

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2007年10月4日 (04.10.2007)

PCT

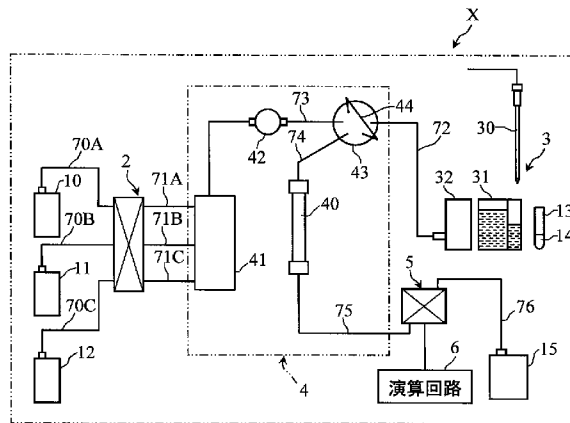
(10) 国際公開番号
WO 2007/111282 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/27 (2006.01) G01N 30/88 (2006.01)
G01N 30/74 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2007/056110
- (22) 国際出願日: 2007年3月23日 (23.03.2007)
- (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2006-082095 2006年3月24日 (24.03.2006) JP
- (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]; 〒6018045 京都府京都市南区東九条西明田町5-7 Kyoto (JP).
- (72) 発明者; および
- (73) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 杉山 幸司 (SUGIYAMA, Koji) [JP/JP]; 〒6018045 京都府京都市南区東九条西明田町5-7 アークレイ株式会社内 Kyoto (JP). 酒井 敏克 (SAKAI, Toshikatsu) [JP/JP]; 〒6018045 京都府京都市南区東九条西明田町5-7 アークレイ株式会社内 Kyoto (JP).
- (74) 代理人: 塩谷 隆嗣 (SHIOTANI, Takashi); 〒5500013 大阪府大阪市西区新町1-10-7-401 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG,

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF MEASURING GLYCOHEMOGLOBIN CONCENTRATION AND APPARATUS FOR CONCENTRATION MEASUREMENT

(54) 発明の名称: グリコヘモグロビン濃度測定方法および濃度測定装置



6 ARITHMETIC CIRCUIT

(57) Abstract: In measuring a glycohemoglobin concentration, a plural number of wavelengths are selected from a wavelength range of 400 to 450 nm. In a preferable case, lights having different peak wavelengths within a wavelength range of 415 to 430 nm are continuously or intermittently received by using liquid chromatography and thus a three-dimensional chromatogram having wavelength, elution time and detection level as variables is obtained. Based on this three-dimensional chromatogram, the glycohemoglobin concentration is calculated.

(57) 要約: グリコヘモグロビン濃度を測定する場合に、測定波長として400~450nmの波長範囲から複数の波長を選択する。好ましくは、液体クロマトグラフィを利用して、少なくとも

[続葉有]



WO 2007/111282 A1



MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- (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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,

添付公開書類:

— 国際調査報告書

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。

明 細 書

グリコヘモグロビン濃度測定方法および濃度測定装置

技術分野

[0001] 本発明は、血液などの試料に含まれるグリコヘモグロビンの濃度を測定する技術に関する。

背景技術

[0002] 血液などの生体試料を用いて生体成分を分離分析する場合には、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を利用した高速液体クロマトグラフィ装置(HPLC装置)が広く用いられている(たとえば特許文献1参照)。

[0003] 図13に示したように、一般的なHPLC装置9は、試料調製ユニット90において生体成分を含んだ試料を調製した後にその試料を分析カラム91に導入させ、生体成分を分析カラム91の充填剤に吸着させるように構成されている。試料として全血を用いてグリコヘモグロビンを測定する場合には、分析カラム91に対しては、全血から採取した赤血球を溶血させた後に、溶血液を希釈した状態の生体試料が導入される。その一方で、充填剤に吸着させた生体成分は、送液ポンプ92によって溶離液ボトル93から分析カラム91に溶離液を供給することによって溶離させられる。分析カラム91からの生体成分を含む溶離液は、測光機構94に導入され、この測光機構94において生体成分を含む溶離液の吸光度を連続的に測定することにより、生体成分の分析が行なわれる。

[0004] 図14に示したように、測光機構94は、生体成分を含む溶離液が測光セル95の流路96を流通する間に、光源97からの光を照射し、そのときの透過光を受光部98において受光するものである。受光部98において受光させる光の波長は、干渉フィルタ99において選択される一方で、受光部98からは受光量に応じた出力レベルの信号が出力される。測光機構94における溶離液の測光は連続的に行なわれるため、溶離時間と受光量(吸光度)との関係は、図15に示したようなクロマトグラムとして得られる。

[0005] HPLC装置9ではさらに、吸光度の経時的変化であるクロマトグラムに基づいて、へ

モグロビン総量を演算するとともに、このヘモグロビン総量におけるグリコヘモグロビンが占める割合(図15においてクロスハッチングで示した部分)としてグリコヘモグロビン濃度が演算される。

[0006] しかしながら、溶離液への酸素などの気体の溶解量は、溶離液の温度によって異なるため、装置外部の温度(環境温度)が変動した場合、あるいは環境温度が異なる状態で生体成分の分析を行なった場合には、溶離液中の溶存気体の状態(溶解量)が異なったものとなる。そのため、溶離液中の溶存酸素濃度が環境温度の変動などに伴って変動した場合には、ヘモグロビン中のオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率が変動する。また、分析カラム91に導入される生体試料においても、各回の測定ごとにヘモグロビン中のオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率が変動する。

[0007] その一方で、分析カラム91に導入する生体試料として、溶血液を希釈して酸素が比較的多い状態のものを使用することから、測光機構94においては、オキシヘモグロビンの最大吸収波長である415nmを測定波長として採用している。そのため、環境温度の変化が大きな環境下などでは、オキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率が異なったものとなるため、それらを同一の波長において測定する場合には正確な測定が困難となる。

[0008] 特許文献1:特開平7-120447号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明は、オキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率が異なる場合であっても、グリコヘモグロビンの濃度を適切に測定できるようにすることを課題としている。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明の第1の側面において提供されるグリコヘモグロビン濃度測定方法は、試料に対して光を照射したときに試料から進行してくる光に基づいてグリコヘモグロビン濃度を測定する方法であって、400~450nmの波長範囲にピーク波長を有する複数の測定波長の光に基づいてグリコヘモグロビンの濃度を測定することを特徴としてい

る。

- [0011] 好ましくは、試料から進行してくる光のうち、少なくとも415～430nmの波長範囲における異なるピーク波長の光を連続的または間欠的を受光してグリコヘモグロビン濃度を測定する。
- [0012] 本発明は、液体クロマトグラフィを利用したグリコヘモグロビン濃度の測定方法に適用することができる。その場合、グリコヘモグロビン濃度は、たとえば測定波長、溶離時間および検出量を変数とする3次元クロマトグラムに基づいて演算される。より具体的には、たとえば、グリコヘモグロビン濃度は、上記3次元クロマトグラムでのヘモグロビン総量に対応する体積または積算値におけるグリコヘモグロビンに対応する体積または積算値が占める割合として演算される。グリコヘモグロビン濃度は、各測定波長における溶離時間と検出量とを変数とするクロマトグラムからグリコヘモグロビンの割合を演算するとともに、各測定波長におけるグリコヘモグロビンの割合を平均することにより演算してもよい。
- [0013] グリコヘモグロビン濃度は、各測定波長におけるヘモグロビンの検出量のピーク値と、溶離時間と、の2次元クロマトグラムにおいて、ヘモグロビン総量に対応する面積におけるグリコヘモグロビンに対応する面積が占める割合として演算することもできる。
- [0014] グリコヘモグロビン濃度は、試料から進行してくる400～420nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第1光量と、試料から進行してくる420～440nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第2光量と、に基づいて測定することもできる。この場合、グリコヘモグロビン濃度は、上記第1光量に基づいてオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を算出する一方で、上記第2光量に基づいてデオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を算出し、かつ、オキシヘモグロビン濃度とデオキシヘモグロビン濃度とを合算し、あるいはオキシヘモグロビン濃度に相関する値とデオキシヘモグロビン濃度に相関する値とを合算することで演算することができる。
- [0015] 本発明のグリコヘモグロビン濃度方法が液体クロマトグラフィを利用したものである場合において、上記第1光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示す

オキシヘモグロビンに対応した第1クロマトグラムと、第2光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示すデオキシヘモグロビンに対応した第2クロマトグラムと、を重ね合わせたクロマトグラムに基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算するようにしてもよい。

[0016] 上記試料は、たとえば血球を溶血させものである。

[0017] 本発明の第2の側面では、光源からの光を試料に照射し、そのときに試料から進行してくる光を受光部において受光する測光機構を備えたグリコヘモグロビン濃度測定装置であって、上記測光機構は、400～450nmの波長範囲にピーク波長を有する複数の波長の光を区別して、受光部において受光させることができるように構成されていることを特徴とする、グリコヘモグロビン濃度測定装置が提供される。

[0018] 好ましくは、受光部は、少なくとも415～430nmの波長範囲における異なるピーク波長の光を連続的または間欠的を受光できるように構成される。

[0019] 本発明は、液体クロマトグラフィを利用したグリコヘモグロビン濃度の測定装置に適用することができる。この場合のグリコヘモグロビン濃度測定装置は、波長と溶離時間と検出量とを変数とする3次元クロマトグラムに基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算するように構成された演算部をさらに備えたものとされる。

