



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113785204 B

(45) 授权公告日 2024.10.15

(21) 申请号 202080032039.5

(22) 申请日 2020.03.09

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113785204 A

(43) 申请公布日 2021.12.10

(30) 优先权数据
2019-088019 2019.05.08 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.10.28

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2020/009996 2020.03.09

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/225971 JA 2020.11.12

(73) 专利权人 株式会社日立高新技术
地址 日本东京

(72) 发明人 野上真 松冈晋弥 海老原大介
桥本雄一郎

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100
专利代理师 陈力奕 宋俊寅

(51) Int.Cl.
G01N 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 106574934 A, 2017.04.19
WO 2015025378 A1, 2015.02.26
CN 107850581 A, 2018.03.27

审查员 杨利

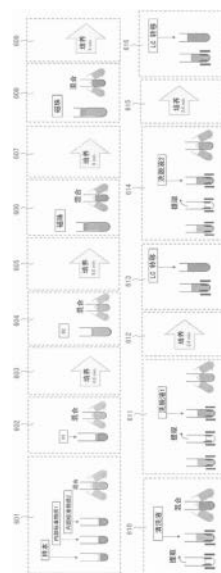
权利要求书1页 说明书12页 附图8页

(54) 发明名称

自动分析装置的预处理方法

(57) 摘要

本发明所实现的自动分析装置的预处理方法能够使用能够结合多个测定对象物质的多个磁珠,通过一系列处理对多个测定对象物质进行预处理。在自动分析装置的预处理方法中,将磁珠(801)添加到含有测定对象物质的样品中,将测定对象物质与磁珠(801)结合,从样品中提取磁珠(801),并通过洗脱液从磁珠(801)中分离出所述测定对象物质。将与多种测定对象物质结合的多个磁珠添加到样品中,并且通过洗脱液将多种测定对象物质与磁珠(801)分离。



1. 一种自动分析装置的预处理方法,将磁珠添加到含有测定对象物质的样品中,使所述测定对象物质与所述磁珠结合,从所述样品中提取出所述磁珠,并通过洗脱液从所述磁珠中分离出所述测定对象物质,

在一个化验方案中,

向所述样品中添加与多种所述测定对象物质结合的一种所述磁珠,

通过所述洗脱液从所述磁珠中分离出多种所述测定对象物质,所述预处理方法的特征在于,

将所述一种所述磁珠收纳在测定试剂容器中,

所述一种所述磁珠具有与第一种测定对象物质结合的第一抗体和与第二种测定对象物质结合的第二抗体,

根据所述样品中含有的多种所述测定对象物质的血中浓度比,来调节收纳在所述测定试剂容器中的所述一种所述磁珠的所述第一抗体的量比和所述第二抗体的量比,以使预处理后的所述洗脱液内包含的多种所述测定对象物质的浓度比均匀化。

2. 如权利要求1所述的自动分析装置的预处理方法,其特征在于,

通过与所述一种所述磁珠相对应的所述洗脱液从所述一种所述磁珠中分离出多种所述测定对象物质。

3. 如权利要求1所述的自动分析装置的预处理方法,其特征在于,

所述一种所述磁珠是在表面上修饰有所述第一抗体和所述第二抗体作为官能团的磁珠。

4. 一种自动分析装置的预处理方法,将磁珠添加到含有测定对象物质的样品中,使所述测定对象物质与所述磁珠结合,从所述样品中提取出所述磁珠,并通过洗脱液从所述磁珠中分离出所述测定对象物质,在一个化验方案中,

向所述样品中添加与多种测定对象物质结合的一种所述磁珠,

通过所述洗脱液从所述一种所述磁珠中分离出多种所述测定对象物质,所述预处理方法的特征在于,

在所述一种所述磁珠上分别修饰有与第一种测定对象物质结合的第一抗体和与第二种测定对象物质结合的第二抗体,

根据所述样品中含有的多种所述测定对象物质的血中浓度比来调节所述第一抗体与所述第二抗体的量比,以使预处理后的所述洗脱液内包含的多种所述测定对象物质的浓度比均匀化。

自动分析装置的预处理方法

技术领域

[0001] 本发明涉及对样品进行分析的自动分析装置的预处理方法。

背景技术

[0002] 自动分析装置通过对检查步骤的一部分进行自动化,对快速高效的临床检查业务做出了贡献。一般自动分析装置具有用于将规定量的样品、试剂等溶液分注到反应容器中的分注机构和用于搅拌反应容器内的样品、试剂等的搅拌机构。其中,免疫系统通过在磁珠表面结合了官能团的载体来保持测定对象物质,使用作为免疫测定法之一的电化学发光免疫测定法(ECLIA),能够进行高精度、高灵敏度和宽范围的检查。

[0003] 液相色谱质量分析装置(HPLC/MS)是液相色谱仪和质谱仪相结合的装置。

[0004] 通过液相色谱仪(HPLC)对利用测定对象物质的化学结构和物理性质所进行的分离与质谱仪(MS)对利用测定对象物质的质量所进行的分离相结合,能对样品中的各组分进行定性/定量。根据这一优点,例如,即使如生物样品中的医药品那样在体内代谢的多数类似物质混合存在的情况下,也可以对测定对象物质进行定性/定量,可期待应用于临床检查领域。

[0005] 在检查中心、大学医院等,使用HPLC/MS,进行免疫抑制剂、抗癌剂、新生儿代谢异常检查以及TDM(Therapeutic Drug Monitoring:热诊断监测)等检查。

[0006] 预处理通过检查试剂盒、用手法来进行,用于HPLC/MS试验。各检查方法的验证(确认)在各检查机构的责任下实施,保证检查结果。

[0007] 由于预处理过程复杂,检查技师的熟练程度会导致检验结果产生偏差。另外,在预处理、HPLC/MS的测定中,有可能出现人为错误导致的检查结果的缺陷。

[0008] 因此,从预处理到HPLC/MS,要求能够全自动处理批量步骤的自动分析装置扩展到临床检查领域。

[0009] 作为这样的自动分析装置之一,在专利文献1中公开了能够全自动地进行从预处理到HPLC/MS的批量步骤的自动分析装置。

[0010] 一般的免疫系统的预处理步骤是在测定对象物质与磁珠的官能团结合的状态下,将液体送到送液流路,在流路内聚磁,通过电化学发光进行测量的方法。作为免疫系统中使用的方法之一的ECLIA是使用与抗体结合的磁珠与抗原反应后,使用钆吡啶络合物标记的抗体与抗原进行2次反应,通过电化学反应测定钆吡啶络合物的发光强度的方法,使用与1个测定对象物质的抗体结合的一种磁珠。

[0011] 另一方面,作为使用多个磁珠的方法,有荧光免疫染色法、DNA微阵列分析、免疫原位杂交等。荧光免疫染色法是使在表面上结合有接合了荧光色素的1次抗体的磁珠与测定对象物质结合,并使标记后的2次抗体与1次抗体结合,从而增强荧光信号的方法。

[0012] DNA微阵列分析是在进行了多个荧光标记后的核酸模板即cDNA、rDNA上结合微珠,使之与目标DNA反应,用扫描仪观察显色情况的方法。

[0013] 免疫原位杂交是在不提取DNA、RNA的情况下,以原位方式结合核酸模板,观察显色

情况的方法。

[0014] 显色方法使用含有Cy3或Cy5那样的有机染色、量子点那样的无机标记那样的染料的溶液。即使在使用一种磁珠的方法中,当多克隆抗体而不是具有高特异性的单克隆抗体结合在磁珠的表面上时,也能通过一种磁珠结合多个测定对象物质。

[0015] 专利文献2中公开了一种在微反应器内包括地实施上述方法的发明。

[0016] 作为HPLC/MS的一般预处理,使用固相提取,在填充剂与测定对象物质结合后,使用多种洗脱液,进行多段提取。例如,在进行封入了C18的填充剂的固相提取的情况下,存在通过使用具有不同有机溶剂浓度的多种洗脱液来分离测定对象物质和杂质的技术。

