

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014 年 5 月 8 日(08.05.2014)



(10) 国際公開番号

WO 2014/069561 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/66 (2006.01) G01N 33/52 (2006.01)
C12Q 1/26 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/079524
- (22) 国際出願日: 2013 年 10 月 31 日(31.10.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-243562 2012 年 11 月 5 日(05.11.2012) JP
特願 2013-021359 2013 年 2 月 6 日(06.02.2013) JP
- (71) 出願人: 東洋紡株式会社 (TOYOBO CO., LTD.)
[JP/JP]; 〒5308230 大阪府大阪市北区堂島浜二丁目 2 番 8 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 川南 裕 (KAWAMINAMI, Hiroshi); 〒5200292 滋賀県大津市堅田二丁目 1 番 1 号 東洋紡株式会社内 Shiga (JP). 塚本 暁 (TSUKAMOTO, Akira); 〒5200292 滋賀県大津市堅田二丁目 1 番 1 号 東洋紡株式会社内 Shiga (JP). 岡本 淳 (OKAMOTO, Jun); 〒5200292 滋賀県大津市堅田二丁目 1 番 1 号 東洋紡株式会社内 Shiga (JP). 宝田 裕 (TAKARADA, Yutaka); 〒5200292 滋賀県大津市堅田二丁目 1 番 1 号 東洋紡株式会社内 Shiga (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: TEST PIECE FOR LIQUID SAMPLE ANALYSIS, AND MEASUREMENT METHOD USING SAME

(54) 発明の名称: 液体試料分析のための試験片、およびそれを用いた測定方法

(57) Abstract: [Problem] The purpose of the present invention is to provide a test piece for biochemical analysis with high measurement precision, a measurement method therefor, and an application therefor. [Solution] A multilayered test piece for analyzing an object to be analyzed in a liquid sample, wherein the multilayered test piece is a fabric made of at least a hydrophilic fiber, and is obtained by layering in sequence a layer (a) and a layer (b) from a sample drop surface, layer (a) being is a structure containing a fabric in which modified cross section yarn is included in the fibers, and a layer (b) being a structure in which a reagent that reacts specifically with the object to the analyzed has been impregnated.

(57) 要約: 【課題】測定精度の高い生化学分析用試験片及びその製造方法、並びにその用途を提供することを課題とする。【解決手段】液体試料中の分析対象物を分析するための多層試験片であって、少なくとも親水性の繊維で作られた布帛であって、前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体である (a) 層と、分析対象物と特異的に反応する試薬が含まれた構造体である (b) 層とが、試料点着面から (a) 層／(b) 層の順に積層されている多層試験片。



WO 2014/069561 A1

明 細 書

発明の名称：

液体試料分析のための試験片、およびそれを用いた測定方法

技術分野

[0001] 本発明は、液体試料中の微量な分析対象物を測定するための分析用試験片、および前記試験片を用いる測定法に関する。

詳しくは、本発明は、親水加工した合成繊維などの親水性の繊維で作られた、布帛などの構造体であって、前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体を利用することで液体試料の展開性を制御でき、測定精度が向上した分析用試験片、当該試験片の製造方法、当該試験片を使用した分析対象物の定量方法に関する。

背景技術

[0002] 臨床検査分野において、医療従事者が被験者の傍らで行う検査のことを P O C T (P o i n t o f c a r e t e s t i n g) という。臨床検査は検査結果に基づいて後の治療を行うことから、高い精度と迅速さが求められる。P O C T はリアルタイムな臨床検査であるため、検査結果をその場で知ることができ、迅速な治療が行えることから注目を集めている。

[0003] 生体試料中の微量な分析対象物を高い精度で迅速に定量する方法として、ドライケミストリーが有用である。ドライケミストリーとは分析対象物を測定するために必要な試薬が基材や容器内に乾燥した状態で置かれており、分析対象物を含む生体試料が添加されることにより、試薬が溶解し、反応が完結する分析素子のことである。ドライケミストリーでは測定試薬は全て乾燥状態にあるため、反応に必要な水分は生体試料の水分を利用している。従って分析試験片上で少量の生体試料を均一展開することは高い測定精度を維持する上で重要である。

[0004] ドライケミストリーを用いた分析技術としては古くは特許文献 1 ～ 3 が挙げられる。これらは複数の層からなる多層構造型試験片によって血液中のグル

コース濃度を定量することができる試験片に関するものである。試験片の展開層として綿あるいは綿とポリエチレンテレフタレートとの混紡糸で作製された織物を用いて血液の展開性を改善している。

特許文献2、3、6には多層構造型試験片における展開層にノニオン性界面活性剤を含浸することで血液試料の展開性を促進する技術、当該試験片を用いた測定方法、および当該試験片の製造方法に関する技術が公開されている。

また特許文献4には多孔質膜を使用した試験片を用いた血糖値測定装置に関する技術が公開されている。また特許文献5には、多孔質膜の細孔の孔径を調整することで血液の展開性が改善した多孔質膜、および多孔質膜の製造方法に関する技術が公開されている。

先行技術文献

特許文献

- [0005] 特許文献1：特開昭59-108942
特許文献2：特開昭60-82859
特許文献3：特開昭60-222770
特許文献4：特開2000-46834
特許文献5：特開2001-164029
特許文献6：特開2002-122583

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] ところが、従来の織物や多孔質膜を用いて作られた分析試験片を用いて生体試料（たとえば全血）などの液体試料を測定した場合、頻度はさほど多くないものの、測定の再現性が悪くなり定量性を著しく損なうケースが見られた。

課題を解決するための手段

- [0007] 上記のような課題に対して、本発明者らは測定精度の高い分析試験片を開発

すべく検討を重ねたところ、水分を含有する生体試料の試験片上での展開性が生体試料の種類や性質に影響されるために展開ムラを生じ、測定の再現性を悪くしていることがわかった。

たとえば、ポリエチレン類などの疎水性の素材で作られた分析試験片は、液体試料をはじいて、展開ムラを生じさせる。疎水性素材の表面を親水加工した素材を用いて作られた分析試験片も知られているが、このような試験片でも展開ムラを十分になくすことは出来なかった。

さらに、血液中のグルコース測定の場合は、一般に、きわめて短時間（例えば数秒）で測定を完結することが求められており、そのためには液体試料を迅速に検出部分全体にムラなく展開させる必要があった。

[0008] そこで発明者らは、綿や濾紙など親水性の素材を中心に作られた分析試験片を検討したところ、液体試料の展開がスムーズであった。ところが、意外なことに、このような試験片においても、液体試料の展開が速いにもかかわらず測定精度が劣る場合があることが判明した。

当初は、この現象がなぜ起こるのかわからなかったが、発明者らがさらに検討したところ、液体試料が点着箇所から同心円状にドーナツのように拡散するために、ドーナツの中心部分にあたる検出部分において試料の均一な展開ができなくなるためであることを突き止めた。

[0009] 一方、血液中の糖化蛋白質（たとえば、HbA1c）測定の場合は、反応が、プロテアーゼが糖化ペプチドを切り出す反応、次いで、糖化ペプチドであるHbA1cにフルクトシルアミノ酸オキシダーゼが反応する反応、の順に進むが、従来技術においては一般にプロテアーゼが糖化ペプチドを切り出す反応の速度が遅いため、ある程度長時間（たとえば、3分ないし5分間）プロテアーゼを反応させることが求められており、そのためには液体試料を、一定以上の時間、試験片においてプロテアーゼが担持されている部分に留める必要があった。

この点に関して、発明者らは、疎水性の素材を用いた場合、点着した液体試料の拡がり速すぎると、試験片に担持されているプロテアーゼが十分に溶

解せず、そのような場合には糖化蛋白質の分解が十分に行われない問題点があることを突き止めた。

そこで発明者らは、そのような観点から試験片に用いられる素材を見直したところ、綿や濾紙など親水性の素材を中心に作られた分析試験片は、液体試料の展開がスムーズで展開ムラはないように思われたが、意外なことに、このような試験片においても、液体試料の展開が速いにもかかわらず測定精度が劣る場合があることが判明した。

当初は、この現象がなぜ起こるのかわからなかったが、発明者らがさらに検討したところ、綿や濾紙など親水性の素材では多層の試験片の場合、液体試料が素材の表面だけではなく内部まで浸透し、液体試料を次の層へ送りだす放出性が低いため、反応が進みにくいことを突き止めた。

[0010] 発明者らは、次に、この新たに見出した問題点を解決するために、液体試料の展開層により適した基材を見出すべく、さまざまな材質や形状のものを探索した結果、親水性の繊維で作られた布帛であって前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体が優れた展開性を有すること、加えて、液体試料を迅速に吸水できることを見出した。そして、親水性の繊維で作られた布帛であって前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体を分析試験片の展開層として使用することで、液体試料の均一展開を可能にし、測定精度が向上した分析試験片を作製することに成功した。

発明者らは、さらに、「親水性の繊維で作られた布帛であって前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体」における「異形断面糸の割合」を調節することで、液体試料の展開性を調節できることを見出した。この知見により、分析の試料の状態や目的成分に応じて、測定に適した試験片を構築することが出来るようになった。

[0011] ところが、液体試料として血液試料を用いた場合に当該分析試験片を使用したにもかかわらず、頻度は高くないものの測定精度が劣る場合があることが判明した。本発明者らはさらに検討を重ねたところ、全血に含まれる赤血球等の固形成分の割合が高い試料において、これらの固形成分が展開層の空隙

に目詰まりして展開性が損なわれることを突き止めた。

[0012] 発明者らは、次に、この新たに見出した問題点を解決するために、全血中の固形成分を速やかに溶解できる溶血剤を調査したところ、ノニオン性界面活性剤が好適であることを見出し、さらに、当該ノニオン性界面活性剤を親水加工した異形断面糸を含む織物に含浸することで、血液試料中の血球成分の迅速な溶血と均一な展開を可能にした織物を作製することに成功した。そして、当該織物を分析試験片の展開層として使用することで、血球成分等の固形成分の割合が高い血液試料でも均一な展開を可能にし、測定精度が向上した分析試験片を作製することに成功した。

発明者らはさらに、親水加工した合成繊維で構築された織物などの構造体における異形断面糸の割合を調節することで、血液試料の展開性を調節できることを見出した。この知見により、液体試料として血液試料などの生体試料を用いた場合においても、分析の試料の状態や目的成分に応じて、測定に適した試験片を構築することが出来るようになった。

[0013] 本発明は、係る知見に基づき、更なる研究と改良を重ねた結果完成したものであり、代表的な発明は、以下の通りである。

[項 1] 液体試料中の分析対象物を分析するための多層試験片であって、少なくとも下記 (a) 層と (b) 層とが、試料点着面から (a) 層 / (b) 層の順に積層されている多層試験片。

(a) 層：親水性の繊維で作られた布帛であって、前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体

(b) 層：分析対象物と特異的に反応する試薬が含浸された構造体

[項 2] 分析対象物がグルコースである、項 1 に記載の試験片。

[項 3] (a) 層において布帛が界面活性剤を含浸している、項 1 または 2 に記載の試験片。

[項 4] (a) 層の構造体が織物でできている、項 1 から 3 のいずれかに記載の試験片。

[項 5] (a) 層における異形断面糸の横断面形状が、三角形、四角形、五

角形、六角形、Y字形、T字形、H字形、U字形、W字形、菱形および星形からなる群の中から選ばれたいずれかである、項1から4のいずれかに記載の試験片。

[項6] (a)層における繊維が、ポリエステル類、ポリエーテルスルホン類、ポリ塩化ビニル類、ポリウレタン類、アクリル類およびナイロン類からなる群の中から選ばれたいずれかを親水加工したものである、項1から5のいずれかに記載の試験片。

[項7] (a)層において、繊維の親水加工の少なくとも一部が親水性ポリマーでなされている、項1から6のいずれかに記載の試験片。

[項8] 親水性ポリマーがポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリエステルポリエーテルブロック共重合体からなる群の中から選ばれたいずれかである、項7に記載の試験片。

[項9] (a)層における界面活性剤が、ノニオン性界面活性剤である、項3から8のいずれかに記載の試験片。

[項10] 界面活性剤が4-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)フェニル-ポリエチレングリコール (T r i t o n (登録商標) X-100)、1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル フェニル-ポリエチレングリコール (T r i t o n (登録商標) X-114)、ポリオキシエチレンp-ノニルフェニルエーテル (ノニデット (登録商標) P-40) からなる群の中から選ばれたいずれかである、項3から9のいずれかに記載の試験片。

[項11]

界面活性剤の含有量が0.02~0.06 g/m²であることを特徴とする、項3から10のいずれかに記載の試験片。

[項12] (a)層の構造体を構成する異形断面糸の割合が、40%以上100%以下である、項1から11のいずれかに記載の試験片。

[項 1 3] (a) 層の構造体が織物であって、該織物を構成する経糸と緯糸の本数が、それぞれ、経糸 60～200 本/2.54 cm、緯糸 60～200 本/2.54 cm の組合せである、項 4 から 12 のいずれかに記載の試験片。

