

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6300676号  
(P6300676)

(45) 発行日 平成30年3月28日(2018.3.28)

(24) 登録日 平成30年3月9日(2018.3.9)

(51) Int.Cl.

GO1N 33/543 (2006.01)  
GO1N 35/00 (2006.01)

F 1

GO1N 33/543 501J  
GO1N 33/543 501A  
GO1N 33/543 501L  
GO1N 35/00 E

請求項の数 6 (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2014-154847 (P2014-154847)  
 (22) 出願日 平成26年7月30日 (2014.7.30)  
 (65) 公開番号 特開2016-31334 (P2016-31334A)  
 (43) 公開日 平成28年3月7日 (2016.3.7)  
 審査請求日 平成29年6月26日 (2017.6.26)

(73) 特許権者 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  
 (74) 代理人 110001829  
 特許業務法人開知国際特許事務所  
 (72) 発明者 斎藤 充弘  
 東京都港区西新橋一丁目24番14号  
 株式会社日立ハイテ  
 クノロジーズ内  
 審査官 三木 隆

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分析方法及び自動分析装置

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

分析対象の試料が収容された反応容器に捕捉体を含む捕捉抗体試薬または捕捉抗原試薬を添加する1回目の捕捉体添加処理を行う手順と、

前記反応容器に標識体を含む標識抗原試薬または標識抗体試薬を添加する1回目の標識体添加処理を行う手順と、

前記反応容器に反応固相を含む反応固相試薬を添加する1回目の反応固相添加処理を行う手順と、

前記反応固相を含んで結合を形成した成分以外の成分を除去するために前記反応固相を洗浄する1回目の反応固相洗浄処理を行う手順と、

前記反応容器から少なくとも一部の前記反応固相を取り出し、前記反応固相を含んで結合を形成した標識体に係る物理量を測定する1回目の測定処理を行う手順と、

前記1回目の測定処理後の前記反応容器に2回目の標識体添加処理を行う手順と、

前記2回目の標識体添加処理後に2回目の反応固相洗浄処理を行う手順と、

前記2回目の反応固相洗浄処理の後に2回目の測定処理を行う手順と、

前記2回目の測定処理の結果に基づいて、1回目の測定処理により得られた複数の測定結果候補値から1つの測定結果を選択的に確定する手順と  
を有することを特徴とする分析方法。

## 【請求項 2】

分析対象の試料が収容された反応容器に捕捉体を含む捕捉抗体試薬または捕捉抗原試薬

10

20

を添加する 1 回目の捕捉体添加処理を行う手順と、

前記反応容器に標識体を含む標識抗原試薬または標識抗体試薬を添加する 1 回目の標識体添加処理を行う手順と、

前記反応容器に反応固相を含む反応固相試薬を添加する 1 回目の反応固相添加処理を行う手順と、

前記反応容器から少なくとも一部の前記反応固相を取り出し、前記反応固相を含んで結合を形成した標識体に係る物理量を測定する 1 回目の測定処理を行う手順と、

前記 1 回目の測定処理後の前記反応容器に 2 回目の標識体添加処理を行う手順と、

前記 2 回目の標識体添加処理後に 2 回目の測定処理を行う手順と、

前記 2 回目の測定処理の結果に基づいて、1 回目の測定処理により得られた複数の測定結果候補値から 1 つの測定結果を選択的に確定する手順と  
10  
を有することを特徴とする分析方法。

#### 【請求項 3】

請求項 1 又は 2 記載の分析方法において、

前記 2 回目の標識体添加処理では、前記 1 回目の標識体添加処理において添加した標識体の量の 1 / 2 ~ 1 / 1 0 0 0 の量の標識体が添加されるように前記標識抗体試薬を添加することを特徴とする分析方法。

#### 【請求項 4】

請求項 1 又は 2 記載の分析方法において、

前記 2 回目の測定処理は、

20

前記 2 回目の標識体添加処理の直後に前記標識体に係る物理量を測定する第 1 測定と、

前記 2 回目の標識体添加処理の後に予め定めた時間が経過した時に前記標識体に係る物理量を測定する第 2 測定とを有し、

前記第 1 測定の結果と前記第 2 測定の結果の差分に基づいて、前記 1 回目の測定処理により得られた複数の測定結果候補値から 1 つの測定結果を選択的に確定することを特徴とする分析方法。

#### 【請求項 5】

分析対象の試料が収容された反応容器に、捕捉体を含む捕捉抗体または捕捉抗原、標識体を含む標識抗原または標識抗体、反応固相のうち複数を含有する第 1 の試薬を添加する 1 回目の添加処理を行う手順と、

30

捕捉体を含む捕捉抗体または捕捉抗原、標識体を含む標識抗原または標識抗体、反応固相のうち、前記第 1 の試薬に含有されていないものを含有する第 2 の試薬を添加する 2 回目の添加処理を行う手順と、

前記反応容器から少なくとも一部の前記反応固相を取り出し、前記反応固相を含んで結合を形成した標識体に係る物理量を測定する 1 回目の測定処理を行う手順と、

前記 1 回目の測定処理後の前記反応容器に標識体を含む標識抗原または標識抗体を含有する試薬を添加する添加処理を行う手順と、

前記 2 回目の標識体添加処理後に 2 回目の反応固相洗浄処理を行う手順と、

前記 2 回目の反応固相洗浄処理の後に 2 回目の測定処理を行う手順と、

前記 2 回目の測定処理の結果に基づいて、1 回目の測定処理により得られた複数の測定結果候補値から 1 つの測定結果を選択的に確定する手順と  
40  
を有することを特徴とする分析方法。

