

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010 年 9 月 30 日(30.09.2010)

(10) 国際公開番号
WO 2010/109926 A1



- (51) 国際特許分類:
G01N 35/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/050016
- (22) 国際出願日: 2010 年 1 月 5 日(05.01.2010)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2009-080346 2009 年 3 月 27 日(27.03.2009) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社日立ハイテクノロジーズ (HITACHI HIGH-TECHNOLOGIES CORPORATION) [JP/JP]; 〒1058717 東京都港区西新橋一丁目 2 4 番 1 4 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 野島 彰紘 (NOJIMA Akihiro) [JP/JP]; 〒2440817 神奈川県横浜市戸塚区吉田町 2 9 2 番地 株式会社日立製作所 生産技術研究所内 Kanagawa (JP). 谷口 伸一 (TANIGUCHI Shinichi) [JP/JP]; 〒2440817 神奈川県横浜市戸塚区吉田町 2 9 2 番地 株式会社日立製作所 生産技術研究所内 Kanagawa (JP). 井上 隆史 (INOUE Takashi) [JP/JP]; 〒

2440817 神奈川県横浜市戸塚区吉田町 2 9 2 番地 株式会社日立製作所 生産技術研究所内 Kanagawa (JP). 石澤 宏明 (ISHIZAWA Hiroaki) [JP/JP]; 〒3128504 茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社日立ハイテクノロジーズ那珂事業所内 Ibaraki (JP).

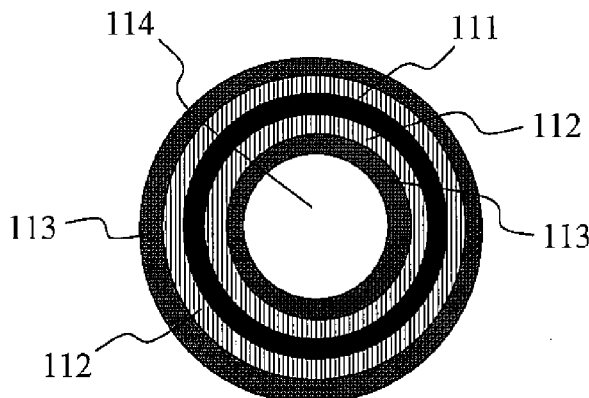
- (74) 代理人: 平木 祐輔 (HIRAKI Yusuke); 〒1050001 東京都港区虎ノ門 4 丁目 3 番 2 0 号 神谷町 MTビル 1 9 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,

[続葉有]

(54) Title: PIPETTING NOZZLE FOR AUTOANALYZER, METHOD FOR PRODUCING SAME AND AUTOANALYZER USING SAME

(54) 発明の名称: 自動分析装置用分注ノズルとその製造方法及びそれを搭載した自動分析装置

図 2



(57) Abstract: An autoanalyzer for analyzing a specimen, such as urine or blood, wherein analysis data are not affected by carry-over caused by a pipetting nozzle that is used repeatedly. The surface of a pipetting nozzle is coated with a chemically adsorbed polyethylene glycol derivative so as to form a molecular layer capable of inhibiting the adsorption of biomolecules. Thus, carry-over caused by the pipetting nozzle can be reduced.

(57) 要約: 尿や血液などの検体を分析する自動分析装置において、分析測定値が繰り返し使用する分注ノズルによるキャリアオーバーの影響を受けないようにする。分注ノズルの表面を化学吸着したポリエチレングリコール誘導体で被覆することで、生体高分子の吸着を抑制する分子層を形成し、分注ノズルによるキャリアオーバーを低減する。



GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, 添付公開書類:

NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ,
CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG).

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

自動分析装置用分注ノズルとその製造方法及びそれを搭載した自動分析装置

技術分野

[0001] 本発明は、自動分析装置用分注ノズルとその製造方法、及びその分注ノズルを搭載した自動分析装置に関する。

背景技術

[0002] 医療診断用の臨床検査においては、血液や尿などの生体検体中のタンパク、糖、脂質、酵素、ホルモン、無機イオン、疾患マーカー等の生化学分析や免疫学的分析を行う。臨床検査では、複数の検査項目を信頼度高くかつ高速に処理する必要があるため、その大部分を自動分析装置で実行している。自動分析装置としては、例えば、血清等の検体に所望の試薬を混合して反応させた反応溶液を分析対象とし、その吸光度を測定することで生化学分析を行う生化学分析装置が知られている。この種の生化学分析装置は、検体及び試薬を収納する容器、検体及び試薬を注入する反応セルを備え、検体及び試薬を反応セルに自動注入する分注ノズルを備えた分注機構と、反応セル内の検体及び試薬を混合する攪拌棒を持つ自動攪拌機構、反応中又は反応が終了した検体の吸光度を計測する機構、計測終了後の反応溶液を吸引・排出し反応セルを洗浄する自動洗浄機構等を備えている（例えば特許文献１）。

[0003] こうした自動分析装置では、分注ノズルにより多数の検体及び試薬を次々と分注することが一般的である。例えば検体分注ノズルは、採血管などの検体を収納する容器から所定量の検体を分取して、試薬を反応させる反応セルに検体を吐出する。試薬分注ノズルは、試薬を収納する容器から分取した所定量の試薬を検体反応セルへ吐出する。この際、分注ノズル表面に残留した被分注液体の成分が次の被分注液体に混入すると測定結果に影響を及ぼす場合がある。これをキャリーオーバーと呼ぶ。

- [0004] キャリーオーバーの問題は、近年の自動分析装置の分野における検体及び試薬の微量化の要求と深く関連している。分析項目数の増大に伴い、単項目に割くことのできる検体量が少量化する。検体自体が貴重で多量に準備できない場合もあり、高感度化への要求もある。また、分析内容が高度化するにつれて、一般に試薬が高価となり、コスト面からも試薬微量化への要請がある。こうした検体及び試薬の微量化への要求の高まりにより分注ノズルの細径化が進み、管の外径は0.5 mm程度となっている。管径の微小化は、分注される溶液の体積に対しての表面積の割合を増大させる。このため、分注ノズル表面への物質吸着を制御し、キャリーオーバーを低減することの重要性が増している。
- [0005] また、生化学項目と測定濃度範囲の広い免疫項目の分析のための検体を同一容器から採取して測定する場合、分注ノズルによる検体間のキャリーオーバーを極力低減することが求められている。
- [0006] キャリーオーバーを低減する方法としては従来、純水や界面活性剤を含む洗剤による洗浄が実施されてきた（特許文献2）。しかし、こうした方法ではタンパク質に代表される生体高分子の洗浄が困難な場合がある。他にも活性酸素により付着した検体の残渣を失活させるという方法があるが、この方法では失活した検体の残渣が表面に堆積してしまうため、長期間の使用には耐えられない（特許文献3）。
- [0007] 使い捨て可能なディスポーザブルノズル（ディスポーザブルティップ）を用いる方法もキャリーオーバーに対する解決法の一つとして知られている。しかし、ディスポーザブルノズルは強度、加工精度の観点から、微細な構造を形成することは難しい。また、ディスポーザブルノズルの使用は大量の廃棄物を出し、環境負荷を増大させてしまうという問題点もある。
- [0008] 表面上に吸着した化学物質の定量や組成解析にはXPS（X線光電子分光法）などが広く用いられており、例えば自己組織化膜などの単分子膜の組成や化学種の定量について解析が行われている（非特許文献1, 2）。これと同様に、表面上に残存したタンパク質の定量もXPSにより定量することが

可能である（非特許文献3）。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：特許第1706358号公報

