

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 2 区分

【発行日】平成 16 年 12 月 2 日 (2004.12.2)

【公開番号】特開 2001-258868 (P2001-258868A)

【公開日】平成 13 年 9 月 25 日 (2001.9.25)

【出願番号】特願 2000-120189 (P2000-120189)

【国際特許分類第 7 版】

A 6 1 B 5/145

A 6 1 B 5/15

G 0 1 N 27/447

G 0 1 N 27/414

G 0 1 N 27/327

G 0 1 N 27/416

G 0 1 N 31/22

G 0 1 N 33/49

G 0 1 N 33/66

G 0 1 N 33/84

// G 0 1 N 1/10

【F I】

A 6 1 B 5/14 3 1 0

G 0 1 N 31/22

G 0 1 N 33/49 Z

G 0 1 N 33/66 A

G 0 1 N 33/84 A

G 0 1 N 33/84 Z

A 6 1 B 5/14 3 0 0 H

A 6 1 B 5/14 3 0 0 B

A 6 1 B 5/14 3 0 0 C

G 0 1 N 27/26 3 3 1 G

G 0 1 N 27/30 3 0 1 G

G 0 1 N 27/30 3 5 3 B

G 0 1 N 27/30 3 5 3 J

G 0 1 N 27/30 3 5 3 R

G 0 1 N 27/46 3 3 8

G 0 1 N 27/46 3 5 1 B

G 0 1 N 27/46 3 5 3 A

G 0 1 N 1/10 G

【手続補正書】

【提出日】平成 15 年 12 月 11 日 (2003.12.11)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の名称】血液分析方法ならびに装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】血液中の物質を分析するセンサを有する基板を備える血液分析装置において

：

(a) 基板上に形成された溝状構造物を蓋をしてなるマイクロキャピラリ流路と；

(b) 生体内より血液を採取して前記マイクロキャピラリ流路に血液を取り入れる採取手段と；

(c) 前記マイクロキャピラリ流路に設けられ、前記採取手段により採取した血液をろ過して血漿を得るろ過手段と；

(d) 前記マイクロキャピラリ流路の前記ろ過手段の下流に設けられ、前記センサを有する分析手段と；

(e) 前記マイクロキャピラリ流路に前記ろ過手段の下流側で設けられ、このマイクロキャピラリ流路内に存在する血液成分を移動させる移動手段と；

(f) 前記センサからの情報を基板外部に取り出すための出力手段；

を備えることを特徴とする血液分析装置。

【請求項 2】前記採取手段は体内に刺して基板内に血液を取り入れる中空の針を有することを特徴とする請求項 1 の血液分析装置。

【請求項 3】前記ろ過手段は複数のスリットを備え、この複数のスリットを形成する微細溝の幅が、前記マイクロキャピラリ流路の上流から下流に向かって、次第に小さくなるようにされていることを特徴とする請求項 1 の血液分析装置。

【請求項 4】前記移動手段が、前記分析手段より下流側に設置されていることを特徴とする請求項 1 の血液分析装置。

【請求項 5】前記移動手段は前記マイクロキャピラリ流路に設けられた 2 個の電極を備え、両電極間に印加した電圧によって生じる電気泳動流により、マイクロキャピラリ流路内の血液、血漿又は血清を移動させることを特徴とする請求項 1 の血液分析装置。

【請求項 6】前記 2 個の電極の内、マイクロキャピラリ流路上流側の電極が接地されていることを特徴とする請求項 5 の血液分析装置。

【請求項 7】前記センサは血清中の pH 値、酸素濃度、二酸化炭素濃度、ナトリウム濃度、カリウム濃度、カルシウム濃度、グルコース濃度、乳酸濃度の何れかを分析するケミカルセンサであることを特徴とする請求項 1 の血液分析装置。

【請求項 8】前記ろ過手段の下流側でかつ前記センサの上流側に位置するマイクロキャピラリ流路に、血液又は血漿から血清を分離する分離手段を備えることを特徴とする請求項 1 の血液分析装置。

【請求項 9】前記分離手段はマイクロキャピラリ流路の一部を U 字状に形成したものであり、基板ごと遠心することにより、分離手段内で血液又は血漿から血清を分離するものであることを特徴とする請求項 8 の血液分析装置。

【請求項 10】前記マイクロキャピラリ流路の溝状構造物は幅 $10 \sim 150 \mu\text{m}$ 、深さ $10 \mu\text{m} \sim 150 \mu\text{m}$ であり、マイクロキャピラリ流路の内壁に濃度 $0.25 \sim 1.0 \text{ wt} \%$ の MPC ポリマー (2-methacryloyloxyethylphosphorylcholine) が塗布されていることを特徴とする請求項 1 の血液分析装置。

