

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4192103号
(P4192103)

(45) 発行日 平成20年12月3日 (2008. 12. 3)

(24) 登録日 平成20年9月26日 (2008. 9. 26)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 35/08	(2006. 01)	GO 1 N 35/08	A
GO 1 N 37/00	(2006. 01)	GO 1 N 37/00	I O 1
GO 1 N 33/48	(2006. 01)	GO 1 N 33/48	B
GO 1 N 33/53	(2006. 01)	GO 1 N 33/53	V
GO 1 N 33/72	(2006. 01)	GO 1 N 33/72	A

請求項の数 7 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2004-21784 (P2004-21784)
 (22) 出願日 平成16年1月29日 (2004. 1. 29)
 (65) 公開番号 特開2004-239904 (P2004-239904A)
 (43) 公開日 平成16年8月26日 (2004. 8. 26)
 審査請求日 平成16年4月7日 (2004. 4. 7)
 (31) 優先権主張番号 10305050.7
 (32) 優先日 平成15年2月7日 (2003. 2. 7)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

前置審査

(73) 特許権者 591003013
 エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
 F. HOFFMANN-LA ROCH
 E AKTIENGESELLSCHAFT
 スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
 グレンツァーヘルストラッセ124
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100096183
 弁理士 石井 貞次
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節
 (74) 代理人 100122389
 弁理士 新井 栄一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液分析のための分析用検査要素および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

好ましくは血液サンプルをその適用部位 (18) から少なくとも 1 つの分析部位 (20, 22) へフロー輸送するためのマイクロ流体用経路構造 (14) を有する基体 (12) を含む、特に単回用簡易検査による血液分析のための分析用検査要素であって、該経路構造 (14) が、該血液サンプルをロードすることが可能でかつ微粒血液成分を保持するための分離手段 (36) を備えた希釈経路 (24) と、希釈しようとする血液サンプルのアリコートを運搬しかつ該希釈経路 (24) と混合部位 (40) にて合流するサンプル経路 (26) とを有することを特徴とする、前記分析用検査要素。

【請求項 2】

前記血液サンプルの流れを並行する流れに分割する接合部 (32) を介して、該血液サンプルが前記サンプル経路 (26) と前記希釈経路 (24) に供給されることを特徴とする、請求項 1 記載の分析用検査要素。

【請求項 3】

前記サンプル経路および前記希釈経路 (26, 24) の経路断面積が、通過する前記血液サンプルのサブフローに対する所定の分割比を設定するために相対的に調整されることを特徴とする、請求項 1 または 2 記載の分析用検査要素。

【請求項 4】

前記混合部位 (40) が、希釈済みの血液サンプルを溶血させるための溶解剤 (38) が供与された溶解チャンバー (40) を含むことを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に

記載の分析用検査要素。

【請求項 5】

前記経路構造 (14) が、前記血液サンプルの総ヘモグロビン値 (Hb) を測定するための第 1 分析経路 (28) と該血液サンプルのグリコヘモグロビン値 (HbA1c) を測定するための第 2 分析経路 (30) とを有していることを特徴とする、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の分析用検査要素。

【請求項 6】

血液サンプルが分析用検査要素 (10) 内をミクロ流体用経路構造 (14) を介してその適用部位 (18) から少なくとも 1 つの分析部位 (20, 22) へと運搬される、特に単回用簡易検査として血液分析を実施するための方法であって、該ミクロ流体用経路構造中の分離手段に微粒血液成分を保持することにより液体成分を該血液サンプルから取得し、さらに該成分を分析しようとする該血液サンプルの一部に加えて該液体成分のみによってこれを希釈することを特徴とする、前記方法。

10

【請求項 7】

出発物質である全血サンプルが前記経路構造 (14) 中の希釈経路 (24) とサンプル経路 (26) に並行するサブフローとして供給され、また該希釈経路 (24) 内の細胞成分が枯渇したサブフローが混合部位 (40) にて該サンプル経路 (26) 内のサブフローと合流することを特徴とする、請求項 6 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

