

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-36105

(P2018-36105A)

(43) 公開日 平成30年3月8日(2018.3.8)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/543 5 2 5 U	2 G O 5 8
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 D	
<b>GO 1 N 33/553 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/543 5 2 5 W	
<b>GO 1 N 37/00 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/553	
<b>GO 1 N 35/08 (2006.01)</b>	GO 1 N 37/00 1 0 1	
審査請求 未請求 請求項の数 40 O L (全 38 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-168313 (P2016-168313)  
 (22) 出願日 平成28年8月30日 (2016. 8. 30)

(71) 出願人 390014960  
 シスメックス株式会社  
 兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号  
 (74) 代理人 100065248  
 弁理士 野河 信太郎  
 (74) 代理人 100159385  
 弁理士 甲斐 伸二  
 (74) 代理人 100163407  
 弁理士 金子 裕輔  
 (74) 代理人 100166936  
 弁理士 稲本 潔  
 (72) 発明者 堀井 和由  
 神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号  
 シスメックス株式会社内  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試料分析用カートリッジ及びその製造方法、並びにその利用

(57) 【要約】

【課題】

輸送過程における振動や衝撃に耐え、且つ、使用時に液体中に容易に分散するように担体粒子が乾燥固定された試料分析用カートリッジと、これを用いる被検物質の検出方法を提供する。

【解決手段】

試料分析用カートリッジは、被検物質を含む液体を収容するためのチャンバ、及び、該チャンバと接続可能であって該チャンバに供給すべき液体試薬を収容するための収容部が形成されたカートリッジ基体と、チャンバの内壁に固定された担体粒子と、収容部に収容された第1の液体試薬と、被検物質に特異的に結合する第1の捕捉物質とを備える。また、この試料分析用カートリッジでは、担体粒子は、糖及びタンパク質を含む固体混合物でチャンバの内壁に固定されている。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

被検物質を含む液体を収容するためのチャンバ、及び、前記チャンバと接続可能であって前記チャンバに供給すべき液体試薬を収容するための収容部が形成されたカートリッジ基体と、

前記チャンバの内壁に固定された担体粒子と、

前記収容部に収容された第 1 の液体試薬と、

前記被検物質に特異的に結合する第 1 の捕捉物質と

を備え、

前記担体粒子が、糖及びタンパク質を含む固体混合物で前記内壁に固定されている、  
試料分析用カートリッジ。

10

## 【請求項 2】

前記固体混合物において、前記タンパク質に対する前記糖の重量比が0.1以上100以下である請求項 1 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 3】

前記固体混合物において、前記タンパク質に対する前記糖の質量比が0.5以上30以下である請求項 2 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 4】

前記固体混合物に含まれる前記タンパク質に対する前記担体粒子の質量比が0.05以上10以下である請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

20

## 【請求項 5】

前記担体粒子が、糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて得た担体粒子の懸濁液を、チャンバの内壁上で乾燥させることにより得られ、

前記担体粒子の懸濁液におけるタンパク質の濃度が、0.1質量%以上20質量%以下である

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 6】

前記担体粒子の懸濁液における糖の濃度が、0.5質量%以上30質量%以下である請求項 5 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 7】

前記第 1 の捕捉物質が、前記第 1 の液体試薬中に含まれている請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

30

## 【請求項 8】

前記第 1 の捕捉物質が、前記担体粒子の表面に固定されている請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 9】

前記第 1 の捕捉物質が、前記被検物質に特異的に結合する抗体又は抗原である請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 10】

前記担体粒子が、磁性粒子である 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

40

## 【請求項 11】

前記固体混合物に含まれる糖が、単糖類及び二糖類から選択される少なくとも 1 つである請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

## 【請求項 12】

前記固体混合物に含まれる糖が、スクロース、トレハロース、グルコース、ラクトース、フルクトース、マルトース及びガラクトースから選択される少なくとも 1 つである請求項 11 に記載のカートリッジ。

## 【請求項 13】

前記固体混合物に含まれるタンパク質が、前記担体粒子及び前記第 1 の捕捉物質を安定化する作用を有するタンパク質から選択される少なくとも 1 つである請求項 1 ~ 12 のい

50

ずれか 1 項に記載のカートリッジ。

【請求項 1 4】

前記固体混合物に含まれるタンパク質が、アルブミン、クリスタリン、カゼイン、正常血清タンパク質、コラーゲン、ゼラチン、ゲリゼート、スキムミルク、乳酸発酵物、及びそれらの分解産物から選択される少なくとも 1 つである請求項 1 3 に記載のカートリッジ。

【請求項 1 5】

前記固体混合物に含まれる糖がスクロースであり、且つ、前記固体混合物に含まれるタンパク質がウシ血清アルブミンである請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

10

【請求項 1 6】

前記担体粒子が固定されているチャンバが、シクロオレフィンポリマー、ポリメチルメタクリレート、シクロオレフィンコポリマー、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリカーボネート、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合体及びガラスから選択される材質で構成される請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

【請求項 1 7】

形状がプレート状である、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

【請求項 1 8】

前記被検物質に特異的に結合する第 2 の捕捉物質を含む第 2 の液体試薬をさらに備え、前記第 2 の液体試薬が、前記第 1 の液体試薬が収容されている収容部とは異なる収容部に収容されている、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載のカートリッジ。

20

【請求項 1 9】

試料分析用カートリッジ内に形成されたチャンバの内壁に固定された担体粒子と、被検物質を含む試料と、前記被検物質に特異的に結合する第 1 の捕捉物質と、第 1 の液体試薬とを、前記チャンバ内で接触させる工程と、

攪拌により、前記担体粒子を、前記被検物質と前記第 1 の捕捉物質と前記第 1 の液体試薬とを含む混合液中に分散させる工程と、

分散した前記担体粒子上に、前記被検物質と前記第 1 の捕捉物質とを含む複合体を形成させる工程と、

30

前記複合体に含まれる被検物質を検出する工程とを含み、

前記試料分析用カートリッジにおいて、前記担体粒子が、糖及びタンパク質を含む固体混合物で前記内壁に固定されている、

試料分析用カートリッジを用いる被検物質の検出方法。

【請求項 2 0】

前記固体混合物において、前記タンパク質に対する前記糖の質量比が 0.1 以上 100 以下である請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記固体混合物において、前記タンパク質に対する前記糖の質量比が 0.5 以上 30 以下である請求項 2 0 に記載の方法。

40

【請求項 2 2】

前記試料分析用カートリッジにおいて、前記固体混合物に含まれる前記タンパク質に対する前記担体粒子の質量比が 0.05 以上 10 以下である請求項 1 9 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記第 1 の液体試薬が、前記被検物質に特異的に結合する第 1 の捕捉物質を含む溶液である 1 9 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記担体粒子が、前記被検物質に特異的に結合する第 1 の捕捉物質が表面に固定された

50

粒子である請求項 19 ~ 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

前記第 1 の捕捉物質が、前記被検物質に特異的に結合する抗体又は抗原である請求項 19 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

前記担体粒子が、磁性粒子である請求項 19 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記固体混合物に含まれる糖が、単糖類及び二糖類から選択される少なくとも 1 つである請求項 19 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

前記固体混合物に含まれる糖が、スクロース、トレハロース、グルコース、ラクトース、フルクトース、マルトース及びガラクトースから選択される少なくとも 1 つである請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記固体混合物に含まれるタンパク質が、前記担体粒子及び前記第 1 の捕捉物質を安定化する作用を有するタンパク質から選択される少なくとも 1 つである請求項 19 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

前記固体混合物に含まれるタンパク質が、アルブミン、クリスタリン、カゼイン、正常血清タンパク質、コラーゲン、ゼラチン、ゲリゼート、スキムミルク、乳酸発酵物、及びそれらの分解産物から選択される少なくとも 1 つである請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記固体混合物に含まれる糖がスクロースであり、且つ、前記固体混合物に含まれるタンパク質がウシ血清アルブミンである請求項 19 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

前記試料が、血液、血漿又は血清である請求項 19 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

前記複合体の形成工程と検出工程との間に、前記被検物質に特異的に結合する第 2 の捕捉物質を含む第 2 の液体試薬をさらに添加し、分散した前記担体粒子上に、前記被検物質と前記第 1 の捕捉物質と前記第 2 の捕捉物質とを含む複合体を形成させる請求項 19 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 34】

前記第 2 の捕捉物質が、前記被検物質に特異的に結合する標識抗体又は標識抗原であり、

前記複合体に含まれる標識抗体又は標識抗原の標識に基づいて、被検物質を検出する請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記攪拌が、前記カートリッジに遠心力及び慣性力の少なくとも一方を付与し、且つ、付与する遠心力及び慣性力の大きさを経時変化させることにより行われる請求項 19 ~ 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて担体粒子の懸濁液を得る工程と、

被検物質を含む液体を収容するためのチャンバが形成される基板上の、前記チャンバが形成される領域に、前記懸濁液を供給する工程と、

供給された懸濁液を乾燥させて、前記担体粒子を前記基板上的前記領域に固定する工程と、

乾燥固定された前記担体粒子を内包するチャンバを形成する工程とを含む、試料分析用カートリッジの製造方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 37】

糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて、担体粒子の懸濁液を得る工程と、

固相上に前記懸濁液を供給する工程と、

供給された前記懸濁液を乾燥させて、前記担体粒子を前記固相上に固定する工程とを含む、担体粒子の固定化方法。

## 【請求項 38】

前記懸濁液において、前記タンパク質に対する前記糖の質量比が0.1以上100以下である請求項 36 又は 37 に記載の方法。

## 【請求項 39】

前記担体粒子の懸濁液におけるタンパク質の濃度が、0.1質量%以上20質量%以下である請求項 36 ~ 38 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 40】

前記担体粒子の懸濁液における糖の濃度が、0.5質量%以上30質量%以下である請求項 39 に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、試料分析用カートリッジ及びその製造方法に関する。また、本発明は、試料分析用カートリッジを用いる被検物質の検出方法に関する。さらに、本発明は、担体粒子の固定化方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

試料中の被検物質を検出する方法として、マイクロ流体デバイスを用いる方法が知られている。マイクロ流体デバイスとは、微小な流路及び反応容器が形成されたチップやカートリッジなどをいう。試料分析に用いられるマイクロ流体デバイスには、被検物質と結合可能な捕捉物質を含む試薬や固相担体があらかじめ備えられている。マイクロ流体デバイスを用いる検出方法では、試料と試薬との混合、被検物質と捕捉物質との反応、被検物質を含む複合体の分離、及び被検物質の検出などの一連の操作が該デバイス内で行われる。

## 【0003】

特許文献 1 には、被検物質の検出に利用可能な、磁性粒子を備えたマイクロ流体デバイスが開示されている。この文献では、複数のチャンバを備える円盤形状のマイクロ流体デバイスにおいて、該デバイスの回転により生じる遠心力と磁力を利用して、1つのチャンバから隣のチャンバへと磁性粒子を移送する方法が開示されている。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0004】

【特許文献 1】米国特許第 8951417 号明細書

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

本発明者らは、担体粒子を備えたマイクロ流体デバイスの作製を試みた。具体的には、液体を収容するための容器が形成されたカートリッジを作製し、該カートリッジ内に形成された容器に担体粒子の懸濁液を収容した。しかし、カートリッジを保管している間に担体粒子が沈殿し、カートリッジの使用時に担体粒子が内部でつまるといった問題が生じた。そこで、本発明者らは、担体粒子をカートリッジ内に乾燥固定することを試みた。

## 【0006】

一方で、本発明者らは、担体粒子をカートリッジ内に乾燥固定する場合は、担体粒子の固定強度及び分散性を改善する必要があることを見出した。例えば、製品としてのカート

10

20

30

40

50

リッジの輸送中に、所定の位置に固定されていた担体粒子が振動や衝撃などによって脱離すると、脱離した担体粒子がカートリッジ内の別の部位に入り込むことがあり得る。その場合、被検物質の検出性能に影響を及ぼすおそれがある。また、被検物質を精度よく検出するためには、固定された担体粒子が、被検物質を含む溶液中に容易に分散することも望まれる。すなわち、担体粒子の高い固定強度と良好な分散性という二つの条件をいずれも満たす必要があった。

【0007】

以上のような事情を考慮して、本発明は、内部に強固に固定され、且つ、液体中に容易に分散するように担体粒子が乾燥固定された試料分析用カートリッジ及びこれを用いる被検物質の検出方法を提供することを目的とする。

10

【課題を解決するための手段】

【0008】

よって、本発明の第1の態様は、試料分析用カートリッジを提供する。この試料分析用カートリッジは、被検物質を含む液体を収容するためのチャンバ、及び、該チャンバと接続可能であって該チャンバに供給すべき液体試薬を収容するための収容部が形成されたカートリッジ基体と、チャンバの内壁に保持された担体粒子と、収容部に収容された第1の液体試薬と、被検物質に特異的に結合する第1の捕捉物質とを備える。また、この試料分析用カートリッジでは、担体粒子は、糖及びタンパク質を含む固体混合物でチャンバの内壁に固定されている。

20

【0009】

本発明の第2の態様は、試料分析用カートリッジを用いる被検物質の検出方法を提供する。この方法は、試料分析用カートリッジ内に形成されたチャンバの内壁に固定された担体粒子と、被検物質を含む試料と、被検物質に特異的に結合する第1の捕捉物質と、第1の液体試薬とを、チャンバ内で接触させる工程と、攪拌により、担体粒子を、被検物質と第1の捕捉物質と第1の液体試薬とを含む混合液中に分散させる工程と、分散した担体粒子上に、被検物質と第1の捕捉物質とを含む複合体を形成させる工程と、複合体に含まれる被検物質を検出する工程とを含む。この方法に用いられる試料分析用カートリッジでは、担体粒子は、糖及びタンパク質を含む固体混合物でチャンバの内壁に固定されている。

【0010】

本発明の第3の態様は、試料分析用カートリッジの製造方法を提供する。この方法は、糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて担体粒子の懸濁液を得る工程と、被検物質を含む液体を収容するためのチャンバが形成される基板の上の、該チャンバが形成される領域に、懸濁液を供給する工程と、供給された懸濁液を乾燥させて、担体粒子を基板上の上記領域に固定する工程と、乾燥固定された担体粒子を内包するチャンバを形成する工程とを含む。

30

【0011】

本発明の第4の態様は、担体粒子を固相上に固定する方法を提供する。この方法は、糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて、担体粒子の懸濁液を得る工程と、固相上に懸濁液を供給する工程と、供給された懸濁液を乾燥させて、担体粒子を固相上に固定する工程とを含む。

40

【発明の効果】

【0012】

本発明によれば、輸送過程における振動や衝撃に耐え、且つ、使用時に液体中に容易に分散するように担体粒子が乾燥固定された試料分析用カートリッジを提供できる。また、本発明は、そのような試料分析用カートリッジを用いて、試料中の被検物質を検出することを可能にする。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】チャンバの内壁に固定された磁性粒子の写真(左)及び3000 rpmで30秒間の遠心により500 Gの遠心力を加えた後の磁性粒子の写真(右)である。

50

【図 2 A】遠心による攪拌をする前の磁性粒子の写真(左)及び遠心による攪拌をした後の磁性粒子の写真(右)である。

【図 2 B】遠心による攪拌をする前の磁性粒子の写真(左)及び遠心による攪拌をした後の磁性粒子の写真(右)である。

【図 3 A】市販の液体試薬を用いた測定で得られたシグナルに対する、乾燥固定された磁性粒子を用いた測定で得られたシグナル比(%)を示すグラフである。

【図 3 B】市販の液体試薬を用いた測定で得られたシグナルに対する、乾燥固定された磁性粒子を用いた測定で得られたシグナル比(%)を示すグラフである。

【図 4 A】分析装置の外観構成を例示する模式図である。

【図 4 B】試料分析用カートリッジを上から見た場合の構成を例示する模式図である。

【図 5】分析装置の設置部材、磁石、移動機構、検出部、及び収容体を斜め上から見た場合の構成を示す図である。

【図 6】チャンバから生じた光が光検出器により受光される状態を側方から見た場合の模式図である。

【図 7】分析装置の本体部を斜め上から見た場合の構成を示す図、及び、蓋部を斜め下から見た場合の構成を示す図である。

【図 8】分析装置を、回転軸を通る鉛直面で切断した状態を示す断面図である。

【図 9】分析装置の動作を示すフローチャートである。

【図 10】隣り合うチャンバ間で複合体を移送する場合の分析装置の動作を示すフローチャートである。

【図 11 A】隣り合うチャンバ間で複合体を移送する様子を模式的に示す説明図である。

【図 11 B】隣り合うチャンバ間で複合体を移送する様子を模式的に示す説明図である。

【図 11 C】隣り合うチャンバ間で複合体を移送する様子を模式的に示す説明図である。

【図 12 A】隣り合うチャンバ間で複合体を移送する様子を模式的に示す説明図である。

【図 12 B】隣り合うチャンバ間で複合体を移送する様子を模式的に示す説明図である。

【図 12 C】隣り合うチャンバ間で複合体を移送する様子を模式的に示す説明図である。

【図 13】試料分析用カートリッジを上から見た場合の構成を例示する模式図である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