【請求項 11】血液中の物質を分析するセンサを有する基板を備える血液分析装置において；

(a) 基板上に形成された溝状構造物を蓋をしてなるマイクロキャピラリ流路と；

(b) 生体内より血液を採取して前記マイクロキャピラリ流路に血液を取り入れる採取手段と；

(c) 前記マイクロキャピラリ流路の前記採取手段の下流に設けられ、血液又は血漿から血清を分離する分離手段と；

(d) 前記マイクロキャピラリ流路の前記分離手段の下流に設けられ、前記センサを有する分析手段と；

(e) 前記マイクロキャピラリ流路に設けられ、このマイクロキャピラリ流路内に存在する血液成分を移動させる移動手段と；

(f) 前記センサからの情報を基板外部に取り出すための出力手段；

を備えることを特徴とする血液分析装置。

【請求項 12】前記分離手段はマイクロキャピラリ流路の一部を U 字状に形成したもので

あり、基板ごと遠心することにより、分離手段内で血液又は血漿から血清を分離するものであることを特徴とする請求項 1 1 の血液分析装置。

【請求項 1 3】前記採取手段は体内に刺して基板内に血液を取り入れる中空の針を有することを特徴とする請求項 1 1 の血液分析装置。

【請求項 1 4】前記移動手段が、前記分析手段より下流側に設置されていることを特徴とする請求項 1 1 の血液分析装置。

【請求項 1 5】前記移動手段は前記マイクロキャピラリ流路に設けられた 2 個の電極を備え、両電極間に印加した電圧によって生じる電気泳動流により、マイクロキャピラリ流路内の血液、血漿又は血清を移動させることを特徴とする請求項 1 2 の血液分析装置。

【請求項 1 6】前記 2 個の電極の内、マイクロキャピラリ流路上流側の電極が接地されていることを特徴とする請求項 1 5 の血液分析装置。

【請求項 1 7】前記センサは血清中の pH 値、酸素濃度、二酸化炭素濃度、ナトリウム濃度、カリウム濃度、カルシウム濃度、グルコース濃度、乳酸濃度の何れかを分析するケミカルセンサであることを特徴とする請求項 1 1 の血液分析装置。

【請求項 1 8】前記採取手段の下流側でかつ前記分離手段の上流側に位置するマイクロキャピラリ流路に、前記採取手段により採取した血液をろ過して血漿を得るろ過手段を備えていることを特徴とする請求項 1 1 の血液分析装置。

【請求項 1 9】前記マイクロキャピラリ流路の溝状構造物は幅 $10\ \mu\text{m}$ 以上 $150\ \mu\text{m}$ 以下、深さ $10\ \mu\text{m}$ 以上 $150\ \mu\text{m}$ 以下であり、マイクロキャピラリ流路の内壁に $0.25\ \text{wt}\%$ 以上 $1.0\ \text{wt}\%$ 以下の濃度の MPC ポリマー (2-methacryloyloxyethylphosphorylcholine) が塗布されていることを特徴とする請求項 1 1 の血液分析装置。

【請求項 2 0】請求項 1 又は 1 1 の血液分析装置を用いて、血液の採取、濾過又は分離、分析を行う血液分析方法。

【請求項 2 1】血液の採取に先立ち、前記マイクロキャピラリ流路内を緩衝液で満たすことを特徴とする請求項 2 0 の血液分析方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、血液を採取し、血液中の赤血球、白血球、リンパ球、血小板、血液凝固因子などを分離し、その結果得られた血清などの pH 値、酸素あるいは二酸化炭素などの濃度を測定する血液分析方法ならびに装置に関する。特に前述の操作に必要な機能、構造のすべてが一つのデバイス内に集積されており、さらにそのデバイスが小さく、その取り扱いに専門の医学の知識、資格を必要とせず、簡易に上述の血液分析を行うことを特徴とするヘルスケアデバイスに関する。

【0002】

【従来の技術】

人の健康状態や疾病を診断する電子的な装置として、体温計、血圧計、超音波診断、X線 CT、MRI などの他に、血液自動分析装置がある。これは、数ミリリットルの血液を採取し、遠心分離器を用いて、赤血球、白血球、リンパ球、血小板、血液凝固因子を分離して得られた血清を、多数の試験管に分け、各試験管を一行に並べて動かし、ケミカルセンサにより、pH、酸素、二酸化炭素などの各濃度を測定する他、各試験管の血清に酵素などの試薬を入れ、血清中の基質との発光反応の分光や吸収分光を行い、データをコンピュータで処理して人体を診断することに用いられている。

【0003】

また、血液あるいは人体組織の分析、測定方法に関する技術として、以下に述べる開発がそれぞれ行われている。まず、血清のような溶液中の混入物質の測定法としては、キャピラリ電気泳動法が一般に用いられている。本方法を図1により説明する。101は石英管であり、102は正電極であり、103は負電極である。例えば、直径 $0.1\ \text{mm}$ 程度のキャピラリと呼ばれる細長い石英管 101 の中に電解液を入れる。一般に、石英管の場合、その内壁表面には負の電荷を生じるため、電解液中のカチオン(正電荷のイオン)は負電

荷とのクーロン力により、石英の内壁に集まり、いわゆるヘルムホルツの二重障壁104を形成する。そこで、このキャピラリの両端に設けた電極102, 103に高電圧を印加すると、まず、負電圧103側に、内壁のカチオン105が引っ張られ、移動すると、粘性により電解液全体も負電圧103側に移動する。この流れを電気浸透流106と呼ぶ。一方、電解液中のカチオンは最も早く負電極103側に到達し、中性種107は電気浸透流106により次に到達し、そしてアニオン108(負イオン)は、本来正の電圧側102に引っ張られるが、電気浸透流106により負電圧103側に移動し、従って最も遅れて到達する。このアニオンやカチオンが電界により移動する流れを電気泳動流109と呼ぶ。

