明　細　書

クロマトグラフィー定量測定装置、及び、クロマトグラフィー定量測定方法、並びに、それに用いられるクロマトグラフィー試験片

技術分野

本発明は、抗原抗体反応を利用して、被検物質を定量測定するためのクロマトグラフィー定量測定装置、及び、その測定装置、並びに、それに用いられるクロマトグラフィー試験片に関する。

背景技術

従来、被検物質である液体試料の化学試験又は臨床試験を行う装置として、抗原抗体反応を用いた免疫クロマトグラフィーによる測定が広く用いられている。そして、従来の免疫クロマトグラフィー試験片を用いた測定は、半定量の測定方法である。その従来の測定方法の一例を説明する。従来の免疫クロマトグラフイー試験片の構造の平面図が図６に示される。図６において、従来の免疫クロマトグラフイー試験片は、試料添加層４３と、標識試薬保持層４４と、反応層４２と、吸水層４５とを備える。液体試料が試料添加層４３に添加される。液体試料がこれらの層を移動可能である。標識試薬保持層４４は標識試薬を保持し、標識試薬は液体試料の浸透により移動可能である。反応層４２は捕捉試薬を固定化しており、捕捉試薬は流れてきた分析対象物と特異的に結合反応する機能を持つ。この反応層４２は、捕捉試薬固定化部を線状に一定本数配列させた複数線の反応領域４６Ｃを有する。吸水層４５は流れてきた試料を吸

水する機能を持つ。

この免疫クロマトグラフィー試験片は反応層担体と呼ばれる。液体試料が反応層担体に添加されて、一定時間放置される。一定時間後に現れる呈色反応を調べることにより、被検物質の有無が判定される。即ち、液体試料が試料添加層４３に添加されたとき、液体試料が試料添加層４３に浸透して、標識試薬保持層４４に達する。標識試薬が、標識試薬保持層４４において液体試料の浸透により溶解されながら、反応層４２に浸透していく。この過程で、液体試料中の分析対称物と標識試薬とが結合して、結合体を生成する。この結合体が、反応層４２の線状反応領域４６Ｃにおいて捕捉試薬固定化部の捕捉試薬と特異的に反応して、呈色反応を引き起こす。

液体試料中に含有される分析対称物が少ない場合には、標識試薬結合体の量も少なくなり、その結果、反応層４２における呈色部分は複数線の反応領域４６Ｃのうちの上流部分にのみ限定され、呈色線数が少なくなる。一方、分析対称物の含有量が多い場合には、標識試薬結合体の量も多くなり、呈色部分は、複数線の反応領域４６Ｃの下流部分まで広がることになる。

従来は、この原理を利用して、反応領域４６Ｃの呈色線数を調べることにより、液体試料中に含有される分析対称物の濃度が、「多い」～「少ない」の３段階、５段階、１０段階等で半定量的に評価されていた。

例えば、上記のような方法により免疫クロマトグラフィーの分析結果を定量化する手段は、特開平５－５７４３号に開示されている。この従来技術において、クロマトグラフィー試験片の上流から下流に向けて順に濃度が増加するように、独立して固定化された捕捉試

薬がクロマトグラフィー試験片上の反応領域の複数箇所に散布されている。そして、この散布された複数箇所で発色した反応領域の数を目視により計数することにより、分析対象物の半定量化測定が行われる。

また、他の従来技術は、特開平６－３４１９８９号に開示される。この従来技術においては、所定量で固定化されて存在する分析対象物に対する抗体により、固定化された抗体量に対応する試料中の分析対象物の一定量を捕捉して、分析物が減少される。この方法により、分析対象物が、簡易的に、半定量化される。

また、さらに他の従来技術は、特開平８－２４０５９１号に開示される。この従来技術において、試料が免疫クロマトグラフィー試験片に添加され、反応が行わる。その後に、所定の検出区域における呈色度合が測定される。即ち、呈色部分の吸収や反射等の信号が、検出用計器を用いて測定され、その測定結果が定量化される。

免疫クロマトグラフィーの測定原理は、抗原抗体反応の特異性を利用し、様々な分析対象物の検定に活かすことが可能である。しかしながら、上記のような従来の免疫クロマトグラフィー測定は、分析対象物の種類に依存して半定量的な測定しかできなく、定量的な測定が不可能である。このように、分析対象物の種類によって、半定量的な結果しか出せないという限界が生じる。このため、免疫クロマトグラフィー試験片を用いて、正確な分析結果を得るための定量化測定装置の実現が望まれてきた。

免疫クロマトグラフィー試験片を用いて定量測定を行う場合、その呈色度合の強弱や濃淡を基に、分析対象物の濃度を測定する方法が考えられる。従来の免疫クロマトグラフィー試験片を用いるとき、