[1. 試料分析用カートリッジ]

本実施形態の試料分析用カートリッジ(以下、単に「カートリッジ」ともいう)は、試料中の被検物質の検出に必要な固相担体及び検出用試薬が適切に配置されたマイクロ流体デバイスである。被検物質を含む試料を本実施形態のカートリッジ内へ入れ、所定のプロセスで処理することにより、被検物質の検出が可能となる。所定のプロセスは、例えば、図 4 A に示すような本実施形態のカートリッジ専用の分析装置を用いて実行することが好ましい。なお、図 4 A に示される分析装置 100 については後述する。

【0015】

本実施形態のカートリッジが対象とする試料は、被検物質を含み得るかぎり、特に限定されない。試料としては、例えば、血液、血漿、血清、リンパ液、細胞又は組織の可溶化液などの生体試料、尿や糞便などの排泄物、河川水、海水、土壌などの環境サンプルなどが挙げられる。本実施形態のカートリッジは、血液、血漿及び血清中の被検物質の検出に適している。

【0016】

被検物質の種類は、被検物質に特異的に結合する捕捉物質が存在するか又はそのような捕捉物質を製造できるかぎり、特に限定されない。捕捉物質として抗体を用いる場合、抗原性を有する物質はいずれも被検物質になり得る。被検物質の例としては、タンパク質、ペプチド、核酸、生理活性物質、ベシクル、細菌、ウイルス、ハプテン、治療薬剤、治療薬剤の代謝物などが挙げられる。抗体も被検物質になり得る。タンパク質は、天然に存在するタンパク質だけでなく、組換えタンパク質などの非天然のタンパク質も含む。ペプチドは、アミノ酸残基数の多いポリペプチドだけでなく、ジペプチドやトリペプチドなどの

10

20

30

40

50

アミノ酸残基数の少ないオリゴペプチドも含む。核酸は、天然に存在する核酸だけでなく、核酸アナログなどの人工的に合成された核酸も含む。多糖類は、細胞又はタンパク質の表面に存在する糖鎖、及び、細菌の外膜成分であるリポ多糖も含む。生理活性物質としては、例えば、細胞増殖因子、分化誘導因子、細胞接着因子、酵素、サイトカイン、ホルモン、糖鎖、脂質などが挙げられるが、特に限定されない。ベシクルは、膜で構成された小胞であれば特に限定されない。ベシクルは、内部に液相を含んでいてもよい。ベシクルとしては、例えば、エクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体などの細胞外小胞や、リポソームなどの人工のベシクルなどが挙げられる。

【0017】

本実施形態のカートリッジは、少なくとも、カートリッジ基体と、担体粒子と、第1の液体試薬と、被検物質に特異的に結合する第1の捕捉物質とを備える。

10

【0018】

カートリッジ基体(以下、単に「基体」ともいう)とは、被検物質の検出に必要な担体粒子及び液体試薬を使用時まで収容しておく保存容器としての役割と、試料と試薬との反応が行われる反応容器としての役割とを果たす部材である。本実施形態において、基体には、被検物質を含む液体を収容するためのチャンバ、及び、該チャンバと接続可能であってチャンバに供給すべき液体試薬を収容するための収容部が形成されている。チャンバは、基体において反応容器に該当する部分であり、収容部は、基体において保存容器に該当する部分である。該基体において、チャンバと収容部とは、流路により接続される。基体の厚みは特に限定されないが、例えば0.2 mm以上10 mm以下であればよい。チャンバ及び収容部の容積は特に限定されないが、例えば0.1 µL以上500 µL以下であればよい。チャンネルの内径又は幅は特に限定されないが、例えば0.1 µm以上5000 µm以下であればよい。

20

【0019】

本実施形態では、基体には、複数のチャンバを形成してもよい。また、基体には、それらのチャンバと接続可能な複数の収容部を形成してもよい。この場合、チャンバの数と収容部の数は、同じであってもよいし、異なってもよい。基体に複数のチャンバを形成する場合、該基体に、それらのチャンバを接続する流路であるチャンネルをさらに形成することが好ましい。また、基体に、外部から被検物質を含む試料を入れるための開口部をさらに形成することが好ましい。

【0020】

カートリッジ基体の材質は、免疫学的測定に通常用いられる固相と同じ材質が適用可能である。そのような材質としては、例えば、シクロオレフィンポリマー(COP)、ポリメチルメタクリレート(PMMA)、シクロオレフィンコポリマー、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリカーボネート、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合体、及びガラスなどが挙げられる。材質は1種類であってもよいし、2種類以上を組み合わせてもよい。例えば、チャンバが上記から選択されるいずれか1つの材質で構成され、チャンネル及び収容部などの残りの部分がチャンバとは異なる材質で構成されてもよい。本実施形態では、カートリッジ基体の材質は、光を透過する材質であることが好ましい。

30

【0021】

本実施形態において、基体は、該基体の基礎的部材である基板に、チャンバ及び収容部を形成することにより得ることができる。基板には、さらにチャンネル及び開口部を形成することが好ましい。すなわち、基板は、チャンバ、収容部、チャンネル及び開口部が形成される部材である。基板は、基体と同じ材質のプレート状部材であることが好ましい。例えば、基体は、基板の表面に、チャンバ、収容部、チャンネル及び開口部となる凹部を形成し、この基板に、該基板の全面を覆うフィルムを貼り合わせることによって得ることができる。ただし、図4Bを参照して、開口部241、封止体231a及び232aがある部分の上面には、フィルムが貼り合わせられていない。基板上に形成された凹部がフィルムで覆われることで、該凹部は、チャンバ、収容部、チャンネル及び開口部となる。

40

【0022】

また、基体は、チャンバ、収容部及びチャンネルとなる凹部と、開口部となる孔とを形成

50

した基板と、該基板とは左右対称にチャンバ、収容部、チャンネル及び開口部となる凹部が形成された別の基板とを貼り合わせることによって得ることができる。開口部の孔は、いずれか一方の基板に形成されていればよい。あるいは、基体は、基板上に、チャンバ、収容部及びチャンネルを構成する部品を設置することによって得ることができる。この場合、設置される部品は、接着剤や融着技術により基板上に固定されることが好ましい。

#### 【0023】

開口部は、被検物質を含む試料を外部からカートリッジ内へ入れるための入り口部分である。開口部は、流路を介してチャンバの1つに接続されている。試料の種類に応じて、開口部と、該開口部と接続したチャンバとの間に、試料を一旦収容するための試料収容部をカートリッジ基体に形成してもよい。例えば、試料が、被検物質と不溶性夾雑物とを含む液体試料である場合、試料収容部は、該液体試料を、被検物質を含む上清と不溶性夾雑物とに分離するための場所(分離部)として利用できる。

10

#### 【0024】

基体において、チャンバ、収容部、チャンネル及び開口部の配置は特に限定されない。好ましい本実施形態では、カートリッジに遠心力及び慣性力の少なくとも一方を付与したときに、開口部から入れられた試料がチャンネルを通過してチャンバに移送され、且つ、収容部に収容された第1の液体試薬が該チャンバに移送されるように、チャンバ、収容部、チャンネル及び開口部を配置する。以下、図面を参照して、カートリッジを構成する基体の一例について説明する。しかし、本実施形態のカートリッジは、この例に限定されるものと解されるべきではない。図4Bを参照して、カートリッジ200は、円盤形状の基体200aにより構成される。この図では、カートリッジは円盤形状として示されているが、この形状に限定されない。本実施形態のカートリッジは、プレート状であることが好ましい。形状としては、例えば、円盤形状、矩形形状などが挙げられる。また、カートリッジは、突起部分などを有してもよい。

20

#### 【0025】

基体200aは、孔201と、チャンバ211~216と、チャンネル220と、6つの収容部231と、収容部232と、開口部241と、分離部242と、チャンネル243とを備える。孔201は、基体200aの中心において基体200aを貫通している。カートリッジ200は、孔201の中心が、後述する回転軸311(図8参照)に一致するように分析装置100に配置される。以下、回転軸311を中心とする円の径方向及び周方向をそれぞれ単に「径方向」及び「周方向」と称する。チャンバ211~216は、基体200aの外周付近において周方向に並んでいる。

30

#### 【0026】

チャンバ211~216、チャンネル220、6つの収容部231、収容部232、分離部242及びチャンネル243は、基体200a上に凹部として形成される。さらに、基体200aは、カートリッジ200の周方向の基準の位置(ホームポジション)を定める指標(インデックス)を備える。インデックスは、例えば基体200aに設けられた1つの孔であって、本体部101の所定の位置に、そのインデックスに対向するセンサ(例えば、光センサ)が配置されてインデックスを検出する。

40

#### 【0027】

チャンバ211~216は、被検物質を含む液体を収容するためにカートリッジ200に設けられた収容部である。チャンバ内には常に液体が入っていてもよい。チャンバは、液体を収容するために空間的な広がりをも有していればよい。チャンネル220は、試料を担体粒子と共にあるチャンバから別のチャンバへ移送するためにカートリッジ200に設けられた流路である。チャンネル220は、周方向に延びた円弧状の領域221と、径方向に延びた6つの領域222とを備える。領域221は、6つの領域222と繋がっている。6つの領域222は、それぞれチャンバ211~216に繋がっている。6つの収容部231は、流路を介してチャンネル220に繋がっており、それぞれチャンバ211~216に繋がる領域222の延長線上にある。収容部232は、流路を介して、チャンバ216に繋がる領域222と、チャンバ216に繋がる領域222の延長線上にある収容部

50

231とを繋ぐ流路に繋がっている。

【0028】

収容部231には、径方向の内側の上面に封止体231aが設けられている。封止体231aは、後述する開栓部195によって上から押されることにより開栓される。これにより、収容部231の内部が、封止体231aの位置においてカートリッジ200の外部と繋がる。同様に、収容部232にも、径方向の内側の上面に封止体232aが設けられている。封止体232aは、開栓部195によって上から押されることにより開栓される。これにより、収容部232の内部が、封止体232aの位置においてカートリッジ200の外部と繋がる。

【0029】

図4Bには示されないが、封止体231a及び封止体232aは、それぞれ収容部231及び232の径方向の外側の上面にも設けられてもよい。収容部を2つの封止体で閉鎖することで、カートリッジを使用するまで、収容部に収容された液体試薬等を安定に保存できる。これらの封止体も、開栓部195によって上から押されることにより開栓される。これにより、収容部231及び232が、流路を介してチャンバと接続される。

【0030】

被検物質を含む試料は、開口部241を介して分離部242に注入される。試料が血液である場合、分離部242にて、遠心力により血液を血球と血漿とに分離できる。分離部242で分離された血漿は、チャンネル243に移動する。チャンネル243の径方向の内側の上面には、孔243aが設けられている。チャンネル243内の領域243bに位置付けられた血漿は、カートリッジ200が回転されると遠心力によりチャンバ211に移動する。これにより、所定量の血漿がチャンバ211に移送される。

【0031】

図4Bでは、基体200aの各構成は、基体200aの3分の1の領域にのみ形成されている。しかし、本実施形態はこの例に限定されない。図4Bに示される一群の構成を、残りの3分の2の領域に形成して、基体200aに一群の構成を3つ設けてもよい。

【0032】

本実施形態のカートリッジでは、担体粒子は、糖及びタンパク質を含む固体混合物でチャンバの内壁に固定されている。本明細書において、「固定する」とは、対象の物体を、所定の位置から移動しないように据えることをいう。糖及びタンパク質を含む固体混合物(以下、単に「固体混合物」ともいう)は、担体粒子をチャンバの内壁に固定するための媒体である。該固体混合物自体も、チャンバの内壁に付着して固定されている。

【0033】

本実施形態において、固体混合物による担体粒子の固定の態様としては、例えば、担体粒子を固体混合物で覆うこと、担体粒子を固体混合物中に分散又は内包することなどが挙げられる。担体粒子が所定の位置から移動しない態様としては、例えば、担体粒子が内壁上の所定の位置で常に静止していることが挙げられる。しかし、本実施形態は、この例のみに限定されない。例えば、担体粒子が、粘性又は弾性のある固体混合物に分散又は内包されている場合、該固体混合物の変形に伴って担体粒子が移動しうる。この場合、該固体混合物がチャンバの内壁上の所定の位置に固定されているかぎり、担体粒子がそのような固体混合物中に分散又は内包されることは、担体粒子が所定の位置から移動しない態様に含まれる。

【0034】

本明細書において、「担体粒子」と「糖及びタンパク質を含む固体混合物」とは、別個の物質として言及する。すなわち、用語「糖及びタンパク質を含む固体混合物」自体は、特に言及しないかぎり、さらに担体粒子を含むことを意図しない。また、本明細書では、「担体粒子」と「糖及びタンパク質を含む溶液」とは、別個の物質として言及する。すなわち、用語「糖及びタンパク質を含む溶液」自体は、特に言及しないかぎり、さらに担体粒子を含むことを意図しない。

【0035】

10

20

30

40

50

固体混合物は、糖及びタンパク質を含む溶液を乾燥して生じる組成物である。固体混合物は、チャンバの内壁上の所定の位置から移動しないかぎり、上記の溶液が完全に乾固した硬質の固体であってもよいし、粘性又は弾性のある固体(例えばゲル、半固体など)であってもよい。ただし、該固体混合物が硬質の固体である場合、亀裂が生じた固体混合物は本実施形態から除かれる。亀裂のある固体混合物は、輸送過程における衝撃によりチャンバから脱離して、担体粒子を固定できなくなるおそれがある。

#### 【0036】

本実施形態では、固定された担体粒子は、内壁に接していてもよいし、接していなくてもよい。例えば、チャンバの内壁と接している担体粒子が固体混合物で覆われることにより、該担体粒子が内壁に固定されてもよい。あるいは、内壁に付着した固体混合物中に担体粒子が分散又は内包されていることにより、該担体粒子が内壁に固定されてもよい。この場合、担体粒子が内壁に接していなくとも、該担体粒子は、固体混合物で間接的に内壁に固定されている。本実施形態では、固体混合物が、被検物質と第1の捕捉物質と第1の液体試薬とを含む混合液に接触して溶解することにより、担体粒子が内壁から脱離して該混合液中に分散する。

10

#### 【0037】

固体混合物の溶解後、担体粒子が内壁から脱離するようにするため、担体粒子は、チャンバの内壁と結合していないことが望ましい。例えば、担体粒子と、チャンバの内壁との間に、共有結合、物理吸着などによる結合がないことが好ましい。

20

#### 【0038】

内壁における担体粒子が固定される位置は特に限定されず、内壁の一部の領域であってもよいし、内壁の全面であってもよい。本実施形態には、担体粒子の一部が、チャンバに繋がる領域222(図4B参照)に固定されている場合が含まれてもよい。担体粒子が固定されているので、製品としてのカートリッジの輸送工程における振動や衝撃などによって担体粒子がチャンバから脱離することを防止できる。担体粒子が固定されるべきチャンバは、複数のチャンバのいずれであってもよいが、好ましくは、開口部から入れられた試料が最初に移送されるチャンバである。例えば、図4Bを参照して、チャンバ211に担体粒子が固定されることが好ましい。

30

#### 【0039】

固体混合物に含まれる糖は、水溶性であって、且つ被検物質と捕捉物質との特異的結合を阻害しないかぎり、特に限定されない。好ましくは、水に容易に溶解する糖である。そのような糖は、単糖類及び二糖類から適宜選択すればよい。例えば、スクロース、トレハロース、グルコース、ラクトース、フルクトース、マルトース、ガラクトースなどが挙げられる。糖は1種類であってもよいし、2種類以上であってもよい。本実施形態では、スクロースが特に好ましい。

40

#### 【0040】

固体混合物に含まれるタンパク質は、水溶性であって、且つ被検物質と捕捉物質との特異的結合を阻害しないかぎり、特に限定されない。また、タンパク質を含む組成物を用いてもよい。本実施形態では、担体粒子の凝集及び/又は捕捉物質の劣化を防止する作用を有するタンパク質が好ましい。そのようなタンパク質は、免疫学的測定において安定化剤又はブロッキング剤として通常用いられるタンパク質から適宜選択すればよい。例えば、アルブミン、クリスタリン、カゼイン、正常血清タンパク質、コラーゲン、ゼラチン、ゲリゼート、スキムミルク、乳酸発酵物、及びそれらの分解産物などが挙げられる。タンパク質は1種類であってもよいし、2種類以上であってもよい。動物性タンパク質を用いる場合、該タンパク質の由来は特に限定されない。本実施形態では、血清アルブミンが好ましく、ウシ血清アルブミン(BSA)が特に好ましい。

50

#### 【0041】

本実施形態のカートリッジにおいて、固体混合物による担体粒子の内壁への固定は、例えば、次のようにして行われる。糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて担体粒子の懸濁液を得る。そして、この懸濁液を内壁上で乾燥させると、固体混合物で内

