

(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  
2020年3月19日(19.03.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/054572 A1

- (51) 国際特許分類:  
*G01N 30/06* (2006.01) *G01N 30/88* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/034972
- (22) 国際出願日: 2019年9月5日(05.09.2019)
- (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 2018-170562 2018年9月12日(12.09.2018) JP  
特願 2018-170563 2018年9月12日(12.09.2018) JP
- (71) 出願人: 積水メディカル株式会社(SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1030027 東京都中央区日本橋2丁目1番3号 Tokyo (JP). 徳山積水工業株式会社(TOKUYAMA SEKISUI CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5308565 大阪府大阪市北区西天満2丁目4番4号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 大石 和之(OISHI, Kazuyuki); 〒1030027 東京都中央区日本橋2丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 太平 博暁(TAIRA, Hiroaki); 〒1030027 東京都中央区日本橋2丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 井上 智雅(INOUE, Tomonori); 〒7460006 山口県周南市開成町4560 徳山積水工業株式会社内 Yamaguchi (JP). 竹本 凌(TAKEMOTO, Ryo); 〒7460006 山口県周南市開成町4560 徳山積水工業株式会社内 Yamaguchi (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人 宮▲崎▼・目次特許事務所(MIYAZAKI & METSUGI); 〒5400028 大阪府大阪市中央区常盤町1丁目3番8号 中央大通F Nビル 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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, 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))

(54) Title: REAGENT AND METHOD FOR MEASURING HEMOGLOBINS

(54) 発明の名称: ヘモグロビン類測定用試薬及びヘモグロビン類の測定方法

(57) Abstract: Provided is a reagent for measuring hemoglobins that can well cause hemolysis and enables measurement of hemoglobins at a high accuracy. The reagent for measuring hemoglobins according to the present invention, which is to be used for measuring hemoglobins by cation exchange liquid chromatography, comprises a specific nonionic surfactant or a specific amphoteric surfactant.

(57) 要約: 良好に溶血させることができ、かつ高い精度でヘモグロビン類を測定することができるヘモグロビン類測定用試薬を提供する。本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられるヘモグロビン類測定用試薬であって、特定の非イオン性界面活性剤又は特定の両性界面活性剤を含む。



WO 2020/054572 A1

## 明 細 書

発明の名称：

### ヘモグロビン類測定用試薬及びヘモグロビン類の測定方法

#### 技術分野

[0001] 本発明は、界面活性剤を含むヘモグロビン類測定用試薬に関する。また、本発明は、上記ヘモグロビン類測定用試薬を用いたヘモグロビン類の測定方法に関する。

#### 背景技術

[0002] 従来、糖尿病及び異常ヘモグロビン病等の診断のために、ヘモグロビン類の濃度が測定されている。例えば、ヘモグロビンA1a、ヘモグロビンA1b、ヘモグロビンF、ヘモグロビンA1c、ヘモグロビンA0及びヘモグロビンA2等のヘモグロビン、アセチル化ヘモグロビン及びカルバミル化ヘモグロビン等の修飾ヘモグロビン、並びにヘモグロビンS及びヘモグロビンC等の異常ヘモグロビン等のヘモグロビン類の濃度が測定されている。これらのヘモグロビン類の中でも、特に、ヘモグロビンA1c値が測定されている。ヘモグロビン類の濃度を測定する方法としては、主に液体クロマトグラフィー法が挙げられる。

[0003] 液体クロマトグラフィー法では、血液等の検体に溶血試薬を添加し、溶血後の試料を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定し、得られたクロマトグラムをピークを演算処理することによりヘモグロビンA1c値等のヘモグロビン類の濃度を求める。従来、溶血試薬として、オキシエチレン基の平均付加モル数が10であるポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル（例えば商品名「トリトンX-100」）を含む組成物が用いられている。

[0004] 下記の特許文献1には、ヒトの血液のサンプル中のヘモグロビンA1cを他のグリコシル化及び非グリコシル化ヘモグロビン並びにヘモグロビンA1cの前駆体のシッフ塩基から分離するヘモグロビンA1cの分離方法が開示

されている。また、特許文献1の実施例では、0.33重量%のトリトンX-100を含む溶血試薬が用いられている。

[0005] 下記の特許文献2には、カチオン交換液体クロマトグラフィーによるヘモグロビン類の測定方法において、血液検体を溶血させる際に用いる溶血試薬が開示されている。上記溶血試薬は、カオトロピックイオンを含有する。また、特許文献2の実施例では、0.1重量%のトリトンX-100を含む溶血試薬が用いられている。

## 先行技術文献

### 特許文献

[0006] 特許文献1：特開昭58-191968号公報  
特許文献2：特開2001-021555号公報

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0007] 特許文献1, 2に記載のようなオキシエチレン基の平均付加モル数が10であるポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルを含む溶血試薬（ヘモグロビン類測定用試薬）は、溶血性能に優れる。そのため、全血等の検体を該溶血試薬で処理して、陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定すると、ヘモグロビン類のピークが良好に得られる。また、得られる全てのピークにおいてショルダーピーク及びピーク割れ等が生じにくい。そのため、高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。

[0008] また、オキシエチレン基の平均付加モル数が10であるポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルを含む溶血試薬は、陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定したときに、キャリアオーバーが少ない。そのため、多数の検体を連続測定した場合でも、高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。

[0009] 一方、欧州において、REACH規制（Registration, Evaluation, Authorisation and Restric

tion of Chemicals) が 2007 年に発効し、特定の化学品の使用が制限されることとなった。また、2017 年には、オキシエチレン基の平均付加モル数が 10 であるポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルを 0.1 重量%以上含む製品が REACH 規制の対象とされた。また、欧州以外の国でもオキシエチレン基の平均付加モル数が 10 であるポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルの使用量を削減することは、環境負荷の軽減と人体の安全性の向上に寄与する。

[0010] 本発明の目的は、良好に溶血させることができ、かつ高い精度でヘモグロビン類を測定することができるヘモグロビン類測定用試薬を提供することである。より具体的には、本発明の目的は、オキシエチレン基の平均付加モル数が 10 であるポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルを含まなくても、該成分が配合されたヘモグロビン類測定用試薬と同等のレベルで溶血させることができ、かつ同等の精度でヘモグロビン類を測定することができるヘモグロビン類測定用試薬を提供することである。

[0011] また、本発明の目的は、上記ヘモグロビン類測定用試薬を用いたヘモグロビン類の測定方法を提供することである。

### 課題を解決するための手段

[0012] 本発明の広い局面によれば、陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられるヘモグロビン類測定用試薬であって、非イオン性界面活性剤又は両性界面活性剤を含み、前記非イオン性界面活性剤が、下記成分 A 1、下記成分 A 2、下記成分 A 3、下記成分 A 4、下記成分 A 5、下記成分 A 6、下記成分 A 7、下記成分 A 8 又は下記成分 A 9 であり、前記両性界面活性剤が、下記成分 B 1、下記成分 B 2 又は下記成分 B 3 である、ヘモグロビン類測定用試薬が提供される。

[0013] 成分 A 1 : オキシエチレン基の平均付加モル数が 8 以上 20 以下であり、かつアルキル基の炭素数が 12 以上 17 以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテル

[0014] 成分 A 2 : オキシエチレン基の平均付加モル数が 40 以上 60 以下である

ポリオキシエチレンステアリルエーテル

- [0015] 成分A3：オキシエチレン基の平均付加モル数が9以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテル
- [0016] 成分A4：オキシエチレン基の平均付加モル数が6以上10以下であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル
- [0017] 成分A5：オキシエチレン基の平均付加モル数が15であるポリオキシエチレントリデシルエーテル
- [0018] 成分A6：HLB値が11以上15以下であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル
- [0019] 成分A7：n-ノナノイル-N-メチル-D-グルカミン
- [0020] 成分A8：n-オクチル-β-D-グルコピラノシド
- [0021] 成分A9：サポニン
- [0022] 成分B1：3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]プロパンスルホネート
- [0023] 成分B2：3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシプロパンスルホネート
- [0024] 成分B3：ラウリルジメチルアミンオキサイド
- [0025] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬のある特定の局面では、前記非イオン性界面活性剤を含み、前記非イオン性界面活性剤が、前記成分A1、前記成分A2、前記成分A3、前記成分A4、前記成分A5又は前記成分A6を含み、前記成分A1が、オキシエチレン基の平均付加モル数が9、12若しくは19であるポリオキシエチレンラウリルエーテル、又はオキシエチレン基の平均付加モル数が13若しくは20であるポリオキシエチレンセチルエーテルであり、前記成分A2が、オキシエチレン基の平均付加モル数が50であるポリオキシエチレンステアリルエーテルであり、前記成分A3が、オキシエチレン基の平均付加モル数が9又は13であるポリオキシエチレンオレイルエーテルであり、前記成分A4が、オキシエチレン基の平均付加モ

ル数が7又は9であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下のポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテルであり、前記成分A6が、HLB値が12.5、12.7又は14.0であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテルである。

[0026] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬のある特定の局面では、前記非イオン性界面活性剤を含み、前記非イオン性界面活性剤が、前記成分A1又は前記成分A3を含み、前記成分A1が、オキシエチレン基の平均付加モル数が10以上15以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテルであり、前記成分A3が、オキシエチレン基の平均付加モル数が10以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテルである。

[0027] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬のある特定の局面では、前記成分A1が、オキシエチレン基の平均付加モル数が12であるポリオキシエチレンラウリルエーテル、又はオキシエチレン基の平均付加モル数が13であるポリオキシエチレンセチルエーテルであり、前記成分A3が、オキシエチレン基の平均付加モル数が13であるポリオキシエチレンオレイルエーテルである。

[0028] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬のある特定の局面では、前記非イオン性界面活性剤を含み、前記非イオン性界面活性剤の含有量が、0.01重量%以上1.0重量%以下である。

[0029] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬のある特定の局面では、前記両性界面活性剤を含み、前記両性界面活性剤の含有量が、0.01重量%以上1.0重量%以下である。

[0030] 本発明の広い局面によれば、赤血球含有検体と、上述したヘモグロビン類測定用試薬とを混合して混合液を得る工程と、前記混合液を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する工程とを備える、ヘモグロビン類の測定方法が提供される。

## 発明の効果

[0031] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられる。本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、非イオン性界面活性剤又は両性界面活性剤を含む。本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、上記非イオン性界面活性剤が、以下の成分A 1～A 9のいずれかの成分であるか、上記両性界面活性剤が、以下の成分B 1～B 3のいずれかの成分である。成分A 1：オキシエチレン基の平均付加モル数が8以上20以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテル。成分A 2：オキシエチレン基の平均付加モル数が40以上60以下であるポリオキシエチレンステアリルエーテル。成分A 3：オキシエチレン基の平均付加モル数が9以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテル。成分A 4：オキシエチレン基の平均付加モル数が6以上10以下であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル。成分A 5：オキシエチレン基の平均付加モル数が15であるポリオキシエチレントリデシルエーテル。成分A 6：HLB値が11以上15以下であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル。成分A 7：n-ノナノイル-N-メチル-D-グルカミン。成分A 8：n-オクチル-β-D-グルコピラノシド。成分A 9：サポニン。成分B 1：3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]プロパンスルホネート。成分B 2：3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシプロパンスルホネート。成分B 3：ラウリルジメチルアミンオキサイド。本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、上記の構成が備えられているので、良好に溶血させることができ、かつ高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。

### 図面の簡単な説明

[0032] [図1]図1は、本発明の一実施形態に係るヘモグロビン類測定用試薬を用いて陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する際に得られるクロマトグラム例である。

[図2]図2は、従来のヘモグロビン類測定用試薬を用いて陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する際に得られるクロマトグラム例である。

[図3]図3(a)及び(b)は、ヘモグロビンA0ピークの形状を評価したクロマトグラム例である。

[図4]図4(a)及び(b)は、ファーストフラクションのピーク形状を評価したクロマトグラム例である。

[図5]図5(a)～(c)は、ヘモグロビンA0ピーク高さを評価したクロマトグラム例である。

[図6]図6(a)及び(b)は、ヘモグロビン類測定用試薬と全血との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値及びヘモグロビンA1c値の変化量との関係を示す図である。

[図7]図7(a)及び(b)は、ヘモグロビン類測定用試薬と測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値及びヘモグロビンA1c値の変化量との関係を示す図である。

[図8]図8(a)及び(b)は、ヘモグロビン類測定用試薬と測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値及びヘモグロビンA1c値の変化量との関係を示す図である。

[図9]図9(a)及び(b)は、ヘモグロビン類測定用試薬と測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)との混合液におけるカラム耐久性を示す図である。

### 発明を実施するための形態

[0033] 以下、本発明を詳細に説明する。

[0034] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられる。本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、非イオン性界面活性剤又は両性界面活性剤を含む。

- [0035] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、上記非イオン性界面活性剤が、オキシエチレン基の平均付加モル数が8以上20以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテル、オキシエチレン基の平均付加モル数が40以上60以下であるポリオキシエチレンステアリルエーテル、オキシエチレン基の平均付加モル数が9以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテル、オキシエチレン基の平均付加モル数が6以上10以下であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル、オキシエチレン基の平均付加モル数が15であるポリオキシエチレントリデシルエーテル、HLB値が11以上15以下であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル、n-ノナノイル-N-メチル-D-グルカミン、n-オクチル-β-D-グルコピラノシド、又はサポニンである。
- [0036] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、上記両性界面活性剤が、3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]プロパンスルホネート、3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシプロパンスルホネート、又はラウリルジメチルアミノオキサドである。
- [0037] 本明細書において、「オキシエチレン基の平均付加モル数が8以上20以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテル」を「成分A1」と記載することがある。
- [0038] 成分A1のうち、「オキシエチレン基の平均付加モル数が10以上15以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテル」を、本明細書において、「成分A1'」と記載することがある。
- [0039] 本明細書において、「オキシエチレン基の平均付加モル数が40以上60以下であるポリオキシエチレンステアリルエーテル」を「成分A2」と記載することがある。
- [0040] 本明細書において、「オキシエチレン基の平均付加モル数が9以上15以

下であるポリオキシエチレンオレイルエーテル」を「成分A3」と記載することがある。

[0041] 成分A3のうち、「オキシエチレン基の平均付加モル数が10以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテル」を、本明細書において、「成分A3'」と記載することがある。

[0042] 本明細書において、「オキシエチレン基の平均付加モル数が6以上10以下であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル」を「成分A4」と記載することがある。

[0043] 本明細書において、「オキシエチレン基の平均付加モル数が15であるポリオキシエチレントリデシルエーテル」を「成分A5」と記載することがある。

[0044] 本明細書において、「HLB値が11以上15以下であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル」を「成分A6」と記載することがある。

[0045] 本明細書において、「n-ノノイル-N-メチル-D-グルカミン」を「成分A7」と記載することがある。

[0046] 本明細書において、「n-オクチル-β-D-グルコピラノシド」を「成分A8」と記載することがある。

[0047] 本明細書において、「サポニン」を「成分A9」と記載することがある。

[0048] 本明細書において、「3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]プロパンスルホネート」を「成分B1」と記載することがある。

[0049] 本明細書において、「3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシプロパンスルホネート」を「成分B2」と記載することがある。

[0050] 本明細書において、「ラウリルジメチルアミンオキサイド」を「成分B3」と記載することがある。

[0051] 本明細書において、「オキシエチレン基の平均付加モル数が10であるポ

リオキシエチレンオクチルフェニルエーテル」を「成分X」と記載することがある。

- [0052] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、非イオン性界面活性剤又は両性界面活性剤を含み、上記非イオン性界面活性剤が、成分A 1、成分A 2、成分A 3、成分A 4、成分A 5、成分A 6、成分A 7、成分A 8又は成分A 9であるか、上記両性界面活性剤が、成分B 1、成分B 2又は成分B 3である。
- [0053] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、上記の構成が備えられているので、良好に溶血させることができ、かつ高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。
- [0054] 成分Xを含む従来のヘモグロビン類測定用試薬では、良好に溶血させることができ、かつ高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。一方、成分Xを含まないヘモグロビン類測定用試薬では、良好に溶血させ、かつ高い精度でヘモグロビン類を測定することは困難である。
- [0055] これに対して、本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、上記の構成が備えられているので、成分Xを含まない場合にも、成分Xが配合されたヘモグロビン類測定用試薬と同等のレベルで溶血させることができ、かつ同等の精度でヘモグロビン類を測定することができる。
- [0056] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、良好に溶血させることができるので、陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定したときに、ヘモグロビン類のピークを良好に得ることができる。また、得られる全てのピークにおいてショルダーピーク及びピーク割れ等が生じにくい。そのため、高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。また、本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、キャリアオーバーを少なくすることができる。そのため、多数の検体を連続測定した場合でも、高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。
- [0057] また、検査センターでは、溶血試薬（ヘモグロビン類測定用試薬）と、被検査物質とを混合したあと、混合液が陽イオン交換クロマトグラフィーで測

