

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5309024号
(P5309024)

(45) 発行日 平成25年10月9日(2013.10.9)

(24) 登録日 平成25年7月5日(2013.7.5)

(51) Int.Cl.

G01N 27/416 (2006.01)
G01N 15/00 (2006.01)

F 1

G01N 27/46 301M
G01N 15/00 B

請求項の数 22 (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2009-520067 (P2009-520067)
 (86) (22) 出願日 平成19年7月13日 (2007.7.13)
 (65) 公表番号 特表2009-544031 (P2009-544031A)
 (43) 公表日 平成21年12月10日 (2009.12.10)
 (86) 國際出願番号 PCT/IB2007/001990
 (87) 國際公開番号 WO2008/010058
 (87) 國際公開日 平成20年1月24日 (2008.1.24)
 審査請求日 平成22年7月5日 (2010.7.5)
 (31) 優先権主張番号 60/831,240
 (32) 優先日 平成18年7月17日 (2006.7.17)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 505273316
 ユニバーサルバイオセンサーズ ピーティーウェイリミテッド
 UNIVERSAL BIOSENSOR
 S P T Y L I M I T E D
 オーストラリア国 ヴィクトリア 317
 8, ロウビル, コーポレイト アベニュー 1
 (74) 代理人 100072604
 弁理士 有我 軍一郎
 (72) 発明者 ニューマン ピーター マイケル
 オーストラリア国 ヴィクトリア州 3147
 アッシュバートン ローレル ストリート 20

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】磁性粒子移動の電気化学的検出

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法であって、
 電気化学セル内の該流体の電気特性を監視し、該流体は外部から印加される場の影響によつて移動し得る粒子を含み、

外部場により誘発された粒子の動きに起因する電気特性の変化を観察し、
 観察する該電気特性の大きさの変化から該流体の物理的状態の変化または該粒子の移動度を推測し、

該流体は前記電気化学セルの電極において酸化または還元が可能な少なくとも1つの可溶性の電気活性種を含む方法。

10

【請求項 2】

測定する前記電気特性は電流測定による電気化学電流である請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記電気活性種はフェリシアナイト(ferricyanide、ヘキサシアノ鉄(Fe^{III})酸塩)およびフェロシアナイト(ferrocyanide、ヘキサシアノ鉄(Fe^{II})酸塩)である請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

前記粒子は外部磁界の変化に応じて動く磁性体である請求項1に記載の方法。

【請求項 5】

前記流体は全血または血漿であつて、該全血または血漿の物理的状態の変化は凝固による

20

ものである請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記粒子は磁性体であって外部磁界の変化に応じて移動し、前記電気特性は電気化学電流であり、アルゴリズムは磁性粒子の動きに起因する電気化学電流のピークを識別して血液または血漿の凝固時間を判断するように適合されている請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記アルゴリズムは各データ点付近の n パーセンタイルのデータが所定の閾値を下回るときに基づいて前記凝固時間を規定し、該 n パーセンタイルは 50 から 100 パーセンタイルの範囲である請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 n パーセンタイルは約 80 パーセンタイルである請求項 7 に記載の方法。 10

【請求項 9】

前記アルゴリズムは電流のピークの高さを算出し、該ピークの高さが所定の閾値を下回ったときに基づいて前記凝固時間を規定する請求項 6 に記載の方法。

【請求項 10】

前記アルゴリズムは、任意の時点の電流測定値を i_t とし、その 1 つ前の点の電流測定値を i_{t-1} 、その 2 つ前の点の電流測定値を i_{t-2} 、その 1 つ後の点の電流測定値を i_{t+1} 、その 2 つ後の点の電流測定値を i_{t+2} としたとき、 $(i_t - i_{t-2}) + (i_t - i_{t-1}) + (i_t - i_{t+1}) + (i_t - i_{t+2})$ の計算によって電流のピークの識別を簡単にする請求項 6 に記載の方法。 20

【請求項 11】

前記アルゴリズムは磁界を変更後の所定時間内に電流のピークが発生したかを判断し、該ピークが所定の閾値を下回るかに基づいて前記凝固時間を規定する請求項 6 に記載の方法。 。

【請求項 12】

前記電気化学セルは 2 つの電極を備えるストリップを含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記 2 つの電極は互いに平行であって、その間隔は 0.05 から 0.5 ミリメートルである請求項 12 に記載の方法。 30

【請求項 14】

前記 2 つの電極は互いに平行であって、その間隔は 0.075 から 0.15 ミリメートルである請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記 2 つの電極は互いに平行であって、その間隔は 0.09 から 0.13 ミリメートルである請求項 12 に記載の方法。

【請求項 16】

前記 2 つの電極またはそれ以上の電極を有し、該電極は同一平面上にある請求項 12 に記載の方法。

【請求項 17】

前記 2 つの電極は電気絶縁層により分離され、該電気絶縁層は切り込んで形成された検体液を受け入れる空洞部とともに、該空洞部に該検体液を導入する入口と、空気を排出する出口とを有する請求項 12 に記載の方法。 40