[項 1 4] 項 1 から 13 のいずれかに記載の試験片を用いて液体試料中のグルコースを分析する方法。

[項 1 5] 項 1 から 13 のいずれかに記載の試験片を含むプロダクト。

発明の効果

[0014] 本発明の分析用試験片は、液体試料の展開性を制御でき均一に展開できるので、生体試料などの液体試料中に含まれる微量の分析対象物質でも高い精度で測定することが可能である。また、本発明の分析用試験片は、血液試料などの生体試料に含まれる固形成分を迅速に溶解し、均一に展開できるので、生体試料を希釈等の前処理をすることなく、原液のまま分析することができ、微量の分析対象物質でも高い精度で測定することが可能である。

図面の簡単な説明

[0015] [図1]反応層の上層に展開層として一般的な丸型断面糸aを経糸89（本/2.54 cm）、緯糸76（本/2.54 cm）の密度で編んだ試験片を用い、血液検体を点着した場合の反射吸光度の変化を示す。

[図2]反応層の上層に展開層として丸型断面糸aより太い糸bを経糸89（本/2.54 cm）、緯糸76（本/2.54 cm）の密度で編んだ試験片を用い、血液検体を点着した場合の反射吸光度の変化を示す。

[図3]反応層の上層に展開層として丸型断面糸aより細い糸cを経糸89（本/2.54 cm）、緯糸76（本/2.54 cm）の密度で編んだ試験片を用い、血液検体を点着した場合の反射吸光度の変化を示す。

[図4]経糸に丸型断面糸a、緯糸にY字形断面糸dを用い、経糸89（本/2.54 cm）、緯糸76（本/2.54 cm）の密度で編んだ織物を展開層に使用した試験片を用い、血液検体を点着した場合の反射吸光度の変化を示す。

[図5]経糸、緯糸ともにY字形断面糸eを用い、経糸89（本／2.54cm）、緯糸87（本／2.54cm）の密度で編んだ織物を展開層に用いた織物を展開層に使用した試験片を用い、血液検体を点着した場合の反射吸光度の変化を示す。

[図6]経糸に丸型断面糸f、緯糸にY字形断面糸gを用い、経糸190（本／2.54cm）、緯糸179（本／2.54cm）の密度で編んだ織物を展開層に使用した試験片を用い、血液検体を点着した場合の反射吸光度の変化を示す。

[図7]本発明の試験片を用いてグルコース測定を行うための装置例

[図8]本発明の試験片を用いてグルコース測定を行うための装置例

[図9]Y字形の異形断面糸の説明

[図10]Y字形の異形断面糸の説明

[図11]異形断面糸織物（展開層のTriton X-100の濃度が0.0g／m²）を使用した試験片におけるグルコース濃度と反射吸光度の関係を示す。

[図12]異形断面糸織物（展開層のTriton X-100の濃度が0.02g／m²）を使用した試験片におけるグルコース濃度と反射吸光度の関係を示す。

[図13]異形断面糸織物（展開層のTriton X-100の濃度が0.04g／m²）を使用した試験片におけるグルコース濃度と反射吸光度の関係を示す。

[図14]異形断面糸織物（展開層のTriton X-100の濃度が0.06g／m²）を使用した試験片におけるグルコース濃度と反射吸光度の関係を示す。

発明を実施するための形態

[0016] 以下、本発明を詳細に説明する。なお、本明細書において「測定」「分析」「定量」の語は特に断らない限り同義である。

[0017] （分析対象物および測定試料）

本発明において、測定の対象は特に限定されない。

たとえば、生化学検査における一般検査項目（血中グルコース（以下、グルコースのことを血糖とも記載する。）、血中糖化蛋白質、血中ヘモグロビン、血中クレアチニン、血中アンモニア、血中尿素、血中窒素、血中総コレステロール、血中HDLコレステロール、血中中性脂肪、血中ビリルビン、血中カルシウム、血中無機リン、血中マグネシウム、血中総タンパク質、血中アルブミン、血中CRP、血中Na、血中K、血中Cl、血中酵素活性、尿中Na、尿中K、尿中Cl）を分析対象物質として例示することができる。上記において、糖化蛋白質は、測定原理として、プロテアーゼが「糖化ペプチドおよび／または糖化アミノ酸」（以下「糖化ペプチド等」とも表記する。）を切り出す反応、および、切り出された糖化ペプチド等にフルクトシルアミノ酸オキシダーゼを作用させる反応、を含む方法で測定できるものであれば特に限定されない。例えば、糖化アルブミンや糖化ヘモグロビンが例示できる。糖化ヘモグロビンとしてはHbA_{1c}が例示できる。

[0018] 本発明において、測定試料は液体であれば特に限定されない。例えば、血液、リンパ液、髄液、汗、尿、涙液、唾液、皮膚、粘膜、毛髪等などの生体試料や、飲料水、調味料などの食品類に由来するものが挙げられる。液体でないものであっても、抽出などの手段を経て液状に調製したものであれば試料とすることができる。血液においては、全血のほか、血液を遠心分離して得られた血清、血球または血漿を試料とすることができる。また、生体試料はヒト由来に限らず、イヌ、ネコ、ウシ等の哺乳動物由来の生体試料も対象である。

[0019] 本発明において、測定試料の量は特に限定されないが、例えば1～50 μ Lが好ましく、1～40 μ Lがより好ましく、1～30 μ Lがさらに好ましい。測定試料量が1 μ Lより少ないと、多層試験片の最上層から最下層まで展開できない恐れがある。一方、測定試料量が50 μ Lより多いと、例えば測定試料が血液の場合、患者の負担が大きくなるため好ましくない。

[0020] （例1：グルコースの測定原理）

本発明において、多層試験片を用いて血液中のグルコースを測定することができる。その測定原理は、グルコースと、グルコースに特異的に反応する試薬とが、生体試料の水分を利用した水系中で反応することにより起こる物理化学的变化を検知する方法であれば、特に限定されない。

例えば、酵素反応を測定試料中の水分によって行う（いわゆる、ドライケミストリー）ことで多層試験片を呈色させ、その呈色の程度を反射光測定によって検知する方法（いわゆる、酵素比色法）が挙げられる。そのような方法として、たとえば実用新案登録第3175929号に記載の測定装置を用いて試料中のグルコースを測定する方法が知られている。

[0021] 以下にグルコースを測定する場合の反応について例示するが、本発明を何ら限定するものではない。

（１）測定試料中のグルコースとグルコースオキシダーゼを反応させ、グルコノラクトンと過酸化水素を生成させる工程。

（２）前記過酸化水素に、過酸化水素検出試薬とペルオキシダーゼとを反応させることで、試験片を呈色させる工程。

過酸化水素検出については、４－アミノアンチピリン、および、フェノールやハロゲン化フェノール誘導体（または、アニリン誘導体）などのいわゆるトリンダー試薬を、ペルオキシダーゼの働きにより酸化縮合させ、キノン色素を生成させる工程が例示できる。

（３）前記色素から測定試料中のグルコースを比色定量する工程。

例えば、呈色した試験片に色素に特異的な吸収波長の光を照射し、反射光を測定することで、呈色の度合いを検出し、血中グルコース濃度を算出することができる。

[0022] （例２：糖化蛋白質の測定原理）

本発明において、多層試験片を用いて糖化蛋白質を測定する原理は、糖化蛋白質と、糖化蛋白質に特異的に反応する試薬とが、液体試料の水分を利用した水系中で反応することにより起こる物理化学的变化を検知する方法であれば、特に限定されない。

例えば、酵素反応を測定試料中の水分によって行う（いわゆる、ドライケミストリー）ことで多層試験片を呈色させ、その呈色の程度を反射光測定によって検知する方法（いわゆる、酵素比色法）が挙げられる。そのような方法として、たとえば実用新案登録第3175929号に記載の測定装置を用いて試料中の糖化蛋白質を測定する方法が知られている。

[0023] 以下に糖化蛋白質の一例である糖化ヘモグロビンを測定する場合の反応について例示するが、本発明を何ら限定するものではない。

（１）測定試料中の赤血球と界面活性剤を反応させ、溶血させ、糖化ヘモグロビンを取り出す工程。

（２）前記糖化ヘモグロビンとプロテアーゼを反応させ、糖化ヘモグロビンの糖化された β 鎖N末端から糖化アミノ酸および／または糖化ペプチドを切り出す工程。

（３）前記糖化アミノ酸および／または糖化ペプチドと糖化アミノ酸オキシダーゼを反応させ、過酸化水素を生成する工程。

（４）ペルオキシダーゼ存在下で、前記過酸化水素と酸化還元系発色試薬を反応させ、発色させる工程。

（５）前記発色から測定試料中の糖化ヘモグロビン量を比色定量する工程。
例えば、呈色した試験片に色素に特異的な吸収波長の光を照射し、反射光を測定することで、呈色の度合いを検出し、糖化蛋白質を定量することができる。

[0024] （多層試験片）

本発明の液体試料分析用多層試験片の基本構成は、（a）層：親水性の繊維で作られた布帛であって、前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体と、（b）層：分析対象物と特異的に反応する試薬が含浸された構造体とが、試料点着面から（a）層／（b）層の順に積層された多層試験片である。

本明細書では、（a）層を展開層、（b）層を反応層とも呼ぶ。

[0025] 本発明の多層試験片による測定は、例えば、（a）層で試料点着面に点着した液体試料を適度な範囲に展開させ、展開した試料を（b）層で試料中の測

定対象物と特異的に反応する試薬と反応させて、起こった物理化学的变化を試料点着面と反対側の面から検出することにより行うことができる。

[0026] 液体試料中の測定対象物と特異的に反応する試薬が、複数の成分より構成される場合は、(b)層を2層以上の複数層にしてもよい。例えば、グルコースを測定する場合であれば、界面活性剤、グルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、緩衝剤、酸化還元系発色試薬（例えば、4-アミノアンチピリン、および、アニリン誘導体）等の成分が必要になるが、(b)層が1層だと、グルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼと酸化還元系発色試薬等を同一層に担持せざるを得なくなり、例えば、ペルオキシダーゼと酸化還元系発色試薬が同一層に担持されると酸化還元系発色試薬の自己発色が生じる恐れがある。つまり、多層試験片の保存安定性が著しく低下する恐れがある。このような場合、必要な試薬を2層以上に分けて担持させれば、より良好な保存安定性を確保することができる。（以下、液体試料中の測定対象物と特異的に反応する試薬が含浸された構造体が2層以上に分かれる場合は、(b1)層、(b2層)などと表記する。）

あるいは、試薬の一部の成分を(a)層に配し、(a)層で液体試料の展開と反応とを同時に進行させても良い。このような方法は、たとえば、HbA1cの測定など、多段階の反応を利用する場合に利用することができる。

[0027] 本発明の多層試験片は、(a)層および(b)層以外に、全血から血球を濾別することで血漿または血清を得るための血液分離層や、透明支持層など、さらに任意の数の層を含んでもよい。

これらをすべて含めた、前記多層試験片の層数は、実施形態に合わせて変化し得るが、2～7層が好ましく、2～6層がより好ましく、2～5層がさらに好ましい。

一方、層数が7層より多いと、最上層から最下層まで展開するのに必要な測定試料量が多くなるため、好ましくない。

[0028] 前記多層試験片は、任意の手順を用いて作製することができる。例えば、複数の層を別個に作製し、次いで最終的な試験片に組み立てればよい。

[0029] ((a) 層)

(親水性の繊維で作られた布帛であって、前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体)

本発明で用いる (a) 層の構造体は、親水性の繊維で作られた布帛であって、前記繊維に異形断面糸を含む布帛であれば特に限定されない。その形状は、測定試料を、試料の点着部分からみて同一平面上（本明細書では、便宜上「水平方向」または「XY方向」とよぶ。）および垂直方向（前記「水平方向」に対して垂直な方向のことを言う。「Z方向」ともよぶ。）に適切に展開できるものであれば、いかなる形態にも限定されないが、シート構造体であることが好ましい。例えば、織物、編物、不織布など種々の形態をとることができる。中でも、平織りの織物は、糸が、経方向、緯方向とも均一に配置されることにより液体の水平面への展開性が均一になるため、編み物や、撚糸を使用した織物を用いた場合と比較して、毛細管現象による液体試料の移動がスムーズになり、さらに好ましい。

[0030] (織物)

本発明で用いる (a) 層の構造体は、織物でできていてもよい。

[0031] 本発明において、上記構造体（たとえば織物）のシートの目付けは 30 g/m^2 以上 100 g/m^2 以下であれば特に限定されない。目付けが 100 g/m^2 を超えると構造体（たとえば織物）の厚みが増し、密度も高くなり親水加工を行っても液体の展開性が遅くなる傾向にある。また、好ましい下限は 50 g/m^2 以下であり、さらに好ましい下限は 80 g/m^2 である。

[0032] 本発明において、上記構造体（たとえば織物）のシートの厚みは $10 \mu\text{m}$ 以上 $200 \mu\text{m}$ 以下であれば特に限定されない。好ましい上限は $150 \mu\text{m}$ であり、さらに好ましい上限は $125 \mu\text{m}$ である。また、好ましい下限は $20 \mu\text{m}$ であり、さらに好ましい下限は $50 \mu\text{m}$ であり、さらに好ましい下限は $80 \mu\text{m}$ であり、さらに好ましい下限は $100 \mu\text{m}$ である。

