

# Readout

HORIBA Technical Reports

特集 量から質へ臨床検査

March 1996 ■ No.12

---

## 全自動化学発光酵素免疫測定装置 ルミノマスター™LEIA-2000 —構成と機能—

Charastaristics of Fully Automated Chemiluminescent  
Enzyme Immunoassay Equipment Luminomaster  
—Equipment Construction and Specifications—

河野 猛・澤田 善行

Takeshi KOHNO, Yoshiyuki SAWADA

(Pages35-42)

---

株式会社 堀場製作所



# 全自動化学発光酵素免疫測定装置 ルミノマスター™ LEIA-2000 —構成と機能—

## Charastaristics of Fully Automated Chemiluminescent Enzyme Immunoassay Equipment Luminomaster —Equipment Construction and Specifications—

河野 猛・澤田 喜行

Takeshi KOHNO, Yoshiyuki SAWADA

### 【要旨】

免疫血清検査における自動分析装置の運用上の課題には、用途別専用分析装置の集約化、検査結果報告時間の短縮、オペレーター作業の省力化、データ信頼性の確保などがある。

(株)堀場製作所では、全自動化学発光酵素免疫測定装置ルミノマスター™を三共(株)と共同で開発した。本装置の特長は、化学発光反応を使用したことによる、免疫反応時間の短縮と高感度化、幅広い検出濃度範囲、ランダムアクセス機能、自動希釈・自動再検機能などがあげられる。さらに、検体自動搬送システムへの接続により、大規模病院での省力化、検査時間の短縮、検体からの感染防止などに役立つものと期待されている。

本稿では、ルミノマスター™の装置構成を中心に、特長的な機能について報告する。

### Abstract

Various problems are met in operating automatic analysis equipment in immunoassay: centralization of analysis equipment for specific applications, the reduction of assay result report time, saving operator labor, and the assurance of data reliability.

HORIBA has developed the fully automated chemiluminescent enzyme immunoassay equipment Luminomaster™ jointly with Sankyo Co., Ltd. The Luminomaster features a reduced immuno reaction time and higher sensitivity achieved by use of a chemiluminescent reaction, a wider concentration detection range, a random access function, automatic dilution and auto re-assay functions, to mention but a few. Also, it is expected that connection to an automatic sample transfer system will reduce labor in large hospitals, reduce assay time, and help prevent contamination from samples.

This paper mainly describes a configuration of the Luminomaster™ and its features.

## 1. はじめに

検体検査装置の自動化・システム化は、これまでの用手測定から、自動化測定、検体情報のオンライン化、検体搬送システムとの接続など、検査業務のなかでも処理検体数の多い生化学、血液学、尿一般検査の部門から着手されてきている。

一方、免疫血清学検査は、酵素を標識物とした酵素免疫アッセイ (EIA)<sup>1)</sup> が広く用いられるようになり、生化学検査と同様に迅速検査・報告が可能となった。現在は、酵素活性の検出に蛍光反応<sup>2)</sup> や、化学発光反応<sup>3)</sup> を利用して、高感度化をはかったり、自動化によって操作手順を簡略化した、各種自動分析装置が普及している。

ルミノマスター™ LEIA-2000 (以下、ルミノマスターと呼ぶ) は、化学発光反応を利用したEIA専用試薬を使用する全自動測定装置で、高感度化、完全自動化、自由な項目選択 (ランダムアクセス機能) を特長とする。さらに、今後の検査室ニーズのひとつである検体搬送システムにおいても、EIA自動分析装置としては、はじめて接続させ、すでに国内の臨床検査の現場で稼動している。

本稿では、ルミノマスターの特長、装置構成、評価結果、さらに、検体搬送システムへの対応について報告する。

## 2. 装置の概要

### 2.1 装置の構成と特長

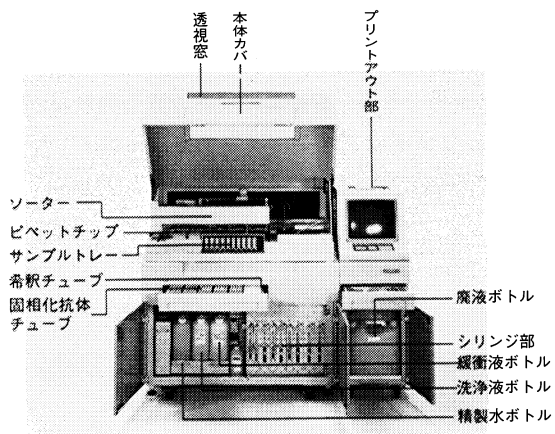
ルミノマスターは、メインコンピュータ、検体測定条件等の入力キーボード、プリンター、12インチカラーCRTからなる操作部と、検体架設部、試薬保管庫、分注器、インキュベーター、化学発光検出部からなる分析部とから構成されている。操作部と分析部は分離することもできる。また、外部のホストコンピュータとは、操作部のメインコンピュータより通信する。

