

(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2008-96324

(P2008-96324A)

(43) 公開日 平成20年4月24日(2008.4.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 35/00</b> (2006.01)	GO 1 N 35/00	E 2G054
GO 1 N 33/532 (2006.01)	GO 1 N 33/532	B 2G058
GO 1 N 21/78 (2006.01)	GO 1 N 21/78	C

審査請求 未請求 請求項の数 12 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2006-279441 (P2006-279441)	(71) 出願人	501387839 株式会社日立ハイテクノロジーズ 東京都港区西新橋一丁目24番14号
(22) 出願日	平成18年10月13日(2006.10.13)	(74) 代理人	100100310 弁理士 井上 学
		(72) 発明者	岡野定 雅弘 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内
		(72) 発明者	植松 千宗 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内
		(72) 発明者	小澤 理 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内
		Fターム(参考)	2G054 EA02

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 発光検出システム

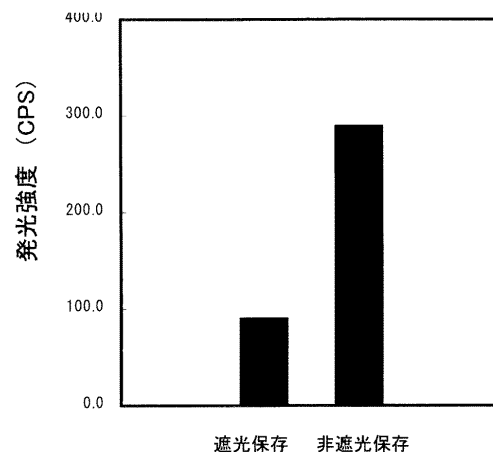
(57) 【要約】

【課題】 免疫分析システムのバックグラウンドノイズを低減し、免疫分析システムを高精度かつ高感度化することを目的とする。

【解決手段】 遮光環境下にて反応容器を格納する容器格納部と、反応容器の保管時間を記録し、保管時間によって分析に使用する反応容器を選定する機能と、反応容器のバックグラウンドノイズによって分析に使用するかどうかを選定する機能とを有することを特徴とする免疫分析システム。これにより、バックグラウンドノイズを低減して、免疫分析システム高感度化を実現できる。

【選択図】 図5

図 5



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

試料をおさめるための少なくとも 1 つの容器を、遮光された容器格納部へ所定時間格納する工程と、

前記容器格納部から容器を搬出し、前記試料と発光試薬を添加して前記容器の内部で発光反応を生じさせる工程と、

前記発光反応を検出する工程を有する分析方法。

**【請求項 2】**

前記容器を前記容器格納部に格納する時間を容器格納時間として記録する工程と、

予め記録した閾値と記録された容器格納時間とを比較する工程と、

前記比較する工程の比較結果に基づいて前記容器を選択する工程とをさらに有することを特徴とする請求項 1 に記載の分析方法。

10

**【請求項 3】**

前記発光反応は、化学発光であることを特徴とする請求項 1 に記載の分析方法。

**【請求項 4】**

前記容器は芳香族化合物を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の分析方法。

**【請求項 5】**

検体をおさめるための少なくとも 1 つの容器を格納する容器格納部と、

前記容器格納部を遮光する遮光部と、

前記容器格納部に格納された前記容器について格納時間を記録する時間記録部と、

前記容器に対して光学検出を行う検出部と、

前記時間記録部に記録された格納時間に基づいて前記容器を選択するデータ処理部とを有する分析システム。

20

**【請求項 6】**

前記データ処理部は、記録された格納時間と予め記録した格納時間閾値とを比較し、前記格納時間が前記格納時間閾値より大きい前記容器を選択するように制御することを特徴とする請求項 5 に記載の分析システム。

**【請求項 7】**

前記容器を前記容器格納部から搬出する容器搬出機構をさらに有し、前記データ処理部は前記格納時間が前記閾値を越えている前記容器を選択する指令を前記容器搬出機構に出力することを特徴とする請求項 5 に記載の分析システム。

30

**【請求項 8】**

前記容器は芳香族化合物を含むことを特徴とする請求項 5 に記載の分析システム。

**【請求項 9】**

前記データ処理部は、前記検出部の検出結果と予め記録した光学検出値閾値とを比較し、前記検出結果が前記光学検出値閾値より小さい前記容器へ、前記検体格納部から前記検体を分注させるように制御することを特徴とする請求項 5 に記載の分析システム。