【請求項 18】

前記ストリップはサンプルに欠如する凝固因子に代わる 1 つまたはそれ以上の凝固因子をさらに含む請求項 12 に記載の方法。

【請求項 19】

メータを使用して流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する装置であつて、

該装置は 2 つ以上の電極と流体受入領域とメータ接続領域とを備えるストリップを備え

50

該ストリップは該メータ接続領域を介して該メータと接続され、
該流体は外部から印加される場の影響によって移動し得る粒子を含み、
外部場により誘発された粒子の動きに起因する電気特性の変化を観察し、
観察する該電気特性の大きさの変化から該流体の物理的状態の変化または該粒子の移動度を推測し、

該流体は電気化学セルの電極において酸化または還元が可能な少なくとも1つの可溶性の電気活性種を含む装置。

【請求項20】

前記装置は前記ストリップの前記メータ接続領域において前記電極と電気的に接続するための接続端子を備える前記メータと、前記電極と接する前記流体の電気特性を監視するための回路とをさらに備える請求項19に記載の装置。 10

【請求項21】

流体中の粒子の外部場に対する移動度を該流体と接するストリップを使用して電気化学的に監視する装置で、

該ストリップは複数の電極を有し、

該装置は該ストリップのメータ接続領域において該電極と電気的に接続するための接続端子を備えるメータと、

前記電極と接する前記流体の電気特性を監視するための回路とを備え、

該ストリップは該メータ接続領域を介して該メータと接続され、 20

該流体は外部から印加される場の影響によって移動し得る粒子を含み、

外部場により誘発された粒子の動きに起因する電気特性の変化を観察し、

観察する該電気特性の大きさの変化から該流体の物理的状態の変化または該粒子の移動度を推測し、

該流体は電気化学セルの電極において酸化または還元が可能な少なくとも1つの可溶性の電気活性種を含む装置。

【請求項22】

前記装置は前記複数の電極と流体受入領域と前記メータ接続領域とを備えるストリップをさらに備える請求項21に記載の装置。

【発明の詳細な説明】 30

【技術分野】

【0001】

本発明は、一般に電気化学的検出に関する。

【背景技術】

【0002】

溶液中の電極間に電位を印加し溶液中を流れる電流を測定するという電流測定（アンペロメトリ）は電気化学の分野である。印加する電位は一般に、水の電気分解や干渉物の電気化学的検出を防ぐよう十分低く、しかし測定対象から測定可能な信号が得られるよう十分高く保たれる。電位が始めて印加されると、電極の表面近傍にある電気化学伝達物質の濃度が高いため電流は比較的大きいが、その後、電極付近の伝達物質が枯渇し電流が減少する。このとき、バルク溶液から電極への伝達物質の拡散によって消費された伝達物質が補充されるので、電流はゆっくりと減少していく。 40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

磁性粒子の移動度の変化を検出する電気化学的方法について説明する。粒子の移動度は電気化学セル内の電流のピークで監視することができる。粒子の移動度が変化すると（例えば、液体が固化）、ピークの大きさが変化する。本発明の実施例においては、とりわけ、血液の凝固時間の測定に適用している。本発明の実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法であって、電気化学セル中の流体の電気特性の監 50

視を含み、その流体は外部から印加される場の影響で移動し得る粒子を有し、外部場によつて誘発された粒子の動きに起因する電気特性の変化を観察し、観察する電気特性の大きさの変化から流体の物理的状態の変化を推測する方法である。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明の一実施形態は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法であつて、電気化学セル内の該流体の電気特性を監視し、該流体は外部から印加される場の影響によって移動し得る粒子を含み、外部場により誘発された粒子の動きに起因する電気特性の変化を観察し、観察する該電気特性の大きさの変化から該流体の物理的状態の変化または該粒子の移動度を推測し、該流体は前記電気化学セルの電極において酸化または還元が可能な少なくとも1つの可溶性の電気活性種を含む方法である。10

【0006】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、測定する電気特性は電流測定による電気化学電流である方法である。

【0007】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、電気活性種はフェリシアナイト(ferricyanide、ヘキサシアノ鉄(Fe^{III})酸塩)およびフェロシアナイト(ferrocyanide、ヘキサシアノ鉄(Fe^{II})酸塩)である方法である。20

【0008】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、粒子は外部磁界の変化に応じて動く磁性体である方法である。

【0009】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、流体は全血または血漿であつて、全血または血漿の物理的状態の変化は凝固によるものである方法である。

【0010】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、粒子は磁性体であつて外部磁界の変化に応じて移動し、電気特性は電気化学電流であり、アルゴリズムは磁性粒子の動きに起因する電気化学電流のピークを識別し血液または血漿の凝固時間を判断するように適合されている方法である。30

【0011】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、アルゴリズムは各データ点付近のnパーセンタイルのデータが所定の閾値を下回るときに基づいて凝固時間を規定し、nパーセンタイルは50から100パーセンタイルの範囲である方法である。

【0012】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、nパーセンタイルは約80パーセンタイルである方法である。