本発明は、好ましくは血液サンプルをその適用部位から少なくとも 1 つの分析部位へフロー輸送するためのミクロ流体用経路構造を有する基体を含む、特に単回用簡易検査による血液分析のための分析用検査要素に関する。また本発明は、血液サンプルが、該分析用検査要素中の経路構造を介してその適用部位から少なくとも 1 つの分析部位へと運搬される、血液分析を実施するための対応する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

このタイプの検査要素としては、特許文献 1 に記載されたものが知られている。この出願では、血漿または血清を全血サンプルから分離するよう特別に設計されかつ 2 つの毛管作用性領域を含む経路構造またはフロー構造について記載されている。尚、該領域のうち第 1 の領域は多孔性マトリクス材料からなり、またこの第 1 の領域と接している第 2 の領域は 1 つ以上の毛管経路を含んでいる。その結果、第 1 の領域で得られる血漿を、例えばグルコース検査の対象液として、干渉成分を含まないかたちで第 2 の領域で利用することができる。

30

【0003】

一般に、検査要素とは、当座の分析または今後の分析用のサンプルを研究室の環境に左右されることなく調製することを可能にする、液体サンプル入手用の担体結合型流体用 (マイクロ) システムであると理解されている。かかる検査要素は通常、検査を実施するのに必要な全ての試薬が該担体上または構成要素上に供給されているために素人でも特別な操作を必要とせずに行うことができる、患者のすぐ側で行う診断のための単回用製品または使い捨て用品とされている。

40

【0004】

かかる検査要素は、特に糖尿病患者が血糖値をチェックする際のテストストリップとして使用される。また一方で、ヘモグロビン A1c 値を測定することにより、過去数週間分の平均グルコース濃度、ひいては該糖尿病患者の代謝調節における特質を回顧的に評価することが可能となる。HbA1c は、ヘモグロビン A の β 鎖 N 末端におけるパリン残基がグルコースで糖化されたものと定義されている。通常、HbA1c は総ヘモグロビン量に占めるその割合で表されるため、該 HbA1c 含量だけでなく同じ血液サンプル中のヘモグロビン濃度も測定する必要がある。この Hb と HbA1c の二重測定は、以前は非常に操作が煩雑であり、従

50

ってミスを起こしやすく、しかも高価な実験器具にて実施されていた。

【特許文献1】WO 01/24931

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の目的は、従来技術が抱えるこうした不都合な点を回避すること、また、特に分析物が初期サンプル内に高濃度で存在する場合に、安価で使用者による影響ができる限り少なくかつ試薬消費量を抑えた血液検査が実施できるように、検査要素を改良することである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

前記目的を達成するために、本発明の特許請求の範囲にて独立クレーム中に記載した特徴の組み合わせを提供する。本発明の好都合な実施形態およびこれをさらに発展させた形態については、従属クレームとして記載してある。

【発明を実施するための最良の形態】

【0007】

本発明において、前記経路構造は、血液サンプルをロードすることが可能でありかつ微粒血液成分を保持するための分離手段を含有する希釈経路と、希釈しようとする血液サンプルのアリコートを運搬しかつ該希釈経路と混合部位にて合流するサンプル経路とを有する。該経路構造により、使用者が適用した全血を、追加の液体を供給することなくその本来の液体成分自体で希釈することが可能となる。サンプル物質による希釈は、使用者による煩雑な手動操作工程または分析器による複雑な機械的相互作用を不要にするフロー輸送によって自動的に制御される。