ルミノマスターには、次のような特長がある。

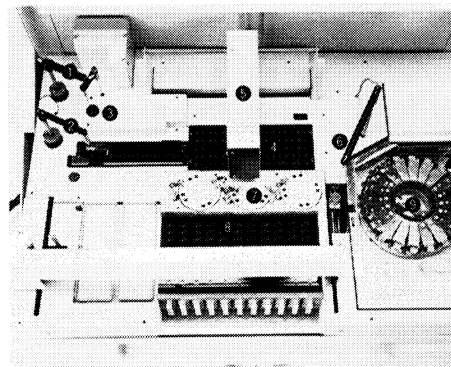
- ①最大20の検査項目を自由に選択 (ランダムアクセス機能)
- ②ディスプレイブルチップの採用による検体間の汚染防止
- ③免疫及び発光反応試薬の装置内冷蔵保存
- ④広い測定濃度範囲
- ⑤あらかじめ設定された倍率に検体を希釈する自動希釈機能
- ⑥オーバースケールした検体を適切な希釈倍率で再測定する自動再検査
- ⑦前回の測定値を判断して適切な希釈倍率で測定する前値希釈測定

このように、検体前処理の自動化、低ランニングコスト化などを実現させるための機能がある。

ルミノマスターの外観図を図1に、主な仕様を表1に示す。



(A) 外観  
External appearance



(B) 測定部  
Measuring unit

図1 全自動化学発光酵素免疫測定装置ルミノマスター™ LEIA-2000  
Fully automated chemiluminescent enzyme immunoassay equipment Luminomaster™ LEIA-2000

型式	LEIA-2000	
分析方法	ヘテロジニアス化学発光酵素免疫測定法	
測定方法	測定	ステップサンドイッチ法 2ステップサンドイッチ法 ステップ競合法 2ステップ競合法
	反応時間	全反応時間45分・30分・180分の選択可能 標準反応時間は、45分とする。
同時分析項目	ランダムアクセス方式による最大20項目の同時測定が可能	
処理能力	30秒/テストにて最大120テスト/時間 但し、2段希釈を必要とする場合は、60テスト/時間	
検体セット	検体架設	カセットラック方式 10検体/テスト 11ラック 架設検体数 一般検体 100検体 至急検体 10検体 検体容器 標準サンプルカップ、真空採血管 検体保冷機能 外気温度から5℃以下に保冷
	サンプリング方法	ディスプレイザブルチップ サンプリング量 30, 50, 100 $\mu\text{l}$ 圧力センサー型検体液面検知機能
	自動希釈	一段希釈 10, 20, 50, 100 $\mu\text{l}$ 二段希釈 200, 500, 1000, 2000 5000, 10000倍
	自動再測定	検査線範囲を越えた場合、自動希釈して再測定する。
試薬セット	固相化抗体チューブ試薬 最大 500テスト分 冷蔵保存 標識試薬、基質液、発光試薬 各々最大2000テスト分 冷蔵保存	
測光方式	検出器 高感度用、低感度用の2系統光電子増倍管 高感度用光電子増倍管の冷却	
入力方式	キーボードおよび、外部入力装置(バーコード等)からの入力 外部ホストコンピュータからのオンライン入力	
出力方式	12インチカラー-CRT, 感熱式プリンター 外部ホストコンピュータへのオンライン出力	
設置条件	周囲温度 25 $\pm$ 5℃	周囲湿度 40~80%
寸法、重量	操作部	415(W)×770(D)×1250(H) 100kg
	分析部	1180(W)×770(D)×1250(H) 320kg
電源	電源	AC 100 $\pm$ 10V 1.5KVA (50/60Hz)
	接地	第3種接地