特許文献2：特開2007-85930号公報

特許文献3：特許第3330579号公報

非特許文献

[0010] 非特許文献1：Chemical Reviews, 96, pp.1533-1554(1996)

非特許文献2：Journal of the American Chemical Society, 115, pp.10714-10721 (1993)

非特許文献3：The Journal of Physical Chemistry B, 107, pp.6766-6773 (2003)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0011] キャリーオーバーを回避する必要性の高い分析項目は、分析成分がタンパク質などの生体高分子であることが多い。よってキャリーオーバーの低減のためには、分注ノズルの表面にタンパク質など生体高分子が残存するのを抑制することが解決策となる。

[0012] 本発明の目的は、ディスポーザブルノズルを使用せずに、表面の清浄度を上げ、キャリーオーバーの低減を図った自動分析装置の分注ノズル、及びそれを用いた自動分析装置を提供することである。

課題を解決するための手段

[0013] 分注ノズル表面にポリエチレングリコール誘導体を化学吸着させ、被覆することでタンパク質など生体由来高分子の吸着を抑制し上記の課題を解決する。ここで化学吸着とは共有結合やイオン結合などの化学結合を原因とする、吸着熱が20～100kcal/mol程度の固体表面での吸着様式のことを意味する。吸着熱が通常10kcal/mol以下のファンデルワールス力を結合力とする。

る物理吸着とは区別される。ポリエチレングリコールは親水性であり、その立体斥力によりタンパク質などの生体高分子の吸着を抑制する効果が期待できる。

[0014] 必要なエチレンオキシド基の数が2以上であること及び分子が配列するための分子間相互作用が十分であるという要請からポリエチレングリコール誘導体の数平均分子量は100以上であることが望ましい。また、逆に分子間の立体的な斥力が大きすぎると表面へのポリエチレングリコール誘導体の吸着量が低減してしまう。このためポリエチレングリコール誘導体の数平均分子量は20000以下であることが望ましい。被覆するポリエチレングリコール誘導体の化学構造は単一である必要はなく混合物であっても良い。

[0015] 図1に分注ノズルの概略図を示す。分注ノズル本体部101には、耐腐食性の高く加工性の良い材料としてステンレススチールが広く用いられている。分注ノズルは102で曲げられ吸引機構へと接続されている。検体や試薬吸引時は中空部103に所定量を吸引する。分注時には検体や試薬に対して分注ノズルの外面も浸漬される。このためポリエチレングリコール誘導体が化学吸着し被覆する領域としては、端部105及び外面であり、また、分注ノズルが検体又は試薬を分注する際に検体又は試薬に浸漬する領域104よりも十分に大きい。可能なら内面を処理しても良い。

[0016] 分注ノズルの表面に対してポリエチレングリコール誘導体を化学吸着させる方法としては、一般式1で示されるような片末端にチオール基を有するポリエチレングリコール誘導体を用いて硫黄と金属の化学結合により分子を固定化する方法が考えられる。

[0017]
$$\text{HS}-\text{R}_1-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{R}_2 \quad \cdots \quad (\text{一般式 } 1)$$

(n は2以上の正の整数、 R_1 は炭化水素基、 R_2 はH又は CH_3)

しかし、先にも述べたように、自動分析装置の分注ノズルには加工性の良さ、耐食性などの観点を踏まえて、ステンレススチールが広く用いられているが、ステンレススチールに硫黄原子が直接化学結合を形成するのは困難である。この問題を解決する方法として電解メッキ又は無電解メッキを用いて

分注ノズルの表面に金薄膜層を形成し、その金薄膜層に対してポリエチレングリコール誘導体を硫黄と金の化学結合により固定化する方法を考えた。金薄膜層の厚さは、下地の表面が完全に金薄膜層に覆われるという要請から 10 nm 以上が望ましい。以上の表面処理法は複雑な形状に対しても可能であり、ノズルの処理に適している。

[0018] このようにして処理された分注ノズルの図 1 点線での処理部断面図を、図 2 に示す。111 は分注ノズル本体部でステンレススチールなどからなる。112 は 111 上に電解メッキ又は無電解メッキを用いて形成された金薄膜層である。ここではステンレススチール上に直接メッキした場合を示したが、ステンレススチール上にニッケルなどをメッキしてから金メッキを施しても良い。113 は 112 に対して化学結合したポリエチレングリコール誘導体の層を示しており、タンパク質などの生体高分子の吸着を抑制する役割を果たす。114 は分注ノズルの中空部である。電解メッキ又は無電解メッキにより形成された金薄膜層に対してアルコールや UV/エキシマ処理により洗浄を行う。その後、片末端にチオール基を有するポリエチレングリコール誘導体の溶液に十分な時間浸漬する。こうして処理された表面では硫黄が硫黄-金属の化学結合状態で存在していることが S 2p (硫黄 2p) の XPS の測定結果から確認できた。

[0019] 吸着の抑制効果の検証は、タンパク質の吸着量を XPS で測定することにより実施した。具体的には BSA (ウシ血清アルブミン) の吸着量を N1s (窒素 1s) XPS のピーク面積から見積もった。BSA は血清タンパク質の約 50~65% を占める血清アルブミンのモデルとして適している。上記の表面処理を行った基板では BSA の吸着実験を行った後でも N1s のピーク面積が検出限界以下となることが確認され、従来のステンレススチールやステンレススチールに対して金薄膜層を形成したものとは有意な差が認められた。

[0020] 上記の表面処理法では金薄膜層に分子を非常に薄く、例えば単分子膜で吸着させることが出来る。これは分子が表面に結合する際に硫黄原子で吸着し

、単分子層が完成した後にはそれ以上分子が化学吸着出来ないためである。こうした現象はXPSや分光エリプソメトリーなどの実験により確かめられている。分注ノズルで液面を検知する際には、その静電容量の変化を指標とする電氣的計測法が広く用いられているが、その際、分注ノズルの表面が導電性であることが望ましい。ポリエチレングリコール誘導体の層が厚く絶縁性が高いと、この電氣的計測法が成立しない。一方、ポリエチレングリコール誘導体の層が単分子膜の場合にはノズル表面の導電性が維持できる。従って上記の方法は、表面処理後でも液面検知の際に静電容量を用いた方式を利用できるという利点がある。

- [0021] ノズル表面に何らかの機械的なダメージが加わった場合に、ノズル表面に化学吸着したポリエチレングリコール誘導体が剥がれ落ちてしまうことがある。上記の表面処理法では簡便にポリエチレングリコール誘導体を化学吸着させることが出来るので、ポリエチレングリコール誘導体を化学吸着させる機構を自動分析装置へ組み込むことが可能で、剥がれ落ちの問題を解決することが出来る。

発明の効果

- [0022] 本発明によれば、ポリエチレングリコール誘導体が化学吸着し表面を被覆した分注ノズルを作成し、タンパク質などの生体高分子の吸着を抑制することが出来る。そのため分注動作時のキャリーオーバーを低減することが可能となり、自動分析装置の分析信頼性が向上する。また、それにより検体や試薬の微量化に寄与し、自動分析装置のランニングコスト低減にも貢献する。

図面の簡単な説明

- [0023] [図1]分注ノズルの概略図。
[図2]分注ノズルの表面処理された部分の断面図。
[図3]分注ノズルの表面処理プロセスフローチャート。
[図4]XPSの結果を示す図。
[図5]XPSの結果を示す図。
[図6]XPSの結果を示す図。

[図7] 自動分析装置の構成例を示す概略図。

[図8] 表面処理を行う機構を有する自動分析装置の構成例を示す概略図。

発明を実施するための形態

[0024] 次に本発明を実施例により詳細に説明をするが、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