#### 【請求項 6】

分析対象の試料を収容する試料容器と、

前記試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する標識抗原または標識抗体を含む標識試薬を収容する標識試薬容器と、

前記試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する捕捉抗原または捕捉抗体を含む捕捉試薬を収容する捕捉試薬容器と、

前記試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する場となる反応固相を含む反応固相試薬を収容する反応固相試薬容器と、

50

前記試料および前記標識試薬、捕捉試薬、固相試薬を分注して反応させる反応固相を収容する反応容器と、

前記試料容器から前記反応容器に前記試料を分注する試料分注機構と、

前記標識試薬容器、捕捉試薬容器、および反応固相試薬容器から前記標識試薬、補足試薬、および固相試薬をそれぞれ前記反応容器に分注する試薬分注機構と、

前記反応容器中の標識体に係る物理量に基づいて前記分析対象成分の定性・定量分析を行う分析機構と、

前記反応容器中の標識体に係る物理量を測定する測定処理を行う測定機構と、

前記試料が収容された前記反応容器に前記捕捉試薬を添加する1回目の捕捉体添加処理と、前記反応容器に標識試薬を添加する1回目の標識体添加処理と、前記反応容器に反応固相試薬を添加する1回目の固相添加処理と、前記反応固相を含んで抗原抗体結合を形成した成分以外を除去するために前記反応固相を洗浄する1回目の反応固相洗浄処理と、前記反応容器から少なくとも一部の前記反応固相を取り出し、前記反応固相を含んで結合を形成した標識体に係る物理量を測定する1回目の測定処理と、前記1回目の測定処理後の前記反応容器への2回目の標識体添加処理と、前記2回目の標識体添加処理後に2回目の反応固相洗浄処理と、前記2回目の反応固相洗浄処理の後に2回目の測定処理とを行い、前記2回目の測定処理の結果に基づいて、1回目の測定処理により得られた複数の測定結果候補値から1つの測定結果を選択的に確定する分析処理制御装置と  
を備えたことを特徴とする自動分析装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、血液や血清、血漿などを試料あるいは検体とし、抗原抗体反応を利用して分析を行う分析方法及び自動分析装置に関する。

【背景技術】

【0002】

血液、血清、血漿、あるいは体液等を試料あるいは検体とする分析方法には、抗原抗体反応に基づく結合を利用して、試料中のホルモン、腫瘍マーカー、感染症病原体マーカー、感染抗体等の微量物質を定性的あるいは定量的に検出する方法が知られている。しかしながら、抗原抗体反応を利用した分析方法では、試料中に分析対象の物質が高濃度に含まれる場合には、分析結果の数値が実際の値よりも低くなってしまう現象（ゾーン現象やフック現象などと呼ばれる現象）が生じる場合がある。

【0003】

このようなゾーン現象に關し、例えば、特許文献1（特表2010-520461号公報）には、プロゾーン現象などのイムノアッセイ定量妨害の影響を低減することにより検体濃度の正確且つ簡単な改良型定量的測定を可能にすることを目的として、試験試料中に存在する該当検体を捕捉抗体により捕捉し、捕捉抗体と検体と第1の抗体コンジュゲートの複合体を形成し、混合物から未結合検体の除去後に該当検体と結合する第2の抗体コンジュゲートを加えることにより検体を抗体コンジュゲートにより検出するイムノアッセイに関する技術が開示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】特表2010-520461号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

ところで、ゾーン現象やフック現象などの回避を目的の一つとした方法としては、いわゆる抗原抗体法の2ステップ反応（2ステップ法）が知られている。一般的に、2ステップ反応では、固相と捕捉抗体や捕捉抗原と試料とを混合し、分析対象物と捕捉抗体との結

10

20

30

40

50

合物を形成させた後に洗浄を行い、未結合の試料成分および分析対象物を除去し(bound/free分離)、さらに標識抗体を加えて捕捉抗体 分析対象物 標識抗体のサンドイッチを形成させた後に洗浄を行って標識抗体に由来する発光等を検出し分析対象物量あるいは濃度を計測する。この2ステップ反応では、1回目の洗浄により未結合の分析対象物が除去されるので、標識抗体の結合の阻害が抑制され、したがって、ゾーン現象が起こりにくいとされている。

【0006】

また、分析時間やオペレータの手間などの抑制を目的の一つとした方法としては、固相と捕捉抗体や捕捉抗原、標識抗体や標識抗原と試料とを、試料分注後かつ標識抗体分注前の洗浄を行うことなく混合反応させ、その後洗浄を行って固相に未結合の試薬および試料成分を除去し、分析対象物の計測を行う1ステップ反応(1ステップ法)が知られている。10。しかしながら、1ステップ反応においては、ゾーン現象が計測結果に大きく影響してしまう。1ステップ法において、試料中に分析対象物が高濃度に含まれる場合、あるいはそれが予想される場合には、試料をあらかじめ希釈し、ゾーン現象が起こらないと予想される濃度にまで試料を希釈し、計測に供することもあるが、その場合には、1試料につき、試料希釈を伴わない測定と、伴う測定との2回の計測を行う必要が生じることも多い。

【0007】

本発明は上記に鑑みてなされたものであり、ゾーン現象による測定結果の正確性の低下を抑制することができる分析方法及び自動分析装置を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