【0008】

前記血液サンプルは、該サンプルの流れをさらに分割する接合部を介して前記サンプル経路および前記希釈経路に都合良く供給することができる。この点に関してさらに述べると、血液サンプルを中心点に加え、該接合部、すなわち該サンプル経路との分岐点において所定の比率で分割することにより、該サンプル経路および該希釈経路に該血液サンプルをロードすることができる。通過する該血液サンプルを部分的な流れに分割するための特定の比率を設定するには、該サンプル経路と該希釈経路の相対的な経路断面積が適切に調整されていると都合が良い。ヘモグロビン濃度を低下させるには、該希釈経路における流速を該サンプル経路における流速の10倍以上、好ましくは100倍以上とすると特に都合が良い。

【0009】

細胞成分を保持するためには、特にグラスファイバーフリースまたは微小孔性のフィルターマトリクスもしくはフィルターメンブレンを含むフィルター要素が分離手段として前記希釈経路内、好ましくはフィルターチャンバー内に配置されていると都合が良い。あるいは、またはこれに加えて、該希釈経路が前記血液サンプルの細胞成分を保持するよう設計された微細構造形態を分離手段として有していてもよい。

【0010】

別の好都合な実施形態では、前記混合部位は希釈済みの血液サンプルを溶血させるための溶解剤が供与された溶解チャンバーを含んでいる。

【0011】

本発明の一態様およびその変法では、前記経路構造は前記血液サンプルの総ヘモグロビン値(Hb)を測定するための第1分析経路と、該血液サンプルのグリコヘモグロビン値(HbA1c)を測定するための第2分析経路とを有する。該経路構造により、血液を単に検査要素に加えるだけで、HbA1c検査を割り当てられた流路内でワンステップにて実施することが可能となる。

【0012】

ある好都合な実施形態では、前記の分析経路は並列に配置されており、前記混合部位下

10

20

30

40

50

流のフロー分割器として機能する分岐点を介してこれらの分析経路に希釈済みの血液サンプルをロードすることができる。

【0013】

前記第1分析経路が、放出されたヘモグロビンを酸化するために組み込まれた酸化剤、特にフェリシアン化物を含有する酸化チャンバーを有していると、総ヘモグロビン値を測定する際に都合が良い。

【0014】

前記第2分析経路はグリコヘモグロビン濃度の免疫濁度測定を行うために有利となるよう設計されている。このためには、該第2分析経路はHbA1c抗体が供給されている第1反応チャンバーと、該第1反応チャンバーの下流に配置された凝集剤を含有する第2反応チャンバーとを有するのが有利である。

10

【0015】

血中のHbA1cを測定するための他の基本的な方法、例えばEP-A-0989407に記載された方法も当業者には公知である。これらの方法もまた本発明で使用することが可能であり、またそれ故、これらの方法は明らかに本発明に含まれる。

【0016】

前記分析経路の末端部分は光度分析用キュベットとして設計されており、簡便な非接触検出用の分析部位を成す。

【0017】

サンプル液を安全かつ衛生的に回収するためには、該サンプル液が前記分析経路から回収用貯蔵器に排出されると都合が良い。

20

【0018】

自動フロー輸送は、全体的または部分的に毛管形態を有する前記経路構造によって達成される。該経路構造が表面加工、例えばプラズマ処理や被膜によって改変された障壁部分を有していると、フロー輸送を制御する際に都合が良い。別の好都合な実施形態では、該経路構造は該フロー輸送を制御するためのバルブ要素を、特に親水性または疎水性の経路部分の形で有する。しかし基本的には、該経路構造内のフロー輸送を、前記基体に作用する外部制御手段によって、特に圧力または遠心力を局所的に加えることによって外部から制御することも可能である。

【0019】

30

前記の手法においては、本発明の目的は、分析しようとする血液サンプルの一部に希釈目的で導入する液体成分を同血液サンプルから得ることによって達成される。好都合な実施形態では、出発物質である全血サンプルは前記経路構造中の希釈経路とサンプル経路とに送り込まれて並行する複数のサブフローとなり、さらに該希釈経路における細胞成分が枯渇したサブフローは混合部位にて該サンプル経路におけるサブフローと合流する。