クロマトグラフィーの展開は、機械的なコントロールが無い状態で行われ、人為的に反応速度を制御することができなかった。このため、分析対象物の浸透速度は試験片自身の浸透性に依存する。そのため、測定時期、試験片の種類、同一試験片上の部位、試料量、及び、標識試薬の量などに依存して、試験片上の呈色度合は大幅なばらつきを発生する。また、反応領域が特定箇所に限定され、その限定された特定の反応領域の呈色度合を計測する場合、標識試薬の浸透性の影響により、測定誤差が大きくなる。そのため、分析対象物の濃度を数値化する定量測定は困難であった。したがって、免疫クロマトグラフィーによる定量測定の性能は、半定量に近いものとなっていた。

本発明は、免疫クロマトグラフィーにおける定量化された測定性能を向上できるクロマトグラフィー定量測定装置、定量測定方法、及び、クロマトグラフィー試験片を実現する。

発明の開示

本発明の液体試料中に含有される分析対象物の濃度を測定するクロマトグラフィー定量測定装置は、

前記分析対象物と特異的に結合して呈色可能な捕捉試薬を保持する複数の反応領域を有するクロマトグラフィー試験片と、

前記複数の反応領域のうちの少なくとも2個所以上の反応領域の呈色度合を、定量的に数値化して測定する呈色度合測定手段と

を備え、

前記呈色度合測定手段は、前記捕捉試薬と前記分析対象物との特異的な結合により呈色された前記呈色度合を光学測定及び画像測定の

うちの少なくとも一つを測定する機能を有する。

特に望ましくは、クロマトグラフィー定量測定装置は、さらに、前記呈色度合の測定結果を演算処理して、分析対象物の数値化された濃度を算出するための演算処理装置を備える。

本発明の液体試料中に含まれる分析対象物の濃度を測定するクロマトグラフィー定量測定方法は、

（ａ）前記分析対象物を含む物質と結合可能な捕捉試薬を固定化した複数の反応領域を有するクロマトグラフィー試験片を提供する工程と、

（ｂ）前記クロマトグラフィー試験片に、前記分析対象物を含有する前記液体試料を湿潤して、前記分析対象物を含む物質を前記捕捉試薬に接触する工程と、

（ｃ）前記複数の反応領域における少なくとも２つの領域における前記捕捉試薬と前記分析対象物との特異的な結合による呈色状況を、光学測定及び画像測定のうちの少なくとも一つにより測定し、そして、その測定結果を演算処理して、数値化した濃度を算出する工程と

を備える。

本発明の液体試料中に含有される分析対象物の濃度を光学測定及び画像測定のうちの少なくとも一つの測定により測定するためのクロマトグラフイー試験片は、前記液体試料を湿潤可能な湿潤部材と、前記湿潤部材の中に設置された捕捉試薬とを備え、前記捕捉試薬は、前記分析対象物を含む物質と反応して呈色可能な性質を有し、前記

捕捉試薬は、前記湿潤部材の中に、均一な状態で含有されている。

特に望ましくは、前記クロマトグラフィー試験片は、シート状の支持体と、前記支持体の上に設置された湿潤部材とを有し、
前記湿潤部材は前記液体試料を湿潤可能であり、
前記湿潤部材は、前記支持体の面と平行な方向に形成された試料添加層と標識試薬保持層と反応層と吸収層とを有し、
前記反応層は前記反応領域を有し、
前記液体試料は、前記試料添加層、前記標識試薬保持層、前記反応層、前記吸収層の中を、この順番に通過する。

この構成により、免疫クロマトグラフィーにおける定量的な測定性能が向上できる

図面の簡単な説明

第１図は、本発明の実施の形態のクロマトグラフィー定量測定装置の斜視図を示す。

第２図は、本発明の実施の形態のクロマトグラフィー定量測定方法の製造プロセスを示す。

第３図は、本発明の実施の形態のクロマトグラフィー定量測定装置において、クロマトグラフィー試験片の構造を示す斜視図である。

第４図は、本実施の形態において、反応層の反応領域のパターンを示すクロマトグラフィー試験片の平面図である。

第５図は、本実施の形態において、反応層の反応領域の他のパターンを示すクロマトグラフィー試験片の平面図である。

第６図は、従来のクロマトグラフィー試験片の構造を示す平面図である。

発明の最良の実施形態の説明

本発明の一実施例のクロマトグラフィー定量測定装置は、クロマトグラフィー試験片の呈色反応結果を分析することにより、液体試料中の分析対象物の濃度を測定する。そのクロマトグラフィー試験片は、シート状の支持体と、前記支持体の上に積層された湿潤可能な複数の湿潤部材とを備える。前記複数の湿潤部材は、前記支持体の面と平行な方向に設置されている。前記複数の湿潤部材は、試料添加層、標識試薬保持層、反応層、吸収層を有する。前記反応層は、前記液体試料中の分析対象物と特異的に結合可能な捕捉試薬を固定した反応領域を有する。前記反応層における呈色反応結果が分析される。そのクロマトグラフィー定量測定装置は、前記クロマトグラフィー試験片と、前記反応領域における呈色反応の度合いを、光学測定又は画像測定などの測定により定量測定する呈色度合測定手段と、その測定結果を演算処理して、分析対象物の数値化された濃度を算出するための演算処理装置を備える。