50

壁に固定された担体粒子が得られる。担体粒子の懸濁液において、タンパク質の濃度は0.1質量%以上20質量%以下であることが好ましく、1.0質量%以上5質量%以下であることがより好ましい。また、上記の担体粒子の懸濁液において、糖の濃度は0.5質量%以上30質量%以下であることが好ましく、1.0質量%以上15質量%以下であることがより好ましい。なお、本明細書においては、「質量%」を「重量%」と読み替えてもよい。

#### 【0042】

糖及びタンパク質を含む固体混合物において、タンパク質に対する糖の質量比(糖の質量/タンパク質の質量)は、通常0.1以上100以下であり、好ましくは0.5以上30以下であり、より好ましくは1以上10以下である。また、本実施形態のカートリッジにおいて、上記の固体混合物に含まれるタンパク質に対する担体粒子の質量比(担体粒子の質量/タンパク質の質量)は、通常0.05以上10以下であり、好ましくは0.1以上7以下であり、より好ましくは0.5以上5以下である。本実施形態では、試料の処理をカートリッジ内で行うので、ピペティングのような直接的な手段で内部の液体を攪拌することができない。しかし、タンパク質に対する糖及び担体粒子の質量比を上記の範囲内に調整することにより、固体混合物が、被検物質を含む液体に速やかに溶解して、担体粒子が、チャンバの内壁から脱離して該液体中に分散することが可能となる。

10

#### 【0043】

担体粒子の材質は、免疫学的測定において固相担体として通常用いられる粒子と同じ材質が適用可能である。例えば、金属粒子、樹脂粒子、シリカ粒子などを用いることができる。金属粒子としては、例えば、金、銀、銅、鉄、アルミ、マンガン、ニッケル、チタン、及びこれらの酸化物などの粒子が挙げられる。また、これらの合金の粒子であってもよい。樹脂粒子としては、例えば、ポリスチレン粒子、ラテックス粒子などが挙げられる。好ましい実施形態では、担体粒子は、磁性を帯びた粒子(以下、「磁性粒子」ともいう)である。磁性粒子は当該技術において公知であり、基材として酸化鉄( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ 及び/又は $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )、酸化クロム、コバルト、フェライト、マグネタイトなどを含む粒子が挙げられる。

20

#### 【0044】

担体粒子の大きさは、担体粒子がチャンネルを通過可能であれば、特に限定されない。例えば、平均粒子径が10 nm以上100  $\mu\text{m}$ 以下の粒子を用いることができる。担体粒子の平均粒子径は、レーザー回折・散乱法による粒度分布測定装置により測定される体積基準のメジアン径である。粒度分布測定装置としては、日機装株式会社製「マイクロトラックMT3000II」などが挙げられる。本明細書において、「粒子径」は直径を意味する。担体粒子の形状は特に限定されない。例えば、球体、直方体、立方体、三角錐及びこれらに近い形状のいずれであってもよい。

30

#### 【0045】

担体粒子は、第1の捕捉物質を固定可能な表面を有することが好ましい。そのような表面は、担体粒子と第1の捕捉物質との結合様式に応じて決定できる。例えば、第1の捕捉物質がタンパク質である場合、担体粒子の表面の材質を、タンパク質を物理吸着する材質で構成すればよい。第1の捕捉物質が抗体である場合は、抗体と特異的に結合する分子を担体粒子の表面に固定すればよい。抗体と特異的に結合する分子としては、例えばプロテインA又はGなどが挙げられる。第1の捕捉物質と担体粒子との間を介在する物質の組み合わせを用いてもよい。そのような物質の組み合わせとしては、ビオチンとアビジン(又はストレプトアビジン)、ハプテンと抗ハプテン抗体などの組み合わせが挙げられる。ハプテンと抗ハプテン抗体などの組み合わせとしては、ジニトロフェニル(DNP)基と抗DNP抗体との組み合わせが挙げられる。例えば、第1の捕捉物質がビオチンで修飾されている場合、アビジン又はストレプトアビジンを担体粒子の表面に固定すればよい。

40

#### 【0046】

本実施形態のカートリッジにおいて、第1の液体試薬は、収容部に収容されている。第1の液体試薬は、試料を適切な濃度に希釈し、且つ、チャンバの内壁に固定された担体粒子を分散させるための媒体である。第1の液体試薬として、例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝液(PBS)、グッドの緩衝液などを用いることができる。グッドの緩衝液としては

50

、例えば、MES、Bis-Tris、ADA、PIPES、Bis-Tris-Propane、ACES、MOPS、MOPSO、BES、TES、HEPES、HEPPS、Tricine、Tris、Bicine、TAPSなどが挙げられる。

【0047】

第1の捕捉物質は、被検物質と特異的に結合する物質であれば特に限定されない。捕捉物質と被検物質との結合は、被検物質の種類によって様々な態様が考えられる。そのような結合の態様としては、例えば、抗原抗体反応による結合、核酸の相補鎖形成による結合、受容体とリガンドの結合などが挙げられる。したがって、第1の捕捉物質は、被検物質の種類(抗体、抗原、核酸、受容体、リガンド、アプタマーなど)に応じて適宜選択すればよい。本実施形態では、抗原抗体反応を利用して被検物質を検出することが好ましい。よって、第1の捕捉物質は、被検物質に特異的に結合する抗体又は抗原であることが好ましい。

10

【0048】

本明細書において、「抗体」は、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体、並びにFab及びF(ab')<sub>2</sub>などの抗体の断片を含む。捕捉物質としての「核酸」は、DNA及びRNAだけでなく、Peptide Nucleic Acid(PNA)、Locked Nucleic Acid(LNA)、Bridged Nucleic Acid(BNA)などの人工核酸も含む。

【0049】

第1の捕捉物質は、標記物質で標識されていてもよい。標記物質には、それ自体がシグナルを発生する物質(以下、「シグナル発生物質」ともいう)、又は、他の物質の反応を触媒して検出可能なシグナルを発生させる物質を用いることができる。シグナル発生物質としては、例えば、蛍光物質、放射性同位元素などが挙げられる。他の物質の反応を触媒して検出可能なシグナルを発生させる物質としては、例えば、酵素が挙げられる。酵素としては、ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、チロシナーゼ、酸性ホスファターゼ、ルシフェラーゼなどが挙げられる。蛍光物質としては、フルオレセインイソシアネート(FITC)、ローダミン、Alexa Fluor(登録商標)、シアニン系色素などの蛍光色素、GFPなどの蛍光タンパク質などが挙げられる。放射性同位元素としては、<sup>125</sup>I、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>Pなどが挙げられる。それらの中でも、標記物質として、酵素が好ましく、ペルオキシダーゼ及びアルカリホスファターゼが特に好ましい。

20

【0050】

本実施形態のカートリッジにおいて、第1の捕捉物質が収容される部位は特に限定されない。例えば、第1の捕捉物質を含む液体試薬を収容部に収容してもよい。カートリッジに搭載する試薬の数を減らす観点から、第1の捕捉物質は、第1の液体試薬中に含まれるか、又は、担体粒子の表面にあらかじめ固定されていることが好ましい。第1の捕捉物質の担体粒子への固定は、上述の第1の捕捉物質を固定可能な表面を有する粒子と、第1の捕捉物質とを接触させることにより行ってもよい。あるいは、公知の架橋剤を用いて、第1の捕捉物質を担体粒子の表面に、共有結合を介して結合させてもよい。

30

【0051】

本実施形態では、カートリッジは、被検物質に特異的に結合する第2の捕捉物質を含む第2の液体試薬をさらに備えてもよい。この場合、第2の液体試薬は、第1の液体試薬が収容されている収容部とは異なる収容部に収容されることが好ましい。例えば、図4Bを参照して、第1の液体試薬が、チャンバ211の径方向に位置する収容部231に収容されているとき、第2の液体試薬は、チャンバ212の径方向に位置する収容部231に収容されてもよい。

40

【0052】

第2の捕捉物質は、被検物質と特異的に結合する物質であれば特に限定されない。第2の捕捉物質の種類などは、第1の被検物質について述べたことと同様である。第1の捕捉物質と第2の捕捉物質とは同種の物質であってもよいし、別種の物質であってもよい。同種の物質である例としては、捕捉物質が何れも抗体である場合が挙げられる。別種の物質である例としては、第1の捕捉物質がアプタマーであり、第2の捕捉物質が抗体である場

50

合が挙げられる。第1の捕捉物質が標識物質で標識されていない場合、第2の捕捉物質は、標識物質で標識されていることが好ましい。

【0053】

第2の液体試薬の溶媒は、第2の捕捉物質を溶解できれば特に限定されない。例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝液(PBS)、グッドの緩衝液などを用いることができる。

【0054】

第1の捕捉物質と第2の捕捉物質との競合を避けるため、第1の捕捉物質と第2の捕捉物質とは、被検物質において互いに異なる位置に結合することが好ましい。例えば、第1及び第2の捕捉物質が抗体であり、被検物質が抗原である場合、第1の捕捉物質が結合する被検物質のエピトープと、第2の捕捉物質が結合する被検物質のエピトープとは異なっていることが好ましい。第1及び第2の捕捉物質と被検物質が核酸である場合、第1の捕捉物質が結合する被検物質の塩基配列と、第2の捕捉物質が結合する被検物質の塩基配列とは異なっていることが好ましい。この実施形態では、1つの被検物質を2種類の捕捉物質により捕捉するので、検出の特異性が向上する。

10

【0055】

本実施形態では、カートリッジは、未反応の遊離成分を除去するための洗浄液をさらに備えてもよい。洗浄液の組成は、担体粒子上に形成された複合体を損なわないかぎり、特に限定されない。本実施形態では、洗浄液は、例えば、免疫学的測定において通常用いられる洗浄液であってもよい。本実施形態のカートリッジにおいて、洗浄液は、第1及び第2の液体試薬のそれぞれが収容されている収容部とは異なる収容部に収容されることが好ましい。例えば、図4Bを参照して、第1の液体試薬が、チャンバ211の径方向に位置する収容部231に収容され、第2の液体試薬が、チャンバ212の径方向に位置する収容部231に収容されているとき、洗浄液は、チャンバ213の径方向に位置する収容部231に収容されてもよい。洗浄液は、1つであってもよいし、2つ以上であってもよい。例えば、カートリッジが洗浄液を3つ備える場合、図4Bを参照して、洗浄液は、チャンバ213～215の径方向に位置する3つの収容部231に収容されてもよい。

20

【0056】

上記の標識物質として酵素を用いる場合、カートリッジは、該酵素の基質溶液をさらに備えてもよい。本実施形態のカートリッジにおいて、基質溶液は、担体粒子が最後に移送されるチャンバに内容物を供給可能な収容部に収容されることが好ましい。例えば、図4Bを参照して、基質溶液は、チャンバ216の径方向に位置する収容部231、又は収容部232に収容されることが好ましい。

30

【0057】

必要に応じて、カートリッジは、酵素と基質との反応に適したバッファー(以下、「反応バッファー」ともいう)をさらに備えてもよい。反応バッファーは、酵素及び基質の種類に応じて適宜選択される。反応バッファーは、図4Bを参照して、チャンバ216の径方向に位置する収容部231に収容されることが好ましい。この場合、基質溶液は、収容部232に収容されることが好ましい。

【0058】

基質は、酵素に応じて当該技術において公知の基質から適宜選択できる。酵素としてアルカリホスファターゼを用いる場合、基質としては、CDP-Star(登録商標)(4-クロロ-3-(メトキシスピロ[1, 2-ジオキセタン-3, 2'-(5'-クロロ)トリクシロ[3. 3. 1. 13, 7]デカン]-4-イル)フェニルリン酸 2ナトリウム)、CSPD(登録商標)(3-(4-メトキシスピロ[1, 2-ジオキセタン-3, 2-(5'-クロロ)トリシクロ[3. 3. 1. 13, 7]デカン]-4-イル)フェニルリン酸 2ナトリウム)などの化学発光基質、5-プロモ-4-クロロ-3-インドリルリン酸(BCIP)、5-プロモ-6-クロロ-インドリルリン酸 2ナトリウム、p-ニトロフェニルリン酸などの発色基質が挙げられる。酵素としてペルオキシダーゼを用いる場合、基質としては、ルミノール及びその誘導体などの化学発光基質、2, 2'-アジノビス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸アンモニウム)(ABTS)、1, 2-フェニレンジアミン(OPD)、3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン(TMB)などの発色基質が挙げられる。

40

50

## 【 0 0 5 9 】

## [ 2 . 試料分析用カートリッジの製造方法 ]

本実施形態のカートリッジの製造方法(以下、単に「製造方法」ともいう)では、まず、糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて担体粒子の懸濁液を得る。この懸濁液を固相上で乾燥させると、固体混合物で固相上に固定された担体粒子が得られる。懸濁液に含まれる糖、タンパク質及び担体粒子の種類については、先に述べたことと同様である。糖及びタンパク質を含む溶液の溶媒は、糖及びタンパク質を溶解可能であれば特に限定されない。そのような溶媒として、例えば、水、生理食塩水、グッドの緩衝液などを用いることができる。

## 【 0 0 6 0 】

担体粒子の懸濁液における糖及びタンパク質の濃度が低すぎると、乾燥固定した固体混合物が溶けにくくなり、担体粒子を分散させることが難しい。よって、担体粒子の懸濁液において、タンパク質の濃度は0.1質量%以上であることが好ましく、1.0質量%以上であることがより好ましい。糖の濃度は0.5質量%以上であることが好ましく、1.0質量%以上であることがより好ましい。また、担体粒子の懸濁液における糖の濃度が高すぎると、懸濁液が乾燥しにくくなる。よって、担体粒子の懸濁液における糖の濃度は30質量%以下であることが好ましく、15質量%以下であることがより好ましい。担体粒子の懸濁液におけるタンパク質の濃度の上限は特に限定されないが、通常20質量%以下であり、5質量%以下であることが好ましい。

## 【 0 0 6 1 】

担体粒子の懸濁液において、タンパク質に対する糖の質量比(糖の質量/タンパク質の質量)は、通常0.1以上100以下であり、好ましくは0.5以上30以下であり、より好ましくは1以上10以下である。また、担体粒子の懸濁液において、タンパク質に対する担体粒子の質量比(担体粒子の質量/タンパク質の質量)は、通常0.05以上10以下であり、好ましくは0.1以上5以下であり、より好ましくは0.5以上7以下である。タンパク質に対する糖及び担体粒子の質量比を上記の範囲内に調整することにより、固体混合物が、被検物質を含む液体に容易に溶解し、担体粒子が、チャンバの内壁から速やかに脱離して該液体中に分散する。

## 【 0 0 6 2 】

次いで、被検物質を含む液体を収容するためのチャンバが形成される基板上の、該チャンバが形成される領域に、上記の懸濁液を供給する。基板の詳細は、本実施形態のカートリッジについて述べたことと同様である。例えば、基板上に複数のチャンバとなる凹部が形成されている場合、少なくとも1つのチャンバとなる凹部に懸濁液を供給する。懸濁液の供給は、基板上の領域に懸濁液を載せ置くことにより行われる。供給する量は特に限定されないが、例えば、チャンバの容積の1%以上75%以下の量であればよい。

## 【 0 0 6 3 】

最終的に担体粒子が固定されるチャンバは、複数のチャンバのいずれであってもよいが、好ましくは、開口部から入れられた試料が最初に移送されるチャンバである。例えば、図4Bを参照して、チャンバ211が形成される基板上の領域に懸濁液を供給することが好ましい。

## 【 0 0 6 4 】

そして、供給された懸濁液を乾燥させて、担体粒子を基板上に固定する。乾燥方法は特に限定されないが、例えば、自然乾燥、加熱乾燥、凍結乾燥などが挙げられる。必要に応じて、乾燥剤、デシケータ、真空乾燥機などを用いてもよい。操作の簡便性の観点からは、懸濁液を供給したカートリッジ基体を常温・常圧下にて自然乾燥させることが好ましい。乾燥時間は特に限定されないが、自然乾燥の場合は1時間以上30時間以下であればよい。

## 【 0 0 6 5 】

乾燥後、固定された担体粒子を内包するチャンバを形成する。基板上に複数のチャンバとなる凹部が形成されている場合は、担体粒子を内包しない他のチャンバをさらに形成し

10

20

30

40

50

てもよい。本実施形態では、収容部をさらに形成することが好ましい。また、複数のチャンバを形成する場合は、それらのチャンバを接続するチャンネルをさらに形成することが好ましい。例えば、基板上にチャンバ、収容部及びチャンネルとなる凹部が形成されている場合、該基板に、該基板の全面を覆うフィルムを張り合わせてもよい。あるいは、この基板に、該基板とは左右対称にチャンバ、収容部及びチャンネルが凹部として形成された別の基板を張り合わせてもよい。これにより、チャンバの内壁に担体粒子が固定された試料分析用カートリッジが得られる。

#### 【0066】

本実施形態では、形成した各収容部に、第1の液体試薬、第2の液体試薬、洗浄液、基質溶液、及び反応バッファを収容させることが好ましい。これらの試薬などの詳細は、10

#### 【0067】

### [3. 試料分析用カートリッジを用いる被検物質の検出方法]

本実施形態の被検物質の検出方法(以下、単に「検出方法」ともいう)では、担体粒子を備えた試料分析用カートリッジを用いる。この試料分析用カートリッジにおいて、担体粒子は、糖及びタンパク質を含む固体混合物で、カートリッジ内に形成されたチャンバの内壁に固定されている。糖及びタンパク質を含む固体混合物の組成や質量比などの詳細は、本実施形態のカートリッジについて述べたことと同様である。本実施形態の検出方法では、上記の本実施形態のカートリッジを用いることが特に好ましい。

