明　細　書

発明の名称 ： 診断キット及び診断方法

技術分野

[0001] 本発明は、ヒトや動物の全血または生体由来溶液に含まれる血球成分を抽出または分離し診断を行う装置、たとえば、赤血球を抽出し赤血球に感染する病気診断等を行う装置に用いられる診断キット及び診断方法に関する。

背景技術

[0002] 複数の物質が含まれるサンプル試料から特定の物質のみを分離することは、様々な分野において必要とされている。しかし、特にその物質の存在割合が低い場合、多くの物質が存在する試料中からその特定の物質のみを検出することは困難である。

[0003] 存在割合の低い特定物質を検出することが困難な例を次に挙げる。例えば、赤血球細胞に関連する病気として、マラリア、バベシア等、赤血球細胞に寄生する原虫によって引き起こされる病気があり、この種の病気診断を正確および早期に行うためには血液から抽出した赤血球の観察を行う方法がある。マラリア原虫はハマダラカを媒体としてヒトへ感染した後、赤血球に寄生して個体数を増殖させ、高熱や頭痛、吐き気を引き起こす病気である。血中に抗体など感染によって産出される化合物を検出する従来方法では個体数が相当数、増殖した状態でないと化合物が検出出来る濃度に到達せず、このためこの方法では早期診断が困難である。このため、なるべく早期に感染状態を検出するために、原虫に寄生された赤血球数を直接観測してカウントする。この方法であれば、寄生されている赤血球数と寄生されていない赤血球数を直接カウントするので、精度は極めて高い。

[0004] 赤血球を直接観測する方法として以下のような方法がある。全血サンプルを調整してスライドガラスに塗抹、乾燥して採取した血液の標本を作製する。その後、標本をギムザ染色した後に顕微鏡観察でマラリア感染している赤血球の有無を観察する。この方法の場合、ギムザ染色によってマラリア原虫

が持つ核酸が染色される。

[0005] 一方、赤血球は通常、核酸を持たないので、赤血球の染色度合いを観察すればマラリア原虫に寄生された赤血球であるかどうかの観察・評価を行うことができる。この方法は染色を観察するだけでできるため、赤血球がマラリア原虫に寄生されているか否かを容易に評価できる。

[0006] しかしながら、マラリア原虫が赤血球に寄生する割合は初期においては０．０５％以下であるため早期診断と高検出感度を両立するためには高度な技術が要求される。血球細胞の直接観測方法による検出感度の高精度化を阻害する要因として一例を挙げる。全血中に存在する血球細胞の１種である白血球細胞は核酸を持つので、ギムザ染色によって染色された血球が、全血中に元々存在する白血球細胞であるか、マラリア原虫に寄生された赤血球細胞であるかの区別が必要である。この作業は高度な技術または高価な装置を必要とする。さらに、場合によっては白血球由来の核酸が染色されたものを顕微鏡観察時にマラリア原虫由来の核酸と誤判定し、精度が悪くなる。また、顕微鏡観察時に高度な技術を有する検査員がカウントする場合には、検査速度、精度は検査員の能力に大きく左右される上、検査コストが極めて高くなる。

[0007] 検査コストを低減するために、遠心分離法を用いてサンプルとなる全血から赤血球のみを抽出し、白血球等、マラリア原虫の核酸検出を阻害する成分を予め取り除く。その後、生体試料を検出装置で測定する方法がある。

[0008] また、この時の検出方法として蛍光試薬を用いた光学的測定が行われる。この測定では、生体試料を計測位置に過剰に展開してしまうことによって、各測定に濃度差が生じることにより誤判定し、精度が悪くなる場合がある。

[0009] 特にマラリア原虫の検出としては、その測定精度として生体試料を検査プレートの検査位置にほぼ均一に単層として展開させることが求められる。このために、検査プレートを軽く傾けて緩衝液、培養液、界面活性剤、酵素等の洗浄液を流すことによって過剰な細胞を除去することができる。

[0010] 上記の方法に類似の方法が特許文献１に記載されている。

[0011] 遠心分離法による赤血球抽出方法では高精度な測定が可能とはなっても、検査、特に赤血球抽出に必要とされる全血がより多く必要である。したがって、指先などから１マイクロリットル程度の容量で計測する簡易測定への適用が困難である。

[0012] また、マラリアなどの検査を必要とする地域は、十分な電力供給が行われておらず、さらには、高価な検出装置を維持管理するインフラが整っていないことが多い。

先行技術文献

特許文献

[0013] 特許文献1：国際公開第２０１０／０２７００３号

発明の概要

[0014] 診断キットは、赤血球を含有する生体試料と、核酸を染色することができる染色液とを用いて赤血球中の外来生物の有無を検出するように構成されている。その診断キットは少なくとも１つの診断プレートを備える。診断プレートは、染色液を貯留して染色液に生体試料が注入されるように構成された第一のチャンバーと、第一のチャンバーと接続された流路と、流路に接続された検査プレートとを備える。検査プレートには第二のチャンバーが接続されている。流路は、赤血球を抽出するよう構成されている。第二のチャンバーは生体試料の一部と染色液の一部とを捕集することができる。

[0015] この診断キットにより、少量の生体試料によって容易に赤血球中の外来生物を検出できる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]図１は実施の形態１における診断キットの上面図である。

[図2]図２は図１に示す診断キットの線２－２における断面図である。

[図3A]図３Ａは実施の形態１における診断キットの要部拡大図である。

[図3B]図３Ｂは実施の形態１における診断キットの要部拡大図である。

[図4A]図４Ａは実施の形態１における診断キットの他の壁部の断面図である

。

[図4B]図４Ｂは実施の形態１における診断キットのさらに他の壁部の断面図である。

[図4C]図４Ｃは実施の形態１における診断キットのさらに他の壁部の断面図である。

[図4D]図４Ｄは実施の形態１における診断キットのさらに他の壁部の断面図である。

[図4E]図４Ｅは実施の形態１における診断キットのさらに他の壁部断面図である。

[図5]図５は実施の形態１における診断キットの上面図である。

[図6]図６は実施の形態１における診断キットの使用方法を示す断面図である。

[図7]図７は実施の形態１における診断キットの使用方法を示す概要図である。

[図8]図８は実施の形態１における診断キットの製造方法を示す断面図である。

[図9]図９は実施の形態２における診断キットの断面図である。

[図10]図１０は実施の形態２における診断キットの要部上面図である。

[図11]図１１は実施の形態２における診断キットのキャビティの上面図である。

[図12]図１２は図１１に示すキャビティの線１２－１２における断面図である。

[図13]図１３は実施の形態２における診断キットの他のキャビティの断面図である。

[図14A]図１４Ａは実施の形態２における診断キットの他の検査プレートの上面図である。

[図14B]図１４Ｂは実施の形態２における診断キットのさらに他の検査プレートの上面図である。

[図15]図１５は実施の形態３における診断キットの診断プレートの断面図である。

[図16]図１６は実施の形態４における診断キットの診断プレートの断面図である。

[図17]図１７は実施の形態５における検出装置の概略図である。

[図18]図１８は実施の形態６における診断キットの検査プレートの上面図である。

[図19]図１９は実施の形態６における検査プレートの要部拡大図である。

[図20]図２０は図１９に示す検査プレートの線２０－２０における断面図である。

発明を実施するための形態

[0017] （実施の形態１）

図１は、本実施の形態における診断キット１００の上面図である。診断キット１００は、基材プレート１００ｂと、基材プレート１００ｂに設けられた複数の診断プレート１０１とを備える。基材プレート１００ｂは、中心軸１００ｃを中心とする円環形状を有する。複数の診断プレート１０１は中心軸１００ｃから遠ざかる所定の方向１００ａに延び、中心軸１００ｃを中心に等角度間隔で放射状に配列されている。複数の診断プレート１０１により、診断キット１００は複数の生体試料を一度に測定（検査）出来る。

[0018] 診断プレート１０１を用いて、生体試料を希釈して核酸を染色するプロセスと、赤血球を抽出する、すなわち赤血球と白血球とを分離し赤血球を抽出するプロセスと、抽出した赤血球を配置するプロセスとを実行することができる。対象物である赤血球を含む生体試料から、その対象物を抽出し、対象物を検査することができる。

[0019] ここで、赤血球の検査とは、赤血球を含む生体試料を用いて、赤血球中の外来生物の有無、すなわち、病原性微生物が感染した赤血球の有無を検出することを意味する。例えば、マラリア原虫が赤血球に侵入し、赤血球中に寄生し、マラリアに病気感染しているか否かを診断キット１００で診断するこ

とができる。

[0020] 図２は図１に示す診断キット１００の線２－２における断面図である。診断プレート１０１には、中心軸１００ｃに近い方からチャンバー１０２と流路１０３と検査プレート１０４とがこの順で設けられている。チャンバー１０２は、生体試料を希釈し、核酸を染色するように構成されている。チャンバー１０２の壁面には貫通孔１０７が形成されている。流路１０３は貫通孔１０７を介してチャンバー１０２と接続された一端１０３ａと、一端１０３ａの反対側の他端１０３ｂとを有し、生体試料から赤血球を抽出するように構成されている。検査プレート１０４は流路１０３の他端１０３ｂに接続され、抽出した赤血球を配置するように構成されている。複数の診断プレート１０１は互いに独立して形成されている。基材プレート１００ｂの円環形状の最外周には検査プレート１０４の外方に接続されたチャンバー１０５が設けられている。チャンバー１０５は複数の診断プレート１０１の全てと接続されている。流路１０３は一端１０３ａから他端１０３ｂまで所定の方向１００ａに延びる。

[0021] 検査プレート１０４は、面１０４ａと、その反対側の面１０４ｂとを有する。面１０４ａには複数のキャビティ１１５が形成されている。

[0022] 実施の形態１では基材プレート１００ｂは円環形状を有するが、角環形状等他の環形状を有していてもよい。これにより、診断キット１００を載置台に固定することができる。

[0023] 実施の形態１においては、図１に示すように、一枚の診断キット１００に複数の診断プレート１０１が放射状に配列されている。一枚の診断キット１００に少なくとも一つの診断プレート１０１を備えていてもよい。しかし、一枚の診断キット１００に複数の診断プレート１０１が設けられていることによって、一度に複数の生体試料を検査することができるため、より効率的に、より短時間で診断することが可能となる。