[0025] <実験例>

最初に、解析の信頼性を高めるため、平面基板を用いて効果の検証を行った。用いた基板の大きさは10mm×10mm×0.5mmで、効果の検証のための測定面は10mm×10mmの面を用いた。

[0026] (ポリエチレングリコール誘導体が吸着した基板の作成)

実験の工程フローを図3に示す。

[0027] 工程1. 電解メッキ又は無電解メッキにより、金薄膜層を形成。

[0028] 具体的には、ステンレススチール基板に電解金メッキを施した。まず、ステンレススチール表面に残存する油脂を除去するため、アルカリ性の溶剤で脱脂を行った。続いて酸性活性化浴に浸漬することで表面を活性化する。メッキ溶液としてシアン金カリウム、硫酸コバルト及びクエン酸一水和物から成る溶液を用いて、金メッキを行った。膜厚が0.1μmとなるように、処理時間、溶液温度、pH及び電流密度を最適化した。電解メッキの他、無電解メッキを用いても良い。

[0029] 工程2. 工程1にて形成された金薄膜層を洗浄。

[0030] 具体的には、基板をエタノール中で15分間超音波洗浄した後、UV／エキシマ処理を5分間行った。この状態で、水に対する接触角を協和界面科学製Drop Master 500により測定した。基板表面にシリンジを利用して純水0.5μLを滴下し、着滴後1秒後の静的接触角を3点法で測定した。その結果、基板の接触角は $5 \pm 1^\circ$ であった。これにより表面が清浄となっていることを確認した。

[0031] 工程3. ポリエチレングリコール誘導体を含む溶液に浸漬。

[0032] 具体的には、以上の清浄化処理された基板を11-Mercaptoundecanol hexaet

ethylene glycol ether (1,1-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル) の 2 mM エタノール溶液に浸漬し、24 時間静置した。1,1-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルの化学式を以下に示す。

[0033] $\text{HS}-(\text{CH}_2)_{11}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_6-\text{OH}$

工程 4. 工程 2 で用いた溶媒で洗浄し、乾燥。

[0034] 具体的には、基板を溶液から取り出した後にエタノールで基板を十分に洗浄し、表面に過剰に残存する 1,1-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルを洗い流した。その後、窒素ブローにより乾燥させた。

[0035] 本発明による表面処理の効果を検証するために、参照用の基板として以下の 2 枚を用意した。

[0036] (参照基板 1. 金メッキのみを施した基板の作成)

まず、参照用 1 枚目の基板処理手順について説明する。ステンレススチール基板に電解金メッキを施した。膜厚は $0.1 \mu\text{m}$ とした。次に、この板をエタノール中で 15 分間超音波洗浄した後、UV/エキシマ処理を 5 分間行った。この状態で水に対する接触角を上記と同様の方法により測定した。その結果、基板の水に対する接触角は $5 \pm 1^\circ$ であった。これにより表面が清浄となっていることを確認した。

[0037] 次に、以上の清浄化処理された基板をエタノールに浸漬し、24 時間静置した。基板を溶液から静かに取り出した後に、窒素により乾燥させた。この金メッキのみを行った基板を 1 枚目の参照基板とした。

[0038] (参照基板 2. ステンレススチール基板の作成)

2 枚目の参照用基板は、ステンレススチール基板を 1% NaOH 水溶液で 15 分間超音波洗浄し、その後にエタノールで 15 分間超音波洗浄を行った。この洗浄を行ったステンレススチール基板を 2 枚目の参照基板とした。

[0039] 生体高分子吸着の抑制効果の検証は、BSA の吸着試験によって行った。まず BSA 2.5 g/L の溶液を用意した。溶媒としてはダルベッコリン

酸緩衝溶液を用いた。作成した溶液に、準備した基板を30分間浸漬した。基板を引き上げ後、まずダルベッコリン酸緩衝溶液で十分に洗浄を行った。次いで、純水で十分に洗浄を行った。最後に窒素ブローにより乾燥させた。

[0040] こうして作成した3枚の基板についてXPS測定を行い、表面組成に関する定量分析を行った。XPSの測定はPHI社製QuanteraSXMで行った。X線源としては単色化Al (1486.6 eV)を用いた。検出領域は100 μ m ϕ とし、取り出し角は45°とした。

[0041] ワイドスキャン（結合エネルギー (Binding Energy) 0~1275 eV、エネルギーステップ1.0 eV）で測定した結果、ステンレススチールの基板からはFe（鉄）及びCr（クロム）が検出されたが、2枚の金メッキを施した基板から検出された金属元素はAu（金）のみであり、Fe, Crはいずれも検出されなかった。これにより、金メッキを施した2枚の基板では、いずれも表面が金によりコーティングされていることを確認した。

[0042] 11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル分子の溶液に浸漬した基板の硫黄の結合状態を検討するために、S 2pのナロースキャンを、結合エネルギーが160 eVから175 eVの範囲をエネルギーステップ0.1 eVで測定した。結果を図4に示す。301が金メッキに11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル溶液浸漬処理をした基板のスペクトル、302が金メッキのみを施した基板のスペクトルである。矢印303の範囲はC-S結合（炭素-硫黄結合）、矢印304の範囲はSO₄、矢印305の範囲は金属-S結合（金属-硫黄結合）の検出される範囲である。301では結合エネルギーで162 eV付近にピーク306をもつスペクトルが測定された。これは硫黄の結合状態としては、金属-硫黄結合である。ワイドスキャンの結果から金属元素としては金のみが検出されたことから、これは金-硫黄結合であり、11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル分子のS-H結合が解裂してチオレートとなって金に対して化学吸着していることが示された。金メッキのみを施した参照基板1でのXPSスペクトル302では、硫黄は検出限界

以下であった。

[0043] 炭素の結合状態を検討するためにC 1 s（炭素 1 s）のナロースキャンを、結合エネルギーが278 eVから296 eVの範囲をエネルギーステップ0.1 eVで測定した。チオール（11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル）の溶液に浸漬した基板に対する測定結果を、図5に示す。矢印311の範囲はC-C、C-H結合、矢印312の範囲はC-O結合、矢印313の範囲はC=O、O=C-O、CO₃結合の検出される範囲である。図5に示されるように、C-C、C-H結合のピークの他に、C-O結合に帰属されるピークが強く観測された。これは11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル分子内のC-O結合を反映している。他の2枚の参照基板では、C-C、C-Hに由来するピークのみが検出された。

[0044] 次に、基板ごとのBSA（ウシ血清アルブミン）吸着量比較について説明する。BSAのステンレススチール表面への吸着についてはXPSによる研究例があり（非特許文献2）、BSA中の窒素原子（N）に対応するN 1 sピークにより定量分析が可能である。ここでN 1 sピークはBSAに含まれているアミン、アミドに帰属されている。そこで本実施例ではBSAの基板ごとの相対吸着量をN 1 s XPSにより定量し、基板表面へのタンパク質吸着に対する抑制効果を検証した。結果を図6に示す。321が金メッキに11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル溶液浸漬処理をした基板、322が金メッキのみを施した基板、323がステンレススチール基板のスペクトルである。BSAが吸着した、金メッキのみを施した表面及びステンレススチール表面では結合エネルギー400 eV付近にピークを持つ対称形のN 1 sのピークが観察された。

[0045] N 1 sのピーク面積の解析はバックグラウンドを395 eVから405 eVまでを直線で差し引くことで行った。金メッキのみを施した表面でのN 1 sピーク面積を1.0とした時の相対的なピーク面積を表1に示す。表1では、11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル溶液

