

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-204400

(P2009-204400A)

(43) 公開日 平成21年9月10日(2009.9.10)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 5 D	2 G 0 5 4
GO 1 N 21/76 (2006.01)	GO 1 N 21/76	
GO 1 N 33/535 (2006.01)	GO 1 N 33/535	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 24 頁)

(21) 出願番号	特願2008-45974 (P2008-45974)	(71) 出願人	000002288
(22) 出願日	平成20年2月27日 (2008.2.27)		三洋化成工業株式会社
			京都府京都市東山区一橋野本町 1 1 番地の 1
		(72) 発明者	宮森 将光
			京都市東山区一橋野本町 1 1 番地の 1 三洋化成工業株式会社内
		F ターム (参考)	2G054 AA07 AB02 AB03 AB04 CA23 CA28 CE01 CE03 CE08 EA01

(54) 【発明の名称】 固相酵素免疫測定法用化学発光試薬及び化学発光試薬キット

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 酵素結合リガンド量が多い場合であっても、基質が供給不足にならず、化学発光量が低下することがないため、広範囲の酵素結合リガンドの量を測定することができる化学発光試薬を提供する。

【解決手段】 免疫複合体解離剤 (a) 及び酸化剤 (b) を含んでなる固相酵素免疫測定法用化学発光試薬であり、免疫複合体解離剤 (a) が、固相上に形成された免疫複合体から免疫複合体中に含まれる酵素結合リガンドを、酵素活性の比として 5 ~ 90 % を解離させ、1, 8 - ジアザピシクロ [5 . 4 . 0] ウンデセン - 7 (D B U) の有機酸塩 (a 1) 及び / 又は 1, 5 - ジアザピシクロ [4 . 3 . 0] ノネン - 5 (D B N) の有機酸塩 (a 2) からなることを特徴とする。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

免疫複合体解離剤 (a) 及び酸化剤 (b) を含んでなることを特徴とする固相酵素免疫測定法用化学発光試薬。

【請求項 2】

免疫複合体解離剤 (a) が、固相上に形成された免疫複合体から免疫複合体中に含まれる酵素結合リガンドを、酵素活性の比として 5 ~ 90 % を解離させるものである請求項 1 に記載の化学発光試薬。

【請求項 3】

免疫複合体解離剤 (a) が、1, 8 - ジアザビシクロ [5.4.0] ウンデセン - 7 (DBU) の有機酸塩 (a1) 及び / 又は 1, 5 - ジアザビシクロ [4.3.0] ノネン - 5 (DBN) の有機酸塩 (a2) である請求項 1 又は 2 に記載の化学発光試薬。

10

【請求項 4】

免疫複合体解離剤 (a) の含有量 (mM; 25) が 0.02 ~ 3,000、及び酸化剤 (b) の含有量 (mM; 25) が 0.5 ~ 250 である請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の化学発光試薬。

【請求項 5】

化学発光物質 (c) 及び化学発光増強剤 (d) を含んでなる溶液と、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の化学発光試薬とを含んでなることを特徴とする固相酵素免疫測定法用化学発光試薬キット。

20

【請求項 6】

化学発光物質 (c) 及び化学発光増強剤 (d) を含んでなる溶液と、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の化学発光試薬との合計量を基準として、免疫複合体解離剤 (a) の含有量 (mM; 25) が 0.01 ~ 1,500 である請求項 5 に記載の固相酵素免疫測定法用化学発光試薬キット。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の化学発光試薬を使用することを特徴とする固相酵素免疫測定法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】**

30

【0001】

本発明は、固相酵素免疫測定法用化学発光試薬に関する。

【背景技術】**【0002】**

従来、酵素結合リガンド含有検体中に、化学発光物質、化学発光増強剤及び酸化剤からなる試薬成分を配合して、化学発光の強さにより検体中の酵素結合リガンドを測定するための固相酵素免疫測定法用化学発光試薬が知られている (非特許文献 1)。

【非特許文献 1】METHODS IN ENZYMOLOGY, VOL.133[Academic Press, Inc., 1986], p331 ~ 353

【発明の開示】

40

【発明が解決しようとする課題】**【0003】**

しかし、従来の化学発光試薬では、固相上に形成される免疫複合体中の酵素結合リガンドが多い場合、固相に接している化学発光物質が急激に酵素反応により消費され、反応により生じる化学発光量は短時間に増加する反面、急激に低下する (基質となる新たな化学発光物質が酵素反応の場に供給されない) ため、広範囲の酵素結合リガンド量を測定する必要のある臨床検査薬への適用が困難であるという問題がある。また、この問題を低減する方策として、反応及び化学発光量の計測を攪拌しながら行うことも挙げられるが、測定装置が複雑になる等、装置上の制約などの問題がある。

【課題を解決するための手段】

50

【 0 0 0 4 】

本発明の固相酵素免疫測定法用化学発光試薬は、免疫複合体解離剤（a）及び酸化剤（b）を含んでなることを特徴とする固相酵素免疫測定法用化学発光試薬；この化学発光試薬と、化学発光物質（c）及び化学発光増強剤（d）を含んでなる溶液とを含んでなることを特徴とする固相酵素免疫測定法用化学発光試薬キット；並びに、この化学発光試薬を使用することを特徴とする固相酵素免疫測定法である。

【発明の効果】

【 0 0 0 5 】

本発明の化学発光試薬は、酵素結合リガンド量が多い場合であっても、基質が供給不足にならず、化学発光量が低下することがないため、広範囲の酵素結合リガンドの量を測定することができる。従って、本発明の化学発光試薬を適用することにより、酵素結合リガンドを用いた固相酵素免疫測定を臨床検査薬へ適用できるようになる。

10

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 0 6 】

免疫複合体解離剤（a）は、固相酵素免疫測定法により固相表面上に形成される免疫複合体から酵素結合リガンドを解離する作用を有し、化学発光反応を阻害しないものであれば制限がない。

なお、固相酵素免疫測定法により固相表面上に形成される免疫複合体とは、少なくとも1種類の酵素結合リガンド（例えば酵素結合抗体）と、リガンドが認識する物質（例えば抗原）とが、結合して形成される複合体を意味する。

20

【 0 0 0 7 】

免疫複合体解離剤（a）のうち、測定レンジ拡大の観点から、固相上に形成された免疫複合体から、免疫複合体中に含まれる酵素結合リガンドを、酵素活性の比として5～90%を解離させるものが好ましく、さらに好ましくは7～85%、特に好ましくは10～80%である。酵素活性の比は、解離前の固相上の免疫複合体中に含まれる酵素結合リガンドの酵素活性と解離した酵素結合リガンドの酵素活性との比である。

酵素活性の比は、例えば次の方法で測定される。免疫複合体が形成された固相を免疫複合体解離剤（a）を含む化学発光試薬に浸漬した後、化学発光試薬と固相を分離し、それぞれについて酵素活性を測定する。化学発光試薬中の酵素活性をX、固相中の酵素活性をYとすると、解離した酵素結合リガンドの酵素活性の比（%）は、 $X / (X + Y) \times 100$ で求められる。なお、この場合の浸漬条件（浸漬時間、温度等）は、本発明による化学発光試薬を固相酵素免疫測定法に適用する条件に合わせて設定する。酵素活性の測定法は、用いる酵素により適宜設定することができるが、酵素結合リガンドの存在様式（遊離状態と固相に結合した状態等）により活性に差がない測定法であることが必要である。

