(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年12月12日(12.12.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/252894 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 33/50 (2006.01) *G01N 27/62* (2021.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2024/018266

(22) 国際出願日： 2024年5月17日(17.05.2024)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2023-092194 2023年6月5日(05.06.2023) JP

(71) 出願人: 株式会社島津製作所 (**SHIMADZU CORPORATION**) [JP/JP]; 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 Kyoto (JP). 学校法人自治医科大学 (**JICHI MEDICAL UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒1020093 東京都千代田区平河町二丁目６番３号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 合田 隆大(**GODA, Takahiro**); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP). 相澤 健一(**AIZAWA, Kenichi**); 〒3290498 栃木県下野市薬師寺３３１１－１ 学校法人自治医科大学内 Tochigi (JP). 木村 夏花(**KIMURA, Natsuka**); 〒3290498 栃木県下野市薬師寺３３１１－１ 学校法人自治医科大学内 Tochigi (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人深見特許事務所 (**FUKAMI PATENT OFFICE, P.C.**); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島三丁目２番４号 中之島フェスティバルタワー・ウエスト Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,

(54) **Title:** BLOOD INSPECTION METHOD

(54) 発明の名称： 血液検査方法

(57) **Abstract:** This blood inspection method comprises a preparation step for preparing whole blood collected from a subject, a pretreatment step for pretreating the whole blood to prepare an analysis sample, a separation step for separating the analysis sample into individual components by liquid chromatography, and an analysis step for analyzing each of the separated components with a mass spectrometry device. The subject has undergone the administration of a first immunosuppressive agent and a second immunosuppressive agent, the first immunosuppressive agent comprising at least one component selected from the group consisting of tacrolimus, ciclosporin A, everolimus and sirolimus, and the second immunosuppressive agent comprising at least one component selected from the group consisting of mycophenolic acid and metabolites thereof. The separated components include the first immunosuppressive agent and the second immunosuppressive agent. With respect to the method, in the analysis of the components with the mass spectrometry device, the analysis is performed in a positive mode when the first immunosuppressive agent is analyzed as a target component, and the analysis is performed in a negative mode when the second immunosuppressive agent is analyzed as a target component.

(57) 要約：被験者から採取された全血を準備する準備工程と、前記全血を前処理して分析用試料を準備する前処理工程と、前記分析用試料を液体クロマトグラフで成分ごとに分離する分離工程と、分離された前記成分を質量分析装置で分析する分析工程とを含む、血液検査方法であって、前記被験者は、第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤を投与されている被験者であり、前記第１免疫抑制剤は、タクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスからなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、前記第２免疫抑制剤は、ミコフェノール酸及びその代謝物からなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、分離された前記成分は、前記第１免疫抑制剤、及び前記第２免疫抑制剤を含み、前記質量分析装置で分析する際、対象成分として前記第１免疫抑制剤を分析するときはポジティブモードで分析し、対象成分として前記第２免疫抑制剤を分析するときは、ネガティブモードで分析する、血液検査方法。

WO 2024/252894 A1

［続葉有］

SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能):ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一　国際調査報告(条約第21条(3))

明　細　書

発明の名称 ： 血液検査方法

技術分野

[0001]　本発明は、血液検査方法に関する。

背景技術

[0002]　臓器又は造血幹細胞の移植治療では、移植による拒絶反応を抑制するために、通常、免疫抑制剤が患者に投与されている。しかし、免疫抑制剤の過剰な投与は患者の免疫力を必要以上に抑制してしまい、感染症などを引き起こす場合がある。そのため、免疫抑制剤は、投与後に血中の薬物濃度（「薬物血中濃度」ともいう。）を測定・監視して、投与量を緻密に管理していく必要がある。

[0003]　このような薬物血中濃度をモニタリングする方法（以下、「ＴＤＭ」と略する場合がある）として、高速液体クロマトグラフィー又はガスクロマトグラフィーによる分離分析法、蛍光偏光免疫測定法、酵素免疫測定法又は放射性免疫測定法による免疫学的手法、および原子吸光光度法が知られている。

[0004]　例えば、特開２０２１－１２８００５号公報（特許文献１）には、除タンパク処理された血液検体をコンディショニングされた固相抽出カラムへ添加し、該血液検体が固相抽出カラムを通過後、固相抽出カラムを洗浄し、その後固相抽出カラムから吸着物を溶出用液にて溶出させ、得られた溶出液をＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析することを含む、薬物血中濃度のモニタリング方法が開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開２０２１－１２８００５号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006]　薬物血中濃度をモニタリングするために準備される血液試料は、モニタリ

ングの対象となる薬物によって、全血が用いられる場合もあれば、血漿が用いられる場合もある。例えば、免疫抑制剤の一種であるタクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスをモニタリングするときは、血液試料として全血が用いられる。一方で、別の免疫抑制剤の一種であるミコフェノール酸およびその代謝物（例えば、ミコフェノール酸β－Ｄ－グルクロニド）をモニタリングするときは、血液試料として血漿が用いられる。そのため、モニタリングする薬物が２種類以上であり、全血と血漿をそれぞれ準備する必要がある場合、採血量が増えるなど、患者への負担が大きかった。