に浸漬した基板をチオール溶液浸漬基板、金メッキのみを施した基板を金メッキ基板、ステンレススチール基板はステンレススチール基板とした。

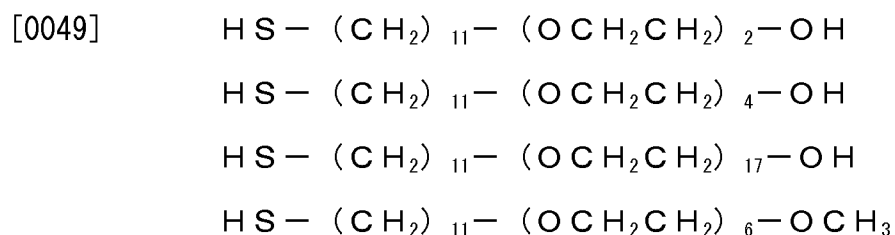
[表1]

基板	N 1 s ピーク面積比 (金メッキのみを 1. 0 とする。)
(1) チオール溶液浸漬基板 (3 2 1)	検出限界以下
(2) 金メッキ基板 (3 2 2)	1. 0
(3) ステンレススチール基板 (3 2 3)	0. 4 6

[0046] 金メッキ基板での N 1 s ピーク面積を 1. 0 とした時のピーク面積比は、ステンレススチール基板では 0. 4 6、チオール溶液浸漬基板では N 1 s は検出限界以下となった。本測定での検出限界（窒素の含有量で 0. 1 %）を考慮すると、チオール溶液浸漬基板では、金メッキの基板に対して B S A の吸着量が 2 % 以下となり、金メッキのみを施した基板、ステンレススチールの基板と比較して B S A の吸着を抑制できることが確認できた。

[0047] 以上の結果から、ステンレススチール上に金メッキを施し、11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテル分子を吸着させることで、分注ノズル表面のタンパク質に代表される生体高分子の吸着が大幅に抑制されることが示された。これにより分注ノズル表面に残存するキャリアーオーバを低減できることが予想される。

[0048] 以上では 11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルをポリエチレングリコール誘導体として用いたが、以下に示す化合物でも同様の効果が得られた。



メチレン基 $(\text{CH}_2)_{11}$ は一般に炭化水素基で良く、一般には以下の一般式 1 で与えられる化合物で同様の効果が得られる。



(n は 2 以上の正の整数、 R_1 は炭化水素基、 R_2 は H 又は $C H_3$)

R_2 は親水性の観点から H 又は $C H_3$ が適する。必要なエチレンオキシド基の数が 2 以上であること及び分子が配列するための分子間相互作用が十分であるという要請から、ポリエチレングリコール誘導体の数平均分子量は 100 以上であることが望ましい。また、逆に分子間の立体的な斥力が大きすぎると表面へのポリエチレングリコール誘導体の吸着量が低減してしまう。このためポリエチレングリコール誘導体の数平均分子量は 20000 以下であることが望ましい。被覆するポリエチレングリコール誘導体の化学構造は単一である必要はなく混合物であっても良い。

[0051] <実施例 1>

本実施例では、分注ノズルに実験例と同様の処理を行う場合について説明をする。まずステンレススチール製分注ノズルの表面に、実験例と同様の方法で金薄膜層を形成した。処理する領域は、図 1 の分注ノズルの端部 105 及び検体に浸漬される領域 104 とした。本実施例では、処理されたノズル先端部外径は 0.5 mm、内径は 0.3 mm であり、先端 10 mm の領域に電解メッキにより金薄膜層を形成した。分注ノズル全面を処理することも可能であるが、処理する領域を浸漬される部分に限定することでコストを低減することが出来る。

[0052] 次に、電解メッキにより金薄膜層を形成した表面をエタノールで 15 分間超音波洗浄した。この際、超音波によりノズルが損傷しないように、支持台を設けて容器と接しない配置にした。その後、UV/エキシマで清浄化処理を行った。UV 光が照射されない領域が生じないように分注ノズルを回転させて清浄化処理を行うことで、必要な領域全体の処理を行った。

[0053] 清浄化処理を終えた分注ノズルを、ポリエチレングリコール誘導体の溶液に浸漬した。ポリエチレングリコール誘導体としては、11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルと、実験例に一般式 1 で示した一連の分子群から選ばれる少なくとも一つの分子の溶液を用いることが出来る。ここでは、2 mM の 11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレ

ングリコールエーテルのエタノール溶液に24時間浸漬後、エタノールなどの溶媒にて洗浄を行い、その後、窒素ブローにより乾燥させた。

[0054] 効果の検証は、実験例と同様に、BSAの表面残存量の測定をXPSで行った。その結果、分注後の分注ノズル表面に残存するタンパク質が従来のステンレススチール製のノズルと比較して1/20以下（実験例で述べたXPS測定の検出限界以下）に低減されることを確認した。

[0055] <実施例2>

図7は、本発明による自動分析装置の構成例を示す図であり、次にその基本動作を述べる。検体収納部機構1には、一つ以上の検体容器25が配置されている。ここでは、ディスク状の機構部に搭載された検体収納部機構である検体ディスク機構の例で説明するが、検体収納部機構の他の形態としては自動分析装置で一般的に用いられている検体ラック又は検体ホルダー状の形態であってもよい。またここで言う検体とは、反応容器で反応させるために使用する被検査溶液のことを指し、採集検体原液でもよく、またそれを希釈や前処理等の加工処理をした溶液であってもよい。検体容器25内の検体は、検体供給用分注機構2の検体用分注ノズル27によって抽出され、所定の反応容器に注入される。検体用分注ノズルは、実施例1に記述した方法で1-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルにより表面処理した。試薬ディスク機構5は、多数の試薬容器6を備えている。また、機構5には、試薬供給用分注機構7が配置されており、試薬は、この機構7の試薬用分注ノズル28によって、吸引され所定の反応セルに注入される。10は分光光度計、26は集光フィルタつき光源であり、分光光度計10と集光フィルタつき光源26の間に、測定対象を収容する反応ディスク3が配置される。この反応ディスク3の外周上には、例えば、120個の反応セル4が設置されている。また、反応ディスク3の全体は、恒温槽9によって、所定の温度に保持されている。11は反応セル洗浄機構であり、洗浄剤容器13から洗浄剤が供給され、セル内の吸引は吸引ノズル12で行う。

[0056] 19はコンピュータ、23はインターフェース、18はLog変換器及び

A/D変換器、17は試薬用ピペッタ、16は洗浄水ポンプ、15は検体用ピペッタである。また、20はプリンタ、21はCRT、22は記憶装置としてのフロッピーディスクやハードディスク、24は操作パネルである。検体ディスク機構は駆動部200により、試薬ディスク機構は駆動部201により、反応ディスクは駆動部202により、それぞれインターフェースを介して制御並びに駆動されている。また自動分析装置の各部はインターフェースを介してコンピュータ19により制御される。

[0057] 上述の構成において、操作者は、操作パネル24を用いて分析依頼情報の入力を行う。操作者が入力した分析依頼情報は、マイクロコンピュータ19内のメモリに記憶される。検体容器25に入れられ、検体収納部機構1の所定の位置にセットされた測定対象検体はマイクロコンピュータ19のメモリに記憶された分析依頼情報に従って、検体ピペッタ15及び検体供給用分注機構2の表面処理された検体用分注ノズル27によって、反応セルに所定量分注される。表面処理された検体用分注ノズル27は水洗浄され、次の検体の分注に使用される。

