

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6728238号
(P6728238)

(45) 発行日 令和2年7月22日(2020.7.22)

(24) 登録日 令和2年7月3日(2020.7.3)

(51) Int.Cl. F I
G O 1 N 33/53 (2006.01) G O 1 N 33/53 K

請求項の数 49 (全 37 頁)

(21) 出願番号	特願2017-560612 (P2017-560612)	(73) 特許権者	511187030
(86) (22) 出願日	平成28年5月18日 (2016. 5. 18)		バイオラッド・イノベーション
(65) 公表番号	特表2018-515783 (P2018-515783A)		フランス・92430・マルヌ・ラ・コケ
(43) 公表日	平成30年6月14日 (2018. 6. 14)		ット・プールヴァール・レモン・ポワンカ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2016/061158		レ・3
(87) 国際公開番号	W02016/184924	(73) 特許権者	514226279
(87) 国際公開日	平成28年11月24日 (2016. 11. 24)		ディアメド ゲーエムベーハー
審査請求日	平成31年4月18日 (2019. 4. 18)		D i a M e d G m b H
(31) 優先権主張番号	15305748.4		スイス、セアッシュー1785 フリプー
(32) 優先日	平成27年5月19日 (2015. 5. 19)		ル、クレッシェ、プラ ロン、23
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100108453
			弁理士 村山 靖彦
		(74) 代理人	100110364
			弁理士 実広 信哉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試料中の分析物を検出するためのデバイスにおける低密度不混和性化合物の使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

試料中の分析物を検出するための免疫血液学的デバイスであって、

- 試験がなされる前記試料を受容することができる反応チャンパーと、
 - 分離マトリックスを含んだ試薬を含む反応媒体と
- を含み、

前記反応チャンパーが、前記デバイス内の前記反応媒体の上方に在り、且つ前記デバイスが、前記反応媒体から前記反応チャンパーを分離する、合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、パラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、アルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、1未満の密度を有する疎水性化合物から構成される層を更に含むデバイス

10

【請求項2】

前記反応チャンパーが、分析物リガンドを含む試薬を含み、及び/又は前記反応媒体の試薬が、分析物リガンドを含む、請求項1に記載のデバイス。

【請求項3】

試料中の分析物を検出するための方法であって、

- a) 請求項1または2に記載の免疫血液学的デバイスが用意され、
- b) 試験がなされる前記試料、または試験がなされる前記試料と分析物リガンドを含む試薬とが、前記デバイスの前記反応チャンパー内に投入され、

20

c) 引き続き、前記試料、又は試料と分析物リガンドとの混合物が、前記反応媒体中で重力及び/又は遠心分離による沈降に曝され、分析物リガンドを含む試薬が、少なくとも工程a)及び/又は工程b)で提供され、且つ分析物/リガンド複合体が形成される場合には、そのような混合物は、前記分離マトリックスの上又は中に在り、そのような複合体がない場合には、前記混合物は前記分離マトリックスの下に在り、反応全体が前記デバイス内で実行される方法。

【請求項4】

- 前記反応媒体の前記試薬の蒸発を防止すること、及び/又は
 - 前記反応チャンバー及び/又は前記反応媒体の前記試薬の中和及び/又は消費を防止すること、及び/又は 10
 - 特異性を变化させることなく、陽性反応の反応性を増強させること、及び/又は
 - 前記デバイスへの、前記試薬及び試験がなされる前記試料の分配を容易にすること、及び/又は
 - 分析プロセスの前に、前記反応媒体の前記試薬を前記反応媒体中に閉じ込め、それらが、衝撃又は反転の場合に前記反応チャンバー内に拡がるのを防止すること、及び/又は
 - 前記分析プロセス中、前記反応チャンバーから前記反応媒体を通る、前記試薬(前記反応チャンバー内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる前記試料の通過を可能にすること、及び/又は前記分析プロセス後、全ての前記試薬及び試験がなされる前記試料を前記反応媒体中に閉じ込めること 20
- のための、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

試料中の分析物を検出するための免疫血液学的デバイスにおける、合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、パラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、アルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、1未満の密度を有する疎水性化合物から構成される層の使用であって、前記デバイスが、

- 試験がなされる前記試料を受容することができる反応チャンバーと、
 - 分離マトリックスを含んだ試薬を含む反応媒体と 30
- を含み、前記反応チャンバーが前記デバイス内の前記反応媒体の上方に在り、前記反応チャンバー及び/又は前記反応媒体が、分析物リガンドを含む試薬を任意選択で含むものであり、
- 前記反応媒体の前記試薬の蒸発を防止すること、及び/又は
 - 前記反応チャンバー及び/又は前記反応媒体の前記試薬の中和及び/又は消費を防止すること;及び/又は
 - 特異性を变化させることなく、陽性反応の反応性を増強させること、及び/又は
 - 前記デバイスへの、前記試薬及び試験がなされる前記試料の分配を容易にすること、及び/又は
 - 分析プロセスの前に、前記反応媒体の前記試薬を前記反応媒体内に閉じ込め、それらが、衝撃又は反転の場合に前記反応チャンバー内に拡がるのを防止すること、及び/又は 40
 - 前記分析プロセス中、前記反応チャンバーから前記反応媒体を通る、前記試薬(前記反応チャンバー内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる前記試料の通過を可能にすること、及び/又は
 - 前記分析プロセス後、全ての前記試薬及び試験がなされる前記試料を前記反応媒体中に閉じ込めること
- のための使用。

【請求項6】

前記疎水性化合物が、前記反応チャンバーの密度よりも低い密度及び前記反応媒体の密度よりも低い密度を有する、請求項1または2に記載のデバイス。

【請求項 7】

前記反応媒体が試薬を含み、前記試薬が、分離マトリックスと、1種又は数種の抗体及び/又は抗原とを含む、請求項1、2または6に記載のデバイス。

【請求項 8】

前記反応チャンバーが、分析物リガンドを含む試薬を含み、更に、前記試薬の上部に在る合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、パラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、アルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、1未満の密度を有する疎水性化合物から構成される層を含み、前記試薬又は前記反応チャンバー内に存在する任意の試薬を空気から分離する、請求項1、2、6または7に記載のデバイス。

10

【請求項 9】

前記疎水性化合物が、前記反応媒体を、前記デバイスの前記反応チャンバーから分離し、前記反応媒体を空気から分離する、請求項1、2、6から8のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 10】

前記疎水性化合物が、前記試薬及び/又は試料を包封する、請求項8又は9に記載のデバイス。

【請求項 11】

前記疎水性化合物が、パラフィン油、液体パラフィン、ステアリン酸、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン、オクタデカン、ノナデカン、エイコサン、又はヘネイコサンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、請求項1、2、6から10のいずれか一項に記載のデバイス。

20

【請求項 12】

前記疎水性化合物が鉱油を含む、請求項11に記載のデバイス。

【請求項 13】

前記疎水性化合物が、ノナデカン、オクタデカン、又はこれらの組合せを含む、請求項11に記載のデバイス。

【請求項 14】

前記疎水性化合物が、デカンを更に含む、請求項13に記載のデバイス。

30

【請求項 15】

前記疎水性化合物が、18から25 の間の温度で液体又は固体である、請求項1、2、6から14のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 16】

前記疎水性化合物が固体である場合、そのような固体化合物は、熱により又は化学的に更に液化される、請求項15に記載のデバイス。

【請求項 17】

前記反応チャンバーと前記反応媒体との間にいかなる空隙も含まない、請求項1、2、6から16のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 18】

試料中の分析物を検出するための前記デバイスが、免疫アッセイである、請求項1、2、6から17のいずれか一項に記載のデバイス。

40

【請求項 19】

前記免疫血液学的デバイスで検出される分析物/リガンド反応が、抗ヒトグロブリンを使用する試験である、請求項1、2、6から18のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 20】

試料中の分析物を検出するための免疫血液学的デバイスであって、試験がなされる前記試料を受容するように構成された反応チャンバーと、分離マトリックスと、前記反応チャンバーを前記分離マトリックスから分離する、合成油、有機油、鉱油、パラ

50

フィン油、パラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、アルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、1未満の密度を有する疎水性化合物から構成される層と

を含み、

前記反応チャンバーが、前記デバイス内の前記分離マトリックスの上方に位置付けられるデバイス。

【請求項 2 1】

前記分離マトリックス及び/又は前記反応チャンバーが分析物リガンドを含む、請求項20に記載のデバイス。

【請求項 2 2】

前記分析物リガンドが、抗体、抗体断片、又は抗原である、請求項21に記載のデバイス。

【請求項 2 3】

前記疎水性化合物が、前記分離マトリックスの密度よりも低い密度を有する、請求項20から22のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 2 4】

前記疎水性化合物が、パラフィン油、液体パラフィン、ステアリン酸、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン、オクタデカン、ノナデカン、エイコサン、又はヘネイコサンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、請求項20から23のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 2 5】

前記疎水性化合物が鉱油を含む、請求項20から23のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 2 6】

前記疎水性化合物が、ノナデカン、オクタデカン、又はこれらの組合せを含む、請求項20から23のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 2 7】

前記疎水性化合物が、デカンを更に含む、請求項26に記載のデバイス。

【請求項 2 8】

前記疎水性化合物が、18から25 の間の温度で液体又は固体である、請求項20から27のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 2 9】

前記疎水性化合物が固体である場合、そのような固体化合物は、熱により又は化学的に更に液化される、請求項28に記載のデバイス。

【請求項 3 0】

前記分離マトリックスと前記疎水性化合物との間に空隙を含まない、請求項20から29のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 3 1】

前記疎水性化合物が、前記分離マトリックスを前記デバイスの前記反応チャンバーから分離する、請求項20から29のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 3 2】

前記反応チャンバーが、分析物リガンドを含む試薬を含み、更に、前記試薬の上部に在る、合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、パラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、アルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、1未満の密度を有する疎水性化合物から構成される層を含み、前記試薬又は前記反応チャンバー内に存在する任意の試薬を空気から分離する、請求項20から29のいずれか一項に記載のデバイス。

【請求項 3 3】

前記疎水性化合物が、試薬及び/又は前記試料を包封する、請求項20から29のいずれか一項に記載のデバイス。

10

20

30

40

50

【請求項34】

試料中の分析物を検出するための方法であって、

- a. 請求項20に記載のデバイスを用意する工程と、
 - b. 試験がなされる前記試料を、前記デバイスの反応チャンバー内に投入する工程と、
 - c. 前記デバイスを、重力及び/又は遠心分離による沈降に曝す工程と
- を含み、

分析物リガンドを含む試薬が少なくとも工程a)及び/又は工程b)で提供され、分析物/リガンド複合体が形成される場合には、そのような混合物は前記分離マトリックスの上又は中に在り、そのような複合体がない場合には、前記混合物は前記分離マトリックスの下に在り、反応全体が前記デバイス内で実行される方法。

10

【請求項35】

前記疎水性化合物が、前記分離マトリックスの密度よりも低い密度を有する、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

前記疎水性化合物が、パラフィン油、液体パラフィン、ステアリン酸、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン、オクタデカン、ノナデカン、エイコサン、又はヘネイコサンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、請求項34または35に記載の方法。

20

【請求項37】

前記疎水性化合物が鉱油を含む、請求項34または35に記載の方法。

【請求項38】

前記疎水性化合物が、ノナデカン、オクタデカン、又はこれらの組合せを含む、請求項34または35に記載の方法。

【請求項39】

前記疎水性化合物が、デカンを更に含む、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

前記疎水性化合物が、室温で液体又は固体である、請求項34から39のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項41】

前記疎水性化合物が固体である場合、そのような固体化合物は、熱により又は化学的に更に液化される、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記分離マトリックスと前記疎水性化合物との間に空隙を含まない、請求項34から41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項43】

前記疎水性化合物が、前記分離マトリックスを前記デバイスの前記反応チャンバーから分離する、請求項34から41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項44】

前記反応チャンバーが、分析物リガンドを含む試薬を含み、更に、前記試薬の上部に在る、合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、パラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、アルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、1未満の密度を有する疎水性化合物から構成される層を含み、前記試薬又は前記反応チャンバー内に存在する任意の試薬を空気から分離する、請求項34から41のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項45】

前記低疎水性化合物が、試薬及び/又は前記試料を包封する、請求項34から41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項46】