[0020] 演算部は、たとえば上記3次元クロマトグラムでのヘモグロビン総量に対応する体積または積算値におけるグリコヘモグロビンに対応する体積または積算値が占める割合としてグリコヘモグロビン濃度を演算するように構成されている。より具体的には、演算部は、たとえば上記3次元クロマトグラムに基づいて得られる溶離時間と検出量のピーク値とを変数とする2次元クロマトグラムにおいて、ヘモグロビン総量に対応する面積におけるグリコヘモグロビンに対応する面積が占める割合としてグリコヘモグロビン濃度を演算するように構成される。演算部はまた、各ピーク波長における溶離時間と検出量とを変数とするクロマトグラムからグリコヘモグロビンの割合を演算するとともに、各ピーク波長におけるグリコヘモグロビンの割合を平均することによりグリコヘモグロビン濃度を演算するように構成してもよく、各ピーク波長におけるヘモグロビンの検出量のピーク値と、溶離時間と、の2次元クロマトグラムにおいて、ヘモグロビン総量に対応する面積におけるグリコヘモグロビンに対応する面積が占める割合として演算する

ように構成することもできる。

[0021] 本発明のグリコヘモグロビン濃度測定装置は、試料から進行してくる400～420nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第1光量と、試料から進行してくる420～440nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第2光量と、に基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算する演算部を備えたものとすることもできる。演算部は、たとえば上記第1光量に基づいてオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を算出する一方で、上記第2光量に基づいてデオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を算出し、かつ、上記オキシヘモグロビン濃度と上記デオキシヘモグロビン濃度とを合算し、あるいは上記オキシヘモグロビン濃度に相関する値と上記デオキシヘモグロビン濃度に相関する値とを合算してヘモグロビン濃度を演算するように構成される。

[0022] 本発明のグリコヘモグロビン濃度装置が液体クロマトグラフィを利用したものである場合において、演算部は、上記第1光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示すオキシヘモグロビンに対応した第1クロマトグラムと、上記第2光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示すデオキシヘモグロビンに対応した第2クロマトグラムと、を重ね合わせたクロマトグラムに基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算するように構成してもよい。

[0023] 上記試料は、たとえば血球を溶血させものである。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]本発明の第1の実施の形態に係るグリコヘモグロビン測定装置の一例であるHPLC装置を示す概略構成図である。

[図2]図1に示したHPLC装置における測光機構を説明するための断面図である。

[図3]図1に示したHPLC装置の要部を示すブロック図である。

[図4]図1に示したHPLC装置の動作を説明するためのフローチャートである。

[図5]図1に示したHPLC装置における演算回路での濃度測定処理を説明するためのフローチャートである。

[図6]演算回路において得られる3次元クロマトグラムの一例である。

[図7]本発明の第2の実施の形態における演算回路での濃度測定処理を説明するた

めのフローチャートである。

[図8]図8Aは特定時間における測定波長と吸光度との関係を示すグラフであり、図8Bは特定時間における最大吸光度により作成した2次元クロマトグラムである。

[図9]本発明の第3の実施の形態における演算回路での濃度測定処理を説明するためのフローチャートである。

[図10]測定波長が415nmの場合(1点鎖線)、測定波長が430nmの場合(鎖線)、および測定波長が415nmのときの吸光度と430nmのときの吸光度とを合算した場合(実線)の2次元クロマトグラムである。

[図11]実施例1における環境温度とグリコヘモグロビン濃度と関係を示すグラフである。

[図12]比較例1における環境温度とグリコヘモグロビン濃度と関係を示すグラフである。

[図13]従来のグリコヘモグロビン測定装置の一例であるHPLC装置を示す概略構成図である。

[図14]図13に示したHPLC装置における測光機構を説明するための断面図である。

[図15]図13に示したHPLC装置において得られるクロマトグラムの一例である。

符号の説明

- [0025] X HPLC装置(グルコヘモグロビン測定装置)
- 5 測光機構
- 51 (測光機構の)光源
- 53B (測光機構の)受光素子(受光部)
- 61 演算部

発明を実施するための最良の形態

- [0026] 以下においては、本発明の第1ないし第3の実施の形態について、図面を参照して具体的に説明する。
- [0027] まず、本発明の第1の実施の形態について、図1ないし図6を参照して説明する。
- [0028] 図1に示したHPLC装置Xは、本発明のグリコヘモグロビン濃度測定装置の一例に相当するものであり、全血を用いてグリコヘモグロビン濃度を測定するように構成され

たものである。このHPLC装置Xは、複数の溶離液ボトル10, 11, 12(図面上は3つ)、脱気装置2、試料調製ユニット3、分析ユニット4、測光機構5および演算回路6を備えている。

[0029] 各溶離液ボトル10, 11, 12は、後述する分析カラム40に供給すべき溶離液を保持したものである。溶離液としては、たとえばpHや塩濃度の異なるバッファが使用される。

[0030] 脱気装置2は、分析ユニット4(分析カラム40)に溶離液を供給する前に、溶離液から溶存気体を除去するためのものであり、配管70A, 70B, 70Cを介して溶離液ボトル10, 11, 12に、配管71A, 71B, 71Cを介して分析ユニット4のマニホール41に連結されている。

[0031] 図1に示したように、試料調製ユニット3は、採血管13から採取した血球成分から、分析カラム40に導入する試料を調製するためのものである。この試料調製ユニット3は、サンプリングノズル30、調製液タンク31および希釈槽32を有している。

[0032] サンプリングノズル30は、採血管13の血液試料14をはじめとする各種の液体を採取するためのものであり、液体の吸引・吐出が可能であるとともに、上下方向および水平方向に移動可能とされている。このサンプリングノズル30の動作は、図外の制御手段によって制御されている。

[0033] 調製液タンク31は、血液試料14をもとに、分析カラム40に導入する導入用試料を調製するための調製液を保持したものである。この調製液タンク31には、調製液として、赤血球の溶血させるための溶血液、溶血液を希釈するための希釈液などが保持されている。

[0034] 希釈槽32は、血液試料14中の赤血球を溶血させ、かつ溶血液を希釈して導入用試料を調製する場を提供するためのものである。この希釈槽32は、後述する分析ユニット4におけるインジェクションバルブ43に配管72を介して接続されており、希釈槽32において調製された導入用試料がインジェクションバルブ43を介して分析カラム40に導入できるように構成されている。

[0035] 分析ユニット4は、分析カラム40の充填剤に対する生体成分の吸着・溶離をコントロールし、各種の生体成分を測光機構5に供するためのものであり、図外の温調機構

により温度コントロールされている。分析ユニット4における設定温度は、たとえば40℃程度とされる。分析カラム40は、試料中のヘモグロビンを選択的に吸着させるための充填剤を保持させたものである。充填剤としては、たとえばメタクリル酸エステル共重合体を使用される。

[0036] 分析ユニット4は、分析カラム40の他に、マニホールド41、送液ポンプ42、およびインジェクションバルブ43を有している。

[0037] マニホールド41は、複数の溶離液ボトル10, 11, 12のうち特定の溶離液ボトル10, 11, 12から、インジェクションバルブ43に対して選択的に溶離液を供給させるためのものである。このマニホールド41は、配管71A, 71B, 71Cを介して脱気装置2に接続され、配管73を介してインジェクションバルブ43に接続されている。

[0038] 送液ポンプ42は、インジェクションバルブ43を介して溶離液を分析カラム40に移動させるための動力を付与するためのものであり、配管73の途中に設けられている。送液ポンプ42は、たとえば溶離液の流量が1.0~2.0ml/minとなるように動作させられる。

[0039] インジェクションバルブ43は、一定量の導入用試料を採取するとともに、その導入用試料を分析カラム40に導入可能とするものであり、複数の導入ポートおよび排出ポート(図示略)を備えている。このインジェクションバルブ43には、インジェクションループ44が接続されている。このインジェクションループ44は、一定量(たとえば数 μ L)の液体を保持可能なものであり、インジェクションバルブ43を適宜切り替えることにより、インジェクションループ44が希釈槽32と連通して希釈槽32からインジェクションループ44に導入用試料が供給される状態、インジェクションループ44が配管74を介して分析カラム40と連通してインジェクションループ44から導入用試料が分析カラム40に導入される状態、あるいはインジェクションループ44に図外の洗浄槽から洗浄液が供給される状態を選択することができる。このようなインジェクションバルブ43としては、たとえば六方バルブを使用することができる。

[0040] 図2に示したように、測光機構5は、分析カラム40からの溶離液に含まれるヘモグロビンを光学的に検出するためのものであり、測光セル50、光源51、ビームスプリッタ52、測定用受光系53および参照用受光系54を有している。

- [0041] 測光セル50は、測光エリアを規定するためのものである。この測光セル50は、導入流路50A、測光流路50Bおよび排出流路50Cを有しており、これらの流路50A、50B、50Cが一連に連通している。導入流路50Aは、分析カラム40(図1参照)からの溶離液を測光流路50Bに導入するためのものであり、分析カラム40に配管75を介して接続されている。測光流路50Bは、測光対象となる溶離液を流通させ、かつ溶離液を測光するための場を提供するものであり、直線状に形成されている。この測光流路50Bは、両端が開放しているとともに、両端部が透明カバー55により塞がれている。排出流路50Cは、測光流路50Bの溶離液を排出するためのものであり、配管76を介して廃液槽15に接続されている(図1参照)。
- [0042] 光源51は、測光流路50Bを流通する溶離液に光を照射するためのものである。この光源51は、光軸Lが測光流路50Bの中心を通過するように、測光流路50Bの端面50Ba(透明カバー55)に対面した状態で配置されている。光源51は、後述する演算部61(図3参照)における濃度演算手法に応じて出射可能な波長範囲が選択されるものであってもよいが、通常は、400~500nmの波長範囲の光を出射可能なもの、たとえばハロゲンランプが使用されている。もちろん、光源51としては、ハロゲンランプ以外のもの、たとえば1または複数のLED素子を備えたものを使用することもできる。
- [0043] ビームスプリッタ52は、光源51から出射された光のうち、測光流路50Bを透過した光を分割して測定用受光系53および参照用受光系54に入射させるためのものであり、光軸L上において、45度傾斜した状態で配置されている。ビームスプリッタ52としては、ハーフミラーなどの公知の種々のものを使用することができる。
- [0044] 測定用受光系53は、ビームスプリッタ52を透過した光のうち、目的とする波長の光を選択的に受光するものであり、光軸L上に配置されている。この測定用受光系53は、波長選択部53Aと、この波長選択部53Aを透過した光を受光するための受光素子53Bと、を備えている。波長選択部53Aは、後述する演算部61(図3参照)における濃度演算手法に応じて透過させるべき光の波長を選択するものである。この波長選択部53Aとしては、干渉フィルタ、シャープカットフィルタおよびクレーディングなどの公知の分光手段を採用することができる。受光素子53Bとしては、フォトダイオード