[0058] この時、11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルにより被覆された検体用分注ノズル27を用いることでタンパク質に代表される生体高分子の吸着を抑制し、検体間のキャリーオーバーを従来のステンレススチール製分注ノズルに比較して低減することが出来る。またこの時、11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルが単分子膜を形成しているため、静電容量の変化を用いて液面検知を行うことが出来る。反応セルに試薬供給用分注機構7の試薬用分注ノズル28によって、所定量の試薬が分注される。試薬用分注ノズル28は水洗浄された後、次の反応セルのための試薬を分注する。検体と試薬の混合液は、攪拌機構8の攪拌棒29によって攪拌される。攪拌機構8は順次、次の反応セルの混合液を攪拌する。

[0059] 検体分注用ノズル27の表面処理には11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルの他にも、実験例に一般式1で示した一連

の分子群から選ばれる少なくとも一つの分子の溶液を用いることが出来る。

[0060] <実施例 3>

図 8 に、本実施例で用いる自動分析装置の概略図を示す。まず、検体用分注ノズル 27 を第一処理液槽 401 に回転移動し、下降して第一処理液に浸漬する。この際の浸漬領域は、分注時に検体用分注ノズル 27 が検体に浸漬する領域よりも十分に大きい。第一処理液としては、ポリエチレングリコール誘導体として 11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルと、実験例に一般式 1 で示した一連の分子群から選ばれる少なくとも一つの分子の溶液を用いることが出来る。ここでは 11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルの 2 mM エタノール溶液を用いた。浸漬する時間は、浸漬頻度に応じて変化する。例えば分注に際して毎回浸漬する場合には 1 秒程度で十分である。また、一日の分析終了後に浸漬する場合には 24 時間程度浸漬する。次に、分注ノズル 27 を第二処理液槽 402 に回転移動し、下降して第二処理液に浸漬する。この際、浸漬領域は、先の第一処理液に浸漬した領域よりも十分に大きい。第二処理液槽 402 で用いる溶液としては、先の第一処理液槽 401 での処理液に溶媒として用いられたエタノールを用いる。

[0061] 以上の第二処理液槽 402 での動作により、第一処理液槽 401 で処理した際に余剰に付着した 11-メルカプトウンデカノールヘキサエチレングリコールエーテルを除去することが出来る。そののち検体を分注することで、タンパク質に代表される生体高分子の吸着を抑制し、キャリーオーバーを従来のステンレススチール製分注ノズルに比較して 1/2 以下に低減することが出来る。

[0062] 以上の実施例 1～3 においても、実験例と同様に、ポリエチレングリコール誘導体は必要なエチレンオキシド基の数が 2 以上であること及び分子が配列するための分子間相互作用が十分であるという要請から、数平均分子量は 100 以上であることが望ましい。また、逆に分子間の立体的な斥力が大きすぎると表面へのポリエチレングリコール誘導体の吸着量が低減してしまう

。このため、ポリエチレングリコール誘導体の数平均分子量は20000以下であることが望ましい。被覆するポリエチレングリコール誘導体の化学構造は単一である必要はなく混合物であっても良い。

[0063] 以上の実施例では分注ノズルにおけるキャリーオーバーを問題としたが、攪拌棒などキャリーオーバーの要因となりうる全ての部材において、本発明の処理を行うことで、同様の効果が得られる。

[0064] 本発明によれば、分注ノズル表面へのタンパク質などの生体高分子の非特異吸着を劇的に低減し、キャリーオーバーの抑制を図ることで、自動分析装置の信頼性の向上に貢献することが出来る。また、このため検体微量化、試薬の微量化にも貢献し、ランニングコストや環境負荷の低減をすることが出来る。

符号の説明

- [0065] 1 検体収納部機構
2 検体供給用分注機構
3 反応ディスク
4 反応セル
5 試薬ディスク機構
6 試薬容器
7 試薬供給用分注機構
8 攪拌機構
9 恒温槽
10 分光光度計
11 反応セル洗浄機構
12 吸引ノズル
13 洗浄剤容器
15 検体用ピペット
16 洗浄水ポンプ
17 試薬用ピペット

- 2 5 検体容器
- 2 6 集光フィルタつき光源
- 2 7 検体用分注ノズル
- 2 8 試薬用分注ノズル
- 2 9 攪拌棒
- 1 0 1 分注ノズル本体部
- 1 0 2 分注ノズル折り曲げ部
- 1 0 3 分注ノズル中空部
- 1 1 1 分注ノズル本体部
- 1 1 2 金薄膜層
- 1 1 3 親水性分子層
- 1 1 4 分注ノズルの中空部
- 2 0 0 駆動部
- 2 0 1 駆動部
- 2 0 2 駆動部
- 4 0 1 第一処理液槽
- 4 0 2 第二処理液槽
- 4 0 3 分注ノズル洗浄槽

請求の範囲

- [請求項1] それぞれが検体を収納する複数の検体容器と、
それぞれが試薬を収納する複数の試薬容器と、
検体と試薬が注入される複数の反応セルと、
前記検体容器中の検体を前記反応セルに注入する検体分注機構と、
前記試薬容器中の試薬を前記反応セルに注入する試薬分注機構とを
有し、
前記検体分注機構は、数平均分子量 100～20000 のポリエチ
レングリコール誘導体が表面に化学吸着した分注ノズルを備えること
を特徴とする自動分析装置。
- [請求項2] 請求項 1 に記載の自動分析装置において、前記ポリエチレングリ
コール誘導体が化学吸着している前記分注ノズルの領域は、分注動作時
に前記分注ノズルが検体に浸漬される領域よりも大きいことを特徴と
する自動分析装置。
- [請求項3] 請求項 1 に記載の自動分析装置において、前記分注ノズルは表面に
金薄膜層を有し、その金薄膜層に対して下記一般式で示される片末端
にチオール基を有する前記ポリエチレングリコール誘導体が化学吸着
していることを特徴とする自動分析装置。
- $$\text{HS}-\text{R}_1-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{R}_2 \quad (n \text{ は } 2 \text{ 以上の正の整数、} \text{R}_1 \text{ は } 2 \text{ 価の炭化水素基、} \text{R}_2 \text{ は } \text{H} \text{ 又は } \text{CH}_3)$$
- [請求項4] 請求項 1 に記載の自動分析装置において、前記分注ノズルに対して
前記ポリエチレングリコール誘導体を化学吸着させる表面処理を行う
機構を備えることを特徴とする自動分析装置。
- [請求項5] 請求項 4 に記載の自動分析装置において、前記ポリエチレングリ
コール誘導体は下記一般式で表されることを特徴とする自動分析装置。
- $$\text{HS}-\text{R}_1-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{R}_2 \quad (n \text{ は } 2 \text{ 以上の正の整数、} \text{R}_1 \text{ は } 2 \text{ 価の炭化水素基、} \text{R}_2 \text{ は } \text{H} \text{ 又は } \text{CH}_3)$$
- [請求項6] 請求項 3 に記載の自動分析装置において、前記ポリエチレングリコ

ール誘導体が単分子膜を形成していることを特徴とする自動分析装置。
。

[請求項7] 数平均分子量100～20000のポリエチレングリコール誘導体が表面に化学吸着していることを特徴とする自動分析装置用分注ノズル。

[請求項8] 請求項7に記載の自動分析装置用分注ノズルにおいて、前記ポリエチレングリコール誘導体が下記一般式で表されることを特徴とする自動分析装置用分注ノズル。

$$\text{HS}-\text{R}_1-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{R}_2 \quad (n \text{ は } 2 \text{ 以上の正の整数、} \text{R}_1 \text{ は } 2 \text{ 価の炭化水素基、} \text{R}_2 \text{ は } \text{H} \text{ 又は } \text{CH}_3)$$