[0007] 本発明は上記事情に鑑みてなされたものであり、２種類以上の免疫抑制剤を、同一の血液試料で定量可能な、血液検査方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、鋭意研究を行った結果、血液試料として全血を用いて、かつ、分析対象の成分に応じて質量分析におけるイオン化モードを変化させることで、２種類以上の免疫抑制剤を、同一の血液試料で定量可能であることを見いだし、本発明を完成させた。

[0009] 本発明の第１の態様は、

被験者から採取された全血を準備する準備工程と、

前記全血を前処理して分析用試料を準備する前処理工程と、

前記分析用試料を液体クロマトグラフで成分ごとに分離する分離工程と、

分離された前記成分を質量分析装置で分析する分析工程とを含む、血液検査方法であって、

前記被験者は、第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤を投与されている被験者であり、

前記第１免疫抑制剤は、タクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスからなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、

前記第２免疫抑制剤は、ミコフェノール酸及びその代謝物からなる群より

選ばれる少なくとも１種を含み、

分離された前記成分は、前記第１免疫抑制剤、及び前記第２免疫抑制剤を含み、

前記質量分析装置で分析する際、対象成分として前記第１免疫抑制剤を分析するときはポジティブモードで分析し、対象成分として前記第２免疫抑制剤を分析するときは、ネガティブモードで分析する、血液検査方法、に関する。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、２種類以上の免疫抑制剤を、同一の血液試料で定量可能な、血液検査方法を提供することが可能になる。

発明を実施するための形態

[0011] 以下、本発明の一実施形態（以下「本実施形態」と記す。）について説明する。ただし、本実施形態はこれに限定されるものではない。本明細書において「Ａ～Ｚ」という形式の表記は、範囲の上限下限（すなわちＡ以上Ｚ以下）を意味し、Ａにおいて単位の記載がなく、Ｚにおいてのみ単位が記載されている場合、Ａの単位とＺの単位とは同じである。

[0012] ≪血液検査方法≫

本発明の第１の態様は、

被験者から採取された全血を準備する準備工程と、

前記全血を前処理して分析用試料を準備する前処理工程と、

前記分析用試料を液体クロマトグラフで成分ごとに分離する分離工程と、

分離された前記成分を質量分析装置で分析する分析工程とを含む、血液検査方法であって、

前記被験者は、第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤を投与されている被験者であり、

前記第１免疫抑制剤は、タクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスからなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、

前記第２免疫抑制剤は、ミコフェノール酸及びその代謝物からなる群より

選ばれる少なくとも１種を含み、

分離された前記成分は、前記第１免疫抑制剤、及び前記第２免疫抑制剤を含み、

前記質量分析装置で分析する際、対象成分として前記第１免疫抑制剤を分析するときはポジティブモードで分析し、対象成分として前記第２免疫抑制剤を分析するときは、ネガティブモードで分析する、血液検査方法、に関する。

[0013] ＜準備工程＞

本工程は、被験者から採取された全血を準備する。上記被験者は、第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤を投与されている被験者である。「被験者」とは、本実施形態における血液検査方法を行う全血の由来であるヒトを意味し、年齢、性別、人種は特に制限されない。上記被験者は、健常者であってもよいし、何らかの疾患を有している患者であってもよい。本実施形態の一側面において、上記被験者は、臓器又は造血幹細胞の移植治療を受けている患者であることが好ましい。

[0014] 本実施形態において「全血」とは、上記被験者から採取されたままの血液、又は当該血液に抗凝固剤を添加した血液試料を意味する。上記全血は、血球成分、血小板及び血漿成分を含む。全血の採取方法は、特に制限されず、公知の方法によって被験者から採取すればよい。

[0015] 本実施形態において、第１免疫抑制剤は、タクロリムス（一般名：タクロリムス水和物）、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスからなる群より選ばれる少なくとも１種を含む。

[0016] 本実施形態において、第２免疫抑制剤は、ミコフェノール酸（ＭＰＡ）及びその代謝物（例えば、ミコフェノール酸β－Ｄ－グルクロニド（ＭＰＡＧ））からなる群より選ばれる少なくとも１種を含む。

[0017] ＜前処理工程＞

本工程は、前記全血を前処理して分析用試料を準備する。

[0018] 上記全血に施される前処理の方法は、前処理によって得られる分析用試料

が後述する液体クロマトグラフによって成分ごとに分離可能であれば、特に制限なく用いることができる。本実施形態の一側面において、「分析用試料」は、上記全血に由来する試料であって、後述する分離工程に供される試料と把握することもできる。上記前処理としては、例えば、タンパク質の除去操作（「除タンパク操作」と表記する場合がある。）、固相抽出法による抽出等が挙げられる。

[0019] 本実施形態の一側面において、上記前処理を行う前に、上記全血に所定量の内部標準物質を添加してもよい。上記内部標準物質としては、例えば、公知の内部標準物質を用いることができる。

[0020] ＜分離工程＞

本工程は、前記分析用試料を液体クロマトグラフで成分ごとに分離する。液体クロマトグラフ（ＬＣ）は、移動相と固定相とに対する分析試料中の各成分の親和性の違いを利用して、当該成分を分離し異なる保持時間で溶出させる。質量分析装置により分析対象の成分を分離して検出できるように、所望の精度で当該成分を分離することができれば液体クロマトグラフの種類は限定されない。液体クロマトグラフとしては、例えば、ナノＬＣ、マイクロＬＣ、高速液体クロマトグラフ（ＨＰＬＣ）および超高速液体クロマトグラフ（ＵＨＰＬＣ）等を用いることができる。