**【請求項 10】**

検体をおさめるための少なくとも 1 つの容器を格納する容器格納部と、

前記容器格納部を遮光する遮光部と、

前記容器格納部に格納された前記容器について格納時間を記録する時間記録部と、

前記容器に対して光学検出を行う検出部と、

前記検出部の検出結果に基づいて前記容器を選択するデータ処理部とを有する分析システム。

40

**【請求項 11】**

前記データ処理部は、前記検出部の検出結果と予め記録した光学検出値閾値とを比較し、前記検出結果が前記光学検出値閾値より小さい前記容器へ、前記検体格納部から前記検体を分注させるように制御することを特徴とする請求項 10 に記載の分析システム。

**【請求項 12】**

前記容器は芳香族化合物を含むことを特徴とする請求項 10 に記載の分析システム。

50

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、免疫分析に関し、タンパク質や核酸などの有無について抗原抗体反応を利用し、発光量を計測することで検出を行う発光検出方式免疫分析システムに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

免疫分析システムでは、検体中に含まれる抗原の検出方法として、サンドイッチアッセイが一般的に使用される。サンドイッチアッセイでは、抗原に特異的に結合する一次抗体と二次抗体がそれぞれ用いられる。

## 【0003】

サンドイッチアッセイでは、まず、一次抗体をあらかじめ磁性粒子に固定化しておく。一次抗体を固定化した磁性粒子を検体と混合し、検体中に含まれる抗原と一次抗体を結合させる。抗原と一次抗体が結合した状態の磁性粒子を磁石で保持しつつ、反応容器を洗浄する。

## 【0004】

次に上記反応容器に、ルシフェラーゼやアルカリフォスファターゼなどの酵素で標識した二次抗体を含む試薬を加え、磁性粒子と混合する。この結果、二次抗体は、磁性粒子上の一次抗体と結合した抗原と結合し、抗原は一次抗体と二次抗体とで挟まれた状態となる。抗原を抗体で挟んだ状態の磁性粒子を磁石で保持しつつ、反応容器を洗浄する。

## 【0005】

更に、上記反応容器に、上記酵素の基質を充分量加え、抗原が抗体に挟まれた状態の磁性粒子と混合する。この結果、基質は二次抗体に標識された酵素と反応して、発光が生じる。

## 【0006】

発光強度は基質が充分量あるため、酵素の量つまり二次抗体の量に依存して増減する。二次抗体の量は磁性粒子上に捕捉された抗原の量に依存するため、抗原の量を発光強度として定量できる。

## 【0007】

従来の免疫分析システムは、一般に、抗原抗体反応や発光検出を行う反応・検出部、検体や試薬の分注や反応容器の洗浄を行う検体・試薬分注洗浄機構、検体を格納する検体格納部、試薬を格納する試薬格納部、容器を格納する容器格納部、容器を反応・検出部まで搬出する容器搬出機構、各部分を制御、データの取得・処理・記録を行う制御部などから構成されている。

## 【0008】

一方、複数の試料保存のための容器の管理に関して、試料の入・出庫などに関する情報の管理を簡単かつ確実に行えるようにして、不要な試料を早期に処理してデッドスペースを生じさせないようにする試料保存容器の管理装置の報告がある(例えば、特許文献1)。

## 【0009】

【特許文献1】特開2000-283897号公報

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0010】

上記の免疫分析システムの構成では、検体中に含まれる抗原の濃度が高い場合、発光強度は大きくなる。しかし検体中に含まれる抗原の濃度が低い場合、発光強度は小さくなり、測定感度や精度等に問題が生じる。つまり二次抗体に由来する本来の発光強度と比較してバックグラウンドノイズが高いため、バックグラウンドが無視できなくなり、正確な強度として判定できなくなるといった課題がある。このため、バックグラウンドノイズの低減は、分析システムを高感度化かつ高精度化するため必須である。

## 【0011】

10

20

30

40

50

発光測定においては、ポリスチレンやポリプロピレンチューブなど樹脂製の反応容器が使い捨ての容器として広く用いられている。しかし樹脂製の反応容器は容器自体が微弱に発光する。このため、反応容器内に収められた溶液について発光測定を行う際には、反応容器自体からの発光が寄与することによりバックグラウンドノイズを上昇させる。この結果として、反応容器由来の発光は、酵素などによる微弱な発光の測定の感度と精度を下げる。特に、ルシフェラーゼやアルカリフォスファターゼなどの酵素を用いるサンドイッチアッセイにおける化学発光は発光強度が微弱であるため、反応容器由来の発光は測定精度を大幅に低下させてしまう。反応容器由来の発光を簡単かつ確実に低減させ、酵素などによる微弱な発光を高感度かつ高精度に測定するシステムの開発が望まれている。

