

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年4月5日 (05.04.2001)

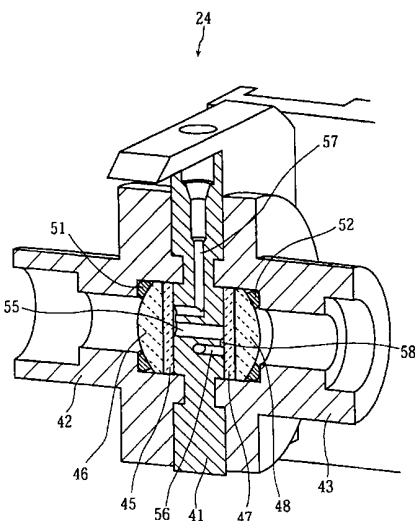
PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/23879 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: G01N 30/16, (KAMADA, Takanori) [JP/JP]. 廣瀬和典 (HIROSE, Kazunori) [JP/JP]; 〒601-8045 京都府京都市南区東九条西明田町57 アークレイ株式会社内 Kyoto (JP).  
30/62, 30/88, B01D 15/08
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/06744
- (22) 国際出願日: 2000年9月28日 (28.09.2000) (74) 代理人: 吉田 稔, 外(YOSHIDA, Minoru et al.); 〒543-0014 大阪府大阪市天王寺区玉造元町2-32-1301 Osaka (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): US.
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (30) 優先権データ: 特願平11/276450 1999年9月29日 (29.09.1999) JP (54) 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): アークレイ株式会社 (ARKRAY, INC.) [JP/JP]; 〒601-8045 京都府京都市南区東九条西明田町57 Kyoto (JP).  
2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 鎌田高徳

(54) Title: LIQUID HOMOGENIZING UNIT AND HIGH SPEED LIQUID CHROMATOGRAPH EQUIPPED WITH THE SAME

(54) 発明の名称: 液体均質化ユニット及びこれを備えた高速液体クロマトグラフィー装置



(57) Abstract: A liquid homogenizing unit comprising a feed flow channel (56), a discharge flow channel (57), a first intermediate flow channel (58) communicating with the feed flow channel (56), and a second intermediate flow channel (55) communicating with the first intermediate flow channel (58) and discharge flow channel (57). The first intermediate flow channel (58) extends in a direction which crosses the second intermediate flow channel (55).

WO 01/23879 A1



---

(57) 要約:

本発明の液体均質化ユニットは、供給流路（56）と、排出流路（57）と、前記供給流路（56）に連通する第1中間流路（58）と、前記第1中間流路（58）および前記排出流路（57）に連通する第2中間流路（55）とを備える。前記第1中間流路（58）は前記第2中間流路（55）に対して交差方向に延びている。

## 明細書

液体均質化ユニット及びこれを備えた高速液体クロマトグラフィー装置

## 5 技術分野

本発明は、液体の流れ系に組込まれ、積極的に液体の渦流を発生させる液体均質化ユニット、及びこれを備えた高速液体クロマトグラフィー装置に関する。

背景技術

- 10 液体の流れ系を利用した化学的分離方法として、高速液体クロマトグラフィー（以下「HPLC」と記す）が知られている。HPLCは種々の化学分析に応用可能であり、用途に応じて様々なHPLC装置が開発されている。そのうちの1つに、糖尿病の診断に資する糖化ヘモグロビン測定装置が存在する。当該装置は、血液を検体とし、一般に、血液中に含まれるヘモグロビンの総量に対するヘモグロビン A1c（以下、「HbA1c」と記す）の割合を測定する装置である。具体的には、当該装置は、血液を所定の希釈液で希釈することにより試料溶液を調製し、溶離液を用いて、その試料溶液に含まれる HbA1c 等の各ヘモグロビン成分をカラム内で展開させる。すると、試料溶液に含まれるの各ヘモグロビン成分は互いに分離した状態でカラムから溶出する。カラムの後に設けられている検出器にて、
- 20 カラムから流出する溶離液の吸光度が常時的に測定される。このように測定された吸光度に基いて、カラムから溶出される HbA1c および他のヘモグロビンの絶対量が決定される。そして当該装置は、最終的に、HbA1c を含むヘモグロビンの総量に対する HbA1c の存在割合を算出する。

- 25 しかしながら、従来のHPLC装置よりなる上述の糖化ヘモグロビン測定装置においては、血液の希釈倍率によって、HbA1c の測定値が変動していた。同一の血液に由来すれば、血液の希釈倍率に拘わらず、即ち試料溶液における血液濃度に拘わらず HbA1c について同一の存在割合が測定されることが期待される。しかしながら実際には、血液濃度によって測定値が異なり、一定した値が得られていなかった。

そのような問題の原因としては、溶離液に含まれるヘモグロビン成分の濃度が時間の経過につれて変化した場合に、検出器の測定流路内を流れる溶離液の流路断面において、半径方向の濃度分布が均一でなくなるためであると考えられる。カラム出口から検出器の測定流路に至るまでの管路において、溶離液は管路の壁面から抵抗を受けるため、溶離液の流速は、管路断面の中心部と比較して周縁部で遅くなる。この状態は測定流路内においても維持される。従って、例えば溶離液のヘモグロビン濃度が時間の経過につれて上昇する場合、測定流路の壁面近傍では、流路断面中心部と比較して液置換の進行が遅く、低いヘモグロビン濃度が維持される傾向にある。その結果、測定流路を流れる溶離液は、流路断面の中心部から周縁部にかけて低下する濃度勾配を有するようになる。測定流路内でこのような濃度勾配が形成された状態では、測定流路内の溶離液の吸光度測定に際し、濃度勾配が形成されない理想的な溶離液の状態において測定されるべき値よりも低い値が実際には測定される。

このような層流に起因する悪影響は、溶離液の経時的な濃度変化が激しくなるほど、特に多大となる。そのため、糖化ヘモグロビン測定においては、血中ヘモグロビンの大部分を占め、且つ、カラムから最も遅く溶出されるヘモグロビン A0（以下「HbA0」と記す）の測定が最も影響を受ける。血中濃度の高い HbA0 が受ける影響は、濃度の低い HbA1c 等の他のヘモグロビンが受ける影響よりも極めて大きい。存在比最大の HbA0 の存在量が真値よりも小さく測定されると、ヘモグロビン全体の存在量が低く見積もられ、その結果、HbA1c の存在比が計算上大きく算出されるためであると考えられる。この考察は、試料の濃度が高いほど HbA1c の測定値が高くなってしまうという経験則と一致する。

カラムによる分離に十分に長い時間をかければ、HbA0 の濃度変化率が低減されるため、上述の層流の影響を軽減できるのであるが、クロマトグラムにおける各ヘモグロビンに由来する分離ピークが重なる傾向にあり、好ましくない。また、より多くの時間と溶離液を必要とする点においても好ましくない。特に、HPLCを利用した糖化ヘモグロビン測定装置においては、測定時間の短縮化が望まれており、カラムによる分離に長時間を費やすことはそのような要求に反するものであり、好ましくない。

検出器の測定流路内で発生していた上述の問題を軽減すべく、従来、拡散コイルを設けた糖化ヘモグロビン測定装置が提案されている。拡散コイルは、螺旋状の配管であって、測定流路が形成されている検出器付近の位置に設けられる。拡散コイルは、カラムから溶出された溶離液内に対流を発生させ、これによって溶離液に含まれるヘモグロビンが積極的に立体的に拡散される。拡散コイル内におけるこのような対流による拡散作用により、測定流路を流れる溶離液の流路断面における濃度勾配が緩和され、HbA0 の測定値は一定に安定化する。

しかしながら、拡散コイルを用いた従来の糖化ヘモグロビン測定装置では、高濃度成分である HbA0 の測定値を一定化することができるものの、以下の問題点を含んでいた。第 1 に、本来的に層流の影響を受けにくい希薄溶液も拡散コイルの対流作用を受けるため、ヘモグロビンの低濃度成分に由来するピークが鈍ってしまう。ヘモグロビン低濃度成分には HbA1c が含まれる。その結果、糖化ヘモグロビン測定装置としての分析能力が低下してしまう。第 2 に、拡散コイルによると、測定流路に流入する前に溶離液が対流作用を受けるため、測定流路に流入した溶離液は、流路半径方向のみならず流れ方向においてもヘモグロビン成分が相当程度拡散されてしまう。流れ方向の拡散によって、カラムによって一旦分離された成分同士の分離の程度が、カラム後の管路において低減する。その結果、クロマトグラムにおける各成分に由来するピークの半値幅が広がり、分離に要した時間に対して分析時間が従来以上に長時間化してしまう。