[0021] 本実施形態において、移動相としては特に制限されないが、例えば、移動相Ａとしてギ酸アンモニウム水溶液、移動相Ｂとしてアセトニトリルおよびイソプロパノールを体積比で１：１等の所定の割合で含む液体、及び後述する実施例に記載の移動相が挙げられる。

[0022] 本実施形態において、固定相としては特に制限されないが、例えば、シリカゲル等の担体に担持された、Ｃ８やＣ１８等の直鎖炭化水素が結合されたシラン、及び後述する実施例に記載の固定相が挙げられる。

[0023] ＜分析工程＞

本工程は、分離された前記成分を質量分析装置で分析する。分離された前記成分は、前記第１免疫抑制剤、及び前記第２免疫抑制剤を含む。

[0024] 本実施形態において、質量分析装置で分析する際、対象成分として前記第１免疫抑制剤を分析するときはポジティブモードで分析し、対象成分として前記第２免疫抑制剤を分析するときは、ネガティブモードで分析する。本実施形態の一側面において、液体クロマトグラフによる分離において対象成分の溶出時間が予め分かっている場合、その溶出時間に基づいて、イオン化モードをポジティブモードまたはネガティブモードに設定することができる。

[0025] 従来から、免疫抑制剤の一種であるタクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムス（第１免疫抑制剤）をモニタリングするときは、血液試料として全血が用いられていた。一方で、別の免疫抑制剤の一種であるミコフェノール酸およびその代謝物（例えば、ミコフェノール酸β－Ｄ－グルクロニド）（第２免疫抑制剤）をモニタリングするときは、血液試料として血漿が用いられていた。そのため、第１免疫抑制剤と第２免疫抑制剤とをモニタリングするために、全血と血漿をそれぞれ準備する必要がある場合、採血量が増えるなど、患者への負担が大きかった。また、第１免疫抑制剤の検出濃度範囲と、第２免疫抑制剤の検出濃度範囲とが大きく異なっている点も採血量が増える理由であった。ＬＣ－ＭＳでこれらを測定する際、第２免疫抑制剤の血中濃度の方が、第１免疫抑制剤の血中濃度と比較して高い。そのため、例えば、第１免疫抑制剤を検出するのに感度を最適化すると、第２免疫抑制剤を検出する際はサチレーションを起こすため、両方の成分を一斉分析することが容易ではなかった。

[0026] 本発明者らは、鋭意研究を行った結果、血液試料として全血を用いて、かつ、分析対象の成分に応じて質量分析におけるイオン化モードを変化させることで、２種類以上の免疫抑制剤（第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤）を、同一の血液試料で定量可能であることを見いだした。質量分析の感度を下げる方法として、ネガティブモードを用いたり、ガス流量又は電圧を変化させることは従来から行われていた。しかし、同一の血液試料から、第１免疫抑制剤と第２免疫抑制剤とを同時に分析できるように、すなわちダイナミックレンジを揃えるために、第２免疫抑制剤の分析の際にネガティブモードを

採用することは、これまでに行われていなかった。

[0027] 質量分析装置によるイオン化の方法は特に限定されず、エレクトロスプレー（ＥＳＩ）法、ナノエレクトロスプレーイオン化（ｎａｎｏ－ＬＳＩ）法等を用いることができる。本実施形態において、イオン化の方法は、ＥＳＩ法であることが好ましい。

[0028] 上記質量分析装置としては、例えば、フーリエ変換型質量分析装置、飛行時間型（Ｑ－ＴＯＦ型）質量分析装置、トリプル四重極型質量分析装置等が挙げられる。本実施形態において、既知の成分について短時間で精度良く分析する観点から、上記質量分析装置は、トリプル四重極型質量分析装置であることが好ましい。

[0029] 本実施形態の一側面において、上記分離工程と上記分析工程とは連続して実施してもよい。例えば、液体クロマトグラフ－タンデム型質量分析装置を用いることで、上記分離工程と上記分析工程とは連続して実施してもよい。上記液体クロマトグラフ－タンデム型質量分析装置は、典型的には、液体クロマトグラフ－トリプル四重極型質量分析装置、又は、液体クロマトグラフ－四重極／飛行時間型（Ｑ－ＴＯＦ型）質量分析装置である。通常、こうした液体クロマトグラフ－タンデム型質量分析装置では、液体クロマトグラフで分離されたあとの溶出液中の成分毎に、検出感度ができるだけ高くなるように、つまりは最良な状態になるように、分析パラメータが定められる。

[0030] 本実施形態の一側面において、分析工程において、分離された前記成分を定量することを更に含むことが好ましい。分離された前記成分を定量する方法としては、特に制限はなく公知の方法を用いることができる。そのような方法としては、例えば、絶対検量線法、内部標準法等が挙げられる。本実施形態の他の側面において、分析工程は、分離された前記成分を、予め準備した検量線に基づいて定量することを更に含むことが好ましい。

実施例

[0031] 以下、実施例を挙げて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0032] ≪検量線の作成≫

