(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4755802号
(P4755802)

(45)発行日　平成23年8月24日(2011.8.24)　(24)登録日　平成23年6月3日(2011.6.3)

(51)Int.Cl.		F I		
G01N 27/26	(2006.01)	G01N	27/26	381A
C12Q 1/00	(2006.01)	C12Q	1/00	B
C12Q 1/25	(2006.01)	C12Q	1/25	
C12Q 1/26	(2006.01)	C12Q	1/26	
G01N 27/416	(2006.01)	G01N	27/46	336J

請求項の数 13　(全 13 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2002-519658(P2002-519658)
(86)(22)出願日	平成13年8月9日(2001.8.9)
(65)公表番号	特表2004-506224(P2004-506224A)
(43)公表日	平成16年2月26日(2004.2.26)
(86)国際出願番号	PCT/AT2001/000265
(87)国際公開番号	WO2002/014533
(87)国際公開日	平成14年2月21日(2002.2.21)
審査請求日	平成20年7月28日(2008.7.28)
(31)優先権主張番号	A 1391/2000
(32)優先日	平成12年8月11日(2000.8.11)
(33)優先権主張国	オーストリア(AT)

(73)特許権者　591003013
エフ．ホフマン－ラ　ロシュ　アーゲー
F．　HOFFMANN－LA　ROCHE　AKTIENGESELLSCHAFT
スイス・シーエイチ－４０７０バーゼル・グレンツアーヘルストラツセ１２４
(74)代理人　110000741
特許業務法人小田島特許事務所
(72)発明者　シヤフアー，ベルンハルト
オーストリア・アー－８０４５グラーツ・ネポムクガツセ２７
(72)発明者　クロネイス，ヘルベルト
オーストリア・アー－８０５２グラーツ・ヤコブ－グシール－ガツセ８
最終頁に続く

(54)【発明の名称】クレアチニン・センサーの校正

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

少なくとも２種の校正溶液が使用される、各々クレアチニンおよびクレアチンの濃度を測定するための１つの電極系からなる、生物液体中のクレアチニンの電流測定的定量のためのバイオセンサーを校正する方法であって、クレアチニン濃度を測定するための電極系が、校正測定の前に、酸性溶液の形態でアルカリ性バッファー溶液と混合されたクレアチニン溶液により校正され、そしてクレアチン濃度を測定するための電極系が、クレアチニンとクレアチンが熱力学的に平衡にある溶液により校正されることを特徴とする方法。

【請求項２】

ｐＨ２～４をもつクレアチニン溶液が酸性溶液として使用されることを特徴とする、請求項１記載の方法。

【請求項３】

前記ｐＨが２．５～３である、請求項２記載の方法。

【請求項４】

クレアチニン溶液とバッファー溶液を混合する際に、校正溶液の正確なクレアチニン濃度が、２種の混合成分の１種中にのみ秤取されたイオントレーサーによって計算されることを特徴とする、請求項１～３のいずれかに記載の方法。

