

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) **公開特許公報** ( A ) (11)特許出願公開番号

特開2001 - 272400

(P2001 - 272400A)

(43)公開日 平成13年10月5日(2001.10.5)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト* (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	A 4 B 0 6 3 F 4 D 0 1 7
B 0 1 D 15/08		B 0 1 D 15/08	4 G 0 6 6
B 0 1 J 20/26		B 0 1 J 20/26	H
G 0 1 N 33/543	525	G 0 1 N 33/543	525 C

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 10数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 84491(P2000 - 84491)

(22)出願日 平成12年3月24日(2000.3.24)

(71)出願人 000002174

積水化学工業株式会社

大阪府大阪市北区西天満2丁目4番4号

(72)発明者 横井 正之

大阪府三島郡島本町百山2 - 1 積水化学工業株式会社内

(72)発明者 木島 康雅

東京都港区虎ノ門2 - 3 - 17 積水化学工業株式会社内

(72)発明者 大石 和之

山口県新南陽市開成町4560 積水化学工業株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 吸着剤を用いた測定方法

(57)【要約】

【課題】 一回の測定で二種以上の測定物質を検出でき、かつ測定物質の濃縮を目的とする前処理を省略することができる効率的な測定方法、および該方法を実施するための装置を提供することを目的とする。

【解決手段】 試料中の一または二種以上の測定物質を測定する方法において、少なくとも下記の工程を含む測定方法。

( a ) 測定物質の電荷または / および極性により一または二種以上の測定物質を吸着剤に吸着させる工程、

( b ) 測定物質と特異的な結合性を有する検出用物質一又は二種以上と、吸着剤に吸着された測定物質とを反応させる工程、 ( c ) 該検出用物質を検出する工程。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料中の一または二種以上の測定物質を測定する方法において、少なくとも下記の工程を含む測定方法。

(a) 測定物質の電荷または/および極性により一または二種以上の測定物質を吸着剤に吸着させる工程、

(b) 測定物質と特異的な結合性を有する検出用物質一又は二種以上と、吸着剤に吸着された測定物質とを反応させる工程、(c) 該検出用物質を検出する工程。

【請求項2】 測定物質がステロイドホルモン類またはホルモン様作用物質である請求項1に記載の測定方法。

【請求項3】 ステロイドホルモン類またはホルモン様作用物質が、アルキルフェノール類、ビスフェノールA、フタル酸エステル類、ダイオキシン類およびエストロゲン類からなる群から選ばれる1又は2種以上である請求項2に記載の測定方法。

【請求項4】 吸着剤が、アクリル酸エステルまたは/およびメタクリル酸エステルである架橋性単量体を重合して得られる架橋重合体である請求項1～3のいずれかに記載の測定方法。

【請求項5】 架橋重合体の平均粒径が0.1 $\mu$ m～1cmでかつ比重が0.8～3.0である請求項4に記載の測定方法。

【請求項6】 検出用物質が抗体または抗原である請求項1～5のいずれかに記載の測定方法。

【請求項7】 検出用物質が抗体または抗原で、該検出用物質を検出する工程が酵素を用いる酵素免疫法である請求項1～6のいずれかに記載の測定方法。

【請求項8】 測定物質の電荷または/および極性により一または二種以上の測定物質を吸着できる吸着剤を有する吸着装置と、測定物質と特異的な結合性を有する検出用物質とを備えることを特徴とする分析装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、化学分析一般、特に試料中のステロイドホルモン類およびホルモン様作用物質類(以下、「ホルモン様作用物質」という)を測定する方法および該方法を実施するための分析装置に関する。

## 【0002】

【従来の技術】従来の分析方法では、例えば特開昭57-74633号に記載されているように、測定物質(抗原)に対する抗体を固定した固層に、測定物質を含む試料を投入した後、さらにこれに酵素標識した抗体を作用させる。これにより測定物質が存在する場合は、この測定物質を介して酵素標識した抗体が固層と結合することになる。その後、固層に結合した標識抗体と遊離している標識抗体を分離し、そのどちらかの標識抗体の酵素活性を測定することにより、測定物質を検出するという方法が採用されている(EIAサンドイッチ法)。

【0003】しかし、かかるEIAサンドイッチ法では、測定物質に対する抗体を固層に固定しなければならないが、固定化条件が抗体の種類によってさまざまであるため、その条件設定が難しい。また、多項目を測定するために数種類の抗体を固層に固定しなくてはならない場合、抗体ごとに固定化条件が違いため同時に固定化することが困難であった。このため、EIAサンドイッチ法を用いて多項目の測定をすることは非常に困難であった。

【0004】今日臨床検査をはじめ、環境分析および食品分析の分野では、測定項目が多岐にわたっているが、従来の分析方法では、抗体を固層に固定するための条件設定が難しい場合は分析系を設計することが難しかった。また、多岐にわたる測定項目を短時間で測定するというニーズが年々高まってきている。しかし、従来の分析方法では、同時多項目測定というニーズに答え難かった。

【0005】一方、環境中に排出された生物由来のステロイドホルモン類や一部の化学物質は、生体内に取り込まれるとホルモン類似作用を示すものがあり、これらの化学物質は内分泌攪乱物質と呼ばれ、動物の生殖機能等に悪影響を及ぼすことがわかってきた。したがって、これらの物質の正確な測定が極めて重要である。しかし、これらのホルモン様作用物質は極めて微量であるため、簡便で高精度な測定法の確立が必須である。従来からガスクロマトグラフィー(GC)法、液体クロマトグラフィー(HPLC)法、あるいはこれらの方法とマスペクトル(MS)分析法を組み合わせた方法、または抗原抗体反応に基づく免疫方法などが知られている。

