



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101484792 B

(45) 授权公告日 2011.05.18

(21) 申请号 200780018788.7

(22) 申请日 2007.03.23

(30) 优先权数据

082095/2006 2006.03.24 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008.11.24

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2007/056110 2007.03.23

(87) PCT申请的公布数据

W02007/111282 JA 2007.10.04

(73) 专利权人 爱科来株式会社

地址 日本京都府

(72) 发明人 杉山幸司 酒井敏克

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 李贵亮

(51) Int. Cl.

G01N 21/27(2006.01)

G01N 30/74(2006.01)

G01N 30/88(2006.01)

(56) 对比文件

WO 2004/057285 A1, 2004.07.08, 说明书第

14 页第 3-16 行, 第 15 页第 8 行 - 第 16 页第 25 行、图 2, 3.

US 2002/0137993 A1, 2002.09.26, 全文.

JP 特开平 5-113441 A, 1993.05.07, 说明书第 0010-0013 段.

JP 特开平 7-270387 A, 1995.10.20, 说明书第 0018-0028, 0031-0078 段、图 1-8.

JP 特开平 8-159954 A, 1996.06.21, 说明书第 0007-0015, 0021-0028 段.

JP 特开 2004-309250 A, 2004.11.04, 说明书第 0017-0041 段、图 1-6).

审查员 陈嘉佳

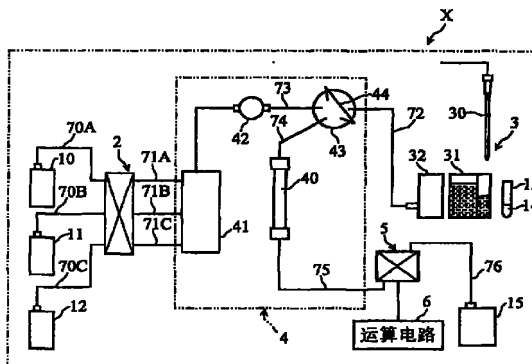
权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图 10 页

(54) 发明名称

糖基血红蛋白浓度测定方法和浓度测定装置

(57) 摘要

在测定糖基血红蛋白浓度的情况下, 从 400 ~ 450nm 的波长范围中选择多个波长作为测定波长。优选利用液相色谱法, 连续地或间歇地感光至少在 415 ~ 430nm 的波长范围内的不同的峰值波长的光, 从而获得以波长、洗提时间和检测量作为变量的 3 维色谱图, 并根据该 3 维色谱图, 对糖基血红蛋白浓度进行运算。



1. 一种糖基血红蛋白浓度测定方法,所述糖基血红蛋白浓度测定方法为利用液相色谱法的糖基血红蛋白浓度的测定方法,其特征在于,利用在对试样照射光时从试样传过来的透射光来测定糖基血红蛋白浓度,其中,

根据从试样传过来的在 400 ~ 420nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第一光量以及从试样传过来的在 420 ~ 440nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第二光量,对糖基血红蛋白浓度进行测定,

利用第 1 色谱图和第 2 色谱图重叠的色谱图,对糖基血红蛋白浓度进行运算,所述第 1 色谱图为表示基于所述第一光量获得的洗提时间和检测量的关系并与氧合血红蛋白相对应的色谱图;所述第 2 色谱图为表示基于所述第二光量获得的洗提时间和检测量的关系并与脱氧血红蛋白相对应的色谱图,其中,所述检测量为吸光度、透过度或者感光量。

2. 根据权利要求 1 所述的糖基血红蛋白浓度测定方法,其特征在于,所述试样为使血球溶血的试样。

3. 一种糖基血红蛋白浓度测定装置,所述糖基血红蛋白浓度测定装置为利用液相色谱法的糖基血红蛋白浓度的测定装置,其具备测光机构,该测光机构将来自光源的光照射于试样,并在感光部对此时从试样传过来的透射光进行感光,其中,

所述测光机构以区分在 400 ~ 420nm 的波长范围内具有峰值波长的光以及在 420 ~ 440nm 的波长范围内具有峰值波长的光,并使其在感光部感光的方式构成,

还包括运算部,该运算部根据从试样传过来的在 400 ~ 420nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第一光量以及从试样传过来的在 420 ~ 440nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第二光量,对糖基血红蛋白浓度进行运算,

所述运算部利用第 1 色谱图和第 2 色谱图重叠的色谱图来对糖基血红蛋白浓度进行运算,所述第 1 色谱图为表示基于所述第一光量获得的洗提时间和检测量的关系并与氧合血红蛋白相对应的色谱图,所述第 2 色谱图为表示基于所述第二光量获得的洗提时间和检测量的关系并与脱氧血红蛋白相对应的色谱图,其中,所述检测量为吸光度、透过度或者感光量。

4. 根据权利要求 3 所述的糖基血红蛋白浓度测定装置,其中,所述试样为使血球溶血的试样。

糖基血红蛋白浓度测定方法和浓度测定装置

技术领域

[0001] 本发明涉及测定在血液等的试样中含有的糖基血红蛋白的浓度的技术。

背景技术

[0002] 在采用血液等的机体试样,对机体成分分离分析的情况下,广泛地使用采用了高速液相色谱法(HPLC)的高速液相色谱图装置(HPLC装置)(例如,参照专利文献1)。

[0003] 如图13所示的那样,一般的HPLC装置9按照下述方式构成,该方式为:在试样调制单元90中,调制包括机体成分的试样,然后,将该试样导入分析柱91中,使机体成分吸附于分析柱91的填充剂中。在试样采用全血来测定糖基血红蛋白的情况下,对分析柱91,使从全血中采取的红血球溶血后,稀释溶血液,将该状态的机体试样导入。另一方面,吸附于填充剂中的机体成分通过将洗提液借助送液泵92,从洗提液瓶93供给分析柱91的方式洗提。包括来自分析柱91的机体成分的洗提液导入测光机构94,在该测光机构94中,连续地测定包括机体成分的洗提液的吸光度,由此,进行机体成分的分析。

[0004] 如图14所示的那样,测光机构94在包括机体成分的洗提液在测光单元95的流路96中流通的期间,照射来自光源97的光,在此时的透射光在感光部98中感光。在感光部98中感光的光的波长在干涉滤波器99中选择,另一方面,从感光部98输出与感光量相对应的输出电平的信号。由于测光机构94中的洗提液的测光连续地进行,故洗提时间和感光量(吸光度)之间的关系作为图15所示的色谱图而获得。

[0005] 在HPLC装置9中,还根据作为吸光度随时间的变化的色谱图,对血红蛋白总量进行运算,并且运算在该血红蛋白总量中糖基血红蛋白所占的比例(由图15中的交叉影线表示的部分)的糖基血红蛋白浓度。

[0006] 但是,由于洗提液中的氧等的气体的溶解量随洗提液的温度而不同,故在装置外部的温度(环境温度)改变的情况下,或在于环境温度不同的状态进行机体成分的分析的情况下,洗提液中的溶解气体的状态(溶解量)不同。由此,在洗提液中的溶解氧浓度随环境温度的变化等而改变的情况下,血红蛋白中的氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白的比例变化。另外,即使在导入分析柱91中的机体试样中,针对每次的测定,血红蛋白中的氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的比例改变。

[0007] 另一方面,由于导入分析柱91中的机体试样采用稀释溶血液而氧较多的状态的式试样,在测光机构94中,将氧合血红蛋白的最大吸收波长415nm用作测定波长。由此,在环境温度的变化较大的环境下等的条件下,由于氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的比例不同,故在同一波长测定它们的情况下,难以进行正确的测定。

[0008] 专利文献1:日本特开平7-120447号文献

发明内容

[0009] 本发明的课题在于即使在氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的比例不同的情况下,仍可适当地测定糖基血红蛋白的浓度。

[0010] 本发明的第 1 方面所提供的糖基血红蛋白浓度测定方法为利用在对试样照射光时从试样传过来的光来测定糖基血红蛋白浓度的方法,其中,利用在 400 ~ 450nm 的波长范围内具有峰值波长的多个测定波长的光来测定糖基血红蛋白的浓度。