定されるまでに、一定期間（例えば数日程度）保存されることがある。本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、該試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性を高めることができる。なお、上記被検査物質には、血液等の赤血球含有検体（例えば、被検者の血液）だけではなく、赤血球を含まないヘモグロビン類含有検体（例えば、ヘモグロビン類標準物質及び測定管理用ヘモグロビン類物質等）も含まれる。本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、上記混合液が一定期間保存されても、保存前後でヘモグロビン類のピーク形状が変化しにくく、測定値が変動しにくい。

[0058] 特に、本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬が、成分A 1' 又は成分A 3' を含む場合には、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性をより一層高めることができ、また、ヘモグロビン類測定用試薬の保存安定性も高めることができる。

[0059] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられる。上記ヘモグロビン類測定用試薬は、陽イオン交換高速液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられることが好ましい。

[0060] 上記ヘモグロビン類としては、ヘモグロビンA 1 a、ヘモグロビンA 1 b、ヘモグロビンF、ヘモグロビンA 1 c、ヘモグロビンA 0及びヘモグロビンA 2等のヘモグロビン、アセチル化ヘモグロビン及びカルバミル化ヘモグロビン等の修飾ヘモグロビン、並びにヘモグロビンS及びヘモグロビンC等の異常ヘモグロビン等が挙げられる。

[0061] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、上記ヘモグロビンA 1 c値（ヘモグロビンA 1 cの濃度）を測定するために好適に用いられる。

[0062] 図1は、本発明の一実施形態に係るヘモグロビン類測定用試薬を用いて陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する際に得られるクロマトグラムの例である。

[0063] 図2は、従来のヘモグロビン類測定用試薬（成分Xを含む従来のヘモグロビン類測定用試薬）を用いて陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測

定する際に得られるクロマトグラムの例である。

[0064] 図1及び図2において、約19秒に検出されたピークがヘモグロビンA1cのピークであり、約40秒に検出されたピークがヘモグロビンA0のピークである。図1及び図2は、例えば、後述する実施例で測定された測定条件で測定した際のクロマトグラムの例である。

[0065] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、成分Xを含む従来のヘモグロビン類測定用試薬と同等のピーク形状を得ることができる。

[0066] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬では、REACH規制の対象となっている成分を含まなくすることができるので、成分Xを含む従来のヘモグロビン類測定用試薬と比べて、環境への影響を小さくすることができ、安全性を高めることができる。

[0067] 本発明に係るヘモグロビン類測定用試薬は、上記非イオン性界面活性剤を含んでいてもよく、上記両性界面活性剤を含んでいてもよく、上記非イオン性界面活性剤と上記両性界面活性剤との双方を含んでいてもよい。

[0068] (非イオン性界面活性剤)

上記ヘモグロビン類測定用試薬は、非イオン性界面活性剤を含むことが好ましい。上記非イオン性界面活性剤は、成分A1～A9のいずれかの成分である。上記非イオン性界面活性剤は、成分A1～A9のうちの1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0069] <成分A1>

成分A1は、オキシエチレン基の平均付加モル数が8以上20以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテルである。成分A1は、下記式(1)で表される成分である。成分A1は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0070]  $R-O(CH_2CH_2O)_nH \quad \dots \quad (1)$

[0071] 上記式(1)中、Rは炭素数12以上17以下のアルキル基を表し、nは8以上20以下の数を表す。

[0072] オキシエチレン基の平均付加モル数が8未満であり、かつアルキル基の炭

素数が12未満であるポリオキシエチレンアルキルエーテルでは、該界面活性剤が溶解しにくく、ヘモグロビン類測定用試薬を調製できないことがある。また、オキシエチレン基の平均付加モル数が8未満であり、かつアルキル基の炭素数が12未満であるポリオキシエチレンアルキルエーテルでは、良好なピークが得られないことがある。また、オキシエチレン基の平均付加モル数が20を超え、かつアルキル基の炭素数が17を超えるポリオキシエチレンアルキルエーテルでは、良好なピークが得られなかったり、キャリーオーバーが生じたりすることがある。

[0073] 界面活性剤の溶解性を高める観点、良好に溶血させ、高い精度でヘモグロビン類を測定する観点から、成分A1におけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、好ましくは9以上、より好ましくは10以上、更に好ましくは11以上、好ましくは19以下である。

[0074] 本発明の効果を効果的に発揮する観点及びヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性を高める観点からは、成分A1のアルキル基の炭素数は、好ましくは17以下、より好ましくは16以下であり、特に好ましくは12又は16である。なお、上記アルキル基の炭素数が12である場合、成分A1はポリオキシエチレンラウリルエーテルであり、上記アルキル基の炭素数が16である場合、成分A1はポリオキシエチレンセチルエーテルである。

[0075] したがって、成分A1は、オキシエチレン基の平均付加モル数が8以上20以下であるポリオキシエチレンラウリルエーテル、又はオキシエチレン基の平均付加モル数が8以上20以下であるポリオキシエチレンセチルエーテルであることが特に好ましい。

[0076] 成分A1がポリオキシエチレンラウリルエーテルである場合に、該ポリオキシエチレンラウリルエーテルにおけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、好ましくは9以上、より好ましくは10以上、更に好ましくは11以上、好ましくは19以下、より好ましくは16以下、更に好ましくは13以下である。また、該ポリオキシエチレンラウリルエーテルにおけるオキシエチ

レン基の平均付加モル数は、9、12又は19であることも好ましく、12であることが最も好ましい。上記オキシエチレン基の平均付加モル数が上述の好ましい範囲又は値であると、界面活性剤の溶解性をより一層高めることができ、良好に溶血させ、より一層高い精度でヘモグロビン類を測定することができ、また、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性をより一層高めることができる。

[0077] 成分A1がポリオキシエチレンセチルエーテルである場合に、該ポリオキシエチレンセチルエーテルにおけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、好ましくは10以上、より好ましくは12以上、好ましくは19以下、より好ましくは16以下、更に好ましくは14以下である。また、該ポリオキシエチレンセチルエーテルにおけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、13又は20であることも好ましく、13であることが最も好ましい。上記オキシエチレン基の平均付加モル数が上述の好ましい範囲又は値であると、界面活性剤の溶解性をより一層高めることができ、良好に溶血させ、より一層高い精度でヘモグロビン類を測定することができ、また、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性をより一層高めることができる。

[0078] したがって、成分A1は、オキシエチレン基の平均付加モル数が9、12若しくは19であるポリオキシエチレンラウリルエーテル、又はオキシエチレン基の平均付加モル数が13若しくは20であるポリオキシエチレンセチルエーテルであることが好ましい。また、成分A1は、オキシエチレン基の平均付加モル数が12であるポリオキシエチレンラウリルエーテル、又はオキシエチレン基の平均付加モル数が13であるポリオキシエチレンセチルエーテルであることが最も好ましい。

[0079] 本発明の効果を効果的に発揮する観点、ヘモグロビン類測定用試薬の保存安定性及び該試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性を高める観点からは、成分A1は、オキシエチレン基の平均付加モル数が10以上15以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキ

シエチレンアルキルエーテルであることが好ましい。すなわち、成分A1は、成分A1'であることが好ましい。

[0080] 成分A1のHLB (Hydrophilic Lipophilic Balance) 値は、好ましくは10以上、より好ましくは12以上、好ましくは18以下、より好ましくは16以下である。上記HLB値が上記下限以上であると、ミセルの発生を抑えることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。上記HLB値が上記上限以下であると、血球成分の細胞膜を十分に溶解させることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。

[0081] 成分A1のHLB値、及び後述する各成分のHLB値は、グリフィン法によるHLB値を表す。HLB値は、0以上20以下の値をとり、HLB値が小さいほど疎水性（親油性）が強く、HLB値が大きいほど親水性が強い。グリフィン法によるHLB値は、下記式により算出される。

[0082] 
$$\text{HLB 値} = 20 \times (\text{親水基の分子量} / \text{分子量})$$

[0083] 成分A1の曇点は、好ましくは80℃以上、より好ましくは90℃以上、好ましくは150℃以下、より好ましくは120℃以下である。上記曇点が上記下限以上及び上記上限以下であると、界面活性剤の溶解性を高めることができ、ヘモグロビン類測定用試薬を良好に調製することができる。

[0084] なお、曇点とは、透明又は半透明な液体で温度変化によって相分離が起き、その結果、液体が不透明になる温度のことである。曇点は、一般に、下限臨界溶解温度と呼ばれることもある。

[0085] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A1の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A1の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A1の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効

果的に発揮することができ、また、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性をより一層高めることができる。

[0086] 成分A1の市販品としては、花王社製「エマルゲン109P」（オキシエチレン基の平均付加モル数9のポリオキシエチレンラウリルエーテル、ポリオキシエチレン（9）ラウリルエーテル）、花王社製「エマルゲン120」（オキシエチレン基の平均付加モル数12のポリオキシエチレンラウリルエーテル、ポリオキシエチレン（12）ラウリルエーテル）、花王社製「エマルゲン147」（オキシエチレン基の平均付加モル数19のポリオキシエチレンラウリルエーテル、ポリオキシエチレン（19）ラウリルエーテル）、花王社製「エマルゲン220」（オキシエチレン基の平均付加モル数13のポリオキシエチレンセチルエーテル、ポリオキシエチレン（13）セチルエーテル）、及びSigma-Aldrich社製「Brij（登録商標）58」（オキシエチレン基の平均付加モル数20のポリオキシエチレンセチルエーテル、ポリオキシエチレン（20）セチルエーテル）等が挙げられる。

[0087] <成分A2>

成分A2は、オキシエチレン基の平均付加モル数が40以上60以下であるポリオキシエチレンステアリルエーテルである。成分A2は、下記式（2）で表される成分である。成分A2は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0088]  $C_{18}H_{37}O(CH_2CH_2O)_nH \quad \dots \quad (2)$

[0089] 上記式（2）中、nは40以上60以下の数を表す。

[0090] オキシエチレン基の平均付加モル数が40未満であるポリオキシエチレンステアリルエーテルでは、該界面活性剤が溶解しにくく、ヘモグロビン類測定用試薬を調製できないことがある。また、オキシエチレン基の平均付加モル数が40未満であるポリオキシエチレンステアリルエーテルでは、良好なピークが得られないことがある。また、オキシエチレン基の平均付加モル数が60を超えるポリオキシエチレンステアリルエーテルでは、良好なピークが得られなかったり、キャリアオーバーが生じたりすることがある。

- [0091] 界面活性剤の溶解性を高める観点、良好に溶血させ、高い精度でヘモグロビン類を測定する観点から、成分A2におけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、好ましくは45以上、好ましくは55以下である。界面活性剤の溶解性をより一層高める観点、より一層良好に溶血させ、より一層高い精度でヘモグロビン類を測定する観点から、成分A2におけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、50であることが最も好ましい。
- [0092] 成分A2のHLB値は、好ましくは13以上、より好ましくは15以上、好ましくは19以下、より好ましくは18以下である。上記HLB値が上記下限以上であると、ミセルの発生を抑えることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。上記HLB値が上記上限以下であると、血球成分の細胞膜を十分に溶解させることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。
- [0093] 成分A2のHLB値は、上述した方法で求めることができる。
- [0094] 成分A2の曇点は、好ましくは80℃以上、より好ましくは90℃以上である。上記曇点が上記下限以上であると、界面活性剤の溶解性を高めることができ、ヘモグロビン類測定用試薬を良好に調製することができる。
- [0095] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A2の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A2の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A2の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。
- [0096] 成分A2の市販品としては、花王社製「エマルゲン350」（オキシエチレン基の平均付加モル数50のポリオキシエチレンステアリルエーテル、ポリオキシエチレン（50）ステアリルエーテル）等が挙げられる。
- [0097] <成分A3>

成分A3は、オキシエチレン基の平均付加モル数が9以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテルである。成分A3は、下記式(3)で表される成分である。成分A3は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。



[0099] 上記式(3)中、nは9以上15以下の数を表す。

[0100] オキシエチレン基の平均付加モル数が9未満であるポリオキシエチレンオレイルエーテルでは、該界面活性剤が溶解しにくく、ヘモグロビン類測定用試薬を調製できないことがある。また、オキシエチレン基の平均付加モル数が9未満であるポリオキシエチレンオレイルエーテルでは、良好なピークが得られないことがある。また、オキシエチレン基の平均付加モル数が15を超えるポリオキシエチレンオレイルエーテルでは、良好なピークが得られなかったり、キャリアオーバーが生じたりすることがある。

[0101] 界面活性剤の溶解性を高める観点、良好に溶血させ、高い精度でヘモグロビン類を測定する観点から、成分A3におけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、好ましくは14以下である。界面活性剤の溶解性をより一層高める観点、より一層良好に溶血させ、より一層高い精度でヘモグロビン類を測定する観点から、成分A3におけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、9又は13であることが特に好ましく、13であることが最も好ましい。

[0102] 本発明の効果を効果的に発揮する観点、ヘモグロビン類測定用試薬の保存安定性及び該試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性を高める観点からは、成分A3は、オキシエチレン基の平均付加モル数が10以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテルであることが好ましい。すなわち、成分A3は、成分A3'であることが好ましい。

[0103] 成分A3のHLB値は、好ましくは10以上、より好ましくは12以上、好ましくは17以下、より好ましくは15以下である。上記HLB値が上記下限以上であると、ミセルの発生を抑えることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。上記HLB値が上記上限以下であると、血球

成分の細胞膜を十分に溶解させることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。

[0104] 成分A3のHLB値は、上述した方法で求めることができる。

[0105] 成分A3の曇点は、好ましくは50℃以上、より好ましくは85℃以上、好ましくは100℃以下、より好ましくは95℃以下である。上記曇点が上記下限以上及び上記上限以下であると、界面活性剤の溶解性を高めることができ、ヘモグロビン類測定用試薬を良好に調製することができる。

[0106] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A3の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A3の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A3の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0107] 成分A3の市販品としては、花王社製「エマルゲン409PV」（オキシエチレン基の平均付加モル数9のポリオキシエチレンオレイルエーテル、ポリオキシエチレン（9）オレイルエーテル）、及び花王社製「エマルゲン420」（オキシエチレン基の平均付加モル数13のポリオキシエチレンオレイルエーテル、ポリオキシエチレン（13）オレイルエーテル）等が挙げられる。

[0108] <成分A4>

成分A4は、オキシエチレン基の平均付加モル数が6以上10以下であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-*sec*-アルキルエーテルである。成分A4は、下記式（4）で表される成分である。成分A4は、炭素数が11以上15以下である第2級アルコールのエチレンオキシドの付加物である。成分A4は、成分A1とは異なる。成分A4は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0109]  $C_m H_{2m+1} O (C H_2 C H_2 O)_n H \quad \cdot \cdot \cdot (4)$

[0110] 上記式(4)中、 $m$ は11以上15以下の数を表し、 $n$ は6以上10以下の数を表す。

[0111] オキシエチレン基の平均付加モル数が6未満であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-*sec*-アルキルエーテルでは、該界面活性剤が溶解しにくく、ヘモグロビン類測定用試薬を調製できないことがある。また、オキシエチレン基の平均付加モル数が6未満であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-*sec*-アルキルエーテルでは、良好なピークが得られないことがある。

[0112] 界面活性剤の溶解性を高める観点、良好に溶血させ、高い精度でヘモグロビン類を測定する観点から、成分A4におけるオキシエチレン基の平均付加モル数は、好ましくは7以上、好ましくは9以下であり、7又は9であることがより好ましい。