【課題を解決するための手段】

【0012】

上記課題を解決するべく、反応容器を予め遮光しながら格納し、反応容器の遮光時間を管理することで反応容器由来の発光を低減する構成を提供する。

【0013】

ここで、反応容器由来の発光は、反応容器に含まれる樹脂など、特に芳香族化合物等が光を吸収し、当該吸収の結果として光を放出することで生じる。芳香族化合物は反応容器の主成分の材料として含まれることや、可塑剤として微量成分として含まれること、反応容器のラベルとして含まれる場合などがある。

【0014】

反応容器由来の発光強度は容器が保存されている光学的な環境によって異なる。反応容器に含まれる芳香族化合物等による光吸収が進まない遮光環境下で保存された反応容器は、蛍光灯などの光照射手段があつて当該光吸収が進む環境下で保存された容器と比較して発光強度が小さくなる。

【0015】

そこで、本発明では、免疫分析システム中に遮光部による遮光環境下に、試料を収めるための反応容器を収める容器格納部を設ける。また、反応容器が容器格納部に収められる時間を記録する。また、試料に対する光学検出の結果と、容器格納部での反応容器管理時間とを照合して情報を処理する。

【0016】

本発明による分析方法は、一例として、試料をおさめるための少なくとも1つの容器を、遮光された容器格納部へ所定時間格納する工程と、前記容器格納部から容器を搬出し、前記試料と発光試薬を添加して前記容器の内部で発光反応を生じさせる工程と、前記発光反応を検出する工程を有する。

【0017】

本発明による分析システムは、一例として、検体をおさめるための少なくとも1つの容器を格納する容器格納部と、前記容器格納部を遮光する遮光部と、前記容器格納部に格納された前記容器について格納時間を記録する時間記録部と、前記容器に対して光学検出を行う検出部と、前記時間記録部に記録された格納時間に基づいて前記容器を選択するデータ処理部とを有する。

【0018】

本発明による分析システムは、一例として、検体をおさめるための少なくとも1つの容器を格納する容器格納部と、前記容器格納部を遮光する遮光部と、前記容器格納部に格納された前記容器について格納時間を記録する時間記録部と、前記容器に対して光学検出を行う検出部と、前記検出部の検出結果に基づいて前記容器を選択するデータ処理部とを有する。

【0019】

上記により、反応容器由来の発光を低減することで、二次抗体に由来する本来の微弱な発光を検出でき、高感度かつ高精度な免疫分析が実現できる。

【発明の効果】

【0020】

10

20

30

40

50

本発明によれば、試料を収める複数の反応容器について、光学測定の実測値がばらつく場合にも、バックグラウンドとなる発光強度の低い反応容器を選択することができる。その結果、測定値にバラツキが生じたりすることがなく、高精度に測定することができる。

【0021】

また、発光強度が微弱な化学発光を検出する際にも、反応容器そのものに由来する発光の影響を排除し、化学発光に由来する発光そのものについての測定精度を高めることができる。その結果、化学発光法など微弱な発光を測定する免疫分析システムについて、高感度化が実現できる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

以下に、本発明の実施の例を、図面を参照しながら説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものでない。

【0023】

免疫分析システムの例を図1に示す。免疫分析システム中には、遮光環境下にある容器格納部101を設ける。反応容器は樹脂製であり、容器格納部101で遮光部110によって遮光された状態で格納される。容器格納部101で遮光された反応容器の遮光時間は、制御部102の時間記録部103に容器格納時間として記録される。データ処理部109において、時間記録部103に記録された遮光時間に基づくデータ処理を行う。例えば、遮光時間と予め記録された遮光時間の閾値とを比較し、記録された遮光時間が閾値を越えている場合、当該遮光時間に対応する反応容器を選択するように容器搬出機構104に指令を出力する。このとき、選択された反応容器は、容器格納部101から容器搬出機構104により反応・検出部105へ搬送される。