[0011] 优选的是,连续地或间歇地感光从试样传过来的光中的、至少在 415 ~ 430nm 的波长范围内的不同的峰值波长的光,从而测定糖基血红蛋白浓度。

[0012] 本发明可适用于采用液相色谱法的糖基血红蛋白浓度的测定方法。在这种情况下,糖基血红蛋白浓度根据例如将测定波长、洗提时间和检测量作为变量的 3 维色谱图而运算。更具体地说,例如,糖基血红蛋白浓度作为如下比例运算得到,该比例为:在所述 3 维色谱图中,与糖基血红蛋白对应的体积或累计值在与血红蛋白总量对应的体积或累计值中所占的比例。糖基血红蛋白浓度也可以通过如下运算得出:根据各测定波长中的以洗提时间和检测量作为变量的色谱图,对糖基血红蛋白的比例进行运算,并且,对各测定波长的糖基血红蛋白的比例进行平均。

[0013] 糖基血红蛋白浓度也可以作为如下比例运算得到,该比例为:在各测定波长的血红蛋白检测量的峰值和洗提时间的 2 维色谱图中,与糖基血红蛋白对应的面积在与血红蛋白总量对应的面积中所占的比例。

[0014] 还可以根据从试样传过来的在 400 ~ 420nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第一光量以及从试样传过来的在 420 ~ 440nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第二光量,对糖基血红蛋白浓度进行测定。在这种情况下,糖基血红蛋白浓度可通过下述方式进行运算,该方式为:根据所述第一光量来计算氧合血红蛋白浓度或与该浓度相关的值,另一方面,根据所述第二光量来计算脱氧血红蛋白浓度或与该浓度相关的值,并且,对所述氧合血红蛋白浓度和所述脱氧血红蛋白浓度进行合计,或对与所述氧合血红蛋白浓度相关的值和与所述脱氧血红蛋白浓度相关的值进行合计,将该合计而运算的值作为血红蛋白浓度。

[0015] 本发明的糖基血红蛋白浓度测定方法采用液相色谱法的情况下,利用第 1 色谱图和第 2 色谱图重叠的色谱图来对糖基血红蛋白浓度进行运算,所述第 1 色谱图为表示基于所述第一光量获得的洗提时间和检测量的关系并与氧合血红蛋白相对应的色谱图,所述第 2 色谱图为表示基于所述第二光量获得的洗提时间和检测量的关系并与脱氧血红蛋白相对应的色谱图。

[0016] 上述试样例如为将血球进行溶血的试样。

[0017] 本发明的第 2 方面提供一种糖基血红蛋白浓度测定装置,其具备测光机构,该测光机构将来自光源的光照射于试样,并在感光部对此时从试样传过来的光进行感光,其中,所述测光机构以区分在 400 ~ 450nm 的波长范围内具有峰值波长的多个测定波长的光,使其在感光部感光的方式构成。

[0018] 优选的是,所述感光部以能够连续或间歇地感光至少在 415 ~ 430nm 的波长范围内的不同峰值波长的光的方式构成。

[0019] 本发明可适用于利用液相色谱法的糖基血红蛋白浓度的测定装置。该这种情况下,还包括运算部,该运算部以根据将测定波长、洗提时间和检测量作为变量的 3 维色谱图,对糖基血红蛋白浓度进行运算的方式构成。

[0020] 运算部例如以将糖基血红蛋白浓度作为如下比例运算的方式构成,该比例为:在

所述 3 维色谱图中,与糖基血红蛋白对应的体积或累计值在与血红蛋白总量对应的体积或累计值中所占的比例。更具体地说,运算部例如以运算如下比例作为糖基血红蛋白浓度的方式构成:在将从上述 3 维色谱图中获得的洗提时间和检测量的峰值作为变量的 2 维色谱图中,与糖基血红蛋白对应的面积在与血红蛋白总量对应的面积中所占的比例。运算部也可以按照由如下过程运算糖基血红蛋白浓度的方式构成:根据各测定波长中的以洗提时间和检测量作为变量的色谱图中,对糖基血红蛋白的比例进行运算,并且,对各测定波长的糖基血红蛋白的比例进行平均。所述运算部还可以以将如下比例作为糖基血红蛋白浓度运算的方式构成,该比例为:在各测定波长的血红蛋白检测量的峰值和洗提时间的 2 维色谱图中,与糖基血红蛋白对应的面积在与血红蛋白总量对应的面积中所占的比例。

[0021] 本发明的糖基血红蛋白浓度测定装置还可包括运算部,该运算部根据从试样传过来的在 400 ~ 420nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第一光量以及从试样传过来的在 420 ~ 440nm 的波长范围内具有峰值波长的光的量即第二光量,对糖基血红蛋白浓度进行运算。所述运算部例如构成为:根据所述第一光量来计算氧合血红蛋白浓度或与该浓度相关的值,另一方面,根据所述第二光量来计算脱氧血红蛋白浓度或与该浓度相关的值,并且,对所述氧合血红蛋白浓度和所述脱氧血红蛋白浓度进行合计,或对与所述氧合血红蛋白浓度相关的值和与所述脱氧血红蛋白浓度相关的值进行合计,将通过该合计而运算得出的值作为血红蛋白浓度。

[0022] 在本发明的糖基血红蛋白浓度测定装置采用液相色谱法的情况下,所述运算部还可以利用第 1 色谱图和第 2 色谱图重叠的色谱图来对糖基血红蛋白浓度进行运算,所述第 1 色谱图为表示基于所述第一光量获得的洗提时间和检测量的关系并与氧合血红蛋白相对应的色谱图,所述第 2 色谱图为表示基于所述第二光量获得的洗提时间和检测量的关系并与脱氧血红蛋白相对应的色谱图。

[0023] 上述试样例如为将血球进行溶血的试样。

附图说明

[0024] 图 1 为表示本发明的第 1 实施方式的糖基血红蛋白测定装置的一例的 HPLC 装置的概略结构图;

[0025] 图 2 为用于说明图 1 所示的 HPLC 装置中的测光机构的剖视图;

[0026] 图 3 为表示图 1 所示的 HPLC 装置的主要部分的方框图;

[0027] 图 4 为用于说明图 1 所示的 HPLC 装置的动作的流程图;

[0028] 图 5 为用于说明图 1 所示的 HPLC 装置的运算电路的浓度测定处理的流程图;

[0029] 图 6 为在运算电路中获得的 3 维色谱图的一例;

[0030] 图 7 为用于说明本发明的第 2 实施方式的运算电路的浓度测定处理的流程图;

[0031] 图 8A 为表示特定时间的测定波长和吸光度之间的关系的曲线图,图 8B 为通过特定时间的最大吸光度制作的 2 维色谱图;

[0032] 图 9 为用于说明本发明的第 3 实施方式的运算电路的浓度测定处理的流程图;

[0033] 图 10 为测定波长为 415nm 的情况(1 点划线),测定波长为 430nm 的情况(虚线),将测定波长为 415nm 时的吸光度和 430nm 时的吸光度合计的情况(实线)的 2 维色谱图;

[0034] 图 11 为表示实施例 1 的环境温度与糖基血红蛋白浓度之间的关系的曲线图;

- [0035] 图 12 为比较例 1 的环境温度与糖基血红蛋白浓度之间的关系的曲线图；
- [0036] 图 13 为表示现有的糖基血红蛋白测定装置的一例的 HPLC 装置的概略结构图；
- [0037] 图 14 为用于说明图 13 所示的 HPLC 装置的测光机构的剖视图；
- [0038] 图 15 为在图 13 所示的 HPLC 装置中获得的色谱图的一例。
- [0039] 符号说明：
- [0040] 符号 X 表示 HPLC 装置（糖基血红蛋白测定装置）；
- [0041] 标号 5 表示测光机构；
- [0042] 标号 51 表示（测光机构）光源；
- [0043] 标号 53B 表示（测光机构）感光元件（感光部）
- [0044] 标号 61 表示运算部。