[0017] 现有技术文献

[0018] 专利文献

[0019] 专利文献1:美国专利第9236236号公报

[0020] 专利文献2:日本专利特开2018-46848号公报

发明内容

[0021] 发明所要解决的技术问题

[0022] 在使用了磁珠的自动分析装置的预处理方法中,希望提高吞吐量、减少样品量、提高检测精度。

[0023] 在专利文献1中公开的自动分析装置的预处理方法中,采用了使用液/液提取或固相提取的预处理方法,但是关于使用了磁珠的预处理方法没有任何记载,并且难以提高使用磁珠的预处理的检测精度等。

[0024] 如磁珠免疫系统那样,在使用了HPLC/MS作为检测器的自动分析装置的预处理步骤中使用磁珠的预处理方法中,将测定对象物质结合到磁珠的官能团上,清洗后在聚磁状态下添加洗脱溶液,将仅洗脱测定对象物质的溶液用于HPLC/MS试验。

[0025] 另外,为了提高MS的定量精度,还需要添加测定对象物质的稳定同位素物质。

[0026] 使用了磁珠的预处理方法由于步骤数比一般的免疫系统多,处理时间比一般的免疫系统长,需要提高吞吐量。

[0027] 在专利文献2中公开的使用与抗体和荧光标记物结合的磁珠的各种方法中,测定荧光标记物的显色。因此,最终不需要从测定对象物质中解离磁珠。

[0028] 另一方面,在能够全自动地进行从本发明作为对象的预处理到HPLC/MS的批量步骤的本自动分析装置中,为了通过HPLC/MS进行分离/检测,需要在预处理步骤中从测定对象物质中解离磁珠的洗脱过程。

[0029] 此外,专利文献2没有公开当使用多个磁珠时,为了提高吞吐量而不降低检测精度所需的洗脱步骤的方法和定时。

[0030] 在固相提取的情况下,不需要使用磁珠作为填充剂,没有搅拌、聚磁的步骤,这与本发明作为对象的预处理步骤不同。

[0031] 本发明的目的是实现一种自动分析装置的预处理方法,该自动分析装置的预处理方法通过将测定对象物质与磁珠结合来进行处理,并且从预处理到液相色谱质量分析装置全自动地进行批量步骤,通过使用能够结合多个测定对象物质的多个磁珠,从而能在一系列处理中对多个测定对象物质进行预处理。

[0032] 用于解决技术问题的技术手段

[0033] 为了达到上述目的,本发明构成如下。

[0034] 一种自动分析装置的预处理方法,将磁珠添加到含有测定对象物质的样品中,使所述测定对象物质与所述磁珠结合,从所述样品中提取出所述磁珠,并通过洗脱液从所述磁珠中分离出所述测定对象物质,在所述样品中添加与多种测定对象物质结合的多个磁珠,通过所述洗脱液从所述磁珠中分离出多种所述测定对象物质。

[0035] 发明效果

[0036] 根据本发明,能实现一种自动分析装置的预处理方法,该自动分析装置的预处理方法将测定对象物质与磁珠结合来进行处理,并且从预处理到液相色谱质量分析装置全自动地进行批量步骤,该自动分析装置的预处理方法使用能够结合多个测定对象物质的多个磁珠,从而能在一系列处理中对多个测定对象物质进行预处理。

附图说明

[0037] 图1是本发明的执行预处理方法的自动分析装置的示意图。

[0038] 图2是HPLC部的简要结构图。

[0039] 图3A是HPLC部的注射阀的动作说明图。

[0040] 图3B是HPLC部的注射阀的动作说明图。

[0041] 图4A是HPLC部的注射阀的动作说明图。

[0042] 图4B是HPLC部的注射阀的动作说明图。

[0043] 图4C是HPLC部的注射阀的动作说明图。

[0044] 图5是关于使用了一种磁珠时的化验方案的说明图。

[0045] 图6是对于实施例1使用两种磁珠时的化验方案的说明图。

[0046] 图7是对于实施例2使用两种磁珠时的化验方案的说明图。

[0047] 图8A是示出了实施例3的具有多个官能团的磁珠的概念的图。

[0048] 图8B是示出了实施例3的具有多个官能团的磁珠的概念的图。

[0049] 图8C是示出了实施例3的具有多个官能团的磁珠的概念的图。

[0050] 图9是示出在实施例3中使用具有多个官能团的磁珠时的预处理前后的测定对象物质的量比的示意图。

具体实施方式

[0051] 以下,参照附图对本发明的实施方式进行说明。在下面说明的实施例中,自动分析装置是主要对象,但是本发明能应用于整个分析装置。本发明也能应用于例如基因分析装置和细菌检查装置。

[0052] [实施例]

[0053] (实施例1)

[0054] 图1是执行本发明的实施例1的预处理方法的自动分析装置的示意图。

[0055] 在图1中,自动分析装置1包括用于进行分析动作的分析部101、用于控制整个装置的动作的控制部102、用于用户向装置输入信息的输入部103、以及用于向用户显示信息的显示部104。另外,输入部103和显示部104可以是同一个东西,作为它们的一个示例,能列举

触摸面板类型的监视器。

[0056] 自动分析装置1的分析部101由预处理部110、HPLC部130和检测部140构成。

[0057] 分析部101具备用于将含有样品的样品容器111输送到样品分取位置的样品容器输送机构112、用于排出样品的样品分注机构113、搭载有反应容器114的反应容器搭载支架115、用于输送反应容器114的反应容器输送机构116、以及能够保持多个反应容器114的反应容器盘117。

[0058] 分析部101包括：试剂盘119，其用于保持含有测定试剂的测定试剂容器118；试剂分注机构120，其将测定试剂排出到反应容器114；搅拌机构121，其非接触地搅拌收纳在反应容器114内的液体；第一聚磁机构122，其对磁珠进行聚磁；第一输送机构123，其在反应容器盘117、搅拌机构121和第一聚磁机构122之间输送反应容器114；以及废液分注机构124，其从第一聚磁机构122分注废液。

[0059] 分析部101还包括对磁珠进行聚磁的第二聚磁机构125、在反应容器盘117与第二聚磁机构125之间输送反应容器114的第二输送机构126、以及将洗脱液导入HPLC部130的洗脱液分注机构127。

[0060] 图2是HPLC部130的简要结构图。

[0061] 在图2中，HPLC部130包括输送样品（完成预处理的洗脱液）的泵201、测量系统压力的压力传感器202、以及六方两位置注射阀203，其具有对样品（完成预处理的洗脱液）进行测量的样本环路。

[0062] HPLC部130还包括柱204、调节柱204的温度的柱烘箱205、保持样品（完成预处理的洗脱液）的样品瓶206、以及用于将样品从样品瓶206引入样本环路的注射器207。

[0063] 虽然图中未示出，但HPLC部130还包括用于在改变样品的组成以使测定对象物质与柱204结合的情况下向样品瓶206中添加稀释液的机构。

[0064] 质量分析装置搭载在图1所示的检测部140上。虽然省略图示，但质谱分析装置具有：电离部，该电离部向含有由HPLC部130分离得到的测定对象物质的溶液施加高温和高电压，从而使其电离；以及三重四极质谱仪，该三重四极质谱仪根据质量数将测定对象物质与杂质部分离。使用三重四极质谱仪，通过SRM(Selected Reaction Monitoring:选择性反应监测)模式进行测定对象成分的测定。

[0065] 以下参照图1说明自动分析装置的分析步骤的概要。

[0066] 自动分析装置1中，在分析之前，通过反应容器输送机构116从反应容器搭载支架115输送反应容器114，并将反应容器114设置在反应容器盘117上。

[0067] 样品分注机构113从由样品容器输送机构112输送的样品容器111吸入样品，并将样品排出到反应容器盘117上的反应容器114。在本实施例1中，样品分注机构113采用不更换针头的分注机构，但是也可以是一次性的分注机构，其在吸入样品之前将分注针头安装在分注针头安装脱离部（未图示出）的前端上。在一次性的分注机构的情况下，当结束从一个样品容器111分注样品时，样品分注机构113将分注针头废弃到分注针头安装脱离部。在反应容器盘117上分注样品的反应容器114通过第一输送机构123输送到搅拌机构121。在搅拌反应容器114内的样品之后，反应容器114通过第一输送机构123返回到反应容器盘117。