を使用することができる。

- [0045] 参照用受光系54は、分析カラム40(図1参照)からの溶離液の濁度や散乱の影響を抑制するためのデータを取得するためのものであり、ビームスプリッタ52において反射して光路が変えられた光のうち、参照波長である500nmの光を選択的に受光するものである。この測定用受光系74は、500nmの光を選択的に透過させる干渉フィルタ54Aと、干渉フィルタ54Aを透過した光を受光するための受光素子54Bと、を備えている。受光素子54Bとしては、フォトダイオードを使用することができる。
- [0046] 図3に示したように、演算回路6は、制御部60および演算部61を備えている。
- [0047] 制御部60は、各部の動作を制御するためのものである。より具体的には、制御部60は、光源51の点灯・消灯を制御し、波長選択部53Aを制御して受光素子53Bにおいて受光させる光の波長を選択し、あるいは演算部61における濃度演算処理を制御する。
- [0048] 演算部61は、受光素子53B, 54Bでの受光結果に基づいて、全血中のグリコヘモグロビン濃度を演算するためのものである。この演算部61は、演算に必要なプログラムを記憶したものであり、その動作は制御部60によって制御される。
- [0049] 次に、HPLC装置Xの動作について、図1ないし図3に加えて、図4に示したフローチャートを参照しつつ説明する。
- [0050] HPLC装置Xにおいては、測定開始の指示が確認された場合には(S1)、分析カラム40に対して溶離液を供給する(S2)。溶離液は、送液ポンプ42の動力により、溶離液ボトル10, 11, 12から脱気装置2、マニホールド41を介してインジェクションバルブ43に供給され、また複数の溶離液ボトル10, 11, 12のうちのいずれの溶離液ボトル10, 11, 12の溶離液を供給するかは、マニホールド41を制御することによって選択される。インジェクションバルブ43に供給された溶離液は、配管74を介して分析カラム40に供給される。
- [0051] HPLC装置Xにおいてはさらに、分析カラム40に導入すべき導入用試料を調製する(S3)。導入用試料の調製に当たっては、まず採血管13から血液試料14を採取する。採血管13からの血液試料14の採取は、サンプリングノズル30を動作させることにより行なわれる。サンプリングノズル30によって採取された血液試料14は、サンプリング

グノズル30を動作させることによって希釈槽32に供給される。希釈槽32にはさらに、調製液タンク31から溶血剤および希釈液が順次供給され、サンプリングノズル30を利用したピペッティング操作によって希釈槽32内の液体を混合することによって導入用試料が調製される。

[0052] 導入用試料は、分析カラム40に導入される(S4)。分析カラム40に対する導入用試料の導入は、インジェクションバルブ43の切替操作を行うことにより、インジェクションループ44の導入用試料が溶離液とともに分析カラム40に導入される。分析カラム40においては、導入用試料が導入されることにより、充填剤にグリコヘモグロビンが吸着する。充填剤にグリコヘモグロビンを吸着させた後においては、マニホールド41によって、分析カラム40に供給する溶離液の種類を適宜切り替え、充填剤に吸着したグリコヘモグロビンを溶離させる。

[0053] 一方、導入用試料の導入開始から一定時間経過した場合には、インジェクションバルブ43の切替操作を行うことにより、分析カラム40に対して引き続き溶離液を供給するとともに、インジェクションループ44の洗浄を行なう(S5)。一方、インジェクションループ44の洗浄と同時的に、先に説明したのと同様にして、先とは異なる採血管13の血液試料14から導入用試料を調製し(S3)、インジェクションループ44の洗浄後においては、再び導入用試料をインジェクションループ44に導入する(S4)。このような導入用試料の調製(S3)、導入(S4)、洗浄(S5)は、インジェクションバルブ43を適宜切り替えつつ、測定対象となる採血管13(血液試料14)の数に応じて繰り返し行なわれる。

[0054] 分析カラム40から排出されるグリコヘモグロビンを含む溶離液は、配管76を介して測光機構5の測光セル50に供給され、測光される(S6)。測光セル50に対しては、配管75および導入流路50Aを介して溶離液が導入され、この溶離液は測光流路50Bおよび排出流路50Cを通過した後に、配管76を介して廃液槽15に導かれる。

[0055] 測光機構5においては、分析カラム40からの溶離液が測光流路50Bを通過する際に、光源51によって溶離液に対して連続的に光が照射される。その一方で、測光流路50Bを透過した光は、ビームスプリッタ52において分割された後、測定用受光系53および参照用受光系54において受光される。測定用受光系53では、波長選択部

53Aを透過した特定波長の光が受光素子53Bにおいて選択的に受光される。一方、参照用受光系54では、干渉フィルタ54Aを透過した参照波長である500nmの光が受光素子54Bにおいて選択的に受光される。

- [0056] 受光素子53B, 54Bでの受光結果は、演算回路6に出力され、この演算回路6においてグリコヘモグロビンの濃度が演算される(S7)。
- [0057] 演算回路6における濃度演算処理は、図5に示したフローチャートの手順にしたがって行なわれる。
- [0058] まず、400～450nm、好ましくは415～430nmの波長範囲から選択された複数の波長について、各波長ごとに特定時間ごとに測光を行なう(S10)。より具体的には、光源51から連続的に光を出射する一方で、制御部60によって波長選択部53Aを制御し、受光素子53Bにおいて受光される光の波長を、上記波長範囲において経時的に変化させる。すなわち、受光素子53Bにおいて受光される光の波長は、連続的または間欠的に変化させられる。なお、上記波長範囲で波長変化させた測光は繰り返し行なわれる。
- [0059] 図6には、波長を間欠的に変化させた場合の例を示したが、上記時間範囲を同一時間として取り扱った場合には、各測定波長ごとに2次元クロマトグラムが得られ、測定波長をも変数すれば、溶離時間、吸光度および測定波長を変数とする3次元クロマトグラムが得られる。なお、図6では、測定波長の間隔を比較的に大きく設定しているが、実際には、測定波長の間隔は、極めて小さく(たとえば0.1～2nm)、波長を変数のとする場合のプロット点は離散的ではなく、もっと連続的なものとなる。
- [0060] 次に、同一時間における各波長でのヘモグロビンに相当する吸光度を積算する(S11)。すなわち、図6の3次元クロマトグラムにおけるヘモグロビンに相当する部分の体積を、各測定波長での2次元クロマトグラムにおけるヘモグロビンに相当する部分の面積の積算値として演算する。
- [0061] 次に、同一時間における各波長でのグリコヘモグロビンに相当する吸光度を積算する(S12)。すなわち、図6の3次元クロマトグラムにおけるグリコヘモグロビンに相当する部分の体積を、各測定波長での2次元クロマトグラムにおけるヘモグロビンに相当する部分の面積の積算値として演算する。

- [0062] 次いで、ヘモグロビン総量に対するグリコヘモグロビンの比率を演算する(S13)。すなわち、図6における3次元ヘモグロビン総量に相当する体積(積算値)のうち、グリコヘモグロビンに相当する体積(積算値)の割合を演算し、それをグリコヘモグロビン濃度(%)とする。
- [0063] S13における演算が終了した場合には、図4におけるS7に戻る(S14)。すなわち、演算回路6での演算結果は、図外の表示パネルに表示され、また自動的あるいは使用者のボタン操作によってプリントアウトされる(S8)。
- [0064] 本実施の形態では、オキシヘモグロビンの最大吸収波長である415nmおよびデオキシヘモグロビンの最大吸収波長である430nmを含む波長範囲において、連続的または間欠的に波長を変化させたときの吸光度変化に基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算している。すなわち、本発明は、オキシヘモグロビンに主体的に着目してグリコヘモグロビン濃度を演算するのではなく、デオキシヘモグロビンの影響をも勘案してグリコヘモグロビンの濃度を演算している。そのため、溶離液中の溶存気体の状態が変動してヘモグロビン中のオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率が変動し、あるいは分析カラム40に導入する導入用試料におけるオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率が変動した場合であっても、その影響を受けることもない。その結果、本実施の形態では、HPLC装置Xの外部の温度(環境温度)が変動する環境下や環境温度が異なる状態でグリコヘモグロビン濃度を測定する場合、あるいは分析カラムに導入する試料における酸素濃度のバラツキが生じる場合であっても、溶離液におけるオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率に関係なく、安定したグリコヘモグロビン濃度の測定が可能となる。
- [0065] なお、グリコヘモグロビン濃度の算出は、たとえば各測定波長での2次元クロマトグラムに基づいてヘモグロビン総量におけるグリコヘモグロビンが占める割合をそれぞれ演算するとともに、各測定波長でのグリコヘモグロビンの割合の平均値を算出し、その平均値をグリコヘモグロビン濃度としてもよい。
- [0066] 次に、本発明の第2の実施の形態について、図3、図7および図8を参照して説明する。
- [0067] 本実施の形態は、図7に示したように、演算回路6における濃度演算処理の手法が