#### 【0068】

本実施形態の検出方法では、まず、試料分析用カートリッジ内に形成されたチャンバの内壁に固定された担体粒子と、被検物質を含む試料と、被検物質に特異的に結合する第1の捕捉物質と、第1の液体試薬とを、チャンバ内で接触させる。被検物質を含む試料、担体粒子、第1の捕捉物質及び第1の液体試薬の詳細は、本実施形態のカートリッジについて述べたことと同様である。20

#### 【0069】

開口部から試料をカートリッジに入れて、該カートリッジに遠心力及び慣性力の少なくとも一方を付与すると、試料は流路を通過して、担体粒子の固定されたチャンバへと移送される。このとき、付与された遠心力及び/又は慣性力により、収容部に収容された第1の液体試薬も、担体粒子の固定されたチャンバへと移送される。ここで、第1の捕捉物質は、第1の液体試薬中に含まれるか、又は、担体粒子の表面にあらかじめ固定されていることが好ましい。これにより、担体粒子と、被検物質を含む試料と、第1の捕捉物質と、第1の液体試薬とを、チャンバ内で接触させることができる。第1の捕捉物質を含む第1の液体試薬を用いる場合、担体粒子は、該第1の捕捉物質を固定可能な表面を有する粒子であることが好ましい。そのような表面の詳細は、本実施形態のカートリッジについて述べたことと同様である。30

#### 【0070】

本実施形態では、開口部から入れた試料は、流路を通過して担体粒子の固定されたチャンバへと移送するため、該試料は液状であることが好ましい。試料が液状ではない場合は、前処理を行うことにより、液状としておくことが好ましい。ここで、液状の試料は、溶液に限られず、懸濁液、ゾルなども含まれる。前処理の方法は、被検物質の種類に応じて公知の方法が選択できる。例えば、試料が生体から摘出した固形組織である場合、界面活性剤を含む緩衝液中で固形組織をホモジナイズし、遠心分離などで破碎物を分離・除去することにより、固形組織を液状にすることができる。この場合、遠心分離後の上清を、カートリッジに投入することができる。40

#### 【0071】

次いで、本実施形態では、攪拌により、担体粒子を、第1の捕捉物質と第1の液体試薬とを含む混合液中に分散させる。上記の接触により、糖及びタンパク質を含む固体混合物は、該混合液に溶解し始める。ここで、カートリッジを攪拌することで、固体混合物を完全に溶解させることができる。これにより、担体粒子がチャンバの内壁から脱離して、混50

合液中に分散させることができる。攪拌は、カートリッジに遠心力及び慣性力の少なくとも一方を付与し、且つ、付与する遠心力及び慣性力の大きさを経時変化させることにより行うことが好ましい。例えば、カートリッジが、図4Bに示されるような円盤形状である場合、該カートリッジを回転させることで遠心力を付与することができ、回転速度を急激に変化させることで内部の液を攪拌できる。攪拌の一例としては、回転速度を50 rpmから250 rpmまで0.02秒で加速した後、250 rpmから50 rpmまで0.02秒で減速することを30秒間繰り返すことが挙げられる。

#### 【0072】

攪拌後、本実施形態では、分散した担体粒子上に、被検物質と第1の捕捉物質とを含む複合体を形成させる。担体粒子が、第1の捕捉物質が固定された粒子である場合は、担体粒子上の第1の捕捉物質が被検物質と特異的に結合することにより、該担体粒子上に複合体を形成できる。第1の液体試薬が第1の捕捉物質を含む場合は、該第1の捕捉物質を固定可能な表面を有する粒子を用いることにより、該担体粒子上に複合体を形成できる。

#### 【0073】

複合体を形成するときの温度及び反応時間は特に限定されないが、例えば37~42℃で60~600秒間インキュベートすればよい。インキュベーションの間に攪拌を行ってもよい。

#### 【0074】

本実施形態では、複合体に含まれていない遊離成分を除去する操作を行ってもよい。この遊離成分の除去は、担体粒子に固定された分子(Bound)と、担体粒子に固定されていない遊離状態の分子(Free)とを分離することにより行われる。このような分離は、B/F分離とも呼ばれる。複合体に含まれていない遊離成分としては、未反応の捕捉物質、捕捉物質と結合していない被検物質などが挙げられる。B/F分離は、例えば、担体粒子が磁性粒子である場合、磁石又は集磁装置によって磁性粒子をカートリッジ内の別のチャンバへと移送して、該チャンバに洗浄液を供給することにより行うことができる。

#### 【0075】

本実施形態では、担体粒子上に形成された複合体に含まれる被検物質を検出する。本明細書において、「検出」とは、定性的な検出、定量的な検出および半定量的な検出を含む。「半定量的な検出」とは、「陰性」、「弱陽性」、「陽性」、「強陽性」などといったように、試料中の被検物質の含有量(又は濃度)を段階的に示すことをいう。

#### 【0076】

本実施形態では、複合体に含まれる被検物質に標識物質を間接的に結合させ、該標識物質に基づくシグナルを検出することにより、被検物質を検出することが好ましい。例えば、第1の捕捉物質が標識物質であらかじめ標識されていた場合、標識物質に基づくシグナルを検出し、該シグナルに基づいて被検物質を検出する。なお、標識物質の詳細は、本実施形態のカートリッジについて述べたことと同様である。

#### 【0077】

標識物質に基づくシグナルの検出方法自体は、当該技術において公知である。シグナルの検出方法は、標識物質の種類に応じて適宜選択できる。例えば、該標識物質が酵素である場合は、酵素と、該酵素に対する基質とを反応させることによって発生する光、色などのシグナルを公知の測定装置を用いて測定することにより行うことができる。そのような測定装置としては、分光光度計、ルミノメータなどが挙げられる。標識物質が蛍光物質である場合は、シグナルとしての蛍光を、蛍光マイクロプレートリーダーなどの公知の装置を用いて測定できる。なお、励起波長及び蛍光波長は、用いた蛍光物質の種類に応じて適宜決定できる。

#### 【0078】

本実施形態では、複合体の形成工程と検出工程との間に、被検物質に特異的に結合する第2の捕捉物質を含む第2の液体試薬をさらに添加してもよい。これにより、分散した担体粒子上に、被検物質と第1の捕捉物質と第2の捕捉物質とを含む複合体を形成することができる。この複合体において、被検物質は、第1の捕捉物質と第2の捕捉物質とで挟まれた状態となる。第1の捕捉物質が標識物質で標識されていない場合、第2の捕捉物質は

10

20

30

40

50

、標識物質で標識されていることが好ましい。

【0079】

第2の液体試薬の添加は、例えば、担体粒子が磁性粒子である場合、磁石又は集磁装置によって磁性粒子をカートリッジ内の別のチャンバへと移送して、該チャンバに第2の液体試薬を供給することにより行うことができる。なお、第2の捕捉物質及び第2の液体試薬の詳細は、本実施形態のカートリッジについて述べたことと同様である。

【0080】

本実施形態では、第2の捕捉物質は、被検物質に特異的に結合する標識抗体又は標識抗原であることが好ましい。この場合、複合体に含まれる標識抗体又は標識抗原の標識に基づいて、被検物質を検出することができる。

10

【0081】

本実施形態の検出方法は、例えば、図4Aに示すような試料分析用カートリッジ専用の分析装置を用いて実行することが好ましい。以下、図面を参照して、分析装置と、磁性粒子を乾燥固定した試料分析用カートリッジとを用いる検出方法の一例について説明する。しかし、本実施形態は、この例に限定されるものと解されるべきではない。

【0082】

<分析装置の構成例>

図4Aに示される分析装置100は、抗原抗体反応を利用して試料中の被検物質を検出し、検出結果に基づいて被検物質を分析する試料分析装置である。分析装置100は、本体部101と蓋部102を備える。本体部101は、蓋部102を開閉可能に支持している。本体部101の上部は、設置部材110で覆われ、設置部材110の上面の中心部にカートリッジ200が置かれる。分析装置100は、カートリッジ200に収容された磁性粒子を、カートリッジ200に形成された複数のチャンバに順次移送することにより、磁性粒子に被検物質と標識物質で標識された捕捉物質との複合体を担持させ、標識物質に基づいて被検物質を検出する。

20

【0083】

本体部101において、蓋部102に対向する上面に設置部材110が配置されている。本体部101の上面以外は筐体101aに覆われている。蓋部102において、本体部101に対向する下面に設置部材180が配置されている。蓋部102の下面以外は筐体102aに覆われている。カートリッジ200の着脱の際には、蓋部102は、図4Aに示すように開けられる。

30

【0084】

図5は、分析装置100において本体部101側の設置部材110及び筐体101a内に収容される磁石、移動機構、検出部、及び収容体を斜め上から見た場合の構成を示す図である。図5に示すように、設置部材110は、複数箇所に孔が形成されている。孔111には、後述する回転軸311(図8参照)が位置付けられる。孔112は、径方向に長い形状を有する。移動機構130は、取付部材131を介して設置部材110の下面に配置される。検出部140は、取付部材141を介して設置部材110の孔113の下方に配置される。また、他の孔の下方には、カートリッジ200のインデックスを検出するインデックスセンサが配置される。後述する制御部301は、インデックスセンサからの検出信号を読み取り、後述するモータ171を制御して、カートリッジ200の周方向の位置を制御する。

40

【0085】

収容体150は、その上面151の複数箇所に孔が形成されている。孔155は、後述する回転軸311(図8参照)を通すために設けられている。収容部152、153は、上面151から下方に窪んだ凹部により構成される。設置部材110が収容体150に設置される際には、設置部材110の外周下面と収容体150の外周上面とが接合される。設置部材110が収容体150に設置されると、移動機構130が収容部152に収容され、検出部140が収容部153に収容される。設置部材110と収容体150は、遮光性の樹脂で形成されており、設置部材110と収容体150の色は、遮光性を高めるため

50

に黒色に設定されている。

【0086】

移動機構130は、磁石120を径方向及び上下方向に独立して移動させる。モータ135の駆動に応じて、磁石120が径方向に移動可能となり、モータ136の駆動に応じて、磁石120が上下方向に移動可能となる。また、移動機構130は、磁石120の径方向における基準の位置(ホームポジション)を検出する図示しないセンサを備える。同様に、磁石120の上下方向におけるホームポジションを検出する図示しないホームポジションセンサを備える。後述する制御部301は、それらホームポジションセンサからの検出信号を読み取り、モータ135及び136をそれぞれ制御して、磁石120の径方向及び上下方向の位置を制御する。

10

【0087】

磁石120が上に移動されることにより、磁石120の上端が、取付部材131の孔131a及び支持部134の孔134aを介して設置部材110の孔112の上方へ突出し、カートリッジ200に接近する。磁石120が下に移動されることにより、磁石120の上端が、カートリッジ200から離れる。

【0088】

磁石120は、円柱形状の永久磁石121と円錐形状の磁性体122とを備える。磁性体122は、永久磁石121の上面に接合されている。磁性体122の上端には、永久磁石121より径の小さい円柱形状の先端部122aが形成されている。

【0089】

磁石120のカートリッジ200側の端縁の幅、すなわち先端部122aの幅は、少なくともチャンネル220内の各領域の最小幅よりも小さくなっている。これにより、磁石120で集められた複合体を、チャンネル220に引っかかることなく円滑にチャンネル220内で移動させることができる。

20

【0090】

検出部140は、取付部材141に形成された孔に嵌め込まれたリング状の反射部材142と、支持部143と、光検出ユニット144とを備える。光検出ユニット144は、反射部材142の奥に、上方からの光を検出する光検出器144aと、上方から光検出器144aへ向かう光の光路にNDフィルタを挿抜する光調整部160とを備える(図5に図示せず)。光検出器144aは、例えば、光電子増倍管、光電管、光ダイオードなどにより構成される。

30

【0091】

図6に示すように、カートリッジ200のチャンバ216から生じた光は、カートリッジ200の上側と下側に広がる。カートリッジ200の下側に広がった光は、反射部材142の孔142bを通り、光調整部160を通り、光検出器144aにより受光される。カートリッジ200の上側に広がった光は、後述する蓋部102の下面に露出する板部材191により反射されてチャンバ216に戻り、同様に光検出器144aにより受光される。蓋部102の板部材191にミラーを配置して、カートリッジ200の上側に広がった光を反射させてもよい。

【0092】

図7に示すように、設置部材110の中心に支持部材177が配置される。支持部材177は、装着されたカートリッジ200を支持して回転させるターンテーブルにより構成される。支持部材177が配置される中心部の周囲には、同軸状に突部115と突部116とが形成され、それらの間に、例えば遮光性のポリウレタン樹脂で形成された弾性部材117が配置される。弾性部材117の色は、遮光性を高めるために黒色に設定されている。弾性部材117は、閉ループに構成されている。弾性部材117の上面は、弾性変形可能な接合面である。

40

【0093】

突部115及び突部116は、いずれもその内径がカートリッジ200の外径よりも大きく、支持部材177にカートリッジ200を載せた状態で内側の突部115のさらに内

50

側にカートリッジ 200 が収まる。突部 115 の内側かつ設置部材 110 の上面に、板部材 176 が配置される。板部材 176 は、熱伝導性の高い金属により構成される。板部材 176 の下面と設置部材 110 の上面との間には、図 5 に図示しないヒータ 321 が配置されている(図 8 参照)。設置部材 110 の下面側に収容体 150 が組合わされ、それが筐体 101a の内部に収容されて本体部 101 が完成する。

【0094】

図 7 には、蓋部 102 を下側から見た状態をあわせて示している。蓋部 102 は、設置部材 180 と、設置部材 180 の中央部下面に配置された板部材 191 と、クランパ 192 と、撮像部 193 と、照明部 194 と、開栓部 195 とを備える。

【0095】

設置部材 180 は、遮光性の樹脂で形成されており、設置部材 180 の色は、遮光性を高めるために黒色に設定されている。設置部材 180 の突部 181 の内側に、板部材 191 とクランパ 192 が配置される。板部材 191 は、板部材 176 と同様、熱伝導性の高い金属により構成される。板部材 191 の上面とその上方にある設置部材 180 の下面との間には、カートリッジ 200 をあらかじめ定められた範囲の温度に加温する図 7 に図示しないヒータ 322 が配置されている(図 8 参照)。設置部材 180 の下面と、板部材 191 と、ヒータ 322 とが重なる部分には、撮像部 193 と、照明部 194 と、開栓部 195 に対応する位置にそれらを貫通する孔が設けられている。これらの孔を介して、撮像部 193 と、照明部 194 と、開栓部 195 とが、カートリッジ 200 の上面に直接的に対向する。撮像部 193 と、照明部 194 と、開栓部 195 は、設置部材 180 の上面に配置される(図 8 参照)。

【0096】

撮像部 193 は、暗室 340 内にあるカートリッジ 200 のチャンバ 211 ~ 216 を目視観察できるように、カートリッジ 200 を撮像する。撮像部 193 は、たとえば、CCD イメージセンサ、CMOS イメージセンサなどを用いた小型カメラにより構成される。照明部 194 は、撮像部 193 による撮影が行われる際に、カートリッジ 200 を照らす。照明部 194 は、たとえば発光ダイオードにより構成される。開栓部 195 は、カートリッジ 200 の封止体 231a、232a を上から押すための部材と、この部材を駆動するための機構とを備える。

【0097】

クランパ 192 は、設置部材 180 の中心に配置される。設置部材 180 の下面には、閉ループの突部 181 が形成されている。突部 181 は、周方向に沿って下方方向に突出している。設置部材 180 の下面には、突部 181 の外側に凹部が形成されており、この凹部に弾性部材 182 が配置される。弾性部材 182 は、たとえば遮光性のポリウレタン樹脂で形成されており、弾性部材 182 の色は、遮光性を高めるために黒色に設定されている。弾性部材 182 は、閉ループに構成されている。弾性部材 182 の下面は、弾性変形可能な接合面である。

【0098】

図 8 は、分析装置 100 にカートリッジ 200 が配置され、蓋部 102 が閉じられた状態を示している。上述したように、設置部材 110 の下面には、磁石 120 を保持する移動機構 130 と、検出部 140 とが配置されており、設置部材 180 の上面には、撮像部 193 と、照明部 194 と、開栓部 195 とが配置されている。図 8 には、これら各部の配置位置に相当する位置が、破線で示されている。

【0099】

図 8 に示すように、設置部材 310 は、上下方向に延びる回転軸 311 を回転可能に支持している。回転軸 311 は、孔 155 の内部において、固定部材 312 によりモータ 171 の駆動軸 171a に対して固定されている。モータ 171 は、ステッピングモータにより構成される。モータ 171 の駆動軸 171a は、孔 155 の内部に延びている。孔 155 の上部には、設置部材 310 が配置されている。

