおいて、発色領域の少なくとも一部の領域に空間を設けることにより、発色領域における毛細管流の不均一さに由来する白色斑点等がなくなり、高い検出精度が得られることを見いだした。すなわちこの発明は、下面に基板が貼付され、上面に保護ラミネートが貼付されたクロマトグラフィーストリップを有し、クロマトグラフィーストリップが有する発色領域の少なくとも一部の領域の上面及び／又は下面に空間が設けられている、免疫分析装置である。

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明の免疫分析装置は、図1に示されているように、下面に基板(2)が貼付され、上面に保護ラミネート(3)が貼付されたクロマトグラフィーストリップ(1)を有する。

10

【0009】

クロマトグラフィーストリップのクロマトグラフィー担体は、この分野で知られているもののいずれも使用できる。例えば、セルロース、ニトロセルロース、セルロースアセテート等が最もよく用いられている。

【0010】

基板や保護ラミネートは、基板または保護ラミネートに糊(4)を施すことにより、クロマトグラフィーストリップに貼付される。糊として、例えばゴム系、アクリル系又はビニルエーテルポリマー系接着剤が用いられる。

【0011】

クロマトグラフィー担体としてニトロセルロース等の有機溶剤に可溶の担体が用いられる場合には、ニトロセルロースをアセトン等の有機溶剤に溶かし、ポリエチレンテレフタレート等の有機溶剤に溶ける膜からなるか又は同膜を有する基板上に、これを展延することにより、クロマトグラフィ担体と基板とが張り合されることがある。このような場合も、本発明では、クロマトグラフィーストリップと基板との糊付けに含まれる。

20

【0012】

基板及び保護ラミネートは、クロマトグラフィーストリップを用いる免疫分析装置に従来使用されている通常のものでよい。例えば、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル等が用いられる。

【0013】

クロマトグラフィーストリップは、試料添加領域(5)を有し、試料添加領域に被検出物質を含む可能性のある試料液体が加えられると、試料液体は毛細管流により下流方向に移動する。

30

【0014】

クロマトグラフィーストリップはさらに、試料添加領域の下流に発色領域を有する。発色領域は分析の間に発色する領域であり、試料溶液中の被検出物質を検出するための検出領域(6)が含まれる。さらに、発色領域として、必要により対照領域(7)が設けられることがある。

【0015】

検出領域は、標識された抗原又は抗体等からなるトレーサーが、毛細管流により上流から移動してきた試料液体中の被検出物質の有無又は量に応じて蓄積されるように設けられている。「被検出物質の有無又は量に応じて」とは、サンドウィッチアッセイの場合にはトレーサーの蓄積量が増加し、競合アッセイの場合にはトレーサーの蓄積量が減少することを示す。すなわち検出領域には、被検出物質が特異的に(この場合被検出物質にトレーサーが特異的に結合する)、または被検出物質及びトレーサーが競合して、必要によりある種の架橋体を介して、結合する化合物が固定されている。

40

【0016】

ここで「架橋体」とは、検出領域に固定されている化合物及び被検出物質の両者に特異的に結合する物質を意味する。例えば、検出領域に抗マウスIgG抗体を固定し、架橋体として被検出物質である抗原に対するマウスIgGを用いるような場合が考えられる。また、架橋体として検出領域に固定されている化合物に特異的に結合する化合物と被検出物質

50

に特異的に結合する物質との複合体を用いることも可能である。この場合、被検出物質に特異的に結合する物質としては例えば、被検出物質が抗原の時には抗体であり、被検出物質が抗体である時には抗原であり、検出領域に固定されている化合物と検出領域に固定されている化合物に特異的に結合する化合物の組合せとしては、例えば、一方がビチオンであれば、他方が抗ビチオン抗体又はアビジンであり、一方が糖であれば他方が糖結合性蛋白質である。

【0017】

被検出物質とトレーサーが競合して検出領域に固定された化合物に結合する場合、検出領域の下流に、検出領域で捕捉されなかったトレーサーを捕捉する第2の検出領域を設けることがある。この第2の検出領域も本発明では「検出領域」に含まれる。