この構成によれば、クロマトグラフィー試験片上の反応層において、分析対象物と結合可能な捕捉試薬を固定化した反応領域上の複数箇所を計測することにより、液体試料の浸透状況を制御することなく、試験片上の呈色反応を正確に測定することができ。その結果、定量測定性能が向上する。

特に望ましくは、前記クロマト定量測定装置において、前記反応領域は、前記反応層にスポット形態で複数箇所に形成されている。

前記捕捉試薬を固定化した反応領域の形状が、点又は球状のスポットを有し、複数個の点又はスポットが反応層上に不規則に存在する。反応層上にスポット形態による複数箇所の反応領域を設置したことにより、反応領域と反応領域でない領域との色の対比による反応層全体における呈色度合い測定することが可能になる。さらに反応層上に反応領域が不規則に均一に存在するため、液体試料の浸透状況に影響を受けた呈色反応が得られた場合においても、より正確な定量測定を行うことができる。さらに、スポット形態で捕捉試薬を固定化するため、必要な試薬量が少なくなり、コストが減少する。このように、液体試料の浸透状況に影響されることなく、呈色反応が行われる。

特に望ましくは、前記反応領域は、前記反応層の全領域に渡って形成されている。前記捕捉試薬を固定化した反応領域の形状が面状からなり、反応層上に広範囲に存在する。この構成によれば、反応層の全領域が反応領域であることにより、反応層全体における呈色反応を測定することが可能になる。さらに、反応層全体に反応領域が均一に存在するため、液体試料の浸透状況に影響された呈色反応が生じた場合においても、より正確な定量測定を行うことができる。液体試料の浸透状況に影響されることなく呈色反応が行われる。

特に望ましくは、前記反応層上に固定化された捕捉試薬の濃度が、全ての反応領域において一定である。この構成によれば、呈色反応が均一になる。反応層上に固定化された捕捉試薬の濃度が全ての領域において一定であるため、液体試料の浸透状況に影響された呈色反応が生じた場合においても、反応層全体の反応状況を把握するすることが可能になり、より正確な定量測定を行うことができる。液

体試料の浸透状況に影響されることなく呈色反応が行われる。

特に望ましくは、前記反応領域は前記反応層に均一に分散された状態で設置されている。この構成により、呈色が均一になる。その結果、定量測定の精度が向上する。

本発明の位置実施例のクロマトグラフィー定量測定方法は、一つから任意の数の部材による湿潤可能な層を有するクロマトグラフイ試験片上において、液体試料中の分析対象物を含む物質と特異的に結合可能な捕捉試薬を固定化した反応領域上の呈色反応状況の複数の個所を、光学測定あるいは画像測定として計測する工程と、その計測結果を演算処理し、それにより、分析対象物の数値化された濃度を算出する工程とを備える。この構成により、液体試料の浸透状況を制御することなく、試験片上の呈色反応を正確に測定することができ、その結果、定量性能が向上する。

特に望ましくは、前記反応領域は、前記反応層にスポット形態で複数箇所に形成されている。捕捉試薬が固定化された反応領域の形状が点および球状のスポットからなり、一つ以上の複数個のスポットが反応層に均一に不規則に存在する。この構成により、液体試料の浸透状況に依存することなく、呈色反応が行われる。

特に望ましくは、前記反応層に固定化された捕捉試薬は、全ての反応個所において、同一の捕捉試薬が固定化されている。同一の捕捉試薬が、点又は球状のスポット形状で、反応層に均一に不規則に存在する。これにより、液体試料の浸透状況に依存することなく、呈色反応が行われる。

