

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B1)

(11)特許番号
特許第7660246号
(P7660246)

(45)発行日 令和7年4月10日(2025.4.10)

(24)登録日 令和7年4月2日(2025.4.2)

(51)国際特許分類

F I

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 5 2 1

請求項の数 8 (全18頁)

(21)出願番号	特願2024-73926(P2024-73926)	(73)特許権者	524166226
(22)出願日	令和6年4月30日(2024.4.30)		杭州奥泰生物技術股▲ふん▼有限公司
審査請求日	令和6年5月1日(2024.5.1)		HANGZHOU ALLTEST BI
(31)優先権主張番号	202410126271.5		OTECH CO., LTD.
(32)優先日	令和6年1月30日(2024.1.30)		中華人民共和国 310018 浙江省
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		杭州市 江干区 杭州経済技術開発区 白
早期審査対象出願			楊街道 銀海街 550号 第3幢 第4幢
			第5幢廠房
			Building 3, 4, 5, No.
			550, Yinhai Road, B
			aiyang Street, Hang
			zhou Economic & Tec
			hnological Develop
			ment Zone, Jianggan
			District, Hangzhou
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

左側試薬ストリップ及び右側試薬ストリップを含む、ダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙であって、

前記左側試薬ストリップ及び前記右側試薬ストリップのそれぞれは、PVC基板と、PVC基板上に設けられた順次接続されたサンプルパッド、マーキングパッド、硝酸セルロース膜及び吸水パッドとを含み、

硝酸セルロース膜はマーキングパッドに近い側から左側の試薬ストリップにT1検出線とC品質管理線を順に設け、右側の試薬ストリップにT2検出線とC品質管理線を順に設け、

T1検出線とT2検出線にはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体がコーティングされ、マーキングパッドにはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体-金コロイド結合体が含まれており、

右側の試薬ストリップには処理液で処理したマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体も含まれており、サンプルパッド上、又はT2検出線とマーキングパッド間の硝酸セルロース膜上にセットされており、

前記処理液はショ糖、塩化ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム及びキレート剤を混合した後の水溶液であり、

前記処理液において、ショ糖の含有量は8～15mg/mLであり、塩化ナトリウムの含有量は5～10g/Lであり、リン酸水素二ナトリウムの含有量は0.5～3g/Lで

あり、キレート剤の含有量は $5 \sim 10 \text{ g/L}$ であり、

前記キレート剤はアミノポリカルボン酸及びそのナトリウム塩のうち的一种である、ことを特徴とするダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙。

【請求項 2】

前記 T 1 検出線にコーティングされたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体のコーティング濃度は $1.0 \sim 2.0 \text{ mg/mL}$ であり、前記 T 2 検出線にコーティングされたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体のコーティング濃度は $1.0 \sim 2.0 \text{ mg/mL}$ である、ことを特徴とする請求項 1 に記載のダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙。

【請求項 3】

前記処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体は、T 2 検出線とマーキングパッドとの間の硝酸セルロース膜上では、抗体濃度が $0.5 \sim 1.5 \text{ mg/mL}$ であり、サンプルパッド上では、抗体濃度が $0.05 \sim 0.1 \text{ mg/mL}$ である、ことを特徴とする請求項 1 に記載のダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙。

【請求項 4】

前記 C 品質管理線にヒツジ抗マウス Ig G がコーティングされ、コーティング濃度は $0.5 \sim 2.0 \text{ mg/mL}$ である、ことを特徴とする請求項 1 に記載のダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙。

【請求項 5】

前記マーキングパッドに、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体-金コロイド結合体及びマウス Ig G-金コロイド結合体を含有し、前記マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体-金コロイド結合体の濃度は OD 20-OD 60 であり、

前記マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体-金コロイド結合体における抗体と、右側試薬ストリップに含まれる処理液で処理された抗体と、T 1 検出線及び T 2 検出線にコーティングされた抗体とは、異なるマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体である、ことを特徴とする請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙。

【請求項 6】

PVC 基板の中間に硝酸セルロース膜が設けられ、

硝酸セルロース膜の両端部にそれぞれマーキングパッド及び吸水パッドを設け、且つマーキングパッド及び吸水パッドの一端底部側にそれぞれ接続し、マーキングパッド及び吸水パッドの他端底部側にそれぞれ PVC 基板を接続し、

マーキングパッドと PVC 基板との接続端部の上側にはサンプルパッドが設けられ、サンプルパッドの一端底部側はマーキングパッドの上側に接続され、他端底部側は PVC 基板に接続される、ことを特徴とする請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の金コロイド検出試験紙のヘモグロビン検出における使用であって、

被測定サンプルを左側試薬ストリップ及び右側試薬ストリップのサンプルパッドに添加し、T 1 検出線及び T 2 検出線の発色状況に基づき、ヘモグロビンの濃度範囲を判定する、ことを特徴とする使用。

【請求項 8】

T 1 検出線が発色せず、T 2 検出線が発色しない場合、ヘモグロビン濃度 $< 100 \text{ ng/mL}$ であることが示唆され、

T 1 検出線が発色し、T 2 検出線が発色しない場合、 $100 \text{ ng/mL} \leq$ ヘモグロビン濃度 $< 500 \text{ ng/mL}$ であることが示唆され、

T 1 検出線が発色し、T 2 検出線が発色する場合、 $500 \text{ ng/mL} \leq$ ヘモグロビン濃度 $< 5 \text{ mg/mL}$ であることが示唆され、

10

20

30

40

50

T1 検出線が発色せず、T2 検出線が発色する場合、ヘモグロビン濃度が $\geq 5 \text{ mg/mL}$ であることが示唆される、ことを特徴とする請求項7に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫検出の技術分野に関し、特にダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙及びその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

消化管出血は複数の疾患に起因し、優性出血と劣性出血に分けられる。正常ヒト消化管24時間の生理的出血量は 0.6 mL である。消化管出血量が 2 mL より大きければ、病理性出血に属する。臨床において一般的に使用される糞便潜血実験は、消化管出血、慢性胃腸管出血及び悪性腫瘍早期診断を検出する一般的なスクリーニング指標とする。糞便潜血実験は、消化管病変及び消化管悪性腫瘍の早期発見、早期診断、早期治療、及び患者生存確率と生活品質の向上に重要な意味を有する。