上記目的を達成するために、本発明は、分析対象の試料が収容された反応容器に捕捉体を含む捕捉抗体試薬または捕捉抗原試薬を添加する1回目の捕捉体添加処理を行う手順と、前記反応容器に標識体を含む標識抗原試薬または標識抗体試薬を添加する1回目の標識体添加処理を行う手順と、前記反応容器に反応固相を含む反応固相試薬を添加する1回目の反応固相添加処理を行う手順と、前記反応固相を含んで結合を形成した成分以外の成分を除去するために前記反応固相を洗浄する1回目の反応固相洗浄処理を行う手順と、前記反応容器から少なくとも一部の前記反応固相を取り出し、前記反応固相を含んで結合を形成した標識体に係る物理量を測定する1回目の測定処理を行う手順と、前記1回目の測定処理後の前記反応容器に2回目の標識体添加処理を行う手順と、前記2回目の標識体添加処理後に2回目の反応固相洗浄処理を行う手順と、前記2回目の反応固相洗浄処理の後に2回目の測定処理を行う手順と、前記2回目の測定処理の結果に基づいて、1回目の測定処理により得られた複数の測定結果候補値から1つの測定結果を選択的に確定する手順とを有するものとする。30

【発明の効果】

【0009】

ゾーン現象による測定結果の正確性の低下を抑制することができる。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】自動分析装置の全体構成を概略的に示す図である。

【図2】試料分注機構を周辺構成とともに抜き出して示す図である。

【図3】分析処理の流れを概略的に示す図である。

【図4】図3の工程3の測定処理(1回目)において得られる検量線の一例におけるシグナル値と分析対象物の濃度の関係を示す図である。

【図5】図3の工程7の測定処理(2回目)において得られるシグナル値の一例を示す図である。

【図6】分析処理の処理内容を示すフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0011】

以下、本発明の一実施の形態を図1～図6を参照しつつ説明する。

10

20

30

40

50

## 【0012】

## (1) 全体構成

図1は、本実施の形態に係る自動分析装置の全体構成を概略的に示す図である。

## 【0013】

図1において、自動分析装置100は、分析対象の試料や検体（以下、単に試料と称する）を収容する試料容器108と、試料容器108を搭載したラック107を搬送するラック搬送ライン113と、試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する標識抗原または標識抗体を含む標識試薬を収容する標識試薬容器201Aと、試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する捕捉抗原または捕捉抗体を含む捕捉試薬を収容する捕捉試薬容器201Bと、試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する反応固相を含む反応固相試薬を収容する反応固相試薬容器201Cと、試薬容器201A, 201B, 201Cを搭載する試薬ディスク202と、試料、標識試薬および反応固相試薬を分注して反応させる反応容器205と、反応容器205を搭載する反応ディスク203と、試料容器108から反応容器205に試料を分注する試料分注機構206と、標識試薬容器201A、捕捉試薬容器201B、及び反応固相試薬容器201Cから標識試薬、捕捉試薬及び反応固相試薬を反応容器205に分注する試薬分注機構208と、反応ディスク203の反応液吸引位置212において、反応容器205中の反応液を吸引し、反応液中の各種標識物質（標識体）に係る物理量に基づいて分析対象成分の定性・定量分析を行う検出ユニット215（分析機構）と、反応容器205に分注された試料、標識試薬および反応固相試薬の混合液中の反応固相を反応容器の内壁に集合させる反応固相集合機構402と、未使用の反応容器205や分注チップ210を移送する移送機構216と、試料の分析に係る分析処理等の各処理（後述）を行うとともに自動分析装置100全体の動作を制御する制御部223とから概略構成されている。10

## 【0014】

## (1-1) ラック搬送ライン113

試料容器108は、ラック107に複数搭載された状態でラック搬送ライン113に沿って搬送される。試料容器108には、血清や血漿、体液などの分析対象の生体試料（以下、単に試料と称する）が収容されている。ラック搬送ライン113上には、試料吸引位置207が配置されている。20

## 【0015】

## (1-2) 試薬ディスク202

試薬ディスク202には、分析処理に用いる各種試薬が収容された複数の試薬容器201A, 201B, 201Cが周方向に並べて配置されている。試薬ディスク202は、図示しない回転駆動装置によって周方向に回転駆動されることにより、試薬容器201A, 201B, 201Cを周方向に搬送する。試薬ディスク202における試薬容器201A, 201B, 201Cの搬送経路上には、試薬吸引位置209が配置されている。30

## 【0016】

試薬ディスク202に配置される試薬容器としては、例えば、標識試薬容器201Aや捕捉試薬容器201B、反応固相試薬容器201Cなどがある。標識試薬容器201Aには、試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する抗体や抗原を各種標識物質で標識した標識抗体や標識抗原を含む標識試薬（標識抗体試薬や標識抗原試薬）が収容されており、捕捉試薬容器201Bには、試料中の分析対象成分と特異的な抗原抗体結合を形成する捕捉体（捕捉抗体や標識抗原）を含む捕捉試薬（捕捉抗原試薬や捕捉抗体試薬）が収容されており、反応固相試薬容器201Cには、反応固相を含む反応固相試薬が収容されている。40

## 【0017】

なお、試薬ディスク202に配置される試薬容器の他の様態としては、標識試薬、捕捉試薬、反応固相試薬のうち2種類の試薬の機能を同時に有する試薬（例えば、2種類の試薬が混合された試薬）を収容した試薬容器と残りの1種類の試薬の機能を有する試薬を収容した試薬容器とを配置する場合、或いは、3種類の試薬の機能を同時に有する試薬（例50