具体实施方式

- [0045] 下面参照附图,对本发明的第 1 ~ 第 3 实施方式进行具体说明。
- [0046] 首先,参照图 1 ~ 图 6,对本发明的第 1 实施方式进行说明。
- [0047] 图 1 所示的 HPLC 装置 X 相当于本发明的糖基血红蛋白浓度测定装置的一例,按照采用全血来测定糖基血红蛋白浓度的方式构成。该 HPLC 装置 X 包括多个洗提液瓶 10、11、12 (在图面上为 3 个),脱气装置 2,试样调制单元 3,分析单元 4,测光机构 5 和运算电路 6。
- [0048] 各洗提液瓶 10、11、12 保持应供给后述的分析柱 40 的洗提液。作为洗提液,例如采用 pH,氯浓度不同的缓冲液。
- [0049] 脱气装置 2 用于在将洗提液供给到分析单元 4 (分析柱 40) 之前,从洗提液中去溶解气体,经由管 70A,70B,70C 而与洗提液瓶 10、11、12 连接,经由管 71A,71B,71C 而与分析单元 4 的集管 41 连接。
- [0050] 如图 1 所示的那样,试样调制单元 3 用于利用从采血管 13 采取的血球成分,调制导入分析柱 40 的试样。该试样调制单元 3 包括试样喷嘴 30,调制液箱 31 和稀释槽 32。
- [0051] 试样喷嘴 30 用于采取以采血管 13 的血液试样 14 为主的各种液体,可进行液体的吸引排出,并且可沿上下方向和水平方向移动。该试样喷嘴 30 的动作通过图外的控制机构进行控制。
- [0052] 调制液箱 31 用于保持利用血液试样 14 调制导入分析柱 40 的导入用试样的调制液。在调制液箱 31 中,保持作为调制液的溶解有红血球的溶血液、用于稀释溶血液的稀释液等。
- [0053] 稀释槽 32 用于提供溶有血液试样 14 中的红血球并且稀释溶血液来调制导入用试样的场所。该稀释槽 32 经由管 72 连接于后述的分析单元 4 中的注射阀 43,并且以在稀释槽 32 中调制的导入用试样可经由注射阀 43 导入分析柱 40 中的方式构成。
- [0054] 分析单元 4 用于控制对分析柱 40 的填充剂的机体成分的吸附、洗提,并将各种机体成分供给测光机构 5,通过图外的调温机构进行温度控制。分析单元 4 中的设定温度例如为 40°C 的程度。分析柱 40 保持用于有选择地吸附试样中的血红蛋白的填充剂。作为填充剂采用例如甲基丙烯酸酯共聚物。
- [0055] 分析单元 4 不仅包括分析柱 40,还包括集管 41,送液泵 42 和注射阀 43。
- [0056] 分析单元 41 用于从多个洗提液瓶 10、11、12 中的特定的洗提液瓶 10、11、12,有选

择地将洗提液供给注射阀 43。该集管 41 经由管 71A, 71B, 71C 与脱气装置 2 连接, 经由管 73 与注射阀 43 连接。

[0057] 送液泵 42 用于提供经由注射阀 43 将洗提液移动到分析柱 40 用的动力, 设置于管 73 中的途中。送液泵 42 按照例如洗提液的流量在 1.0 ~ 2.0ml/min 的方式动作。

[0058] 注射阀 43 可采取一定量的导入用试样并且将该导入用试样导入分析柱 40 中, 包括多个导入口和排出口 (图示省略)。注射环 44 连接于该注射阀 43。该注射环 44 可保持一定量 (例如, 数 μL) 的液体, 可以通过适当切换注射阀 43 来选择如下状态: 注射环 44 与稀释槽 32 连通, 从稀释槽 32 将导入用试样供给注射环 44 的状态; 注射环 44 经由管 74 与分析柱 40 连通, 从注射环 44 将导入用试样导入分析柱 40 中的状态; 或从图外的清洗槽, 将清洗液供给到注射环 44 的状态。这样的注射阀 43 可采用例如 6 通阀。

[0059] 如图 2 所示的, 测光机构 5 以光学方式检测来自分析柱 40 的洗提液中包括的血红蛋白, 包括测光单元 50, 光源 51, 分光器 52, 测定用感光系统 53 和参照用感光系统 54。

[0060] 测光单元 50 用于规定测光区域。该测光单元 50 包括导入流路 50A, 测光流路 50B 和排出流路 50C, 这些流路 50A, 50B, 50C 一串地连通。导入流路 50A 用于将来自分析柱 40 (参照图 1) 的洗提液导入测光流路 50B, 经由管 75 而与分析柱 40 连接。测光流路 50B 流通有构成测光对象的洗提液, 并且提供用于对洗提液进行测光的场所, 呈直线状而形成。在该测光流路 50B 两端开放, 并且两端部通过透明盖 55 塞住。排出流路 50C 用于排出测光流路 50B 的洗提液, 经由管 76 而与废液槽 15 连接 (参照图 1)。

[0061] 光源 51 用于对在测光流路 50B 中流通的洗提液照射光。该光源 51 以光轴 L 通过测光流路 50B 的中心的的方式设置为面对测光流路 50B 的端面 50Ba (透明盖 55) 的状态。光源 51 也可对应于后述的运算部 61 (参照图 3) 的浓度运算方式选择可射出的波长范围, 但是, 通常为可射出 400 ~ 500nm 的波长范围的光, 例如采用卤灯。显然, 光源 51 也可采用卤灯以外的类型, 例如具有 1 个或多个 LED 元件的类型。

[0062] 分光器 52 用于分割从光源 51 射出的光中的、透过测光流路 50B 的光并使该光射入测定用感光系统 53 和参照用感光系统 54, 在光轴 L 上, 以 45 度倾斜的状态设置。分光器 52 可采用半透半反镜等的公知的各种类型。

[0063] 测定用感光系统 53 对透射了分光器 52 的光中的、作为目的波长的光有选择地进行感光, 并且该测定用感光系统 53 设置于光轴 L 上。该测定用感光系统 53 包括波长选择部 53A、以及用于感光透射该波长选择部 53A 的光的感光元件 53B。波长选择部 53A 选择对应于后述的运算部 61 (参照图 3) 中的浓度运算方法而应该透射的光的波长。该波长选择部 53A 可采用干涉滤波器、锐截止滤波器和衍射光栅等的公知的分光机构。感光元件 53B 可采用光电二极管。

[0064] 参照用感光系统 54 用于取得抑制来自分析柱 40 (参照图 1) 的洗提液的浊度、散射的影响用的数据, 有选择地感光在分光器 52 中反射而光路改变的光中的、作为参照波长的 500nm 的光。该测定用感光系统 54 包括有选择地使 500nm 的光透射的干涉滤波器 54A; 用于感光透射干涉滤波器 54A 的光的感光元件 54B。感光元件 54B 可采用光电二极管。

[0065] 如图 3 所示的那样, 运算电路 6 包括控制部 60 和运算部 61。

[0066] 控制部 60 用于控制各部分的动作。更具体地说, 控制部 60 控制光源 51 的点亮、熄灭, 控制波长选择部 53A 而选择在感光元件 53B 中感光的光的波长, 或控制运算部 61 中

的浓度运算处理。

[0067] 运算部 61 用于对根据感光元件 53B, 54B 的感光结果, 全血中的血红蛋白浓度进行运算。该运算部 61 存储运算所需要的程序, 该动作通过控制部 60 而控制。

[0068] 接着, 参照图 1 ~ 图 3, 以及图 4 所示的流程图, 对 HPLC 装置 X 的动作进行说明。

[0069] 在 HPLC 装置 X 中, 在确认测定开始的指示的情况下 (S1), 向分析柱 40 供给洗提液 (S2)。洗提液利用送液泵 42 的动力, 从洗提液瓶 10、11、12 经由脱气器 2、集管 41 供给于注射阀 43, 另外, 供给多个洗提液瓶 10、11、12 中的哪个洗提液瓶 10、11、12 的洗提液是通过控制集管 41 的方式选择。供给到注射阀 43 的洗提液经由管 74 供给分析柱 40。