【請求項５】

試験される液体中に存在する妨害物質が、それらの平均生理的濃度において校正溶液に添加されることを特徴とする、請求項１～３のいずれかに記載の方法。

【請求項６】
前記妨害物質が、酵素インヒビターおよび／または酵素に対して類似の作用を有するインヒビターである、請求項５記載の方法。
【請求項７】
前記酵素が試験される液体中に存在する、請求項６記載の方法。
【請求項８】
酢酸塩が校正溶液に添加されることを特徴とする、請求項５記載の方法。
【請求項９】
重炭酸塩が校正溶液に添加されることを特徴とする、請求項５記載の方法。
【請求項１０】
校正溶液が、殺生物剤および／または殺生物剤と抗生物質の組み合わせ物と混合されることを特徴とする、請求項１～９のいずれかに記載の方法。
【請求項１１】
殺生物剤がイソチアゾロン誘導体である、請求項１０記載の方法。
【請求項１２】
Ｎｏｒｍａｎ　Ｇｏｏｄによるアミンバッファーもしくは重炭酸塩が、アルカリ性バッファー溶液のためのバッファーとして使用されることを特徴とする、請求項１～１０のいずれかに記載の方法。
【請求項１３】
Ｎｏｒｍａｎ　Ｇｏｏｄによるスルホン酸基を含んでなるアミンバッファーまたは乳酸塩／乳酸が、酸性溶液のためのバッファーとして使用されることを特徴とする、請求項１～１０のいずれかに記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
（技術分野）
本発明は、少なくとも２種の校正溶液が使用されることによる、各々クレアチニンおよびクレアチンの濃度を測定するための１つの電極系からなる、生物液体中のクレアチニンの電流測定的定量（ａｍｐｅｒｏｍｅｔｒｉｃ　ｄｅｔｅｒｍｉｎａｔｉｏｎ）のためのバイオセンサーを校正する（ｃａｌｉｂｒａｔｉｎｇ）方法に関する。
【０００２】
生物液体中、例えば血液、尿、血漿、血清および体液中でのセンサーの使用による、酵素的に分解される物質、例えばクレアチニン、グルコースなどの定量は、好ましくは、固定化酵素を含んでなるバイオセンサーを介して実施される。文献により、それらの物質を定量する数種の電気化学的および測光法的方法が知られている。
【０００３】
その方法では、クレアチニンは、例えば、後にアンモニウム含量の定量を伴う、酵素クレアチニンデイミナーゼ（ｄｅｉｍｉｎａｓｅ）を用いることによって、電位測定法的に定量することができる。その他の方法は、最終的には電流測定電極において過酸化水素（H_2O_2）が測定されることによる、酵素クレアチニナーゼ、クレアチナーゼおよびサルコシンオキシダーゼを用いる酵素カスケードによるクレアチニン濃度の定量にある（Ｔｓｕｃｈｉｄａ，Ｔ．，Ｙｏｄａ，Ｋ．，Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．２９／１，５１－５５（１９８３））。
【０００４】
本発明は、最後に述べた原理にしたがって機能するバイオセンサーを校正する方法に関する。過酸化水素へのクレアチニンの変換は、次の反応段階にしたがって実施される：

クレアチニン＋H_2O　－クレアチニナーゼ　→　クレアチン
クレアチン＋H_2O　－クレアチナーゼ　→　サルコシン＋尿素
サルコシン＋O_2＋H_2O　－サルコシンオキシダーゼ→グリシン＋ホルムアルデヒド＋H_2O_2

生物サンプル中のクレアチニンを誤差なく定量できるために、全３種の酵素を含んでなる電極系からなるクレアチニン系の結果を、電極系が酵素クレアチナーゼとサルコシンオキシダーゼのみを含むクレアチン系の結果によって修正することが必要である。何故ならば、生物サンプル中にはクレアチニンとクレアチンが常に共存し、そしてその系によれば、クレアチニン系は、クレアチニンとクレアチンの合計を認識できるだけであるからである。

【０００５】

かくして、バイオセンサーの校正のためには、クレアチニン系ならびにクレアチン系を校正するための溶液が必要である。

【０００６】

クレアチニンの定量用バイオセンサーの校正は、溶液が室温と中性ｐＨを有する場合クレアチニンとクレアチンは平衡において存在する、すなわち、２種の分析体のいずれもが、電極系を校正するために絶対的に必要である安定な濃度において独自には維持できないという事実によって、さらに悪化される。

【０００７】

それ故、バイオセンサーの使用者は、クレアチニンおよび／またはクレアチンを容器中に秤取し、そしてある量のバッファー液中にその秤取した部分を溶解することによって、測定が実施される前に校正溶液を新たに調製することを強制される。クレアチンへのクレアチニンの変換、またはその逆は、非常にゆっくりと進行するので、室温において該溶液は、短期間、一般に約１週間は十分安定であるが、調製操作は、その期間後には繰り返されねばならないのが現実である。

【０００８】

校正溶液の連続的な、少なくとも毎週の新たな調製は、校正が、いかなる時でも、迅速で簡単な、そして場所を選ばない方式で実施されるのを妨げる点で、該方法は欠点がある。さらにまた、十分に高い正確さを保証する目的による繰り返しの秤取と溶解は、クレアチニンおよび／またはクレアチン、およびバッファー液のより大きな消費を要する。

【０００９】

本発明は、上記短所を克服して最初に記述した種類の方法を提供することを、その目的として有する。特に、本発明による方法は、基本的に毎週の秤取による調製をしなくてもよく、そしてその調製のために、多数の特許出願に基づいて、先行技術に比較してより少い量の基本材料しか必要としない校正溶液を提供すると考えられる。その上、迅速で簡単な、そして実際にいずれの場所でも校正溶液を調製することが可能であるに違いない。