【0013】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、アルゴリズムは電流のピークの高さを算出し、ピークの高さが所定の閾値を下回ったときに基づいて凝固時間を規定する方法である。40

【0014】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、アルゴリズムは、任意の時点の電流測定値を*i_t*とし、その1つ前の点の電流測定値を*i_{t-1}*、その2つ前の点の電流測定値を*i_{t-2}*、その1つ後の点の電流測定値を*i_{t+1}*、その2つ後の点の電流測定値を*i_{t+2}*としたとき、(*i_t-i_{t-2}*) + (*i_t-i_{t-1}*) + (*i_t-i_{t+2}*) + (*i_t-i_{t+1}*)または(*i_t-i_{t-1}*) + (*i_t-i_{t+1}*)の計算によって電流のピークの認識を簡単にする方法である。50

【 0 0 1 5 】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、アルゴリズムは磁界を変更後の所定時間内に電流のピークが発生したかを判断し、ピークが所定の閾値を下回るかに基づいて凝固時間を規定する方法である。

【 0 0 1 6 】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、電気化学セルは2つの電極を備えるストリップを含む方法である。

【 0 0 1 7 】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、2つの電極は互いに平行であって、その間隔は0.05から0.5ミリメートル、好みしくは0.075から0.15ミリメートル、最も好みしくは0.09から0.13ミリメートルである方法である。 10

【 0 0 1 8 】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、2つの電極またはそれ以上の電極を有し、電極は同一平面上にある方法である。

【 0 0 1 9 】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、2つの電極は電気絶縁層により分離され、電気絶縁層は切り込んで形成された検体液を受け入れる空洞部とともに、空洞部に検体液を導入する入口と、空気を排出する出口とを有する方法である。 20

【 0 0 2 0 】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する方法で、ストリップはサンプルに欠如する凝固因子に代わる1つまたはそれ以上の凝固因子をさらに含む方法である。

【 0 0 2 1 】

本発明の一実施例は、メータを使用して流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する装置であって、装置は2つ以上の電極と流体受入領域とメータ接続領域とを備えるストリップを備え、ストリップは該メータ接続領域を介して該メータと接続され、流体は外部から印加される場の影響によって移動し得る粒子を含み、外部場により誘発された粒子の動きに起因する電気特性の変化を観察し、観察する該電気特性の大きさの変化から該流体の物理的状態の変化または該粒子の移動度を推測し、該流体は電気化学セルの電極において酸化または還元が可能な少なくとも1つの可溶性の電気活性種を含む装置である。 30

【 0 0 2 2 】

本発明の一実施例は、メータを使用して流体中の粒子の外部場に対する移動度を電気化学的に監視する装置で、装置はストリップのメータ接続領域において電極と電気的に接続するための接続端子を備えるメータと、電極と接する流体の電気特性を監視するための回路とをさらに備える装置である。

【 0 0 2 3 】

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を該流体と接するストリップを使用して電気化学的に監視する装置で、ストリップは複数の電極を有し、装置は該ストリップのメータ接続領域において該電極と電気的に接続するための接続端子を備えるメータと、電極と接する前記流体の電気特性を監視するための回路とを備え、ストリップは該メータ接続領域を介して該メータと接続され、流体は外部から印加される場の影響によつて移動し得る粒子を含み、外部場により誘発された粒子の動きに起因する電気特性の変化を観察し、 40

観察する該電気特性の大きさの変化から該流体の物理的状態の変化または該粒子の移動度を推測し、流体は電気化学セルの電極において酸化または還元が可能な少なくとも1つの可溶性の電気活性種を含む装置である。

【 0 0 2 4 】

10

20

30

40

50

本発明の一実施例は、流体中の粒子の外部場に対する移動度を流体と接するストリップを使用して電気化学的に監視する装置で、装置は複数の電極と流体受入領域とメータ接続領域とを備えるストリップをさらに備える装置である。

【0025】

以下に、添付図面を参照し、本発明のさらなる特徴や効果を本発明における種々の実施形態の構成および動作とともに詳細に説明する。

【0026】

以下の添付図面を参照しながら、本発明の詳細を多数の実施例を使って説明する。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】図1は本発明の一実施例に係る2電極電流測定システムおよび処理を示す概略図。

【図2】図2は本発明の一実施例に係る使い捨て型センサの概略を示す斜視図。

【図3】図3は本発明の一実施例に係るメータとストリップの概略を示す斜視図。

【図4】図4は本発明の一実施例に係る常磁性体のビーズ(小粒)を使ったプロトロンビン時間(PT)検査の凝固反応の一例を示す電流対時間のグラフ。

【図5】図5は本発明の一実施例に係る既知の国際標準化比(INR)の血漿を使ったセンサの校正例を示す既知のINR対PT凝固時間の対数グラフ。

【図6】図6は本発明の一実施例に係るピーク強調変換後のPT検査データの例を示す電流対時間のグラフ。

【発明を実施するための形態】

【0028】

図1に示す概略図100について以下に説明する。外部回路116からの電子112および114が、陰極104における電気活性種を還元し、陽極102における電気活性種を酸化することにより電流が流れる。電極102および104間で電気活性種の物質移動(拡散110、移動または対流)が起こり、定常電流が流れるようになる。本発明の一実施例において重要なことは、物質移動の移動度が電流の大きさに影響を及ぼし得ることである。