30

【 0 0 0 8 】

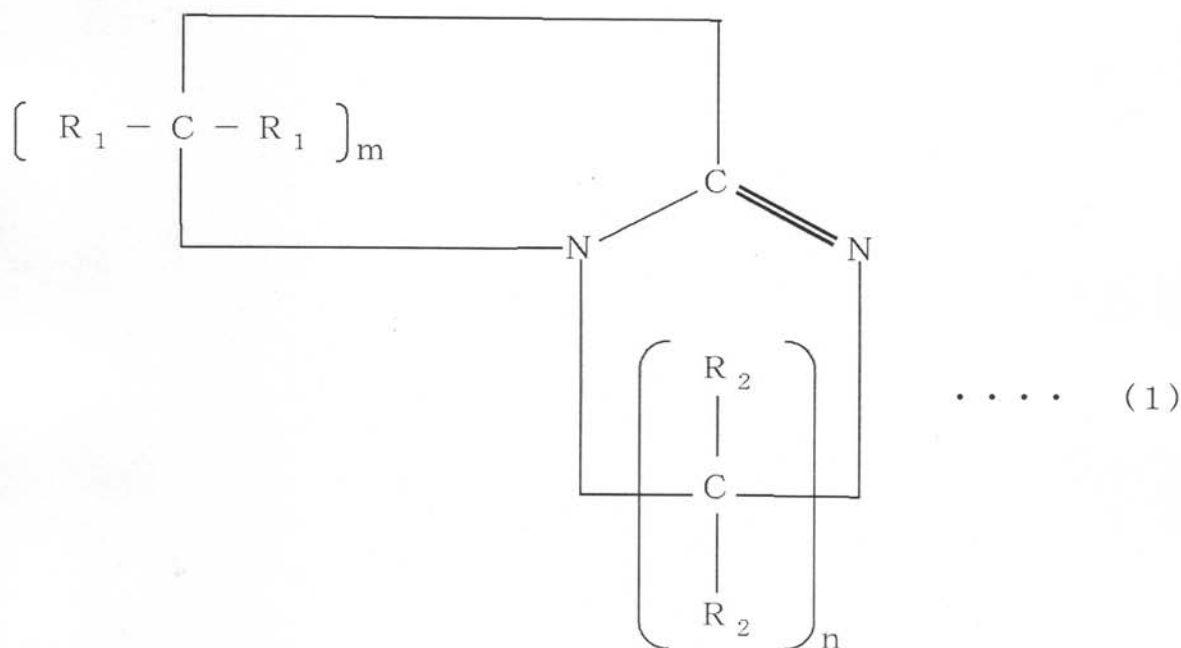
免疫複合体解離剤（a）としては、タンパク質変性剤、界面活性剤及び下記一般式（1）で表される2環式ジアミン（有機酸塩）からなる群より選ばれる少なくとも1種が含まれる。これらは2種以上を併用してもよい。

一般式（1）で表される2環式ジアミン（有機酸塩）とは、一般式（1）で表される2環式ジアミン及び／又は該ジアミンの有機酸塩を意味する。

40

【 0 0 0 9 】

【化 1】



10

20

【0010】

タンパク質変性剤としては、グアニジル基を有する物質であるアルギニン、プロタミン、グアニジン塩（グアニジン塩酸塩、グアニジンチオシアン酸塩、グアニジン硫酸塩及びグアニジン炭酸塩等）から選ばれる１種以上の物質及び水溶性アミド〔尿素及びアセトアミド等〕が使用できる。これらは２種以上を併用してもよい。これらのうち、測定レンジ拡大の観点から、グアニジン塩が好ましく、さらに好ましいのは、グアニジン塩酸塩、グアニジンチオシアン酸塩、特に好ましいのはグアニジン塩酸塩である。

【0011】

界面活性剤としては、カチオン界面活性剤（臭化トリ・*n*・ブチルヘキサデシルホスホニウム、ベンジルトリブチルアンモニウム塩、ベンズアルコニウムクロリド、セチルピリジニウムクロリド及びセチルトリメチルアンモニウムクロリド等）、アニオン界面活性剤（ドデシル硫酸ナトリウム、トリエタノールアミンラウリル硫酸、ジエタノールアミンラウリル硫酸、セチル硫酸ナトリウム、スルホニル琥珀酸ジオクチルナトリウム、スルホニル琥珀酸ジスコリウムモノココアミド、イソステアリル・２・ラク Toil 酸ナトリウム、セテアリル硫酸ナトリウム及びココイルイセチオン酸ナトリウム等）、両性界面活性剤〔CHAPS（３・〔（３・コラミドプロピル）・ジメチルアンモニオ〕・１・プロパンスルホナート）、ポリエチレングリコールモノオクチルフェニルエーテル、*n*・オクチル・β・*D*・グルコシド、*n*・ヘプチル・β・*D*・チオグルコシド、ラウリン酸アミドプロピルベタイン及び３・〔（３・コラミドプロピル）・ジメチルアンモニオ〕・１・プロパンスルホナート等〕、及び非イオン界面活性剤〔高級アルコールエチレンオキシド（エチレンオキシドは以下EOと略記）付加物、脂肪酸EO付加物、脂肪酸アミドEO付加物、ソルビタン脂肪酸エステルEO付加物、ポリプロピレングリコールEO付加物等〕が含まれ、公知（特開平８・２６１９４３号公報等に記載）の界面活性剤が使用できる。これらは２種以上を併用してもよい。

30

40

これらのうち、測定レンジ拡大の観点から、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤及び非イオン界面活性剤が好ましく、さらに好ましいのは非イオン界面活性剤、よりさらに好ましいのは、高級アルコールEO付加物、脂肪酸EO付加物、脂肪酸アミドEO付加物、ソルビタン脂肪酸エステルEO付加物及びポリプロピレングリコールEO付加物、とくに好ましいのはソルビタン脂肪酸エステルエチレンオキシド付加物、最も好ましいのはソルビタンオレイン酸モノエステルEO付加物である。

50

【 0 0 1 2 】

一般式 (1) において、 R_1 及び R_2 は、互いに独立して水素原子、炭素数 (以下 C と略記) 1 ~ 2 0 のアルキル、C 2 ~ 2 0 のアルケニル、C 2 ~ 2 0 のアルキニル、C 6 ~ 2 0 の (アルキル) アリール、C 7 ~ 2 0 のアリールアルキル基を表し、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール及びアリールアルキル基中の水素原子の一部又は全部が水酸基、アミノ基、(ジ) アルキル (C 1 ~ 1 6) アミノ基、(ジ) ヒドロキシアルキル (C 2 ~ 4) アミノ基、メルカプト基又はハロゲン原子 (フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子) によってさらに置換されていてもよい。また 2 つの R_1 及び 2 つの R_2 は、同一であってもよいし異なってもよく、互いに結合 (炭素 - 炭素結合、エーテル結合等) して C 4 ~ 1 6 の環を形成してもよい。m 及び n は互いに独立して 1 ~ 1 2 の整数を表す。

10

【 0 0 1 3 】

C 1 ~ 2 0 のアルキル基としては、メチル、エチル、n - プロピル、i - プロピル、n - ブチル、i - ブチル、n - ヘキシル、2 - エチルヘキシル、n - デシル、n - ドデシル、sec - トリデシル、オクタデシル、イソオクタデシル及びエイコシル基等が挙げられる。

【 0 0 1 4 】

C 2 ~ 2 0 のアルケニル基としては、エチニル、1 - プロピニル、2 - プロピニル、1 - 又は 2 - ドデシニル、1 - 又は 2 - トリデシニル、1 - 又は 2 - テトラデシニル、1 - 又は 2 - ヘキサデシニル、1 - 又は 2 - ステアリニル及び 1 - 又は 2 - ノナデシニル、1 - 又は 2 - エイコシニル基等が挙げられる。

20

【 0 0 1 5 】

C 6 ~ 2 0 の (アルキル) アリール基としては、フェニル、ノニルフェニル、3 , 5 - ジノニルフェニル、オクチルフェニル、ナフチル及び 6 - ブチルナフチル基等が挙げられる。

【 0 0 1 6 】

C 7 ~ 2 0 のアリールアルキル基としては、ベンジル、2 - フェニルエチル、3 - フェニルプロピル、4 - フェニルブチル、5 - フェニルペンチル、6 - フェニルヘキシル、7 - フェニルヘプチル、8 - フェニルオクチル、1 0 - フェニルデシル、1 2 - フェニルドデシル、ナフチルメチル及びナフチルエチル基等が挙げられる。

30

【 0 0 1 7 】

2 つの R_1 又は 2 つの R_2 が互いに結合して C 4 ~ 1 6 の環を形成する場合、2 つの R_1 又は 2 つの R_2 は、2 価の有機基を形成する。