【0003】

金コロイドによる糞便潜血の検査・測定は、快速で、操作が簡単などの利点があり、その感度は比較的に高く、最低 100 ng/mL のヘモグロビンを検査・測定でき、無症状、少量、持続、肉眼と顕微鏡下で見えない出血を正確に検査・測定でき、しかも薬物、鉄剤、動物の血、飲食制限などの妨害を受けない利点があり、特異性が強い。化学法に取って代わり、現在糞便潜血を測定する主要な方法となった。

【0004】

金コロイド法による糞便潜血の検査・測定は主に二重抗体サンドイッチ法を試験原理とし、ヒトヘモグロビンポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体に抗して金コロイドマーキングを行い、糞便中に存在するヒトヘモグロビンと特異的に結合し、金コロイドマーキング発色によりヒト糞便中のヘモグロビンを検査・測定する。しかし、検査方法の原理的限界のため、HOOK現象が起こりやすく、金コロイド法の結果が偽陰性となり、臨床的に正確な診断ができず、最適な治療のタイミングが遅れてしまう。次にアスファルトのような黒い便が臨床的に現れて、真っ赤な血や見かけが明らかに茶、褐色の異常な大便の場合、検査結果が陰性であれば、サンプルを何回も繰り返して希釈した後に再び検査を行う必要がある。臨床的に人工と時間のコストが増加する。また、ヘモグロビンは分解しやすいため、サンプルの保存温度が高すぎたり、時間がかかりすぎたりすると、測定を繰り返しても不正確な結果が出ることがある。

【0005】

現在市販されているほとんどの大便潜血を検出する金コロイド検査キットは単ウィンドウ検査キットで、ヘモグロビン含有量 $> 5 \text{ mg/mL}$ の時に結果が陰性又は弱陽性となる。したがって、金コロイドで大便潜血を検出するのは一定の制限があって、金コロイドで大便潜血を検出する正確さと操作の簡単で速い特徴に対して一定の負の影響をもたらしやすい。

【発明の概要】

【0006】

本発明は上記の技術的課題を解決するために、従来の金コロイド検出試薬ストリップに検出ウィンドウを追加し、追加ウィンドウの検出試薬ストリップに処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体を追加し、T2 検出ラインの直前での中和作用を発揮し、HOOK現象の発生を遅らせ、金コロイド検出の精度を向上させることができる、ダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙及びその使用を提供することを目的とする。

【0007】

本発明の目的は、以下の技術方法によって実現される。

第1の態様では、本発明は、左側試薬ストリップ及び右側試薬ストリップを含む、ダブ

10

20

30

40

50

ルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙を提供する。上記試薬ストリップは、PVC基板と、PVC基板上に設けられた順次接続されたサンプルパッド、マーキングパッド、硝酸セルロース膜及び吸水パッドとを含む。硝酸セルロース膜は、マーキングパッドに近い側から、左側の試薬ストリップにT1検出線とC品質管理線を、右側の試薬ストリップにT2検出線とC品質管理線を順に設けた。T1検出線とT2検出線にはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体がコーティングされ、マーキングパッドにはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体－金コロイド結合体が含まれている。右側の試薬ストリップには処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体も含まれており、これはT2検出線の直前で中和作用として、サンプルパッド上、又はT2検出線とマーキングパッドと間の硝酸セルロース膜上にセットされている。

10

【0008】

本発明は、金コロイドイムノクロマトグラフィー、二重抗サンドイッチ法を基本原理とし、サンプル中にヘモグロビンが含まれている場合、サンプル添加後、ヘモグロビンは、マーキングパッド中のマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体と結合し、抗原－抗体複合体を形成する。クロマトグラフィーが進行するにつれて、この複合体は硝酸セルロース膜にコーティングされたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）に捕捉され、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）－ヘモグロビン－マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体を形成し、色は赤紫色で、色筋は明瞭で、肉眼で見ることができ、他の補助装置は必要なく、操作は簡単で便利である。

20

【0009】

具体的には、高濃度の被検サンプルを左側試薬ストリップに添加した後、被検サンプルがマーキングパッドに流れると、ヘモグロビンはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体と結合して複合体を形成し、この複合体はT1検出線上のマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）と特異的に結合することができるが、サンプル中に過剰なヘモグロビンが含まれているため、複合体ヘモグロビン－マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体と競合してT1検出線上の抗体と結合し、複合体とT1検出線上の抗体と結合することができず、T1検出線は弱い陽性又は陰性を示す。

【0010】

30

高濃度の被検サンプルを左側試薬ストリップに添加した後、被検サンプルがマーキングパッドに流れると、ヘモグロビンとマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体が結合して複合体ヘモグロビン－マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体を形成し、クロマトグラフィーにより前方へ移動し続ける。過剰なヘモグロビンは、処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）でコーティングされた閉鎖線を通過するとき、それと結合し、移動を続けると、ヘモグロビン－マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体がT2検出線上のマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）に特異的に結合して赤紫色のストリップを示す。また、高濃度の被検サンプルを右側の試薬ストリップに添加した後、被検サンプルがサンプルパッドを流れると、ヘモグロビンは処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）とまず結合し、クロマトグラフィーにより前方へ移動し続け、マーキングパッドを流れると、残りのヘモグロビンはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体と結合して複合体ヘモグロビン－マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）－金コロイド結合体を形成し、移動を続け、T2検出線上のマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）と特異的に結合し、赤紫色のストリップを示す。

40

【0011】

本発明は検出線及び品質管理線の発色状況によってサンプルにヘモグロビンが含まれる可否かを判断することができ、二本の検出線の発色状況によって糞便サンプルにおけるヘ

50

モグロビンの濃度範囲を判断することもでき、左側反応領域にコーティングされたT1検出線は高感度であり、最低100 ng/mLのヘモグロビンを検出することができ、右側反応領域にコーティングされたT2検出線は最低500 ng/mLのヘモグロビンを検出することができる。ダブルウィンドウ検出により、HOOK現象の発生を遅延することができ、金コロイド検出の正確率を向上させる。

