

〈企業特集：検査機器・試薬・技術の新たな展開〉

全自動化学発光免疫測定装置CL-JACK® NXの 機能と専用試薬の性能評価

中島 弘喜、荒井 信之、笹原 潤、小池 俊夫、伊藤 雅浩、丹部 絵梨、松岡 泰弘

Introduction of fully automated Chemiluminescence System "CL-JACK® NX" and reagents (BNP, ANP)

Hiroki Nakajima, Nobuyuki Arai, Jun Sasahara, Toshio Koike,
Masahiro Ito, Eri Nibe and Yasuhiro Matsuoka

Summary A fully automated Chemiluminescence System "CL-JACK® NX" has been newly developed as the next generation of CL-JACK® RK. "CL-JACK® NX" has the two improvements as follows.

1) High performance throughput. The first result is approximately 12 minutes and (a maximum/average) throughput is 200 tests per hour. 2) High sensitivity. We evaluated "CL-JACK® NX" using both BNP and ANP reagents and obtained good results.

To meet the demand for "speed" and "accuracy" from clinical laboratories, CL-JACK® NX will serve to improve the quality of clinical testing for clinical laboratories.

Key words: Automated Chemiluminescence System, CL-JACK® RK, CL-JACK® NX

I. はじめに

医療現場に質の高いサービスを提供するためには、臨床検査にスピードと信頼性が求められる。緊急時はもちろん、平時においても病院が混み合う診察開始時間帯では、速やかに検査結果を報告し、診察前に検査結果が得られている事が望ましい。また、迅速であるだけでなく、検査結果そのものに高い信頼性が求められることは言うまでもない。

この度、協和メデックスが開発した全自動化学発光免疫測定装置「CL-JACK® NX」(以下、

NX)は、この迅速性・信頼性を両立した次世代型免疫測定装置である。現行の全自動化学発光免疫測定装置「CL-JACK® RK」(以下、RK)で確立された高感度測定系を継承し、さらに、結果打ち出しまでにかかる時間、すなわち、ファーストリザルトと処理能力(テスト/時)による実効速度は最速レベルにまで高められた¹⁾。NXは、スタートボタンを押してから60テストの結果打ち出しまでにかかる時間は、僅か30分である。診察1時間前に採血が始まる大病院であれば診察前に検査結果を報告することは十分に可能であり、この速さで高感度トロポニンTのよ

協和メデックス株式会社
〒104-6004 東京都中央区晴海1-8-10 晴海トリトン
スクエアx-4F

Kyowa Medex Co., Ltd.
Harumi Triton Square X-4F, 1-8-10 Harumi, Chuo-ku,
Tokyo 104-6004, Japan

うな高感度かつ高精度測定が求められる項目についてもラインナップが予定されている。本稿ではこの装置に関する概要と、搭載試薬であるデタミナー® CL BNP、ANPの基本性能評価の結果について報告する。

に、NXは24時間スタンバイ状態を基本としており、試薬はオンボード保管となっているため、いつでも迅速な検査スタート・結果報告が可能となっている（オンボード期間は試薬により異なる）。

II. 機器の概要

機器の外観を写真1に、仕様一覧を表1に示した。装置のデザインには検査室にすっきりとした印象を与える流線形デザインを採用し（意匠登録第1454698号）、フロントアクセスで無駄のない省スペース設計（設置面積比）が実現されている。また、拡張性については、自動給排水ラインや搬送ラインはもちろんオンラインでのデータ入出力に対応しているため、検査センターや大型施設にもスムーズに導入が可能である。基本的な操作は全て12インチタッチパネルから行うことができ、マスターカーブ情報を含む試薬情報は、試薬カードリッジに貼付された2次元バーコードにより自動入力される。さら