2 価の有機基としては、C 4 ~ 1 6 のアルキレン、C 4 ~ 1 6 のアルケニレン、C 4 ~ 1 6 のアリーレン基等が挙げられる。

【 0 0 1 8 】

一般式 (1) で表されるアミンの具体例としては、1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] ウンデセン - 7 (以下、DBU と略記する。 : DBU はサンアプロ (株) の登録商標である。) 、1 , 5 - ジアザビシクロ [4 . 3 . 0] ノネン - 5 (以下、DBN と略記する : DBN はサンアプロ (株) の登録商標である。) 、1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 3 . 0] デセン - 7 、1 , 4 - ジアザビシクロ [3 . 3 . 0] オクテン - 4 、1 , 5 - ジアザビシクロ [4 . 4 . 0] デセン - 5 、6 - ジメチルアミノ - 1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] ウンデセン - 7 、6 - ジブチルアミノ - 1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] ウンデセン - 7 、6 - (2 - ヒドロキシエチル) - 1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] - 7 - ウンデセン、6 - (2 - ヒドロキシプロピル) - 1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] - 7 - ウンデセン、7 - (2 - ヒドロキシエチル) - 1 , 5 - ジアザビシクロ [4 . 3 . 0] - 5 - ノネン、7 - (2 - ヒドロキシプロピル) - 1 , 5 - ジアザビシクロ [4 . 3 . 0] - 5 - ノネン、6 - ジ (2 - ヒドロキシエチル) アミノ - 1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] - 7 - ウンデセン等が挙げられる。

40

【 0 0 1 9 】

50

上記アミンの有機酸塩としては、フェノール塩、C 4 ~ 18 のアルキル酸塩（オクチル酸塩、オレイン酸塩等）、芳香族スルホン酸塩（ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩等）、ギ酸塩及び芳香族カルボン酸塩（フタル酸塩等）等が挙げられる。

【0020】

これらは2種以上を併用してもよい。

【0021】

一般式(1)で表される2環式ジアミン(有機酸塩)のうち、測定レンジ拡大の観点から、DBU、DBUの有機酸塩(a1)、DBN、及びDBNの有機酸塩(a2)が好ましく、さらに好ましいのはDBU - フェノール塩(a11)、DBU - オクチル酸塩(a12)、DBU - オレイン酸塩(a13)、DBU - p - トルエンスルホン酸塩(a14)、DBU - ギ酸塩(a15)、DBU - フタル酸塩(a16)、DBN - フェノール塩(a21)、DBN - オクチル酸塩(a22)、DBN - オレイン酸塩(a23)、DBN - p - トルエンスルホン酸塩(a24)、DBN - ギ酸塩(a25)及びDBN - フタル酸塩(a26)、とくに好ましいのは(a11)、(a12)、(a13)、(a14)及び(a15)、最も好ましいのは(a14)及び(a15)である。

10

【0022】

酸化剤(b)としては、例えば、特開平8 - 261943号公報及び特開2000 - 279196号公報に記載の酸化剤の水溶液{無機の過酸化物(過酸化水素、過ホウ酸ナトリウム、過ホウ酸カリウム等)、有機過酸化物(過酸化ジアルキル、過酸化アシル等)、ペルオクソ酸化合物(ペルオクソ硫酸、ペルオクソリン酸等)等の水溶液等}が挙げられる。これらのうち、保存安定性等の観点から、過酸化水素水溶液、過ホウ酸ナトリウム水溶液及び過ホウ酸カリウム水溶液が好ましく、さらに好ましくは過酸化水素水溶液である。

20

【0023】

免疫複合体解離剤(a)の含有量(mM。化学発光試薬を基準とする。25)は、化学発光増強効果及び保存安定性等の観点から、0.02 ~ 3, 000が好ましく、さらに好ましくは0.1 ~ 2, 500、特に好ましくは1 ~ 2, 000である。

免疫複合体解離剤(a)がタンパク変性剤であるときの含有量(mM。化学発光試薬を基準とする。25)は、200 ~ 3, 000が好ましく、さらに好ましくは400 ~ 2, 500、特に好ましくは500 ~ 2, 000である。また、(a)が界面活性剤であるときの含有量(mM。化学発光試薬を基準とする。25)は、0.02 ~ 40が好ましく、さらに好ましくは0.1 ~ 20、特に好ましくは1 ~ 10である。さらに、(a)が有機酸塩であるときの含有量(mM。化学発光試薬を基準とする。25)は、10 ~ 2, 000が好ましく、さらに好ましくは25 ~ 1, 000、特に好ましくは50 ~ 500である。

30

【0024】

本発明の免疫複合体解離剤(a)及び酸化剤(b)を含んでなる固相酵素免疫測定法用化学発光試薬中の酸化剤(b)の濃度(mM)は、その種類及び適用する測定方法や測定条件等によって適宜設定されるが、化学発光増強効果等の観点から、0.5 ~ 250が好ましく、さらに好ましくは1 ~ 100、特に好ましくは2.5 ~ 40である。

40

これらの範囲であると、さらに広範囲の酵素結合リガンドの濃度を測定できる。

【0025】

本発明の免疫複合体解離剤(a)及び酸化剤(b)を含んでなる化学発光試薬には、免疫複合体解離剤(a)及び酸化剤(b)以外に、緩衝液等を含ませることができる。

【0026】

緩衝液としては、公知[たとえば、「緩衝液の選択と応用 - 水素イオン・金属イオン」(講談社, 1981年発行)に記載]の緩衝液等が使用できる。これらのうち、保存安定性の観点から、グリシン/塩酸緩衝液、クエン酸/クエン酸ナトリウム緩衝液、クエン酸/リン酸緩衝液及びクエン酸/水酸化ナトリウム緩衝液が好ましく、さらに好ましいのはクエン酸/リン酸緩衝液及びクエン酸/水酸化ナトリウム緩衝液、特に好ましいのはクエ

50

ン酸 / 水酸化ナトリウム緩衝液である。

緩衝液中の緩衝剤の含有量 (mM. 25) は、保存安定性等の観点から、1 ~ 500 が好ましく、さらに好ましくは 5 ~ 100、特に好ましくは 10 ~ 50 である。

【0027】

本発明の化学発光試薬の形態としては、液体であることが好ましい。

本発明の化学発光試薬は、安定性の観点から、酸性であることが好ましく、さらに好ましくは pH が 2.5 ~ 4.5 であること、特に好ましくは pH が 3.0 ~ 4.0 であることである。

なお、pH は、JIS K 0400 - 12 - 10 : 2000 に準拠して測定される (測定温度 25)。

【0028】

本発明の化学発光試薬は、免疫複合体解離剤 (a) 及び酸化剤 (b) を均一混合することにより容易に得られる

【0029】

本発明の化学発光試薬は、化学発光物質 (c) 及び化学発光増強剤 (d) を含んでなる溶液と組み合わせて、試薬キットとすることが好適である。

【0030】

化学発光物質 (c) 及び化学発光増強剤 (d) としては、固相酵素免疫測定法に使用される酵素に対応して公知の物質を組み合わせて選択できる。

化学発光物質 (c) としては、例えば「生物発光と化学発光 - 基礎と実験 -」(廣川書店, 昭和 64 年発行) に記載の 2, 3 - ジヒドロ - 1, 4 - フタラジンジオン化合物、1, 2 - ジオキセタン化合物、アクリジン化合物、インドール化合物等が含まれる。化学発光物質 (c) のうち、測定感度及び溶液状態での保存安定性の観点から、好ましいのは 2, 3 - ジヒドロ - 1, 4 - フタラジンジオン化合物 (酵素がペルオキシダーゼの場合) {ルミノール、イソルミノール、N - アミノヘキシル - N - エチルイソルミノール (AHEI) 及びこれらの金属 (アルカリ金属等) 塩等} 及び 1, 2 - ジオキセタン化合物 (酵素がアルカリフォスファターゼの場合) {3 - ガラクトシドキシフェニルジオキセタン、4 - メトキシ - 4 - (3 - フォスフェートフェニル) スピロ [1, 2 - ジオキセタン - 3, 2' - アダマンタン] 等}、さらに好ましくは 2, 3 - ジヒドロ - 1, 4 - フタラジンジオン化合物、特に好ましいのはルミノール及びルミノールの金属塩、最も好ましいのはルミノールのナトリウム塩である。

