

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-521007

(P2008-521007A)

(43) 公表日 平成20年6月19日(2008.6.19)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/532 (2006.01)	GO 1 N 33/532 A	2 G O 5 4
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 1 A	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 U	
GO 1 N 21/78 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 1 B	
	GO 1 N 33/543 5 7 5	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 51 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-543203 (P2007-543203)	(71) 出願人	505000103
(86) (22) 出願日	平成17年11月16日 (2005.11.16)		バイオヴェリス コーポレイション
(85) 翻訳文提出日	平成19年7月17日 (2007.7.17)		アメリカ合衆国 20877 メリーランド、
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/041568		ゲーサースバーグ、 インダストリアル
(87) 国際公開番号	W02007/040559		ル ドライブ 16020
(87) 国際公開日	平成19年4月12日 (2007.4.12)	(74) 代理人	100066692
(31) 優先権主張番号	60/628, 122		弁理士 浅村 皓
(32) 優先日	平成16年11月17日 (2004.11.17)	(74) 代理人	100072040
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 浅村 肇
		(74) 代理人	100102897
			弁理士 池田 幸弘
		(74) 代理人	100088926
			弁理士 長沼 暉夫
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 電気化学発光測定法

(57) 【要約】

本明細書では、抗体など、少なくとも1種の対象の分析対象物を検出及び/定量するための、免疫測定法などのアッセイ法で使用できる組成物を開示する。また、免疫アッセイなどのアッセイ法で使用できる対照/キャリブレーター組成物、及び対照/キャリブレーター組成物の調製方法、該組成物を用いる分析対象物の検出及び/又は定量方法、並びに該組成物を含むキットを開示する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 標識及び結合パートナーを含む標識化結合パートナー（該標識化結合パートナーは分析対象物に特異的に結合できる）、及び

(b) 該結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物であって、組成物の総重量に対して約 5 重量%以下の水分含有量を有する組成物。

【請求項 2】

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第 1 結合パートナー、

10

(b) 分析対象物の結合を遮断することなしに第 1 結合パートナーに結合するための支持体、

(c) 標識及び結合パートナーを含む標識化第 2 結合パートナー（該標識化第 2 結合パートナーは分析対象物に特異的に結合できる）、及び

(d) 第 1 結合パートナー及び第 2 結合パートナーの両方に特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物であって、組成物の総重量に対して約 5 重量%以下の水分含有量を有する組成物。

【請求項 3】

第 1 及び第 2 結合パートナーが実質的に等量で存在する、請求項 2 に記載の組成物。

20

【請求項 4】

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第 1 結合パートナー、

(b) 標識及び分析対象物又は分析対象物類似体を含む標識化された分析対象物又は分析対象物類似体（該標識化された分析対象物又は分析対象物類似体は、第 1 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する）、及び

(c) 第 1 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物であって、組成物の総重量に対して約 5 重量%以下の水分含有量を有する組成物。

【請求項 5】

30

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第 1 結合パートナー、

(b) 分析対象物の結合を遮断することなしに第 1 結合パートナーに結合する支持体、

(c) 標識及び分析対象物又は分析対象物類似体を含む標識された分析対象物又は分析対象物類似体（該標識化された分析対象物又は分析対象物類似体は、第 1 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する）、及び

(d) 第 1 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物であって、組成物の総重量に対して約 5 重量%以下の水分含有量を有する組成物。

【請求項 6】

40

組成物の総重量に対して約 3 重量%以下の水分含有量を有する、請求項 1、2、4、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

組成物の総重量に対して約 1 重量%～約 3 重量%の範囲の水分含有量を有する、請求項 1、2、4、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 8】

凍結乾燥される、請求項 1、2、4、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

凍結乾燥される、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 10】

50

凍結乾燥される、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 1 1】

支持体が、膜、ビーズ、粒子、電極、及び容器の表面から選択される、請求項 2 又は 5 に記載の組成物。

【請求項 1 2】

支持体が磁化性ビーズである、請求項 1 1 に記載の組成物。

【請求項 1 3】

支持体が、ニトロセルロース、ポリスチレン、ポリプロピレン、カーボン、カーボンブラック、EVA、又はポリ塩化ビニルから選択される材料を含む、請求項 2 又は 5 に記載の組成物。

10

【請求項 1 4】

支持体が、結合対によって第 1 結合パートナーに結合されている、請求項 2 又は 5 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

支持体が結合対の一方のメンバーに結合され、結合対の他方のメンバーが第 1 結合パートナーに結合されている、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

結合対が、ストレプトアビジン/ビオチン及びアビジン/ビオチンからなる群から選択される、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 1 7】

第 1 結合パートナーが、支持体に共有結合されている、請求項 2 又は 5 に記載の組成物。

20

【請求項 1 8】

標識が、放射性同位元素、酵素、西洋ワサビペルオキシダーゼ、及び蛍光基から選択される、請求項 1、2、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 9】

標識が、電気化学発光基から選択される、請求項 1、2、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

電気化学発光基が金属を含む、請求項 1 9 に記載の組成物。

30

【請求項 2 1】

金属がルテニウム又はオスミウムである、請求項 2 0 に記載の組成物。

【請求項 2 2】

電気化学発光基がトリス - ビピリジル - ルテニウム基である、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記既知量の分析対象物又は前記分析対象物類似体が、いかなる結合パートナーにも実質的に結合されていない、請求項 1、2、4、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 4】

標識化結合パートナーと陽性対照/キャリブレーター試薬との密接な物理的混合物を含む、請求項 1、2、4、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 2 5】

物理的に接触した状態の少なくとも 2 つの隣接する領域を含み、その少なくとも 1 つの第 1 領域が標識化結合パートナーを含み、且つ少なくとも 1 つの第 2 領域が陽性対照/キャリブレーター試薬を含む、請求項 1、2、4、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 6】

競合結合アッセイを実施するための対照/キャリブレーター組成物である、請求項 4 又は 5 に記載の組成物。

【請求項 2 7】

(a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、

50

(i i) 第 1 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、

を含む組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること、

(c) (i) 前記結合パートナー、

(i i) 前記標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、及び

(i i i) 第 1 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む少なくとも 1 種の陽性対照 / キャリブレーター試薬、

を含む少なくとも 1 種の乾燥組成物を再水和することによって少なくとも 1 つの陽性対照 / キャリブレーター反応混合物を形成すること、

(d) 試験混合物及び少なくとも 1 つの陽性対照 / キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、並びに

(e) 反応混合物のそれぞれについて、分析対象物を前記第 1 結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、

を含む、分析対象物の検出及び / 又は定量方法。

【請求項 3 3】

(c) の少なくとも 1 つの陽性対照 / キャリブレーター反応混合物が、(b) の試験反応混合物を少なくとも 1 種の乾燥組成物と混合することによって形成される、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

(f) (i) 試料の成功的測定を確認すること、及び

(i i) 試験反応混合物から発生するシグナルを試験分析対象物の濃度に変換すること

から選択される少なくとも 1 つのステップを実施することによって (e) から得られた測定シグナルを評価することをさらに含む、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

(a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、

(b) 該試料を、

(i) 分析対象物に特異的に結合するための第 1 結合パートナー、

(i i) 分析対象物の結合を遮断することなしに第 1 結合パートナーに結合するための支持体、

(i i i) 第 1 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、

を含む組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること、

(c) (i) 前記第 1 結合パートナー、

(i i) 前記支持体、

(i i i) 前記標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、及び

(i v) 第 1 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む少なくとも 1 種の陽性対照 / キャリブレーター試薬、

を含む少なくとも 1 種の乾燥組成物を再水和することによって少なくとも 1 つの陽性対照 / キャリブレーター反応混合物を形成すること、

(d) 試験反応混合物及び少なくとも 1 つの陽性対照 / キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、並びに

(e) 反応混合物のそれぞれについて、分析対象物を前記第 1 結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、

を含む、分析対象物の検出及び / 又は定量方法。

【請求項 3 6】

(c) の少なくとも 1 つの陽性対照 / キャリブレーター反応混合物が、(b) の試験反応混合物を少なくとも 1 種の乾燥組成物と混合することによって形成される、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

10

20

30

40

50

(f) (i) 試料の成功的測定を確認すること、及び

(i i) 試験反応混合物から発生するシグナルを試験分析対象物の濃度に変換すること

、
から選択される少なくとも1つのステップを実施することによって (e) から得られる測定シグナルを評価することをさらに含む、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 38】

(b) の組成物が乾燥組成物である、請求項 27、28、又は 32 から 37 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

試料が生物学的体液を含む、請求項 27 から 37 までのいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 40】

生物学的流体が、血液、血漿、血清、喀痰、及び唾液から選択される、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

試料が、自然に発生する体液である、請求項 27 から 37 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 42】

試料が、大気中から濾過された分析対象物を含みうる、請求項 27 から 37 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

試料が、さらに水性緩衝液を含む、請求項 27 から 37 までのいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 44】

競合結合アッセイ法である、請求項 29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 45】

(d) でインキュベートすることが、約 1 分～約 60 分の範囲の時間で行われる、請求項 27、29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

(d) でインキュベートすることが、約 1 分～約 15 分の範囲の時間で行われる、請求項 27、29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 47】

(d) でインキュベートすることが、約 0 を超え約 50 までの範囲の温度で実施される、請求項 27、29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

(d) でインキュベートすることが、ほぼ室温で実施される、請求項 27、29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

(d) でインキュベートすることが、約 37 で実施される、請求項 27、29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 50】

(d) でインキュベートすることが、ヒーターを用いて実施される、請求項 27、29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

(d) でインキュベートすることが、揺動しながら実施される、請求項 27、29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

第 2 結合パートナーが、電気化学発光基で標識され、且つシグナルが、光検出器によって (e) で測定される、請求項 29、30、35、又は 37 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 5 3】

シグナルが、強度、振幅、及び持続時間の中の少なくとも1つである、請求項 2 7、2 9、3 0、3 5、又は 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

電気化学発光測定法であって、(e)での測定に先立って、インキュベートされた反応混合物にトリプロピルアミンを含むアッセイ緩衝液を添加することをさらに含む、請求項 2 7、2 9、3 0、3 5、又は 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物のための少なくとも1種の乾燥組成物を再水和する液体が、試料である、請求項 2 7、2 9、3 0、3 5、又は 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 5 6】

反応混合物から発生したシグナルレベルを比較して、同混合物中の分析対象物濃度が、高用量フック効果が発生するのに十分な大きさであるか否かを判断するステップをさらに含む、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

(a) 結合アッセイに使用される試薬及び陽性対照/キャリブレーター試薬を含む少なくとも1種の乾燥組成物、

(b) 各乾燥組成物を配置した少なくとも1つの容器、及び

(c) 較正/対照用情報、又は較正/対照用情報を得るための手引きを含むキット。

20

【請求項 5 8】

結合アッセイに使用される試薬が、標識及び結合パートナーを含む標識化結合パートナーを含み、該標識化結合パートナーが分析対象物に特異的に結合できる、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 5 9】

少なくとも1種の乾燥組成物が、それぞれ第1及び第2結合パートナーを含む少なくとも第1及び第2乾燥組成物、を含む、請求項 5 8 に記載のキット。

【請求項 6 0】

分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための支持体をさらに含み、該第1結合パートナーが標識を含まない、請求項 5 9 に記載のキット。

30

【請求項 6 1】

標識化結合パートナー、支持体、及び

(a) 分析対象物に特異的に結合せず、

(b) 支持体に結合し、且つ

(c) 第1結合パートナーと同様の非特異的結合特性を有するように構成された第3結合パートナー、

を含む少なくとも1種の乾燥組成物を含む少なくとも1つの陰性対照/キャリブレーター組成物をさらに含む、請求項 6 0 に記載のキット。

【請求項 6 2】

異なる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を有する乾燥組成物 (a) の数が p ($p \geq 1$) であり、

40

(e) 分析対象物が、 c_1 から c_2 ($c_1 < c_2$) の範囲の測定可能な濃度を有し、

(f) 陽性対照/キャリブレーター試薬なしで結合アッセイに使用される試薬を含む第2乾燥組成物をさらに含み、

分析対象物を欠く試薬で再水和された場合に、 p 個の既知量が、 d_1 、 d_2 、 \dots 、 d_p ($d_1 < d_2 < \dots < d_p$) の較正濃度を作り出し、

(i) d_1 / c_1 、(i i) d_{m+1} / d_m ($1 \leq m \leq p-1$)、及び (i i i) c_2 / d_p の中の最大値が約 $\frac{1}{2}$ 以下であり、

$p > 1$ なら $\frac{1}{2} = 2 (c_2 / ((p - 1) \times c_1))$ 、及び $p = 1$ なら $\frac{1}{2} = 2 (c_2 / c_1)$ である、請求項 5 7 に記載のキット。

50

- 【請求項 6 3】
 $= 2 (c 2 / (p \times c 1))$ である、請求項 6 2 に記載のキット。
- 【請求項 6 4】
 $= 2 (c 2 / (p + 1) c 1)$ である、請求項 6 2 に記載のキット。
- 【請求項 6 5】
 $p = 1$ である、請求項 6 2 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 6 6】
 $p = 2$ である、請求項 6 2 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 6 7】
 $p = 3$ である、請求項 6 2 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。 10
- 【請求項 6 8】
 $p = 4$ である、請求項 6 2 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 6 9】
 乾燥組成物が、請求項 1、2、4、又は 5 のいずれか一項に記載の組成物である、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 7 0】
 (a) 異なる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を有する陽性対照 / キャリブレーションの数が p ($p \geq 3$) であり、
 (b) p 個の既知量が、分析対象物を欠いた試薬で再水和された場合に、 d_1 、 d_2 、 \dots 、 d_p ($d_1 < d_2 < \dots < d_p$) の校正濃度を作り出し、 20
 (c) (i) $1 \leq m \leq p - 2$ の場合 $(d_m d_{m+2}) / (d_{m+1} d_{m+1})$ 、及び (i i) $1 \leq m \leq p - 2$ の場合 $(d_{m+1} d_{m+1}) / (d_m d_{m+2})$ の中の最大値が約以下であり、且つ
 (d) $= 100$ である、請求項 5 7 に記載のキット。
- 【請求項 7 1】
 $= 10$ である、請求項 7 0 に記載のキット。
- 【請求項 7 2】
 $= 2$ である、請求項 7 0 に記載のキット。
- 【請求項 7 3】
 (a) 分析対象物に特異的に結合せず、 30
 (b) 支持体に結合し、且つ
 (c) 第 1 結合パートナーと同様の非特異的結合特性を有するように構成された第 3 結合パートナー、
 を含み、
 第 1 結合パートナーの代わりに第 3 結合パートナーを使用する反応が、陰性対照 / キャリブレーションとして機能する、請求項 7 0 に記載のキット。
- 【請求項 7 4】
 前記少なくとも 1 つの容器が、マルチウェルプレートの少なくとも 1 つのウェルである、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 7 5】 40
 前記少なくとも 1 つの容器が、直径が約 9 mm 以下で且つ高さが約 40 mm 以下の管である、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 7 6】
 前記乾燥組成物を、25℃、相対湿度 100% で少なくとも 1 カ月間乾燥状態に保持する水分遮断物をさらに含む、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 7 7】
 前記乾燥組成物を、45℃、相対湿度 100% で少なくとも 3 カ月間乾燥状態に保持する水分遮断物をさらに含む、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。
- 【請求項 7 8】 50
 2 つの水分遮断物及び乾燥剤をさらに含み、該乾燥剤が 2 つの水分遮断物の間に配置さ

れる、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。

【請求項 7 9】

湿度インディケータをさらに含み、該湿度インディケータが前記 2 つの水分遮断物の間に配置され、且つ前記湿度インディケータが、前記 2 つの水分遮断物の外側から目視可能である、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。

【請求項 8 0】

マルチウェルプレートをさらに含む、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 8 1】

直径が約 9 mm 以下で、且つ高さが約 4 0 mm 以下である管をさらに含む、請求項 5 7 に記載のキット。

10

【請求項 8 2】

前記標識がルテニウムを含む、請求項 8 1 に記載のキット。

【請求項 8 3】

乾燥組成物を、2 5、相対湿度 1 0 0 % で少なくとも 1 カ月間乾燥状態に保持する水分遮断物をさらに含む、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 8 4】

乾燥組成物が、組成物の総重量に対して約 5 重量 % 以下の水分含有量を有する、請求項 8 3 に記載のキット。

【請求項 8 5】

乾燥組成物を、4 5、相対湿度 1 0 0 % で少なくとも 1 カ月間乾燥状態に保持する水分遮断物をさらに含む、請求項 5 7 に記載のキット。

20

【請求項 8 6】

乾燥組成物が、組成物の総重量に対して約 5 重量 % 以下の水分含有量を有する、請求項 8 5 に記載のキット。

【請求項 8 7】

前記標識が、電気化学発光部分である、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。

【請求項 8 8】

電気化学発光部分が、トリス - ビピリジル - ルテニウム基を含む、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。