[請求項9] 検体容器中の検体を反応セルに注入するのに用いられる自動分析装置用分注ノズルの製造方法において、

電解メッキ又は無電解メッキを用いて分注ノズルの表面に金薄膜層を形成する工程と、

前記金薄膜層をエタノールで洗浄し、その後にUV／エキシマ処理で洗浄する工程と、

洗浄した前記分注ノズルを下記一般式

$$\text{HS}-\text{R}_1-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{R}_2 \quad (n \text{ は } 2 \text{ 以上の正の整数、} \text{R}_1 \text{ は } 2 \text{ 価の炭化水素基、} \text{R}_2 \text{ は } \text{H} \text{ 又は } \text{CH}_3)$$

で表される数平均分子量100～20000のポリエチレングリコール誘導体の溶液に浸漬する工程と、

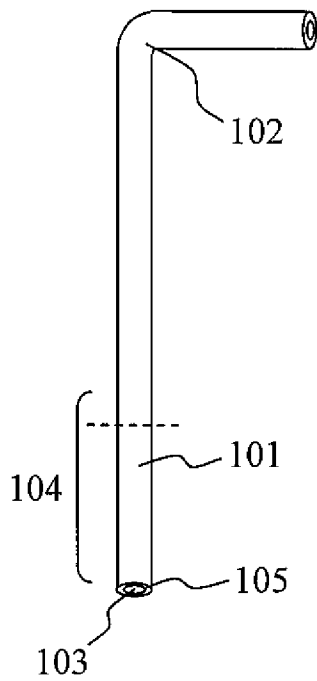
前記分注ノズルの処理された表面を溶媒で洗浄する工程と、

表面を乾燥する工程と

を有することを特徴とする自動分析装置用分注ノズルの製造方法。

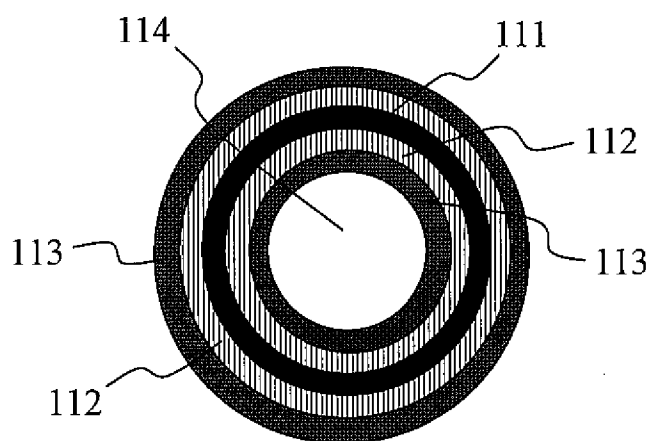
[図1]

図 1



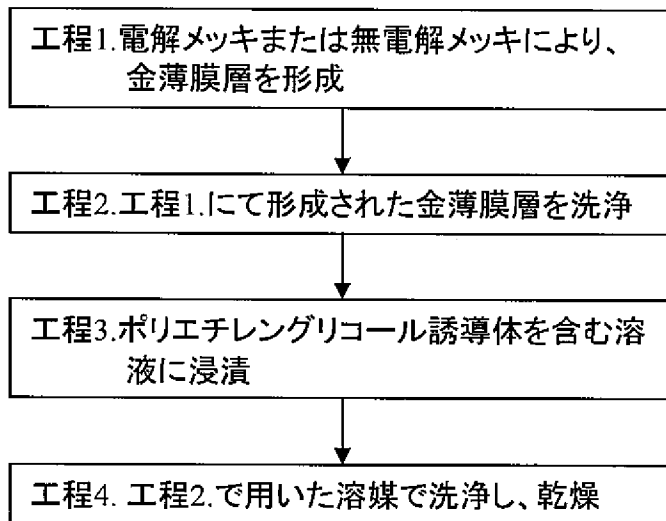
[図2]

図 2



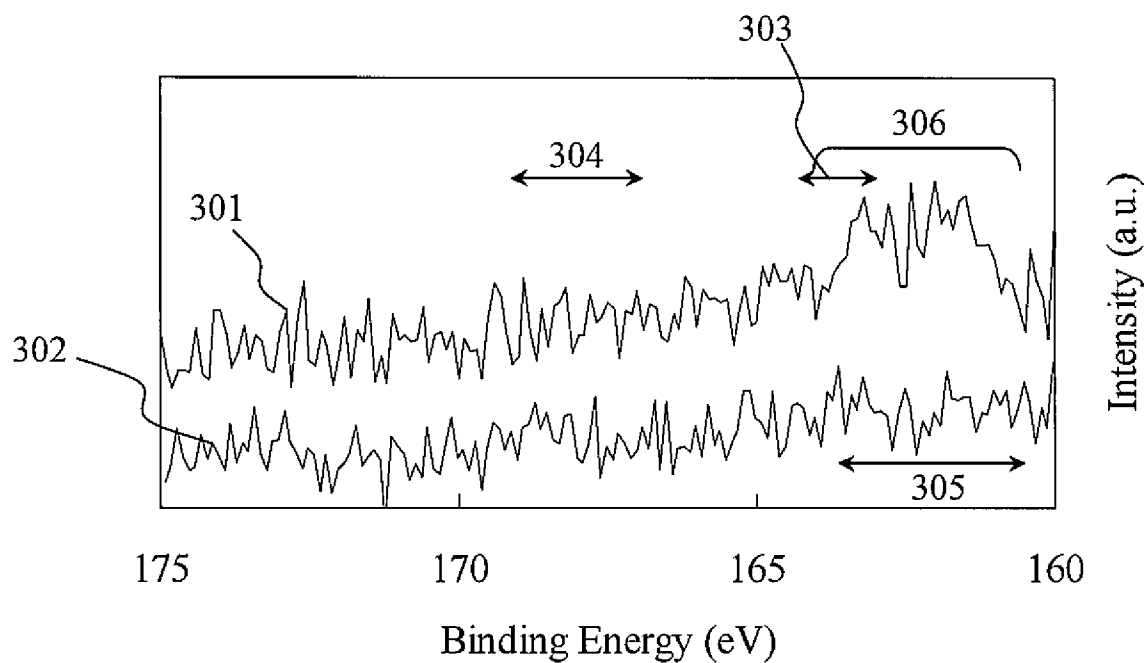
[図3]

図 3



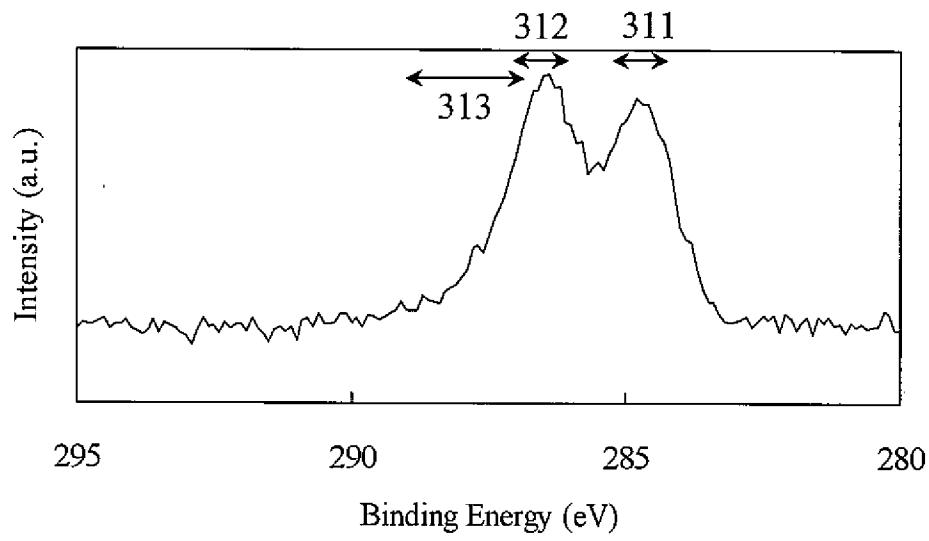
[図4]