表1 LEIA-2000の主な仕様  
Main specifications of LEIA-2000

## 2.2 免疫反応フロー

ルミノマスター専用試薬は、項目により免疫反応手順は異なるが、全反応時間を統一(標準45分)することで、同時に分析できる。本装置で反応できる免疫反応手順には、1ステップサンドイッチ法、2ステップサンドイッチ法と1ステップ競合法、2ステップ競合法がある。代表例として、2ステップサンドイッチ法の反応フローを図2に示す。

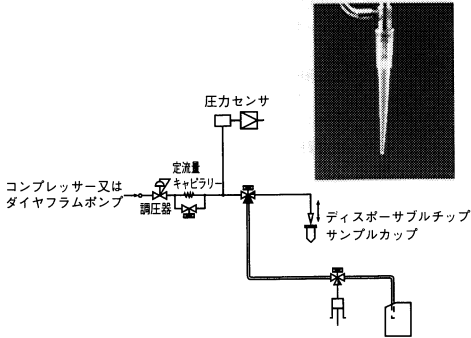


図3 検体のサンプリングと液面検知方法  
Sampling of samples and fluid level detection method

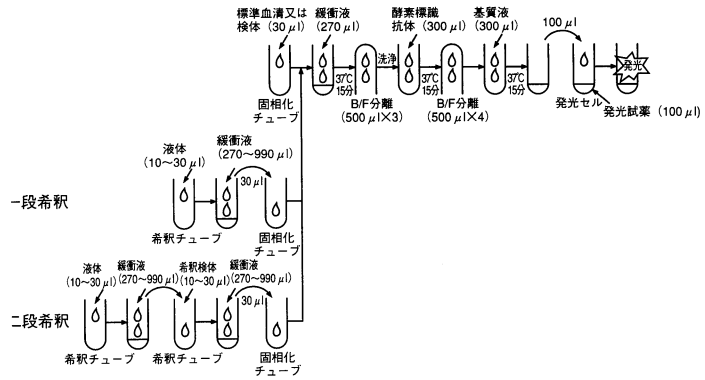


図2 免疫及び酵素反応フロー(2ステップサンドイッチ法)  
Flow of enzyme immuno reactions (2-step sandwich method)

## 3. 主な機能

### 3.1 検体サンプリングと自動希釈

専用ラックに最大110個の検体を、サンプルカップまたは真空採血管で架設することができる。サンプリングは、キャリーオーバーを防止するためディスプレイチップを用い、圧力センサによる検体の液面検知機能(図3)を備えている。また、検体の変性防止のため、外気温度から5℃以下に保つ、保冷機能を持つ。

検体のサンプリング量は、10~100µlで、必要に応じ10~10000倍まで自動希釈できる。そのため、前処理操作は不要である。

### 3.2 固相試薬の搬送

図4は、プラスチック試験管の内壁に抗体ないしは、抗原を固相した固相試薬であり、その搬送は、二つの3軸ロボットでおこなう。まず、分析部中層にある3軸ロボットで固相試薬保存トレイから固相試薬を陰圧吸着し、エレベータ部へ搬送する。エレベータで上層に移動させ、上層部の3軸ロボットで検体サンプリング、試薬分注、洗浄、インキュベーション、化学発光検出部へと搬送する。

### 3.3 試薬収納庫と在庫管理

試薬の収納能力は、1項目につき固相試薬が25テスト/トレイ、標識試薬が100テスト/容器で、それぞれの収納庫に最大20項目分が収納可能である。共通試薬の基質液、発光試薬はそれぞれ1000テスト分が、2容器ずつ収納される。各試薬容器には、8桁のバーコードが張り付けられ(図5)、自動的に測定項目、ロット番号、シリアル番号を読み取り、在庫数や検量線の管理をおこなう。さらに、装置の試薬管理画面で試薬在庫情報を表示することもできる。