【0029】

電極102および104を近接させて配置し、その間の溶液に血液サンプルとフェリシアニド(ferricyanide、ヘキサシアノ鉄($\text{Fe}^{I\ I\ I}$)酸塩)やフェロシアニド(ferocyanide、ヘキサシアノ鉄($\text{Fe}^{I\ I}$)酸塩)のような電気化学伝達物質とを含む場合の一実施例を考察する。低い電圧を印加すると、フェリシアニド(含、鉄($\text{Fe}^{I\ I\ I}$))は陰極104から電子を獲得することによって還元され、フェロシアニド(含、鉄($\text{Fe}^{I\ I}$))となる。同様に、フェロシアニド(含、鉄($\text{Fe}^{I\ I}$))は、陽極102で電子を喪失することによって酸化され、フェリシアニド(含、鉄($\text{Fe}^{I\ I\ I}$))となる。これにより回路116に電流が流れ、その電流は、限定されないが、例えば、電流計106を使って測定することができる。電極102および104で発生する反応により、陽極102におけるフェリシアニドと陰極104におけるフェロシアニドとが相対的に蓄積される結果となる。このとき、電気活性種が電極間で拡散するということがなければ電気化学電流は直にゼロ付近に低下してしまうが、拡散により、伝達物質の拡散の度合いによって制限される定常電流が流れるようになる。この実施例において重要なことは、電極間の溶液の混和をもたらすことにより、電気活性種を再分配して一過性の電流の増加を招くということである。

【0030】

図1に示す概略図100は2つの電極102および104を使った2電極電流測定の実施例を示し、電流計106を使って電気化学セル108全体としての電流を測定する。回路116全体の電流は2つの電極のうちの一方の電極の反応で制限される。この反応を制限する電極は作用電極とも呼ばれる。別の実施例では、さらなる電極と、より複雑な電子回路とを導入し、電気化学セルを別の構成とすることもできる。例えば、作用電極の電位

10

20

30

40

50

が厳しく管理された3電極システムを使って電流を測定することができる。3電極システムの実施例(不図示)では、作用電極表面からわずかに離れたところの電位を測定するように配置された参照電極を使うことができる。電子回路が感知する参照電極の電圧が作用電極に対して所要の電圧となるように、対極の電位が常に調節される。作用電極周辺の溶液の攪乱は作用電極と対極間の電流を変化することができるので、外部回路で作用電極と対極間の電流を測定する。あるいは、作用電極周辺の溶液が攪乱されたときに一定電流を維持するために使われる対極の電圧の変化を検出するように回路を設計してもよい。本発明における実施例では3電極システムを使うこともできるが、3電極システムの使用は必ずしも必要ではないので、以下の実施例は2電極システムを使って説明する。

【0031】

10

物質の物理的状態(例えば、固体、液体、気体など)は重要な特性であることは言うまでもない。液体から固体へ、または固体から液体への変化は、凍結、溶解、重合などの重要な過程と合致し得る。このような変化の監視は、サンプルの容量が少ないとには困難な場合があるが、本発明における実施例はマイクロリットル量の監視に理想的に適合している。特に、血漿の凝固時間の測定は、診断における重要な役割を担っている。

【0032】

最も一般的な凝固検査のひとつがプロトロンビン時間(PT)検査である。PT検査は診断とワルファリン(クマリン(coumarin))療法の監視に使われている。ワルファリンは血栓症(血液凝固)のリスクの高い患者に投与される。ワルファリンの投与量は抗凝固作用の過不足が生じないよう、監視、調節が行われる。現行のガイドラインでは、殆どの場合、国際標準化比(INR)2から3が適正とされているが、特異的な適応症ではより高い範囲で使われることもある。INRシステムはワルファリン療法の監視に使われるPT検査の国際標準的な方法である。INRシステムでは検査システムを世界保健機構(WHO)の国際標準に準拠する標準で校正する必要がある。

20

【0033】

典型的な凝固検査は卓上型アナライザを使って行われ、患者の血漿を検査に特化された試薬液と混合し、混合液が固まるまでに掛かる時間を計ることができる。凝固は光学的な濁りの増加、または混合液中の粒子移動の物理的な抵抗の増加により検出することができる。一般に、凝固の監視には視認が可能な微細な磁性粒子が用いられる。周期的に振動する磁界により磁性粒子が移動し得るが、この動きは磁性粒子が固まりの中に閉じ込められると停止する。この粒子の動きを監視する種々の方法が考案されている。従来、ポイントオブケア(point-of-care)型の小型メータを使った光学的な監視方法が用いられてきたが、光学的監視には透明なセンサを必要とし、メータ価格の上昇につながっていた。