【0012】

好ましくは、上記T1検出線にコーティングされたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体のコーティング濃度は1.0~2.0 mg/mLである。上記T2検出線にコーティングされたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体のコーティング濃度は1.0~2.0 mg/mLである。

10

【0013】

好ましくは、上記処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体は、T2検出線とマーキングパッドとの間の硝酸セルロース膜上では、抗体濃度は0.5~1.5 mg/mLであり、サンプルパッド上では、抗体濃度は0.05~0.1 mg/mLである。

【0014】

具体的には、T2検出線とマーキングパッドとの間の硝酸セルロース膜上では、上記処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体の処理液における抗体濃度は0.5~1.5 mg/mLである。サンプルパッド上では、上記処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体の処理液含有サンプルパッド溶液中の抗体濃度は、0.05~0.1 mg/mLである。

20

【0015】

好ましくは、上記処理液はショ糖、塩化ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム及びキレート剤を混合した後の水溶液であり、pHを7.2~7.6に調整する。

【0016】

好ましくは、上記処理液において、ショ糖の含有量は8~15 mg/mLであり、塩化ナトリウムの含有量は5~10 g/Lであり、リン酸水素二ナトリウムの含有量は0.5~3 g/Lであり、キレート剤の含有量は5~10 g/Lである。上記キレート剤はアミノポリカルボン酸及びそのナトリウム塩のうち一種である。

【0017】

好ましくは、上記キレート剤は、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸(HEDTA)、ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸ナトリウム塩、アミノ三酢酸(NTA)、アミノ三酢酸ナトリウム塩のうち一種である。

30

【0018】

キレート剤を添加することにより、高濃度ヘモグロビンの検出率を向上させることができ、キレート剤は、処理液中の他の成分と組み合わせて、免疫反応系のイオン環境を調整することにより、タンパク質吸着及び免疫反応速度を向上させることができる。また、各成分の濃度及び処理液pHを調整することにより、成分間の相乗性がより良くなり、特にキレート剤の濃度が処理液の処理効果に与える影響が大きく、本発明の限定範囲を超えるとヘモグロビンの検出率が低下する。

40

【0019】

好ましくは、C品質管理線にヒツジ抗マウスIgGがコーティングされ、コーティング濃度は0.5~2.0 mg/mLである。

【0020】

好ましくは、上記マーキングパッドに、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体-金コロイド結合体及びマウスIgG-金コロイド結合体を含有する。上記マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体-金コロイド結合体の濃度はOD20-OD60である。上記T1検出線及び上記T2検出線にコーティングされたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体(コーティング用)と、処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノク

50

ローナル抗体（コーティング用）とは同じ抗原エピトープに対する抗体である。また、該抗体とマーキングパッドに含まれるマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）とは異なる抗原エピトープに対する抗体である。

【0021】

処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体は、検出線の前に過剰なヘモグロビンを捕捉し、過剰なヘモグロビンが競合して検出線上の抗体と結合して弱陽性又は偽陰性の結果を招くことを回避し、検出範囲の上限を高め、H O O K現象を遅らせる。

【0022】

好ましくは、P V C基板の中間に硝酸セルロース膜が設けられている。硝酸セルロース膜の両端部にそれぞれマーキングパッド及び吸水パッドを設け、マーキングパッド及び吸水パッドの一端底部側にそれぞれ接続し、マーキングパッド及び吸水パッドの他端底部側にそれぞれP V C基板を接続する。マーキングパッドとP V C基板との接続端部の上側にはサンプルパッドが設けられている。サンプルパッドの一端底部側はマーキングパッドの上側に接続され、他端底部側はP V C基板に接続される。

【0023】

第2の態様において、本発明はさらに金コロイド検出試験紙のヘモグロビン検出における使用を提供し、被測定サンプルを左側試薬ストリップ及び右側試薬ストリップのサンプルパッドに添加し、T 1 検出線及びT 2 検出線の発色状況に基づき、ヘモグロビンの濃度範囲を判定する。

【0024】

本発明における金コロイド検出試験紙はサンプルにヘモグロビンが含まれるか否かを検出することができ、検出線Tと品質制御線Cはいずれも赤色帯が現れると、サンプルにヘモグロビンが含まれると説明し、品質制御線Cのみが赤色帯が現れると、サンプルにヘモグロビンが含まれない又はサンプルにおけるヘモグロビンの含有量が検出値より低いと説明する。品質制御線Cに赤色の帯が現れない場合、該試験紙は失効すると説明する。左側反応領域にコーティングされたT 1 検出線は高感度であり、最低で1 0 0 n g / m L のヘモグロビンを検出することができ、右側反応領域にコーティングされたT 2 検出線は最低で5 0 0 n g / m L のヘモグロビンを検出することができる。

【0025】

本発明における金コロイド検出試験紙はサンプルにおけるヘモグロビンの濃度範囲を検出することができ、サンプルを左側試薬ストリップと右側試薬ストリップのサンプルパッドに加え、二本の検出線の発色状況に基づき、ヘモグロビンの濃度範囲を判断することができる。

【0026】

好ましくは、T 1 検出線が発色せず、T 2 検出線が発色しない場合、ヘモグロビン濃度<1 0 0 n g / m L であることが示唆される。T 1 検出線が発色し、T 2 検出線が発色しない場合、1 0 0 n g / m L ≤ヘモグロビン濃度<5 0 0 n g / m L であることが示唆される。T 1 検出線が発色し、T 2 検出線が発色する場合、5 0 0 n g / m L ≤ヘモグロビン濃度<5 m g / m L であることが示唆される。T 1 検出線が発色せず、T 2 検出線が発色する場合、ヘモグロビン濃度≥5 m g / m L であることが示唆される。

【0027】

より好ましくは、T 1 検出線が発色せず、T 2 検出線が発色しない場合、ヘモグロビン濃度<1 0 0 n g / m L であることが示唆される。T 1 検出線が発色し、T 2 検出線が発色しない場合、1 0 0 n g / m L ≤ヘモグロビン濃度<5 0 0 n g / m L であることが示唆される。T 1 検出線が強く発色（T 2 検出線と比較して強い）し、T 2 検出線が弱く発色（T 1 検出線と比較して弱い）する場合、5 0 0 n g / m L ≤ヘモグロビン濃度<1 0 0 0 0 n g / m L であることが示唆される。T 1 検出線が強く発色し、T 2 検出線が強く発色する場合、ヘモグロビン濃度が1 0 0 0 0 n g / m L であることが示唆される。T 1 検出線が弱く発色（T 2 検出線と比較して弱い）し、T 2 検出線が強く発色（T 1 検出線

