

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

G01N 21/31 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

G12Q 1/00 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510106813.X

[45] 授权公告日 2009 年 12 月 16 日

[11] 授权公告号 CN 100570332C

[22] 申请日 2005.9.22

[21] 申请号 200510106813.X

[30] 优先权

[32] 2004.9.22 [33] JP [31] 2004-274673

[73] 专利权人 优志旺电机株式会社

地址 日本国东京都

[72] 发明人 松本茂树 野泽繁典

[56] 参考文献

CN1864058A 2003.10.3

WO03/078979A1 2003.9.25

JP2004-109099A 2004.4.8

US5798215A 1998.8.25

JP2004-77305A 2004.3.11

审查员 朱艳艳

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责
任公司

代理人 樊卫民 郭国清

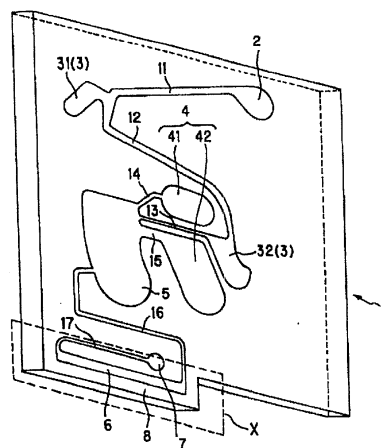
权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图 5 页

[54] 发明名称

微片

[57] 摘要

本发明目的在于提供一种微片，没有对检测部的光入射面等带来不良影响的担心，从而可以对吸光度进行正确的测定。一种微片，由板构件构成，包括导入检体的检体导入部、与该检体反应的试剂、混合该试剂和所述检体而生成测定液的混合部、和用于填充该测定液的检测部，其特征在于，所述检测部在长度方向的至少一方的端部形成具有光入射面或者光出射面的凹处。



1. 一种微片，由板构件构成，包括导入检体的检体导入部、与该检体反应的试剂、混合该试剂和所述检体而生成测定液的混合部、和检测部，该检测部具有用于填充该测定液的测定液填充部，其特征在于，

所述检测部由板构件的凸部分形成，检测部的长边方向轴配置成与光轴一致，

在所述检测部的长边方向上的两端面上分别配置具有用于将光导入所述测定液填充部的光入射面的凹处、和具有用于将透过所述测定液填充部的光射出的光出射面的凹处。

微片

技术领域

本发明涉及一种为了通过吸光光度法进行血液分析而使用的微片。特别是涉及为了测定诊断人体的肝功能所需要的 GTP（谷氨酰转肽酶）、 γ -GTP 等的酶量而使用的微片。

背景技术

近年来，应用微电机技术，以比以前的装置细微化地进行化学分析等的 μ -TAS（ μ -微型全分析系统）受到关注。在将 μ -TAS 用于医疗领域的情况下，有如下的优点：（1）例如由于使血液的检体的量变少，可减轻患者的负担；（2）减少试剂量，可降低检查的成本；（3）因为装置为小型，可简单地进行检查。利用这样的优点，现在正在对使用微片的血液分析装置成为家庭用规格，在家内由患者自己的手进行血液分析的课题进行研究。

根据使用了微片的吸光光度法的分析，通过进行如下的一系列操作：（1）将利用无痛针进行采血的血液导入晶片内；（2）对晶片内的血液施以离心分离处理而分离为血浆与血球；（3）将血浆和试剂通过混合器均匀混合而制成测定液；（4）由吸引泵将测定液导入检测部；（5）对已导入检测部的测定液照射来自光源的光，测定特定波长的光的衰减量，可测定包含于血浆中的所希望的酶的浓度。这种在诊断肝功能上所需要的手法，例如对 GTP 或 γ -GTP 等的包含于血液中的酶浓度进行分析的手法，例如公开于特开 2004-109099 号公报。