＜全血キャリブレーション溶液の準備＞

以下の手順で全血キャリブレーション溶液（Ｌ１～Ｌ６）を準備した。まず、ＭＰＡのメタノール溶液（濃度：０．０１～５ｍｇ／Ｌ）及びＭＰＡＧのメタノール溶液（濃度：０．１～２５ｍｇ／Ｌ）を、マイクロチューブにそれぞれ３０μｌ加えた。その後、当該マイクロチューブ内にＭＰＡ及びＭＰＡＧのみが残るように、溶媒であるメタノールを蒸発させた。このようにして、ＭＰＡ及びＭＰＡＧの量が異なる６本のマクロチューブ（Ｌ１～Ｌ６）を準備した。

[0033] 上記マイクロチューブＬ１に対して、キャリブレータ原液Ｌ１を３μｌ加えた。ここで「キャリブレータ原液」とは、全血をマトリックスとし、タクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスが表１に記載の濃度で溶解している液体試料である。

[0034] 次に、上記マイクロチューブＬ１に対して、免疫抑制剤分析キットＤＯＳＩＭＭＵＮＥ（株式会社島津製作所製）に含まれる内部標準試料（３μｌ）と、免疫抑制剤分析キットＤＯＳＩＭＹＣＯ（株式会社島津製作所製）に含まれる内部標準試料（３μｌ）と、抽出液（アセトニトリル：メタノール：水＝４０：４０：２０の混合液）（２００μｌ）とを加えて、１分間、ボステックスで混合した。混合した後、当該マイクロチューブＬ１を遠心処理（１５０００ｒｐｍ、７分間）して、上清と沈殿物とに分離した（前処理工程）。この上清を２００μｌ回収して全血キャリブレーション溶液Ｌ１とした。

[0035] マイクロチューブＬ２～Ｌ６についても、それぞれキャリブレータ原液Ｌ２～Ｌ６を３μｌ加えたこと以外は、上記と同様の操作を行い、全血キャリブレーション溶液Ｌ２～Ｌ６を準備した。表１にキャリブレータ原液Ｌ１～Ｌ６に含まれる各成分の濃度を示す。

[0036]

[表1]

	成分	L1	L2	L3	L4	L5	L6
キャリブレータ原液 (μg/L)	Cycrosporin A	26.07	106.48	453.67	1027.00	1574.30	1866.00
	Sirolimus	1.93	5.07	9.76	15.09	24.30	35.40
	Everolimus	2.04	4.88	9.20	14.77	24.84	36.88
	Tacrolimus	1.73	4.86	9.27	13.96	23.30	33.09
	MPA	100	500	5000	10000	25000	50000
	MPAG	1000	5000	25000	50000	125000	250000

[0037] ＜分離及び分析＞

上記全血キャリブレーション溶液Ｌ１～Ｌ６をＬＣ－ＭＳ／ＭＳでグラジエント溶離により分析した。分析条件は以下のとおりである。

[0038] （クロマトグラフィの条件）

トラップ溶媒（ポンプＣ）：ＤＯＳＩＭＭＵＮＥ　ＭＯＢＩＬＥ　ＰＨＡＳＥ　Ａ

移動相　Ａ（ポンプＡ）：ＤＯＳＩＭＭＵＮＥ　ＭＯＢＩＬＥ　ＰＨＡＳＥ　Ａ

移動相　Ｂ（ポンプＢ）：ＤＯＳＩＭＭＵＮＥ　ＭＯＢＩＬＥ　ＰＨＡＳＥ　Ｂ

初期移動相流量：０．２　ｍＬ／ｍｉｎ

トラップカラム：ＤＯＳＩＭＭＵＮＥ　Ｔｒａｐ　Ｃｏｌｕｍｎ（Ｓ／Ｎ　ＡＬＩＭＴＣＬ０００００１５５）

分析カラム：ＤＯＳＩＭＭＵＮＥ　Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ　Ｃｏｌｕｍｎ（Ｓ／Ｎ　ＡＬＩＭＴＣＬ０００００１５５）

初期バルブ位置：０（ポンプＣ～トラップカラム～Ｄｒａｉｎ）

タイムプログラム　　：表２参照（時間の単位は「分」）

カラム温度：６５℃

注入量：２０μＬ

[0039]

[表2]

時間	ユニット	処理命令	数値
0.01	ポンプ	T.Flow	0.8
0.01	ポンプ	C.Flow	2
0.25	カラムオーブン	Oven Valve 1	1
0.25	ポンプ	C.Flow	2
0.26	ポンプ	C.Flow	0.02
1	ポンプ	T.Flow	0.8
1	ポンプ	B.Conc	60
1.25	ポンプ	T.Flow	0.8
1.25	ポンプ	B.Conc	100
1.5	カラムオーブン	Oven Valve 1	0
1.5	ポンプ	C.Flow	0.02
1.51	ポンプ	C.Flow	2
2.5	ポンプ	B.Conc	100
2.51	ポンプ	B.Conc	60
3	コントローラ	Stop	