【００１０】

本発明によれば、該目的は、クレアチニン濃度を測定するための電極系が、校正測定の前に、酸性溶液の形態でアルカリ性バッファー溶液と混合されたクレアチニン溶液により校正され、そしてクレアチン濃度を測定するための電極系が、クレアチニンとクレアチンが熱力学的に平衡にある（ｔｈｅｒｍｏｄｙｎａｍｉｃ　ｅｑｕｉｌｉｂｒｉｕｍ）溶液により校正されることにおいて達成される。

【００１１】

Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．４７，１１７９－１１８８，１９２５（Ｇ．Ｅｄｇａｒ，Ｈ．Ｅ．Ｓｈｉｅｖｅ）から、増大する温度および増大する水素イオン濃度により、クレアチン／クレアチニン平衡がクレアチニンの方に移ることが知られている。

【００１２】

Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．，９２０－９２９，１９２８（Ｒ．Ｋ．Ｃａｎｎａｎ，Ａ．Ｓｈｏｒｅ）によれば、強い酸性溶液における平衡反応クレアチン←→クレアチニンの速度は、水素イオン濃度に比例している。ほぼｐＨ３（ｆ．ｉ．２＜ｐＨ＜４）の酸性溶液では、クレアチンのクレアチニンへの変換は実質的に不可逆的である。

【００１３】

本発明は、溶液のｐＨが酸性範囲内にあれば、溶解したクレアチニンを実質的に安定に維持することが可能であるという事実を使用する。センサーの活性と寿命の両方は、そのよ

うな酸性環境では一般に低下されるが、クレアチニン校正溶液は、少量の該酸性溶液をややアルカリ性のバッファー塩からなる溶液と混合することによって容易に作成でき、また、このクレアチニン校正溶液は室温で少なくとも１週間十分に安定であり、そしてさらに、いかなるクレアチニンをも秤取する必要もなく、酸性クレアチニン溶液とアルカリ性バッファー溶液の新しい混合液と置き換えることができるので、バイオセンサーが、そのような溶液によりもはや校正されなくてもよいのは事実である。

【００１４】

好ましくは、ｐＨ２～４、より好ましくは２．５～３をもつクレアチニン溶液が、酸性溶液として使用される。

【００１５】

酸性クレアチニン溶液をアルカリ性バッファー溶液と混合することは、例えば、バイオセンサーが組み込まれ、そして作動される装置において自動的に実施されてもよい。その目的では、その溶液を受け入れるために意図された容器を新たに調製した溶液によって、より長い間隔で満たすことのみが必要である。

【００１６】

本発明により作成されたクレアチニン校正溶液によって、クレアチニン濃度を測定するために意図された電極系を確実に校正することが可能である。一定時間後に形成される可能性のあるすべてのクレアチンを、既に校正されたセンサーによってそれを定量することによって、別々に定量し、そして差し引くことが可能である。

【００１７】

他方、クレアチン濃度を測定するための電極系は、クレアチニンとクレアチンが、ある温度について既知の平衡濃度において提供される中性溶液によって校正される。その上、該溶液によって、クレアチニン系へのクレアチンの影響は、それぞれ、間接的に定量できるか、または校正できる。

【００１８】

クレアチニン溶液とバッファー溶液を混合する際に、クレアチニン校正溶液の正確なクレアチニン濃度は、好ましくは、２種の混合成分の１種中にのみ秤取されたイオントレーサーによって計算される。イオントレーサーによって混合比率をチェックすることによって混合液、すなわち校正溶液の正確なクレアチニン含量が、秤取した一定量の既知濃度を介して計算できる。

【００１９】

さらにまた、試験される液体中に存在する妨害物質（ｉｎｔｅｒｆｅａｉｎｇ　ｓｕｂｓｔａｎｃｅｓ）、例えば、酵素インヒビターおよび／または試験される液体中に存在するような酵素に対して類似の作用を有するインヒビター－そのようなインヒビターは、それらが安定な様式で試薬中に導入できるという長所を有する－が、測定結果へのそれらの影響をまた考慮し、それにより測定結果を改善することができるように、それらの平均的濃度において校正溶液に添加される場合は得策である。

【００２０】

多くの生物液体は重炭酸塩を含有している。Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１４，５９７－６１０，１９９０（Ｍ．Ｃｏｌｌ　ｅｔ　ａｌ）から、重炭酸塩がクレアチナーゼのインヒビターとして作用することが知られている。したがって、妨害物質としての重炭酸塩、すなわち競合インヒビターを校正溶液に添加することは得策である。