[0070] 在 HPLC 装置 X 中, 还调制须导入分析柱 40 中的导入用试样 (S3)。当进行导入用试样的调制时, 首先, 从采血管 13 采取血液试样 14。来自采血管 13 的血液试样 14 的采取通过使试样喷嘴 30 动作进行。通过试样喷嘴 30 采取的血液试样 14 通过使试样喷嘴 30 动作, 供给稀释槽 32。稀释槽 32 从调制液箱 31, 依次供给溶血剂和稀释液, 通过采用试样喷嘴 30 的吸移操作, 混合稀释槽 32 内的液体, 由此, 调制导入用试样。

[0071] 导入用试样导入分析柱 40 中 (S4)。相对分析柱 40 的导入用试样的导入进行注射阀 43 的切换操作, 由此, 注射环 44 的导入用试样与洗提液一起导入分析柱 40 中。在分析柱 40 中, 通过导入导入用试样, 将糖基血红蛋白吸附于填充剂上。在将糖基血红蛋白吸附于填充剂上之后, 通过集管 41, 适当切换供给分析柱 40 的洗提液的种类, 洗提液吸附于填充剂上的糖基血红蛋白。

[0072] 另一方面, 在从导入用试样的导入开始起, 经过一定时间的情况下, 通过进行注射阀 43 的切换操作, 接着, 将洗提液供给分析柱 40, 并且进行注射环 44 的清洗 (S5)。另一方面, 在注射环 44 的清洗的同时, 与在先说明的情况相同, 从与先前不同的采血管 13 的血液试样 14, 调制导入用试样 (S3), 在注射环 44 的清洗之后, 再次将导入用试样导入注射环 44 (S4)。这样的导入用试样的调制 (S3), 导入 (S4), 清洗 (S5) 在适当切换注射阀 43 的同时, 对应于构成测定对象的采血管 13 (血液试样 14) 的数量而反复进行。

[0073] 含有从分析柱 40 排出的糖基血红蛋白的洗提液经由管 76 供给测光机构 5 的测光单元 50, 进行测光 (S6)。对测光单元 50, 经由管 75 和导入管路 50A 导入洗提液, 洗提液在通过测光流路 50B 和排出流路 50C 之后, 经由管 76 导入废液槽 15。

[0074] 在测光机构 5 中, 在来自分析柱 40 的洗提液通过测光流路 50B 时, 利用光源 51 对洗提液连续照射光。另一方面, 透射测光流路 50B 的光在分光器 52 中分割之后, 在测定用感光系统 53 和参照用感光系统 54 中感光。在测定用感光系统 53 中, 透射波长选择部 53A 的特定波长的光在感光元件 53B 中有选择地被感光。另一方面, 在参照用感光系统 54 中, 作为透射干涉滤波器 54A 的参照波长为 500nm 的光有选择地由感光元件 54B 感光。

[0075] 感光元件 53B, 54B 的感光结果输出给运算电路 6, 在该运算电路 6 中, 对糖基血红蛋白的浓度进行运算 (S7)。

[0076] 运算电路 6 的浓度运算处理按照图 5 所示的流程图的顺序而进行。

[0077] 首先, 对从 400 ~ 450nm, 优选 415 ~ 430nm 的波长范围选择的多个波长, 就每各波长、每各特定时间, 进行测光 (S10)。更具体地说, 从光源 51 连续地射出光, 另一方面, 通过控制部 60 控制波长选择部 53A, 在感光元件 53B 感光的光的波长在上述波长范围内经时变化。即, 在感光元件 53B 感光的光的波长连续地或间歇地变化。另外, 在上述波长范围内,

波长变化的测光反复地进行。

[0078] 图 6 表示波长间歇变化的情况的实例,但是,在将上述时间范围作为同一时间处理的情况下,针对每各测定波长获得 2 维色谱图,如果还使测定波长成为变量,则获得以洗提时间、吸光度和测定波长为变量的 3 维色谱图。另外,在图 6 中,较大地设定测定波长的间隔,但是,实际上,测定波长的间隔极小(例如,0.1 ~ 2nm),以波长为变量的情况下的坐标(plot)点不是离散的,而是很连续的。

[0079] 接着,对相当于同一时间的各波长的血红蛋白的吸光度进行累计(S11)。即,相当于图 6 的 3 维色谱图的血红蛋白的部分的体积,作为相当于各测定波长的 2 维色谱图的血红蛋白的部分的面积累计(積算)值而运算。

[0080] 然后,对相当于同一时间的各波长的糖基血红蛋白的吸光度进行累计(S12)。即,将相当于图 6 的 3 维色谱图的糖基血红蛋白的部分的体积,作为相当于各测定波长的 2 维色谱图的血红蛋白的部分的面积累计值而运算。

[0081] 然后,运算糖基血红蛋白相对血红蛋白总量的比例(S13)。即,在相当于图 6 中 3 维血红蛋白总量的体积(累计值)中的、相当于糖基血红蛋白的体积(累计值)所占的比例进行运算,将其作为糖基血红蛋白浓度(%)。

[0082] 在 S13 中的运算结束的情况,返回图 4 的 S7(S14)。即,运算电路 6 的运算结果显示于图外的显示板中,另外,通过自动的或使用者的按钮操作,进行打印输出(S8)。

[0083] 在本实施方式中,在包括氧合血红蛋白的最大吸收波长的 415nm 和作为脱氧血红蛋白的最大吸收波长的 430nm 的波长范围,根据连续地或间歇地改变波长时的吸光度变化,对糖基血红蛋白浓度进行运算。即,本发明不是从主体上着眼于氧合血红蛋白而对糖基血红蛋白的浓度进行运算,而是还考虑了脱氧血红蛋白的影响而对糖基血红蛋白的浓度进行运算。由此,即使在洗提液中的溶解气体的状态改变,血红蛋白中的氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白的比例改变,或导入分析柱 40 的导入用试样的氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的比例改变的情况下,仍不受到影响。其结果是,在本实施方式中,即使在于 HPLC 装置 X 的外部的温度(环境温度)改变的环境下,在环境温度不同的状态测定糖基血红蛋白的情况下,或产生导入分析柱中的试样的氧浓度的差异的情况下,也能够与洗提液的氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白的比例无关地测定稳定的糖基血红蛋白浓度。

[0084] 另外,糖基血红蛋白浓度的计算例如,可根据各测定波长的 2 维色谱图,分别计算在血红蛋白总量中糖基血红蛋白所占的比例,并且计算各测定波长的糖基血红蛋白的比例的平均值,将该平均值作为糖基血红蛋白浓度。

[0085] 下面参照图 3,图 7 和图 8,对本发明的第 2 实施方式进行说明。

[0086] 如图 7 所示,本实施方式中的运算电路 6 中的浓度运算处理的方法不同于在先的实施方式。

[0087] 首先,在 400 ~ 450nm,优选 415 ~ 430nm 的波长范围选择的多个波长中,每特定时间进行测光(S20)。此方面与第 1 实施方式的 S10(参照图 5)相同。在连续地或间歇地改变测定波长的情况下,如图 8A 所示,获得表示每各时间测定波长和吸光度的关系的曲线图。

[0088] 接着,选择同一时间的最大吸光度(max),获得表示图 8B 所示的那样的洗提时间和最大吸光度的关系的 2 维色谱图(S21)。

[0089] 然后,根据图 8B 所示的 2 维色谱图,作为与糖基血红蛋白量相对应的面积相对于与血红蛋白总量相对应的面积,对糖基血红蛋白量浓度 (%) 进行运算 (S22)。