標識試薬及び共通試薬の収納部は4~8℃で、固相試薬の収納部は外気温から10℃以下に保たれ、外部の冷蔵庫への出し入れの手間が省かれる。

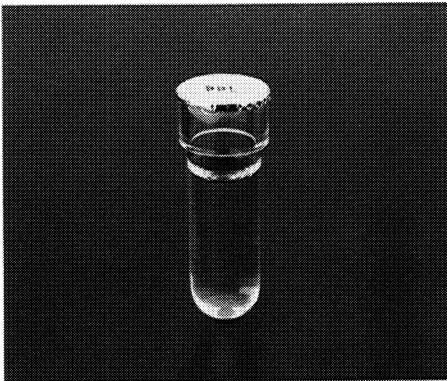


図4 固相試薬 外観図  
Immobilized reagents, external appearance

\*ポリスチレン製チューブの内壁に抗体ないしは抗原が固相され、保存液を封入しアルミフィルムでシールされている。

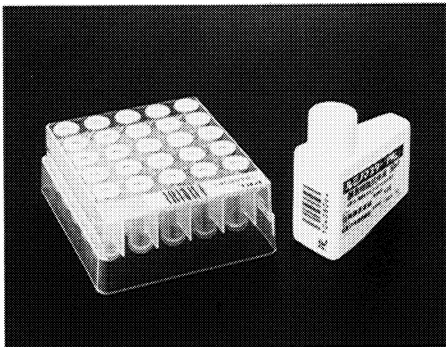


図5 固相試薬ラックと標識試薬容器のバーコードラベル  
Bar code labels of immobilized reagent rack and conjugate bottle

### 3.4 インキュベータ

抗体と抗原の衝突頻度を増やし、反応温度を上げることで、免疫反応の反応性を上げ、再現性の向上をはかることができる。本装置では、90穴のインキュベーター温度を固相試薬内の反応液温が $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ になるよう恒温制御している。また、インキュベーター上の全ての固相試薬を偏心回転させることで攪拌効率の向上をはかっている。

### 3.5 化学発光検出部

免疫及び酵素反応によって生成した過酸化水素を、ルミノール/マイクロパーオキシダーゼの発光試薬と積分球内に置かれたガラスセル中で混合させて発光させる。光電子増倍管を用いて、10秒間の発光を50msec.の間隔で信号としてサンプリングし、その積算値を発光量としている。発光反応曲線を図6に示す。化学発光反応のダイナミックレンジは、比色法や蛍光法と比較して広く、化学発光酵素免疫測定法は臨床的に測定範囲が広い腫瘍マーカー、ホルモンなどの測定に適している。そのため、感度の異なる二種類の光電子増倍管で同時に発光量を測定し、それぞれの発光量を換算することで9桁の測定レンジを確保することができた。また、ng/mlという微量測定の再現性を得るため、高感度側の光電子増倍管を冷却しS/Nの向上をはかっている。また、化学発光反応の温度影響は測定セル周辺の温度を計測して補正で対応している。検出部の構成を図7に示す。

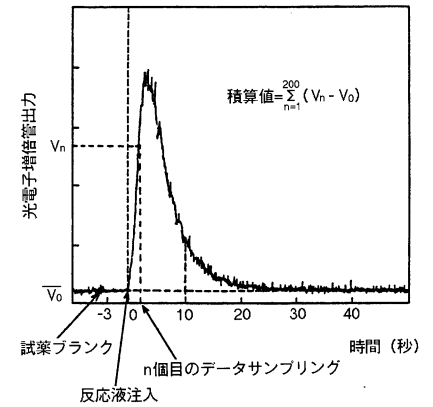


図6 化学発光曲線  
Chemiluminescence reaction curve

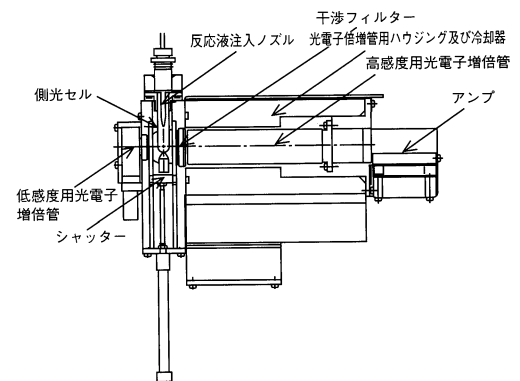


図7 化学発光検出部構成図  
Configuration of chemiluminescence detector

### 3.6 分注システム

本装置の分注システムは、10~1000 $\mu\text{l}$ の定量分注が必要とされ、10種類の分注器が備わっている。これらは、装置のメンテナンス性を考慮して1ヶ所に集められている。主な分注器の分注再現性を表2<sup>4)</sup>に示す。装置の再現性は、分注再現性にも関係しており、十分な精度であるといえる。