[0024] チャンバー１０２には、対象物を染色する染色液と、生体試料を希釈する希釈液とを予め貯留することができる。染色液と希釈液が貯留されたチャン

バー１０２の中へ対象物である赤血球を含む生体試料を投入し、特定の細胞を染色して生体試料を希釈する。

[0025] チャンバー１０２内に染色液と希釈液とが予め貯留される場合は、チャンバー１０２の少なくとも上方を覆うフィルム１０６が基材プレート１００ｂに被覆されていることが好ましい。このとき生体試料は、ピペットやシリンジなどを用いてフィルム１０６を貫通させてチャンバー１０２に注入される。

[0026] 赤血球を含む生体試料から病原性微生物が感染した血液細胞を検出するために、感染した血液細胞中の病原性微生物の核酸を予め蛍光染色しておく。例えば、感染赤血球を含む生体試料において、原虫等の感染微生物の核酸が染色されるように蛍光染色を施すことで感染赤血球を標識する。また、必要に応じて、赤血球自体も蛍光物質等で標識化してもよい。

[0027] この蛍光染色において、チャンバー１０２内の溶液を循環させることで、より効率的に対象物を染色させることが可能となる。また、赤血球を含む生体試料が血液である場合は、高い粘性を有する場合がある。この場合には、染色液と一緒に希釈液をチャンバー１０２に入れることにより、チャンバー１０２内で生体試料の粘性を低減させ、後に赤血球を容易に抽出することができる。

[0028] なお、振動により、生体試料と染色液と希釈液とをチャンバー１０２内で混ぜることが好ましい。

[0029] 生体試料をチャンバー１０２内に注入する際に、数回ピペッティング操作を行うことにより、チャンバー１０２内の溶液を循環させることにより、生体試料と染色液と希釈液とを混ぜることができる。

[0030] あるいは、ピペッティング操作の後に、上述したような振動を与えることにより、より効率的に生体試料と染色液と希釈液とを混ぜることができる。

[0031] あるいは、生体試料と染色液と希釈液とを混ぜるための攪拌子をチャンバー１０２内に予め封入してもよい。攪拌子を変位させることで生体試料と染色液と希釈液と撹拌し、より効率的に生体試料と染色液と希釈液とを混ぜる

ことができる。

[0032] また、チャンバー１０２内の溶液を懸濁させた後に数分間生体試料をインキュベートしておくことが望ましい。

[0033] なお、染色方法としては、例えばギムザ染色、アクリジンオレンジ染色、ライト染色、ジェンナー染色、リーシュマン染色、ロマノフスキー染色等を用いることができ、それぞれの染色に応じた染色液を用いればよい。あるいは、マラリア感染赤血球の染色液として、ＳＹＴＯ５９（登録商標）を用いることもできる。

[0034] ギムザ染色の場合は、マラリア原虫の感染の有無を行うことができる。ギムザ染色にて染色する場合は、１０ｍＭリン酸緩衝液（ｐＨ７．２～７．４）１ｍＬに対してギムザ染色原液を１滴～１．５滴だけ滴下し、混合することで染色液を調整することができる。一般に血液像の観察にはｐＨ６．４程度の弱酸性の緩衝液を用いるが、マラリア原虫の形態観察の場合はｐＨ７．２～７．４に調製した染色液が適当である。なお、この染色液では感染赤血球細胞が青色を帯びた色調に変化する。

[0035] 例えば、アクリジンオレンジ染色の場合は、１０ｍＭリン酸緩衝液（ｐＨ７．２～７．４）４７．５ｍＬに対してアクリルオレンジ５．０ｍｇ、グリセリン２．５ｇを溶解させることで染色液を調整することができる。なお、この染色液では、波長４５０ｎｍ～－４９０ｎｍの励起光で励起した際に、感染赤血球細胞では、その核が黄色の蛍光を発する。

[0036] 例えば、染色液としてＳＹＴＯ５９（登録商標）を用いた場合は、赤血球に感染したマラリア原虫の核酸が蛍光染色され、この核酸から蛍光が発せられる。なお、この染色液では、波長６００ｎｍ～６３５ｎｍでの励起光で励起した際に、６４０ｎｍ～６６０ｎｍの波長の蛍光を発する。

[0037] 希釈液とは、例えば緩衝液、等張液、培養液、界面活性剤など、生体試料に含まれる細胞が変性しないものを用いる。

[0038] また、血液凝固阻止剤を用いてもよく、例えばＥＤＴＡを用いることができる。ただし、ヘパリン系の血液凝固阻止剤はギムザ染色を行った場合の染

色に影響を与えるので好ましくない。

[0039] 上記の方法で、標識された生体試料と、予めチャンバー１０２に封入されていた染色液や希釈液を含んだ溶液がサンプル溶液としてチャンバー１０２内に貯留される。

[0040] 次に、サンプル溶液をチャンバー１０２に接続されている流路１０３へと導入する。この時、中心軸１００ｃを中心に診断キット１００を回転させることにより、遠心力を用いて、サンプル溶液中に含まれた赤血球をチャンバー１０２から流路１０３を経て検査プレート１０４まで効率的に移動させることができる。

[0041] なお、実施の形態１においては、遠心力で赤血球をチャンバー１０２から検査プレート１０４まで移動させるが、これに限定されず、例えば、チャンバー１０２と流路１０３との間に圧力の差を発生させることによって赤血球をチャンバー１０２から検査プレート１０４まで移動させてもよい。

[0042] 一手段として、チャンバー１０２に圧力を印加することによってチャンバー１０２と流路１０３との間に圧力の差を発生させることができる。チャンバー１０２に圧力を印加させる方法としては、チャンバー１０２の上方から加圧する。

[0043] 別手段として、検査プレート１０４とチャンバー１０５から減圧することによってチャンバー１０２と流路１０３との間に圧力の差を発生させることができる。流路１０３の圧力を減圧する方法としては、検査プレート１０４とチャンバー１０５からの吸引などで減圧する。

[0044] チャンバー１０２には、流路１０３と接続するための貫通孔１０７が形成されている。貫通孔１０７は、生産性の観点から流路１０３との壁面の下部に形成されていることが望ましい。貫通孔１０７の一部には疎水性処理が施されている。診断キット１００が静止しているときには、チャンバー１０２内に封入された溶液は疎水性処理による撥水力によって保持され、診断キット１００を回転させた場合にのみ貫通孔１０７を通してサンプル溶液を流路１０３へと導入させることができる。具体的には、貫通孔１０７の断面積が

流路１０３の断面積の半分以下になるよう十分に小さく、かつ貫通孔１０７の一部が疎水性を有していれば、溶液は表面張力により貫通孔１０７へ浸入せずにチャンバー１０２内部に保持される。

[0045] 撥水性を付与するには、貫通孔１０７の一部を疎水性材料で形成するか、または疎水性を付与する処理を施せばよい。

[0046] また、貫通孔１０７のチャンバー１０２に通じる開口部の一部分に疎水性処理が施されていることが好ましいが、貫通孔１０７の全面に疎水性処理を施してもよい。貫通孔１０７の内壁の全面が疎水性である場合には、チャンバー１０２内の溶液が貫通孔１０７の端部だけでなく貫通孔１０７全体で確実に保持できる。

[0047] 貫通孔１０７の内壁全体が疎水性を有していれば、診断キット１００を所定の時間回転させることにより、貫通孔１０７を通してチャンバー１０２内のサンプル溶液を流路１０３へと送ることができる。つまり、回転数や回転時間を制御することにより、確実にサンプル溶液を流路１０３へ送ることができる。

[0048] また、チャンバー１０２と、貫通孔１０７を含む流路１０３の内壁の全面が疎水性を有していてもよい。診断キット１００を２枚の基材の貼り合わせによって製造する際に、基材の材料を疎水性材料にすれば、流路１０３部位の内壁の全面に疎水性を容易に付与することができる。よって、診断キット１００の生産性が向上する。

[0049] 疎水性材料の例には、単結晶シリコン、アモルファスシリコン、炭化ケイ素、酸化ケイ素、窒化ケイ素等に代表される半導体材料や、アルミナ、サファイア、フォルステライト、炭化ケイ素、酸化ケイ素、窒化ケイ素の群から選ばれる無機絶縁材料、あるいは、ポリエチレン、エチレン、ポリプロピレン、ポリイソブチレン、ポリエチレンテレフタレート（ＰＥＴ）、不飽和ポリエステル、含フッ素樹脂、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセタール、アクリル樹脂、ポリアクリロニトリル、ポリスチレン、アセタール樹脂、ポリカーボネート

（ＰＣ）、ポリアミド、フェノール樹脂、ユリア樹脂、エポキシ樹脂、メラミン樹脂、スチレン・アクリロニトリル共重合体、アクリロニトリル・ブタジエンスチレン共重合体、シリコン樹脂、ポリフェニレンオキサイド及びポリスルホン等の群から選ばれる有機材料が含まれる。好適に用いられる疎水性材料は、ＰＥＴ、ＰＣである。

[0050] 疎水性を付与する処理の例には、フッ素系樹脂の塗布、シリコン系物質の塗布などがある。好適には、フッ素系樹脂を塗布する。

[0051] 貫通孔１０７の疎水部の水の静止接触角は、約３５°以上１２０°以下が好ましい。流路１０３壁が約３５°以下の接触角を有すると、診断キット１００が回転していなくても、毛細管現象によりサンプル溶液がチャンバー１０２から流路１０３内に自発的に浸入する場合がある。一方、貫通孔１０７の疎水部が約１２０°以上の接触角を有すると撥水性が高過ぎるので、診断キット１００に対して最高回転速度で遠心力を印加した場合であっても、生体試料がチャンバー１０２から流路１０３に浸入しない場合がある。

[0052] より好ましくは、貫通孔１０７の一部分の疎水部の水の静止接触角は、６６°以上９０°以下である。

[0053] 貫通孔１０７の疎水部以外のチャンバー１０２の壁面（側面及び底面）は疎水性を有していてもよいが、親水性を有していてもよい。親水性を有することにより、チャンバー１０２から流路１０３に流入した溶液を、湿潤効果と毛細管現象によって確実に流路１０３へと流入させることができる。

[0054] 親水性を付与するには、その部位を親水性材料により構成するか、その部位に親水化処理を施す。親水性材料の例には、ガラス、石英ガラスや、アルミ、銅、ステンレスなどの金属材料等が含まれる。ただし、金属材料は事前に表面に付着する有機物を取り除いて表面を清純にする。親水化処理の例には、ＴｒｉｔｏｎＸに代表される界面活性剤や、水酸基、スルホン酸基、カルボキシル基等の親水基を持つ高分子化合物の塗布などが含まれる。好適には、界面活性剤を塗布する。ただし、上記親水化剤が貫通孔１０７の内壁を親水化しないように留意する。特に、チャンバー１０２の壁面から親水化材