Oven Valve 1 : 1 で
ポンプ A～トラップカラム～分析カラム～MS に流路切換

[0040] （質量分析の条件）

イオン化法：ＥＳＩ－Ｎｅｇａｔｉｖｅ　ＭＲＭ　ｍｏｄｅ（０－１．２５ｍｉｎ　ＭＰＡ，ＭＰＡＧ）

ＥＳＩ－Ｐｏｓｉｔｉｖｅ　ＭＲＭ　ｍｏｄｅ（１．２５－３．００ｍｉｎ　エベロリムス，シロリムス，タクロリムス，シクロスポリンＡ）

ネブライザーガス流量：３Ｌ／ｍｉｎ

ヒーティングガス流量　：１０Ｌ／ｍｉｎ

インターフェイス温度　：２００℃

ドライイングガス流量　：１０Ｌ／ｍｉｎ

ＤＬ温度：１５０℃

ヒートブロック温度：２００℃

ＣＩＤガス圧力：２３０ｋＰａ

プローブ位置：＋３　ｍｍ

[0041] （ＭＲＭの条件）

MPA (ESI-Negative) :319.2000>191.2500 (CE 30 V)

MPA IS (ESI-Negative):323.2000>191.2500 (CE 23 V)

MPAG (ESI-Negative):495.2000>191.3000 (CE 37 V)

MPAG IS (ESI-Negative):499.2000>191.2000 (CE 42 V)

エベロリムス (ESI-Positive):975.6000>908.5500 (CE -17 V)

エベロリムス IS (ESI-Positive):981.6000>914.7000 (CE -17 V)

シロリムス (ESI-Positive): 931.6000>864.6500 (CE -17 V)

シロリムス IS (ESI-Positive): 935.6000>864.5000 (CE -18 V)

タクロリムス (ESI-Positive):821.5000>768.5500 (CE -22 V)

タクロリムス IS (ESI-Positive):826.5000>773.6000 (CE -22 V)

シクロスポリンA (ESI-Positive):1220.0000>1202.9500 (CE -19 V)

シクロスポリンA IS (ESI-Positive):1232.0000>1215.0000 (CE -19 V)

[0042] 分析結果に基づいて作成した各成分の検量線を表３～表８に示す。表３～表８において、「設定濃度」は表１における「キャリブレータ原液」の欄に示される濃度であり、「濃度」は得られた検量線を元に「面積比」から導き出した濃度を示す。「正確さ％」は、「設定濃度」を基準にしたときの「面積比」から導き出した濃度の割合（％）を示している。

[0043]

[表3]

MPA 検量線

	設定濃度 (mg/L)	保持時間 (min)	面積比	濃度 (mg/L)	正確さ (%)
L1	0.1	0.89	0.007	0.11	106.3
L2	0.5	0.90	0.040	0.50	100.7
L3	5	0.90	0.399	4.90	98.1
L4	10	0.90	0.768	9.43	94.3
L5	25	0.90	2.011	24.65	98.6
L6	50	0.90	4.162	51.01	102
近似式等	Y = 0.0816333X - 0.00152902 R^2 (寄与率)= 0.9993200, R = 0.9996599				

[0044] [表4]

MPAG 検量線

LEVEL	設定濃度 (mg/L)	保持時間 (min)	面積比	濃度 (mg/L)	正確さ (%)
L1	1	0.79	0.003	1.07	107.4
L2	5	0.79	0.018	5.54	110.7
L3	25	0.78	0.073	22.07	88.3
L4	50	0.78	0.146	44.07	88.1
L5	125	0.78	0.434	130.42	104.3
L6	250	0.78	0.842	252.84	101.1
近似式等	Y = 0.00333082X - 0.000433601 R^2 (寄与率)= 0.9967909, R = 0.9983942				

[0045]

[表5]

エベロリムス 検量線

LEVEL	設定濃度 (μg/L)	保持時間 (min)	面積比	濃度 (μg/L)	正確さ (%)
L1	2.04	1.67	0.064	1.8	87.8
L2	4.88	1.67	0.137	4.5	92.9
L3	9.20	1.67	0.290	10.2	111.4
L4	14.77	1.67	0.475	17.1	116.1
L5	24.84	1.67	0.671	24.5	98.5
L6	36.88	1.67	0.937	34.4	93.3
近似式等	Y = 0.0267463X + 0.0161442 R^2 (寄与率)= 0.9868035, R = 0.9933798				

[0046] [表6]

シロリムス 検量線

LEVEL	設定濃度 (μg/L)	保持時間 (min)	面積比	濃度 (μg/L)	正確さ (%)
L1	1.93	1.67	0.058		99.6
L2	5.07	1.67	0.122	4.58	90.3
L3	9.76	1.67	0.251	9.99	102.3
L4	15.09	1.67	0.400	16.21	107.4
L5	24.30	1.67	0.644	26.40	108.7
L6	35.40	1.67	0.788	32.45	91.7
近似式等	Y = 0.0239061X + 0.0122909 R^2 (寄与率)= 0.9896347, R = 0.9948039				

[0047]

[表7]

タクロリムス 検量線

LEVEL	設定濃度 (μg/L)	保持時間 (min)	面積比	濃度 (μg/L)	正確さ (%)
L1	1.73	1.66	0.126	1.74	100.4
L2	4.86	1.66	0.307	4.72	97.1
L3	9.27	1.66	0.584	9.31	100.5
L4	13.96	1.66	0.904	14.61	104.7
L5	23.30	1.66	1.385	22.57	96.9
L6	33.09	1.66	2.031	33.26	100.5
近似式等	Y = 0.0604091X + 0.0215653 R^2 (寄与率)= 0.9988657, R = 0.9994327				

[0048] [表8]