写真1 CL-JACK® NXの全景

表1 CL-JACK®NX 仕様一覧

販売名	全自動化学発光免疫測定装置 CL-JACK NX
分析方式	コンティニューアス・ランダムアクセス方式
測定原理	化学発光酵素免疫測定法（CLEIA）
同時測定項目	最大10項目
処理能力	200テスト/時
ファーストアウトプット	1ステップ法：約12分、2ステップ法：約27分
検体架設数	10検体ラック×5ラック
	採血管（φ13/11×75、φ15/13×100、φ16/14×100、φ16×75）
	試験管（φ13/11×75）、日立カップ
サンプル量	10μL（試薬項目による異なる）
検体分注	ピペッティング方式（クロット検知機能有、液面検知機能有）
検体自動希釈	有（1段階 最大61倍希釈×2段階まで可）
試薬架設数	10試薬カセット
試薬パック	3試薬1カセットタイプ（SA磁性粒子試薬、標識抗体試薬、ビオチン化抗体試薬）
試薬情報	二次元バーコードによる自動入力（マスターカーブ情報含む）
試薬庫	15℃常時保冷、オンボード保管可（標準2週間、試薬項目により異なる）
反応容器	ディスポーザブルセル（フィーダーによる自動供給方式）
反応温度	37±0.5℃
検出方式	フォトンカウンティング方式
ディスプレイ	12インチモニター、タッチパネル
寸法・重量	1300（W）×940（D）×1390（H）、320kg（タンク含まず）
外部出力	USB×2
電源電圧	AC100V、15A以内
動作環境	温度15～30℃、湿度40～80%RH（結露なし）
安全性	IEC61010-1:2001、IEC61010-2
	EMC:IEC61326-1
	電気的安全性：IEC60601-1-1:1998（JIST0601-1-1:1999）に準拠

Ⅲ. 測定原理

測定原理にはRKから継承された高感度な化学発光酵素免疫測定（CLEIA）法が採用されている。試薬組成にRK搭載試薬から大きな変更はないが、NXに反応やB/F分離を効率化する改良が加えられているため、測定精度や処理時間に係る性能が向上している。NXの基本測定原理は1ステップサンドイッチ法である。1ステップ法の試薬開発には一定のハードルがあるが、一方で2ステップ法や競合法も処理可能な設計になっているため、反応の特性に応じた柔軟な試薬ラインナップが可能となっている。ここで基本となる1ステップサンドイッチ法の反応工程について説明する。最も基本的な構成においては、最初にアルカリホスファターゼ標識抗体と、ビオチン化抗体が反応セルの中に投じられ、37℃に加温される。この後、検体が分注・攪拌されて反応が開始されるが、この工程は2つの抗体が固相担体に結合されていない状態で反応する液相反応であり、一般的に反応促進や特異性向上に効果があるとされている。この反応は約90秒間行われ、次に固相担体であるストレプトアビジン（SA）結合磁性粒子が添加される。続く約7.5分の反応工程で、SA結合磁性粒子上にサンドイッチ複合体がアビジン-ビオチン結合反応により固定される。さらに、次のB/F分離工程では、セルの外側より磁石でセル内のSA結合

磁性粒子をセル壁面に保持させながら、洗浄液の吸引吐出によりフリーの標識抗体を除く工程となる。この工程はNX独自の技術により、その処理時間はRKに比べて1/3以下に短縮されている。最後に高感度化学発光基質であるLumigen®「APS-5」が加えられ、アルカリホスファターゼ標識量依存的な発光カウントがフォトマルにより計測される。発光カウントは検体中のターゲット物質の濃度に応じて増加するため、マスターカーブ及び標準試薬A、Bで予め作成された標準曲線を基に、検体中のターゲット物質の濃度が求められる。（図1）

Ⅳ. 測定時間

本装置は1ステップ測定を基本とし、ファーストリザルトが約12分であることを特徴としている。さらに、その後の連続した測定結果は18秒間隔で打ち出されるため、1時間あたり200テストの処理能力になる。また、反応がデリケートな項目に関しては2ステップ法を行うことも可能で、この時のファーストリザルトは約27分となるが、処理能力は変わらず200テスト/時間である。ここで特徴的なのはB/F洗浄テーブルを2基装備していることである。通常、B/F洗浄機構を1基しか持たない装置は、1ステップ項目と2ステップ項目をランダムアクセスさせると2ステップ項目の2回のB/F分離工程が律速となり、1ステップ項目の実質的な処理速度が