【００２１】

しかしながら、バイオセンサーの測定機能は、競合インヒビターとして酢酸塩が校正溶液に添加される場合に、特に良好であることが示された。重炭酸塩に対して、酢酸塩は、有利には中性ｐＨにおいて溶液中に安定に保たれる。

【００２２】

表８－１０において、クレアチンとクレアチニンの測定機能に及ぼす校正溶液中の重炭酸塩と酢酸塩の妨害の影響が具体的に説明される。表８は、ａ）いかなる妨害物質もなし、ｂ）酢酸塩４０ｍｍｏｌ／ｌの添加およびｃ）重炭酸塩２５ｍｍｏｌ／ｌの添加の下で、

測定にかけられる、クレアチニン比率Ｃａｌ　２（実施例参照）に対応する、１２０μＭクレアチニンおよび２１０μＭクレアチンからなる水溶液についての測定結果を示す。測定は、一方では、酢酸塩４０ｍｍｏｌ／ｌの添加の下で校正されたバイオセンサーにより、そして他方、すべての酢酸塩の無添加で校正されたセンサーによって実施された。

【００２３】

同様に、表９は、校正比率Ｃａｌ　１（以下参照）に対応する、２３０μＭクレアチニンを含量する水溶液についてのクレアチニンセンサーの測定結果を示す。

【００２４】

両表は、酢酸塩によって測定溶液中の重炭酸塩妨害を補償することが十分に可能であることを示している。また、その発見は、表１０の結果によっても指摘される。ここに、重炭酸塩を含有する種々の調節剤（ｃｏｎｔｒｏｌ　ａｇｅｎｔ）が、酢酸塩の添加の有無において校正された前記バイオセンサーによって測定された。酢酸塩の添加の下で校正されたセンサーの測定結果は、平均して約４０％、より高く、そして酢酸塩の無添加で校正されたセンサーの結果よりも良好な調節剤の要求される値に相当する。

【００２５】

図１は、ａ）４０ｍＭ酢酸塩を含有する溶液によって校正されたクレアチニンセンサーについての試験－結果曲線、およびｂ）１週間にわたる、校正溶液にインヒビターを添加することなく校正されたクレアチニンセンサーの試験－結果曲線を示す。試験－結果曲線ｂによれば、測定溶液（重炭酸塩含有のウシ血清）中約９０μＭのクレアチニン濃度は、既に最初の日にわずか５４μＭであると評価されたが、これは、センサーの校正の間打ち消されなかった妨害ならびに酵素の自然の分解によるものであり、そして１週間の経過において約２０μＭまで低下する。一方、試験－結果曲線ａは、１週間では８２～９２μＭの範囲に留まり、これは真の値に非常によく当てはまる。

【００２６】

適当には、校正溶液は、イソチアゾロン誘導体のような殺生物剤（ｂｉｏｃｉｄｅ）および／または殺生物剤と抗生物質の組み合わせ物と混合され、この添加物が溶液の安定性に影響する。これに関して使用されるイソチアゾロン誘導体は、例えば、２－メチル－２，３－ジヒドロイソチアゾール－３－オン、５－クロロ－２－メチル－２，３－ジヒドロイソチアゾール－３－オンもしくは２－ｎ－オクチル－２，３－ジヒドロイソチアゾール－３－オンである。使用できる抗生物質は、例えば、シプロフロキサシンもしくはゲンタマイシンである。センサー系は、有効な濃度において該物質を使用する場合には損傷されない。

【００２７】

Ｎｏｒｍａｎ　Ｇｏｏｄによるアミンバッファーもしくは重炭酸塩は、好ましくはアルカリ性バッファー溶液のための緩衝剤として使用される。乳酸塩／乳酸（ｆ．ｉ．，表１、参照）およびＮｏｒｍａｎ　Ｇｏｏｄによるアミンバッファーは、スルホン酸基を表す酸性溶液のための緩衝剤として適当である（ｆ．ｉ．，ＨＥＰＥＳもしくはＭＯＰＳ；表２および３参照）。

【００２８】

校正溶液において電解質およびバッファー系を変えることによって、生理的条件、例えばｐＨ、バッファー容量、イオン環境およびイオン強度は、試験される生物液体の生理的条件に任意に調整されてもよい。