【0006】これらの高精度分析法は、ほぼ同様の前処理により測定試料が調製される。この前処理は、混入物が非常に多い環境水あるいは環境物質からの抽出水から、測定妨害となる物質を除去し、目的とするホルモン様作用物質を効率よく抽出する目的で行われる。しかし、測定可能な程度の量の測定物質を得るためには、10L以上の試料を処理することが必要で、これを処理するには大変多くの時間と人手がかかってしまっていた。また、測定に際しても多成分を同時に測ることができず、そのため上記前処理を何度も繰り返さないと多項目を測定できなかった。そのため、例えば下水等の排水中に含まれる成分を測定する際、何回もサンプルを採取し測定する必要があり、また測定に時間もかかるため、すぐにフィードバックして汚染物質の排出をとめることが難しいなどの問題点があった。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】一回の測定で二種以上の測定物質を検出でき、かつ測定物質の濃縮を目的とする前処理を省略することができる効率的な測定方法、および該方法を実施するための装置を提供することを目的とする。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記目的を達成すべく鋭意検討した結果、測定物質の電荷または／および極性により測定物質を吸着剤に吸着させる工程を採用するという着想を得た。即ち、従来のEIAサンドイッチ法においては、固層に固定した抗体により測定物質を特異的に捕捉していたが、本発明では測定物質の電荷または／および極性という性質を用いて測定物質を捕捉しようとするものである。したがって、該吸着工程では、測定物質以外の物質も吸着剤に吸着される可能性はある。しかし、次の工程で、測定物質に特異的な結合性を有する例えば発光物質などで標識された検出用物質を吸着装置に加えれば、その標識による特定波長での吸光度等を測定することにより、測定物質を特異的に検出できるようになる。

【0009】したがって、本発明によれば、電荷または／および極性において類似の性質を有する測定物質であれば二種以上の測定物質を同時に吸着剤に吸着させることができる。そして、検出用物質の標識を検出用物質ごとに変えておけば、二種以上の測定物質を同時に測定することが可能になる。本発明により、従来のEIAサンドイッチ法において、数種類のリガンドを固層に同時に固定化することが困難であるため、固層を用いて多項目の測定をすることは非常に困難であったという問題点が解決できる。また、一つの測定で用いる二種以上の検出用物質のそれぞれの標識を、例えば波長を変えるという簡便な操作ですべて検出できるようにしておけば、多項目の測定が短時間で可能となる。これにより、臨床検査をはじめ、環境分析および食品分析の分野における、多項目を短時間で測定するというニーズに答えることができる。また、排水中の汚染物質の測定において、多項目を短時間で測定できるのですぐにフィードバックして汚染物質の排出をとめることができる。

【0010】また、本発明に係る装置として、吸着剤を充填させた吸着装置を採用すれば測定物質を濃縮するための試料の前処理が省略できるという知見を得た。また、吸着装置として例えばカラムを用いれば、大量の試料の測定も短時間で簡便に行うことができるという知見も得た。すなわち、本発明における吸着工程が大量の試料から測定物質を濃縮する役目も果たし、同時に、その吸着装置は測定にそのまま用いることができるため、前処理が不要になる。また、例えば環境水中のホルモン様作用物質のように、試料中に微量しか存在しないような測定物質の場合では、測定可能な程度の量の測定物質を得るために大量の試料を測定する必要があるが、この場合吸着装置として例えばカラムを用いれば、連続的に試料を通液させることにより、短時間で簡便に測定することができる。

【0011】すなわち、本発明は、(1)試料中の一または二種以上の測定物質を測定する方法において、少な

くとも下記の工程を含む測定方法、(a)測定物質の電荷または／および極性により一または二種以上の測定物質を吸着剤に吸着させる工程、(b)測定物質と特異的な結合性を有する検出用物質一又は二種以上と、吸着剤に吸着された測定物質とを反応させる工程、(c)該検出用物質を検出する工程、(2)測定物質がステロイドホルモン類またはホルモン様作用物質である前記(1)に記載の測定方法、(3)ステロイドホルモン類またはホルモン様作用物質が、アルキルフェノール類、ビスフェノールA、フタル酸エステル類、ダイオキシン類およびエストロジェン類からなる群から選ばれる1又は2種以上である前記(2)に記載の測定方法、(4)吸着剤が、アクリル酸エステルまたは／およびメタクリル酸エステルである架橋性単量体を重合して得られる架橋重合体である前記(1)～(3)のいずれかに記載の測定方法、(5)架橋重合体の平均粒径が $0.1\mu\text{m} \sim 1\text{cm}$ でかつ比重が $0.8 \sim 3.0$ である前記(4)に記載の測定方法、(6)検出用物質が抗体または抗原である前記(1)～(5)のいずれかに記載の測定方法、(7)検出用物質が抗体または抗原で、該検出用物質を検出する工程が酵素を用いる酵素免疫法である前記(1)～(6)のいずれかに記載の測定方法、および(8)測定物質の電荷または／および極性により一または二種以上の測定物質を吸着できる吸着剤を有する吸着装置と、測定物質と特異的な結合性を有する検出用物質とを備えることを特徴とする分析装置、に関する。

## 【0012】

【発明の実施の形態】本発明の測定方法が適用できる測定物質は、臨床検査、環境分析および食品分析において検査対象となるものであればどのようなものでもよい。試料としては、例えば、血液、血清、血漿、唾液、汗、尿、乳汁、胸水、粘膜、髄液、腹腔液、羊水あるいは糞便などのような生理学的な流体、発酵ブロス、細胞培養、または化学反応混合物などから得たものであってもよい。また、生物学的流体または生理学的流体の他に、他の液体サンプル、例えば水あるいは食品の製造検定サンプルまたは水質あるいは土壌検査サンプルなどであってもよい。ただし、二種以上の測定物質の測定を同時に行うのであれば、測定物質は電荷または／および疎水性において類似の性質を有するものが好ましい。

【0013】本発明の測定方法が適用できる測定物質のうち「ステロイドホルモン類またはホルモン様作用物質類」とは、生物由来のステロイドホルモン類、および生体内においてホルモン類似作用が報告されている物質あるいはホルモン類似作用が疑われる物質(以下、まとめてホルモン様作用物質という)であり、いわゆる内分泌攪乱物質と呼ばれる物質を含む。例えば、ダイオキシン類；ポリ塩化ビフェニール類；4-t-ブチルフェノール、4-n-ヘプチルフェノール、ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノールなどのアルキルフェノール

類；ビスフェノールA；2,4-ジクロロフェノール；フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジエチルなどのフタル酸エステル類；アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル；ベンゾ(a)ピレン、ベンゾフェノン、4-ニトロトルエン、スチレン、スチレン2量体、スチレン3量体などの芳香族化合物；エストラジオールなどのエストロゲン類などが挙げられる。特に、その中でもアルキルフェノール類、ビスフェノールA、フタル酸エステル類、ダイオキシン類またはエストロゲン類について好適に適用することが可能である。

