

Readout

HORIBA Technical Reports

特集 医用計測システム

April 1998 ■ No.16

全自動化学発光酵素免疫測定装置 ルミノマスター1000

Fully Automated Chemiluminescent EIA System;
LUMINOMASTER™ model LEIA-1000

澤田喜行・奥村知史・吉野秀俊・河野 猛

Yoshiyuki SAWADA, Satoshi OKUMURA, Hidetoshi YOSHINO,
Takeshi KONO

(Pages 19-24)

株式会社 堀場製作所

Feature Article

特集論文

全自動化学発光酵素免疫測定装置 ルミノマスター 1000

Fully Automated Chemiluminescent EIA System ; LUMINOMASTER™ model LEIA-1000

澤田喜行 奥村知史 吉野秀俊* 河野 猛

(* 三共株式会社)

要 旨

免疫血清検査における自動分析装置は、検査センターおよび大規模病院検査部を対象とした大型装置と、大型装置のバックアップないしは疾患別専用装置を対象とした小型装置との二極化傾向にある。

堀場製作所は三共株式会社と共同で1992年に開発した国産初の全自動化学発光酵素免疫測定装置ルミノマスター 2000 に続き、この度卓上型のルミノマスター 1000 を製品化した。本装置は、ルミノマスター 2000 と共通の専用試薬を使い、簡便な操作で迅速な測定が可能のため中規模の病院などに最適な免疫測定装置である。

Abstract

In the field of automated immunoassay systems, the trend has been toward dipolarization into large-sized equipment intended for use in central laboratories and major hospitals, and downsized equipment designed for back-up of larger one or for specialty equipment applicable to specific diseases. HORIBA Ltd. has commercialized a desk-top Fully automated chemiluminescent EIA system, LUMINOMASTER 1000, following LUMINOMASTER 2000, Japan's first automated apparatus of its kind which was developed in 1992 in joint developed with Sankyo Co., Ltd. Featuring simple operation and rapid measurement as well as the usability of the same reagent as LUMINOMASTER 2000, this new product is ideal for applications in medium-sized hospitals.

1. はじめに

近年、免疫血清検査装置は、他の生化学検査装置と同様に、迅速、簡便、かつ高精度の要求が高まっており、酵素免疫測定(Enzyme Immuno-Assay:EIA)の分析方法では、蛍光EIA、化学発光EIA、電気化学発光EIA¹⁾等、高感度、迅速測定を目的とした新しい技術が登場している。

当社が1992年に開発したルミノマスター 2000 シリーズ²⁾は、専用試薬として、腫瘍、甲状腺機能、肝炎、糖尿病マーカーなど27項目が用意されており、大規模病院の検体搬送システムへの接続も含めて、大型の免疫血清検査装置として広く医療現場で使用されている³⁾。

最近、中小規模の検査現場では、疾患別検査専用装置として装置の小型化、迅速化、操作性の簡便などの要望が増えている。

ルミノマスター 1000(図1)は、このような市場からのニーズに基づき限られた検査スペースでも設置可能な卓上型として開発した、全自動免疫測



図1 全自動化学発光酵素免疫測定装置
ルミノマスター 1000
Fully automated chemiluminescent EIA system :
LUMINOMASTER Model LEIA-1000

定装置である。機能的には6項目のランダムアクセス測定、自動再検査、自動希釈及び前回測定値からの最適希釈倍率設定、ポーズによる追加測定、あらゆるアッセイ法への対応等、更にオプションとしては検体搬送システムへの直接接続、真空採血管(採血容器)用サンプラーなど、小型化したにもかかわらず大型機並みの機能を搭載している。