【0004】

また、最近、DNAの分析に関して、以下に述べる方法が研究されている。すなわち、前述のキャピラリを石英板や高分子板に形成し、蓋をして、数cm角のチップ上に製作したマイクロキャピラリと呼ばれるものがある。例えば、DNAなどを中性ゲル中にいれ、DNAは電荷を有するので電気泳動により移動させ、分子量の相違による総電荷相違により分離する。また、本方法は、マイクロキャピラリ中を移動する物質に途中から他の試薬を入れ、その反応を検出するような従来の試験管方式と異なる反応検出法が盛んに研究されている[例えば、馬場嘉信；蛋白質 核酸 酵素、45巻、1号(2000)76-85頁]。これは、マイクロ全分析システム(μ -TAS; total analysis system)やチップ上研究室(Lab-on-Chip)と呼ばれている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

前述の血液自動分析装置は、一般には血液センターや病院で用いられ、高価、且つ大規模であり、しかも全診断に数時間を要する。通常これらの血液分析は、疾病の原因究明あるいは健康体においても一年に一回程度受ける健康診断などの際に実施されるため、一回の分析によって種々の情報をそれぞれ精緻に得ることを目的としている。しかし、昨今大気温暖化や内分泌かく乱物質などの環境悪化により日々人間の健康が蝕まれており、より高い頻度で血液検査を行い健康状態の管理を行うことが、重大な疾病への進展を予防するために必要とされる。このような日々の健康管理を目的とした血液検査には、高々血液中のpH、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などのいわゆる健康マーカーと呼ばれるものの濃度などを測定するだけで足りるものである。先述のような高価、大規模な血液分析装置を用いた精緻な検査までは必要なく、分析項目を絞った簡素な装置が必要とされていた。

【0006】

また、最近、寝たきり老人の増加にともない、その健康管理が課題となっているが、このような人にとって、頻繁に病院等に通い検査を受けることは困難であり、在宅のまま健康管理を行う手段が必要とされている。現在の血液検査方法では、採血は医師など有資格者にかぎられており、要介護老人の介護の担い手であるヘルパーではできない行為である。そこで、一般の人でも、採血を含めて手軽に取り扱える血液分析装置が必要とされていた。また、血液検査を頻繁に行うためには、採血の際に苦痛を伴わないことが望ましく、また、注射針による皮膚の変色など人体への影響も極力抑えることが望ましい。

【0007】

以上に述べたような家庭で手軽に取り扱える血液分析装置を実現するためには、装置本体が小型でなければならない。そのためには、血液分析に必要な採血、濾過、分離、分析などの機能がコンパクトに一体化されている必要がある。血液等の分析技術に関しては、前述したような、個々の技術開発は行われているものの、それら技術を取り入れ血液分析装置として一体化するための集積技術はこれまで得られていなかった。

【0008】

本発明は以上のような事情に鑑みなされたものであり、血液分析に必要な採血、濾過、分離、分析などの機能をコンパクトに一体化することを実現し、家庭で手軽に取り扱えるようにして日々の血液検査を実施可能として、健康管理、疾病の早期発見に大きく貢献

する血液分析装置を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】

このような本発明の目的は、血液中の物質を分析するセンサを有する基板を備える血液分析装置において：

- (a) 基板上に形成された溝状構造物を蓋をしてなるマイクロキャピラリ流路と；
 - (b) 生体内より血液を採取して前記マイクロキャピラリ流路に血液を取り入れる採取手段と；
 - (c) 前記マイクロキャピラリ流路に設けられ、前記採取手段により採取した血液をろ過して血漿を得るろ過手段と；
 - (d) 前記マイクロキャピラリ流路の前記ろ過手段の下流に設けられ、前記センサを有する分析手段と；
 - (e) 前記マイクロキャピラリ流路に前記ろ過手段の下流側で設けられ、このマイクロキャピラリ流路内に存在する血液成分を移動させる移動手段と；
 - (f) 前記センサからの情報を基板外部に取り出すための出力手段；
- を備えることを特徴とする血液分析装置、により達成される。

【0010】

採取手段に中空の針を設けた場合には、これを体内に刺して基板内に血液を取り入れることができる。ろ過手段は複数のスリットを備えたものとして、この複数のスリットを形成する微細溝の幅が、マイクロキャピラリ流路の上流から下流に向かって次第に小さくなるようにしてろ過作用を発揮させることが出来る。

【0011】

移動手段は、分析手段より下流側に設置することができる。また、この移動手段はマイクロキャピラリ流路に設け2個の電極とし、両電極間に印加した電圧によって生じる電気泳動流により、マイクロキャピラリ流路内の血液、血漿又は血清を移動させることができる。この場合、マイクロキャピラリ流路上流側の電極を接地するのが好ましい。

【0012】

センサとしては、血清中のpH値、酸素濃度、二酸化炭素濃度、ナトリウム濃度、カリウム濃度、カルシウム濃度、グルコース濃度、乳酸濃度の何れかを分析するケミカルセンサが使用できる。

【0013】

ろ過手段下流側でセンサ流側に位置するマイクロキャピラリ流路に、血液又は血漿から血清を分離する分離手段を設けてもよい。この分離手段は、例えば、マイクロキャピラリ流路の一部をU字状に形成したものとして、これを基板ごと遠心することにより、分離手段内で血液又は血漿から血清を分離するものとする事が出来る。