【0014】本発明における吸着剤は公知の吸着剤であってよいが、有機溶媒に不溶で、表面積が大きく、適度の極性を持ち、吸着力の再現性のよいものが好ましい。例えば、アルミナ、ヒドロキシアパタイト、酸化マグネシウム、活性炭、シリカゲルまたはセルロースなどが挙げられる。

【0015】吸着剤は、測定物質の電荷または/および極性に基づいて適宜選択する。すなわち、測定物質が正の電荷を有するものであれば、酸性の吸着剤を使用するのが好ましい。逆に、負の電荷を有するものであれば、塩基性の吸着剤を使用するのが好ましい。また、測定物質が極性の強いものであれば吸着剤は極性の弱いものでよいが、測定物質が極性の弱いものであれば吸着剤は極性の強いものであるのが好ましい。例えば、測定物質がカルボン酸またはフェノール類のような酸であれば塩基性の吸着剤であるアルミナなどを用いればよい。逆に、測定物質が芳香族または脂肪族アミンのような塩基性物質であれば、表面に酸性基、例えばケイ酸基を有するシリカゲルなどがよい。また、測定物質がタンパク質の場合は、ヒドロキシアパタイトがよく用いられる。ヒドロキシアパタイトは $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ の結晶であり、タンパク質が吸着する際にはヒドロキシアパタイトのカルシウムとリン酸に対するタンパク質のイオン結合度の総和が利用される。ここで、吸着剤の極性の大きいものから順に示すと、例えば、アルミナ、酸化マグネシウム、シリカゲル、炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、でんぷん、セルロースの順になる。測定物質の極性の大きいものから順に示すと、例えば、酸塩基類；アルコール、アミン、ニトロ化合物；アルデヒド、ケトン、エステル類；ハロゲン化合物；不飽和炭化水素；飽和炭化水素の順になる。

【0016】吸着剤の吸着力は吸着剤中の水分量に関係しているため、含水量を加減することで吸着力を調整することができる。一般に含水量が高いほど吸着力は低くなる。

【0017】吸着剤は市販されたものを用いてもよいし、また、公知の方法で製造することができる。

【0018】測定物質がホルモン様作用物質の場合は、吸着剤はアクリル酸エステルまたはメタクリル酸エス

ル（以下、「アクリル酸またはメタクリル酸」を「(メタ)アクリル酸」と記す)である架橋性単量体を重合して得られる架橋重合体よりなる吸着剤が好ましい。該吸着剤を用いることにより疎水性物質、特にホルモン様作用物質を効率よく吸着でき、該吸着剤がホルモン様作用物質の測定時に妨害となるような成分を溶出せず、かつ該吸着剤の吸着能をほとんど低下させることなく再利用できるからである。(メタ)アクリル酸架橋重合体は、(メタ)アクリル酸エステルである架橋性単量体を重合開始剤の存在化において重合反応を行うことにより得られる。

【0019】本発明方法において、測定物質がホルモン様作用物質の場合の吸着剤を構成する(メタ)アクリル酸エステルは、公知の(メタ)アクリル酸エステルを用いてよい。例えば、エチレングリコールジ(メタ)アクリレート、ジエチレングリコールジ(メタ)アクリレート、トリエチレングリコールジ(メタ)アクリレート、テトラエチレングリコールジ(メタ)アクリレート、ポリエチレングリコールジ(メタ)アクリレート、プロピレングリコールジ(メタ)アクリレート、ジプロピレングリコールジ(メタ)アクリレート、トリプロピレングリコールジ(メタ)アクリレート、ポリプロピレングリコールジ(メタ)アクリレート、ポリテトラメチレングリコールジ(メタ)アクリレートなどのアルキレングリコールジ(メタ)アクリレート類；トリメチロールエタントリ(メタ)アクリレート、トリメチロールプロパントリ(メタ)アクリレート、テトラメチロールプロパントリ(メタ)アクリレート、テトラメチロールメタントリ(メタ)アクリレート、テトラメチロールメタントラ(メタ)アクリレート、ジペンタエリスリトールヘキサ(メタ)アクリレート、ジトリメチロールプロパントラ(メタ)アクリレート；ヒドロキシビバリン酸ネオペンチルグリコールジ(メタ)アクリレート、1,3-ブチレングリコールジ(メタ)アクリレート、1,6-ヘキサジオールジ(メタ)アクリレート、1,9-ノナンジオールジ(メタ)アクリレート、ネオペンチルグリコールジ(メタ)アクリレート、2-ヒドロキシ-1,3-ジ(メタ)アクリロキシプロパン、2-ヒドロキシ-1-アクリロキシ-3-メタクリロキシプロパン、ウレタン(メタ)ジアクリレート、グリセロールジ(メタ)アクリレート、グリセロールアクリレートメタクリレート、1,10-ジ(メタ)アクリロキシ-4,7-ジオキサデカン-2,9-ジオール、1,10-ジ(メタ)アクリロキシ-4,8-ジオキサウンデカン-2,6,10-トリオールなどの(メタ)アクリル酸エステルの架橋性単量体が挙げられる。これらは2種以上混合して用いてもよい。

【0020】またこれらの架橋性単量体の他に、非架橋性の(メタ)アクリル酸エステルを添加してもよい。例えばメチル(メタ)アクリレート、エチル(メタ)ア

リレート、プロピル(メタ)アクリレート、ブチル(メタ)アクリレート、ラウリル(メタ)アクリレート、ステアリル(メタ)アクリレートなどのアルキル(メタ)アクリレート類；ヒドロキシメチル(メタ)アクリレート、ヒドロキシエチル(メタ)アクリレート、メトキシジエチレングリコール(メタ)アクリレート、メトキシポリエチレングリコール(メタ)アクリレート、グリシジル(メタ)アクリレートなどが挙げられる。

【0021】これらの非架橋性(メタ)アクリル酸エステルを用いる場合の使用量は、上記架橋性(メタ)アクリル酸エステル100重量部に対して約0~20重量部程度であることが好ましい。またこれらは2種以上混合して用いてもよい。

【0022】本発明方法において、測定物質がホルモン様作用物質の場合の吸着剤を構成する単量体としては、上記(メタ)アクリル酸エステル以外の単量体を(メタ)アクリル酸エステルに混合して用いてもよい。これらの単量体としては、例えばトリアリルシアヌレートまたはトリアリルイソシアヌレートなどが挙げられる。