20

#### 発明の開示

本発明は、上述の問題点を解消または軽減することを目的とする。

本発明の第 1 の側面によると、液体均質化ユニットが提供される。この液体均質化ユニットは、供給流路および排出流路と、前記供給流路に連通する第 1 中間流路と、前記第 1 中間流路および前記排出流路に連通する第 2 中間流路とを備え、前記第 1 中間流路が前記第 2 中間流路に対して交差方向に延びる。

好ましくは、前記第 2 中間流路は略円筒状であり、前記第 1 中間流路は、前記第 2 中間流路に対してその軸心からずれた位置に接続されている。

好ましくは、前記第 1 中間流路は、前記供給流路から前記第 2 中間流路に向か

って先細り状に設けられている。

好ましくは、前記第1中間流路は一様断面を有する。

好ましくは、前記第1中間流路は、前記第2中間流路に対し直角に延びている。

5 好ましくは、前記第2中間流路は略円筒状であり、前記第1中間流路は、前記供給流路に接続する第1の部分と前記第2中間流路に接続する第2の部分とからなり、前記第1の部分は、前記供給流路から前記第2の部分に向けて先細り状に設けられており、前記第2の部分は、一様断面を有し、前記第2中間流路に対してその軸心からずれた位置に接続されている。

10 好ましくは、前記第1中間流路の前記第2の部分は、前記第2中間流路に対し直角に延びている。

15 好ましくは、前記供給流路および前記第2中間流路は略円形の断面を有し、前記第1中間流路は、前記供給流路と接続する第1の部分と前記第2中間流路と接続する第2の部分とからなり、前記第1の部分は、前記供給流路の軸心からずれた方向に延びており、前記第2の部分は、前記第1の部分から前記第2中間流路に向かって先太り状に設けられている。

好ましくは、前記第1中間流路は、前記第2中間流路よりも小さい断面を有する。

好ましくは、前記供給流路と前記第1中間流路は鈍角をなして接続されている。

20 好ましくは、更に、第1端面およびこれに対向する第2端面を有するユニット本体、並びに第1および第2の蓋体を有し、前記第2中間流路は、前記ユニット本体を前記第1端面から前記第2端面にかけて直線的に貫通するように形成され、前記供給流路は前記第1端面に開口し、前記第1中間流路は、前記第1端面にて前記供給流路と前記第2中間流路とを繋ぐように形成され、前記排出流路は前記第2端面にて開口しつつ前記第2中間流路と連通し、前記第1の蓋体は、前記供給流路、前記第1中間流路および前記第2中間流路を閉塞するように、第1端面に設けられ、前記第2の蓋体は、前記第2中間流路および前記排出流路を閉塞するように前記第2端面に設けられている。

25 好ましくは、前記第1および第2の蓋体は、少なくとも前記第2中間流路に対応する透明部位を有し、前記第2中間流路は、吸光度測定に適応可能な測定流路

である。

本発明の第1の側面の構成によると、本液体均質化ユニットに液体を通すと、第2中間流路内で渦流が発生する。具体的には、液体が第1中間流路から第2中間流路に流入する際に、その液体は、渦を巻きながら、第2中間流路を流れる。

- 5 そのため、液体が溶質を含んでいる場合には、その溶質は、第2中間流路の断面において、渦流によって積極的に拡散される。

本発明の第2の側面によると、高速液体クロマトグラフィー装置が提供される。この高速液体クロマトグラフィー装置は、カラムと、当該カラムからの溶出液の吸光度を検出するための検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー装置であつて、前記検出器は、前記カラムからの溶出液が流入する供給流路と、溶出液の吸光度を測定するための測定流路と、吸光度測定後の溶出液を排出するための排出流路と、前記供給流路に流入した溶出液を前記測定流路に導くための渦流生成路とを備えており、前記渦流生成路は、前記測定流路に対して交差方向に延び、測定流路内に渦流を発生させる。

- 15 好ましくは、少なくとも2以上の成分を含む検体を希釈液により希釈してなる試料と移動相としての溶離液とを前記カラムに供給し、前記検出器により検出された吸光度に基づいて、前記検体中に含まれる少なくとも1つの成分の存在比率を測定する。

- 20 好ましくは、前記検体は血液であり、前記血液中のヘモグロビンに含まれる糖化ヘモグロビンの存在比率を測定する。

好ましくは、前記測定流路は略円筒状であり、前記渦流生成路は、前記測定流路に対してその軸心からずれた位置に接続されている。

好ましくは、前記渦流生成路は、前記供給流路から前記測定流路に向かって先細り状に設けられている。

- 25 好ましくは、前記渦流生成路は一様断面を有する。

好ましくは、前記渦流生成路は、前記測定流路に対し直角に延びている。

好ましくは、前記渦流生成路は、前記供給流路および前記測定流路よりも小さな断面を有する。

本発明の第2の側面の構成によると、検出器の測定流路を流れる液体について、

第1の側面に関して上述したのと同様の効果を得ることができる。従って、測定流路断面の半径方向に濃度勾配を有さない液体に対して良好な吸光度測定を行うことができる。

- 本願発明のその他の特徴および利点は、以下に行う詳細な説明から、より明らかとなる。

#### 図面の簡単な説明

図1は、本発明に係る高速液体クロマトグラフィー装置の一例としての糖化ヘモグロビン測定装置を示すブロック図である。

- 10 図2は、図1に示す糖化ヘモグロビン測定装置に備えられた検出器の一部を断面とした斜視図である。

図3は、図2に示す検出器に備えられたセルの正面図である。

図4は、図3における線IV-IVに沿った断面図である。

図5は、図3に示すセルの渦流生成路付近の拡大図である。

- 15 図6は、検査対象である血液の希釈倍率とHbA1cの測定値との関係を表したグラフである。

図7は、他の実施形態における渦流生成路付近の拡大図である。

図8は、他の実施形態における渦流生成路付近の拡大図である。

図9は、他の実施形態におけるセルの正面図である。

- 20 図10は、図9に示すセルの線X-Xに沿った断面図である。

図11は、図9に示すセルの線XI-XIに沿った断面図である。

図12は、図9に示すセルの線XII-XIIに沿った断面図である。

図13は、図9に示すセルの背面図である。

図14は、図9に示すセルにおける渦流生成路付近の拡大図である。

25

#### 発明を実施するための最良の形態

図1は、本発明に係る高速液体クロマトグラフィー装置の一例としての糖化ヘモグロビン測定装置を示すブロック図である。この糖化ヘモグロビン測定装置は、試料前処理部1、分析部2、インジェクションバルブ3、制御装置4、および排

液部 5 を含む。試料前処理部 1 は、試料調製部 1 1、および送液ポンプ 1 2 を備えている。分析部 2 は、溶離液調製部 2 1、送液ポンプ 2 2、カラム 2 3、および検出器 2 4 を備えている。インジェクションバルブ 3 は、インジェクションループ 3 1 を備えるとともに、6 個のポート 3 a ~ 3 f を有している。ポート 3 a はカラム 2 3 に接続されており、ポート 3 b は送液ポンプ 2 2 に接続されている。ポート 3 c はインジェクションループ 3 1 の一端に接続されており、インジェクションループ 3 1 の他端はポート 3 f に接続されている。ポート 3 d、3 e は共に試料調製部 1 1 に接続されている。

試料前処理部 1 では、分析前の血液試料に対して所定の処理が施される。装置稼動時には、調製された試料は一時的にインジェクションバルブ 3 のインジェクションループ 3 1 に導入される。分析部 2 では、インジェクションループ 3 1 から注入された試料がカラム 2 3 により成分分離され、その後、検出器 2 4 により、カラム 2 3 から溶出する溶液の吸光度が測定される。インジェクションバルブ 3 は、インジェクションループ 3 1 が試料前処理部 1 の試料調製部 1 1 に接続する状態と分析部 2 のカラム 2 3 に接続する状態とに適宜切り換わる。制御装置 4 は、マイクロコンピュータなどを備えており、試料前処理部 1 の送液ポンプ 1 2、分析部 2 の送液ポンプ 2 2、インジェクションバルブ 3、および排液部 5 のポンプやバルブなどを駆動制御する。更に制御装置 4 は、検出器 2 4 からの検出信号に基づいて測定結果を表示部（図示せず）に表示させ、これを記録部（図示せず）に印刷させる。排液部 5 は、装置稼動時に生ずる試料前処理部 1 および分析部 2 からの排液を処理する。