前記分析物リガンドが、抗体、抗体断片、又は抗原である、請求項34又は44に記載の方

50

法。

【請求項47】

試料中の分析物を検出するためのキットであって、
試験がなされる前記試料を受容するように構成された反応チャンパーと、
分離マトリックスと、
前記反応チャンパーを前記分離マトリックスから分離する、合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、パラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、アルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される、1未満の密度を有する疎水性化合物から構成される層と
を含むデバイスを含み、
前記反応チャンパーが、前記デバイス内の前記分離マトリックスの上方に位置付けられるキット。

10

【請求項48】

前記分離マトリックス及び/又は前記反応チャンパー内に分析物リガンドを更に含む、請求項47に記載のキット。

【請求項49】

試料中の分析物を検出する方法を行うための説明書を更に含む、請求項47又は48に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれている、2015年5月19日に出願した欧州出願EP15305748.4の優先権を主張するものである。

【0002】

本開示は、試料中の分析物を検出するためのデバイスであって、低密度不混和性化合物から構成される層を含むデバイスに関する。本開示は、低密度不混和性化合物から構成される層を含むデバイスを使用することによって、試料中の分析物を検出するための方法にも関する。本開示は更に、そのような低密度不混和性化合物の使用に関する。

【背景技術】

30

【0003】

カラム凝集試験(「CAT」又は「ゲルカード」又は「試薬カード」)は、免疫血液学の分野で使用される、最も一般的な形式の1つである。ゲルカードは、複数のマイクロチューブから構成される。血液の型を判定してスクリーニングするためのこのシステムは、分離マトリックスの篩い効果をベースにする。試験は、典型的にはマイクロカラム内で行われ、このマイクロカラム内では、遠心分離中に赤色細胞凝集物が分離マトリックスに捕捉され(抗原と抗体との間の反応の場合)、非凝集赤血球がカラムの底でペレットを形成する(反応がないとき)。

【0004】

カードは使い易く、読み取り易く、手作業で使用するときも自動分析機で使用するときも、信頼性ある結果をもたらす。しかし、カードの保存(一般に、室温で)は、上澄みの清浄な蒸発を誘発する。このためカードの保存寿命が短くなる。蒸発した物質は、カードのカバーの下側で凝縮する。蒸発は更に、性能及び安定性の欠如に繋がる。加えて、異常な輸送状態(熱ストレス、過剰な振動等)が劣化を加速させる可能性がある。更に、間接抗グロブリン試験等のいくつかの試験では、カードの反応チャンパーに添加される試料及び追加の試薬(本明細書では、反応性媒体とも呼ばれる)が、好ましくはゲル(本明細書では、分離マトリックスとも呼ばれる)及び抗ヒトグロブリンを有する上澄みから物理的に分離されて、最適な性能を実現し、弱められた又は偽陰性の反応をもたらす、抗ヒトグロブリンと試料との間の「中和現象」が生ずるのを回避する。ゲル及び上澄みを、以下、反応媒体と呼ぶ。反応チャンパーと反応媒体との間で物理的分離を達成する1つの方法は、反応

40

50

媒体と、反応チャンバーに添加された試薬との間に空隙を維持することによる。ゲルと反応性媒体との間にこの空隙がないと、性能が低下する可能性がある(Bobryk S. (2011))。ピペット操作のばらつきは、間接抗グロブリン試験中の手作業によるゲル試験で、抗体の検出を低下させる可能性がある(Clinical Laboratory Science、161-166)。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】米国特許第5460940号

【特許文献2】米国特許第5512432号

【特許文献3】欧州特許第0305337号

10

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Clinical Laboratory Science、161-166

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

試料中の分析物を検出するための、特にゲルカード等の抗原/抗体反応を検出するためのデバイスに、低密度不混和性化合物の層を添加することにより、上述の課題が克服されることが、予期せずに発見された(実施例参照)。加えて、そのような化合物は、デバイスで試薬及び/又は試験がなされる試料の手作業の又は自動化された分配も容易にし、処理量を増大させ、汚染を低減させ、カード内への試薬の包封も可能にする。そのような低密度不混和性化合物の更なる利点を、更に論じる。

20

【課題を解決するための手段】

【0008】

試料中の分析物を検出するためのデバイス、特に分析物/リガンド反応を検出するためのデバイスであって:

- 試験がなされる試料を受容することができる反応チャンバーと;
 - 分離マトリックスを含んだ試薬を含む反応媒体と
- を含み、

反応チャンバーが、デバイス内の反応媒体の上方に在り;

30

反応チャンバー及び/又は反応媒体が、分析物リガンドを含む試薬を任意選択で含み;且つデバイスが、反応媒体から反応チャンバーを分離する低密度不混和性化合物から構成される層を更に含むデバイスが、開示される。

【0009】

また、試料中の分析物を検出するための方法であって:

- a) 試験がなされる試料を受容することができる反応チャンバーと;
- 分離マトリックスを含んだ試薬を含む反応媒体と
- を含み、

反応チャンバーが、デバイス内の反応媒体の上方に在り;

反応チャンバー及び/又は反応媒体が、分析物リガンドを含む試薬を任意選択で含み;

40

且つ

デバイスが、反応媒体から反応チャンバーを分離する低密度不混和性化合物から構成される層を更に含むデバイスが用意され;

- b) 試験がなされる試料と、任意選択で分析物リガンドを含む試薬とが、デバイスの反応チャンバーに投入され;

- c) 引き続き、試料、又は試料と分析物リガンドとの混合物が、反応媒体中で重力及び/又は遠心分離による沈降に曝され;

分析物リガンドを含む試薬が、工程a)及び/又は工程b)で提供され、且つ

分析物/リガンド複合体が形成される場合には、そのような混合物は、分離マトリックスの上又は中に在り、そのような複合体がない場合には、混合物は分離マトリックスの下に

50

在り、反応全体がデバイス内で実行される方法も開示される。

【0010】

実施形態において、試料中の分析物を検出するためのデバイスは、試験がなされる試料を受容するように構成された反応チャンバーと;分離マトリックスと;反応チャンバーを分離マトリックスから分離する低密度不混和性化合物から構成される層とを含み、反応チャンバーは、デバイス内の分離マトリックスの上方に位置付けられる。いくつかの実施形態では、分離マトリックス及び/又は反応チャンバーは、分析物リガンドを含む。ある実施形態では、分析物リガンドは、抗体、抗体断片、又は抗原である。

【0011】

いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は、分離マトリックスの密度よりも低い密度を有する。いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は、1未満の密度を有し、且つ/又は疎水性である。いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は:合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、液体パラフィン等のパラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、例えばステアリン酸、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン、オクタデカン、ノナデカン、エイコサン、又はヘネイコサン等のアルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物として提供される。ある実施形態では、低密度不混和性化合物が鉱油を含む。いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は、ノナデカン、オクタデカン、又はこれらの組合せを含む。いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は、デカンを更に含む。いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は、室温で液体又は固体である。ある実施形態では、低密度不混和性化合物が固体である場合、そのような固体化合物は熱により又は化学的に更に液化される。

【0012】

いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は、デバイス内の反応チャンバーから分離マトリックスを分離する。いくつかの実施形態では、デバイスは、分離マトリックスと低密度不混和性化合物との間にいかなる空隙も含まない。ある実施形態では、反応チャンバーは、分析物リガンドを含む試薬を含み、試薬の上部に在る低密度不混和性化合物から構成される層を更に含み、試薬又は反応チャンバー内に存在する任意の試薬を空気から分離する。いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物は、試薬及び/又は試料を包封する。

【0013】

実施形態では、試料中の分析物を検出するための方法は、(a)試験がなされる試料を受容するように構成された反応チャンバーと;分離マトリックスと;反応チャンバーを分離マトリックスから分離する低密度不混和性化合物から構成される層とを含み、反応チャンバーが、デバイス内の分離マトリックスの上方に位置付けられるデバイスを、提供する工程と;(b)試験がなされる試料を、デバイスの反応チャンバーに投入する工程と;(c)デバイスを、重力及び/又は遠心分離による沈降に曝す工程とを含み、分析物リガンドを含む試薬が、少なくとも工程(a)及び/又は工程(b)で提供され、分析物リガンド複合体が形成される場合には、そのような混合物は分離マトリックスの上又は中に在り、そのような複合体がない場合には、混合物は分離マトリックスの下に在り、反応全体はデバイス内で実行される。

【0014】

実施形態では、試料中の分析物を検出するためのキットは、試験がなされる試料を受容するように構成された反応チャンバーと;分離マトリックスと;反応チャンバーを分離マトリックスから分離する低密度不混和性化合物から構成される層とを含み、反応チャンバーは、デバイス内の分離マトリックスの上方に位置付けられるデバイスを含む。いくつかの実施形態では、キットは更に、分離マトリックス及び/又は反応チャンバー内に分析物リガンドを含む。いくつかの実施形態では、キットは、試料中の分析物を検出する方法を行うための説明書を更に含む。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】一実施形態による、低密度不混和性化合物層を有するデバイスを示す図である。

【図2】別の実施形態による、低密度不混和性化合物層を有するデバイスを示す図である。低密度不混和性化合物層は、試薬及び/又は試料を包封する。

【図3】一実施形態による低密度不混和性化合物の、生体適合性の試験の結果を示す図である。

【図4】一実施形態による低密度不混和性化合物(「L-DIC」)の、蒸発の試験の結果を示す図である。

【図5】一実施形態による低密度不混和性化合物の、空隙と比較した中和-堅牢性の試験の結果を示す図である。 10

【図6】一実施形態による低密度不混和性化合物の、ゲル及び上澄みの完全性の試験の結果を示す図である。

【図7】一実施形態による低密度不混和性化合物の、反応性増強の試験の結果を示す図である(Aは抗ABO1試薬を意味し、DVIは抗RH1部分カテゴリVI(DVI)試薬を意味し、その両方とも血液型判定の実施形態に使用される)。

【図8】低密度不混和性化合物の投入し易さの試験で使用される、カードの生成を示す図である。

【図9】一実施形態による低密度不混和性化合物の、投入の容易性の試験の結果を示す図である。 20

【図10】一実施形態による低密度不混和性化合物の、「熱依存性モジュラカバープレート」の試験の結果を示す図である。

【図11】一実施形態による低密度不混和性化合物の、「熱依存性モジュラカバープレート」の試験の結果を示す図である。

【図12】温度のいかなる変化もなしに状態を変化させる、一実施形態による低密度不混和性化合物で作製された「モジュラカバープレート」を示す図である。

【図13】一実施形態による低密度不混和性化合物の、「化学依存性モジュラカバープレート」の試験の結果を示す図である(DAT中、部分アルカン)(QCは品質管理を意味する)。

【図14】一実施形態による低密度不混和性化合物の、「化学依存性モジュラカバープレート」の試験の結果を示す図である(反転状態の、部分アルカン)。 30

【図15】ID-HbSカードに対する、本明細書に開示された低密度不混和性化合物の影響についての試験の結果を示す図である。

【図16A】ID-PaGIA IgA欠損試験に対する、本明細書に開示された低密度不混和性化合物の影響についての試験の結果を示す図である。

【図16B】ID-PaGIA IgA欠損試験に対する、本明細書に開示された低密度不混和性化合物の影響についての試験の結果を示す図である。

【図17A】ID-PaGIA IgA抗体試験に対する、本明細書に開示された低密度不混和性化合物の影響についての試験の結果を示す図である。

【図17B】ID-PaGIA IgA抗体試験に対する、本明細書に開示された低密度不混和性化合物の影響についての試験の結果を示す図である。 40

【図18A】ID-PaGIA梅毒(Syphilis)試験に対する、本明細書に開示された低密度不混和性化合物の影響についての試験の結果を示す図である。

【図18B】ID-PaGIA梅毒(Syphilis)試験に対する、本明細書に開示された低密度不混和性化合物の影響についての試験の結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0016】

試料中の分析物を検出するための、デバイスが開示される。デバイスがゲルカードである場合、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、反応チャンバー104を、マイクロチューブゲルカードの反応媒体106から分離する。ゲルカードのマイクロチューブ100では、マイクロチューブ100が一般に、少なくとも2相:ゲル108及び上澄み110(それらは共 50

に、反応媒体106を構成する)を含有する。次いで特定の実施形態で、主な目的は、上澄みの蒸発を防止するために、したがって保存寿命を延ばすために、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102から構成される層によって、マイクロチューブ100内の反応媒体106を反応チャンバー104から物理的に分離することである。図1を参照されたい。

【0017】

実施形態では、デバイス100は、試験がなされる試料を受容するように構成された反応チャンバー104と;分離マトリックス108と;反応チャンバー104を分離マトリックス108から分離する低密度不混和性化合物102から構成される層とを含み、反応チャンバー104は、デバイス100内の分離マトリックス108の上方に位置付けられる。