特に望ましくは、前記反応領域は、前記反応層の全領域に渡って形成されている。捕捉試薬を固定化した反応領域は面状形状を有し、

その反応領域は反応層の広範囲に存在する。この構成により、液体試料の浸透状況に依存することなく、呈色反応が行われる。

特に望ましくは、前記反応層上に固定化された捕捉試薬の濃度が全ての反応領域において一定である。この構成により、呈色反応の均一化が図られる。

本発明の一実施例のクロマトグラフィー定量測定装置及び測定方法について、以下に詳細に説明する。本発明の一実施例のクロマトグラフィー定量測定装置は、免疫クロマトグラフィー試験片の構造を改良するとともに、分析対象物とクロマトグラフィー試験片に含まれる捕捉試薬との反応結果である呈色度合を光学測定又は画像測定により測定し、その測定結果を演算処理装置により数値化することにより、液体試料中に含まれる分析対象物の濃度が定量的に読み取り可能になる。免疫クロマトグラフィー定量測定において、液体試料の流量と浸透性を制御することなく、より高感度及び高性能な定量精度を持つ免疫クロマトグラフィー試験片を提供するため、免疫クロマトグラフィー試験片は、クロマトグラフィー材料からなる反応層担体上の表面に、多数の反応領域を有することを特徴とする。

本実施例のクロマトグラフィー定量分析装置及び定量測定方法は、上記のような免疫クロマトグラフィー試験片の複数の部位の呈色度合を測定機器を使用して計測し、その後、その測定結果を演算処理して、分析対象物の濃度を算出する機能を有する。この構成により、クロマトグラフィー試験片上の試料の流量と浸透性に影響されることなく、高感度かつ高性能なクロマトグラフィー定量分析装置と測定方法が得られる。

免疫クロマトグラフィー試験片の反応領域は、分析対象物と特異的に結合可能な捕捉試薬を固定化している。この捕捉試薬は全ての反応領域において一定の濃度を有する。このような構造の免疫クロマトグラフィー試験片を用いることにより、反応領域や計測部位が特定箇所に限定されない。そのため、反応層担体の任意の部位において呈色反応が見られる。したがって、液体試料の浸透と共に展開される標識試薬の溶出状況を反映した呈色反応が、結果として、反応層担体全体に現れる。これらの呈色度合を呈色度合測定手段を用いて計測し、その結果を演算処理することにより、より高感度及び高性能なクロマトグラフィー定量測定が実現される。

また、本実施例において、反応層担体として、ニトロセルロースやガラス繊維濾紙のような任意の多孔質性担体で構成されたクロマトグラフィー材料からなる試験片が用いられる。この試験片は、例えば、抗原抗体反応のような測定原理を用いることにより、特定物質を分析検出し、定量化する機能を持つことができる。液体試料としては、例えば、水、水溶液、尿、血液、体液、固体及び粉体や気体を溶かした溶液などの試料が使用できる。試験項目としては、例えば、尿検査、妊娠検査、水質検査、便検査、土壌分析、食品分析等が測定できる。これにより、任意の被検査溶液に存在する分析対象物が、簡単かつ確実に定量測定されることが可能となる。

典型的実施例

本発明のクロマトグラフィー定量測定装置、測定方法、及び、クロマトグラフィー試験片の典型的実施の形態について、第１図、第２図、第３図、第４図、第５図を参照しながら説明する。第１図は

本発明の一実施例のクロマトグラフィー定量測定装置の斜視図である。第２図は本発明の一実施例のクロマトグラフィー定量測定方法の製造工程を示す。第３図は、本発明の一実施例の免疫測定を行う免疫クロマトグラフィー試験片の構造を示す斜視図である。ここで、免疫クロマトグラフィー試験片を反応層担体と総称する。

第２図に示されるように、本発明の典型的実施例の液体試料中に含まれる分析対象物の濃度を測定するクロマトグラフィー定量測定方法は、

（ａ）前記分析対象物を含む物質と結合可能な捕捉試薬を固定化した複数の反応領域を有するクロマトグラフィー試験片を提供する工程と、

（ｂ）前記クロマトグラフィー試験片に、前記分析対象物を含有する前記液体試料を湿潤して、前記分析対象物を含む物質を前記捕捉試薬に接触する工程と、

（ｃ）前記複数の反応領域における少なくとも２つの領域における前記捕捉試薬と前記分析対象物との特異的な結合による呈色状況を、光学測定及び画像測定のうちの少なくとも一つにより測定し、そして、その測定結果を演算処理して、数値化した濃度を算出する工程と

を備える。

第３図に示されるように、反応層担体１０は、支持体１と反応層２と試料添加層３と標識試薬保持層４と吸水層５と備える。試料液体が、試料添加層３、標識試薬保持層４、反応層２、及び、吸水層５の順に通って流れるように、反応層担体１０が構成される。