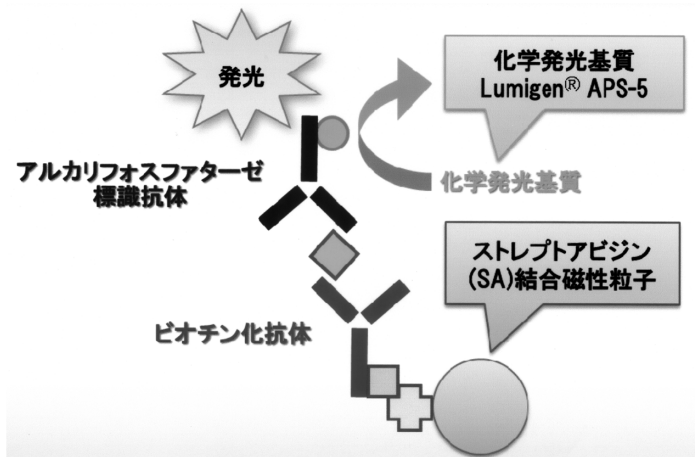


図1 原理図

大幅に低下してしまう問題が生じる。しかし、B/F分離機構をB/F分離テーブルとして独立させ、さらに2基搭載させたことで、2ステップ項目のB/F分離工程が律速とならず、1ステップ項目の高い処理能力が維持されるようになった。NXはこのように高い処理能力を維持しつつ、2ステップ項目までも柔軟に対応した装置として設計されている。

V. 迅速化、高感度化を実現した工夫

NXは装置の機構においてもさまざまな改良・工夫がなされ、RKと同じ試薬を用いながらもその性能や利便性の向上が図られている。その工夫の一つに円筒形の反応セルがある（意匠登録第1468944号）。従来のRKは角型セルであったため、集磁面（B/F洗浄時に磁石により磁性粒子を固持させる面）は平面であった。その分、集磁された粒子は薄く広く集磁されていたが、洗浄液の吸引吐出を繰り返すと粒子をロスしてしまうという課題があった。しかし、セルを円筒形にしたことにより粒子が曲面に沿って密に集磁され、粒子回収率が向上し、安定した精度が得られるようになった。これによりNXでは試薬性能において、より高い精度・感度の向上が実現されるようになった。

また、試薬ボトルのキャップにも改良が加えられている。RKではオンボード時の試薬蒸発を防ぐためにゴム栓型キャップが採用されていたが、ゴム栓をピアスするとプローブ側面に試薬がなぞられ、試薬クロスコンタミ等のリスクがあった。そこでNXでは薄いフィルム状のキャッ

プ天面に切り込みを入れた形状が採用された。（意匠登録第1489341号）特徴的なのはキャップがボトルに締めつけられた際に、その締め付け圧によって軟部切り込み部分の形状が変化し、その切り込み口がぐっと閉まることで試薬蒸発を防ぐ機構となっていることである（特許出願中）。NXではこのキャップの開発と試薬プローブのアルカリ洗浄により、大幅に試薬クロスコンタミのリスクが低減している。

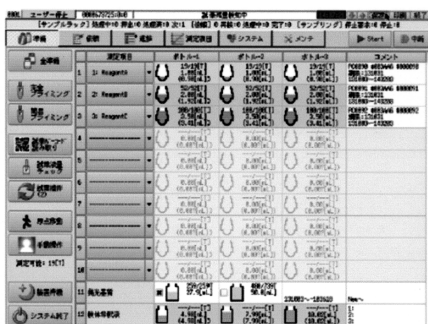
VI. その他の特徴

6-1. 装置画面

NXは若手の技術者から熟練者まで幅広いレベルで扱える操作設計となっている。基本的操作は各パネルの大きいボタンを順番に操作していけば簡便に測定が可能となっている。一方、その周囲には、やや小さい表示ではあるが処理状況を示す数値や操作ボタンが配置されており、パスワードで操作権限レベルを分けることなく、あらゆる操作レベルの人が一緒に操作や管理を行うことができる。

一例を示すと「準備」モニター（図2-A）では、試薬や希釈液、発光基質の残量をイラストで確認できるようになっており、洗浄液等のプライム、試薬攪拌は左側の大きな操作ボタンで行うことができる。測定開始後は各アッセイがどの処理工程にあるのかが、リアルタイムに「進捗表示モニター」に表示される。もしサンプルや試薬吸引時におけるエラーがあれば状況を示すフラグが表示され、また測定結果（発光カウント、濃度）も右側にリアルタイムに表示