10

20

30

40

50

と比較して強い)する場合、 $10000\text{ ng/mL} < \text{ヘモグロビン濃度} < 5\text{ mg/mL}$ であることが示唆される。T1検出線が発色せず、T2検出線が発色する場合には、ヘモグロビン濃度範囲が $\geq 5\text{ mg/mL}$ であることが示唆される。

【0028】

従来技術と比較して、本発明は以下の有益な効果を有する。

(1) 本発明は、既存の金コロイド検出試薬ストリップに検出ウィンドウを追加し、新たに追加されたウィンドウ内の検査試薬ストリップには、処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体が追加されており、サンプル中に高濃度のヘモグロビンが含まれている場合、処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体は過剰なヘモグロビンを中和することができ、その後、金コロイドヘモグロビン抗原抗体複合体が検査線上のヘモグロビン抗体と特異的に結合して陽性の結果を示し、ダブルウィンドウ検査により、HOOK現象の出現を遅らせ、金コロイド検査の精度を高めることができる。

10

(2) 本発明は、定性から半定量までの迅速な検査を科学的客観的に実現し、高い感度を保証すると同時に、線形検査範囲の上限を高めることができ、検査試薬の精度を高めることができる。またサンプルの処理は1回で済み、希釈を何度も繰り返す必要がなく、時間と人件費を節約できる。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】本発明の試験紙の検出結果を示す図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0030】

以下では、本発明の技術的態様を具体的な実施例を用いて説明するが、本発明の保護範囲はこれに限定されない。

(1) 金コロイド検出試験紙の作製 (右側の試薬ストリップ上、処理液で処理したマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体を、T2検出線とマーキングパッドとの間の硝酸セルロース膜上に設け、閉鎖線とする)

【0031】

1.1 コーティング

1.1.1、閉鎖線処理液の調製：ショ糖、塩化ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム及びキレート剤を混合した後に希釈し、処理液中のショ糖の含有量を $8\sim 15\text{ mg/mL}$ 、塩化ナトリウムの含有量を $5\sim 10\text{ g/L}$ 、リン酸水素二ナトリウムの含有量を $0.5\sim 3\text{ g/L}$ 、キレート剤の含有量を $5\sim 10\text{ g/L}$ とし、pHを $7.2\sim 7.6$ に調整する。

30

1.1.2、C/T1/T2線コーティング用の溶液の調製：ヒツジ抗マウスIgG及びマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体 (コーティング用) をpH $7.2\sim 7.6$ の 10 mM のPBSで希釈し、コーティング濃度をそれぞれ $0.5\sim 2.0\text{ mg/mL}$ 、 $1.0\sim 2.0\text{ mg/mL}$ とする。

1.1.3、閉鎖線コーティング用の溶液の調製：マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体 (コーティング用) を閉鎖線処理液で希釈し、コーティング濃度を $0.5\sim 1.5\text{ mg/mL}$ とする。

40

1.1.4、左側試薬ストリップのコーティング：それぞれ調製したC/T1のコーティング溶液を $1.0\sim 1.2\text{ }\mu\text{L/cm}$ の速度で硝酸セルロース膜に噴霧し、それぞれC品質制御線とT1検出線とする。C品質制御線のコーティングサイズはPVC基板の一端底側縁から $34\sim 35\text{ mm}$ 、T1検出線のコーティングサイズはPVC基板の同端底側縁から $28\sim 29\text{ mm}$ の位置にする。その後、 $37^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ の乾燥機で $12\sim 24$ 時間乾燥し、コーティングされた硝酸セルロース膜を得る。

1.1.5、右側試薬ストリップのコーティング：それぞれ調製したC/T2/閉鎖線コーティング用の溶液を $1.0\sim 1.2\text{ }\mu\text{L/cm}$ の速度で硝酸セルロース膜に噴霧し、それぞれC品質制御線、T2検出線、及び閉鎖線とする。C品質管理線のコーティング

50

サイズはPVC基板の一端底側縁から34-35mmの位置とする。T2検出線のコーティングサイズは、PVC基板の同端底側縁から28-29mmの位置とする。閉鎖線のコーティングサイズは、PVC基板の同端底側縁から22-23mmの位置とする。その後、37℃±2℃の電熱送風乾燥機で12-24時間乾燥し、コーティングされた硝酸セルロース膜を得る。

【0032】

1.2 マーキング

1.2.1、金コロイドの調製：金コロイド粒子をマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）、マウスIgGとそれぞれ混合し、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）-金コロイド結合体とマウスIgG-金コロイド結合体にマーキングする。

10

1.2.2、マーキング溶液の調製：マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）-金コロイド結合体とマウスIgG-金コロイド結合体を、50-55g/Lのショ糖、8-15g/LのBSA、6-9g/Lのリン酸水素二ナトリウムを含む希釈液で希釈し、OD20-OD60とOD10-OD60のマーキング溶液とする。

1.2.3、調製したマーキング溶液をポリエステル繊維フィルムに1.8~2.0μL/cmの速度で処理し、37℃±2℃の電熱送風乾燥機で12~24時間乾燥してマーキングパッドを得る。

【0033】

1.3 サンプルパッド

20

1.3.1、サンプルパッド溶液の調製：濃度3-6g/Lのカゼイン、4-7g/Lのトリスヒドロキシメチルアミノメタン、0.1-0.4mL/LのProclin300、3-8g/LのPVP-10、0.2-0.7mL/LのTween20の水溶液を配合し、pHは7.2-7.6である。