試料調製部 1 1 は、所定量の血液を検体収容容器（図示せず）から吸引し、それを所定の希釈液により希釈することによって試料を調製する。このようにして調製された試料は、試料調製部 1 1 に内蔵されている希釈槽（図示せず）に貯留される。送液ポンプ 1 2 は、試料調製部 1 1 で調製された試料を、希釈槽からポート 3 e およびポート 3 f を介してインジェクションループ 3 1 に送り込む。インジェクションループ 3 1 は、所定量の試料を保持するための容量を有する。

溶離液調製部 2 1 は、移動相としての溶離液を調製する。溶離液調製部 2 1 には、相互に濃度の異なる溶離液を貯留する複数の溶離液槽、および、これら複数

の溶離液槽からの溶離液の流路を合流させるためのマニホールドなどが備えられている。送液ポンプ 2 2 は、溶離液調製部 2 1 で調製された溶離液をインジェクションバルブ 3 を介してカラム 2 3 に送り込む。溶離液は、インジェクションバルブ 3 の状態に応じて、インジェクションループ 3 1 を経由して又は経由せずに

5 カラム 2 3 に向かって流れる。溶離液がインジェクションループ 3 1 を経由すると、インジェクションループ 3 1 内に一時的に保持されていた試料は、溶離液とともにカラム 2 3 に供給され、溶離液によってカラム 2 3 内を展開される。試料に含まれるヘモグロビン成分毎にカラム 2 3 との吸着力が異なるため、ヘモグロ

10 ビン各成分が溶出されるのに要する時間が異なり、その結果、カラム 2 3 によって、ヘモグロビンが溶出時間の差異に基づいて目的成分毎に分離される。検出器 2 4 は、分光光度計などを備えており、カラム 2 3 から溶出するヘモグロビン含有溶離液の吸光度を測定する。

図 2 は、図 1 に示す糖化ヘモグロビン測定装置に備えられた検出器の一部を断面とした斜視図である。検出器 2 4 は、セル 4 1、発光素子収容部 4 2、および受

15 光素子収容部 4 3 を備えている。セル 4 1 と発光素子収容部 4 2 との間には、円板状の透明板 4 5、および円形のレンズ 4 6 が設置されている。同様に、セル 4 1 と受光素子収容部 4 3 との間には、円板状の透明板 4 7、および円形のレンズ 4 8 が設置されている。発光素子収容部 4 2 とレンズ 4 6 との間には、レンズ押えとしてのリング 5 1 が介装されており、受光素子収容部 4 3 と

20 レンズ 4 8 との間には、レンズ押えとしてのリング 5 2 が介装されている。リング 5 1、5 2 は、その半径方向の断面が円形である。簡潔化の観点から図示を省略するが、発光素子収容部 4 2 には、発光素子としての例えばハロゲンランプが設置され、受光素子収容部 4 3 には、受光素子としての例えばフォトダイオード或いはフォトトランジスタが設置される。セル 4 1 と発光素子収容部 4 2 との間には、パッ

25 キン（図示せず）が介装されており、セル 4 1 と受光素子収容部 4 3 との間にも、パッキン（図示せず）が介装されている。

セル 4 1 には、カラム 2 3 からの溶離液をセル 4 1 内に受け入れるための供給流路 5 6 と、溶離液の吸光度を測定するための光路を確保するための測定流路 5 5 と、測定流路 5 5 内に渦流を発生させるための渦流生成路 5 8 と、測定流路 5

5を通過した溶離液を検出器24の外部に導く排出流路57とが形成されている。カラム23からの溶離液のみならず、発光素子収容部42に収容されている発光素子から受光素子収容部43に収容されている受光素子へと照射される所定波長の光線も、測定流路55を通過する。そのため、セル41に接触して設けられる透明板45および透明板47は、光路を確保すべく、全体が透明であってもよいし、セル41内に形成されている測定流路55に対応する部分、即ち中央部付近だけが透明であってもよい。

図3は、図2に示す検出器に備えられたセル41の正面図である。図4は、図3における線IV-IVに沿った断面図である。測定流路55は、図4に表されているように、セル41の略中心部を厚み方向に貫通しており、直線状に形成されている。測定流路55の始端はセル41の正面側に開口し、終端はセル41の背面側に開口している。供給流路56は、図3において破線で示されているように、セル41の右端面から測定流路55の下方まで直線状に伸び、そこで直角に屈曲して、図4に表されているように、セル41の正面側まで直線状に伸びている。この供給流路56は、渦流生成路58を介して、測定流路55の始端に連通している。排出流路57は、図4に示されているように、測定流路55の終端からセル41の背面側を上方に伸び、直角に屈曲してセル41の正面側に伸び、さらに直角に屈曲してセル41の上面まで直線状に伸びている。

図5は、図3に示すセル41の正面図における渦流生成路58付近の拡大図である。セル41の正面には、供給流路56の終端から測定流路55の始端に至る溝59が形成されており、この溝59によって渦流生成路58の一部が規定される。溝59はセル41の正面側に開口している。図2に示されているように透明板47をセル41の正面側に当接させると、溝59と透明板47により、両端を除いて閉塞された空間が規定される。即ち、透明板47は渦流生成路58の他の一部を規定する。図5に示すように、溝59の略全体は、供給流路56の軸心56aと測定流路55の軸心55aとを結ぶ線分Bに対して傾斜する方向に向かって先細り状に形成されている。そのため、渦流生成路58の測定流路55に対する開口部は、測定流路55の周縁部において線分Bから偏移している。また、測定流路55に対する溝59の開口部付近は、線分Bに対して略平行な形状である。

そのため、測定流路 5 5 に対する渦流生成路 5 8 の開口部付近は、測定流路 5 5 内における溶液流れ方向に対して略直角に交差することとなる。渦流生成路 5 8 の溶液流れ方向に対して直交する方向の溝 5 9 の断面形状は、先細り状に形成されている部位も開口部付近も共に半円形である。

- 5 以上のような液体均質化ユニットとしての構成を備える検出器を搭載したヘモグロビン測定装置は、以下のように動作する。まず、制御装置 4 が試料調製部 1 1 の各部を制御して試料の調製が行われる。具体的には、検体収容容器（図示せず）から所定量の血液が吸引され、この血液が、所定の希釈液により所定の希釈倍率で希釈されて試料調製部 1 1 内に設けられた希釈槽（図示せず）に貯留される。そして、制御装置 4 の働きにより、図 1 に示すインジェクションバルブ 3 は、
- 10 ポート 3 a とポート 3 b が連通し、ポート 3 c とポート 3 d が連通し、ポート 3 e とポート 3 f が連通する状態となる。試料調製部 1 1 において上述のようにして調製された血液試料が、ポンプ 1 2 の働きによって、試料調製部 1 1 の希釈槽からインジェクションバルブ 3 のポート 3 e およびポート 3 f を介してインジェクションループ 3 1 に導入される。インジェクションループ 3 1 から試料が所定量以上溢れた場合には、その余剰の試料は、ポート 3 c およびポート 3 d を通
- 15 て試料調製部 1 1 の希釈槽に戻る。

- 次に、制御装置 4 の働きによって、インジェクションバルブ 3 は、ポート 3 b とポート 3 c が連通し、ポート 3 d とポート 3 e が連通し、ポート 3 f とポート
- 20 3 a が連通している状態となる。そして、送液ポンプ 2 2 の働きにより、溶離液調製部 2 1 の複数の溶離液槽（図示せず）から選択された所定の溶離液槽からインジェクションバルブ 3 のポート 3 b に溶離液が送流される。このような溶離液は、ポート 3 c、インジェクションループ 3 1、ポート 3 f、およびポート 3 a を通ってカラム 2 3 に流入する。インジェクションループ 3 1 内に一時的に保持
- 25 されていた試料は、溶離液に押し流されてカラム 2 3 に流入する。

このとき送液ポンプ 1 2 の働きにより、洗浄液槽（図示せず）からインジェクションバルブ 3 のポート 3 e に洗浄液が送出される。この洗浄液は、排液としてポート 3 d から試料調製部 1 1 の希釈槽に至る。これにより、試料前処理部 1 における試料の流路に残留していた試料が洗浄液により除去される。洗浄後、上述

したのと同様にして、再び、試料前処理部 1 において、次に測定されることとなる血液試料が希釈などにより調製される。

一方、インジェクションループ 3 1 内に一時的に保持されていた試料が溶離液によりカラム 2 3 に流入した後、制御装置 4 の働きにより、インジェクションバルブ 3 の接続状態が切り替えられる。ポート 3 a とポート 3 b が連通し、ポート 3 c とポート 3 d が連通し、ポート 3 e とポート 3 f が連通する状態となる。そのため、ポンプ 2 2 の働きにより溶離液調製部 2 1 からインジェクションバルブ 3 のポート 3 b に送出された溶離液は、インジェクションループ 3 1 を経由せずにポート 3 a を介してインジェクションバルブ 3 から流出し、カラム 2 3 に供給  
10 される。