えば、3種類の試薬が混合された試薬)を収容した試薬容器を配置する場合があつても良い。

【0018】

本実施の形態に係る自動分析装置においては、血液、血清、血漿あるいは体液を試料とし、ホルモン、腫瘍マーカ、感染症病原体マーカ、感染抗体等の微量物質の計測分析を行うとき、分析対象のタンパク質の分析項目ごとに、抗原抗体反応に基づく結合により、試料中のタンパク質等を定性的あるいは定量的に検出する。抗原抗体反応の場となる反応固相面はプラスチック、ガラス材の平板あるいは粒子、酸化鉄を内封する磁性粒子等が用いられる。このような固相において分析対象のタンパク質に結合する抗体あるいは抗原は、捕捉抗体、捕捉抗原、キャプチャーアンチ体あるいはキャプチャーアンチ原と称される。また、放射性同位元素、蛍光色素、発光色素、酵素、希土類錯体、金属イオン等を結合され、分析対象のタンパク質に結合する抗体あるいは抗原は標識抗原、標識抗体、ラベル抗原、コンジュゲートあるいはトレーサー等と称される。

【0019】

(1-3) 反応ディスク203

反応ディスク203には、試料と各種試薬の混合液(反応液)が収容される複数の反応容器205が周方向に並べて配置されており、恒温で保持されている。反応ディスク203は、図示しない回転駆動装置によって周方向に回転駆動されることにより、反応容器205を周方向に搬送する。反応ディスク203における反応容器205の搬送経路上には、反応容器設置位置204、試料吐出位置221、試薬添加位置222、反応液吸引位置212などが配置されている。また、反応ディスク203には、反応容器205中の混合液(反応液)中の反応固相を反応容器205の内壁に集合させる反応固相集合機構402(後の図2等参照)が設けられている。

【0020】

(1-3.1) 反応固相集合機構402

反応固相集合機構402は、制御部223による各種処理の実行に応じて反応固相の集合及び解放を行うものであり、反応容器205に収容された混合液(反応液)中の反応固相を反応容器205の内壁に集合させて固定するものである。反応固相が反応容器205の内壁に固定された状態で、反応容器205に純水や緩衝液、専用の洗浄液などを添加および除去することにより、反応固相を流出させることなく反応固相の洗浄(後述の反応固相洗浄処理)を行うことができる。反応固相集合機構402の具体的構成としては、例えば、反応固相が磁性体を含む場合には、磁石等の磁気によって反応固相を反応容器205の内壁に引き付けて集合させ、固定する。

【0021】

(1-4) 試料分注機構206

図2は、試料分注機構206を周辺構成とともに抜き出して示す図である。

【0022】

試料分注機構206は、水平方向への回動及び上下移動可能に構成されており、試料吸引位置207においてプローブ401の先端を試料容器108内の試料に接液させて所定量の吸引を行い、試料吐出位置221において反応容器205に吐出する。試料分注機構206のプローブ401が移動する軌道上には、分注に用いる未使用の分注チップ210をプローブ401に結合する結合位置218や、使用済みの分注チップを破棄するチップ破棄位置220が配置されている。分注後のプローブ401は、プローブ洗浄機403にて試料成分の洗浄を行う。プローブ洗浄機403では、送水弁408を通して洗浄カップ407に供給される洗浄水により、洗浄カップ407内に挿入されたプローブ401の外側を洗浄するとともに、プローブ401によって洗浄カップ407内の洗浄水を吸い上げ、廃棄ボトル404に移動して吐出することでプローブ401の洗浄を行う。

【0023】

(1-5) 試薬分注機構208

試薬分注機構208は、試料分注機構206と同様の構成を有している。すなわち、試

10

20

30

40

50

薬分注機構 208 は、水平方向への回動及び上下移動可能に構成されており、試薬吸引位置 209 においてプローブの先端を試薬容器 201A, 201B, 201C 内の試薬に接液させて所定量の吸引を行い、試薬添加位置 222 において反応容器 205 に吐出する。分注後のプローブは、試料分注機構 206 におけるプローブ洗浄機 403 と同様の構成を有するプローブ洗浄機にて試薬成分の洗浄を行う。すなわち、試薬分注機構 208 のプローブ洗浄機では、送水弁を通して洗浄カップに供給される洗浄水により、洗浄カップ内に挿入されたプローブの外面を洗浄するとともに、プローブによって洗浄カップ内の洗浄水を吸い上げ、廃棄ボトルに移動して吐出することでプローブの洗浄を行う。

## 【0024】

## (1-6) 移送機構 216

10

自動分析装置 100 には、未使用の反応容器 205 を保管する反応容器保管部 219、及び未使用の分注チップ 210 を保管する分注チップ保管部 217 が設けられており、反応容器 205 及び分注チップ 210 は移送機構 216 により移送される。移送機構 216 は、X 軸、Y 軸、Z 軸の 3 方向に移動可能に構成されており、反応容器保管部 219 から反応ディスク 203 の反応容器設置位置 204 への反応容器 205 の搬送や、分注チップ保管部 217 からチップ結合位置 218 への分注チップ 210 の移送を行う。

## 【0025】

## (1-7) 検出ユニット 215

検出ユニット 215 は、反応ディスク 203 の反応液吸引位置 212 において、反応容器 205 中の反応液を吸引し、検出ユニット内部に配置されたフローセル（図示せず）に送る反応液吸引機構 211 が設けられており、反応液をフローセルに通すことによって、反応液中の標識抗原または標識抗体に関する物理量、すなわち、標識体に関する物理量を測定する。測定する物理量としては、例えば、標識体に蛍光色素や発光色素を用いた場合には光量を測定し、標識体に放射性同位体を用いた場合には放射線を測定する。