A) 準備モニター



B) 測定網目モニター（キャリブレーション）

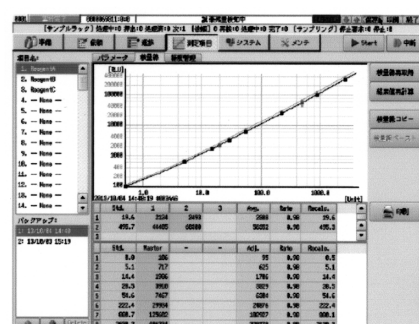


図2 CL-JACK® NXの操作画面

されるようになっている。「測定項目モニター」(図2-B)では各項目のマスターカーブを随時確認でき、同時にキャリブレーションにより補正された曲線も表示されるため、カーブ補正の状態を一目で確認できる。また、キャリブレーションをやりなおした時の再計算・データ管理も可能となっている。

6-2. 試薬カセット

試薬は、アルカリホスファターゼ標識抗体試薬、ビオチン化抗体試薬、SA結合磁性粒子の3本が一体化した3連カセットとなっている(写真2左)。カセットに貼付された二次元バーコードにはマスターカーブ情報・ロット情報・有効期間情報等が盛り込まれており、装置にセットすることでそれらの情報を自動で一括入力できるシステムとなっている。

6-3. 検体ラック

10連式検体ラックとなっており、ほぼすべてのサイズの採血管・カップ類に対応している。(写真2右)

6-4. 待機モード設定

NXには待機モード設定が備えられており、また、試薬庫には保冷機能が搭載されているため、試薬のオンボード保管が可能となっている。待機モードからの復帰はボタン一つで瞬時に行えるため、緊急測定や省力化にも有効である。

VII. NX搭載試薬の性能評価

ナトリウム利尿ペプチドは、環状構造を持っており、プロテアーゼによりこの部分が切断されやすく、血漿中の安定性が悪い事が知られており、採血後のできるだけ迅速な測定が望まれている²⁾。また、ホルモンであるため、その検出には高感度な測定が求められる。この迅速、高感度測定が必要とされる心疾患項目、ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)のNX測定での性能評価を試みた。

7-1. BNP

1) 構成試薬

- ① SA結合磁性粒子
 - ② ビオチン化抗体(ビオチン化抗ヒトBNPモノクローナル抗体)
 - ③ 酵素標識抗体(アルカリホスファターゼ標識抗ヒトBNPモノクローナル抗体)
 - ④ 標準BNP試薬 AおよびB
 - ⑤ 発光試薬
 - ⑥ 洗浄液
 - ⑦ 検体希釈液
- ##### 2) アッセイフロー
- ① ビオチン化抗体 $30\mu\text{L}$ 、酵素標識抗体 $30\mu\text{L}$ をキュベット内に添加する。
 - ② 検体または標準試薬 $10\mu\text{L}$ を加え攪拌し、 37°C で90秒間反応させる。
 - ③ SA結合粒子 $30\mu\text{L}$ を加え攪拌し、 37°C で約7.5