30

【0034】

本発明の一実施例では電気化学を用いて粒子の移動を監視する。電気化学を用いることは、その他の手段(例、光学的)を用いて粒子の移動を監視したり、電気化学的拡散係数の変化による粘度の変化を検出したりすることとは異なる。つまり、本発明の実施例では、電気活性種の拡散係数を変更するのではなく、作用電極における反応を制限する伝達物質の凝縮を繰り返し攪乱するということである。

【0035】

40

電流測定法を固まりの検出に用いることができる。固まり検出方法では、粘度の変化を電気活性種の拡散係数の変化で測定する。しかし、フィブリン塊(フィブリン血栓)は比較的緩い構造の液状間質性の領域を形成し、小さな電気活性種はその間を移動でき得る。従って、固まり検出方法を使った場合、電気活性種の拡散係数の比較的小さな変化の検出が困難なことが多い。それに対し、本発明の一実施例では、実質的にフィブリン塊に閉じ込められた粒子も使い得るので、固まりの進行に対してより高感度となる。

【0036】

実施例の一例では液体ゲル点を監視する。液体がゲル化すると、液が粒子の動きに抵抗し、粒子の移動によって起こる電気化学電流のピークが低下することになる。これにより、液体ゲル点の監視を血液、血漿、その他の流体の凝固に適用することができる。食品業

50

界におけるゲル形成酵素の分析においても同様の用途があり得る。

【0037】

別の実施例では、粒子の移動を妨げ得る磁性粒子の表面への連結を検出することができる。例えば、一実施例においては、特定の分子を塗布したビーズ（小粒）は、分子が対応する抗体、抗原、受容体などと結合し移動できなくなる。

【実施例】

【0038】

（種々の用途の実施例）

本発明の一実施例は、少量のサンプルを使って血液の凝固時間を測定する装置の構成に用いることができる。このような装置はワルファリン療法におけるポイントオブケアまたは家庭での監視に好適である。サンプルの凝固点は反応混合液中の粒子の動きの欠如により検出する。粒子は一般に磁性体または常磁性体で、磁界によって動かされる。粒子の動きは電流制限電極（作用電極）の電流制限電気活性種の凝縮を一時的に増加させ、反応混合液中を流れる電気化学電流の上昇を引き起こすことができる。反応混合液が凝固すると、粒子が動けなくなり、一時的な電流の上昇が発生しなくなる。この粒子の移動が止まる転移点を凝固時間として定義することができる。

10

【0039】

特定の実施例においては、例とするセンサは対向する2枚の、限定されないが、例えば、約0.1ミリメートル間隔の電極板を備える。図2は使い捨てセンサ200の一例を示す。非導電分離板205は電極表面204および206を平行に保ち、その間隔を規定することになる。非導電分離板の形状と電極とでサンプルが入る充填路201と検出室202との2つの室（図2参照）を規定することになる。充填路201は、サンプルを凝固の開始と検出に必要な乾燥試薬を含んだ検出室202に運び入れることができる。一実施例においては、特に、凝固試薬（限定されないが、例えば、トロンボプラスチン、蛇毒、接触活性化因子など）、磁性粒子および電気化学的レドックス対（限定されないが、例えば、フェリシアナイト、フェロシアナイトなど）を含むことができる。

20

【0040】

使用に際しては、センサ200であるストリップ（細長片）304を、以下に説明するメータ300に挿入する。挿入によって端子203が電気的に接続されて検出室202がメータハウジング302内に収容され、メータ300が温度と磁界を制御できるようになる（図3参照）。センサにサンプル（例、血液または血漿）を入れると、サンプルは充填路201を介して反応検出室202に送られ、トロンボプラスチンや電気化学伝達物質を溶解することができる。実施例のメータ300では、磁性粒子が検出室内で移動するように、例えば、入力コントロール308、310を使って磁界を可変する。これにより、電気化学電流にピークを発生させ得るが、サンプルが固まって磁性粒子が動けなくなるとピークが減少しどんど現れなくなる。

30

【0041】

メータ300は電流の変化を基に凝固時間を算出し、校正情報を使ってその結果を国際標準化比（INR）312として、限定されないが、例えば、表示306、または他の出力装置に通知することができる。一実施例におけるメータは、エラーチェックを行ったり、結果を、限定されないが、例えば、記憶装置に保存したりしてもよい。メータ300の一例では、限定されないが、例えば、温度、磁界および電圧の制御、ならびに電気化学電流の測定を行うことができる。

40

【0042】

図2は実施例における使い捨てのセンサの概略図である。充填路201にサンプルが入ると毛細管現象により検出室202に移動する。実施例においては、メータは、センサの一端にある端子203および207を介して電気的に接続する。実施例においては、センサの上部電極端子207は上部電極板面204の下側にあり、電極板面は分離板205のスロット部を覆っている。

【0043】

50

図3は実施例におけるメータ300とストリップ304の概略図である。使用にあたり、ストリップ304をメータ300に挿入する。実施例においては、メータ300は、温度、磁界、電圧などを制御し、結果としての電気化学電流を測定することができる。電流の変化から得られたINR値が表示される。実施例のメータ300は、電気化学電流のピークを検出し、凝固点406を規定するのに十分な電流のピークの低下を判断することができる。これには、以下の実施例において説明する方法を含め、多くの方法があり得る。