【0024】

上記容器由来の発光強度が閾値より低い反応容器であるときには、検体・試薬分注洗浄機構106は、検体格納部107から検体を分注し、また試薬格納部108から一次抗体を固定化した磁性粒子を分注して混合してもよい。この場合には、次に、検体・試薬分注洗浄機構106は、磁性粒子を磁石で保持しながら余分な液体を除去して、反応容器を洗浄する。更に、検体・試薬分注洗浄機構106は、洗浄した反応容器に、酵素で標識した二次抗体を含む試薬を分注して混合する。続いて、検体・試薬分注洗浄機構106は、磁性粒子を磁石で保持しながら余分な液体を除去して、反応容器を洗浄する。最後に、検体・試薬分注洗浄機構106は、試薬格納部108から基質を含む試薬を反応容器に分注する。上記分注後、反応・検出部105は発光反応の発光強度を測定する。

【0025】

反応容器が格納された後の処理のフローの例を、図2に示す。ステップ201で分析処理が開始されると、ステップ202で容器格納部101に格納されている反応容器は容器搬出機構104により選択される。その際、ステップ203で行われる遮光時間が閾値より大きいかが否かの判断の結果、遮光時間が大と判断された反応容器が選択される。閾値が大と判断されたときはさらに異なる反応容器について選択を行う。選択された反応容器は、ステップ204で容器格納部101から容器搬出機構104により反応・検出部105へ搬送される。次に、ステップ205で、反応容器は容器由来、すなわち検体を入れない状態の反応容器の発光が測定される。ステップ206で容器由来の発光強度が閾値より小さいかが判断される。その結果、発光強度が少と判断されたときは、反応容器は分析に使用可能と判断される。発光強度が大と判断されたときは、さらに異なる反応容器について選択を行う。ステップ207で、反応容器に、検体を分注する。ステップ208で、反応容器に、第1試薬を分注する。ステップ209で磁性粒子を磁石で保持しながら余分な液体を除去して反応容器を洗浄する。ステップ210で反応容器に、第2試薬を分注する。ステップ211で、磁性粒子を磁石で保持しながら余分な液体を除去して、反応容器を洗浄する。ステップ212で、反応容器に、第3試薬を分注する。ステップ213で、発光反応の発光強度を測定する。ステップ214で、測定した発光強度を制御部102のデータ処理部109が処理する。ステップ215で、データ処理された発光強度を制御部102の時間記憶部103に記録する。ステップ216で、検査待ち検体がな

10

20

30

40

50

いか判断される。検査待ち検体が無い場合は、ステップ217で分析処理が終了する。

【0026】

以下、一例として芳香族化合物等を含む反応容器を遮光するものを用い、反応容器が光を吸収することを防ぎ、かつ反応容器が光を放出したのち、反応容器の発光強度を測定した場合のデータを用いて本発明を説明する。

【0027】

図3において、遮光されて保存された反応容器の発光強度と、比較対照として蛍光灯の下で保存（非遮光保存）された反応容器の発光強度を示す。発光強度は、1秒当たりの測定光子数(cps: count per second)としている。遮光されて保存された反応容器の発光強度は、蛍光灯の下で保存された反応容器の発光強度より低い。

10

【0028】

図4において、遮光されて保存された反応容器の発光強度と、比較対照として蛍光灯の下で保存された反応容器の発光強度の時間変化を示す。図中丸でプロットした遮光保存された反応容器の発光強度は、図中三角でプロットした蛍光灯の下で保存された反応容器の発光強度より低い。蛍光灯の下で保存された反応容器の発光強度は測定時間を経るに従い減少したが、なお遮光保存された反応容器の発光強度よりも高い。

【0029】

これらのことから、遮光された格納部で反応容器を遮光させることで、反応容器由来の発光を低減させることができる。また遮光した反応容器は容器由来の発光が低減するため、酵素使用による微弱な化学発光を高感度かつ高精度に測定可能となる。なおここでは芳香族化合物を含む反応容器を用いている。芳香族化合物を含む反応容器由来の発光は、検体が微量であるために化学発光が微光になるときと比較すると特に高くなる。よって、本方式は特に微量検体の微弱な化学発光を測定する際に有効である。

20

【0030】

図5において、遮光保存された反応容器及び蛍光灯の下で保存された反応容器の各々について、検体、一次抗体、二次抗体、試薬を分注し、反応容器内で化学発光を生じさせる場合の発光反応の発光強度を示す。遮光保存された反応容器での発光反応の発光強度は、蛍光灯の下で保存された反応容器での発光反応の発光強度より低いことがわかる。