【0018】

いくつかの実施形態では、低密度不混和性化合物102を備える開示されたデバイス100は、下記の利益の1つ又は複数を提供する:

- 反応媒体106の試薬の蒸発、特に、ゲルカードのマイクロチューブ100内の上澄み110の蒸発を防止し;且つ/又は
- 偽陰性又は不正確な結果をもたらす可能性のある、反応チャンバー104及び/又は反応媒体106の試薬(例えば、抗体又は抗原)の中和及び/又は消費を防止し;且つ/又は
- 試験で使用される試料(例えば、赤血球、抗体)及び試薬(例えば、抗体)と相互作用/干渉せず;且つ/又は
- 特異性を変化させることなく、陽性反応の反応性を増強させ;且つ/又は
- デバイス100への、試薬及び試験がなされる試料の分配を容易にし、特に、試薬(反応チャンバー104内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる試料の投入を反応チャンバー104内のどこにおいても可能にし;且つ/又は
- 分析プロセスの前に、反応媒体106の試薬を反応媒体106内に、特に反応媒体106の底部(デバイス100の底部であってもよい)に閉じ込め、それらが、衝撃又は反転の場合に反応チャンバー104内に拡がるのを防止し;且つ/又は
- 分析プロセス中、反応チャンバー104から反応媒体106(デバイス100の底部に在ってもよい)を通る、試薬(反応チャンバー104内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる試料の通過を可能にし;且つ/又は
- 分析プロセス後、全ての試薬及び試験がなされる試料を反応媒体106中に閉じ込める。

【0019】

試料中の分析物を検出するための方法、例えば分析物/リガンド反応を検出するための方法、特に試料中の抗原及び/又は抗体を検出するための方法も提供され:

- a) (i)試験がなされる試料を受容することができる反応チャンバー104と、(ii)分離マトリックス108を含んだ試薬を含む反応媒体106とを含み、反応チャンバー104が、デバイス100内の反応媒体106の上方に在り、任意選択で、反応チャンバー104及び/又は反応媒体106が、分析物リガンドを含む試薬を含むデバイス100が提供され、
 - b) 試験がなされる試料、及び任意選択で分析物リガンドを含む試薬が、反応チャンバー104内に投入され;
 - c) 引き続き、試料、又は試料と分析物リガンドとの混合物が、反応媒体106中で重力による沈降に曝され;
- 分析物/リガンド複合体が形成される場合には、そのような混合物は分離マトリックス108の上又は中に在り、そのような複合体がない場合には、混合物は分離マトリックス108の下に在り、反応全体がデバイス100内で実行され、低密度不混和性化合物102から構成される層は、反応チャンバーを、デバイス内の反応媒体から分離する。

【0020】

或いは、提供される方法の工程c)で、引き続き、試料、又は試料と分析物リガンドとの混合物は、遠心分離によって反応媒体106中での沈降に曝される。

【0021】

或いは、やはり、提供される方法の工程c)で、引き続き、試料、又は試料と分析物リガ

10

20

30

40

50

ンドとの混合物は、反応媒体106中で遠心分離及び重力による沈降に曝される(例えば、順次、任意の順序で)。

【0022】

したがって、本明細書に記載される方法では、分析物リガンドを含む試薬は少なくとも工程a)及び/又は工程b)で提供される。

【0023】

特定の実施形態では、工程a)で、反応チャンバー104及び/又は反応媒体106が、分析物リガンドを含む試薬を含む。この実施形態では、分析物リガンドを含む追加の試薬は、工程b)で反応チャンバー104に内に投入されても投入されなくてもよい。

【0024】

別の特定の実施形態では、工程a)で提供されるデバイス100の反応チャンバー104も反応媒体106も、工程b)でデバイス100内に提供された、分析物リガンドを含む試薬を含まない。

【0025】

分析物リガンドを含む試薬が、工程b)で反応チャンバー104内に投入される場合、試料の投入は、分析物リガンドを含む試薬の投入の前、後、又は同時に行うことができる。

【0026】

特定の実施形態で、「同時に行われる」は、工程b)で、試験がなされる試料が分析物リガンドを含む試薬と混合され、次いで得られた混合物(反応性媒体112)がデバイス100の反応チャンバー104内に投入されることを意味する。図2を参照されたい。

【0027】

特定の実施形態では、提供される方法は、下記の工程を含む：

- a) (i)分析物リガンドを含む試薬を含む反応チャンバー104と、(ii)分離マトリックス108を含んだ試薬を含む反応媒体106とを含み、反応チャンバー104が反応媒体106の上方に在り、低密度不混和性化合物102から構成される層が、反応チャンバー104を反応媒体106から分離するデバイス100が提供され；
- b) 試験がなされる試料が、デバイス100の反応チャンバー104内の試薬と接触するようになり；
- c) 引き続き、試料と分析物リガンドとの混合物が、反応媒体106中で重力による沈降に曝され；

分析物/リガンド複合体が形成される場合には、そのような混合物は分離マトリックス108の上又は中に在り、そのような複合体がない場合には、混合物は分離マトリックス108の下に在り、反応全体がデバイス100内で実行される。

【0028】

或いは、上記提供された方法では、工程c)で、引き続き、試料、又は試料と分析物リガンドとの混合物が、遠心分離により反応媒体106中で沈降に曝される。

【0029】

或いは、やはり、上記提供された方法では、工程c)で、引き続き、試料、又は試料と分析物リガンドとの混合物が、反応媒体106中で遠心分離及び重力により沈降に曝される(例えば、順次、任意の順序で)。

【0030】

「a)デバイスが用意される」とは、本明細書では、開示された方法が前記デバイスを使用して実行されることを意味する。

【0031】

特定の実施形態では、前記デバイスは、分離マトリックス108を含む試薬をデバイス100の反応媒体106に添加することによって、工程a)で「用意される」。

【0032】

或いは又は累積的に、特定の実施形態では、前記デバイスは、分析物リガンドを含む試薬を反応チャンバー104に且つ/又は反応媒体106に添加することによって、工程a)で「用意される」。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 3 】

或いは又は累積的に、特定の実施形態では、前記デバイスは、低密度不混和性化合物102をデバイス100に添加することによって、工程a)で「用意される」。

【 0 0 3 4 】

実施形態では、試料中の分析物を検出するための方法は：

(a) 試験がなされる試料を受容するように構成された反応チャンバー104;分離マトリックス108;及び反応チャンバー104を分離マトリックス108から分離する低密度不混和性化合物102から構成される層を含み、反応チャンバー104がデバイス100内の分離マトリックス108の上方に位置付けられる、デバイス100を提供する工程と;

(b) 試験がなされる試料を、デバイス100の反応チャンバー104内に投入する工程と;

(c) デバイス100を、重力及び/又は遠心分離による沈降に曝す工程とを含み、

分析物リガンドを含む試薬が少なくとも工程(a)及び/又は工程(b)で提供され、分析物-リガンド複合体が形成される場合には、そのような混合物は分離マトリックス108の上又は中に在り、そのような複合体がない場合には、混合物は分離マトリックス108の下に在り、反応全体がデバイス100内で実行される。

【 0 0 3 5 】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるデバイス、方法、又は使用は、デバイス内に光学的に目に見える分析物/リガンド複合体(例えば、抗原/抗体複合体)を作製することによって、試料中の分析物(例えば、抗体又は抗原)の検出を可能にする。

【 0 0 3 6 】

「光学的に」とは、光学密度による又は画像の読取りによる検出を意味する。

【 0 0 3 7 】

特に、本明細書に開示される方法は、下記のためである：

- 反応媒体106の試薬の蒸発、特にゲルカードのマイクロチューブ100内の上澄み110の蒸発を防止すること;及び/又は

- 偽陰性又は不正確な結果をもたらす可能性がある、反応チャンバー104及び/又は反応媒体106の試薬(例えば、抗体又は抗原)の中和及び/又は消費を防止し;及び/又は試験で使用される試料(例えば、赤血球、抗体)及び試薬(例えば、抗体)と相互作用/干渉しないこと;及び/又は

- 特異性を変化させることなく、陽性反応の反応性を増強させること;及び/又は

- デバイス100への、試薬(反応チャンバー104内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる試料の分配を容易にし、特に、試薬及び試験がなされる試料の投入を反応チャンバー104内のどこにおいても可能にすること;及び/又は

- 分析プロセスの前に、反応媒体106の試薬を反応媒体106内に、特に反応媒体106の底部(デバイス100の底部であってもよい)に閉じ込め、それらが、衝撃又は反転の場合に反応チャンバー104内に拡がるのを防止すること;及び/又は

- 分析プロセス中、反応チャンバー104から反応媒体106(デバイス100の底部に在ってもよい)を通る、試薬(反応チャンバー104内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる試料の通過を可能にすること;及び/又は

- 分析プロセス後、全ての試薬及び試験がなされる試料を反応媒体106中に閉じ込めること。

【 0 0 3 8 】

試料中の分析物を検出するための、特に分析物/リガンド反応(例えば、抗原/抗体反応)を検出するための、デバイス100における低密度不混和性化合物102から構成される層の使用も開示され、前記デバイス100は：

- 試験がなされる試料(例えば、抗体又は抗原を含んでもよい)を受容することができる反応チャンバー104と;

- 分離マトリックス108を含んだ試薬を含む反応媒体106と

を含み、反応チャンバー104がデバイス100内の反応媒体106の上方に在り、反応チャンバ

10

20

30

40

50

- 104及び/又は反応媒体106が、分析物リガンドを含む試薬を任意選択で含むものであり；
下記のためである：

- 反応媒体106の試薬の蒸発、特にゲルカードのマイクロチューブ100内の上澄みの蒸発を防止すること；及び/又は
- 偽陰性又は不正確な結果をもたらす可能性がある、反応チャンパー104及び/又は反応媒体106の試薬(例えば、抗体又は抗原)の中和及び/又は消費を防止すること；及び/又は
- 試験で使用される試料(例えば、赤血球、抗体)及び試薬(例えば、抗体)と相互作用/干渉しないこと；及び/又は
- 特異性を変化させることなく、陽性反応の反応性を増強させること；及び/又は
- デバイスへの、試薬及び試験がなされる試料の分配を容易にし、特に、試薬(反応チャンパー104内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる試料の投入を反応チャンパー104内のどこにおいても可能にすること；及び/又は
- 分析プロセスの前に、反応媒体106の試薬を反応媒体106内に、特に反応媒体106の底部(デバイス100の底部であってもよい)に閉じ込め、それらが、衝撃又は反転の場合に反応チャンパー104内に拡がるのを防止すること；及び/又は
- 分析プロセス中、反応チャンパー104から反応媒体106(デバイス100の底部に在ってもよい)を通る、試薬(反応チャンパー104内にいくらか存在する場合)及び試験がなされる試料の通過を可能にすること；及び/又は
- 分析プロセス後、全ての試薬及び試験がなされる試料を反応媒体106中に閉じ込めること。

【0039】

分析物又は分析物/リガンド反応を「検出するためのデバイス」(又は「検出するためのキット」)とは、本明細書では、分析物又は分析物/リガンド反応をそれぞれ検出するのに使用するのに適切なデバイス(又は、それぞれキット)を意味する。特定の実施形態で、分析物又は分析物/リガンド反応を「検出するためのデバイス」(又は「検出するためのキット」)とは、本明細書では、分析物又は分析物/リガンド反応をそれぞれ検出するのに使用されるデバイス(又は、それぞれキット)を意味する。

【0040】

特に、本明細書に開示されるデバイスは、本明細書に開示される方法で使用するのに適切である。

【0041】

「a」又は「an」(例えば、「分析物(an analyte)」又は「分析物リガンド(an analyte ligand)」)とは、本明細書では、少なくとも1つ、即ち1つ又はいくつか(例えば、それぞれ、1つ若しくはいくつかの分析物、又は1つ若しくはいくつかの分析物リガンド)を意味する。

【0042】

「いくつか」とは、本明細書では、2、3、4、5、又は5超を意味する。

【0043】

「分析物/リガンド反応を検出する」とは、本明細書では、例えば本明細書に開示する方法を使用して、分析物/リガンド複合体の形成を検出することを意味する。

【0044】

図2に示される特定の実施形態では、本明細書に開示されるデバイス、方法、又は使用における反応チャンパー104は、分析物リガンドを含んでいる試薬(反応性媒体112とも呼ぶ)を含み、更に、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102から構成される層であって、前記試薬の上部に在り且つ前記試薬又は反応チャンパー104内に存在する任意の試薬を空気から分離する層を含む。したがってこの実施形態では、本明細書に開示されるデバイス100は、低密度不混和性化合物102の少なくとも2つの層であって、1つは、反応チャンパー104を反応媒体106から分離し、1つは、反応チャンパー104内に存在する分析物リガンドを含む試薬(又は、反応チャンパー104内に存在する任意の試薬)を空気から分離する(又は絶縁する)層を含有する。前記少なくとも2つの層は、同一又は全く異なる組成を有し