【0044】

実施例の一例では、メータは少なくとも2つのピークに亘る極大を算出する。この極大が所定の閾値を下回るとき、凝固点406が発生したとすることができる。この方法は、実施例において、限定されないが、例えば、局所80パーセンタイルまたは最大値以外の閾値を使うことで改善できる。実施例におけるこの方法では、アルゴリズムを外れ値に対して強くすることができる。
10

【0045】

このやり方は、常磁性体ビーズを使ったPT検査を行い、磁石を動かして電流の経時変化を見るという図4に示す凝固反応を検査する実施例に使われた。図4は、実施例における凝固反応の一例を示す。センサには乾燥したトロンボプラスチン、常磁性体ビーズ、フェリシアナイト、フェロシアナイトの調合物が含まれている。実施例では、INR既知のクエン酸血漿(INR Calibration plasma、オーストラリア、Life Therapeutics社製)を8.5ミリモル(mM)の塩化カルシウムと混合し、直後にセンサに取り込んだ。6秒から80秒の間、磁石をセンサの上下に移動し常磁性体ビーズを動かした。薄い影の細い線は生の電流値を示し、太線はそのデータの局所80パーセンタイルを示す。この実施例の実験は37に管理されたグローブボックスの中でプロトタイプのセンサとメータを使って行った。
20

【0046】

別の実施例では、図5に示すように、INR既知の血漿を用いたセンサを使ってセンサを校正する。図5は、実施例におけるINR既知の血漿を使ってセンサを校正する例を示す。実施例では、INR値が示されているINR校正用血漿(INR Calibration plasma、オーストラリア、Life Therapeutics社製)を8.5ミリモル(mM)の塩化カルシウムに混ぜたセンサを3個検査した。INRは、 $INR = (PT / MNPT)^{ISI}$ (PT:患者のPT、MNPT:平均正常PT、ISI:国際感受性指標)の式で定義されているので、PTの対数値とINRの対数値とを表示すると直線になる筈である。この直線は、傾きが1/ISIで、Y切片が 10^{MNPT} となる。ISIは、2ではなく、1に近似であることが特に望ましい。この実験は37に管理されたグローブボックスの中でプロトタイプのセンサとメータを使って行った。
30

【0047】

さらに別の実施例では、メータはデータのピークとピーク発生の停止を検出しやすいようにデータを変換する。例えば、データを $(i_t - i_{t-2}) + (i_t - i_{t-1}) + (i_t - i_{t+2}) + (i_t - i_{t+1})$ または $(i_t - i_{t-1}) + (i_t - i_{t+1})$ の関数を使って変換することができる。ここで、 i_t は任意の時間の点の電流測定値であり、 i_{t-1} はその1つ前の点の電流測定値、 i_{t-2} はその2つ前の点の電流測定値、 i_{t+1} はその1つ後の点の電流測定値、 i_{t+2} はその2つ後の点の電流測定値である。この変換によりピークが強調され、基線の傾きが修整される。このやり方による実施例を図6に示す。図6は、実施例における変換されてピークが強調された検査データの一例を示す。図4における $INR = 1.0$ の血漿の生データを $(i_t - i_{t-2}) + (i_t - i_{t-1}) + (i_t - i_{t+2}) + (i_t - i_{t+1})$ を使って表した。ここで、 i_t は任意の時間の点の電流測定値であり、 i_{t-1} はその1つ前の点の電流測定値、 i_{t-2} はその2つ前の点の電流測定値、 i_{t+1} はその1つ後の点の電流測定値、 i_{t+2} はその2つ後の点の電流測定値である。つまり、実施例においては、任意の時点の電流とその1つおよび2つ前と後のそれぞれの時点の電流との差を合計している。
40

【0048】

10

20

30

40

50

凝固時間は、実施例によれば、変換されたデータが所定の閾値を超えた最後の時点と定義することができる。この場合、閾値は1.5が適正であった。実施例では、このアルゴリズムを使うことによりメータが必要としたデータの収集時間は凝固時間から3秒後までであった。ここで、最終的な変換の関数や閾値は電極間の距離（過渡電流の時定数に関連）、データの収集密度、磁石の移動頻度、電気化学伝達物質の濃度などにより調節されることが当業者には明らかであろう。また、実施例におけるこの「ピーク検出アルゴリズム」は、ピークとノイズとをさらに識別しやすくするため、特定の磁石移動の状態に限定することもできる。

【0049】

実施例の一例では、メータは認識している磁界が可変されたときから、電気化学電流が所定の時間内に所定のレベルより高くなるかを判断することができる。このようなピークが発生するときは、粒子がまだ移動可能であり、サンプルがゲル化されていないことになる。