、先の実施の形態とは異なっている。

- [0068] まず、400～450nm、好ましくは415～430nmの波長範囲から選択された複数の波長において、特定時間ごとに測光を行なう(S20)。この点については、第1の実施に形態におけるS10(図5参照)と同様である。測定波長を連続的あるいは間欠的に変化させた場合には、図8Aに示したように各時間ごとに測定波長と吸光度との関係を示すグラフが得られる。
- [0069] 次に、同一時間における最大吸光度(max)を選択し、図8Bに示すような溶離時間と最大吸光度との関係を示す2次元クロマトグラムを得る(S21)。
- [0070] 次に、図8Bに示した2次元クロマトグラムから、ヘモグロビン総量に相当する面積に対するグリコヘモグロビン量に対応する面積としてグリコヘモグロビン濃度(%)を演算する(S22)。
- [0071] S22における処理が終了した場合には、図4におけるS7に戻り(S23)、演算回路6での演算結果が、図外の表示パネルなどに出力される(S8)。
- [0072] 本実施の形態では、測定波長として、オキシヘモグロビンの最大吸収波長である415nmおよびデオキシヘモグロビンの最大吸収波長である430nmを含む波長範囲を利用しているとともに、それらの波長範囲において測定される最大吸光度によってグリコヘモグロビン濃度を演算している。そのため、本発明の第1の実施の形態の場合と同様に、分析カラム40からの溶離液におけるオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンとの比率に関係なく、安定したグリコヘモグロビン濃度の測定が可能となる。
- [0073] 次に、本発明の第3の実施の形態について、図3、図9および図10を参照して説明する。
- [0074] 本実施の形態は、図9に示したように、演算回路6における濃度演算処理の手法が、先の実施の形態とは異なっている。
- [0075] まず、415nmおよび430nmにおいて特定時間ごとに測光を行なう(S30)。より具体的には、光源51から連続的に光を出射する一方で、制御部60によって波長選択部53Aを制御し、受光素子53Bにおいて受光される光の波長を、415nmと430nmとの間で交互に切り替える。このような測定波長の切り替えは、繰り返し行なわれる。その結果、図10に示したように、測定波長を415nmとしたときのオキシヘモグロビン

基準の2次元クロマトグラム(図10の一点鎖線)と、測定波長を430nmとしたときのデオキシヘモグロビン基準の2次元クロマトグラム(図10の鎖線)が、溶離時間と吸光度との関係として得られる。

- [0076] 次いで、測定波長を415nmとしたときのオキシヘモグロビン基準の2次元クロマトグラム(図10の一点鎖線)からグリコヘモグロビン濃度を演算する(S31)。
- [0077] 次いで、測定波長を430nmとしたときのデオキシヘモグロビン基準の2次元クロマトグラム(図10の鎖線)からグリコヘモグロビン濃度を演算する(S32)。
- [0078] 次いで、測定波長を415nmとしたときの濃度演算結果と測定波長を430nmとしたときの濃度演算結果とを合算し、それをグリコヘモグロビン濃度とする(S33)。
- [0079] S33における処理が終了した場合には、図4におけるS7に戻り(S34)、演算回路6での演算結果が、図外の表示パネルなどに出力される(S8)。
- [0080] 本実施の形態では、測定波長として、オキシヘモグロビンの最大吸収波長である415nmの測定結果とデオキシヘモグロビンの最大吸収波長と430nmの測定結果を合算してグリコヘモグロビン濃度を演算している。そのため、本発明の第1の実施の形態の場合と同様に、分析カラム40からの溶離液におけるオキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビンの比率に関係なく、安定したグリコヘモグロビン濃度の測定が可能となる。
- [0081] 本実施の形態では、グリコヘモグロビン濃度は、測定波長が415nmのときのクロマトグラムと430nmのときのクロマトグラムとを合算して得られるクロマトグラム(図10の実線)に基づいて演算してもよい。
- [0082] また、オキシヘモグロビン基準のクロマトグラムを得るときの測定波長は、415nmに限らず、400~420nmの波長範囲から選択すればよく、デオキシヘモグロビン基準のクロマトグラムを得るときの測定波長は、430nmに限らず、420~440nmの範囲から選択すればよい。
- [0083] 本発明は、先に説明した実施の形態には限定されず、種々に変更可能である。たとえば、先に説明した濃度演算処理においては、ヘモグロビン量が吸光度として取得されていたが、ヘモグロビン量は、必ずしも吸光度として取得する必要はなく、透過率として、あるいは単に受光量として取得してもよい。

[0084] また、測光機構5において複数の測定波長の光を区別して認識する方法としては、1つの受光素子53Bによって行なう場合の他、測定波長の数に応じた受光素子を設け、あるいは受光エリアを有する発光素子を用いる方法であってもよい。

[0085] 測光機構5における測定用受光系53の受光素子53Bに受光させる光の波長(測定波長)を選択する方法としては、測定用受光系53において波長選択部53Aを設ける構成を採用していたが、波長選択部を光源51と測光セル50との間に配置した構成を採用することもできる。

[0086] 本発明はさらに、血液中のグリコヘモグロビン濃度を測定するためのHPLC装置に限らず、血液以外の検体を用いる場合、あるいはHPLC装置以外の液体クロマトグラフィ装置その他のグリコヘモグロビン濃度測定装置に対しても適用することができる。

実施例

[0087] (実施例1)

本実施例では、測定波長を変化させてグリコヘモグロビン濃度を測定した場合に、環境温度が測定値に与える影響について検討した。

[0088] グリコヘモグロビンの濃度は、環境温度を10℃、20℃および30℃とした場合について、グリコヘモグロビン測定装置(「ADAMS A1c HA-8160」;アークレイ株式会社製)において、受光素子としてフォトダイオードアレイ(「紫外可視多波長検出器 MD-910」;日本分光株式会社製)を採用したものをを用いて行った。グリコヘモグロビン濃度は、415~430nmの波長範囲において、1nm毎にヘモグロビン総量およびグリコヘモグロビン量をそれぞれ測定した上で、先の波長範囲におけるヘモグロビン総量の積算値に対するグリコヘモグロビンの積算値が占める割合として演算した。

[0089] 検体としては、健常人から採取した血液(健常人検体)および糖尿病患者から採取した血液(糖尿患者血液)を用いた。グリコヘモグロビンの測定結果については下記表1および図11に示した。

[0090] [表1]

	グリコヘモグロビン測定値		
	10℃	20℃	30℃
健常人検体	4.41%	4.47%	4.40%
糖尿病患者検体	8.40%	8.43%	8.33%

[0091] (比較例1)

本比較例では、測定波長をオキシヘモグロビンの最大吸収波長である415nmに固定してグリコヘモグロビン濃度を測定した場合に、環境温度が測定値に与える影響について検討した。

[0092] グリコヘモグロビンの濃度は、測定波長を固定した以外は基本的には実施例1と同様な条件において測定し、グリコヘモグロビン総量におけるグリコヘモグロビン量が占める割合として演算した。グリコヘモグロビンの測定結果については下記表2および図12に示した。

[0093] [表2]

	グリコヘモグロビン測定値		
	10℃	20℃	30℃
健常人検体	4.33%	4.73%	5.10%
糖尿病患者検体	8.41%	8.83%	9.68%

[0094] 比較例1のように、測定波長をオキシヘモグロビンの最大吸収波長である415nmに固定してグリコヘモグロビンを測定した場合には、表2および図12から分かるように、環境温度が高くなるほど測定値が大きくなり、測定値が環境温度の影響を大きく受けていた。

[0095] これに対して、実施例1のように、測定波長をオキシヘモグロビンの最大吸収波長(415nm)からデオキシヘモグロビンの最大吸収波長(430nm)の間で変化させたときの積算値によりグリコヘモグロビン濃度を演算した場合には、表1および図11から分かるように、環境温度が10~30℃の範囲で変化したとしても、測定値が環境温度の影響をさほど受けておらず、略一定値となった。

[0096] このことから、測定波長をオキシヘモグロビンの最大吸収波長(415nm)からデオキシヘモグロビンの最大吸収波長(430nm)の間で変化させたときの積算値によりグリコヘモグロビン濃度を演算した場合には、環境温度(溶離液の溶存酸素濃度)や試料の溶存酸素濃度の影響を受けることなく、正確かつ安定したグリコヘモグロビン濃度の測定が可能であることが分かる。

請求の範囲

- [1] 試料に対して光を照射したときに試料から進行してくる光に基づいてグリコヘモグロビン濃度を測定する方法であって、
400～450nmの波長範囲にピーク波長を有する複数の測定波長の光に基づいてグリコヘモグロビンの濃度を測定する、グリコヘモグロビン濃度測定方法。
- [2] 試料から進行してくる光のうち、少なくとも415～430nmの波長範囲における異なるピーク波長の光を連続的または間欠的に受光してグリコヘモグロビン濃度を測定する、請求項1に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。
- [3] 液体クロマトグラフィを利用したグリコヘモグロビン濃度の測定方法において、
測定波長、溶離時間、および検出量を変数とする3次元クロマトグラムに基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算する、請求項1に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。
- [4] グリコヘモグロビン濃度は、上記3次元クロマトグラムでのヘモグロビン総量に対応する体積または積算値におけるグリコヘモグロビンに対応する体積または積算値が占める割合として演算される、請求項3に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。
- [5] グリコヘモグロビン濃度は、各測定波長における溶離時間と検出量とを変数とするクロマトグラムからグルコヘモグロビンの割合を演算するとともに、各測定波長におけるグルコヘモグロビンの割合を平均することにより演算される、請求項3に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。
- [6] グリコヘモグロビン濃度は、各測定波長におけるヘモグロビンの検出量のピーク値と、溶離時間と、の2次元クロマトグラムにおいて、ヘモグロビン総量に対応する面積におけるグリコヘモグロビンに対応する面積が占める割合として演算される、請求項3に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。
- [7] 試料から進行してくる400～420nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第1光量と、試料から進行してくる420～440nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第2光量と、に基づいて、グリコヘモグロビン濃度を測定する、請求項1に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。
- [8] 上記第1光量に基づいてオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を