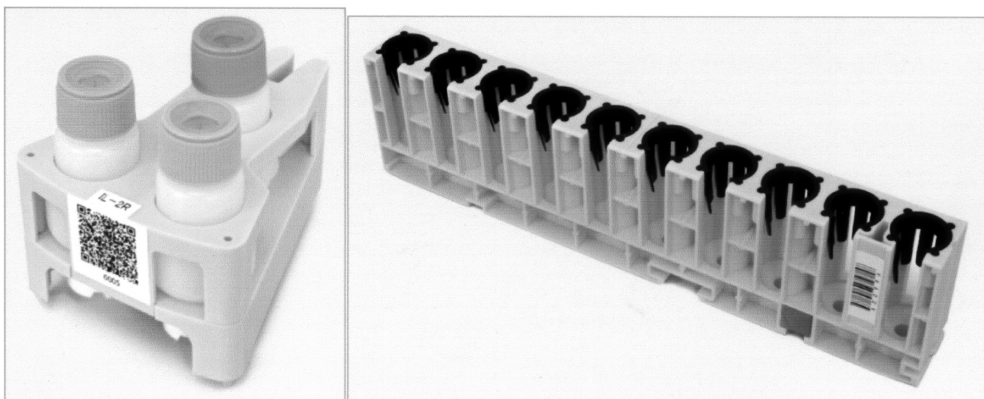


写真2 CL-JACK® NXの試薬ラックと検体ラック

分間反応させる。

- ④ B/F分離後、洗浄液にて洗浄を行う。
- ⑤ 発光試薬100 μ Lを加え攪拌し、37℃で8秒間反応させる。
- ⑥ 発光量を測定する。

3) 同時再現性

低値・中値・高値の3濃度の検体を用いて各10回測定を行い、同時再現性を評価した結果、CVはそれぞれ1.8%、2.1%、1.7%であった(表2-1)。

4) 日差再現性

低値・中値・高値の3濃度の検体を用いて、5日間の測定を繰り返し、日差再現性を評価した結果、CVはそれぞれ1.4%、1.5%、1.8%であった(表2-2)。

5) 希釈直線性

低値・中値・高値の3濃度の検体を検体希釈液で希釈し、希釈直線性を評価した結果、ほぼ原点を通る直線が得られた(図3)。

6) 共存物質の影響

低値、高値の2濃度の血漿検体に溶血ヘモグロビン、乳び、遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビン、リウマトイド因子、ビオチンを5段階の濃度で添加して評価した。

評価の結果、溶血ヘモグロビンは260 mg/dL、乳びは1,550度、遊離型ビリルビンは21.5 mg/dL、抱合型ビリルビンは20.9 mg/dL、リウマトイド因子は500 IU/mL、ビオチンは56 ng/mLまで、それぞれベース検体のBNP値 \pm 10%以内であった(図4)。これら共存物質は、上記濃度までは本試薬のBNP測定に影響を与えないことが示された。

7) 相関

従来機種、RK試薬との相関性について、61検体を用いた相関の回帰式は $y=1.04x+0.95$ 、相関係数は $r=1.000$ (図5-1)、臨床上重要な500 pg/mL以下の52検体での回帰式は $y=1.04x+0.67$ 、

表2-1 BNP再現性

	低値	中値	高値
1	22.6	164.7	657.6
2	23.1	159.8	628.0
3	22.1	161.3	647.8
4	23.4	164.9	661.3
5	22.3	160.2	654.0
6	23.1	159.4	655.6
7	22.3	159.7	658.7
8	22.5	153.1	634.6
9	22.4	158.3	639.2
10	22.5	157.1	644.3
N	10	10	10
Mean (pg/mL)	22.6	159.9	648.1
SD	0.4	3.4	11.3
CV (%)	1.8	2.1	1.7

表2-2 日差再現性

	低値	中値	高値
1	20.5	152.0	618.1
2	20.6	148.6	645.8
3	21.0	146.8	636.0
4	20.5	150.5	638.0
5	20.2	147.4	645.3
N	5	5	5
Mean (pg/mL)	20.6	149.1	636.6
SD	0.3	2.2	11.2
CV (%)	1.4	1.5	1.8