支持体１は、クロマトグラフィー材料を支持する機能を有し、プ

ラスチック材料等により作成される。試料添加層３は支持体１の上に設置され、その試料添加層３は液体試料を湿潤しやすい性質を持つ。この湿潤部材を有する試料添加層３は例えば不織布等により作成される。被検物質を含む液体試料が試料添加層３に添加又は塗布される。標識試薬保持層４は、湿潤部材と、その湿潤部材に保持された標識試薬とを有する。標識試薬は液体試料の浸透により移動可能である。その湿潤部材は例えば不織布等から作成される。反応層２は、抗体と抗原が反応する領域である。反応層２はニトロセルロース等から作成される。反応層２は、複数の反応領域を有し、それぞれの反応領域は、分析対象物（被検物質）と特異的に結合する捕捉試薬を固定している。複数の反応領域は、反応層２に、均一に、又は、不規則に、又は、均一に分散した状態で、又は、スポット的に分散した状態で、又は、点をもって点在した状態などの状態で設置されている。吸水層５は、液体試料を最終的に吸水する領域である。

このような反応層担体としてのクロマトグラフイー試験片において、分析対象物を含む液体試料が試料添加層３に添加される。液体試料が試料添加層３から標識試薬保持層４の領域に達するとき、この標識試薬保持層４に保持された標識試薬が液体試料の浸透により溶解される。この過程において、分析対象物が標識試薬と結合する。この分析対象物を含む結合物が反応層２に流れてきたとき、反応領域に含まれる捕捉試薬は流れてきた分析対象物と特異的に化学反応して、呈色反応が生じ、呈色状態が発生する。または、捕捉試薬は分析対称物と標識試薬とのうちの少なくとも一つと反応して、呈色

が発生する。最終的に液体試料は流れて、扱水層５に吸水される。液体試料が反応層担体に添加されて、一定時間放置される。一定時間後に現れる呈色を定量的に測定することにより、被検物質の定量的な数値が測定される。

即ち、液体試料が試料添加層３に添加されたとき、液体試料が試料添加層３に浸透して、標識試薬保持層４に達する。標識試薬が、標識試薬保持層４において液体試料の浸透により溶解されながら、反応層２に浸透していく。この過程で、液体試料中の分析対称物と標識試薬とが結合して、結合体を生成する。この結合体が、反応層２において捕捉試薬と特異的に反応して、呈色反応を引き起こす。液体試料は、最終的に吸水層５に吸い取られて、反応は終了する。

液体試料中に分析対象物が存在する場合、反応層２の反応領域に何らかの呈色反応が見られる。この呈色反応を、光学測定又は画像測定などの呈色度合測定手段１１を用いて計測する。そして、その測定結果が演算処理装置１２により演算処理されて、分析対象物の数値化された濃度が算出される。このようにして、分析対象物の定量測定が測定される。

尚、上記の実施例において、支持体１がプラスチックにより作成され、反応層２、試料添加層３、標識試薬保持層４、吸水層５が不織布及びニトロセルロースにより作成されるが、これらの材料は、いずれも一例であり、前述した材料に限定されものではない。例えば、支持体１が任意の液体不透過性材料から作成される。反応層２、試料添加層３、標識試薬保持層４、吸水層５などの湿潤部材は、任意の多孔質性を有する担体により作成される。

次に、反応層２の反応領域の形態について、第４図、及び、第５

図を用いて説明する。第４図及び第５図は、異なる反応領域を持つ反応層担体１０の例を示す平面図である。第４図において、反応層２Ａとして、捕捉試薬を複数の点又はスポット状に固定化させた反応領域６Ａが設置されている。第５図において、反応層２Ｂとして、反応層全面に捕捉試薬を固定させた反応領域６Ｂが設置されている。このような反応層２Ａ又は反応層２Ｂの構成により、反応層担体を流れる分析対象物は、浸透状況に関わらず、確実に捕獲されることができる。その結果、試験片毎の呈色度合のバラツキ、不均一などが防止され、正確な呈色が得られる。

以上のような構造を持つ免疫クロマトグラフィー試験片を用いて、反応層２の呈色度合を計測するために、ランダムな複数の領域がサンプリングされ、測定される。

第１図に示されるように、呈色度合測定手段１１として、呈色状態の吸収信号を読み取る機器、呈色状態の反射信号を読み取る機器、又は、ＣＣＤを用いた画像解析機器が利用できる。

また、演算処理装置１２としては、通常の演算処理装置が使用される。この演算処理装置は、前記の測定結果に基づいて、分析対象物の数値化した濃度を算出する。このようにして、呈色度合の平均値が算出される。サンプリング数を多くすることにより、正確な定量測定ができる。