算出する一方で、上記第2光量に基づいてデオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を算出し、かつ、

上記オキシヘモグロビン濃度と上記デオキシヘモグロビン濃度とを合算し、あるいは上記オキシヘモグロビン濃度に相関する値と上記デオキシヘモグロビン濃度に相関する値とを合算して演算される値をヘモグロビン濃度とする、請求項7に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。

[9] 液体クロマトグラフィを利用したグリコヘモグロビン濃度の測定方法において、

上記第1光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示すオキシヘモグロビンに対応した第1クロマトグラムと、上記第2光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示すデオキシヘモグロビンに対応した第2クロマトグラムと、を重ね合わせたクロマトグラムに基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算する、請求項7に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。

[10] 上記試料は、血球を溶血させものである、請求項1に記載のグリコヘモグロビン濃度測定方法。

[11] 光源からの光を試料に照射し、そのときに試料から進行してくる光を受光部において受光する測光機構を備えたグリコヘモグロビン濃度測定装置であって、

上記測光機構は、400～450nmの波長範囲にピーク波長を有する複数の測定波長の光を区別して、受光部において受光させることができるように構成されている、グリコヘモグロビン濃度測定装置。

[12] 上記受光部は、少なくとも415～430nmの波長範囲における異なるピーク波長の光を連続的または間欠的を受光できるように構成されている、請求項11に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。

[13] 液体クロマトグラフィを利用したグリコヘモグロビン濃度の測定装置において、

測定波長、溶離時間および検出量を変数とする3次元クロマトグラムに基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算するように構成された演算部をさらに備えている、請求項11に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。

[14] 上記演算部は、上記3次元クロマトグラムでのヘモグロビン総量に対応する体積または積算値におけるグリコヘモグロビンに対応する体積または積算値が占める割合とし

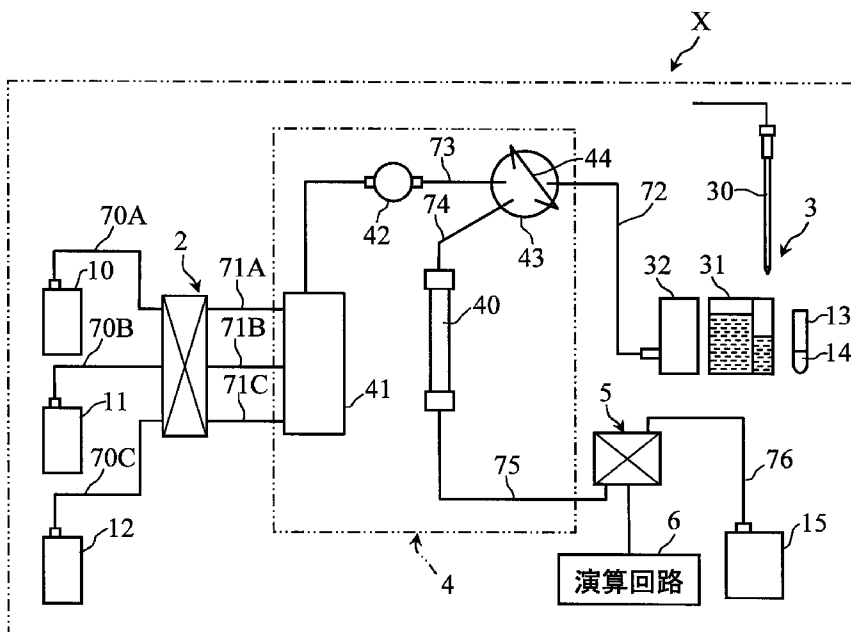
てグリコヘモグロビン濃度を演算するように構成されている、請求項13に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。

- [15] 上記演算部は、各測定波長における溶離時間と検出量とを変数とするクロマトグラムからグリコヘモグロビンの割合を演算するとともに、各測定波長におけるグリコヘモグロビンの割合を平均することによりグリコヘモグロビン濃度を演算するように構成されている、請求項13に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。
- [16] 上記演算部は、各ピーク波長におけるヘモグロビンの検出量のピーク値と、溶離時間と、の2次元クロマトグラムにおいて、ヘモグロビン総量に対応する面積におけるグリコヘモグロビンに対応する面積が占める割合として演算するように構成されている、請求項13に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。
- [17] 試料から進行してくる400～420nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第1光量と、試料から進行してくる420～440nmの波長範囲にピーク波長を有する光の量である第2光量と、に基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算する演算部をさらに備えている、請求項11に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。
- [18] 上記演算部は、上記第1光量に基づいてオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を算出する一方で、上記第2光量に基づいてデオキシヘモグロビン濃度またはこの濃度に相関する値を算出し、かつ、上記オキシヘモグロビン濃度と上記デオキシヘモグロビン濃度とを合算し、あるいは上記オキシヘモグロビン濃度に相関する値と上記デオキシヘモグロビン濃度に相関する値とを合算してヘモグロビン濃度を演算するように構成されている、請求項17に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。
- [19] 液体クロマトグラフィを利用したグリコヘモグロビン濃度の測定装置において、
上記演算部は、上記第1光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示すオキシヘモグロビンに対応した第1クロマトグラムと、上記第2光量に基づいて得られる溶離時間と検出量との関係を示すデオキシヘモグロビンに対応した第2クロマトグラムと、を重ね合わせたクロマトグラムに基づいて、グリコヘモグロビン濃度を演算する、請求項17に記載のグリコヘモグロビン濃度測定装置。
- [20] 上記試料は、血球を溶血させものである、請求項11に記載のグリコヘモグロビン濃

度測定装置。

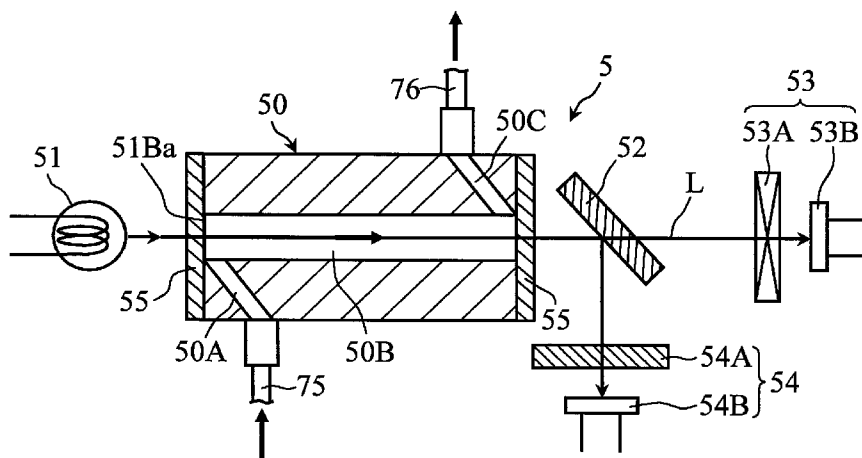
[図1]

FIG.1



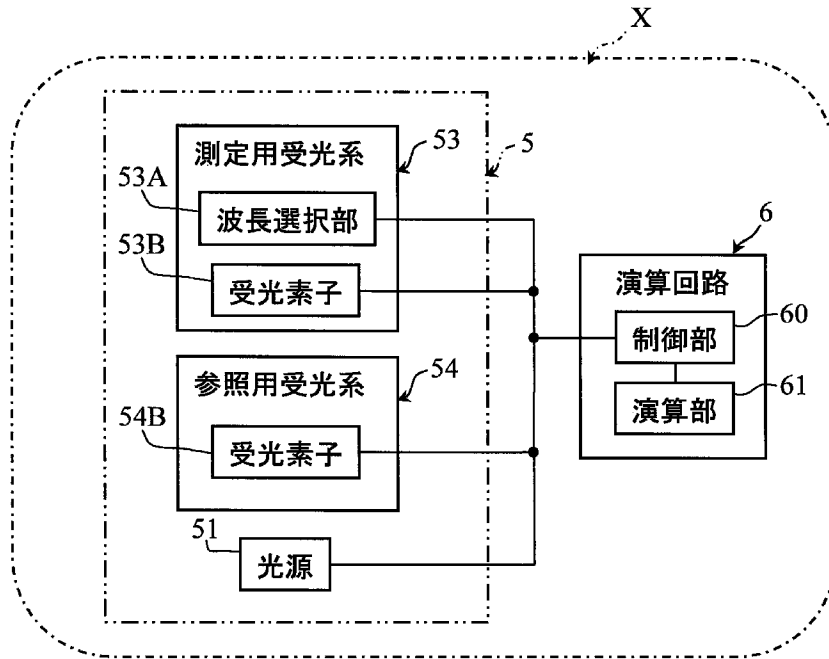
[図2]