20

## 【0026】

反応液吸引機構 211 は、水平方向への回動及び上下動可能に構成されており、反応液吸引機構 211 のプローブが移動する軌道上には、分析に用いる緩衝液（後述）を吸引する緩衝液吸引位置 213 や、吸引した反応液の流路の洗浄に用いる洗浄液を吸引する洗浄液吸引位置 214 が配置されている。反応液吸引機構 211 において、反応液や緩衝液の吸引後のプローブは、図示しないプローブ洗浄機によって外壁の洗浄を行う。

30

## 【0027】

## (1-8) 制御部 223

制御部 223 は、自動分析装置 100 の全体の動作を制御するとともに、試料の分析に係る処理として、標識体添加処理、捕捉体添加処理、反応固相添加処理、反応固相洗浄処理、測定処理などを実施する分析処理制御装置としての機能を有している。

## 【0028】

## (1-8.1) 標識体添加処理

標識体添加処理は、標識試薬容器 201A に収容された標識試薬（標識抗体試薬や標識抗原試薬）を試薬分注機構 208 によって反応容器 205 に分注する処理であり、分析対象成分により、標識抗体試薬か標識抗原試薬の何れかが選択されて用いられる。

40

## 【0029】

## (1-8.2) 捕捉体添加処理

捕捉体添加処理は、捕捉試薬容器 201B に収容された捕捉試薬（捕捉抗体試薬や捕捉抗原試薬）を試薬分注機構 208 によって反応容器 205 に分注する処理であり、分析対象成分により、捕捉抗体試薬か捕捉抗原試薬の何れかが選択されて用いられる。

## 【0030】

## (1-8.3) 反応固相添加処理

反応固相添加処理は、反応固相試薬容器 201C に収容された反応固相試薬を試薬分注機構 208 によって反応容器 205 に分注する処理である。

## 【0031】

50

なお、標識体添加処理、捕捉体添加処理、及び反応固相添加処理については、試薬ディスク 202 に配置される試薬容器の様態に応じて、実質的に同時に実施される場合がある。例えば、標識試薬、捕捉試薬、反応固相試薬のうち 2 種類の試薬の機能を同時に有する試薬を収容した試薬容器と残りの 1 種類の試薬の機能を有する試薬を収容した試薬容器とが試薬ディスク 202 に配置されている場合には、3 つの処理のうち 2 つが同時に実施されることとなり、また、3 種類の試薬の機能を同時に有する試薬を収容した試薬容器が試薬ディスク 202 に配置されている場合には、3 つの処理が同時に実施される。

【0032】

(1-8.4) 反応固相洗浄処理

反応固相洗浄処理は、反応容器 205 に収容された反応液中の反応固相を反応固相集合機構 402 によって反応容器 205 の内壁に集合させ固定した状態で、試料分注機構 206 や試薬分注機構 208、或いは、図示しない専用の添加機構により、純水や緩衝液、或いは専用の洗浄液などを添加および除去することにより、反応固相の洗浄を行う処理である。この反応固相洗浄処理により、反応固相を含んで結合を形成した成分以外の成分（試料成分、試薬成分、標識抗体、捕捉抗体）は、破棄される。

10

【0033】

(1-8.5) 測定処理

測定処理は、反応容器 205 内の反応液を反応液吸引機構 211 によって吸引し、検出ユニット 215 の内部に設置されたフローセルによって、反応液中の標識抗原または標識抗体に関する物理量、すなわち、標識体に関する物理量を測定する処理である。測定する物理量としては、例えば、標識体に蛍光色素や発光色素を用いた場合には光量を測定し、標識体に放射性同位体を用いた場合には放射線を測定する。なお、標識体の種類により、ラジオイムノアッセイ、エンザイムイムノアッセイ、蛍光イムノアッセイ、化学発光イムノアッセイ、電気化学発光イムノアッセイなどが知られている。

20

【0034】

(2) 分析処理

本実施の形態の制御部（分析処理制御装置）による分析処理について図 3～図 6 を参照しつつ説明する。

【0035】

図 3 は、本実施の形態における分析処理の流れを概略的に示す図である。

30

【0036】

分析処理では、まず、分析対象の試料が収容された反応容器 205 に捕捉抗体試薬または捕捉抗原試薬を添加する 1 回目の捕捉体添加処理と、反応容器に標識抗原試薬または標識抗体試薬を添加する 1 回目の標識体添加処理と、反応容器に反応固相試薬を添加する 1 回目の反応固相添加処理とを行い、攪拌・インキュベートを行う（図 3 の工程 1）。

【0037】

次に、反応固相を含んで結合を形成した成分以外の成分の除去（すなわち、バウンド・フリー分離）を行う反応固相洗浄処理（1 回目）を行う（図 3 の工程 2）。

【0038】

次に、反応容器 205 中の標識体に係る物理量を測定する測定処理（1 回目）を行う（図 3 の工程 3）。

40

【0039】

次に、測定処理（1 回目）後に残った反応液に少量の標識体添加処理（2 回目）を行う（図 3 の工程 4）。なお、工程の標識体添加処理における標識試薬の添加量（少量）とは、工程 1 において添加した標識体の量と比較して、1/2～1/1000 の標識体が添加されるような量である。