が溶出して、貫通孔１０７の内壁を親水化する可能性がある。そこで、付着面から離れにくい親水化材が好適に用いられる。

[0055] 流路１０３の内壁の少なくとも一部には対象物通過部１０８が設けられている。

[0056] 流路１０３の幅を１０μｍ～１ｍｍ程度にすることで赤血球を迅速に抽出することができ好ましい。

[0057] 対象物通過部１０８は、白血球を捕捉する非対象物捕捉構造物１０９を有する。非対象物捕捉構造物１０９は複数の繊維状物質１０９ａにより形成されている。

[0058] 図３Ａは診断キット１００の要部拡大図であり、繊維状物質１０９ａのＳＥＭ写真である。繊維状物質１０９ａは、例えば、酸化珪素を主成分としたシリコン酸化物からなり、好ましくはアモルファス状態の二酸化シリコンからなる。繊維状物質１０９ａの太さは０．０１μｍ～１μｍ程度である。繊維状物質１０９ａの一端が流路１０３の内壁に直接接合し、繊維状物質１０９ａは互いに絡み合うように密集している。繊維状物質１０９ａは不規則な方向へ枝分かれしているものが混在している。ここで、「直接接合」とは、流路１０３の内壁に繊維状物質１０９ａが直接形成され、流路１０３の内壁と繊維状物質１０９ａを構成する原子または分子が直接結合している状態を指し、通常は分子間が共有結合をしている状態を指す。例えば、流路１０３内壁の表面がシリコンよりなる場合に、そのシリコンを原料として繊維状物質１０９ａを形成させることによって、流路１０３内壁の珪素原子と繊維状物質１０９ａ中の珪素原子とが、繊維状物質１０９ａの形成雰囲気中の酸素分子を介して共有結合することにより直接接合を実現することが出来る。

[0059] 繊維状物質１０９ａが互いに絡み合い、複数の枝分かれをしていることで、流路１０３内壁に対し強固に構成される。さらに、繊維状物質１０９ａがそれぞれ湾曲して絡み合っていることによって、繊維状物質１０９ａで形成される多数の空隙がさまざまな方向から容易に埋まる。

[0060] なお、繊維状物質１０９ａの太さは、一定ではなく様々な太さの繊維状物

質１０９ａが含まれていることが好ましい。

[0061] この場合、太い径の繊維状物質１０９ａで形成された空隙に細い径を持つ繊維状物質１０９ａが存在するので、全体としてより細かい空隙を持った繊維状物質１０９ａを得ることが可能となる。特に、繊維状物質１０９ａの本数を一定とした場合にこの効果は顕著となる。

[0062] 繊維状物質１０９ａと繊維状物質１０９ａとの間の空隙はその最短距離が、白血球などの捕捉物よりも小さい。

[0063] 非対象物捕捉構造物１０９は、複数の繊維状物質１０９ａが互いに絡みあって形成されている。生体試料に含まれる溶質のうち、白血球や、その最大直径が繊維状物質１０９ａ間の空隙よりも大きいものが捕捉物として繊維状物質１０９ａにより捕捉される。一方、繊維状物質１０９ａ間の空隙を通過可能である赤血球が繊維状物質１０９ａ間を通過していくことにより、非対象物捕捉構造物１０９は赤血球を抽出することが可能である。繊維状物質１０９ａ間の空隙が赤血球の大きさよりも狭いものであったとしても、赤血球は容易に変形できる変形能を有するため、赤血球がこの空隙を通過し、赤血球を抽出することができる。

[0064] 赤血球を抽出する場合、非対象物捕捉構造物１０９の繊維状物質１０９ａ間の空隙は３μｍから６μｍであることが望ましい。赤血球の直径が７μｍから８μｍであり、自分の直径の半分以下の径の狭い毛細血管にも入り込み通過することが出来る。白血球の直径は６μｍから３０μｍであり、赤血球よりも変形能は小さい。３μｍから６μｍの空隙を形成する非対象物捕捉構造物１０９の繊維状物質１０９ａは白血球を通過させず赤血球のみを通過させることができる。

[0065] なお、繊維状物質１０９ａに白血球細胞のみを破壊するような試薬をあらかじめ塗布し、繊維状物質１０９ａを被覆させておくことで、白血球をさらに効率的に分離することができるため好ましい。あるいは、白血球の表面のみに表出しているタンパク質のみを吸着するような抗体をあらかじめ繊維状物質１０９ａに塗布し、繊維状物質１０９ａを被覆させておくと、白血球を

さらに効率的に分離することができるため好ましい。また、このような試薬を繊維状物質１０９ａに塗布させるためには有機溶剤や高温での乾燥処理を伴う場合がある。繊維状物質１０９ａが二酸化珪素からなる場合には耐薬品性に優れるので、様々な性質の試薬を塗布することができる。この場合には繊維状物質１０９ａは高い耐熱性を有するので、高温処理時に繊維状物質１０９ａの形状が溶融し破損することなく、試薬を塗布することができる。このように、二酸化珪素からなる繊維状物質１０９ａは、有機ポリマーからなる繊維状物質１０９ａに比べて耐薬品性および耐熱性に優れるので、吸着物質を容易に塗布し固着させることができる。

[0066] 非対象物捕捉構造物１０９は多孔性材料で形成されていてもよい。多孔性材料とは、例えば、ニトロセルロース、ポリフッ化ビニリデン（ＰＶＤＦ）、アガロースである。あるいは、シリコン、ガラス、セラミック等の無機材料基板に多数の貫通孔を形成することで形成してもよい。

[0067] 非対象物捕捉構造物１０９の多孔性材料の孔径は３μｍから６μｍ程度であることが望ましい。上述した理由により、３μｍから６μｍの孔径により、非対象物捕捉構造物１０９は白血球を通過させず赤血球のみを通過させることが可能となる。

[0068] あるいは、非対象物捕捉構造物１０９は、繊維状物質１０９ａと上記の多孔性材料とを有していてもよい。

[0069] あるいは、対象物通過部１０８は、流路１０３内壁に固定された非対象物捕捉プローブ１１０を有していてもよい。非対象物捕捉プローブ１１０は白血球のみを捕捉することができ、例えば抗ＨＬＡ抗体、抗顆粒球抗体、ＣＤ８、ＣＤ４といったモノクローナル抗体等の抗白血球抗体よりなる。

[0070] 非対象物捕捉プローブ１１０を固定する方法としては、各種カップリング反応、例えばシランカップリング反応を用いることができる。３－（トリエトキシシリル）プロピルコハク酸無水物等の酸無水物官能基を有するシランカップリング剤と固相担体とを接触させ、その後、固相担体を０℃～６０℃の温度範囲に保持しながら、酸無水物官能基に対する生理活性物質の結合処

理を行うことにより非対象物捕捉プローブ１１０を固定することができる。

[0071] 流路１０３の内壁が金、白金等の金属からなる場合は、自己組織化単分子薄膜（ＳＡＭ）を用いることができる。

[0072] なお、非対象物捕捉プローブ１１０の固定方法は、上記のような化学反応を用いた方法に限らず、流路１０３に対し化学反応を伴わずに処理することで非対象物捕捉プローブ１１０を固定することも可能である。例えば、流路１０３をプラズマ処理することにより、非対象物捕捉プローブ１１０と流路１０３とを直接接合することができる。

[0073] なお、非対象物捕捉プローブ１１０は、流路１０３内壁に固定されているが、非対象物捕捉プローブ１１０が予め固定されたポリスチレンなどからなるビーズを流路１０３の内壁で保持させてもよい。この場合に、流路１０３内部には、非対象物捕捉プローブ１１０が固定された多くのビーズが存在する。

[0074] 非対象物捕捉プローブ１１０が固定されたビーズとＵＶ硬化型樹脂とを混合し流路１０３内壁に保持させた後に、ＵＶ照射することによって流路１０３内壁にビーズを固定することができる。

[0075] 対象物通過部１０８は、流路１０３でのサンプル溶液の流れの方向に直角に延びる貫通板１１１を有していてもよい。

[0076] 図３Ｂは診断キット１００の要部拡大図であり、貫通板１１１を示す。貫通板１１１には、長手方向１１２ａに細長く延びる複数のスリット１１２が形成されている。スリット１１２の長手方向１１２ａに直角の方向の幅Ｗ１１２は７μｍ以下であることが好ましい。幅Ｗ１１２の幅が７μｍ以下であることによって、貫通板１１１はより効率よく赤血球を通過させることができる。幅Ｗ１１２が赤血球の直径よりも小さい場合であっても、赤血球の変形能により、赤血球がスリット１１２を通過して赤血球を選択的に抽出することが可能となる。ただし、スリット１１２の幅Ｗ１１２は、赤血球が変形しても通過できない大きさよりは大きい必要がある。抽出効率を考慮して幅Ｗ１１２は３μｍ以上が好ましい。

[0077] なお、図３Ｂに示す貫通板１１１は複数のスリット１１２を有するが、貫通板１１１には少なくとも一つのスリット１１２が形成されていればよい。しかし、複数のスリット１１２を形成することによって、より効率よく赤血球を通過させることが可能である。

[0078] 対象物通過部１０８は、流路１０３内壁に非対象物捕捉構造物１０９と非対象物捕捉プローブ１１０とが形成されている。より好ましくは、非対象物捕捉構造物１０９と非対象物捕捉プローブ１１０とが流路１０３に沿って交互に配置されている。流路１０３内壁の複数の個所で対象物通過部１０８を設けることにより、より効率的に、サンプル溶液から白血球を捕捉させることが可能となる。

[0079] なお、実施の形態１では、対象物通過部１０８は、流路１０３内壁に設けられた非対象物捕捉構造物１０９と非対象物捕捉プローブ１１０と貫通板１１１とを有する。対象物通過部１０８は、非対象物捕捉構造物１０９と非対象物捕捉プローブ１１０と貫通板１１１のいずれか一つ、あるいはいずれか二つの組合せで形成されていても同様の効果を奏することができる。

[0080] なお、流路１０３の幅はチャンバー１０２から遠ざかるにつれて徐々に狭くなる。これにより、流路１０３でより効率的に赤血球を抽出することができる。

[0081] 流路１０３の高さがチャンバー１０２から遠ざかるにつれて徐々に低くなる。これにより、流路１０３でより効率的に赤血球を抽出することができる。

[0082] より好ましくは、流路１０３の他端１０３ｂ付近の流路１０３の高さあるいは、流路１０３と検査プレート１０４とが連結する部分での流路１０３の高さは７μｍ以下である。これにより、検査プレート１０４により効率よく赤血球を通過させることが可能である。