【0100】

10

20

30

40

50

回転軸 3 1 1 の上部には、所定の部材を介して、カートリッジ 2 0 0 の下面を支持するための支持部材 1 7 7 が固定されている。モータ 1 7 1 が駆動され駆動軸 1 7 1 a が回転すると、回転駆動力は、回転軸 3 1 1 を介して支持部材 1 7 7 に伝達される。これにより、支持部材 1 7 7 に置かれたカートリッジ 2 0 0 が、回転軸 3 1 1 及び駆動軸 1 7 1 a を中心として回転する。クランパ 1 9 2 は、支持部材 1 7 7 にカートリッジ 2 0 0 が置かれ、蓋部 1 0 2 が閉じられると、カートリッジ 2 0 0 の上面の内周部分を回転可能な状態で押さえ付ける。

#### 【 0 1 0 1 】

蓋部 1 0 2 が閉じられると、設置部材 1 1 0 の突部 1 1 6 が、設置部材 1 8 0 の弾性部材 1 8 2 の下面に押し付けられて密着する。設置部材 1 8 0 の突部 1 8 1 が、設置部材 1 1 0 の弾性部材 1 1 7 の上面に押し付けられて密着する。こうして、図 8 の点線に示す暗室 3 4 0 が形成される。

10

#### 【 0 1 0 2 】

さらに、分析装置 1 0 0 は、制御部 3 0 1 として機能する回路を搭載した制御基板を筐体 1 0 1 a の内部に備える。制御部 3 0 1 は、CPU あるいは MPU と記憶部を含む。記憶部は、たとえば、フラッシュメモリ、ハードディスクなどにより構成される。上述の CPU あるいは MPU は、記憶部にあらかじめ格納されたプログラムに基づく処理を実行し、分析装置 1 0 0 の各部の動作を制御して測定及び分析を行う。即ち、制御部 3 0 1 は、分析装置 1 0 0 の各部から信号を受信し、分析装置 1 0 0 の各部の動作を制御する。このように、ソフトウェアとハードウェアとが協働して制御部 3 0 1 の機能が実現される。

20

#### 【 0 1 0 3 】

次に、図 9 を参照して、分析装置 1 0 0 の動作の一例について説明する。まず、オペレータは、試料として、被検者から採取した血液を開口部 2 4 1 からカートリッジ 2 0 0 内に注入し、そのカートリッジ 2 0 0 を支持部材 1 7 7 に設置する。この例では、被検物質は、血液中の B 型肝炎ウイルスの表面抗原 (HBsAg) である。なお、この例では、カートリッジ 2 0 0 内に注入された血液は、分離部 2 4 2 にて血漿と血球とに分離される。

#### 【 0 1 0 4 】

カートリッジ 2 0 0 の収容部 2 3 1、2 3 2 及びチャンバ 2 1 1 には、あらかじめ所定の液体試薬が収容されている。具体的には、チャンバ 2 1 1 の径方向に位置する収容部 2 3 1 には、R 1 試薬が収容されている。チャンバ 2 1 1 には、糖及びタンパク質を含む固体混合物で内壁に乾燥固定された磁性粒子 (以下、「R 2 試薬」ともいう) が収容されている。チャンバ 2 1 2 の径方向に位置する収容部 2 3 1 には、R 3 試薬が収容されている。チャンバ 2 1 3 ~ 2 1 5 の径方向に位置する収容部 2 3 1 には、洗浄液が収容されている。チャンバ 2 1 6 の径方向に位置する収容部 2 3 1 には、R 4 試薬が収容されている。収容部 2 3 2 には、R 5 試薬が収容されている。

30

#### 【 0 1 0 5 】

この例において用いられる上記の各試薬について説明する。R 1 試薬は、第 1 の捕捉物質 (捕捉抗体) として、ビオチン結合抗 HBsAg モノクローナル抗体を含む緩衝液である。R 2 試薬中の磁性粒子は、ストレプトアビジン結合磁性粒子である。この磁性粒子の表面には、ストレプトアビジンが固定されている。R 3 試薬は、第 2 の捕捉物質 (標識抗体) として、アルカリホスファターゼ (ALP) 標識抗 HBsAg モノクローナル抗体を含む緩衝液である。R 4 試薬は、反応バッファである。R 5 試薬は、ALP の化学発光基質である CDP-Star (登録商標) の溶液である。

40

#### 【 0 1 0 6 】

以下の制御において、制御部 3 0 1 は、モータ 1 7 1 に接続されたエンコーダ 1 7 2 の出力信号に基づいて、モータ 1 7 1 の駆動軸 1 7 1 a の回転位置を取得する。

#### 【 0 1 0 7 】

ステップ S 1 1 において、制御部 3 0 1 は、図示しない入力部を介してオペレータによる開始指示を受け付け、ステップ S 1 2 以降の処理を開始させる。前記入力部は、オペレータの操作を受付けるボタンやタッチパネルなどであって、例えば、本体部 1 0 1 の側面

50

部分あるいは蓋部 102 の上面部分に設けられる。

【0108】

ステップ S12 において、制御部 301 は、血漿と試薬をチャンバに移送するための処理を実行する。具体的には、制御部 301 は、モータ 171 を駆動してカートリッジ 200 を周方向に移動させ、開栓部 195 を駆動して、開栓部 195 に対向する位置に位置付けられた 6 つの封止体 231a を順次押し下げる。そして、制御部 301 は、モータ 171 を駆動してカートリッジ 200 を回転させ、遠心力により、領域 243b に位置付けられた血漿をチャンバ 211 に移送すると共に 6 つの収容部 231 に収容された試薬及び洗浄液を対応するチャンバ 211 ~ 216 にそれぞれ移送する。これにより、チャンバ 211 に血漿と R1 試薬とが流入し、内壁に乾燥固定された磁性粒子が流入した液中に分散して混合される。チャンバ 212 には、R3 試薬が移送され、チャンバ 213 ~ 315 には、それぞれ洗浄液が移送され、チャンバ 216 には、R4 試薬が移送される。

10

【0109】

さらに、ステップ S12 において、血漿と試薬の移送が終わると、制御部 301 は、あらかじめ定められた期間攪拌処理を行う。具体的には、制御部 301 は、異なる 2 つの回転速度を所定の時間間隔で切り替えるよう、モータ 171 を駆動する。これにより、周方向に発生するオイラー力が所定の時間間隔で変化することで、チャンバ 211 ~ 216 内の液体が攪拌される。このような攪拌処理は、ステップ S12 だけでなく、ステップ S13 ~ S18 においても移送処理後に同様に行われる。

【0110】

ステップ S12 において、血漿と、R1 試薬と、磁性粒子とを接触させ、攪拌処理が行われると、血漿中の HBsAg と、R1 試薬中のビオチン結合抗 HBsAg モノクローナル抗体とが、抗原抗体反応により結合して複合体を形成する。また、抗体に結合したビオチンと、磁性粒子の表面上のストレプトアビジンとの結合を介して、該抗体が、分散した磁性粒子上に固定される。よって、HBsAg とビオチン結合抗 HBsAg モノクローナル抗体とを含む複合体が磁性粒子上に形成される。以下、被検物質と捕捉物質とを含む複合体が固定された磁性粒子を、「複合体」とも呼ぶ。

20

【0111】

次に、ステップ S13 において、制御部 301 は、チャンバ 211 内の複合体をチャンバ 211 からチャンバ 212 へ移送する。これにより、チャンバ 212 において、チャンバ 211 で形成された複合体と、R3 試薬とが混合される。そして、ステップ S13 において攪拌処理が行われると、チャンバ 211 で形成された複合体と、R3 試薬に含まれる標識抗体とが反応する。これにより、被検物質と第 1 の捕捉物質(捕捉抗体)と第 2 の捕捉物質(標識抗体)とを含む複合体が磁性粒子上に形成される。

30

【0112】

ここで、ステップ S13 の処理について、図 10 を参照して詳細に説明する。図 10 のフローチャートは、図 9 のステップ S13 を詳細に示すフローチャートである。以下の説明では、図 10 を主として参照し、図 11 及び図 12 を適宜参照する。

【0113】

ステップ S12 の処理が終わった時点では、図 11A 示すように、チャンバ 211 内で複合体が液中に分散している。ステップ S101 において、制御部 301 は、移動機構 130 を駆動して、磁石 120 をカートリッジ 200 に近付けて、図 11B に示すように、チャンバ 211 内に広がる複合体を集める。このとき、制御部 301 は、水平面内において、磁石 120 の先端部 122a を、チャンバ 211 の周方向の中央、かつ、チャンバ 211 の径方向の外側寄りの領域に接近させる。

40

【0114】

ステップ S102 において、制御部 301 は、移動機構 130 を駆動して、回転軸 311 に近づく方向に磁石 120 を移動させて、図 11C に示すように、チャンバ 211 に繋がる領域 222 と、領域 221 との接続部へ複合体を移送する。ステップ S102 において複合体をカートリッジ 200 に対して移動させる速度は、複合体がチャンバ 211 に取

50

り残されないようにあらかじめ定められた速度に設定される。前記速度は、10 mm / 秒以下とするのが好ましく、例えば0.5 mm / 秒とされる。

【0115】

ステップS 103において、制御部301は、モータ171を駆動してカートリッジ200を回転させて、図12Aに示すように、チャンバ212に繋がる領域222と、領域221との接続部へ複合体を移送する。ステップS 103において複合体をカートリッジ200に対して移動させる速度も、ステップS 102の場合と同様に設定される。

【0116】

ステップS 104において、制御部301は、移動機構130を駆動して、回転軸311から離れる方向に磁石120を移動させて、図12Bに示すように、チャンバ212へ複合体を移送する。ステップS 104において複合体をカートリッジ200に対して移動させる速度は、ステップS 102と同様に設定される。ステップS 105において、制御部301は、移動機構130を駆動して、磁石120をカートリッジ200から遠ざけて、図12Cに示すように、チャンバ212内に複合体を分散させる。

10

【0117】

以上のように、ステップS 101～S 105において、制御部301は、チャンバ211に対向する位置において磁石120をカートリッジ200に接近させた後、磁石120をカートリッジ200に接近させたまま、磁石120をチャンネル220に沿って移動させて、チャンバ212に対向する位置に磁石120を位置付ける。その後、制御部301は、磁石120をカートリッジ200から離れさせて、磁石120による複合体の集磁を解除する。

20

【0118】

ステップS 106において、制御部301は、上述した攪拌処理を行う。このとき、攪拌処理の前に複合体の集磁が解除され、複合体がチャンバ212内で広がっているため、チャンバ212内の液体の攪拌が確実に行われる。

【0119】

以上のようにして、図9のステップS 13の処理が行われる。なお、ステップS 101～S 106に示す移送処理及び攪拌処理は、後述するステップS 14～S 17においても、同様に行われる。

【0120】

図9に戻り、ステップS 14において、制御部301は、チャンバ212内の複合体を、チャンバ212からチャンバ213へ移送する。これにより、チャンバ213において、チャンバ212で形成された複合体と、洗浄液とが混合される。そして、ステップS 14において攪拌処理が行われると、チャンバ213内で複合体と未反応物質とが分離される。すなわち、チャンバ213では、洗浄により未反応の遊離成分が除去される。

30

【0121】

ステップS 15において、制御部301は、チャンバ213内の複合体を、チャンバ213からチャンバ214へ移送する。これにより、チャンバ214において、チャンバ212で形成された複合体と、洗浄液とが混合される。チャンバ214においても、洗浄により未反応の遊離成分が除去される。

40

【0122】

ステップS 16において、制御部301は、チャンバ214内の複合体を、チャンバ214からチャンバ215へ移送する。これにより、チャンバ215において、チャンバ212で形成された複合体と、洗浄液とが混合される。チャンバ215においても、洗浄により未反応の遊離成分が除去される。

【0123】

ステップS 17において、制御部301は、チャンバ215内の複合体を、チャンバ215からチャンバ216へ移送する。これにより、チャンバ216において、チャンバ212で形成された複合体と、R 4試薬とが混合される。そして、ステップS 17において攪拌処理が行われると、チャンバ212で形成された複合体が分散される。

50

## 【0124】

ステップS18において、制御部301は、R5試薬をチャンバ216に移送する。具体的には、制御部301は、モータ171を駆動してカートリッジ200を周方向に移動させ、開栓部195を駆動して、開栓部195に対向する位置に位置付けられた封止体232aを押し下げる。そして、制御部301は、モータ171を駆動してカートリッジ200を回転させ、遠心力により、収容部232に収容されたR5試薬をチャンバ216に移送する。これにより、チャンバ216において、ステップS17で生成された混合液に、さらにR5試薬が混合される。

## 【0125】

ステップS18において、ステップS17で生成された混合液と、R5試薬とが混合され、攪拌処理が行われると、測定用試料が調製される。この測定用試料において、複合体中の標識物質(アルカリホスファターゼ)と化学発光基質との反応により、シグナルとして化学発光が生じる。

10

## 【0126】

ステップS19において、制御部301は、モータ171を駆動して、チャンバ216を光検出器144aの真上に位置付け、チャンバ216から生じる光を、光検出器144aにより検出する。ステップS20において、制御部301は、光検出器144aにより検出した光に基づいて、免疫に関する分析処理を行う。制御部301は、光検出ユニット144からの出力に基づいて、被検物質の有無及び量などを分析し、分析結果を図示しない表示部に表示させる。前記表示部は、たとえば、本体部101の側面部分や、蓋部102の上面部分などに設けられ、液晶パネルなどにより構成される。

20

## 【0127】

上記の例において、蛍光物質で標識された第2の捕捉物質を用いてもよい。この場合、チャンバ216に励起光を照射するための光源が配置される。光検出器144aは、光源からの光照射によって複合体中の蛍光物質から放出される蛍光を検出する。

## 【0128】

さらなる実施形態では、図13に示すように、支持部材177に代えて、支持部材510が配置され、円盤形状のカートリッジ200に代えて、矩形形状のカートリッジ520が用いられる。その他の構成については、上記の分析装置100の具体的構成と同様である。

30

## 【0129】

支持部材510は、孔511と、3つの設置部512とを備える。孔511は、支持部材510の中心に設けられている。支持部材510は、所定の部材を介して回転軸311に設置される。これにより、支持部材510は、回転軸311を中心として回転可能となる。設置部512は、周方向に3つ設けられている。設置部512は、面512aと孔512bを備える。面512aは、支持部材510の上面よりも一段低い面である。孔512bは、面512aの中央に形成されており、支持部材510を上下方向に貫通する。カートリッジ520は、矩形形状であることを除いて、カートリッジ200と同様の構成を有する。

## 【0130】

分析を開始する場合、オペレータは、カートリッジ200の場合と同様に、試料をカートリッジ520に注入し、カートリッジ520を設置部512に設置する。そして、上記と同様に、制御部301は、モータ171と、移動機構130と、検出部140とを駆動する。これにより、カートリッジ520内の複合体の移送が磁石120により確実に行われる。よって、分析装置100による被検物質の分析精度を高く維持できる。また、この実施形態では、3つの設置部512に、それぞれカートリッジ520を設置できるため、3つのカートリッジ520に対して同時に分析を行うことができる。

40

## 【0131】

## [4.担体粒子の固定化方法]

本発明の範囲には、担体粒子を固相上に固定する方法も含まれる(以下、単に「固定化

50

方法」ともいう)。本実施形態の固定化方法によれば、担体粒子を、糖及びタンパク質を含む固体混合物で任意の固相上に固定することができる。本実施形態の固定化方法では、まず、糖及びタンパク質を含む溶液中に担体粒子を分散させて、担体粒子の懸濁液を得る。この担体粒子の懸濁液の組成などの詳細は、本実施形態のカートリッジの製造方法について述べたことと同様である。

#### 【0132】

次いで、固相上に上記の懸濁液を供給する。本実施形態において、固相は特に限定されず、免疫学的測定に通常用いられる固相から選択してもよい。そのような固相としては、例えば、マイクロプレート、マイクロチューブ、試験管などが挙げられる。また、固相は、上記のカートリッジ基体のようなマイクロ流体デバイスであってもよい。固相の材質は特に限定されないが、好ましくは上述のカートリッジ基体と同じ材質である。懸濁液の供給量は特に限定されず、固相の種類に応じて適宜決定すればよい。

10

#### 【0133】

そして、供給された懸濁液を乾燥させて、担体粒子を固相上に固定する。乾燥の手段及び条件などの詳細は、本実施形態のカートリッジの製造方法について述べたことと同様である。乾燥後、担体粒子が、固相上に糖及びタンパク質を含む固体混合物で固定された状態となる。この担体粒子は、固相上に強固に固定されている一方で、溶液に接触すると容易に分散する。

#### 【0134】

上述した実施の形態の他にも、本発明について種々の変形例があり得る。それらの変形例は、この発明の範囲に属しないと解されるべきではない。この発明には、請求の範囲と均等の意味及びその範囲内でのすべての変形とが含まれるべきである。

20

#### 【0135】

以下に、本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。なお、以下に記載の「HISCL」は、シスメックス株式会社の登録商標である。また、「質量%」を「wt%」と表記した。