【0031】

図6において、遮光保存された反応容器での発光反応の発光強度と、蛍光灯の下で保存された反応容器での発光反応の発光強度の各々と、反応の際の酵素濃度との関係を示す。遮光保存された反応容器での発光反応の発光強度は、蛍光灯の下で保存された反応容器での発光反応の発光強度より、反応の際の酵素濃度に対して直線性が高いことがわかる。なお、酵素濃度がさらに1/10低い測定条件でも直線性が保たれており、高精度かつ高感度で測定が可能である。本例では、酵素を10 $\mu$ l使用しているため、酵素濃度を酵素分子数に計算すると、従来の10<sup>-18</sup> mol/検体から、さらに1/10少ない数である10<sup>-19</sup> mol/検体の酵素分子数で、高精度かつ高感度で測定が可能である。

30

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】本発明に係る免疫分析システムの実施の形態を示す図である。

40

【図2】本発明に係る免疫分析システムの流れを説明するための図である。

【図3】遮光された反応容器の発光強度と、比較対照として蛍光灯の下で保存された反応容器の発光強度を示す図である。

【図4】遮光された反応容器の発光強度と蛍光灯の下で保存された反応容器の発光強度の時間変化を示す図である。

【図5】発光強度が閾値より小さな反応容器での発光反応の発光強度と、蛍光灯の下で保存された反応容器での発光反応の発光強度を示す図である。

【図6】発光強度が閾値より小さな反応容器での発光反応の発光強度と、蛍光灯の下で保存された反応容器を用いた発光反応において、酵素濃度変化に対する発光強度の違いを示す図である。

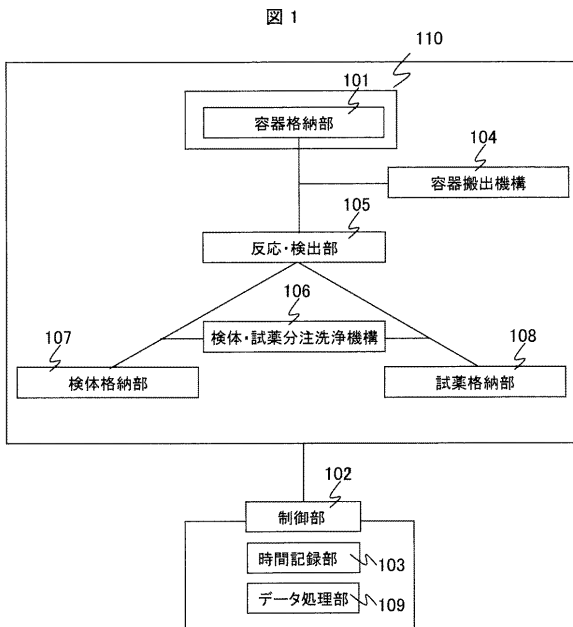
50

【符号の説明】

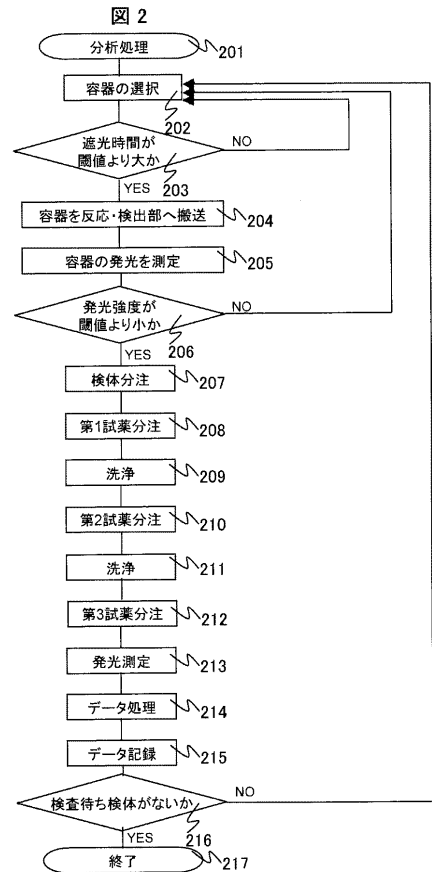
【0033】

- 101... 容器格納部
- 102... 制御部
- 103... 時間記憶部
- 104... 容器搬出機構
- 105... 反応・検出部
- 106... 検体・試薬分注洗浄機構
- 107... 検体格納部
- 108... 試薬格納部
- 109... データ処理部
- 110... 遮光部。