【0023】(メタ)アクリル酸エステル以外の単量体を用いる場合の使用量は、(メタ)アクリル酸エステル単量体100重量部に対して約0~20重量部程度であることが好ましい。またこれらは2種以上混合して用いてもよい。

【0024】本発明方法において、測定物質がホルモン様作用物質の場合に用いられる吸着剤としては、(メタ)アクリル酸エステル単量体のみで構成されることが好ましく、特に(メタ)アクリル酸エステルの架橋性単量体のみで構成されることがより好ましく、その中でもアルキレングリコールジ(メタ)アクリレートのみで構成されることが最も好ましい。

【0025】測定物質がホルモン様作用物質の場合に用いられる吸着剤は、(メタ)アクリル酸である架橋性単量体を重合して得られる架橋重合体のほかに、従来知られている種々の高分子樹脂を適宜用いることができる。例えば、以下に挙げるような単量体からなる高分子樹脂を用いることができる。

(イ)スチレン、 $\alpha$ -メチルスチレン、ジビニルベンゼンなどのスチレン系；エチレン、プロピレンなどのオレフィン系単量体；ブタジエンなどのジエン系単量体、フェノキシエチル(メタ)アクリレート、フェノキシエチレングリコール(メタ)アクリレート、ジメチロールトリシクロデジカンジ(メタ)アクリレート等の(メタ)アクリル酸エステル等の単量体からなる高分子樹脂。

(ロ)また(メタ)アクリル酸、イタコン酸、または2-ジエチルアミノエチル(メタ)アクリレートなどのイオン交換性の官能基を有する単量体を使用する場合は、官能基をエステル化する等して官能基の反応性を予めブロックするのが好ましい。そうすることにより、これらのイオン交換基によるホルモン様作用物質の吸着阻害を

防止することができる。

(ハ)さらにホルモン様作用物質と類似の構造を有する単量体；例えばビスフェノールA構造を有する2,2-ビス{4-[ (メタ)アクリロキシエトキシ]フェニル}プロパン、2,2-ビス{4-[ (メタ)アクリロキシ・ジエトキシ]フェニル}プロパン、2,2-ビス{4-[ (メタ)アクリロキシ・ポリエトキシ]フェニル}プロパン、ノニルフェノキシポリエチレングリコール(メタ)アクリレートなどは、ホルモン様作用物質の混入が考えられるので、予めホルモン様作用物質の混入を確認し、もし混入しておればこれを分析に先立って予め除去しておく。このような留意事項は吸着剤のみならず、あらゆる本発明に関する他の部材についても適用されうる。

【0026】(イ)、(ロ)および(ハ)については、その添加量は、上記(メタ)アクリル酸エステル単量体100重量部に対して約0~10重量部程度であることが好ましい。

【0027】本発明方法において測定物質がホルモン様作用物質の場合に用いられる吸着剤は、上記単量体あるいは単量体混合物が重合可能な公知の重合方法により調製することができる。好ましくは分散媒中に単量体を分散させ、重合開始剤存在下で重合する方法、例えば懸濁重合法、分散重合法、または乳化重合法などの方法が挙げられる。特に懸濁重合法が簡便で好ましい。懸濁重合法で行う場合は、例えばポリビニルアルコールやポリビニルピロリドンなどの分散剤が溶解した分散媒に上記単量体を分散させ、重合開始剤存在下で攪拌しながら昇温することにより、重合反応を行うことができる。但し、分散剤として界面活性剤を使用する場合は、測定系に残存しないように少量用いることが好ましい。界面活性剤が残存していた場合は、吸着剤を測定に使用する際に界面活性剤が溶出してくる可能性があり、その場合、吸着剤へのホルモン様作用物質の吸着を阻害するからである。また、製造設備が複雑で重合効率が低く、重合後の測定を妨害する溶出物発生が考えられるエネルギー線重合などは好ましくない。

【0028】上記重合時には、公知の添加剤を添加することもできる。例えば重合体を大孔径の多孔質体とするための多孔質化剤(相分離剤)、連鎖移動剤、またはpH調節剤などである。このうち多孔質化剤としては公知のものが採用されうるが、キシレンやトルエンなどの芳香族系炭化水素およびカブリン酸メチル、ラウリン酸メチルあるいはアジピン酸ジイソブチルなどのアルキルエステル類を使用する場合は、これらが残存することにより測定時に溶出し、測定の妨害となる可能性がある場合は使用を避けるのが好ましい。上記物質よりも、例えばイソアミルアルコールやオクタノールなどのアルコール類やヘキサンの脂肪族系炭化水素などが好都合に用いられる。

【0029】上記重合後、得られた架橋重合体を洗浄して乾燥することにより本発明方法に用いられる吸着剤が得られる。洗浄は、有機溶媒で複数回洗浄することが好ましい。また、好ましくは複数種の有機溶媒で複数回洗浄する。洗浄に使用する有機溶媒は、用いた単量体によっても異なるが、例えば、メタノールあるいはエタノールなどのアルコール類、アセトン、ヘキサンまたはジクロロエタンなどベンゼン環を含まない公知の有機溶媒が用いられる。

【0030】また、本発明方法において測定物質がホルモン様作用物質の場合に用いられるの吸着剤は、上記単量体あるいは単量体混合物から重合された重合体を原料として、公知の成形方法、例えば射出成形法、押出成形法、あるいはブロー成形法などによっても調製することができる。

【0031】本発明方法に用いられる吸着剤の形状は、例えばフィルム状、膜状、フィルター状など、試料と接触できる形状であれば特に制限されないが、粒子状が好ましい。またその細孔分布の制限もなく、使用環境下で形状が維持される強度があれば多孔性であってもよいし、ミクロポア構造であってもよい。また発泡体であってもよい。また、粒子状である場合、平均粒径が約0.1 μm ~ 1 cm程度でかつ比重が約0.8 ~ 3.0程度であることが好ましい。これらの範囲内であれば取扱いが容易だからである。

【0032】吸着剤は、アルミナ、シリカまたは(メタ)クリエート架橋重合体等が表面層を形成する被覆構造体であってもよい。被覆されるコア部分の素材は特に制限がないが、使用環境下で形状が保持される程度の強度を有する物質で形成されていることが好ましい。また、ホルモン様作用物質を測定する際には、被覆されるコア部分の素材は外部に疎水性物質、特にホルモン様作用物質の溶出がない物質で構成されることが好ましい。被覆構造体を有する吸収剤の場合においても、その形状は特に制限はなく、例えば、粒子状、フィルム状、膜状またはフィルター状など試料と接触できる形状であればよいが、粒子状が好ましい。