FIG.2



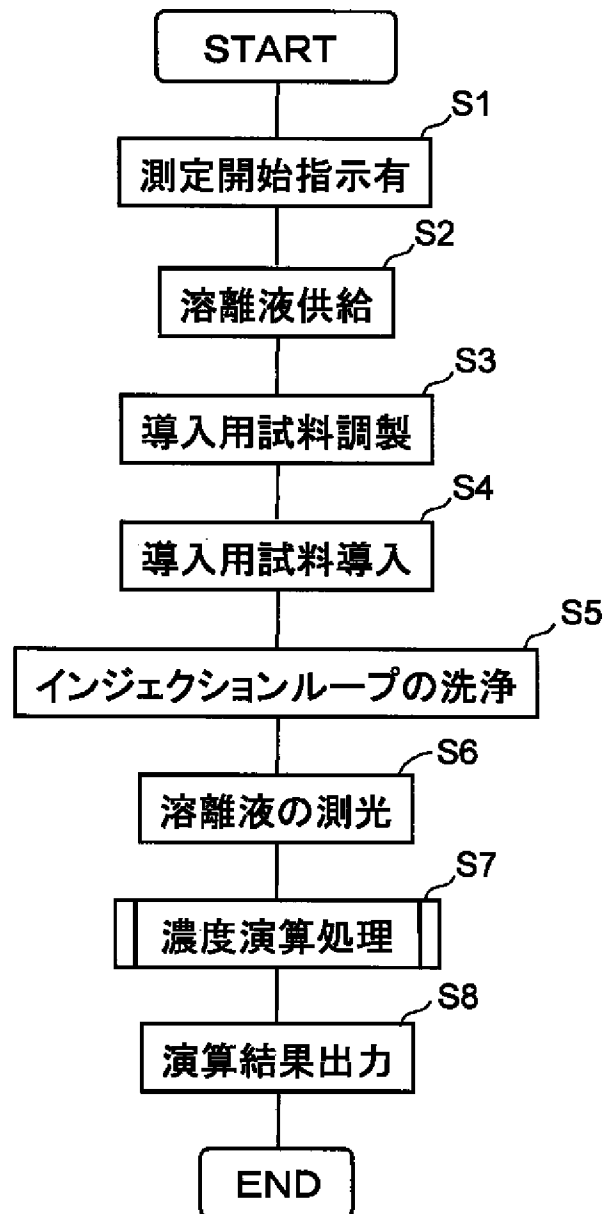
[図3]

FIG.3



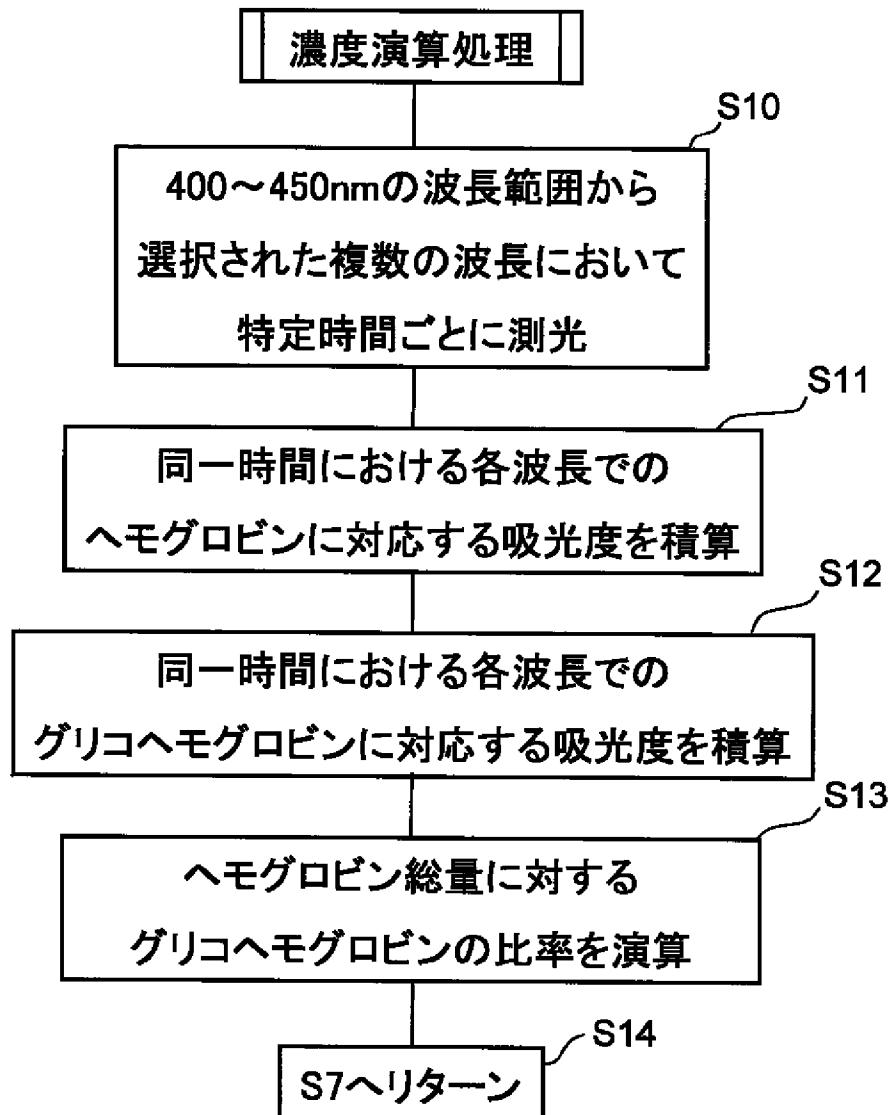
[図4]

FIG.4



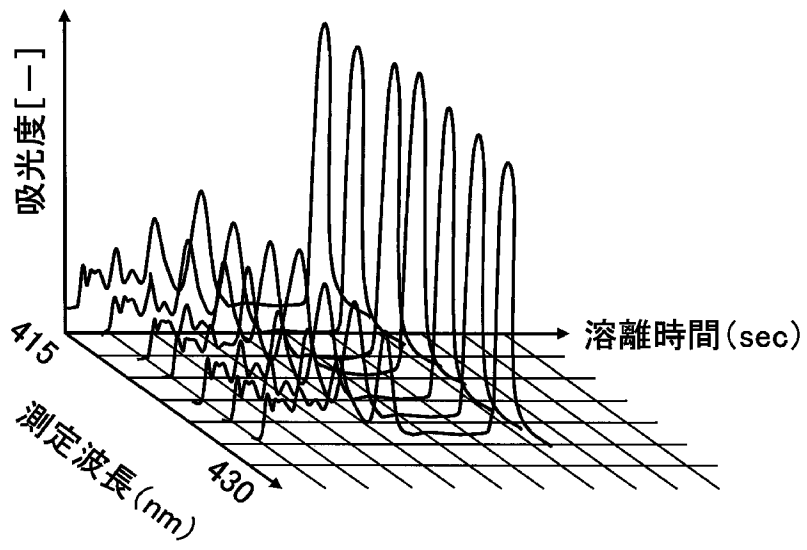
[図5]

FIG.5



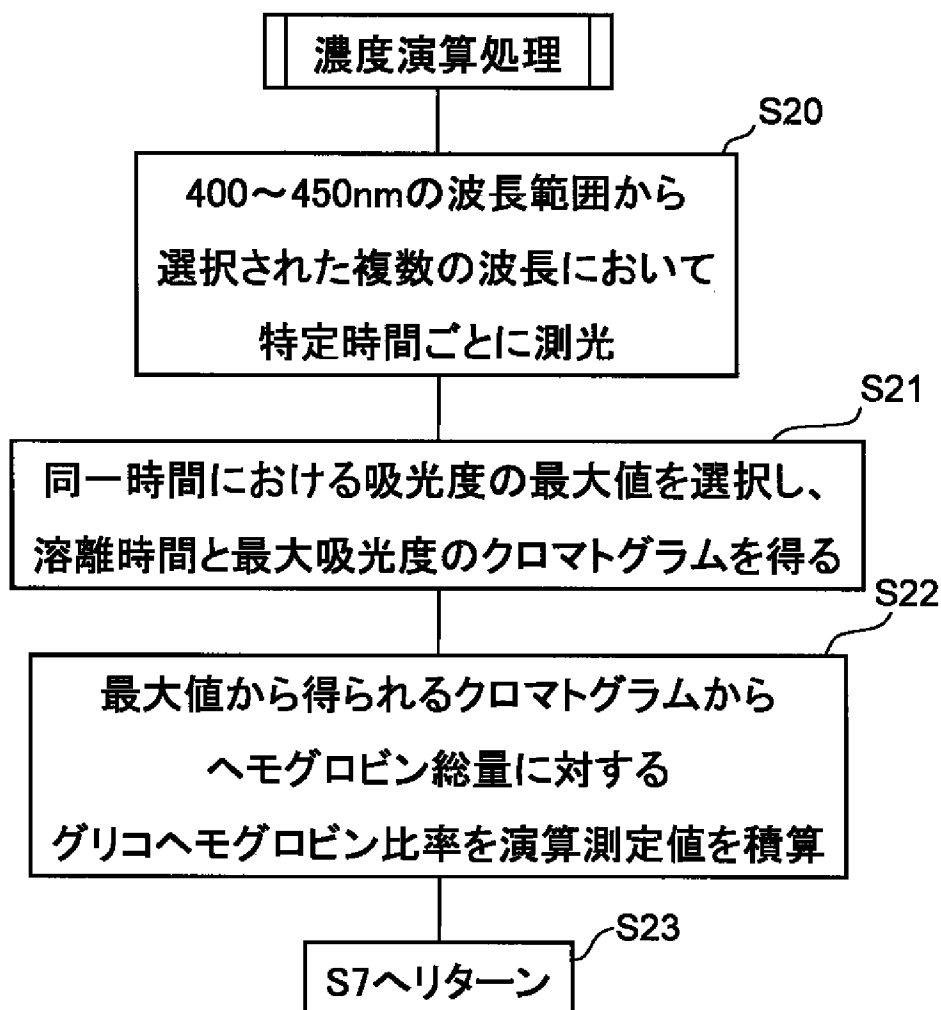
[図6]