[0083] このようにして抽出された赤血球は、流路１０３の他端１０３ｂに接続された検査プレート１０４へと移動する。具体的には、チャンバー１０２に貯留するサンプル溶液が流路１０３を通ることで白血球が取り除かれた赤血球

調整液が得られる。

[0084] なお、診断プレート１０１は、流路１０３から集めるための液止め構造を有しておくことが望ましい。

[0085] 液止め構造として診断プレート１０１は液溜め部１１３を有していてもよい。液溜め部１１３は、例えば、流路１０３の出口付近あるいは流路１０３と検査プレート１０４とが接続された連結部分に設けられた壁部１１４と流路１０３の底１０３ｃとで形成される。液溜め部１１３に一時的に赤血球調製液が集められ、集まった赤血球にある程度の遠心力を印加、あるいは圧力を印加することによって赤血球調製液が壁部１１４を乗り越えて、検査プレート１０４に効率よく赤血球を配置させることができる。図２に示すように、壁部１１４の方向１００ａに沿った断面は矩形であってもよい。

[0086] 図４Ａから図４Ｅは壁部１１４の断面図であり、壁部１１４の方向１００ａに沿った断面を示す。壁部１１４は、液溜め部１１３に面する側面１１４ｂと、検査プレート１０４に面する側面１１４ｃと、上面１１４ａとを有する。図４Ａに示す壁部１１４では、液溜め部１１３に面する側面１１４ｂが底１０３ｃに対して傾斜し、側面１１４ｃは底１０３ｃに対して直角であり、壁部１１４の断面は底１０３ｃから上面１１４ａに向かって狭くなるテーパ形状を有することが望ましい。これにより、液溜め部１１３に溜められた赤血球調整液を検査プレート１０４に効率よく流し込むことができる。

[0087] 壁部１１４の側面１１４ｂは撥水性を有し、上面１１４ａは親水性を有することが望ましい。液溜め部１１３へと流れてきた赤血球調整液は側面１１４ｂでの表面張力により液滴を形成する。その後、遠心力や圧力などの印加によって、赤血球調整液が少量でも壁部１１４を越えることにより、残りの赤血球調整液も毛細管現象により壁部１１４を越え、検査プレート１０４へと流れることができる。

[0088] 図４Ｂに示す壁部１１４は、液溜め部１１３に面する側面１１４ｂから突出する突起部１１４ｄを有する。ここでは、側面１１４ｂは底１０３ｃと直角である。

[0089] 図４Ｃに示す壁部１１４は、液溜め部１１３に面する側面１１４ｂから突出する突起部１１４ｄを有する。ここでは、側面１１４ｂは底１０３ｃに対して傾斜し、壁部１１４の断面はテーパ形状を有する。

[0090] 図４Ｄに示す壁部１１４は、液溜め部１１３に面する側面１１４ｂから突出する複数の突起部１１４ｄを有する。ここでは、側面１１４ｂは底１０３ｃに対して傾斜し、壁部１１４の断面はテーパ形状を有する。

[0091] 図４Ｅに示す壁部１１４では、側面１１４ｂが複数の段差を有する階段形状を有する。図４Ａから図４Ｅに示す壁部１１４では、液溜め部１１３へと流れてきた赤血球調整液が表面張力により液滴を容易に形成される。

[0092] 図５は診断キット１００の上面図であり、特に流路１０３と検査プレート１０４を示す。検査プレート１０４の面１０４ａには複数のキャビティ１１５が設けられている。赤血球調整液に含まれた赤血球は複数のキャビティ１１５に配置される。検査プレート１０４の複数のキャビティ１１５に赤血球が配置される前まで一時的に液溜め部１１３に赤血球調製液を集めておくことによって、複数のキャビティ１１５に効率よく赤血球を配置させることができる。

[0093] 検査プレート１０４は、例えば、シリコン、ポリシリコン、ガラス、酸化シリコン、ＳＯＩ基板あるいは、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリジメチルシロキサン（ＰＤＭＳ）、ポリメチルメタクリレート（ＰＭＭＡ）、環状オレフィンコポリマー（ＣＯＣ）等のポリマー、またはガラスとポリマーとの張り合わせ等といった複数の材質の組合せの基板から形成することができる。

[0094] キャビティ１１５は、上記基板をエッチング処理やフォトリソグラフィ処理、電子線リソグラフィ処理等によって直接加工したり、上記基板の上面にキャビティ１１５が形成されたフィルム１０６を貼り付けたりすることで形成することができる。

[0095] 検査プレート１０４の面１０４ａ及び複数のキャビティ１１５には、必要に応じてプラズマ処理、酸素プラズマ処理、コロナ放電処理等の親水性を与

える表面処理を施すことができる。例えば、基板として疎水性の基板を用いた場合は、酸素プラズマ処理などの親水性処理を施すことが好ましい。

[0096] キャビティ１１５の形状は特に限定されるものではなく、例えば、円筒形、半球形、多角錐形、直方形、立方形などであってもよい。

[0097] 実施の形態１では、キャビティ１１５は、一つのキャビティ１１５に赤血球が１００個含めることができる大きさを有する。検査プレート１０４の複数のキャビティ１１５の数は１０００個以上、より好ましくは１００００個以上であることが好ましい。この場合、一枚の検査プレート１０４でおよそ１０万個、より好ましくは１００万個の赤血球を配置することが可能となる。

[0098] このとき、複数のキャビティ１１５内に均等に赤血球を配置するために診断キット１００を回転させることが好ましい。この回転においては、回転数を変動させたり、回転方向を反転させたりする操作を加えるとより好ましい。キャビティ１１５内に赤血球を導入した後も回転を続けることによって、不要となった赤血球調製液は、複数の診断プレート１０１の検査プレート１０４に接続されたチャンバー１０５に移動し、廃液として捕集される。チャンバー１０５は診断プレート１０１の最外周に形成されていることが好ましい。

[0099] このように準備された赤血球は、例えば、蛍光顕微鏡あるいはマイクロスキャナーにて蛍光検出により検査する。蛍光強度や標識された赤血球の数を調べることにより、感染症の有無、程度等を検出することができる。

[0100] なお、診断キット１００が円環形状を有する場合、検査プレート１０４の複数のキャビティ１１５を基材プレート１００ｂの外周にあわせて配置することが望ましい。すなわち、複数のキャビティ１１５は中心軸１００ｃを中心とする複数の同心円上に配置されていることが好ましい。上記構成によって、キャビティ１１５に配置された赤血球をより効率的に短時間で検査することができる。

[0101] 次に、診断キット１００を用いて蛍光によって赤血球を診断する方法を説

明する。

[0102] 図６は診断キット１００を用いた赤血球の診断方法を示す断面図である。検査プレート１０４の上方すなわち面１０４ａに対向するようにレーザーモジュール１１６を配置し、検査プレート１０４の下方すなわち面１０４ｂに対向するようにフォトディテクタ１１７を配置する。レーザーモジュール１１６より特定の波長を有する励起光をキャビティ１１５に照射する。キャビティ１１５内の赤血球は励起光により光を発生する。発生した光はフォトディテクタ１１７によって検出される。

[0103] レーザーモジュール１１６には、蛍光試薬に適した波長のレーザー光を発生する。キャビティ１１５内に保持された赤血球のうち、感染赤血球が存在している場合は、レーザー光を照射することによって、蛍光色素が励起され、蛍光を発生する。この蛍光の強度をフォトディテクタ１１７によって検出する。実施の形態１では、フォトディテクタ１１７は蛍光の強度を検出するが、蛍光を発したか発しなかったかを検出して赤血球を診断してもよい。

[0104] 図６に示す実施の形態１における診断キット１００では、検査プレート１０４の面１０４ａ、１０４ｂのうちの一方を通して励起波長の光を赤血球に照射して赤血球中の外来生物より蛍光を発生させ、面１０４ｂから蛍光の強度を測定する。診断キット１００では、検査プレート１０４の面１０４ａ、１０４ｂのうちのどちらか一方から蛍光の強度を測定してもよい。

[0105] また、蛍光を励起しなかった不要なレーザー光がフォトディテクタ１１７によって検出されないように、診断キット１００とフォトディテクタ１１７との間には、励起波長の光を遮蔽するための蛍光フィルタ１１８を配置することが望ましい。蛍光フィルタ１１８はフォトディテクタ１１７の受光部に設けられることが好ましい。蛍光フィルタ１１８を介して蛍光の強度を測定することにより、すなわち診断キット１００から出て蛍光フィルタ１１８を通った蛍光の強度を測定することにより、蛍光を励起しなかった不要なレーザー光がフォトディテクタ１１７によって検出されることを防止することができる。

[0106] また、診断プレート１０１と蛍光フィルタ１１８の間にレンズを入れることで感度を上げることができる。

[0107] 例えば、蛍光試薬として、ＳＹＴＯ５９（登録商標）を用いた場合は、例えば波長６３５ｎｍの可視光により光を励起する。そして、レーザーモジュール１１６から波長６３５ｎｍの可視光を照射した場合、試薬で発生し検出される光の波長は６３５ｎｍより長いので、フォトディテクタ１１７は６３５ｎｍよりも長い波長の光を検出できる精度を有する必要がある。また、蛍光色素の励起に寄与しなかった不要なレーザー光がフォトディテクタ１１７によって誤検出されないように、蛍光フィルタ１１８は６３５ｎｍ付近の波長の光を遮断し、６４５ｎｍ以上の光を遮断せずに通過させることが望ましい。

[0108] 次に、診断キット１００を用いてより効率的に赤血球を診断する方法について説明する。図７は診断キット１００の使用方法を示す概要図である。診断キット１００は、回転可能な載置台１１９の上面に固定されている。載置台１１９は、載置台駆動部１２０によって回転することが可能である。載置台駆動部１２０は例えばスピンドルモータを用いることができる。

[0109] 診断の最初にチャンバー１０２内でサンプル溶液を準備する際には、前述のように、振動により生体試料と染色液と希釈液とをチャンバー１０２内で混ぜることが好ましい。図７に示すように、診断キット１００を載置台１１９に固定した後、載置台駆動部１２０により載置台１１９を駆動することで、診断キット１００を回転させ振動を与えることができる。これにより、チャンバー１０２内の溶液を循環させ効率的に混ぜることができる。この時、回転数を変動させたり、回転方向を反転させたりする操作を加えるとより好ましい。