【0014】

又、本発明に血液分析装置では、ろ過手段を設けずに代わりに前記したような分離手段を備えるものとしてもよい。この場合には、分離手段は、マイクロキャピラリ流路の採取手段の下流に設けられ、血液又は血漿から血清を分離する。

【0015】

マイクロキャピラリ流路の溝状構造物は幅10～150μm、深さ10μm～150μmとするのが好ましく、またマイクロキャピラリ流路の内壁が、濃度0.25～1.0wt%のMPCポリマー(2-methacryloyloxyethylphosphorylcholine)が塗布されているのが好ましい態様である。

【0016】

【発明の実施の形態】

図2に本発明に基づく装置の概略図を示す。201は基板であり、本装置の各手段は本基板をエッチングにより製作されたマイクロキャピラリ流路に沿って配置される。このマイクロキャピラリ流路の内壁表面にはMPCポリマー(2-methacryloyloxyethylphosphorylcholine)の被覆が設けられており、血漿や血清中のタンパク質のマイクロキャピラリ流

路表面上での凝固、付着を防止する。202は血液の採取手段である。203は中空の針であり、採取手段に付属する。この針を体内に刺して基板内への血液の取り入れ口とする。204、205は電極であり、この電極間に印加した電圧のため生じる電気泳動流による吸引力によって、体内より基板内に血液を取り入れる。

【0017】

206は血液の濾過手段であり、血液の流れの上流から下流に向かって、次第に間隔の狭くなる複数のスリットを有する。このスリットにより、血液中の赤血球、白血球、リンパ球、血小板を濾過して取り除き、濾過手段の下流側に血漿を得る。207は分離手段であり、例えばU字型のマイクロキャピラリからなる。採取した血液を濾過して得られる血漿をこのU字型のマイクロキャピラリ流路に導いた後、本基板を遠心分離器により一定方向に加速度を加えることによって、U字部に血漿より凝固因子を分離除去した血清が得られる。208は分析手段であり、血液中のpH値、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などの各濃度を測定するためのセンサを有する。

【0018】

209は採取手段、濾過手段、分離手段、分析手段のそれぞれを接続する流路手段であり、基板をエッチングして製作したマイクロキャピラリ溝（溝状構造物）に蓋をしてなるマイクロキャピラリ流路からなる。210はマイクロキャピラリ流路中で血液を電気泳動法により移動させるための移動手段である。211は分析手段から情報を取り出すための出力手段であり、電極などから構成される。212は、以上の採取手段、濾過手段、分離手段、分析手段、移動手段、出力手段を必要に応じて制御するための制御手段である。図2には示していないが、基板上のマイクロキャピラリ溝内に血液を保持しておくための板（蓋）（図5の504）は、基板201（501）に接着あるいは圧着されている（図5参照）。

【0019】

採取手段202により採取された血液は、濾過手段206にて濾過され血漿となり、さらに分離手段207にて凝固因子を分離除去して血清が得られ、これを分析手段208においてpH値、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などの各濃度を測定する。各手段間の血液の移動は、電気泳動法を用いた移動手段210により行う。

【0020】

【第1実施例】

本実施例の装置は図2に示したものと同様であり、符号は前述のものを使用する。以下、各手段ごとに説明する。まず、図3、図4を用いて血液の採取手段202に付属する針の製造法について説明する。図3の上段に針を製作する際に芯材として使用する石英の製造方法を示す。301は芯材の石英棒であり、これをバーナー302により加熱して軟化させたのち引き延ばして、先端の径を10μm以下になるようにして切断した。次に、図3の下段に示すような抵抗加熱ヒータ304を有する電気炉305を予め800℃に加熱してから、前述の要領で製作した石英の芯材303を炉の中に置き、その後処理ガス306として三塩化燐（ POCl_3 ）と酸素を電気炉303中に流す。その結果、芯材303の表面には燐ガラス（ P_2O_5 ）308が形成される。なお307は排気である。次に、表面に燐ガラスを掲載したさらにその上にステンレスを堆積する方法についてのべる。図4にこの処理を行う装置を示す。401はステンレス製の円筒真空容器であり、円筒真空容器401の外周には、一対のリング状磁石402が約1cm離して設置されており、N極とS極が形成されている。このとき、円筒真空容器401の内壁には数10から数百ガウスの磁場が生じている。この円筒真空容器401内に表面に燐ガラスを形成した石英の芯材403を置き、Arガスを20sccmを流して、圧力を10mTorrとした。この状態において電源404を用いて円筒真空容器401に負の高電圧を印加し、容器内でマグネトロン放電405を生じさせる。放電を20分間行うことにより、芯材403の表面には厚さ約10μmのステンレス堆積膜406が形成された。なお、マグネトロン放電の際に円筒真空容器401の温度が上昇することを抑えるために水冷パイプ407と冷却板4