【0031】

化学発光増強剤 (d) としては、化学発光物質 (c) の種類に対応して選択され、例えば、化学発光物質 (c) がルミノール又はルミノールの金属塩の場合、特開昭 59 - 500252 号、特開昭 59 - 171839 号、特開平 7 - 143899 号又は特開平 4 - 293498 号の各公報に記載された化合物 [チアゾール化合物 {6 - ヒドロキシベンゾチアゾール、4 - [2' - (4' - メチル) チアゾリル] フェノール、4 - [4' - (2' - メチル) チアゾリル] フェノール等}、ナフトール化合物、フェノール化合物 {4 - シアノメチルチオ - 2 - クロロフェノール、4 - (シアノメチルチオ) フェノール、4 - (2' - チエニル) フェノール、p - ヨードフェノール等}] が挙げられ、また、(c) が 1, 2 - ジオキセタン化合物の場合、特開平 3 - 53897 号又は特開平 4 - 124185 号の各公報記載の化合物 [重合性 4 級アンモニウム塩 {ポリ (ビニルベンジルトリメチルアンモニウムクロライド)、ポリ {ビニルベンジル (ベンジルジメチルアンモニウムクロライド)} 等} が挙げられる。特に (c) が 4 - メトキシ - 4 - (3 - フォスフェートフェニル) スピロ [1, 2 - ジオキセタン - 3, 2' - アダマンタン] の場合、蛍光ミセル (例えば、セチルトリメチルアンモニウムブロミドと 5 - N - テトラデカノイル - アミノフルオレセインで形成したミセル) 等が挙げられる。

これらのうち、化学発光増強効果の観点から、チアゾール化合物、フェノール化合物が好ましく、さらに好ましいのはフェノール化合物、次にさらに好ましいのは p - ヨードフェノール、4 - (シアノメチルチオ) フェノール及び 4 - シアノメチルチオ - 2 - クロロ

10

20

30

40

50

フェノールである。

【0032】

化学発光物質(c)の含有量(mM:ミリモル/リットル。化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液を基準とする。25)は、化学発光増強効果及び保存安定性等の観点から、0.5~80が好ましく、さらに好ましくは1.8~40、特に好ましくは3.5~21である。

化学発光増強剤(d)の含有量(mM。化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液を基準とする。25)は、化学発光増強効果及び保存安定性等の観点から、0.1~15が好ましく、さらに好ましくは0.3~7.0、特に好ましくは0.6~3.4である。

10

【0033】

化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液には、化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)以外に、緩衝液、キレート剤等を含ませることができる。

【0034】

緩衝液としては、公知(たとえば、特開平10-319015号公報又は特開2003-279489号公報)の緩衝液等が使用できる。これらのうち、化学発光増強効果及び保存安定性の観点から、3-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]プロパンスルホン酸/水酸化ナトリウム緩衝液、2-ヒドロキシ-3-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]プロパンスルホン酸・1水和物/水酸化ナトリウム緩衝液及びピペラジニル-1,4-ビス(2-ヒドロキシ-3-プロパンスルホン酸)・2水和物/水酸化ナトリウム緩衝液が好ましく、さらに好ましいのは3-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]プロパンスルホン酸/水酸化ナトリウム緩衝液及び2-ヒドロキシ-3-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]プロパンスルホン酸・1水和物/水酸化ナトリウム緩衝液、特に好ましいのは3-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]プロパンスルホン酸/水酸化ナトリウム緩衝液である。

20

緩衝液中の緩衝剤の含有量(mM。25)は、化学発光増強効果及び保存安定性等の観点から、1~500が好ましく、さらに好ましくは5~300、特に好ましくは10~200である。

【0035】

30

キレート剤としては、公知(たとえば、特開平9-75099号公報又は特開2003-279489号公報)のキレート剤が使用できる。これらのうち、化学発光増強効果及び保存安定性等の観点から、4配位キレート剤が好ましく、さらに好ましいのはエチレンジアミン四酢酸(EDTA)及びこの塩(ナトリウム、カリウム等)、並びにトランス-1,2ジアミノシクロヘキサン-N,N,N',N'-四酢酸(CyDTA)、特に好ましいのはエチレンジアミン四酢酸(EDTA)及びこのナトリウム塩である。

【0036】

キレート剤を含有する場合、化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液中のキレート剤含有量(mM)は、0.2~5.0が好ましく、さらに好ましくは0.4~2.5、特に好ましくは0.7~1.3である。この範囲であると、化学発光増強効果及び保存安定性がさらに良好となる。

40

【0037】

化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液の形態としては、液体であることが好ましい。

化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液は、酵素の蛍光強度の観点から、アルカリ性であることが好ましく、さらに好ましくはpHが7~11であること、特に好ましくはpHが8~10であることである。

なお、pHは、JIS K0400-12-10:2000に準拠して測定される(測定温度25)。

【0038】

50

化学発光物質 (c) 及び化学発光増強剤 (d) を含んでなる溶液は、化学発光物質 (c) 及び化学発光増強剤 (d)、並びに必要なに応じて緩衝液、キレート剤を均一混合することにより容易に得られる。

【0039】

本発明の化学発光試薬及び化学発光試薬キットは、固相酵素免疫測定法に使用されるものである。固相酵素免疫測定法としては、例えば、「生物発光と化学発光 - 基礎と実験 -」(廣川書店, 昭和64年発行)に記載の化学発光酵素免疫測定法等が挙げられる。又、酵素結合リガンドは、酵素とリガンドを結合したもので、従来免疫測定法で使用されるものが使用できる。酵素としては、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、グルコースオキシダーゼ等が挙げられる。これらのうち、取り扱いの容易さ等の観点から、ペル

10

オキシダーゼが好ましい。

リガンドとしては、例えば「免疫化学的同定法(第3版)」(1993, 東京化学同人)に記載の抗原に対する抗体や、MSRS catalog [Manufacturers' Specification & Reference Synopsis catalog Primary Antibodies (ISBN No.0-9643268-3-3, 1995, Aerie Corporation)]に記載の抗体や、特開2001-264332号公報に記載の特異的結合物質等が挙げられる。これらのうち、特異的結合の観点から、抗体が好ましく、さらに好ましいのは癌マーカー(CEA、AFP、PSA、CA19-9及びCA125等)に対する抗体、高分子ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、インシュリン及びプロラクチン等)に対する抗体、血清蛋白(β 2-ミクログロブリン、フェリチン及びCRP等)に対する抗体、及びウイルス及びウイルス関連抗原(HBV、HCV、HIV、HBs抗原及びHBe抗原等)に対する抗体である。なお、これらの抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体又はこれらの混合のいずれであってもよい。モノクローナル抗体の場合、測定対象物に対する認識部位の異なる複数の抗体を組み合わせ使用することが好ましい。さらに、抗体は、抗体の分解物であるF(ab')₂、Fab'、Fab等であってもよい。酵素とリガンドの結合は、従来公知の方法、例えばImmunochemistry 6, 43-52 (1969)、Immunochemistry 6, 53-66 (1969)、Immobilised Affinity Ligand Techniques, Academic Press (1992)、Bioconjugate Techniques, Academic Press (1996)、又はAnal. Lett. 18(B9), 1143-1155 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 5374-5378 (1987)に記載された方法等が適用できる。

20

【0040】

本発明の化学発光試薬キットにおいて、化学発光増強効果及び保存安定性等の観点から、免疫複合体解離剤(a)及び酸化剤(b)を含んでなる溶液と、化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液との合計量を基準として、免疫複合体解離剤(a)の含有量(mM; 25)は、0.01~1,500が好ましく、さらに好ましくは0.05~1,250、次にさらに好ましくは0.5~1,000である。

30

【0041】

本発明の化学発光試薬キットにおいて、免疫複合体解離剤(a)は、免疫複合体解離剤(a)及び酸化剤(b)を含んでなる溶液に含有されることが好ましいが、必要により、一部を化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液に含有させてもよいし、免疫複合体解離剤(a)及び酸化剤(b)を含んでなる溶液と、化学発光物質(c)及び化学発光増強剤(d)を含んでなる溶液以外の、別の試薬として化学発光試薬キットに含ませてもよい。