[0110] 生体試料と染色液と希釈液とを混ぜるための攪拌子をチャンバー１０２内に予め封入してもよい。攪拌子を変位させることで生体試料と染色液と希釈液と撹拌し、より効率的に生体試料と染色液と希釈液とを混ぜることができる。撹拌子としてマグネチックスターラーを用いる場合は、載置台１１９に

診断キット１００を固定した際に、載置台１１９のチャンバー１０２下方に位置する部分には磁石が埋め込まれていることが好ましい。

[0111] 前述のように、チャンバー１０２から流路１０３へとより効率的にサンプル溶液を導入するために、診断キット１００を載置台１１９上面に備え付け、診断キット１００を回転させることにより、遠心力を用いてチャンバー１０２から流路１０３へより効率的にサンプル溶液を導入することができる。

[0112] 複数のキャビティ１１５内に均等に赤血球を配置するために診断キット１００を載置台１１９に固定して回転させることができる。この時、回転数を変動させたり、回転方向を反転させたりする操作を加えるとより好ましい。キャビティ１１５内に赤血球を導入した後も回転を続けることによって、不要となった赤血球調製液は、複数の診断プレート１０１の検査プレート１０４に接続されたチャンバー１０５に移動し、廃液として捕集される。このように、遠心力を用いて、液溜め部１１３から検査プレート１０４へより効率的に赤血球調製液を移動させ、さらには検査プレート１０４からキャビティ１１５へとより効率的に赤血球調製液を移動させることができる。

[0113] 次に、診断キット１００から発生する蛍光を測定する方法について説明する。

[0114] ＣＤまたはＤＶＤのピックアップ方式により、検査プレート１０４の複数のキャビティ１１５を全数効率的に検査することができる。この方法では現行の光ピックアップ装置を応用することができるため、装置を小型かつ低価格にて製造することができ望ましい。ピックアップ方式について以下説明する。

[0115] レーザーモジュール１１６はレーザーモジュール用作動部１２１に固定されている。レーザーモジュール用駆動部１２２によってレーザーモジュール用作動部１２１が左右に動き、レーザーモジュール１１６を診断キット１００の中心軸１００ｃを通る直線１１６ｃに沿って移動させることができる。

[0116] レーザーモジュール用作動部１２１としては、例えば、スクリューを用いることができ、レーザーモジュール用駆動部１２２としては、例えばステッ

ピングモータを用いることができる。

[0117] 蛍光フィルタ１１８が装着されたフォトディテクタ１１７はフォトディテクタ用作動部１２３に固定されている。フォトディテクタ用駆動部１２４によってフォトディテクタ用作動部１２３が左右に動き、フォトディテクタ１１７を診断キット１００の中心軸１００ｃを通る直線１１７ｃに沿って移動させることができる。

[0118] フォトディテクタ用作動部１２３としては例えばスクリューを用いることができ、フォトディテクタ用駆動部１２４としては例えばステッピングモータを用いることができる。

[0119] レーザーモジュール１１６とフォトディテクタ１１７とを互いに連動してそれぞれ直線１１６ｃと直線１１７ｃに沿って移動させていくことによって、レーザーモジュール１１６の真下に一列に整列している複数のキャビティ１１５を一つずつ測定していくことができる。ここで一列に整列しているとは、レーザーモジュール１１６が直線１１６ｃに沿って移動する範囲に平行である列のことを示す。

[0120] 一列に整列した複数のキャビティ１１５の測定が終了すると、載置台駆動部１２０によって、載置台１１９が回転する。載置台１１９を回転させることによって、診断キット１００を回転させて測定していない列に整列した複数のキャビティ１１５に対して個々にキャビティ１１５の検査を行う。このように、載置台１１９の回転と、一列に整列した複数のキャビティ１１５の測定とを繰り返し操作することによって、複数のキャビティ１１５の全数検査をしていくことが可能となる。

[0121] 制御部１２５は、載置台駆動部１２０、レーザーモジュール用駆動部１２２、フォトディテクタ用駆動部１２４の一連の動作制御及び、レーザーモジュール１１６からの励起光の強度調整、焦点位置制御、を行うことが可能である。

[0122] また、制御部１２５には測定データ結果となる発光を捉えたフォトディテクタ１１７の信号を取り出すための制御回路が組み込まれていて、これらの

信号は、装置１２６において受信され、データ処理、データ解析をすることができる。

[0123] 装置１２６においては、これら測定系における駆動部、作動部の全体の制御をすることができる。

[0124] このように検出した結果から、生体試料中の赤血球が外来生物に寄生され、病気感染しているか否かを判断することができる。

[0125] なお、上記の方法では、診断キット１００の上方から特定の励起光を発し、キャビティ１１５内で発光した場合は、その光を診断キット１００の下方に設けられたフォトディテクタ１１７によって検出するとしたが、診断キット１００の下方すなわち面１０４ｂの下方から特定の励起光を発することも可能である。この場合は、キャビティ１１５内で発光した光を反射させハーフミラーを用いて検出し、反射光強度を測定する。

[0126] 上記検出方法を用いれば、診断キット１００の下方より励起光を照射させるため、生体試料がキャビティ１１５内で単層に展開されていない場合であっても、容易に生体試料へ励起光を照射することができ、高感度で検出することが可能であるため好ましい。

[0127] なお、他の検出方法として、励起光がフォトディテクタ１１７に入射することがないように、励起光の消灯した時間帯に発光強度を検出することもできる。

[0128] このとき、励起光を消灯させる手段としては、特定時間のみ点灯しているパルス光を用いる、または励起光の光路にシャッターを設ける方法がある。

[0129] 上記検出方法を用いれば、蛍光フィルタ１１８を使用せずとも励起光が発光物質以外の物に照射されることによる散乱光や、発光物質に吸収されなかった透過光の影響を低減し、発光物質のみに由来する蛍光を高感度で測定することができる。

[0130] なお、励起光を消灯した直後から蛍光の強度を検出できるが、発光物質が励起された後、発光している時間内で蛍光の強度を検出する必要がある。

[0131] ロックインアンプにより、励起光の点灯時間と検出時間のタイミングを容

易に調整することができる。

[0132] 次に、診断キット１００の製造方法について説明する。図８は診断キット１００の製造方法を示す断面図である。

[0133] 診断プレート１０１の基材プレート１００ｂは、互いに貼りあわされた上部基材１２７と下部基材１２８とを有する。上部基材１２７は、底面を除くキャビティ１１５と、底１０３ｃを除く流路１０３と、検査プレート１０４の上面と、キャビティ１１５の一部とを形成する。上部基材１２７の材料としては、上述した検査プレート１０４を形成できる材料を用いることができる。なお、非対象物捕捉構造物１０９として繊維状物質１０９ａを形成する場合は、上部基材１２７の材料としてはシリコンを主成分とする基板を用いることが望ましい。繊維状物質１０９ａはシリコンを原料として形成されるので、上部基材１２７の表面がシリコンからなると、上部基材１２７に繊維状物質１０９ａを直接接合して形成することが可能となる。

[0134] 下部基材１２８は、キャビティ１１５の底面、流路１０３の底１０３ｃと、液溜め部１１３と、検査プレート１０４と、複数のキャビティ１１５と、キャビティ１１５の一部を形成する。下部基材１２８の材料としては、上部基材１２７や検査プレート１０４を形成できる材料を用いることができる。検査プレート１０４と同じ材料を用いることで検査プレート１０４と一体成型を行うことができるので望ましい。

[0135] なお、非対象物捕捉プローブ１１０は流路１０３の底面に形成されることがより精度が高く好ましいので、下部基材１２８に形成させることが望ましい。

[0136] なお、対象物通過部１０８として多孔性材料からなる非対象物捕捉構造物１０９や、スリット１１２を有する貫通板１１１を用いる場合は、上部基材１２７と下部基材１２８とを貼り合わせる前にどちらかの基材に接合しておくことができる。

[0137] なお、図８に示す実施の形態１における診断キット１００では、チャンバー１０２の側面や流路１０３の側面等の診断プレート１０１の壁面は上部基

材１２７にて形成しているが、下部基材１２８からも形成することが可能である。

[0138] このように形成された上部基材１２７と、下部基材１２８とを貼り合わせる。貼り合わせ方法としては、上部基材１２７と下部基材１２８のそれぞれの接合部分を、O_2プラズマを利用したアッシング等によって表面を活性化した後に、アライメント接合機を用いて基材同士を正確に接合する。なお、表面の活性化にはエキシマレーザーやオゾンプラズマなどを用いても良い。

[0139] なお、上記製造方法は、一例であり、これに限定される訳ではない。

[0140] 実施の形態１における診断キット１００においては、一枚の診断キット１００で少量の生体試料から、赤血球中の外来生物を迅速かつ、容易に検出することが可能となる。

[0141] さらに、赤血球抽出を行うことが可能な流路１０３により、複数の細胞を含む生体試料から、標的とする特定の細胞である感染血液細胞を含む赤血球を抽出することが可能となる。そして、抽出された赤血球のみを検査プレート１０４に配置することができるので、高感度に赤血球中の外来生物を検出することが可能となる。

[0142] すなわち、核酸を染色する工程においては、感染血液細胞だけでなく、生体試料にもともと存在する白血球の核酸も染色される。染色された白血球は流路１０３内部にとどまるので、検査プレート１０４には赤血球のみが抽出され、蛍光測定時に染色された白血球を誤判定することを抑制でき、結果として検出精度を向上することができる。

[0143] このように高精度に抽出された赤血球を用いた高精度な測定を実現可能とすることで、自覚症状のない段階からマラリア感染などの感染症発症の有無を確認することが可能となり、感染症の早期発見に繋げることができる。

[0144] また、全血から赤血球を分離するために遠心分離を行う場合は、少なくとも検査に必要とされる全血がより多く必要となったり、あるいは全血を溶媒などで希釈して容量を増大させてから遠心分離を行うために処理工程が多くなったりする場合がある。実施の形態１における診断キット１００は遠心分

離装置のような大掛かりな装置を要しないのでサンプル血液を多く採取する必要がない。指先などからわずか１マイクロリットル程度のサンプル血液を採取してチャンバー１０２に注入することによって赤血球のみを用いて簡単にさらに短時間で計測することができる。