分注器	設定分注量 ( $\mu\text{l}$ )	分注再現性		
		mean	SD	CV%
血清検体	10.0	10.0	0.3	2.7
	20.0	20.0	0.2	1.1
	30.0	29.5	0.4	1.2
	50.0	48.5	0.7	1.5
	100.0	97.6	0.5	0.5
希釈緩衝液	270.0	271.1	1.4	0.5
	570.0	567.7	0.6	0.1
	980.0	983.4	0.6	0.1
	990.0	994.8	5.0	0.5
基質液	300.0	299.5	0.6	0.2
標準試薬	100.0	100.8	1.0	1.0
	125.0	125.6	0.3	0.3
	300.0	303.6	0.8	0.3
化学発光試薬	100.0	101.2	0.7	0.7
酵素反応液	100.0	97.2	0.7	0.7

表2 分注再現性  
Dispensers repeatability

テスト数	低濃度検体	中濃度検体	高濃度検体
1	34.55 ng/ml	163.2 ng/ml	297.0 ng/ml
2	32.75	166.9	305.8
3	34.35	173.7	294.6
4	33.92	174.2	299.8
5	33.81	171.2	291.0
6	34.01	172.5	293.6
7	33.05	166.9	292.8
8	32.98	165.7	289.0
9	33.73	163.5	297.4
10	33.39	162.4	286.1
平均値	33.65	168.0	294.7
標準偏差	0.57	4.29	5.34
変動係数	1.69%	2.55%	1.81%

表3  $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)の同時再現性  
Simultaneous repeatability of  $\alpha$ -fetoprotein (AFP)

### 3.7 分析部の制御とデータ処理

ルミノマスターのサンプリング、搬送、分注、測光の工程は、モーター、電磁弁、分注器等をそれぞれ独立して制御する複数のCPUとメインコンピュータとから構成される。そのため、マルチかつ、リアルタイムな動作を実現し、ランダムアクセスによる連続測定を可能にしている。また、分析部の動作上でのエラーが発生した場合には、エラー箇所に優先順位を付け動作シーケンスからの切り直しをおこない、反応の継続が可能な部分は測定を継続できる。

外部ホストコンピュータとの通信は、RS-232Cを通して、操作部のメインコン

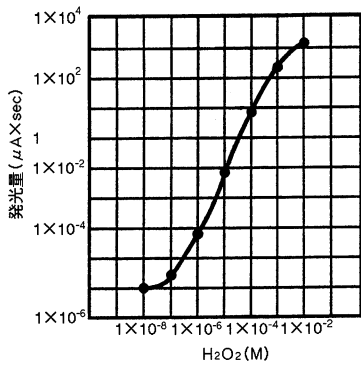


図8 過酸化水素標準液の検量線  
Calibration curve of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> standard solution

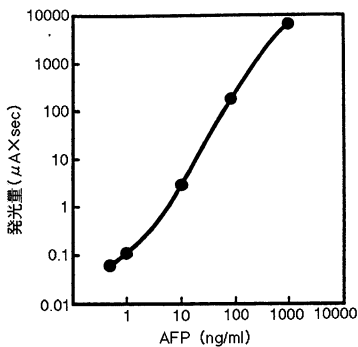


図9 α-フェトプロテイン (AFP) の検量線  
Calibration curve of α-fetoprotein (AFP)

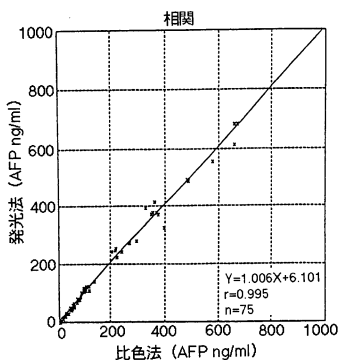


図10 α-フェトプロテイン (AFP) の相関図  
Correlation diagram of α-fetoprotein (AFP)

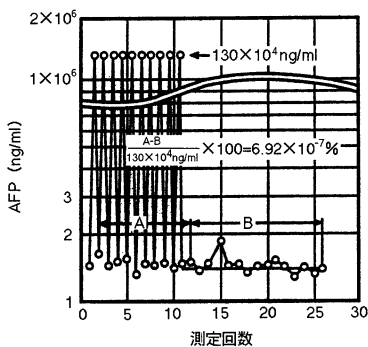


図11 キャリオーバー試験結果  
Carry-over test results

コンピュータでおこなう。採血現場でID登録された検体の測定情報は、ルミノマスターからの問い合わせにより、ID番号、測定項目、前回値濃度がオンラインで入力される。また、採血管などに貼られているバーコードを読み取り、ホストコンピュータに問い合わせでオンライン入力することもできる。