[0068] 试剂分注机构120从试剂盘119上的测定试剂容器118吸入测定试剂，并将其排出到反应容器114内。试剂分注机构120的运行部位是能够接近反应容器盘117和搅拌机构121

两者的部位,并且在搅拌机构121开始搅拌收纳在反应容器114中的液体之后,在将反应容器114保持在搅拌机构121上的状态下,开始排出试剂。

[0069] 搅拌机构121例如在试剂分注机构120完成向反应容器114排出规定量的试剂之前,搅拌反应容器114内的液体。由此,与在试剂分注机构120排出大量试剂之后开始搅拌溶液的情况相比,难以产生不溶物。

[0070] 规定量的试剂是指由试剂分注机构120从测定试剂容器118吸入的试剂中的一部分量的试剂。此外,试剂分注机构120可以与搅拌机构121同时运行,或者可以在搅拌机构121停止的期间进行运行。

[0071] 收纳在反应容器114中的样品和试剂的混合液通过搅拌机构121搅拌而产生流动。关于试剂的排出和搅拌,可以在试剂分注机构120将试剂排出到反应容器盘117上的反应容器114之后,通过第一输送机构123将试剂输送到搅拌机构121来进行搅拌。

[0072] 将由试剂分注机构120排出试剂并且由搅拌机构121完成搅拌的反应容器114通过第一输送机构123再次设置在反应容器盘117上。反应容器盘117例如作为培养箱而发挥功能,将保持的反应容器114培养一定时间。

[0073] 磁珠被保存(收纳)在测定试剂容器118中,并通过使用试剂分注机构120被排出到反应容器114。在反应容器114内,样品中的测定对象物质与磁珠结合。此后,反应容器114通过第一输送机构123被输送到第一聚磁机构122,并且使磁珠吸附到反应容器114的侧面。

[0074] 废液分注机构124搭载有两根吸管,并且具有能够吸入/排出废液和排出清洗液的机构。废液分注机构124移动到第一聚磁机构122,吸入溶液并从样品中取出磁珠。然后,废液分注机构124移动到废液排出位置并排出废液。废液分注机构124移动到第一聚磁机构122,并将清洗液排出到反应容器114内。排出清洗液的反应容器114通过第一输送机构123被输送到搅拌机构121来进行搅拌。

[0075] 然后,反应容器114通过第一输送机构123被输送到第一聚磁机构122,通过废液分注机构124吸入/排出清洗液。在实施多次清洗的情况下,进行多次废液的吸入/排出和清洗液的排出。搅拌机构121和第一聚磁机构122设置在各个机构的两个部位,并且能同时并行地对多个反应容器114进行清洗处理。

[0076] 在清洗反应容器114之后,通过第一输送机构123将反应容器114返回到反应容器盘117。清洗后的磁珠被保持在反应容器114中。通过试剂分注机构120,将保存在测定试剂容器118中的洗脱液排出到反应容器114,并将测定对象物质与磁珠分离。通过第一输送机构123将反应容器114输送到搅拌机构121,在进行搅拌后,使反应容器114返回到反应容器盘117,并进行培养。洗脱液与磁珠的种类相对应。

[0077] 培养后的反应容器114通过第二输送机构126被输送到第二聚磁机构125,并且使磁珠吸附到反应容器114的侧面。检测部用分注机构127吸入反应容器114中的洗脱液,并将该洗脱液输送到HPLC部130。

[0078] 将使用注射阀203的动作说明图即图3A、图3B、图4A、图4B和图4C来说明HPLC部130的样品导入方法。

[0079] 如图3A所示,在注射阀203处于位置1(样品瓶206-样本环路-注射器207进行连接的位置)的状态下,沿抽吸方向驱动注射器207,将样品瓶206内的样品吸引到样本环路内。

[0080] 然后,如图3B所示,将注射阀203设为位置2(用于将样本环路与样品瓶206和注射

器207分离的位置),并且能设为将样品吸入HPLC部130内部的方式。

[0081] 此外,可以设为以如图4A、图4B、图4C所示的方式将样品吸入HPLC部130内部的方式。

[0082] 即,如图4A所示,在注射阀203的位置2(样品瓶206-注射器207进行连接的位置),将样品吸入注射器侧。然后,如图4B所示,将注射阀203切换到位置1(样品瓶206-样本环路-注射器207进行连接的位置),并通过注射泵207推入样本环路中。之后,如图4C所示,能采用将注射阀203设为位置2并将样品吸入HPLC部130的内部的方式。

[0083] 将含有由HPLC部130分离的测定对象物质的溶液导入检测部140。检测部140搭载有质谱仪,以电离部对溶液进行电离,导入三重四极质谱仪进行测定。在数据分析中,获取面积值的比率,并使用根据已知浓度的样品制成的校准曲线来计算样品浓度。

[0084] 作为质谱仪也可以使用四极质谱仪、离子阱型质谱仪等其他种类的质谱仪。另外,检测部140可以不是质谱仪,也可以是DAD(Diode Array Detector:二极管阵列检测器)、UV检测器、气相色谱仪、NMR等。

[0085] 本实施例1中,对两种磁珠(在表面上修饰有抗体作为官能团的磁珠(第一磁珠)和在表面上修饰有反相模式官能团(作为一个示例如ODS(十八烷基甲硅烷基))的磁珠(第二磁珠))的情况下的化验方案进行说明。第一磁珠在第二磁珠之前与测定对象物质发生反应。

[0086] ODS是使多孔性硅胶与二甲基十八烷基硅烷那样的硅烷偶联剂发生反应、表面被十八烷基修饰的磁珠。样品中的测定对象物质通过疏水相互作用结合,并用有机溶剂等进行洗脱。

[0087] 首先对一种磁珠(官能团:ODS磁珠)的情况进行说明。

[0088] 图5是使用一种磁珠(官能团:ODS磁珠)时的化验方案的说明图。对将类固醇激素的一种即睾酮作为测定对象物质的情况进行说明。

[0089] 在图5中,整个化验方案需要51个循环,需要30.6分钟。因此,每个循环的时间被设定为36秒。

[0090] 然而,在本实施例1中,将一个循环设定为36秒,但是可以比36秒长或短。下面记载了每个循环的说明。处理步骤501~511是使用一种磁珠时的预处理步骤。然而,也可以将处理步骤501~509定义为使用了一种磁珠时的预处理步骤。

[0091] 在循环1(处理步骤501)中,进行样品和内部标准物质的添加和搅拌。

[0092] 在循环2(处理步骤502)中,进行试剂1的添加和搅拌。

[0093] 在循环3-10(处理步骤503)中,进行培养(4.8分钟)。

[0094] 在循环11(处理步骤504)中,进行试剂2的添加和搅拌。

[0095] 在循环12-26(处理步骤505)中,进行培养(9.0分钟)。

[0096] 在循环27(处理步骤506)中,进行磁珠的添加和搅拌。

[0097] 在循环28-42(处理步骤507)中,进行培养(9.0分钟)。

[0098] 在循环43-45(处理步骤508)中,进行清洗液的添加和搅拌。

[0099] 在循环46(处理步骤509)中,进行洗脱液的添加和搅拌。

[0100] 在循环47-50(处理步骤510)中,进行培养(2.4分钟)。

[0101] 在循环51(处理步骤511)中,将洗脱液转移到HPLC部130。

[0102] 另外,循环1中添加的样品为血清,添加了100 μ L。样品可以不是血清,也可以是血浆、全血、尿液、细胞组织、血细胞等。作为内部标准物质,添加了100 μ L的100pg/mL的睾酮-2,3,4-13C3。然而,内部标准物质可以是睾酮-D3。

[0103] 此外,在循环2中添加的试剂1中添加了10 μ L pH调节用试剂即0.1%的甲酸水溶液。培养在37 $^{\circ}$ C下实施。在循环11中添加的试剂2在本实施例1中不使用,但通常是第二pH调节用试剂、蛋白质变性剂等。