[0113] 成分A4のHLB値は、好ましくは10以上、より好ましくは12以上、好ましくは17以下、より好ましくは15以下である。上記HLB値が上記下限以上であると、ミセルの発生を抑えることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。上記HLB値が上記上限以下であると、血球成分の細胞膜を十分に溶解させることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。

[0114] 成分A4のHLB値は、上述した方法で求めることができる。

[0115] 成分A4の曇点は、好ましくは30℃以上、好ましくは60℃以下である。上記曇点が上記下限以上及び上記上限以下であると、界面活性剤の溶解性を高めることができ、ヘモグロビン類測定用試薬を良好に調製することができる。

[0116] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A4の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上

記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A4の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A4の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0117] 成分A4の市販品としては、花王社製「エマルゲン707」（オキシエチレン基の平均付加モル数7、かつアルキル基の炭素数11以上15以下のポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル）、及び花王社製「エマルゲン709」（オキシエチレン基の平均付加モル数9、かつアルキル基の炭素数11以上15以下のポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル）等が挙げられる。

[0118] <成分A5>

成分A5は、オキシエチレン基の平均付加モル数が15であるポリオキシエチレントリデシルエーテルである。成分A5は、下記式(5)で表される成分である。成分A5は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

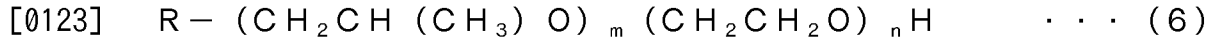
[0119]  $C_{13}H_{27}O(CH_2CH_2O)_{15}H \quad \dots (5)$

[0120] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A5の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A5の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A5の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0121] 成分A5の市販品としては、ライオン社製「レオコールTD-150」等が挙げられる。

[0122] <成分A6>

成分A6は、HLB値が11以上15以下であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテルである。ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテルは、オキシプロピレン基とオキシエチレン基とを有する。成分A6は、下記式(6)で表される成分である。成分A6は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。



[0124] 上記式(6)中、Rはアルキル基を表し、mは1以上の数を表し、nは1以上の数を表す。

[0125] 成分A6のHLB値は、好ましくは11.5以上、より好ましくは12以上、好ましくは14.5以下である。上記HLB値が上記下限以上であると、ミセルの発生を抑えることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。上記HLB値が上記上限以下であると、血球成分の細胞膜を十分に溶解させることができ、カラムの目詰まりを効果的に抑えることができる。本発明の効果をより一層効果的に発揮する観点及びカラムの目詰まりをより一層効果的に抑える観点からは、成分A6のHLB値は、12.5、12.7又は14.0であることが好ましい。

[0126] 成分A6のHLB値は、上述した方法で求めることができる。

[0127] 成分A6の曇点は、好ましくは30℃以上、より好ましくは50℃以上、好ましくは95℃以下、より好ましくは90℃以下である。上記曇点が上記下限以上及び上記上限以下であると、界面活性剤の溶解性を高めることができ、ヘモグロビン類測定用試薬を良好に調製することができる。

[0128] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A6の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A6の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A6の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効

果的に発揮することができる。

[0129] 成分A6の市販品としては、花王社製「エマルゲンLS-106」（HLB値12.5のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル）、花王社製「エマルゲンLS-114」（HLB値14.0のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキル（C12-14）エーテル）、及び花王社製「エマルゲンMS-110」（HLB値12.7のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル）等が挙げられる。

[0130] <成分A7>

成分A7は、n-ノナイル-N-メチル-D-グルカミンである。

[0131] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A7の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A7の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A7の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0132] 成分A7の市販品としては、同仁化学社製「MEGA-9」等が挙げられる。

[0133] <成分A8>

成分A8は、n-オクチル-β-D-グルコピラノシドである。

[0134] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A8の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A8の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A8の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効

果的に発揮することができる。

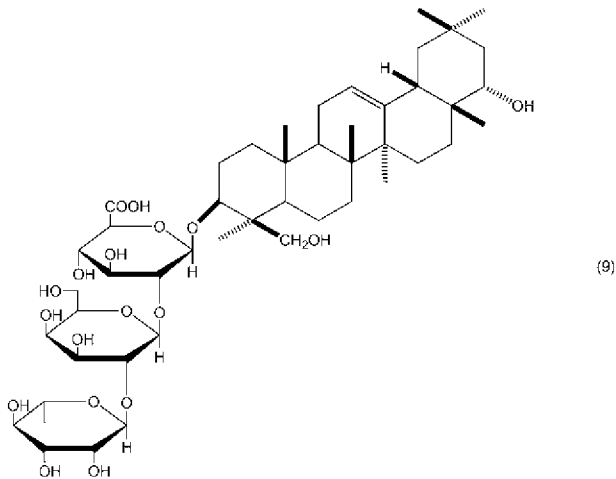
[0135] 成分A 8の市販品としては、同仁化学社製「n-オクチル-β-D-グルコピラノシド」等が挙げられる。

[0136] <成分A 9>

成分A 9は、サポニンである。成分A 9は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0137] 成分A 9は、大豆サポニンであることが好ましく、下記式(9)で表される大豆サポニンであることがより好ましい。

[0138] [化1]



[0139] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A 9の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分A 9の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分A 9の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0140] 成分A 9の市販品としては、ナカライテスク社製「サポニン」等が挙げられる。

[0141] (両性界面活性剤)

上記ヘモグロビン類測定用試薬は、両性界面活性剤を含むことが好ましい。上記界面活性剤は、成分B1～B3のいずれかの成分である。上記両性界面活性剤は、成分B1～B3のうちの1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0142] <成分B1>

成分B1は、3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]プロパンスルホネート(CHAPS)である。

[0143] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分B1の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分B1の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分B1の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0144] 成分B1の市販品としては、同仁化学社製「CHAPS」等が挙げられる。

[0145] <成分B2>

成分B2は、3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシプロパンスルホネート(CHAPSO)である。

[0146] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分B2の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分B2の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分B2の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0147] 成分B2の市販品としては、同仁化学社製「CHAPSO」等が挙げられる。

[0148] <成分B3>

成分B3は、ラウリルジメチルアミノオキサイドである。

[0149] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分B3の含有量は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分B3の含有量は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。成分B3の含有量が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0150] 成分B3の市販品としては、花王社製「アンヒトール20N」等が挙げられる。

[0151] (緩衝剤)

上記ヘモグロビン類測定用試薬は、緩衝剤を含むことが好ましい。上記緩衝剤を含むことにより、pHの変動を抑えることができる。上記緩衝剤は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0152] 上記緩衝剤としては、リン酸ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸カリウム、リン酸水素二カリウム及びリン酸二水素カリウム等のリン酸塩、炭酸ナトリウム及び炭酸水素ナトリウム等の炭酸塩、ホウ酸ナトリウム等のホウ酸塩、カルボン酸、ジカルボン酸、カルボン酸誘導体、ヒドロキシカルボン酸、アニリン、アニリン誘導体、アミノ酸、アミン化合物、イミダゾール化合物、アルコール化合物、エチレンジアミン四酢酸、ピロリン酸、ピリジン、カコジル酸、グリセロールリン酸、2,4,6-コリジン、N-エチルモルホリン、モルホリン、4-アミノピリジン、アンモニア、エフェドリン、ヒドロキシプロリン、ピペリジン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、並びにグリシルグリシン等が挙げられ

る。

[0153] 上記ヘモグロビン類測定用試薬のpHを後述する好ましい範囲に維持する観点からは、上記緩衝剤は、リン酸塩であることが好ましい。

[0154] 上記ヘモグロビン類測定用試薬中の上記緩衝剤の含有量は、緩衝作用を発揮できる含有量であれば特に限定されない。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、上記緩衝剤の含有量は、0.01重量%以上であってもよく、0.02重量%以上であってもよく、0.2重量%以下であってもよく、0.1重量%以下であってもよい。

[0155] (無機塩類)

上記ヘモグロビン類測定用試薬は、無機塩類を含むことが好ましい。上記無機塩類を含むことにより、浸透圧を良好に調整することができる。上記無機塩類は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0156] 上記無機塩類としては、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫酸ナトリウム、及び硫酸カリウム等が挙げられる。

[0157] 上記ヘモグロビン類測定用試薬の浸透圧を後述する好ましい範囲に維持する観点からは、上記無機塩類は、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫酸ナトリウム、又は硫酸カリウムであることが好ましく、塩化ナトリウムであることがより好ましい。

[0158] 上記ヘモグロビン類測定用試薬中の上記無機塩類の含有量は、特に限定されない。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、上記無機塩類の含有量は、0.1重量%以上であってもよく、1.0重量%以下であってもよい。

[0159] (水)

上記ヘモグロビン類測定用試薬は、水を含むことが好ましい。

[0160] 上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、上記水の含有量は、好ましくは80重量%以上、より好ましくは90重量%以上、更に好ましくは95重量%以上である。

[0161] (その他の成分)

上記ヘモグロビン類測定用試薬は、上述した成分以外の他の成分を含んでいてもよい。上記他の成分としては、防腐剤、ヘモグロビン安定剤、及びpH調整剤等が挙げられる。上記他の成分はそれぞれ、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0162] 上記防腐剤としては、アジ化ナトリウム、チモール、及びプロピオン酸ナトリウム等が挙げられる。

[0163] 上記ヘモグロビン安定剤としては、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）等のキレート剤、及びグルタチオン等が挙げられる。

[0164] 上記pH調整剤としては、塩酸、リン酸、硝酸、及び硫酸等の酸、並びに、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化マグネシウム、水酸化バリウム、及び水酸化カルシウム等の塩基が挙げられる。

[0165] （ヘモグロビン類測定用試薬の他の詳細）

上記ヘモグロビン類測定用試薬は、上記非イオン性界面活性剤を含むことが好ましく、上記非イオン性界面活性剤として成分A1、成分A2、成分A3、成分A4、成分A5又は成分A6を含むことがより好ましく、成分A1、又は成分A3を含むことが更に好ましく、成分A1'、又は成分A3'を含むことが特に好ましい。この場合には、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。また、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性をより一層高めることができる。

[0166] 上記ヘモグロビン類測定用試薬が、上記非イオン性界面活性剤を含む場合に、上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、上記非イオン性界面活性剤の含有量（成分A1～A9の合計の含有量）は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、上記非イオン性界面活性剤の含有量（成分A1～A9の合計の含有量）は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。上記非イオン性界面活性剤の含有量（成分A1～A9の

合計の含有量)が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。また、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性をより一層高めることができる。

[0167] 上記ヘモグロビン類測定用試薬が、上記両性界面活性剤を含む場合に、上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、上記両性界面活性剤の含有量(成分B1~B3の合計の含有量)は、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.05重量%以上、更に好ましくは0.08重量%以上、特に好ましくは0.1重量%以上である。上記ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、上記両性界面活性剤の含有量(成分B1~B3の合計の含有量)は、好ましくは1.0重量%以下、より好ましくは0.8重量%以下、更に好ましくは0.6重量%以下、特に好ましくは0.5重量%以下である。上記両性界面活性剤の含有量(成分B1~B3の合計の含有量)が上記下限以上及び上記上限以下であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮することができる。

[0168] 上記ヘモグロビン類測定用試薬は、成分Xを含まないことが好ましい。本発明では、成分Xを含まなくても、本発明の効果を発揮させることができる。また、本発明では、成分Xを含まなくても、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性を高めることができる。ただし、上記ヘモグロビン類測定用試薬は、成分Xを含んでいてもよい。例えば、上記ヘモグロビン類測定用試薬は、成分Xを、REACH規制の対象とならない濃度(ヘモグロビン類測定用試薬100重量%中、成分Xの含有量が0.1重量%未満)で含んでいてもよい。

[0169] 上記ヘモグロビン類測定用試薬のpHは、好ましくは6.0以上、より好ましくは7.0以上、好ましくは8.5以下、より好ましくは8.0以下である。上記pHが上記下限以上及び上記上限以下であると、より一層良好に溶血させることができる。

[0170] 上記ヘモグロビン類測定用試薬の浸透圧は、好ましくは50mOsm以上

、より好ましくは75 mOsm以上、好ましくは200 mOsm以下、より好ましくは150 mOsm以下である。上記浸透圧が上記下限以上及び上記上限以下であると、より一層良好に溶血させることができる。

[0171] 上記浸透圧は、浸透圧計（例えば、Advanced Instruments社製「オズモメーター3250」）を用いて測定することができる。

[0172] 上記ヘモグロビン類測定用試薬は、赤血球を溶血させるために好適に用いられる。上記ヘモグロビン類測定用試薬は、溶血試薬であることが好ましい。

[0173] 上記ヘモグロビン類測定用試薬は、被検査物質と混合されて好適に用いられる。上記被検査物質としては、血液等の赤血球含有検体、ヘモグロビン類標準物質、及び測定管理用ヘモグロビン類物質等が挙げられる。

[0174] 上記ヘモグロビン類測定用試薬は、赤血球を含まず、かつヘモグロビンの濃度が既知である検体（ヘモグロビン類標準物質、及び測定管理用ヘモグロビン類物質等）を溶解又は希釈する希釈液として好適に用いられる。さらに、上記ヘモグロビン類測定用試薬は、液体クロマトグラフの洗浄液及びカラムの洗浄液としても好適に用いられる。

[0175] （ヘモグロビン類の測定方法）

本発明に係るヘモグロビン類の測定方法は、赤血球含有検体と、上述したヘモグロビン類測定用試薬とを混合して混合液を得る工程と、上記混合液を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する工程とを備える。

[0176] 上記陽イオン交換液体クロマトグラフィーは、陽イオン交換高速液体クロマトグラフィーであることが好ましい。

[0177] 上記赤血球含有検体としては、血液等が挙げられる。

[0178] 一般に、上記陽イオン交換液体クロマトグラフィーにおいては、患者等から採取した血液（赤血球含有検体）から調製された混合液に加えて、赤血球を含まず、かつ測定対象のヘモグロビン類の濃度が既知である検体から調製された混合液も測定される。上記赤血球を含まず、かつ測定対象のヘモグロビン類の濃度が既知である検体としては、測定対象のヘモグロビン類標準物

質（測定対象の既知濃度のヘモグロビン類）、測定対象の測定管理用ヘモグロビン類物質（測定対象の既知濃度のヘモグロビン類、好ましくは低濃度、中濃度、高濃度等の複数濃度を測定）等が挙げられる。上記ヘモグロビン類標準物質及び上記測定管理用ヘモグロビン類物質は、好ましくは用時調製検体、凍結乾燥検体又は凍結検体である。また、上記ヘモグロビン類標準物質及び上記測定管理用ヘモグロビン類物質は、凍結乾燥品又は凍結品として市販されている。

[0179] 上記ヘモグロビン類の測定方法では、例えば、以下のようにしてヘモグロビン類の濃度を求めることが好ましい。（１）上記赤血球含有検体と、上記ヘモグロビン類測定用試薬とを混合して混合液を得る。（２）上記混合液を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する。（３）測定対象のヘモグロビン類のピーク面積の、ヘモグロビンのピーク面積の合計に対する比（測定対象のヘモグロビン類のピーク面積／ヘモグロビンのピーク面積の合計）を測定対象のヘモグロビン値（ヘモグロビン類の濃度）とする。例えば、ヘモグロビンA1c値を求める場合には、上記（３）において、ヘモグロビンA1cのピーク面積の、ヘモグロビンのピーク面積の合計に対する比（ヘモグロビンA1cのピーク面積／ヘモグロビンのピーク面積の合計）をヘモグロビンA1c値とする。

[0180] 上記ヘモグロビン類の測定方法では、例えば、以下のようにしてヘモグロビン類の濃度を求めることもできる。（１）上記赤血球含有検体と、上記ヘモグロビン類測定用試薬とを混合して第１の混合液を得る。（２）測定対象のヘモグロビン類の濃度が既知であるヘモグロビン類含有検体と、上記ヘモグロビン類測定用試薬とを混合して第２の混合液を得る。（３）上記第１の混合液及び上記第２の混合液を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する。（４）測定対象のヘモグロビン類の濃度が既知である上記ヘモグロビン類含有検体を含む上記混合液を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定して得られた測定値と、上記赤血球含有検体を含む上記混合液を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定して得られた測定値とを比