【００２９】

以下、さらに本発明は次の実施例によって具体的に説明される。

【００３０】

実施例

クレアチニンとクレアチン系および／または電気化学的妨害を校正するための校正溶液の作成

下記の表１－６において、クレアチニンとクレアチンの校正に調節される校正溶液の作成についてのバリアント（ｖａｒｉａｎｔ）が列挙される。

クレアチニンの校正のための校正溶液は：
１：１混合（K^+による混合比率のアッセイ）後のクレアチニン溶液Ｃａｌ　１（酸性）およびバッファー溶液Ｃａｌ　１（アルカリ性）
から得られる。
表において、クレアチンの校正のための校正溶液は、Ｃａｌ　２によって示される。
【００３１】
表４－６に挙げられた作成液は、また、生物液体（指示されるような）中に存在する他の物質の校正のために使用されてもよい。
【００３２】
バリアント２（Ｃａｌ　２）は、例えば、完成校正溶液中よりも酸性またはアルカリ性いずれの環境中でも安定である校正成分（ｆ．ｉ．グルコース）が含められる場合には有利である。該バリアントのさらなる長所は、クレアチニンとクレアチン間の濃度比率が変えられる点にある。
【００３３】
また、バリアント３（Ｃａｌ　１）では、いかなる生理的条件に対しても校正溶液を適合させる場合、一層の自由度が可能である。
【００３４】
さらにまた、センサーを校正するために必要であり、そして定量されるいかなる物質も含有しない、それ故、センサーのそれぞれ「バックグラウンドシグナル」もしくは「ゼロ点ライン」の評価のために提供される、洗浄もしくはゼロ点校正溶液の例が表７に指示される。校正溶液を用いるので、該溶液の定量組成は、指示されたバリアントによって示されるように生物サンプル中に見いだされる条件に適合させることができる。
【００３５】
クレアチニン測定を実施するために必要である酵素を安定化させるために、待機（ｓｔａｎｄｂｙ）溶液は、好ましくは、$MgNa_2EDTA$を含有し、この場合０．５mM量で十分である。しかしながら、また５mMまでの$MgNa_2EDTA$量が安定化の目的では考えられる。しかしながら、ＣａとＭｇの測定をまた実施する組み合わせ分析装置を用いるには、より多量の$MgNa_2EDTA$は有害な影響をもつかも知れない。$MgNa_2EDTA$の代わりに、また、次亜リン酸塩が安定化剤として使用されてもよい（Ｔｓｕｃｈｉｄａ，Ｔ，Ｙｏｄａ，Ｋ．，ＣｌｉｎＣｈｅｍ．２９／１，５１－５５（１９８３））。
【００３６】
バリアント１による溶液は、$NH4^+$および尿素センサーの校正のための校正溶液として、さらに使用されてもよい。他のパラメーター（イオン強度、イオン環境など）は、生理的標準値に近似している；バッファー容量は増大される。
【００３７】
また、バリアント２は、バッファー容量がバリアント１のそれよりも低いことによって、量に関して生理的標準値に適合された溶液成分を含有する。
【００３８】
バリアント３では、バッファー容量およびイオン強度は実質的に増大される。
【００３９】
【表１】

表1

物質		Cal 1 酸性	Cal 1 アルカリ性	Cal 2	電気化学的妨害
クレアチニン	[mmol/l]	0.50	-----	0.25	-----
クレアチン	[mmol/l]	-----	-----	0.42	-----
Na-乳酸	[mmol/l]	6.20	-----	15.0	-----
Na-酢酸	[mmol/l]	-----	49.8	15.5	-----
HCl	[mmol/l]	6.00	-----	-----	-----
NaOH	[mmol/l]	-----	50.0	22.5	22.5
H-HEPES$^{(\pm)}$	[mmol/l]	-----	81.2	41.5	41.5
KCl	[mmol/l]	-----	10.0	8.00	5.00
NaCl	[mmol/l]	143.8	50.2	97.0	99.0
パラセタモール	[mmol/l]	-----	-----	-----	1.00
pH (37°C)	[pH-単位]	3.00	7.51	7.38	7.38

1:1-混合後に得られるCal 1		
Na^+	[mmol/l]	150.0
K^+	[mmol/l]	5.00
Cl^-	[mmol/l]	105.0
H-HEPES$^{(\pm)}$	[mmol/l]	19.0
$HEPES^-$	[mmol/l]	22.5
酢酸$^-$	[mmol/l]	24.9
乳酸$^-$	[mmol/l]	3.10
クレアチニン	[mmol/l]	0.25
pH (37°C)	[pH-単位]	7.38