【実施例】

【0020】

図中に概略を示した適用例に基づいて、本発明を以下により詳しく説明する。図1は簡易検査において血液サンプル中のHb値およびHbA1c値を測定するための分析検査要素を表す。

40

【0021】

図中の検査要素10は、分析しようとするごく微量の(μ L)血液サンプル16を、適用領域18からHbおよびHbA1cのための測定もしくは分析部位20、22へフロー輸送する目的で作成された経路構造14を含有する、細長い支持体または基体12を含む。

【0022】

前記基体12は、プラスチックから射出成形部位として、または何層かのアルミ箔から作成される複合部位として成形することができる。該基体12は単回用検査用の消耗品またはいわゆる使い捨て用品として設計される。

【0023】

前記経路構造14は、前記基体内にて直接成形するか、またはエンボス加工やスタンピン

50

グなどの特殊な加工方法によって成形することができる。また少なくともその一部分は、血液の毛管作用性自動フロー輸送に適した毛管形態を有する。

【0024】

前記適用領域18を開始点とする前記経路構造14は、希釈経路24、アリコートまたはサンプル経路26およびそれぞれ分析部位20、22へと通じる2つの分析経路28、30を有する。

【0025】

前記血液サンプル16を、接合部32を介して前記希釈経路24と前記サンプル経路26に供給することにより、該血液サンプルを2つの並行する流れに分けることができる。これらの経路の断面積が適切に設計されているため、該希釈経路24における流速は該サンプル経路26における流速よりも何倍も速い。

10

【0026】

前記希釈経路24は、分離チャンバー34内に、これを通過する一部の血液サンプル16の細胞成分を保持するための分離手段36を収容している。かかる分離手段36は、例えば該分離チャンバー34内に配置されたグラスファイバーフリースであってもよい。

【0027】

前記希釈経路24および前記サンプル経路26は、溶解剤38を含有する混合または溶解チャンバー40内にその内容物を排出する。その出口側はフロー分割器として機能する分岐点41を介して分析経路28、30へと通じている。

【0028】

放出されたヘモグロビンを酸化するため、ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムなどの酸化剤42を含有する酸化チャンバー44が前記第1分析経路28中に配置されている。その下流に配置された前記分析部位20は、Hbの光度測定用キュベットとして設計されている。

20

【0029】

前記第2分析経路30は、グリコヘモグロビンの免疫濁度測定に使用される。このため、該経路はHbA1c抗体48が供給されている第1反応チャンバー46と、それに続いて、過剰なHbA1c抗体に対する凝集剤52を含有する第2反応チャンバー50とを有する。前記第2分析部位22はこれらの反応チャンバーの下流に配置されており、これもやはり濁度の光度測定用キュベットとして設計されている。

【0030】

前記分析経路20、22はいずれも、検査済みの液体サンプルを廃棄物として共通の回収用貯蔵器54内に排出する。親水性または疎水性の表面改質を施した障壁またはバルブ要素56をこれらのキュベット20、22、および場合により前記チャンバー40、44、46、50の出口側に配置することにより、前記フロー輸送を制御することができる。これらの要素により、反応工程の制御、特にサンプル容量と測定工程の制御、前記反応チャンバーにおける導入された乾燥試薬の溶解とその混合が、例えばその液流を一時的に遮断することによって可能となる。

30

【0031】

グリコヘモグロビンを測定するためのin vitro簡易検査を実施するため、使用者により少量の全血が前記適用領域18に加えられる。そのアリコートは前記サンプル経路26を介して前記溶解チャンバー40へと運ばれ、前記希釈経路24にて赤血球を取り除いて得られた血漿と該チャンバー内で混じり合う。その結果、分析物の濃度は所定の値まで希釈されるかまたは低下するため、さらに希釈用の液体で処理する必要は無い。またその際、該サンプルは該溶解チャンバー40において、赤血球を溶解して赤色色素を有するヘモグロビンを放出させる乾燥物質として供与された溶解剤38（例えばサポニン）と混じり合う。