08によって円筒真空容器401を冷却した。この後、この芯材403を30～60度の角度に固定し、研磨し、鋭利な針先を形成する。次に、この芯材403を緩衝フッ酸液に入れ、燐ガラスのみを高速でエッチングすることにより、ステンレス堆積物は芯材403から除去され、長さが約1cmのステンレスの中空な針が得られる。このような極細のステンレスの針は、先端の約1mmの部分を残し、他の部分の周囲をシリコンラバーなどで覆い、補強、保護とする。さらに、この針を基板の採取手段の端部に当る注入口に接着剤を用いて貼り付けて使用する。以上に述べたようにして製作した針は、先端の径が微細であることから、皮膚に刺したところ、神経に当らずに皮膚を突き通し血管まで達するため、痛みを感じなかった。なお、芯材403の材料は石英に限らず、ガラスあるいは高分子などでもよい。また、円筒真空容器401はステンレス以外の金属を用いても良い。

【0021】

次に、基板内の各手段を形成するマイクロキャピラリ流路の製作方法を、図5を用いて説明する。例えば、厚さ0.5mmで2cm角の石英板501を用意し、まず、(1)石英板501上にクロム(Cr)膜502を約1μmの厚さでスパッタ法で堆積する。次に、(2)Cr膜502上にホトレジスト503を塗布し、光露光で約30μm幅の抜けパターンを形成する。(3)このCr膜502を湿式又はドライ法によりエッチングする。ドライ法では、Cl₂ガスを一巻アンテナを用いたICP(誘導結合プラズマ)で放電し、アンテナより18～20cmの下流域(ダウンストリーム)でCr膜502をエッチングする。本エッチング法は、特願平11-124709による方法を用いている。そして、(4)このCr膜502をマスクに、C₄F₈とSF₆を85対15の比で混合したガスをICPにより放電し、13.56MHzの高周波バイアスを印加した電極上に石英板501を載置し、下地の石英板501を垂直の壁を有するようにエッチングし、キャピラリ溝(溝状構造物)を形成する。その際の条件は、アンテナに導入した13.56MHzの電力は500Wであり、高周波バイアス用の13.56MHzの電力は5W、圧力は10mTorrとした。

【0022】

その後、(5)Cr膜502を湿式法で除去し、(6)血液や緩衝液の注入口や出口用の孔を超音波加工により開口したもう一枚の石英板504を用意して、キャピラリ溝を設けた石英板501と共に、1%HF(フッ酸)に侵した後、両板を重ね合わせ、1.3MPaの圧力で24時間押し付けた。この石英板504は溝状構造物を覆う蓋となり、これによりマイクロキャピラリ流路を形成する。

【0023】

最後に、(7)白金等の電極505を、上記の注入口や出口などに蒸着などの方法で形成し、マイクロキャピラリチップが出来上がる。(4)の工程で形成されたマイクロキャピラリ溝を有する石英板を成形型として用い、ポリエチレン等の高分子膜に適当な温度でモールド形成してマイクロキャピラリ溝を製作してもよい。更に、石英板を用いずに、高分子板に直接マイクロキャピラリ溝(溝状構造物)を形成し、蓋も高分子で形成しても良い。

【0024】

次に、血液の採取手段において血液をマイクロキャピラリ流路中に引き込む方法、ならびに、移動手段においてマイクロキャピラリ流路中で血液を移動させる方法を図6を用いて説明する。用いたマイクロキャピラリ流路を図6に示すグラフ中に示す。これは、前述の製造方法により製作した石英板内のマイクロキャピラリ流路の一部を示したものである。このマイクロキャピラリ流路のキャピラリ溝は幅が約30μm、深さが約30μmである。このマイクロキャピラリの全域をpH7.4の燐酸緩衝液(PBS)で満たした後、A-C間に高電圧を印加し、そのときの電圧-電流特性をイオン強度を変えて測定した結果を図6のグラフに示す。グラフ中で「低速」とは15秒毎に50Vを印加した結果であり、「高速」とは一秒間に70Vの電圧を印加した結果である。「低速」の場合は、電圧印加と共に電流が急激に流れ始め、特に高イオン強度の場合は激しい。これは、電流が流れることによりジュール加熱が起こり、緩衝液の移動度が増加するためと説明されている。

。一方、「高速」で電圧を上昇させると線形関係を示す。従って、急激に電圧を上げると、緩衝液の温度が上昇せずに正イオンが高速で移動することを意味する。すなわち、「高速」モードを用いると電気浸透流により、液を動かすポンプ作用が得られることを示している。

【0025】

この電気浸透流のポンプ作用による吸引力の測定について述べる。図7にポンプ作用の吸引力測定を行ったマイクロキャピラリー流路を示す。これは、先に述べた方法で製作した石英板の一部を取出して図示したものである。このマイクロキャピラリー流路の溝は幅が約30 μm 、深さが約30 μm である。まず、マイクロキャピラリー流路全域701をpHが7.4の磷酸緩衝液(PBS)で満たした。そして電極A702と電極B703に高電圧を印加すると、PBSが電極A側に電気浸透流により移動し、入り口C704から空気705が注入される。マイクロキャピラリー流路中に侵入した空気705の先端をピストン706を用いて、入り口C704まで引き戻したときの圧力を圧力計707で測定した。その結果、このときの電気浸透流のポンプ作用による吸引力 $6 \times 10^3 \text{ Pa}$ であることがわかった。