このようにして、高感度及び高性能な定量測定が可能なクロマトグラフィー定量測定装置が実現できる。

以上のように、本発明の測定装置において、反応領域における呈色度合を光学的又は画像的に読み取る手段を備えることにより、よ

り正確に呈色度合を測定することができる。そのため、クロマトグラフイ試験片を使用した正確な定量測定が可能になる。

反応層上にスポット形態の複数箇所の反応領域を設置することにより、反応領域と反応領域でない領域との色の対比による反応層全体における呈色度合を正確に測定することができる。さらに、反応層上に反応領域が不規則に存在するため、液体試料の浸透状態に影響された呈色反応が発生した場合においても、より正確な定量測定を行うことができる。さらに、スポット形態で捕捉試薬を固定化するため、試薬量を最小にすることができ、コストが安くなる。反応層上の全面が反応領域であることにより、反応層全体における呈色反応を測定することができる。同時に、反応層全体に反応領域が均一に存在するため、液体試料の浸透状況に影響された呈色反応が発生した場合においても、より正確な定量測定を行うことができる。

本発明の測定方法において、反応領域上の呈色反応状況の複数箇所が測定され、その測定結果が演算処理される。そのため、反応層全体の呈色反応状況を把握することが可能となり、液体試料の浸透状況の影響を受けることがなく、より正確な定量測定ができる。

反応層上にスポット形態で複数箇所の反応領域が形成されている。そのため、反応領域と捕捉試薬を含有しない領域との呈色度合対比による測定が可能になる。また、反応層上に反応領域が不規則に存在するため、液体試料の浸透状況に影響を受けて、反応層上の呈色状況にバラツキが発生した場合においても、複数箇所を測定した後の演算処理により、そのバラツキを緩和することができ、その結果、

より正確な定量測定が可能になる。

反応層上にスポット形態で複数箇所に設置された反応領域の捕捉試薬の種類が同一である。そのため、反応全体の呈色反応を測定することが可能になる。同時に、反応領域と捕捉試薬を持たない領域との呈色度合を対比することにより、より正確な定量測定が可能になる。また、反応層上に反応領域が不規則に存在するため、液体試料の浸透状況に影響を受けて、反応層上の呈色状況にバラツキが発生した場合においても、複数箇所を測定した後の演算処理により、そのバラツキを緩和することができ、その結果、より正確な定量測定が可能になる。さらに、スポット形態で捕捉試薬を固定化するため、試薬量を少量にとどめることができ、低コスト化が可能になる。反応層上の全面が反応領域であることにより、反応層全体の呈色反応を測定することが可能になる。また、反応層上全体に反応領域が均一に存在するため、液体試料の浸透状況の影響を受けて、反応層上の呈色状況にバラツキが発生した場合においても、複数箇所を測定した後の演算処理により、そのバラツキを緩和することができ、その結果、より正確な定量測定が可能になる。

反応層上に固定化された捕捉試薬の濃度が全ての領域において一定であるため、液体試料の浸透状況に呈色反応が影響された場合においても、反応層全体の反応状況を把握することが可能になる。また、液体試料の浸透状況の影響を受けて、反応層上の呈色状況にバラツキが発生した場合においても、複数箇所を測定した後の演算処理により、そのバラツキを緩和することができ、その結果、より正確な定量測定が可能になる。

産業上の利用可能性

本発明の構成により、液体試料の浸透と標識試薬の展開を制御する必要がなくなり、より高感度及び高性能なクロマトグラフィー定量測定が可能となる。

請求の範囲

1．液体試料中に含有される分析対象物の濃度を測定するクロマトグラフィー定量測定装置であって、

前記分析対象物と特異的に反応して呈色可能な捕捉試薬を保持する複数の反応領域を有するクロマトグラフィー試験片と、

前記複数の反応領域のうちの少なくとも2個所以上の反応領域の呈色度合を、定量的に数値化して測定する呈色度合測定手段と

を備え、

前記呈色度合測定手段は、前記捕捉試薬と前記分析対象物との特異的な反応により呈色された前記呈色度合を光学測定及び画像測定のうちの少なくとも一つを測定する機能を有する