シクロスポリンＡ 検量線

LEVEL	設定濃度 (μg/L)	保持時間 (min)	面積比	濃度 (μg/L)	正確さ (%)
L1	26.07	1.74	0.050	23.62	90.6
L2	106.48	1.74	0.170	102.26	96
L3	453.67	1.74	0.769	493.75	108.8
L4	1027.00	1.74	1.830	1186.86	115.6
L5	1574.30	1.74	2.317	1505.29	95.6
L6	1866.00	1.74	2.679	1741.74	93.3
近似式等	Y = 0.00153036X + 0.0136225 R^2 (寄与率)= 0.9908872, R = 0.9954332				

[0049] 表３～表８の結果から、エベロリムス，シロリムス，タクロリムス，及びシクロスポリンＡ（第１免疫抑制剤に対応する４種）はポジティブモードでイオン化し、ＭＰＡ，及びＭＰＡＧ（第２免疫抑制剤に対応する２種）はネガティブモードでイオン化することで、同一の分析試料（全血キャリブレーション溶液Ｌ１～Ｌ６）から、各成分の検量線を作成できることが分かった。

[0050] ≪免疫抑制剤の血中濃度の定量≫

＜血液試料の準備＞

血液試料として以下の試料を準備した（準備工程）。

ＤＯＳＩＭＭＵＮＥ　コントロール：株式会社島津製作所製、製品名　「免疫抑制剤分析キットＤＯＳＩＭＭＵＮＥ」（濃度：４種）

ＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血：（濃度：３種）

ＤＯＳＩＭＭＵＮＥ　コントロールは、全血マトリックス中に上述の第１免疫抑制剤に対応する４種が溶解している試料である。ＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血は、全血マトリックス中に上述の第２免疫抑制剤に対応する２種が溶解している試料である。両血液試料は、免疫抑制剤を投与された被験者から採取された血液試料（全血）を模している。

[0051] ＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血（Ｌ１～Ｌ３）は、以下の様にして調製した。まず、全血（４４５μＬ）に対してＭＰＡのメタノール溶液（濃度４００ｍｇ／Ｌ）（５μＬ）及びＭＰＡＧのメタノール溶液（濃度２０００ｍｇ／Ｌ）（５０μＬ）を加えて１分間ボルテックスし、ＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血（Ｌ３）を得た。次に、得られたＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血（Ｌ３）を全血を用いて２倍希釈することでＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血（Ｌ２）を得た。最後に、得られたＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血（Ｌ２）を全血を用いて１０倍希釈することでＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血（Ｌ１）を得た。

（ＭＰＡ　ＭＰＡＧ　ＱＣ全血中の各成分の濃度）

Ｌ１：　ＭＰＡ：２ｍｇ／Ｌ、ＭＰＡＧ：１０ｍｇ／Ｌ

Ｌ２：　ＭＰＡ：２０ｍｇ／Ｌ、ＭＰＡＧ：１００ｍｇ／Ｌ

Ｌ３：　ＭＰＡ：４０ｍｇ／Ｌ、ＭＰＡＧ：２００ｍｇ／Ｌ

[0052] ＜前処理工程＞

準備した血液試料（３μｌ）それぞれをマイクロチューブに加えた。次に、上記マイクロチューブに対して、免疫抑制剤分析キットＤＯＳＩＭＭＵＮＥに含まれる内部標準試料（３μｌ）と、免疫抑制剤分析キットＤＯＳＩＭＹＣＯに含まれる内部標準試料（３μｌ）と、抽出液（アセトニトリル：メタノール：水＝４０：４０：２０の混合液）（２００μｌ）とを加えて、１分間、ボステックスで混合した。混合した後、当該マイクロチューブを遠心

処理（１５０００ｒｐｍ、７分間）して、上清と沈殿物とに分離した（前処理工程）。この上清を２００μｌ回収して分析用試料とした。

[0053] ＜分離工程、及び分析工程＞

上記分析用試料をＬＣ－ＭＳ／ＭＳでグラジエント溶離により分析した。分析条件は検量線を作成したときと同一の条件を用いた。結果を表９－１及び９－２に示す。

[0054] [表9-1]

	CONTROL			
	濃度 (検体中)			
LEVEL	L1		L2	
	定量値	基準値	定量値	基準値
MPA (mg/L)	2.057	1.70～2.30	20.834	17.00～23.00
MPAG (mg/L)	10.906	8.50～11.50	90.29	85.00～115.00
Everolimus (μg/L)	3.520	3.13～4.70	8.287	7.34～11.02
Sirolimus (μg/L)	3.981	3.06～4.60	7.960	6.80～10.20
Tacrolimus (μg/L)	2.926	2.69～4.03	7.644	6.17～9.25
Cycrosporin A (μg/L)	45.387	34.06～51.10	147.143	125.89～188.83

[0055] [表9-2]

	CONTROL			
	濃度 (検体中)			
LEVEL	L3		L4	
	定量値	基準値	定量値	基準値
MPA (mg/L)	42.307	34.00～46.00		
MPAG (mg/L)	176.374	170.00～230.00		
Everolimus (μg/L)	13.439	9.96～14.94	17.602	16.58～24.88
Sirolimus (μg/L)	11.911	9.54～14.32	19.545	16.74～25.12
Tacrolimus (μg/L)	12.776	10.14～15.20	18.213	14.96～22.44
Cycrosporin A (μg/L)	833.500	622.24～933.36	1441.302	1089.84～1634.76