10

【0050】

磁性粒子をストリップ内で移動させるため、メータは磁界を可変する。これには、実施例において、いろいろな方法がある。一実施例では、永久磁石をストリップの一方の側から他方の側に移動させる。別のやり方では、ストリップの両側にそれぞれ永久磁石を取り付け、一方の磁石がストリップに近づくと他方がストリップから遠ざかるようになる。これにより、それぞれの磁石の磁界が交互に支配するようになる。ある状況では、磁石を互いにすらして取り付け、ビーズがストリップに対して多少異なる横方向に引かれるようにしたとき、磁石の動きに対して大きな反応を得ることができる。ビーズを横方向に引くということは、ビーズが広い範囲に広がるのを助長し、信号を増大させることができる。

20

【0051】

より高感度なやり方として、別の実施例において、極性の異なる永久磁石を使う方法がある。つまり、一般にストリップの面と平行な面で、ストリップの一方の側の永久磁石を固定し、メータが他方の永久磁石を動かすようとする。2つの永久磁石はその極性が互いに逆になるように配列する。

【0052】

機械的に動かす永久磁石の代わりとして、一実施例においては、電磁石を使用する。電磁石は物理的に移動するのではなく、電流によりオンオフを切り替えられ、その方向により極性が変えられる。さらに別の選択肢として、永久磁石と組み合わせて使うこともできる。電磁石と永久磁石のどちらが適しているかは、限定されないが、例えば、使用電源、大きさ、発熱などを考慮して決定する。

30

【0053】

(実施例の変更例)

実施例の一例によれば、電極は略並行に対向していないなくともよく、別の実施例では代わりに、例えば、隣接して並んでいる。このような同一平面上の電極は、一般に、ゼロ値と区別できない程度の定常電流になるまでの時間が長く掛かる。これは陽極上の電気活性種が還元された状態から酸化された状態に変換されるためで、陰極も逆に同様である。始めは、それぞれの電極近傍の溶液は、一方の種が枯渇し他方の種が豊富な状態にある。電極からより離れた溶液は影響が少ない。拡散により電極で枯渇した種が補充される。しかし、やがてそれぞれの電極上の電気活性種は実質的に完全に還元または酸化された状態になる。普通は一方の電極上から他方の電極上への横方向への溶液の流れは無視できる程度なので、この濃縮の差が維持され、電流が流れなくなる。この状態になるまでの時間は、とりわけ、印加する電圧に依存し得る。十分に低い電圧が印加されると、定常電流状態になるまでの時間、分析試料は導通状態となる。電極上から電極面への磁性粒子の動きは、枯渇した電気活性種の拡散を促進し電流に一過性のピークを発生させることができる。ピークの休止は粒子の固定化を示すことになる。しかし、一度電流がゼロになると、磁性粒子の動きは検出できなくなる。

40

【0054】

50

あるいはまた、磁性粒子の動きを一方の電極から他方の電極への溶液の混合に用いて電流の一過性の上昇を引き起こすことができる。このやり方では、一度定常電流状態になつても粒子の移動を検出できる。

【0055】

凝固センサ200は、実施例においては、充填室201と検出室202の2つの室を有すると説明した。充填室201は、メータの温度管理された環境の中にサンプルを移送するのに都合のよい手段である。しかし、センサ200は、必要とされる検体液の容量を削減するため、1つの室の構成とすることができます。これは特に、分析試料が温度管理を必要としない場合、または結果を測定時の温度で補正し得る場合に使うとよい。また、温度管理が必要な場合はサンプルをメータ300外において直接1つの反応検出室に加え、その後ストリップ304を反応時の温度が管理されるメータ300内に納めてもよい。10

【0056】

実施例における凝固センサ200では、プロトロンビン時間を測定する装置について説明した。しかし、分析の特異性はストリップ304内に含まれる凝固試薬によって決まる。従って、代わりにその他の凝固分析の試薬を使うこともできる。それらの試薬には、接觸活性化因子、蛇毒またはリン脂質がある。

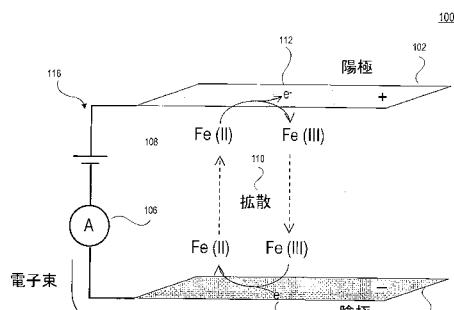
【0057】

正常な凝固因子を凝固因子の欠如したサンプルに加えると、因子の欠如を補正し、正常な凝固時間となる。この手法は、凝固時間の長期化が凝固因子の欠如によるものか、他の原因（例、阻害物質因子、ヘパリン（heparin））によるものかを識別するのに使うことができる。また、ワルファリンは凝固因子II、VII、IX、Xの欠如を誘発させるので、この手法はINR検査における制御反応としての用途がある。従って、ワルファリン療法患者からの血液サンプルの凝固時間が、サンプルだけでは通常より長い時間が掛かる場合、これらの凝固因子を混合すると正常な凝固時間とすることができる。この制御反応により、患者の血液の凝固時間にワルファリンのみが影響しているか、またはそれ以外、例えば、ヘパリン、が影響しているかが明示されることになる。20