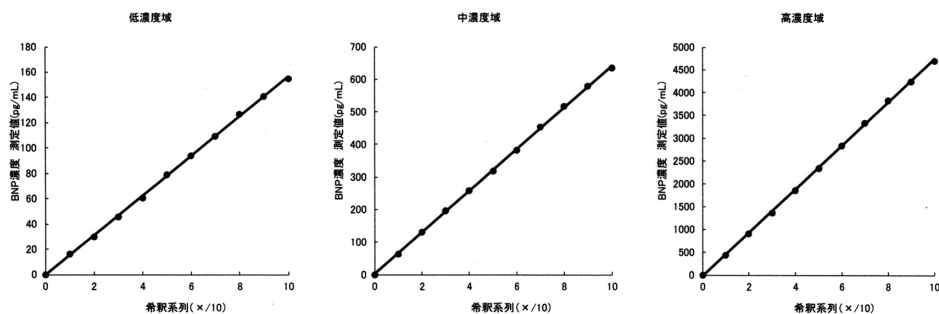


図3 BNP希釈直線性

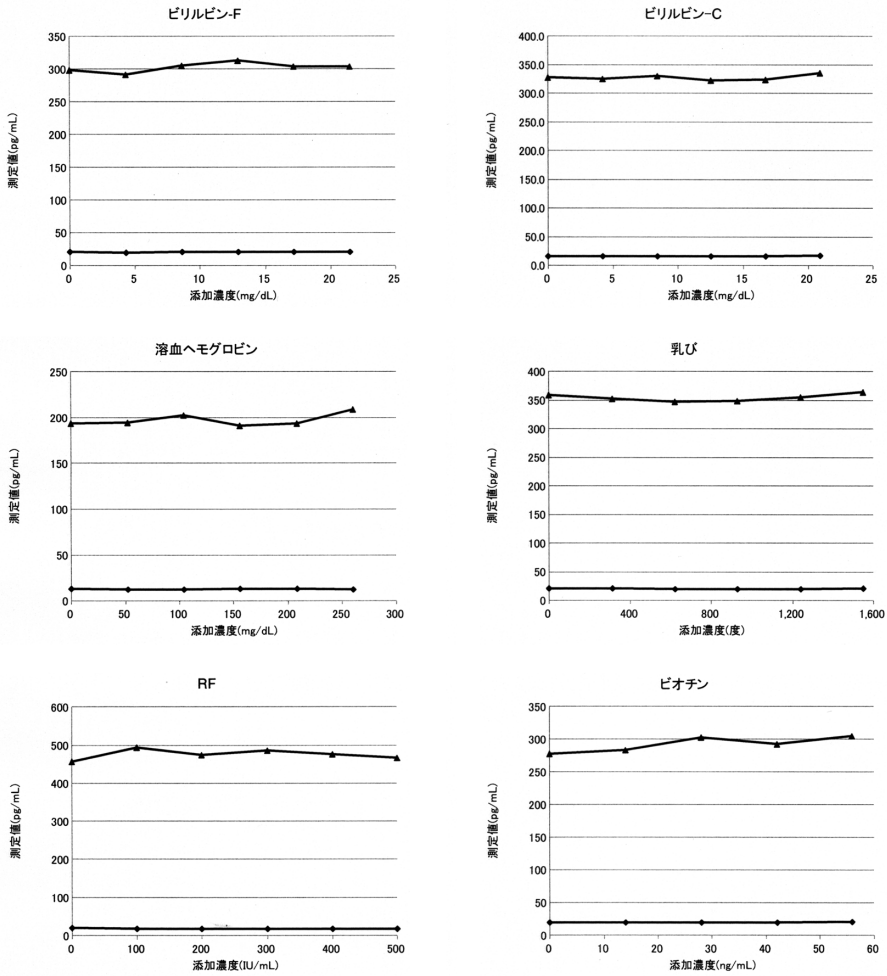


図4 BNP共存物質の影響

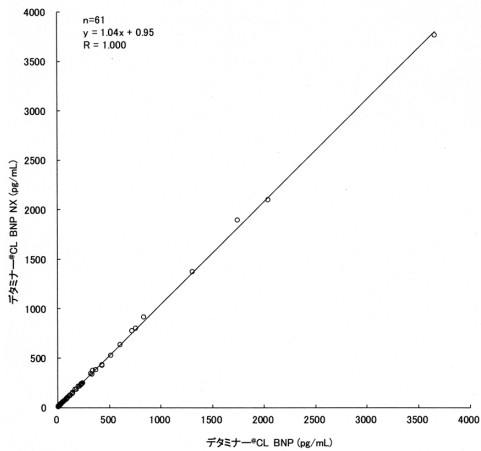


図 5-1 BNP相関図

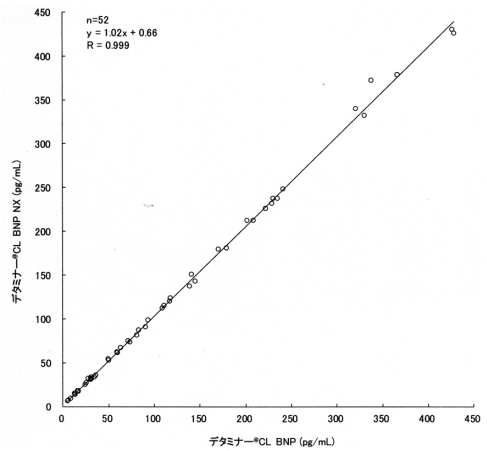


図 5-2 BNP相関図

相関係数は $r=1.000$ であり(図5-2)、良好な相関性を示した。

7-2. ANP

1) 構成試薬

- ① SA結合磁性粒子
- ② ビオチン化抗体(ビオチン化抗ヒトANPモノクローナル抗体)
- ③ 酵素標識抗体(アルカリホスファターゼ標識抗ヒトANPモノクローナル抗体)
- ④ 標準ANP試薬 AおよびB
- ⑤ 発光試薬
- ⑥ 洗浄液
- ⑦ 検体希釈液