較することで、上記赤血球含有検体中のヘモグロビン類の濃度を決定する。

[0181] より一層良好に溶血させる観点からは、上記赤血球含有検体 1 mL に対して、上記ヘモグロビン類測定用試薬を、好ましくは 25 mL 以上、より好ましくは 50 mL 以上、好ましくは 400 mL 以下、より好ましくは 200 mL 以下で混合することが好ましい。

[0182] 上記陽イオン交換液体クロマトグラフィーは、塩濃度のグラジエント又は pH のグラジエントで測定されることが好ましい。上記グラジエントは、リニアグラジエントであってもよく、ステップグラジエントであってもよい。

[0183] 上記グラジエントの測定では、2 種以上の溶離液が用いられることが好ましい。上記塩濃度のグラジエントで測定する場合には、上記溶離液として、低塩濃度の溶離液及び高塩濃度の溶離液（例えば、NaCl 濃度が 50 mM である溶離液及び NaCl 濃度が 200 mM である溶離液）を用いることができる。上記 pH グラジエントで測定する場合には、pH の異なる 2 種の溶離液（例えば、pH 5.4 の溶離液と pH 8.0 の溶離液）を用いることができる。また、上記溶離液として、市販品を用いることもできる。上記溶離液の市販品としては、アークレイ社製「溶離液 80A」、「溶離液 80B」、「溶離液 60A-VP/TP」、「溶離液 60B-VP/TP」、及び「溶離液 60C-VP」等が挙げられる。

[0184] 上記陽イオン交換液体クロマトグラフィーで用いられる陽イオン交換カラムとして、従来公知の陽イオン交換カラムを用いることができる。上記陽イオン交換カラムは、カルボキシル基、スルホン酸基、又はリン酸基等のカチオン交換基を有する充填剤が充填されたカラムであることが好ましい。陽イオン交換カラムの市販品としては、例えば、アークレイ社製「カラムユニット 80」及び「カラムユニット HSVI-VP」等が挙げられる。

[0185] 以下、実施例、参考例及び比較例を挙げることにより、本発明を具体的に説明する。本発明は、以下の実施例に限定されない。

[0186] （実施例 1～30、参考例 A 及び比較例 1～69）

ヘモグロビン類測定用試薬の調製：

リン酸二水素カリウムと、リン酸水素二カリウムと、塩化ナトリウムと、アジ化ナトリウムと、水とを混合し第1の組成物を得た。得られた第1の組成物に、表2～6に示す界面活性剤を添加して混合し、ヘモグロビン類測定用試薬を調製した。得られたヘモグロビン類測定用試薬の組成を以下の表1に示す。表1中の界面活性剤の種類、含有量、HLB値及び曇点は、表2～6に示した。なお、界面活性剤のHLB値は、上述した方法で測定された値である。

[0187] [表1]

		ヘモグロビン類測定用試薬 100重量%中の含有量
リン酸二水素カリウム	重量%	0.013
リン酸水素二カリウム	重量%	0.052
塩化ナトリウム	重量%	0.233
アジ化ナトリウム	重量%	0.02
界面活性剤 <sup>※</sup>	重量%	※
水	重量%	残部
合計	重量%	100

※ 界面活性剤の種類及び含有量は表2～6に示す。

[0188] (評価)

## (1) 界面活性剤の溶解性

上記第1の組成物に界面活性剤を添加して混合した際の界面活性剤の溶解性を目視にて確認した。界面活性剤の溶解性を以下の基準で判定した。

[0189] [界面活性剤の溶解性の判定基準]

○○：界面活性剤が15分未満で完全に溶解する

○：界面活性剤が15分以上30分未満で完全に溶解する

△：界面活性剤が30分以上1時間未満で完全に溶解する

×：界面活性剤が1時間以上で完全に溶解する、又は溶解しない

[0190] (2) 陽イオン交換液体クロマトグラフィーによる測定

採血管（積水メディカル社製）に収容された全血（赤血球含有検体）を用意した。全血1mLに対して、得られたヘモグロビン類測定用試薬100m

Lを混合し、混合液を得た。得られた混合液を以下の条件で測定した。なお、「(1) 界面活性剤の溶解性」の判定結果が×であるヘモグロビン類測定用試薬では、陽イオン交換液体クロマトグラフィーによる測定を行わなかった。

[0191] 陽イオン交換クロマトグラフィー条件：

HPLC装置：グリコヘモグロビン分析装置（アークレイ社製「HA-8180」）

陽イオン交換カラム：カラムユニット80（アークレイ社製）

溶離液A：溶離液80A（アークレイ社製）

溶離液B：溶離液80B（アークレイ社製）

[0192] HPLC装置に搭載されている測定メソッドを用いて、測定を行った。

[0193] (2-1) ピーク分離パターン

混合液を測定して得られたクロマトグラムについて、以下のi)～iii)を確認した。なお、参考例Aでは、図2に示すクロマトグラムのピークパターンが得られた。得られるクロマトグラムにおいて、約19秒に検出されたピークがヘモグロビンA1cのピークであり、約40秒に検出されたピークがヘモグロビンA0のピークである。

[0194] i) ヘモグロビンA1cピークの分離

参考例Aで得られたヘモグロビンA1cのピーク高さ、実施例及び比較例で得られたヘモグロビンA1cのピーク高さとを比較した。参考例Aで得られたヘモグロビンA1cのピーク高さに対して、得られたヘモグロビンA1cのピーク高さが吸光度基準で50以上低下していない場合に、ヘモグロビンA1cピークの分離が良好と判定し、50を超えて低下している場合に不良と判定した。

[0195] iii) ヘモグロビンA0ピークの形状

参考例Aでは、ヘモグロビンA0ピークのピークテール部分において、ピークは検出されない。実施例及び比較例で得られたヘモグロビンA0ピークのピークテールの形状を確認した。このピークテール部分において、ピーク

が検出されていない場合に、ヘモグロビンA0ピークの形状が良好と判定し、ピークが検出された場合に不良と判定した。

[0196] なお、良好と判定されるクロマトグラムを例を図3(a)に示し、不良と判定されるクロマトグラムの例を図3(b)に示した。

[0197] i i i) ファーストフラクションのピーク形状

参考例Aでは、ファーストフラクションのピークにおいて、ショルダーピークは検出されない。実施例及び比較例で得られたファーストフラクションのピーク形状を確認した。このファーストフラクションのピークにおいて、ショルダーピークが検出されていない場合に、ファーストフラクションのピーク形状が良好と判定し、ショルダーピークが検出された場合に不良と判定した。

[0198] なお、良好と判定されるクロマトグラムの例を図4(a)に示し、不良と判定されるクロマトグラムの例を図4(b)に示した。図4(b)において矢印で示したピークがショルダーピークである。

[0199] [ピーク分離パターンの判定基準]

○ : i) ~ i i i) の判定が全て良好

× : i) ~ i i i) の判定のいずれかが不良

[0200] (2-2) キャリーオーバー

全血とヘモグロビン類測定用試薬とを混合した混合液を測定した後に続けて、ヘモグロビン類測定用試薬のみを5回連続して測定した。得られたクロマトグラムについて、以下のi) ~ i i i)を確認した。

[0201] i) ヘモグロビンA0ピーク高さ

1回目のヘモグロビン類測定用試薬の測定において、参考例Aで得られたヘモグロビンA0のピーク高さ、実施例及び比較例で得られたヘモグロビンA0のピーク高さ、参考例Aで得られたヘモグロビンA0のピーク高さに対して、得られたヘモグロビンA0のピーク高さが吸光度基準で100以上増加していない場合に良好と判定し、100を超えて増加している場合に不良と判定した。

[0202] なお、参考例Aで得られたクロマトグラムの例を図5（a）に示し、良好と判定されるクロマトグラムの例を図5（b）に示し、不良と判定されるクロマトグラムの例を図5（c）に示した。

[0203] i i) ヘモグロビンA1cピークの有無

1回目のヘモグロビン類測定用試薬の測定において、ヘモグロビンA1cピークの有無を確認した。ヘモグロビンA1cピークが観察されない場合に良好と判定し、ヘモグロビンA1cピークが観察される場合に不良と判定した。

[0204] i i i) ドリフトの発生の有無

1回目のヘモグロビン類測定用試薬の測定において、ヘモグロビンA0ピークのドリフトの有無を確認した。ドリフトが観察されない場合に良好と判定し、ドリフトが観察される場合に不良と判定した。

[0205] [キャリアオーバーの判定基準]

○：i)～i i i) の判定が全て良好

×：i)～i i i) の判定のいずれかが不良

[0206] (3) pH

参考例A及び実施例で得られたヘモグロビン類測定用試薬のpHを、pH計（堀場製作所社製「F-52」）を用いて測定した。

[0207] (4) 浸透圧

参考例A及び実施例で得られたヘモグロビン類測定用試薬の浸透圧を、浸透圧計（Advanced Instruments社製「オズモメーター3250」）を用いて測定した。

[0208] 組成及び結果を下記の表2～6に示す。なお、表2，3，5中、「E. O.」で表される値は、オキシエチレン基の平均付加モル数を意味する。

[0209]

[表2]

	成分X	製品名	メーカー	成分名	融点 (°C)	HLB値	含有量	評価				
								溶解性	ビク分難 ハダーン	キャリアー オーバー	pH	浸透圧 (mOsm)
参考例A	成分X	トリトンX-100	ナカライテスク	ポリオキシエチレンオクタフルエニール(10E.O.)	66	13.5	0.1%	○	○	○	7.50	100
比較例1		Brij35	Sigma-Aldrich	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(23E.O.)	—	—	0.5%	△	×	×	—	—
比較例2		エマルゲン103	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(3E.O.)	—	8.1	0.5%	×	—	—	—	—
比較例3		エマルゲン104P	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(4E.O.)	—	9.6	0.5%	×	—	—	—	—
比較例4		エマルゲン105	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(4E.O.)	—	9.7	0.5%	×	—	—	—	—
比較例5		エマルゲン106	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(5E.O.)	—	10.5	0.5%	×	—	—	—	—
比較例6		エマルゲン108	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(6E.O.)	40	12.1	0.5%	○	×	×	—	—
実施例1	成分A1	エマルゲン109P	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(9E.O.)	83	13.6	0.5%	○○	○	○	7.26	101
実施例2	成分A1	エマルゲン120	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(12E.O.)	88	15.3	0.5%	○	○	○	7.35	103
実施例3	成分A1	エマルゲン120	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(12E.O.)	88	15.3	0.1%	○	○	○	7.35	103
実施例4	成分A1	エマルゲン147	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(19E.O.)	>100	16.3	0.5%	○	○	○	7.32	104
比較例7		エマルゲン123P	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(23E.O.)	>100	16.9	0.5%	○	×	×	—	—
比較例8		エマルゲン130K	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(41E.O.)	>100	18.1	0.5%	○	×	×	—	—
比較例9		エマルゲン150	花王	ポリオキシエチレンラウリルエーテル(47E.O.)	>100	18.4	0.5%	○	×	×	—	—
比較例10		エマルゲン210P	花王	ポリオキシエチレンセチルエーテル(7E.O.)	—	10.7	0.5%	×	—	—	—	—
実施例5	成分A1	エマルゲン220	花王	ポリオキシエチレンセチルエーテル(13E.O.)	88	14.2	0.5%	△	○	○	7.36	100
実施例6	成分A1	エマルゲン220	花王	ポリオキシエチレンセチルエーテル(13E.O.)	88	14.2	0.1%	△	○	○	7.36	100
実施例7	成分A1	Brij58	Sigma-Aldrich	ポリオキシエチレンセチルエーテル(20E.O.)	—	—	0.5%	△	○	○	7.34	101
比較例11		エマルゲン306P	花王	ポリオキシエチレンステアリルエーテル(6E.O.)	—	9.4	0.5%	×	—	—	—	—
比較例12		エマルゲン320P	花王	ポリオキシエチレンステアリルエーテル(12E.O.)	91	13.9	0.5%	×	—	—	—	—
実施例8	成分A2	エマルゲン350	花王	ポリオキシエチレンステアリルエーテル(50E.O.)	>100	17.8	0.5%	△	○	○	7.41	101

[0210]

[表3]

比較例13	製品名	メーカー	成分名	融点 (°C)	HLB値	含有量	評価				透過圧 (mOsm)
							溶解性	ビーク分離 パターン	キャリアー カーバー	pH	
比較例13	エマルゲン404	花王	ポリオキシエチレンオレイルエーテル(4EO)	-	8.8	0.5%	x	-	-	-	-
比較例14	エマルゲン408	花王	ポリオキシエチレンオレイルエーテル(8EO)	-	10	0.5%	x	-	-	-	-
実施例9	エマルゲン409PV	花王	ポリオキシエチレンオレイルエーテル(9EO)	55	12	0.5%	△	○	○	7.39	100
実施例10	エマルゲン420	花王	ポリオキシエチレンオレイルエーテル(18EO)	91	13.6	0.5%	○○	○	○	7.38	101
実施例11	エマルゲン420	花王	ポリオキシエチレンオレイルエーテル(18EO)	91	13.6	0.1%	○○	○	○	7.38	101
比較例15	エマルゲン430	花王	ポリオキシエチレンオレイルエーテル(30EO)	>100	16.2	0.5%	△	x	x	-	-
比較例16	エマルゲン705	花王	ポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル (アルキル基の炭素数11以上15以下、5EO)	-	10.5	0.5%	x	-	-	-	-
実施例12	エマルゲン707	花王	ポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル (アルキル基の炭素数11以上15以下、7EO)	33	12.1	0.5%	○○	○	○	7.31	104
実施例13	エマルゲン707	花王	ポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル (アルキル基の炭素数11以上15以下、7EO)	33	12.1	0.1%	○○	○	○	7.31	104
実施例14	エマルゲン709	花王	ポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル (アルキル基の炭素数11以上15以下、9EO)	56	13.3	0.5%	○○	○	○	7.22	103
実施例15	エマルゲン709	花王	ポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル (アルキル基の炭素数11以上15以下、9EO)	56	13.3	0.1%	○○	○	○	7.22	103
比較例17	エマルゲン1108	花王	ポリオキシエチレンアルキルエーテル (アルキル基の炭素数11、8EO)	66	13.5	0.5%	○	x	x	-	-
比較例18	エマルゲン4085	花王	ポリオキシエチレンミリスチルエーテル(8EO)	>100	18.9	0.5%	○	x	x	-	-
比較例19	エマルゲン2020G+HA	花王	ポリオキシエチレンオクタドシルエーテル(20EO)	-	13	0.5%	○	x	x	-	-
比較例20	エマルゲン2025G	花王	ポリオキシエチレンオクタドシルエーテル(25EO)	-	15.7	0.5%	○	x	x	-	-
実施例16	レオコールTD-150	ライオン	ポリオキシエチレントリデシルエーテル(15EO)	75	15.4	0.5%	○	○	○	7.33	103
実施例17	レオコールTD-150	ライオン	ポリオキシエチレントリデシルエーテル(15EO)	75	15.4	0.1%	○	○	○	7.33	103

[0211]

[表4]

比較例	製品名	メーカー	成分名	融点 (°C)	HLB値	含有量	評価			
							溶解性	ピーク分離 パターン	キャリアー オーバー	pH
比較例21	エマルゲンA-60	花王	ポリオキシエチレンジステアレン化エニルエーテル	-	-	0.5%	○	x	x	-
比較例22	エマルゲンA-90	花王	ポリオキシエチレンジステアレン化エニルエーテル	-	-	0.5%	○	x	x	-
比較例23	エマルゲンB-66	花王	ポリオキシエチレントリペンジルエニルエーテル	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例24	TWEEN20	東京化成工業	ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	-	-	0.5%	○	x	x	-
比較例25	TWEEN40	東京化成工業	ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミタート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例26	TWEEN60	東京化成工業	ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例27	TWEEN80	東京化成工業	ポリオキシエチレンソルビタンモノオレアート	-	-	0.5%	○	x	x	-
比較例28	TWEEN85	東京化成工業	ポリオキシエチレンソルビタントリオレアート	-	-	0.5%	○	x	x	-
比較例29	レオドールTW-ES89C	花王	ポリオキシエチレンソルビタントリオレアート	-	-	0.5%	○	x	x	-
比較例30	レオドールSP-L10	花王	ソルビタンモノラウレート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例31	レオドールSP-P10	花王	ソルビタンモノパルミタート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例32	レオドールSP-S10V	花王	ソルビタンモノステアレート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例33	レオドールSP-S30V	花王	ソルビタントリスアレート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例34	レオドールSP-O10V	花王	ソルビタンモノオレアート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例35	レオドールSP-O30V	花王	ソルビタントリオレアート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例36	レオドールAO-15V	花王	ソルビタンセスキオレアート	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例37	エマノーン1112	花王	ポリエチレングリコールモノラウレート	-	13.7	0.5%	○	x	○	-
比較例38	エマノーン3109V	花王	ポリエチレングリコールモノラウレート	-	19.4	0.5%	x	-	-	-
比較例39	エマノーン3299VB	花王	ポリエチレングリコールモノステアレート	-	18.9	0.5%	x	-	-	-
比較例40	エマノーン3299RV	花王	ポリエチレングリコールモノステアレート	-	19.2	0.5%	x	-	-	-
比較例41	アミートPK-02S	花王	アルキルアルカノールアミド	-	-	0.5%	x	-	-	-
比較例42	アミート105	花王	ポリオキシエチレンアルキルアミン	-	-	0.5%	○	x	x	-
比較例43	アミート320	花王	ポリオキシエチレンアルキルアミン	-	-	0.5%	○	x	x	-