【0033】また、四三酸化鉄のような酸化鉄を表面もしくは芯部分に混合させることにより、吸着剤を磁性粒子化してもよい。この場合は、測定中において上清と吸着剤を分離する際に磁力を用いて行うことが出来、利便性が向上する。

【0034】本発明における吸着工程では、吸着剤に試料を接触させて、試料中の測定物質をその電荷または/および極性により吸着剤に吸着させる。吸着工程は特に制限がなく、例えば試験管などの容器に収納された吸着剤に試料を添加してもよいし、試料を入れた試験管などの容器に吸着剤を添加してもよい。また、吸着工程を行う際、一定時間放置したり、ミキサーや超音波処理などに攪拌・混合を行ってもよい。さらに加温するなど温度

制御を行ってもよい。また、吸着工程に供される試料は、あらかじめ濃縮・抽出・洗浄などの前処理操作を行ったものでもよい。

【0035】また、本発明における吸着装置は、試験管のような容器に吸着剤を充填したものが挙げられる。また、吸着剤を充填したカラムであってもよい。特に、吸着装置としてカラムを用いれば、大量の試料を連続的に通液できるので、大量の試料を短時間に処理できる。

【0036】吸着装置として用いられるカラムは、吸着剤を収納する容器であるカラム筐体と、吸着剤は通過しないが試料は通過するフィルターからなる、公知の構造のものが用いられる。カラム筐体は、一つ以上の流入口と、一つ以上の排出口を有し、その内部に吸着剤が収納される構造であればよく、形状、大きさは特に制限がない。密閉構造であっても開放構造であってもよい。また排出側にはフィルターが設置されるのが好ましい。フィルターの構造、形状、大きさにも特に制限はない。また、流入側にも同様のフィルターを設置してもよい。カラム筐体は、金属製、樹脂製、セラミックス製、またはガラス製など公知の材質でよい。また、フィルターは紙製、布製、金属製、樹脂製、セラミックス製、またはガラス製など公知の材質でよい。ただし、測定物質がホルモン様作用物質である場合は、カラム筐体およびフィルターは測定条件下でホルモン様作用物質が溶出しないものが好ましい。

【0037】また試料のカラムへの流入・排出方法も特に制限はなく、送液ポンプで通液しても重力を利用して通液してもよい。さらに排出側より吸引したり、流入側より加圧してもよい。試料は常に通液されていてもよいし、カラムに導入後通液を停止して吸着工程を行った後、再び通液を開始して処理済みの試料を排出してもよい。

【0038】本発明における反応工程では、吸着剤に吸着された測定物質と、測定物質と特異的な結合性を有する検出物質とを反応させる。反応工程を行う際、吸着させた後の処理済みの試料と吸着剤を分離してもよい。分離する方法は特に制限がなく、静置あるいは遠心処理後デカンテーションを行ったり、吸引、加圧あるいは自然濾過による濾過で分離してもよい。

【0039】濾過による分離を採用した場合、例えば、吸着剤を含む試料を試料は通過するが吸着剤は通過しない濾過装置に導入し、吸着剤をトラップして試料を通過させることにより分離を行うのが好ましい。濾過装置は、特に制限がなく公知のものであれば何れでもよいが、フィルター構造を有するものが好ましい。この場合のフィルターの材質は、例えば、金属製、樹脂製、布製、紙製またはセラミックス製など、十分な強度があれば公知の材質を使用できる。但し、測定物質がホルモン様作用物質の場合は、測定条件下でホルモン様作用物質の溶出がないことが好ましい。またフィルターの構造、

形状、大きさにも特に制限がない。また通液方法にも特に制限はない。

【0040】沈降による分離を採用した場合、試料中の吸着剤を沈降させることにより、吸着剤と上清である処理済みの試料を分離する。例えば吸着剤を含む試料を静置させたり、遠心分離するという方法が挙げられる。

【0041】本発明の反応工程において、吸着剤に吸着された測定物質と検出物質とを接触させる方法は特に制限がなく、好ましくは該吸着剤が充填された装置に検出物質を添加したり、該吸着剤が充填されたカラムに検出物質を通液させる等の方法で行うことができる。また該反応工程においては、一定時間放置したりミキサーや超音波処理などに攪拌・混合を行ってもよい。さらに加温するなど温度制御を行ってもよい。

【0042】本発明における検出物質は測定物質と特異的に結合するものでなければならない。特異的な結合として、抗原抗体結合や化学結合など公知のものが用いてよい。検出物質としては、例えば測定物質に対する抗体あるいは抗原、またはホルモン様作用物質に対するアビジンあるいはビオチン等の化合物などが挙げられる。好ましくは、測定物質に対する抗体がよい。検出物質は、検出工程によって検出できるものでなければならない。検出するためには、例えば、検出物質そのものを酵素や発光物質などの標識微粒子に固定して標識する方法が挙げられる。また、該検出物質に対して特異的な結合性を有する物質、例えば検出物質に対する抗体などを、標識微粒子に固定して標識をしておいて、この標識用物質を添加する方法もある。この方法であれば、一つの検出物質に対して複数の標識用物質が結合することにより、標識による信号が増幅するという利点がある。好ましくは、酵素により検出物質そのものを標識するのがよい。

【0043】標識微粒子としては金属コロイド、非金属コロイド、染料コロイドまたはラテックス粒子などの着色粒子が挙げられる。より具体的には、金、白金あるいは銅などのコロイド状金属粒子、酸化鉄あるいは酸化チタンなどのコロイド状金属酸化物粒子、セレンウム、テルリウムあるいは硫黄などのコロイド状非金属粒子、または、有機高分子粒子などが挙げられる。このうち、有機高分子粒子としては、例えば不溶性アガロース、セルロースあるいは不溶性デキストランなどの天然高分子から成る粒子や、ポリスチレン、スチレン-スルホン酸(塩)共重合体、スチレン-メタクリル酸共重合体、アクリルニトリル-ブタジエン-スルホン酸共重合体、塩化ビニル-アクリル酸エステル共重合体あるいは酢酸ビニル-アクリル酸エステル共重合体から成る合成高分子粒子が挙げられる。好ましくは、天然高分子から成る粒子がよい。特に、好ましくは含有染料によって着色の種類や度合いを調節できうる合成高分子ラテックス粒子を用いるのがよい。