【0026】

次に血液の濾過手段について説明する。図8は、先に述べた方法で製作した石英板の中から採取手段と濾過手段を取出して図示したものである。801は血液の採取手段とろ過手段であり、下段にその拡大を示す。802は注入口であり、端部に針803が接着により取り付けられている。804はろ過手段であり、内部には図に示すような石英板のエッチング加工により形成した多段階の微細溝を有する。ここで用いた石英板では、注入口802側より、10 μm 幅溝805、8 μm 幅溝806、6 μm 幅溝807、4 μm 幅溝808、2 μm 幅溝809、1 μm 幅溝810を設けてある。電極A811、電極B812に電圧を印加し、前述したように電気浸透流のポンプ作用により、血液を針803から採取し、次にろ過手段を通過させた。その結果、ろ過手段の下流には、ほとんど赤血球の混入が無い血漿813が得られた。

【0027】

次に、血液からろ過手段を通して得られた血漿より、更に遠心分離によりマイクロキャピラリー流路内で凝固因子を分離し血清を得る分離手段と分離方法を、図9を用いて説明する。U字型のマイクロキャピラリー流路901の一方は針を付属した注入口902と結合している。また、電気浸透流ポンプ903を有し、高電圧を印加するための電極A904と電極B905が設けてある。電極A904と電極B905の間に電界約1 kV/cmを印加し、針902よりU字型のマイクロキャピラリー流路901に血液を導入した。このとき、感電を避けるため、電極A904側を接地した。そして、図10に示す簡易型遠心分離器1001に、図9のマイクロキャピラリー流路を含む石英板1002を、図9に示した矢印の方向により大きな加速度がかかるように取り付け回転させた。5000 rpmの回転速度で30分回転した後に、U字型キャピラリー流路901の図9に示した矢印の向きと反対側のU字管部分に血清を得た。

【0028】

以上述べた採取手段、ろ過手段、分離手段、流路手段、分析手段の構造を構成する要素であるマイクロキャピラリー流路は石英で製作されている。そのため、血液や血漿や血清のような生体物質をマイクロキャピラリー流路内に導入すると、内壁にタンパク質が凝固したり吸着するため、キャピラリー流路が細くなったり、極端な場合は詰まったりする現象が見られる。この凝固や付着を防止するために、マイクロキャピラリー流路の内壁に、MPCポリマー(2-methacryloyloxyethylphosphorylcholine)をコートした。MPCポリマーは、石原らにより発明された(特許第2947298号)が、これは我々生物の生体膜を構成している材料と類似の材料から人工的に合成した高分子である。従って、タンパク質吸着を抑制し、生体との好ましくない反応を阻止する極めて優れた効果を示す。

【0029】

図11のグラフ中に示すマイクロキャピラリー流路を用いて、MPCポリマーのマイクロキ

ャピラリ内壁へのコートの有無、及び内壁にコートするMPCポリマーの濃度に対するタンパク質等の凝固、付着防止効果を示す。マイクロキャピラリ溝の幅は約 $30\mu\text{m}$ 、深さは約 $30\mu\text{m}$ である。まず、マイクロキャピラリ流路内を $\text{pH} = 7.4$ 、イオン強度 0.16 の磷酸緩衝液で満たし、キャピラリ端Aに牛血清を注入後、速やかにA - C間に種の高電界を印加し、血清をキャピラリ流路中に導入した。血清のマイクロキャピラリ流路内の流れに及ぼす凝固や付着の影響は、導入された血清濃度をキャピラリ端Aより 4mm 離れた点Eにおいて、血清に対して吸収が強い 220nm の紫外光を絞って照射し、その吸収により血清が点Eに到達したかどうかを判定した。測定はMPCポリマー被覆なし、 $0.05\text{wt}\%$ 濃度コート、 $0.3\text{wt}\%$ 濃度コートのそれぞれについて行った。MPCポリマーコートの場合は、石英表面と比べ、MPCポリマー表面には負荷電を多く生じないので、電気浸透流が抑えられ、被覆なしが最も速く測定点に達すると予想されるが、測定の結果、コートなしが最も遅かった。 $0.05\text{wt}\%$ と $0.3\text{wt}\%$ の到着時間は大差ない。しかし、 $0.3\text{wt}\%$ では到達後、濃度が飽和するのに対し、 $0.05\text{wt}\%$ と被覆なしでは明らかに減少する。これらより、被覆なし及び $0.05\text{wt}\%$ では、MPCコーティングが不十分で、血清中のタンパク質が測定点に達する前に内壁に付着して失われてしまったと考えられる。すなわち、 $0.3\text{wt}\%$ 濃度のMPCポリマーを石英のマイクロキャピラリ流路内壁表面にコートすることによる、マイクロキャピラリ中での血清たんぱく質測定における凝固ならびに付着の抑制効果が示された。