[0212]

[表5]

	製品名	メーカー	成分名	融点 (°C)	HLB値	含有量	評価				
							溶解性	ビク分難 ハダーン	キヤリー オーバー	pH	浸透圧 (mOsm)
実施例18	成分A6 エマルゲンLS-106	花王	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン アルキルエーテル	34	12.5	0.5%	○	○	○	7.34	101
実施例19	成分A6 エマルゲンLS-106	花王	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン アルキルエーテル	34	12.5	0.1%	○	○	○	7.34	101
実施例20	成分A6 エマルゲンLS-114	花王	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン アルキルエーテル	88	14	0.5%	○	○	○	7.39	101
実施例21	成分A6 エマルゲンLS-114	花王	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン アルキルエーテル	88	14	0.1%	○	○	○	7.39	101
実施例22	成分A6 エマルゲンMS-100	花王	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン アルキルエーテル	55	12.7	0.5%	○	○	○	7.36	102
実施例23	成分A6 エマルゲンMS-100	花王	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン アルキルエーテル	55	12.7	0.1%	○	○	○	7.36	102
比較例44		花王	ポリオキシアルケンアルケニルエーテル	-	-	0.5%	○	×	×	-	-
比較例45		花王	ポリオキシアルケンアルケニルエーテル	-	-	0.5%	○	×	×	-	-
比較例46		花王	ポリオキシアルケンアルケニルエーテル	-	-	0.5%	○	×	×	-	-
比較例47		同仁化学	m-オクタイル-N-メチル-D-グルカミン	-	-	0.5%	○	×	×	-	-
実施例24	成分A7 MEGA-9	同仁化学	n-ノナイル-N-メチル-D-グルカミン	-	-	0.5%	○	○	○	7.28	117
比較例48		同仁化学	n-デカイル-N-メチル-D-グルカミン	-	-	0.5%	×	-	-	-	-
実施例25	成分A8 -	同仁化学	n-オクタール-β-D-グルコピラノシド	-	-	0.5%	○	○	○	7.28	120
実施例26	成分A9 サボニン	ナカライテスク	式(9)の構造を有する式5由來サボニン	-	-	0.5%	○	○	○	6.32	123
比較例49	エマノールOH-40	花王	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(40EO)	-	-	0.5%	×	-	-	-	-
比較例50	エマノールOH-60K	花王	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(60EO)	-	-	0.5%	×	-	-	-	-
比較例51	エマノールOH-80	花王	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(80EO)	-	-	0.5%	×	-	-	-	-
比較例52	レオドール430V	花王	テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルビット(30EO)	-	-	0.5%	×	-	-	-	-
比較例53	レオドール440V	花王	テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルビット(40EO)	-	-	0.5%	×	-	-	-	-
比較例54	レオドール460V	花王	テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルビット(60EO)	-	-	0.5%	×	-	-	-	-
比較例55	レオドールMS165V	花王	自己乳化型モノステアリン酸グリセリン	-	-	0.5%	×	-	-	-	-

[0213]

[表6]

比較例	製品名	メーカー	成分名	熔点 (°C)	HLB値	含有量	評価			
							溶解性	ピーク分離ハターン	キャリーオーバー	pH
比較例156	エマルゲンPP-280	花王	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例157	フルロニックL-31	ADEKA	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例158	フルロニックL-71	ADEKA	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール	-	-	0.5%	×	-	-	-
比較例159	フルロニックF-108	ADEKA	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例160	フルロニックP-65	ADEKA	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例161	フルロニックTR-704	ADEKA	エチレンジアミンテトラポリオキシエチレンポリオキシプロピレン	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例162	フルロニックTR-913R	ADEKA	エチレンジアミンテトラポリオキシエチレンポリオキシプロピレン	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例163	-	-	ラウリル硫酸ナトリウム	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例164	-	-	タウロコール酸ナトリウム	-	-	0.5%	○	×	×	-
比較例165	-	-	デオキシコール酸ナトリウム	-	-	0.5%	○	×	×	-
実施例17	CHAPS	同仁化学	3-[(3-コロールアルデヒドプロピルジメチルアンモニオ)プロパンスルホネート	-	-	0.5%	○	○	○	7.44
実施例18	CHAPSO	同仁化学	3-[(3-コロールアルデヒドプロピルジメチルアンモニオ)-2-ヒドロキシプロパンスルホネート	-	-	0.5%	○	○	○	7.41
比較例166	アンピトール20BS	花王	ラウリルジメチルアルミ/酢酸ベタイン	-	-	0.5%	×	×	-	-
比較例167	アンピトール86B	花王	ステアリルジメチルアルミ/酢酸ベタイン	-	-	0.5%	×	×	-	-
実施例19	アンピトール20N	花王	ラウリルジメチルアルモニオキサイド	-	-	0.5%	○○	○	○	7.37
実施例20	アンピトール20N	花王	ラウリルジメチルアルモニオキサイド	-	-	0.1%	○○	○	○	7.37
比較例168	アンピトール20Y-B	花王	2-アルキル-N-カルボキシメチル-N-ヒドロキシエチルイミダゾリニウムベタイン	-	-	0.5%	×	-	-	-
比較例169	-	-	界面活性剤 未添加	-	-	0%	-	×	×	-

[0214] 実施例1～30で得られたヘモグロビン類測定用試薬では、良好に溶血させることができ、かつ高い精度でヘモグロビン類を測定することができることが理解できる。

[0215] (参考例A及び実施例31～38)

表7に示す組成に変更したこと以外は、実施例1と同様にしてヘモグロビン類測定用試薬を調製した。

[0216] (5) ヘモグロビン類測定用試薬の保存安定性

参考例A及び界面活性剤の濃度が0.5重量%である実施例32, 34, 36~38で得られたヘモグロビン類測定用試薬をそれぞれ、ガラス製バイアル瓶に密封し、60℃で7日間保存した。保存後、目視にて、ヘモグロビン類測定用試薬の性状を確認した。

[0217] 一般に、ヘモグロビン類測定用試薬は室温で保存されるものである。本評価項目では、通常の保存条件よりも苛酷な温度条件でヘモグロビン類測定用試薬を保存し評価している。

[0218] [ヘモグロビン類測定用試薬の保存安定性(60℃、7日間)の判定基準]

A: 相分離が生じない

B: 相分離が生じる

[0219] (6) 混合液の保存安定性

(6-1) 全血との混合液の保存安定性

全血(赤血球含有検体)を用意した。また、参考例A及び実施例31~36で得られたヘモグロビン類測定用試薬を用意した。全血を、ヘモグロビン類測定用試薬で101倍希釈し、混合液を得た。得られた混合液を、ガラス製バイアル瓶に収容し、4℃で保存した。保存前、保存後1日目、2日目、5日目、7日目、9日目に、「(2)陽イオン交換液体クロマトグラフィーによる測定」に記載の測定条件で混合液を繰り返し3回測定し、その平均値からヘモグロビンA1c値及びヘモグロビンA1c値の変化量を求めた。

[0220]  $\text{ヘモグロビンA1c値(\%)} = \text{ヘモグロビンA1cのピーク面積} / \text{ヘモグロビンのピーク面積の合計}$

[0221]  $\text{ヘモグロビンA1c値の変化量(\%)} = \text{保存前のヘモグロビンA1c値} - \text{保存後のヘモグロビンA1c値}$

[0222] 図6(a)は全血との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値

との関係を示す図である。図6 (b) は、全血との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値の変化量との関係を示す図である。

[0223] [全血との混合液の判定基準]

○：5日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.2%以下である

△：5日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.2%を超え0.4%以下である

△△：5日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.4%を超え0.7%以下である

×：5日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.7%を超える

[0224] (6-2) 測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)との混合液の保存安定性

ヘモグロビンA1c値が5.8%である測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)を用意した。また、参考例A及び実施例31~36で得られたヘモグロビン類測定用試薬を用意した。測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)を、ヘモグロビン類測定用試薬で101倍希釈し、混合液を得た。得られた混合液を、ガラス製バイアル瓶に収容し、4℃で保存した。保存前、保存後1日目、2日目、3日目、9日目、14日目に、「(2)陽イオン交換液体クロマトグラフィーによる測定」での測定条件で混合液を繰り返し3回測定し、その平均値から上記と同様にしてヘモグロビンA1c値及びヘモグロビンA1c値の変化量を求めた。

[0225] 図7(a)は測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値との関係を示す図である。図7(b)は、測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値の変化量との関係を示す図である。

[0226] [測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)との混合

液の保存安定性の判定基準]

○：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.2%以下である

△：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.2%を超え0.4%以下である

△△：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.4%を超え0.7%以下である

×：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.7%を超える

[0227] (6-3) 測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)との混合液の保存安定性

測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)を、ヘモグロビンA1c値が10.4%である測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)に変更したこと以外は、「(6-2)測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)との混合液の保存安定性」と同様にして、ヘモグロビンA1c値及びヘモグロビンA1c値の変化量を求めた。

[0228] 図8(a)は測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値との関係を示す図である。図8(b)は、測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)との混合液における、保存日数とヘモグロビンA1c値の変化量との関係を示す図である。

[0229] [測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)との混合液の保存安定性の判定基準]

○：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.25%以下である

△：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.25%を超え0.45%以下である

△△：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.45%を超え0.75%以下である

×：14日目のヘモグロビンA1c値の変化量において、参考例Aとの差の絶対値が0.75%を超える

[0230] 組成及び結果を下記の表7に示す。

[0231]

[表7]

製品名	成分名	重量%	参考例 A	実施例 31	実施例 32	実施例 33	実施例 34	実施例 35	実施例 36	実施例 37	実施例 38
	リン酸二水素カリウム	重量%	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013
	リン酸水素二カリウム	重量%	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052
	塩化ナトリウム	重量%	0.233	0.233	0.233	0.233	0.233	0.233	0.233	0.233	0.233
	アジ化ナトリウム	重量%	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
成分X	ポリオキシエチレンオクタデシルエーテル(10EO)	重量%	0.1								
成分A1	エマルゲン120	重量%		0.1	0.5						
成分A1	エマルゲン220	重量%				0.1	0.5				
成分A3	エマルゲン420	重量%						0.1	0.5		
成分A6	エマルゲンLS-114	重量%									
成分A6	エマルゲンMS-100	重量%									
	水	重量%									
	合計	重量%									
評価	ヘモグロビン測定用試薬の保存安定性(60°C、7日間)	判定	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	全血との混合液(4°C、5日間)	判定	A	-	A	-	A	-	A	B	B
	測定管理用ヘモグロビンA1c物質(低濃度)(IRC-L)との混合液(4°C、14日間)	判定	-	○	○	○	○	○	○	○	-
混合液の保存安定性	判定	-	○	○	○	○	○	○	○	-	-
	測定管理用ヘモグロビンA1c物質(高濃度)(IRC-H)との混合液(4°C、14日間)	判定	-	△	△△	△△	△△	△△	△△	△△	△△

[0232] 実施例 3 1 ~ 3 6 で得られたヘモグロビン類測定用試薬では、実施例 3 7 , 3 8 で得られたヘモグロビン類測定用試薬と比べて、該試薬の保存安定性を高めることができた。また、実施例 3 1 ~ 3 6 で得られたヘモグロビン類

測定用試薬では、該試薬と被検査物質とが混合された混合液の保存安定性も高めることができた。実施例31～36で得られたヘモグロビン類測定用試薬では、ヘモグロビン類測定用試薬と被検査物質とが混合された混合液を長期間保存した後であっても、高い精度でヘモグロビン類を測定することができる。

[0233] (7) カラム耐久性

全血（赤血球含有検体）と、ヘモグロビンA1c値が10.4%である測定管理用ヘモグロビンA1c物質（高濃度）（IRC-H）と、参考例A及び実施例32で得られたヘモグロビン類測定用試薬とを用意した。全血を、ヘモグロビン類測定用試薬で101倍希釈し、液（1）を得た。また、測定管理用ヘモグロビンA1c物質を、ヘモグロビン類測定用試薬で101倍希釈し、液（2）を得た。液（1）は、カラムに負荷を与えるための測定試料であり、液（2）は、ヘモグロビンA1c値の変化量及び理論段数の変化量を確認するための測定試料である。得られた液（1）及び液（2）を以下の手順及び条件で測定した。

[0234] 先ず、得られた液（2）を3回測定した。その後、得られた液（1）を複数回（数十回～200回）カラムに通すごとに液（2）を3回測定した。カラムへの負荷検体数が約3000検体となるまで、上記の手順に従って液（1）及び液（2）を繰り返し測定した。

[0235] 陽イオン交換クロマトグラフィー条件：

HPLC装置：グリコヘモグロビン分析装置（アークレイ社製「HA-8160VP」）

陽イオン交換カラム：カラムユニットHSV1-VP（アークレイ社製）

溶離液A：溶離液60A-VP/TP（アークレイ社製）

溶離液B：溶離液60B-VP/TP（アークレイ社製）

溶離液C：溶離液60C-VP（アークレイ社製）

[0236] HPLC装置に搭載されている測定メソッドを用いて、測定を行った。

[0237] 図9（a）はカラムへの負荷検体数と、ヘモグロビンA1c値の変化量と

の関係を示す図である。図9（b）はカラムへの負荷検体数と、理論段数の変化量との関係を示す図である。

[0238] 図9（a）において、縦軸は、最初に測定した液（2）におけるヘモグロビンA1c値と、各負荷検体数で測定した液（2）におけるヘモグロビンA1c値との差（最初に測定した液（2）におけるヘモグロビンA1c値－各負荷検体数で測定した液（2）におけるヘモグロビンA1c値）である。図9（b）において、縦軸は、最初に測定した液（2）における理論段数と、各負荷検体数で測定した液（2）における理論段数との差（最初に測定した液（2）における理論段数－各負荷検体数で測定した液（2）における理論段数）である。

[0239] 実施例32で得られたヘモグロビン類測定用試薬は、参考例Aで得られたヘモグロビン類測定用試薬よりもカラム耐久性に優れていた。

## 請求の範囲

### [請求項1]

陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられるヘモグロビン類測定用試薬であって、

非イオン性界面活性剤又は両性界面活性剤を含み、

前記非イオン性界面活性剤が、下記成分A 1、下記成分A 2、下記成分A 3、下記成分A 4、下記成分A 5、下記成分A 6、下記成分A 7、下記成分A 8又は下記成分A 9であり、

前記両性界面活性剤が、下記成分B 1、下記成分B 2又は下記成分B 3である、ヘモグロビン類測定用試薬。

成分A 1：オキシエチレン基の平均付加モル数が8以上20以下であり、かつアルキル基の炭素数が12以上17以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテル

成分A 2：オキシエチレン基の平均付加モル数が40以上60以下であるポリオキシエチレンステアリルエーテル

成分A 3：オキシエチレン基の平均付加モル数が9以上15以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテル

成分A 4：オキシエチレン基の平均付加モル数が6以上10以下であり、かつアルキル基の炭素数が11以上15以下であるポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテル

成分A 5：オキシエチレン基の平均付加モル数が15であるポリオキシエチレントリデシルエーテル

成分A 6：HLB値が11以上15以下であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル

成分A 7：n-ノナノイル-N-メチル-D-グルカミン

成分A 8：n-オクチル-β-D-グルコピラノシド

成分A 9：サポニン

成分B 1：3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]プロパンスルホネート

成分 B 2 : 3 - [ ( 3 - コールアミドプロピル ) ジメチルアンモニオ ] - 2 - ヒドロキシプロパンスルホネート

成分 B 3 : ラウリルジメチルアミンオキサイド

[請求項2]

前記非イオン性界面活性剤を含み、

前記非イオン性界面活性剤が、前記成分 A 1、前記成分 A 2、前記成分 A 3、前記成分 A 4、前記成分 A 5 又は前記成分 A 6 を含み、

前記成分 A 1 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 9、12 若しくは 19 であるポリオキシエチレンラウリルエーテル、又はオキシエチレン基の平均付加モル数が 13 若しくは 20 であるポリオキシエチレンセチルエーテルであり、

前記成分 A 2 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 50 であるポリオキシエチレンステアシルエーテルであり、

前記成分 A 3 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 9 又は 13 であるポリオキシエチレンオレイルエーテルであり、

前記成分 A 4 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 7 又は 9 であり、かつアルキル基の炭素数が 11 以上 15 以下のポリオキシエチレン-sec-アルキルエーテルであり、

前記成分 A 6 が、HLB 値が 12.5、12.7 又は 14.0 であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテルである、請求項 1 に記載のヘモグロビン類測定用試薬。

[請求項3]

前記非イオン性界面活性剤を含み、

前記非イオン性界面活性剤が、前記成分 A 1 又は前記成分 A 3 を含み、

前記成分 A 1 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 10 以上 15 以下であり、かつアルキル基の炭素数が 12 以上 17 以下であるポリオキシエチレンアルキルエーテルであり、

前記成分 A 3 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 10 以上 15 以下であるポリオキシエチレンオレイルエーテルである、請求項 1

に記載のヘモグロビン類測定用試薬。

[請求項4]

前記成分 A 1 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 1 2 であるポリオキシエチレンラウリルエーテル、又はオキシエチレン基の平均付加モル数が 1 3 であるポリオキシエチレンセチルエーテルであり、

前記成分 A 3 が、オキシエチレン基の平均付加モル数が 1 3 であるポリオキシエチレンオレイルエーテルである、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のヘモグロビン類測定用試薬。

[請求項5]

前記非イオン性界面活性剤を含み、

前記非イオン性界面活性剤の含有量が、0.01 重量%以上 1.0 重量%以下である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のヘモグロビン類測定用試薬。

[請求項6]

前記両性界面活性剤を含み、

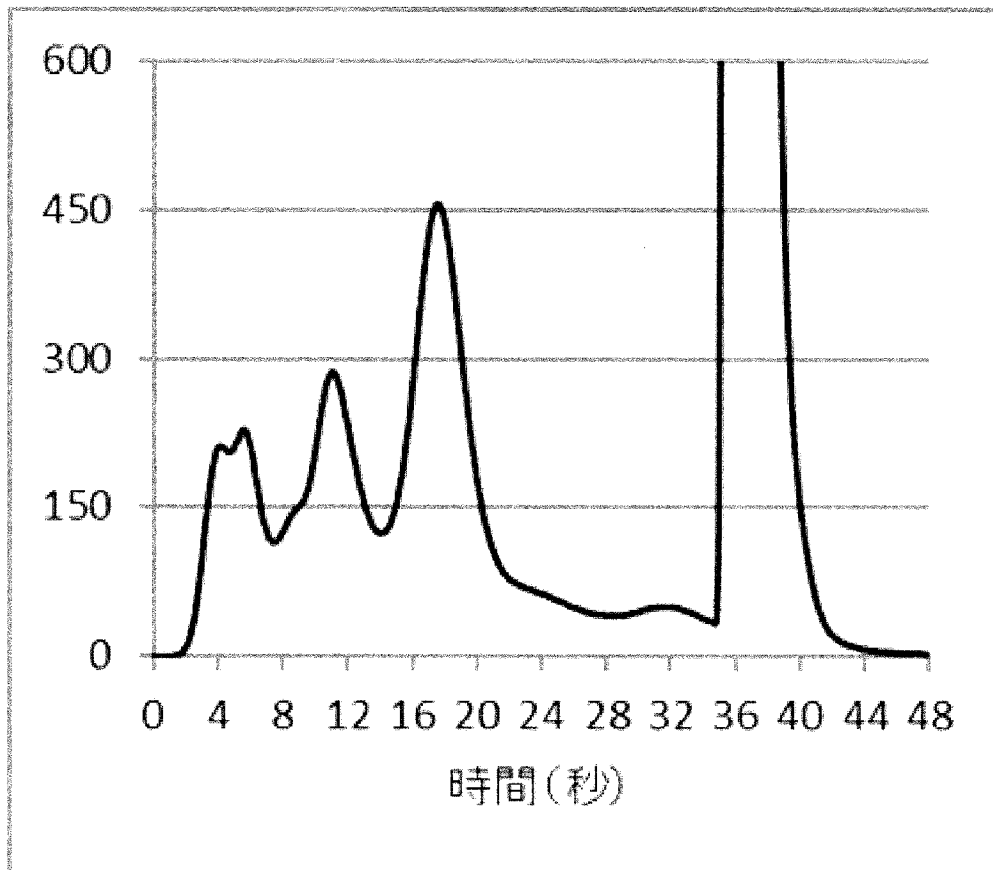
前記両性界面活性剤の含有量が、0.01 重量%以上 1.0 重量%以下である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のヘモグロビン類測定用試薬。

[請求項7]

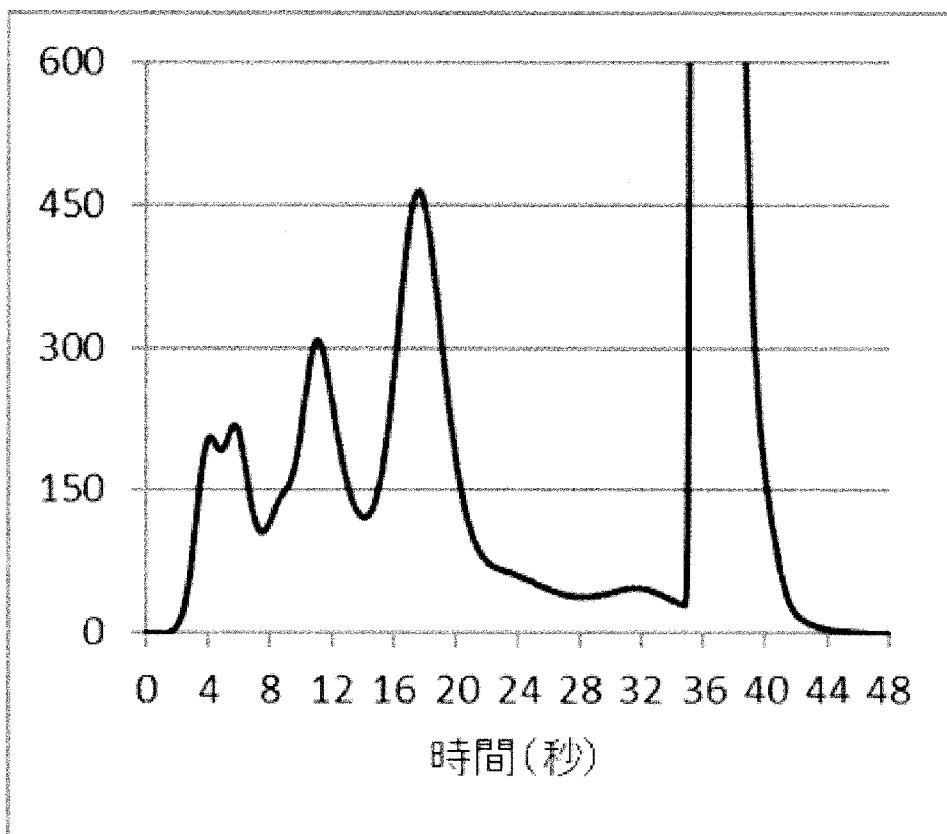
赤血球含有検体と、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のヘモグロビン類測定用試薬とを混合して混合液を得る工程と、

前記混合液を陽イオン交換液体クロマトグラフィーにより測定する工程とを備える、ヘモグロビン類の測定方法。

[図1]

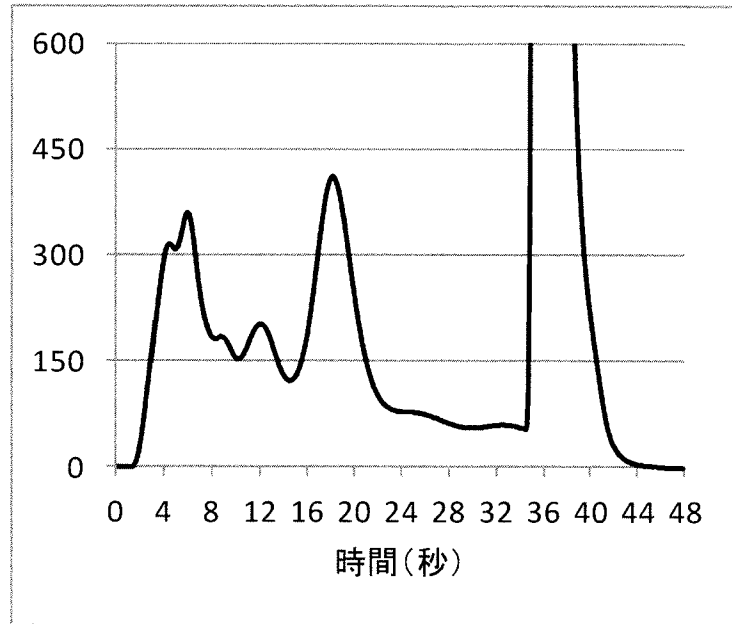


[図2]

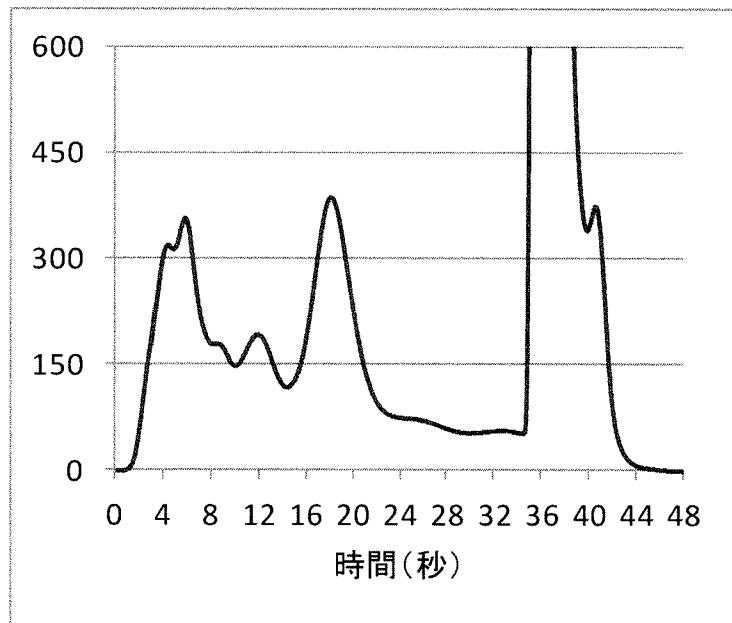


[図3]

(a)

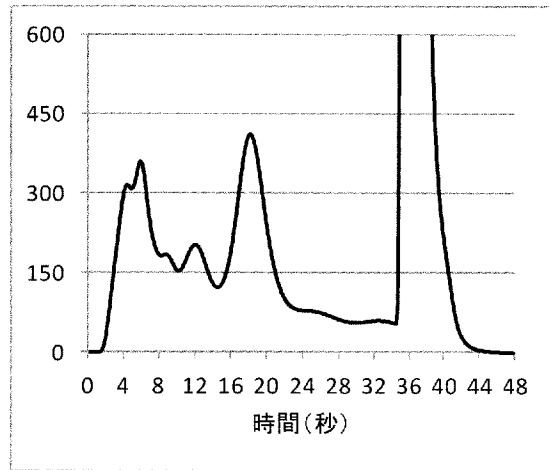


(b)

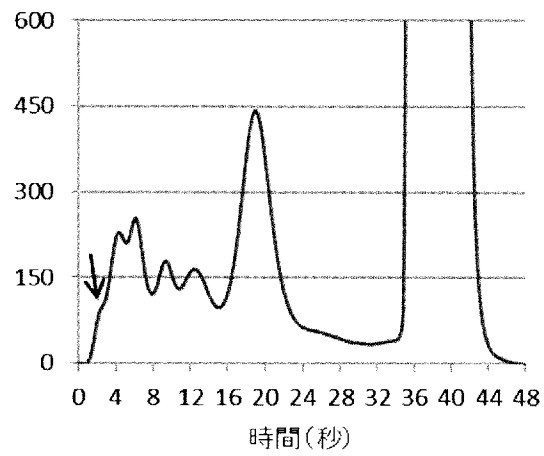


[図4]

(a)

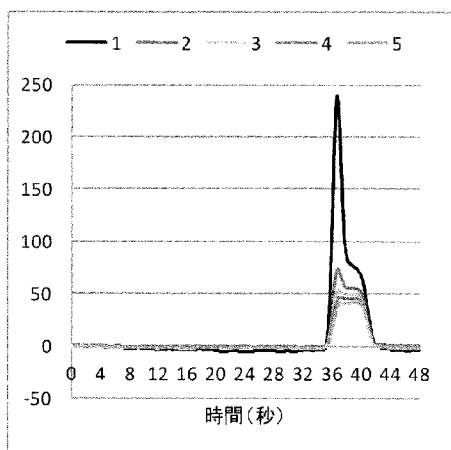


(b)

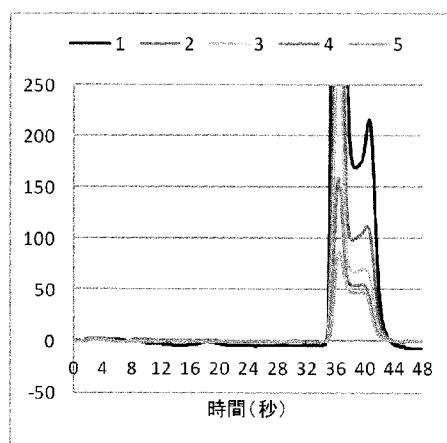


[図5]

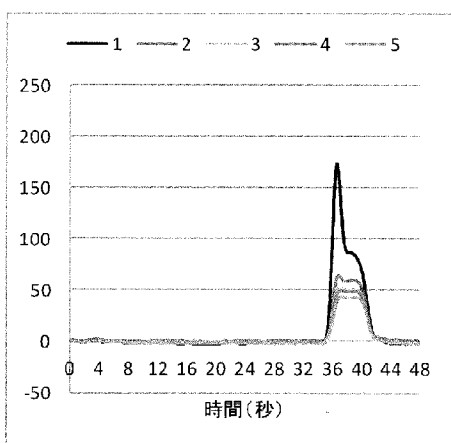
(a)



(c)