[0033] 本発明において、上記構造体（たとえば織物）のシートの嵩密度は 0.6 g/m^3 以上 0.9 g/m^3 以下であれば特に限定されない。嵩密度が 0.6 g/m^3

／ m^3 より下回ると構造体（たとえば織物）中の繊維間の距離が大きくなり毛細管現象が起こりやすく、液体が速く展開する傾向にある。嵩密度が $0.9 \text{ g} / \text{m}^3$ を超えると構造体（たとえば織物）中の繊維間距離が小さくなり隙間がなくなるため毛細管現象が起こりにくく液体の展開性が遅くなる傾向にある。

[0034] 本発明において、上記構造体（たとえば織物）のシートに用いる経糸の繊維の単糸繊度は特に限定されない。

たとえば、グルコース測定のように液体試料の迅速な（数秒程度の）展開が求められる場合は、単糸繊度（ d p f ）が $2.0 \sim 4.0$ であることが好ましい。

一方、 H b A 1 c のように長時間（数分程度）の反応を要する場合は、単糸繊度は 0.5 d p f 以下が好ましい。好ましい下限は 0.4 d p f であり、さらに好ましい下限は 0.3 d p f である。単糸繊度が 0.5 d p f より大きい場合、織物を作製した場合、高密度になりにくい傾向にある。単糸繊度が 0.3 より小さい場合には、単糸が細すぎ織物を均一に作製することが難しくなる傾向にある。

[0035] 本発明において、上記構造体（たとえば織物）のシートに用いる合成繊維の総繊度は特に限定されないが、 $11 \sim 122 \text{ d t e x}$ の範囲内が好ましい。好ましい上限は 84 d t e x であり、さらに好ましい上限は 56 d t e x である。好ましい下限は 22 d t e x である。 d t e x が大きい場合厚みが大きな構造体（たとえば織物）になりやすく、検体の通過性が悪くなる傾向にある。 d t e x が 22 d t e x より小さい場合、製造上繊維や構造体（たとえば織物）を均一に作ることが難しくなる傾向にある。

[0036] （親水性の繊維）

（a）層の構造体に用いる親水性の繊維は、特に限定されない。たとえば綿、麻、毛、絹などの天然繊維や、レーヨン、キュプラなどの再生繊維などが例示できる。あるいは、疎水性の繊維を親水加工したものでも良い。疎水性繊維に属するものとしては、例えば、ポリエステル類、ポリエーテルスル

ホン類、ポリ塩化ビニル類、ポリウレタン類、アクリル類またはナイロン類の高分子を用いた合成繊維が挙げられる。

詳細には、ポリエステル樹脂であるポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリブチレンテレフタレート（PBT）、ポリエチレンナフタレート（PEN）、ポリブチレンナフタレート（PBN）等、オレフィン樹脂であるポリエチレン（PE）、ポリプロピレン（PP）、ポリブテン等、ビニル樹脂であるポリ塩化ビニル（PVC）、ポリ塩化ビニリデン、ポリ酢酸ビニル等、アクリル樹脂、アクリレート樹脂、フッ素樹脂であるポリテトラフルオロエチレン（PTFE）、ポリビニリデンフルオライド（PVDF）等、ポリカーボネート樹脂、ポリエーテル樹脂であるポリオキシメチレン（POM）、ポリフェニレンオキシド（PPO）、ポリエーテルケトン（PEK）、ポリエーテルエーテルケトン（PEEK）、ポリフェニレンスルフィド（PPS）、ポリスルホン（PSU）、ポリエーテルスルホン（PES）、ポリエーテルイミド（PEI）等、ポリアミド樹脂であるナイロン、アラミド等、セルロース類であるセルロースアセテート、ニトロセルロース、再生セルロース等が挙げられる。

なお、上記の物質を組み合わせた組成物であってもよいし、上記の物質（または上記物質の組み合わせ）を一部含む組成物であってもよい。

中でも、加工のしやすさと価格の観点からポリエステルが好ましい。

[0037] また、これらの合成繊維の原系に使用するポリマー中には抗菌性、難燃性、吸湿性、吸水性等の機能性を有する種々の機能剤および共重合物さらには艶消し剤等が複数含有されていても構わない。

[0038] （親水加工）

（a）層の構造体に疎水性の繊維を親水加工したものをを用いる場合、その親水加工に用いる物質は特に限定されない。例えば親水性ポリマーが例示できる。

親水性ポリマーとしては、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキ

シメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリエステルポリエーテルブロック共重合体からなる群の中から選ばれたいずれかを用いることが好ましい。

中でも、ポリエチレングリコールとポリエチレンテレフタレータのブロック共重合である表面処理が一般的である。

[0039] なお、親水性ポリマーは、上記の物質を組み合わせた組成物であってもよいし、上記の物質（または上記物質の組み合わせ）を一部含む組成物であってもよい。

市販品では、ICI社のPermalose™、ポリエステルポリエーテルブロック共重合体を使用した変性ポリエステル系の樹脂の市販品として、高松油脂（株）製のSR-1000、SR-1800、SR-6200、SR-5000等が挙げられる。

[0040] (a) 層の構造体に疎水性の繊維を親水加工したものを用いる場合、その親水加工法は特に限定されない。Pad dry法、吸尽加工法など、種々の公知の方法を用いることができる。

Pad dry法では繊維表面が親水加工される。吸尽加工法では繊維の内部まで親水加工剤が浸透する。

親水加工の具体的方法としては、織編物にポリエチレングリコールジアクリレートやその誘導体、またはポリエチレンテレフタレート-ポリエチレングリコール共重合体などの親水化剤を染色時に同浴加工することが好適に例示される。

[0041] いずれの方法であっても、繊維表面の広い範囲が親水加工されるよう適宜条件を選択すればよく、その範囲は特に限定されないが、具体的には60%以上の表面が親水加工されていることが好ましい。さらに好ましくは70%以上、さらに好ましくは80%以上、さらに好ましくは90%以上である。

親水加工処理を施すことにより、反応試薬を均一に含浸することができ、加えて、展開層で展開された生体試料を速やかに吸収し、分析対象物質と反応

試薬との反応を阻害しない高分子基材を得ることが出来る。

- [0042] 親水化剤の付着量は特に限定されないが、布帛の重量に対して0.25～0.50重量%の範囲であることが好ましい。

親水加工の程度は、繊維表面の親水性と繊維そのものの疎水性とのバランスに影響を与えるが、繊維の内部まで親水加工剤が浸透しすぎると親水性が高くなりすぎて、液体試料の展開が遅くなる。

- [0043] 繊維が親水加工されているかどうかは、以下の方法等で吸水性を評価することにより確認することができる。

（ラローズ法）：市販のラローズ法吸水性能測定装置（たとえば、東洋紡エンジニアリング製）を用いて給水率を測定できる。吸水率は次式で求めることができる。

ラローズ法吸水率（wt%）＝100×吸水量（ml＝g）／試料の重量（g）

（バイレック法）：JIS L1907－1998に従って、経方向と緯方向の吸水性を

測定することが出来る。

- [0044] （異形断面糸の断面形状）

（a）層の構造体に用いる繊維には、異形断面糸を含む。異形断面糸とは、横断面が円形でない繊維を意味する。

本発明で用いる異形断面糸の形状は、特に限定されない。代表的な形状としては、三角形、四角形、五角形、六角形などの多角形、Y字形、T字形、H字形、U字形、W字形等を挙げることができる。

中でも、Y字形断面からなるポリエステル異形断面糸（例えば、特開2003－3328に報告されている。）が好ましい。

- [0045] 異形断面糸を用いることにより、液体試料の展開速度が速くなる理由は、以下のように考えられる。

断面が円形の糸を用いた場合、繊維が互いに接触する部分が、糸どうしが互いに押しつぶされて接するので「面」になるのに対し、異形断面糸では突起

部分のみが接するので「線」になるために、異形断面糸のほうが円形糸に比べて毛細管現象による液体試料の移動が促進されるものと考えられる。

後述の実施例で示されるように、さまざまな形状のうちでも、特にY字形断面を有するものが好ましいのは、三角形、四角形、五角形、六角形などの多角形では、断面の頂点間が直線であることから、繊維の接触部分に占める面の割合がやや大きい（円形のものに比べると改善されるものの）ためと考えられる。また、T字形、H字形、U字形、W字形などでは、Y字形と比べて等方性が低いため、接触にかかる力により形がひずむため、やはり結果として、面で接触する部分が大きくなると考えられる。また、この考え方から、扁平形の糸なども好ましくないと考えられる。

[0046] 本発明で用いるY字形の異形断面糸を、図9および図10を用いて説明する。本発明で用いるY字形の異形断面糸は、中心から約 120° 間隔の方向に3本のほぼ同じ長さの突起を有する。その異形係数（ H/W ）は特に限定されないが、2～6の範囲内が好ましい。なお、ここで、原則として、 H は繊維単糸断面の最大幅（各突起の先端に接する外接円の直径： μm ）、 W は繊維単糸断面の最小幅（中心部分に内接する内接円の直径： μm ）をそれぞれ示す。

なお、繊維の物性やその製造方法を考慮すると、本発明の構造体（たとえば織物）におけるY字形の異形断面糸のすべての断面形状が図9に示した図形と数学的な意味で相似にならないことは当然に想定できる。例えば織物の状態で異形断面糸の断面形状観察時に、突起の中心からの等方性が失われている場合がありうる（図10）。このような場合であっても、異形係数の H は3本の突起の先端に接する外接円の直径とする。

1つの構造体に用いられているY字形の異形断面糸のうち少なくとも10本が上記の特徴を有するときは、その構造体に用いられている全てのY字形の異形断面糸が上記の特徴を満たすものと推定する。

[0047] （異形断面糸を含む構造体に占める異形断面糸の割合）

（a）層の構造体を構成する異形断面糸の割合は、特に限定されないが、2

５％以上１００％以下が好ましい。さらには、４０％以上１００％以下であることが好ましい。さらに好ましい異形断面糸の比率の下限は４１％、さらに好ましい下限は４３％、さらに好ましい下限は４６％である。一方、好ましい上限は７５％、さらに好ましい上限は５０％である。異形断面糸の断面形態は特に限定されないが、上述のとおり、Ｙ字形断面を有するものが好ましい。

（ａ）層の構造体は、一般的な丸型断面糸と異形断面糸をどのような形態で織り込んでもよい。技術的に可能であれば２種類以上の糸を縦横ランダムに織り込んでもよいが、一方を経糸にし、もう一方を緯糸にするのが好ましい。

異形断面糸の割合は、（ａ）層の構造体が織物の場合、該織物を構成する経糸と緯糸との合計本数に占める異形断面糸の本数割合で求めることができる。

[0048] （ａ）層の構造体に用いる織物において、一般的な丸型断面糸を経糸にし、異形断面糸を緯糸にする場合、該織物を構成する経糸と緯糸の本数は、特に限定されないが、それぞれ、経糸６０～２００本／２．５４ｃｍ、緯糸６０～２００本／２．５４ｃｍの組合せが好ましい。（なお、本明細書で「本／２．５４ｃｍ」は、「本／インチ（inch）」と同義である。）

この範囲内であれば、経糸および／または緯糸の本数を増やすことによって、織物を構成する繊維の密度が高くなり、吸水特性が低下していく。一方、この範囲内であれば、経糸および／または緯糸の本数を減らすことによって、織物を構成する繊維の密度が低くなり、吸水特性が高くなり液体の展開速度が速くなる。したがって、経糸および／または緯糸の本数を適宜増減させることにより、液体の展開速度を分析対象物に合った速度に調節することができる。

[0049] たとえば、グルコースを測定するときのように、迅速な反応が求められる場合は、経糸６０～１００本／２．５４ｃｍ、緯糸６０～１００本／２．５４ｃｍの組合せが好ましい。さらには、経糸７０～１００本／２．５４ｃｍ

と緯糸70～100本/2.54cmの組合せであることが好ましい。さらには、経糸85～95本/2.54cmと緯糸85～95本/2.54cmの組合せであることが好ましい。さらには、経糸85～90本/2.54cmと緯糸85～90本/2.54cmの組合せであることが好ましい。

一方、HbA1cを測定するときのように、プロテアーゼを十分に反応させる時間を確保したい場合は、経糸160～200本/2.54cm、緯160～200本/2.54cmの組合せが好ましい。さらには、経糸170～200本/2.54cmと緯糸170～200本/2.54cmの組合せであることが好ましい。

[0050] 経糸、緯糸とも200本/2.54cmを超えると高密度になりすぎ、親水加工を行っても吸水特性がなく好ましくない場合がありうる。経糸、緯糸とも60本/2.54cm以下の場合には密度が低くなりすぎ、親水加工を行った場合、吸水特性が良くなりすぎ、液体の展開速度が速いため滞留時間を稼ぐことができず、酵素反応も不十分となり好ましくない場合がありうる。

[0051] 緯糸に異型断面糸を用い織物を作製した場合、異型断面の凹凸効果により、毛細管現象が起こりやすくなる。そのためその織物に液体、特に血液のような粘度の高い液体を滴下した場合でも、高毛細管現象力により均一に織物中を通過させることができる。