在上述公报中，公开有如下的手法：将由发光二极管等的光源放射且从晶片的上面入射，再例如填充有血浆的分析检体的晶片内的微小流路发生全反射，而从晶片上面出来的光，通过硅光电二极管等的

检测器而检测。

但是，因为由发光二极管放射的光为发散光，使入射于晶片内的光的全部在微小流路内发生全反射非常困难，因而有不能高精度地测定吸光度的问题。也即，如上述公报，在微片的上面配置光源和检测器的两方而测定吸光度，因为成为产生测定误差的原因，所以不理想。

另一方面，例如特开 2004-77305 号公报中记载有使来自光源的光从微片一方的侧面入射，通过填充于微片内的微小流路的检体而吸收光，检测由另一方的侧面出来的透射光的方法，这种方法如使用血液作为检体，则可高精度地测定吸光度。

专利文献 1 特开 2004-109099 号

专利文献 2 特开 2004-77305 号

微片虽为小型，但是存在以往的问题。也即，因为吸光度的测定需要适当的吸光长，为了将检体及试剂的量抑制为微量，只有使检测部的光入射面及光出射面的面积变得微小。

这样，若检测部为非常细长的形状，则光入射面及光出射面的状态带给在检测部的透射率的影响变大。微片通常由高分子材料构成，所以在设置于吸光度测定装置时，与周边设备接触时容易产生伤痕，另外，可能因使用者赤手处理而在光入射面等附着如皮脂的杂质。在这样的情况下，由于对光入射面的凹凸状态带来不良影响，因而不能正确的测定吸光度，从而产生不能正确地对包含在测定检体中的酶成分进行定量的问题。

发明内容

如上所述，本发明目的在于提供一种微片，对检测部的光入射面等带来不良影响的担心少，因而能正确地测定吸光度。

本发明是一种光谱分析微片（microchip），用于吸光度测定装置，具有：检体蓄积部，保持检体；试剂蓄积部，保持与发生反应的试剂；混合部，将试剂与检体混合，生成测定液；以及检测部，其具有保持测定液的测定液填充部，其特征在于，所述检测部具有形成在一方的端面上、用于使光入射到测定液填充部的光入射面；以及形成在另一方的端面上、从测定液填充部出射光的光出射面，光入射面配置在检测部的凹处，光出射面配置在检测部的另一个凹处，检测部的长边方向轴与在吸光测定时通过测定液填充部的光的光轴实质上平行，两处凹处在光轴方向相对。

根据本发明的微片，在填充了测定液的检测部的长边方向的至少一方的端部，由于形成具有光入射面或光出射面的凹处，因为能够可靠地防止在检测部的光入射端面带有伤痕或者附着杂质的不适合情况，因而例如血液等测定检体中包含的所希望的酶成分的定量值不会产生误差，可期待得到正确的分析结果。

附图说明

图 1 是用于说明本发明的微片的概略图。

图 2 为图 1 的 X 部分的扩大图。

图 3 是用于说明将全长较短的检测部设于板构件的中央附近的微片的概略图。

图 4 是用于说明本发明的微片用的吸光度测定单元的概略图。

图 5 是用于说明在测定液中的化学反应的图。

具体实施方式

图 1 是用于说明本发明的微片的构造的概略图。

微片 1 例如将 2 片的板构件贴合而构成。在贴合面的一面预先形成槽，通过贴合使槽形成空洞。具体而言，在各个的板构件之间，具有检体蓄积部 3、试剂蓄积部 4、混合部 5、测定液填充部 6。另外微片 1 在一侧面具有检体导入部 2 及吸引机构连接部 7，形成凸状的检测部 8。

检体导入部 2 例如是为了导入如血液的检体而设置于板构件的一

侧面上的孔。

检体蓄积部 3 由第 1 检体蓄积部 31 及第 2 检体蓄积部 32 构成。
第 1 检体蓄积部 31 通过流路 11 而通往检体导入部 2，而且通过流路 12 而通往第 2 检体蓄积部 32。