【００４０】
Ｃａｌ　１（酸性）およびＣａｌ　１（アルカリ性）についての可能なバリアント：
バリアント１（Ｃａｌ　１）：クレアチニンの校正用
【００４１】
【表２】

表2

物質		Cal 1 酸性	Cal 1 アルカリ性	1:1-混合後に得られる溶液		
NaCl	[mmol/l]	150	98.4	Na^+	[mmol/l]	150.0
KCl	[mmol/l]	-----	10.0	K^+	[mmol/l]	5.00
HCl	[mmol/l]	6.60	-----	C^-	[mmol/l]	132.5
NaOH	[mmol/l]	-----	51.6	$Hepes^-$	[mmol/l]	22.5
H-HEPES$^{(\pm)}$	[mmol/l]	20	63.0	*H-HEPES*$^{(\pm)}$	[mmol/l]	19.0
クレアチニン	[mmol/l]	0.50	-----	クレアチニン	[mmol/l]	0.25
pH (37°C)	[pH-単位]	2.50	7.96	*pH (37°C)*	[pH-単位]	7.38

【００４２】

バリアント２（Ｃａｌ　１）：クレアチニンの校正用
【００４３】
【表３】

表3

物質		Cal 1 酸性	Cal 1 アルカリ性	1:1−混合後に得られる溶液		
NaCl	*[mmol/l]*	150	43.4	Na^+	*[mmol/l]*	150.0
Na−酢酸	*[mmol/l]*	-----	55.0	K^+	*[mmol/l]*	5.00
KCl	*[mmol/l]*	-----	10.0	Cl^-	*[mmol/l]*	105.0
HCl	*[mmol/l]*	6.60	-----	酢酸$^-$	*[mmol/l]*	27.5
NaOH	*[mmol/l]*	-----	51.6	*Hepes*$^-$	*[mmol/l]*	22.5
H-HEPES$^{(\pm)}$	*[mmol/l]*	20	63.0	*H-HEPES*$^{(\pm)}$	*[mmol/l]*	19.0
ｸﾚｱﾁﾆﾝ	*[mmol/l]*	0.50	-----	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	*[mmol/l]*	0.25
pH (37°C)	*[pH-単位]*	2.50	7.96	*pH (37°C)*	*[pH-単位]*	7.38

【００４４】
バリアント３：クレアチニン、グルコース、乳酸、尿素の校正用（ｐＨ，$Ｎａ^+$，$Ｃｌ^-$，$ＰＣＯ_2$）
（Ｃａｌ　１）　K^+は、混合比率をチェック、決定または調節するために役立つ
【００４５】
【表４】

表4

物質		Cal 1 酸性	Cal 1 アルカリ性	1:1−混合後に得られる溶液		
NaCl	*[mmol/l]*	145.0	46.80	Na^+	*[mmol/l]*	150.0
Na−乳酸	*[mmol/l]*	6.0	-----	K^+	*[mmol/l]*	5.00
$NaHCO_3$	*[mmol/l]*	-----	47.2	NH_4^+	*[mmol/l]*	0.05
NaOH	*[mmol/l]*	-----	55.0	Cl^-	*[mmol/l]*	107.2
KCl	*[mmol/l]*	-----	10.00	乳酸$^-$	*[mmol/l]*	3.00
HCl	*[mmol/l]*	12.45	-----	HCO_3^-	*[mmol/l]*	22.34
NH_4Cl	*[mmol/l]*	0.10	-----	*Hepes*$^-$	*[mmol/l]*	22.5
H-HEPES$^{(\pm)}$	*[mmol/l]*	40.2	42.8	*H-HEPES*$^{(\pm)}$	*[mmol/l]*	19.0
ｸﾚｱﾁﾆﾝ	*[mmol/l]*	0.50	-----	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	*[mmol/l]*	0.25
ｸﾞﾙｺｰｽ	*[mmol/l]*	10.0	-----	ｸﾞﾙｺｰｽ	*[mmol/l]*	5.00
尿素	*[mmol/l]*	-----	18.0	尿素	*[mmol/l]*	9.00
pH (37°C)	*[pH-単位]*	2.90	10.13	*pH (37°C)*	*[pH-単位]*	7.38
				PCO_2 *(37°C)*	*[mmHg]*	40.7

【００４６】
Ｃａｌ　２のための可能なバリアント：
バリアント１（Ｃａｌ　２）：クレアチン、クレアチニン、グルコース、乳酸塩、尿素およびK^+の校正用
【００４７】