30

【請求項 8 9】

前記乾燥組成物が、請求項 2 又は 5 に記載の組成物であり、且つ前記支持体が磁化性ビーズである、請求項 5 7 から 6 4 までのいずれか一項に記載のキット。

【請求項 9 0】

サンドイッチ結合アッセイを実施するための説明書をさらに含む、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 9 1】

電気化学発光アッセイを実施するための説明書をさらに含む、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 9 2】

トリプロピルアミンをさらに含む、請求項 9 1 に記載のキット。

40

【請求項 9 3】

競合結合アッセイを実施するための説明書をさらに含む、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 9 4】

- (a) 標識化結合パートナーを含む第 1 溶液を調製すること、
- (b) (a) で形成された溶液を凍結すること、
- (c) 陽性対照 / キャリブレーション試薬を含む第 2 溶液を凍結混合物に、第 2 溶液を凍結するのに十分な温度で添加すること、及び
- (d) 第 1 及び第 2 溶液を乾燥することを含む、組成物の調製方法。

【請求項 9 5】

50

第 1 溶液が、第 2 結合パートナー、及び、任意選択で、該第 2 結合パートナーと事前結合できる又はできない支持体をさらに含む、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 6】

組成物が、サンドイッチ結合アッセイを実施するための対照/キャリブレーター組成物である、請求項 9 5 に記載の方法。

【請求項 9 7】

(a) アッセイ緩衝液、及び分析対象物に特異的に結合するための第 1 結合パートナーを含む第 1 溶液を調製すること、

(b) (a) で形成された混合物を凍結すること、

(c) 第 2 溶液を凍結混合物に、第 2 溶液を凍結するのに十分な温度で添加すること (前記第 2 溶液は、陽性対照/キャリブレーター試薬、及び結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体を含む)、及び

(d) 第 1 及び第 2 溶液を乾燥すること、
を含む、組成物の調製方法。

【請求項 9 8】

前記第 1 溶液が、分析対象物の結合を遮断することなしに第 1 結合パートナーに結合する支持体をさらに含む、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 9 9】

第 2 溶液が (c) で凍結する温度が、十分に低く、結合パートナーと少なくとも 1 つの陽性対照/キャリブレーター試薬との間の反応又は結合を防止する、請求項 9 4、9 5、9 7、又は 9 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

(a) 標識化結合パートナーを含む第 1 溶液を乾燥すること、

(b) 陽性対照/キャリブレーター試薬を含む第 2 溶液を乾燥すること、及び

(c) 乾燥した第 1 及び第 2 溶液を混合すること、
を含む、組成物の調製方法。

【請求項 1 0 1】

第 1 溶液が、第 2 結合パートナー、及び任意選択で、該第 2 結合パートナーと事前結合できる又はできない支持体をさらに含む、請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 2】

組成物が、サンドイッチ結合アッセイを実施するための対照/キャリブレーター組成物である、請求項 1 0 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 3】

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第 1 結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第 1 溶液を乾燥すること、

(b) (i) 陽性対照/キャリブレーター試薬、及び (i i) 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体を含む第 2 溶液を乾燥すること、及び

(c) 乾燥した第 1 及び第 2 溶液を混合すること、
を含む、組成物の調製方法。

【請求項 1 0 4】

前記第 1 溶液が、分析対象物の結合を遮断することなしに第 1 結合パートナーに結合する支持体をさらに含む、請求項 1 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 5】

第 1 溶液が、マルチウェルプレートの少なくとも 1 つのウェル中で調製される、請求項 9 4 から 9 8 まで、又は 1 0 0 から 1 0 4 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 6】

第 1 溶液が、直径が約 9 mm 以下で且つ高さが約 4 0 mm 以下である管中で調製される、請求項 9 4 から 9 8 まで、又は 1 0 0 から 1 0 4 までのいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 107】

前記支持体及び前記第1結合パートナーが、一緒に結合されている、請求項95、98、101、又は104のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 108】

乾燥することが、凍結乾燥によって実施される、請求項94、95、98、100、101、103、又は104のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 109】

乾燥するに先立って、混合された第1及び第2溶液が、凍結乾燥緩衝液を含む、請求項94、95、98、100、101、103、又は104のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 110】

支持体が、標識化第2結合パートナーの、標識化分析対象物の、又は分析対象物の標識化類似体の支持体に対する非特異的結合を遮断又は低減するように処理される、請求項95、98、101、又は104のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 111】

少なくとも1種の遮断剤が、ヤギ血清、ウシ血清アルブミン、ビオチン、及び乳タンパク質から選択される、請求項110に記載の方法。

【請求項 112】

請求項94、95、97、98、100、101、103、又は104のいずれか一項に記載の方法によって調製される組成物。

【請求項 113】

(a) 少なくとも1種の標識化結合パートナー(ここで、各標識化結合パートナーは標識及び結合パートナーを含み、前記標識化結合パートナーは少なくとも1種の分析対象物に特異的に結合できる)、及び

(b) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の少なくとも1種の分析対象物又はその類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物であって、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有する組成物。

20

【請求項 114】

陽性対照/キャリブレーター試薬が、2種以上の陽性対照/キャリブレーター試薬を含み、各陽性対照/キャリブレーター試薬が、既知量の少なくとも1種の分析対象物又はその類似体を含む、請求項113に記載の組成物。

30

【請求項 115】

(a) 少なくとも1種の分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、
(b) 少なくとも1種の分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための支持体、

(c) 標識及び結合パートナーを含む標識化第2結合パートナー(ここで、前記標識化第2結合パートナーは、少なくとも1種の分析対象物に特異的に結合できる)、及び

(d) 第1結合パートナー及び第2結合パートナーの両方に特異的に結合できる既知量の少なくとも1種の分析対象物又はその類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物であって、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有する組成物。

40

【請求項 116】

(a) 少なくとも1種の乾燥組成物(各乾燥組成物は、結合アッセイに使用される試薬及び陽性対照/キャリブレーター試薬を含む)、

(b) 少なくとも1種の乾燥組成物が配置されている少なくとも1つの容器、及び

(c) 較正/対照用情報、又は較正/対照用情報を得るための手引きを含むキット。

【請求項 117】

少なくとも1つの乾燥組成物が、2種以上の乾燥組成物を含み、且つ少なくとも1つの容器が2つ以上の容器を含み、各容器が2種以上の乾燥組成物中の1種を含む、請求項116に記載のキット。

50

【請求項 118】

結合アッセイに使用される試薬が、標識及び結合パートナーを含む標識化結合パートナーを含み、ここで、該標識化結合パートナーが、少なくとも1種の分析対象物に特異的に結合することが可能であり、且つ少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター試薬が、2つ以上の陽性対照/キャリブレーター試薬を含み、各試薬が、既知量の少なくとも1種の分析対象物の1つを含む、請求項116に記載のキット。

【請求項 119】

(a) 少なくとも1種の分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、
 (b) 該試料を、少なくとも1種の組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること [各組成物は、(i) 少なくとも1種の分析対象物に特異的に結合するための標識化結合パートナー、を含む]、

(c) 少なくとも1種の乾燥組成物を再水和することによって少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を形成すること [各乾燥組成物は、

(i) 前記標識化結合パートナー、及び

(ii) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の少なくとも1種の分析対象物又はその類似体の1つを含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む]、

(d) 試験反応混合物及び少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、並びに

(e) 反応混合物のそれぞれについて、少なくとも1種の分析対象物の1つを標識化結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、

を含む、少なくとも1種の分析対象物の検出及び/又は定量方法。

【請求項 120】

(c) の少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物が、(b) の試験反応混合物を少なくとも1種の乾燥組成物と混合することによって形成される、請求項119に記載の方法。

【請求項 121】

(a) 少なくとも1種の分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、

(b) 該試料を少なくとも1種の組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること [各組成物は、

(i) 少なくとも1種の分析対象物中の1種に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(ii) 1種の分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための支持体、及び

(iii) 同じ分析対象物に特異的に結合するための標識化第2結合パートナー、を含む]、

(c) (i) 前記第1結合パートナー、

(ii) 前記支持体、

(iii) 前記標識化第2結合パートナー、及び

(iv) 第1結合パートナー及び第2結合パートナーの両方に特異的に結合できる既知量の1種の分析対象物又はその類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬を含む少なくとも1種の乾燥組成物を再水和することによって少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を形成すること、

(d) 試験反応混合物及び少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、及び

(e) 反応混合物のそれぞれについて、1種の分析対象物を標識化結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、を含む、少なくとも1種の分析対象物の検出及び/又は定量方法。

【請求項 122】

10

20

30

40

50

(a) 標識及び結合パートナーを含む標識化結合パートナー（ここで、前記標識化結合パートナーは、分析対象物に特異的に結合できる）、及び

(b) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための少なくとも1種の乾燥組成物を含むキットであって、

該組成物が組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有し、
少なくとも1種の乾燥組成物のそれぞれが、容器内に配置されているキット。

【請求項123】

標識化結合パートナー及び陽性対照/キャリブレーター試薬が、それらが互いに接触できる能力があるように管内に配置される、請求項122に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2004年11月17日に出願の米国特許仮出願第60/628,122号に基づく優先権を主張する。

【0002】

本発明は、試料中の抗原又はハプテンなどの少なくとも1種の分析対象物を検出するためのアッセイを含む、アッセイ用組成物、方法、及びキットに関する。分析対象物(群)は、例えば生物学的試料の状態で準備できる。

【背景技術】

【0003】

医療、環境、生体防御、及び食品安全性の社会で、免疫学的診断試験は、社会に対して有害な疾患及び汚染物質の簡単な評価及び迅速な同定を提供することができる。長引く疾病及び/又は風土病の発生を防止するためには、臨床標本、土壌若しくは水試料、又は食品中の抗原などの分析対象物を検出するための定性的、半定量的、及び定量的評価を提供する簡単な確認アッセイ法が必要である。さらに、近年、全国的テロ行為の脅威が現実化していることに鑑み、多くの診断試験は、常設的実験室以外のサテライト現場で実施されるように設計されている。

【0004】

免疫アッセイ法に基づく従来の検出システムは、抗体-抗原相互作用に依拠し、検出可能な事象を作り出すために、逐次的方式で複数のアッセイ用成分を添加することを必要とする。陽性の確認については一般に信頼できるが、これらのアッセイ法及び試薬調製方法は、複雑で、時間がかかる場合がある。現行法に伴う1つの欠点は、測定を実施するのに、複数の試薬を逐次的に添加及び移動することが必須であることである。検出アッセイのための各添加ステップは、分析者が実行する際の困難度を増大させる可能性がある。結果として、アッセイを間違いやすい傾向があり、しばしばより高い誤差の余地が生じる可能性がある。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

従って、専門的でない又は本職でない職員が実施できる、信頼性があり且つ使用するのが容易な診断的アッセイのための新規な方法及び試薬を開発する必要性が相変わらず存在する。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本明細書では、例えばアッセイで使用できる乾燥組成物を開示する。乾燥組成物は、該乾燥組成物が単一の試薬として機能できるように、分析対象物に特異的に結合するための標識化結合パートナー及び/又は陽性対照/キャリブレーター試薬などの2種以上の試薬又はアッセイ用成分を含むことができる。これらの試薬を乾燥組成物で供給することによ

10

20

30

40

50

って、分析者は、分析を実施するのに一般的には必須である複数の試薬の逐次的添加及び移動を潜在的に回避することによって、アッセイを実施する際に行われるステップ数を最小にできる。

【0007】

いくつかの実施形態において、本発明は、

(a) 標識及び結合パートナーを含む標識化結合パートナー（ここで、前記標識化結合パートナーは分析対象物に特異的に結合できる）、及び

(b) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、

を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物を提供し、ここで、該組成物は、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有する。

10

【0008】

特定の実施形態において、本発明は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(b) 分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための支持体、

(c) 標識及び結合パートナーを含む標識化第2結合パートナー（ここで、前記標識化第2結合パートナーは、同じ分析対象物に特異的に結合できる）、及び

(d) 第1結合パートナー及び第2結合パートナーの両方に特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、

を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物を提供し、ここで、該組成物は、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有する。

20

【0009】

各種の実施形態において、本発明は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(b) 標識及び分析対象物又は分析対象物類似体を含む、標識化された分析対象物又は標識化された分析対象物類似体（ここで、前記標識化された分析対象物又は標識化された分析対象物類似体は、第1結合パートナーに対する結合に関して分析対象物と競合する）、及び

(c) 第1結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、

を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物を提供し、ここで、該組成物は、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有する。

30

【0010】

いくつかの実施形態において、本発明は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(b) 分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合する支持体、

(c) 標識及び分析対象物又は分析対象物類似体を含む、標識化された分析対象物又は標識化された分析対象物類似体（ここで、前記標識化された分析対象物又は分析対象物類似体は、第1結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する）、及び

(d) 第1結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、

を含む、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための乾燥組成物を提供し、ここで、該組成物は、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有する。

40

【0011】

50

各種の実施形態において、本発明は、

- (a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、
 - (b) 該試料を、分析対象物に特異的に結合するための標識化結合パートナーを含む組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること、
 - (c) (i) 前記標識化結合パートナー、及び
 - (ii) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む対照/コントロール試薬、
 - を含む少なくとも1種の乾燥組成物を再水和することによって、少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を形成すること、
 - (d) 試験反応混合物及び少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、並びに
 - (e) 反応混合物のそれぞれについて、分析対象物を標識化結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、
- を含む、分析対象物の検出及び/又は定量方法を提供する。

10

【0012】

いくつかの実施形態において、本発明は、

- (a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、
 - (b) 該試料を、
 - (i) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、
 - (ii) 分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための支持体、及び
 - (iii) 同じ分析対象物に特異的に結合するための標識化第2結合パートナー、
 - を含む組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること、
 - (c) (i) 前記標識化結合パートナー、
 - (ii) 前記支持体、
 - (iii) 前記標識化第2結合パートナー、及び
 - (iv) 第1結合パートナー及び第2結合パートナーの両方に特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、
 - を含む、少なくとも1種の乾燥組成物を再水和することによって少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を形成すること、
 - (d) 試験反応混合物及び少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、並びに
 - (e) 反応混合物のそれぞれについて、分析対象物を標識化結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、
- を含む、分析対象物の検出及び/又は定量方法を提供する。

20

30

【0013】

各種の実施形態において、本発明は、

- (a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、
- (b) 該試料を、
 - (i) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、
 - (ii) 第1結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、
- を含む組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること、
- (c) (i) 前記第1結合パートナー、
 - (ii) 前記標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、及び
 - (iii) 第1結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、
- を含む、少なくとも1種の乾燥組成物を再水和することによって少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を形成すること、
- (d) 試験反応混合物及び少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を

40

50

インキュベートすること、並びに

(e) 反応混合物のそれぞれについて、分析対象物を前記第1結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、を含む、分析対象物の検出及び/又は定量方法を提供する。

【0014】

いくつかの実施形態において、本発明は、

(a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、

(b) 該試料を、

(i) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(ii) 分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための支持体、

10

(iii) 第1結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、

を含む組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること、

(c) (i) 前記第1結合パートナー、

(ii) 前記支持体、

(iii) 前記標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、及び

(iv) 第1結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、

20

を含む少なくとも1種の乾燥組成物を再水和することによって少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を形成すること、

(d) 試験反応混合物及び少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、

(e) 反応混合物のそれぞれについて、分析対象物を前記第1結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、

を含む、分析対象物の検出及び/又は定量方法を提供する。

【0015】

いくつかの実施形態において、本発明は、

(a) 結合アッセイに使用される試薬及び陽性対照/キャリブレーター試薬を含む乾燥組成物、

30

(b) 該乾燥組成物が配置された少なくとも1つの容器、及び

(c) 較正/対照用情報、又は較正/対照用情報を得るための手引き、を含むキットを提供する。

【0016】

特定の実施形態において、本発明は、

(a) 標識化結合パートナーを含む第1溶液を調製すること、

(b) (a) で形成された溶液を凍結すること、

(c) 該凍結混合物に、陽性対照/キャリブレーター試薬を含む第2溶液を、第2溶液を凍結するのに十分な温度で添加すること、及び

40

(d) 第1及び第2溶液を乾燥すること、

を含む、組成物の調製方法を提供する。

【0017】

各種の実施形態において、本発明は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第1溶液を調製すること、

(b) (a) で形成された混合物を凍結すること、

(c) 該凍結混合物に第2溶液を、第2溶液を凍結するのに十分な温度で添加すること(前記第2溶液は、陽性対照/キャリブレーター試薬及び結合パートナーに対する結合に

関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体を含む)、並びに

50

(d) 第1及び第2溶液を乾燥すること、を含む、組成物の調製方法を提供する。

【0018】

特定の実施形態において、本発明は、

(a) 標識化結合パートナーを含む第1溶液を乾燥すること、

(b) 陽性対照/キャリブレーター試薬を含む第2溶液を乾燥すること、及び

(c) 乾燥した第1及び第2溶液を混合すること、

を含む、組成物の調製方法を提供する。

【0019】

いくつかの実施形態において、本発明は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第1溶液を乾燥すること、