试剂蓄积部 4 由用于填充基质液的第 1 试剂蓄积部 41 与用于填充缓冲液的第 2 试剂蓄积部 42 构成。

混合部 5 用于混合基质液、缓冲液及检体而制作测定液，通过流路 13、14、15 分别通往第 2 检体蓄积部 32、第 1 试剂蓄积部 41 及第 2 试剂蓄积部 42。

填充于混合部 5 的测定液在流路 16 内充分搅拌而向测定液填充部 6 填充。

吸引机构连接部 7 用于通过吸引测定液而导向测定液填充部 6，并连接未图示的吸引泵，通过排出流路 17 而连接于测定液填充部 6。

检测部 8 具有用于在形成于板构件上的凸部分的内部填充测定液的测定液填充部 6，用于使例如来自放电灯等光源的光透射，通过吸光光度法而进行包含于测定液中的所希望的成分的浓度测定。

图 2 为表示于图 1 的 X 部分的放大图。

检测部 8 由形成于板构件上的凸部分构成，具有方形体形状，其长边方向轴与光轴大致一致。然后，在一方的端面 81 形成凹处 82，在此凹处 82 形成光入射面 83。在另一方的端面 84 形成凹处 85，在此凹处 85 形成光出射面 86。凹处 82 与凹处 85 在光轴方向相对。

以下说明在板构件的凸部分上设置检测部的优点。检测路径的长度（光路径长）因使用的试剂的种类而相异，例如在使用吸收量大的试剂的情况下，需要缩短光路径长。因此，需要根据使用的试剂的种类而选择具有适当长度的检测部的微片，但若为本发明的微片的构造，则可根据试剂的种类而适宜调整检测部的长度。

另一方面，如图 3 所示，将为使用吸收量大的试剂而全长较短的检测部设置于板构件的中央部附近时，产生不能通过使来自后述的光源的光通过板构件而吸收或散射来高精度地测定吸光度的问题。

图 4 是用于说明本发明的微片用的吸光度测定单元的概略图。图 4 (a) 表示将微片 1 插入片架 10 的状态。图 4 (b) 表示图 4 (a) 的 A-A'剖面图。

片架 10 由二个分离的构件构成，在一方的内面形成直线状的槽，通过合上 2 个构件形成毛细管（Capillary）部 11。这样，通过合上 2 个构件，可将毛细管部 11 简便地形成于片架 10 内。毛细管部 11 的开口径比垂直于检测部 8 的光轴的剖面的径窄。例如，毛细管部 11 的开口径为 0.3mm 见方，与检测部 8 的光轴垂直的剖面的径为 0.7mm 见方。需要设置该毛细管部 11，是因为如上所述的本发明的微片 1 具有在形成于板构件的凸部分上设置检测部的特殊构造。

使毛细管部 11 的端部对着光入射面 83 地将微片 1 插入片架 10 中。为了检测透过检测部 8 内的测定液填充部 6 的光，使由硅光电二极管所构成的受光元件 14 对着光出射面 86 而配置。

入射毛细管部 11 的光为由光源 13 放射并由带通滤光片 12 选别的光，通过毛细管部 11 而进入检测部 8，透过检测部 8 内的测定液填充部 6 后，在受光元件 14 进行受光。通过毛细管部 11 而入射检测部 8 的光中平行光成分多，使吸光度的测定精度提高。

光源 13 是在发光管内封入了作为发光物质的氙的氙灯。氙灯具有接近点光源且能高效地取出平行光的放射特性，因而适于作为向所述的微小区域（检测部 8）入射来自光源的光的微片用光源，另外，通过从紫外线区域至可见光区域放射宽频带的光，可以利用与分析检体相对应的波长的光，所以具有不需要对每个分析检体更换光源的优点。而且，因为作为发光物质不使用水银，所以对环境的负荷也小。

