

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公開特許公報** (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003 - 260042

(P 2 0 0 3 - 2 6 0 0 4 2 A)

(43)公開日 平成15年9月16日(2003.9.16)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード [*] (参考)
A61B 5/15		G01N 1/10	N 2G045
G01N 1/10			V 2G052
		33/48	S 4C038
33/48		A61B 5/14	H
			D
			300
			300
		審査請求 有	請求項の数 6 O L (全6頁)

(21)出願番号 特願2002 - 62433(P 2002 - 62433)

(22)出願日 平成14年3月7日(2002.3.7)

(71)出願人 391012279

富山大学長

富山県富山市五福3190番地

(72)発明者 山口 昌樹

富山県富山市堀川町472 - 1 ディアス堀川205

(74)代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外5名)

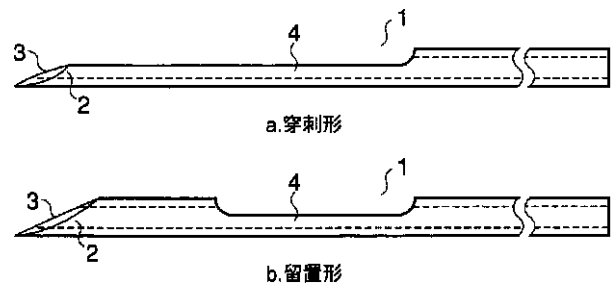
最終頁に続く

(54)【発明の名称】微量の生体試料の採取・保持方法

(57)【要約】

【課題】動力を必要とするポンプ機構を設けることなく、1マイクロリットル以下の微量試料を採取できる採取具を提供する。

【解決手段】採取部材(1)の先端を鋭利に加工するとともに、採取部材(1)の一部ないしは全体に渡って加工された半開口部(4)を設ける。半開口部(4)は、先端面(3)から離れた採取具の一部を加工して設けてもよい。また、半開口部(4)は複数設けることもできる。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 採取部材の先端を鋭利に加工するとともに、該採取部材の一部ないしは全体に渡って加工された半開口部を有することを特徴とする微量試料の採取具。

【請求項 2】 請求項 1 記載の採取具であって、前記半開口部は先端面から離れた採取具の一部を加工して設けたことを特徴とする微量試料の採取具。

【請求項 3】 請求項 1 または 2 記載の採取具であって、前記半開口部は複数設けられていることを特徴とする微量試料の採取具。

【請求項 4】 請求項 1 ないし 3 記載の採取具であって、前記半開口部は V 形状、半円形状、U 形状、C 形状、凹形状のいずれかであることを特徴とする微量試料の採取具。

【請求項 5】 請求項 4 記載の採取具であって、前記半開口部は曲げ加工ないしはプレス加工によって形成されたことを特徴とする微量試料の採取具。

【請求項 6】 請求項 4 記載の採取具であって、前記半開口部は切削加工によって形成されたことを特徴とする微量試料の採取具。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ポンプ機構を用いずに使用できる微量試料の採取具に関する。

【0002】

【従来の技術】わが国でも成人の 7 人に 1 人が発症の危険にさらされている糖尿病は、合併症として失明の危険があり、また患者は高齢者の割合が非常に多い。糖尿病患者は、自己血糖測定器を日常的に携帯し、血糖の測定をしている。しかし、現在市販されている自己血糖測定器では採血針を用いなければならないので、1) 肉体的 / 精神的な苦痛が大きい、2) 針や測定器の取り扱いが煩雑で使いづらい、などの問題を抱えている。そこで、必要検体量の低減が工夫されているが、針直径が小さくなると毛細管現象による吸引力よりも流体摩擦力の方が大きくなり、検体量が 1 マイクロリットル程度になると吸引ポンプを設ける必要があった。そのため、機器の小型化が阻害されている。