図 4



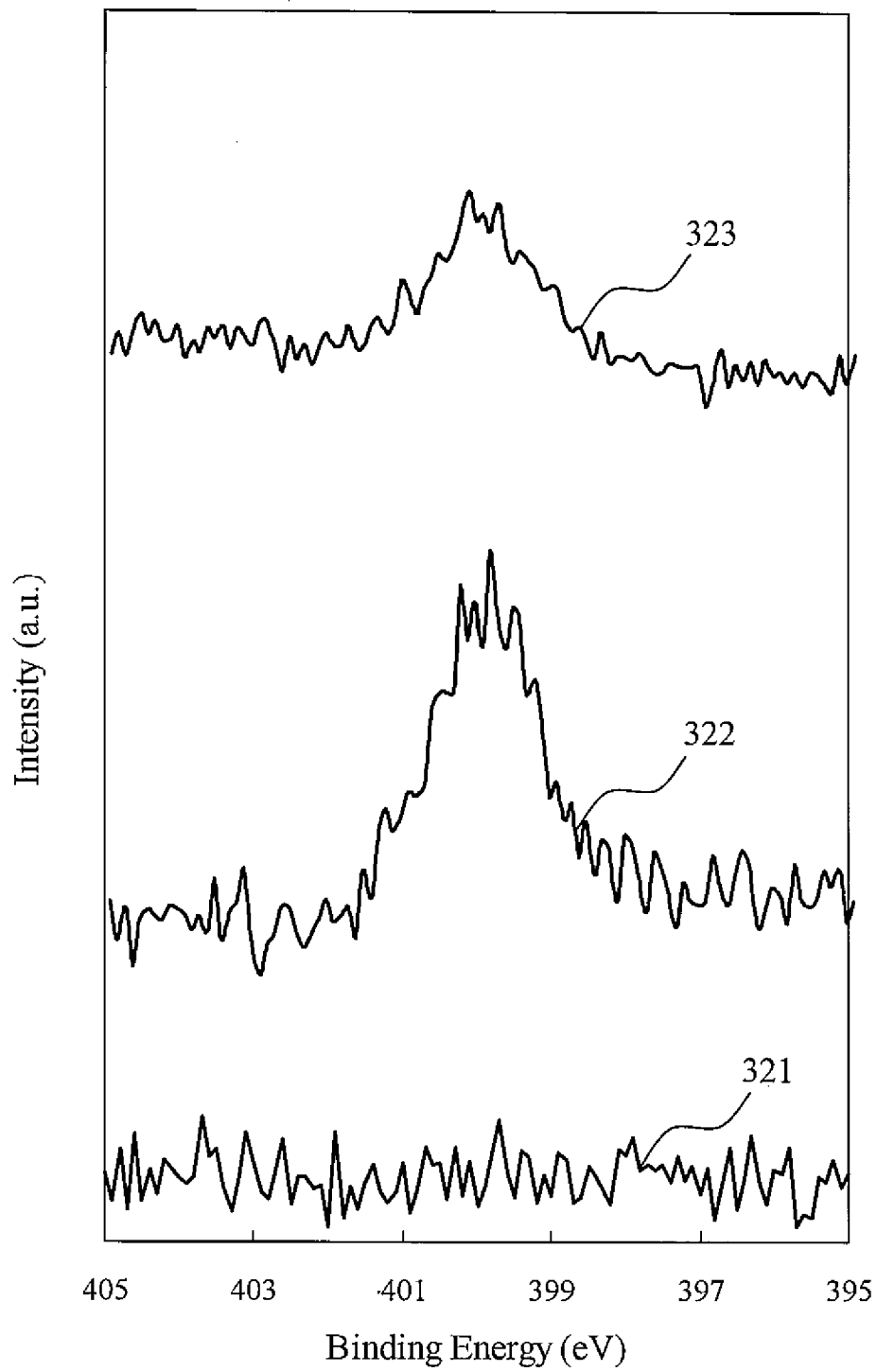
[図5]

図 5



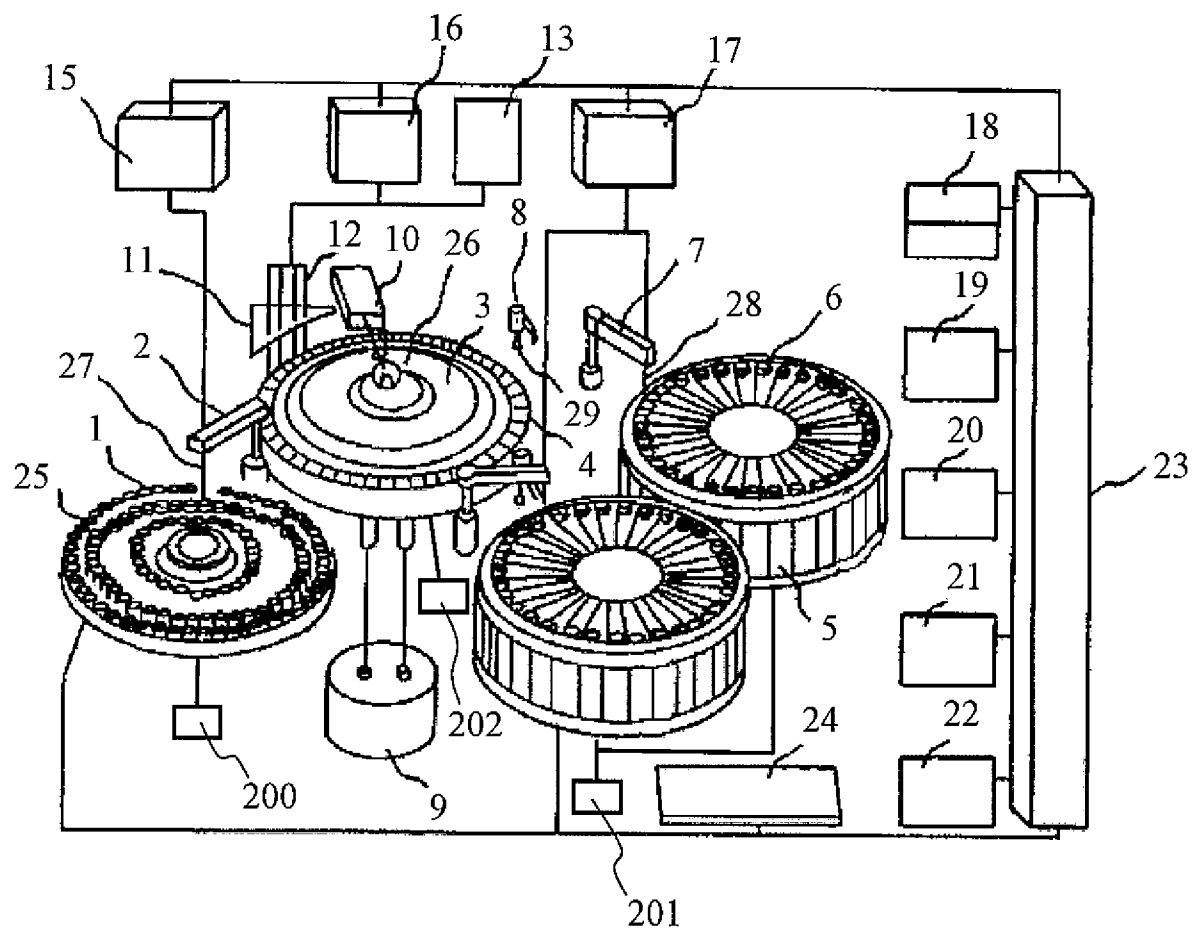
[図6]