【0044】標識微粒子に公知の処理を行ってもよい。すなわち、蛍光染料を染料として用いて粒子に蛍光物質を含有させることもできるし、一般に使用されている検出用標識試薬を用いて粒子を標識して粒子の捕捉を検出することもできる。また、標識微粒子が合成高分子ラテックス粒子の場合は、油性染料で染色されていることが好ましい。油性染料としては、アゾ系染料が好ましく、またキノロン系染料なども用いることができる。

【0045】本発明における標識微粒子は、その粒子径が約0.01 $\mu$ m~5.0 $\mu$ m程度の範囲にあることが好ましく、特に好ましくは、約0.02 $\mu$ m~3.0 $\mu$ m程度の範囲である。また、標識微粒子が合成高分子ラテックス粒子の場合は、その表面荷電量が、負電荷で約0.01~0.5 meq/g程度であることが好ましい。表面にスルホン酸基やカルボキシル基などを導入した粒子も適宜使用可能である。こうすることにより、標識微粒子同士の非特異的凝集を防ぐことができる。

【0046】本発明における標識微粒子は、公知の方法で製造してもよいし、また、市販されているものを用いてもよい。例えば、合成高分子ラテックス粒子は公知の染料エマルジョン法などによって作製することができる。

【0047】検出物質または標識用物質を固定化する標識微粒子としては、色素・酵素・微粒子・蛍光物質・発光物質などが挙げられる。蛍光物質としては、例えばフルオロセイン、ローダミンあるいはシアン化白等の蛍光物質を含むポリスチレン、スチレン-ブタジエン共重合体、スチレン-アクリル酸共重合体、またはガラス等の粒子を挙げることができる。

【0048】酵素としては、酵素免疫測定法に用いられる各種酵素を用いることができ、例えばアルカリフォスファターゼ、パーオキシターゼ、または-D-ガラクトシダーゼ等を用いることができる。

【0049】また、本発明において標識として酵素を用いる場合、ポリスチレンやカーボン粒子等の不溶性担体や他の水溶性タンパクを介して検出物質または標識用物質を酵素標識する方法をとってもよい。

【0050】不溶性担体を介する場合は、酵素と、検出物質または標識用物質とを別々に不溶性担体に物理吸着もしくは化学結合で結合させればよい。この場合の不溶性担体としては、一般的には、無機高分子粉末、有機高分子粉末、微生物、血球、または細胞膜片等が挙げられる。無機高分子粉末としては、金コロイド、セレンウムコロイド、または酸化チタンコロイドなどが挙げられる。有機高分子粉末としては、天然高分子粉末または合成高分子粉末が挙げられる。天然高分子粉末としては、例えば不溶性アガロース、セルロース、または不溶性デキストランなど、合成高分子粉末としてはポリスチレン、スチレン-スルホン酸(塩)共重合体、スチレン-メタクリル酸共重合体、アクリロニトリル-ブタジエン

-スルホン酸共重合体、塩化ビニル-アクリル酸エステル共重合体、または酢酸ビニル-アクリル酸エステル共重合体などが挙げられる。

【0051】上記不溶性担体は、その使用目的・用途などにより異なるが、通常化学合成により製造するか、または市販されているものを使用する。また、表面にスルホン酸基やカルボキシル基を導入した不溶性担体も適宜使用可能である。

【0052】上記不溶性担体の粒径は約1nm~2μm程度が好ましい。不溶性担体としてラテックス、金コロイド、またはセレンウムコロイドを用いる場合、その粒径は金コロイド、またはセレンウムコロイドならば約5nm~0.5μm程度、ラテックスならば約50nm~1.5μm程度がより好ましい。

【0053】また水溶性タンパクを介する場合は、酵素と、検出物質または標識用物質とを別々に水溶性タンパクに物理吸着もしくは化学結合で結合させればよい。水溶性タンパクに官能基がある場合は化学結合で行ってもよい。例えばウシ血清アルブミンのように疎水部を有する場合は、物理吸着で行ってもよい。いずれの場合においても、使用する水溶性タンパクは、例えばウシ血清アルブミンやオプアルブミンなどの分子量2万以上のタンパク質を用いることが好ましい。

【0054】本発明に用いる酵素に反応して発色する基質としては、発色基質、蛍光基質、または発光基質をあげることができる。

【0055】発色基質としては、例えば、(パーオキシダーゼ用)過酸化水素水と組み合わせた2,2'-アジノービス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)(ABTS)、3,3',5,5'-テトラメチルベンチジン(TMB)、ジアミノベンチジン(DAB)、又は、(アルカリホスファターゼ用)5-プロモ-4-クロロ-3-インドリルリン酸(BCIP)等が挙げられる。

【0056】蛍光基質としては、例えば、(アルカリホスファターゼ用)4-メチルウムベリフェニル-ホスフェート(4MUP)、又は、(D-ガラクトシダーゼ用)4-メチルウムベリフェニル-D-ガラクトシド(4MUG)等が挙げられる。

【0057】発光基質としては、例えば、(アルカリホスファターゼ用)3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスフォルルオキシ)フェニル1-1,2-ジオキセタン・2ナトリウム塩(AMPPD)、(D-ガラクトシダーゼ用)3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-D-ガラクトピラノシル)フェニル1-1,2-ジオキセタン(AMGPD)、(パーオキシダーゼ用)過酸化水素と組み合わせたルミノール、又はイソルミノールが挙げられる。

【0058】標識微粒子の表面に検出物質または標識

用物質を固定化させる手法は種々知られており、本発明において適宜利用できる。例えば、標識微粒子表面に物理的に吸着させる手法や、官能基を有する標識微粒子表面に既知の方法で化学結合や共有結合させる方法により効率的に固定化する手法が挙げられる。

【0059】標識微粒子として酵素を用いる場合の固定化の方法は、公知の共有結合又は非共有結合を作る方法を利用することができる。共有結合による方法では、官能基を用いることができる。非共有結合によるものとしては物理吸着を挙げることができる。また、例えば、グルタルアルデヒド法、過ヨウ素酸法、マレイミド法、ピリジル・ジスルフィド法、又は、各種架橋剤を用いる方法も挙げられる。架橋剤として例えばN-スクシンイミジル-4-マレイミド酪酸(GMBS)、N-スクシイミジル-6-マレイミドヘキサ酸、又は、N-スクシイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸等を用いることができる。