[0104] 在循环27中添加的磁珠在添加之前进行搅拌(磁珠用的搅拌机构未图示出),然后添加了100 μ L。作为在循环43-45中添加的清洗液,添加了100 μ L纯水。作为在循环46中添加的洗脱液,添加了50 μ L 80%的甲醇溶液。

[0105] 图6是实施例1的情况,是使用了两种磁珠(官能团:ODS磁珠和抗体磁珠)时的化验方案的说明图。对测定类固醇激素的一种即睾酮以及氨基糖苷类抗菌剂的一种即庆大霉素这两种测定对象物质的情况进行说明。

[0106] 整个化验方案需要74个循环,需要44.4分钟。因此,每个循环的时间被设定为36秒。在本实施例1中,将一个循环设定为36秒,但是可以比36秒长或短。下面记载了每个循环的说明。处理步骤601~616是使用了两种磁珠时的预处理步骤。然而,也可以将处理步骤601~611、614定义为使用了两种磁珠时的预处理步骤。

[0107] 在循环1-2(处理步骤601)中,进行样品、内部标准物质1、内部标准物质2的添加和搅拌。

[0108] 在循环3(处理步骤602)中,进行试剂1(R1)的添加和搅拌。

[0109] 在循环4-11(处理步骤603)中,进行培养(4.8分钟)。

[0110] 在循环12(处理步骤604)中,进行试剂2(R2)的添加和搅拌。

[0111] 在循环13-27(处理步骤605)中,进行培养(9.0分钟)。

[0112] 在循环28(处理步骤606)中,进行磁珠1的添加和搅拌。

[0113] 在循环29-43(处理步骤607)中,进行培养(9.0分钟)。

[0114] 在循环44(处理步骤608)中,进行磁珠2的添加和搅拌。

[0115] 在循环45-59(处理步骤609)中,进行培养(9.0分钟)。

[0116] 在循环60-62(处理步骤610)中,进行清洗液的添加和搅拌。

[0117] 在循环63(处理步骤611)中,进行洗脱液1的添加和搅拌。

[0118] 在循环64-67(处理步骤612)中,进行培养(2.4分钟)。

[0119] 在循环68(处理步骤613)中,将洗脱液转移到HPLC部130。

[0120] 在循环69(处理步骤614)中,进行洗脱液2的添加和搅拌。

[0121] 在循环70-73(处理步骤615)中,进行培养(2.4分钟)。

[0122] 在循环74(处理步骤616)中,将洗脱液转移到HPLC部130。

[0123] 在循环1-2(处理步骤601)中添加的样品为100 μ L血清,添加100 μ L 1 μ g/mL妥布霉素作为庆大霉素用的内部标准物质,添加100 μ L 100pg/mL睾酮-2,3,4-13C3作为睾酮用的内部标准物质。

[0124] 此外,作为循环3(处理步骤602)中添加的试剂1,添加了10 μ L pH调节用的试剂即0.1%的甲酸水溶液。培养在37 $^{\circ}$ C下实施。在循环12(处理步骤604)中添加的试剂2在本实施例1中不使用,但通常是第二pH调节用试剂、蛋白质变性剂等。

[0125] 在循环28(处理步骤606)中添加的磁珠1是在官能团中具有与氨基糖苷类抗菌剂的结构特异性结合的抗体的磁珠,并且添加了1 μ L。在循环44(处理步骤608)中添加的磁珠2是官能团中具有ODS的磁珠,并且添加了100 μ L。

[0126] 在循环60-62(处理步骤610)中添加的清洗液是纯水,添加了100 μ L。在循环63(处理步骤611)中添加的洗脱液1是作为高pH溶液的0.1%甘氨酸钠溶液(pH10.0),添加了50 μ L。对于官能团中具有抗体的磁珠1的洗脱液,能使用的洗脱液被磁珠2的种类所限定。在本实施例1中,由于使用官能团中具有ODS的磁珠作为磁珠2,所以无法使用有机溶剂含量高的溶剂。除了0.1%甘氨酸钠溶液(pH10.0)之外,还可以使用作为低pH溶液的100mM甘氨酸盐酸溶液(pH3.0)、作为变性剂的8mol/L尿素和6mol/L甘氨酸盐酸盐。

[0127] 在循环69(处理步骤614)中添加的洗脱液2是80%的甲醇溶液,添加了50 μ L。

[0128] 在本实施例1中,使用ODS和抗体两种磁珠作为在磁珠表面修饰的官能团,但是可以使用其它模式,例如HILIC、正相、离子交换、GPC(分子量分级)和SFC(超临界流体色谱)。根据作为目标的两种测定对象物质的物理性质适当地选择磁珠,但优选地选择对每种测定对象物质具有高吸附特异性的磁珠。例如,对于具有高亲水性的测定对象物质,使用在磁珠表面修饰了正相模式官能团的磁珠。对于具有高疏水性的测定对象物质,使用在表面上修饰有反相模式官能团的磁珠。

[0129] 在循环28(处理步骤606)中添加的磁珠1和在循环44(处理步骤608)中添加的磁珠2中,以较快的循环次数添加由具有较高特异性的官能团修饰的磁珠作为磁珠1。特异性更高例如是指表面修饰了抗体的磁珠。通过从具有高特异性的磁珠开始进行添加并从样品中处理测定对象物质,从而再现性的精度得以提高。

[0130] 关于在循环28(处理步骤606)和循环44(处理步骤608)中添加的磁珠的量,虽然在本实施例1中添加了1 μ L的磁珠1和100 μ L的磁珠2,但可以根据样品中包含的测定对象物质的量比适当地进行变更。例如,当第一测定对象物质为几pg/mL数量级、第二测定对象物质为几 μ g/mL数量级时,调节磁珠的添加量和保存在测定试剂容器118中的磁珠的浓度,以使预处理后的溶液中包含的各测定对象物质的浓度均匀化。

[0131] 当预处理后的溶液中含有的测定对象物质的浓度比较高(例如1000倍左右)时,在HPLC部130中分离后的波峰重叠,并且当测定对象物质同时被导入检测部140时,高浓度的测定对象物质在电离部中优先电离。

[0132] 因此,低浓度的测定对象物质的电离效率变低,再现性变差。因此,通过使预处理后的洗脱液内包含的多个测定对象物质的浓度比均匀化,测定精度得以提高。

[0133] 如上所述,根据本发明的实施例1,通过在一个化验方案中使用能够与多种测定对象物质结合的多种磁珠,从而能通过一系列预处理来进行多个测定对象物质的预处理。在这种情况下,虽然每一个化验方案的循环数增加,但由于能处理多种测定对象物质,因此通过每一个循环并行地进行预处理,从而每小时的测试数增加,能提高吞吐量。

[0134] 在本实施例1中,每个循环被设定为36秒(0.6分钟)。因此,假设使用一种磁珠时,1个化验方案为51个循环,因此需要30.6分钟。

[0135] 与此相对,使用了两种磁珠时,由于1个化验方案为74个循环,因此需要44.4分钟。当使用两种磁珠时,由于每一个化验方案能处理两种测定对象物质,因此最初的样品在一个化验方案结束后,与使用一种磁珠的情况相比,吞吐量提高了约2倍。

[0136] 另外,由于在一个化验方案中使用的样品量是相同的量,因此可以处理的每一个测定对象物质的样品量约为二分之一,能节省样品量。

[0137] 即,根据本发明的实施例1,能实现一种自动分析装置的预处理方法,能够使用能够结合多个测定对象物质的多个磁珠通过一系列处理来预处理多个测定对象物质。

[0138] (实施例2)

[0139] 接着,对本发明的实施例2进行说明。实施例2的预处理方法也由图1所示的自动分析装置执行。

[0140] 图7是实施例2的说明图,是使用两种磁珠(官能团:抗体磁珠种类(第一磁珠和第二磁珠的表面均被抗体修饰作为官能团))时的化验方案的说明图。

[0141] 以下说明了将甲状旁腺激素的一种即PTH和脂溶性维生素的一种即25-OH维生素D3作为测定对象的情况。

[0142] PTH是调节血液中钙和磷酸代谢的因子,是有助于甲状腺疾病和癌症的物质。维生素D是调节血液中钙量代谢的因子,是除骨质疏松症以外还对癌症、糖尿病等有贡献的物质。