在此，对于本发明的微片，说明测定包含于血液中的酶的浓度的程序的一例。以下作为一例，说明 γ -GPT 的浓度测定方法。

[试剂]

基质液：GluCANA(L- γ -谷氨酰基-3-羧基-4-酰替苯胺(L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide))31mmol/L

缓冲液：双甘氨酸(glycylglycine)193mmol/L pH7.9(30°C)

[测定程序]

(1) 将利用尖端非常锐利的无痛针进行采血的血液由检体导入部 2 导入微片 1 的内部。

(2) 使通过对微片 1 施以 6000 转的离心分离处理而分离的血浆充满第 1 检体蓄积部 31。

(3) 通过再次对微片 1 施以 6000 转的离心分离处理而使适量的血浆充满第 2 检体蓄积部 32。

(4) 通过使微片 1 向逆时针旋转方向旋转 90°，使充满第 2 检体蓄积部 32 的血浆、充满第 1 试剂蓄积部 41 的基质液及充满第 2 试剂蓄积部 42 的缓冲液流入混合部 5 而进行混合，得到测定液。在血浆中使上述的基质液及缓冲液作用，如图 5 所示，由于血浆中的 γ -GTP 的作用，基质 L- γ -谷氨酰基-3-羧基-4-酰替苯胺的 γ -谷氨酰基转移至双甘氨酸，在测定液中，在产生 L- γ -谷氨酰基-双甘氨酸(L- γ -glutamyl-glycylglycine)的同时，5-氨基-2-硝基安息香酸游离。

(5) 使测定液填充于测定液填充部 6。填充操作是将吸引泵连接于吸引机构连接部 7，通过使测定液填充部 6 成为负压而进行。

(6) 在检测部 8 使来自光源的光透射，检测上述 5-氨基-2-硝基安息香酸进行吸收的波长 405nm 的吸收量，根据此检测结果，通过吸光光度法求出 5-氨基-2-硝基安息香酸的浓度。然后，通过 5-氨基-2-硝基安息香酸的产生量，求出测定液中的 γ -GTP 的浓度。

根据以上的本发明的微片，由于在检测部 8 形成凹处 82 及凹处 85，可确实防止在光入射面等上产生伤痕或附着杂质的不适合情况发生，所以包含于例如血液等的测定检体中的所希望的酶成分的定量值不会产生误差，可期待得到正确的分析结果。在将微片 1 设置于片架 10 时，并不需要为了不在光出射面等上产生伤痕而过于小心，另外，因为可以赤手处理，所以操作性提高。

与此相对，根据以往的微片的在检测部不具有凹处的构造，由于在光入射面等上产生伤痕或附着杂质，而使定量值产生误差，所以不能得到正确的分析结果。若要避免产生该测定误差，在将微片设于吸光度测定装置时，为了防止例如光入射面等接触片架的周边设备而在光入射面附上伤痕、或在光入射面等附着杂质的情况而需要过于小心，在操作性方面不理想。

以下，说明为了确认本发明的作用效果而进行的实验。

实施例

根据表示于图 1 的构造制作本发明的微片 1。此微片 1 的构成如下所示。

构成微片 1 的板构件由聚乙烯对苯二甲酸酯构成，纵向（包含检测部 8）为 25mm、横向为 25mm、厚度为 2mm。

关于检测部的数值例，参照图 2 详细说明。检测部 8 的纵向（Y 轴）为 2.5mm、横向（X 轴）为 12.0mm、厚度为 2mm。第 1 凹处 82 的深度（X 轴）为 1mm。光入射面 83 的纵向（Z 轴）为 1mm，横向（Y 轴）为 2mm。第 2 凹处 85 的深度（X 轴）为 1mm。光出射面 86 的纵向（Z 轴）为 1mm，横向（Y 轴）为 2mm。