【0060】検出物質または標識用物質を標識微粒子の表面に固定させる量は特に限定されない。該物質が抗体又は抗原である場合、過剰の抗原または抗体により抗原または抗体自身を介した非特異凝集反応や血中の共存物質との非特異凝集反応が起こらない程度であればよい。

【0061】検出物質または標識用物質に、安定化・感度向上のために以下のような物質を共存させてもかまわない。例えば、ウシ血清アルブミン、カゼインまたはカザミノ酸など抗原抗体反応に特異的な活性を示すものでなければ特に限定されない。検出物質または標識用物質と同一または他の動物種から得られたグロブリン、またはその処理物でも良い。また、これら2種以上を共存させてもよい。

【0062】本発明の検出工程においては、吸着剤に吸着させた測定物質に結合した検出物質の標識微粒子による例えば特定の波長の吸光度等を検出する。また、さらに標識用物質を添加して標識用物質の標識微粒子による信号を検出する。したがって、測定物質を介して吸着剤に捕捉された検出物質または標識用物質と、測定物質に結合せず遊離している検出物質または標識用物質を分離しなければならない。該分離は公知の方法で行うことができる。しかし、吸着装置がカラムであれば、遊離している検出物質または標識用物質はカラムから排出されることから分離の必要はない。

【0063】本発明における検出方法は、標識微粒子によりそれぞれ対応する目視、シンチレーションカウンター、比色計、蛍光光度計、フォトンカウンター、または感光フィルム等の測定装置を用いて測定物質の検出を行う。標識微粒子が酵素である場合は酵素と反応する基質が必要である。該基質は、反応工程後に吸着装置に添加してもよいし、予め吸着装置に含有させておいてもよい。また、試料に溶解または分散させてもよい。この場合

は、発色基質、蛍光基質または発光基質が酵素と反応することにより生成する色素または蛍光等の有無をそれぞれ対応する目視、シンチレーションカウンター、比色計、蛍光光度計、フォトンカウンター、または感光フィルム等の測定装置を用いて行う。また、発色基質を用いた場合、測定物質の量に対応した色票（カラーチャート）を用いることにより半定量的な分析が可能となる。

【0064】二種以上の測定物質について同時に測定する場合は、それぞれの測定物質と結合性を有する検出物質を異なる標識微粒子に固定させなければならない。10 好ましくは、波長を変更するなどの簡便な操作により、これら二種以上の標識微粒子を測定できるのがよい。

【0065】

【実施例】なお、特に記載がない限り、%は重量%を示す。

〔吸着剤1の調製〕トリエチレングリコールジメタクリレート（新中村化学工業株式会社製）500gに、過酸化ベンゾイル（重合開始剤：キシダ化学株式会社製）1.0gを溶解した。これを4%ポリビニルアルコール水溶液2500mLに攪拌しながら分散させ、窒素雰囲気下で80に昇温させた。80で24時間重合した後、内容物をイオン交換水で3回、アセトンで1回、エタノールで4回洗浄した。洗浄後乾燥して吸着剤1を得た。平均粒径は30μm、比重は1.2であった。

【0066】〔吸着剤2の調製〕エチレングリコールジメタクリレート（新中村化学工業株式会社製）400g及びテトラメチルロールメタントリアクリレート100gの混合物に、過酸化ベンゾイル（重合開始剤：キシダ化学株式会社製）1.0gを溶解した。これを2%ポリビニルアルコール水溶液2500mLに攪拌しながら分散させ、窒素雰囲気下で80に昇温させた。80で24時間重合した後、内容物をイオン交換水で3回、アセトンで1回、エタノールで4回洗浄した。洗浄後乾燥して吸着剤2を得た。平均粒径は10μm、比重は1.2であった。

【0067】〔吸着剤3の調製〕テトラエチレングリコールジメタクリレート（新中村化学工業株式会社製）400g及びメチルメタントリアクリレート100gの混合物に、過酸化ベンゾイル（重合開始剤：キシダ化学株式会社製）1.0gを溶解した。これを1%ポリビニルアルコール水溶液2500mLに攪拌しながら分散させ、窒素雰囲気下で80に昇温させた。80で24時間重合した後、内容物をイオン交換水で3回、アセトンで1回、エタノールで4回洗浄した。洗浄後乾燥して吸着剤3を得た。平均粒径は100μm、比重は1.2であった。

【0068】〔吸着剤4の調製〕スチレン（和光純薬株式会社製）200gおよびジビニルベンゼン（キシダ化学株式会社製）200gの混合物に、過酸化ベンゾイル（重合開始剤：キシダ化学株式会社製）1.0gを溶解

した。これを4%ポリビニルアルコール水溶液2500mLに攪拌しながら分散させ、窒素雰囲気下で80に昇温した。80で24時間重合した後、内容物をイオン交換水で3回、アセトンで1回、エタノールで4回洗浄した。洗浄後乾燥して吸着剤4を得た。平均粒径は100μm、比重は1.2であった。

【0069】〔検出物質の調整〕リガンドとしてモノクロナール抗体を用いた。マウス腹水よりプロテインAカラムを用いて精製した抗ビスフェノールA抗体と抗17-エストラジオール抗体を100mMリン酸緩衝液（pH7.4）に溶解し、抗体の濃度がそれぞれ1mg/mLの溶液を作製した。上記抗体液1mLに、ジメチルホルムアミドにSMCC（N-サクシイミジル-4-（N-マレイミドメチル）-1-カルボキシレート）を溶解してその濃度が4mg/mLとした溶液を100μLずつ加え30で10分攪拌し、抗体にSMCCを結合させ、マレイミド基を導入した。ついで、上記溶液を透析膜（UC20-32-100：サイズ20/32 三光純薬株式会社製）を用い、生理食塩水（0.9% NaCl）30Lでそれぞれ一昼夜透析した。その後上記溶液を1mLずつ試験管に分注した。その後それぞれの試験管に、抗ビスフェノールA抗体には100mMリン酸緩衝液（pH7.4）にガラクトシダーゼを1mg/mLの濃度になるように溶解した溶液を0.3mL添加した。一方、抗17-エストラジオール抗体には、100mMリン酸緩衝液（pH7.4）にペルオキシダーゼ1mg/mLの濃度になるように溶解した溶液を0.1mL添加した。それぞれの溶液を25で1時間攪拌した。ついで、上記溶液を透析膜（UC20-32-100：サイズ20/32 三光純薬株式会社製）を用い、生理食塩水（0.9% NaCl）30Lでそれぞれ一昼夜透析した。その後上記溶液を1mLずつ試験管に分注し、抗ビスフェノールAに酵素標識したものを酵素標識抗体液1とし、抗17-エストラジオール抗体に酵素標識にしたものを酵素標識抗体液2とした。