[0145] さらに、染色における前処理なども不要となり、生体試料のみで診断を行うことが可能であり、かつ、遠心分離機のような大掛かりで高価な装置を必要としないので、家庭や空港、港においての簡易検査や臨床現場に適するだけでなく、特にマラリアなどの赤血球を用いた検査を必要とする地域においても、容易に診断を行うことが可能となる。

[0146] また、実施の形態１における診断キット１００及び診断方法を用いれば、複雑な操作が必要なく、簡単に操作することができる。

[0147] なお、実施の形態１では診断キット１００を赤血球に関連する病気診断を目的に用いた場合で説明したが、これに限定されず、例えば、ＤＮＡ検査、蛋白質検査などにも用いることが可能である。

[0148] （実施の形態２）

図９は実施の形態２における診断キット２００の断面図である。図９において、図１から図８に示す実施の形態１における診断キット１００と同時部分には同じ参照番号を付す。実施の形態２における診断キット２００は、実施の形態１における診断キット１００の診断プレート１０１と検査プレート１０４の代わりに、診断プレート２０１と検査プレート２０４を備える。検査プレート２０４は、実施の形態１における検査プレート１０４の複数のキャビティ１１５の代わりに、複数のキャビティ１１５と形状の異なる複数のキャビティ２１５が形成されている。

[0149] 図１０は検査プレート２０４の上面図である。実施の形態１における検査プレート１０４と同様に、検査プレート２０４の面１０４ａに複数のキャビティ２１５が配置されている。

[0150] 図１１はキャビティ２１５の上面図である。図１２は図１１に示すキャビティ２１５の線１２－１２における断面図である。キャビティ２１５は検査

プレート１０４の面１０４ａに開口する開口部２１５ａと、底面２１５ｂと、底面２１５ｂから開口部２１５ａまで延びる内壁面２１５ｅとを有する。底面２１５ｂは平面である。

[0151] キャビティ２１５は底面２１５ｂから開口部２１５ａに向かって広がる錘形状を有する。キャビティ２１５の開口部２１５ａは円形であっても矩形であってもよい。キャビティ２１５の開口部２１５ａは、好ましくは方向１００ａと平行な長手方向２１５ｐに細長く延びている形状を有している。開口部２１５ａの形状は例えば楕円形状であってもよい。図１１に示すように、開口部２１５ａの形状は、方向１００ａの端部の長手方向２１５ｐに直角の方向の幅が、方向１００ａと反対の方向の端の長手方向２１５ｐに直角の方向の幅部より大きい卵形状であることがより好ましい。

[0152] 図１２に示すように、キャビティ２１５の内壁面２１５ｅは、遠心力により過剰な生体試料を排出するために面１０４ａに対して直角ではなく傾斜している。方向１００ａの内壁面２１５ｅの部分２１５ｄの傾斜は、方向１００ａと反対の方向の内壁面２１５ｅの部分２１５ｃの傾斜よりも緩やかである。内壁面２１５ｅの部分２１５ｃは中心軸１００ｃに向かう方向に位置し、診断キット２００が中心軸１００ｃを中心に回転するときの内周方向に位置する。内壁面２１５ｅの部分２１５ｄは診断キット２００が中心軸１００ｃを中心に回転するときの外周方向に位置する。この構造により、遠心力により、過剰な生体試料をチャンバー１０５へとより効率的に排出することができる。

[0153] 洗浄によって生体試料をキャビティ１１５内に過剰に展開してしまうことによって複数のキャビティ間で生体試料の濃度差が生じることにより赤血球中の外来生物の有無を誤判定して高精度に検出できなくなる場合がある。上記形状を有するキャビティ２１５には容易に単層の生体試料を配置することが可能となる。

[0154] したがって、緩衝液、培養液、界面活性剤、酵素等といった洗浄のための新たな薬液を診断キット１００内に注入する必要がない。

[0155] さらに、そのような薬液を入れるための複雑な機構を診断キット２００に設ける必要もないので、容易に診断プレート２０１及び診断キットを製造することが可能となる。

[0156] さらに、診断キット２００が、回転可能な載置台１１９（図７）の上面に固定されている場合に、薬液を用いた洗浄の際には、載置台１１９から一旦取り外す場合がある。実施の形態２における診断キット２００のキャビティ２１５は遠心力によって過剰な生体試料である廃液をキャビティ２１５からチャンバー１０５に移動させ、キャビティ２１５内の生体試料を単層に展開させることが可能となる。

[0157] 図１３は実施の形態２における診断キット２００の他のキャビティ２１６の断面図である。図１３において、図１２に示すキャビティ２１５と同じ部分には同じ参照番号を付す。キャビティ２１６には、底面２１５ｂから一定の断面積を維持しつつ開口部２１５ａに向かって延びる平面状の凹部２１６ｅが形成されている。内壁面２１５ｅは凹部２１６ｅの端から開口部２１５ａまで延びる。凹部２１６ｅの深さＤ２１６は、対象物である赤血球を単層に展開させることが可能な３μｍ以上１０μｍ以下であることが好ましい。深さＤ２１６が１０μｍよりも大きい場合は、過剰な対象物がキャビティ２１６内に残り、対象物が多層に積層する場合がある。この構造により、洗浄せずとも遠心力で生体試料を濃度が均一な単層に展開させることが可能となり、その結果簡易的に効率よく対象物を検査することが可能となる。

[0158] なお、診断キット２００が円環形状を有する場合、検査プレート２０４のキャビティ２１５（２１６）を基材プレート１０１ｂの外周の形状にあわせて配置することが望ましい。

[0159] 図１４Ａは実施の形態２における診断キット２００の他の検査プレート２０４ａの上面図である。図１４Ａにおいて、図１０に示す検査プレート２０４と同じ部分には同じ参照番号を付す。検査プレート２０４ａではキャビティ２１５（２１６）は基材プレート１０１ｂの中心軸１００ｃを中心とする同心円１２０４上に配置されている。この構成によって、キャビティ２１５

（２１６）毎で対象物をより効率的に短時間で検査できる。

[0160] 図１４Ｂは実施の形態２における診断キット２００のさらに他の検査プレート２０４ｂの上面図である。図１４Ｂにおいて、図１４Ａに示す検査プレート２０４ａと同じ部分には同じ参照番号を付す。検査プレート２０４ｂではキャビティ２１５（２１６）は基材プレート１０１ｂの中心軸１００ｃを中心とする同心円１２０４上に配置されている。図１４Ａに示す検査プレート２０４ａではキャビティ２１５（２１６）の長手方向２１５ｐは方向１００ａと平行である。図１４Ｂに示す検査プレート１０４では、複数のキャビティ２１５（２１６）の長手方向２１５ｐは中心軸１００ｃに向かっている。この構成によって、キャビティ２１５（２１６）毎で対象物をより効率的に短時間で検査できる。

[0161] （実施の形態３）

図１５は実施の形態３における診断キット３００の診断プレート３０１の断面図である。図１５において、図１から図８に示す実施の形態１における診断キット１００と同じ部分には同じ参照符号を付す。診断キット３００は実施の形態１における診断キット１００の診断プレート１０１の代わりに診断プレート３０１を備える。実施の形態３における診断キット３００では検査プレート１０４にて血液や生体由来の成分から白血球を抽出して分析できる。

[0162] 診断キット３００では、流路１０３と検査プレート１０４との間に、流路１０３を診断キット３００の外部に連通する貫通孔３３０が診断プレート３０１に設けられている。貫通孔３３０は流路１０３と検査プレート１０４との間に位置する。診断キット３００の複数の診断プレート３０１のそれぞれにおいて貫通孔３３０は液溜め部１１３から方向１００ａと直角の方向である上方向に延びる。診断キット３００は、実施の形態１における白血球を捕捉する非対象物捕捉プローブ１１０や貫通板１１１を有していない。

[0163] 診断キット３００での検査方法について以下に説明する。まず、実施の形態１と同様に赤血球を検査プレート１０４に導入し、白血球を非対象物捕捉

構造物１０９に捕捉させる。その後、貫通孔３３０から洗浄液を液溜め部１１３に注入することによって検査プレート１０４上の赤血球を洗い流す。

[0164] その後、流路１０３に捕捉されている白血球を剥離できる薬剤、例えばＴｒｉｐｓｉｎやＡｃｃｕｔａｓｅ（登録商標）などの分解酵素をチャンバー１０２から流路１０３に導入することにより、流路１０３中で捕捉されている白血球を検査プレート１０４へと移動させる。その後、検査プレート１０４で赤血球と同様に白血球を検査することができる。上記薬剤を用いることで、白血球の膜の損傷は最低限にして白血球の形を維持することができる。上記に限らず白血球の膜を破壊して、白血球を非対象物捕捉構造物１０９から剥離してもよい。

[0165] 血液や生体由来の成分からなる試料の中には血中循環腫瘍細胞（以下、ＣＴＣ）が含まれることがある。実施の形態３における診断キット３００はＣＴＣを検出することも可能である。

[0166] この場合は、ます、チャンバー１０２において、蛍光標識された特異抗体でＣＴＣを染色させる。その後、流路１０３の非対象物捕捉構造物１０９にて白血球とＣＴＣとを捕捉させ、赤血球成分を流路１０３より抽出する。

[0167] 赤血球に比べて白血球やＣＴＣはその表面に吸着分子をより多く有しており、血液内の異物や他の細胞、組織細胞に付着しやすいので、白血球やＣＴＣは繊維状物質１０９ａの表面にも吸着しやすい。また、繊維状物質１０９ａは大きな表面積を持っているのでより多くの白血球やＣＴＣなどの付着性を有した細胞を捕捉することができる。

[0168] さらに、より確実にＣＴＣを捕捉するためには、繊維状物質１０９ａの表面上にＣＴＣを捕捉させるための抗体を予め付着させる。その結果、より確実にＣＴＣを化学吸着させることができる。

[0169] 流路１０３より抽出された赤血球は検査プレート１０４を通り、あるいは、洗浄することにより全て廃液を捕集することができるチャンバー１０５へと排出される。貫通孔３３０より洗浄液を注入することによって検査プレート１０４上の赤血球を洗い流すことができる。

[0170] その後、流路１０３に捕捉されている白血球及びＣＴＣを剥離できる薬剤を用いることにより、流路１０３中の白血球及びＣＴＣを検査プレート１０４へと移動させる。そして、蛍光を測定することによりＣＴＣの有無を検査することができる。少量の血液や生体由来の成分からなる試料の中からＣＴＣを早期に発見できることで、他の組織に到達して浸潤する（転移する）前にＣＴＣを検知し、治療を施すことができる。さらに、ＣＴＣを分離してゲノム分析をすることでの予後、原発部位の特定、抗がん剤による治療効果を判定することが出来る。