测定检体为 1~2 μ L（微升）的血液。

试剂根据记载于上述的“[试剂]”，以 2.1 μ L 的 GluCANA 作为基质液，以 8.4 μ L 的双甘氨酸作为缓冲液而使用。

[比较例]

除了在检测部的两端面不具有凹处，其他构造与实施例的微片 1 相同而制作微片。

使用已制作的实施例的微片及比较例的微片，构成表示于图 4 的吸光度测定单元，对各个的单元，使由 75W 的氙灯放射的光通过毛细管的一部分而入射检测部，通过受光元件对透过测定液填充部的光进行检测，研究波长为 405nm 的光的透射率。而且此实验是在不进行记载于上述的测定程序中的（1）~（5）的程序的状态下，也就是在测定液填充部为空的状态下进行。在表 1 表示其结果。在表 1 将比较例 1、2、3 及 4 的光透射率作为相对实施例的微片的光透射率 100%的值进行表示。

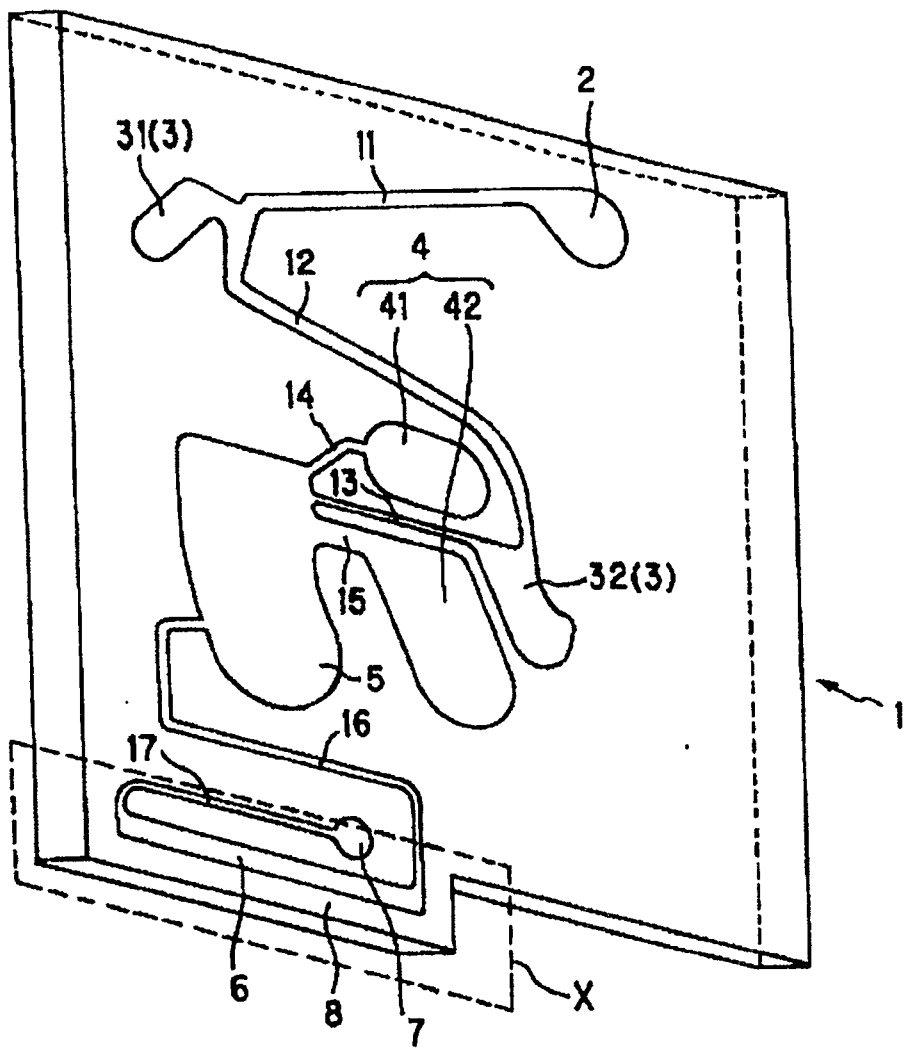
表 1

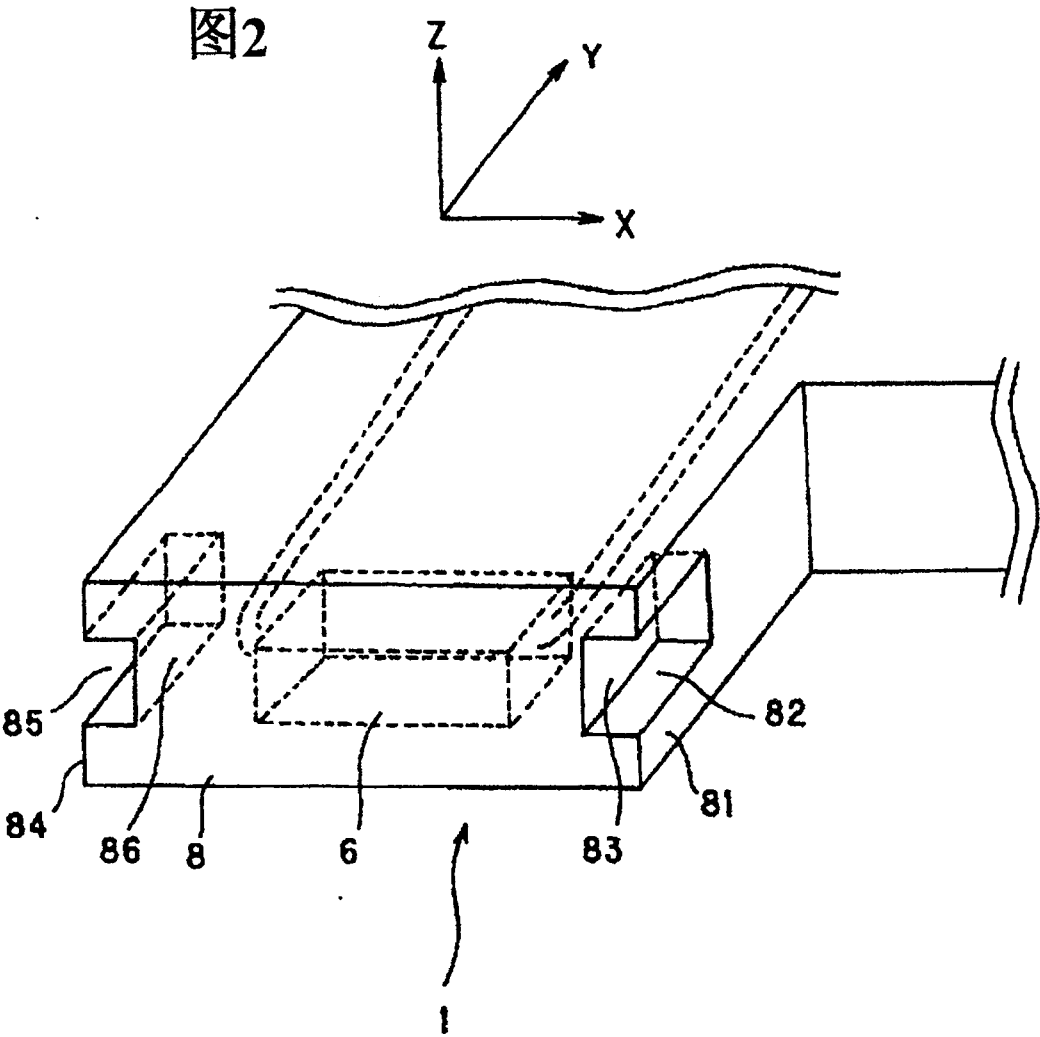
	透射率（%）
实施例	100
比较例 1	95.7
比较例 2	91.4
比较例 3	142.3
比较例 4	121.9