溶離液とともにカラム 2 3 に注入された試料は、移動相としての溶離液によりカラム 2 3 内を展開される。試料に含まれるヘモグロビンの各成分とカラム 2 3 との吸着力の差異に基づき、各ヘモグロビン成分はカラム 2 3 によって分離される。カラム 2 3 から溶出した溶離液は、カラム 2 3 の後に設けられた検出器 2 4  
15 に供給される。検出器 2 4 内に形成された測定流路 5 5 を通る溶離液の吸光度が検出器 2 4 により測定さる。吸光度測定には、各ヘモグロビン成分が吸収を示す波長の光を使用する。検出器 2 4 からの検出信号が制御部 4 に入力されて、血液に含まれる HbA<sub>1a</sub>, HbF, HbA<sub>1c</sub>, HbA<sub>0</sub> などの各ヘモグロビン成分について測定された吸光度に基づき、これらに由来するクロマトグラムが測定結果として記録  
20 用に印刷される。これら各成分の存在比率なども算出され、測定結果として表示される。

検出器 2 4 を通過した溶離液は、機外の排液収容設備に排出される。排液部 5 に吸引された排液も、機外の排液収容設備に排出される。

上述の糖化ヘモグロビン測定装置では、検出器 2 4 において吸光度測定を行う  
25 測定流路 5 5 と検出器 2 4 内に溶離液を導入するための供給流路 5 6 との間に渦流生成路 5 8 が設けられている。そのため、上記装置の動作時においては、カラム 2 3 から溶出する溶離液は、まず供給流路 5 6 から検出器 2 4 に流入し、そして渦流生成路 5 8 を経て測定流路 5 5 に至る。図 5 に示す渦流生成路 5 8 は供給流路 5 6 の軸心 5 6 a と測定流路 5 5 の軸心 5 5 a とを結ぶ線分 B に対して傾斜

- する方向に延びて形成されているので、測定流路 5 5 に対する渦流生成路 5 8 開口部は、測定流路 5 5 の周縁部において線分 B から偏移する箇所に位置する。そのため、測定流路 5 5 を流れる溶離液は、その流路断面における回転成分を有することとなる。より具体的には、測定流路 5 5 の始端において、溶離液が軸心 5 5 a から外れた方向へ向かって測定流路 5 5 に流入し、溶離液が瞬間的に螺旋を描くように流れる。即ち、渦流生成路 5 8 の存在により、測定流路 5 5 内を通過する溶離液に、図 5 において矢印 F で示す方向に渦流が発生する。しかも、図 5 に示す渦流生成路 5 8 の略全体が測定流路 5 5 方向に先細り状に形成されているので、供給流路 5 6 から測定流路 5 5 に至る間に、溶離液の流速は高速化する。
- 10 この高速化は、測定流路 5 5 内における良好な渦流の生成に寄与する。更に、渦流生成路 5 8 の終端部付近が測定流路 5 5 に対して略直角に連通しているため、渦流生成路 5 8 から測定流路 5 5 に流出する瞬間における溶離液流れの測定流路 5 5 内流れ方向への流れ成分は抑制され、その方向への対流による拡散が抑制される。
- 15 測定流路 5 5 を流れる溶離液に対して積極的に上述のような渦流を発生させると、溶離液にヘモグロビンが含まれている場合には、溶離液の流路断面において当該成分は速やかに拡散する。このようにして測定流路 5 5 を流れる溶離液の流路断面における濃度は均一化され、濃度勾配の発生という問題が解消または抑制されると、吸光度測定値が一定となる。その結果、本発明に係る糖化ヘモグロ
- 20 ビン測定装置は、同一の血液検体に由来する試料であれば、試料濃度に拘わらず、HbA1c 存在比に関して一定の測定値を出力できる。一方、測定流路 5 5 内の溶離液の流れ方向への成分の拡散を抑制することにより、カラム 2 3 により分離された各ヘモグロビン成分が再び混ざり合うことを抑制できる。その結果、クロマトグラムに現れるカラム 2 3 の分解能が低下せず、装置本来の分析能力を高く維持
- 25 することができる。また、溶離液の流れ方向の成分拡散の抑制は、クロマトグラムにおける各ピークの半値幅の増大を抑制するので、分析に要する時間の短縮化にも寄与する。

図 6 は、検査対象である血液の希釈倍率と糖化ヘモグロビン測定装置による HbA1c の測定結果との関係を示すグラフである。横軸は血液の希釈倍率の逆数で

あり、縦軸は血液に含まれる全ヘモグロビン量に対する HbA1c の存在割合である。図 6 において、実線は上記実施形態に係る糖化ヘモグロビン測定装置による測定結果を表しており、測定される HbA1c の存在割合の値は略一定である。これに対し、破線は従来の糖化ヘモグロビン測定装置であって拡散コイルを備えていない装置による測定結果を表しており、測定される HbA1c の存在割合の値は、希釈倍率が低くなるほど高くなる。図 6 から明らかなように、上記実施形態に係る糖化ヘモグロビン測定装置によれば、拡散コイルを備えていない従来の糖化ヘモグロビン測定装置と比較して、血液の希釈倍率の変化に対する HbA1c の測定値の変化は格段に少ない。一方、従来の糖化ヘモグロビン測定装置であって拡散コイルを備えた装置によれば、血液の希釈倍率の変化に対する HbA1c の測定値の変化は比較的小さいものの、HbA1c その他の低濃度成分の分析能力が大幅に低下するとともに、溶出成分の分析時間が大幅に増加することが、実験により確認されている。

このように、本発明によると、測定流路 5 5 の流路断面における溶離液の濃度を均一化できることから、試料濃度のばらつきに起因する HbA0 の測定誤差を解消することによって HbA1c の測定値の変化を格段に低下せしめることができる。しかも、溶離液流れ方向へのヘモグロビンの拡散を効果的に抑えることができることから、従来の糖化ヘモグロビン測定装置における拡散コイルに起因する低濃度成分の分析能力の低下や溶出成分の分析時間の増加を回避することができる。この結果、本発明によると、正確かつ迅速な測定を行なえるのである。

上記実施形態においては、図 5 に示すように、供給流路 5 6 側から測定流路 5 5 側にかけて次第に先細り状になる渦流生成路 5 8 を設けたが、このような渦流生成路 5 8 の代わりに、図 7 に示すような、供給流路 5 6 側から測定流路 5 5 側にかけて次第に先太り状になる渦流生成路 6 1 を設けてもよい。渦流生成路 6 1 は、供給流路 5 6 の軸心 5 6 a と測定流路 5 5 の軸心 5 5 a とを結ぶ線分 B に対して傾斜する方向に沿って先太り状となっている。または、図 8 に示すような、供給流路 5 6 の終端から測定流路 5 5 の始端に至るまで、一様な流路断面積を有する渦流生成路 6 2 を設けてもよい。この渦流生成路 6 2 は、供給流路 5 6 の軸心 5 6 a と測定流路 5 5 の軸心 5 5 a とを結ぶ線分 B に対して平行且つ偏移して設けられている。すなわち、渦流生成路 6 2 の軸心 6 2 a が、供給流路 5 6 の軸

心 5 6 a および測定流路 5 5 の軸心 5 5 a に対してねじれの関係となるように、渦流生成路 6 2 が形成されている。また、この渦流生成路 6 2 の断面積は、測定流路 5 5 の断面積および供給流路 5 6 の断面積よりも小さいことが好ましい。

図 9 は、他の実施形態に係るセル 7 1 の正面図である。図 1 0 は、図 9 に示すセル 7 1 の線 X-X に沿った断面図である。図 1 1 は、図 9 に示すセル 7 1 の線 XI-XI に沿った断面図である。図 1 2 は、図 9 に示すセル 7 1 の線 XII-XII に沿った断面図である。図 1 3 は、図 9 に示すセル 7 1 の背面図である。図 1 4 は、図 9 に示すセル 7 1 における渦流生成路付近の拡大図である。