[0171] なお、実施の形態３においては、チャンバー１０２に試料を注入する際に、毛細管現象を用いることもできる。

[0172] （実施の形態４）

図１６は実施の形態４における診断キット４００の診断プレート４０１の断面図である。図１６において、図１から図８に示す実施の形態１における診断キット１００と同じ部分には同じ参照符号を付す。診断キット４００は実施の形態１における診断キット１００の診断プレート１０１の代わりに診断プレート４０１を備える。実施の形態４における診断キット４００は血液や生体由来の成分から血しょうを抽出して分析する。

[0173] 診断プレート４０１は、実施の形態１における診断プレート１０１の検査プレート１０４と非対象物捕捉構造物１０９と非対象物捕捉プローブ１１０の代わりに、検査プレート４０４と、流路１０３に設けられた非対象物捕捉構造物４４０と、流路１０３に設けられた非対象物捕捉プローブ４１０とを備える。非対象物捕捉プローブ４１０は白血球や赤血球と特異的に結合する。非対象物捕捉構造物４４０と非対象物捕捉プローブ４１０により、流路１０３ではチャンバー１０２に貯留するサンプル溶液から赤血球や白血球等の血球成分のみが捕捉され、血しょうが抽出される。検査プレート４０４では血しょうを検査する。

[0174] 流路１０３に設けられた非対象物捕捉構造物４４０はサンプル溶液から血球のみを捕捉する。非対象物捕捉構造物４４０は、例えば、実施の形態１に

おける複数の繊維状物質１０９ａと同様の複数の繊維状物質４４０ａにより形成されている。

[0175] 繊維状物質４４０ａ間の空隙の最短距離は、赤血球や白血球の血球などの捕捉物よりも小さい。非対象物捕捉構造物４４０は、複数の繊維状物質４４０ａが互いに絡みあって形成されている。生体試料に含まれる溶質のうち、赤血球、白血球などの血球成分や、その最大直径が繊維状物質４４０ａ間の空隙よりも大きいものが捕捉物として繊維状物質４４０ａにより捕捉される。また、繊維状物質４４０ａ間の空隙を通過可能である血しょうが繊維状物質４４０ａ間を通過していくことにより、非対象物捕捉構造物４４０は血しょうを通過させて抽出することが可能である。

[0176] 血球を抽出する場合、非対象物捕捉構造物４４０の繊維状物質４４０ａ間の空隙は１μｍから３μｍ程度で制御しておくことが望ましい。

[0177] 流路１０３にて抽出された血しょう成分は検査プレート４０４へと移動し、検査プレート４０４に形成されたキャビティ４１５に配置される。

[0178] 血液の中の血しょうは、水分・電解質・糖・脂質・老廃物・血しょう蛋白質などから成る。この中で、血しょう蛋白質は、アルブミン、グロブミン、フィブリノーゲンなどであり、特にグロブリンは免疫機能やアレルギー反応に大きく関わっている。免疫グロブリンが増加すると高蛋白血症状態となり、脱水による血液の濃縮や慢性感染症や膠原病、自己免疫性疾患などを引き起こす。一方、アルブミンが減少すると、低蛋白血漿状態となり、低栄養状態や、失血などでの蛋白の漏出などを引き起こす。また、血漿蛋白の免疫グロブリンの産生低下などが起こると、感染症に罹り易くなるなどを引き起こす。これらの症状を血しょう中の血しょう蛋白質量を定量することにより診断することができる。

[0179] 診断プレート４０１は検査プレート４０４のキャビティ４１５内部に配置された電極を有していてもよい。キャビティ４１５にグルコースオキシダーゼ等の酵素を予め塗布することによって、血しょう中の糖を検査することもできる。この酵素（グルコースオキシダーゼ）が血中のブドウ糖と反応し、

生成された過酸化水素から電気的にまたは比色定量によりブドウ糖濃度を測定することができる。

[0180] 検査プレート４０４には複数のキャビティ４１５が設けられていてもよい。診断プレート４０１は複数のキャビティ４１５にそれぞれ保持されたプローブを有していてもよい。これにより、複数の血しょう成分を検査することができ、一度に様々な種類の生化学分析を行えるため望ましい。

[0181] なお、実施の形態４においては、チャンバー１０２に試料を注入する際に、毛細管現象を用いることもできる。

[0182] （実施の形態５）

図１７は実施の形態５における検出装置１００１の概略図である。図１７において、図１から図１６に示す実施の形態１～４における診断キット１００～４００と同じ部分には同じ参照符号を付す。検出装置１００１は、検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）から出される蛍光を検出するカメラ５５１を備える。

[0183] 検出装置１００１は光ファイバ５５３を用いて、検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）あるいは検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）にある複数のキャビティ１１５（２１５、２１６、４１５）にレーザー光Ｌ２を均一に照射することができる。レーザー光源５５２から照射されるレーザー光Ｌ１は光ファイバ５５３に入射し、光ファイバ５５３のコア内でコア壁面を反射しながら進行する。その結果、レーザープロファイルが均一に近くなる。そして、レンズ５５５にて光ファイバ５５３から出てきたレーザー光Ｌ２の広がりを抑制した後、レーザー光Ｌ２の波長を含む特定波長帯のみを反射できるミラー５５６によってレーザー光Ｌ２を反射する。反射したレーザー光Ｌ２が対物レンズ５５７を通って検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）にある複数のキャビティ１１５（２１５、２１６、４１５）へ照射される。

[0184] 検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）は蛍光を検出するための板状のプレートであり、複数のキャビティ１１５（２１５、２

１６、４１５）に検体を入れることができる。検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）の形状は、円板状、平板状、多角状などである。なお、検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）はキャビティを有していなくてもよく、その場合には面１０４ａ上に検体をスポットすることで検査することもできる。

[0185] 例えば、赤血球中の外来生物の有無を検出する場合、検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）のキャビティ１１５（２１５、２１６、４１５）には、染色液に含浸された複数の赤血球が配置されている。正常な赤血球は核を有さないので染色液によって染色されておらず、このため特定波長の光を照射しても発光（蛍光）しない。赤血球中に外来生物が寄生していると、外来生物由来の核が染色されているので、外来生物が寄生した赤血球はレーザー光の照射により蛍光を発生する。

[0186] この蛍光の内、対物レンズ５５７を透過した蛍光が平行光となり、ミラー５５６に入射して透過する。そして、ミラー５５６を通過した蛍光が結像レンズを介してカメラ５５１内のＣＣＤ素子等の撮像素子５５１ａ上で結像させ、画像を検出する。検出した画像を画像処理することで赤血球の診断ができる。

[0187] レーザー光Ｌ１の波長は、検査に用いられる試薬の励起波長に応じて選択できる。

[0188] レーザー光Ｌ１を効率よく光ファイバ５５３に入射するために、レーザー光源５５２と光ファイバ５５３との間にはレンズ５５４が設けられている。レンズ５５４を適切な位置に置くことにより、エネルギー利用効率が高くなる。レーザー光Ｌ１が光ファイバ５５３に全て入射されるようなレンズ５５４を用いるとより好ましい。

[0189] レンズ５５５は、対物レンズ５５７の瞳径とほぼ同程度の径のレーザー光Ｌ２を形成する。レンズ５５５を適切な位置に置くことにより、検査プレート１０４に照射される励起光の強度分布を均一にすることができる。

[0190] ミラー５５６としては、例えばダイクロイックミラーやハーフミラーを用

いることができるが、特定波長帯を反射させ、かつ蛍光を高効率で透過できるダイクロイックミラーがより望ましい。

[0191] ミラー５５６と結像レンズ５５９との間に蛍光以外の光を遮断できる蛍光フィルタ５５８を配置することが望ましい。

[0192] 実施の形態５における検出装置１００１ではカメラ５５１を用いるので面単位で検出できる。例えば、５倍の対物レンズ、１／２インチの撮像素子５５１ａを用いることで１．３ｍｍ×１ｍｍ程度の面を一度に検出できる。従って、短時間で診断を行うことができる。

[0193] なお、検出時は、検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）は静置させておく。検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）が画像検出面単位より大きい場合は、一部を検出後、検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）を回転などで移動させて他部を検出させてもよい。

[0194] また、カメラ５５１を用いて画像検出できるので、画像処理を施すことにより検体かそうでないものかを区別することができる。例えば、実施の形態１で説明したような非対象物捕捉構造物を有さない診断キットを用いて検体として赤血球中の外来生物の有無を検出する場合、白血球や検査プレートに付着していたゴミなどの検体でないものが蛍光を発する場合がある。しかし、赤血球と白血球とゴミとはそれぞれ大きさ、明度、形状などが異なるため画像処理を施すことでそれらを区別できる。

[0195] レーザー光源５５２から照射されるレーザー光Ｌ１をそのまま検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）に照射すると、照射面内において強度のばらつきが発生する場合がある。照射面内の強度がばらつくことで、照射面内の励起強度にばらつきが生じる。例えば、検体として赤血球中の外来生物の有無を検出する場合、白血球や検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）に付着していたゴミなどの検体でないが蛍光を発するものとが混在していると、通常であれば、検体の方が蛍光強度が弱いために画像処理によって明度で判断できる。しかし、照射面内に励起

強度のばらつきが生じている場合に、励起強度の強い領域に検体、励起強度の弱い領域に検体でないものが存在すると、それらの蛍光強度が同程度になってしまい画像処理での識別が困難になってしまう。

[0196] 実施の形態５における検出装置１００１ではレーザー光Ｌ２を検査プレート１０４（２０４、２０４ａ、２０４ｂ、４０４）に照射する前に光ファイバ５５３内に入射させることによって、検査プレート１０４に照射される励起光の強度分布を均一にすることができる。その結果、正しい画像処理が行えるため、正確な診断を行うことができる。

[0197] 光ファイバ５５３のコアの断面は、丸形状に比べ光を均一にさせやすい矩形状を有することが望ましい。

[0198] 光ファイバ５５３の長さは３ｍ～１０ｍの範囲内であることが好ましい。長すぎることによって検出装置１００１全体が大型化し重くなる恐れがあるが、逆に短すぎると照射面内の光の均一性が不十分となる。

[0199] 検査プレート１０４に照射される励起光の強度分布を均一にする方法として光ファイバ５５３の他、レーザー光の進行方向に複数のレンズを組み合わせた構造や、フライアイレンズを用いた構造、回折光学素子（Ｄｉｇｉｔａｌ　Ｏｐｔｉｃｓ　Ｅｌｅｍｅｎｔｓ、ＤＯＥ）を用いた構造などといった、照射面内の強度を均一にする素子を用いることができる。