図 6



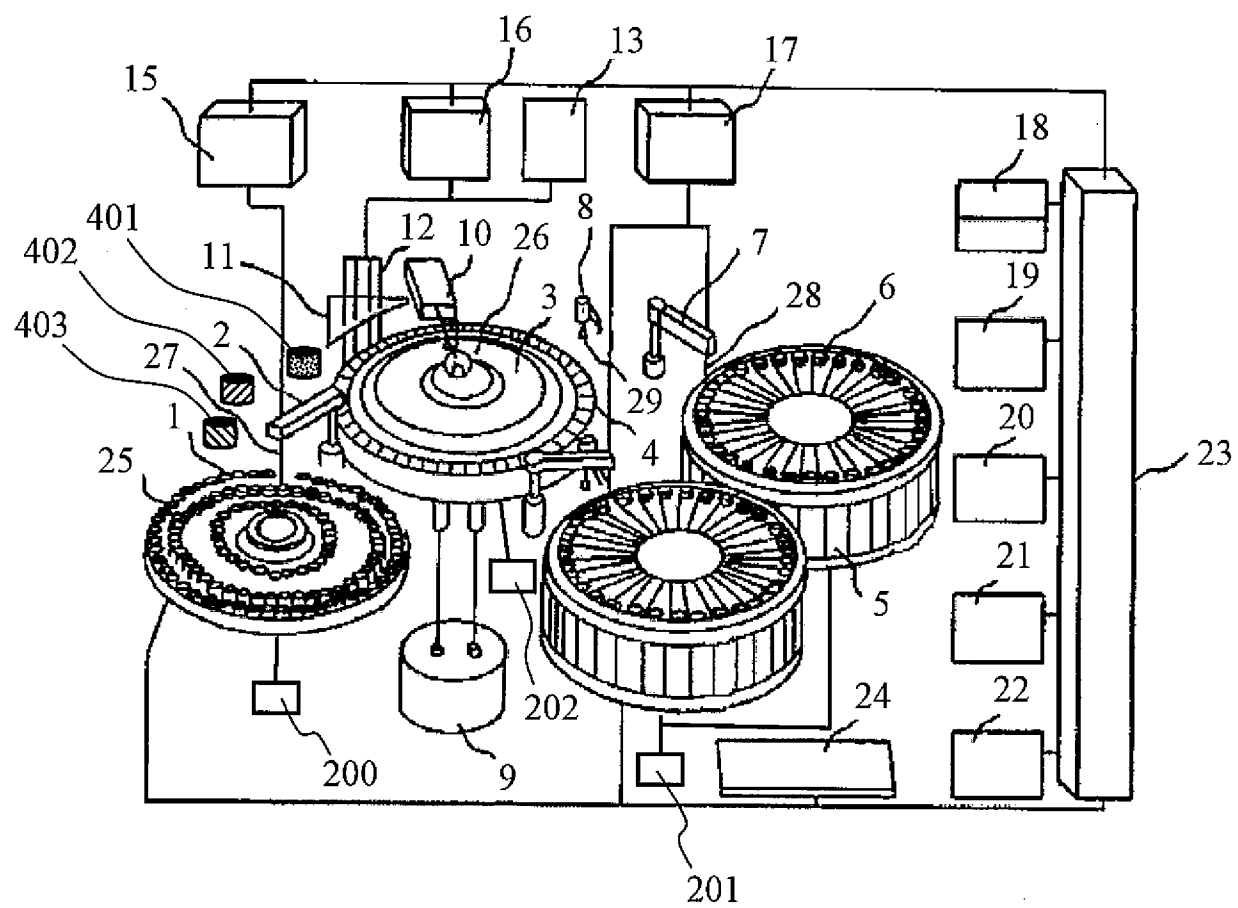
[図7]

図 7



[図8]

図 8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/050016

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N35/10 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N35/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2010

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2010 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2010

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 9-304243 A (Daikin Industries, Ltd.), 28 November 1997 (28.11.1997), entire text; all drawings (Family: none)	1-9
Y	Catherine Pale-Grosdemang et al., Formation of Self-Assembled Monolayers by Chemisorption of Derivatives of Oligo(ethylene glycol) of Structure HS(CH ₂) ₁₁ (OCH ₂ CH ₂) _m OH on Gold, J. Am. Chem. Soc., 1991, Vol. 113, pp. 12-20	1-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 March, 2010 (15.03.10)Date of mailing of the international search report
30 March, 2010 (30.03.10)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/050016

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2006-509201 A (International Business Machines Corp.), 16 March 2006 (16.03.2006), paragraph [0005] & US 2004/0110276 A1 & EP 1572352 A & WO 2004/050919 A2 & KR 10-2005-0084969 A & CN 1720096 A & TW 277653 B	1-9
Y	JP 2007-185515 A (SCHOTT AG.), 26 July 2007 (26.07.2007), paragraphs [0004] to [0005] & US 2007/0187280 A1 & EP 1810758 A1 & WO 2007/081814 A2	1-9
A	JP 2004-163394 A (Seiko Epson Corp.), 10 June 2004 (10.06.2004), paragraphs [0008] to [0012] (Family: none)	1-9
A	JP 2005-34060 A (Sumitomo Bakelite Co., Ltd.), 10 February 2005 (10.02.2005), paragraphs [0008] to [0013] (Family: none)	1-9

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N35/10(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N35/10

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 9-304243 A (ダイキン工業株式会社) 1997.11.28, 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-9
Y	Catherine Pale-Grosdemang et al., Formation of Self-Assembled Monolayers by Chemisorption of Derivatives of Oligo(ethylene glycol) of Structure HS(CH ₂) ₁₁ (OCH ₂ CH ₂) _m OH on Gold, J. Am. Chem. Soc., 1991, Vol. 113, pp. 12-20	1-9

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 5 . 0 3 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

3 0 . 0 3 . 2 0 1 0

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

長谷 潮

2 J

3 9 0 7

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2006-509201 A (インターナショナル・ビジネス・マシーンズ・コーポレーション) 2006.03.16, 第 0005 段落 & US 2004/0110276 A1 & EP 1572352 A & WO 2004/050919 A2 & KR 10-2005-0084969 A & CN 1720096 A & TW 277653 B	1-9
Y	JP 2007-185515 A (ショット アクチエンゲゼルシャフト) 2007.07.26, 第 0004-0005 段落 & US 2007/0187280 A1 & EP 1810758 A1 & WO 2007/081814 A2	1-9
A	JP 2004-163394 A (セイコーエプソン株式会社) 2004.06.10, 第 0008-0012 段落 (ファミリーなし)	1-9
A	JP 2005-34060 A (住友ベークライト株式会社) 2005.02.10, 第 0008-0013 段落 (ファミリーなし)	1-9