(b) (i) 陽性対照/キャリブレーター試薬及び(ii) 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、

を含む第2溶液を乾燥すること、並びに

(c) 乾燥した第1及び第2溶液を混合すること、

を含む、組成物の調製方法を提供する。

【0020】

前述の一般的説明及び以下の詳細な説明は、両方とも単に例示的且つ説明的なものであり、特許請求される本発明を限定するものではないことを理解されたい。

【0021】

本開示に組み込まれ且つその一部を構成する付随の図面は、本発明の実施形態を図解する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

本明細書では、免疫測定法などのアッセイ法で使用するための組成物、分析対象物を検出及び/又は定量する方法におけるこれら組成物の使用、並びにこれらの組成物を組み込んだキットを開示する。乾燥組成物は、該乾燥組成物が単一の試薬として機能できるように、分析対象物に特異的に結合するための標識化結合パートナー及び/又は陽性対照/キャリブレーター試薬などの2種以上の試薬又はアッセイ用成分を含むことができる。これらの試薬を乾燥組成物の状態で供給することによって、分析者は、アッセイを実施するのに一般的には必須である複数試薬の逐次的な添加及び移動を潜在的に回避することによって、アッセイを実施する際に行われるステップ数を最小化できる。

【0023】

その開示が参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2003/0108973号には、使用者が実施するステップ数を最小にする免疫測定法が開示されている。'973号公報には、(a) 固定化された捕捉用抗体及び(b) 標識化レポーター抗体を含む試薬が記載されており、ここで、固定化された捕捉用抗体及び標識化レポーター抗体は、同一の分析対象物に特異的に結合する。この公報には、また、固定化された捕捉用抗体の存在下に標識化レポーター抗体を含む液体を乾燥することによる試薬の調製が記載されている。アッセイは、抗原試料を用いて試薬を再構成することによって実施できる。

【0024】

アッセイ用試薬を単一の試薬として提供するとアッセイ方法を単純化できるが、周囲の条件又は不純物から発生するような多くの変数が、アッセイの結果にやはり影響を及ぼす可能性がある。これらの因子を補償するため、アッセイに対照を組み込んで、使用者が結果を評価することを可能にするのが常套手段である。例えば、特定の結果が予想される場合、陽性対照は、そのアッセイがその意図した目的に向かって機能することを示すのに役立つ可能性がある。より具体的な例で、そのアッセイが、例えばある特定の抗原の存在を判断するために使用される場合、供試試料は、既知量の該抗原を含むことができる。この

10

20

30

40

50

既知量は、試料を評価するための基準として機能することができる。抗原の不在は、使用者に該アッセイが予想される結果を生み出したことを知らせる。さらに、陽性対照を使用して、アッセイの結果を定量的に評価できる。しかし、本発明者らの知る限り、陽性対照/キャリブレーターは、これまで湿式試薬として添加されてきた。

【0025】

さらに、利用可能な方法は、競合結合アッセイのための、乾燥され事前混合された試薬の調製を可能にしない。このようなアッセイは、一般に、少なくとも1種の結合パートナー（例えば、対象の分析対象物に結合する抗体）、及びやはり該結合パートナーに結合する競合物質（例えば、対象の分析対象物の類似体又は既知量の分析対象物自体）を含む。これらの成分を事前混合した後に試料を添加すれば、競合物質は、結合パートナーに結合できる。液体試料を添加して乾燥試薬を再構成する場合に、反応が平衡に達する速度が事前結合によって乱れる。

10

【0026】**定義**

本発明をより明瞭に理解するため、特定の用語を次のように定義する。

【0027】

用語「乾燥組成物」は、本明細書中で使用する場合、該組成物が、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有することを意味する。乾燥組成物の例には、組成物の総重量に対して約3重量%以下の水分含有量を有する組成物、組成物の総重量に対して約1重量%以下の水分含有量を有する組成物、及び組成物の総重量に対して約1重量%～約3重量%の範囲の水分含有量を有する組成物が含まれる。

20

【0028】

用語「結合パートナー」は、本明細書中で使用する場合、対象の分析対象物に特異的に結合できる物質を意味する。一般に、特異的結合は、比較的高い親和性、及び比較的低いものから中程度までの収容能力で特徴付けられる。非特異的結合は、通常、中程度から高い収容能力を伴う低い親和性を有する。典型的には、親和定数 K_d が約 $10^6 M^{-1}$ より大きい、又は約 $10^8 M^{-1}$ より大きい場合に、結合は特異的と考えられる。親和定数が大きいほど、より大きな親和性を、従って典型的にはより大きな特異性を示す。例えば、抗体は、典型的には、 $10^6 M^{-1} \sim 10^9 M^{-1}$ 以上の範囲の親和定数で抗原に結合する。

30

【0029】

結合パートナーの例には、相補的核酸配列（例えば、互いにハイブリッドを形成する2つのDNA配列、互いにハイブリッドを形成する2つのRNA配列、互いにハイブリッドを形成するDNAとRNAの配列）、抗体と抗原、受容体とリガンド（例えば、TNFとTNFr-1、CD142とVILIA因子、B7-2とCD28、HIV-1とCD4、ATR/TEM8、又はCMGと炭疽菌毒素の保護抗原部分）、酵素と基質、又は分子と結合タンパク質（例えば、ビタミンB12と内因子、葉酸と葉酸結合タンパク質）が含まれる。

【0030】

結合パートナーのさらなる例には、抗体が含まれる。用語「抗体」は、本明細書中で使用する場合、免疫グロブリン又はその部分を意味し、起源、産生方法、又はその他の特性に関係なく、抗原結合部位を含む任意のポリペプチドを包含する。該用語には、例えば、ポリクロナール、モノクロナール、単一特異性、多特異性、ヒト化、単鎖、キメラ、合成、組換え、ハイブリッド、突然変異、及びCDRグラフト抗体、並びに融合タンパク質が含まれる。抗体の部分としては、抗原に結合できる任意のフラグメント、例えばFab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、Fv、ScFv、Fd、V_H、及びV_Lを挙げることができる。

40

【0031】

結合パートナーのさらなる例には、モノクロナール抗体が含まれる。その開示が参照により本明細書に組み込まれる、ミズーリ州セントルイス63178、私書箱14508、

50

Sigma-Aldrich社のBiochemicals and Reagents for Life Science Research (1999年); メリーランド州ゲーサーズバーグ、Life Technologies社のLife Technologiesのカタログ; 及びイリノイ州ロックフォード61105、私書箱117、Pierce Chemical社のPierceのカタログ(1994年)などの各種カタログに列挙されているもので例示されるように、対象の各種分析対象物に結合する多数のモノクロナール抗体が利用できる。

【0032】

その他の典型的なモノクロナール抗体には、
 - アクチン、DNA、ジゴキシン、インスリン、プロゲステロン、ヒト白血球マーカー、ヒトインターロイキン-10、ヒトインターフェロン、ヒトフィブリノーゲン、p53、B型肝炎ウイルス又はその一部、HIVウイルス又はその一部、腫瘍壊死因子、及びFK-506に特異的に結合する抗体が含まれる。特定の実施形態において、モノクロナール抗体は、T4、T3、遊離T3、遊離T4、TSH(甲状腺刺激ホルモン)、チログロブリン、TSH受容体、プロラクチン、LH(黄体形成ホルモン)、FSH(卵胞刺激ホルモン)、テストステロン、プロゲステロン、エストラジオール、hCG(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン)、hCG+、SHBG(性ホルモン結合グロブリン)、DHEA-S(硫酸デヒドロエピアンドロステロン)、hGH(ヒト成長ホルモン)、ACTH(副腎皮質刺激ホルモン)、コルチゾール、インスリン、フェリチン、葉酸、RBC(赤血球)葉酸、ビタミンB12、ビタミンD、C-ペプチド、トロポニンT、CK-MB(クレアチンキナーゼ-ミオグロビン)、ミオグロビン、プロ-BNP(脳ナトリウム利尿ペプチド)、HbsAg(B型肝炎表面抗原)、HbeAg(B型肝炎e抗原)、HIV抗原、複合HIV、H.ピロリ、
 - cROSS LAPS、オステオカルシン、PTH(副甲状腺ホルモン)、IgE、ジゴキシン、ジギトキシン、AFP(α-フェトプロテイン)、CEA(癌胎児性抗原)、PSA(前立腺特異抗原)、遊離PSA、CA(癌抗原)19-9、CA12-5、CA72-4、シフラ21-1、NSE(ニューロン特異エノラーゼ)、S100、P1NP(1型プロコラーゲンN-プロペプチド)PAPP-A(妊娠関連血漿タンパク質-A)、Lp-PLA2(リポタンパク質関連ホスホリパーゼA2)、sCD40L(溶性CD40リガンド)、IL18、及びサバイビン(Survivin)の中の少なくとも1つに特異的に結合する抗体から選択される。

10

20

30

【0033】

その他の典型的なモノクロナール抗体には、抗-TPO(抗甲状腺ペルオキシダーゼ抗体)、抗-HBc(B型肝炎c抗原)、抗HBc/IgM、抗HAV(A型肝炎ウイルス)、抗HAV/IgM、抗-HCV(C型肝炎ウイルス)、抗-HIV、抗-HIV p-24、抗-風疹IgG、抗-風疹IgM、抗-トキソプラズマ症IgG、抗-トキソプラズマ症IgM、抗-CMV(サイトメガロウイルス)IgG、抗-CMV IgM、抗-HGV(G型肝炎ウイルス)、及び抗-HTLV(ヒトT-リンパ親和性ウイルス)が含まれる。

【0034】

結合パートナーのさらなる例には、結合タンパク質、例えば、ビタミンB12結合タンパク質; 塩基性ドメインのスーパークラス、亜鉛配位DNA結合ドメイン、ヘリックス-ターン-ヘリックス、副溝接触を伴う骨格因子、及び抗体でないその他の転写因子などのDNA結合タンパク質が含まれる。

40

【0035】

用語「標識化結合パートナー」は、本明細書中で使用する場合、検出可能なシグナルを発生、変更又は調節する能力のある原子、部分、官能基、又は分子で標識された結合パートナーを意味する。例えば、放射化学アッセイで、標識化結合パートナーは、ヨウ素の放射性同位体で標識されていてよい。別法として、標識化結合パートナー用抗体は、比色アッセイで使用できる酵素、西洋ワサビペルオキシダーゼ(horse radish peroxidase)で標識されていてよい。標識化結合パートナーは、時間分解蛍光(t

50

ime-resolved fluorescence) レポーター又は蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) レポーターで標識されていてもよい。典型的なレポーターは、Hemmilaらの論文、J. Biochem. Biophys. Methods、26巻、283~290頁(1993年); Kakabakosらの論文、Clin. Chem.、38巻、338~342頁(1992年); Xuらの論文、Clin. Chem.、2038~2043頁(1992年); Hemmilaらの論文、Scand. J. Clin. Lab. Invest.、48巻、389~400頁(1988年); Bioluminescence and Chemiluminescence Proceedings of the 9th International Symposium 1996年、J. W. Hastingsら編、Wiley、New York(1996年) 10); Bioluminescence and Chemiluminescence Instruments and Applications、Knox Van Dyre編、CRC Press、Boca Raton(1985年); I. Hemmilla著、Applications of Fluorescence in Immunoassays, Chemical Analysis、117巻、Wiley、New York(1991年); 及び Blackburnらの論文、Clin. Chem.、37巻、1534頁(1991年)に開示されており、それらの開示を、参照により本明細書に組み込む。

【0036】

標識化結合パートナーのさらなる例には、電気化学発光 (ECL) 測定法においてシグナルを発生するのに有用である部分、官能基、又は分子で標識された結合パートナーが含まれる。ECL部分は、電気化学的エネルギー源に直接暴露することによって電磁放射線を反復的に放射するように誘導され得る任意の化合物でよい。このような部分、官能基、又は分子は、米国特許出願公開第2003-0027357号、米国特許第5,962,218号; 5,945,344号; 5,935,779号; 5,858,676号; 5,846,485号; 5,811,236号; 5,804,400号; 5,798,083号; 5,779,976号; 5,770,459号; 5,746,974号; 5,744,367号; 5,731,147号; 5,720,922号; 5,716,781号; 5,714,089号; 5,705,402号; 5,700,427号; 5,686,244号; 5,679,519号; 5,643,713号; 5,641,623号; 5,632,956号; 5,624,637号; 5,610,075号; 5,597,910号; 5,591,581号; 5,543,112号; 5,466,416号; 5,453,356号; 5,310,687号; 5,296,191号; 5,247,243号; 5,238,808号; 5,221,605号; 5,189,549号; 5,147,806号; 5,093,268号; 5,068,088号; 及び5,061,445号; Dong, L.らの論文、Anal. Biochem.、236巻、344~347頁(1996年); Blohmらの論文、Biomedical Products、21巻、4号、60頁(1996年); Jameisonらの論文Anal. Chem.、68巻、1298~1302頁(1996年); Kibbeyらの論文、Nature Biotechnology、14巻、3号、259~260頁(1996年); Yuらの論文Applied and Environmental Microbiology、62巻、2号、587~592頁(1996年); Williamsの論文、American Biotechnology、26頁(1996年1月); Darsleyらの論文、Biomedical Products、21巻、1号、133頁(1996年1月); Kobrynskiらの論文、Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology、3巻、1号、42~46頁(1996年1月); Williamsの論文、IVD Technology、28~31頁(1995年11月); Deaverの論文、Nature、377巻、758~760頁(1995年10月26日); Yuらの論文、BioMedical Products、20巻、10号、20頁(1995年10月); Kibbeyらの論文、BioMedical 40 30 40 50

Products、20巻、9号、116頁(1995年9月); Schutzbankらの論文、Journal of Clinical Microbiology、33巻、2036~2041頁(1995年8月); Sternらの論文、Clinical Biochemistry、28巻、470~472頁(1995年8月); Carlowiczの論文、Clinical Laboratory News、21巻、8号、1~2頁(1995年8月); Gatto-Menkingらの論文、Biosensors & Bioelectronics、10巻、501~507頁(1995年7月); Yuらの論文、Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence、10巻、239~245頁(1995年); Van Gemenらの論文、Journal of Virology Methods、49巻、157~168頁(1994年); Yangらの論文、Bio/Technology、12巻、193~194頁(1994年); Kentenらの論文、Clinical Chemistry、38巻、873~879頁(1992年); Kentenの論文、Non-radioactive Labeling and Detection of Biomolecules、Kessler編、Springer、ベルリン、175~179頁(1992年); Gudibandeらの論文、Journal of Molecular and Cellular Probes、6巻、495~503頁(1992年); Kentenらの論文、Clinical Chemistry、37巻、1626~1632頁(1991年); Blackburnらの論文、Clinical Chemistry、37巻、1534~1539頁(1991年); Bardの論文、Electrogenerated Chemiluminescence、Marcel Dekker編(2004年)、及び米国特許第5,935,779号に開示されており、参照によりこれらの開示を本明細書に組み込む。一実施形態において、電気化学発光基は、ルテニウム又はオスミウムなどの金属を含む。一実施形態において、第2結合パートナーは、トリス-ビピリジル-ルテニウム基などのルテニウム部分、例えば、ルテニウム(II)トリス-ビピリジン($[Ru(bpy)_3]^{2+}$)などで標識される。

【0037】

用語「分析対象物」は、本明細書中で使用する場合、試料中に見出される、ウイルスの細胞又は細胞構成成分を始めとする任意の分子又は分子の集塊体を意味する。第1結合パートナーが特異的に結合できる分析対象物の例には、細菌毒素、ウイルス、細菌、タンパク質、ホルモン、DNA、RNA、薬物、抗生物質、神経毒素、及びこれらの代謝産物が含まれる。試料中に見出されるなんらかの分子のフラグメントも含まれる。分析対象物は、有機化合物、有機金属化合物又は無機化合物でよい。分析対象物は、核酸(例えば、DNA、RNA、プラスミド、ベクター、又はオリゴヌクレオチド)、タンパク質(例えば、抗体、抗原、受容体、受容体リガンド、又はペプチド)、リボタンパク質、糖タンパク質、リポ-又はデオキシリボ核タンパク質、ペプチド、多糖、リポ多糖、脂質、脂肪酸、ビタミン、アミノ酸、医薬化合物(例えば、トランクライザー、バルビツール薬、アヘン薬、アルコール、三環系抗うつ薬、ベンゾジアゼピン、抗ウイルス剤、抗真菌剤、抗生物質、ステロイド、強心配糖体、又はこれらの任意の代謝産物)、ホルモン、成長因子、酵素、補酵素、アポ酵素、ハプテン、レクチン、基質、細胞代謝産物、細胞構成成分又は細胞小器官(例えば、膜、細胞壁、リボソーム、染色体、ミトコンドリア、又は細胞骨格構成成分)でよい。定義には、毒素、殺虫剤、除草剤、及び環境汚染物質も含まれる。定義には、この定義内に示された任意の例の1種又は複数を含む複合物がさらに含まれる。