10

20

30

40

50

てもよい。実施形態では、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、反応チャンパー104内に試薬を包封する。

【0045】

低密度不混和性化合物102とは、反応チャンパー104内及び反応媒体106内に存在する、化合物又は化合物の混合物を混合しない(特に、全体として又は本質的に化合物若しくは化合物の混合物に不溶性であり、又は化合物若しくは化合物の混合物と均質な溶液を形成することができない)化合物、したがって、反応チャンパー104を反応媒体106から分離することが可能な(例えば、分離マトリックス又はゲル108)、且つ/又は反応チャンパー104内に存在する分析物リガンドを含む試薬(又は、反応チャンパー104に存在する任意の試薬)を空気から分離する(又は絶縁する)ことが可能な、個別の化合物としてデバイス100内に存在したままになる、化合物を意味する。特に、本明細書に開示されるデバイス100、方法、又は使用の前記低密度不混和性化合物102は、反応チャンパー104の密度よりも低い密度、及び反応媒体106の密度よりも低い密度を有する。

10

【0046】

図1に示す特定の実施形態では、本明細書に開示されるデバイス100、方法、又は使用における反応チャンパー104から反応媒体106を分離する低密度不混和性化合物102は、更に、空気からの反応媒体106の分離(又は、絶縁)を可能にする。

【0047】

「反応チャンパーの密度よりも低い密度」とは、本明細書に開示されるデバイス100、方法、又は使用の低密度不混和性化合物102の密度が、反応チャンパー104の全密度、即ち、分析物リガンド(例えば、抗原及び/又は抗体)を含んでもよい前記反応チャンパー104(任意の試薬を含む場合)の試薬の全ての密度と、分析物(例えば、抗体及び/又は抗原)を含むことができる、試験がなされる試料の密度との合計よりも、低いことを意味する。

20

【0048】

反応チャンパー104内の試薬と試料との混合物を、反応性媒体112と呼ぶ(図2及び実施例6参照)。

【0049】

一実施形態では、低密度不混和性化合物102は、反応性媒体112(例えば、試薬及び/又は試料)を包封する。

【0050】

「反応媒体の密度よりも低い密度」とは、本明細書に開示されるデバイス100、方法、又は使用の低密度不混和性化合物102の密度が、反応媒体106の全密度、即ち、前記反応媒体106の試薬の全ての密度(分離マトリックス108の密度を含む)と、いくらか存在する場合には、反応媒体106中に存在する分析物リガンドを含む試薬の密度、及びいくらか存在する場合には、反応媒体106中に存在する任意の追加の化合物(例えば、抗体及び/又は抗原)の密度との合計よりも低いことを意味する。

30

【0051】

一実施形態では、デバイス100、方法、又は使用は、本明細書に開示される通りであり、前記低密度不混和性化合物102は、反応チャンパー104の密度よりも低い密度、及び反応媒体106の密度よりも低い密度を有する。

40

【0052】

特定の実施形態において「不混和性」とは、本明細書では、水性又は極性溶媒(例えば、水)に不混和性であることを意味し、特に全体として又は本質的に、前記溶媒に不溶である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるデバイス、方法、又は使用の低密度不混和性化合物102は、疎水性である。特定の実施形態では、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、1未満の密度、より詳細には0.9、0.8、又は0.7未満の密度を有する。特に、そのような密度には0.7から0.9の間、より詳細には0.76から0.88の間が含まれる。

【0053】

物質の密度は、前記物質の体積質量と水の体積質量との間の比であり、前記質量は、圧

50

力及び温度の同じ条件で測定される。このパラメーターは、当業者に非常に周知である。

【0054】

一実施形態では、開示されるデバイス、方法、又は使用における前記低密度不混和性化合物102は、1未満の密度を有する。

【0055】

一実施形態では、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は空気ではなく、したがって、開示されるデバイス、方法、又は使用における低密度不混和性化合物102は、空気ではない。

【0056】

更に詳細に、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、油又はアルカンをベースにした化合物とすることができる。この化合物は：合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、液体パラフィン等のパラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、例えばステアリン酸、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン、オクタデカン、ノナデカン、エイコサン、又はヘネイコサン等のアルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択することができる。

10

【0057】

特定の実施形態では、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、組成物(又は低密度不混和性組成物)、例えば溶液の形態で提供される。前記組成物は、1種又はいくつかの油又はアルカンをベースにした化合物、又はそれらの混合物を含むことができる。例えば、前記組成物は：合成油、有機油、鉱油、パラフィン油、液体パラフィン等のパラフィン、無極性溶媒、脂肪酸、例えばステアリン酸、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン、オクタデカン、ノナデカン、エイコサン、又はヘネイコサン等のアルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、1種又は数種の化合物を含むことができる。

20

【0058】

特定の実施形態では、前記低密度不混和性化合物は更に、金属イオン、ホスフェート、及び増粘剤(例えば、ポリエチレングリコール;PEG)から選択される1種又は数種の成分を含む。

【0059】

特定の実施形態では、低密度不混和性化合物102は、ゲル化炭化水素を含む又はゲル化炭化水素からなる組成物の形態で提供される。

30

【0060】

「有機油」とは、例えばピーナツ油、菜種油、又はヒマシ油等の、動物又は植物油を意味する。

【0061】

「合成油」とは、人工的に作製された(合成された)化合物からなる任意の油を意味する。合成油の例は、シリコン油とすることができる。

【0062】

鉱油は、石油から得られる、本質的にパラフィン系及びナフテン系の性質の炭化水素の混合物、例えばC15からC40の間のアルカンの混合物と定義することができる。鉱油の例は、ナフテン油又はパラフィン油とすることができる。

40

【0063】

無極性溶媒油の例は、シクロデカンとすることができる。

【0064】

アルカンは、単結合により結合された水素及び炭素原子のみからなる(C_nH_{2n+2})飽和炭化水素である。アルカンは、水素結合を形成しない無極性分子であり、その結果、水等の極性溶媒に不溶である。

【0065】

本明細書に開示されるアルカンの例を、以下のTable 1(表1)に更に記載する。

【0066】

50

【表 1】

Table 1

名称	テトラデカン	ペンタデカン	ヘキサデカン	ヘプタデカン	オクタデカン	ノナデカン
分子式	C ₁₄ H ₃₀	C ₁₅ H ₃₂	C ₁₆ H ₃₄	C ₁₇ H ₃₆	C ₁₈ H ₃₈	C ₁₉ H ₄₀
特性構造式	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CH ₃	CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₃	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CH ₃	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ CH ₃	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CH ₃	CH ₃ (CH ₂) ₁₇ CH ₃
供給源	鉱物源(石油の蒸留物)					
融点(°C)	~ 5.5	8-10	17.5-18.5	20-22	26-29	30-34
密度	0.762	0.769	0.773	0.777	0.777	0.786

10

20

【0067】

一実施形態では、開示されるデバイス、方法、又は使用における前記低密度不混和性化合物102は：合成油、芳香族油、有機油、ナフテン油、鉱油、パラフィン油、液体パラフィン等のパラフィン、無極性溶媒、デカン、ウンデカン、ドデカン、トリデカン、テトラデカン、ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン、オクタデカン、ノナデカン等のアルカンの混合物及び純粋なアルカンから選択される、又はそれらから選択される1種又は数種の化合物を含む組成物の形態で提供される。

30

【0068】

更に詳細には、低密度不混和性化合物102は、室温で固体又は液体とすることができる。当業者なら、「室温」に何が包含されるか決定することができる。特定の実施形態では、18から25 の間に含まれる温度を意味する。

【0069】

一実施形態では、開示されたデバイス、方法、又は使用における低密度不混和性化合物102は、室温(例えば、18から25 の間)で液体である。

【0070】

例えば、この化合物は、アルカンがC15からC40 (Cは、アルカン中の炭素原子の数を指す)の間であるアルカンの混合物で、又はC15からC17の純粋なアルカンで作製することができる。

40

【0071】

例えば、この化合物は、アルカンがC15からC40、C15からC20、C16からC20、C17からC20、又はC18からC19の間である純粋なアルカンで作製することもできる。

【0072】

例えば、この化合物は、アルカンがC15からC20、C16からC20、C17からC20、又はC18からC19の間であるアルカンの混合物で作製することもできる。

【0073】

例えばこの化合物は、密度が0.82から0.88の間にあるC15からC40の間のアルカンの混合物、例えば密度が0.82から0.88の間にあるC15からC20、C16からC20、C17からC20、又はC1

50

8からC19の間のアルカンの混合物で作製することもできる。

【0074】

一実施形態では、開示されるデバイス、方法、又は使用における低密度不混和性化合物102は、室温(例えば、18から25の間)で固体である。

【0075】

例えば、この化合物は、C数が18よりも高い純粋なアルカンで作製することもできる。

【0076】

室温(例えば、18から25の間)で固体の低密度不混和性化合物102の場合、前記固体化合物は、熱により、化学的に、又は物理的に更に液化することができる。

【0077】

したがって一実施形態では、開示されたデバイス、方法、又は使用における固体化合物は、熱により、化学的に、又は物理的に更に液化することができる。

【0078】

固体化合物は、例えば、超音波によって物理的に液化することができる。

【0079】

固体化合物は、例えば試験が実行される最中にデバイスが37でインキュベートされる時、例えば温度を上昇させることにより熱で液化することができる。この実施例では、反応中に化合物は一時的に液体になるが、反応が終了したとき及びデバイスが室温に戻ったときに再び固体になる。

【0080】

オクタデカン(C₁₈H₃₈)及びノナデカン(C₁₉H₄₀)を、例えば引用することができる。

【0081】

固体化合物は、例えば、固体化合物の融解温度を室温よりも下に低下させ且つその結果固体化合物を例えば室温(特に、18から25の間)で液化する別の化合物を、試験が実行される直前に添加することによって化学的に液化することもできる。

【0082】

アルカンの融解温度は、C数と相関する。37でインキュベーション後に液化するようになる、室温で固体の低密度不混和性化合物を得るために、異なる融解温度を持つ異なる純粋なアルカンを混合することによって融解温度を+/-1で精密に設定することが可能である。

【0083】

例えば、デカン(C₁₀H₂₂) (融解温度=-30)をオクタデカン(融解温度=29)に添加することにより、混合物であるオクタデカン/デカンの融解温度を室温よりも下に低下させ、その結果、アルカン層が液化する。

【0084】

したがって、間接抗グロブリン試験又は抗体スクリーニング等のインキュベーションがなされる適用例では、例えば熱融解を考えることができ、化学融解は、直接抗グロブリン試験、型判定、表現型判定等、室温で実行される適用で考えることができる。

【0085】

その他の適用及び利点は、例えば、インキュベーションの制御並びにデバイスの保存温度の制御である。事実、固体状態から液体状態への、本明細書に開示される固体低密度不混和性化合物102の態様の変化によって、インキュベーションを行うのを制御し且つ温度を制御することが可能になる。或いは、例えば2~8で保存しなければならないデバイスでは、固体状態から液体状態への固体低密度不混和性化合物の変化は、反応が実行された後に、試薬が室温に達したことを示すことになる。

【0086】

本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の量は、反応媒体を覆うのに十分であり、したがって反応媒体を反応チャンバーから全体的に分離する。したがってそのような量は、特定のデバイスに応じて可変になる。例えば、その量は150から200µLの間にあることができる。その量は、特にデバイスがゲルカードを使用するとき、少なくとも3µL、

10

20

30

40

50

好ましくは5から50 μ Lにすることもできる。

【0087】

前述のように、開示されたデバイスは、反応チャンバー104及び反応媒体106を含む。特定の実施形態で、「反応チャンバー104は反応媒体106の上方に在る」とは、本明細書では、反応チャンバー104がデバイス100の上部にあり且つ反応媒体106がデバイス100の底部にあることを意味する。

【0088】

反応チャンバー104は、試験がなされる試料を受容することができ、分析物リガンドを含む試薬を含み又は受容してもよい。試験がなされる試料は、好ましくは、任意の適切な緩衝剤及び/又は希釈剤を使用して希釈することができる生体試料である。