10

【0018】

標識には、発色反応に関与する酵素又は金コロイド等の金属コロイド、セレンウムコロイド等の非金属コロイド、着色樹脂微粒子、着色リポソーム、染料微粒子等の着色微小粒子が用いられる。したがって、トレーサーが検出領域に蓄積され又は蓄積されないことにより、検出領域の発色度が増加し、発色度を目視又は測定することにより、試料液体中の被検出物質の有無又は量を知ることができる。

【0019】

対照領域は、試料液体が検出領域を通過したことを知るための領域であり、対照領域に試料液体が到達すると、必要があれば、対照領域が発色するように設けられている。したがって対照領域は、必要があれば、検出領域の下流に設けられている。試料液体が対照領域に到達したときに発色するようにするには、よく知られているように、試料液体に例えばpH指示薬、発色反応を司る酵素またはトレーサー等の一つを含ませておき、対照領域には、これが到達すると発色するような化合物を固定すればよい。

20

【0020】

なお、トレーサーは、クロマトグラフィーストリップの特定領域（標識領域（8））に予め含ませておく場合と、試料液体とともに試料添加時に添加される場合がある。

【0021】

「上面」とはクロマトグラフィーストリップに保護ラミネートが貼付されている側の面を、「下面」とは基板が貼付されているクロマトグラフィーストリップの面をいう。

【0022】

「空間」（9）は、クロマトグラフィーストリップ面に保護ラミネート又は基板が糊付けされていない部分のことをいう。

30

【0023】

本発明によれば、発色領域の一部の領域に空間を設けるだけでも試料液体の毛細管流が乱されることがなく、発色領域の少なくとも一部の領域に空間を設けるだけでよい。しかし、発色領域の一部の領域が極端に小さいと当然効果がなく、また、発色領域の一部の領域が小さすぎると、糊付けしないようにする工作が難しくなる。

【0024】

空間が発色領域の全部であっても、また、発色領域の全部とその前後の領域にまで広がっていても何の問題もないばかりか、その方が効果が大きいことがあり、また糊付けも容易なので、通常、発色領域とその前後の領域に空間を設ける。前後の領域は、クロマトグラフィーストリップの全部でない限り、どのような広さの領域でもよい。

40

【0025】

空間は、クロマトグラフィーストリップの下面でも上面でもあるいは上面と下面の両方に設けてもよい。

【0026】

空間を設けるには、発色領域の少なくとも一部の領域とその領域に面する保護ラミネート及び／又は基板の面とを糊付けしないことによりできる（図1、図2）。発色領域の少なくとも一部の領域と保護ラミネート及び／又は基板とを糊付けしないためには、保護ラミネートの糊付けしない部分に糊を施さないか、糊を施した場合には、糊の接着力を失わせ

50

る薬剤を糊付けしない部分に施せばよい。糊の接着力を失わせる薬剤としては、知られているもののすべてが使用できる。

【0027】

また、糊付けしないようにするには、クロマトグラフィーストリップと保護ラミネート及び／又は基板との間に薄膜（10）を置いてもよい（図3）。薄膜が保護ラミネートとクロマトグラフィーストリップの間に置かれる場合には、透明なものでなければならない。

【0028】

薄膜は水を吸収しないものであればどのようなものでもよい。

【0029】

他の空間を設ける方法として、発色領域の少なくとも一部の領域に面する保護ラミネート及び／又は基板の面の部分を凹状（11）とする方法がある（図4）。凹状とするには、二枚の保護ラミネート又は基板を張り合わせ、凹状部分のみを一枚とすることにより、容易にできる。

【0030】

空間は、発色領域の少なくとも一部の領域を除くクロマトグラフィーストリップの連続していない二以上の箇所と保護ラミネートとを糊付けすることにより設けることもできる（図5）。

【0031】

また、空間は、保護ラミネート又は基板が発色領域の少なくとも一部の領域を覆わないようにすることにより設けることもできる（図6）。

【0032】

空間をクロマトグラフィーストリップの上面と下面の両方に設ける場合には、糊付けしない方法が、上面と下面とで同じ方法であってもよいが、異なる方法でもよい。ただし、保護ラミネートと基板の両方を覆わないようにすることは、クロマトグラフィーストリップが折れ曲がる等、破損の原因になるので、望ましくない。