FIG.6



[図7]

FIG.7



[図8]

FIG.8A

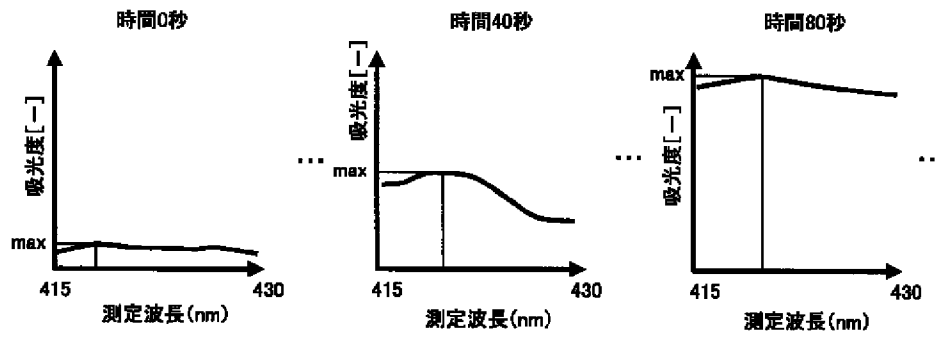
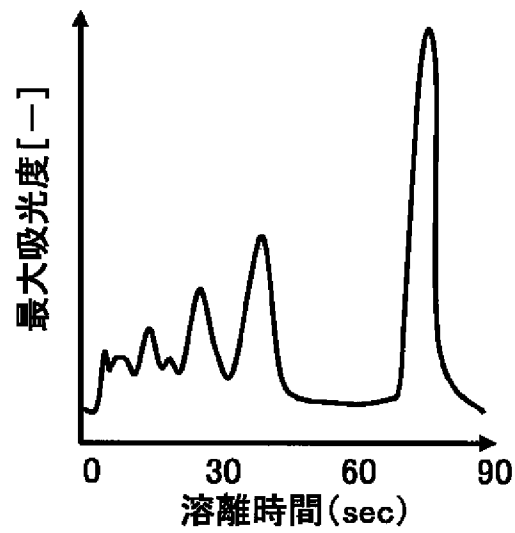
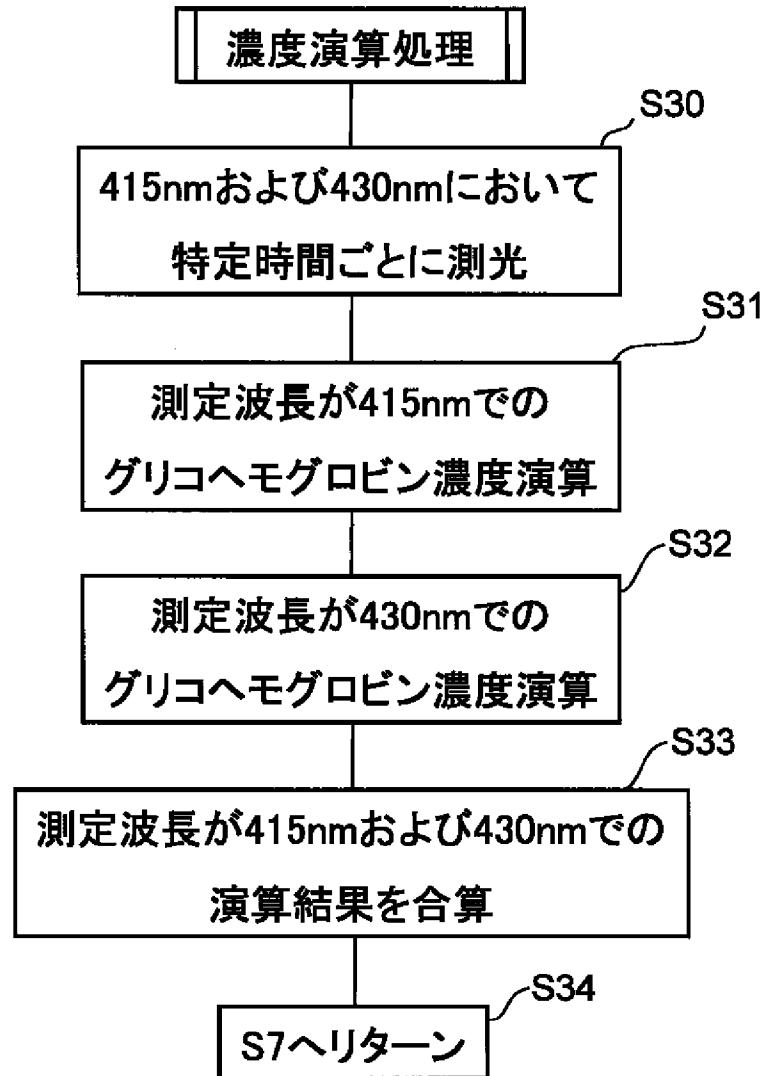


FIG.8B



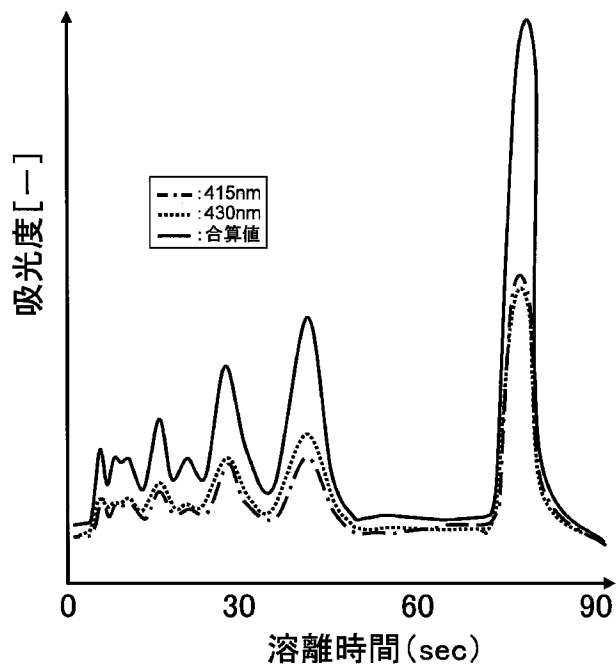
[図9]

FIG.9



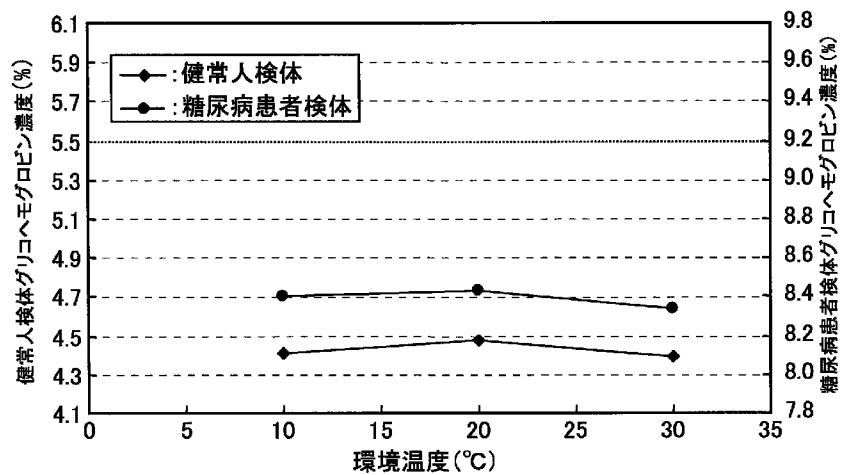
[図10]

FIG.10



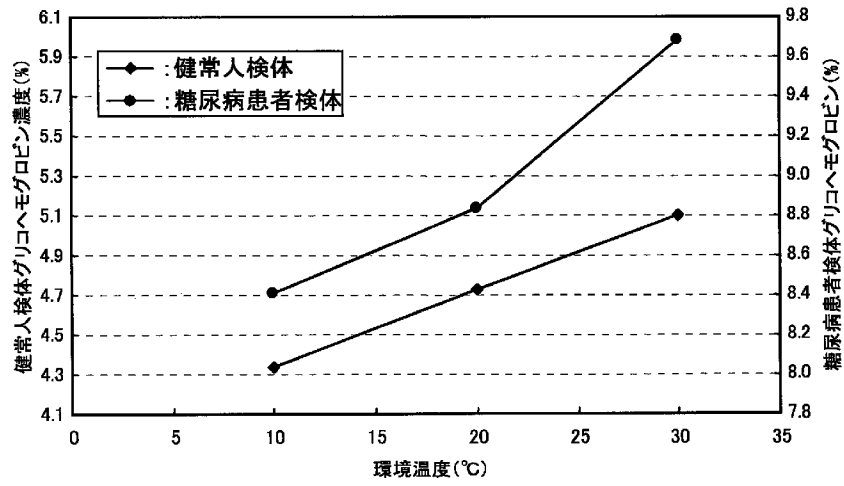
[図11]