【表５】

表5

物質		Cal 2	得られる溶液成分		
NaCl	[mmol/l]	97.0	Na^+	[mmol/l]	150.0
Na-乳酸	[mmol/l]	15.0	K^+	[mmol/l]	5.00
Na-酢酸	[mmol/l]	15.5	NH_4^+	[mmol/l]	0.05
NaOH	[mmol/l]	22.5	Cl^-	[mmol/l]	107.2
KCl	[mmol/l]	8.00	乳酸$^-$	[mmol/l]	15.0
NH_4Cl	[mmol/l]	0.05	酢酸$^-$	[mmol/l]	15.5
H-HEPES$^{(\pm)}$	[mmol/l]	41.5	Hepes$^-$	[mmol/l]	22.5
ｸﾚｱﾁﾆﾝ	[mmol/l]	0.25	H-HEPES$^{(\pm)}$	[mmol/l]	19.0
ｸﾚｱﾁﾝ	[mmol/l]	0.42	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	[mmol/l]	0.25
ｸﾞﾙｺｰｽ	[mmol/l]	25.0	ｸﾚｱﾁﾝ	[mmol/l]	0.42
尿素	[mmol/l]	27.0	ｸﾞﾙｺｰｽ	[mmol/l]	5.00
			尿素	[mmol/l]	9.00
			PH (37°C)	[pH-単位]	7.38

【００４８】
バリアント２（Ｃａｌ　２）：クレアチン、クレアチニンおよびグルコースの校正用
【００４９】
【表６】

表6

物質		Cal 2 酸性	Cal 2 ｱﾙｶﾘ性	1:1-混合後に得られる溶液		
NaCl	[mmol/l]	150	101.7	Na^+	[mmol/l]	150.0
KCl	[mmol/l]	-----	10.0	K^+	[mmol/l]	5.00
HCl	[mmol/l]	3.30	-----	Cl^-	[mmol/l]	132.5
NaOH	[mmol/l]	-----	48.3	Hepes$^-$	[mmol/l]	22.5
H-HEPES$^{(\pm)}$	[mmol/l]	10	73.0	H-HEPES$^{(\pm)}$	[mmol/l]	19.0
ｸﾞﾙｺｰｽ	[mmol/l]	50.0	-----	ｸﾞﾙｺｰｽ	[mmol/l]	25.0
ｸﾚｱﾁﾆﾝ	[mmol/l]	0.21	0.29	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	[mmol/l]	0.25
ｸﾚｱﾁﾝ	[mmol/l]	-----	0.50	ｸﾚｱﾁﾝ	[mmol/l]	0.25
pH (37°C)	[pH-単位]	2.50	7.60	pH (37°C)	[pH-単位]	7.38

【００５０】
洗浄およびゼロ点校正溶液（「待機」）
【００５１】
【表７】

表7

物質		Var.1	Var.2	Var.3
クレアチニン	*[mmol/l]*	0.00	0.00	0.00
クレアチン	*[mmol/l]*	0.00	0.00	0.00
H-HEPES$^{(\pm)}$	*[mmol/l]*	83.0	41.5	83.0
NaOH	*[mmol/l]*	45.0	22.5	45.0
NaCl	*[mmol/l]*	99.95	100.0	100.0
Na-酢酸	*[mmol/l]*	4.05	26.5	40.0
KCl	*[mmol/l]*	5.00	5.00	5.00
尿素	*[mmol/l]*	1.00	-----	-----
NH_4Cl	*[mmol/l]*	0.05	-----	-----
$Na_2MgEDTA$	*[mmol/l]*	0.50	0.50	0.50
得られる平衡濃度				
クレアチニン	*[mmol/l]*	0.00	0.00	0.00
クレアチン	*[mmol/l]*	0.00	0.00	0.00
Na^+	*[mmol/l]*	150.0	150.0	186.0
K^+	*[mmol/l]*	5.00	5.00	5.00
Mg^{++}	*[mmol/l]*	0.50	0.50	0.50
NH_4^+	*[mmol/l]*	0.05	0.00	0.00
Cl^-	*[mmol/l]*	105.0	105.0	105.0
H-HEPES$^{(\pm)}$	*[mmol/l]*	38.0	19.0	38.0
$HEPES^-$	*[mmol/l]*	45.0	22.0	45.0
酢酸$^-$	*[mmol/l]*	4.05	26.5	40.0
尿素	*[mmol/l]*	1.00	0.00	0.00
NH_4^+	*[mmol/l]*	0.05	0.00	0.00
EDTA$^{(4-)}$	*[mmol/l]*	0.50	0.50	0.50
pH (37°C)	*[pH-単位]*	7.38	7.38	7.38