40

【0042】

以下、実施例により本発明をさらに説明するが本発明はこれらに限定されるものではない。

<実施例1>

1) 第1液の調製

過酸化水素水(30%)(b1){和光純薬工業(株)製}0.56g、DBU-フェノール塩(a11){サンアプロ(株)製、商品名:U-CAT SA 1}0.99gを秤量し1,000mlメスフラスコに仕込み、溶液量を1,000mlとなるように精

50

製水を加え、25で均一混合して第1液を調製した。(調整した第1液の各試薬の濃度は、(a11)10mM、(b1)5mM。)

2) 第2液の調製

P S A測定用臨床検査薬{三洋化成工業(株)製、商品名:スフィアライトP S A}の基質液[ルミノール含有溶液]を第2液としてそのまま使用した。

3) 第3液の調製

P S A測定用臨床検査薬{三洋化成工業(株)製、商品名:スフィアライトP S A}の免疫反応用緩衝液[アジ化ナトリウム0.09%含有リン酸緩衝液]を第3液としてそのまま使用した。

4) 抗P S Aモノクローナル抗体(マウス)結合ビーズの調製

P S A測定用臨床検査薬{三洋化成工業(株)製、商品名:スフィアライトP S A}の抗ヒトP S Aモノクローナル抗体(マウス)結合ビーズ[1/8インチガラスビーズ1個あたりに、抗ヒトP S Aモノクローナル抗体(マウス)を1.0U/個結合させたもの。]をそのまま使用した。

5) 酵素標識抗体液の調製

P S A測定用臨床検査薬{三洋化成工業(株)製、商品名:スフィアライトP S A}のペルオキシダーゼ標識抗P S Aモノクローナル抗体(マウス){標識抗体0.17μg/mL含有リン酸緩衝液}をそのまま使用した。

これら第1液、第2液、第3液、抗P S Aモノクローナル抗体(マウス)結合ビーズ及び酵素標識抗体液を使用してペルオキシダーゼ測定用化学発光試薬キット(1)を得た{第1液、第2液、第3液、抗P S Aモノクローナル抗体(マウス)結合ビーズ及び酵素標識抗体液から構成される}。

【0043】

次いで、ペルオキシダーゼ測定用化学発光試薬キットと全自動酵素免疫測定装置{スフィアライト180(オリンパス(株)製)}を用い、「P S A測定用臨床検査薬{三洋化成工業(株)製、商品名:スフィアライトP S A}添付文書記載の方法」(a.抗体ビーズ1個が入った反応層に検体40μL及び第3液100μLを加え、37、約7分間反応させる(第1反応)。b. B/F分離、洗浄を行なう。c. 酵素標識抗体液140μLを加えて、37、7分間反応させる(第2反応)。d. B/F分離、洗浄を行なう。e. 第1液70μL及び第2液70μLを加える(酵素反応)。f. 発光量を測定する。)に準じて、複数濃度の標準P S A溶液(P S A濃度0、0.05、0.2、10、50、100、200、1000ng/mL)を測定した。得られた化学発光量(C)を、表1に示した。なお、P S A濃度0ng/mLを用いた場合の発光量を、ブランクの発光量(D)とした。また、酵素活性を示す化学発光量(C)を、ブランクの発光量(D)で除した比(C/D)を測定感度とした。結果を表1に示す。

【0044】

6) 解離溶液の調製

D B U - フェノール塩(a11){サンアプロ(株)製、商品名:U - C A T S A 1}0.99gを秤量し1,000mLメスフラスコに仕込み、精製水を仕込んで25で均一混合して溶液量を1,000mLとし、D B U - フェノール塩溶液(X11)を調製した。

7) 免疫複合体ビーズの作成

標準P S A溶液120μL(P S A濃度100ng/mL)と、第3液300μLとを混合し、測定用試料を調製した。この測定用試料420μLと、抗P S Aモノクローナル抗体(マウス)結合ビーズ1個とを、試験管(12×75mm)内で1時間反応(37)させた。

引き続き、試験管内から反応液をアスピレーターで除去した後、生理食塩水3mLを加えてビーズを洗浄し、洗浄液をアスピレーターで除去して、反応ビーズを得た。

次に、酵素標識抗体液420μLを反応ビーズの入った試験管に加え、37、1時間反応させた。反応液をアスピレーターで除去し、生理食塩水3mLを加えてビーズを洗浄し

10

20

30

40

50

、洗浄液をアスピレーターで除去して、免疫複合体ビーズを得た。

【0045】

8) 酵素活性の比の測定

(X11) 200 μL に免疫複合体ビーズ 1 個を加え、37、1 時間反応させた。反応後液 (X11a) 及び反応後ビーズ (Y11b) をそれぞれ回収した。

(X11a) に後述する比較例で作成した第 1 液 140 μL と第 2 液 140 μL を加え、ルミネッセンスリーダー {アロカ (株) 社製: BLR-210} を用いて化学発光反応を開始した。化学発光反応の開始 50 秒後から 2 秒間の発光量 (積算量) を計測し、この積算量を酵素活性を示す発光量とした。同様に (Y11b) を使用して発光量を計測した。以下のようにして酵素活性の比を算出した。結果を表 1 に示す。

酵素活性の比 = (X11a) の発光量 / { (X11a) の発光量 + (Y11b) の発光量 } × 100

【0046】

< 実施例 2 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU-フェノール塩 (a11) {サンアプロ (株) 製、商品名: U-CAT SA 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU-オクチル酸塩 (a12) {サンアプロ (株) 製、商品名: U-CAT SA 102} 6.2 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (2) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a12) 25 mM、(b1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (2) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 1 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU-フェノール塩 (a11) 9.9 g」を、「DBU-オクチル酸塩 (a12) 6.2 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 1 に示す。

【0047】

< 実施例 3 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU-フェノール塩 (a11) {サンアプロ (株) 製、商品名: U-CAT SA 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU-オレイン酸塩 (a13) {サンアプロ (株) 製、商品名: U-CAT SA 106} 13 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (3) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a13) 50 mM、(b1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (3) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 1 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU-フェノール塩 (a11) 9.9 g」を、「DBU-オレイン酸塩 (a13) 13 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 1 に示す。

【0048】

< 実施例 4 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU-フェノール塩 (a11) {サンアプロ (株) 製、商品名: U-CAT SA 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU-p-トルエンスルホン酸塩 (a14) {サンアプロ (株) 製、商品名: U-CAT SA 506} 90 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (4) を得た。(調整した第 1 液の各試

10

20

30

40

50

薬の濃度は、(a 1 4) 2 7 5 mM、(b 1) 5 . 0 mM。))

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(4)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表1に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩(a 1 1) 9 . 9 g」を、「DBU - p - トルエンスルホン酸塩(a 1 4) 9 0 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表1に示す。

【0049】

< 実施例5 >

第1液の調製において「過酸化水素水(30%) (b 1) {和光純薬工業(株)製} 0 . 5 6 g、DBU - フェノール塩(a 1 1) {サンアプロ(株)製、商品名: U - C A T S A 1} 0 . 9 9 g」を、「過酸化水素水(30%) (b 1) {和光純薬工業(株)製} 0 . 5 6 g、DBU - ギ酸塩(a 1 5) {サンアプロ(株)製、商品名: U - C A T S A 6 0 3} 9 9 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット(5)を得た。(調整した第1液の各試薬の濃度は、(a 1 5) 5 0 0 mM、(b 1) 5 . 0 mM。))

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(5)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表1に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩(a 1 1) 9 . 9 g」を、「DBU - ギ酸塩(a 1 5) 9 9 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表1に示す。

【0050】

< 実施例6 >

第1液の調製において「過酸化水素水(30%) (b 1) {和光純薬工業(株)製} 0 . 5 6 g、DBU - フェノール塩(a 1 1) {サンアプロ(株)製、商品名: U - C A T S A 1} 0 . 9 9 g」を、「過酸化水素水(30%) (b 1) {和光純薬工業(株)製} 0 . 5 6 g、DBU - フタル酸塩(a 1 6) {サンアプロ(株)製、商品名: U - C A T S A 8 1 0} 4 1 2 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット(6)を得た。(調整した第1液の各試薬の濃度は、(a 1 6) 1 0 0 0 mM、(b 1) 5 . 0 mM。))