そのため、その織物中で長時間（数分程度）の酵素反応を行う場合でも、酵素反応を均一にすることができる。さらには高密度織物に異型断面糸を用いて作製した場合には、まず高密度織物に親水加工を施し液体が通過するようにし、さらには異型断面糸の効果により、液体の展開及び通過時間を長くし、均一に通過するようにでき、長時間（数分程度）の酵素反応を行う場合でも、均一に反応をさせることができる。

[0052] （界面活性剤）

（a）層の構造体には界面活性剤を含浸させてもよい。該界面活性剤は、血液試料中の血球等の固形成分を迅速に溶血し、血液試料の展開性を向上する

ものであれば特に限定されない。例えばノニオン性界面活性剤を例示することができる。また、該界面活性剤は単独で用いても、二種以上を組み合わせ用いてもよい。

[0053] ノニオン性界面活性剤としてはポリオキシエチレン-*p*-オクチルフェニルエーテル (Triton (登録商標) 系界面活性剤等)、ポリオキシエチレン-ソルビタン-アルキルエステル (Tween (登録商標) 系界面活性剤等)、ポリオキシエチレン-アルキルエーテル (Brij 系界面活性剤等) 等が挙げられる。具体的には、十分な溶血効果、および血液試料の展開性向上効果を有するという点で、4-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)フェニル-ポリエチレングリコール (Triton (登録商標) X-100)、1, 1, 3, 3-テトラメチルブチルフェニル-ポリエチレングリコール (Triton (登録商標) X-114)、ポリオキシエチレン-*p*-ノニルフェニルエーテル (ノニデット (登録商標) P-40) が好ましい。

[0054] 前記界面活性剤の親水親油バランス (Hydrophilic Lipophilic Balance: HLB) は、10~20であることが好ましく、12~20がより好ましく、14~20がさらに好ましい。HLB値が10より小さいと、十分な溶血効果、および血液試料の展開性向上効果が得られない恐れがある。一方、HLB値が20より大きい界面活性剤は、HLBの定義上存在しない。

[0055] 前記界面活性剤の濃度は、特に限定されないが、下限は0.001 g/m²、上限は1 g/m²であることが好ましい。界面活性剤濃度が0.01 g/m²より少ないと、十分な溶血効果、および血液試料の展開性向上効果が得られない恐れがある。一方、界面活性剤濃度が1 g/m²より多くしても、効果の向上は見られない。

さらに好ましい下限は0.01 g/m²である。さらに好ましい下限は0.02 g/m²である。

さらに好ましい上限は0.1 g/m²である。さらに好ましい上限は0.06

g / m^2 である。さらに好ましい上限は $0.04 \text{ g} / \text{m}^2$ である。

[0056] ((b) 層)

(構造体)

本発明の試験片の (b) 層の構造体は特に限定されない。分析対象物と特異的に反応する試薬と、反応に応じて検出可能な変化を生じる試薬とを必要量担持でき、かつ測定試料を水平方向および垂直方向に適切に展開できれば、いかなる形態、組成のものを用いてもよい。例えば、ろ紙、布帛（織物、編物、不織布など）などの繊維構造体、多孔質膜（メンブレンフィルター）、フィルム等の自立可能なものや、高分子ゲル等の自立不可能なものが挙げられる。なお、高分子ゲル等の自立不可能なものを用いる際は、ろ紙、繊維構造体、多孔質膜（メンブレンフィルター）、フィルム等の自立可能なものを支持体として設けるのが好ましい。

[0057] (分析対象物と特異的に反応する試薬)

分析対象物と特異的に反応する試薬は、原則として (b) 層に含浸されているが、必要により、その一部を (a) 層にも含浸させてよい。前記構造体へ試薬を含浸させる方法は、特に限定されず任意の手順を用いて行うことができる。例えば、前記構造体に、上記で例示した一種以上の試薬溶液を浸漬させ、乾燥する慣用の手順を用いればよい。

[0058] 本発明が適用される測定試薬（測定方法）としては、種々の方法が既に当該技術分野において確立されている。よって、その知見を本発明に適用して、各種液体試料中の測定対象成分の量または濃度を測定することができ、その態様は特に制限されない。

そのようなものとして、酵素法による生体成分測定方法であって、特に酸化酵素－ペルオキシダーゼ－発色剤系による方法、すなわち検体中の分析対象物質を特異的に酵素反応させて過酸化水素を発生させ、これをペルオキシダーゼの存在下で発色剤と反応させて比色定量する方法を利用する方法が例示できる。

[0059] 例えば、酵素としてグルコースオキシダーゼ（GODとも表記する。）、ペ

ルオキシダーゼ（PODとも表記する。）、指示薬として過酸化水素検出試薬を含む組成をもちいてグルコースを測定する方法が有用である。

[0060] 上記グルコース測定方法において、過酸化水素検出試薬は特に限定されない。水素供与体とカプラーとの組み合わせ、具体的には水素供与体としてはN-メチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン(MAOS)、カプラーとしては4-アミノアンチピリンが挙げられる。

[0061] 上記グルコース測定方法で用いるグルコースオキシダーゼは、Aspergillus属由来のグルコースオキシダーゼ(GLO-201東洋紡株式会社製)を用いることができるがこれに限定されない。また、ペルオキシダーゼは、西洋わさびから抽出したペルオキシダーゼ(PEO-302東洋紡株式会社製)を用いることができるがこれに限定されない。

[0062] 上記グルコース測定方法において、反応層におけるグルコースオキシダーゼの含有量は特に限定されないが、好ましくは10,000~50,000 U/cm²である。さらに好ましい下限は20,000 U/cm²、さらに好ましい下限は25,000 U/cm²である。一方、さらに好ましい上限は40,000 U/cm²、さらに好ましい上限は30,000 U/cm²である。ペルオキシダーゼの含有量は特に限定されないが、好ましくは約10,000~50,000 U/cm²である。さらに好ましい下限は20,000 U/cm²、さらに好ましい下限は25,000 U/cm²である。一方、さらに好ましい上限は40,000 U/cm²、さらに好ましい上限は30,000 U/cm²である。

4-アミノアンチピリンの含有量は特に限定されないが、好ましくは30~100 μg/cm²である。さらに好ましい下限は40 μg/cm²、さらに好ましい下限は50 μg/cm²である。一方、さらに好ましい上限は90 μg/cm²、さらに好ましい上限は70 μg/cm²である。

N-メチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリンの含有量は特に限定されないが、好ましくは、60~120 μ

g / cm^2 である。さらに好ましい下限は $70 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 、さらに好ましい下限は $80 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ である。一方、さらに好ましい上限は $110 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 、さらに好ましい上限は $100 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ である。

[0063] 前記試薬においては、さらに緩衝剤を含むことが好ましい。緩衝剤としては、グルコースオキシダーゼやペルオキシダーゼの酵素反応の至適 pH 値あるいは至適 pH 値付近において緩衝能を有する緩衝剤であって、かつ、過酸化水素検出試薬のカップリング反応を阻害しない緩衝剤を選択することが好ましい。これらの条件を両立する緩衝剤としては、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、クエン酸－リン酸緩衝液、酢酸緩衝液などが挙げられる。これらの緩衝液の中でもリン酸緩衝液が好適である。

緩衝液の pH 範囲としては、pH 5.0～8.0 の範囲が好ましい。さらに好ましい pH 下限は 5.5、さらに好ましい pH 下限は 6.0 である。一方、さらに好ましい pH 上限は 7.5、さらに好ましい pH 上限は 7.0 である。

緩衝液の濃度としては、生体試料に溶解したときに 10～50 mM になるよう設定するのが好ましい。さらに好ましい下限は 20 mM、さらに好ましい下限は 25 mM である。一方、さらに好ましい上限は 40 mM、さらに好ましい上限は 35 mM である。

[0064] (分析対象物を分析する方法)

本発明の別の形態は、上記で説明した種々の試験片を用いて液体試料中の分析対象物を分析する方法である。その方法は、本発明の試験片を用いる限り特に限定されないが、例えば、図 7 および図 8 に示す測定装置 100 を用いる方法が例示される。

測定装置 100 は、試験片 200 を装着部 1 に固定でき、かつ、固定した試験片の温度制御が可能な測定装置であって、該試験片に対して、試験片の試料点着面とは反対側の面（反応層が露出している面）に向かって色素に特異的な吸収波長の光を照射でき、さらには、照射した光が反応層に反射した光を受光できるように発光素子 2 および受光素子 3 を配置してあり、得られた

測光値を経時的に測定することができるよう設計されている。

試験片を測定装置の挿入口に設置し、電源をONにして発光素子と受光素子とを連動させ、発光素子から特定波長（たとえば、4-アミノアンチピリンおよびN-メチル-N-（2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル）-3, 5-ジメチルアニリンの酸化縮合色素の場合では660nm）の光を照射させる。血液検体を試験片に点着させることで試薬との反応が開始する。分析対象物濃度は、血液検体が浸透した試験片の呈色度合いを反射光として測定することで評価することができる。

[0065] （多層試験片を含むプロダクト）

本明細書において「多層試験片を含むプロダクト」とは、使用者が分析対象物測定を実行する目的で用いる1システムのうち一部または全部を構成する製品形態であって、本発明の試験片を含むもの、本発明の試験片を使用することを前提とするもの、本発明の分析対象物分析方法の実施に使用するものなどを包含する。したがって、本発明のプロダクトは、試験片のほか、該試験片を消耗品として使用する測定機器、あるいは分析対象物測定システム全体に及ぶ。

[0066] 以下に、本発明を実施例により具体的に説明する。

実施例

[0067] 実施例1 分析用試験片の作製

（反応層の作製）

φ8mm濾紙5A（ADVANTEC社製）に下記の組成の反応試薬を含浸させ、その後、角型真空乾燥器DP83（ヤマト科学株式会社製）を用いて、40℃、1時間、0.1kPaで減圧乾燥し反応層を作製した。

グルコースオキシダーゼ（GLO-201 東洋紡株式会社製） 26U/cm²

ペルオキシダーゼ（PEO-302 東洋紡株式会社製） 26U/cm²

4-アミノアンチピリン（ナカライテスク社製） 60μg/cm²

N-メチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン（東京化成工業株式会社製） $90 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

リン酸緩衝液（ナカライテスク社製）（pH 6.5） 30 mM

トリトンX-100（ナカライテスク社製） 1% （出来上がった反応層において $0.04 \text{ g}/\text{m}^3$ ）

[0068]（展開層の作製）

表1に示すa～gの糸を種々組み合わせて各種織物を作製した。糸の素材はポリエステルとし、糸断面の形状や太さが異なる様々な形態の糸を組み合わせた。それぞれの織物の具体的な態様は後述の実施例で示す。

それぞれの織物を、 10% （w/v%）の濃度で調整した親水加工剤SR1800に浸漬させたあと、マングルで脱水し、熱風乾燥した。これを適当な大きさにカットし、展開層とした。

その後、展開層にTriton（登録商標）X-100を $0.0 \text{ g}/\text{m}^2$ 、 $0.02 \text{ g}/\text{m}^2$ 、 $0.04 \text{ g}/\text{m}^2$ の濃度になるように含浸し、 30°C で1時間、 0.1 KPa で減圧乾燥し界面活性剤を含浸した展開層を作製した。

[0069] [表1]

糸番号	試験片			
	素材	糸断面	フィラメント	デシテックス
糸a	ポリエステル	丸形	24	56
糸b	ポリエステル	丸形	216	78
糸c	ポリエステル	丸形	48	48
糸d	ポリエステル	Y字形	24	56
糸e	ポリエステル	Y字形	24	84
糸f	ポリエステル	丸形	48	22
糸g	ポリエステル	Y字形	18	22

[0070]（多層試験片の作製）

前記展開層を前記反応層の上に配置し積層することで分析用多層試験片を作製した。

[0071] 実施例2 血液検体の調整

全血を $3,000 \text{ rpm}$ 、5分間遠心分離し、血球と血漿に分離した後、こ

これらの割合を変えて混合することでヘマトクリット値が30%、40%、55%の3水準の血液検体を調整した。ヘマトクリット値が高いほど液体試料の粘度が高い。

[0072] 実施例3 血液検体の展開性測定

図7および図8に示す測定装置100を用いて、本発明の試験片における血液検体の展開性を評価した。測定に用いた多層試験片を表2に示す。

なお、表2における「展開性」欄の記号は、○、△、×の順に、各方向の展開性がより速いことを示している。

測定装置100は、試験片200を装着部1に固定でき、かつ、固定した試験片の温度制御が可能な測定装置であって、該試験片に対して、試験片の試料点着面とは反対側の面（反応層が露出している面）に向かって所望の波長の光を照射でき、さらには、照射した光が反応層に反射した光を受光できるように発光素子2および受光素子3を配置しており、得られた測光値を経時的に測定することができる。

実施例1で作製した多層試験片を予め37℃に調整した測定装置の挿入口に設置した。電源スイッチをONにすることにより、発光素子と受光素子とを連動させ、発光素子から波長470nmの光を照射させ測定を開始した。