[0090] 在 S22 的处理结束的情况下,返回图 4 的 S7 (S23),运算电路 6 的运算结果输出给图外的显示板等 (S8)。

[0091] 在本实施方式中,测定波长采用包括作为氧合血红蛋白的最大吸收波长的 415nm 和作为脱氧血红蛋白的最大吸收波长的 430nm 的波长范围,并且通过这些测定波长中测定的最大吸光度,对糖基血红蛋白浓度进行运算。由此,与本发明的第 1 实施方式的情况相同,可与来自分析柱 40 的洗提液中的氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的比例无关地进行稳定的氧合血红蛋白浓度的测定。

[0092] 下面参照图 3,图 9 和图 10,对本发明的第 3 实施方式进行说明。

[0093] 在本实施方式中,如图 9 所示,运算电路 6 的浓度运算处理的方法不同于在先实施方式。

[0094] 首先,在 415nm 和 430nm 中,每特定时间进行测光 (S30)。更具体地说,从光源 51 连续地射出光,另一方面,通过控制部 60 控制波长选择部 53A,在 415nm 和 430nm 之间交替地切换由感光元件 53B 感光的光的波长。这样的测定波长的切换反复地进行。其结果是,如图 10 所示,测定波长为 415nm 时的氧合血红蛋白基准的 2 维色谱图 (图 10 的点划线),与测定波长为 430nm 时的脱氧血红蛋白基准的 2 维色谱图 (参照图 10 的虚线) 作为洗提时间和吸光度的关系而获得。

[0095] 接着,根据测定波长为 415nm 时的氧合血红蛋白基准的 2 维色谱图 (图 10 的点划线),对糖基血红蛋白浓度进行运算 (S31)。

[0096] 接着,根据测定波长为 430nm 时的脱氧血红蛋白基准的 2 维色谱图 (图 10 的虚线),对糖基血红蛋白浓度进行运算 (S32)。

[0097] 然后,对测定波长为 415nm 时的浓度运算结果和测定波长为 430nm 时的浓度运算结果进行合计,将其作为糖基血红蛋白浓度 (S33)。

[0098] 在 S33 的处理结束的情况下,返回图 4 的 S7 (S34),运算电路 6 的运算结果输出给图外的显示板等 (S8)。

[0099] 在本实施方式中,作为测定波长,在氧合血红蛋白的最大吸收波长的 415nm 和脱氧血红蛋白的最大吸收波长 430nm 的测定结果进行合计,对糖基血红蛋白量浓度进行运算。由此,与本发明的第 1 实施方式的情况相同,可与来自分析柱 40 的洗提液的氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白的比例无关地进行稳定的糖基血红蛋白浓度的测定。

[0100] 在本实施方式中,糖基血红蛋白浓度也可根据将测定波长为 415nm 时的色谱图和 430nm 时的色谱图合计而获得的色谱图 (图 10 的实线) 而运算。

[0101] 另外,获得氧合血红蛋白基准的色谱图时的测定波长并不限于 415nm,可从 400 ~ 420nm 的波长范围选择,获得脱氧血红蛋白基准的色谱图时的测定波长并不限于 430nm,可从 420 ~ 440nm 的范围选择。

[0102] 本发明并不限于在先说明的实施方式,可按照各种方式变更。例如,在先描述的浓度运算处理中,血红蛋白量作为吸光度而获得,但是,血红蛋白量不必一定作为吸光度而获得,也可作为透过度,或单纯作为感光量而获得。

[0103] 此外,作为在测定机构 5 中区别多个测定波长的光而对其识别的方法,除了在通

过 1 个感光元件 53B 而进行的情况,也可设置与测定波长的数量相对应的感光元件或采用具有感光区域的发光元件的方法。

[0104] 作为选择由作为测光机构 5 中的测定用感光系统 53 的感光元件 53B 感光的光的波长(测定波长)的方法,采用在测定用感光元件 53 中设置波长选择部 53A 的方案,但是,也可采用波长选择部设置于光源 51 和测光单元 50 之间的方案。

[0105] 还有,本发明并不限于测定血液中的糖基血红蛋白浓度用的 HPLC 装置,也可适用于采用血液以外的标本的情况,或 HPLC 装置以外的液相色谱图装置以及其它的糖基血红蛋白量浓度测定装置。

[0106] 实施例

[0107] (实施例 1)

[0108] 在本实施例中,在改变测定波长测定糖基血红蛋白浓度的情况下,对环境温度对测定值造成的影响进行分析。

[0109] 将环境温度为 10℃,20℃和 30℃的情况下,对于糖基血红蛋白的浓度,使用在糖基血红蛋白测定装置(“ADAMS A1c HA-8160”;爱科来(アークレイ)株式会社制)采用光电二极管阵列(“紫外线可视多波长检测器 MD-910”;日本分光株式会社制)作为感光元件的装置而进行测定。糖基血红蛋白浓度以如下方法测定:在 415~430nm 的波长范围内,分别测定每 1nm 处的血红蛋白总量和糖基血红蛋白量,在此基础上,计算在上述的波长范围内的糖基血红蛋白的累计值相对于血红蛋白的累计值的比例作为糖基血红蛋白浓度。

[0110] 标本采用从健康人采取的血液(健康人标本)和从糖尿病患者采取的血液(糖尿病患者血液)。关于糖基血红蛋白的测定结果,在下面的表 1 和图 11 中给出。

[0111] 表 1

[0112]

	糖基血红蛋白测定值		
	10℃	20℃	30℃
健康人标本	4.41%	4.47%	4.40%
糖尿病患者标本	8.40%	8.43%	8.33%

[0113] (比较例 1)

[0114] 在本比较例中,在将测定波长固定为作为氧合血红蛋白的最大吸收波长的 415nm,测定糖基血红蛋白浓度的情况下,对环境温度对于测定值造成的影响进行了分析。

[0115] 除了将测定波长固定以外,与实施例 1 基本相同的条件下测定糖基血红蛋白的浓度,运算出糖基血红蛋白量在血红蛋白量总量中的比例。关于糖基血红蛋白的测定结果,在下面的表 2 和图 12 中给出。

[0116] 表 2

[0117]

	糖基血红蛋白测定值		
	10℃	20℃	30℃
健康人标本	4.33%	4.73%	5.10%
糖尿病患者标本	8.41%	8.83%	9.68%

[0118] 如比较例 1, 在将测定波长固定在作为氧合血红蛋白的最大吸收波长的 415nm, 测定糖基血红蛋白的情况下, 根据表 2 和图 12 可知, 环境温度越高, 测定值越大, 测定值大大受到环境温度的影响。

[0119] 相对该情况, 如实施例 1, 根据使测定波长从氧合血红蛋白的最大吸收波长 (415nm) 到脱氧血红蛋白的最大吸收波长 (430nm) 之间变化时的累计值, 对血红蛋白浓度进行运算的情况下, 从表 1 和图 11 可知, 即使环境温度在 10 ~ 30℃ 的范围内变化的情况下, 测定值几乎不受到环境温度的影响, 基本为一定值。

[0120] 从上述情况可知, 根据使测定波长从氧合血红蛋白的最大吸收波长 (415nm) 到脱氧血红蛋白的最大吸收波长 (430nm) 之间变化时的累计值, 对糖基血红蛋白量浓度进行运算的情况下, 不受环境温度 (洗提液的溶解氧浓度) 或试样的溶解氧浓度的影响, 可进行正确而稳定的糖基血红蛋白浓度的测定。