10

【0089】

例えば前記試料は、生物流体、特に血液(例えば、全血)、血液誘導体(例えば、血漿又は血清)、又は尿、脳脊髄液、唾液、又は細胞(例えば、赤血球(erythrocytes))、又はこれらの混合物を含むことができ又はこれらからなることができる。

【0090】

特定の実施形態では、試験がなされる試料は、全血、血清、血漿、及び/又は赤血球(erythrocytes)(赤血球(red blood cells)とも呼ぶ)を含み又はこれらからなる。

【0091】

試料中の、検出される分析物は、任意のタイプの化合物であって、天然、組換え、又は合成のものにすることができる。例えばタンパク質(例えば、未変性のタンパク質、その断片、又は組換えタンパク質)、ペプチド(例えば、合成ペプチド)、糖タンパク質、グルコシド、脂質、細胞、細胞小器官、ウイルス、又は核酸とすることができる。

20

【0092】

試料中の、検出される分析物は、例えば、細菌、真菌、酵母、又は寄生虫とすることができる。

【0093】

試料中の、検出される分析物は、例えば、抗原、抗体、ハプテン、ホルモン、ホルモン受容体、酵素、及びこれらの断片からなる群から選択することができる。

【0094】

特定の実施形態では、検出される分析物は核酸ではない。

30

【0095】

特定の実施形態では、検出される分析物は、抗体及び/又は抗原であり、又は抗体及び/抗原を含む。

【0096】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるデバイス、方法、及び使用は、抗体-抗原反応を検出するためのものである。

【0097】

特定の実施形態では、検出される分析物(例えば、抗体及び/又は抗原)は、試料中の担体に結合することができ、特に細胞、例えば赤血球(erythrocytes)に結合することができる。

40

【0098】

「分析物リガンド」(又は「リガンド」)とは、本明細書では、検出される分析物、例えば抗原及び/又は抗体に結合することができる任意の化合物を意味する。

【0099】

特定の実施形態では、前記分析物リガンドは、検出される分析物に特異的に結合する。

【0100】

「抗原」とは、本明細書では、天然の、組換えの、又は合成の抗原を意味する。前記抗原は、例えば、タンパク質(例えば、未変性のタンパク質、その断片、又は組換えタンパク質)、ペプチド(例えば、合成ペプチド)、糖タンパク質、グルコシド、又は脂質、又はこれらの断片とすることができる。

50

【0101】

「抗体」とは、本明細書では、モノクローナル抗体若しくはポリクローナル抗体、又はこれらの断片を意味する。

【0102】

特定の実施形態では、前記抗体は、試料中の検出される分析物を特に対象とする(即ち、特異的に結合する)。

【0103】

特定の実施形態では、前記抗体は、血液型抗原、例えばABO血液型抗原を対象とし、特に特異的に対象とする(即ち、特異的に結合する)。

【0104】

特定の実施形態では、分析物リガンド又は分析物リガンドの1つは、抗原及び/又は抗体として使用される免疫グロブリン又はミモトープである。

【0105】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるように使用される分析物リガンドは、核酸ではない。

【0106】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるように使用される分析物リガンド(例えば、抗体及び/又は抗原)の1つ又はいくつかは、担体(本明細書に記載される)に結合され、特に細胞、例えば赤血球(erythrocytes)に結合される。

【0107】

例えばデバイスの底部に在ってもよい反応媒体106は、試薬を含む。

【0108】

前記試薬は、分離マトリックス108を含む。特定の実施形態では、反応媒体106は更に、分析物リガンドを含む試薬を含む。

【0109】

特定の実施形態では、前記反応媒体106は、追加の化合物、例えば1種又は数種の抗体(特に、抗ヒト抗体、例えば抗ヒトグロブリン(AHG))及び/又は抗原を含む。一実施形態では、開示されるデバイス、方法、又は使用の反応媒体106は、分離マトリックス108と1種又は数種の抗体及び/又は抗原とを含んだ試薬を含む。

【0110】

本明細書に開示される低密度不混和性化合物102なしに、分析物/リガンド反応、特に抗原/抗体反応を検出するためのデバイスは、当業者に周知であり、市販されている。

【0111】

そのような種類のデバイスは、参照によりその内容が組み込まれる米国特許第5460940号、米国特許第5512432号、又は欧州特許第0305337号に記載されている。

【0112】

一実施形態では、分析物リガンドが結合する担体は、例えば色、同位体、蛍光、又は酵素によって、着色されており又はタグ付けされている。

【0113】

担体は、赤血球(erythrocytes)、白血球、若しくは血小板、又は細胞由来小胞、細胞微粒粒子、ウイルス様粒子、若しくはリポソーム等の生体粒子細胞、又はラテックス若しくは金ビーズ等の合成粒子からなることができる。

【0114】

本明細書に記載される分離マトリックス108(したがって、反応媒体106)は、本明細書に開示される重力及び/又は遠心力の作用によって、試料、又は試料と分析物リガンドとの混合物が、(i)分析物/リガンド複合体が形成される場合には分離マトリックス108の上又は内部に保持されることになり、或いは(ii)そのような複合体がない場合には分離マトリックス108の下に沈降するように、篩い効果をもたらす任意のマトリックスとすることができる。

【0115】

10

20

30

40

50

分離マトリックス108は、好ましくは不活性マトリックスであり、より好ましくは不活性粒状マトリックスである。「不活性」という用語は、マトリックスが、検出される分析物又は分析物リガンドとの非特異的反応に進行してはならないことを意味することを意図する。

【0116】

液体若しくはガスクロマトグラフィ用、又はゲルカード用に市販されている不活性多孔質粒子を使用することができる。多孔質ガラス又はシリカゲルも考慮に入れる。当業者なら、簡単な予備実験を用いて、本明細書に開示される分離マトリックス108として粒子を使用できるか決定することができる。

【0117】

本明細書に記載される分離マトリックス108は、スラリー又は懸濁体又は粒子のメッシュ又は任意の固体の網状構造、例えばセルロース等とすることができる。デバイス100の分離マトリックス108は、例えば、アクリルアミド、又はデキストラン、又はガラス微粒子(例えば、ガラスビーズ)のポリマーとすることができる。

【0118】

分析物リガンドとして使用される抗体(例えば、抗原を検出するため)は、炭水化物、血球からのタンパク質(例えば、血液型抗原)、ウイルス、細菌、真菌、酵母、寄生虫を対象とすることができる。

【0119】

分析物リガンドとして使用される抗原(例えば、抗体を検出するため)は、血液、血清、又は血漿等の体液の成分、例えば血液型抗原、特にABO血液型抗原、又はそれらの断片、又はそれらから誘導された組換えタンパク質とすることができる。

【0120】

更に詳細には、方法の一実施形態において、反応媒体106(例えば、分離マトリックス108)を覆う低密度不混和性化合物102は、試料及び試薬がデバイス100に添加された場合に、低密度不混和性化合物102と反応チャンバー104内の試薬及び試料の間に空隙を維持する必要性をなくす。

【0121】

一実施形態では、本明細書に開示されるデバイス100は、特に開示される方法でデバイス100を使用する場合、反応チャンバー104と反応媒体106との間にいかなる空隙も含まない。より詳細には、デバイスは、特に開示される方法でデバイス100が使用される場合、低密度不混和性化合物102と反応媒体106との間にいかなる空隙も含まない。

【0122】

一実施形態では、開示されるデバイス、方法、又は使用のデバイス100は、反応チャンバー104と反応媒体106との間にいかなる空隙も含まない。

【0123】

特定の実施形態では、開示されるデバイス、方法、又は使用のデバイス100は、低密度不混和性化合物102と反応媒体106との間にいかなる空隙も含まない。

【0124】

デバイスは、従来技術のデバイスと比べた場合、前記空隙が技術的に実現し難くしたがって本明細書に開示されるデバイスの堅牢性の改善をもたらすという、特定の利点をもたらす。

【0125】

前述のように、試料中の分析物を検出するためのデバイス、特に分析物/リガンド反応を検出するためのデバイスは、当技術分野で周知である。例えば、96、392、又は1536ウェル等のマイクロチューブを含有するマイクロプレート等のイムノアッセイ、カラム凝集技術デバイス、例えばゲルカード、特にゲル血液型判定カード、又は粒子ゲルイムノアッセイ(例えば、PaGIA又はID-PaGIA)試験デバイスとすることができる。

【0126】

したがって一実施形態では、開示されるデバイスは、96、392、又は1536ウェル等のマ

10

20

30

40

50

マイクロチューブを含有するマイクロプレート等のイムノアッセイ、カラム凝集技術デバイス、例えばゲルカード、特にゲル血液型判定カード、又はID-PaGIA試験デバイスである。

【0127】

その結果、特定の実施形態では、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の使用によって、診断又は免疫診断デバイス(免疫血液学分析デバイスを含む)、特にゲルカードを最適化することが可能になる。

【0128】

加えて、低密度不混和性化合物102は、抗ヒトグロブリンを用いる試験での「中和現象」を防止する。

【0129】

中和現象は、本明細書では、偽陰性の結果又は不正確な結果をもたらす(実施例3参照)、試薬と抗ヒトグロブリンとの相互作用を指す。

【0130】

低密度不混和性化合物102は、マイクロチューブへの、少ない体積(例えば、10から100 μ L)の手動/自動化投入も容易にする(実施例6参照)。特に、低密度不混和性化合物102は、試薬及び試験がなされる試料の投入を、反応チャンバー104のどこにおいても又は低密度不混和性化合物102のどこにおいても可能にし、それが投入操作を大幅に単純化する。

【0131】

更に、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、室温(例えば、18~25)で固体の形態をとり、前記化合物は、マイクロチューブのキャップの型を形成する。試験の開始時に、デバイスを化合物の融点にすることによって化合物を液化し、試験中に、マイクロチューブ100に添加される試料(例えば、赤血球の試料)がマイクロチューブ100内のゲルと接触するのを可能にする。反応後(特に、遠心分離後)、ゲルカードが確実に試験で使用されるよう、化合物を再凝固させることができる(このことは、使用されるゲルカードを保存しなければならず且つ試験後に廃棄してはならない場合に有用である)。低密度不混和性化合物102の融解は、例えば、遠心分離を行うようプラットフォームに位置付けられた加熱ゾーンを通して行ってもよい。

【0132】

或いは、固体化合物は、例えば弱い不混和性密度の2種の化合物:室温で固体であり、融点が例えば30~34 程度で、マイクロチューブ内で栓として働く第1の化合物と、室温で液体であり、第1の化合物に注がれたときに液化するような融点を有する第2の化合物とを使用することにより、温度上昇なしで液化することができる。

【0133】

その結果、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、分析プロセスの前に、試薬をマイクロチューブ(反応媒体106)に閉じ込めることによって、したがって試薬がマイクロチューブ100から反応チャンバー104に出るのを防止することによって、ゲルカードの輸送を確実にする。

【0134】

最後に、低密度不混和性化合物102は、分析プロセスの後、試薬又は試料を反応チャンバー104に閉じ込めることにより、カードで使用者が汚染物質に曝されるのを確実に防止する。

【0135】

一実施形態では、本明細書に開示されるデバイスは、前記ゲルカードのマイクロチューブ100の1つ又はいくつか、前記マイクロチューブ内の反応媒体106の上方(即ち、ゲル108及び上澄み110の上方)に在る本明細書に開示される低密度不混和性化合物102から構成される層を含むことを特徴とする、ゲルカードである。前記デバイス100は、本明細書に開示される方法を実施するのに使用することができる。

【0136】

異なるタイプの分析物/リガンド反応は、本明細書に開示されるデバイス100によって検出することができる。例えば、免疫血液学的分析物/リガンド反応、特に免疫血液学的抗

10

20

30

40

50

原/抗体反応とすることができ、詳細には、直接抗グロブリン試験若しくは間接抗グロブリン試験等の抗ヒトグロブリンを使用した試験、又はABO式正規及び逆判定法等の試験とすることができる。これらの例の全ては、当業者に周知である。

【0137】

したがって一実施形態では、分析物/リガンド反応、特に抗原/抗体反応は、免疫血液学的抗原/抗体反応であり、特に、抗ヒトグロブリンを使用した試験又はABO正規及び逆判定法等の試験である。

【0138】

本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の前述の利点の全てに加え、本発明者等は更に、前記化合物が分析物とリガンドとの間、特に抗原と抗体との間の反応性を改善することを示してきた。実施例5を参照されたい。