アッセイフローについては、BNPと全く同じである。

2) 同時再現性

低値・中値・高値の3濃度の検体を用いて各10回測定を行い、同時再現性を評価した結果、CVはそれぞれ1.2%、2.1%、2.8%であった(表3-1)。

3) 日差再現性

低値・中値・高値の3濃度の検体を用いて、5日間の測定を繰り返し、日差再現性を評価した結果、CVはそれぞれ1.5%、2.5%、3.3%であった(表3-2)。

4) 希釈直線性

低値・中値・高値の3濃度の検体を検体希釈液で希釈し、希釈直線性を評価した結果、ほぼ原点を通る直線が得られた(図6)。

5) 共存物質の影響

低値、および高値の2濃度の血漿検体に溶血ヘモグロビン、乳び、遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビン、リウマトイド因子、ビオチンを5段階の濃度で添加して評価した。

評価の結果、溶血ヘモグロビンは120 mg/dL、乳びは1,800度、遊離型ビリルビンは22.0 mg/dL、抱合型ビリルビンは22.0 mg/dL、リウマトイド

表3-1 ANP再現性

	低値	中値	高値
1	51.7	150.9	635.8
2	50.0	155.0	642.6
3	51.0	147.8	632.4
4	51.6	146.9	627.5
5	50.4	151.7	618.5
6	51.1	149.2	608.6
7	50.5	151.9	602.0
8	50.0	144.7	612.1
9	50.7	150.2	578.1
10	51.2	153.8	605.2
N	10	10	10
Mean (pg/mL)	50.8	150.2	617.2
SD	0.6	3.2	17.4
CV (%)	1.2	2.1	2.8

表3-2 日差再現性

	低値	中値	高値
1	50.4	159.3	653.5
2	51.4	159.4	660.8
3	51.9	154.5	626.2
4	50.0	150.0	614.1
5	50.5	055.3	659.7
N	5	5	5
Mean (pg/mL)	50.8	155.7	642.9
SD	0.8	3.9	21.4
CV (%)	1.5	2.5	3.3