【0040】

次に、標識体添加処理（2 回目）を行った反応液に攪拌・インキュベートを行う（図 3 の工程 5）。

【0041】

50

次に、標識体添加処理（2回目）後に反応固相洗浄処理（2回目）を行う（図3の工程6）。

【0042】

次に、反応固相洗浄処理（2回目）の後に測定処理（2回目）を行い（図3の工程7）、その測定結果に基づいて、測定処理（1回目）により得られた複数の測定結果候補値から1つの測定結果を選択的に確定する。

【0043】

図4は、図3の工程3の測定処理（1回目）において得られる検量線の一例におけるシグナル値と分析対象物の濃度の関係を示す図である。

【0044】

図4において、検量線40は、試料中の分析対象物濃度が上昇するに従いシグナル値が上昇し、緩やかなS字を描きシグナルの最高値（ピーク値）に達する。また、分析対象物濃度がさらに高い場合、シグナル値は一転して濃度の上昇に従い緩やかに下降する。ピーク値からの下降のある場合、ゾーン現象があることがわかる。未知の試料の計測を行う場合、分析対象物濃度は予想できないため、ゾーン現象を示す濃度であるかどうかは不明であり、従って、測定結果がシグナル値S0をとった場合に、検量線240上の濃度値VA（状態A）、或いは、ゾーン現象が発生して検量線240が下降する範囲での濃度値VB（状態B）の何れかの値をとる。

【0045】

図5は、図3の工程7の測定処理（2回目）において得られるシグナル値の一例を示す図である。

【0046】

図5において、試料中の分析対象物濃度が比較的低い状態（すなわち、状態A）の場合には、図3の工程4における標識試薬添加処理（少量）の後（T2）においてもシグナル値（S1）は、工程3の測定処理（1回目）のシグナル値（S1, T1）と比較して大きな上昇はない。一方、試料中の分析対象物濃度が比較的高い状態（すなわち、状態B）の場合には、図3の工程3の測定処理（1回目）時（T1）において反応固相の表面には捕捉体と分析対象物との結合物が多く残留しており、したがって、図3の工程4における標識試薬添加処理（少量）の後（T2）において、捕捉体-抗原（抗体）-標識体のサンドイッチが形成され、標識体が多く観察されることからシグナル値（S2）は上昇する。すなわち、測定処理（2回目）において、高いシグナル値（S2）が得られる場合、図4においては状態Bであり、したがって、濃度値VBを測定結果として選択決定する。状態の判定は、図5において予め基準値（Sth）を設定し、測定処理（2回目）の測定結果と比較することによって、分析対象物濃度が状態Aの値（VA）であるか状態Bの値（VB）であるかを判定できる。なお、この基準値（Sth）は、図3の工程4において標識体添加処理後のシグナル値の上昇の有無を判断するためのものであるため、測定処理（1回目）でのシグナル値に基づいて基準値（Sth）そのものが上下することとなる。

【0047】

図6は、分析処理の処理内容を示すフローチャートである。

【0048】

図6において、分析制御装置としての制御部223は、まず、反応容器205に分析対象の試料を分注し（ステップS100）、次に、標識試薬や捕捉試薬、反応固相試薬を添加する試薬添加処理を行う（ステップS110）。続いて、反応容器205の混合液（反応液）を攪拌してインキュベータに搭載して反応させ（ステップS120）、反応が終了した後、試料及び残余の試薬を含む反応液の除去と反応固相の洗浄を行う反応固相洗浄処理を行う（ステップS130）。次に、反応固相を溶液に懸濁して固相上に抗原抗体結合を介して保持されている標識体に係る物理量の計測（測定処理（1回目））を行う（ステップS140）。そして、測定処理（1回目）の測定結果に基づいて、測定結果候補値（VA）を算出し（ステップS141）、また、測定結果候補値（VB）を算出する（ステップS142）。また、ステップS140の測定処理（1回目）と並行して（或いは、ス

10

20

30

40

50

ステップS141、S142が終了すると)、反応容器205に収容されている測定処理(1回目)の残分の反応液に標識試薬を少量添加する標識試薬添加処理(少量)を行う(ステップS150)。続いて、反応容器205の混合液(反応液)を攪拌してインキュベータに搭載して反応させ(ステップS155)、そして、インキュベータに搭載して反応が終了した後、反応固相洗浄処理(2回目)を行い(ステップS160)、続いて、測定処理(2回目)を行う(ステップS170)。ここで、ステップS170での測定結果(シグナル値)が基準値(Sth)以上であるかどうかを判定し(ステップS180)、判定結果がNOの場合には、ゾーン現象無しであると判定して、測定結果候補値(VA)を測定結果として選択決定し(ステップS181)、処理を数量する。また、ステップS180での判定結果がYESの場合には、ゾーン現象有りであると判定して、測定結果候補(VB)を測定結果として選択決定し(ステップS182)、処理を終了する。

#### 【0049】

以上のように構成した本実施の形態の効果を説明する。

#### 【0050】

血液、血清、血漿、或いは体液等を試料或いは検体とする分析方法には、抗原抗体反応に基づく結合を利用して、試料中のホルモン、腫瘍マーカ、感染症病原体マーカ、感染抗体等の微量物質を定性的或いは定量的に検出する方法が知られている。しかしながら、抗原抗体反応を利用した分析方法では、試料中に分析対象の物質が高濃度に含まれる場合には、分析結果の数値が実際の値よりも低くなってしまう現象(ゾーン現象やフック現象などと呼ばれる現象)が生じる場合がある。