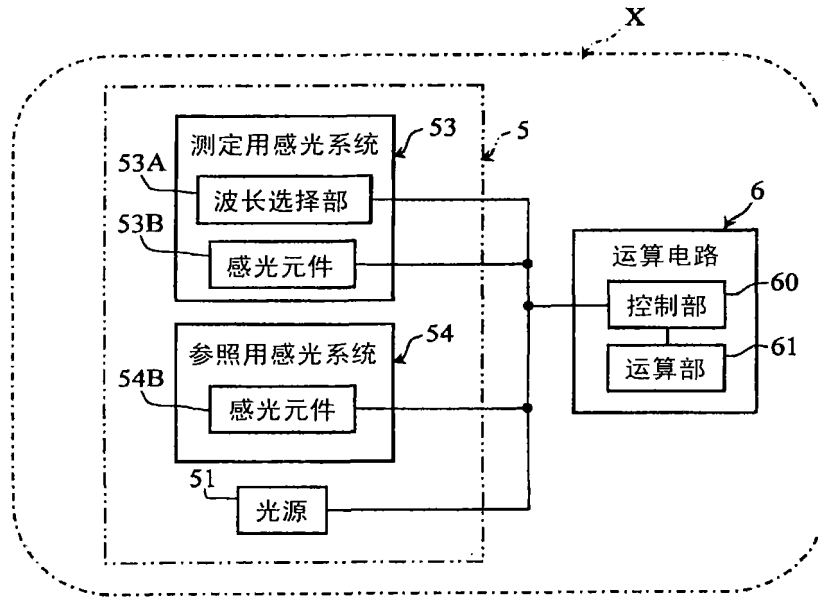


图 3

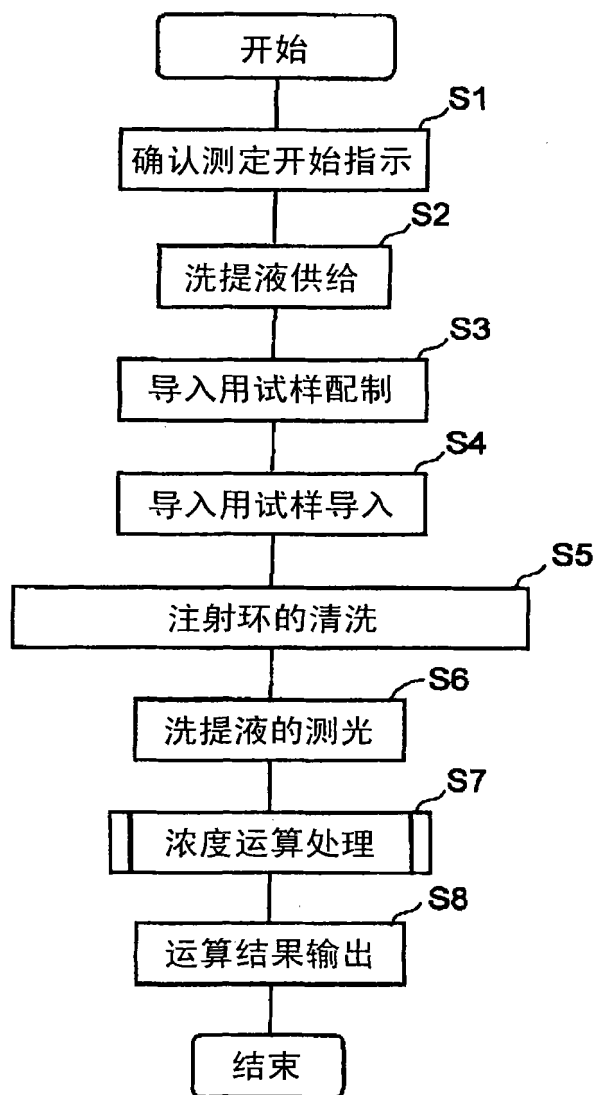


图 4

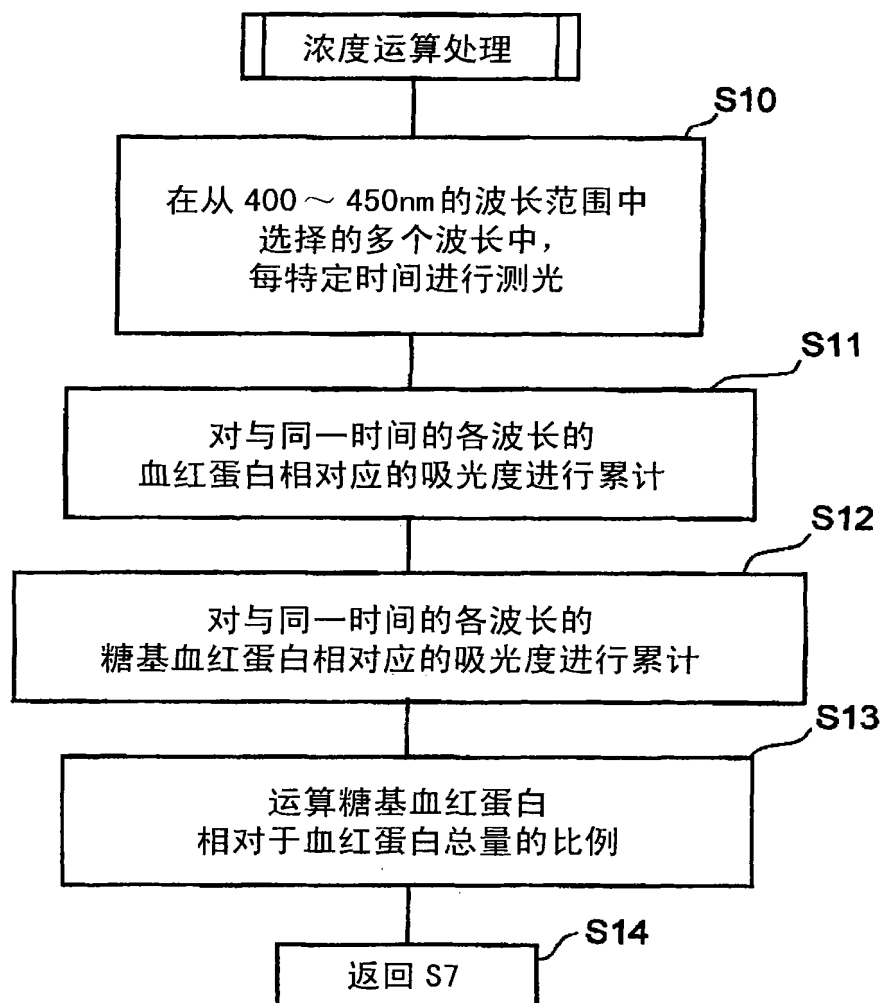


图 5

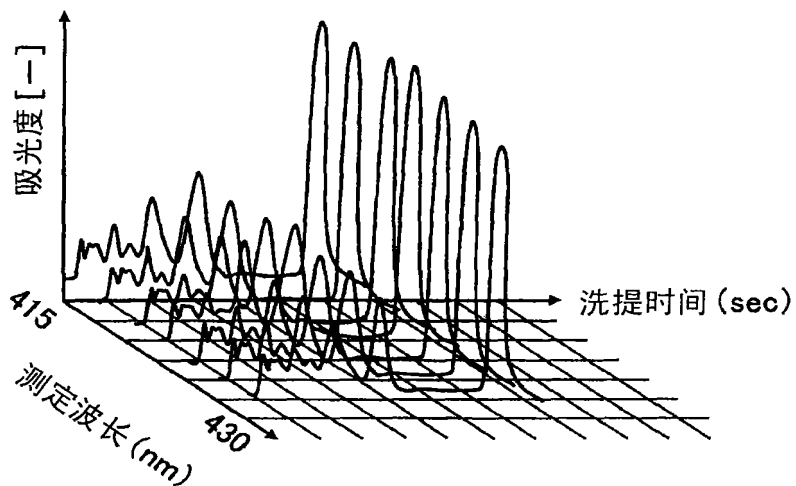


图 6

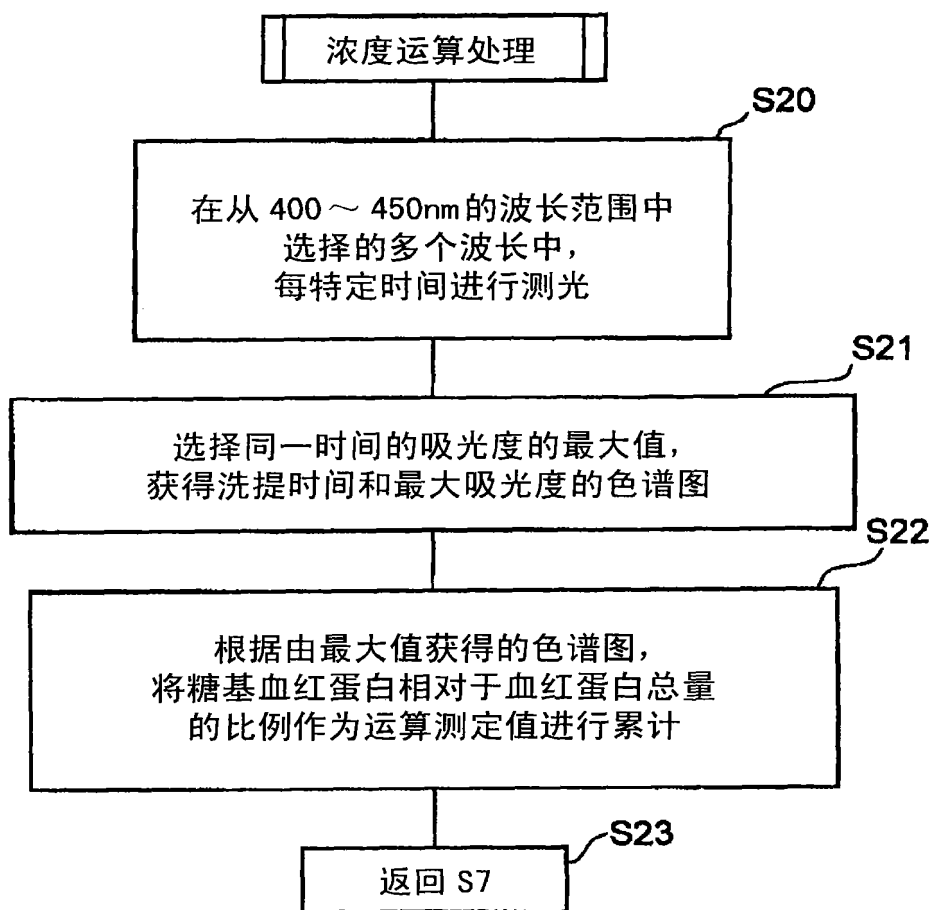