2. 装置の構成と特長

2.1 測定原理と免疫反応フロー

ルミノマスターは固相化抗体チューブを用いたヘテロジニアス化学発光酵素免疫測定法を測定原理としている⁴⁾。免疫反応フローを図2に示す。

ルミノマスター専用試薬の免疫反応手順は項目により異なるが、全反応時間を統一することで同時に測定することができ、ランダムアクセス機能を可能にしている。

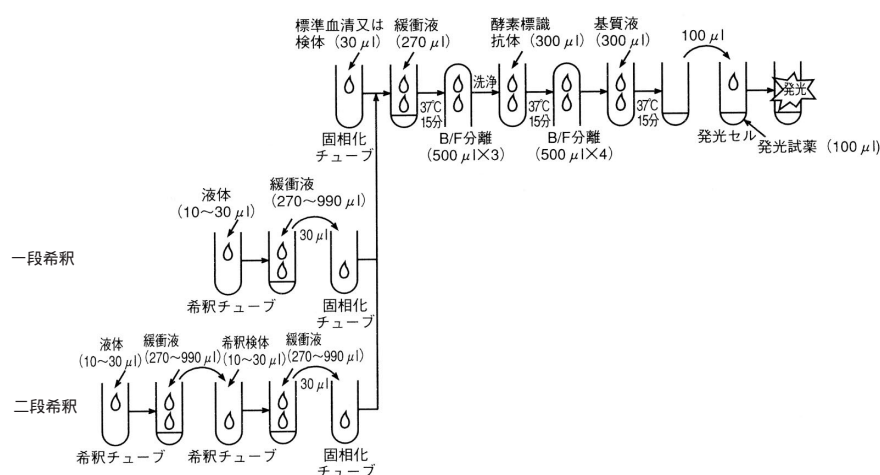


図2 免疫および酵素反応フロー
Flow of enzyme immuno reaction

2.2 装置の構成と特長

ルミノマスター1000の装置構成は、検体架設用オートサンプラー、専用試薬保管庫、固相試薬搬送機構を兼ねたインキュベータ、9種類の分注器及び分注ノズル、化学発光検出部からなる反応・測定部と、検体測定条件入力・測定結果・測定状態表示をするためのカラー液晶タッチパネルおよび小型キーボードからなる操作部とで構成される。

ルミノマスター1000には次の特長があげられる。

最大6項目の検査項目を自由に選択可能
(ランダムアクセス機能)

操作画面に10.4インチカラーLCDタッチパネルを採用。画面内でのキー操作及び測定結果の編集が可能。OSにはWindowsNT*を使用。

採血管貼付けバーコードから検体測定情報を読み取り測定条件を入力。

標準校正データのバーコード入力により校正測定を簡略化。

反応測定時間が短い(30分)。

検体サンプリング時のキャリオーバーを回避するための特殊試薬による検体プローブ洗浄。

B/F分離(未反応物質の洗浄)工程の強化。

従来機使用専用試薬との共通化。これら以外に、試薬の保冷機能、2チャンネル検出器による広いダイナミックレンジ、自動希釈、自動再検、前回測定値からの自動希釈倍率設定等従来機に搭載されている特長も備えている。

ルミノマスター1000の測定・反応部を図3に、主な仕様を表1に示す。



図3 反応・測定部
The reaction and measurement chamber

* Windows NTはMicrosoft社の登録商標です。

表1 ルミノマスター 1000 の主な仕様

Main specifications of LUMINOMASTER 1000

分析方法	ヘテロジニアス化学発光酵素免疫測定装置	
測定方法	測定	2ステップサンドイッチ法 (2SS) 1ステップ競合法 (1SC) 2ステップ競合法 (2SC) 1ステップサンドイッチ法 (1SC) サンドイッチ法と競合法との同時測定
	反応時間	全反応時間 45分・30分の選択可能 (但し、45分/30分法の混在不可)
同時測定	ランダムアクセス方式による最大6項目の同時測定可能	
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秒/テスト)	
検体セット方式	検体架設	ラック方式 10検体/ラック (専用ラック) 架設数 一般検体60検体 (6ラック) 至急検体1検体 (専用架設位置)
	サンプルリク方式	サンプルリク量 検体サンプルリク時 30, 50, 100 μl 希釈サンプルリク時 10, 20, 30 μl
	自動希釈倍率	1段希釈 10, 20, 50, 100倍 2段希釈 200, 500, 1000, 2000倍 5000, 10000倍
試薬セット方式	固相化抗体 (抗原) 試薬最大150テスト分搭載 酵素標識試薬、基質液、発光試薬 (冷蔵保存)	
測光方式	検出器 高感度用、低感度用の2チャンネル検出 直接発光強度検出 (化学発光量時間積分)	
入力方式	LCDのタッチパネル、汎用キーボードからの入力 ホストCPUからの測定情報オンライン入力	
出力方式	測定結果の画面表示、プリンター印字 ホストCPUへの測定結果オンライン出力	