## 4. 評価試験結果

### 4.1 検量線

過酸化水素標準液の検量線を図8に示す。本反応系では、 $1 \times 10^{-8}$ から $1 \times 10^{-2}$ mol/lまでの過酸化水素水を測定できる。

測定項目で腫瘍マーカーのひとつであるα-フェトプロテイン (AFP：肝臓癌マーカー) の検量線を図9に示す。AFPの場合、専用キャリブプレート濃度は0.5～1000ng/mlで設定されている。尚、検量線のフィッティングは、キャリブプレート濃度、及び、発光量の数値に対して三次回帰をおこなっている。

### 4.2 同時再現性

AFPの日内同時再現性の成績を表3に示す。低・中・高濃度の管理血清で変動係数は3.0%以下の成績であった。

### 4.3 相関性

AFPの他手法との相関を図10に示す。対照としては、既発売品の比色EIA法を用いた。相関係数は、0.995で良好な相関を示した。

### 4.4 キャリオーバー

免疫自動分析装置における検体間のキャリオーバーは性能上問題になることが多い。検体サンプリング部には、ディスプレイブルチップを用いているため心配はないが、化学発光反応部は共通ノズル、及びセルを使用しているため、キャリオーバーの検討を行う必要がある。AFPの正常検体 (1.5ng/ml) と肝臓癌の患者検体 (130000ng/ml) の繰り返し測定の結果を図11に示す。患者検体の正常検体への持ち込み率 (キャリオーバー率) は $7 \times 10^{-7}\%$ と問題のないレベルであった。

### 4.5 再測定の頻度

本装置の特長である測定範囲の広さと、自動再検機能が、臨床検査の場でのように反映されているかを評価した結果が、表4に示す再測定の頻度である。臨床検査の現場で、腫瘍マーカー3項目についての再検率を他社装置と比較した。数%あった再検率が自動再検機能のある本装置では0%になり、再検査に要する手間と試薬が完全に解消できる結果であった。

## 5. 検体自動搬送システムへの対応

近年、大規模病院では中央検査室の省力化と検査時間の短縮を目的に、採血現場から直接、検査室へ検体が運ばれ、ベルトラインを使用して分析装置まで搬送するシステムの導入が盛んである。これまでは、検体数が多く、装置の自動化が進んでいた生化学検査、血液検査の分野が主流であったが、免疫測定分野におい



でもその需要が増しつつある。

ルミノマスターは、検体搬送システムへの対応を考慮しながら開発された。本装置のサンプリング部を一部改造し、搬送システムとのインターフェース機構部を追加することで免疫自動分析装置としては、最初に検体搬送システムとの接続を実現させた。この搬送システム対応型ルミノマスター (LEIA-2100形) の外観を図12に、主な仕様を表5に示す<sup>5)</sup>。

型 式	LEIA-2100	
分析部・操作部	LEIA-2100に準拠	
検体搬送 バッファユニット	検体搬送方式	日立専用ラックを搬送ベルトにて分析部へ搬送し、サンプリングが終わったラックはエレベータユニットを経由して日立搬送ラインへ戻す。 搬入側ラックストック数 最大20ラック 搬出側ラックストック数 最大20ラック
	検体ラックの認識	ラックID(4桁)を読みとる
	至急検体ラック	専用投入口よりラック投入
エレベータユニット	検体搬送方式	日立専用ラックを搬送ベルトにて、日立搬送ラインから受け取り、検体搬送バッファユニットへ搬送する。
	搬送面高さ	日立検体搬送ライン 790mm 検体搬送バッファユニット、分析部 990mm
寸法、重量	検体搬送バッファ	820(W)×800(D)×950(H) 150kg
	エレベータユニット	210(W)×400(D)×950(H) 50kg
電源/接地	検体搬送バッファ	AC100±10V 1.0KVA(50/60Hz)
	エレベータユニット	第3種接地

表5 (株)日立製作所製検体搬送システム対応ルミノマスター™ 主要諸元  
Main specifications of Luminomaster™ compatible sample transfer system (made by Hitachi Seisakusho Co. Ltd.)