[0143] 在本实施例2中,使用能够选择性地补充PTH的抗体磁珠和能够选择性地补充维生素D3的抗体磁珠。整个化验方案需要53个循环,需要31.8分钟。因此,每个循环的时间被设定为36秒。在本实施例2中,将一个循环设定为36秒,但是可以比36秒长或短。以下记载了每个循环的说明。处理步骤701~711是实施例2中的使用了两种磁珠时的预处理步骤。然而,也可以将处理步骤701~709定义为使用了实施例2中的两种磁珠时的预处理步骤。

[0144] 在循环1-2(处理步骤701)中,进行样品、内部标准物质1、内部标准物质2的添加和搅拌。

[0145] 在循环3(处理步骤702)中,进行试剂1的添加和搅拌。

[0146] 在循环4-11(处理步骤703)中,进行培养(4.8分钟)。

[0147] 在循环12中(处理步骤704),进行试剂2的添加和搅拌。

[0148] 在循环13-27(处理步骤705)中,进行培养(9.0分钟)。

[0149] 在循环28-29(处理步骤706)中,进行磁珠1、磁珠2的添加和搅拌。

[0150] 在循环30-44(处理步骤707)中,进行培养(9.0分钟)。

[0151] 在循环45-47(处理步骤708)中,进行清洗液的添加和搅拌。

[0152] 在循环48(处理步骤709)中,进行洗脱液1的添加和搅拌。

[0153] 在循环49-52(处理步骤710)中,进行培养(4.8分钟)。

[0154] 在循环53(处理步骤711)中,将洗脱液转移到HPLC部130。

[0155] 在循环1-2(处理步骤701)中添加的样品是血清,添加了100 μ L。使用1 μ g/mL 15N标记物PTH作为PTH用的内部标准物质,使用100pg/mL 25-OH维生素D3-d6作为25-OH维生素D3用的内部标准物质,分别添加100 μ L。

[0156] 此外,作为循环3(处理步骤702)中添加的试剂1,添加了10 μ L的pH调节用的试剂即0.1%的甲酸水溶液。在37 $^{\circ}$ C下实施步骤703、705、707、710中的培养。

[0157] 在循环12(处理步骤704)中添加的试剂2在本实施例2中不使用,但通常是第二pH调节用试剂、蛋白质变性剂等。

[0158] 在循环28(处理步骤706)中添加的磁珠1是在官能团中具有与PTH特异性结合的抗

体的磁珠,并且添加了50 μ L。

[0159] 在循环29中添加的磁珠2是在官能团中具有与25-OH维生素D3特异性结合的抗体的磁珠,并且添加了50 μ L。

[0160] 在循环45-47(处理步骤708)中添加的清洗液是纯水,并且添加了100 μ L。在循环48(处理步骤709)中添加的洗脱液1是作为高pH溶液的0.1%甘氨酸钠溶液(pH10.0),并且添加了50 μ L。

[0161] 由于实施例1的测定对象物质和实施例2的测定对象物质彼此不同,因此磁珠都是两种,但是实施例1和实施例2中的磁珠的种类不同。

[0162] 此外,在实施例1中,在步骤606中添加并搅拌磁珠1后,在处理步骤607中进行培养,接着,在处理步骤608中添加并搅拌磁珠2后,在处理步骤609中进行培养。

[0163] 与此相对,在实施例2中,在处理步骤706中添加并搅拌磁珠1和磁珠2后,在处理步骤707中进行培养。

[0164] 此外,由于在实施例1中使用两种洗脱液,所以在处理步骤611中添加并搅拌洗脱液1,在处理步骤612中进行培养,在处理步骤613中将洗脱液转移到HPLC部130。然后,在处理步骤614中添加并搅拌洗脱液2,在处理步骤615中进行培养,在处理步骤616中将洗脱液转移到HPLC部130。

[0165] 与此相对,由于在实施例2中使用一种洗脱液,所以在处理步骤709中添加并搅拌洗脱液1,在处理步骤710中进行培养,在处理步骤711中将洗脱液转移到HPLC部130。

[0166] 因此,在实施例1中,化验方案总共需要74个循环,需要44.4分钟。

[0167] 与此相对,在实施例2中,化验方案总共需要53个循环,需要31.8分钟。

[0168] 实施例2的处理时间比实施例1的处理时间缩短。

[0169] 即,根据本发明,当测定对象物质不同时,能进一步缩短处理时间。

[0170] (实施例3)

[0171] 接着,对本发明的实施例3进行说明。实施例3的预处理方法也由图1所示的自动分析装置执行。

[0172] 实施例3是使用一种磁珠时的化验方案。虽然实施例3中的磁珠是一种,但是使用在磁珠的表面修饰多个官能团的磁珠。

[0173] 图8A、图8B、图8C是示出了实施例3的具有多个官能团的磁珠的概念的图。

[0174] 如图8A所示,在实施例3中使用的磁珠中,用抗体A802(第一抗体)和抗体B803(第二抗体)修饰磁珠801,测定对象物质A804(第一种测定对象物质)特异性结合到抗体A802,测定对象物质B805(第二种测定对象物质)特异性结合到抗体B803。

[0175] 在本实施例3中,对将作为甲状腺激素的一种的PTH和作为测定对象物质B805脂溶性维生素的一种的25-OH维生素D3设为测定对象物质A804的情况进行说明。

[0176] 在磁珠801的表面上修饰与PTH特异性结合的抗体作为抗体A802和与25-OH维生素D3特异性结合的抗体作为抗体B803。

[0177] 健康男性PTH的血中浓度为10—65pg/mL,25-OH的血中浓度为15—40ng/mL,大约有1000倍的浓度差。

[0178] 因此,如图8B所示,修饰在磁珠801的表面的抗体A802的量比例例如比抗体B803多1000倍左右。

[0179] 不仅是图8B所示出的示例,如图8C所示,通过测定对象物质A804和测定对象物质B805的血中浓度比,可以使修饰在磁珠801的表面上的抗体A802的量比小于抗体B803的量比。

[0180] 此外,如图8A所示,修饰在磁珠801表面上的抗体A802的量比可以与抗体B803的量比相等。

[0181] 图9是示出在使用了实施例3中的具有多个官能团的磁珠801的情况下的预处理前后的测定对象物质的量比的概念图。

[0182] 图9(A)示出了表示测定对象物质与血中(样品)浓度之间的关系图表901,图9B示出了表示预处理后的测定对象物质与洗脱液中的浓度关系的图表902。

[0183] 在图9(A)所示的预处理前的血中(样品中)的浓度中,测定对象物质A的浓度903低于血中(样品中)的测定对象物质B的浓度904。

[0184] 如图9(B)所示,通过使用本实施例3中的磁珠801对测定对象物质A和B进行预处理,能使洗脱液中的测定对象物质A的浓度905与洗脱液中的测定对象物质B的浓度906相等。

[0185] 即,通过调整磁珠801的抗体A和抗体B的量比,能够使预处理后的洗脱液内所含的多个测定对象物质的浓度比均匀化,提高测定精度。

[0186] 如图5所示,实施例3中的化验方案在使用了一种磁珠的情况下执行处理步骤501~511。然而,在实施例3的情况下,使用的一种磁珠801修饰有与多种测定对象物质结合的抗体,因此能处理多种测定对象物质,能提高吞吐量,并且能使多个测定对象物质的浓度比均匀化,因而能提高测定精度。

[0187] 实施例3中的化验方案根据测定对象物质的种类也存在执行图5所示的处理步骤501~511并执行图6所示的处理步骤611~616的情况。

[0188] 根据实施例3,能获得与实施例1和实施例2相同的效果,除此以外,如上所述能提高测定精度。

[0189] 在本实施例3中,对磁珠是一种并且在磁珠的表面上修饰有两种官能团的磁珠801进行了说明,但优选官能团的种类至少为两种以上,例如可以是三种,也可以是四种。