3. 装置の構成

3.1 化学発光検出部

免疫反応後の酵素反応によって生成した過酸化水素溶液と、ルミノール発光試薬を積分球内に設置した測定セル内で混合させ発光する。図4に発

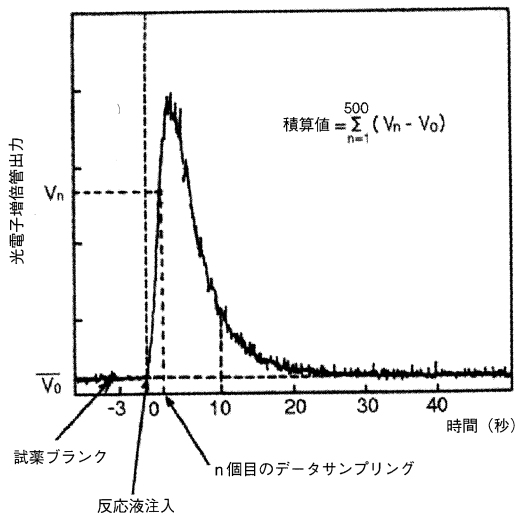


図4 化学発光曲線

Chemiluminescence reaction curve

光反応曲線を示す。光電子増倍管を用いて20msecごとに測定し10秒間の積算値を発光量とした。正常検体と異常検体で濃度範囲が異なる腫瘍マーカーや感染症マーカー、ホルモン等の測定のため本装置では、広いダイナミックレンジを確保するため低感度領域と高感度領域で感度の異なる2個の光電子増倍管を用いた。検出部内での化学発光反応の温度影響を防ぐために、化学発光検出部と発光試薬分注ノズルおよび測定セル洗浄液用の分注ノズルは37℃±0.5℃で恒温制御を行っている。本装置では1×10⁻⁸～1×10⁻³mol/Lの過酸化水素水を測定できる。過酸化水素標準液による検量線を図5に示す。

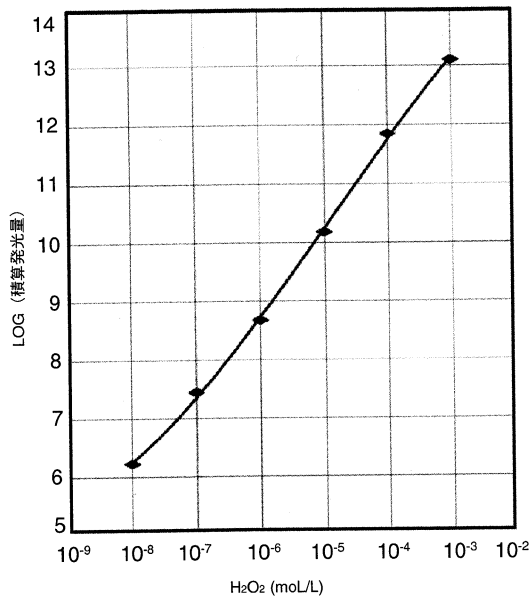


図5 過酸化水素標準液による検量線
Calibration curve of H₂O₂ standard solution

3.2 インキュベータと固相試薬搬送部

免疫及び酵素反応を促進するため、インキュベータは固相試薬内の反応液温度を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 恒温制御している。インキュベータの搬送ベルトは、30秒毎に1ピッチ分ずつ移動と攪拌(バイブレーション)を繰り返し、固相試薬を各反応過程の処理部へ移動する。なお、インキュベータ内の搬送ベルトは小型化するために手前側と奥側の2連構造で一つの駆動軸で同時に動作する。さらに、手前側と奥側のベルトへの固相試薬の移動は2個の受け渡し機構部で行う。固相試薬のストッカー部からインキュベータ部への搬送はバキュームチャックで行なう。