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(6)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表1に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩(a 1 1) 9 . 9 g」を、「DBU - フタル酸塩(a 1 6) 4 1 2 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表1に示す。

【0051】

< 実施例7 >

第1液の調製において「過酸化水素水(30%) (b 1) {和光純薬工業(株)製} 0 . 5 6 g、DBU - フェノール塩(a 1 1) {サンアプロ(株)製、商品名: U - C A T S A 1} 0 . 9 9 g」を、「過酸化水素水(30%) (b 1) {和光純薬工業(株)製} 0 . 5 6 g、DBN - オクチル酸塩(a 2 2) {サンアプロ(株)製、商品名: U - C A T 1 1 0 2} 5 3 6 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット(7)を得た。(調整した第1液の各試薬の濃度は、(a 2 2) 2 0 0 0 mM、(b 1) 5 . 0 mM。))

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(7)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表2に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩(a 1 1) 9 . 9 g」を、「D

10

20

30

40

50

B N - オクチル酸塩 (a 2 2) 5 3 6 g 」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 2 に示す。

【 0 0 5 2 】

< 実施例 8 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (3 0 %) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0 . 5 6 g 、 D B U - フェノール塩 (a 1 1) { サンアプロ (株) 製、商品名 : U - C A T S A 1 } 0 . 9 9 g 」を、「過酸化水素水 (3 0 %) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0 . 0 5 6 g 、グアニジン塩酸塩 (a 3) { ナカライテスク (株) 製、生化学研究用特製試薬 } 1 9 g 」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (8) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 3) 2 0 0 m M 、(b 1) 0 . 5 m M 。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (8) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 2 に示す。

また、解離溶液の調製において「D B U - フェノール塩 (a 1 1) 9 . 9 g 」を、「グアニジン塩酸塩 (a 3) 1 9 g 」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 2 に示す。

【 0 0 5 3 】

< 実施例 9 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (3 0 %) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0 . 5 6 g 、 D B U - フェノール塩 (a 1 1) { サンアプロ (株) 製、商品名 : U - C A T S A 1 } 0 . 9 9 g 」を、「過酸化水素水 (3 0 %) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0 . 1 1 g 、グアニジン塩酸塩 (a 3) { ナカライテスク (株) 製、生化学研究用特製試薬 } 3 8 g 」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (9) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 3) 4 0 0 m M 、(b 1) 1 . 0 m M 。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (9) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 2 に示す。

また、解離溶液の調製において「D B U - フェノール塩 (a 1 1) 9 . 9 g 」を、「グアニジン塩酸塩 (a 3) 3 8 g 」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 2 に示す。

【 0 0 5 4 】

< 実施例 1 0 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (3 0 %) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0 . 5 6 g 、 D B U - フェノール塩 (a 1 1) { サンアプロ (株) 製、商品名 : U - C A T S A 1 } 0 . 9 9 g 」を、「過酸化水素水 (3 0 %) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0 . 3 4 g 、グアニジン塩酸塩 (a 3) { ナカライテスク (株) 製、生化学研究用特製試薬 } 4 8 g 」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (1 0) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 3) 5 0 0 m M 、(b 1) 2 . 5 m M 。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (1 0) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 2 に示す。

また、解離溶液の調製において「D B U - フェノール塩 (a 1 1) 9 . 9 g 」を、「グアニジン塩酸塩 (a 3) 4 8 g 」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 2 に示す。

【 0 0 5 5 】

< 実施例 1 1 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (3 0 %) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0

10

20

30

40

50

・ 56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) {サンアプロ (株) 製、商品名: U - C A T S A 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 2.4 g、グアニジン塩酸塩 (a 3) {ナカライテスク (株) 製、生化学研究用特製試薬} 119 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (1 1) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 3) 1250 mM、(b 1) 21 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (1 1) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 2 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「グアニジン塩酸塩 (a 3) 119 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 2 に示す。

【0056】

< 実施例 1 2 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) {サンアプロ (株) 製、商品名: U - C A T S A 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 4.5 g、グアニジン塩酸塩 (a 3) {ナカライテスク (株) 製、生化学研究用特製試薬} 190 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (1 2) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 3) 2000 mM、(b 1) 40 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (1 2) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 2 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「グアニジン塩酸塩 (a 3) 190 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 2 に示す。

【0057】

< 実施例 1 3 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) {サンアプロ (株) 製、商品名: U - C A T S A 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 11 g、グアニジン塩酸塩 (a 3) {ナカライテスク (株) 製、生化学研究用特製試薬} 240 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (1 3) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 3) 2500 mM、(b 1) 100 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (1 3) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 3 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「グアニジン塩酸塩 (a 3) 240 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 3 に示す。

【0058】

< 実施例 1 4 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) {サンアプロ (株) 製、商品名: U - C A T S A 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 28 g、グアニジン塩酸塩 (a 3) {ナカライテスク (株) 製、生化学研究用特製試薬} 290 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (1 4) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 3) 300

10

20

30

40

50

0 mM、(b 1) 250 mM。)

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(14)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表3に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU-フェノール塩(a 1 1) 9.9 g」を、「グアニジン塩酸塩(a 3) 290 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表3に示す。

【0059】

<実施例15>

第1液の調製において「過酸化水素水(30%)(b 1){和光純薬工業(株)製} 0.56 g、DBU-フェノール塩(a 1 1){サンアプロ(株)製、商品名:U-CAT SA 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水(30%)(b 1){和光純薬工業(株)製} 0.56 g、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(a 4){ナカライテスク(株)製、商品名:ツイン80} 0.030 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット(15)を得た。(調整した第1液の各試薬の濃度は、(a 4) 0.02 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(15)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表3に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU-フェノール塩(a 1 1) 9.9 g」を、「ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(a 4) 0.030 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表3に示す。

【0060】

<実施例16>

第1液の調製において「過酸化水素水(30%)(b 1){和光純薬工業(株)製} 0.56 g、DBU-フェノール塩(a 1 1){サンアプロ(株)製、商品名:U-CAT SA 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水(30%)(b 1){和光純薬工業(株)製} 0.56 g、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(a 4){ナカライテスク(株)製、商品名:ツイン80} 0.15 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット(16)を得た。(調整した第1液の各試薬の濃度は、(a 4) 0.1 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(16)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表3に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU-フェノール塩(a 1 1) 9.9 g」を、「ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(a 4) 0.15 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表3に示す。

【0061】

<実施例17>

第1液の調製において「過酸化水素水(30%)(b 1){和光純薬工業(株)製} 0.56 g、DBU-フェノール塩(a 1 1){サンアプロ(株)製、商品名:U-CAT SA 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水(30%)(b 1){和光純薬工業(株)製} 0.56 g、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(a 4){ナカライテスク(株)製、商品名:ツイン80} 1.5 g」に変更したこと以外、実施例1と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット(17)を得た。(調整した第1液の各試薬の濃度は、(a 4) 1.0 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット(1)の代わりに、化学発光試薬キット(17)を使用したこと以外は、実施例1と同様にして化学発光量(C)を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表3に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU-フェノール塩(a 1 1) 9.9 g」を、「ポ

10

20

30

40

50

リオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) 0.15 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様に、酵素活性の比を算出した。結果を表 3 に示す。

【0062】

< 実施例 18 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) { サンアプロ (株) 製、商品名: U - C A T S A 1 } 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0.56 g、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) { ナカライテスク (株) 製、商品名: ツイン 80 } 8.3 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様に、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (18) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 4) 5.5 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (18) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様に、化学発光量 (C) を測定し、同様に測定感度を求めた。結果を表 3 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) 8.3 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様に、酵素活性の比を算出した。結果を表 3 に示す。

【0063】

< 実施例 19 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) { サンアプロ (株) 製、商品名: U - C A T S A 1 } 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0.56 g、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) { ナカライテスク (株) 製、商品名: ツイン 80 } 15 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様に、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (19) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 4) 10 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (19) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様に、化学発光量 (C) を測定し、同様に測定感度を求めた。結果を表 4 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) 15 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様に、酵素活性の比を算出した。結果を表 4 に示す。