[0190] 根据以上说明的本发明,能实现一种自动分析装置的预处理方法,该自动分析装置的预处理方法将测定对象物质结合到磁珠上来进行处理,全自动地进行从预处理到液相色谱质量分析装置的批量步骤,能够使用能够结合多个测定对象物质的多个磁珠,通过一系列处理对多个测定对象物质进行预处理。

[0191] 如下所述,进一步详细地说明本发明的效果。

[0192] 第一是吞吐量提高。在能够全自动地进行从预处理到HPLC/MS的批量步骤的自动分析装置中,由于在进行HPLC的柱分离和MS的质量分离之后导入检测器,所以即使在预处理后的溶液中混合了多个测定对象物质,也能够进行检测。

[0193] 因此,通过使用多种磁珠和多个洗脱液,能在一系列预处理(化验方案)内对多个测定对象物质进行预处理。

[0194] 通过使用多种磁珠,虽然增加了一个化验方案内的循环数,但由于能处理多个测定对象物质,因此通过并行进行预处理,增加了单位时间的测试数,提高了吞吐量。另外,1个化验方案是从添加样品开始,到预处理结束并在分离/检测步骤中导入预处理后的溶液

为止。

[0195] 一个化验方案由多个循环构成。各循环的时间相同,通过连续进行每个循环的动作,成为1个化验方案。

[0196] 第二,能减少每种可检查的测定对象物质的样品量。当在一个化验方案内使用多个磁珠进行预处理时,由于在一个化验方案中使用的样品量相同,因此能在每个可检查的测定对象物质的样品量较少的情况下进行检查。

[0197] 最后,能调节预处理后的洗脱液中的测定对象物质的浓度,能提高检测精度。根据样品中多个测定对象物质的含有量来调节所添加的磁珠相对于各测定对象物质的量,从而能调节预处理后溶液中包含的测定对象物质的含有量。

[0198] 具体地说,增多所添加的磁珠相对于低浓度测定对象物质的量比,减少所添加的磁珠相对于高浓度测定对象物质的量比。或者,提高保管在测定试剂容器中的磁珠相对于低浓度测定对象物质的浓度,降低保管在测定试剂容器中的磁珠相对于高浓度测定对象物质的浓度。或者,调节各个磁珠的浓度和添加量。

[0199] 由于能使预处理后所含的测定对象物质的量均匀化,并且能减小作为偏差较大的原因的MS的离子源中的电离效率的影响,因而检测精度得到提高。

[0200] 能使用两种以上磁珠。此外,测定对象物质也可以是两种以上。

[0201] 此外,在实施例1和实施例2中,与第一种测定对象物质结合的第一磁珠和与第二种类的测定对象物质结合的第二磁珠也可以构成为根据与样品中包含的多种测定对象物质的血中浓度比来调节收纳在测定试剂容器118中的第一磁珠和第二磁珠的浓度或添加量。

[0202] 标号说明

[0203] 1:自动分析装置、101:分析部、102:控制部、103:输入部、104:显示部、110:预处理部、111:样品容器、112:样品容器输送机构、113:样品分注机构、114:反应容器、115:反应容器搭载支架、116:反应容器输送机构、117:反应容器盘、118:测定试剂容器、119:试剂盘、120:试剂分注机构、121:搅拌机构、122:第1聚磁机构、123:第1输送机构、124:废液分注机构、125:第2聚磁机构、126:第2输送机构、127:洗脱液分注机构、130:HPLC部、140:检测部、201:泵、202:压力传感器、203:注射阀、204:柱、205:柱温箱、206:样品瓶、207:注射器、501~511、601~616、701~711:处理步骤、801:磁珠、802:抗体A、803:抗体B、804:测定对象物质A、805:测定对象物质B、903:血中(样品中)的测定对象物质A的浓度、904:血中(样品中)的测定对象物质B的浓度、905:洗脱液中的测定对象物质A的浓度、906:洗脱液中的测定对象物质B的浓度。