波長470nmでの反射光測定は、試料中のグルコースが酵素反応することにより生じる色素の影響を受けないので血液そのものの色を反映する。したがって、試験片の展開層に点着した血液検体が展開して、反応層の光を反射する面に達するまでの挙動を把握することが出来る。

測定開始してから10秒後に実施例2で調整したヘマトクリット値の異なる血液検体を10μL用いて試験片に点着させた。血液検体の展開性は、血液検体が浸透した試験片の色調の変化を反射光の変化として測定することで評価した。

[0073]

[表2]

実験番号	試験片					親水加工	展開性		対応図
	組み合わせ		密度		Y形比率		Z軸速さ	XY軸速さ	
	経糸	緯糸	経糸	緯糸	%				
1	糸a	糸a	89	76	0	有り	×	△	図1
2	糸b	糸b	89	76	0	有り	×	△	図2
3	糸c	糸c	89	76	0	有り	×	○	図3
4	糸a	糸d	99	69	41.1	有り	○	○	
5	糸a	糸d	89	76	46.1	有り	○	○	図4
6	糸a	糸e	76	89	54.0	有り	○	○	
7	糸a	糸e	69	99	58.9	有り	○	○	
8	糸e	糸e	89	87	100	有り	○	○	図5
9	糸f	糸g	190	179	47.1	有り	○	○	図6

[0074] 図1～6および表2に血液検体の展開性を測定した結果を示す。

図1は、反応層の上層に展開層として一般的な丸型断面糸aを経糸（経糸）89（本／2.54cm）、緯糸（緯糸）76（本／2.54cm）の密度で編んだ試験片（異形断面糸の割合0%）を用いた場合の反射吸光度の変化を示す（実験番号1）。ヘマトクリット40%、55%の検体では点着後の反射吸光度の立ち上がりが遅れた。丸形断面糸からなる織物の血液検体に対する吸水性の悪さが示唆された。

点着から反射吸光度が立ち上がるまでの時間とヘマトクリット値とは必ずしも比例的な関係を示さず、試料の展開にばらつきがあることがわかった。

また、ヘマトクリット55%の検体ではその後急速に吸光度が低下した。これは、液体試料が点着箇所から同心円状にドーナツのように拡散するために、ドーナツの中心部分にあたる検出部分において試料の均一な展開ができなくなっていることを示している。

[0075] 図2は、展開層を丸型断面糸aより太い糸bを経糸89（本／2.54cm）、緯糸76（本／2.54cm）の密度で編んだ試験片（異形断面糸の割合0%）を用いた場合の反射吸光度の変化を示す（実験番号2）。

また、図3は、展開層を丸型断面糸aより細い糸cを経糸89（本／2.54cm）、緯糸76（本／2.54cm）の密度で編んだ試験片（異形断面糸の割合0%）を用いた場合の反射吸光度の変化を示す（実験番号3）。

いずれの場合も、点着後の反射吸光度の立ち上がりの遅れや、立ち上がり後の吸光度の不安定な推移が見られた。

[0076] 図4は、経糸に丸型断面糸a、緯糸にY字形断面糸dを用い、経糸89（本

／2.54 cm)、緯糸76 (本／2.54 cm) の密度で編んだ織物 (異形断面糸の割合46.1%) を展開層に使用した試験片を用いた場合の反射吸光度の変化を示す (実験番号5)。反射吸光度は血液検体を点着後に速やかに増加し、また、立ち上がり後の吸光度の推移も比較的安定していた。これは、血液検体が十分に展開されていることを示している。

このほか、経糸 (丸型断面糸 a) 99 (本／2.54 cm)、緯糸 (Y字形断面糸 d) 69 (本／2.54 cm) の密度で編んだ織物 (異形断面糸の割合41.1%) を展開層に使用した試験片を用いた場合においても、反射吸光度は血液検体を点着後に速やかに増加し、また、立ち上がり後の吸光度の推移も比較的安定していた。(表2)

[0077] 図5は、経糸、緯糸ともにY字形断面糸 e を用い、経糸89 (本／cm²)、緯糸87 (本／cm²) の密度で編んだ織物 (異形断面糸の割合100%) を展開層に用いた織物を展開層に使用した試験片を用いた場合の反射吸光度の変化を示す (実験番号8)。

反射吸光度は血液検体を点着後に速やかに増加し、また、立ち上がり後の吸光度の推移も比較的安定していた。

このほか、経糸 (丸型断面糸 a) 76 (本／2.54 cm)、緯糸 (Y字形断面糸 e) 89 (本／2.54 cm) の密度で編んだ織物 (異形断面糸の割合54.0%) を展開層に使用した試験片を用いた場合、および、経糸 (丸型断面糸 a) 99 (本／2.54 cm)、緯糸 (Y字形断面糸 e) 69 (本／2.54 cm) の密度で編んだ織物 (異形断面糸の割合58.9%) を展開層に使用した試験片を用いた場合においても、それぞれ、反射吸光度は血液検体を点着後に速やかに増加し、また、立ち上がり後の吸光度の推移も比較的安定していた。(表2)

[0078] 図6は、経糸に丸型断面糸 f、緯糸にY字形断面糸 g を用い、経糸190 (本／2.54 cm)、緯糸179 (本／2.54 cm) の密度で編んだ織物 (異形断面糸の割合47.1%) を展開層に使用した試験片を用いた場合の反射吸光度の変化を示す (実験番号9)。反射吸光度は血液検体を点着後

に速やかに増加し、また、立ち上がり後の吸光度の推移も比較的安定していた。

[0079] 以上のことから、一般的な丸型断面糸との組み合わせにおいて、Y字形断面糸を40%以上織り込むことが、グルコース測定に必要な、迅速かつ正確な測定に適した試料展開性を有する試験片への適用に好ましいことがわかった。

[0080] 実施例4 血液試料の調整

全血を3,000rpm、5分間遠心分離し、血球と血漿に分離した後、これらの割合を変えて混合することでヘマトクリット値が30、35、40、45および55%の血液試料を調整した。ヘマトクリット値が高いほど生体試料の粘度が高い。これらにグルコース溶液を混合することでグルコース濃度の異なる17水準の血液試料を調整した。これらの血液試料を表3に示す。

[0081]

[表3]

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)
1	30	74
2	35	77
3	40	75
4	45	79
5	35	122
6	45	126
7	35	213
8	45	249
9	35	361
10	45	414
11	55	70
12	55	75
13	55	129
14	55	236
15	55	244
16	55	392
17	55	434

[0082] 実施例 5 血液試料の展開性測定

図 7 および図 8 に示す測定装置 100 を用いて、実施例 3 と同様にして本発明の試験片における血液試料の展開性を評価した。血液試料は実施例 4 で作製した試料番号 1（ヘマトクリット値 30%、血中グルコース濃度 74 mg/dL）、試料番号 11（ヘマトクリット値 55%、血中グルコース濃度 70 mg/dL）を用いた。測定に用いた多層試験片を表 4 に示す。

結果を表 4 に示す。表 4 における「血液試料の展開性」の欄の記号は、○、×の順に、各方向の展開性がより速いことを示している。試料番号 1 の血液試料の場合、実験番号 1～9 の試験片の血液試料の展開性は良好であった。ヘマトクリット値が高い試料番号 11 の血液試料の場合、実験番号 1～3 の試験片の血液試料の展開性は良くなかったが、実験番号 4～9 の試験片の血

液試料の展開性は良好であった。糸 d、糸 e または糸 g、すなわち、Y 字型断面の糸を使用して作製した試験片を用いた場合、ヘマトクリット値が高い試料であっても試料の展開性が良好であることが示された。

[0083] [表4]

実験 番号	試験片							血液試料の展開性			
	組み合わせ		密度		Y 形比率 %	親水 加工	TritonX-100 濃度(g/m ²)	試料番号1		試料番号11	
	経糸	緯糸	経糸	緯糸				Z軸速さ	XY軸速さ	Z軸速さ	XY軸速さ
1	糸a	糸a	89	76	0	有り	0.04	○	○	×	×
2	糸b	糸b	89	76	0	有り	0.04	○	○	×	×
3	糸c	糸c	89	76	0	有り	0.04	○	○	×	×
4	糸a	糸d	99	69	41.1	有り	0.04	○	○	○	○
5	糸a	糸d	89	76	46.1	有り	0.04	○	○	○	○
6	糸a	糸e	76	89	54.0	有り	0.04	○	○	○	○
7	糸a	糸e	69	99	58.9	有り	0.04	○	○	○	○
8	糸c	糸e	89	87	100	有り	0.04	○	○	○	○
9	糸f	糸g	190	179	47.1	有り	0.04	○	○	○	○

[0084] 実施例 6 血中グルコース濃度の測定

実施例 4 で作製した 17 水準の血液試料と実施例 5 で作製した実験番号 8 の試験片を用いて血液試料中の血中グルコース濃度を測定した。下記に示すように、展開層は Triton (登録商標) X-100 濃度が異なる以外は実施例 1 に記載された作製方法と同じ方法で作製されたものを使用し、界面活性剤が血中グルコース濃度の測定精度に及ぼす影響を評価した。

血中グルコース濃度は色素に特異的な吸収波長の光を照射し、反射光を測定することで血中グルコース濃度を測定することができる。色素はグルコース濃度依存的に青色に呈色するので、波長 660 nm の光を照射させて測定することができる。

実施例 5 と同様に測定装置 100 を用いてグルコース濃度を測定した。測定開始してから 10 秒後に血液試料を 10 μ L 用いて試験片に点着させ、血液試料を点着してから 5 秒間の吸光度の増加速度を測定した。

[0085] (1) 展開層の Triton (登録商標) X-100 の濃度が 0.0 g/m² 試験片の測定精度

ヘマトクリット値 (30~45%) と血中グルコース濃度 (74~249 mg/dL) の 5 水準 (試料番号 1、3、5、6、8) の血液試料を用いて、上述の方法により血中グルコース濃度を測定した。測定結果を図 11 (■) に示す。横軸に血中グルコース濃度、縦軸に吸光度の増加速度とした場合の

プロットは良好な直線性を示し、直線の近似式は $Y = 0.0013X + 0.0118$ であった。

続いてヘマトクリット値が55%で血中グルコース濃度（129、244 mg/dL）の異なる2水準（試料番号13、15）の血液試料を用いて同様に血中グルコース濃度を測定した。測定結果を図11（○）に示す。近似式より得られる理論値に対する実測値の比率は表5に示すように試料番号13が72.4%、試料番号15が53.7%であった。ヘマトクリット値の高い試料のプロットは先に作成した直線よりも低い傾向を示し大きく乖離した。

[0086] [表5]

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec
1	30	74	0.102
3	40	75	0.108
5	35	122	0.181
6	45	126	0.181
8	45	249	0.335

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec		②/①*100 (%)
			①理論値	②実測値	
13	55	129	0.180	0.130	72.4
15	55	244	0.329	0.177	53.7

[0087] (2) 展開層のTriton（登録商標）X-100の濃度が0.02 g/m²試験片の測定精度

ヘマトクリット値（30～45%）と血中グルコース濃度（77～414 mg/dL）の5水準（試料番号2、4、7、9、10）の血液試料を用いて、上述の方法により血中グルコース濃度を測定した。測定結果を図12（■）に示す。横軸に血中グルコース濃度、縦軸に吸光度の増加速度とした場合のプロットは良好な直線性を示し、直線の近似式は $Y = 0.0007X + 0.0122$ であった。

続いてヘマトクリット値が55%で血中グルコース濃度（70、75、236、392、434 mg/dL）の異なる5水準（試料番号11、12、14、16、17）の血液試料を用いて同様に血中グルコース濃度を測定した。測定結果を図12（○）に示す。近似式より得られる理論値に対する実測値の比率は表6に示すように試料番号11が49.0%、試料番号12が5

6. 0%、試料番号14が103.3%、試料番号16が88.9%、試料番号17が72.0%であった。ヘマトクリット値の高い試料のプロットの中で試料番号14は先に作成した直線と同等であったが、他の試料は低い傾向を示し大きく乖離した。

[0088] [表6]

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec
2	35	77	0.052
4	45	79	0.062
7	35	213	0.181
9	35	361	0.254
10	45	414	0.280

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec		②/①*100 (%)
			①理論値	②実測値	
11	55	70	0.061	0.030	49.0
12	55	75	0.065	0.036	56.0
14	55	236	0.177	0.183	103.3
16	55	392	0.287	0.255	88.9
17	55	434	0.316	0.227	72.0

[0089] (3) 展開層のT r i t o n (登録商標) X-100の濃度が0.04 g/m²試験片の測定精度

(2)と同様の血液試料を用いて、上述の方法により血中グルコース濃度を測定した。

測定結果を図13 (■)に示す。横軸に血中グルコース濃度、縦軸に吸光度の増加速度とした場合のプロットは良好な直線性を示し、直線の近似式は $Y = 0.0007X + 0.0125$ であった。