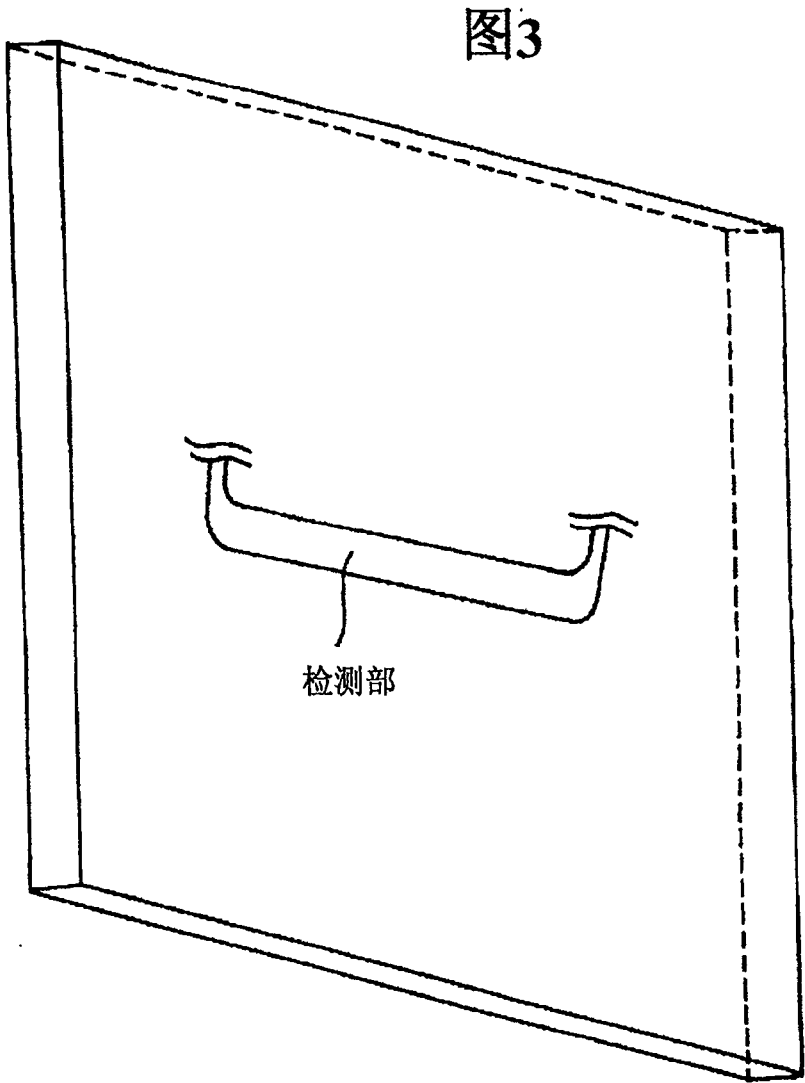
如表 1 所示，比较例 1 及比较例 2 的微片，比起实施例的微片，可知其光透射率下降。认为这是因为比较例 1 及比较例 2 的微片向吸光度测定装置设置时，与片架的周边设备接触，从而相对其光入射面等附上由此产生的伤痕，而产生影响。而且，比较例 3 及比较例 4 的微片，比起实施例的微片，可知其光透射率增加。认为这是因为在比较例 3 及比较例 4 的微片上，皮脂等杂质相对检测部的两端面附着，填埋了存在于检测部的两端面的凹凸（微片制造时稍微形成凹凸）。

由上，根据比较例的微片，由于在检测部的光入射面等产生的伤痕或附着皮脂等杂质，因而波长为 405nm 的光的透射率产生误差，所以不能得到正确的分析结果，可确认如本发明这样在检测部的端部具有凹处的构造的有效性。