40

【0032】

前記の希釈済み溶血血液の一部は前記分岐点41を介して前記第1分析経路28へと運ばれ、前記酸化チャンバー44内で特徴的なスペクトルを有する誘導体へと変換される。該誘導体が前記キュベット20を通過した後、図中には示されていない光度計を用いて総ヘモグロビン濃度Hbを測定することができる。

【0033】

50

グリコヘモグロビン濃度を測定する場合、前記の希釈済み溶血血液の別の一部は前記分岐点41を介して前記第2分析経路30へと運ばれる。この経路内にある前記第1反応チャンバーにおいて前記サンプルに由来するグリコヘモグロビンHbA1cが過剰なHbA1c抗体48と混ざり合い、可溶性抗原-抗体複合体へと変換される。残った遊離抗体48を前記第2反応チャンバー50にて凝集させた後、前記キュベット22にて濁度を測定する。濁度における変化は結合したグリコヘモグロビンの量に反比例している。その後、Hbに対するHbA1cの割合として最終結果を算出する。

【0034】

上記の検査手順により、追加の液体を供給したり加えたりする必要の無いワンステップの手法を実施することができる。供給された乾燥試薬を自動統制マイクロ流体用反応経路内で制御して溶解させることにより、得られた血漿量をその後の工程で、例えば過剰な試薬を洗い流すために使用し得るような他の測定方法の使用も含めたHbA1c検査の他の実施形態も可能になることは明らかである。基本的には、直列に並べた経路部分内で、また場合により事前にサンプルを希釈することなしに、HbおよびHbA1c測定を実施することが可能である。また前記経路構造の少なくとも一部を多孔性マトリクス材料から形成することも考えられる。

【図面の簡単な説明】

【0035】

【図1】図1は、簡易検査において血液サンプル中のHb値およびHbA1c値を測定するための分析検査要素を例示したものである。

【符号の説明】

【0036】

- 10：検査要素
- 12：支持体または基体
- 14：経路構造
- 16：血液サンプル
- 18：適用部位または領域
- 20：Hbのための測定または分析部位
- 22：HbA1cのための測定または分析部位
- 24：希釈経路
- 26：アリコートまたはサンプル経路
- 28：第1分析経路
- 30：第2分析経路
- 32：接合部
- 34：フィルターチャンバーまたは分離チャンバー
- 36：分離手段
- 38：溶解剤
- 40：混合部位または混合もしくは溶解チャンバー
- 41：分岐点
- 42：酸化剤
- 44：酸化チャンバー
- 46：第1反応チャンバー
- 48：HbA1c抗体
- 50：第2反応チャンバー
- 52：凝集剤
- 54：回収用貯蔵器
- 56：障壁またはバルブ要素

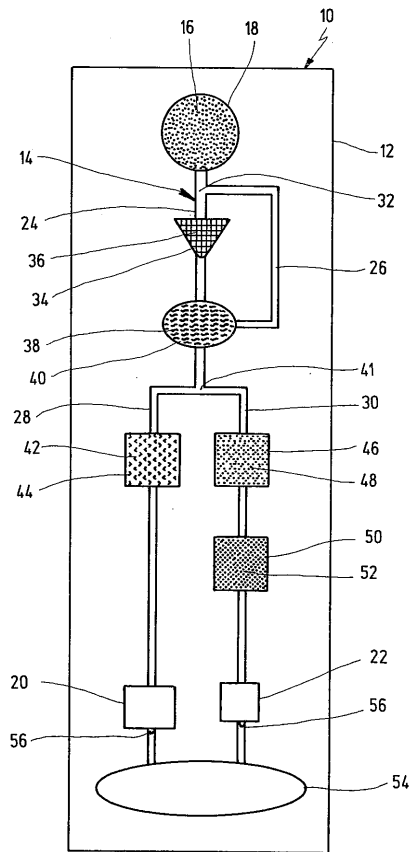
10

20

30

40

【図 1】



フロントページの続き

- (72)発明者 ジークフリート ノエッツェル
ドイツ国 デー－６９２５９ ヴィルヘルムスフェルト, ジルベルガッセ ３８
- (72)発明者 ジーン－フィリップ ボガルディ
ドイツ国 デー－６８１６５ マンハイム, アウガルテンシュトラ－セ ４０
- (72)発明者 ディエター マンゴルト
ドイツ国 デー－６７１３３ マクスドルフ, フェッテンムエラーシュトラ－セ ３３