【0003】一方、遺伝子工学の分野においては、生体から採取できる DNA などの検体量はマイクログラムオーダー以下であることが多いため、PCR などの方法により増幅して取り出す方法が考案されている。しかしながら、DNA などを含む微量検体は蒸発により乾燥しやすいため、微量の試料をより高速で保持・分注できるハンドリング手段が求められている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、動力を必要とするポンプ機構を設けることなく、1 マイクロリットル以下の微量試料を採取できる採取具を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明の微量試料の採取具は、採取部材の先端を鋭利に加工するとともに、採取部材の一部ないしは全体に渡って加工された半開口部を有することを特徴とする。半開口部は、先端面から離れた採取具の一部を加工して設けてもよい。また、半開口部は複数設けることもできる。半開口部は V 形状、半円形状、U 形状、C 形状、凹形状のいずれかであることが好ましく、これらの半開口部は曲げ加工ないしはプレス加工、または切削加工によって形成されることが好ましい。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明の採取具は、採取部材の先端を鋭利に加工するとともに、採取部材の一部ないしは全体に渡って加工された半開口部を有するものである。なお、「鋭利に加工」とは、採取部材の形状やその使用用途に応じて、針状や刃状に加工することであるが、これらに限定されるものではない。採取部材の形状は特に限定されないが、例えば、円管状の針、ナイフの刃などをを用いることができる。

【0007】

以下、本発明を図面を参照して説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0008】

図 1 は、本発明の第 1 の態様として、採取部材として円管状の針を使用した採取具（以下、採取針と呼ぶことがある）の側面形状を示す。ここで、本発明の採取針は、微量な液体試料を採取する目的に使用されることが好ましく、特に、末梢毛細血管からの採血に好適である。そこで、その構造は、末梢毛細血管からの採血を目的とした場合に次の 2 種類に大別される。

【0009】

まず、図 1 a に示す穿刺形採取針は、採取管 1 の先端を針状に加工して穿刺部 2 を設けるとともに、先端面 3 を含む採取管 1 の一部を加工して半開口部 4 を設けた構成である。これは、穿刺した後に針を皮膚から引き抜いて採血するのに適した構造である。一方、図 1 b に示す留置形採取針は、採取管 1 の先端を針状に加工して穿刺部 2 を設けるとともに、先端面 3 から離れた採取管 1 の一部を加工して半開口部 4 を設けた構成である。これは、半開口部 4 が表皮角質層に塞がれないよう留置して血液を漏出させるのに適した構造である。

【0010】

本発明の採取針の全長は 1 mm 以上であることが好ましく、穿刺部の長さは 0.01 mm 以上であることが好ましい。また、半開口部の内径は、1 mm 以下であることが好ましい。さらに、図 1 b に示す留置形採取針においては、採血時に穿刺部位が表皮角質層に覆われないようにするために、穿刺部の末端から半開口部の先端までの長さは 1 mm 以上であることが好ましい。

【0011】

上記のような構成とすることにより、本採取針の直径を従来よりも小さくしても、流体摩擦力が大幅に緩和され、ポンプ機構を設けなくても毛細管現象によって液体試料が自動的に吸引される。

【0012】図2は、本発明の第2の態様として、採取部材としてナイフの刃を使用した採取具の構成図である。図2においては、ナイフ21の刃先22（先端面）から半開口部23を設けてあるが、刃先22から離れた位置から設けても良い。また、半開口部23は刃先22から採取部材の内部に向かって、任意の方向に形成することができる。なお、半開口部の直径は、上述した採取針の場合と同様に1mm以下であることが好ましい。

【0013】なお、本発明の採取具においては、その使用用途に応じて半開口部を複数設けることも可能である。その場合、複数の半開口部は全て同じ方向に形成される必要は無く、例えば図2のように、採取部材の向かい合う両端から内部に向かって形成することができる。また、採取部材が多角形であれば、それぞれの辺から内部に向かって形成することも可能である。

【0014】図3は、本発明の採取具の半開口部の断面形状を示す。ここに示されるように、本発明の採取具に設けられる半開口部の断面形状は、V形状、半円形状、U形状、C形状、凹形状などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0015】本発明の採取具の半開口部は、一般に用いられている採取具の一部に、曲げ加工ないしはプレス加工、および切削加工などの、現有の機械加工技術を用いた加工を施すことにより作製することができる。

【0016】また、本採取具が採取試料に接する面の所望の部分に、界面活性処理を施すことにより、吸引力をさらに高めることができる。界面活性処理には、ショ糖脂肪酸エステルなどを使用することが好ましいが、これに限定されない。さらに、本採取具が採取試料に接する面の所望の位置に、シリコンなどの疎水材を塗布することにより、定量的に試料を採取することができる。