图1







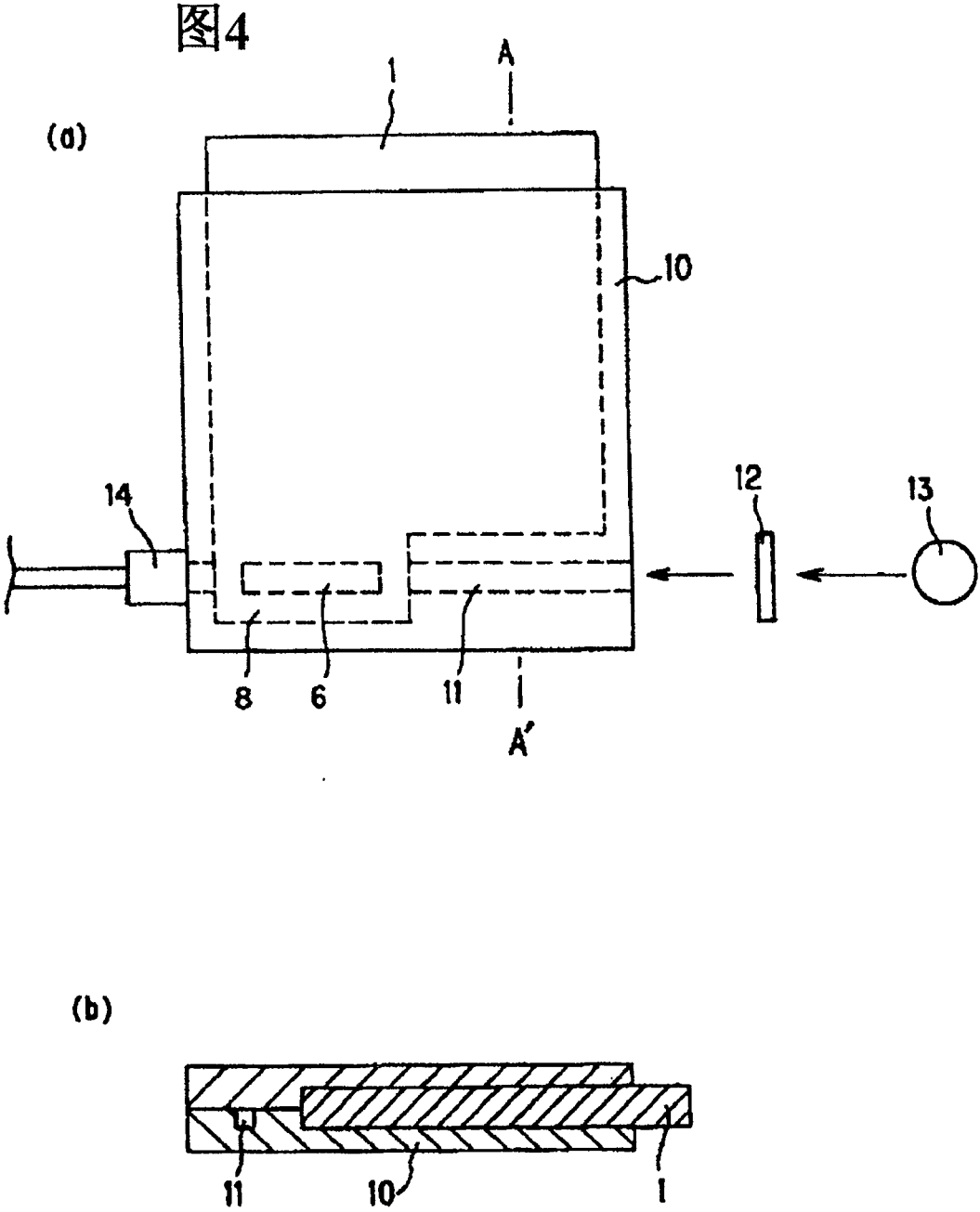


图5