FIG.11

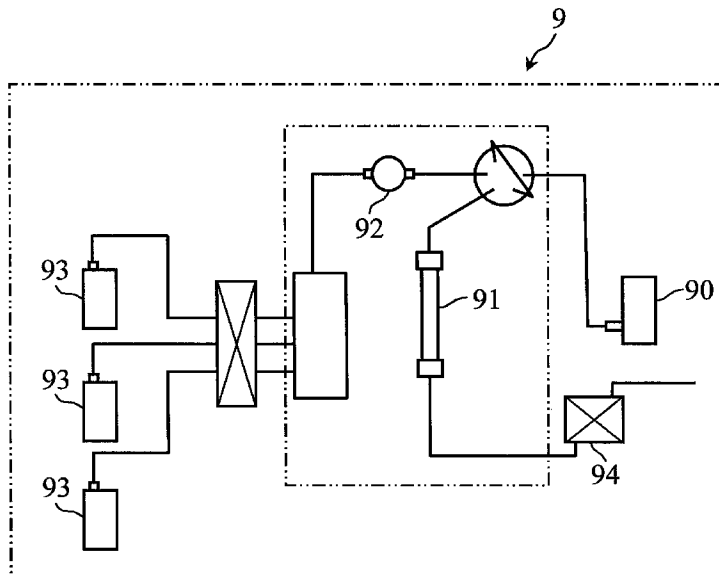


[図12]

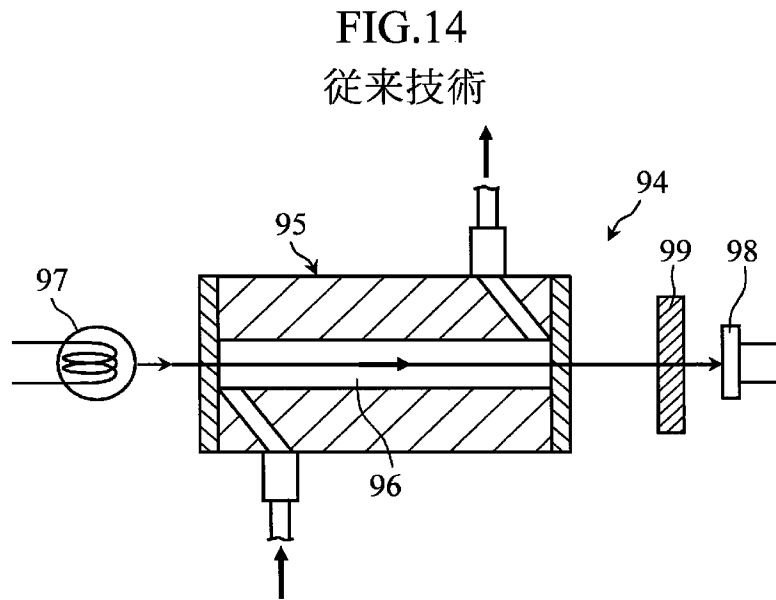
FIG.12



[図13]

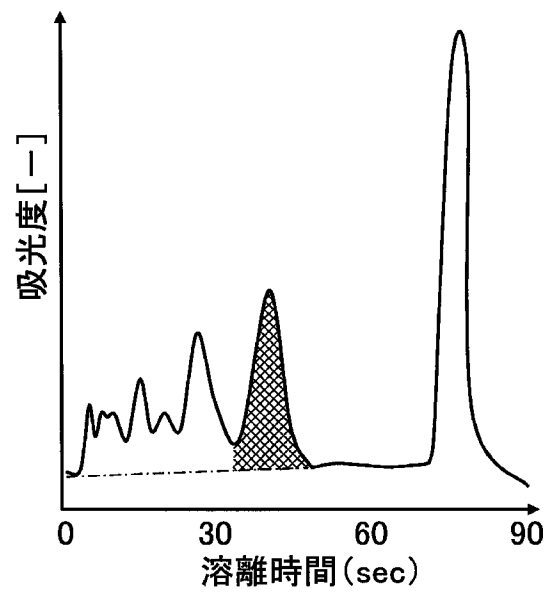
FIG.13
従来技術

[図14]



[図15]

FIG.15
従来技術



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/056110

<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>G01N21/27(2006.01) i, G01N30/74(2006.01) i, G01N30/88(2006.01) i</i></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) <i>G01N21/00-21/61, G01N30/00-30/96, G01N33/48-33/98</i></p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched <i>Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007</i> <i>Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007</i></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 align="center">Y</td> <td>JP 8-159954 A (Tosoh Corp.), 21 June, 1996 (21.06.96), Par. Nos. [0007] to [0015], [0021] to [0028]; Figs. 1 to 3 (Family: none)</td> <td align="center">1-20</td> </tr> <tr> <td align="center">Y</td> <td>WO 2004/057285 A1 (Koninklijke Philips Electronics N.V.), 08 July, 2004 (08.07.04), Page 14, lines 3 to 13; page 15, line 8 to page 16, line 25; Figs. 2 to 3 & JP 2006-510899 A</td> <td align="center">1-20</td> </tr> <tr> <td align="center">Y</td> <td>JP 2004-309250 A (Shimadzu Corp.), 04 November, 2004 (04.11.04), Par. Nos. [0017] to [0041]; Figs. 1 to 6 (Family: none)</td> <td align="center">3-6, 9, 13-16, 19</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	JP 8-159954 A (Tosoh Corp.), 21 June, 1996 (21.06.96), Par. Nos. [0007] to [0015], [0021] to [0028]; Figs. 1 to 3 (Family: none)	1-20	Y	WO 2004/057285 A1 (Koninklijke Philips Electronics N.V.), 08 July, 2004 (08.07.04), Page 14, lines 3 to 13; page 15, line 8 to page 16, line 25; Figs. 2 to 3 & JP 2006-510899 A	1-20	Y	JP 2004-309250 A (Shimadzu Corp.), 04 November, 2004 (04.11.04), Par. Nos. [0017] to [0041]; Figs. 1 to 6 (Family: none)	3-6, 9, 13-16, 19
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
Y	JP 8-159954 A (Tosoh Corp.), 21 June, 1996 (21.06.96), Par. Nos. [0007] to [0015], [0021] to [0028]; Figs. 1 to 3 (Family: none)	1-20												
Y	WO 2004/057285 A1 (Koninklijke Philips Electronics N.V.), 08 July, 2004 (08.07.04), Page 14, lines 3 to 13; page 15, line 8 to page 16, line 25; Figs. 2 to 3 & JP 2006-510899 A	1-20												
Y	JP 2004-309250 A (Shimadzu Corp.), 04 November, 2004 (04.11.04), Par. Nos. [0017] to [0041]; Figs. 1 to 6 (Family: none)	3-6, 9, 13-16, 19												
<p><input checked="" 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:</p> <table border="0"> <tr> <td>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“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)</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>“&” document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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	“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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	“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)	“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	“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	“&” document member of the same patent family	“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed			
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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													
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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													
“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)	“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													
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	“&” document member of the same patent family													
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
<p>Date of the actual completion of the international search 16 May, 2007 (16.05.07)</p>		<p>Date of mailing of the international search report 29 May, 2007 (29.05.07)</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>												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/056110

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 7-270387 A (Hitachi, Ltd.), 20 October, 1995 (20.10.95), Par. Nos. [0018] to [0028], [0031] to [0078]; Figs. 1 to 8 & US 5644503 A	3-6, 9, 13-16, 19
Y	JP 2004-526141 A (University College London), 26 August, 2004 (26.08.04), Par. Nos. [0051] to [0052], [0056] to [0066]; Fig. 8 & US 2002/0137993 A1 & WO 02/063282 A1	7-9, 17-19
Y	JP 5-256851 A (Hitachi, Ltd.), 08 October, 1993 (08.10.93), Par. Nos. [0004], [0007] to [0010]; Fig. 1 (Family: none)	10, 20
A	JP 2002-369814 A (Samsung Electronics Co., Ltd.), 24 December, 2002 (24.12.02), Full text; all drawings & US 2003/0009090 A1	1-20
A	JP 6-11510 A (Boehringer Mannheim GmbH), 21 January, 1994 (21.01.94), Full text; all drawings & US 5541117 A & EP 559164 A2	7-10, 17-20

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G01N21/27(2006.01)i, G01N30/74(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（I P C）） Int.Cl. G01N21/00-21/61, G01N30/00-30/96, G01N33/48-33/98		
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 1971-2007年 日本国実用新案登録公報 1996-2007年 日本国登録実用新案公報 1994-2007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
Y	JP 8-159954 A（東ソー株式会社）1996.06.21, 段落0007-段落0015、段落0021-段落0028、図1-図3（ファミリーなし）	1-20
Y	WO 2004/057285 A1 (Koninklijke Philips Electronics N.V.) 2004.07.08, 第14頁第3行-第13行、第15頁第8行-第16頁第25行、FIG. 2-3 & JP 2006-510899 A	1-20
<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 16.05.2007	国際調査報告の発送日 29.05.2007	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / 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） 横尾 雅一 電話番号 03-3581-1101 内線 3292	2W 3716

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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
Y	JP 2004-309250 A (株式会社島津製作所) 2004. 11. 04, 段落 0017-段落 0041、図 1-図 6 (ファミリーなし)	3-6, 9, 13-16, 19
Y	JP 7-270387 A (株式会社日立製作所) 1995. 10. 20, 段落 0018-段落 0028、段落 0031-段落 0078、図 1-図 8 & US 5644503 A	3-6, 9, 13-16, 19
Y	JP 2004-526141 A (ユニヴァーシティ カレッジ ロンドン) 2004. 08. 26, 段落 0051-段落 0052、段落 0056-段落 0066、図 8 & US 2002/0137993 A1 & WO 02/063282 A1	7-9, 17-19
Y	JP 5-256851 A (株式会社日立製作所) 1993. 10. 08, 段落 0004、段落 0007-0010、図 1 (ファミリーなし)	10, 20
A	JP 2002-369814 A (三星電子株式会社) 2002. 12. 24, 全文、全図 & US 2003/0009090 A1	1-20
A	JP 6-11510 A (ベーリンガー マンハイム ゲーエムベーハー) 1994. 01. 21, 全文、全図 & US 5541117 A & EP 559164 A2	7-10, 17-20