【0017】なお、本採取具を使用して採取できる試料は、使用する採取具の寸法により異なるが、1 μ L以下であることが好ましく、0.1 μ L以下がより好ましい。

【0018】次に、本発明の採取具の使用方を説明する。本発明の採取具の使用方の1例として、図1aに示される穿刺形採取針を用いた、抹消毛細血管からの採血方法について図4を参照して説明する。本発明の採取針を、現在普及している採血用の穿刺器具（ランセット）に適用することを考えると、その使用方は次のようになる。採取針をまず皮膚に対して垂直に穿刺し（図4b）、針を皮膚から引き抜き（図4c）、穿刺により生じた裂開から漏出した1~2 μ L程度の血液に接触させ（図4e）、毛細管現象によって0.1 μ Lの採血を

行う（図4f）。一方、本発明の留置形採取針（図1b）を使用する場合には、まず採取針を皮膚に穿刺し、半開口部が表皮角質層に覆われないように留置し、血液を漏出させることにより採血する。

【0019】このようにして、ポンプを用いることなく毛細管現象のみにより採血すると、検体量は従来の1/10まで低減することができ、検体採取の痛みがほとんどなくなる。さらに、ポンプなどの器具を必要としないので、使用方は煩雑でなく、かつ小型化が可能である。

【0020】また、遺伝子工学の分野においては、採取できるDNAなどの検体量はマイクログラムオーダー以下であることが多く、PCRなどの方法により増幅して取り出す方法が考案されているが、蒸発により乾燥しやすい微量検体（DNA）を、より高速で保持・分注できるハンドリング手段が求められている。本発明の採取具を用いてDNAなどの微量試料の搬送に利用する場合には、本発明の採取具を試料に接触させると、1マイクロリットル以下の試料が自動的に吸引され、かつ採取具を高速で移動させても検体が保持される。よって、本発明の採取具を用いれば、ナノリットルオーダーの検体を保持・分注できるハンドリング手段を実現できる。

【0021】


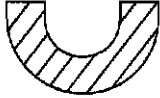
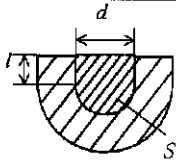
【実施例】以下本発明を実施例により説明するが、本発明はそれらに限定されるものではない。

【0022】まず、本実験に用いた採取具について説明する。本実験には、25ゲージ（外径0.51mm）の採取針を使用し、種々の加工を施して所望の形状の半開口部を有する採取針を作製した。始めに、作製が比較的容易なV形状の半開口部を曲げ加工で、半円形状とU形状の半開口部を切削加工で作製した。曲げ加工の方が切削加工よりもコストが低廉で加工時間も短い。樹脂フィルムに穿刺して裂開形状を観察したところ、V形状は半円形状やU形状よりも裂開が長かった。したがって、以下の非生体評価、生体評価は、断面積をほぼ一定に保ち形状のみを換えた形状（半円・U）の半開口部を有する3種類の穿刺形採取針（MI-1~MI-3）を用いて行うことにした。これらの採取針の半開口部の断面形状および寸法等を、表1に示した。また、図5には、作製した半円形状の半開口部を有する採取針（MI-1）の斜視図を示す。なお、MI-2およびMI-3も、図5に記載の採取針と同じ寸法の採取針を使用した。

【0023】

【表1】

表 1 作製・評価した3種の採取針

型番	MI-1	MI-2	MI-3
断面形状			
内径 d (mm)	$d_1=0.28$	$d_2=0.22$	$d_3=0.17$
長さ l (mm)	$l_1=0$	$l_2=0.05$	$l_3=0.09$
面積 S (mm ²)*	0.031	0.030	0.026
体積 V_c (μL)*	0.28	0.27	0.23