10

【0139】

まとめると、本発明による低密度不混和性化合物102は、下記を可能にする：

- 蒸発、ゲル乾燥の防止:保存寿命の増大、開放/穿刺後の安定性の増大:機器上の「ウェルごと」の管理の改善、コスト削減のための封止制約の低減、針穿刺を実施するための箔の凝固性の低減、及び手動開放、読取りの遅延を容易にすること；
- 空隙に対する堅牢性の増大:空隙チェック工程を取り除くことによる処理量の増大；
- 反応性の増強:性能の改善；
- 輸送劣化の防止:特に、開放/穿刺時の汚染リスクの低減；
- 試薬及び試料を反応媒体106内に閉じ込めること；加工後にデバイス100が確実に試薬(20
- デバイスに応じて:投入を容易にすること:投入制約の低減:処理量を増大させるための投入速度の増大、投入された体積の制御。

20

【0140】

一実施形態では、試料中の分析物を検出するための、特に分析物/リガンド反応(特に、抗原/抗体反応)を検出するためのキットであって、本明細書に開示されるデバイス及び任意選択で添付文書を含むキットが、更に提供される。

【0141】

別の実施形態では、試料中の分析物を検出するための、特に分析物/リガンド反応を検出するためのキットであって：

30

- 試験がなされる試料を受容することができる反応チャンバー104と、分離マトリックス108を含んだ試薬を含む反応媒体106とを含み、反応チャンバー104が、デバイス100内の反応媒体106の上方に在り、任意選択で、反応チャンバー104及び/又は反応媒体106が、本明細書に記載される分析物リガンドを含む試薬を含む、デバイス100と；
- 本明細書に記載される低密度不混和性化合物102と；
- 任意選択で、分析物リガンドを含む試薬と；
- 任意選択で、抗体及び/又は抗原とを含むキットが提供される。

【0142】

更なる実施形態では、試料中の分析物を検出するための、特に分析物/リガンド反応を検出するためのキットであって：

40

- 本明細書に記載される反応媒体106及び反応チャンバー104を含み、反応チャンバー104が、デバイス100内の反応媒体106の上方に在り、任意選択で、反応チャンバー104及び/又は反応媒体106が、本明細書に記載される分析物リガンドを含む試薬を含む、デバイス100と；
- 分離マトリックス108を含む試薬と；
- 本明細書に記載される低密度不混和性化合物102と；
- 任意選択で、分析物リガンドを含む試薬と；
- 任意選択で、抗体及び/又は抗原とを含むキットが提供される。

50

【 0 1 4 3 】

本明細書に開示されるキットは、本明細書に開示される方法を実施するのに使用することができる。

【 0 1 4 4 】

開示されるデバイス、方法、使用、及びキットを、以下の実施例によって更に例示する。

【実施例】

【 0 1 4 5 】

(実施例1)

生体適合性の試験

10

この実験の目的は、間接抗グロブリン試験において、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の、生体成分(赤血球(erythrocytes)、抗体、緩衝剤等)との適合性を示すことであった。

【 0 1 4 6 】

方法

2種の試料(陽性の、弱いモノクローナル抗体抗RH4と、陰性の、抗RBC抗体がない血清又は血漿)を、ID-Diluent 2中1%に希釈した凍結R1r細胞のプールに対し、抗IgGカードに関して間接抗グロブリン試験で試験をした:

- 油なし:Ctrl (=対照);
- 5 μ Lの油あり(白色鉱油; CAS# 8042-47-5);
- 10 μ Lの油あり(白色鉱油; CAS# 8042-47-5)。

20

【 0 1 4 7 】

結果

結果を図3に提示する。

【 0 1 4 8 】

鉱油を含有するマイクロチューブでは、反応性についても溶血性についても、陽性及び陰性の両方の試料に関してCtrlマイクロチューブに比べて有意な差が観察されなかった。その不混和特性に起因して、鉱油は、上澄み(例えば、抗体を含有する試薬)、赤色細胞(red cells) (例えば、赤血球(red blood cell)膜リン脂質二重層)、及び全てが水性塩基を含有する試料と相互作用しなかった。したがって、Ctrlと比べ、鉱油と試薬又は試料との間に有意な相互作用は観察されなかった。

30

【 0 1 4 9 】

(実施例2)

蒸発の試験

この実験の目的は、上澄みの蒸発及びゲルの乾燥を防止する、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の能力を示すことであった。

【 0 1 5 0 】

方法

油(白色鉱油; CAS# 8042-47-5)3 μ L、4 μ L、5 μ L、及び10 μ Lを、抗IgGカードのマイクロチューブに添加した。このカードを、開放して56 で保存した。上澄みの損失を、下記のTable 2(表2)に記載されるグレードを使用して、Ctrlウェル(油なし)と比較して視覚的に評価した。

40

【 0 1 5 1 】

【表 2】

Table 2

観察された効果	グレード
上澄みの蒸発なし、ゲルの乾燥なし	-
上澄みの部分蒸発、ゲルの乾燥なし	+
上澄みの全蒸発、ゲルの乾燥なし	++
上澄みの全蒸発、ゲルの部分乾燥	+++
上澄みの全蒸発、ゲルの全乾燥	++++

10

【0152】

結果

結果を図4に提示する。

【0153】

対照ウェルでは、56 で未封止のカードを4時間保存した後、上澄みは全体が蒸発しゲルは全体が乾燥した。上澄みの蒸発もゲルの乾燥も、本明細書に開示された低密度不混和性化合物3、4、5、及び10 μ Lでは観察されなかった。上澄みの蒸発を防止することにより、本明細書に開示される低密度不混和性化合物は、カードの実時間安定性及び機器上での搭載安定性を増大するのに使用することができた。蒸発を防止することにより、本明細書に開示される低密度不混和性化合物は、凝縮を回避し、カードのアルミ箔上の上澄みの液滴及び/又は凝縮液滴によるRBCの溶血性に起因した開放/穿刺時の汚染のリスクを低減させる。本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の使用は、ゲルカードの製造中の、デバイスの封止の工業的制約を低減させることができた。L-DIC 102は蒸発を防止するので、デバイスを封止するのに使用される箔の厚さを減少させることができ、箔をデバイスに取付けるのに必要とされる接着剤の量を低減させることができた。

20

【0154】

(実施例3)

空隙に対する中和-堅牢性の試験

この実験の目的は、間接抗グロブリン試験で空隙に関する堅牢性を増大させる、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の能力を示すことであった。

30

【0155】

方法

弱い抗RH4を、製品の使用の適応に従って、R1r細胞に対し、ID-Card LISS/COOMBS (抗IgG/-C3d)に関する間接抗グロブリン試験で試験をした:

- 油なし(Ctrl)、及び5 μ Lの油(白色鉱油; CAS# 8042-47-5)あり;
- 空隙あり及びなし。

【0156】

結果

結果を図5に提示する。

【0157】

空隙がないと、弱い抗RH4は、37 でインキュベーション中に抗ヒトグロブリンによって消費され、2+反応の代わりに陰性反応を誘発させた(Ctrl)。空隙がないが5 μ Lの油があると、弱い抗RH4抗体の反応性は、予測通りに2+を保持した。反応性媒体をAHGから単離することにより、油は、インキュベーション中にAHGによって抗体(試薬)が消費されるのを防止する。更に、油は、ゲルの上部の反応性を増大させる。

40

【0158】

本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、間接抗グロブリン試験中に任意選択の空隙を作製することによって堅牢性を増大させた。L-DICの使用は、逆の投入も可能にする(赤血球の前に、反応チャンバー内に血漿が投入される)。L-DICなしでは、AHGの中和は、血漿が赤血球の前に反応チャンバー内に投入されると典型的に大きくなる。

50

【0159】

(実施例4)

ゲル/上澄みの完全性の試験

この実験の目的は、輸送に関する堅牢性を増大させる、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の能力を示すことであった。

【0160】

方法

ゲル及び上澄みを含有するカードに、本明細書に開示される固体又は液体の低密度不混和性化合物102(それぞれ、オクタデカン(CAS#: 593-45-3)5 μ L及び白色鉱油(CAS# 8042-47-5)5 μ L)を満たし、Ctrlウェル(本明細書に開示される低密度不混和性化合物は添加されていない)と比較した。

10

【0161】

生成されたカードを、輸送状態をシミュレートするために手動で振盪させた(Ctrlウェルが全崩壊するまで)。

【0162】

次いでカードをID-Centrifuge(Bio-Rad Laboratories社)で遠心分離し、カードの再組織化能力について視覚的に調査した。

【0163】

結果

結果を図6に提示する。

20

【0164】

輸送状態をシミュレートするため手動で振盪させた後、Ctrlマイクロチューブは、遠心分離後に正確に再組織化されず(泡、ゲルが、マイクロチューブの上部等に存在したままである)、それに対して本明細書に開示される固体又は液体低密度不混和性化合物を持つゲルは、振盪後もそれほど崩壊しておらず、その結果、遠心分離後に正確に再組織化されて、使用に適した元のデバイスを作製した。

【0165】

その結果、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102は、カードの劣化を緩和し、輸送に関する堅牢性を増大させることを示した。

【0166】

(実施例5)

特異性の劣化なしでの反応性の増強

この実験の目的は、Aweak及びOドナーの試料でのABD性能に対する特異性の劣化なしに反応性を増大させる、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の能力を示すことであった。

【0167】

方法

「患者用DiaClon ABD-Confirmation card」ID-カードを、下記のプロトコルに従い修正した：

- 「REF」：マイクロチューブ1、2、及び3には油を添加しない。
- 「油」：5 μ Lの油(白色鉱油；CAS# 8042-47-5)をマイクロチューブ4、5、及び6に添加する。
- Table 3(表3)で述べるように進行する前に、ID-Centrifuge(Bio-Rad Laboratories社)でカードを遠心分離する。

40

【0168】

【表3】

Table 3

A	B	D	A	B	D
REF	REF	REF	+ 5 μ L の油	+ 5 μ L の油	+ 5 μ L の油

【0169】

12個のAweak試料及び20個のEDTAドナーO型試料を、これらのカードに関して下記の通り試験をした： 10

- 500 μ LのID-Diluent 2(5%懸濁液)中にパックされたPBC 25 μ Lを希釈する；
- 各マイクロチューブ内に5% RBC懸濁液12.5 μ Lを投入する；
- 85g (ID-centrifuge)で10分間遠心分離する；
- 反応を読み取り記録する。

【0170】

結果

結果を図7に提示する。

【0171】

弱A試料の反応性に対し、油があるとき及び油がないときで、有意な($p=0.181$)差は観察されなかった。その結果、油の層は、抗A反応性に影響を及ぼさなかった。それにも関わらず、油の層が添加された抗Dウェルは、系統的により強く反応することが観察された。油の層は僅かに、しかし有意に($P=0.000$)、DVI+反応性を増大させた。 20

【0172】

更に、油は試験の特異性に影響を及ぼさなかった(非特異的反応は、O型のEDTAドナー試料($n=20$)で観察されなかった)。

【0173】

(実施例6)

投入の促進

目的は、反応チャンバー104への試薬及び試料のピペット操作を容易にする、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の能力を示すことであった。 30

【0174】

方法

カードの生成

ID-Cards LISS/COOMBSカードを開放し、下記のプロトコルに従って修正した：

- マイクロチューブ1及び2:油は添加せず(Ctrl)；
- マイクロチューブ3及び4:油5 μ L (白色鉱油；CAS# 8042-47-5)を添加する；
- マイクロチューブ5及び6:油50 μ Lを添加する。

【0175】

次いでカードをID-centrifuge (Bio-Rad Laboratories社)で遠心分離した(図8参照)。 40

【0176】

陽性(弱い抗RH4は2+反応をもたらす)及び陰性(抗RBC抗体を持たないAB型からの血清又は血漿)試料を、これらのカードに関して下記の通り試験をした：

- 50 μ Lの1% RBC懸濁液；
- 25 μ Lの陽性又は陰性試料；
- 37 °Cで15分間インキュベートする；
- 85gで10分間遠心分離する；
- 反応を読み取る。

【0177】

結果

50

1% RBC懸濁液50 μ L及び試料(「反応性媒体」)25 μ Lを、マイクロチューブの円筒部の直上の油(50 μ L)中に捕捉した。油は、反応性媒体112を球状立体構造に維持し、この構成は、カードの移動及び/又はインキュベーション中であっても安定なままであった。