【0038】

分析対象物のさらなる例には、エロモナスヒドロフィラ(*Aeromonas hydrophila*)及びその他の亜種;炭疽菌(*Bacillus anthracis*);セレウス菌(*Bacillus cereus*);クロストリジウム(*Clostridium*)の種を産生するボツリヌス(*Botulinum*)神経毒;ウシ流産菌(*Brucella abortus*);マルタ熱菌(*Brucella melitensi*)

s);ブルセラスイス(*Burcella suis*);バークホルデリアマレイ(*Burkholderia mallei*)(以前はシュードモナスマレイ(*Pseudomonas mallei*));バークホルデリアシュードマレイ(*Burkholderia pseudomallei*)(以前はシュードモナスシュードマレイ(*Pseudomonas pseudomallei*));カンピロバクタージェジュニ(*Campylobacter jejuni*);オウム病クラミジア(*Chlamydia psittaci*);ボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*);クロストリジウムボツリヌム(*Clostridium botulinum*);ウェルシユ菌(*Clostridium perfringens*);コクシジオイデスイミティス(*Coccidioides immitis*);コクシジオイデスポサダシイ(*Coccidioides posadasii*);カウドリアルミナンツム(*Cowdria ruminantium*)(心水病);コキシエラバーネッティイ(*Coxiella burnetii*);腸管毒素原性大腸菌(ETEC)、腸管病原性大腸菌(EPEC)、O157:H7腸管出血性大腸菌(EHEC)、及び腸管組織侵入性大腸菌(EIEC)などの腸管毒性大腸菌(*Escherichia coli*)群(EEC群);エーリキアチャフィーニス(*Ehrlichia chaffeensis*)などのエーリキア(*Ehrlichia*)亜種;フランシセラツラレンシス(*Francisella tularensis*);レジオネラニューモフィリア(*Legionella pneumophila*);リベロバクターアフリカヌス(*Liberobacter africanus*);リベロバクターアジアティカス(*Liberobacter asiaticus*);リステリアモノシトゲネス(*Listeria monocytogenes*);クレブシエラ(*Klebsiella*)、エンテロバクター(*Enterobacter*)、プロテウス(*Proteus*)、シトロバクター(*Citrobacter*)、アエロバクター(*Aerobacter*)、プロビデンシア(*Providencia*)及びセラチア(*Serratia*)などの種々の腸内菌;マイコバクテリウムボビス(*Mycobacterium bovis*);結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*);マイコプラズマカプリコルミ(*Mycoplasma capricolumi*);マイコプラズママイコイデス(*Mycoplasma mycoides*);ペロノスクレロポーラフィリッピネンシス(*Peronosclerophora philippinensis*);ファコプソーラパチリジ(*Phakopsora pachyrhizi*);プレジオモナスシゲロイデス(*Plesiomonas shigelloides*);ラルストニアソラナセアルム(*Ralstonia solanacearum*)品種3、生物学的性状型2;発疹チフスリケッチア(*Rickettsia prowazekii*);チケッチアリケッチイ(*Rickettsia rickettsii*);サルモネラ(*Salmonella*)亜種;シュレロフソーライシアレバルジアエ(*Schlerophthora rayssiae var zaeae*);シゲラ(*Shigella*)亜種;黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*);黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*);ストレプトコッカス(*Streptococcus*);シンチトリウムエンドビオティカム(*Synchytrium endobioticum*);ビブリオコレラ(*Vibrio cholerae*)非-O1;ビブリオコレラ(*Vibrio cholerae*)O1;ビブリオパラファエモリティカス(*Vibrio parahaemolyticus*)及びその他のビブリオ菌;ビブリオバルニフィカス(*Vibrio vulnificus*);キサントルモナスオリゼ(*Xanthomonas oryzae*);キシレーラファスティディオーサ(*Xylella fastidiosa*)(柑橘斑入り萎黄株);エルシニアエンテロコリティカ(*Yersinia enterocolitica*)及びエルシニアシュードチューバークローシス(*Yersinia pseudotuberculosis*);並びにエルシニアペスティス(*Yersinia pestis*)などの細菌病原体が含まれる。

【0039】

10

20

30

40

50

分析対象物のさらなる例には、アフリカウマ病ウイルス；アフリカブタ熱ウイルス；アカバネウイルス；ニワトリインフルエンザウイルス（高病原性）；ブハニヤ（*Bhanja*）ウイルス；ブルータングウイルス（新種）；ラクダボックスウイルス；オナガザルヘルペスウイルス1；チクングンヤ（*Chikungunya*）ウイルス；ブタコレラウイルス；コロナウイルス（SARS）；クリミア-コンゴ出血熱ウイルス；デングウイルス；デグベ（*Dugbe*）ウイルス；エボラウイルス；東部ウマ脳炎ウイルス、日本脳炎ウイルス、マレー溪谷脳炎、及びベネズエラウマ脳炎ウイルスなどの脳炎ウイルス；ウマ麻疹ウイルス；フレクサル（*Flexal*）ウイルス；口蹄疫ウイルス；ジャーミストン（*Germiston*）ウイルス；ヤギボックスウイルス；ハンターン又はその他のハンタウイルス；ヘンドラ（*Hendra*）ウイルス；イシク-クルウイルス；コウタンゴ（*Koutango*）ウイルス；ラッサ熱ウイルス；跳躍病ウイルス；塊皮病ウイルス；リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス；悪性カタル熱ウイルス（新種）；マールブルグ（*Marburg*）ウイルス；マヤロ（*Mayaro*）ウイルス；メナングル（*Menangle*）ウイルス；サルボックスウイルス；ムカンボ（*Mucambo*）ウイルス；ニューカッスル病ウイルス（VVD）；ニパーウイルス；ノーウォークウイルス群；オロポウチェ（*Oropouche*）ウイルス；オルング（*Orungo*）ウイルス；羊疫ウイルス；ピリ（*Piry*）ウイルス；ブラムボックスウイルス；ポリオウイルス；ポテトウイルス；ポーワッサン（*Powassan*）ウイルス；リフトバレー熱ウイルス；牛疫ウイルス；ロタウイルス；セムリキ（*Semliki*）森林ウイルス；ヒツジボックスウイルス；フレクサル（*Flexal*）、グアナリト、ジュニン（*Junin*）、マチュボ、及びサビアなどの南アメリカ出血熱ウイルス；スpondウェンジ（*Spondwendii*）ウイルス；ブタ水疱病ウイルス；中央ヨーロッパ型ダニ媒介脳炎、極東型ダニ媒介脳炎、ロシア春夏脳炎、キャサヌール森林病、及びオムスク（*Omsk*）出血熱などのダニ媒介脳炎複合（フラビ）ウイルス；大痘瘡ウイルス（天然痘）；小痘瘡（アラストリム）；水疱性口内炎ウイルス（新型）；ベッセルブロン（*Wesselsbron*）ウイルス；西ナイルウイルス；黄熱ウイルス；及びジュニン、マチュボ、サビア、フレクサル、及びグアナリトなどの南アメリカ出血熱ウイルスなどのウイルスが含まれる。

【0040】

分析対象物のさらなる例には、アプリン；アフラトキシン；ボツリヌス神経毒素；シガテラトキシン；クリストリジウムパーFRINGENS（*Clostridium perfringens*）-トキシン；コノトキシン；ジアセトキシシルペノール；ジフテリアトキシン；グラヤノトキシン；アマニチン、ジャイロミトリン、及びオレラニンなどのキノコトキシン；フィトヘماغルチニン；ピロリジンアルカロイド；リシン；サキシトキシン；サキシトキシン、アカダイ酸、ジノフィシストキシン、ペクテノトキシン、イエソトキシン、プレベトキシン、及びドーモイ酸のような貝トキシン（麻痺性、下痢性、神経毒性又は記憶消失性）；シガトキシン；シガ様リボソーム不活性化タンパク質；ヘビ毒；ブドウ球菌性エンテロトキシン；T-2トキシン；及びテトロドトキシンなどの毒素が含まれる。

【0041】

分析対象物のさらなる例には、ウシ海綿状脳症病原体などのプリオンタンパク質が含まれる。

【0042】

分析対象物のさらなる例には、アカントアメーバ（*Acanthamoeba*）及びその他の自由生活性アメーバ；アニサキス（*Anisakis*）種及びその他の関連蠕虫アスカリスランブリコイデス（*Ascaris lumbricoides*）及びトリチュリストリチュウラ（*Trichuris trichiura*）；クリストスポロジウムパルバム（*Cryptosporidium parvum*）；シクロスポーラカエタネンシス（*Cyclospora cayentanensis*）；ジフィロボツリウム（*Diphyllobothrium*）亜種；赤痢アメーバ（*Entamoeba histolytica*）；ユーストロングリデス（*Eustrongylides*）亜種；ギアルジ

10

20

30

40

50

アランプリア (*Giardia lamblia*) ; ナノフェタス (*Nanophyetus*) 亜種 ; シストゾーマ (*Schistosoma*) 亜種 ; トキソプラズマゴンジ (*Toxoplasma gondii*) ; 及びトリチネラ (*Trichinella*) などの寄生原生動物及び寄生虫が含まれる。

【0043】

分析対象物のさらなる例には、アスペルギルス (*Aspergillus*) 亜種 ; プラストミセスダーマチタイデス (*Blastomyces dermatitidis*) ; カンジダ (*Candida*) ; コクシジオイデスイミティス (*Coccidioides immitis*) ; コクシジオイデスポサダシル (*Coccidiodes posadasii*) ; クリプトコッカスネオフォルマンズ (*Cryptococcus neoformans*) ; ヒストプラズマカプスラタム (*Histoplasma capsulatum*) ; トウモロコシサビ病 ; イネイモチ病 ; イネゴマ葉枯れ病 ; ライムギイモチ病 ; スポロスリックスシェンキイ (*Sporothrix schenckii*) ; 及びコムギ真菌などの真菌類が含まれる。

10

【0044】

分析対象物のさらなる例には、

(1) 任意の選択病原体の感染性及び / 又は複製可能形態をコードできる (合成又は天然由来の、連続の又は断片化された、宿主染色体中又は発現ベクター中の) 核酸、

(2) 核酸が、

(i) ベクター又は宿主染色体中に存在するか、

(ii) インピボ又はインピトロで発現可能であるか、或いは

(iii) ベクター中又は宿主染色体中に存在し且つインピボ又はインピトロで発現可能であるなら、

20

列挙した任意の毒素の機能形態 (群) をコードする (合成又は天然由来) 核酸、並びに

(3) 遺伝子的に変更されたウイルス、細菌、真菌、及び毒素、

などの遺伝子要素、組換え核酸、及び組換え微生物が含まれる。

【0045】

分析対象物のさらなる例には、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMなど、上述の分析対象例に対する免疫応答分子が含まれる。

【0046】

用語「分析対象物類似体」とは、本明細書中で使用する場合、結合パートナーに対する結合に関して対象の分析対象物と競合する物質を指す。分析対象物類似体は、特異的結合パートナーに対する結合に関して、試料中に存在する対象の分析対象物と競合するように添加される既知量の対象の分析対象物それ自体でよい。分析対象物類似体の例には、アジドチミジン (AZT)、HIV逆転写酵素に結合するヌクレオチドの類似体、ピューロマイシン、アミノアシル-tRNAの末端アミノアシル-アデノシン部分の類似体、及びメトトレキセート、テトラヒドロ葉酸の類似体が含まれる。その他の類似体は、対象の分析対象物の誘導体でもよい。

30

【0047】

用語「陽性対照/キャリブレーター」とは、本明細書中で使用する場合、既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を指す。陽性対照/キャリブレーターを使用して、装置の操作及び / 又は試料測定の妥当性を評価できる。陽性対照/キャリブレーターを対照として使用し、試験試料のシグナルレベルを対照のシグナルレベルと比較できる。陽性対照/キャリブレーターは、数関数と一緒に使用して、シグナルレベルを分析対象物の濃度と関連付けることも可能であり、その1つの使用目的は、試料からのシグナル測定値を分析対象物の濃度に変換することである。用語「陽性対照/キャリブレーター」は、陽性対照と陽性キャリブレーターの両方の一般的定義を包含する。

40

【0048】

用語「アッセイ用陽性対照/キャリブレーター」とは、本明細書中で使用する場合、(a) 試料の測定が成功したことを確認するため、又は (b) 試料から得られた測定シグナ

50

ルを試験された分析対象物の濃度に変換するために使用される試薬を指す。典型的には、アッセイ用陽性対照/キャリブレーターは、分析対象物を含む試料からの測定値をシミュレートするため、陽性対照/キャリブレーター及び結合アッセイに使用される試薬を含む。

【0049】

本発明は、一般的用語で言えば、試料中に見出される分析対象物の量を検出又は定量するのに使用される結合アッセイのためのアッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用される組成物、キット、及び方法に関する。アッセイ測定で使用する前には、アッセイ用陽性対照/キャリブレーター中でこれらに使用される結合パートナー又はパートナー群は、乾燥しており、且つ陽性対照/キャリブレーター（即ち、乾燥した既知量の分析対象物又は分析対象物類似体）と一緒に容器内に収容される。

10

【0050】

乾燥組成物

本発明の特定の実施形態は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための任意選択の第1結合パートナー、

(b) 分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための任意選択の支持体、

(c) 同じ分析対象物に特異的に結合するための標識化第2結合パートナー、及び

(d) 第2結合パートナーに特異的に結合することができ、且つ、もし存在するならば第1結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体、を含む少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、乾燥組成物を提供する。

20

【0051】

いくつかの実施形態では、アッセイで使用する際に、乾燥組成物に水又は緩衝液を添加できる。

【0052】

特定の実施形態において、試料は、乾燥組成物と直接的に混合できる。例えば、最初に水又は緩衝液を用いて乾燥組成物を再構成することなしに、試料を乾燥組成物に添加できる。これらの実施形態において、シグナルレベルは、陽性対照/キャリブレーター試薬の分析対象物シグナルと試料の分析対象物シグナル（もしあれば）の合計でよい。

30

【0053】

各種の実施形態が、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための標識化結合パートナー、及び

(b) 該標識化結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター試薬を含む、乾燥組成物を提供する。

【0054】

特定の実施形態は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(b) 同じ分析対象物に特異的に結合するための標識化第2結合パートナー、及び

(c) 第1及び第2結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、乾燥組成物を提供する。

40

【0055】

いくつかの実施形態は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(b) 該分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための支持体、

(c) 同じ分析対象物に特異的に結合するための標識化第2結合パートナー、及び

(d) 第1及び第2結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析

50

対象物類似体を含む少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、乾燥組成物を提供する。

【0056】

本発明の各種実施形態は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー、

(b) 該分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合する支持体

、
(c) 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化分析対象物又は分析対象物類似体、及び

(d) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、乾燥組成物を提供する。

10

【0057】

アッセイ法

いくつかの実施形態では、乾燥組成物に、それをアッセイで使用する際に水又は緩衝液を添加できる。

【0058】

本発明は、任意の結合アッセイ技術と共に使用できる。多くのこのような技術の説明については、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Wild編、The Immunoassay Handbook、第3版、Stockton Press(2005年)及びPrice及びNewman編、Principle and Practice of Immunoassay、Stockton Press(1997年)を参照されたい。便宜のため、いくつかの結合アッセイ技術を次に簡単に説明する。

20

【0059】

結合アッセイ技術は、多くの方式に細別される。例えば、シグナル検出のために標識化結合パートナーを必要とするアッセイ法もあり、一方、別のアッセイ法は、分析対象物と結合パートナーの相互作用に基づくシグナルを発生する(例えば、質量変化を測定するなど)。標識化結合パートナーを使用しないで、代わりに標識化分析対象物を使用するアッセイ法もある。2種の結合パートナーを使用してサンドイッチアッセイを作り出すアッセイ法もあり、一方、別のアッセイ法は、1種の結合パートナーのみを使用する(競合アッセイ法など)。サンドイッチアッセイ法では、両方の結合パートナーが同じ分析対象物に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、2種の結合パートナーが、分析対象物の異なる部分、例えば異なるエピトープに結合する。分析対象物に結合した標識化結合パートナーと分析対象物に結合していない標識化結合パートナーを差別化する分離段階を必要とするアッセイ法もある。凝集アッセイ法及び標識化結合パートナー上の標識が、分析対象物の結合によって修飾、活性化、又は不活性化されるアッセイ法など、分離ステップを必要としないアッセイ法もある。結合パートナーを付着する支持体を必要とするアッセイ法もある。支持体、分離、サンドイッチアッセイ法は、2種の結合パートナーを使用し、第1結合パートナーは支持体に付着し、一方、第2結合パートナーは、支持体に標識を連結するための標識化結合パートナーであり、後に、標識を測定する前に支持体を洗浄して遊離の標識化結合パートナーを除去する。