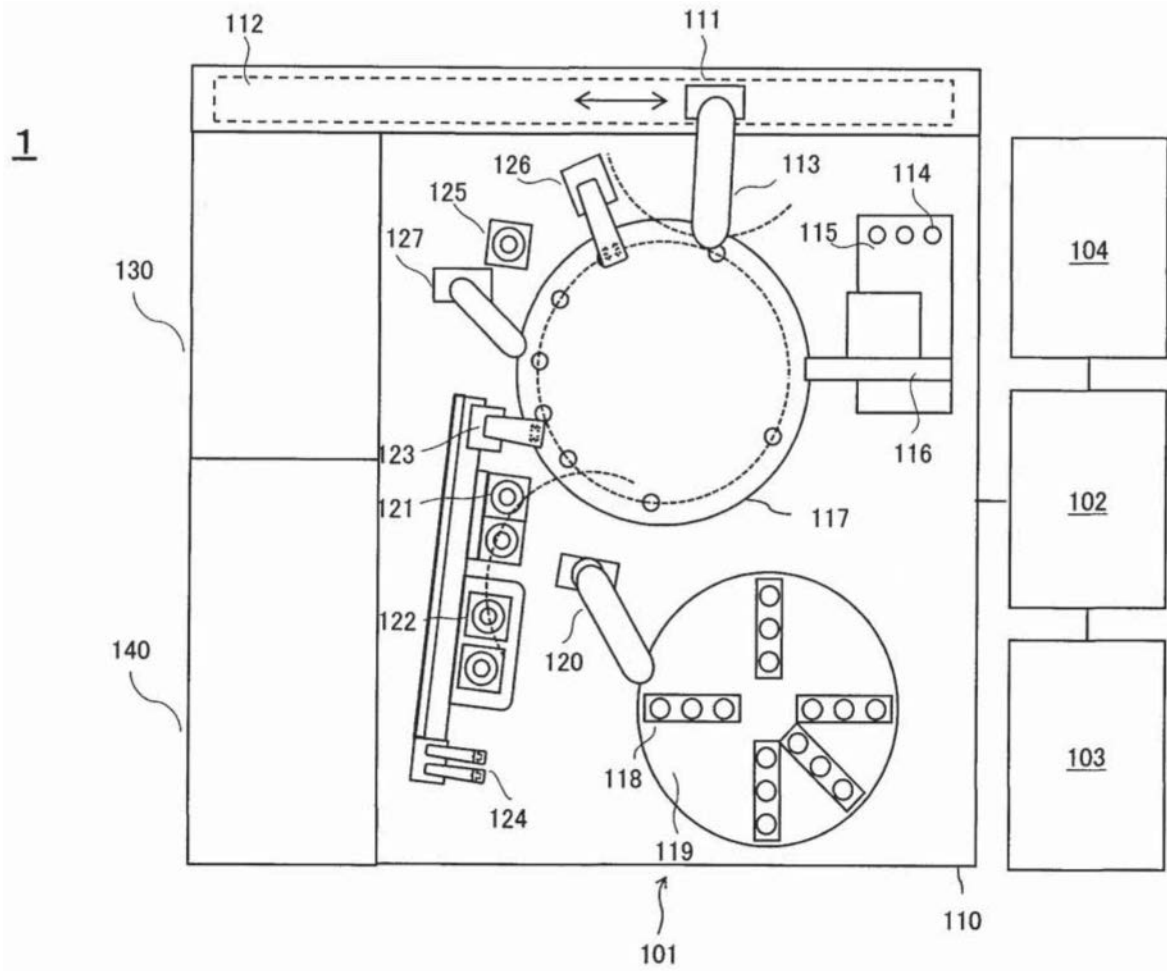


图1

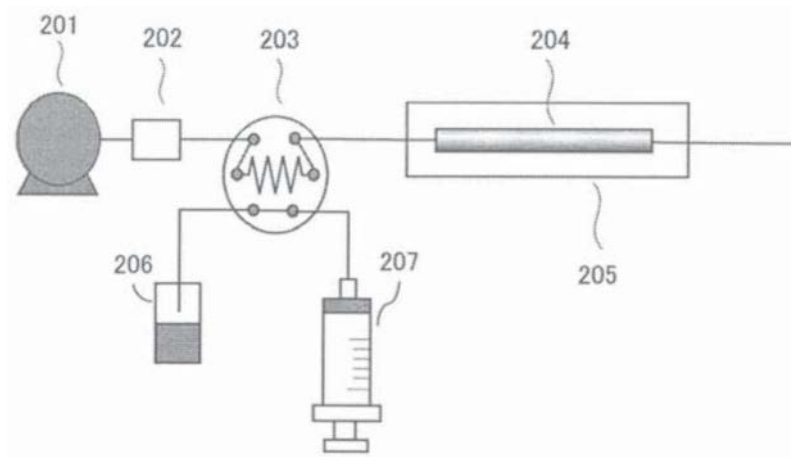


图2

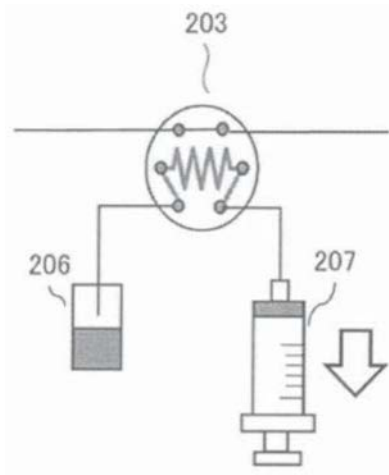


图3A

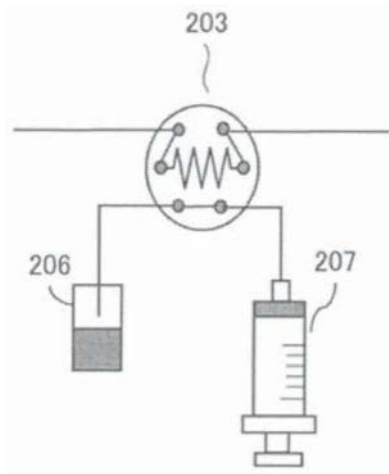


图3B

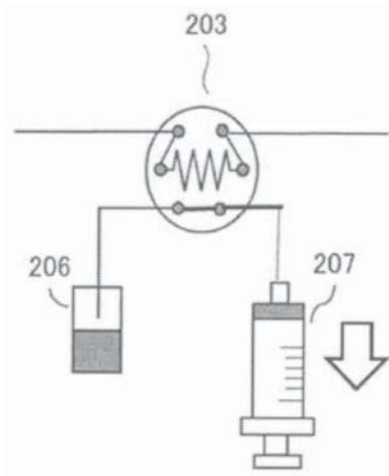


图4A

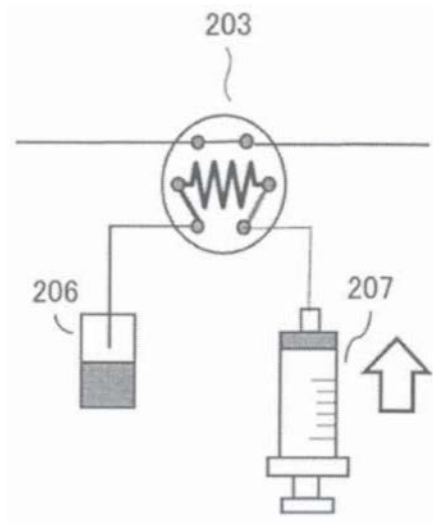


图4B

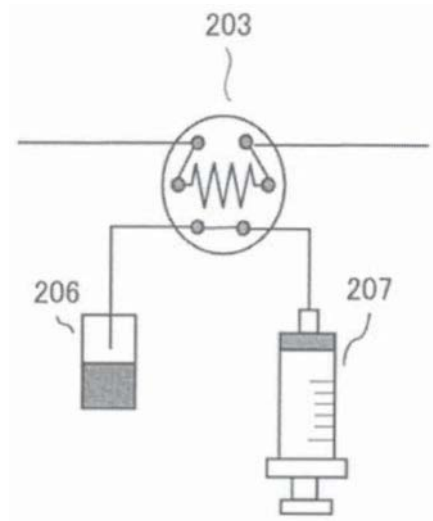