[0056] 表９－１及び９－２の結果から、第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤の全成分が、全てのレベル（Ｌ１～Ｌ４）において、定量値が基準値に入ること

が確認された。

[0057] ≪比較実験：第２免疫抑制剤をポジティブモードでイオン化したときの分析結果≫

比較実験として第２免疫抑制剤（ＭＰＡ、ＭＰＡＧ）をポジティブモードでイオン化したときの質量分析を行った。分析条件は、イオン化法をポジティブモードに変更したこと及びＭＲＭの条件を以下の条件にしたこと以外は、上述の検量線を作成したときと同一の条件を用いた。

（ＭＲＭの条件）

MPA (ESI-Positive)：338.20>207.10(CE -24V)

MPA IS (ESI-Positive)：342.10>211.30(CE -14 V)

MPAG (ESI-Positive)：514.10>207.15(CE -37 V)

MPAG IS (ESI-Positive)：518.10>211.20(CE -35V)

[0058] 上記分析のよって求められた検量線の近似式及び寄与率を以下に示す。いずれの結果においても、ネガティブモードでイオン化したときの方が、高い寄与率を示していることが分かった。以上より、第２免疫抑制剤を分析する際は、ネガティブモードでイオン化することが必要であると考えられた。

ＭＰＡ検量線（ポジティブモード）

近似式：Ｙ＝０．０７８６９１８Ｘ ＋ ０．０１６９１８３

R^2（寄与率）＝０．８９８５８１１、Ｒ＝０．９４７９３５２

ＭＰＡＧ検量線（ポジティブモード）

近似式：Ｙ＝０．００５８６７９７Ｘ ＋ ０．０００８８６８２８

R^2（寄与率）＝０．９９２４１３２、Ｒ＝０．９９６１９９４

[0059] 以上の結果から、本発明に係る血液検査方法は、２種類以上の免疫抑制剤を、同一の血液試料で定量可能であることが分かった。

[0060] ［態様］

上述した複数の例示的な実施形態および実施例は、以下の態様の具体例であることが当業者により理解される。

[0061] （第１項）一態様に係る血液検査方法は、被験者から採取された全血を準

備する準備工程と、前記全血を前処理して分析用試料を準備する前処理工程と、前記分析用試料を液体クロマトグラフで成分ごとに分離する分離工程と、分離された前記成分を質量分析装置で分析する分析工程とを含む、血液検査方法であって、前記被験者は、第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤を投与されている被験者であり、前記第１免疫抑制剤は、タクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスからなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、前記第２免疫抑制剤は、ミコフェノール酸及びその代謝物からなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、分離された前記成分は、前記第１免疫抑制剤、及び前記第２免疫抑制剤を含み、前記質量分析装置で分析する際、対象成分として前記第１免疫抑制剤を分析するときはポジティブモードで分析し、対象成分として前記第２免疫抑制剤を分析するときは、ネガティブモードで分析する。第１項に記載の血液検査方法によれば、２種類以上の免疫抑制剤を、同一の血液試料で定量可能である。

[0062] （第２項）第１項に記載の血液検査方法において、前記分析工程は、分離された前記成分を、予め準備した検量線に基づいて定量することを更に含む。第２項に記載の血液検査方法によれば、投与された免疫抑制剤の血中濃度をより正確に定量することができる。

[0063] （第３項）第１項又は第２項に記載の血液検査方法において、前記液体クロマトグラフは、高速液体クロマトグラフである。第３項に記載の血液検査方法によれば、より正確に定量することができる。

[0064] （第４項）第１項～第３項のいずれかに記載の血液検査方法において、前記質量分析装置は、トリプル四重極型質量分析装置である。第４項に記載の血液検査方法によれば、全血中の多数の成分を同時に検出することができる。

[0065] 以上のように本発明の実施形態及び実施例について説明を行なったが、上述の各実施形態及び各実施例の構成を適宜組み合わせることも当初から予定している。

[0066] 今回開示された実施の形態及び実施例はすべての点で例示であって、制限

的なものではないと考えられるべきである。本発明の範囲は上記した実施の形態及び実施例ではなく請求の範囲によって示され、請求の範囲と均等の意味、および範囲内でのすべての変更が含まれることが意図される。

請求の範囲

[請求項1] 被験者から採取された全血を準備する準備工程と、

前記全血を前処理して分析用試料を準備する前処理工程と、

前記分析用試料を液体クロマトグラフで成分ごとに分離する分離工程と、

分離された前記成分を質量分析装置で分析する分析工程とを含む、血液検査方法であって、

前記被験者は、第１免疫抑制剤及び第２免疫抑制剤を投与されている被験者であり、

前記第１免疫抑制剤は、タクロリムス、シクロスポリンＡ、エベロリムス及びシロリムスからなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、

前記第２免疫抑制剤は、ミコフェノール酸及びその代謝物からなる群より選ばれる少なくとも１種を含み、

分離された前記成分は、前記第１免疫抑制剤、及び前記第２免疫抑制剤を含み、

前記質量分析装置で分析する際、対象成分として前記第１免疫抑制剤を分析するときはポジティブモードで分析し、対象成分として前記第２免疫抑制剤を分析するときは、ネガティブモードで分析する、血液検査方法。