【0064】

< 実施例 20 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) { サンアプロ (株) 製、商品名: U - C A T S A 1 } 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0.56 g、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) { ナカライテスク (株) 製、商品名: ツイン 80 } 30 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様に、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (20) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 4) 20 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (20) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様に、化学発光量 (C) を測定し、同様に測定感度を求めた。結果を表 4 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) 30 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様に、酵素活性の比を算出した。結果を表 4 に示す。

【0065】

< 実施例 21 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) { 和光純薬工業 (株) 製 } 0

10

20

30

40

50

・ 56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) {サンアプロ (株) 製、商品名：U - C A T S A 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) {ナカライテスク (株) 製、商品名：ツイン 80} 60 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (2 1) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 4) 40 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (2 1) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 4 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (a 4) 60 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 4 に示す。

【0066】

< 実施例 2 2 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) {サンアプロ (株) 製、商品名：U - C A T S A 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU - ギ酸塩 (a 1 5) {サンアプロ (株) 製、商品名：U - C A T S A 603} 24.8 g、DBN - オクチル酸塩 (a 2 2) {サンアプロ (株) 製、商品名：U - C A T 1102} 33.5 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (2 2) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 1 5) 125 mM、(a 2 2) 125 mM、(b 1) 5.0 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (2 2) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 4 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9.9 g」を、「DBU - ギ酸塩 (a 1 5) 24.8 g、DBN - オクチル酸塩 (a 2 2) 33.5 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 4 に示す。

【0067】

< 実施例 2 3 >

第 1 液の調製において「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU - フェノール塩 (a 1 1) {サンアプロ (株) 製、商品名：U - C A T S A 1} 0.99 g」を、「過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 0.56 g、DBU - ギ酸塩 (a 1 5) {サンアプロ (株) 製、商品名：U - C A T S A 603} 25 g」に変更し、

第 2 液の調製において「P S A 測定用臨床検査薬 {三洋化成工業 (株) 製、商品名：スフィアライト P S A} の基質液 [ルミノール含有溶液] を第 2 液としてそのまま使用」する代わりに「ルミノールのナトリウム塩 (c 1) {シグマ アルドリッチ ジャパン (株) 製} 3.5 g、4 - (シアノメチルチオ) フェノール (d 1) 0.35 g、DBU - ギ酸塩 (a 1 5) {サンアプロ (株) 製、商品名：U - C A T S A 603} 25 g を秤量し 1,000 ml メスフラスコに仕込み、3 - [4 - (2 - ヒドロキシエチル) - 1 - ピペラジニル] プロパンスルホン酸 / 水酸化ナトリウム緩衝液 (10 mM、pH 8.6) を仕込んで 25 で均一混合して溶液量を 1,000 ml とした溶液を第 2 液として用いる」ことに変更した以外、実施例 1 と同様にして、ペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キット (2 3) を得た。(調整した第 1 液の各試薬の濃度は、(a 1 5) 125 mM、(b 1) 5.0 mM。調整した第 2 液の各試薬の濃度は、(a 1 5) 125 mM、(c 1) 17.5 mM、(d 1) 2.1 mM。)

化学発光試薬キット (1) の代わりに、化学発光試薬キット (2 3) を使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 4 に示す。

10

20

30

40

50

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9 . 9 g」を、「DBU - ギ酸塩 (a 1 5) 5 0 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 4 に示す。

【0068】

< 比較例 >

過酸化水素水 (30%) (b 1) {和光純薬工業 (株) 製} 5 . 0 mM、を秤量し 1 , 0 0 0 m l メスフラスコに仕込み、溶液量を 1 , 0 0 0 m l となるように精製水を加え、25 で均一混合して、第 1 液を調製し、測定に用いるまで冷蔵 (2 ~ 10) 保存した。実施例 1 における第 1 液をこの第 1 液に変更した以外、実施例 1 と同様にして、比較用のペルオキシターゼ測定用化学発光試薬キットを得た。

化学発光試薬キット (1) の代わりに、比較用の化学発光試薬キットを使用したこと以外は、実施例 1 と同様にして化学発光量 (C) を測定し、同様にして測定感度を求めた。結果を表 2 に示す。

また、解離溶液の調製において「DBU - フェノール塩 (a 1 1) 9 . 9 g」を、「生理食塩水 9 . 9 g」に変更したこと以外、実施例 1 と同様にして、酵素活性の比を算出した。結果を表 4 に示す。

【0069】

【表 1】

	実施例 1		実施例 2		実施例 3		実施例 4		実施例 5		実施例 6	
	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)
0	3,351		2,394		2,298		1,107		602		910	
0.05	22,884	6.8	18,593	7.8	16,817	7.3	3,070	2.8	1,679	2.8	1,430	1.6
0.2	108,516	32.4	72,344	30.2	70,885	30.8	15,305	13.8	11,911	19.8	10,852	11.9
10	11,337,606	3382.9	7,757,309	3240.5	7,310,727	3181.2	6,038,714	5457.3	4,651,521	7722.9	3,938,326	4329.4
50	47,521,324	14179.3	45,824,134	19142.1	45,523,004	19808.6	44,883,033	40561.9	44,412,023	73736.9	43,157,121	47442.1
100	67,429,786	20119.6	74,493,858	31118.3	74,300,367	32330.7	81,116,820	73307.2	82,132,048	136363.2	86,695,439	95303.2
200	80,189,692	23926.9	109,349,581	45678.5	122,391,341	53256.7	134,448,847	121504.6	156,433,979	259726.0	145,799,441	160275.6
10,000	85,318,772	25457.3	132,312,993	55271.0	168,900,050	73494.3	233,940,993	211418.0	298,788,900	496076.7	221,615,150	243618.8
酵素活性の比	7		25		45		78		80		85	

【表 2】

	実施例 7		実施例 8		実施例 9		実施例 10		実施例 11		実施例 12	
	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)
0	862		1,136		2,294		4,199		10,540		15,131	
0.05	1,058	1.2	6,026	5.3	13,557	5.9	24,547	5.8	38,651	3.7	55,967	3.7
0.2	4,823	5.6	24,770	21.8	56,422	24.6	99,388	23.7	155,494	14.8	241,213	15.9
10	2,983,580	3462.0	2,448,737	2155.4	5,638,230	2458.0	9,935,527	2366.4	15,688,716	1488.5	22,131,721	1462.7
50	36,368,360	42200.4	9,732,525	8566.8	18,969,737	8270.0	38,137,291	9083.3	65,363,884	6201.7	87,455,991	5779.9
100	99,539,207	115501.3	12,907,342	11361.3	25,392,400	11070.0	50,837,049	12108.0	86,394,317	8197.1	117,036,812	7734.9
200	178,604,315	207245.2	14,135,174	12442.0	30,547,440	13317.4	58,528,965	13940.0	106,916,917	10144.2	141,410,734	9345.8
10,000	294,697,120	341954.6	14,417,878	12690.9	31,463,863	13716.9	61,455,413	14637.0	116,539,439	11057.2	155,551,807	10280.4
酵素活性の比	90		5		5		6		9		13	

【表 3】

	実施例13		実施例14		実施例15		実施例16		実施例17		実施例18	
	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)
0	15,998		18,706		4,735		4,422		4,288		3,936	
0.05	59,377	3.7	74,604	4.0	28,562	6.0	28,491	6.4	27,914	6.5	27,416	7.0
0.2	248,976	15.6	297,670	15.9	120,521	25.5	120,212	27.2	118,841	27.7	116,496	29.6
10	24,214,179	1513.6	29,169,691	1559.3	7,458,951	1575.2	7,303,805	1651.5	7,111,376	1658.4	6,522,244	1657.0
50	94,759,043	5923.4	118,132,581	6315.1	44,553,181	9409.1	43,927,645	9932.9	43,642,275	10177.6	43,431,726	11034.3
100	125,734,208	7859.6	169,845,997	9079.6	65,239,281	13777.7	65,695,877	14855.1	66,524,300	15513.7	67,504,592	17150.2
200	160,889,792	10057.2	230,032,152	12297.0	76,469,109	16149.3	80,043,893	18099.5	83,680,860	19514.7	90,025,760	22871.9
10,000	185,023,261	11565.7	276,038,582	14756.4	77,310,270	16327.0	82,044,990	18552.0	86,526,009	20178.2	94,527,048	24015.5
酵素活性の比	25		38		5		5		6		6	