クロマトグラフィー定量測定装置。

2．請求の範囲の第1項において、

さらに、

前記呈色度合の測定結果を演算処理して、前記分析対象物の数値化された濃度を算出するための演算処理装置を備えた

クロマトグラフィー定量測定装置。

3．請求の範囲の第1項において、

前記クロマトグラフィー試験片は、シート状の支持体と、前記支持体の上に積層された反応層を有し、

前記反応層は均一に設置された前記複数の反応領域を有し、

前記反応層は、前記液体試料を湿潤可能な湿潤部材を有し、

前記捕捉試薬は前記湿潤部材の中に含有され、

前記捕捉試薬が、前記分析対象物を含む物質と呈色反応し、

前記呈色度合測定手段が、均一に設置された前記複数の反応領域のうちの呈色状態を策定する

クロマトグラフィー定量測定装置。

4．請求の範囲の第1項において、

前記クロマトグラフィー試験片は、シート状の支持体と試料添加層と標識試薬保持層と反応層と吸収層とを有し、

標識試薬保持層と反応層と吸収層のそれぞれは、前記支持体の上に設置され、

前記反応層は前記複数の反応領域を有し、

前記液体試料は、前記試料添加層、前記標識試薬保持層、前記反応層、前記吸収層の順番に通過する

クロマトグラフィー定量測定装置。

5．請求の範囲の第1項において、

前記複数の反応領域は、複数個の点及び複数個のスポットのうちの少なくとも一つの領域を有し、

前記呈色度合測定手段は前記少なくとも一つの領域の呈色度合を測定する

クロマトグラフィー定量測定装置。

6．請求の範囲の第1項において、

前記クロマトグラフィー試験片は、反応層を有し、

前記複数の反応領域は、前記反応層の全領域に設置されている
クロマトグラフィー定量測定装置。

7．請求の範囲の第１項において、
前記クロマトグラフィー試験片は反応層を有し、
前記反応層は、前記液体試料を湿潤可能な湿潤部材を有し、
前記捕捉試薬は前記湿潤部材の中に含有され、
前記複数の反応領域は、前記反応層の全領域に設置され、
前記湿潤部材の中の前記捕捉試薬の濃度が、前記複数の反応領域の
すべての領域において同じである
クロマトグラフィー定量測定装置。

8．請求の範囲の第１項において、
前記呈色度合測定手段は、前記呈色の吸収信号を読み取る機器、前
記呈色の反射信号を読み取る機器、及び、ＣＣＤを有する画像解析
機器からなる群から選ばれる少なくとも一つの機器を有する
クロマトグラフィー定量測定装置。

9．請求の範囲の第１項において、
前記クロマトグラフィー試験片は、さらに、標識試薬保持層を有し、
前記標識試薬保持層は、前記分析対象物と前記捕捉試薬とのうちの
少なくとも一つと結合可能な標識試薬を有し、
前記捕捉試薬における前記標識試薬との結合反応により、前記呈色
が生じるクロマトグラフィー定量測定装置。

１０．請求の範囲の第１項において、

前記クロマトグラフィー試験片は、シート状の支持体と、前記支持体の上に設置された複数の湿潤部材とを有し、

前記複数の湿潤部材は前記液体試料を湿潤可能であり、

前記複数の湿潤部材は、前記支持体の面と平行な方向に形成された試料添加層と標識試薬保持層と反応層と吸収層とを有し、

前記反応層は前記複数の反応領域を有し、

前記液体試料は、前記試料添加層、前記標識試薬保持層、前記反応層、前記吸収層の中を、この順番に通過し、

するクロマトグラフィー定量測定装置。

１１．請求の範囲の第１０項において、

前記複数の反応領域は、複数個のスポットを有し、

前記呈色度合測定手段は前記複数個のスポットの呈色度合を定量測定するクロマトグラフィー定量測定装置。

１２．請求の範囲の第１０項において、

前記複数の反応領域は、前記反応層上の全面に渡って形成され、

前記呈色度合測定手段は前記反応層の呈色度合を定量測定するクロマトグラフィー定量測定装置。

１３．請求の範囲の第１０項において、

前記複数の反応領域は、前記反応層の全領域に渡って形成され、

前記捕捉試薬の濃度が、前記反応層の全領域において一定であり、

前記呈色度合測定手段は前記反応層の呈色度合を定量測定するクロ

マトグラフィー定量測定装置。

１４．請求の範囲の第１０項において、

前記標識試薬保持層は、前記分析対象物と前記捕捉試薬とのうちの少なくとも一つと結合可能な標識試薬を有し、

前記捕捉試薬における標識試薬との結合反応により、前記呈色が生じるクロマトグラフィー定量測定装置。

１５．液体試料中に含まれる分析対象物の濃度を測定するクロマトグラフィー定量測定方法であって、

（ａ）前記分析対象物と特異的に結合可能な捕捉試薬を固定化した複数の反応領域を有するクロマトグラフィー試験片を提供する工程と、

（ｂ）前記クロマトグラフィー試験片に、前記分析対象物を含有する前記液体試料を湿潤して、前記分析対象物を含む物質を前記捕捉試薬に接触する工程と、

（ｃ）前記複数の反応領域における少なくとも２つの領域における前記捕捉試薬と前記分析対象物との特異的な結合による呈色状況を、光学測定及び画像測定のうちの少なくとも一つにより測定し、