#### 【実施例】

#### 【0136】

実施例1：担体粒子が固定された試料分析用カートリッジの性能評価

実施例1では、試料分析用カートリッジのチャンバに乾燥固定された磁性粒子の固定強度及び分散性を評価した。

30

#### 【0137】

##### (1) 材料

##### (1.1) カートリッジ基体

実施例1では、ポリメチルメタクリレート製のマイクロ流路カートリッジ基体(ASTI株式会社)を用いた。このカートリッジ基体は、液体試料を注入するための開口部と、試料収容部と、複数のチャンバと、それらを接続する流路とを備える。チャンバの容積は約34  $\mu\text{L}$ であり、流路の内径は約2  $\mu\text{m}$ である。

#### 【0138】

##### (1.2) 磁性粒子含有試薬

ストレプトアビジン結合磁性粒子(HISCL R2試薬：シスメックス株式会社)を、糖及びタンパク質を含む水溶液(1 wt% BSA、2.5 wt% スクロース及び20 mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬1(粒子濃度1 wt%、タンパク質に対する糖の質量比[糖/タンパク質]=2.5)を調製した(以下、「試薬1」ともいう)。

40

#### 【0139】

##### (1.3) 溶出試薬

甲状腺刺激ホルモン測定キットであるHISCL TSH試薬(シスメックス株式会社)に含まれるキャリブレーション(HISCL TSH C0、TSH濃度0 IU/mL)とHISCL TSH R3試薬とを1:1(体積比)で混合して、溶出試薬を調製した。実施例1では、この溶出試薬を、チャンバの内壁に乾燥固定された磁性粒子の分散性の確認のために用いた。なお、HISCL TSH R3試薬は、

50

ビオチン結合抗TSHモノクローナル抗体を含む水溶液である。

【0140】

#### (1.4) 試料分析装置

上記(1.1)のカートリッジ基体を遠心可能な試料分析装置の試作機(シスメックス株式会社)を用いた(以下、この試作機を「分析装置」ともいう)。

【0141】

#### (2) 試料分析用カートリッジの作製

試薬1(10 $\mu$ L)をカートリッジの反応チャンバに添加した。このカートリッジをデジタル制御デシケータ(McDRY MCU-201:エクアールシー社)に入れ、室温にて1時間乾燥させた。乾燥によって試薬1はチャンバ内で乾固し、磁性粒子が、糖及びタンパク質を含む固体混合物で該チャンバの内壁に固定された。これにより、試料分析用カートリッジを得た。同様に、複数の試料分析用カートリッジを作製した。

【0142】

#### (3) 乾燥固定された磁性粒子の外観、固定強度及び分散性の評価

##### (3.1) 外観及び固定強度

乾燥固定された磁性粒子の表面を観察して、亀裂の有無を確認した。磁性粒子が固定されたカートリッジを分析装置に水平に設置し、該カートリッジを、該分析装置の回転軸を中心に3000 rpmで30秒間又は6000 rpmで10秒間遠心した。これにより、チャンバに固定された磁性粒子に遠心力(500 G又は2000 G)を加えた。500 Gの遠心力を加える前後のチャンバの写真を図1に示す。また、別のカートリッジを机に軽く打ちつけて、チャンバに固定された磁性粒子に衝撃を加えた。

【0143】

図1の左の写真に示されるように、遠心前は、円形のチャンバの内壁に磁性粒子が固定されている様子が認められる。このチャンバに固定された磁性粒子に亀裂は認められなかった。図1の右の写真に示されるように、磁性粒子は500 Gの遠心力によってもチャンバ上を移動したり、チャンバから脱離したりせず、固定されたままであった。2000 Gの遠心力を加えた場合も同様に、磁性粒子の移動及び脱離は認められなかった(図示せず)。なお、これらの遠心条件は、血液から血漿を分離する場合に用いられる条件と同じである。また、衝撃によっても、磁性粒子はチャンバの内壁から脱離することはなかった。よって、本実施形態のカートリッジでは、磁性粒子がしっかりとチャンバに固定されていることが確認された。

【0144】

##### (3.2) 分散性

磁性粒子が固定されたカートリッジの開口部に溶出試薬(20 $\mu$ L)を注入した。そして、このカートリッジを分析装置で遠心することにより、溶出試薬と磁性粒子とを攪拌した。遠心による攪拌は、回転速度を300 rpmから500 rpmまで0.02秒で加速した後、500 rpmから300 rpmまで0.02秒で減速することを30秒間繰り返すことにより行った。溶出試薬は、遠心力により流路を通じてチャンバへと移動し、該チャンバに固定された磁性粒子と接触する。攪拌の前後のチャンバの写真を図2Aに示す。また、別のカートリッジについて、攪拌の条件を変えて、同様に分散性の試験を行った。この試験では、回転速度を50 rpmから250 rpmまで0.02秒で加速した後、250 rpmから50 rpmまで0.02秒で減速することを30秒間繰り返すことにより攪拌を行った。攪拌の前後のチャンバの写真を図2Bに示す。

【0145】

図2Aの左の写真に示されるように、遠心による攪拌の前は、円形のチャンバの内壁に磁性粒子が固定されている様子が認められる。攪拌後は、図2Aの右の写真に示されるように、溶出試薬との接触により固体混合物が溶解し、磁性粒子が内壁から脱離したことがわかる。また、溶液中に磁性粒子の凝集は認められなかった。すなわち、内壁から脱離した磁性粒子は、溶液中に分散していることがわかる。また、図2Bに示されるように、遠心による攪拌の条件を変えても同様の結果が得られた。これらのことから、本実施形態のカートリッジでは、遠心による攪拌によって、チャンバに固定された磁性粒子を、試料を

含む溶液に容易に分散させることができることが確認された。

【0146】

実施例2：乾燥固定された担体粒子の性能評価

実施例2では、磁性粒子の乾燥固定による免疫学的測定への影響と、乾燥固定した磁性粒子の保存安定性を評価した。

【0147】

(1) 材料

(1.1) 磁性粒子含有試薬

磁性粒子含有試薬として、実施例1で調製した試薬1を用いた。比較のため、ストレプトアビジン結合磁性粒子を、糖及びタンパク質を含まない水溶液(20 mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬2(粒子濃度1 wt%)を調製した(以下、「試薬2」ともいう)。

10

【0148】

(1.2) 基板への磁性粒子の固定及び回収

2枚のシクロオレフィン(COP)製基板(ASTI株式会社)の上に試薬1を50 µLずつ滴下した。これらの基板を塩化カルシウム乾燥剤とともにプラスチック容器内に静置し、密閉して自然乾燥させた。これにより基板上に磁性粒子が乾燥固定された。1枚の基板上の磁性粒子に精製水(50 µL)を滴下し、磁性粒子をピペティングにより回収した。もう1枚の基板をアルミラミネートバッグに封入し、恒温機内に45 °Cで3日間保存した。3日後、基板上の磁性粒子に精製水(50 µL)を滴下し、ピペティングにより磁性粒子を回収した。試薬2についても、上記と同様にして2枚のCOP製基板上に磁性粒子を乾燥固定し、そのうちの1枚の基板から磁性粒子を精製水(50 µL)で回収した。また、もう1枚の基板を上記と同様にして45 °Cで3日間保存した後、基板上の磁性粒子を精製水(50 µL)で回収した。

20

【0149】

(2) 免疫学的測定

回収した磁性粒子及びHISCL TSH試薬(シスメックス株式会社)を用いて免疫学的測定を行った。具体的には、次のとおりである。

(2.1) 試料、試薬及び測定装置

- ・試料(キャリアプレート)：HISCL TSH C0(TSH濃度0 IU/mL)及びHISCL TSH C3(TSH濃度50 µIU/mL)(シスメックス株式会社)
- ・第1試薬(捕捉用抗体)：HISCL TSH R1試薬(シスメックス株式会社)
- ・第2試薬(担体粒子)：上記(1.2)で回収した磁性粒子の懸濁液
- ・第3試薬(検出用抗体)：HISCL TSH R3試薬(シスメックス株式会社)
- ・洗浄液：HISCL洗浄液(シスメックス株式会社)
- ・第4試薬(基質用パUFFER)：HISCL R4試薬(シスメックス株式会社)
- ・第5試薬(発光基質)：HISCL R5試薬(CDP-Star(登録商標))(シスメックス株式会社)
- ・測定装置：全自動免疫測定装置HISCL-800(シスメックス株式会社)

30

【0150】

(2.2) 測定の手順

測定は、デフォルト設定にしたHISCL-800により行った。ただし、第2試薬を添加する操作は用手法で行った。反応キュベットに試料(30 µL)及び第1試薬(30 µL)を添加し、42 °Cで2分間インキュベートした。反応キュベットに第2試薬(30 µL)を加え、42 °Cで2分30秒間インキュベートした。反応キュベットに第3試薬(30 µL)を加え、42 °Cで2分30秒間インキュベートした。磁性粒子を磁石で集めて上清を除き、HISCL洗浄液(300 µL)を加えて磁性粒子を洗浄した(B/F分離)。B/F分離をさらに3回行った。上清を除き、磁性粒子に第4試薬(50 µL)及び第5試薬(100 µL)を加えた。得られた混合液を42 °Cで5分間インキュベートして、シグナル(発光強度)を測定した。対照として、回収した磁性粒子に代えて、0日間又は3日間冷蔵保存したHISCL TSH R2試薬(シスメックス株式会社)を用いて、同様にして測定を行った。HISCL TSH R2試薬は、ストレプトアビジン結合磁性粒子を含む水性懸濁液である。

40

50

## 【 0 1 5 1 】

## (3) 結果

図3 A及びBにおいて、測定結果を、HISCL TSH R2試薬を用いた測定で得られたシグナルに対する、回収した磁性粒子を用いた測定で得られたシグナルの比(%)で示した。図中、「0日目」は、保存前の磁性粒子を用いたときの比を示し、「3日目」は、3日間保存した磁性粒子を用いたときの比を示す。図3 Aにおいて、HISCL TSH C0は被検物質であるTSHを含まないので、得られたシグナルはバックグラウンド(ノイズ)を示す。図3 Aを参照して、試薬1の磁性粒子のシグナルは、0日目では、HISCL TSH R2試薬に比べて7~8%増加した。3日目も0日目と同様に、試薬1の磁性粒子のシグナルは、HISCL TSH R2試薬に比べて約7%増加した。このように、試薬1の磁性粒子のシグナルには、0日目と3日目の間で大きな変化は認められなかった。すなわち、磁性粒子の乾燥固定によりノイズが少し増加したが、測定値自体に対しては乾燥固定による影響はほとんどなかったといえる。試薬2の磁性粒子のシグナルは、0日目では、試薬1の磁性粒子のシグナルと同様に、HISCL TSH R2試薬に比べて約7%増加していた。しかし、3日目では、試薬2の磁性粒子のシグナルは、HISCL TSH R2試薬に比べて40%以上も増加していた。

10

## 【 0 1 5 2 】

図3 Bにおいて、HISCL TSH C3は被検物質であるTSHを含むので、得られたシグナルは、検出された被検物質の量を示す。図3 Bを参照して、試薬1の磁性粒子のシグナルは、0日目では、HISCL TSH R2試薬に比べて約20%低下した。3日目も0日目と同様に、試薬1の磁性粒子のシグナルは、HISCL TSH R2試薬に比べて約20%低下した。磁性粒子の乾燥固定によりシグナルは減少したが、被検物質の検出には十分な測定値が得られた。このように、試薬1の磁性粒子のシグナルには、0日目と3日目の間で大きな変化は認められなかった。試薬2の磁性粒子のシグナルは、0日目では、試薬1の磁性粒子のシグナルと同様に、HISCL TSH R2試薬に比べて約20%低下した。しかし、3日目では、試薬2の磁性粒子のシグナルは、HISCL TSH R2試薬に比べて約50%低下した。

20

## 【 0 1 5 3 】

以上のことから、糖及びタンパク質なしで磁性粒子を乾燥固定すると、該磁性粒子を安定に保存できないことが示唆された。これに対して、糖及びタンパク質とともに磁性粒子を乾燥固定すると、該磁性粒子は安定に保存されることが示された。

30

## 【 0 1 5 4 】

## 実施例3：糖濃度の検討

実施例3では、試料分析用カートリッジに乾燥固定する磁性粒含有試薬における適切な糖の濃度を、乾燥後の磁性粒子の分散性に基づいて検討した。

## 【 0 1 5 5 】

## (1) 材料

## (1.1) 磁性粒子含有試薬

下記のようにして、磁性粒子含有試薬3~5を調製した。

## ・磁性粒子含有試薬3

ストレプトアビジン結合磁性粒子(HISCL R2試薬：シスメックス株式会社)を、糖及びタンパク質を含む水溶液(1wt%BSA、0.5wt%トレハロース及び20mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬3(粒子濃度1wt%、[糖/タンパク質]=0.5)を調製した(以下、「試薬3」ともいう)。

40

## 【 0 1 5 6 】

## ・磁性粒子含有試薬4

ストレプトアビジン結合磁性粒子を、糖及びタンパク質を含む別の水溶液(1wt%BSA、0.1wt%トレハロース及び20mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬4(粒子濃度1wt%、[糖/タンパク質]=0.1)を調製した(以下、「試薬4」ともいう)。

## 【 0 1 5 7 】

## ・磁性粒子含有試薬5

ストレプトアビジン結合磁性粒子を、糖及びタンパク質を含むさらに別の水溶液(0.35

50

wt% BSA、35.4 wt% トレハロース及び20 mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬5 (粒子濃度1 wt%、[糖/タンパク質] = 101.1)を調製した(以下、「試薬5」ともいう)。

#### 【0158】

##### (1.2) カートリッジへの磁性粒子の固定

試薬3 (10 µL)を、実施例1と同じカートリッジ基体の反応チャンバに添加した。このカートリッジ基体を塩化カルシウム乾燥剤とともにプラスチック容器内に静置し、密閉して自然乾燥させた。これにより、試薬3の磁性粒子が乾燥固定されたカートリッジを得た。同様に、試薬4の磁性粒子が乾燥固定されたカートリッジを作製した。作製したカートリッジを机に軽く打ちつけて、磁性粒子がチャンバの内壁に強固に固定されていることを確認した。

10

#### 【0159】

一方、試薬5を添加したカートリッジ基体を上記と同様に乾燥剤とともに容器内に一晩静置しても、試薬5は乾燥せず、水分が多量に残っていた。すなわち、カートリッジ基体の反応チャンバには、磁性粒子を含むゲル状物質が付着していた。このカートリッジ基体を1000 rpm (60 G)で遠心すると、遠心力のよってゲル状物質が内壁上をずれ動いたので、固定強度は十分ではなかった。よって、試薬5の磁性粒子は反応チャンバに乾燥固定されなかった。

#### 【0160】

##### (2) 分散性の評価

カートリッジの開口部に、実施例1と同じ溶出試薬(20 µL)を注入した。そして、このカートリッジを実施例1の分析装置で遠心することにより、溶出試薬と磁性粒子とを撈拌した。遠心による撈拌は、回転速度を50 rpmから250 rpmまで0.02秒で加速した後、250 rpmから50 rpmまで0.02秒で減速することを30秒間繰り返すことにより行った。この撈拌操作を合計3回行った。試薬3の磁性粒子は、溶出試薬との接触により内壁から脱離していた。また、溶液中に磁性粒子の凝集は認められなかった。よって、試薬3の磁性粒子は、溶液中に分散していることがわかった。一方、試薬4の磁性粒子は、溶出試薬と接触しても一部が内壁に残っていた。さらに、溶液中に磁性粒子の沈殿が認められた。

20

#### 【0161】

以上のことから、磁性粒子含有試薬における糖の濃度が低すぎると、乾燥固定された磁性粒子を分散させることが難しいことがわかった。一方、磁性粒子含有試薬における糖の濃度が高すぎると、磁性粒子が乾燥固定されないことがわかった。よって、磁性粒子含有試薬における糖の濃度は0.5 wt%以上30 wt%以下であることが好ましいことが示唆された。

30

#### 【0162】

##### 実施例4：タンパク質濃度の検討

実施例4では、試料分析用カートリッジに乾燥固定する磁性粒子含有試薬における適切なタンパク質の濃度を、乾燥後の磁性粒子の分散性に基いて検討した。

#### 【0163】

##### (1) 材料

40

##### (1.1) 磁性粒子含有試薬

ストレプトアビジン結合磁性粒子(HISCL R2試薬：シスメックス株式会社)を、糖及びタンパク質を含む水溶液(0.35 wt% BSA、3.49 wt% グルコース及び20 mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬6 (粒子濃度1 wt%、[糖/タンパク質] = 9.9)を調製した(以下、「試薬6」ともいう)。比較のため、ストレプトアビジン結合磁性粒子を、糖及びタンパク質を含む別の水溶液(0.04 wt% BSA、4.14 wt% グルコース及び20 mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬7 (粒子濃度1 wt%、[糖/タンパク質] = 103.5)を調製した(以下、「試薬7」ともいう)。