【表 4】

	実施例19		実施例20		実施例21		実施例22		実施例23		比較例	
	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)	化学発光量 (cps)	測定感度 (C/D)
0	3,858		3,821		3,299		1,593		1,430		4,836	
0.05	26,485	6.9	24,585	6.4	22,570	6.8	10,182	6.4	7,334	5.1	28,894	6.0
0.2	113,663	29.5	108,637	28.4	100,197	30.4	42,510	26.7	25,981	18.2	121,792	25.2
10	6,281,034	1627.9	6,002,964	1571.2	5,943,292	1801.7	6,829,031	4287.7	7,457,758	5214.8	12,054,871	2492.7
50	42,080,618	10906.1	41,508,422	10864.2	38,792,918	11759.8	45,353,583	28476.0	45,242,240	31635.4	48,980,957	10128.1
100	69,227,913	17942.0	70,512,290	18455.5	74,236,983	22504.3	78,583,393	49339.9	83,484,496	58376.2	64,867,519	13413.0
200	91,765,439	23783.1	94,696,737	24785.5	98,852,021	29966.2	124,337,198	78067.2	131,107,231	91676.2	73,636,081	15226.2
10,000	98,189,020	25447.9	104,166,410	27264.0	117,633,905	35659.8	222,554,240	139734.4	220,260,148	154016.0	66,292,752	13707.8
酵素活性の比	7		15		25		67		58		0.1	

本発明の化学発光試薬は、比較用の化学発光試薬を用いた場合に比べて、標準 P S A 溶液が高濃度の場合でも、発光量の低下がなく測定範囲が大幅に広がった。特に実施例 4 及び 5 において、極めて広い測定範囲を示した。実施例 4 及び 5 と比較例を比較すると、比較例の場合、100 ng / mL 以上の P S A 濃度では、ほぼ同等の化学発光量であり、検量できない。すなわち比較例では、測定可能範囲は P S A 濃度が 0 ~ 約 100 ng / mL の範囲となる。一方、実施例 4 及び 5 の場合では、100 ~ 10,000 ng / mL の P S A 濃度の値に対しても、それぞれ異なる化学発光量となっている。すなわち実施例 4 及び 5 では、比較例よりも広い測定範囲となる。

【産業上の利用可能性】

【0074】

10

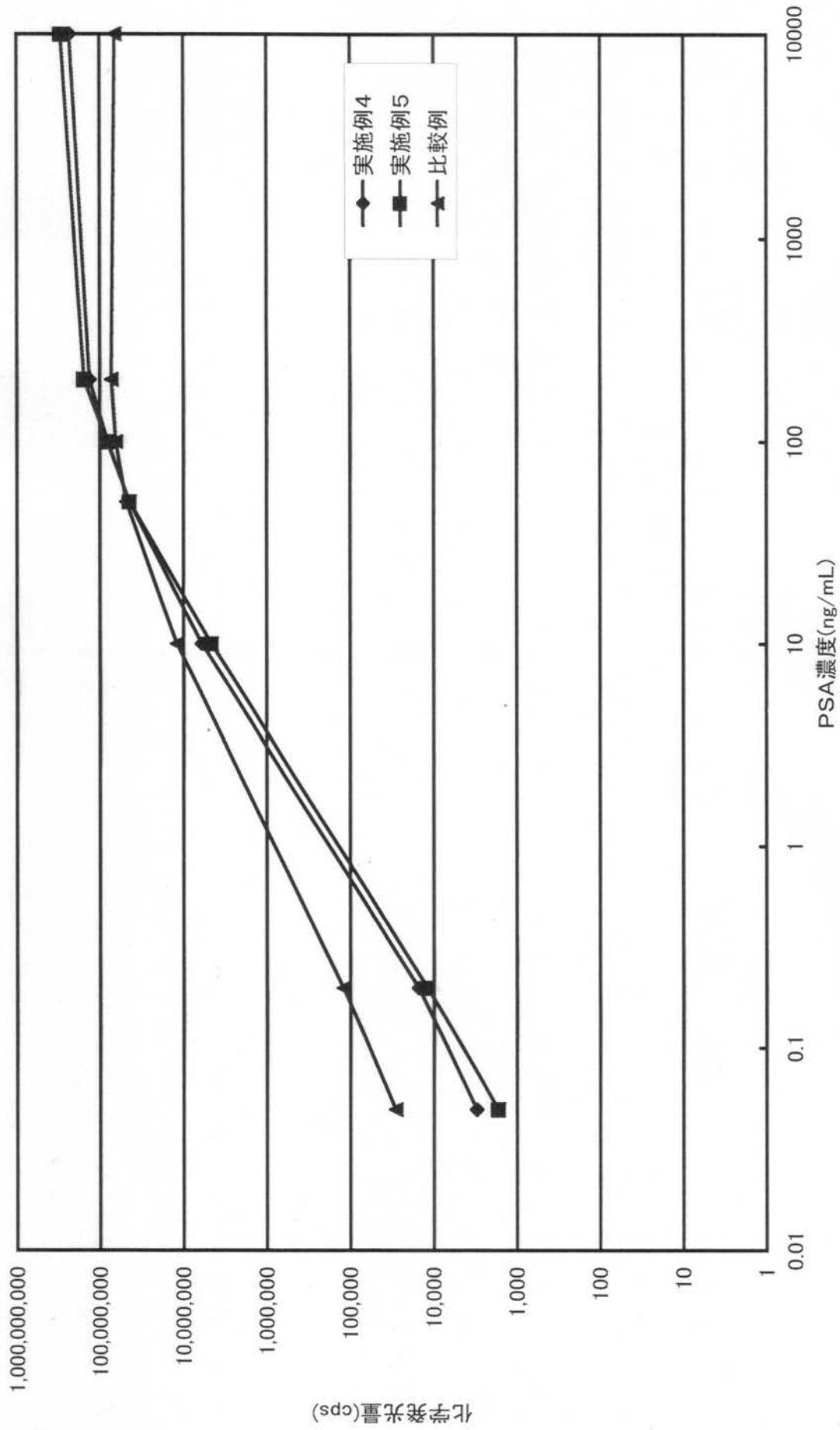
本発明の化学発光試薬は、酵素結合リガンド量が多い場合であっても、基質が供給不足にならず、化学発光量が低下することがないため、広範囲の酵素結合リガンドの量を測定することができる。従って、本発明の化学発光試薬を適用することにより、酵素結合リガンドを用いた固相酵素免疫測定を臨床検査薬へ適用できるようになる。

【図面の簡単な説明】

【0075】

【図 1】実施例 4 及び 5 と比較例の P S A 濃度と化学発光量との関係を示すグラフである。

【 図 1 】



专利名称(译)	用于固相酶免疫测定和化学发光试剂盒的化学发光试剂		
公开(公告)号	JP2009204400A	公开(公告)日	2009-09-10
申请号	JP2008045974	申请日	2008-02-27
[标]申请(专利权)人(译)	三洋化成工业株式会社		
申请(专利权)人(译)	三洋化成工业株式会社		
[标]发明人	宫森将光		
发明人	宫森 将光		
IPC分类号	G01N33/543 G01N21/76 G01N33/535		
FI分类号	G01N33/543.545.D G01N21/76 G01N33/535		
F-TERM分类号	2G054/AA07 2G054/AB02 2G054/AB03 2G054/AB04 2G054/CA23 2G054/CA28 2G054/CE01 2G054/CE03 2G054/CE08 2G054/EA01		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供一种能够在宽范围内测量酶结合的配体的量的化学发光试剂，因为即使底物的供应量很大，底物的供应也不会变得不足并且化学发光的量不会减少。提供。用于固相酶免疫测定的化学发光试剂，其包含免疫复合物解离剂（a）和氧化剂（b），其中所述免疫复合物解离剂（a）形成在固相上。免疫复合物中包含的与酶结合的配体就酶活性而言解离了5-90%，并且将1，8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳烯-7（DBU）添加至有机酸。其特征在于包含1，5-二氮杂双环[4.3.0]壬烯-5（DBN）的盐（a1）和/或有机酸盐（a2）。[选择图]无