3.3 サンプリングノズル部

検体サンプリングノズルには検体キャリオーバーを防ぐため、静電容量型液面検知機能を組み込んでいる。またノズル機構設計は回転軸と上下軸を同軸とした機構部を採用することで小型化をはかっている。本装置に搭載している各ノズルの回転上下機構は全て同じ構造とし共通化した。

3.4 分注器

本装置には3種類の容量を持つ分注器が10本ある。シリンジ部とピストン部のシール部は、耐久性をよくするためにテフロンリングとOリングを用いスプリングで常に一定圧で締める構造とした。

3.5 機構部制御システム

装置全体の小型化と各機構部ユニット(6ユニットで構成)のアクセススピードの向上と機構部ユニット間のハーネス結線を簡素化するために、各機構部ユニット毎にCPUを組み込んだアークネットシステム(シリアルバス配線)を採用した。本装置のシステム制御構成を図6に示す。

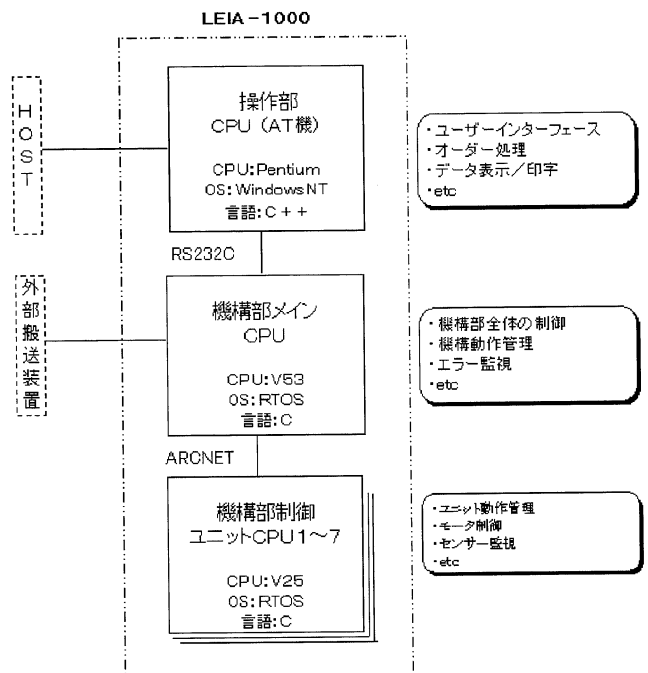


図6 ルミノマスター 1000の制御システム
Control system LUMINOMASTER 1000

3.6 操作画面及び表示画面

最近の自動分析装置では、操作、表示画面にタッチパネルを採用するものも多くなってきた。本装置でも10.4インチカラー液晶タッチパネルを採用し、操作キーを省略し、すべて画面内で処理できるように操作の簡略化をはかった。また、装置メンテナンス時や日常操作以外の処理にたいしてはフルキーボードを内蔵している。代表的な操作画面を図7に示す。

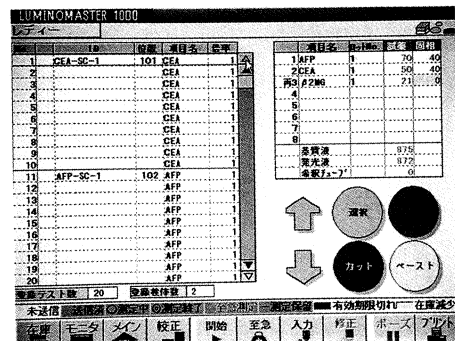


図7 代表的な操作画面
Typical control view

4. 基本性能の評価

4.1 検量線

測定項目で腫瘍マーカーのひとつである AFP(α -フェトプロテイン肝臓癌マーカー)の検量線を図8に示す。AFPの場合、測定濃度範囲は0.5 ~ 1000 ng/mlで専用のキャリブレーターが用意されている。検量線は発光量および濃度の対数値を3次回帰によりカーブフィッティングを行う。