30

40

【0060】

本明細書中で使用する場合、用語「支持体」とは、膜、ビーズ、粒子、電極、又はさらには容器の壁又は表面など、当技術分野で知られている、結合パートナーを固定化するための任意の手段を指す。支持体は、ニトロセルロース、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、EVA、ガラス、カーボン、ガラス状カーボン、カーボンブラック、カーボンナノチューブ若しくはフィブリル、白金、パラジウム、金、銀、塩化銀、イリジウム、又はロジウムなど、その上に結合パートナーを従来通り固定化する任意の材料を含むことができる。一実施形態において、支持体は、ポリスチレンビーズ又は磁化性ビーズなどのビーズである。本明細書で使用する場合、用語「磁化性ビーズ」は、磁性、常磁性、

50

及び超常磁性ビーズを包含する。一実施形態において、支持体は、マイクロ遠心管又はマルチウェルプレートの少なくとも1つのウェルである。

【0061】

結合パートナーは、任意の従来からの手段、例えば、吸着、吸収、非共有結合、架橋剤を用いる共有結合、又は支持体若しくは第1結合パートナーの一方又は両方の化学的活性化に由来する共有結合によって支持体上に固定化できる。一実施形態において、支持体による第1結合パートナーの固定化は、結合対を使用することによって達成される。例えば、結合対の一方のメンバー、例えば、ストレプトアビジン又はアビジンを支持体に結合することができ、同じ結合対の他方のメンバー、例えば、ビオチンを第1結合パートナーに結合できる。第1結合パートナーを支持体上に固定化するための適切な手段は、例えば、Pierceのカatalog (イリノイ州ロックフォード61105、私書箱117、Pierce Chemical社)に開示されており、その開示をこの目的のため参照により本明細書に組み込む。

10

【0062】

特定の実施形態において、組成物は、例えば、サンドイッチ結合アッセイを実施するためのアッセイ用対照として使用できる。各種の実施形態において、分析対象物又は分析対象物類似体は、乾燥組成物中の第1及び第2結合パートナーに実質上結合しない。

【0063】

いくつかの実施形態において、支持体は、固定化第1結合パートナー及び標識化第2結合パートナーによる分析対象物の結合によって形成されるサンドイッチ複合体に起因するシグナルの発生又は検出を容易にすることができる。例えば、電気化学発光(ECL)測定法では、支持体は、磁化性ビーズでよい。このような磁化性ビーズは、標識化結合試薬を定義している段落に列挙されている参考文献中に開示されている。いくつかの実施形態において、第1結合パートナーは、磁化性ビーズ上に固定化され、第2結合パートナーは、ルテニウム部分、例えば、 $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ で標識され、電気化学発光シグナルの発生及び検出に依拠して分析対象物の存在を確認及び/又は定量する。

20

【0064】

いくつかの実施形態において、組成物は、等モル又は等価量の第1及び第2結合パートナーを含むことができる。しかし、第1結合パートナーの第2結合パートナーに対する正確な比率は、第1及び第2結合パートナーの相対的結合特異性、依拠するシグナルの種類、及びアッセイ条件のその他のパラメーターに応じて変更できる。任意の与えられた条件セットに対する第1結合パートナーの第2結合パートナーに対する最適比率を決定することは、当業者の技術範囲にある。第1結合パートナーの第2結合パートナーに対する所望の比率は、乾燥される組成物に対してこれらの成分を単純にその所望の比率で添加することによって達成される。

30

【0065】

特定の実施形態において、乾燥組成物は、結合アッセイに使用される試薬及び陽性対照/キャリブレーター試薬を含むことができる。いくつかの実施形態において、組成物は、凍結乾燥した固体などの固体でよい。

【0066】

特定の実施形態において、結合アッセイを実施するためのアッセイ用陽性対照/キャリブレーター組成物は、

40

- (a) 標識化第1結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第1溶液を調製すること、
- (b) (a) で形成された溶液を凍結すること、
- (c) 陽性対照/キャリブレーター試薬を含む第2溶液を凍結混合物に、第2溶液を凍結するのに十分な温度で添加すること、並びに
- (d) 第1及び第2溶液を乾燥すること、によって調製できる。

【0067】

いくつかの実施形態において、第1溶液は、標識化第2結合パートナー、及び該第2結合パートナーと事前結合できる又はできない任意選択の支持体をさらに含む。

50

【0068】

各種の実施形態において、結合アッセイを実施するためのアッセイ用陽性対照/キャリブレーター組成物は、

(a) 標識化第1結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む凍結した第1溶液を、陽性対照/キャリブレーター試薬を含む第2溶液と混合すること(ここで、該混合は、第2溶液を凍結するのに十分な温度で実施される)、及び

(b) 第1及び第2溶液を乾燥すること、によって調製できる。

【0069】

特定の実施形態において、本発明による結合アッセイを実施するためのアッセイ用陽性対照/キャリブレーター組成物は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第1溶液を調製すること、

(b) (a)で形成された混合物を凍結すること、

(c) 第2溶液を該凍結混合物に、第2溶液を凍結するのに十分な温度で添加すること(前記第2溶液は、陽性対照/キャリブレーター試薬、及び結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体を含む)、並びに

(d) 第1及び第2溶液を乾燥すること、によって調製できる。

【0070】

いくつかの実施形態において、本発明による結合アッセイを実施するためのアッセイ用陽性対照/キャリブレーター組成物は、

(a) 分析対象物に特異的に結合するための第1結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む凍結した第1溶液を、陽性対照/キャリブレーター試薬、及び結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物を競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体を含む第2溶液と混合すること(ここで、該混合は、第2溶液を凍結するのに十分な温度で実施される)、並びに

(b) 第1及び第2溶液を乾燥すること、によって調製できる。

【0071】

各種の実施形態において、第1溶液は、分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合する支持体をさらに含む。

【0072】

特定の実施形態において、第2溶液が凍結する温度は、十分に低く、第1溶液由来の試薬と第2溶液に由来する試薬の間の反応又は結合を防止できる。

【0073】

いくつかの実施形態において、(a)での混合は、アッセイ容器、例えば、マイクロ遠心管又はマルチウェルプレートの少なくとも1つのウェル中で実施できる。

【0074】

いくつかの実施形態において、乾燥した第1及び第2溶液は、互いに物理的に接触した状態にある。

【0075】

特定の実施形態において、乾燥した第1及び第2溶液は、同じ容器中に存在はするが、互いに分離されていてよい。例えば、凍結した第1溶液が、容器内に存在し、且つ物理的に互いに分離されている凍結した第1及び第2溶液を生ずるように、同じ容器中に第2溶液を凍結するに十分な温度で第2溶液と混合されていてよい。第1及び第2溶液を乾燥すると、同じ容器中で互いに分離された乾燥第1及び第2溶液が生じる。

【0076】

当業者は、第1溶液を含む構成要素を、それ自体、1種又は複数の別個の溶液として添加できることを認識するであろう。さらに、当業者は、本発明が、第1及び第2溶液をアッセイ容器に添加する順序を変更することも包含することを認識するであろう。例えば、第2溶液をアッセイ容器に添加、凍結し、その後第1溶液を添加してもよい。いくつか

10

20

30

40

50

の実施形態において、第 1 及び第 2 溶液を、別個に凍結し、凍結固体として混合できる。

【0077】

いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 溶液を、当技術分野で周知の任意の手段によって別個に乾燥できる。続いて、乾燥した第 1 及び第 2 溶液を混合して本発明の組成物を調製できる。従って、特定の実施形態は、結合アッセイを実施するためのアッセイ用陽性対照 / キャリブレーター組成物の調製方法を提供する。

- (a) 標識化第 1 結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第 1 溶液を調製すること、
- (b) (a) で形成された溶液を乾燥すること、
- (c) 陽性対照 / キャリブレーター試薬を含む第 2 溶液を乾燥すること、及び
- (d) 乾燥した第 1 及び第 2 溶液を混合すること。

10

【0078】

いくつかの実施形態は、上記の第 1 溶液が、第 2 結合パートナー、及び該第 2 結合パートナーと事前結合できる又はできない支持体をさらに含む、結合を実行するためのアッセイ用陽性対照 / キャリブレーター組成物の調製方法を提供する。

【0079】

特定の実施形態は、結合アッセイを実施するためのアッセイ用陽性対照 / キャリブレーター組成物の調製方法を提供する。

- (a) 第 1 結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第 1 溶液を調製すること、
- (b) (a) で形成された溶液を乾燥すること、
- (c) 陽性対照 / キャリブレーター試薬、及び結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化分析対象物又は分析対象物類似体を含む第 2 溶液を乾燥すること、並びに
- (d) 乾燥した第 1 及び第 2 溶液を混合する。

20

【0080】

各種の実施形態は、上記の第 1 溶液が、結合パートナーと事前結合できる又はできない支持体をさらに含む、結合を実施するためのアッセイ用陽性対照 / キャリブレーター組成物の調製方法を提供する。

【0081】

特定の実施形態において、支持体は、ビーズ、例えばポリスチレン又は磁化性ビーズでよい。

30

【0082】

本発明のいくつかの実施形態において、支持体は、例えば、アッセイ容器の壁でよく、第 1 結合パートナーを、標識化第 2 結合パートナー及びアッセイ緩衝液を含む第 1 溶液を添加するアッセイ容器の壁に固定化できる。第 1 溶液を凍結することができ、陽性対照 / キャリブレーター試薬を含む第 2 溶液を凍結した第 1 溶液に、第 2 溶液が直ちに凍結する程十分に低い温度で添加できる。凍結した第 1 及び第 2 溶液を、次いで、当技術分野で周知の技術によって乾燥できる。特定の実施形態において、第 2 溶液は、それが、結合パートナーと陽性対照 / キャリブレーター試薬の間の結合を防止するのに十分速い速度で凍結する場合に「直ちに凍結する」。

【0083】

いくつかの実施形態において、乾燥した第 1 及び第 2 溶液は、互いに物理的に接触した状態でよい。各種の実施形態において、乾燥した第 1 及び第 2 溶液は、同じ容器中に存在するが、互いに分離され得る。即ち、乾燥した第 1 及び第 2 溶液は、例えば、容器の配向に応じて互いに接触して存在できる。

40

【0084】

特定の実施形態では、第 1 及び第 2 溶液を、凍結乾燥で乾燥できる。材料、特に生物学的材料を凍結乾燥するための方法及び装置は、当業者にとって周知である。凍結乾燥は、材料の保存及び安定性の目的にとって周知の利用法である。

【0085】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、凍結乾燥緩衝液をさらに含むことができ

50

る。凍結乾燥緩衝液は、当技術分野で周知であり、リン酸塩緩衝液、及び場合によっては1種又は複数の凍結防止剤を含むことができる。

【0086】

本発明の組成物は、トレハロース又は蔗糖などの化合物を含むことができる。特定の実施形態において、第1及び第2溶液の両方が、トレハロース又は蔗糖を含む。いくつかの実施形態において、第1及び第2溶液の一方のみがトレハロース又は蔗糖を含む。いくつかの実施形態において、トレハロース又は蔗糖は、固定化された捕捉抗体と標識化レポーター抗体の間の層として存在できる。このような組成物は、第1溶液を凍結した後ではあるが第2溶液を添加する前に、トレハロース又は蔗糖を含む溶液を添加及び凍結することによって形成できる。

10

【0087】

特定の実施形態では、支持体を処理して、標識化第2結合パートナー、分析対象物、又は分析対象物類似体の、支持体に対する非特異的結合を遮断又は低減できる。任意の従来からの遮断剤を使用できる。適切な遮断剤は、その開示が参照により本明細書に組み込まれる、例えば、米国特許第5,807,752号、5,202,267号、5,399,500号、5,102,788号、4,931,385号、5,017,559号、4,818,686号、4,622,293号、4,468,469号中に、及びカナダ特許第1,340,320号、国際公開第97/05485号、欧州特許公開第A1-566,205号、欧州特許公開第A2-444,649号、及び欧州特許公開第A1-165,669号に記載されている。典型的な遮断剤には、動物血清（例えば、ヤギ血清）、ウシ血清アルブミン、ゼラチン、ビオチン、及び乳タンパク質（「blotto」）などの血清及び血清アルブミンが含まれる。サンドイッチ結合アッセイの場合は第1結合パートナーの、又は競合結合アッセイの場合は結合パートナーの固定化の前又は後に遮断剤を吸収することによって支持体を遮断できる。いくつかの実施形態では、結合パートナーの固定化の後に遮断剤を吸収することによって支持体を遮断できる。支持体を遮断するための正確な条件は、使用する遮断剤の正確な量を含め、遮断剤及び支持体の本体によって決まるが、後記実施例に記載のアッセイ法及び実験計画を使用することによって決定することもできる。

20

【0088】

いくつかの実施形態において、乾燥組成物は、結合アッセイのために使用される試薬及び陽性対照/キャリブレーター試薬を含む。乾燥組成物は、多くの種類の容器に入れることができる。いくつかの実施形態において、容器は、例えば、各ウェルが1種又は複数の乾燥組成物を含むことができる24、96、384、1538、又は6144個のウェルを含むマルチウェルプレートでよい。特定の実施形態において、マルチウェルプレートは、装置中で使用される場合、フットプリント寸法に関するANSI/SBS20004マイクロプレート規格（ANSI/SBS1-2004）に指定されている最大の概略寸法を超えない外形寸法であればよい。マルチウェルプレートの第3寸法（即ち、高さ）は、装置中で使用される場合、約44mmを超えない外形寸法であればよい。各種の実施形態において、容器は、直径が約9mm以下、高さが約40mm以下の管でよい。いくつかの実施形態において、容器は、約8.6mmの最大外径及び約33.8mmの高さを有する管でよい。いくつかの実施形態では、二次元配列容器を、上記のマルチウェルプレート寸法の範囲内であるホルダーに配置することができる。各種の実施形態において、ホルダー中の二次元配列容器は、高さが約35mmでよい。

30

40

【0089】

いくつかの実施形態では容器を密閉的にシールできる。いくつかの実施形態では、容器を、容器開口部へ押し込まれたEVA又はSantoprene（登録商標）などのエラストマー性、熱硬化性、又は熱可塑性材料でシールできる。いくつかの実施形態では、容器を、フォイルマイクロプレートシールなどの、金属層を含むラミネートでシールできる。各種の実施形態では、容器を、容器にヒートシールできるラミネートなど、熱的に変形可能な層を含むラミネートでシールできる。いくつかの実施形態では、容器を、容器にラ

50

ミネートを結合できる接着層を含むラミネートでシールできる。

【0090】

いくつかの実施形態において、容器は、シールされた袋の内部に、1つ又は複数のシールされた封入材（容器）などの少なくとも1つの封入材を含む。いくつかの実施形態において、シールされた袋は、例えば、ポリエチレン、ポリエステル、アルミニウム、ニッケル、ポリエステル-フォイル-ポリエチレン3層ラミネート、又はポリエステル-ポリエチレン2層ラミネートを含んでなる。いくつかの実施形態では、最内側の封入材と最外側の封入材の間に乾燥剤を入れることができる。乾燥剤は、例えば、酸化カルシウム、塩化カルシウム、硫酸カルシウム、シリカ、非晶質ケイ酸塩、ケイ酸アルミニウム、クレイ、活性アルミナ、ゼオライト、又はモレキュラーシーブを含む。いくつかの実施形態では、最内側の封入材と最外側の封入材の間に湿度インディケータを入れることができる。湿度インディケータは、例えば、乾燥組成物が、未だ十分に乾燥しておりその安定性が問題ないことの指標として使用できる。いくつかの実施形態では、最外側の封入材を通して湿度インディケータを目視できる。特定の実施形態において、湿度インディケータは、米軍規格MS20003に合致するように設計されたものなど、色変化によって湿度を指示するカード又はディスクでよい。

10

【0091】

いくつかの実施形態において、容器による湿気遮断は、45、相対湿度100%の外部条件で、乾燥組成物を10日間、20日間、40日間、67日間、3カ月間、6カ月間、12カ月間、18カ月間、24カ月間又はそれ以上、十分に乾燥状態に保持できる。

20

【0092】

いくつかの実施形態において、容器による湿気遮断は、25、相対湿度100%の外部条件で、乾燥組成物を1日間、1週間、3カ月間、6カ月間、12カ月間、18カ月間、24カ月間又はそれ以上、十分に乾燥状態に保持できる。

【0093】

いくつかの実施形態において、容器による湿気遮断は、4、相対湿度100%の外部条件で、乾燥組成物を3カ月間、6カ月間、12カ月間、18カ月間、24カ月間又はそれ以上、十分に乾燥状態に保持できる。