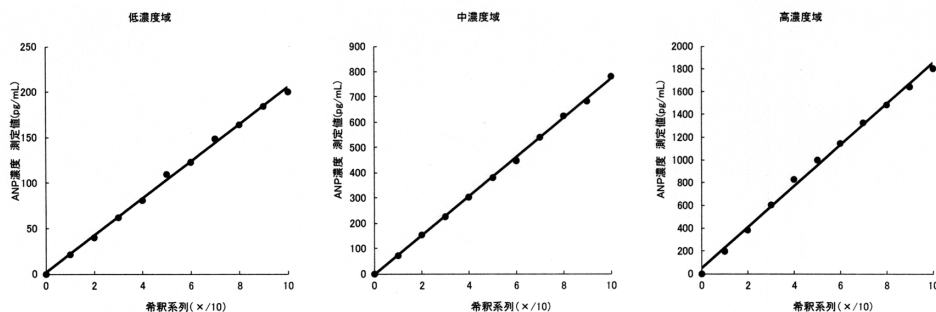


図6 ANP希釈直線性

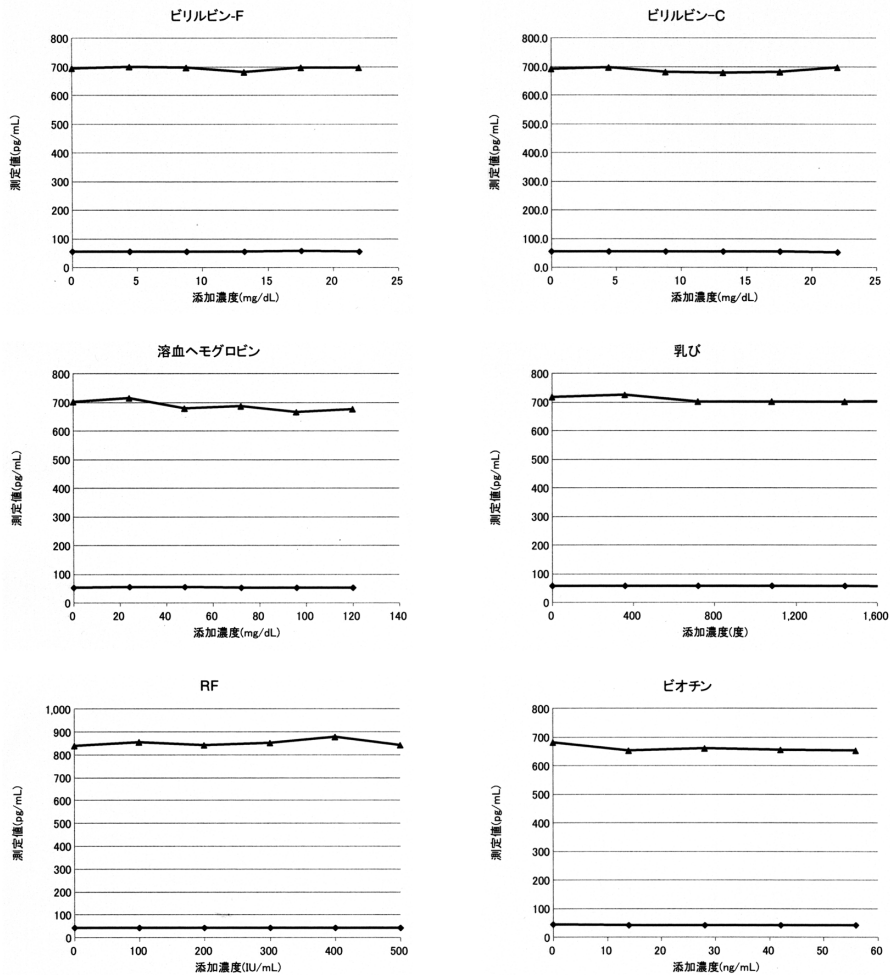


図7 ANP共存物質の影響

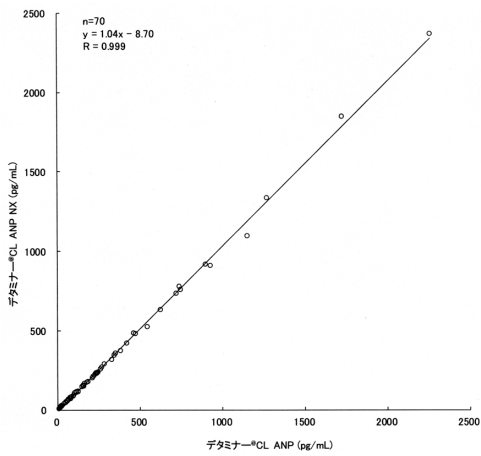


図8-1 ANP相関図

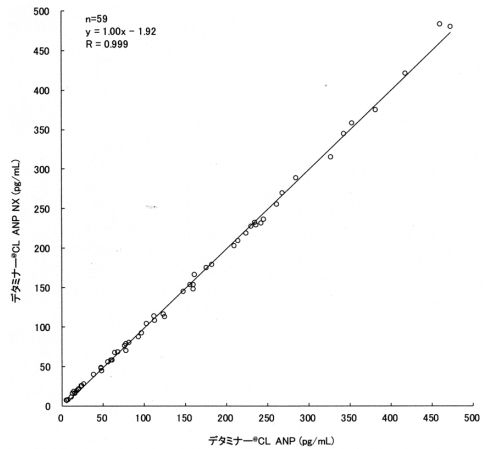


図8-2 ANP相関図

因子は500 IU/mL、ビオチンは70 ng/mLまで、それぞれベース検体のANP値±10%以内であった(図7)。これら共存物質は、上記濃度までは本試薬のANP測定に影響を与えないことが示された。

6) 相関

前機種、RK試薬との相関性について、70検体を用いた相関の回帰式は $y=1.04x-8.70$ 、相関係数は $r=0.999$ (図8-1)、500 pg/mL以下の59検体での回帰式は $y=1.00x-1.92$ 、相関係数は $r=0.999$ であり(図8-2)、良好な相関性を示した。

VIII. まとめ

1 ステップ法でファーストリザルトが約12分、
2 ステップ法でも約27分という高速の化学発光

免疫測定装置「CL-JACK® NX」の機能と搭載試薬についての性能を紹介した。大型機ながらほぼ全フロントアクセスによる省スペース設計なので、余分なスペースを取らずに設置できる。簡便な操作で高感度測定を実現する本装置が、今後、臨床現場のニーズに広く答えられる事を期待している。

参考文献

- 1) 丹部 絵梨 他: 全自動化学発光免疫測定装置「CL-JACK®NX」専用試薬「デタミナー®CLIL-2R」の基本性能. 医療と検査機器・試薬, 37(5): 649-657, 2014.
- 2) 藪内 博史 他: 血中BNP測定値に及ぼす検体保存条件の影響. 臨床化学, 33(3・4): 187-191, 2004.