*計算値。

【0024】次に、本実験に用いた検体試料について説明する。本発明の採取針の吸引特性を評価するために、生理食塩水を用いて非生体評価を行い、さらにウサギ全血を用いて生体評価を行った。全血はそのままでは数分で凝固してしまうので、ウサギ全血は耳介動脈から抗凝固剤 (EDTA - 2K) 封入真空採血管 (テルモ (株)) へ採血した。そのため、本血液の粘度は全血よりも高くなっていると推定され、吸引特性の評価においては全血を用いた場合よりも厳しい試験条件になっていると考えられる。また、抗凝固剤を用いた場合でも、採血した血液の物理的性状は時間とともに変化するので、吸引特性の評価は採血から1時間以内に終了した。

【0025】ここで、比較のために、非生体評価と生体評価で用いた各検体の接触角を測定した。これは、ポリエステルフィルム上に、(a) 生理食塩水、(b) ヒト

全血、(c) ウサギ全血をそれぞれ2 μLずつ滴下して接触角を測定し、結果を図6に示した。この結果により、ヒト全血はちょうど生理食塩水とウサギ全血 (抗凝固剤入り) の中間の粘性を持っていると推定された。

【0026】生理食塩水、およびウサギ全血による吸引検体量と採取時間の吸引特性を評価するために、図7に模式的に示すxyzステージ71を使用した。z軸に本発明の採取針72を固定し、検体73を滴下したポリエステルフィルム74をxy軸上に設置して3軸方向に精密に位置合わせできるようにした。吸引特性の評価は、固定した採取針72を検体73に対して垂直に接触させ、採取時間および採取量を測定することにより行った。測定結果を、表2に示す。

【0027】

【表2】

表 2 本発明の採取針の吸引特性評価結果

型番(内径)	MI-1 (0.28mm)	MI-2 (0.22mm)	MI-3 (0.17mm)
生理食塩水 (n=10)			
採取時間 (s)	2.0±0.9	2.3±1.0	1.5±0.4
採取量 (μL)	0.23±0.03	0.23±0.03	0.22±0.05
ウサギ動脈血 (n=5, 抗凝固剤入り)			
採取時間 (s)	11.5±5.3	—	7.6±4.1
採取量 (μL)	0.12±0.07	—	0.16±0.07

注 1) 全て Mean±S. D.

注 2) ヘマトクリット値 (%) : 39.8~51.8(ヒト), 31~44(ウサギ)

【0028】この結果より、検体採取量は、生理食塩水・ウサギ全血ともに0.1 μL以上を採取できることが確認された。なお、採取針の断面積をほぼ一定に保ち、形状のみを半円形状とU形状に変化させた場合は、採取量に大きな差異は観察されなかった。また、何れの検体においても、内径が小さい方が大きいものに比べて採取時間が短いという特性が観察された。ヒト全血は、上述したように、生理食塩水とウサギ全血の中間の粘性であるとする、採取時間もヒト全血において5秒程度であると考えられた。

【0029】

【発明の効果】以上詳述したように、本発明によれば、動力を必要とするポンプ機構を設けることなく、1マイクロリットル以下の微量試料を採取できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の態様における採取針の側面形状を示す図。

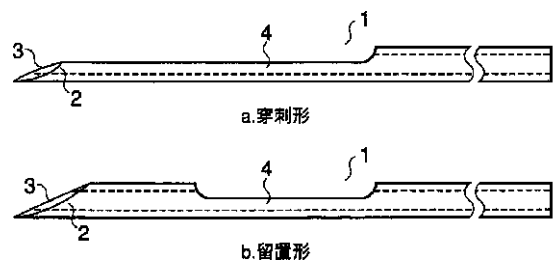
【図2】本発明の第2の態様における採取具の構成図。

【図3】図1および2に示す採取具の半開口部の断面形状を示す図。

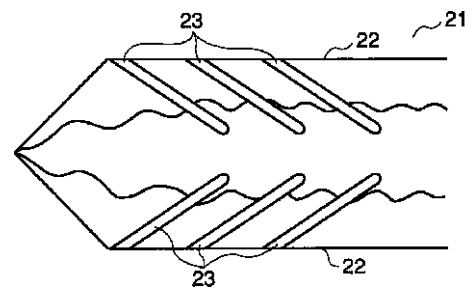
【図4】本発明の採取具による採血方法の例を示す図。
 【図5】本実施例において作製した半円形状の半開口部を有する穿刺形採取針の斜視図。
 【図6】本実施例において使用した検体の接触角を表す図。
 【図7】本実施例において使用したx y zステージの模式図。
 【符号の説明】
 1...採取管
 2...穿刺部
 3...先端面
 4...半開口部