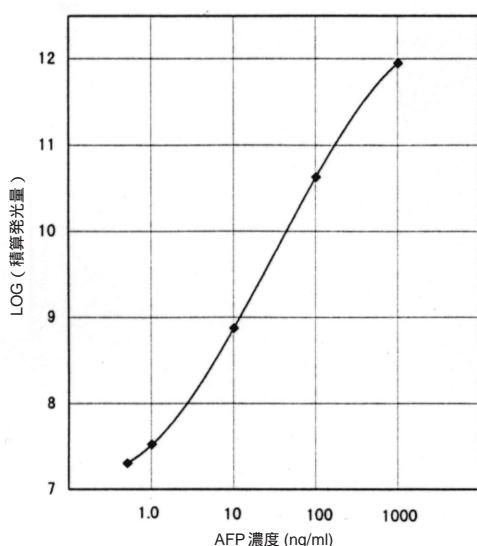


図8 α -フェトプロテイン(AFP)の検量線
Calibration curve of AFP

4.2 同時再現性

AFPの同時再現性の結果を表2に示す。低濃度・中濃度・高濃度の管理血清で変動係数は3.51%以下と十分な信頼性が確認できた。

表2 AFPの同時再現性

Simultaneous repeatability of AFP

テスト回数	低濃度 (ng/ml)	中濃度 (ng/ml)	高濃度 (ng/ml)
1	11.15	36.17	105.86
2	11.82	34.61	106.95
3	11.57	34.69	106.19
4	11.96	33.90	109.24
5	11.58	35.94	106.23
6	12.12	35.85	107.49
7	12.27	34.90	106.97
8	11.74	34.60	106.13
9	11.36	33.69	106.40
10	12.49	36.28	111.17
平均値	11.81	35.06	107.26
標準偏差	0.41	0.94	1.69
変動係数(%)	3.51	2.68	1.57

4.3 キャリオーバー

自動免疫測定装置における検体採取時のキャリオーバー(次検体への前検体の持ち込み)は装置性能上問題となることが多い。本装置の検体サンプリング部は固定式のノズルを使用している為、測定毎にキャリオーバーを防ぐ為の洗浄機能が必要となる。本装置のノズル洗浄機構を図9に示す。サンプリングノズルを次亜鉛素酸ナトリウムなどのアルカリ系の洗浄液を溜めた洗浄ポットに浸し、洗浄液を繰り返し吸引吐出することによって、直接検体と接触するノズルの外壁および内面を強力に洗浄することができる。本装置にてAFPの低濃度検体と高濃度検体を繰り返し測定した結果を図10に示す。その結果高濃度検体の低濃度検体への持ち込み量は $2.16 \times 10^{-4}\%$ 以下であった。以上の結果、検体採取時のキャリオーバーは実用上問題ないことを確認した。