【0070】〔発色液の調製〕O-ニトロフェニル-D-ガラクトピラノシド（以下、ONPGと略す）、N-（2-ヒドロキシ-スルホプロピル）-3,5-ジメトキシアニリン（以下、HDAOSと略す）、4-アミノピリン（以下、4-AAと略す）、および過酸化水素を100mMリン酸緩衝液（pH7.0）に溶解し発色液とした。それぞれの濃度が、ONPGが1mM、HDAOSが1mM、4-AAが4mM、過酸化水素が1mMになるよう調製した。

【0071】〔測定〕上記吸着剤1~4の調整で作製した吸着剤0.1gを試験管（口径13mm、長さ90mm）に入れた。ビスフェノールA及びエストロジェンが共に0ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、4ng/mL、8ng/mLの濃度になるように精製水に溶解した標準液を1mLずつ試験管に

入れた。その後25℃で30分インキュベートした。しかる後、18000rpmで15分遠心し、上清を除去し、吸着剤に吸着された物質と吸着されなかった物質を分離した。その後、上記酵素標識抗体液1または2を0.5mLずつそれぞれの試験管に入れ、37℃で60分インキュベートした。その後、18000rpmで15分遠心し、上清を除去し結合した抗体と遊離している抗体を分離した。さらに発色液を1mLずつそれ\*

\*それぞれの試験管に入れ、37℃で30分インキュベートし、30分後に410nm及び580nmで吸光度測定を行った。ここで、410nmの吸光度からビスフェノールAの濃度がわかり、580nmの吸光度からエストロジェンの濃度がわかる。

【0072】〔結果〕

【表1】

	ビスフェノールAの濃度 (ng/mL)					
	0	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
担体1	0.002	0.05	0.12	0.25	0.51	1.02
担体2	0.004	0.07	0.14	0.29	0.60	1.21
担体3	0.002	0.03	0.07	0.14	0.29	0.52
担体4	0.001	0.09	0.04	0.13	0.22	0.26

【0073】

\* \* 【表2】  
エストロジェンの濃度 (ng/mL)

	0	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
担体1	0.002	0.08	0.16	0.34	0.70	1.42
担体2	0.001	0.05	0.11	0.23	0.48	1.01
担体3	0.002	0.06	0.13	0.29	0.68	1.40
担体4	0.001	0.02	0.078	0.076	0.034	0.047

上記により、ビスフェノールA、エストロジェンそれぞれを簡易に測定することが出来た。

【0074】

【発明の効果】本発明にかかる測定方法および測定装置によれば、一回の測定で二種以上の測定物質を検出できるので、臨床検査をはじめ、環境分析および食品分析の分野における多項目を短時間で測定するというニーズに\*

\*答えることができるという効果を奏する。また、排水中の汚染物質の測定において、多項目を短時間で測定できるのですぐにフィードバックして汚染物質の排出をとめることができる。また、測定物質を微量にしか含有しない試料で、大量の試料を測定しなければならない場合でも、前処理を省略することができるので、効率的な測定が可能になる。

フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード <sup>*</sup> (参考)
G 0 1 N 33/545		G 0 1 N 33/545	A
	33/566		33/566
// C 1 2 Q 1/28		C 1 2 Q 1/28	
	1/34		1/34

Fターム(参考) 4B063 QA01 QQ75 QQ94 QR02 QR15  
 QR56 QR58 QR82 QS33 QX02  
 4D017 AA01 AA11 BA04 BA07 CA13  
 CB01 DA07  
 4G066 AC17B BA20 BA38 CA20  
 CA33 CA52 CA54 FA03 FA07  
 FA37

专利名称(译)	使用吸附剂的测量方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2001272400A</a>	公开(公告)日	2001-10-05
申请号	JP2000084491	申请日	2000-03-24
[标]申请(专利权)人(译)	积水化学工业株式会社		
申请(专利权)人(译)	积水化学工业株式会社		
[标]发明人	横井正之 木島康雅 大石和之		
发明人	横井 正之 木島 康雅 大石 和之		
IPC分类号	G01N33/53 B01D15/08 B01J20/26 C12Q1/28 C12Q1/34 G01N33/543 G01N33/545 G01N33/566		
FI分类号	G01N33/53.A G01N33/53.F B01D15/08 B01J20/26.H G01N33/543.525.C G01N33/545.A G01N33/566 C12Q1/28 C12Q1/34 B01D15/24 B01D15/36		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QQ75 4B063/QQ94 4B063/QR02 4B063/QR15 4B063/QR56 4B063/QR58 4B063/QR82 4B063/QS33 4B063/QX02 4D017/AA01 4D017/AA11 4D017/BA04 4D017/BA07 4D017/CA13 4D017/CB01 4D017/DA07 4G066/AC17B 4G066/BA20 4G066/BA38 4G066/CA20 4G066/CA33 4G066/CA52 4G066/CA54 4G066/FA03 4G066/FA07 4G066/FA37		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

[问题]一种有效的测量方法，其能够在一次测量中检测两种或更多种测量物质并且为了浓缩测量物质而省略了预处理，并且该方法的执行方法。目的是提供一种设备。一种用于测量样品中一种或多种测量物质的方法，该方法至少包括以下步骤。(a)根据测量物质的电荷和/或极性将一种或多种类型的测量物质吸附到吸附剂上的步骤；(b)一种或多种类型的与测量物质具有特定结合特性的检测物质，以及使被吸附剂吸附的测定物质反应的步骤，(c)检测检测物质的步骤。

\*\*\*【表2】  
エストロジェンの濃度 (ng/mL)

	0	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
担体1	0.002	0.08	0.16	0.34	0.70	1.42
担体2	0.001	0.05	0.11	0.23	0.48	1.01
担体3	0.002	0.06	0.13	0.29	0.68	1.40
担体4	0.001	0.02	0.078	0.076	0.034	0.047