#### 【0051】

これに対して、本実施の形態においては、分析対象の試料が収容された反応容器に捕捉体を含む捕捉抗体試薬または捕捉抗原試薬を添加する1回目の捕捉体添加処理を行う手順と、前記反応容器に標識体を含む標識抗原試薬または標識抗体試薬を添加する1回目の標識体添加処理を行う手順と、前記反応容器に反応固相を含む反応固相試薬を添加する1回目の反応固相添加処理を行う手順と、前記反応固相を含んで結合を形成した成分以外の成分を除去するために前記反応固相を洗浄する1回目の反応固相洗浄処理を行う手順と、前記反応容器中の標識体に係る物理量を測定する1回目の測定処理を行う手順と、前記1回目の測定処理後に2回目の標識体添加処理を行う手順と、前記2回目の標識体添加処理後に2回目の反応固相洗浄処理を行う手順と、前記2回目の反応固相洗浄処理の後に2回目の測定処理を行う手順と、前記2回目の測定処理の結果に基づいて、1回目の測定処理により得られた複数の測定結果候補値から1つの測定結果を選択的に確定する手順とを有するように構成したので、ゾーン現象による測定結果の正確性の低下を抑制することができる。

#### 【0052】

すなわち、蛍光測定法あるいは発光測定法による分析法あるいは装置において試料の抗原抗体反応に基づく分析測定を行う時、ゾーン現象によってシグナル値が低下し、計測値の正確性を損なう要因があることから、これに対処し試料中の分析対象物量と濃度とを正しく計測することができる。

#### 【0053】

さらには、試料中測定対象物がゾーン現象を起こす高濃度であっても、真値を正しく計測できる。また同様に、陰性値である場合は正しく陰性であることを判断できる。

#### 【0054】

また、試料を希釈して再測定を伴う場合、通常測定の2倍の試薬量が必要となるが、本実施の形態においては、標識試薬が1/2~1/1000程度あればよく、効果的に試料中の分析対象物量と濃度とを正しく計測することができる。また、本測定と希釈測定の2つのテストを繰り返す必要がなく、したがって、測定に要する時間を短縮することができる。

#### 【0055】

さらに、1ステップ法はゾーン現象が計測結果に大きく影響してしまうという問題点が

10

20

30

40

50

あるが、本実施の形態においては、その弱点をカバーしつつ、測定レンジ桁数を2倍とすることができる。例えば、 $10^4$ の測定レンジを有する場合には、 $10^8$ のレンジまでを有効に測定することができ、感染症項目を最小試薬使用量でカバーすることができる。

#### 【0056】

なお、本実施の形態においては、測定処理（1回目）の測定結果に基づいて基準値を設定し、測定処理（2回目）の測定結果と基準値との比較により、測定処理（1回目）の測定結果（がゾーン現象の影響を受けない値なのか、受けた値なのか）を選択的に確定した（図5等参照）がこれに限られない。すなわち、例えば、測定処理（2回目）における標識試薬の添加直後と、標識試薬の添加から予め定めた時間が経過した後との少なくとも2回の測定を行い、その測定結果の差分に基づいて、1回目の測定結果を選択的に確定するように構成してもよい。この場合においても、本実施の形態と同様の効果を得ることができる。

#### 【0057】

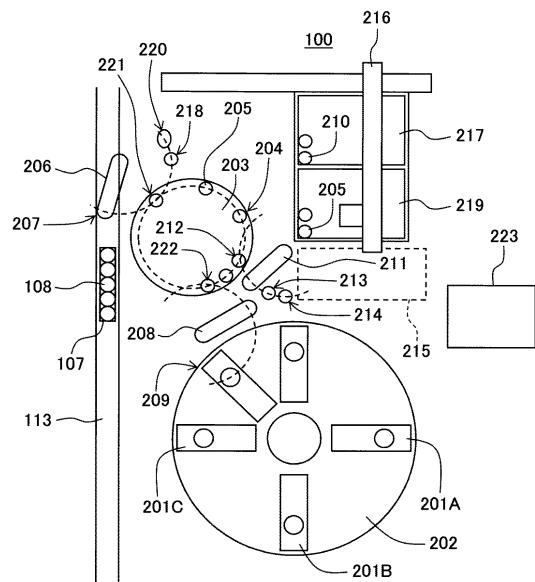
また、本実施の形態においては、反応固相洗浄処理（2回目）を行うように構成したがこれに限られず、標識体添加処理（2回目）の後に測定処理（2回目）を行うように、構成しても良い。