2 1...ナイフ
 2 2...刃先
 2 3...半開口部
 4 1...採取針
 4 2...表皮角質層
 4 3...真皮
 4 4...末梢毛細血管
 7 1...x y zステージ
 7 2...採取針
 7 3...検体
 7 4...ポリエステルフィルム

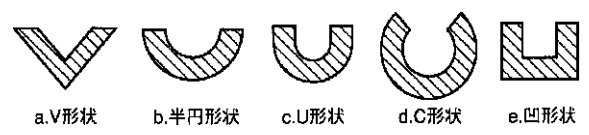
【図1】



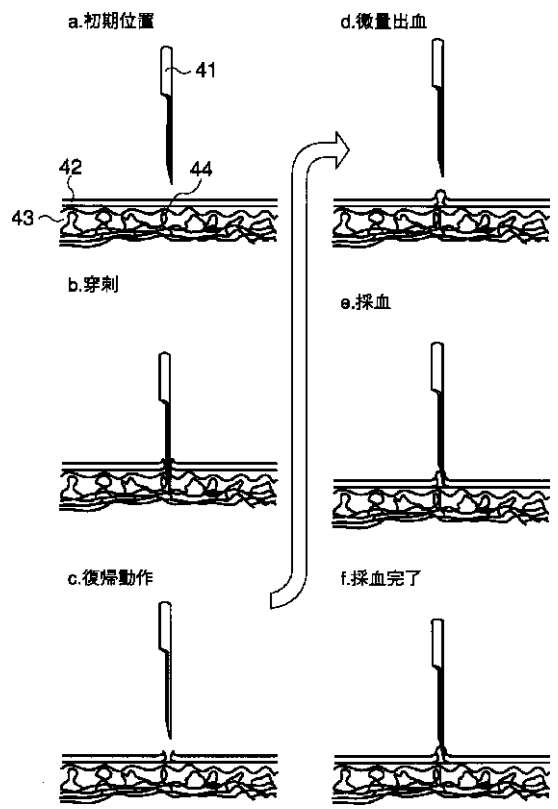
【図2】



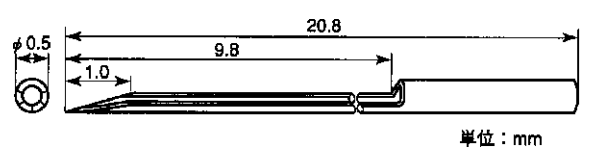
【図3】



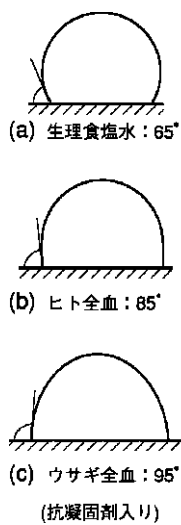
【図4】



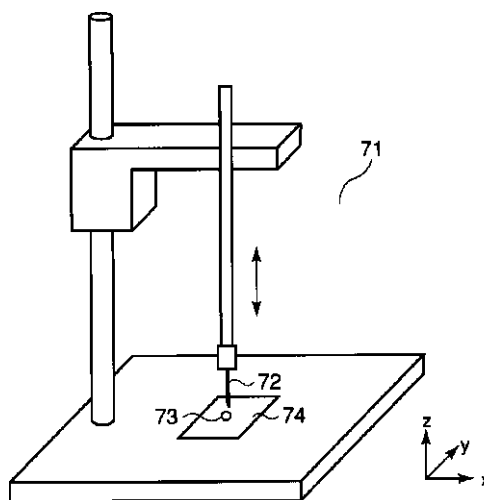
【図5】



【図6】



【図7】



フロントページの続き

F ターム(参考) 2G045 BA13 BB21 BB29 BB34 CA25
DA12 DA13 DA14 HA06
2G052 AA30 AB20 AD26 BA02 BA14
CA23 CA39 DA22 EC04 EC08
FD06 FD13 HA02 JA03 JA07
JA11
4C038 TA02 TA06 UJ01