続いてヘマトクリット値が55%で血中グルコース濃度(70、75、236、392、434 mg/dL)の異なる5水準(試料番号11、12、14、16、17)の血液試料を用いて同様に血中グルコース濃度を測定した。測定結果を図13 (○)に示す。近似式より得られる理論値に対する実測値の比率は表7に示すように試料番号11が91.1%、試料番号12が92.3%、試料番号14が98.4%、試料番号16が99.3%、試料番号17が100.2%であった。これらのヘマトクリット値の高い試料のプロットはいずれも先に作成した直線と同等であった。

[0090]

[表7]

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec
2	35	77	0.063
4	45	79	0.063
7	35	213	0.188
9	35	361	0.251
10	45	414	0.315

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec		②/① * 100 (%)
			①理論値	②実測値	
11	55	70	0.062	0.056	91.1
12	55	75	0.065	0.060	92.3
14	55	236	0.178	0.175	98.4
16	55	392	0.287	0.285	99.3
17	55	434	0.316	0.317	100.2

[0091] (4) 展開層のT r i t o n (登録商標) X-100の濃度が0.06 g / m²試験片の測定精度

(2)と同様の血液試料を用いて、上述の方法により血中グルコース濃度を測定した。

測定結果を図14 (■)に示す。横軸に血中グルコース濃度、縦軸に吸光度の増加速度とした場合のプロットは良好な直線性を示し、直線の近似式は $Y = 0.0007X + 0.0126$ であった。

続いてヘマトクリット値が55%で血中グルコース濃度(70、75、236、392、434 mg / dL)の異なる5水準(試料番号11、12、14、16、17)の血液試料を用いて同様に血中グルコース濃度を測定した。測定結果を図14 (○)に示す。近似式より得られる理論値に対する実測値の比率は表8に示すように試料番号11が97.4%、試料番号12が95.2%、試料番号14が98.4%、試料番号16が103.8%、試料番号17が102.7%であった。これらのヘマトクリット値の高い試料のプロットはいずれも先に作成した直線と同等であった。

[0092]

[表8]

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec
2	35	77	0.064
4	45	79	0.066
7	35	213	0.190
9	35	361	0.262
10	45	414	0.322

試料番号	ヘマトクリット値(%)	血中グルコース濃度(mg/dL)	Δ Abs/sec		②/① * 100 (%)
			①理論値	②実測値	
11	55	70	0.062	0.060	97.4
12	55	75	0.065	0.062	95.2
14	55	236	0.178	0.175	98.4
16	55	392	0.287	0.298	103.8
17	55	434	0.316	0.325	102.7

[0093] 以上のことから、一般的な丸型断面糸との組み合わせにおいて、Y字形断面糸を40%以上織り込むことと、これらの糸で構成された布帛にTriton X-100の濃度が0.04g/m²以上になるように含浸することが、グルコース測定に必要な、迅速かつ正確な測定に適した試料展開性を有する試験片への適用に好ましいことがわかった。

産業上の利用可能性

[0094] 本発明の多層状分析試験片は生体試料中の分析対象物を迅速かつ簡便に定量することができる。

符号の説明

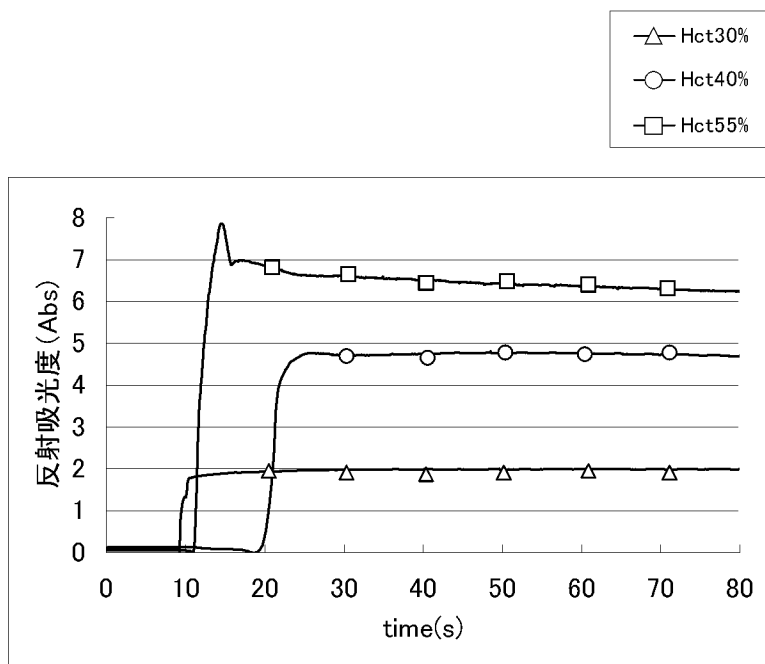
- [0095] 100 測定装置
- 200 試験片 (200aも同じ)
- 1 試験片装着部 (1aも同じ)
- 2 発光部 (2aも同じ)
- 3 受光部 (3aも同じ)
- 4 演算部
- 5 血液検体点着部
- 6 電源スイッチ
- 7 表示モニター

請求の範囲

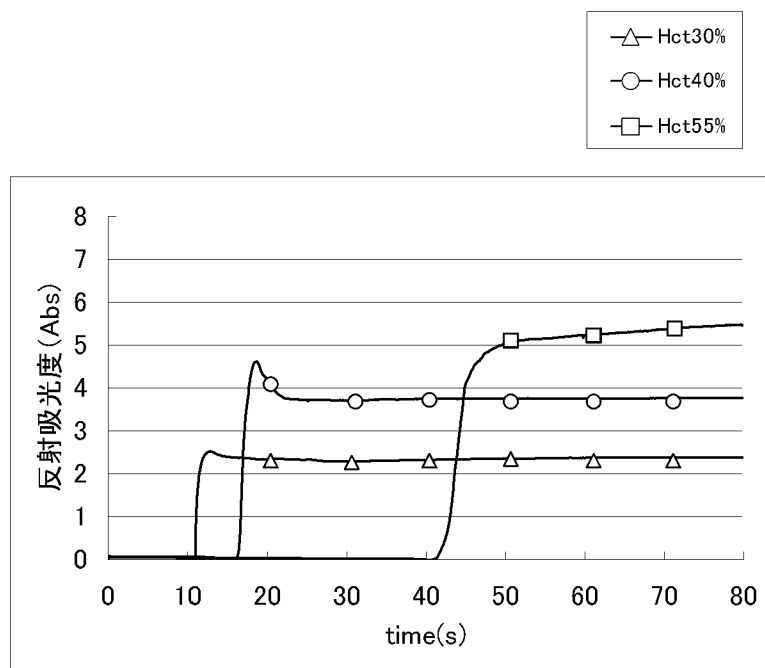
- [請求項1] 液体試料中の分析対象物を分析するための多層試験片であって、少なくとも下記（a）層と（b）層とが、試料点着面から（a）層／（b）層の順に積層されている多層試験片。
- （a）層：親水性の繊維で作られた布帛であって、前記繊維に異形断面糸を含む布帛を含む構造体
- （b）層：分析対象物と特異的に反応する試薬が含浸された構造体
- [請求項2] 分析対象物がグルコースである、請求項1に記載の試験片。
- [請求項3] （a）層において布帛が界面活性剤を含浸している、請求項1または2に記載の試験片。
- [請求項4] （a）層の構造体が織物でできている、請求項1から3のいずれかに記載の試験片。
- [請求項5] （a）層における異形断面糸の横断面形状が、三角形、四角形、五角形、六角形、Y字形、T字形、H字形、U字形、W字形、菱形および星形からなる群の中から選ばれたいずれかである、請求項1から4のいずれかに記載の試験片。
- [請求項6] （a）層における繊維が、ポリエステル類、ポリエーテルスルホン類、ポリ塩化ビニル類、ポリウレタン類、アクリル類およびナイロン類からなる群の中から選ばれたいずれかを親水加工したものである、請求項1から5のいずれかに記載の試験片。
- [請求項7] （a）層において、繊維の親水加工の少なくとも一部が親水性ポリマーでなされている、請求項1から6のいずれかに記載の試験片。
- [請求項8] 親水性ポリマーがポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリエステルポリエーテルブロック共重合体からなる群の中から選ばれたいずれかである、請求項7に記載の試験片。

- [請求項9] (a) 層における界面活性剤が、ノニオン性界面活性剤である、請求項3から8のいずれかに記載の試験片。
- [請求項10] 界面活性剤が4-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)フェニル-ポリエチレングリコール (T r i t o n (登録商標) X-100)、1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル フェニル-ポリエチレングリコール (T r i t o n (登録商標) X-114)、ポリオキシエチレン p-ノニルフェニルエーテル (ノニデット (登録商標) P-40) からなる群の中から選ばれたいずれかである、請求項3から9のいずれかに記載の試験片。
- [請求項11] 界面活性剤の含有量が0.02~0.06 g/m²であることを特徴とする、請求項3から10のいずれかに記載の試験片。
- [請求項12] (a) 層の構造体を構成する異形断面糸の割合が、40%以上100%以下である、請求項1から11のいずれかに記載の試験片。
- [請求項13] (a) 層の構造体が織物であって、該織物を構成する経糸と緯糸の本数が、それぞれ、経糸60~200本/2.54 cm、緯糸60~200本/2.54 cmの組合せである、請求項4から12のいずれかに記載の試験片。
- [請求項14] 請求項1から13のいずれかに記載の試験片を用いて液体試料中のグルコースを分析する方法。
- [請求項15] 請求項1から13のいずれかに記載の試験片を含むプロダクト。

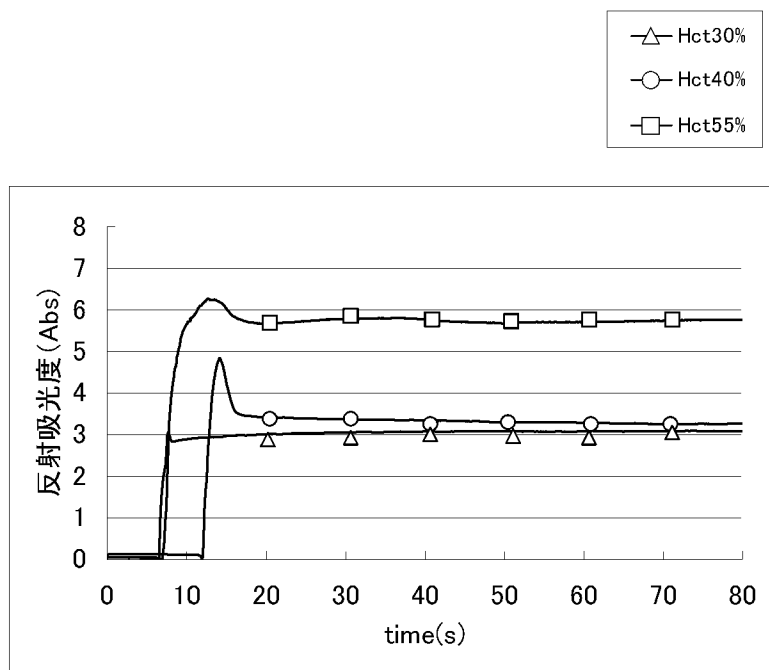
[図1]



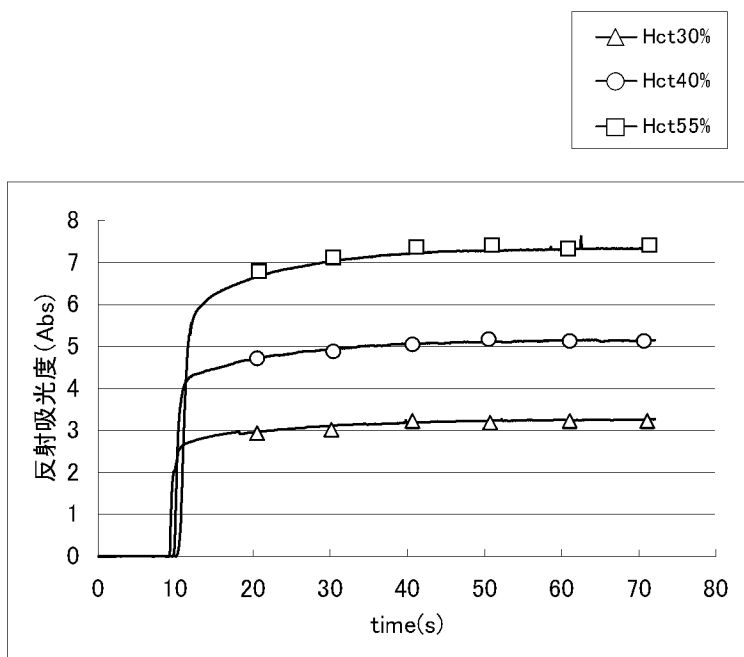
[図2]