#### 【符号の説明】

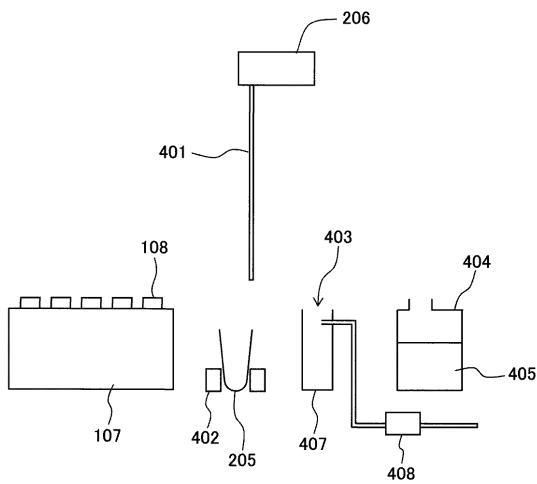
#### 【0058】

100	自動分析装置	20
107	ラック	
108	試料容器	
113	ラック搬送ライン	
201A	標識試薬容器	
201B	捕捉試薬容器	
201C	反応固相試薬容器	
203	反応ディスク	
204	反応容器 <u>設置</u> 位置	
205	反応容器	
206	試料分注機構	30
207	試料吸引位置	
208	試薬分注機構	
209	試薬吸引位置	
210	分注チップ	
211	反応液吸引機構	
212	反応液吸引位置	
213	緩衝液吸引位置	
214	洗浄液吸引位置	
215	検出ユニット	
216	反応容器移送機構	40
217	分注チップ保管部	
218	チップ結合位置	
219	反応容器保管部	
220	チップ破棄位置	
221	試料吐出位置	
222	試薬添加位置	
223	制御部	
240	検量線	
402	反応固相集合機構	

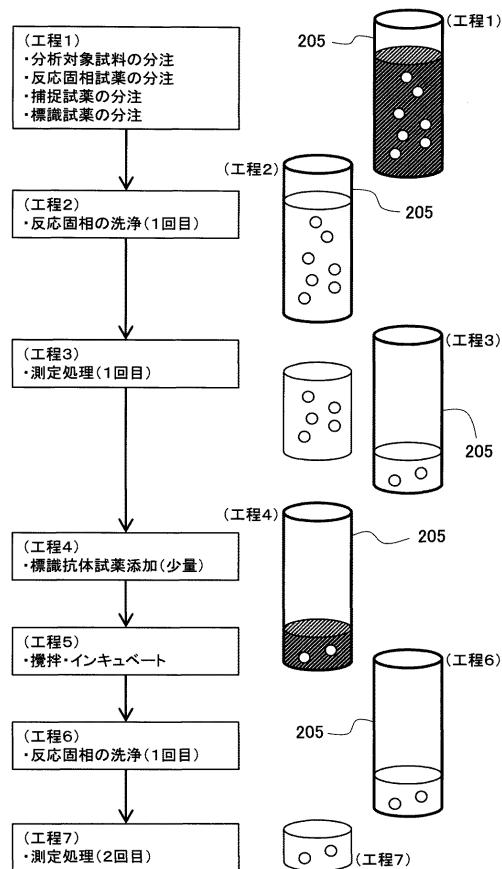
【図1】



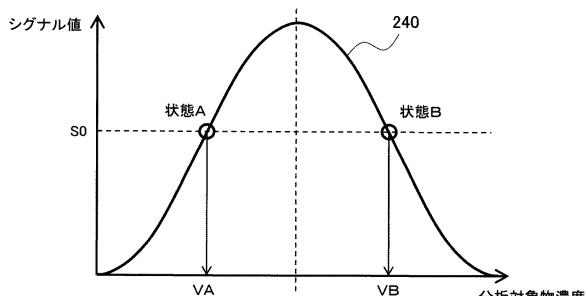
【図2】



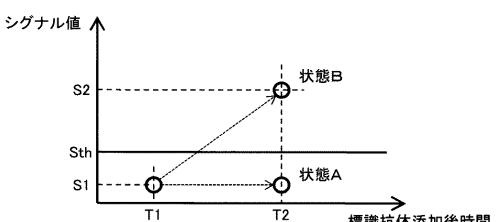
【図3】



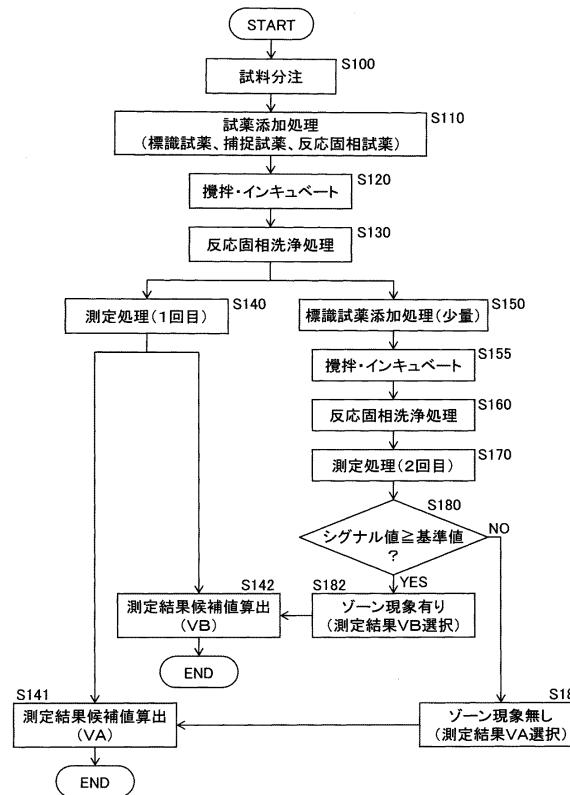
【図4】



【図5】



【図6】



---

フロントページの続き

(56)参考文献 特開昭63-96557(JP,A)  
特開昭62-293163(JP,A)  
特表2010-520461(JP,A)  
特開平10-282099(JP,A)  
国際公開第2002/052265(WO,A1)  
特開2010-175355(JP,A)  
特開平06-213893(JP,A)  
特開2003-161733(JP,A)  
米国特許出願公開第2003/0124739(US,A1)  
特表2010-502942(JP,A)  
特開2009-98080(JP,A)  
特開2013-205374(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/543

G01N 35/00