【0178】

結果を図9に示す。

【0179】

実験的に、50 μ Lの液体低密度不混和性化合物102は、反応チャンバーへの低体積の投入を容易にすることが観察された。低密度不混和性化合物102がないと、低体積の反応性媒体112が投入チップに粘着することになる。投入機の操作者が、典型的には、反応性媒体112の液滴に触れて、液滴を反応チャンバー104に添加するのを支援する。自動化投入機を使用する場合、小滴が投入チップに接着するのを防止するため、投入速度を増大させ、支持体をイオン化して(例えば、イオンを支持体表面に噴霧する)支持体表面の反発性電荷を中和することにより、液滴を放出する。この実施例では、低密度不混和性化合物102が、投入された反応性媒体112を、低密度不混和性化合物102内の球状立体構造に閉じ込め、したがって反応性媒体112は投入デバイスに接着しなかった。この性質は、10 μ L程度の低体積の自動化投入を容易にし、支持体をイオン化する必要性又は低速投入の使用の必要性を回避する。

10

【0180】

本明細書に開示される固体低密度不混和性化合物を使用することにより、反応性媒体112(試薬、緩衝剤、及び細胞)をマイクロチューブ100内に包封して、カードの輸送及び/又はインキュベーション中に安定なままの、「予備投入される」カードの製造を可能にする。

20

【0181】

(実施例7)

本明細書に開示される低密度不混和性化合物の熱依存性モジュラカバープレート

目的は、温度に応じて液体から固体又は固体から液体に相を変化させることができる、「モジュラカバープレート」(例えば、ゲルカードのマイクロチューブを覆う層)として働く本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の能力を、実証することであった。

【0182】

方法

ID-Cards LISS/COOMBSを開放し、下記のプロトコルに従って修正した:

- カード1: - マイクロチューブ1及び2: 油は添加せず(Ctrl)
 - マイクロチューブ3及び4: 白色鉱油(CAS# 8042-47-5) 5 μ L;
 - マイクロチューブ5及び6: オクタデカン(CAS# 593-45-3) 5 μ L。
 カード2: - マイクロチューブ1及び2: ノナデカン(CAS# 629-92-5) 5 μ L。

30

【0183】

オクタデカン及びノナデカンを予備的にインキュベートし予熱して、液体形態を得た。次いでカードを、ID-centrifuge (Bio-Rad Laboratories社)で遠心分離した。

【0184】

陽性(弱い抗RH4は2+反応をもたらす)及び陰性(抗RBC抗体を持たないAB型からの血清又は血漿)試料を、これらのカードに関して下記の通り試験をした:

- 50 μ Lの1% RBC懸濁液;
- 25 μ Lの陽性又は陰性試料;
- 37 で15分間インキュベートする;
- 85gで10分間遠心分離する;
- 反応を読み取る。

40

【0185】

結果

結果を図10及び図11に提示する。

【0186】

50

陰性対照は、予測通り、5 μ Lの白色鉱油、5 μ Lのオクタデカン、及び5 μ Lのノナデカンと反応した。

【0187】

弱い抗RH4は、5 μ Lの白色鉱油、5 μ Lのオクタデカン、及び5 μ Lのノナデカンに対し、後者の2種の予備インキュベーションにも関わらず、予測通り反応した。

【0188】

温度に応じて相を変化させることができる「モジュラカバープレート」の実現可能性が、実証された。オクタデカン及びノナデカンを、マイクロチューブを封止するのに使用した。IATの37 でのインキュベーションプロセス中、これらの成分は液体になり、赤血球を遠心分離させた。

10

【0189】

(実施例8)

本明細書に開示される低密度不混和性化合物の、化学的に依存性のあるモジュラカバープレート

目的は、温度のいかなる変化もなしに相を変化させる、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の能力を示すことであり、したがって、直接抗グロブリン試験及び表現型検査等の室温アッセイで使用される、低密度不混和性化合物102の能力を示すことである。

【0190】

方法

20

オクタデカン(CAS# 593-45-3)の融解温度は：26～29 であり、デカン(CAS# 124-18-5)の融解温度は-30 である。

【0191】

ID-Card LISS/COOMBSに、5 μ Lのオクタデカンを満たし、次いで5 μ Lのデカンをカードに添加し、カードを分毎に読み取った(図10参照)。

【0192】

デカン(T_m =-30)をオクタデカン(T_m =29)に添加することにより、混合物であるオクタデカン/デカンの融解温度を室温よりも下に低下させ、その結果、アルカン層を液化した。

【0193】

固体オクタデカン層は、約4分で液化した。

30

【0194】

結果

DATにおけるアルカンの試験

3つの品質管理試料(DAT陰性、IgG-感作、及びC3-感作RBC)を、製品の使用の適用に従って、直接抗グロブリン試験においてID-Cards LISS/COOMBSで試験をした：

- 「Ref」：アルカンのないウェル；
- 「5 μ L octa」：マイクロチューブ内に5 μ Lのオクタデカン；
- 「5 μ L octa + 5 μ L deca」：マイクロチューブ内に5 μ Lのオクタデカン+5 μ Lのデカン。

40

【0195】

デカンの投入と試料の投入との間で、異なる室温-インキュベーション持続時間を試験した：

- 5分；
- 10分。

【0196】

結果を図13に示す。

【0197】

5分及び10分の室温でのインキュベーションでは、5 μ Lのオクタデカン+5 μ Lのデカンの結果は参照に等しかった。

50

【 0 1 9 8 】

逆判定におけるアルカンの試験

2つのEDTAドナーの試料(AB型及びO型)を、製品の使用の適用に従って、逆判定においてID-Cards NaCl、酵素、及び寒冷凝集素に対し、A1、B、及びO赤血球で試験をした:

- 「Ref」:アルカンのないウェル;
- 「5 μ L octa」:マイクロチューブ内に5 μ Lのオクタデカン;
- 「5 μ L octa + 5 μ L deca」:マイクロチューブ内に5 μ Lのオクタデカン+5 μ Lのデカン;

逆判定法に必要な、10分間の室温でのインキュベーションを、オクタデカン層の融解に使用した。

10

【 0 1 9 9 】

結果を図14に示す。

【 0 2 0 0 】

5 μ Lのオクタデカン+5 μ Lのデカンによる結果は、参照に等しかった。

【 0 2 0 1 】

その結果、デカン($T_m=-30$)をオクタデカン($T_m=29$)に添加することにより、混合物であるオクタデカン/デカンの融解温度を室温よりも下に低下させ、その結果、アルカン層を液化した。

【 0 2 0 2 】

(実施例9)

20

ID-HbS(ヘモグロビンS)カードに対する本明細書に開示された低密度不混和性化合物の効果

目的は、ID-HbSカードに対する本明細書に開示された低密度不混和性化合物102の効果の評価することであった(市販の試験)。

【 0 2 0 3 】

材料

試薬(以下のTable 4(表4)参照)

【 0 2 0 4 】

【表4】

30

Table 4

薬剤名	Lot
白色鉱油	CAS# 8042-47-5
ID-Card "ID-HbS" Sickle Cell	Test 50610.10.01
ID-HbS 還元剤 凍結乾燥済み	04170.57.11
Dia cell I "Sickle Cell" brazil	16113 HBS8
Dia cell II "Sickle Cell" brazil	16123 HBS8
ID Diluent 2	05761.50.20

40

【 0 2 0 5 】

血液試料(以下のTable 5(表5)参照)

【 0 2 0 6 】

【表5】

Table 5

N°	バーコード	N°	バーコード
1	206378502	6	206381101
2	206379303	7	3014161602
3	206379402	8	206376202
4	3014086502	9	206380502
5	206375003	10	3014162401

10

【0207】

機器(以下のTable 6(表6)参照)

【0208】

【表6】

Table 6

機器	シリアル番号
ID- Reader Saxo	Bio-Rad N° 3042
Leica Microscope	Bio-Rad N° 4223

20

【0209】

方法

カードの調製:

ID-Card「ID-HbS」Sickle Cell試験は、5 μ Lの鉱油(Sigma M8410)を添加することによって調製した:油を、Multipette Eppendorfで投入し、カードを後で30分以内に使用し、試験前に遠心分離は行わなかった。

【0210】

カードの試験(ID-Card「ID-HbS」Sickle Cell試験):

10名のEDTA患者、及び2つの鎌状細胞陽性試料を、下記に関して試験をした:

- 油なしのID-Card「ID-HbS」Sickle Cell試験(「REF」)
- 5 μ Lの油を含むID-Card「ID-HbS」Sickle Cell試験(「油」)
- 使用液を、脱イオン水10mLを凍結乾燥した還元剤に添加し、粉末が溶解するまで穏やかに攪拌することによって調製した(使用液は、調製後2時間以内に使用した)。
- 各試料ごとに: 使用液200 μ Lをガラス管にピペット分取し、パックされたRBC 10 μ Lをすぐに添加し、穏やかに攪拌した:色が赤色から「ワイン色」に変化した;
- 管を室温で2~10分間インキュベートした。
- 細胞を穏やかに再懸濁し、20 μ Lをマイクロチューブにピペット分取した。
- 85gで10分間の遠心分離(ID-centrifuge)を行った。
- 反応(Saxo reader)を読み取り、記録した。

30

40

【0211】

結果

結果を図15に示す。

【0212】

陽性の結果が、油を含むカードで得られ、油を持たないカードよりも僅かに良好に見えた。油がある場合、反応は4-で示され、油がない場合は3+で示され、共に二重個体群であった。

【0213】

陰性の結果は、両方のカード(油があるもの、又は油がないもの)で類似していた。

【0214】

50

油に起因した偽陽性はなかった。

【 0 2 1 5 】

(実施例10)

本明細書に開示される低密度不混和性化合物の、PaGIA試験に対する効果

目的は、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の、PaGIAへの添加が、ID-PaGIA IgA欠損、抗IgA抗体、及び梅毒試験の性能(感受性及び特異性)に影響を及ぼすか否かを評価することであった。

【 0 2 1 6 】

材料:

- 白色鉱油: CAS# 8042-47-5

10

抗IgA試験:

- ID-PaGIA抗IgA Ab試験KIT - ref 020601V (ロット458601701) (陽性及び陰性対照を含む)

- 陽性抗IgA試料: Berlin 054希釈液1/1 ~ 1/128

- 陽性抗IgA試料: SRK Bern 7702希釈液1/1 ~ 1/16

- 陰性抗IgA試料: SRK 06.11.14 No 9991 - 9996

IgA欠損試験

- ID-PaGIA IgA欠損試験KIT - ref 020701V (ロット45940.14.01) (陽性及び陰性対照を含む)

- 陽性IgA欠損試料: NO 2922 - 4279 - TRINA - 3632

20

- 陰性IgA欠損試料: SRK Bern、18.12.2014以降、NO 251 - 256

- ヒトIgA: Jackson 009-000-011 ロット114820 4.7mg/mL

梅毒試験

- ID-PaGIA梅毒抗体試験Kit - ref 020401V (ロット45640901) (陽性及び陰性対照を含む)

- 陽性梅毒試料: Vitlalla 124644希釈液1/1 ~ 1/2048

- 陰性抗IgA試料: SRK 06.11.14 No 9991 - 9996

【 0 2 1 7 】

方法:

カードへの鉱油の添加:

30

鉱油5 μ Lを、各マイクロチューブ内で、対応するカードのゲルの上方に投入した。カードについて、油を添加した後60分以内に試験をした。

【 0 2 1 8 】

試験方法:

方法は、使用説明に従った:

・ 試料10 μ L及びビーズ50 μ Lがカードに入っているものを投入した。

・ 室温で5分のインキュベーションを行った。

・ 85gで10分の遠心分離を行った。

・ カードをBanjo reader (version 2.18)及びSaxo 2 reader version LOG-AK 01.00.12で読み取った。

40

【 0 2 1 9 】

試験は、標準のカード(油なし)、及び5 μ Lの鉱油を含むカードに関して同時に行われるようにした。

【 0 2 2 0 】

結果

抗IgA試験

結果を図16に示す。

【 0 2 2 1 】

IgA欠損試験

結果を図17に示す。

50

【 0 2 2 2 】

梅毒試験

結果を図18に示す。

【 0 2 2 3 】

3つの試験がなされたPaGIA試験の全て(即ち、ID-PaGIA抗IgA、ID-PaGIA IgA欠損、及びID-PaGIA梅毒)で、ゲル上澄みの上方への、本明細書に開示された5 μ Lの低密度不混和性化合物102の添加によって、試験の性能は変化しなかった。強い陽性反応(純粋な試料)が僅かに増強されたが、力価には影響がなかった。更に、本明細書に開示される低密度不混和性化合物102の存在は、特異性に影響を及ぼさなかった。