1.3.2、サンプルパッドの調製：サンプルパッド溶液をガラス繊維の上に敷き、37℃±2℃の電熱送風乾燥機に置き、12~24時間乾燥し、サンプルパッドを得る。

【0034】

1.4 組み立て

上記試薬ストリップの組み立て方法は、PVC基板の中間に硝酸セルロース膜を設ける。硝酸セルロース膜の両端に、それぞれマーキングパッドと吸水パッドを設け、且つそれぞれマーキングパッドと吸水パッドの一端底側に接続する。マーキングパッド及び吸水パッドの他端底側は、それぞれPVC基板に接続されている。マーキングパッドとPVC基板との接続端部の上側にはサンプルパッドが設けられている。サンプルパッドは、一端底側がマーキングパッドの上側に接続され、他端底側がPVC基板に接続されている。左側試薬ストリップと右側試薬ストリップを所望の幅に切断して並列に組み立てると、ダブルウィンドウ検出の金コロイド検出試験紙を得る。

30

【0035】

(2) 金コロイド検出試験紙の作製（右側の試薬ストリップ上、処理液で処理したマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体をサンプルパッド上に設置）

【0036】

40

1.1 コーティング

1.1.1、C/T1/T2線のコーティング用溶液の調製：(1)の1.1.2と同じである。

1.1.2、左試薬ストリップのコーティング：(1)の1.1.4と同じである。

1.1.3、右側試薬ストリップのコーティング：それぞれ調製したC/T2コーティング用溶液を1.0-1.2μL/cmの速度で硝酸セルロース膜に噴霧し、それぞれC品質制御線、T2検出線とする。C品質管理線のコーティングサイズはPVC基板の一端底側縁から34-35mmの位置とする。T2検出線のコーティングサイズは、PVC基板の同端底側縁から28-29mmの位置とする。その後、37℃±2℃の電熱送風乾燥機で12-24時間乾燥し、コーティングされた硝酸セルロース膜を得る。

50

【0037】

1.2 マーキング

1.2.1、金コロイドの調製：(1)の1.2.1と同じである。

1.2.2、マーキング溶液の調製：(1)の1.2.2と同じである。

1.2.3、マーキングパッドを得る：(1)の1.2.3と同じである。

【0038】

1.3 サンプルパッド

1.3.1、サンプルパッド溶液の調製：濃度が3-6 g/Lのカゼイン、4-7 g/Lのトリスヒドロキシメチルアミノメタン、0.1-0.4 mL/LのProclina 300、3-8 g/LのPVP-10、0.2-0.7 mL/LのTween 20、8-15 mg/mLのショ糖、5-10 g/Lの塩化ナトリウム、0.5-3 g/Lのリン酸水素二ナトリウム、5-10 g/Lのキレート剤、0.05-0.1 mg/mLのマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）を含む水溶液を調製し、pHは7.2-7.6である。

1.3.2、サンプルパッドの調製：(1)の1.3.2と同じである。

1.4 組み立て (1)の1.4と同じである。

【0039】

実施例1

金コロイド検出用試験紙（右側試薬ストリップは閉鎖線を含む）の調製

1.1 コーティング

1.1.1、閉鎖線処理液の調製：まず精製水80 mLを量り取って、次いでショ糖1 g、塩化ナトリウム0.8 g、リン酸水素二ナトリウム0.2 g、エチレンジアミン四酢酸1 gを順次添加し、完全に溶解するまで攪拌した後、pHを7.4に調整し、精製水を加えて100 mLに定容する。

1.1.2、C/T1/T2線のコーティング用溶液の調製：pH 7.4の10 mMのPBSでヒツジ抗マウスIgGとマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）を希釈し、それぞれ1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、1.5 mg/mLに調製する。

1.1.3、閉鎖線のコーティング用溶液の調製：マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）を閉鎖線処理液で希釈し、0.5 mg/mLに調製する。

1.1.4、左側試薬ストリップのコーティング：それぞれ調製したC/T1のコーティング溶液を1.0 µL/cmの速度で硝酸セルロース膜に噴霧し、それぞれC品質制御線とT1検出線とするC品質管理線のコーティングサイズはPVC基板の一端底側縁から34.5 mm、T1検出線のコーティングサイズはPVC基板の同端底側縁から28.5 mmの位置とする。その後、37℃±2℃の乾燥機で16時間乾燥し、コーティングされた硝酸セルロース膜を得る。

1.1.5、右側試薬ストリップのコーティング：それぞれ調製したC/T2/閉鎖線コーティング溶液を1.0 µL/cmの速度で硝酸セルロース膜に噴霧し、それぞれC品質制御線、T2検出線、及び閉鎖線とする。C品質管理線のコーティングサイズはPVC基板の一端底側縁から34.5 mmの位置とする。T2検出線のコーティングサイズはPVC基板の同端底側縁から28.5 mmの位置とする。閉鎖線のコーティングサイズはPVC基板の同端底側縁から22.5 mmの位置とする。その後、37℃±2℃の電熱送風乾燥機で16時間乾燥し、コーティングされた硝酸セルロース膜を得る。

【0040】

1.2 マーキング

1.2.1、金コロイドの調製：金コロイド粒子に、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）、マウスIgGをそれぞれ比例混合し、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）-金コロイド結合体とマウスIgG-金コロイド結合体としてマーキングし、紫外可視分光光度計で測定した吸光度がそれぞれOD 129.5及びOD 130.1である。

1. 2. 2、マーキング溶液の調製：マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）-金コロイド結合体及びマウスIgG-金コロイド結合体を、50 g/Lのショ糖、10 g/LのBSA及び7 g/Lのリン酸水素二ナトリウムを含む希釈液で希釈してOD20及びOD10のマーキング溶液とする。

1. 2. 3、調製したマーキング溶液を2.0 µL/cmの速度でポリエステルセルロースフィルムに処理し、37℃±2℃の電熱送風乾燥機で16時間乾燥してマーキングパッドを得る。

【0041】

1. 3 サンプルパッド

1. 3. 1、サンプルパッド溶液の調製：まず80 mLの精製水を量り取り、続いて順に0.4 gのカゼイン、0.48 gのトリスヒドロキシメチルアミノメタン、0.016 mLのProclina 300、0.5 gのPVP-10、0.05 mLのTween 20を加え、完全に溶解させた後にpHを7.4に調整し、最後に精製水で100 mLに定容する。

1. 3. 2、サンプルパッドの調製：その後、サンプルパッド溶液3.5 mLを量り取り、17 mm×31 mmのガラス繊維上に敷き、37℃±2℃の電熱送風乾燥機で16時間乾燥し、サンプルパッドを得る。