[0200] また、実施の形態５における検出装置１００１では光ファイバ５５３を用いて均一化したレーザー光Ｌ２を検査プレート１０４に照射することで、ＬＥＤランプや水銀ランプを用いた場合よりもエネルギー利用効率が高い。

[0201] （実施の形態６）

図１８と図１９はそれぞれ実施の形態６における検査プレート１０４の上面図と要部拡大図である。図１８と図１９において、図１から図１７に示す実施の形態１～５における診断キット１００～４００と検出装置１００１と同じ部分には同じ参照番号を付す。実施の形態６における検出装置では、実施の形態５における検出装置１００１と同様に、複数のキャビティ１１５を有する検査プレート１０４からの蛍光をカメラ５５１で検出した際に、検査

プレート１０４でのキャビティ１１５の位置を検出することができる。

[0202] 図２０は、図１９に示すキャビティ１１５の線２０－２０における断面図である。キャビティ１１５の底面１１５ｂにカメラ５５１の焦点を合わせて蛍光を検出することが望ましい。

[0203] キャビティ１１５の深さが対物レンズ５５７の焦点深度よりも大きい場合、キャビティ１１５の底面１１５ｂに存在する検体を検出する際にキャビティ１５の底面１１５ｂ付近にカメラ５５１の焦点を合わせて検出を行う。キャビティ１１５は底面１１５ｂから検査プレート１０４の面１０４ａに向かって広がるテーパ形状を有してもよい。この場合、キャビティ１１５の側面や検査プレート１０４の面１０４ａといった底面１１５ｂ以外の面に蛍光源が存在すると、蛍光源からの蛍光が焦点ずれによってぼやけて検出されてしまう場合がある。この場合、本来検出すべき検体の画像処理による識別が困難となり検出精度が劣る場合がある。

[0204] 実施の形態６では、検査プレート１０４には、少なくとも３点からなる認識パターンが特定部位に設けられている。認識パターンはキャビティ１１５の一部で構成される。図１８に示すように、キャビティ１１５のうち検査プレート１０４の最端に形成されたキャビティ６１５ａ、６１５ｂ、６１６ｃで認識パターンを構成することができる。認識パターンは、検査プレート１０４の面１０４ａの端部に設けられた３つ以上のマークで構成してもよい。このマークは円形や十字型でもよく、印刷、エッチング、成型などにより形成することが可能である。

[0205] 製造上、検査プレート１０４によってキャビティ１１５の位置に微小なばらつきがある場合においても、認識パターンを用いてキャビティ１１５の位置とキャビティ１１５の角度の微小なずれを認識することにより、初期位置を調整させることができる。キャビティ１１５の位置とキャビティ１１５の角度の微小なずれの認識には、例えばアフィン変換を用いる。

[0206] 初期位置を調整し、一部を検出した後、カメラの視野に合わせて検査プレート１０４を一定量ずつ移動させて他部を検出する検出操作を繰り返す。検

査プレート１０４の移動は、検査プレートを自動ステージ上に載置し移動させたり、回転させたりすることを含む。

[0207] 検査プレート１０４の移動の際にも、検査プレート１０４の複数のキャビティ１１５の間隔のばらつきや、キャビティ１１５の大きさのばらつき、キャビティ１１５の形状のばらつき、自動ステージを移動、回転させる駆動源の制御精度のばらつきなどといったばらつきにより、本来のキャビティ１１５の位置から検出位置がずれていく場合もある。実施の形態６では、図１９に示すように、実際のキャビティ１１５の底面１１５ｂを含む、底面１１５ｂより大きな領域ｄ２をカメラ５５１は検出する。領域ｄ２はキャビティ１１５の底面１１５ｂの１．３～１．５倍程度の径を有する。これにより、検査プレート１０４を移動し、繰返し検出を行った場合であっても、カメラ５５１はキャビティ１１５内の対象物を検出することができる。

[0208] このように、検査プレート１０４全体を検出するのではなく、検査プレート１０４のキャビティ１１５の部分のみを認識し、検出することができるので、短時間で対象物を診断することが可能となる。

産業上の利用可能性

[0209] 本発明における診断キットにより、少量の生体試料によって容易に赤血球中の外来生物を検出でき、赤血球に関連する病気診断を目的に用いられることが期待される。

符号の説明

[0210] １００　診断キット

１００ｂ　基材プレート

１０１　診断プレート

１０２　チャンバー（第一のチャンバー）

１０３　流路

１０４　検査プレート

１０５　チャンバー（第二のチャンバー）

１０８　対象物通過部

１０９　非対象物捕捉構造物

１０９ａ　繊維状物質

１１０　非対象物捕捉プローブ

１１１　貫通板

１１２　スリット

１１５　キャビティ

１１７　フォトディテクタ

１１８　蛍光フィルタ

２１５　キャビティ

２１６　キャビティ

請求の範囲

［請求項1］ 赤血球を含有する生体試料と、核酸を染色することができる染色液とを用いて前記赤血球中の外来生物の有無を検出するように構成された診断キットであって、

基材プレートと、

前記染色液を貯留して前記染色液に前記生体試料が注入されるように構成された、貫通孔が形成された壁面を有する第一のチャンバーと、

前記貫通孔を介して第一のチャンバーと接続された一端と、前記一端の反対側の他端とを有し、前記生体試料と前記染色液から前記赤血球を抽出するよう構成された流路と、

前記流路の前記他端に接続された、前記抽出した赤血球を配置する構成された検査プレートと、

を有する、前記基材プレートに設けられた少なくとも１つの診断プレートと、

前記検査プレートに接続されて、前記生体試料の一部と前記染色液の一部とを捕集することができ、前記基材プレートに設けられた第二のチャンバーと、

を備えた診断キット。

［請求項2］ 前記少なくとも１つの診断プレートは複数の診断プレートを含み、

前記第二のチャンバーは、前記複数の診断プレートのそれぞれの前記検査プレートに接続されて前記複数の診断プレートのそれぞれの前記生体試料の前記一部と前記染色液の前記一部とを捕集することができる、請求項１に記載の診断キット。

［請求項3］ 前記貫通孔の一部に疎水性処理が施されている、請求項１に記載の診断キット。

［請求項4］ 前記診断プレートは、前記流路に設けられて前記赤血球を通過させる対象物通過部をさらに有する、請求項１に記載の診断キット。

[請求項5] 前記対象物通過部は、繊維状物質と多孔性材料のうちの少なくとも１つを含んで白血球を捕捉することができる非対象物捕捉構造物を有する、請求項４に記載の診断キット。

[請求項6] 前記繊維状物質は酸化珪素を主成分とする、請求項５に記載の診断キット。

[請求項7] 前記対象物通過部は、白血球を捕捉することができる非対象物捕捉プローブを有する、請求項４に記載の診断キット。

[請求項8] 前記対象物通過部は、一つ以上のスリットが形成された貫通板を有する、請求項４に記載の診断キット。

[請求項9] 前記一つ以上のスリットは長手方向に細長く延びており、
前記一つ以上のスリットの前記長手方向と直角の方向の幅は７μｍ以下である、請求項８に記載の診断キット。

[請求項10] 前記流路と前記検査プレートとが連結している部位での前記流路の高さは７μｍ以下である、請求項１に記載の診断キット。

[請求項11] 前記診断プレートは、前記流路の前記他端と前記検査プレートとが接続されている連結部位の近傍に設けられた、赤血球を集めるための液止め構造をさらに有する、請求項１に記載の診断キット。

[請求項12] 前記検査プレートには、前記抽出した赤血球を配置することができる複数のキャビティが形成されている、請求項１に記載の診断キット。

[請求項13] 前記流路は前記一端から前記他端に向かって所定の方向に延びており、
前記複数のキャビティのそれぞれは、前記検査プレートの上面に開口する開口部と、平面状の底面と、前記底面から前記開口部まで延びる内壁面とを有し、
前記複数のキャビティのそれぞれは前記底面から前記開口部に向かって広がっており、
前記所定の方向の前記内壁面の部分の傾斜は、前記所定の方向と反対の方向の前記内壁面の部分の傾斜よりも緩やかである、請求項１２に

記載の診断キット。

[請求項14] 前記複数のキャビティのそれぞれの前記底面には平面状の凹部が形成されている、請求項１２に記載の診断キット。

[請求項15] 前記凹部の深さは１０μｍ以下である、請求項１４に記載の診断キット。

[請求項16] 請求項１から請求項１５のいずれか一つに記載の診断キットを準備するステップと、

前記第一のチャンバーに入れられた前記生体試料と前記染色液とを準備するステップと、

遠心力により、前記赤血球を前記第一のチャンバーから前記第一のチャンバーに繋がれた前記流路を経て前記検査プレートに移動させるステップと、

を含む診断方法。

[請求項17] 請求項１から請求項１５のいずれか一つに記載の診断キットを準備するステップと、

前記第一のチャンバーに入れられた前記生体試料と前記染色液とを準備するステップと、

前記第一のチャンバーと前記流路の間に圧力差を発生させることにより前記赤血球を前記第一のチャンバーから前記流路を経て前記検査プレートに移動させるステップと、

を含む、診断方法。

[請求項18] 請求項１から請求項１５のいずれか一つに記載の診断キットを準備するステップと、

前記第一のチャンバーに入れられた前記生体試料と前記染色液とを準備するステップと、

前記赤血球を前記第一のチャンバーから前記流路を経て前記検査プレートに移動させるステップと、

前記赤血球を前記第一のチャンバーから前記流路を経て前記検査プレ

ートに移動させるステップの後で、前記検査プレートの第一の面と前記第一の面の反対側の第二の面のうちの一方を通して励起波長の光を前記移動した赤血球に照射して前記赤血球中の外来生物より蛍光を発生させるステップと、

前記検査プレートの前記第一の面と前記第二の面のうちのどちらか一方から前記蛍光の強度を測定するステップと、

を含む、診断方法。

［請求項19］ 前記蛍光の強度を測定するステップは、前記励起波長の光を遮蔽する蛍光プレートを介して前記蛍光の強度を測定するステップを含む、請求項１８に記載の診断方法。

［請求項20］ 前記蛍光の前記強度を測定するステップは、前記診断キットを回転させながら前記蛍光の前記強度を測定するステップを含む、請求項１８に記載の診断方法。