【0033】

以下、実施例により、さらに本発明を説明する。

【0034】

【実施例】

0.5 cm×4.0 cmのニトロセルロース膜（米国Millipore社製）を基板（パッキラミネート）上に貼付した。このニトロセルロース膜の長い辺を縦として、その下端から約1 cmのところを線状に梅毒原虫由来抗原を含む溶液を滴下した後、十分に乾燥させ、梅毒抗原を固定し、ニトロセルロース膜上に検出領域を設けた。さらに検出領域から約1 cm上端側のニトロセルロース膜上にアビジンを梅毒抗原と同様に固定し、対照領域を設けた。ガラス繊維膜（米国Lydall社製）に梅毒原虫由来抗原をセレンウムコロイドで標識して得られた標識化抗原と、ビオチンをセレンウムコロイドに結合させて得られたビオチン化セレンウムコロイドをしみ込ませた後、ガラス繊維膜を乾燥し、標識領域とした。この標識領域を先に得られた基板上のニトロセルロース膜の下端と僅かに接するように基板上に貼付した。さらに、標識領域の下端に試料添加領域として、0.5×1.0 cmの不織布（米国デュポン社製）を標識領域と接するように基板上に貼付した。

【0035】

このようにして得られたクロマトグラフィーストリップの上面に保護ラミネート（リンテック社製）を貼付し、得られたクロマトグラフィーストリップデバイスを用いて検体中の梅毒抗体の検出を行う。血清検体50 µlをクロマトグラフィーストリップデバイスの試料添加領域に添加し、血清添加後15分後に検出領域及び対照領域におけるセレンウムコロイド由来の“赤さ”を肉眼で読み取ることにより判定を行う。

【0036】

結果の判定は、検出領域及び対照領域共に赤色を示したものを梅毒抗体陽性とし、対照領域のみ赤色を示したものを梅毒抗体陰性とする。対照領域が赤色を示さなかったものは無効とする。

10

20

30

40

50

【0037】

このクロマトグラフィーストリップデバイスに保護ラミネートを貼付するに際して、クロマトグラフィーストリップ上の検出領域及び対照領域においてクロマトグラフィーストリップと保護ラミネートが接着しないように次のような方法を用いた。

【0038】

(1) 保護ラミネートの糊面に紫外線照射により硬化する性質を有するインク（UV硬化インク）（T & K T O K A社製）を塗り、紫外線照射処理した保護ラミネートを用いる。この保護ラミネートをクロマトグラフィーストリップ上に貼付することによってUV硬化インク塗布部（検出領域及び対照領域）において、保護ラミネートがクロマトグラフィーストリップに接着しないようにした。本処理により得られたクロマトグラフィーストリップデバイスをUV処理法とする。

10

【0039】

(2) 保護ラミネートがクロマトグラフィーストリップの検出領域及び対照領域と接する部分以外の保護ラミネートの部分に糊を施した保護ラミネートをクロマトグラフィーストリップに貼付することによって保護ラミネートとクロマトグラフィーストリップの間に未接着部分を設けた。この方法によって得られたクロマトグラフィーストリップデバイスを部分塗布法とする。

【0040】

(3) 保護ラミネートをクロマトグラフィーストリップの検出領域及び対照領域以外の部分に貼付し、検出領域及び対照領域には保護ラミネートを有しないようにした。この方法によって得られたクロマトグラフィーストリップデバイスを開口法とする。

20

【0041】

(4) コントロールとして保護ラミネートとクロマトグラフィーストリップの間に空間ができないように保護ラミネートをクロマトグラフィーストリップに貼付した。この方法によって得られたクロマトグラフィーストリップデバイスを従来法とする。

【0042】

上記4種類のクロマトグラフィーストリップデバイスを用いて32検体中の梅毒抗体の検出を行い、発色領域である検出領域及び対照領域における発色の様子を観察した。これらの発色領域において白色の斑点が残ったり不均一な発色を示したクロマトグラフィーストリップデバイスの数を表1に示した。

30

【0043】

【表1】

表 1

	検出領域			対照領域		
	Lot. 1	Lot. 2	Lot. 3	Lot. 1	Lot. 2	Lot. 3
UV処理法	0/32	0/32	0/32	0/32	0/32	0/32
部分塗布法	0/32	0/32	0/32	0/32	0/32	0/32
開口法	0/32	0/32	0/32	0/32	0/32	0/32
従来法	7/32	2/32	11/32	9/32	13/32	7/32