【0030】

次に、分析手段として血清濃度をケミカルセンサで測定する際、特にその測定にISFET (ion sensitive field effect transistor)を用いる場合の問題点と実施した対策例について述べる。ISFETはMOS (metal-oxide-semiconductor)構造を有する。そこで、図11のグラフ内に図示したようにマイクロキャピラリ流路端Aより血清を導入し、A - C間に高電圧を印加し、A - C間を移動する血清中のイオン濃度を例えば点Eにおいて測定するために、ISFETの測定領域面をA - C間に置くと、高電圧が直接MOS構造に印加され、たとえFETを浮遊状態にしても窒化シリコンと酸化シリコン膜の積層からなるISFETの絶縁膜が絶縁破壊する。この対策として、マイクロキャピラリ流路の下流側に高電圧を印加する電気浸透流ポンプを設け、このポンプの吸引作用により、ポンプより上流に位置するマイクロキャピラリ流路に血清などを導き、このマイクロキャピラリ流路のところにISFETのようなケミカルセンサを設けた。図12は、(a)のようにマイクロキャピラリ流路の下流に 11cm の長さのポンプ領域を設けた場合と、(b)のように 0.8cm の極短いポンプ領域を設けた場合について、電気浸透流の作用による血清の移動状況を比較したものである。マイクロキャピラリ流路の幅は約 $30\mu\text{m}$ 、深さは約 $30\mu\text{m}$ である。まず、PBSで全マイクロキャピラリ流路を満たした後、いずれのマイクロキャピラリにおいても、B - C間に 2kV の電圧を印加した。その後、入り口Aから牛血清を注入し、点Eで 220nm の紫外光を絞って照射したときの吸光度の時間変化を示す。その結果、電圧を同じとしたとき、(a)のマイクロキャピラリ形状の方が(b)のものよりも速く血清が入り口Aより 4mm の位置に到達し、B - C間のマイクロキャピラリ流路長を長くすることにより高いポンプ能力が得られることから、ISFETなどのケミカルセンサの下流側に血清などの移動手段を設けた場合にも、ケミカルセンサに血清を導けることがわかり、ISFETの絶縁破壊を防止できることが示された。

【0031】

一方、ケミカルセンサの下流側に設けた移動手段により、血清をケミカルセンサ近傍のマイクロキャピラリ流路内に引き込み、移動手段の電圧を切ったとする。この際、ケミカルセンサで測定をしている間にPBSが拡散現象で逆流してくると測定が出来なくなる。そこで、この逆流が生じるまでの時間を調べた。図13のグラフ中に図示したマイクロキャピラリ流路は、本測定に用いたものであるが、寸法は図12(a)と同様である。測定では、まず全マイクロキャピラリ流路をPBSで満たした後、B - C間に高電圧を印加し、入り口Aから牛血清を注入し、その後高電圧を切り、入り口Aから 2mm と 4mm の地点における 200nm の紫外光の吸収を調べた。縦軸の吸収度が低下し始める時点において

PBSがケミカルセンサの下流側から戻り始めたことを示す。ケミカルセンサを用いた測定に要する時間に応じて、B - C間の引き込み距離をより長くすることにより、逆流開始に至る時間を延長できることは容易に推測される。

【0032】

以下、本装置を用いた血液分析とその結果を説明する。図14は、本装置の分析手段近傍の構成を示す。1401、1402はISFETセンサであり、1403と1404はグルコースセンサとAg / AgCl電極であり、1405は移動手段である電気浸透流ポンプを示す。ISFETセンサの測定面積は $15\mu\text{m} \times 150\mu\text{m}$ であり、 $30\mu\text{m}$ 幅のマイクロキャピラリの流路に沿って、その下に配置し、白金直径 $20\mu\text{m}$ の白金線グルコースセンサはマイクロキャピラリ流路の側壁に垂直に挿入した。

【0033】

図15に、牛血清中に濃度の異なるグルコースを混入させ、その濃度変化に対するセンサ電流を示す。ここで、グルコースセンサとしては、直径 $20\mu\text{m}$ のPt線上に、酢酸セルロース、グルコース酸化酵素、フェロセンカルボキシアリデヒドを順にコーティングしたものを用い、これらの表面はMPCポリマーでコーティングした。図15より、グルコース濃度が0の時に流れている電流は暗電流であるが、グルコース濃度の変化に対してほぼ線形に応答していることが示される。

【0034】

図16は、ISFETセンサを用いた牛血清中のpH、 Na^+ 、 K^+ 各濃度の測定結果を示す。pHの測定には Si_3N_4 、 Na^+ にはPVC、THF、BIS(12-crown-4)、NPOE、K - TC PGの混合膜、 K^+ の測定にはPVC、THF、BIS(Benzo-15-crown-5)、NPOE、K - TC PGの混合膜を感応膜とした。いずれの場合でも、広範囲に線形的に応答していることが分かる。

【0035】

【第2実施例】

図17には図2で説明した本発明のヘルスケアデバイスの変型例を示す。本装置は図2の例と同様に1701の石英基板上に、まず1702の血液採取のための針を介して血液を1703のマイクロキャピラリ流路へ導入する。この際キャピラリ中で血液が凝固しないように液貯め1704に貯めておいた抗凝固剤（クエン酸ナトリウム、EDTA、ヘパリン）を1705のゴム栓を押すことで適宜キャピラリ流路内に供給できるようになっている。そして1706の分離手段において図10に示した遠心分離器を用い、血清と血球を分離する。そしてこの血清を1707の分析手段へと1708と1709の電極間に電場を印加することで生じる電気浸透流により導き、血清中のpH、ナトリウムイオン濃度、カリウムイオン濃度、グルコース濃度等を検出する。本実施例においてはこの分析手段を複数設置しており、これらの濃度を一度に分析することが可能である。実際に血清中のこれらの濃度を調べたところ、第1実施例の場合と同様の精度で濃度を測定することができた。