セル 7 1 には、カラムから溶出する溶離液を受け入れるための供給流路 7 2 と、溶離液の吸光度測定を行う光路を確保するための測定流路 7 4 と、溶離液を供給流路 7 2 から測定流路 7 4 へと導き、測定流路 7 4 内に渦流を発生させるための渦流生成路 7 3 と、吸光度測定後の溶離液を排出するための排出流路 7 5 とが形成されている。図 1 1 および図 1 4 から理解できるように、このセル 7 1 においては、供給流路 7 2 と渦流生成路 7 3 は直交していない。交差箇所では溶離液の流れが略 1 3 5 度の角度を形成するように、供給流路 7 2 と渦流生成路 7 3 は接続している。このように、本実施形態では、供給流路 7 2 から渦流生成路 7 3 に流入する際の溶離液の流れ方向の変化がセル 4 1 と比較して緩やかである。そのため、供給流路 7 2 と渦流生成路 7 3 の交差箇所付近における溶離液の動圧が緩和され、当該セル 7 1 を搭載する装置全体の流れ系を溶離液がスムーズに流動することとなる。また、測定流路 7 2 に流入する以前において、溶離液の対流による流れ方向へのヘモグロビンの拡散が低減される。その他の構成はセル 4 1 と略同様であるので、本実施形態に係るセル 7 1 は、セル 4 1 を使用した場合と同様の効果を奏する。

以上のように、本実施形態によっても、測定流路 7 2 の流路断面における溶離液の濃度を均一化できることから、試料濃度のばらつきに起因する HbA0 の測定誤差を解消することによって HbA1c の測定値の変化を格段に低下せしめることができる。加えて、溶離液流れ方向へのヘモグロビンの拡散を更に抑制することができることから、従来の糖化ヘモグロビン測定装置における拡散コイルに起因する低濃度成分の分析能力の低下や溶出成分の分析時間の増加を回避することがで

きる。

糖化ヘモグロビン測定装置の全体構成、検出器 2 4 およびセル 4 1, 7 1 の具体的構成、ならびに渦流生成路 5 8, 7 3 の具体的形状などは、上記各実施形態にのみ限定されるものではない。

- 5 上記各実施形態においては、供給流路、渦流生成路、測定流路、および排出流路からなる液体均質化ユニットを高速液体クロマトグラフィー装置に搭載することにより、液体均質化ユニットの利用を図ったが、本発明に係る液体均質化ユニットは、高速液体クロマトグラフィー装置以外の装置で利用してもよい。また、本発明に係る液体均質化ユニットを搭載した高速液体クロマトグラフィー装置は、
- 10 糖化ヘモグロビン測定装置以外の測定装置として構成してもよい。

## 請求の範囲

1. 供給流路および排出流路と、  
前記供給流路に連通する第1中間流路と、
- 5 前記第1中間流路および前記排出流路に連通する第2中間流路と、を備え、  
前記第1中間流路が前記第2中間流路に対して交差方向に延びる、液体均質化ユニット。
2. 前記第2中間流路は略円筒状であり、前記第1中間流路は、前記第2中間流路  
10 に対してその軸心からずれた位置に接続されている、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
3. 前記第1中間流路は、前記供給流路から前記第2中間流路に向かって先細り  
15 状に設けられている、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
4. 前記第1中間流路は、一様断面を有する、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
5. 前記第1中間流路は、前記第2中間流路に対し直角に延びている、請求項4  
20 に記載の液体均質化ユニット。
6. 前記第2中間流路は略円筒状であり、前記第1中間流路は、前記供給流路に  
接続する第1の部分と前記第2中間流路に接続する第2の部分とからなり、前記  
第1の部分は、前記供給流路から前記第2の部分に向けて先細り状に設けられて  
25 おり、前記第2の部分は、一様断面を有し、前記第2中間流路に対してその軸心  
からずれた位置に接続されている、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
7. 前記第1中間流路の前記第2の部分は、前記第2中間流路に対し直角に延び  
ている、請求項5に記載の液体均質化ユニット。

8. 前記供給流路および前記第2中間流路は略円形の断面を有し、前記第1中間流路は、前記供給流路と接続する第1の部分と前記第2中間流路と接続する第2の部分とからなり、前記第1の部分は、前記供給流路の軸心からずれた方向に延びており、前記第2の部分は、前記第1の部分から前記第2中間流路に向かって
- 5 先太り状に設けられている、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
9. 前記第1中間流路は、前記第2中間流路よりも小さい断面を有する、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
- 10 10. 前記供給流路と前記第1中間流路は鈍角をなして接続されている、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
11. 更に、第1端面およびこれに対向する第2端面を有するユニット本体、並びに第1および第2の蓋体を有し、前記第2中間流路は、前記ユニット本体を前記
- 15 第1端面から前記第2端面にかけて直線的に貫通するように形成され、前記供給流路は前記第1端面に開口し、前記第1中間流路は、前記第1端面にて前記供給流路と前記第2中間流路とを繋ぐように形成され、前記排出流路は前記第2端面にて開口しつつ前記第2中間流路と連通し、前記第1の蓋体は、前記供給流路、
- 20 前記第1中間流路および前記第2中間流路を閉塞するように、第1端面に設けられ、前記第2の蓋体は、前記第2中間流路および前記排出流路を閉塞するように前記第2端面に設けられている、請求項1に記載の液体均質化ユニット。
12. 前記第1および第2の蓋体は、少なくとも前記第2中間流路に対応する透明部位を有し、前記第2中間流路は、吸光度測定に適応可能な測定流路である、請
- 25 求項11に記載の液体均質化ユニット。

13. カラムと、当該カラムからの溶出液の吸光度を検出するための検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー装置であって、

前記検出器は、前記カラムからの溶出液が流入する供給流路と、溶出液の吸光度を測定するための測定流路と、吸光度測定後の溶出液を排出するための排出流路と、前記供給流路に流入した溶出液を前記測定流路に導くための渦流生成路とを備えており、

前記渦流生成路は、前記測定流路に対して交差方向に延び、測定流路内に渦流を発生させる、高速液体クロマトグラフィー装置。

10 14. 少なくとも2以上の成分を含む検体を希釈液により希釈してなる試料と移動相としての溶離液とを前記カラムに供給し、前記検出器により検出された吸光度に基づいて、前記検体中に含まれる少なくとも1つの成分の存在比率を測定する、請求項13に記載の高速液体クロマトグラフィー装置。

15 15. 前記検体は血液であり、前記血液中のヘモグロビンに含まれる糖化ヘモグロビンの存在比率を測定する、請求項14に記載の高速液体クロマトグラフィー装置。

20 16. 前記測定流路は略円筒状であり、前記渦流生成路は、前記測定流路に対してその軸心からずれた位置に接続されている、請求項13に記載の高速液体クロマトグラフィー装置。