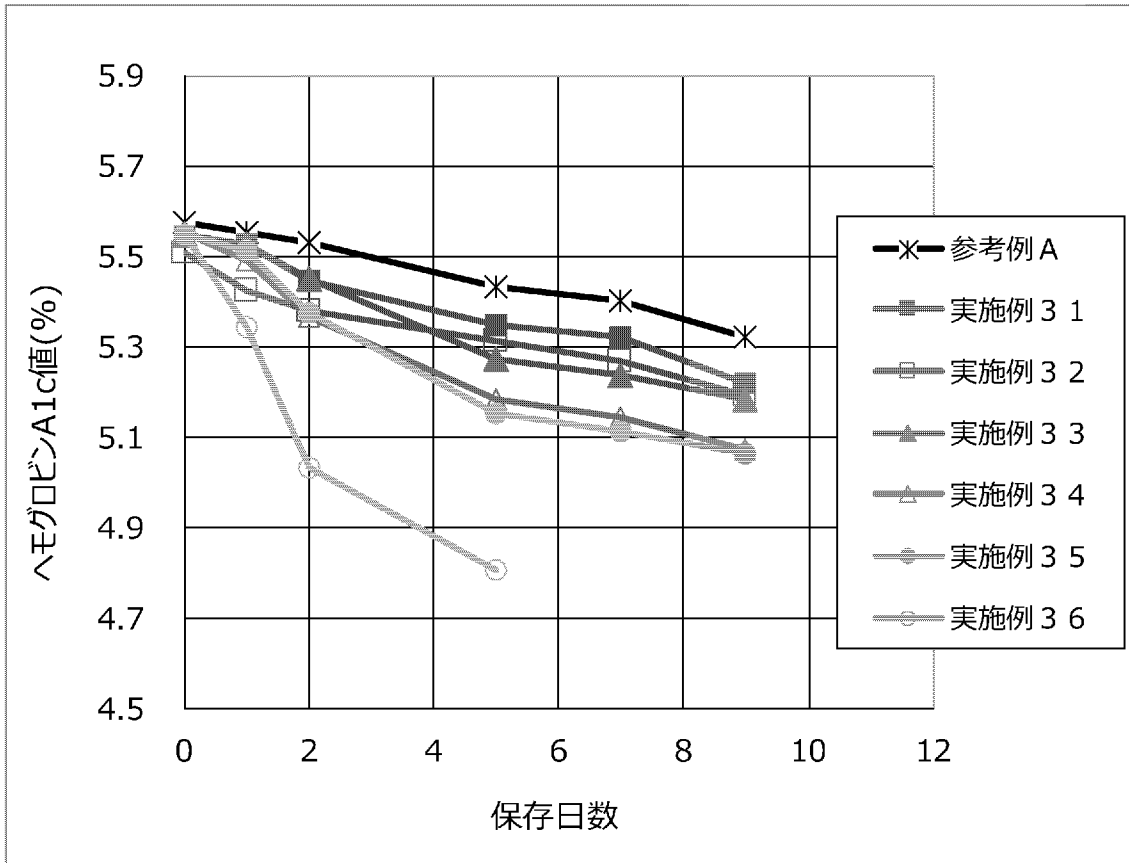


(b)

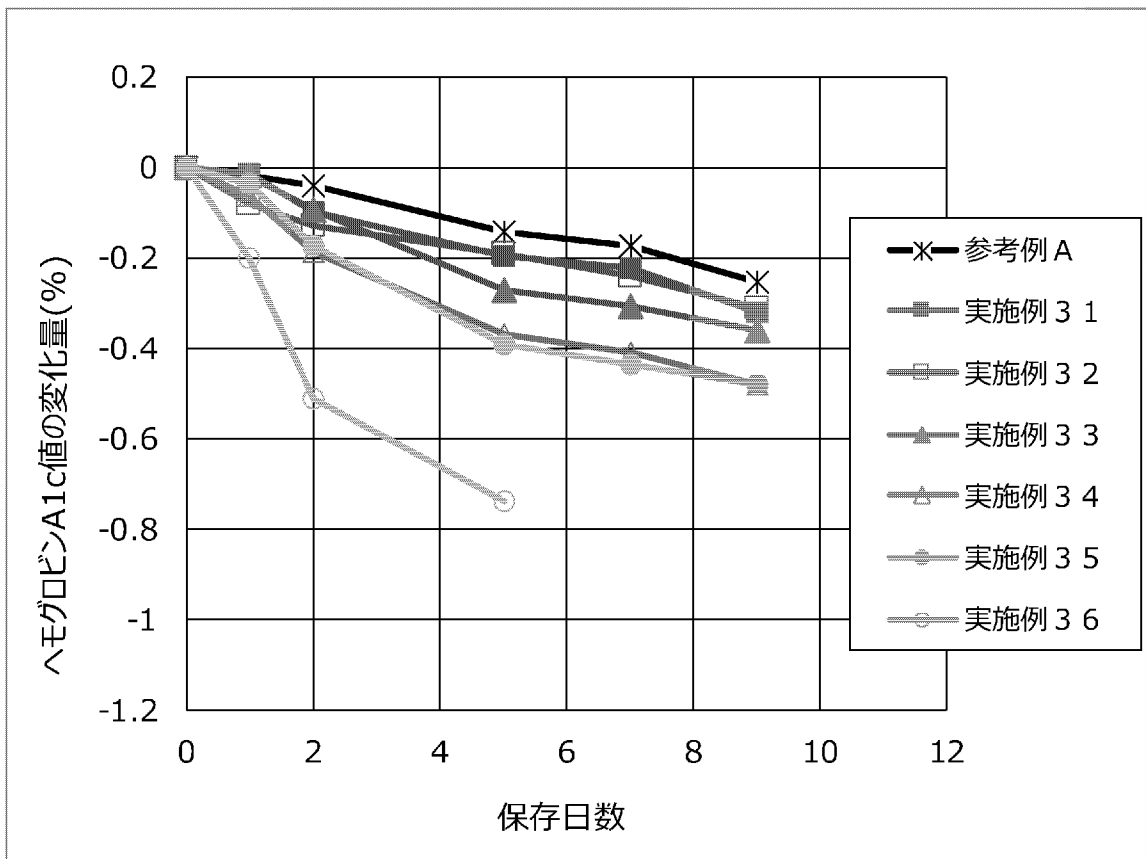


[図6]

(a)

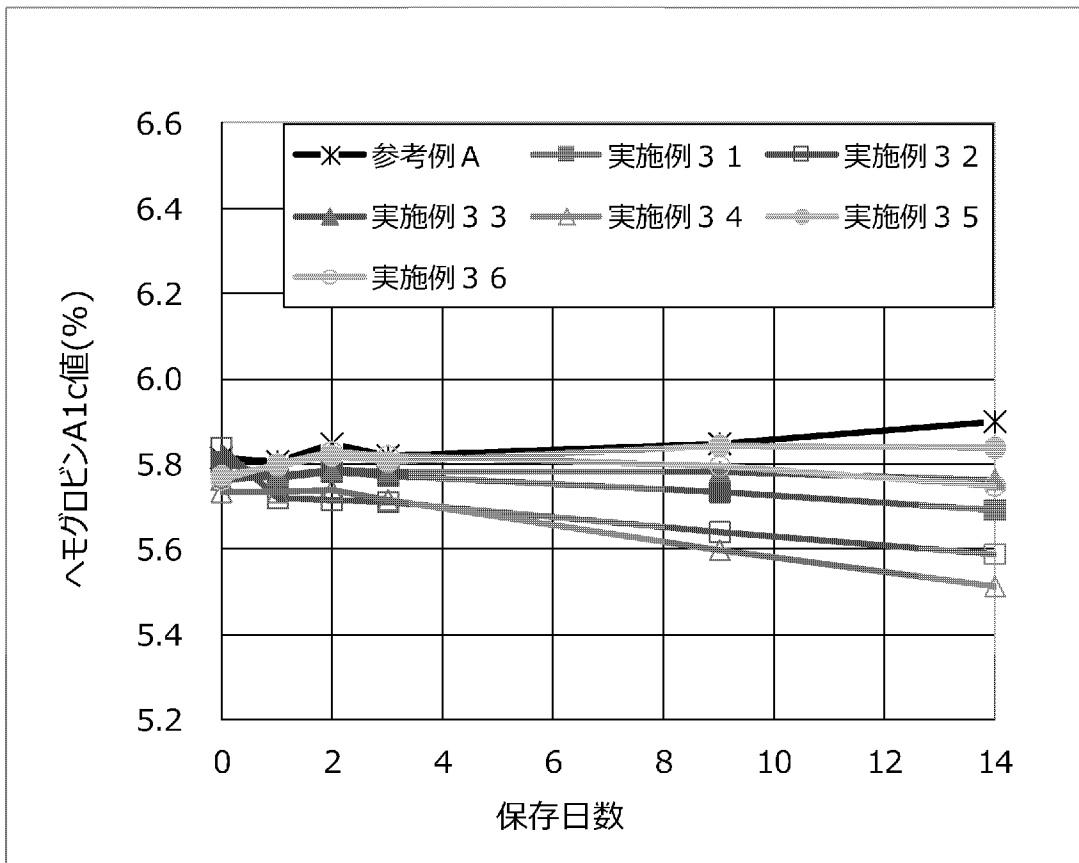


(b)

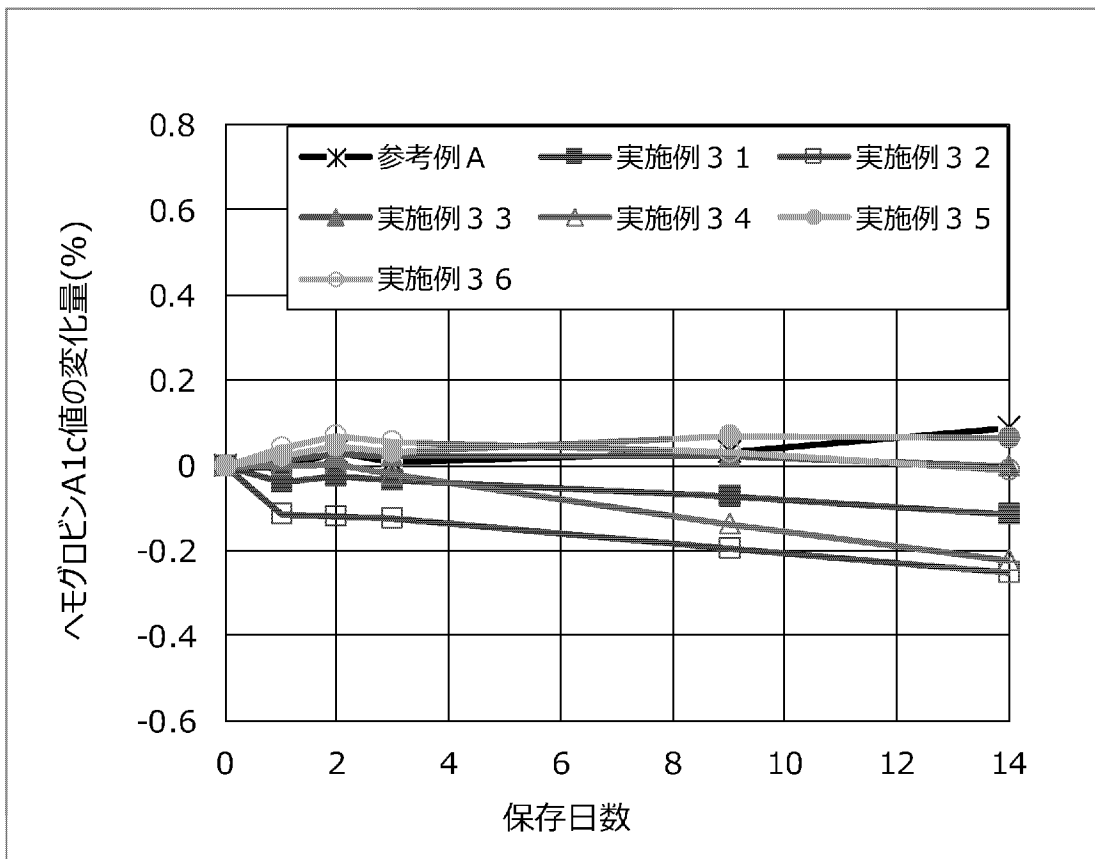


[図7]

(a)

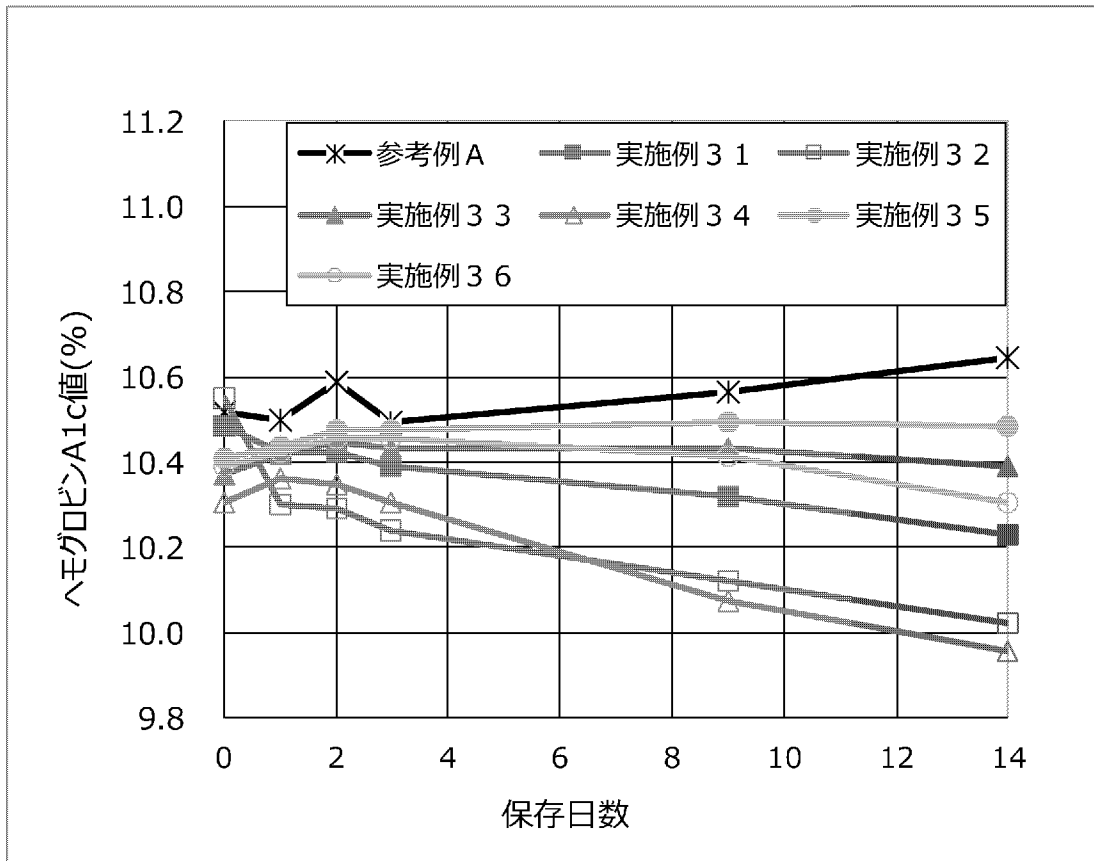


(b)

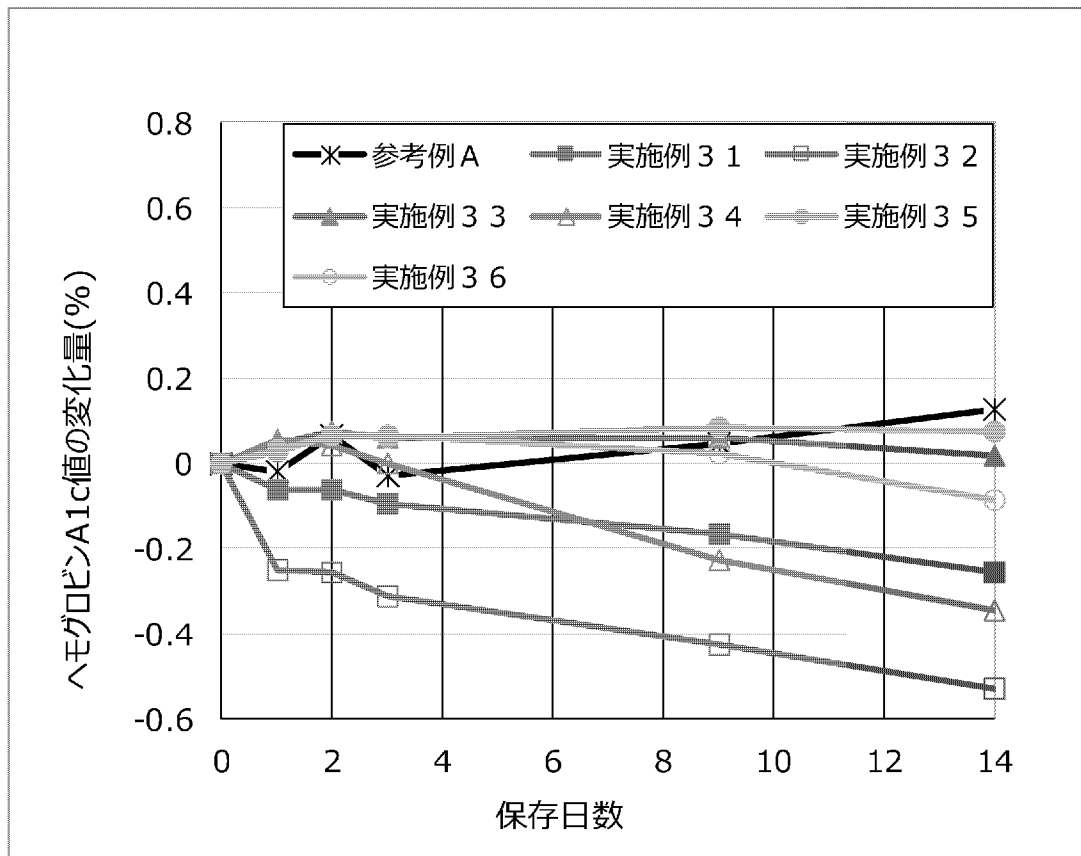


[図8]