【0042】

1. 4 組み立て

吸水パッド、サンプルパッド、マーキングパッド、コーティングされた硝酸セルロース膜及びPVC基板を順に接続して組み立て、必要に応じて必要な幅に切断することにより、ダブルウィンドウ検出の金コロイド検出試験紙を得る。

【0043】

実施例2 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 3が異なることを除いて、他は実施例1と同じである。

1. 1. 3、閉鎖線コーティング溶液の調製：調製濃度は1 mg/mLとする。

【0044】

実施例3 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 3が異なることを除いて、他は実施例1と同じである。

1. 1. 3、閉鎖線コーティング溶液の調製：調製濃度は1.5 mg/mLとする。

【0045】

実施例4 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 1が異なることを除いて（キレート剤は違う）、他は実施例1と同じである。

1. 1. 1、閉鎖線処理液の調製：まず精製水80 mLを量り取り、次いでショ糖1 g、塩化ナトリウム0.8 g、リン酸水素二ナトリウム0.2 g、ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸1 gを順次添加し、完全に溶解するまで攪拌した後、pHを7.4に調整し、精製水を加えて100 mLに定容する。

【0046】

実施例5 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 1が異なることを除いて（キレート剤が異なる）、他は実施例1と同じである。

1. 1. 1、閉鎖線処理液の調製：まず精製水80 mLを量り取り、次いでショ糖1 g、塩化ナトリウム0.8 g、リン酸水素二ナトリウム0.2 g、アミノ三酢酸1 gを順次添加し、完全に溶解するまで攪拌した後、pHを7.4に調整し、精製水を加えて100 mLに定容する。

【0047】

実施例6 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 1が異なることを除いて（キレート剤の添加量が異なる）、他は実施例1と同じである。

10

20

30

40

50

1. 1. 1、閉鎖線処理液の調製：まず精製水80mLを量り取り、次いでショ糖1g、塩化ナトリウム0.8g、リン酸水素二ナトリウム0.2g、エチレンジアミン四酢酸0.8gを順次添加し、完全に溶解するまで攪拌した後、pHを7.4に調整し、精製水を加えて100mLに定容する。

【0048】

実施例7 右側の試薬ストリップ上に、処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体を、サンプルパッド上に設置する、すなわち金コロイド検出試験紙（すなわち、この時点で右側の試薬ストリップには閉鎖線が含まれていない）の作製

1. 1 コーティング

1. 1. 1、C/T1/T2線コーティング溶液の調製：pH7.4の10mMのPBSでヒツジ抗マウスIgGとマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）を希釈し、それぞれ1.0mg/mL、1.5mg/mL、1.5mg/mLに調製する。

1. 1. 2、左側の試薬ストリップのコーティング：それぞれ調製したC/T1のコーティング溶液を1.0μL/cmの速度で硝酸セルロース膜に噴霧し、C品質管理線とT1検出線とする。C品質管理線のコーティングサイズはPVC基板の一端底側縁から34.5mm、T1検出線のコーティングサイズはPVC基板の同端底側縁から28.5mmの位置とする。その後、37℃±2℃の乾燥機で12-24時間乾燥し、コーティングされた硝酸セルロース膜を得る。

1. 1. 3、右側の試薬ストリップのコーティング：それぞれ調製したC/T2のコーティング溶液を1.0μL/cmの速度で硝酸セルロース膜に噴霧し、C品質管理線とT2検出線とする。C品質管理線のコーティングサイズはPVC基板の一端底側縁から34.5mm、T2検出線のコーティングサイズはPVC基板の同端底側縁から28.5mmの位置とする。その後、37℃±2℃の乾燥機で16時間乾燥し、コーティングされた硝酸セルロース膜を得る。

【0049】

1. 2 マーキング

1. 2. 1、金コロイドの調製：金コロイド粒子に、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）、マウスIgGをそれぞれ比例混合し、マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）-金コロイド結合体とマウスIgG-金コロイド結合体としてマーキングし、紫外可視分光光度計で測定した吸光度がそれぞれOD129.5及びOD130.1である。

1. 2. 2、マーキング溶液の調製：マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（マーキング用）-金コロイド結合体及びマウスIgG-金コロイド結合体を、50g/Lのショ糖、10g/LのBSA及び7g/Lのリン酸水素二ナトリウムを含む希釈液で希釈してOD20及びOD10のマーキング溶液とする。

1. 2. 3、調製したマーキング溶液を2.0μL/cmの速度でポリエステルセルロースフィルムに処理し、37℃±2℃の電熱送風乾燥機で16時間乾燥してマーキングパッドを得る。

【0050】

1. 3 サンプルパッド

1. 3. 1、サンプルパッド溶液の調製：まず80mLの精製水を量り取り、続いて順に0.4gのカゼイン、0.48gのトリスヒドロキシメチルアミノメタン、0.016mLのProclin300、0.5gのPVP-10、0.05mLのTween20、1gのショ糖、0.8gの塩化ナトリウム、0.2gのリン酸水素二ナトリウム、1gのエチレンジアミン四酢酸、1.02mLのマウス抗ヒトヘモグロビン抗体（コーティング用）（原濃度4.9mg/mL、サンプルパッド溶液における濃度含有量0.05mg/mL）を加え、完全に溶解させた後にpHを7.4に調整し、精製水を加えて100mLに定容する。

1. 3. 2、サンプルパッドの調製：その後、溶液3.5mLを量り取り、17mm×

3 1 mmのガラス繊維上に敷き、3 7℃±2℃の電熱送風乾燥機で1 6時間乾燥し、サンプルパッドを得る。

【0 0 5 1】

1. 4 組み立て

吸水パッド、サンプルパッド、マーキングパッド、コーティングされた硝酸セルロース膜及びPVC基板を順に接続して組み立て、必要に応じて必要な幅に切断することにより、ダブルウィンドウ検出の金コロイド検出試験紙を得る。

【0 0 5 2】

比較例1 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 3が異なることを除いて、他は実施例1と同じである。