#### 【0164】

##### (1.2) カートリッジへの磁性粒子の固定

50

試薬 6 (10  $\mu$ L) を、実施例 1 と同じカートリッジ基体の反応チャンバに添加した。このカートリッジ基体を塩化カルシウム乾燥剤とともにプラスチック容器内に静置し、密閉して自然乾燥させた。これにより、試薬 6 の磁性粒子が乾燥固定されたカートリッジを得た。同様に、試薬 7 の磁性粒子が乾燥固定されたカートリッジを作製した。作製したカートリッジを机に軽く打ちつけて、磁性粒子がチャンバの内壁に強固に固定されていることを確認した。

【 0 1 6 5 】

## (2) 分散性の評価

カートリッジの開口部に、実施例 1 と同じ溶出試薬 (20  $\mu$ L) を注入した。そして、このカートリッジを実施例 1 の分析装置で遠心することにより、溶出試薬と磁性粒子とを攪拌した。攪拌条件は、実施例 3 と同じである。試薬 6 の磁性粒子は、溶出試薬との接触により内壁から脱離していた。また、溶液中に磁性粒子の凝集は認められなかった。よって、試薬 6 の磁性粒子は、溶液中に分散していることがわかった。一方、試薬 7 の磁性粒子は、溶出試薬との接触により内壁から脱離したが、溶液中に磁性粒子の沈殿が認められた。これらのことから、磁性粒子含有試薬におけるタンパク質の濃度が低すぎると、乾燥固定された磁性粒子を均一に分散させることが難しいことがわかった。この結果より、本発明者らは、磁性粒子含有試薬におけるタンパク質の濃度は 0.1 wt% 以上であることが好ましいと考えた。

【 0 1 6 6 】

## 実施例 5 : 糖濃度とタンパク質濃度との比の検討

実施例 5 では、試料分析用カートリッジに乾燥固定する磁性粒含有試薬における糖とタンパク質との適切な濃度比を、乾燥後の磁性粒子の外観及び固定強度に基づいて検討した。

【 0 1 6 7 】

## (1) 材料

### (1.1) 磁性粒子含有試薬

下記のようにして、磁性粒子含有試薬 8 ~ 10 を調製した。

#### ・磁性粒子含有試薬 8

ストレプトアビジン結合磁性粒子 (HISCL R2 試薬 : シスメックス株式会社) を、糖及びタンパク質を含む水溶液 (3 wt% BSA、1.5 wt% トレハロース及び 20 mM MES (pH 6.5)) で懸濁して、磁性粒子含有試薬 8 (粒子濃度 1 wt%、[糖 / タンパク質] = 0.5) を調製した (以下、「試薬 8」ともいう)。

【 0 1 6 8 】

#### ・磁性粒子含有試薬 9

ストレプトアビジン結合磁性粒子を、糖及びタンパク質を含む別の水溶液 (15.0 wt% BSA、1.5 wt% グルコース及び 20 mM MES (pH 6.5)) で懸濁して、磁性粒子含有試薬 9 (粒子濃度 1 wt%、[糖 / タンパク質] = 0.1) を調製した (以下、「試薬 9」ともいう)。

【 0 1 6 9 】

#### ・磁性粒子含有試薬 10

ストレプトアビジン結合磁性粒子を、糖及びタンパク質を含むさらに別の水溶液 (1.9 wt% BSA、0.19 wt% トレハロース及び 20 mM MES (pH 6.5)) で懸濁して、磁性粒子含有試薬 10 (粒子濃度 1 wt%、[糖 / タンパク質] = 0.1) を調製した (以下、「試薬 10」ともいう)。

【 0 1 7 0 】

### (1.2) カートリッジへの磁性粒子の固定

試薬 8 (10  $\mu$ L) を、実施例 1 と同じカートリッジ基体の反応チャンバに添加した。このカートリッジ基体を塩化カルシウム乾燥剤とともにプラスチック容器内に静置し、密閉して自然乾燥させた。これにより、試薬 8 の磁性粒子が乾燥固定されたカートリッジを得た。同様に、試薬 9 及び 10 の磁性粒子が乾燥固定されたカートリッジを作製した。

【 0 1 7 1 】

## (2) 磁性粒子の外観及び固定強度の評価

乾燥固定された試薬 8 の磁性粒子に亀裂は認められなかった。また、試薬 8 の磁性粒子が固定されたカートリッジを1000 rpm (60 G)で遠心しても、磁性粒子はチャンバの内壁から移動及び脱離することはなかった。一方、乾燥固定された試薬 9 の磁性粒子には亀裂が認められた。亀裂が生じると、製品の輸送中の振動や衝撃などによって磁性粒子が脱離するおそれがある。乾燥固定された試薬10の磁性粒子に亀裂は認められなかったが、カートリッジを1000 rpm (60 G)で遠心すると、磁性粒子はチャンバの内壁から脱離した。これらのことから、磁性粒子含有試薬における糖濃度とタンパク質濃度との比(糖濃度/タンパク質濃度)が低すぎると、磁性粒子をチャンバの内壁に強固に固定することが難しいことがわかった。また、磁性粒子含有試薬における糖の質量とタンパク質の質量との比(糖/タンパク質)は0.5以上であることが好ましいことがわかった。

10

【0172】

比較例 1

比較例 1 では、糖及びタンパク質を含まない磁性粒子含有試薬をカートリッジに乾燥固定し、固定された磁性粒子の分散性を確認した。具体的には、下記のとおりである。

【0173】

(1) カートリッジへの磁性粒子の固定

ストレプトアビジン結合磁性粒子(HISCL R2試薬：シスメックス株式会社)を、糖及びタンパク質を含まない水溶液(20 mM MES(pH 6.5))で懸濁して、磁性粒子含有試薬11(粒子濃度 1 wt%)を調製した(以下、「試薬11」ともいう)。試薬11(10 µL)を、実施例 1 と同じカートリッジ基体の反応チャンバに添加した。このカートリッジ基体を塩化カルシウム乾燥剤とともにプラスチック容器内に静置し、密閉して自然乾燥させた。これにより、試薬11の磁性粒子が乾燥固定されたカートリッジを得た。乾燥固定された試薬11の磁性粒子に亀裂は認められなかった。

20

【0174】

(2) 分散性の評価

カートリッジの開口部に、実施例 1 と同じ溶出試薬(20 µL)を注入した。そして、このカートリッジを実施例 1 の分析装置で遠心することにより、溶出試薬と磁性粒子とを攪拌した。攪拌条件は、実施例 3 と同じである。攪拌操作を合計 4 回行ったが、試薬11の磁性粒子はほとんど脱離せず、チャンバに固定された状態を保っていた。

【0175】

比較例 2

比較例 2 では、糖及びタンパク質のいずれか一方を含む磁性粒子含有試薬を基板上に乾燥固定し、磁性粒子の固定強度及び分散性を確認した。具体的には、下記のとおりである。

30

【0176】

(1) 試薬の調製及び基板への固定

緩衝液(20 mM MES(pH 6.5))にスクロースを 2、5 又は10 wt%の濃度となるように添加して、糖を含む水溶液を調製した。各水溶液の一部を取り、これらに磁性粒子を 1 wt%の粒子濃度となるように添加して、糖を含む磁性粒子含有試薬を調製した。緩衝液(20 mM MES(pH 6.5))にBSAを 1 又は 3 wt%の濃度となるように添加して、タンパク質を含む水溶液を調製した。各水溶液の一部を取り、これらに磁性粒子を粒子濃度 1 wt%となるように添加して、タンパク質を含む磁性粒子含有試薬を調製した。PMMA製基板(ASTI株式会社)及びCOP製基板(ASTI株式会社)の上に、各磁性粒子含有試薬を10 µLずつ滴下した。これらの基板を塩化カルシウム乾燥剤とともにプラスチック容器内に静置し、密閉して自然乾燥させた。これにより基板上に磁性粒子が乾燥固定された。

40

【0177】

(2) 磁性粒子の固定強度及び分散性の評価

基板上の磁性粒子の表面を観察して、亀裂の有無を確認した。そして、基板を机に軽く打ちつけて、固定された磁性粒子に衝撃を加え、磁性粒子が基板から脱離したか否かを確認した。別の基板上の磁性粒子に、実施例 1 と同じ溶出試薬(10 µL)を滴下し、磁性粒子

50

の分散性を確認した。結果を表1に示す。表中、固定強度の欄の「○」は、衝撃を加えても磁性粒子が基板から脱離しなかったことを示し、「×」は、磁性粒子が衝撃により基板から脱離したことを示す。分散性の欄の「○」は、磁性粒子が溶出試薬に分散したことを示し、「×」は、磁性粒子が溶出試薬に十分に分散しなかったことを示す。

【0178】

【表1】

No.	基板	乾燥前の試薬の組成	亀裂	固定強度	分散性
1	PMMA	1%磁性粒子, 2%スクロース及び20 mM MES (pH 6.5)	なし	○	×
2	PMMA	1%磁性粒子, 5%スクロース及び20 mM MES (pH 6.5)	なし	○	×
3	PMMA	1%磁性粒子, 10%スクロース及び20 mM MES (pH 6.5)	なし	○	×
4	PMMA	1%磁性粒子, 1%BSA 及び20 mM MES (pH 6.5)	あり	×	○
5	PMMA	1%磁性粒子, 3%BSA 及び20 mM MES (pH 6.5)	あり	×	○
6	COP	1%磁性粒子, 2%スクロース及び20 mM MES (pH 6.5)	なし	○	×
7	COP	1%磁性粒子, 5%スクロース及び20 mM MES (pH 6.5)	なし	○	×
8	COP	1%磁性粒子, 10%スクロース及び20 mM MES (pH 6.5)	なし	○	×
9	COP	1%磁性粒子, 1%BSA 及び20 mM MES (pH 6.5)	あり	×	○
10	COP	1%磁性粒子, 3%BSA 及び20 mM MES (pH 6.5)	あり	×	○

10

20

30

40

【0179】

表1からわかるように、タンパク質を含まない試薬(No. 1~3及び6~8)を乾燥固定する

50

と、磁性粒子は、亀裂を生じずに基板上に強固に固定された。しかし、分散性は良好ではなく、これらの磁性粒子は試料分析には適していない。一方、糖を含まない試薬(No. 4、5、9及び10)を乾燥固定すると、磁性粒子の表面に亀裂が生じた。また、衝撃により磁性粒子は基板から脱離した。よって、これらの磁性粒子は、輸送中の振動や衝撃に耐えないおそれがある。これらのことから、糖及びタンパク質のいずれか一方のみでは、固定強度と分散性の両方を満足することはできないことが示された。

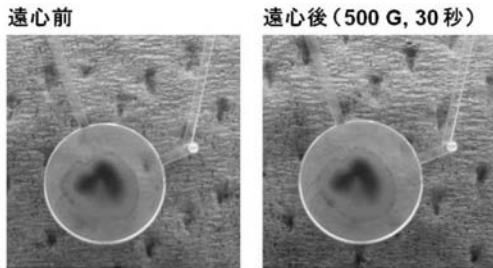
【符号の説明】

【0180】

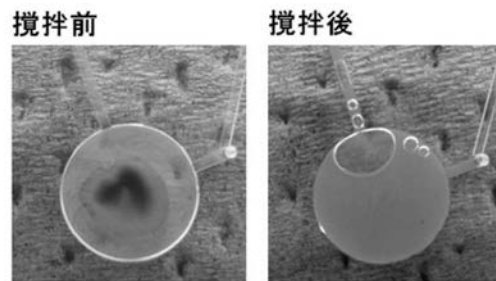
100	: 分析装置	
101	: 本体部	10
101a, 102a	: 筐体	
102	: 蓋部	
110, 180	: 設置部材	
111, 112, 113, 114	: 孔	
115, 116	: 突部	
117, 182	: 弾性部材	
120	: 磁石	
121	: 永久磁石	
122	: 磁性体	
122a	: 先端部	20
130	: 移動機構	
131	: 取付部材	
131a, 134a	: 孔	
134, 143	: 支持部	
135, 136	: モータ	
140	: 検出部	
142	: 反射部材	
144	: 光検出ユニット	
144a	: 光検出器	
150	: 収容体	30
151	: 上面	
152, 153	: 収容部	
155	: 孔	
160	: 光調整部	
162a	: 孔	
162c	: フィルタ部材	
171	: モータ	
171a	: 駆動軸	
172	: エンコーダ	
176, 191	: 板部材	40
177	: 支持部材	
181	: 突部	
192	: クランパ	
193	: 撮像部	
194	: 照明部	
195	: 開栓部	
200	: カートリッジ	
200a	: 基体	
201	: 孔	
211 ~ 216	: チャンバ	50

- 2 2 0 , 2 4 3 : チャネル
- 2 2 1 , 2 2 2 : 領域
- 2 3 1 , 2 3 2 : 収容部
- 2 3 1 a , 2 3 2 a : 封止体
- 2 4 1 : 開口部
- 2 4 2 : 分離部
- 2 4 3 a : 孔
- 2 4 3 b : 領域
- 3 0 1 : 制御部
- 3 1 0 : 設置部材
- 3 1 1 : 回転軸
- 3 1 2 : 固定部材
- 3 2 1 , 3 2 2 : ヒータ
- 3 4 0 : 暗室
- 5 1 0 : 支持部材
- 5 2 0 : カートリッジ