【0094】

本発明の特定の実施形態は、

30

(a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、

(b) 該試料を、

(i) 分析対象物に特異的に結合するための任意選択の第1結合パートナー、

(ii) 分析対象物の結合を遮断することなしに第1結合パートナーに結合するための任意選択の支持体、及び

(iii) 同じ分析対象物に特異的に結合するための標識化第2結合パートナーを含む組成物、

と混合することによって試験反応混合物を形成すること、

(c) 該試料を、

(i) 前記任意選択の第1結合パートナー、

40

(ii) 前記任意選択の支持体、

(iii) 前記標識化第2結合パートナー、及び

(iv) 第2結合パートナーに特異的に結合することができ、且つ、存在するなら、第1結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む、少なくとも1種の陽性対照/キャリブレーター試薬、を含む、少なくとも1種の乾燥組成物と混合することによって少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物を形成すること、

(d) 試験反応混合物及び少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、並びに

(e) 反応混合物のそれぞれについて、標識化結合パートナーに分析対象物を結合する

50

ことによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、
を含む、非競合アッセイ法を利用する分析対象物の検出及び／又は定量方法を提供する。

【0095】

いくつかの実施形態において、分析対象物の検出及び／又は定量方法は、

(f) データ、例えば、少なくとも1つの陽性対照／キャリブレーター反応混合物から得られる測定シグナルを

(i) 試料の成功的測定を確認すること、及び

(ii) 試験反応混合物から発生したシグナルを試験分析対象物の濃度に変換すること

、
から選択される少なくとも1つのステップを実施することによって評価することをさらに含む。

10

【0096】

特定の実施形態において、該方法は、サンドイッチ結合アッセイ法でよい。

【0097】

本発明の各種実施形態は、

(a) 分析対象物を含む可能性のある試料を準備すること、

(b) 該試料を、

(i) 分析対象物に特異的に結合するための結合パートナー、

(ii) 分析対象物の結合を遮断することなしに結合パートナーに結合する任意選択の支持体、及び

20

(iii) 結合パートナーに対する結合に関して試料中の分析対象物と競合する標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、

を含む組成物と混合することによって試験反応混合物を形成すること、

(c) 該試料を、

(i) 前記結合パートナー、

(ii) 前記任意選択の支持体、

(iii) 前記標識化された分析対象物又は分析対象物類似体、及び

(iv) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む少なくとも1種の陽性対照／キャリブレーター試薬、

を含む少なくとも1つの乾燥組成物と混合することによって少なくとも1つの陽性対照／キャリブレーター反応混合物を形成すること、

30

(d) 試験反応混合物及び少なくとも1つの陽性対照／キャリブレーター反応混合物をインキュベートすること、並びに

(e) 反応混合物のそれぞれについて、分析対象物を前記結合パートナーに結合することによって形成される複合体に起因するシグナルを測定すること、

を含む、競合結合アッセイ法を利用する分析対象物の検出及び／又は定量方法を提供する。

【0098】

いくつかの実施形態において、分析対象物の検出及び／又は定量方法は、

(f) データ、例えば、少なくとも1つの陽性対照／キャリブレーター反応混合物から得られる測定シグナルを

40

(i) 試料の成功的測定を確認すること、及び

(ii) 試験反応混合物から発生したシグナルを試験分析対象物の濃度に変換すること

、
から選択される少なくとも1つのステップを実施することによって評価することをさらに含む。

【0099】

以下の段落では、上記非競合及び競合アッセイ法の両方のさらなる実施形態について説明する。いくつかの実施形態において、(b)の組成物は、本明細書に記載した任意の乾燥組成物などの乾燥組成物でよい。特定の実施形態では、アッセイで使用する際に、乾燥

50

組成物（群）に水又は緩衝液を添加できる。いくつかの実施形態では、例えば、水又は緩衝液を用いて乾燥組成物を最初に再構成することなしに、乾燥組成物（群）を試料と直接混合できる。特定の実施形態において、支持体は、ビーズ、例えば、ポリスチレン又は磁性ビーズでよい。いくつかの実施形態では、第2結合パートナーをECL部分で標識できる。各種の実施形態において、ECL部分は $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ でよい。特定の実施形態において、「分析対象物を検出する」とは、分析対象物の存在を判定することを指す。即ち、分析対象物を含むと推測される試料は、分析対象物を含む場合もあるし、含まない場合もある。いくつかの実施形態において、「分析対象物を定量する」とは、試料中に存在する分析対象物の量を確定することを指す。試料は、分析対象物を含有することはわかっているが、量が未知である場合がある。或いは、試料は、分析対象物を含有する又は含有しない可能性があり、且つ該方法は、分析対象物を検出すること及び定量することの両方を含む。

10

20

30

40

50

【0100】

以下の段落では、上記非競合及び競合アッセイ法の両方のさらなる実施形態について説明する。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物からのデータを使用して、試料の成功的測定を確認できる。これらの混合物から得られる測定シグナルを前以て測定したシグナル範囲と対比できる。測定シグナルが前以て測定したシグナル範囲内であるなら、該測定は有効と考えることができ、試験試薬混合物からの測定値が記録される。測定シグナルが前以て測定したシグナル範囲内でないなら、再校正が必要である。陽性対照/キャリブレーター反応混合物から得られる測定シグナルは、数理的校正曲線の使用を通して分析対象物の濃度に変換することもできる。この変換値を、前以て測定した濃度範囲と対比できる。即ち、測定濃度が前以て測定した濃度範囲内であるなら、該測定は、有効と考えることができ、試験試薬混合物から得られる測定値が記録される。

【0101】

試料を陽性対照/キャリブレーター反応混合物に直接添加（即ち、混合物を再構成するため）する各種の実施形態において、試料中の分析対象物濃度は、測定シグナルから、測定シグナルの一部を試料に帰属するアルゴリズム、例えばシグナルのレベルを分析対象物の濃度に関連付ける数関数によって決定できる。例えば、水又は緩衝液を用いて再構成された陽性対照/キャリブレーター反応混合物から得られる測定シグナルを、試料を用いて再構成された陽性対照/キャリブレーター反応混合物から得られる測定シグナルと比較できる。このような実施形態において、2つのシグナル間の差異（もし存在するなら）を利用して試料中の分析対象物の量を計算することが可能であり、該対照/キャリブレーターは内部対照として機能する。

【0102】

1つを超える（例えば、2つ又は3つ）陽性対照/キャリブレーター反応混合物を使用する実施形態において、分析対象物の濃度は、異なってもよいし同一でもよい。複数の陽性対照/キャリブレーター反応混合物の中のすべて又はいくつかのみを使用して試験試薬混合物からの測定値が記録されるか否かを判断できる。例えば、後掲実施例7のBioRad Immunoassay Plus Controls Level 2及び3を、陽性対照/キャリブレーター試薬中で使用して試料の成功的測定を確認できる。

【0103】

以下の段落では、上記非競合及び競合アッセイ法の両方のさらなる実施形態について説明する。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの陽性対照/キャリブレーター反応混合物から得られるデータを使用して、試験反応混合物から発生するシグナルを、数学的校正曲線の作成を援助することで、試験分析対象物の濃度に変換できる。校正曲線は、分析対象物量が未知の試料のシグナル測定値に関して、既知の分析対象物濃度を用いて試料に対するシグナル測定値の内挿及び外挿の両方を可能にする。曲線の適合に使用される数関数の形態は、ピースワイズ一定、ピースワイズ線形、三次スプラインなどの関数を用いて測定値を内挿することによって、或いはすべてのデータを一次、二次、三次、又は四次

多項式を用いて適合させることによって基礎をなす関係の連続性及び／又は平滑性を仮定することができ、一方、過剰束縛系の場合、パラメータは、最小二乗（例えば、Press, W., Teukolsky, S., Vetterling W., Flannery, B.のNumerical Recipes in C, The Art of Scientific Computing, 第2版、1992年、Cambridge University Press）又は総合最小二乗（例えば、Van Huffel, S.及びVanderwalle, J.のThe Total Least Squares Problem Computational Aspects and Analysis (1991年)、Society for Industrial and Applied Mathematics）などの誤差関数を最小にすることによって計算される。数理関数の形態は、1位置飽和、2位置飽和、非特異的結合を伴う1位置飽和、非特異的結合を伴う2位置飽和、可変勾配を伴う又は伴わないS字状容量応答曲線、1位置競合、2位置競合、又は4パラメータ論理などのアッセイ機構について仮定できる。較正曲線の生成は、数理関数の形態を選択すること、次いで関数のパラメータを測定値と適合させることを必要とする場合がある。測定値は装置上で処理することができ、或いは部分的に又は全部別の場所（例えば、アッセイがなされる場所）で処理できる。測定値は、数理関数を完全束縛又は過剰束縛できる。過剰束縛系の場合には、モデルパラメータを、最小二乗（例えば、Pressら、1992年）又は総合最小二乗（例えば、Van Huffelら、1991年）などの誤差関数を最小にすることによって計算できる。例えば、後掲の実施例7のPSAキャリアレータA～Gを4パラメータ論理関数と共に使用して、試験反応混合物から発生するシグナルを試験分析対象物の濃度に変換するのに使用される数学的較正曲線を構成できる。

10

20

【0104】

特定の実施形態において、本発明の結合アッセイ法は、測定段階に先立って、試料を組成物と共にインキュベートすることを含む。インキュベーションの時間は、60分未満又は1～30分の範囲など、分の桁でよい。インキュベーションは、約室温又は約37℃など、約0℃を超え約50℃までの温度範囲で実施できる。その他の温度は、加熱又は冷却浴の手段により、又は当技術分野で周知のその他の温度調節手段により達成できる。インキュベーションは、例えば、攪拌機又は振とう機などの手段で攪拌して又は揺動して実施できる。

30

【0105】

特定の実施形態において、アッセイは、アッセイ試薬及び使用するなら少なくとも1つの陽性対照／キャリアレータを、適切に希釈された試料を添加できる1つの組成物中に含めることができるシングル-ステップアッセイでよい。いくつかの実施形態において、アッセイは、アッセイ試薬及び使用するなら少なくとも1つの陽性対照／キャリアレータを、試料及び適切な希釈剤を添加できる1つの組成物中に含めることができる2-ステップアッセイでよい。「シングル-ステップ」及び「2-ステップ」とは、本明細書中で使用する場合、分析対象物の結合事象を実際に実施するために要求される処理を指す。シングル及び2-ステップアッセイは、測定のための試料の調製など、分析対象物の結合事象に続くその他の工程を組み込むことができる。例えば、ECLアッセイでは、参照により本明細書に組み込まれる、例えば、米国特許第6,451,225号に記載されているように、ピペラジン-1,4-ビス(2-エタンスルホン酸)(PIPES)、トリ-n-プロピルアミン、N,N,N',N'-テトラプロピル-1,3-ジアミノプロパン、及び／又はそれらの塩を含むアッセイ緩衝液をアッセイ混合物に添加して、ECL測定を容易にすることができる。さらなる例において、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,325,973号に記載されているように、シングル-又は2-ステップアッセイは、反応混合物を測定セル、例えば、電気化学セルへ移動することを含むこともできる。シングル-ステップ法は、アッセイ試薬及び陽性対照／キャリアレータなど、アッセイを実施するための複数試薬の逐次添加及び移動を排除してアッセイ工程を簡単に行うことができる。

40

50

【0106】

特定の実施形態において、本発明の方法は、単一試料中の複数の分析対象物（すなわち、2以上の分析対象物）をアッセイすることを含む。各分析対象物種を、変化する分析対象物濃度の陽性対照/キャリブレーター試薬を用いて評価する場合、特定の分析対象物種に対するキャリブレーターの配列を潜在的に形成して、測定される分析対象物ごとに複数のキャリブレーターを使用できる。アッセイは、当技術分野で周知の96ウェルトレー又はその他のマルチウェルトレーなどのマルチウェルトレーと連携して使用できる。

【0107】

固定化された捕捉抗体及び標識化レポーター抗体の分析対象物に対する結合によって形成される複合体に起因するシグナルの測定又は検出の正確なステップ及び手段は、標識化結合パートナー、分析対象物、又は類似体の正確な性質によって、さらには結合パートナーを固定化する支持体によって決めることができる。このような技術は当技術分野で周知である。例えば、アッセイ混合物中の標識化成分を放射性原子で標識し、次いで、シグナルをシンチレーションカウンターの手段で検出できる。別法として、アッセイ混合物の標識化成分を、ECL部分、化学発光部分、又は蛍光部分で標識すると、シグナルは、CCD、光電子増倍管、フォトダイオード、CMOS検出器、NMOS検出器、フォトトランジスター又はアパランシュフォトダイオードなどの光検出器を使用して検出できる。

【0108】

標識化アッセイ成分からのシグナルを測定した後、検出されたシグナルの特性、例えば、強度、振幅、持続時間などを、該特性と分析対象物の存在若しくは量との間の既知の、又は前以て測定した相互関係と比較することによって、分析対象物の存在及び/又は量を決定できる。このような方法は、当業者にとって周知である。

【0109】

分析対象物を含む可能性のある試料は、分析することが望まれる任意の供給源から抜き取ることができる。例えば、試料は、身体、又は、血液、血漿、血清、乳、精液、羊水、脳脊髄液、喀痰又は唾液などのその他の生物学的流体から発生する可能性がある。或いは、試料は、湖沼又は川などの多量の水から得られる水試料でよい。試料は、試料を水又は水性緩衝液などの液体中に溶解又は懸濁することによっても調製できる。試料源は、大気由来でもよく、例えば、大気を濾過することができ、フィルターを液体で洗浄し、それによって分析対象物を大気から液体中に移動させる。試料は、アッセイ処理に先立って、濾過又はpH調整などの処理又は加工に付すことができる。試料は、固定化された捕捉抗体及び標識化レポーター抗体の分析対象物に対する結合によって形成される複合体に起因するシグナルの発生又は検出を容易にする薬剤をさらに含むか又はそれに添加していてもよい。例えば、レポーター抗体が酵素で標識されている場合、試料は、その酵素に対する基質をさらに含んでいるか又はそれに添加していてもよい。

【0110】

キット

いくつかの実施形態において、本発明は、また、

- (a) 結合アッセイに使用される試薬及び陽性対照/キャリブレーター試薬を含む少なくとも1種の乾燥組成物、
 - (b) 少なくとも1種の乾燥組成物のそれぞれを配置した少なくとも1つの容器、
 - (c) 較正/対照用情報又は較正/対照用情報を得るための手引き、
 - (d) 場合によっては、そのキットの使用法を記載した挿入物又は梱包の形態での説明書、
- を含むキットを提供する。

【0111】

特定の実施形態において、乾燥組成物は、本明細書中に記載された任意の乾燥組成物でよい。乾燥組成物は、

- 分析対象物に特異的に結合するための標識化結合パートナー、
- 同じ分析対象物に特異的に結合するための第2結合パートナー（ここで、標識化結

10

20

30

40

50

合パートナーは第1結合パートナーである)、及び

- 第1の結合パートナーに結合することができる又は結合する少なくとも1種の支持体から選択される、結合アッセイに使用される少なくとも1つの試薬を含むことができる。

【0112】

本発明による特定のキットにおいて、試薬は、ECL部分である標識を含む。関連する実施形態において、標識は、ルテニウム又はオスミウムを含むECL部分であってよい。本発明のさらにその他の関連する実施形態において、ECL部分は、 $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ でよい。

【0113】

本発明のいくつかの実施形態において、試薬はビーズを含む。関連する実施形態において、ビーズは磁化性ビーズでよい。

【0114】

キット組成物は、本明細書に記載の任意の試薬、及び本明細書に記載の任意の容器、湿気インディケータ、及び湿気遮断物を含むことができる。

【0115】

いくつかの実施形態において、キットに含まれる校正/対照用情報は、陽性対照/キャリブレーターに関する有効シグナル範囲又は有効濃度範囲でよい。いくつかの実施形態において、数学的校正曲線の形態を含むことができる。いくつかの実施形態において、数学的校正曲線の形態及び一部又はすべての曲線パラメータを含めることができる。いくつかの実施形態において、校正/対照用情報は、キット中に、単に、他の場所に貯蔵された校正/対照用情報を調べるのに使用される手引き(key)を確認することを介して含めることができる。確認の手引きは、例えば、試験予定分析対象物の名称のような簡単なものでよく、該情報は、例えば、装置又は測定キットのためのオペレーターマニュアル中に、或いは装置又は測定キットのためのソフトウェア中に貯蔵できる。確認の手引きは、例えば、数字列、英数字列、又は2進数列を含むことができる。確認の手引きは、例えば、校正/対照用情報を貯蔵している装置中への立ち入りを容易にするため、測定キット上でバーコード化されていてもよい。