検体搬送システムは、(株)日立製作所製で、採血管ないしは、仕分け分注されたサンプルカップが5本搭載できるラックが搬送される。ルミノマスターは、ラックをインターフェース機構部に一旦取り込み、ホストコンピュータへ測定依頼情報を問い合わせるためラックIDを読み取り、分析部に受け渡す。依頼情報は自動的に登録され測定される。サンプリングが終了したラックは、再度、インターフェース機構を介して搬送システムに戻される。一号機が納入された、秋田大学付属病院の設置例を図13に示す。現在、本施設では、ルミノマスターの他、免疫比濁法、ラテックス凝集法、蛍光EIA法の装置が接続され、広く分析方法を選択可能にし、免疫血清測定における自動化検査システムを構築している<sup>6)</sup>。本施設の他、数施設の検査部で現在稼働中である。

## 6. まとめ

三共(株)と共同開発した、全自動化学発光酵素免疫測定装置 ルミノマスター™の特長について述べた。ルミノマスターは、三共(株)が開発した化学発光EIA専用試薬を用いて、腫瘍マーカー、感染症マーカー、ホルモンなどの微量成分を高感度かつワイドレンジで測定する。また、検体・試薬等の前処理を不要とし、自動希釈及び自動再検機能を持たせることで操作性に優れている。

自動検体搬送システムへの対応は、大規模病院での省力化、検査時間の短縮、検体からの感染防止等での貢献が期待できる。

測定項目	AFP		CEA		FER	
	n	661	1174	440	440	
測定範囲 (ng/ml)	EIA	CLEIA	EIA	CLEIA	EIA	CLEIA
	自動再測定		自動再測定		自動再測定	
	OFF	ON	OFF	ON	OFF	ON
再測定率 (%)	~170	~10 <sup>3</sup>	~10 <sup>6</sup>	~50	~10 <sup>3</sup>	~10 <sup>6</sup>
	5.75	2.26	0	4.51	0.94	0
					7.95	5.45
						0

表4 自動再検機能評価  
Evaluation of automatic re-assay function

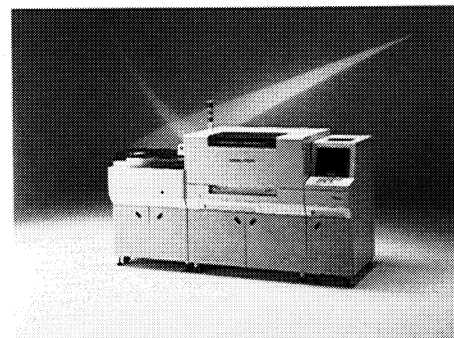


図12 (株)日立製作所製検体搬送システム対応ルミノマスター™ 外観図  
External appearance of Luminomaster™ compatible sample transfer system (made by Hitachi Seisakusho co., Ltd.)



図13 秋田大学付属病院設置図  
Akita university affiliated hospital installation drawing

#### 参考文献

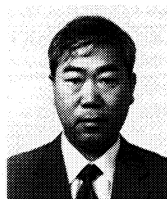
- 1) Engvall E. and Perlmann P., "Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Quantitative Assay of Immunoglobulin-G", *Immunochemistry*, 8, 871-874 (1971).
- 2) 池上卓志, 前田昌子, 辻章夫, 細田宏, 南原利夫, "17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロンの蛍光酵素免疫アッセイ", *薬誌*, 107, 150-156 (1987).
- 3) H.Arakawa, M.Maeda and K.Ito, "Recent Advance of Chemiruminescent Enzym Immunoassay." *Clin. Biochem.*, 1, 207-211 (1992).
- 4) 篠原克幸, 杉崎 栄, 濱崎直孝, "化学発光酵素免疫測定装置ルミノマスターの基礎検討", *日本臨床検査自動化学会誌 (JJCLA)*, 18, 72-77 (1993).
- 5) 河野 猛, 澤田喜行, 寺田邦雄, 高橋弘明 他, "化学発光酵素免疫測定装置ルミノマスター2000型の検体搬送システムへの接続", *日本臨床検査自動化学会誌 (JJCLA)*, 18, 368 (1993).
- 6) 上杉四郎, "LALPシステム 考える検査", *臨床検査*, 37, 83-87 (1993).



河野 猛

Takeshi KONO

ME計測開発部 マネジャー  
1981年入社  
医学用検体検査装置開発



澤田 善行

Yoshiyuki SAWADA

ME計測開発部 係長  
1980年入社  
ME用分析装置の開発設計