图 7

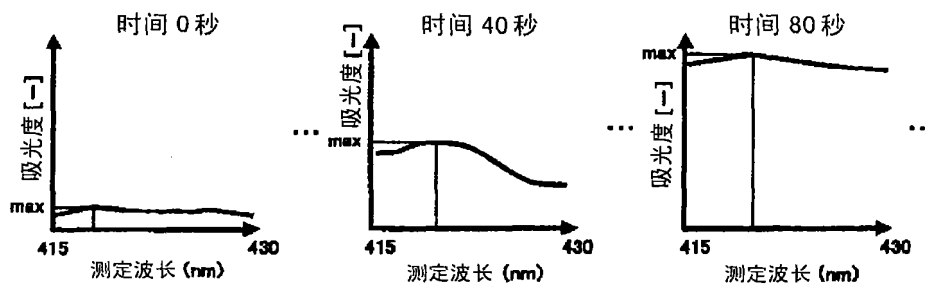


图 8A

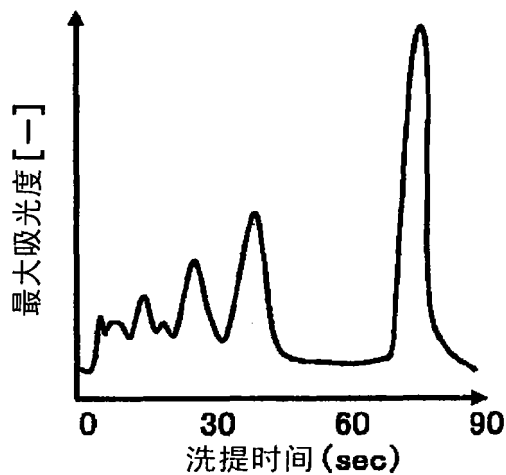


图 8B

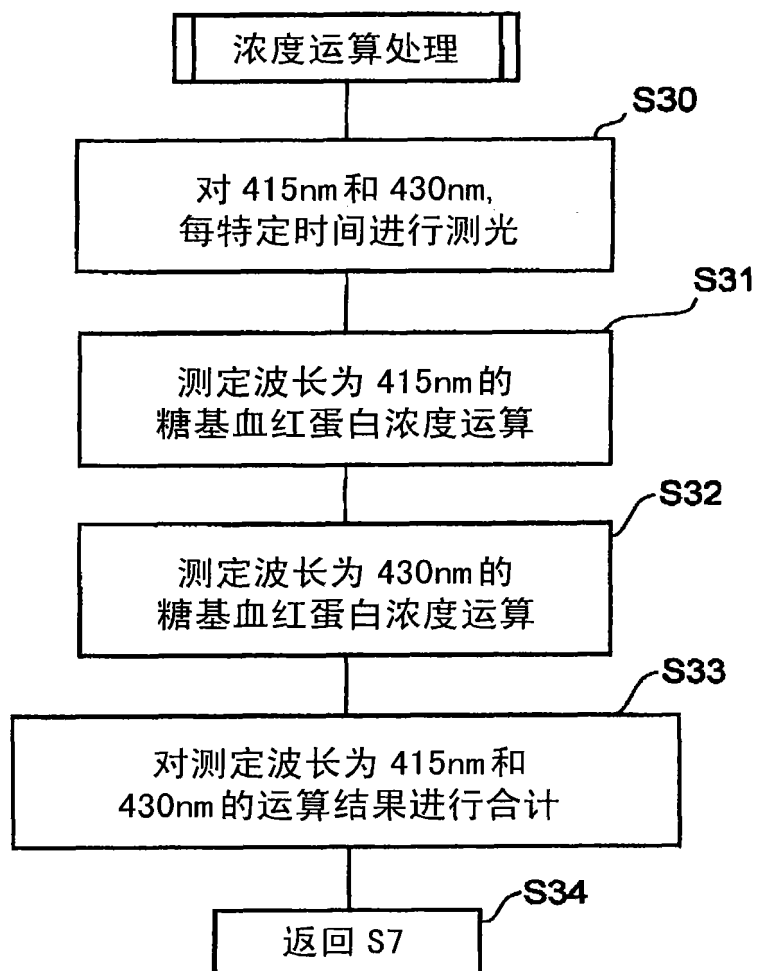


图 9

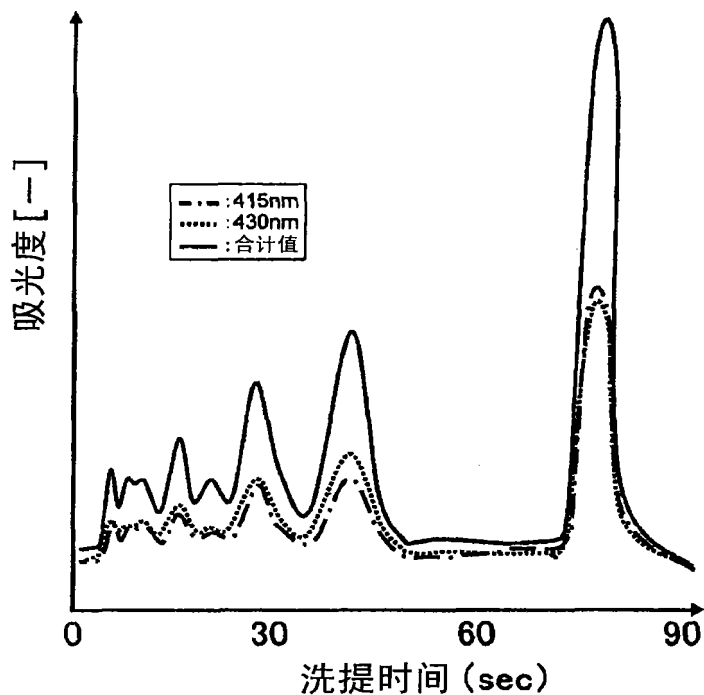


图 10

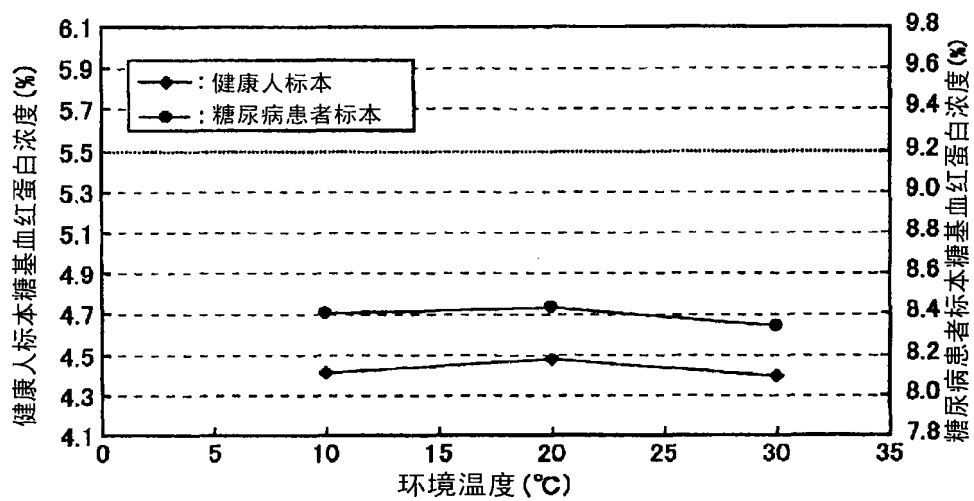