17. 前記渦流生成路は、前記供給流路から前記測定流路に向かって先細り状に設けられている、請求項13に記載の高速液体クロマトグラフィー装置。

25

18. 前記渦流生成路は一様断面を有する、請求項13に記載の高速液体クロマトグラフィー装置。

19. 前記渦流生成路は、前記測定流路に対し直角に伸びている、請求項 1 8 に記載の液体均質化ユニット。

20. 前記渦流生成路は、前記供給流路および前記測定流路よりも小さな断面を有する、請求項 1 3 に記載の高速液体クロマトグラフィー装置。

FIG.1

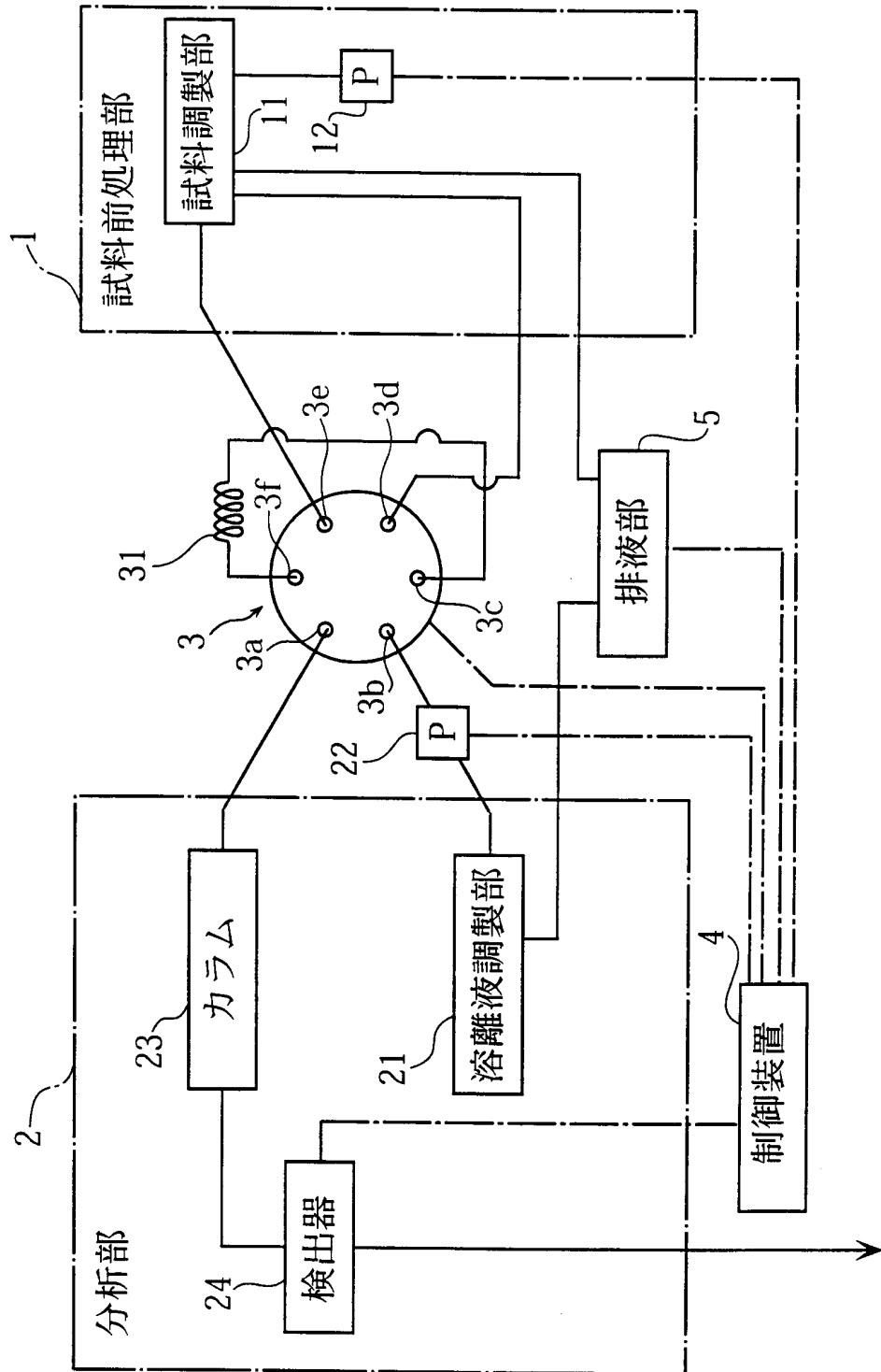


FIG.2

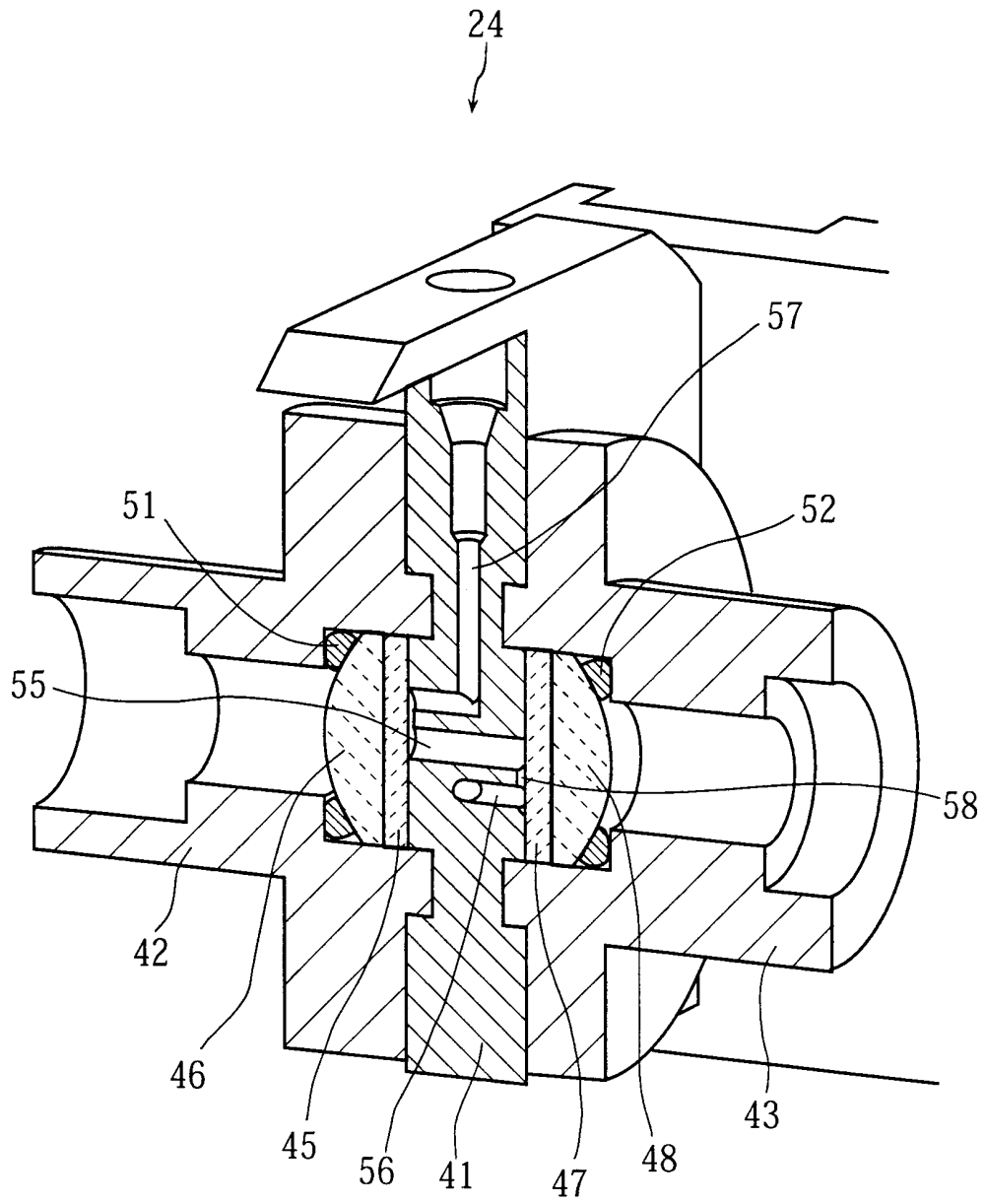


FIG.3

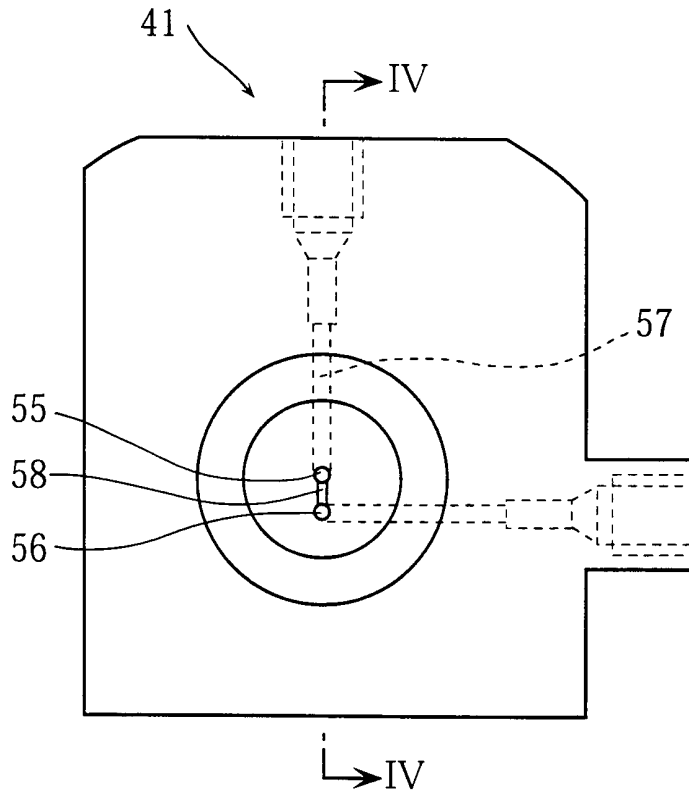


FIG.4

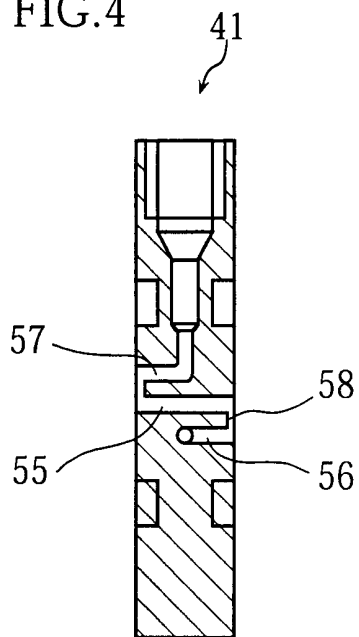


FIG.5

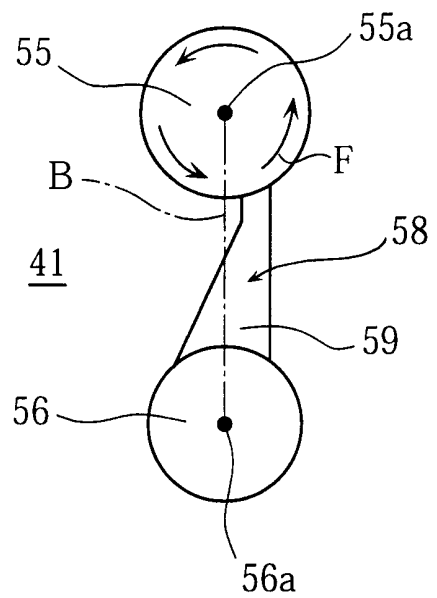


FIG.6

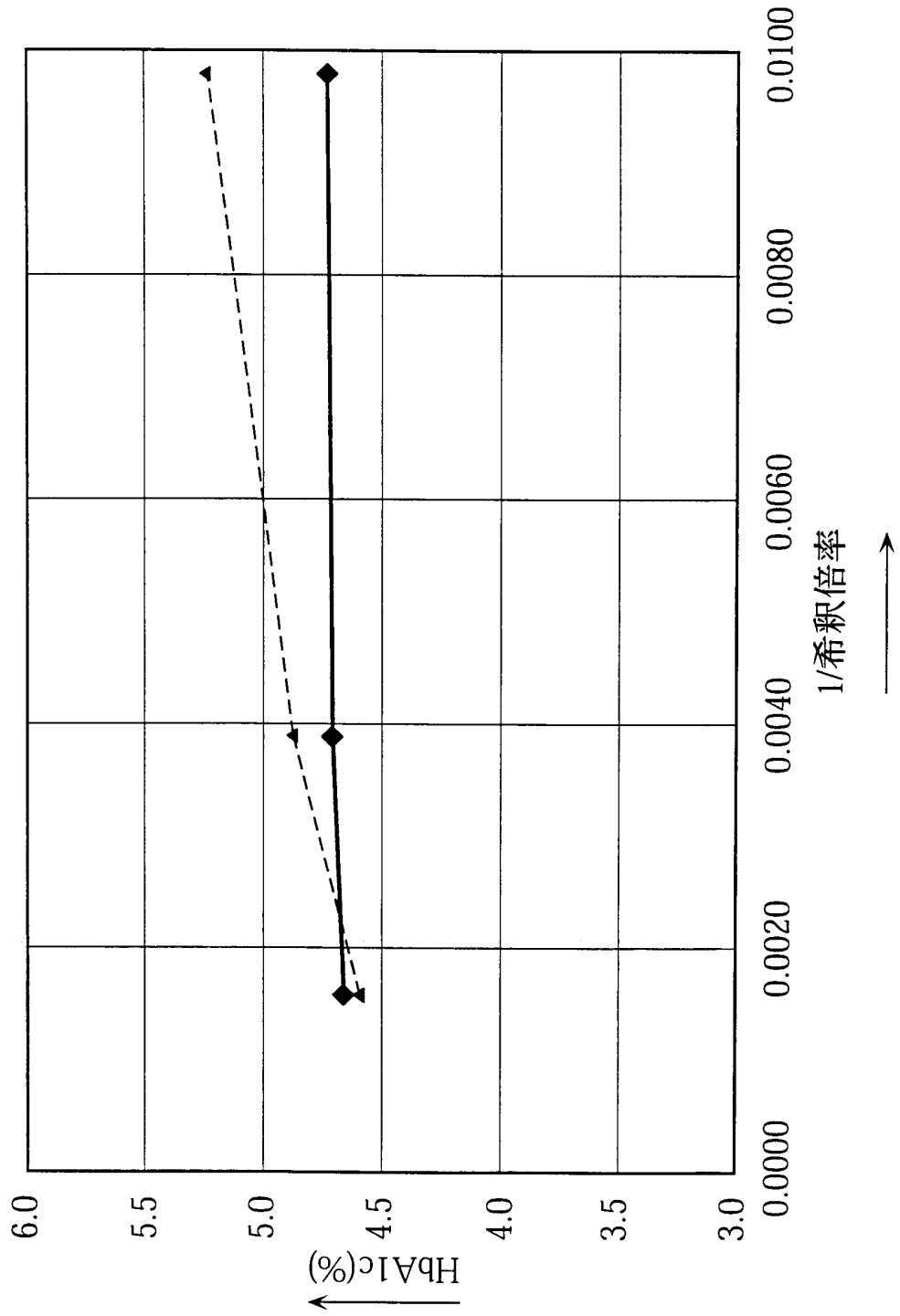


FIG.7

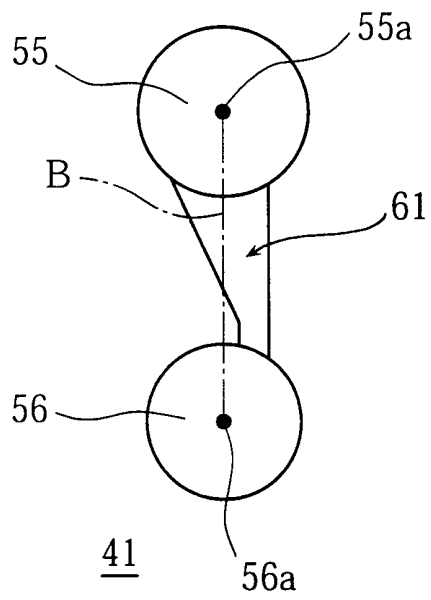


FIG.8

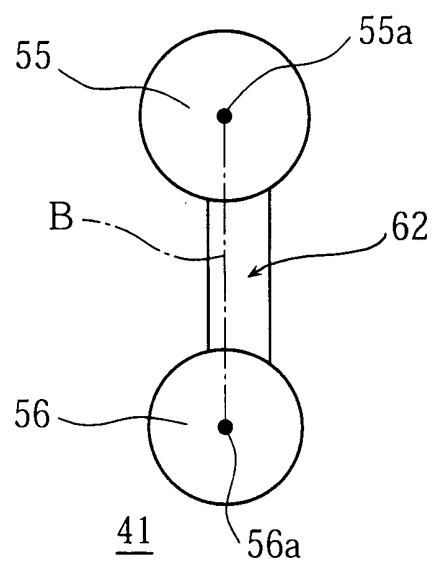


FIG.9

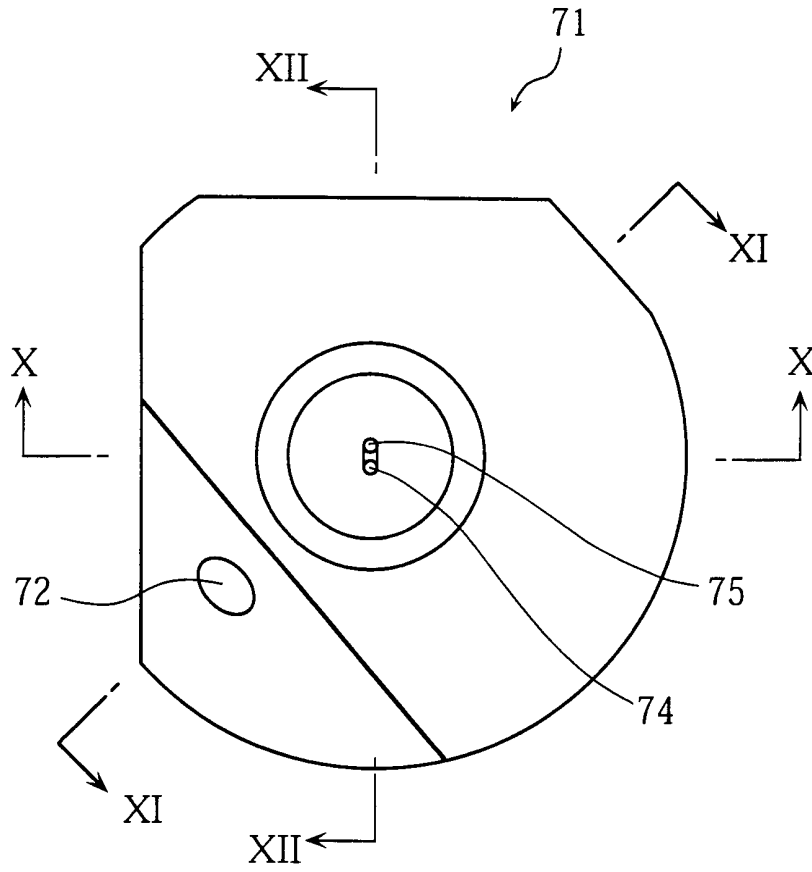


FIG.10

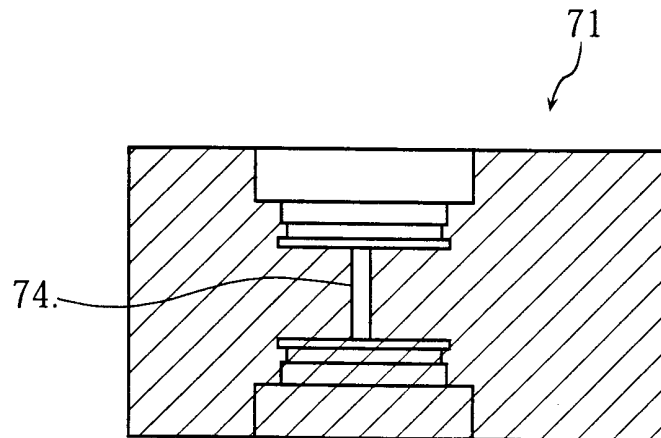


FIG.11

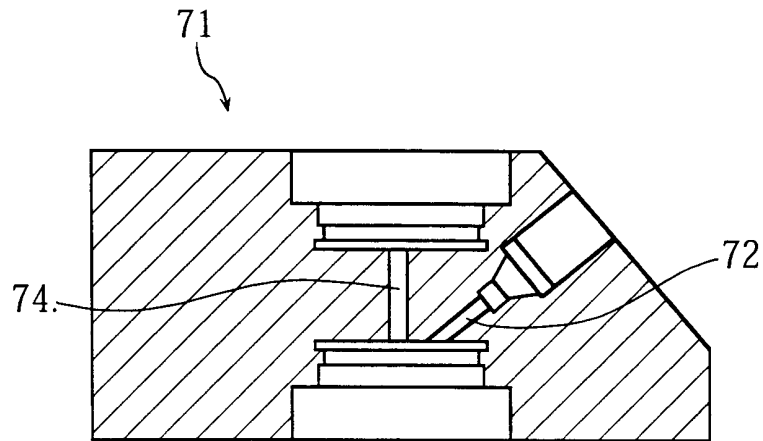


FIG.12

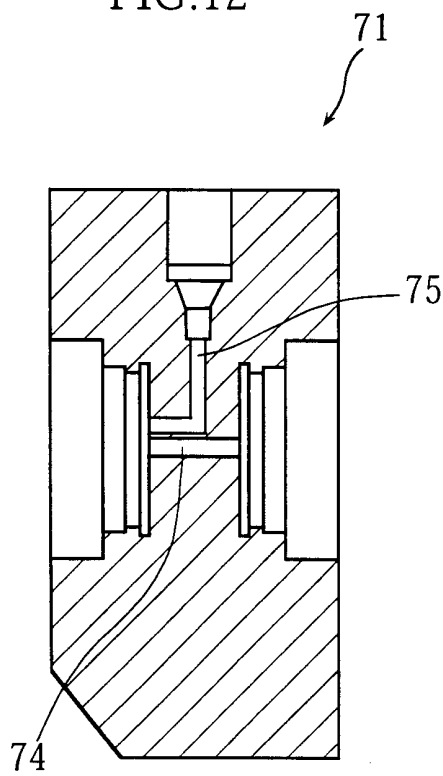


FIG.13

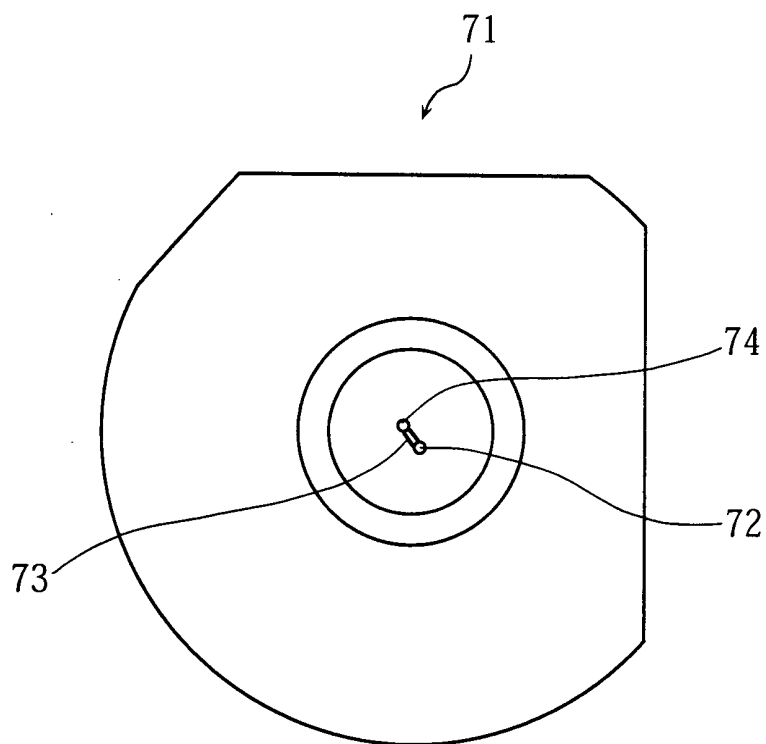
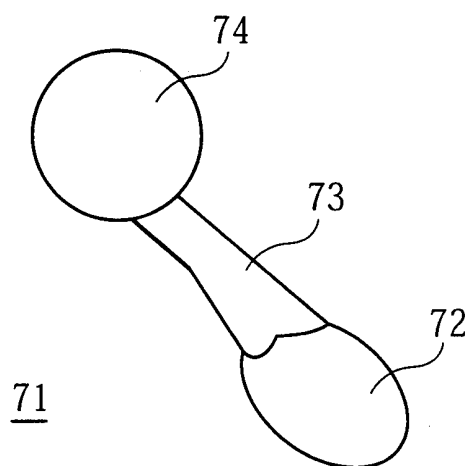


FIG.14



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/JP00/06744

<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER                  Int.Cl<sup>7</sup> G01N30/16, 30/62, 30/88                  Int.Cl<sup>7</sup> B01D15/08</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>											