40

【0044】

【発明の効果】

以上述べたように、免疫分析装置のクロマトグラフィーストリップが有する発色領域の少なくとも一部の領域に空間を設けることにより、クロマトグラフィーストリップ中の試料液体の毛細管流が発色領域において不均一になることがなく、被検出物質の検出精度が大

50

幅に向上する。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 本発明の免疫分析装置の一例を示す図である。Aは保護ラミネートの糊付け面平面図、Bは免疫分析装置の側面図である。

【図 2】 本発明の免疫分析装置の一例の保護ラミネートの糊付け面平面図である。

【図 3】 本発明の免疫分析装置の一例を示す図である。Aは側面図、Bは基板の糊付け面平面図である。

【図 4】 本発明の免疫分析装置の一例を示す図である。Aは保護ラミネートの糊付け面平面図、Bは免疫分析装置の側面図である。

【図 5】 本発明の免疫分析装置の一例の保護ラミネートの糊付け面平面図である。

10

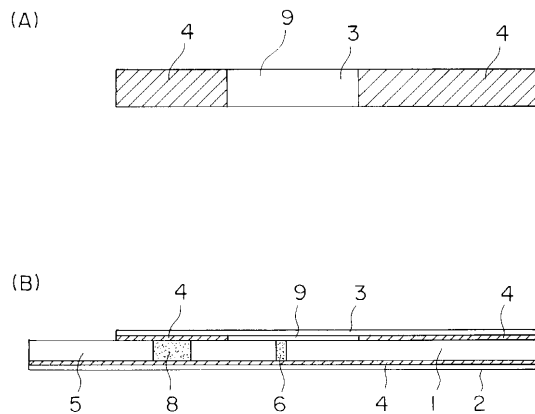
【図 6】 本発明の免疫分析装置の一例の側面図である。

【符号の説明】

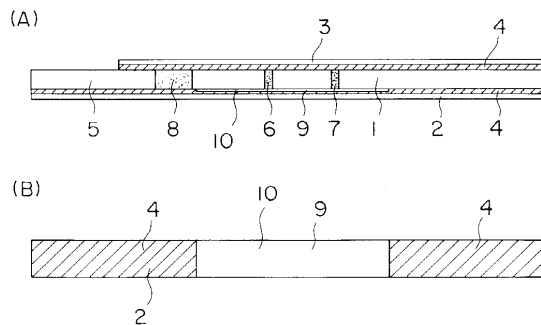
- 1 クロマトグラフィーストリップ
- 2 基板
- 3 保護ラミネート
- 4 糊付け部
- 5 試料添加領域
- 6 検出領域
- 7 対照領域
- 8 標識領域
- 9 空間
- 10 薄膜
- 11 凹状部

20

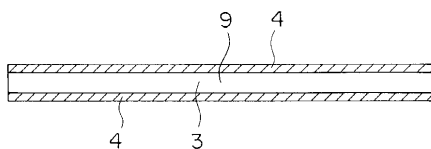
【図 1】



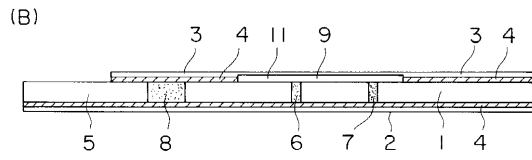
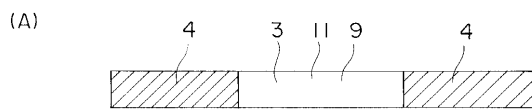
【図 3】



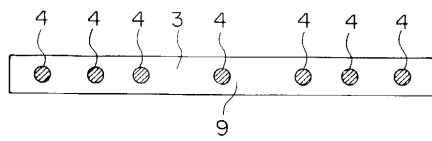
【図 2】



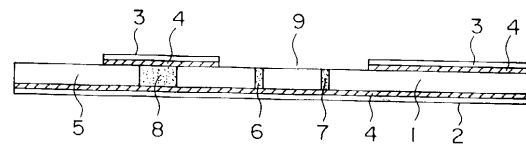
【図 4】



【図 5】



【図 6】



フロントページの続き

合議体

審判長 鐘尾 みや子

審判官 長井 真一

審判官 秋月 美紀子

(56)参考文献 特開昭63-96559 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

G01N 33/543