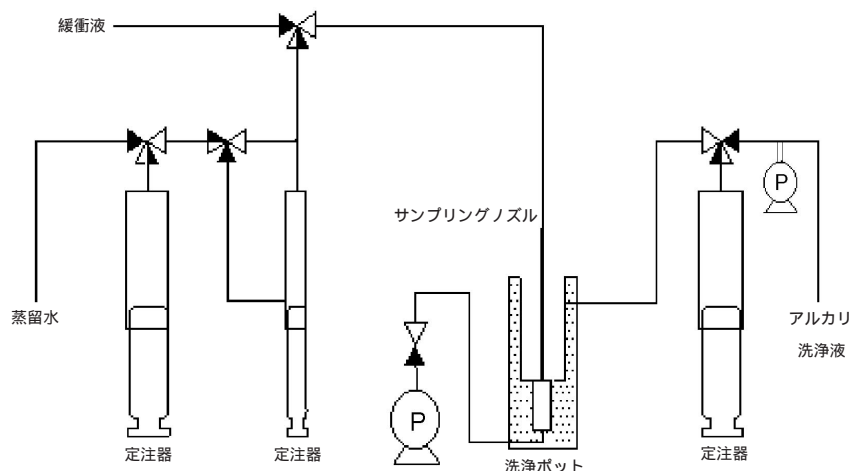


図9 ノズル洗浄機構
Rinsing mechanism of sampling nozzle

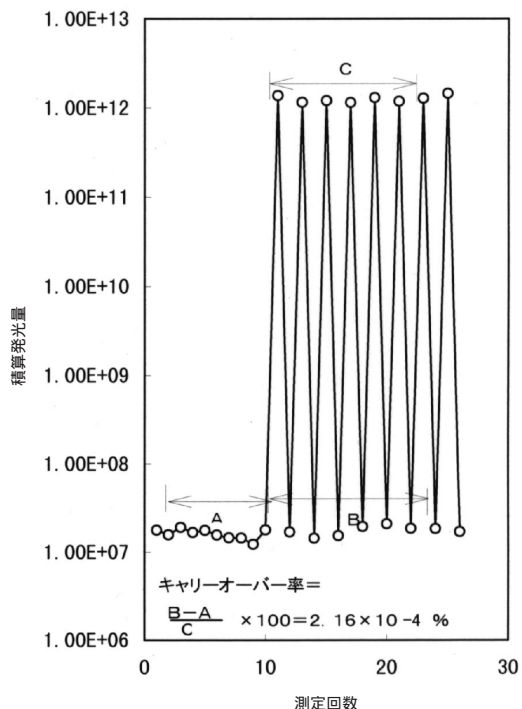


図 10 APF の繰り返し測定によるキャリーオーバーの確認

Curry-over test result by repetitive measurement of APF

5. ルミノマスター専用試薬の項目

ルミノマスター専用試薬は腫瘍マーカー，甲状腺マーカー，感染症マーカー，心筋マーカー，糖尿病マーカーアレルギー疾患マーカー，婦人科ホルモンなど疾患別に合計 27 項目ある。

6. まとめ

ルミノマスター 1000 は，大型機並みの機能・能力を維持しながらも装置の小型化を実現した。また，操作性の良い 10.4 インチカラー液晶タッチパネルの採用や試薬項目を拡大したことにより，中規模病院における免疫血清検査用，疾患別検査専用機，大型機のバックアップ用として幅広い用途を期待している。

参考文献

- 1) Massey R J, Powell M J, Dressick W J, et al. Electrochemiluminescent Rhenium Moeties and methods. 国際公開特許番号 W089/04302, 1989.
- 2) 河野 猛, 澤田喜行 " 全自動化学発光酵素免疫装置ルミノマスター™LEIA-2000 - 構成と機能 - ", Readout, 12, 35-42(1996)
- 3) 河野 猛, 澤田喜行, 寺田邦夫, 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, 364(1993)
- 4) Ikegami T, Yamamoto M, Sekiya K, Saito Y, Maeda M and Tsuji A.; The development of Lumimomaster™, a fully automated chemiluminescent enzyme immunoassay system. J.Biolumin. Chemilumin. 219-227, 10, 4(1995)

澤田喜行

Yoshiyuki SAWADA

医用システム開発部 ジョブリーダー

1980 年入社

医用検体検査装置の開発設計



奥村知史

Satoshi OKUMURA

医用システム開発部

1992 年入社

医用検体検査装置の開発設計



吉野秀俊

Hidetoshi YOSHINO

三共株式会社

医療品部 開発課 係長

1980 年入社

医用検体検査装置の開発



河野 猛

Takeshi KONO

医用システム開発部 副部長

1981 年入社

医用検体検査装置の開発