【0036】

【第3実施例】

図18には図2で説明した本発明のヘルスケアデバイスの変型例を示す。本装置は図2の例と同様に1801の石英基板上に、まず1802の血液採取のための針を介して血液を1803のマイクロキャピラリ流路へ導入する。この際キャピラリ中で血液が凝固しないように1804に貯めておいた抗凝固剤（クエン酸ナトリウム、EDTA、ヘパリン）を1805のゴム栓を押すことで適宜キャピラリ流路内に供給してもよい。そして1806の濾過手段において血漿と血球を分離する。そしてこの血漿を1807の分析手段へと1808と1809の電極間に電場を印加することで生じる電気浸透流により導き、血漿中のpH、ナトリウムイオン濃度、カリウムイオン濃度、グルコース濃度等を検出する。本実施例においてはこの分析手段を複数設置しており、これらの濃度を一度に分析することが可能である。実際に1806で濾過した血漿中のこれらの濃度を調べたところ、第一の実施例の場合と同様の精度で濃度を測定することができた。

【 0 0 3 7 】**【 発明の効果 】**

以上に述べたとおり、本発明による血液分析装置では、血液分析に必要となる採血、濾過、分離、分析などの機能をコンパクトに一体化することを実現した。家庭で手軽に取り扱える本装置により、日々血液検査を実施し、健康管理、疾病の早期発見に大きく貢献する。

【 図面の簡単な説明 】

【 図 1 】 キャピラリ電気泳動法を説明する図

【 図 2 】 本発明による血液分析装置の概略図

【 図 3 】 針の製造法を説明する図（その 1）

【 図 4 】 針の製造法を説明する図（その 2）

【 図 5 】 マイクロキャピラリ流路の製造法を説明する図

【 図 6 】 電気柄浸透流によりマイクロキャピラリ流路中のイオンの移動を示す図

【 図 7 】 ポンプ作用の吸引力の測定方法を示す図

【 図 8 】 ろ過手段の構成を示す図

【 図 9 】 分離手段の構成を示す図

【 図 10 】 遠心分離器を示す図

【 図 11 】 マイクロキャピラリ流路内壁への M P C ポリマーコート効果を示す図

【 図 12 】 ポンプ作用に及ぼすマイクロキャピラリ流路長の影響を示す図

【 図 13 】 マイクロキャピラリ流路中での緩衝液の逆流を示す図

【 図 14 】 ケミカルセンサの構成を示す図

【 図 15 】 グルコース密度の測定結果を示す図

【 図 16 】 pH , Na^+ , K^+ 各濃度の測定結果を示す図

【 図 17 】 第 2 実施例を示す図

【 図 18 】 第 3 実施例を示す図

【 符号の説明 】

- 101 石英
- 102 電極
- 103 電極
- 104 電気二重層
- 105 カチオン
- 106 電気浸透流
- 107 中性イオン
- 108 アニオン
- 109 電気泳動流
- 201 基板
- 202 採取手段
- 203 針
- 204 電極
- 205 電極
- 206 濾過手段
- 207 分離機構
- 208 分析手段
- 209 流路手段（マイクロキャピラリ流路）
- 210 移動手段
- 211 出力手段
- 212 制御手段
- 301 石英棒
- 302 バーナー
- 303 石英棒

304 ヒーター
305 石英管
306 気体 ($\text{POCl}_3 + \text{O}_2$)
307 排気
308 リンガラス
309 支持台
401 ステンレスターゲット
402 永久磁石
403 リンガラス
404 電源
405 プラズマ
406 ステンレス堆積膜
407 水冷パイプ
408 銅板
501 石英板 A
502 クロム膜
503 ホトレジスト
504 石英板 B
505 電極
701 マイクロキャピラリ 流路
702 電極 A
703 電極 B
704 入口 C
705 空気
706 ピストン
707 圧力計
708 平衡圧力
709 吐出圧力
710 高電圧吐出領域
711 無電界領域
801 採取手段ならびに濾過手段
802 注入口
803 針
804 濾過手段
805 $10\ \mu\text{m}$ 幅溝
806 $8\ \mu\text{m}$ 幅溝
807 $6\ \mu\text{m}$ 幅溝
808 $4\ \mu\text{m}$ 幅溝
809 $2\ \mu\text{m}$ 幅溝
810 $1\ \mu\text{m}$ 幅溝
811 電極 A
812 電極 B
813 血漿の流れ
901 マイクロキャピラリ 流路
902 注入口
903 電気浸透ポンプ
904 電極 A
905 電極 B
906 石英基板
1001 遠心分離器

1002 キャピラリ 流路を含む石英板
1401 ISFETa
1402 ISFETb
1403 参照、白金電極 a
1404 参照、白金電極 b
1405 電極 a (+)
1406 電極 b (+)
1407 液貯め
1408 液貯め
1701 石英基板
1702 針
1703 マイクロキャピラリ 流路
1704 液貯め
1705 ゴム栓
1706 分離手段
1707 分析手段
1708 電極
1709 電極
1801 石英基板
1802 針
1803 マイクロキャピラリ 流路
1804 液貯め
1805 ゴム栓
1806 濾過手段
1807 分析手段
1808 電極
1809 電極