10

1. 1. 3、閉鎖線コーティング溶液の調製：調製濃度は0. 1 mg/mLとする。

【0 0 5 3】

比較例2 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 3が異なることを除いて、他は実施例1と同じである。

1. 1. 3、閉鎖線コーティング溶液の調製：調製濃度は2. 0 mg/mLとする。

【0 0 5 4】

比較例3 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 1が異なること（キレート剤無添加）を除いて、他は実施例1と同じである。

20

1. 1. 1、閉鎖線処理液の調製：まず精製水8 0 mLを量り取り、次いでショ糖1 g、塩化ナトリウム0. 8 g、リン酸水素二ナトリウム0. 2 gを順次添加し、完全に溶解するまで攪拌した後、pHを7. 4に調整し、精製水を加えて1 0 0 mLに定容する。

【0 0 5 5】

比較例4 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 1が異なること（キレート剤の添加量が多すぎることを除いて、他は実施例1と同じである。

1. 1. 1、閉鎖線処理液の調製：まず精製水8 0 mLを量り取り、次いでショ糖1 g、塩化ナトリウム0. 8 g、リン酸水素二ナトリウム0. 2 g、エチレンジアミン四酢酸1. 2 gを順次添加し、完全に溶解するまで攪拌した後、pHを7. 4に調整し、精製水を加えて1 0 0 mLに定容する。

30

【0 0 5 6】

比較例5 金コロイド検出試験紙（右側の試薬ストリップに閉鎖線を含む）の調製
ステップ1. 1. 1及びステップ1. 1. 3が異なることを除いて、他は実施例1と同じである。

ステップ1. 1. 1を削除する。ステップ1. 1. 3の閉鎖線処理液の調製：マウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体（コーティング用）を、pH 7. 4の1 0 mMのPBS緩衝液（すなわちC/T 1/T 2線コーティング調製の溶液と同様）で希釈し、0. 5 mg/mLに調製する。

【0 0 5 7】

実施例と比較例について性能試験を行い、それぞれ陰性コントロール、5 0 ng/mLのヘモグロビン、1 0 0 ng/mLのヘモグロビン、2 0 0 ng/mLのヘモグロビン、5 0 0 ng/mLのヘモグロビン、1 µg/mLのヘモグロビン、1 0 µg/mLのヘモグロビン、1 0 0 µg/mLのヘモグロビン、5 mg/mLのヘモグロビン、1 0 mg/mLのヘモグロビン、5 0 mg/mLのヘモグロビンを用いて試験を行い、それぞれの濃度設定を1 0回繰り返し、結果を表1と表2に示す。発色結果の強弱を図1に示す。

40

[表 1]

50

ヘモグロ ビン濃度	実施例 1		実施例 2		実施例 3		実施例 4		実施例 5		実施例 6		実施例 7	
	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓
陰性コントロール	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-
50ng/mL	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-
100ng/mL	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-
200ng/mL	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-
500ng/mL	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱
1 μ g/mL	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱
10 μ g/mL	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 強
100 μ g/mL	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強
5mg/mL	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+
10mg/mL	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+
50mg/mL	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+

＊注：「+」は検査結果が陽性であることを示す。「-」は検査結果が陰性であることを示す。10（+）は10個の検査結果がすべて陽性であることを意味する。10（-）は10個の検査結果がすべて陰性であることを意味する。

[表 2]

10

20

30

40

50

ヘモグロビン濃度	比較例 1		比較例 2		比較例 3		比較例 4		比較例 5	
	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓
陰性コントロール	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-
50ng/mL	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-	10-
100ng/mL	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-
200ng/mL	10+ 強	10+ 弱	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-
500ng/mL	10+ 強	10+ 弱	10+	10-	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱
1 μ g/mL	10+ 強	10+ 強	10+	10-	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱
10 μ g/mL	10+ 強	10+ 弱	10+	10-	10+ 強	10+ 強	10+ 強	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱
100 μ g/mL	10+ 弱	10+ 弱	10+ 弱	10+ 弱	10+ 弱	10+ 強	10+ 弱	10+ 弱	10+ 弱	10+ 弱
5mg/mL	10-	10+	10-	10+	10-	10+	10-	10-	10-	10-
10mg/mL	10-	10-	10-	10+	10-	10+	10-	10-	10-	10-
50mg/mL	10-	10-	10-	10+	10-	6+/4-	10-	10-	10-	10-

＊注：「+」は検査結果が陽性であることを示す。「-」は検査結果が陰性であることを示す。10（+）は10個の検査結果がすべて陽性であることを意味する。10（-）は10個の検査結果がすべて陰性であることを意味する。

【0058】

結果分析：表1と表2に示したように、イムノクロマトグラフィー反応において、比較例1と比較例2は、閉鎖線の成分又は用量が適切でない場合、抗原と抗体の反応環境に影響し、抗原と抗体の結合に影響し、最終的に測定結果の正確性に影響することを示した。本発明の限定された濃度範囲内において、右側の試薬ストリップに含まれる処理液で処理されたマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体は、H O O K現象の出現を遅らせることができ、金コロイド検査の精度を高めることができ、特に高濃度のサンプルに対して、正確に陽性結果を得ることができ、しかも何度も希釈して再測定する必要がなく、同時にダブルウィンドウの結果を結合して、ヘモグロビンの濃度含有量範囲を判断することができる。

【0059】

また、閉鎖線処理液を処理することにより、実施例1及び比較例3の結果から、閉鎖線処理液にキレート剤を添加することにより高濃度ヘモグロビンの検出率を向上させることができ、キレート剤により免疫反応系中のイオン環境を調整し、タンパク質吸着及び免疫

反応速度を向上させることができることがわかる。しかし、比較例 4 は、高濃度すぎるキレート剤がヘモグロビンとマウス抗ヒトモノクローナル抗体との結合に影響を与え、過剰のヘモグロビンを中和することができず、H O O K 効果を遅延させることができないことを示している。また、比較例 5 は、閉鎖線処理液が通常の P B S 成分であれば、高濃度ヘモグロビンのサンプルに対して検査の陰性結果が存在することを表明した。