審査官 福田 裕司

- (56)参考文献 米国特許第０６４７５４４１ (US, B1)
特表２００２－５４２４６１ (JP, A)
特表２０００－５０３１１６ (JP, A)
特開平０７－０７７５２５ (JP, A)
特開平０７－０８３９３５ (JP, A)
特開平１０－１３２７１２ (JP, A)
特開２０００－０５５９１１ (JP, A)
特表平０６－５０８６９０ (JP, A)
特表平０７－５０６２５７ (JP, A)
特表平０７－５０６４３１ (JP, A)
特表平０９－５１１４０７ (JP, A)
特表平０９－５０９４９８ (JP, A)
特表平１１－５１２６４５ (JP, A)
特表２００１－５１５２１６ (JP, A)
特表２００２－５０５４３９ (JP, A)
特表２００２－５２７２５０ (JP, A)
特表２００３－５０７７３７ (JP, A)
特表２００３－５３２４００ (JP, A)
国際公開第０１／０６３２７３ (WO, A1)
国際公開第０３／０９３８３６ (WO, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- | | |
|---------|-----------|
| G 0 1 N | 3 5 / 0 8 |
| G 0 1 N | 3 3 / 4 8 |
| G 0 1 N | 3 3 / 5 3 |
| G 0 1 N | 3 3 / 7 2 |
| G 0 1 N | 3 7 / 0 0 |

专利名称(译)	用于血液分析的分析测试元件和方法		
公开(公告)号	JP4192103B2	公开(公告)日	2008-12-03
申请号	JP2004021784	申请日	2004-01-29
申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
当前申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
[标]发明人	ジークフリートノエツツエル ジーンフィリップペボガルディ ディエターマンゴルト		
发明人	ジークフリート ノエツツエル ジーン-フィリップ ペボガルディ ディエター マンゴルト		
IPC分类号	G01N35/08 G01N37/00 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/72 B01L3/00 G01N33/558 G01N35/02		
CPC分类号	B01L3/502746 B01L3/502753 B01L2200/10 B01L2300/0681 B01L2300/0809 B01L2300/0867 G01N33/558 G01N33/721 Y10T436/25 Y10T436/25125 Y10T436/25375 Y10T436/255 Y10T436/25625 Y10T436/2575		
FI分类号	G01N35/08.A G01N37/00.101 G01N33/48.B G01N33/53.V G01N33/72.A G01N35/02.F		
F-TERM分类号	2G045/BB01 2G045/BB10 2G045/BB41 2G045/CA25 2G045/DA45 2G045/FB03 2G045/JA07 2G058/BA01 2G058/BA07 2G058/CC08 2G058/CC11 2G058/DA07 2G058/GA02		
代理人(译)	荒井英一		
审查员(译)	福田雄二		
优先权	10305050 2003-02-07 DE		
其他公开文献	JP2004239904A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：以低成本进行血液分析，对用户影响很小，并且减少了试剂消耗。ŽSOLUTION：用于分析的检测元件最好用于血液分析，特别是通过一次性简单检查，并包括基板（12），其具有用于将血液样品输送到一个或多个分析部件的微流体（14）的路径结构（20），22）来自应用部分（18）。路径结构（14）可以加载血液样本并且包括稀释路径（24），其具有用于保留颗粒血液成分的分离装置（36），以及样本路径（26），其将血液样本的等分试样输送到稀释并在混合部分（40）与稀释路径（24）合并。Ž

【 図 1 】