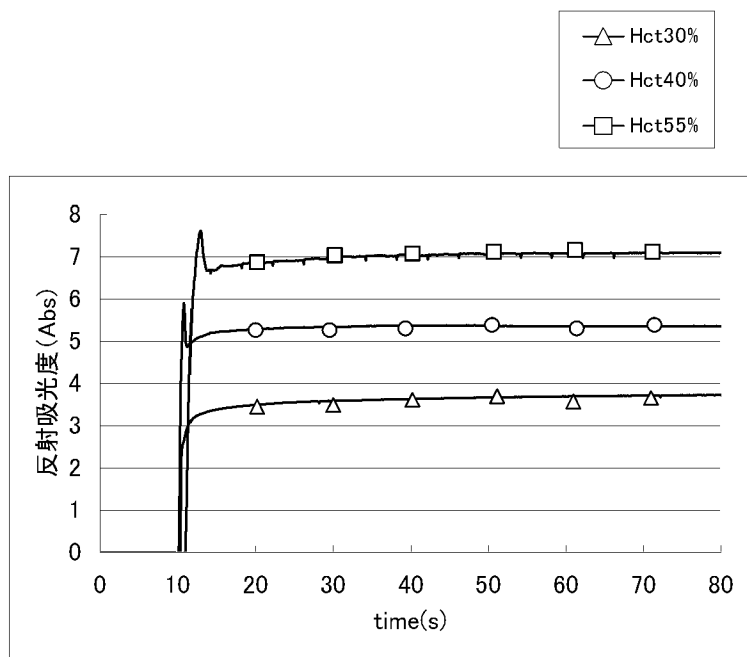
[図3]



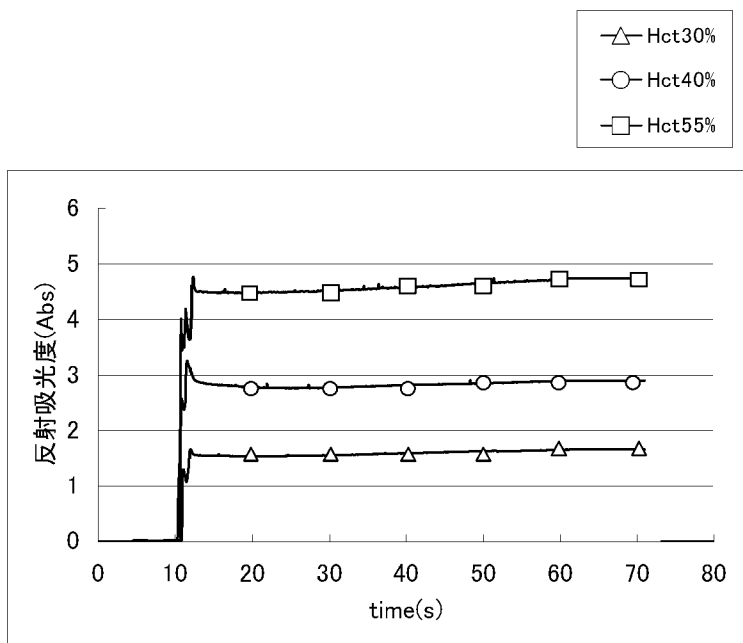
[図4]



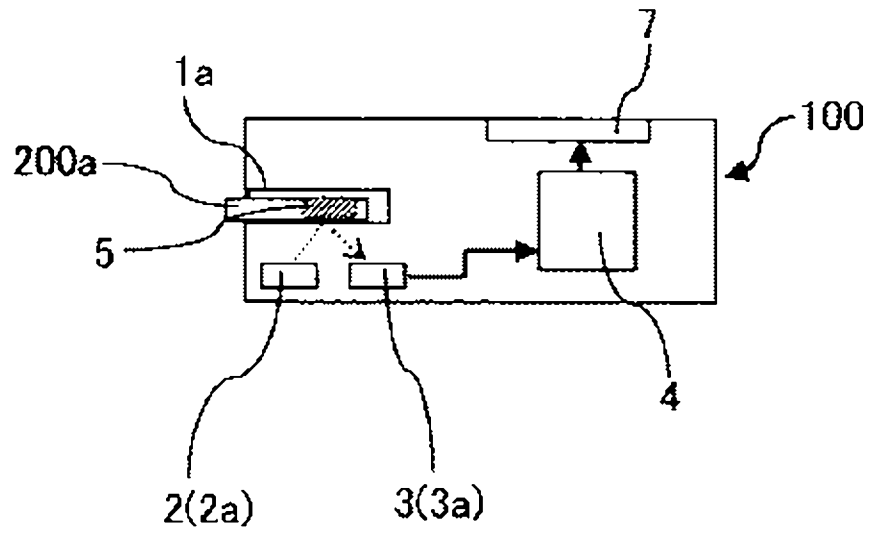
[図5]



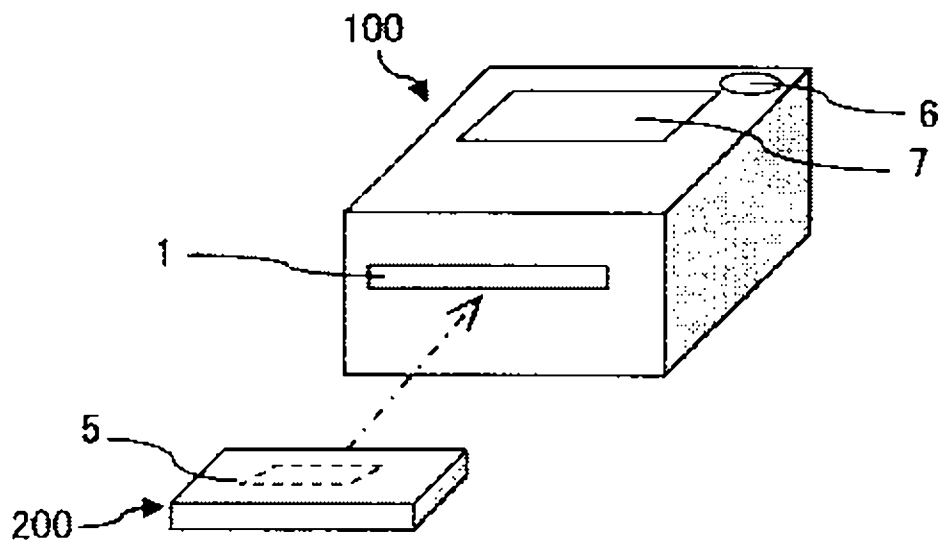
[図6]



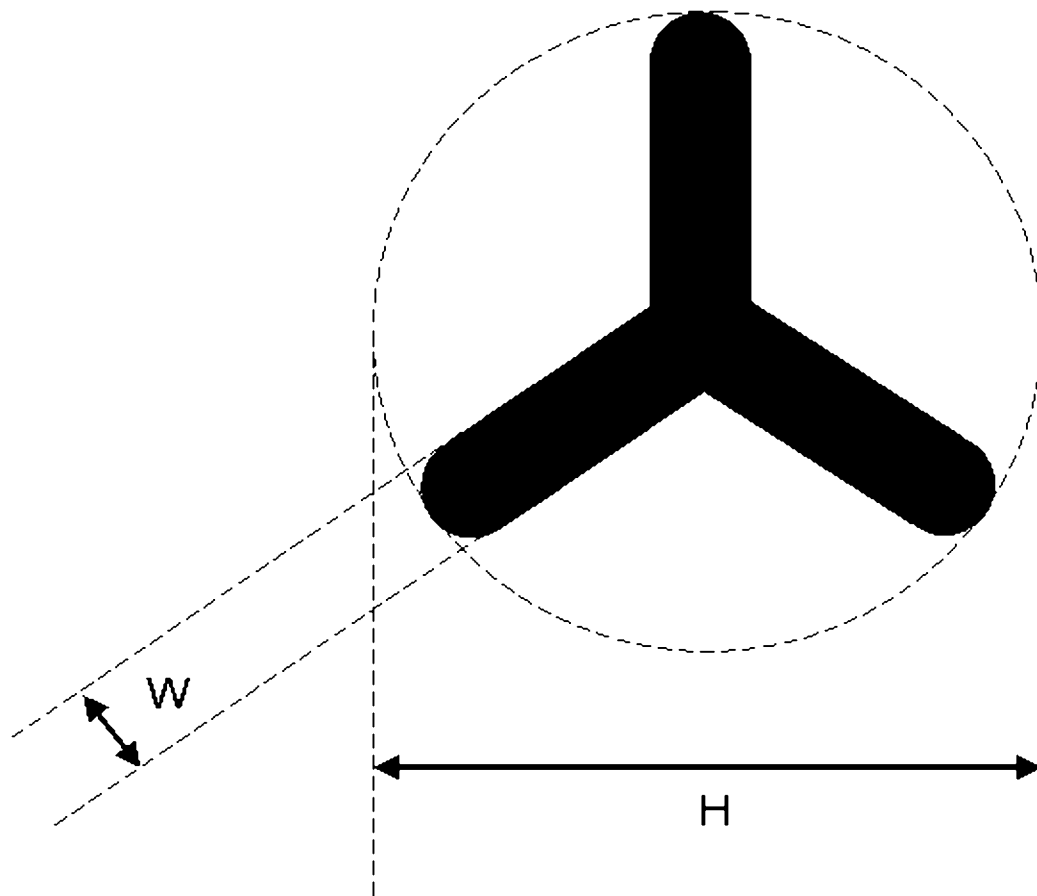
[図7]



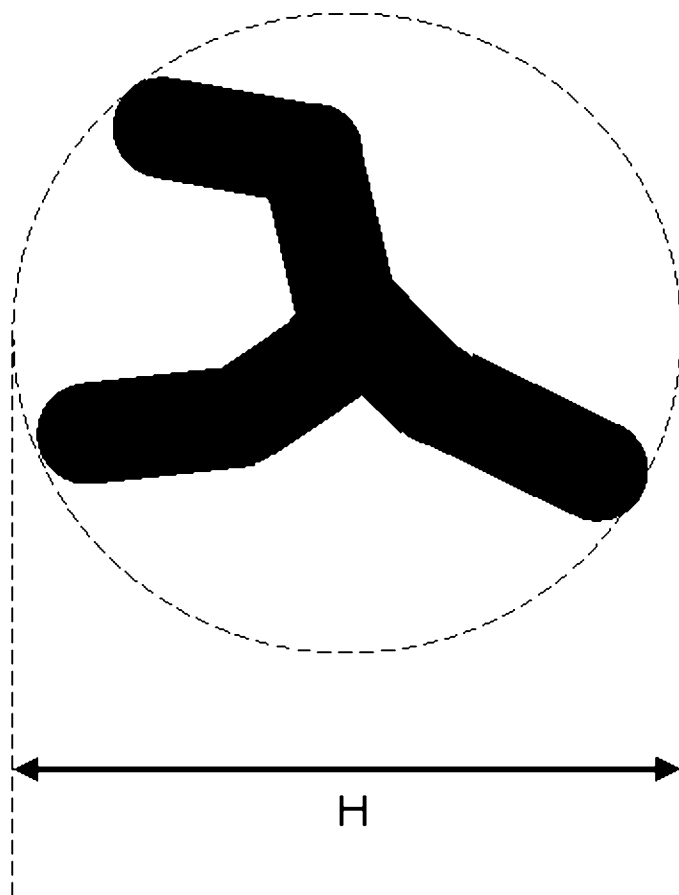
[図8]



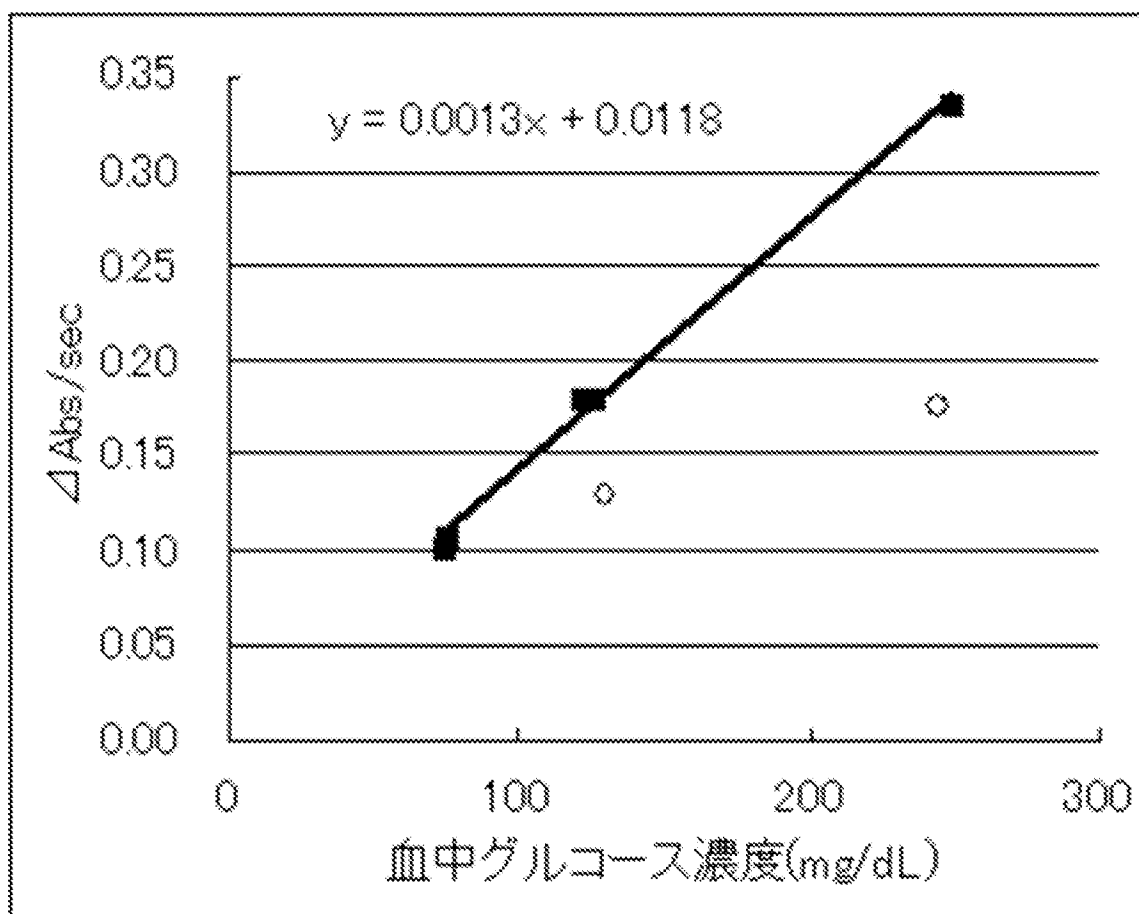
[図9]