【0116】

これらの実施形態では、陰性対照/キャリブレーターを使用できるものもある。陰性対照/キャリブレーター及び陽性対照/キャリブレーターを所持することによって、内挿法を利用して分析対象物濃度を決定できる。陰性対照/キャリブレーターを所持することによって、試料中の分析対象物の存否に関する信頼性のある閾値を利用できる。典型的には、それにも拘わらず、分析対象物を欠く試料でもバックグラウンドシグナルと呼ばれる測定可能なシグナルを呈示する。バックグラウンドシグナルは、多くの考え得る供給源を有する。例えば、標識化結合パートナーの非特異的結合は、バックグラウンドシグナルをもたらすことができる。いくつかのバックグラウンドシグナル源は、検出方法に特異的であり、例えば、同位体検出の場合のバックグラウンド放射線及び蛍光測定の場合の自己蛍光である可能性がある。バックグラウンドシグナルのいくつかの供給源は、試料に特異的である場合もある。環境もまた、例えば、温度、圧力及び/又はその他の依存関係を通してシグナルに影響を及ぼす。試料は分析対象物を含む可能性があるため、陰性対照/キャリブレーターを再水和するのに試料を使用することは、分析対象物の測定に余分なステップを付加する場合がある。試料は、所与の分析対象物の濃度に対する特異的シグナルを高める又は低減する化合物を含む可能性があるため、陰性対照/キャリブレーターを再水和するのに試料以外の緩衝液を使用することは、やはり、分析対象物の測定に余分なステップを付加する場合がある。反応混合物から標識化結合パートナーを除去すると、標識化結合パートナーの非特異的結合によるシグナル変化を低減できる。いくつかの実施形態において、支持体を使用する実施形態における第1結合パートナーの代わりに第3結合パートナーを使用できる。第3結合パートナーは、(1)分析対象物に特異的に結合できず、且つ/又は(2)第1結合パートナーと類似の非特異的結合特性を有し、例えば、それらは両

10

20

30

40

50

方とも抗体又はそのフラグメントでよい。支持体を含む実施形態において、第3及び第1結合パートナーは、両方とも支持体に結合できる。陰性対照を再水和するのに、試料を、第1結合パートナーの代わりに第3結合パートナーと共に使用すると、類似のマトリックス効果、非特異的結合、及びその他のアッセイ効果を伴って、分析対象物を欠く試料と比較できるシグナルレベルを発生させることができる。

【0117】

他の実施形態は、

(a) 標識及び結合パートナーを含む標識化結合パートナー（ここで、前記標識化結合パートナーは、分析対象物に特異的に結合できる）、及び

(b) 結合パートナーに特異的に結合できる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を含む陽性対照/キャリブレーター試薬、

を含むアッセイ用陽性対照/キャリブレーターとして使用するための少なくとも1種の乾燥組成物を含むキットを提供し、該組成物は、組成物の総重量に対して約5重量%以下の水分含有量を有し、且つ、少なくとも1種の乾燥組成物のそれぞれは容器内に配置されている。

【0118】

一実施形態において、標識化結合パートナーと陽性対照/キャリブレーター試薬は、互いに物理的に接触した状態であり、例えば、容器内に、例えば容器の配向に応じて互いに接触できる能力があるように配置される。一実施形態において、乾燥組成物は、密接な物理的混合物を含む。他の実施形態において、「物理的接触」は、物理的接触状態にある少なくとも2つの隣接している領域を含み、そこでは、少なくとも1つの第1領域が標識化結合パートナーを含み、少なくとも1つの第2領域が陽性対照/キャリブレーター試薬を含む。参照により本明細書に組み込まれる、例えば、2005年6月23日出願の米国特許仮出願第60/693,041号「Portable Diagnostic Testing Instrument」の図16に記載されているような、例えば、管、瓶、又は容器などの当技術分野で周知の任意の容器を使用できる。

【0119】

いくつかの実施形態において、キットは、分析者が測定又は検出可能な濃度範囲（又は、範囲の一部）を拡げることが可能にするための陽性対照/キャリブレーター試薬を含む。一実施形態において、分析対象物は、 $c_1 \sim c_2$ ($c_1 < c_2$) の範囲の測定可能濃度を有する。キットは、さらに、

(a) 結合アッセイに使用される試薬、及び p 個 ($p \geq 1$) の異なる既知量の分析対象物又は分析対象物類似体を有する陽性対照/キャリブレーター試薬を含む第1乾燥組成物、

(b) 陽性対照/キャリブレーター試薬なしで結合アッセイに使用される試薬を含む第2乾燥組成物、

(c) 組成物を配置した少なくとも1つの容器、

(d) 較正/対照用情報、又は較正/対照用情報を得るための手引き、
を含み、

ここで、分析対象物を欠く試薬で再水和する場合には、 p 個の既知量は、 d_1 、 d_2 、 \dots 、 d_p ($d_1 < d_2 < \dots < d_p$) の較正濃度を作り出し、

ここで、 $(i) d_1 / c_1$ 、 $(i) 1 \leq m \leq p - 1$ の場合 d_{m+1} / d_m 、及び $(i) c_2 / d_p$ の中の最大値は約 以下であり、

ここで、 $p > 1$ なら $= 2 (c_2 / ((p - 1) \times c_1))$ 、 $p = 1$ なら $= 2 (c_2 / c_1)$ である。

【0120】

一実施形態において、 $= 2 (c_2 / (p \times c_1))$ である。他の実施形態において、 $= 2 (c_2 / (p + 1) c_1)$ である。さらに他の実施形態において、 $p = 1, 2, 3$ 、又は4である。

【実施例】

10

20

30

40

50

【0121】

これらの実施例により、固定化第1抗体、標識化第2抗体、及び既知量の前立腺特異抗原（PSA）を含む凍結乾燥組成物を利用するPSAを検出するための、定量的電気化学発光（ECL）をベースにしたサンドイッチ免疫測定法を説明する。

【0122】

これらの実施例では、前立腺抗原を検出するための試薬を凍結乾燥し、3種のマトリックス中のPSAを検出するそれらの能力について試験した。結果は、凍結乾燥試薬を使用するアッセイ法の性能が、湿式試薬を使用するアッセイ法の性能に勝るとも劣らないことを示した。

【0123】

始めに、PSA試薬のための概略的最適化を、特に、ORIGEN（登録商標）アナライザー（BioVeris社）について実施した。これに続いて、アッセイ平衡に必要なインキュベーション時間を決定した。この測定法に使用される高親和性、高アビディティ（avidity）モノクロナール抗体は、PSAの迅速な（30分以下）定量的検出を可能にする。この実施例で、湿式試薬を、凍結乾燥試薬、並びに現在湿式試薬を使用しているElesys 1010（Roche Diagnostics社）及びM-SERIES M1アナライザー（BioVeris社）を含むECLをベースにしたその他のシステムと直接対比した。すべてのシステムで、アッセイ法に特異的な標準曲線から得られるPSA濃度は類似していた。アッセイ法の性能は、この分析対象物に関して臨床的に意味のあるレベルで類似していた。試薬を直接的に比較するため、同一試薬を、Elesys 1010、ORIGEN及びM1アナライザー上で試験した。この実施例で試験したマトリックスには、スパイクキャリブレーター希釈液、全血、及び血漿が含まれる。キャリブレーター希釈液中での検出は、試験したすべてのシステムにおいて血漿中での検出と類似していた。

【0124】

（実施例1）

抗体の標識化

モノクロナール抗体PSA10（304-01、CanAg Diagnostics社）を、2倍モル過剰で添加したビオチン-NHS-エステルLC（11015、BioVeris社）と共に回転ミキサー上、室温で1時間インキュベートすることによってビオチン化した。未反応ビオチン-NHS-エステルLCを、リン酸塩緩衝化生理食塩水（PBS）/0.05%アジ化ナトリウム中で膨潤させたSephadex（登録商標）G-25カラムでゲル濾過して除去した。透析（Slide-A-Lyzer（登録商標）透析カセット、Pierce社）は、2回の室温透析交換（各3時間）及び4でのPBS/0.05%アジ化ナトリウムに対する終夜透析を必要とした。タンパク質濃度は、ピシンコニン酸（BCA）タンパク質アッセイ法で測定した。ビオチン化した第1抗体は4で貯蔵した。

【0125】

モノクロナール抗体PSA66（310-01、CanAg Diagnostics社）を7.5倍モル過剰のORI-TAG（登録商標）NHSエステルを用いてルテニウム化した。未反応のORI-TAG（登録商標）を、ビオチン化抗体の精製について前記したのと同様の方法で除去した。ORI-TAG（登録商標）：タンパク質の組込み比率を、ORO-TAG（登録商標）のモル濃度をORI-TAG（登録商標）で標識されたタンパク質のモル濃度で除して決定した。ORI-TAG（登録商標）で標識された第2抗体（検出試薬）は4で貯蔵した。

【0126】

（実施例2）

分析対象物特異的ビーズの調製

ビオチン化第1抗体を、2.8µmのストレプトアビジン被覆超常磁性ビーズ上に固定化した。ストレプトアビジンビーズを磁気微粒子セパレーター（Dyna1）を使用し、

10

20

30

40

50

ビーズ懸濁液初期容量の2倍容のPBS、0.3% Tween (登録商標) 20 (PBS-T)を用いて2回予備洗浄し、緩衝液を除去する前にビーズを捕捉した。次いで、ストレプトアビジンビーズを、Tween (登録商標) 20なしのPBSでもう1回洗浄した。ストレプトアビジンビーズをTween (登録商標) 20なしのPBSでそれらの元の容積に再構成した。ビオチン化抗体(100 µg)を1 mLの予備洗浄したストレプトアビジンビーズと共に、ビーズを懸濁状態に保持するための回転装置上、室温で1時間インキュベートした。インキュベーション期間の後に、予備洗浄の手順を繰り返して、遊離ビオチン化抗体を除去した。第1抗体-被覆超常磁性ビーズ(捕捉ビーズ)は、4 で貯蔵した。

【0127】

(実施例3)

アッセイのプロトコール

ECL測定には、ORIGEN I (登録商標)アナライザー(BioVeris社)、M-SERIES (登録商標)M1アナライザー(BioVeris社)、及びElesys (登録商標)1010 (Roche-Diagnostics社-USA)を使用した。ORIGEN (登録商標)は、照度計、電位差計、電気化学フローセル、流体取扱い要素、及び50管カローセルを統合している。装置は、オン-スクリーンメニューのオペレータ操作を介するマイクロコンピューターによって制御される。

【0128】

試薬の最適化は、ORIGEN (登録商標)及びM1アナライザーでのアッセイについて実施した。アッセイ予定試料(50 µL)を、12×75 mmの反応管又はマイクロタイターウェルに添加した。また、蔗糖、及び抗体希釈液で5 µg/Lまで希釈した25 µLの検出試薬を含むビーズ希釈液に1:50で希釈された捕捉ビーズ(25 µL)を添加した。これらの濃度は、反応チューブウェルに添加された試薬の操作時濃度を指し、反応チューブウェル中の最終濃度を指すものではない。PBS(200 µL)及び0.5% Triton x 100 (アッセイ希釈液)を添加して300 µLの最終容積にした。反応物を、ORIGEN (登録商標)のカローセル上又はプレート振とう機上で30分間(インキュベーション時間を変化させるインキュベーション時間の検討の場合を除き)インキュベートした。ORIGEN (登録商標)で凍結乾燥試薬を使用する場合には、凍結乾燥試薬のペレットを含む反応管に試料を直接添加し、続いて250 µLのアッセイ希釈液を添加した。凍結乾燥したPSAキャリブレーターは、300 µLのアッセイ希釈液を受け入れた。

【0129】

Elesys (登録商標)1010でのアッセイは、特注及びWDPT(研究)ソフトウェアを使用して実行した。特注ソフトウェアと異なり、研究ソフトウェアは、使用者に、使用者が自らの線形回帰分析を実行することを可能にするECL値を提供する。Elesys (登録商標)トータルPSA (Elesys (登録商標)tPSA)を、製造業者のプロトコールによる特注ソフトウェアを使用して市販の試験を用いて試験した。研究ソフトウェアを用い、Elesys (登録商標)1010でORIGEN (登録商標) Demonstration PSA Reagent (Elesys (登録商標) PSA Demo)を試験した。また、ORIGEN (登録商標)及びM1アナライザーで使用したのと同じ試薬及び希釈液を用いて自己調製ラックパックを調製し、類似のプロトコールで実験した。これにより、プラットフォームの直接比較が可能になった。

【0130】

(実施例4)

全血/血漿のサンプリング

リチウムヘパリン抗凝固剤を含む全血試料は、Research Sample Bankから受領し、PSAを加えて4つのレベル(陰性を含む)にスパイクし、1、2、3、4と表した。血漿は、各全血スパイクレベルから調製した。全血及び血漿スパイクを前述の方法に従って測定した。各実験で、キャリブレーター設定、キャリブレーター希釈(

10

20

30

40

50

C D) スパイク、全血及び / 又は血漿スパイク、及び B i o R a d 対照をアッセイした。

【 0 1 3 1 】

(実施例 5)

試薬の凍結乾燥

捕捉及び検出試薬の操作溶液 (w o r k i n g s o l u t i o n s) を前述の通り調製し、等部で混合し、アッセイ試薬のバルク製剤を調製した。

【 0 1 3 2 】

バルクアッセイ試薬及び陽性対照を含む組成物を調製するため、アッセイ試薬及び陽性対照をドライアイス上の管に別個に添加し、管中での抗体 / 抗原の結合を防止した。先ず、バルクアッセイ試薬を、ドライアイス床上にあるトレー中のポリプロピレン管に添加した。試薬は、管に添加すると直ちに凍結した。次に、キャリブレーター (A ~ G) を含む 5 0 μ L の P S A 抗原を凍結試薬ペレットの頂部に添加すると、それは直ちに凍結した。2つの異なる凍結ペレットが観察された。これらを、試薬のみを含む管に対して使用される同一プロトコールを使用して凍結乾燥した。凍結乾燥のサイクルが完結したら、すべての管をアルゴン下で埋め戻し (b a c k - f i l l) 、栓をし、クリンプで密封した (「凍結乾燥 P S A キャリブレーター」) 。

10

【 0 1 3 3 】

5 0 μ L のこのバルクアッセイ試薬を、ポリプロピレン管に添加し、以下に示す乾燥段階パラメーターに従って 1 6 . 5 時間にわたって凍結乾燥した。

20

【 0 1 3 4 】

【 表 1 】

乾燥段階パラメータ

段階	温度 (C)	時間 (分)	圧力 (mT)	ランプ / ホールド
1	-18	30	10	ホールド
2	-8	180	10	ランプ
3	-8	240	10	ホールド
4	0	180	10	ランプ
5	0	180	10	ホールド
6	+20	180	10	ランプ

30

【 0 1 3 5 】

表中の用語「ホールド」とは、温度及び圧力を、その行に示した時間の間、示した温度及び圧力に保持することを指す。表中の用語「ランプ」は、前段階の条件で出発し、示した時間を費やしてその条件をその行に示した温度及び圧力まで変化させることを意味する。

40

【 0 1 3 6 】

(実施例 6)

インキュベーション時間

O R I G E N (登録商標) でアッセイするための試料を室温で 9 、 1 5 、 3 0 、 又は 6 0 分間、或いは 3 7 で 9 分間インキュベートした。O R I G E N (登録商標) では、室温での約 3 0 分間のインキュベーションでアッセイ平衡に到達すると思われた。3 7 及び室温での 9 分間のインキュベーション後に得られる用量応答曲線に有意差はなかった。図 1 は、異なる時点で得られた用量応答曲線を示す。図 2 は、3 0 分のインキュベーション後の陰性及び陽性反応の交互対を示す。

【 0 1 3 7 】

50

(実施例7)

プラットフォームの比較

PSA含有試料を、Elec Sys (登録商標)、ORIGEN (登録商標)、及びM1アナライザーでアッセイした。BioVeris PSAデモンストレーション試薬から調製したPSAキャリブレーターを、CD、全血、及び血漿スパイクと一緒に試験した。各アッセイと共にBio Rad Immunoassay Plus Controlレベル1、2、及び3を実験して各アッセイの精度を確認した。Bio Rad 2及び3は、それぞれ3.0~4.9 ng/mL及び17~28 ng/mLの濃度範囲を示した。

【0138】

図3は、すべての装置 (ORIGEN (登録商標)、Elec Sys (登録商標)、及びM1) に対するキャリブレーターセットのS:B (シグナル:バックグラウンド) 比率のグラフ表示である。データを下表Iに示す。すべてのアッセイにおいて、高い相関係数を有する線形の用量応答曲線が得られた。ORIGEN (登録商標) で凍結乾燥試薬と湿式試薬の間に性能において有意差はなかった。