そして、その測定結果を演算処理して、数値化した濃度を算出する工程と

を備えたクロマトグラフィー定量測定方法。

１６．請求の範囲の第１５項において、

前記クロマトグラフィー試験は、湿潤部材を有し、

前記捕捉試薬は前記湿潤部材の中に固定され、

前記（ｂ）工程において、前記液体試料が前記湿潤部材の中を通過している間に、前記分析対象物を含む物質と前記捕捉試薬とが反応して、呈色されるクロマトグラフィー定量測定方法。

１７．請求の範囲の第１５項において、前記クロマトグラフィー試験片は反応層を有し、

前記複数の反応領域は、前記反応層にスポット形態で形成され、

前記（ｃ）工程は、前記スポット形態の呈色状況を数値化して計測する

クロマトグラフィー定量測定方法。

１８．請求の範囲の第１５項において、

前記複数の反応領域に含有されるそれぞれの前記捕捉試薬は、同一の捕捉試薬を有する

クロマトグラフィー定量測定方法。

１９．請求の範囲の第１５項において、

前記クロマトグラフィー試験片は反応層を有し、

前記複数の反応領域は、前記反応層の全領域に渡って形成されている

クロマトグラフィー定量測定方法。

２０．請求の範囲の第１５項において、

前記クロマトグラフィー試験片は湿潤部材を有し、

前記捕捉試薬は前記湿潤部材の中に固定され、

前記湿潤部材に対する前記捕捉試薬の濃度は、全ての複数の反応領域において同じである

クロマトグラフィー定量測定方法。

２１．請求の範囲の第１５項において、

前記クロマトグラフィー試験片は、シート状の支持体と、前記支持体の上に設置された複数の湿潤部材とを有し、

前記複数の湿潤部材は前記液体試料を湿潤可能であり、

前記複数の湿潤部材は、前記支持体の面と平行な方向に形成された試料添加層と標識試薬保持層と反応層と吸収層とを有し、

前記反応層は前記複数の反応領域を有し、

前記液体試料は、前記試料添加層、前記標識試薬保持層、前記反応層、前記吸収層の中を、この順番に通過し、

前記標識試薬保持層は、前記分析対象物と前記捕捉試薬とのうちの少なくとも一つと結合可能な標識試薬を有し、

前記捕捉試薬における標識試薬との結合反応により、前記呈色が生じる

クロマトグラフィー定量測定方法。

２２．液体試料中に含有される分析対象物の濃度を光学測定と画像測定のうちの少なくとも一つにより測定するためのクロマトグラフィー試験片であって、

前記液体試料を湿潤可能な湿潤部材と、

前記湿潤部材の中に設置された捕捉試薬と

を備え、

前記捕捉試薬は、前記分析対象物を含む物質と特異的に反応して呈色可能な性質を有し、

前記捕捉試薬は、前記湿潤部材の中に、均一な状態で含有されている

クロマトグラフイー試験片。

２３．請求の範囲の第２２項において、

前記湿潤部材は、試料添加層と標識試薬保持層と反応層と吸収層とを有し、

前記反応層は、前記捕捉試薬を含有する複数の反応領域を有し、

前記液体試料は、前記試料添加層、前記標識試薬保持層、前記反応層、前記吸収層の中を、この順番に通過可能である

クロマトグラフイー試験片。

２４．請求の範囲の第２３項において、

前記複数の反応領域は、複数個のスポットを有し、

前記複数個のスポットの呈色度合が前記光学測定及び前記画像策定のうちの少なくとも一つの測定により定量測定可能である

クロマトグラフイー試験片。

２５．請求の範囲の第２３項において、

前記湿潤部材は、反応層を有し、

前記複数の反応領域は、前記反応層上の全領域に渡って形成されて

いる

クロマトグラフイー試験片。

２６．請求の範囲の第２３項において、

前記湿潤部材に対する前記捕捉試薬の濃度が、前記複数の反応領域の全ての領域において一定である

クロマトグラフイー試験片。

２７．請求の範囲の第２２項において、

前記複数の湿潤部材は前記液体試料を湿潤可能であり、

前記複数の湿潤部材は、前記支持体の面と平行な方向に形成された試料添加層と標識試薬保持層と反応層と吸収層とを有し、

前記反応層は前記複数の反応領域を有し、

前記液体試料は、前記試料添加層、前記標識試薬保持層、前記反応層、前記吸収層の中を、この順番に通過し、

前記標識試薬保持層は、前記分析対象物と前記捕捉試薬とのうちの少なくとも一つと結合可能な標識試薬を有し、前記捕捉試薬における標識試薬との結合反応により、前記呈色が生じる

クロマトグラフィー試験片。

２８．請求の範囲の第２３項において、

前記複数の反応領域は、前記反応層に均一に分散された状態で設置されている

クロマトグラフィー試験片。