【００５２】
【表８】

表8

120μMクレアチニンおよび210μMクレアチンを含有する水溶液	乳酸塩添加下で校正されたクレアチニンセンサー	乳酸塩無添加で校正されたクレアチニンセンサー	差異	乳酸塩添加下で校正されたクレアチンセンサー	乳酸塩無添加で校正されたクレアチンセンサー	差異
妨害物質なし	234 μM クレアチニン	121 μM	48%	363 μM クレアチニン	209 μM	42%
+酢酸40mmol/l	124 μM	68 μM	45%	211 μM	133 μM	37%
+重炭酸塩 25mmol/l	152 μM	80 μM	47%	266 μM	161 μM	39%
平均値			47%			40%

【００５３】
【表９】

表9

230μMクレアチニンを含有する水溶液	乳酸塩添加下で校正されたクレアチニンセンサー	乳酸塩無添加で校正されたクレアチニンセンサー	差異
妨害物質なし	371 μMクレアチニン	225 μM	39%
＋酢酸40mmol/l	229 μM	146 μM	36%
＋重炭酸塩25mmol/l	226 μM	137 μM	39%
平均値			38%

【００５４】
【表１０】

表10

調節剤	調節剤のクレアチニン含量	調節剤のクレアチン含量	乳酸塩添加下で校正されたクレアチニンセンサー	乳酸塩無添加で校正されたクレアチニンセンサー	乳酸塩添加下で校正されたクレアチンセンサー	乳酸塩無添加で校正されたクレアチンセンサー
ウシ血清	97 μM	-	72 μM	34 μM	249 μM	157 μM
オートトロール1	530 μM	729 μM	452 μM	255 μM	619 μM	412 μM
オートトロール2	176 μM	242 μM	138 μM	82 μM	220 μM	137 μM
オートトロール3	88 μM	125 μM	70 μM	43 μM	116 μM	80 μM

【図１】

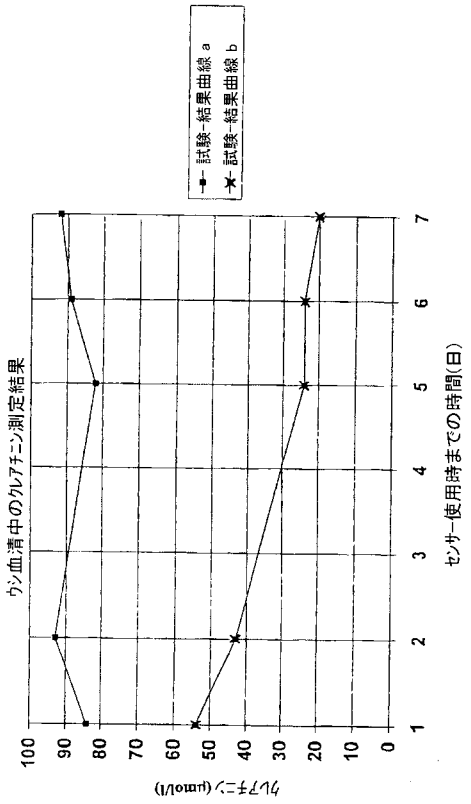

試験−結果曲線 a
試験−結果曲線 b
ウシ血清中のクレアチニン測定結果
クレアチニン (μmol/l)
センサー使用時までの時間(日)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
1
2
3
4
5
6
7

FIG. 1

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
G01N	***27/327***	***(2006.01)***	G01N	27/46	336B
G01N	***33/70***	***(2006.01)***	G01N	27/30	353U
			G01N	33/70	

(72)発明者 ノールモフイデイ，タギ
オーストリア・アー－８０５４グラーツ・マントシヤ７８
(72)発明者 フロリアン，ゲルノト
オーストリア・アー－８０１０グラーツ・ピストトニクガツセ８
(72)発明者 シユタインベク，ボルフ－デイートリヒ
オーストリア・アー－８０２０グラーツ・アウガツセ２４／３

審査官 黒田 浩一

(56)参考文献 特開昭５８－０６１４５９（ＪＰ，Ａ）
特開昭６０－１５１５６０（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
G01N 27/26-27/49
C12Q 1/00
C12Q 1/25
C12Q 1/26
G01N 33/70