图4C

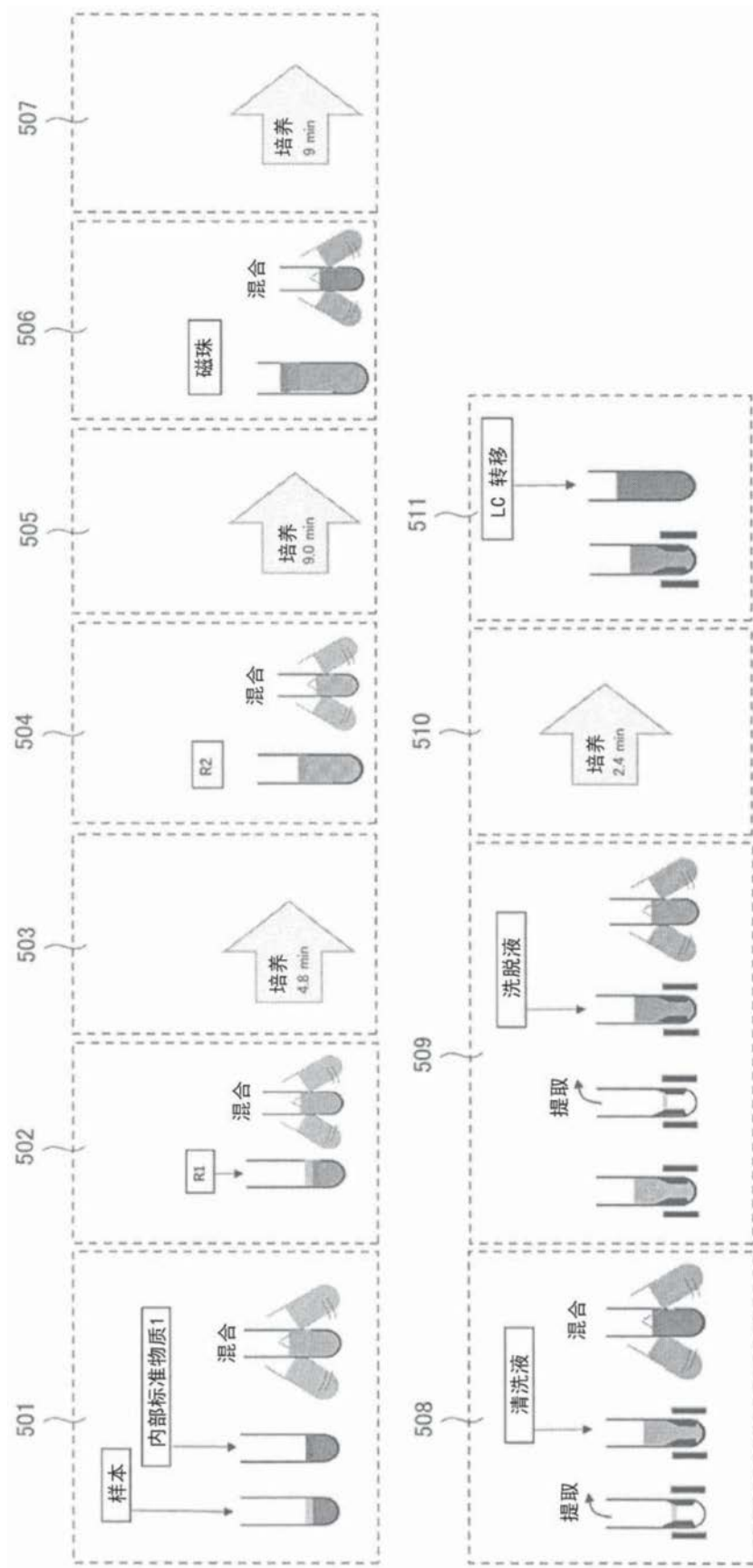


图5

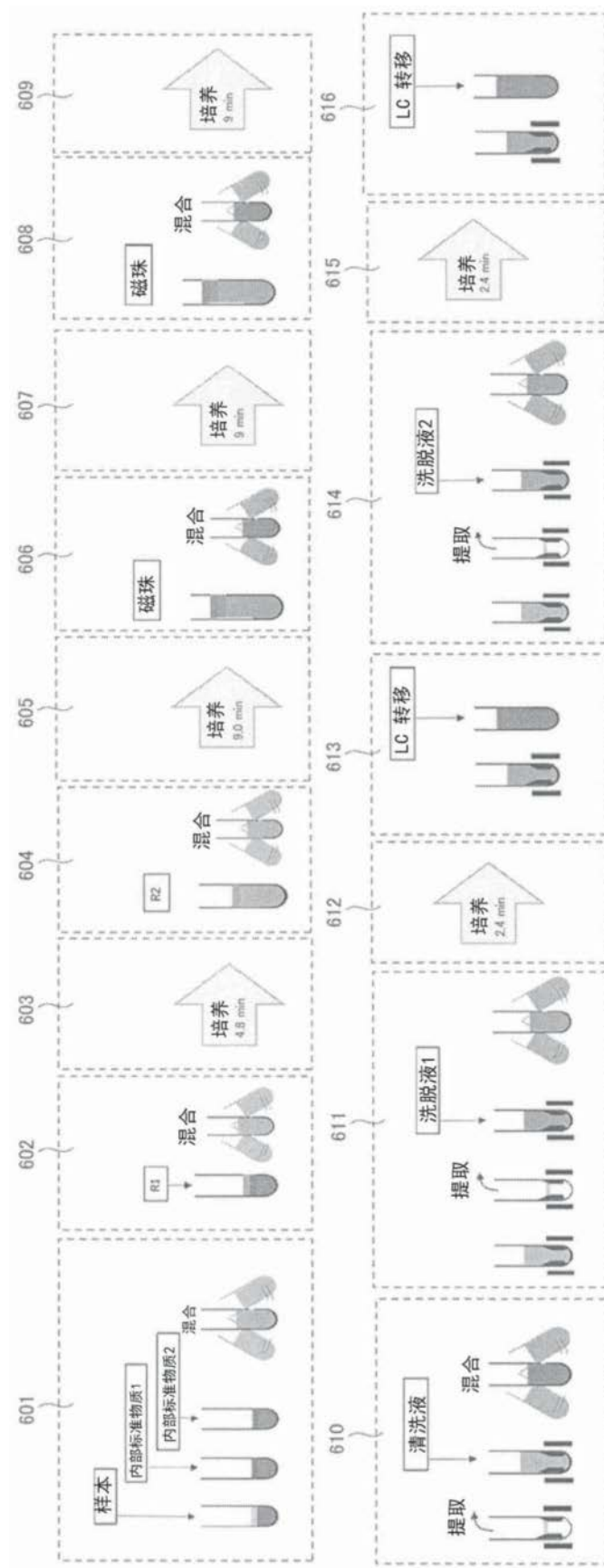


图6

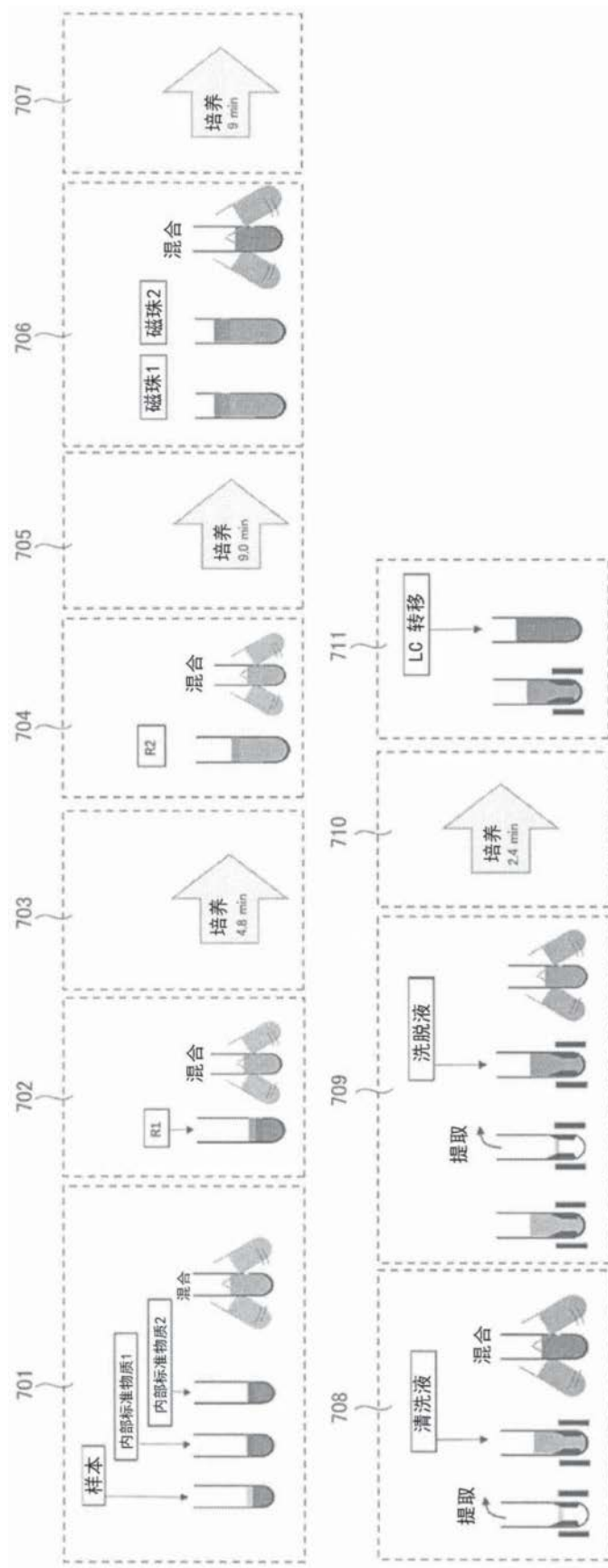


图7

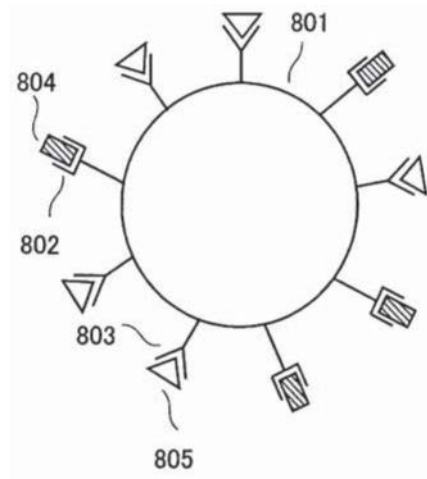


图8A

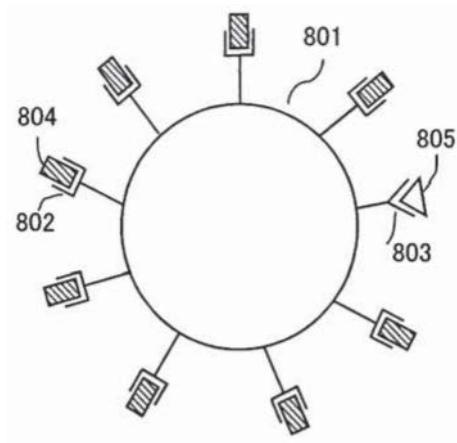


图8B

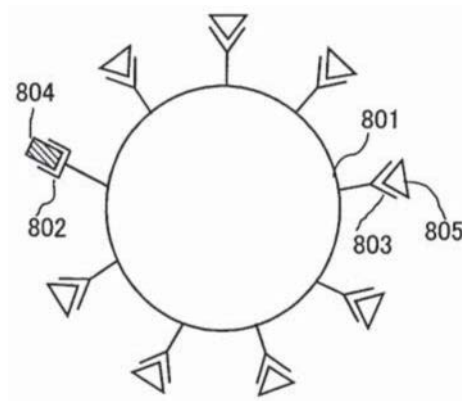


图8C



图9