【0058】

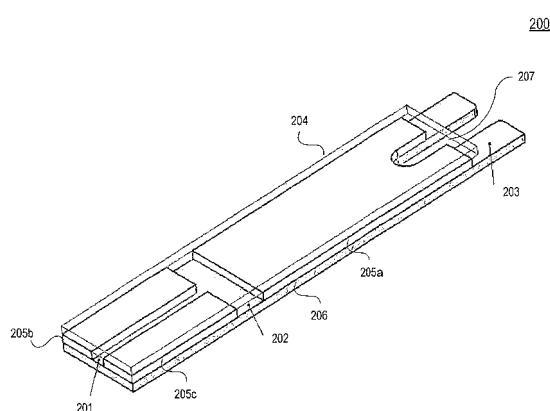
凝固センサは、凝固因子欠如を検出するように、またはINR決定の制御反応を含むように変更することができる。これを行うには、ストリップ304内に必要な凝固因子を含む試薬を凝固試薬とともに乾燥させる。特定の場合では凝固因子と試薬を混合することができるが、通常はセル内のそれぞれ別の表面に配置し、サンプルが加えられたときにのみ混ざるようにすることが好ましい。30

【図1】



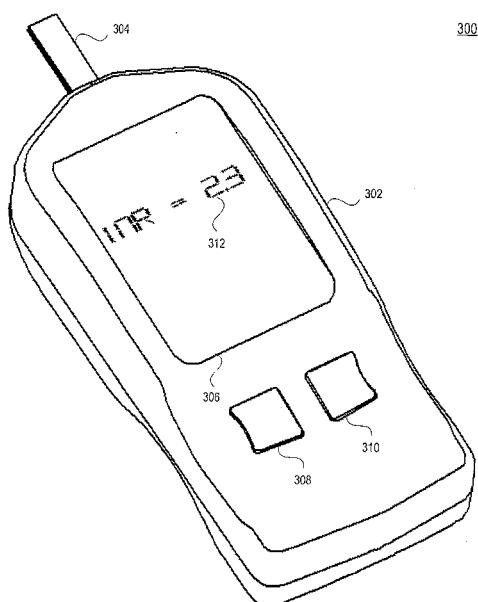
2電極電流測定の一例

【図2】



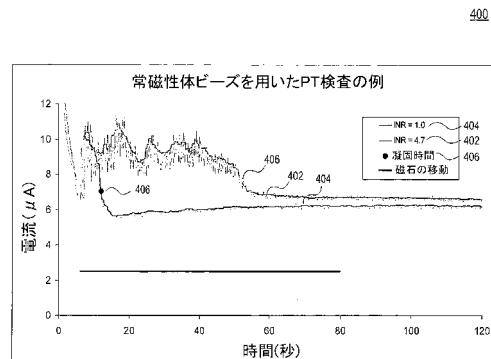
使い捨て型センサーの一例

【図3】



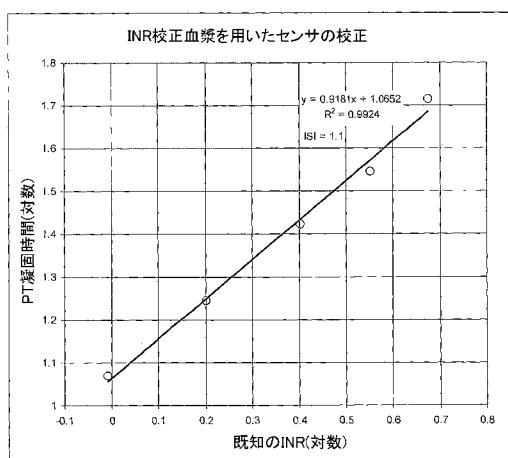
メータとストリップの一例

【図4】



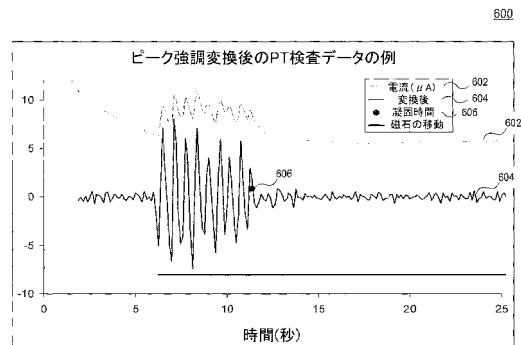
凝固反応のグラフの一例

【図5】



INR既知の血漿を用いたセンサ校正の一例

【図6】



ピーク強調変換の一例

フロントページの続き

(72)発明者 シャトリエル ロナルド クリストファー
オーストラリア国 ヴィクトリア州 3153 ベイズウォーター アップル グローブ 13

審査官 黒田 浩一

(56)参考文献 特開平07-311136(JP,A)
特表平03-504076(JP,A)
国際公開第2005/114140(WO,A1)
米国特許第06060323(US,A)
特開2004-515784(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 27/26 - 27/49
G01N 33/48
G01N 15/00
G01N 15/04