【図1】

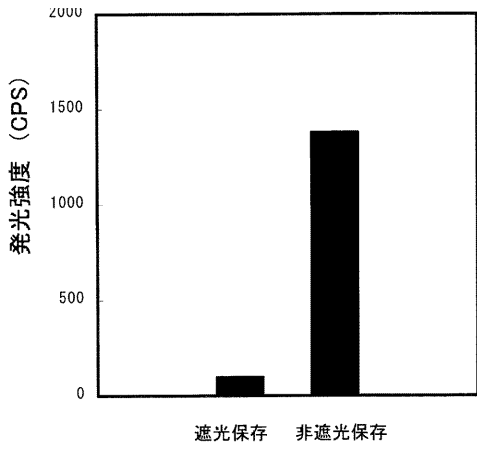


【図2】



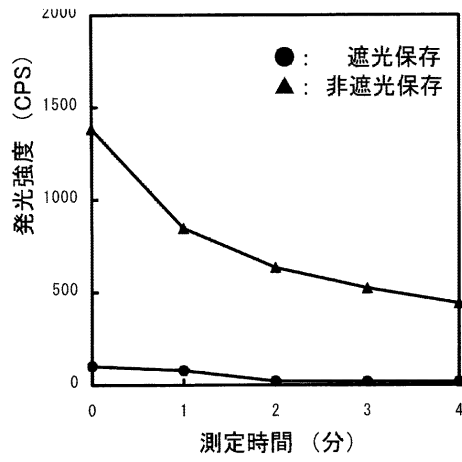
【 図 3 】

図 3



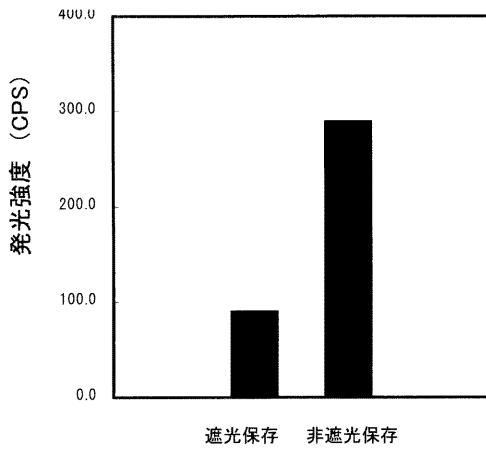
【 図 4 】

図 4



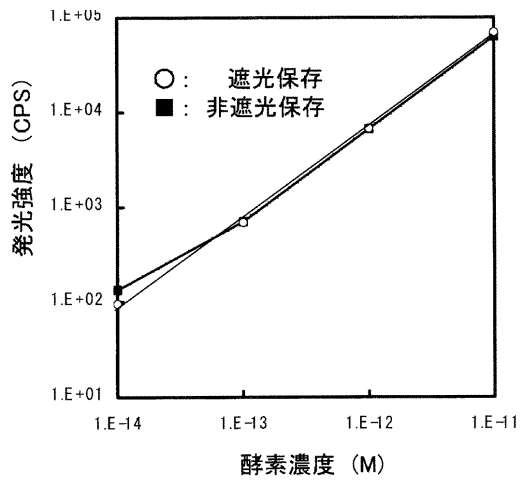
【 図 5 】

図 5



【 図 6 】

図 6



---

フロントページの続き

Fターム(参考) 2G058 CC11 CC14 CF28 EA02 EA04 GA02 GD03 GE03

专利名称(译)	发光检测系统		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008096324A</a>	公开(公告)日	2008-04-24
申请号	JP2006279441	申请日	2006-10-13
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社日立高新技术		
申请(专利权)人(译)	日立高新技术公司		
[标]发明人	冈野定雅弘 植松千宗 小澤理		
发明人	冈野定 雅弘 植松 千宗 小澤 理		
IPC分类号	G01N35/00 G01N33/532 G01N21/78		
FI分类号	G01N35/00.E G01N33/532.B G01N21/78.C		
F-TERM分类号	2G054/EA02 2G058/CC11 2G058/CC14 2G058/CF28 2G058/EA02 2G058/EA04 2G058/GA02 2G058/GD03 2G058/GE03		
代理人(译)	井上 学		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明的一个目的是减少免疫测定系统的背景噪声并使免疫测定系统高度准确和高度敏感。 解决方案：容器存储单元，用于在遮光环境中存储反应容器，具有记录反应容器的存储时间，根据存储时间选择要用于分析的反应容器以及反应容器的背景噪音的功能 具有选择是否用于分析的功能的免疫测定系统。 结果，可以降低背景噪声并且可以提高免疫测定系统的灵敏度。 [选择图]图5