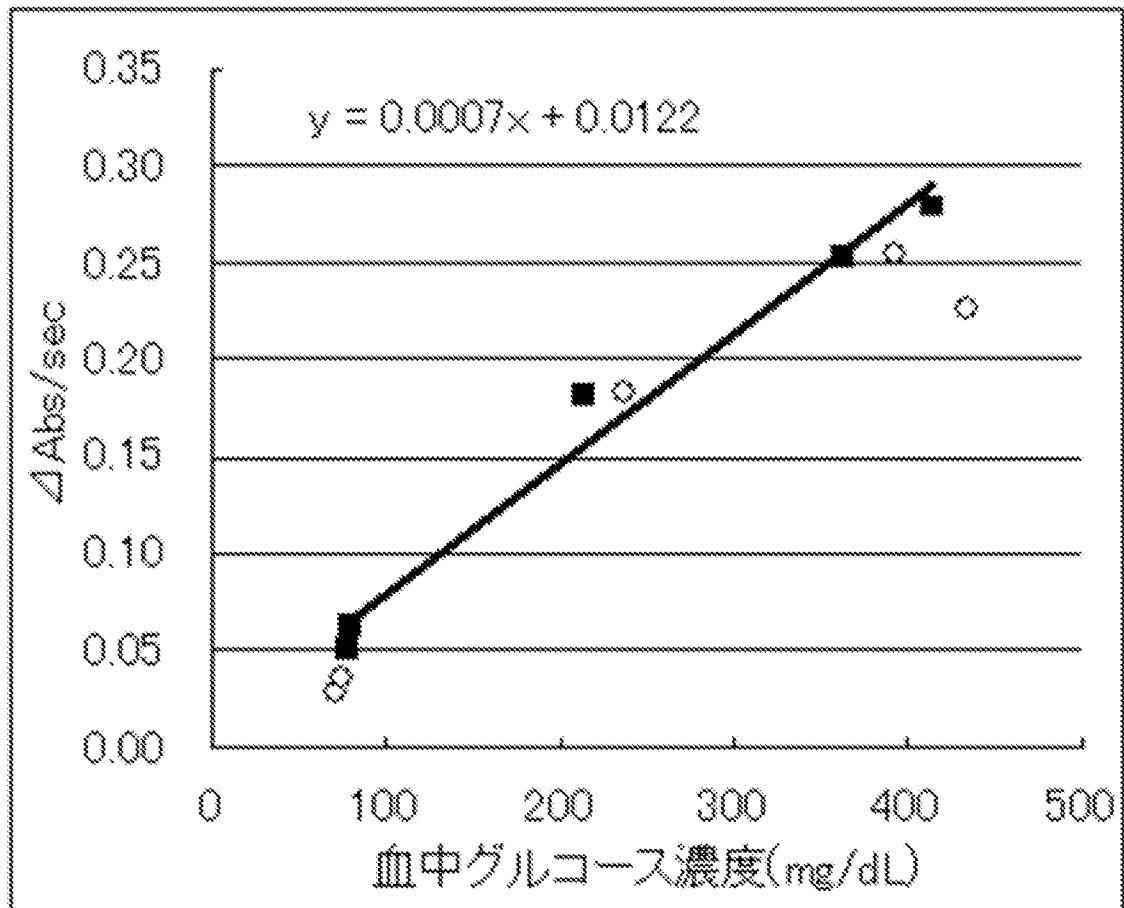
[図10]



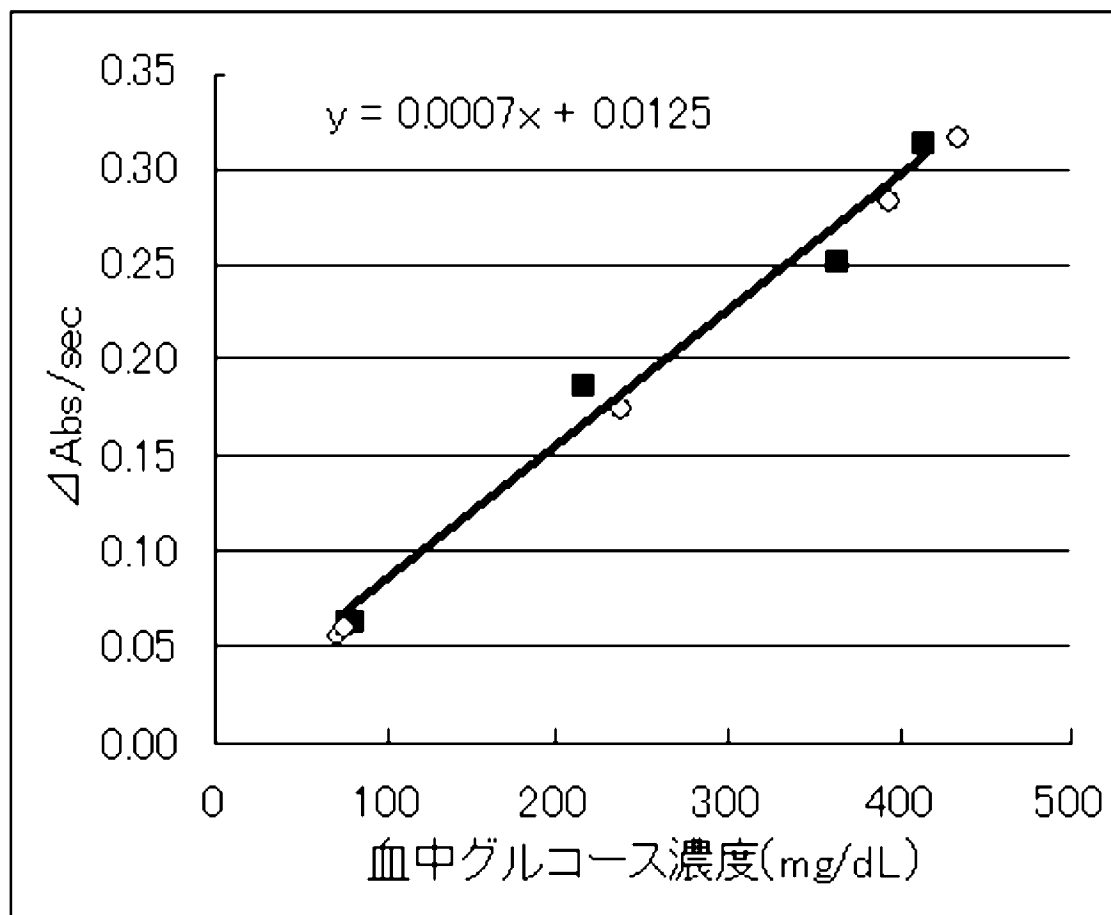
[図11]



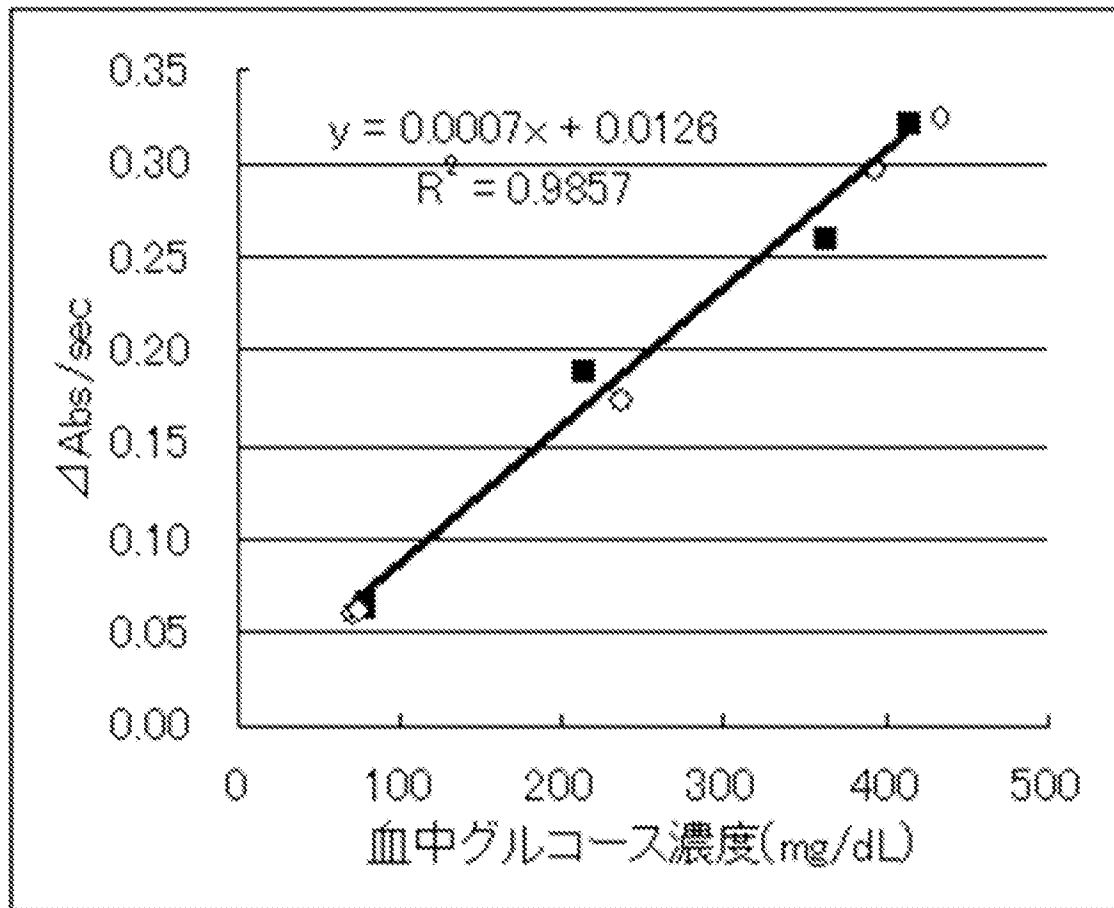
[図12]



[図13]



[図14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/079524

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/66(2006.01)i, C12Q1/26(2006.01)i, G01N33/52(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/66, C12Q1/26, G01N33/52

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2579222 B2 (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 05 February 1997 (05.02.1997), claim 1; page 1, right column, lines 2 to 11; page 3, left column, line 17; page 3, right column, lines 45 to 48; page 6, left column, lines 42 to 43 & US 5788942 A & EP 423784 A2 & DE 69029556 D & DE 69029556 T	1-15
A	JP 5-232108 A (Kanebo, Ltd.), 07 September 1993 (07.09.1993), paragraph [0015] (Family: none)	1-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
25 December, 2013 (25.12.13)

Date of mailing of the international search report
14 January, 2014 (14.01.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/079524

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 5-223807 A (Unitika Ltd.), 03 September 1993 (03.09.1993), paragraphs [0002], [0012] (Family: none)	1-15
A	JP 5-18953 A (Konica Corp.), 26 January 1993 (26.01.1993), paragraph [0014] (Family: none)	1-15

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N33/66(2006.01)i, C12Q1/26(2006.01)i, G01N33/52(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N33/66, C12Q1/26, G01N33/52

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 3 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 3 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 3 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2579222 B2（富士写真フイルム株式会社）1997.02.05, 【請求項1】、1 ページ右欄 2 行～11 行、3 ページ左欄 17 行、3 ページ右欄 45 行～48 行、6 ページ左欄 42～43 行 & US 5788942 A & EP 423784 A2 & DE 69029556 D & DE 69029556 T	1 - 1 5
A	JP 5-232108 A（鐘紡株式会社）1993.09.07, 【0 0 1 5】（ファミリーなし）	1 - 1 5

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 5 . 1 2 . 2 0 1 3

国際調査報告の発送日

1 4 . 0 1 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官（権限のある職員）

三木 隆

2 J

3 3 1 2

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 5-223807 A (ユニチカ株式会社) 1993. 09. 03, 【0 0 0 2】【0 0 1 2】 (ファミリーなし)	1 - 1 5
A	JP 5-18953 A (コニカ株式会社) 1993. 01. 26, 【0 0 1 4】 (ファ ミリーなし)	1 - 1 5