【 0 0 6 0 】

臨床サンプルの検証

本発明は合計 2 6 例の大便潜血陽性サンプルを収集し、第三者測定値試薬（上海透景診断科技有限公司－ヘモグロビン／トランスフェリン測定キット（フローサイトメトリー蛍光発光法））により測定値を確認し、測定結果を表 3 に示す。そのうち 1 1 例のヘモグロビン濃度が 1 0 0 – 5 0 0 n g / m L の陽性サンプル、9 例のヘモグロビン濃度が 5 0 0 n g / m L – 5 m g / m L の陽性サンプル、6 例のヘモグロビン濃度が > 5 m g / m L の高濃度陽性サンプルを含む。

〔表 3〕

10

20

30

40

50

サンプル名	ヘモグロビン濃度	実施例 1		比較例 3		比較例 4	
		左側窓	右側窓	左側窓	右側窓	左側窓	右側窓
サンプル 1	236.9ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 2	503.6 μ g/mL	+弱	+強	+弱	+弱	+弱	+弱
サンプル 3	1046.5 μ g/mL	+弱	+強	+弱	+弱	+弱	+弱
サンプル 4	109.6ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 5	185.4ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 6	763.9 μ g/mL	+弱	+強	+弱	+弱	+弱	+弱
サンプル 7	516.9ng/mL	+強	+弱	+強	+弱	+強	+弱
サンプル 8	2538.6 μ g/mL	+弱	+強	+弱	+弱	+弱	+弱
サンプル 9	17.9mg/mL	-	+	-	-	-	-
サンプル 10	264.1ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 11	507.2ng/mL	+強	+弱	+強	+弱	+強	+弱
サンプル 12	13.4mg/mL	-	+	-	-	-	-
サンプル 13	336.7ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 14	452.6ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 15	56.2mg/mL	-	+	-	-	-	-
サンプル 16	127.9ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 17	71.3mg/mL	-	+	-	-	-	-
サンプル 18	379.8ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 19	285.6ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 20	481.4ng/mL	+	-	+	-	+	-
サンプル 21	20.9mg/mL	-	+	-	-	-	-
サンプル 22	4913.5 μ g/mL	+弱	+強	+弱	+弱	+弱	+弱
サンプル 23	569.4ng/mL	+強	+弱	+強	+弱	+強	+弱
サンプル 24	32.7mg/mL	-	+	-	-	-	-
サンプル 25	289.3 μ g/mL	+弱	+強	+弱	+弱	+弱	+弱
サンプル 26	429.8ng/mL	+	-	+	-	+	-

＊注：「+」は検査結果が陽性であることを示す。「-」は検査結果が陰性であることを示す。

【0061】

表 3 に示すように、臨床サンプルの測定結果から、実施例 1 は高い感度と精度を有し、特に高濃度のヘモグロビンサンプルについては、2 本の T 線の呈色結果からサンプル中のヘモグロビンの濃度範囲を同時に判定できることがわかった。比較例 3 及び比較例 4 について、処理液にキレート剤を添加しなく又はキレート剤の添加量が多すぎると、いずれも金コロイド試験紙の検出精度に影響を与える。

【0062】

以上は本発明の好ましい実施例にすぎず、本発明の特許範囲を限定するものではなく、本発明の明細書を利用して行われる等価構造又は等価フロー変換、あるいは他の関連する

技術分野での直接的又は間接的な使用も、同様に本発明の特許保護範囲に含まれる。

【要約】 （修正有）

【課題】 H O O K 現象の発生を遅らせ、金コロイド検出の精度向上ができる、大便潜血を検出する検出試験紙の提供

【解決手段】 試薬ストリップは、P V C 基板と、サンプルパッド、マーキングパッド、硝酸セルロース膜、吸水パッドとを含み、

硝酸セルロース膜はマーキングパッドに近い側から左側の試薬ストリップにT 1 検出線とC 品質管理線を順に設け、右側の試薬ストリップにT 2 検出線とC 品質管理線を順に設け、T 1 検出線とT 2 検出線にはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体がコーティングされ、マーキングパッドにはマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体－金コロイド結合体が含まれ、

右側の試薬ストリップには処理液で処理したマウス抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体も含まれ、サンプルパッド上、又はT 2 検出線とマーキングパッド間の硝酸セルロース膜上にセットされている、ダブルウィンドウで大便潜血を検出する金コロイド検出試験紙

【選択図】 なし

【図面】

【図 1】

左側のウィンドウ	右側のウィンドウ	結果判定	ヘモグロビン濃度
		陰性	濃度<100ng/mL
		陽性	100ng/mL≤濃度<500ng/mL
		陽性	500ng/mL≤濃度<10000ng/mL
		陽性	濃度 = 10000ng/mL
		陽性	10000ng/mL<濃度<5mg/mL
		陽性	≥5mg/mL

フロントページの続き

- City, Zhejiang Province, 310018, China
- (74)代理人 110001841
弁理士法人 A T E N
- (72)発明者 高 飛
中華人民共和国 310018 浙江省 杭州市 江干区 杭州経済技術開発区 白楊街道 銀海街 5
50号 第3幢 第4幢 第5幢廠房
- (72)発明者 王 静静
中華人民共和国 310018 浙江省 杭州市 江干区 杭州経済技術開発区 白楊街道 銀海街 5
50号 第3幢 第4幢 第5幢廠房
- (72)発明者 陳 金樹
中華人民共和国 310018 浙江省 杭州市 江干区 杭州経済技術開発区 白楊街道 銀海街 5
50号 第3幢 第4幢 第5幢廠房
- (72)発明者 張 秋雪
中華人民共和国 310018 浙江省 杭州市 江干区 杭州経済技術開発区 白楊街道 銀海街 5
50号 第3幢 第4幢 第5幢廠房
- (72)発明者 陸 維克
中華人民共和国 310018 浙江省 杭州市 江干区 杭州経済技術開発区 白楊街道 銀海街 5
50号 第3幢 第4幢 第5幢廠房
- (72)発明者 塗 小娟
中華人民共和国 310018 浙江省 杭州市 江干区 杭州経済技術開発区 白楊街道 銀海街 5
50号 第3幢 第4幢 第5幢廠房
- 審査官 倉持 俊輔
- (56)参考文献 特開2015-230221 (JP, A)
特表平06-508215 (JP, A)
特表2012-524277 (JP, A)
中国特許出願公開第111879924 (CN, A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
G01N 33/543