图 11

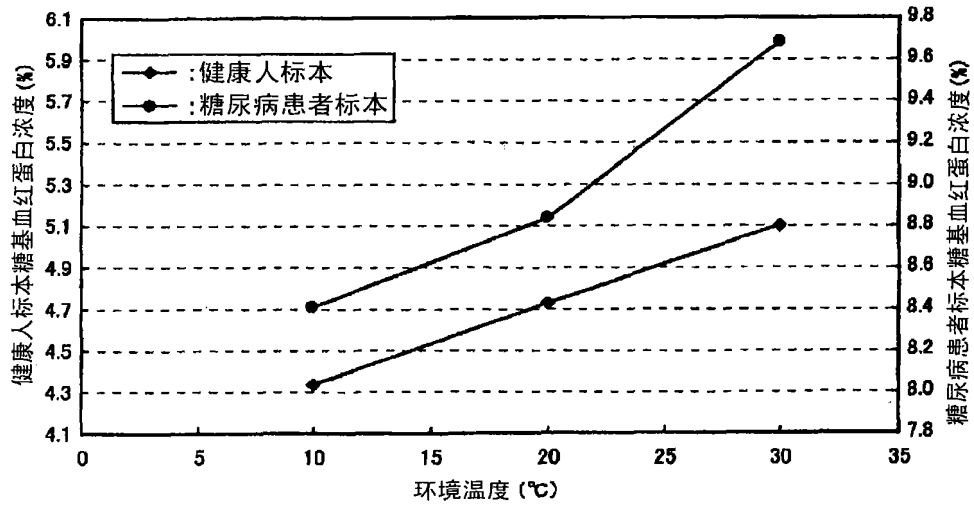


图 12

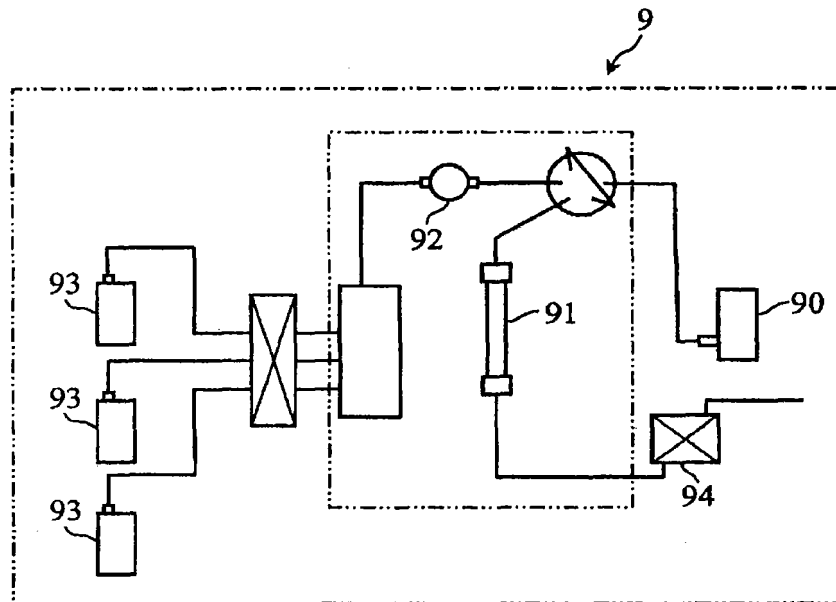


图 13

现有技术

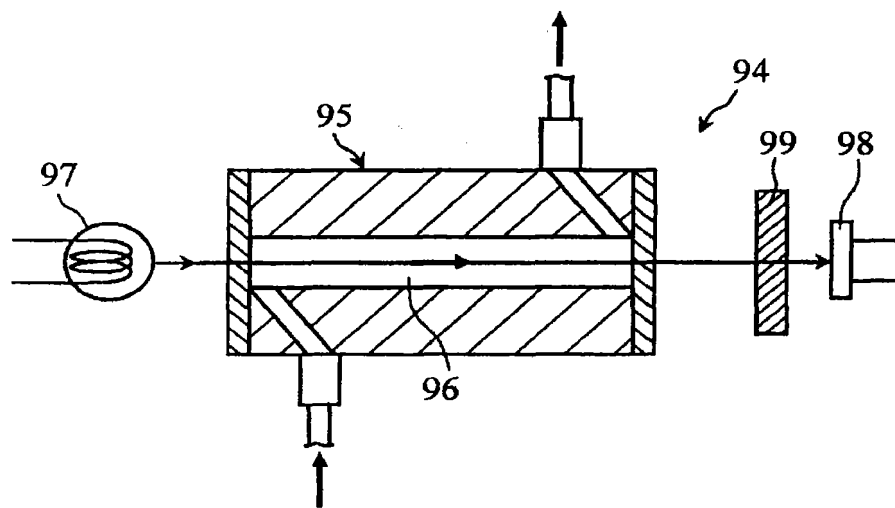


图 14

现有技术

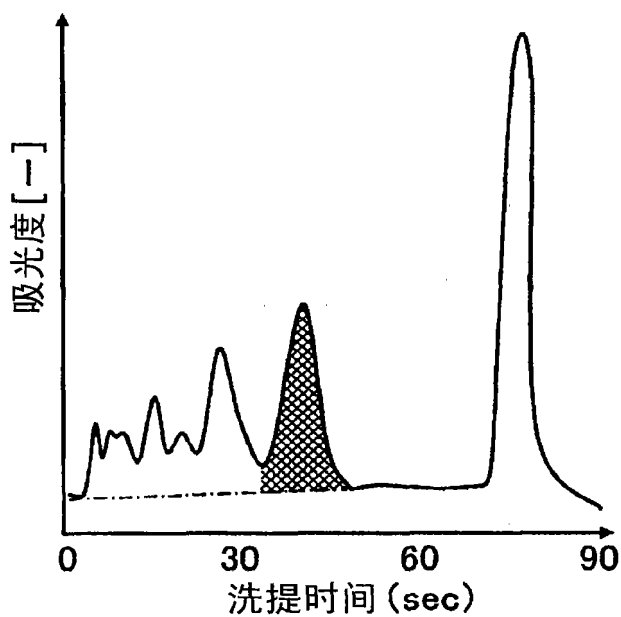


图 15

现有技术