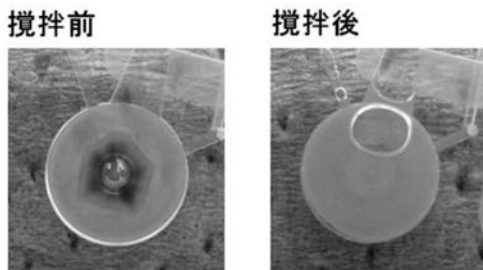
【 図 1 】



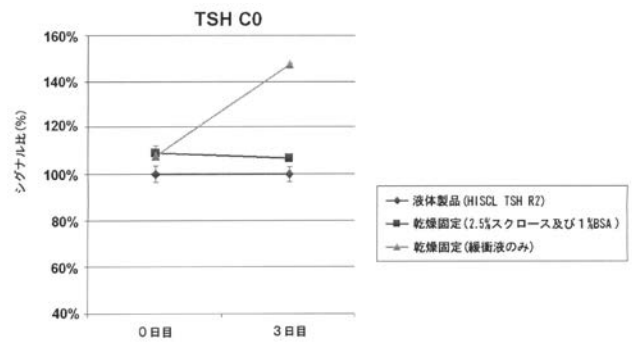
【 図 2 B 】



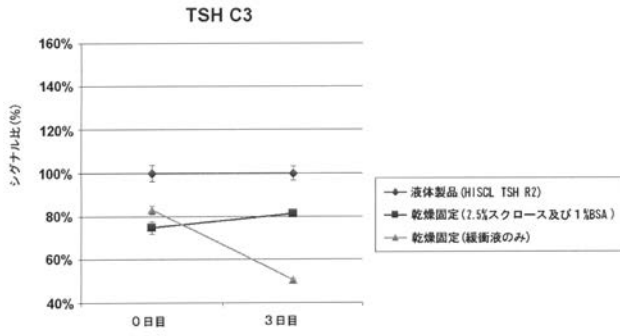
【 図 2 A 】



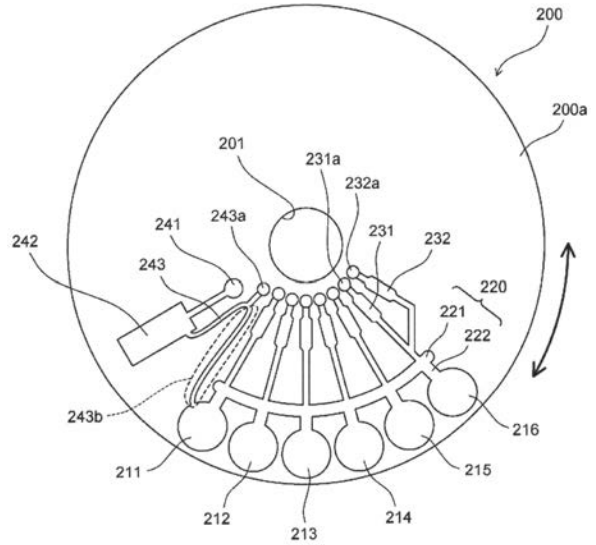
【 図 3 A 】



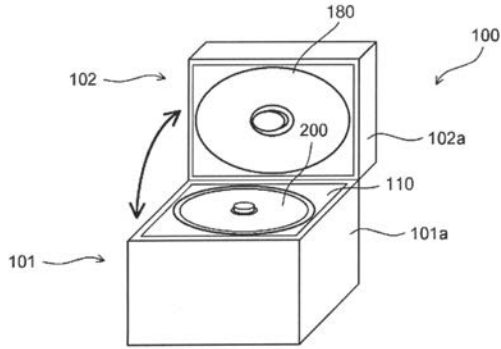
【 図 3 B 】



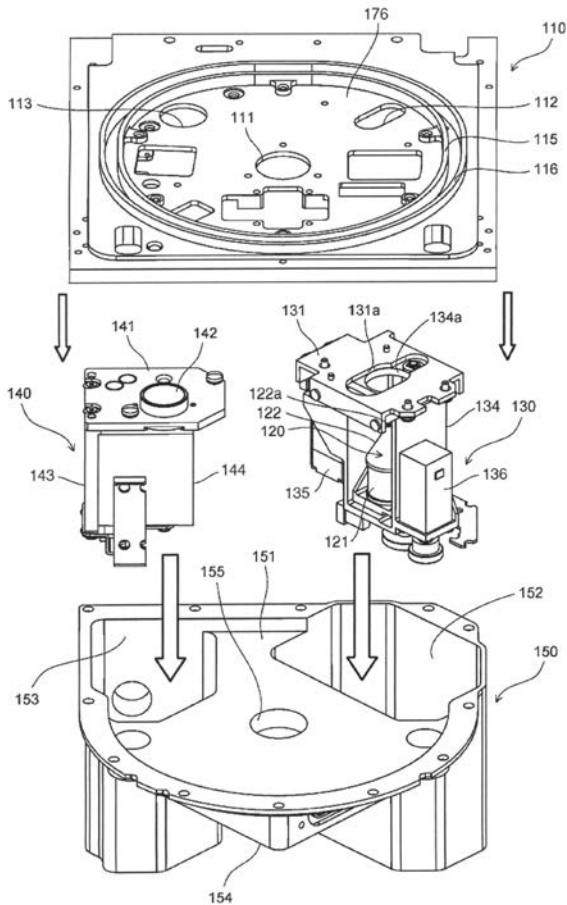
【 図 4 B 】



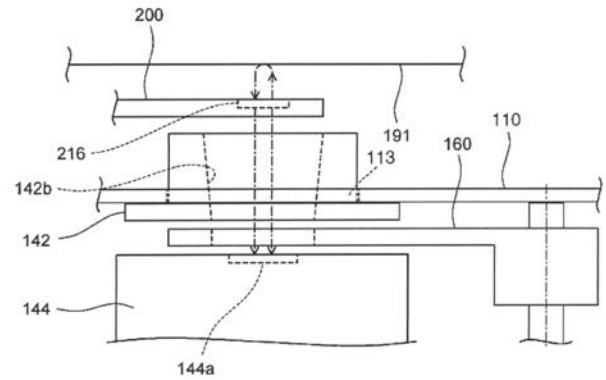
【 図 4 A 】



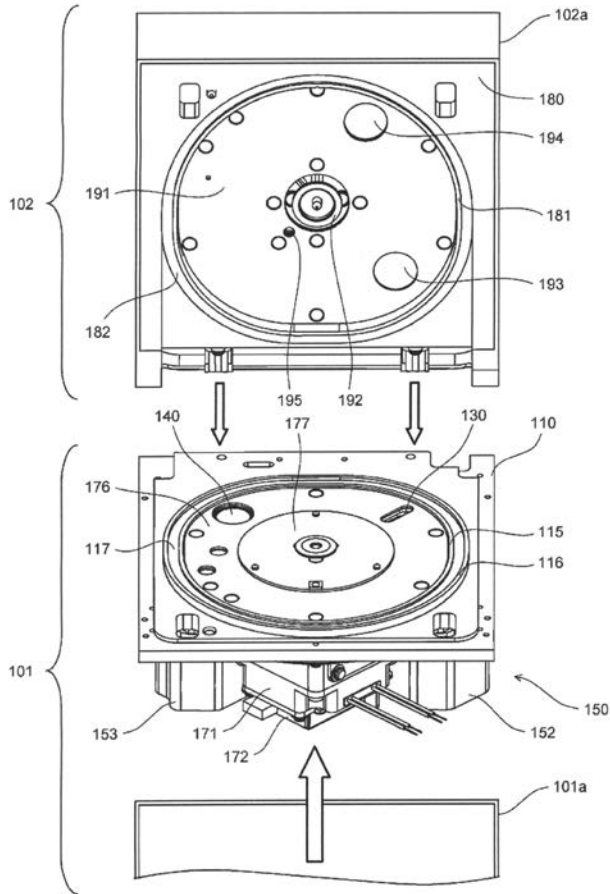
【 図 5 】



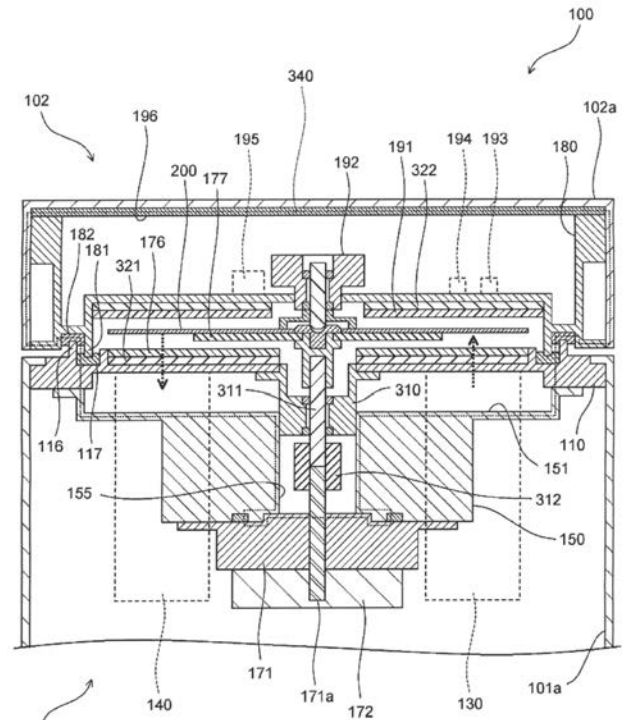
【 図 6 】



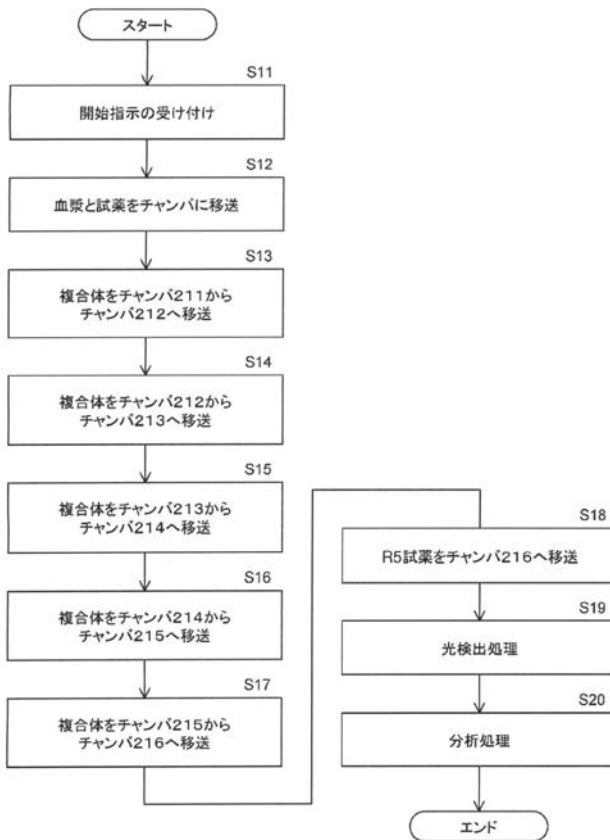
【 図 7 】



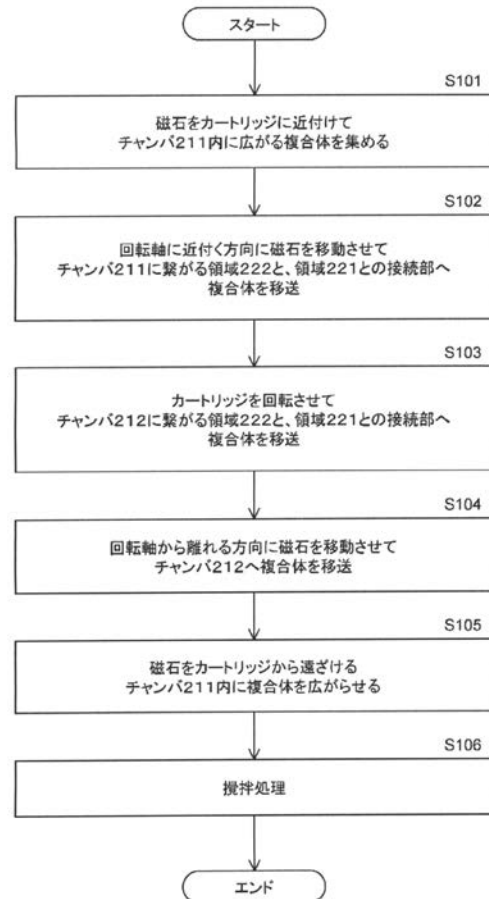
【 図 8 】



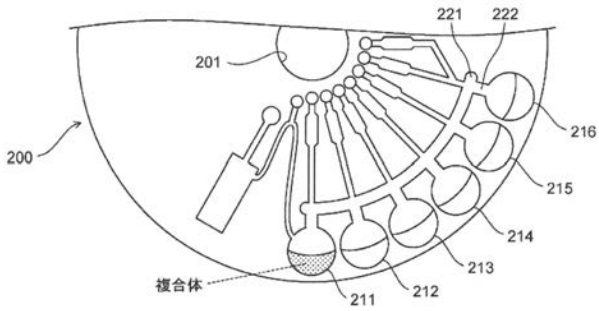
【 図 9 】



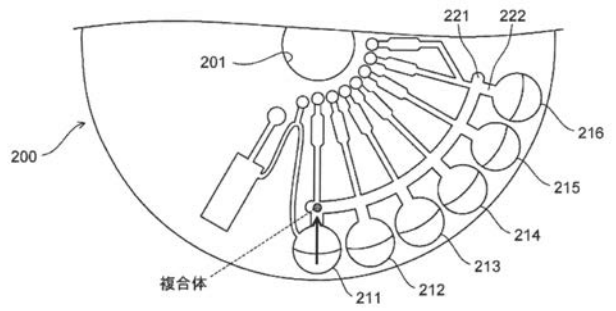
【 図 10 】



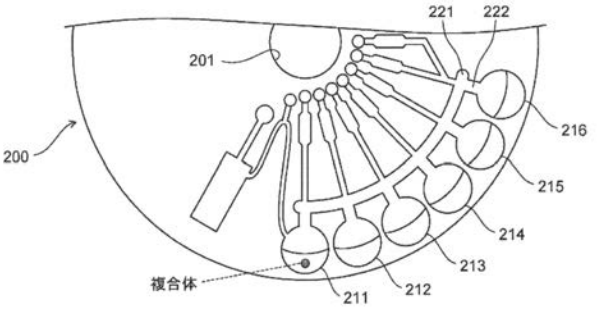
【図 1 1 A】



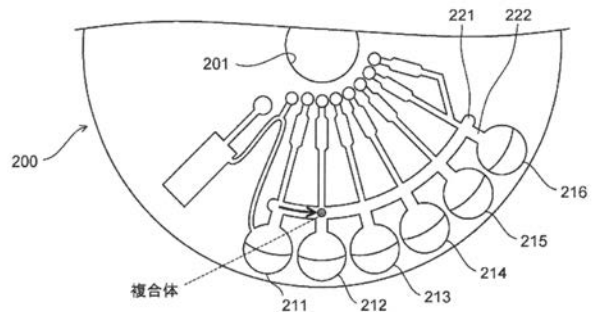
【図 1 1 C】



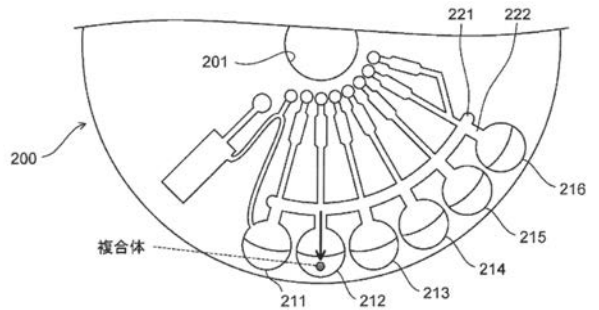
【図 1 1 B】



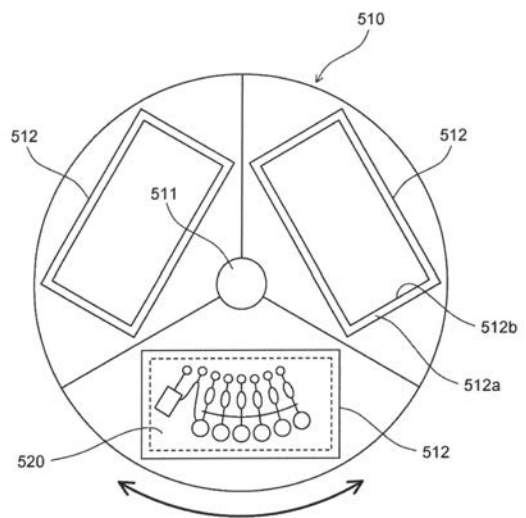
【図 1 2 A】



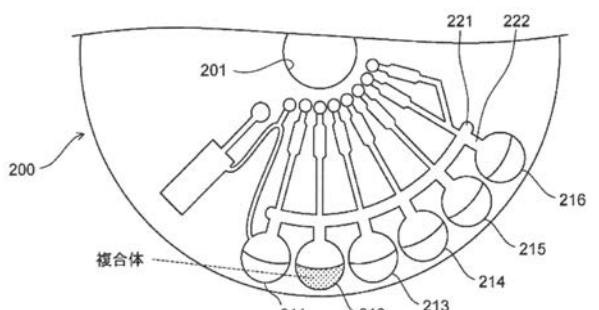
【図 1 2 B】



【図 1 3】



【図 1 2 C】



---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
<b>G 0 1 N 35/00</b>	<b>(2006.01)</b>	G 0 1 N	35/08	A
		G 0 1 N	35/00	D
		G 0 1 N	35/00	C

(72)発明者 野田 健太

神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 シスメックス株式会社内

Fターム(参考) 2G058 AA09 CC08

专利名称(译)	样品分析盒及其制造方法和用途		
公开(公告)号	<a href="#">JP2018036105A</a>	公开(公告)日	2018-03-08
申请号	JP2016168313	申请日	2016-08-30
[标]申请(专利权)人(译)	希森美康株式会社		
申请(专利权)人(译)	希森美康公司		
[标]发明人	堀井和由 野田健太		
发明人	堀井 和由 野田 健太		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 G01N33/553 G01N37/00 G01N35/08 G01N35/00		
CPC分类号	G01N33/54306 G01N33/54326 B01L3/502707 B01L3/502761 B01L2200/0621 B01L2200/0647 B01L2200/16 B01L2300/0803 B01L2300/0864 B01L2400/0409 B01L2400/043 B01L2400/0677 B01L2300/0848 G01N33/54333 G01N35/00069		
FI分类号	G01N33/543.525.U G01N33/53.D G01N33/543.525.W G01N33/553 G01N37/00.101 G01N35/08.A G01N35/00.D G01N35/00.C		
F-TERM分类号	2G058/AA09 2G058/CC08		
代理人(译)	清稻本润一		
其他公开文献	JP6635897B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

[问题] 本发明提供了一种样品分析盒，其中，载体颗粒被干燥并固定以承受运输过程中的振动和冲击，并且在使用时易于分散在液体中，还提供了一种使用该盒检测被检物质的方法。[解决方案] 样本分析盒是盒基板，在其中形成有用于容纳包含测试物质的液体的腔室和用于容纳要被供应到该腔室的液体试剂的容纳部分。并且，固定在腔室内壁上的载体颗粒，容纳在容器中的第一液体试剂以及与测试物质特异性结合的第一捕获物质。此外，在该样品分析盒中，利用包含糖和蛋白质的固体混合物将载体颗粒固定至腔室的内壁。[选择图]无

(19) 日本国特許庁(JP)	(12) 公開特許公報(A)	(11) 特許出願公開番号 特開2018-36105 (P2018-36105A) 平成30年3月8日(2018.3.8)
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード(参考) 2G058
G01N 33/543 (2006.01)	G01N 33/543 525U	
G01N 33/53 (2006.01)	G01N 33/53 D	
G01N 33/553 (2006.01)	G01N 33/543 525W	
G01N 37/00 (2006.01)	G01N 33/553	
G01N 35/08 (2006.01)	G01N 37/00 101	
	審査請求 未請求 請求項の数 40 O L (全 38 頁) 最終頁に続く	
(21) 出願番号 (22) 出願日	特願2016-168313 (P2016-168313) 平成28年8月30日(2016.8.30)	(71) 出願人 390014960 シスメックス株式会社 兵庫県神戸市中央区臨海海岸通1丁目5番1号
		(74) 代理人 100065248 弁理士 野河 信太郎 100159385 弁理士 甲斐 伸二 100163407 弁理士 金子 裕輔 100169936 弁理士 楠本 深
		(72) 発明者 堀井 和由 神戸市中央区臨海海岸通1丁目5番1号 シスメックス株式会社内 最終頁に続く
(54) 【発明の名称】	試料分析用カートリッジ及びその製造方法、並びにその利用	