【符号の説明】

10

【 0 2 2 4 】

- 100 マイクロチューブ
- 102 低密度不混和性化合物
- 104 反応チャンパー
- 106 反応媒体
- 108 分離マトリックス
- 110 上澄み
- 112 反応性媒体

【 図 1 】

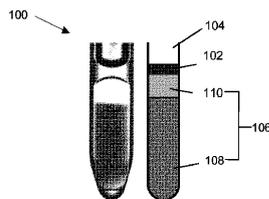


Figure 1

【 図 2 】

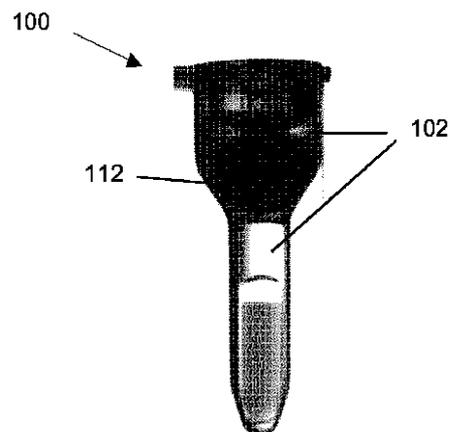


Figure 2

【 図 3 】

抗IgGカード 凍結R1r細胞	陰性試料(AB血清)			弱陽性試料(抗RH4)				
	条件	CTRL (no oil)	5 μ L oil	10 μ L oil	条件	CTRL (no oil)	5 μ L oil	10 μ L oil
結果	-	-	-	2+	2+	2+		

Figure 3

【 図 4 】

L-DIC体積 目視	56°Cで0時間保存					56°Cで4時間保存					56°Cで24時間保存					
	CTL	3 μ L	4 μ L	5 μ L	10 μ L	CTL	3 μ L	4 μ L	5 μ L	10 μ L	CTL	3 μ L	4 μ L	5 μ L	10 μ L	
目視	-	-	-	-	-	****	-	-	-	-	****	-	-	-	-	****

Figure 4

【 図 7 】

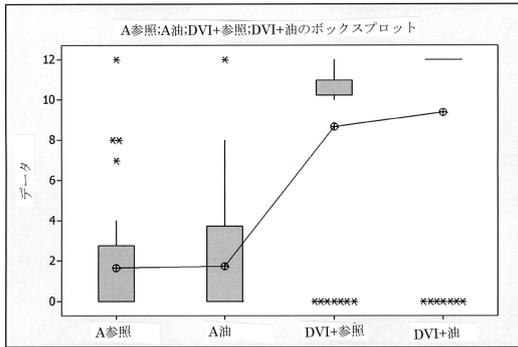


Figure 7

【 図 8 】

LISS/COOMBS	油の体積	CTL	CTL	5 μ L	5 μ L	50 μ L	50 μ L
目視							

Figure 8

【 図 5 】

LISS/Coombs + プールR1r + 希釈剤2 + 弱い抗RH4	CTRL (air gap)	No air gap	No air gap + 5 μ L oil
	投入後		
目視	/	/	/
LISS/Coombs + プールR1r + 希釈剤2 + 弱い抗RH4	遠心分離後		
目視	2	2	-
	2	-	2
	2	2	2

Figure 5

【 図 6 】

抗IgGカード	振盪前			振盪後			10分の遠心分離後		
	L-DIC	CTL	liquid L-DIC	CTL	liquid L-DIC	solid L-DIC	L-DIC	liquid L-DIC	solid L-DIC
目視									

Figure 6

【 図 9 】

LISS/COOMBS プールR1r, ID-Diluent 2中	投入直後						37°Cで15分間インキュベートした後					
	CTL	CTL	5 μ L	5 μ L	50 μ L	50 μ L	CTL	CTL	5 μ L	5 μ L	50 μ L	50 μ L
油の体積												
目視	**	**	**	**	**	**	-	-	-	-	-	-
認識機器	2	2	2/2+	2/2+	2	2	-	-	-	-	-	-

Figure 9

【 図 1 0 】

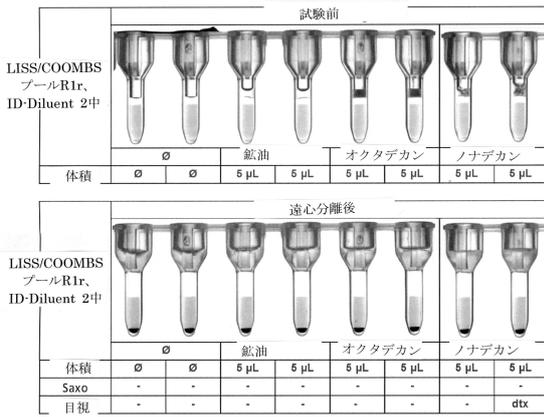


Figure 10

【 図 1 1 】

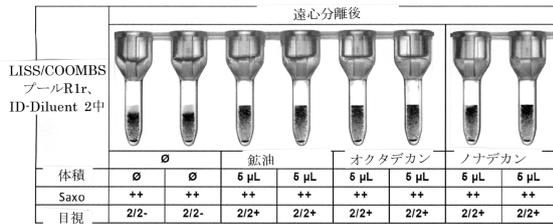


Figure 11

【 図 1 4 】



Figure 14

【 図 1 2 】

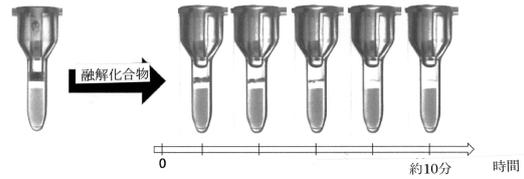


Figure 12

【 図 1 3 】

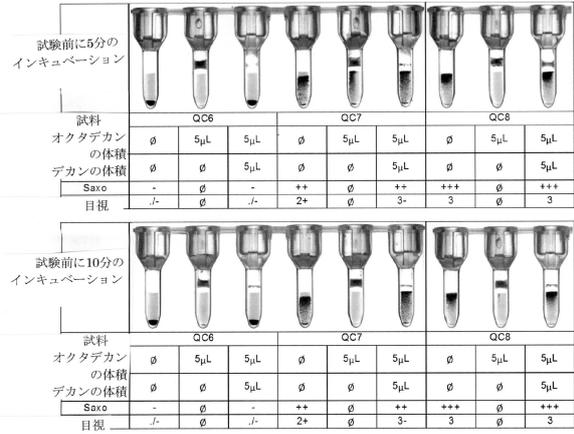


Figure 13

【 図 1 5 】

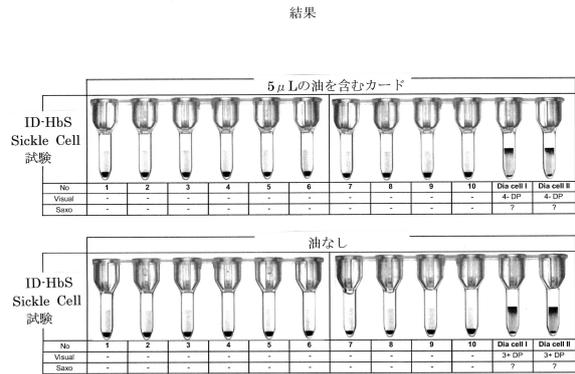


Figure 15

【 図 16 A 】

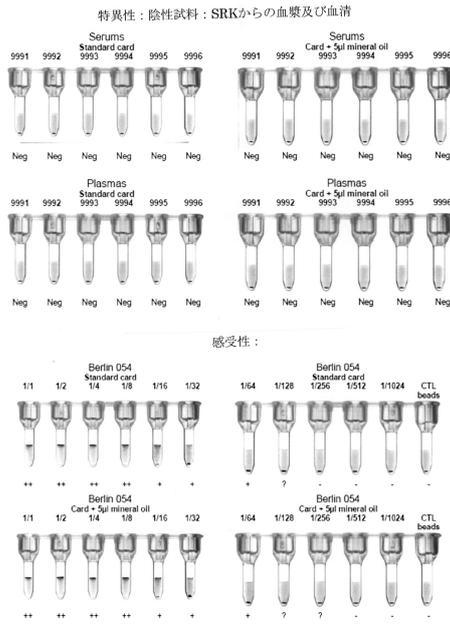


Figure 16

16A

【 図 16 B 】

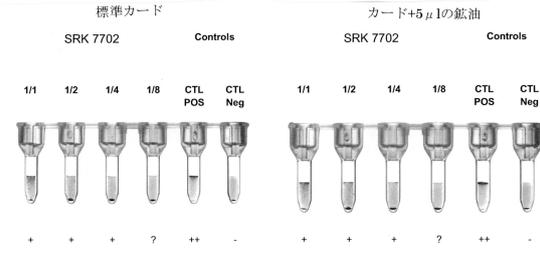


Figure 16 (continuation)

16B

【 図 17 A 】

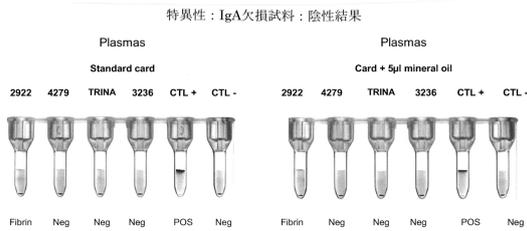
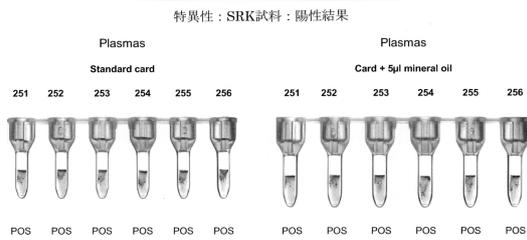


Figure 17

17A

【 図 17 B 】

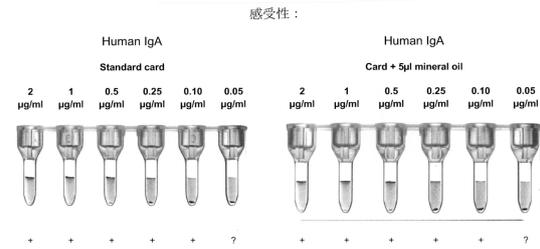


Figure 17 (continuation)

17B

【 18 A 】

【 18 B 】

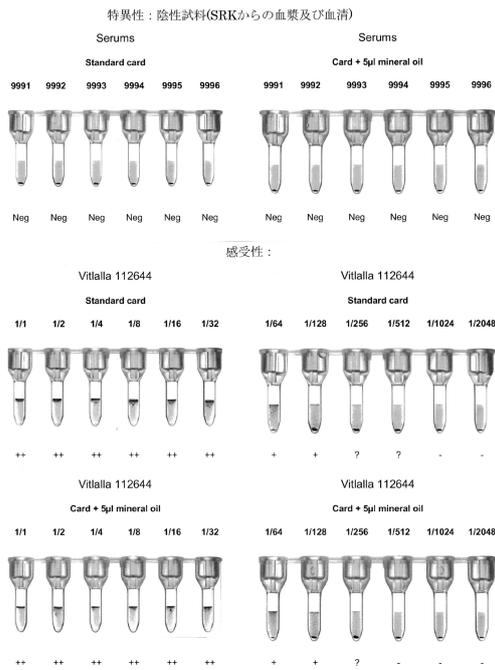


Figure 18

18A

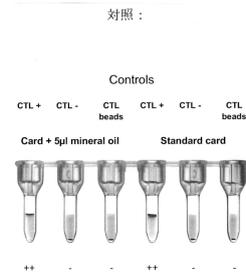


Figure 18 (continuation)

18B

フロントページの続き

(74)代理人 100133400

弁理士 阿部 達彦

(72)発明者 ジュリアン・アグスティ

スイス・1785・クレッシエ・エフェル・ルート・デュ・プラ・ロン・23・ディアメド・ゲー
エムベール内

(72)発明者 ステファヌ・ボンバル

スイス・1785・クレッシエ・エフェル・ルート・デュ・プラ・ロン・23・ディアメド・ゲー
エムベール内

(72)発明者 フレデリック・ピュフィエール

フランス・92430・マルヌ・ラ・コケット・ブールヴァール・レモン・ポワンカレ・3・パイ
オ・ラッド・イノベーション内

審査官 三木 隆

(56)参考文献 特表平02-502405(JP,A)

特表昭63-501172(JP,A)

米国特許出願公開第2007/0231834(US,A1)

米国特許第05073341(US,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/53