<p>B. FIELDS SEARCHED</p> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)                  Int.Cl<sup>7</sup> G01N30/16, 30/62, 30/88                  Int.Cl<sup>7</sup> B01D15/08</p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched                  Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000                  Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000</p> <p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)</p>											
<p>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>JP, 09-274029, A (TOSOH CORPORATION), 21 October, 1997 (21.10.97) (Family: none)</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP, 01-097857, A (KDK CORPORATION), 17 April, 1989 (17.04.89) &amp; EP, 299419, A &amp; US, 5006685, A</td> <td>1-20</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	JP, 09-274029, A (TOSOH CORPORATION), 21 October, 1997 (21.10.97) (Family: none)	1-20	A	JP, 01-097857, A (KDK CORPORATION), 17 April, 1989 (17.04.89) & EP, 299419, A & US, 5006685, A	1-20
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.									
A	JP, 09-274029, A (TOSOH CORPORATION), 21 October, 1997 (21.10.97) (Family: none)	1-20									
A	JP, 01-097857, A (KDK CORPORATION), 17 April, 1989 (17.04.89) & EP, 299419, A & US, 5006685, A	1-20									
<p><input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.</p>											
<p>* Special categories of cited documents:                  "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                  "E" earlier document 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                  "&amp;" document member of the same patent family</p>											
<p>Date of the actual completion of the international search 04 December, 2000 (04.12.00)</p>		<p>Date of mailing of the international search report 19 December, 2000 (19.12.00)</p>									
<p>Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office</p>		<p>Authorized officer</p>									
<p>Facsimile No.</p>		<p>Telephone No.</p>									

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))	
Int. Cl <sup>7</sup> G01N30/16, 30/62, 30/88 Int. Cl <sup>7</sup> B01D15/08	
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)) Int. Cl <sup>7</sup> G01N30/16, 30/62, 30/88 Int. Cl <sup>7</sup> B01D15/08	
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 1971-2000年 日本国登録実用新案公報 1994-2000年 日本国実用新案登録公報 1996-2000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)	
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 請求の範囲の番号
A	JP, 09-274029, A (東ソー株式会社) 21. 10月. 1997 (21. 10. 97) (ファミリーなし) 1-20
A	JP, 01-097857, A (株式会社京都第一科学) 17. 4月. 1989 (17. 04. 8 9) & EP, 299419, A & US, 5006685, A 1-20
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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 「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矛盾するものではなく、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 04. 12. 00	国際調査報告の発送日 19.12.00
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 加々美一恵 電話番号 03-3581-1101 内線 3252