[請求項2] 前記分析工程は、分離された前記成分を、予め準備した検量線に基づいて定量することを更に含む、請求項１に記載の血液検査方法。

[請求項3] 前記液体クロマトグラフは、高速液体クロマトグラフである、請求項１又は請求項２に記載の血液検査方法。

[請求項4] 前記質量分析装置は、トリプル四重極型質量分析装置である、請求項１又は請求項２に記載の血液検査方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/018266

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/50(2006.01)i; ***G01N 27/62***(2021.01)i
FI: G01N33/50 Z; G01N27/62 V; G01N27/62 X

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/50; G01N27/62

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 110554123 A (SHENZHEN BGI CLINIC EXAMINATION CENTER) 10 December 2019 (2019-12-10) paragraphs [0005]-[0007], [0009], [0056]-[0087]	1-4
A	CN 113933419 A (SHANGHAI APPLIED PROTEIN TECHNOLOGY CO., LTD.) 14 January 2022 (2022-01-14) paragraphs [0001], [0006]-[0010], [0027], [0043]	1-4
A	CN 115236216 A (HEFEI HEHE MEDICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 25 October 2022 (2022-10-25) paragraphs [0004]-[0005], [0019]-[0027], [0089]-[0120], [0128]-[0144]	1-4
A	US 2009/0298106 A1 (THERAPEUTIC MONITORING SERVICES, L.L.C.) 03 December 2009 (2009-12-03) paragraphs [0010]-[0011], example 2	1-4

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 July 2024	**30 July 2024**

Name and mailing address of the ISA/JP	Authorized officer
Japan Patent Office (ISA/JP) **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	川上大輔, 全自動前処理装置付きLC-MS/MSシステムを用いた免疫抑制薬および代謝物の血中濃度測定法および測定キット, 臨床化学, 2021, 50, pp. 373-379, (KAWAKAMI, Daisuke. Development of an Analytical Method for Immunosuppressants and a Metabolite using a Fully Automated LC-MS/MS System and an Immunosuppressant Analysis Kit. Japanese Journal of Clinical Chemistry.) entire text, all drawings	1-4
A	川上大輔, 全自動LC-MS/MSシステムと免疫抑制剤分析キットを用いた同一プラットフォームによる免疫抑制剤4 薬剤の分析, 日本臨床検査自動化学会会誌, 20 August 2019, 44(4), p. 430, (KAWAKAMI, Daisuke. Japanese journal of clinical chemistry.), non-official translation (Analysis of 4 immunosuppressant drugs on the same platform using a fully automated LC-MS/MS system and an Immunosuppressant analysis kit) paragraph [0011]	1-4
A	JP 2021-128005 A (SHIMADZU CORPORATION) 02 September 2021 (2021-09-02) paragraphs [0046]-[0057]	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/018266

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 110554123 A	10 December 2019	(Family: none)	
CN 113933419 A	14 January 2022	(Family: none)	
CN 115236216 A	25 October 2022	(Family: none)	
US 2009/0298106 A1	03 December 2009	US 2012/0164671 A1 WO 2009/146450 A2	
JP 2021-128005 A	02 September 2021	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/018266

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

G01N 33/50(2006.01)i; G01N 27/62(2021.01)i
FI: G01N33/50 Z; G01N27/62 V; G01N27/62 X

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

G01N33/50; G01N27/62

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２４年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	CN 110554123 A (SHENZHEN BGI CLINIC EXAMINATION CENTER) 10.12.2019 (2019-12-10) [0005]-[0007][0009][0056]-[0087]	1-4
A	CN 113933419 A (SHANGHAI APPLIED PROTEIN TECHNOLOGY CO., LTD.) 14.01.2022 (2022-01-14) [0001][0006]-[0010][0027][0043]	1-4
A	CN 115236216 A (HEFEI HEHE MEDICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 25.10.2022 (2022-10-25) [0004]-[0005][0019]-[0027][0089]-[0120][0128]-[0144]	1-4
A	US 2009/0298106 A1 (THERAPEUTIC MONITORING SERVICES, L.L.C.) 03.12.2009 (2009-12-03) [0010]-[0011][Example 2]	1-4
A	川上大輔，全自動前処理装置付きLC-MS/MSシステムを用いた免疫抑制薬および代謝物の血中濃度測定法および測定キット，臨床化学，2021，50，pp.373-379 全文,全図	1-4

☑ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
"D" 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
"&" 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
18.07.2024	30.07.2024

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）

北条　弥作子 2J 1168

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	川上大輔，全自動LC-MS/MSシステムと免疫抑制剤分析キットを用いた同一プラットフォームによる免疫抑制剤4 薬剤の分析，日本臨床検査自動化学会会誌，2019.08.20，44(4)，pp.430 [011]	1-4
A	JP 2021-128005 A (株式会社島津製作所) 02.09.2021 (2021-09-02) [0046]-[0057]	1-4

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2024/018266

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
CN 110554123 A	10.12.2019	（ファミリーなし）	
CN 113933419 A	14.01.2022	（ファミリーなし）	
CN 115236216 A	25.10.2022	（ファミリーなし）	
US 2009/0298106 A1	03.12.2009	US 2012/0164671 A1 WO 2009/146450 A2	
JP 2021-128005 A	02.09.2021	（ファミリーなし）	