【0139】

【表 2】

表 I

試料	Elecsys tPSA [ng/ml]	Elecsys PSA Demo		ORIGEN Wet		ORIGEN Dry		M1		PSA 実験 (Elecsys)	
		平均	S:B	平均	S:B	平均	S:B	平均	S:B	平均	S:B
Cal A	0.008	623	1.0	410	1.0	414	1.0	328	1.0	4112	1.0
Cal B	0.3605	4127	6.6	2388	5.8	2746	6.6	3213	9.8	11522	2.8
Cal C	1.79	18678	30.0	10582	25.8	11641	28.1	14576	44.4	40429	9.8
Cal D	8.435	87592	140.7	46984	114.7	53320	128.8	64748	197.4	180958	44.0
Cal E	41.36	443195	712.0	209942	512.7	229103	553.4	293716	895.5	861689	209.6
Cal F	88.65	882033	1416.9	367497	8974	387227	935.3	513966	1567.0	1702011	414.0
Cal G	176.77	1711396	2749.2	528676	1291.0	543969	1313.9	992313	3025.3	3023451	735.4
CD 1	0.007	588	1.0	408	1.0	454	1.0	404	1.0	4225	1.0
CD 2	1.525	16424	28.0	10405	25.5	11193	24.7	13588	33.6	36494	8.6
CD 3	5.68	59186	100.7	36181	88.8	37801	83.3	46522	115.2	123566	29.2
CD 4	26.96	276349	470.4	154431	379.0	159044	350.3	197434	488.7	564832	133.7
血漿 1	<0.006	510	1.0	420	1.0	419	1.0	273	1.0	5493	1.0
血漿 2	1.475	14051	27.6	8250	19.6	8895	21.3	10432	38.3	33841	6.2
血漿 3	5.395	52239	102.5	28288	67.4	30572	73.1	35621	130.7	108966	19.8
血漿 4	26.675	244266	479.4	130729	311.3	143443	342.8	173144	6354	516315	940
WB1	ND	ND	ND	525	1.0	472	1.0	280	1.0	ND	ND
WB2	ND	ND	ND	3281	7.3	3174	6.7	3910	14.0	ND	ND
WB3	ND	ND	ND	13048	24.9	12817	27.2	9426	33.7	ND	ND
WB4	ND	ND	ND	54220	1034	59459	126.0	43422	155.4	ND	ND
BioRad 1	0.631	6499	10.4	3771	9.2	3943	9.5	3273	10.0	15086	3.7
BioRad 2	3.61	34805	55.9	19873	48.5	20357	49.2	17810	54.3	67653	16.5
BioRad 3	20.32	196315	315.4	113605	277.4	114153	275.7	102823	313.5	368077	89.5

Cal - キャリブレーター

CD - キャリブレーター希釈液

WB - 全血

ND - 測定せず

【 0 1 4 0 】

PSA キャリブレーターを用いて各装置について得られた較正曲線からスパイク類の濃度を導出した。スパイクレベルは 0 ~ 30 ng/mL の範囲なので、これらの導出には最初の 5 つのキャリブレーター (A ~ E) のみを使用した。これらのキャリブレーターは、0 ~ 41 ng/mL の範囲を有し、Elecsys のトータル PSA 試験で確認した。図

4 は、較正用の用量応答曲線を示す。データを下表 I I に示す。

【 0 1 4 1 】

【表 3】

表 II

試料	Elecsys tPSA [ng/mL]	Elecsys PSA Demo	ORIGEN Wet	ORIGEN Dry	M1	Elecsys 実験
Cal A	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Cal B	0.361	0.328	0.389	0.419	0.405	0.357
Cal C	1.79	1.69	2.00	2.02	2.00	1.75
Cal D	8.44	8.14	9.16	9.52	9.05	8.53
Cal E	41.36	41.42	41.20	41.13	41.23	41.34
CD 1	0.007	-0.003	0.000	0.007	0.011	0.005
CD 2	1.53	1.48	1.97	1.94	1.86	1.56
CD 3	5.68	5.48	7.03	6.72	6.49	5.76
CD 4	26.96	25.81	30.29	28.53	27.70	27.03
血漿 1	<0.006	-0.011	0.002	0.001	-0.008	0.067
血漿 2	1.48	1.26	1.54	1.53	1.42	1.43
血漿 3	5.40	4.83	5.48	5.42	4.96	5.06
血漿 4	26.68	22.80	25.63	25.72	24.28	24.69
WB 1	ND	ND	0.023	0.010	-0.007	ND
WB 2	ND	ND	0.671	0.496	0.503	ND
WB 3	ND	ND	2.49	2.23	1.28	ND
WB 4	ND	ND	10.58	10.62	6.06	ND
Bio Rad 1	0.6305	0.55	0.661	0.635	0.414	0.539
Bio Rad 2	3.61	3.199	3.827	3.587	2.456	3.063
Bio Rad 3	20.315	18.316	22.259	20.456	14.402	17.546

Cal - キャリブレーター

CD - キャリブレーター希釈液

WB - 全血

ND - 測定せず

表 I I の濃度を導出するのに使用した等式を以下に示す。即ち、

E l e c s y s (登 録 商 標) 試 験 : $y = 20743x + 4112$; $R^2 = 1$ 、

E l e c s y s (登 録 商 標) P S A D e m o : $y = 10684x + 623$; $R^2 = 0.9999$ 、

M 1 : $y = 7116.8x + 328$; $R^2 = 0.9996$ 、

O R I G E N (登 録 商 標) D r y : $y = 5560.2x + 414$; $R^2 = 0.999$ 、

O R I G E N (登 録 商 標) W e t : $y = 5085.3x + 410$; $R^2 = 0.9995$

【 0 1 4 3 】

(実 施 例 8)

全血及び血漿試料からの%回収

スパイクされた全血及び血漿試料からの%回収を、キャリブレーター希釈液スパイク中に存在する P S A の量に対するパーセンテージとして計算した。血漿の場合、回収は 76.2% ~ 98.9% の範囲であった。E l e c s y s 1010 を用いて得られたデータは、平均で 96.9% の最も高い回収を一貫して示し、一方、O R I G E N 及び M 1 アナライザーは、血漿に関してほぼ 82% の平均回収を有した。全血スパイクの回収は、高々 24.9% ~ 41.3% の範囲であった。データを下表 I I I に示す。

【 0 1 4 4 】

【 表 4 】

表 III

試料	Elecsys tPSA	Elecsys PSA Demo	ORIGEN Wet	ORIGEN Dry	M1	実験
血漿 2	96.7%	85.0%	78.5%	78.6%	76.2%	91.8%
血漿 3	95.0%	88.1%	77.9%	80.7%	76.4%	87.8%
血漿 4	98.9%	88.4%	84.6%	90.2%	87.7%	91.3%
WB 2	ND	ND	34.1%	32.5%	35.4%	ND
WB 3	ND	ND	35.3%	41.1%	25.8%	ND
WB 4	ND	ND	34.9%	41.3%	24.9%	ND

WB - 全血

ND - 測定せず

【 0 1 4 5 】

(実 施 例 9)

凍結乾燥 P S A キャリブレーターからの結果

陽性キャリブレーター A ~ G を、単一の管中でアッセイ試薬と共にそれぞれ凍結乾燥した。これらを、液体キャリブレーターを添加した凍結乾燥アッセイ試薬と比較した。図 5 に示すように、液体キャリブレーターと比較して、同一の管中でアッセイ試薬と一緒に凍結乾燥した P S A キャリブレーターに関して極めて良好な結果が得られた。

【 0 1 4 6 】

P S A キャリブレーターをアッセイ試薬と共に凍結乾燥すると、これらの管は 1 ステップの再水和を要求するだけなので、使用し易いフォーマットが提供される。これらの管中に 2 種の異なった凍結乾燥ペレットが見られた。一方のペレットは、凍結乾燥された試薬であり、他方のペレットは、凍結乾燥されたキャリブレーターであった。2 種のペレットはまったく異なるので、陽性キャリブレーターとアッセイ試薬の結合反応は、アッセイ試薬と陽性キャリブレーターが、試料又は緩衝液を用いる再水和の際に混合されるまで開始

しない。

【 0 1 4 7 】

これらの実施例は、凍結乾燥 P S A キャリブレーターに関する結果が、キャリブレーターを液体状態で受け入れた管と比較した場合に極めて類似していることを立証している。

【 0 1 4 8 】

明細書及び本明細書に開示された本発明の実施を考慮することにより、当業者にとって本発明のその他の実施形態も明らかであろう。明細書及び実施例は、単に例示的なものとして考慮されることを意味し、本発明の範囲及び精神は、添付の特許請求の範囲によって示されると解釈される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 4 9 】

【 図 1 】 P S A キャリブレーター溶液 A ~ G について、異なるインキュベーション時点で得られた用量 - 応答曲線である。

【 図 2 】 O R I G E N (登録商標) アナライザーによるインキュベーションが 3 0 分間のアッセイにおける 1 つのカローセルにわたるずれを示す棒グラフである。

【 図 3 】 すべての装置における P S A キャリブレーター溶液 A ~ G のシグナル : バックグラウンド比率の棒グラフである。

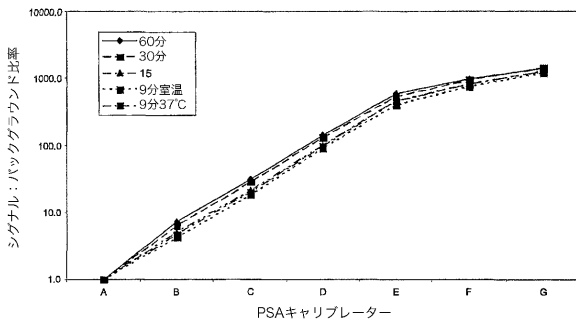
【 図 4 】 湿式試薬及び乾燥試薬によるアッセイを比較した、キャリブレーターの用量 - 応答曲線である。

【 図 5 】 湿式と乾燥の P S A キャリブレーター A ~ G に関する用量 - 応答曲線を対比した棒グラフである。

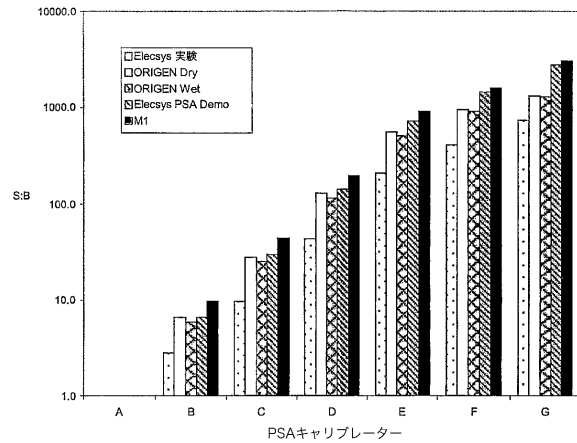
10

20

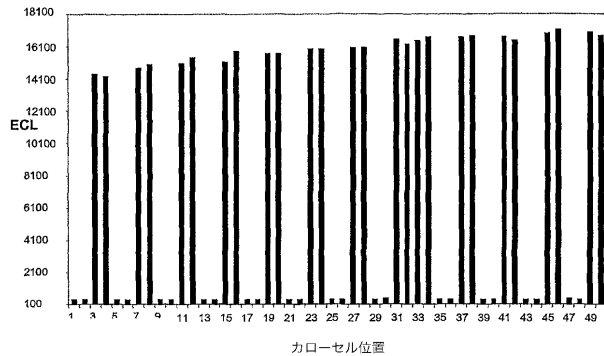
【 図 1 】



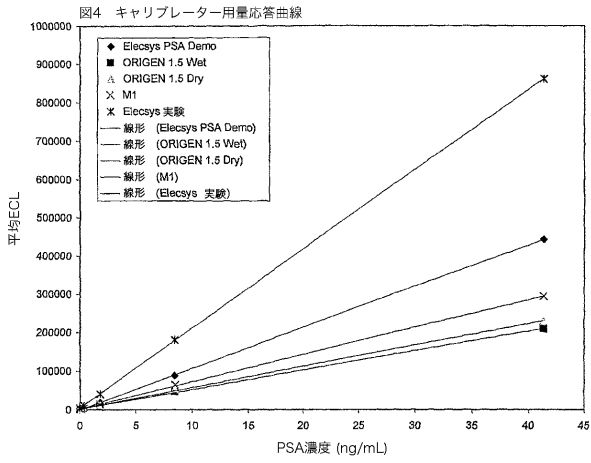
【 図 3 】



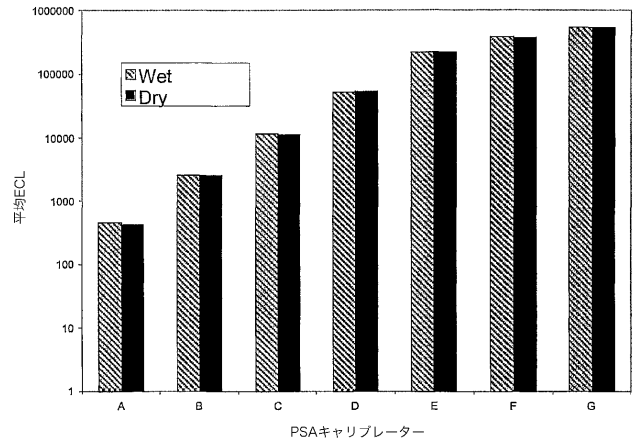
【 図 2 】



【 図 4 】



【 図 5 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/04156B

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/532 G01N33/58		
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) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, FSTA, COMPENDEX		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97/39132 A (UNIV MIAMI [US]) 23 October 1997 (1997-10-23) abstract page 14, line 26 - page 16, line 7	1-123
A	US 2003/108973 A1 (GATTO-MENKING DEBORAH L [US] ET AL) 12 June 2003 (2003-06-12) cited in the application the whole document	1-123
A	EP 0 047 455 A2 (SYVA CO [US]) 17 March 1982 (1982-03-17) the whole document	1-123
A	US 4 447 527 A (MONTE ALEX A [US] ET AL) 8 May 1984 (1984-05-08) the whole document	1-123
	-/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 May 2007		Date of mailing of the international search report 31/05/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Jacques, Patrice

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

60700640024



page 1 of 2

03.10.2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/041568

C(Continuation), DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93/07461 A (ABBOTT LAB [US]) 15 April 1993 (1993-04-15) the whole document	1-123
A	WO 02/16506 A (SENDX MEDICAL INC [US]; MANNEH VICTOR A [US]) 28 February 2002 (2002-02-28) the whole document	1-123

31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2005/041568

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9739132	A	23-10-1997 AU 2667197 A	07-11-1997
US 2003108973	A1	12-06-2003 NONE	
EP 0047455	A2	17-03-1982 AR 230522 A1 30-04-1984 AU 552122 B2 22-05-1986 AU 7480481 A 11-03-1982 BR 8105626 A 18-05-1982 CA 1164340 A1 27-03-1984 DE 3171026 D1 25-07-1985 ES 8206854 A1 16-11-1982 JP 1057742 B 07-12-1989 JP 1569832 C 10-07-1990 JP 57118160 A 22-07-1982	
US 4447527	A	08-05-1984 NONE	
WO 9307461	A	15-04-1993 CA 2120701 A1 15-04-1993 DE 69220080 D1 03-07-1997 DE 69220080 T2 11-12-1997 EP 0609265 A1 10-08-1994 ES 2103969 T3 01-10-1997 JP 3290660 B2 10-06-2002 JP 2002504985 T 12-02-2002 US 6267969 B1 31-07-2001	
WO 0216506	A	28-02-2002 AU 8677101 A 04-03-2002 CA 2423112 A1 28-02-2002 EP 1313810 A2 28-05-2003	

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
 G 0 1 N 33/543 5 1 1 A
 G 0 1 N 21/78 C

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, 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, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ガメス、フランク
 アメリカ合衆国、メリーランド、シルバースプリング、オリバー ブランチ ドライブ 3 4 0
 9

Fターム(参考) 2G054 AA06 CA23 CE02 EA01 GA04

专利名称(译)	电化学发光测量方法		
公开(公告)号	JP2008521007A	公开(公告)日	2008-06-19
申请号	JP2007543203	申请日	2005-11-16
[标]申请(专利权)人(译)	生物帆扫描公司		
申请(专利权)人(译)	Baioverisu公司		
[标]发明人	ガメスフランク		
发明人	ガメス、フランク		
IPC分类号	G01N33/532 G01N33/543 G01N33/53 G01N21/78		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/58		
FI分类号	G01N33/532.A G01N33/543.541.A G01N33/53.U G01N33/543.541.B G01N33/543.575 G01N33/543.511.A G01N21/78.C		
F-TERM分类号	2G054/AA06 2G054/CA23 2G054/CE02 2G054/EA01 2G054/GA04		
代理人(译)	池田幸		
优先权	60/628122 2004-11-17 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本文公开了可用于诸如免疫测定的测定中以检测和/或定量至少一种目标分析物(例如抗体)的组合物。控制/校准组合物可以在测定法,如免疫测定法中使用,并且准备控制/校准组合物,检测和/或使用该组合物的分析物的定量方法的方法,帕以及包含该组合物的试剂盒。

乾燥段階パラメータ

段階	温度 (C)	時間(分)	圧力(mT)	ランプ/ホールド
1	-18	30	10	ホールド
2	-8	180	10	ランプ
3	-8	240	10	ホールド
4	0	180	10	ランプ
5	0	180	10	ホールド
6	+20	180	10	ランプ