(a)

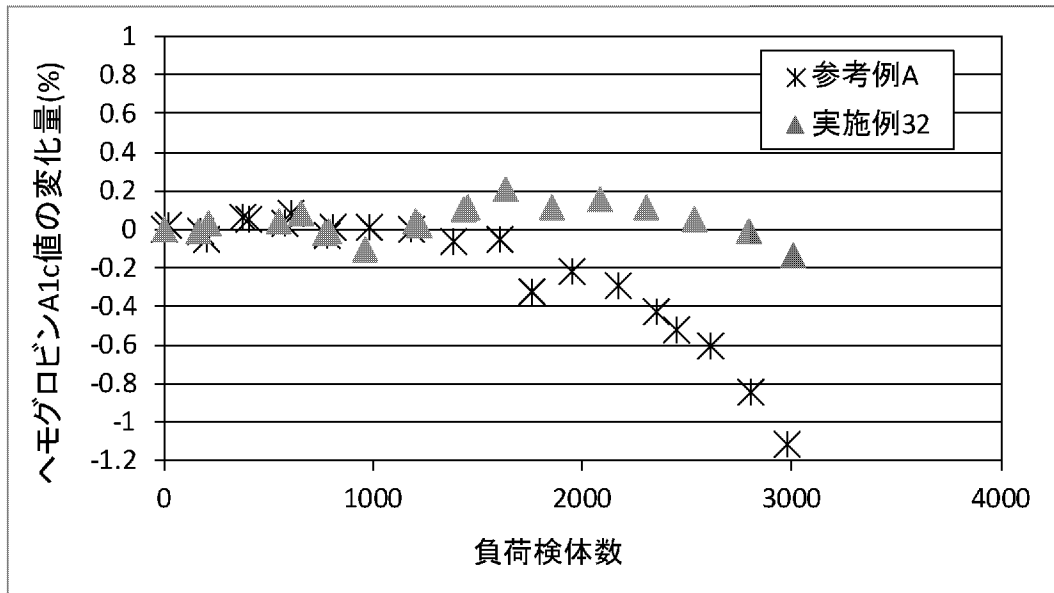


(b)

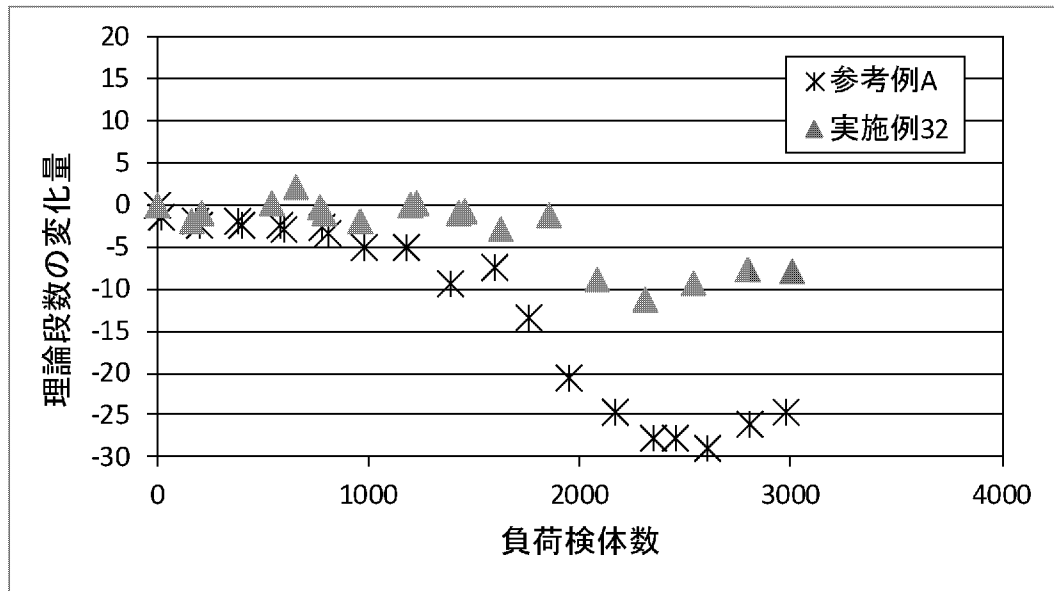


[図9]

(a)



(b)



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2019/034972

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 Int.Cl. G01N30/06 (2006.01) i, G01N30/88 (2006.01) i

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)  
 Int.Cl. G01N30/02, G01N30/06, G01N30/88, G01N33/49, G01N33/72, G01N1/28, G01N1/38

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	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

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.
Y	JP 2003-344372 A (ARKRAY, INC.) 03 December 2003, claims, paragraphs [0001], [0020], [0028]-[0029] (Family: none)	1-2, 5, 7
Y	JP 2012-27014 A (ARKRAY, INC., SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 09 February 2012, claims, paragraph [0019] & US 2012/0015388 A1, claims, paragraph [0066] & EP 2400034 A1 & CN 102297801 A	1, 4-5, 7

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

* Special categories of cited documents:	"I" 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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 12 November 2019 (12.11.2019)	Date of mailing of the international search report 26 November 2019 (26.11.2019)
--	---

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/034972

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2018/008447 A1 (TOSOH CORP.) 11 January 2018, paragraphs [0003], [0015], [0023] & JP 2018-4606 A & EP 3483603 A1, paragraphs [0003], [0015], [0027]	1-2, 4-5, 7
A	JP 1-277755 A (SEKISUI CHEMICAL CO., LTD.) 08 November 1989, claims, examples 1, 3-2 (Family: none)	1-7
A	JP 2007-163182 A (FUJIFILM CORP.) 28 June 2007, claims, paragraphs [0025], [0046] (Family: none)	1-7
A	JP 2014-25918 A (ARKRAY, INC.) 06 February 2014, claims, paragraph [0097] no. 2, 4, 13 & US 2013/0344480 A1, claims, table 1 & EP 2677317 A1 & CN 103513021 A	1-7
A	WO 2009/116268 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 24 September 2009, claims, paragraph [0050] & US 2011/0091993 A1, claims, paragraphs [0108]-[0110] & EP 2256497 A1	1-7
A	JP 2013-36959 A (TOYOBO CO., LTD.) 21 February 2013, claims, paragraph [0042], experimental no. 5, 15-16 (Family: none)	1-7
A	JP 2014-235076 A (HITACHI HIGH-TECHNOLOGIES CORP.) 15 December 2014, claims, paragraph [0038] (Family: none)	1-7
A	JP 2004-77457 A (ASAHI KASEI PHARMA CORPORATION) 11 March 2004, paragraph [0091] (Family: none)	1-7
A	WO 2012/153773 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 15 November 2012, claims, paragraph [0047] & US 2014/0080158 A1, claims, paragraphs [0069]-[0074] & EP 2708893 A1 & CA 2835068 A1 & CN 103502813 A & KR 10-2014-0033365 A	1-7
A	JP 9-511575 A (ABBOTT LABORATORIES) 18 November 1997, claims, example 1 & US 5612223 A & WO 1995/024651 A1, claims, example 1 & EP 749583 A1 & AU 1984295 A & CA 2183558 A1	1-7

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2019/034972

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
See extra sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2019/034972

&lt;Continuation of Box No. III&gt;

(Invention 1) Invention including any one among a component A1 to a component A6 in claims 1-7

The invention understood by selecting the first option of claim 1 (hereinafter, referred to as "the first described invention") includes a nonionic surfactant, wherein the nonionic surfactant is a component A1, which is a reagent for measuring hemoglobin used to measure hemoglobin by a cation exchange liquid chromatography.

In addition, the invention including any one among a component A2 to a component A6 in claim 1 and the first described invention share the common technical feature of including a nonionic surfactant, wherein the nonionic surfactant is a an aliphatic hydrocarbon ether having a polyoxyethylene structure, which is a reagent for measuring hemoglobin used to measure hemoglobin by a cation exchange liquid chromatography, and thus is classified as invention 1.

(Invention 2) Invention including a component A7 in claims 1-7

In claims 1-7, the invention including a component A7 and the invention classified as invention 1 share the common technical feature of a reagent which includes a nonionic surfactant and is for measuring hemoglobin used to measure hemoglobin by a cation exchange liquid chromatography.

However, said technical feature does not make a contribution over the prior art in light of the disclosure of document 2 exemplified in paragraph [0005] of the present description and thus cannot be considered a special technical feature.

In addition, there are no other identical or corresponding special technical features between these inventions.

Furthermore, the invention including a component A7 in claims 1-7 is not substantially identical or equivalent to any of the claims classified as invention 1.

Therefore, the invention including a component A7 in claims 1-7 cannot be classified as invention 1.

(Invention 3) Invention including a component A8 in claims 1-7

The invention including a component A8 in claims 1-7 is the same as invention 2.

Furthermore, the invention including a component A7 in claims 1-7 is not substantially identical or equivalent to any invention classified as invention 1 or 2.

Therefore, the invention including a component A8 in claims 1-7 cannot be classified as invention 1 or 2.

(Invention 4) Invention including a component A9 in claims 1-7

The invention including a component A9 in claims 1-7 is the same as invention 2.

Furthermore, the invention including a component A9 in claims 1-7 is not substantially identical or equivalent to any invention classified as inventions 1-3.

Therefore, the invention including a component A9 in claims 1-7 cannot be classified as inventions 1-3.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/034972

(Invention 5) Invention including a positive surfactant in claims 1-7

The invention including a positive surfactant in claims 1-7 and the invention classified as inventions 1-4 share the common technical feature of a reagent which includes a surfactant and is for measuring hemoglobin used to measure hemoglobin by a cation exchange liquid chromatography, but said technical feature cannot be considered a special technical feature like invention 2.

In addition, there are no other identical or corresponding special technical features between these inventions.

Furthermore, the invention including a positive surfactant in claims 1-7 is not substantially identical or equivalent to any invention classified as inventions 1-4.

Therefore, the invention including a positive surfactant in claims 1-7 cannot be classified as inventions 1-4.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N30/06(2006.01)i, G01N30/88(2006.01)i		
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. G01N30/02, G01N30/06, G01N30/88, G01N33/49, G01N33/72, G01N1/28, G01N1/38		
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 1971-2019年 日本国実用新案登録公報 1996-2019年 日本国登録実用新案公報 1994-2019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
Y	JP 2003-344372 A (アークレイ株式会社) 2003.12.03, [特許請求の範囲], [0001], [0020], [0028] - [0029] (ファミリーなし)	1-2, 5, 7
Y	JP 2012-27014 A (アークレイ株式会社, 積水メディカル株式会社) 2012.02.09, [特許請求の範囲], [0019] & US 2012/0015388 A1, Claims, [0066] & EP 2400034 A1 & CN 102297801 A	1, 4-5, 7
<input checked="" 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 12.11.2019	国際調査報告の発送日 26.11.2019	
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) 倉持 俊輔 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J   3209

C (続き) . 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
Y	WO 2018/008447 A1 (東ソー株式会社) 2018.01.11, [0003], [0015], [0023] & JP 2018-4606 A & EP 3483603 A1, [0003], [0015], [0027]	1-2, 4-5, 7
A	JP 1-277755 A (積水化学工業株式会社) 1989.11.08, 特許請求の範囲, 実施例1, 実施例3-2 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2007-163182 A (富士フイルム株式会社) 2007.06.28, [特許請求の範囲], [0025], [0046] (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2014-25918 A (アークレイ株式会社) 2014.02.06, [特許請求の範囲], [0097] No. 2, 4, 13 & US 2013/0344480 A1, Claims, TABLE1 & EP 2677317 A1 & CN 103513021 A	1-7
A	WO 2009/116268 A1 (積水メディカル株式会社) 2009.09.24, 請求の範囲, [0050] & US 2011/0091993 A1, Claims, [0108]-[0110] & EP 2256497 A1	1-7
A	JP 2013-36959 A (東洋紡株式会社) 2013.02.21, [特許請求の範囲], [0042] 実験番号5, 15-16 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2014-235076 A (株式会社日立ハイテクノロジーズ株式会社) 2014.12.15, [特許請求の範囲], [0038] (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2004-77457 A (旭化成ファーマ株式会社) 2004.03.11, [0091] (ファミリーなし)	1-7
A	WO 2012/153773 A1 (積水メディカル株式会社) 2012.11.15, 請求の範囲, [0047] & US 2014/0080158 A1, Claims, [0069]-[0074] & EP 2708893 A1 & CA 2835068 A1 & CN 103502813 A & KR 10-2014-0033365 A	1-7
A	JP 9-511575 A (アボット・ラボラトリーズ) 1997.11.18, [特許請求の範囲], 実施例1 & US 5612223 A & WO 1995/024651 A1, Claims, EXAMPLE1 & EP 749583 A1 & AU 1984295 A & CA 2183558 A1	1-7

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求項 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2.  請求項 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。  
特別ページ参照。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

(発明1) 請求項1-7のうち、成分A1~成分A6のいずれかを含む発明

請求項1の最初の選択肢を選んで把握される発明(以下「最初に記載された発明」という。)は、非イオン性界面活性剤を含み、前記非イオン性界面活性剤が、成分A1である陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられるヘモグロビン類測定用試薬である。

そして、請求項1の成分A2~成分A6のいずれかを含む発明は、最初に記載された発明と、非イオン性界面活性剤を含み、非イオン性界面活性剤が、ポリオキシエチレン構造を有する脂肪族炭化水素エーテルである陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられるヘモグロビン類測定用試薬という共通の技術的特徴を有しているので、発明1に区分する。

(発明2) 請求項1-7のうち、成分A7を含む発明

請求項1-7のうち、成分A7を含む発明は、発明1に区分された発明と、非イオン性界面活性剤を含む陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられるヘモグロビン類測定用試薬という共通の技術的特徴を有している。

しかしながら、当該技術的特徴は、本願明細書[0005]に挙げられた特許文献2にも記載されているとおり、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、特別な技術的特徴であるとはいえない。

また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

さらに、請求項1-7のうち、成分A7を含む発明は、発明1に区分されたいずれの発明に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項1-7のうち、成分A7を含む発明は、発明1に区分できない。

(発明3) 請求項1-7のうち、成分A8を含む発明

請求項1-7のうち、成分A8を含む発明についても発明2と同様である。

また、請求項1-7のうち、成分A7を含む発明は、発明1又は2に区分されたいずれの発明に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項1-7のうち、成分A8を含む発明は、発明1又は2に区分できない。

(発明4) 請求項1-7のうち、成分A9を含む発明

請求項1-7のうち、成分A9を含む発明についても発明2と同様である。

また、請求項1-7のうち、成分A9を含む発明は、発明1-3に区分されたいずれの発明に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項1-7のうち、成分A9を含む発明は、発明1-3に区分できない。

(発明5) 請求項1-7のうち、両性界面活性剤を含む発明

請求項1-7のうち、両性界面活性剤を含む発明は、発明1-4に区分された発明と、界面活性剤を含む陽イオン交換液体クロマトグラフィーによりヘモグロビン類を測定するために用いられるヘモグロビン類測定用試薬という共通の技術的特徴を有しているが、当該技術的特徴は、発明2と同様に特別な技術的特徴であるとはいえない。

また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

さらに、請求項1-7のうち、両性界面活性剤を含む発明は、発明1-4に区分されたいずれの発明に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項1-7のうち、両性界面活性剤を含む発明は、発明1-4に区分できない。