

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4503334号
(P4503334)

(45) 発行日 平成22年7月14日(2010.7.14)

(24) 登録日 平成22年4月30日(2010.4.30)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 33/531 (2006.01) GO 1 N 33/531 B
GO 1 N 33/543 (2006.01) GO 1 N 33/543 5 2 1

請求項の数 13 (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願2004-103962 (P2004-103962)	(73) 特許権者	591125371 デンカ生研株式会社 東京都中央区日本橋茅場町三丁目4番2号
(22) 出願日	平成16年3月31日(2004.3.31)	(74) 代理人	100088546 弁理士 谷川 英次郎
(65) 公開番号	特開2005-291780 (P2005-291780A)	(72) 発明者	瀧澤 和幸 新潟県五泉市南本町一丁目2番2号 デン カ生研株式会社内
(43) 公開日	平成17年10月20日(2005.10.20)	審査官	赤坂 祐樹
審査請求日	平成19年3月1日(2007.3.1)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫測定に供する検体浮遊液調製用媒体組成物及びそれを用いる免疫測定方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

グリシンメチルエステル、グリシンエチルエステル、グリシンプロピルエステル、グリシンブチルエステル又はグリシンアミドであるグリシン誘導体を含む、免疫測定に供する検体浮遊液調製用媒体組成物。

【請求項 2】

非イオン性界面活性剤及び/又はイオン性界面活性剤をさらに含む請求項 1 記載の組成物。

【請求項 3】

前記非イオン性界面活性剤がHLB値 10 以上のポリオキシエチレン系界面活性剤である請求項 2 記載の組成物。 10

【請求項 4】

前記ポリオキシエチレン系界面活性剤のHLB値が 13 以上である請求項 3 記載の組成物。

【請求項 5】

前記イオン性界面活性剤が第四級アンモニウム塩界面活性剤である請求項 2 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 6】

前記イオン性界面活性剤がアルキルベタイン系界面活性剤である請求項 2 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。 20

【請求項 7】

前記イオン性界面活性剤がアルキルアミンオキサイド系界面活性剤である請求項 2 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記グリシン誘導体を組成物全体の重量に対し 0.01 から 10w/v% の範囲で含有する請求項 1 ないし 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 9】

非イオン性界面活性剤を含有し、該非イオン性界面活性剤を組成物全体の重量に対し 0.01w/v% から 10w/v% の範囲で含有する請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項に記載の免疫測定用検体浮遊液組成物。

10

【請求項 10】

イオン性界面活性剤を含有し、該イオン性界面活性剤を組成物全体の重量に対し 0.01w/v% から 10w/v% の範囲で含有する請求項 1 ないし 9 のいずれか 1 項に記載の免疫測定用検体浮遊液組成物。

【請求項 11】

請求項 1 ないし 10 のいずれか 1 項に記載の組成物を使用して行なうことを特徴とする免疫測定方法。

【請求項 12】

イムノクロマトグラフィー法である請求項 11 記載の方法。

【請求項 13】

メンブレンを用いたフロースルーアッセイ法である請求項 11 記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫測定に供する検体浮遊液調製用媒体組成物及びそれを用いる免疫測定方法に関する。

【背景技術】

【0002】

免疫反応の特異性を利用して試料中の分析対象物を免疫学的手法により検出または定量する分析方法として免疫拡散法、酵素免疫測定法、凝集法等種々の方法論が実用化されている。フロースルー式検査法及びイムノクロマトグラフィー式検査法（ラテラルフロー式、タンジェンシャルフロー式）は、メンブレンを使用した検査法であり、操作が簡便で一般的な検査の場に普及している。ラテラルフロー式検査法の原理については非特許文献 1 及び特許文献 1 ないし 9 等に記載されている。フロースルー式検査法の原理については非特許文献 1 及び特許文献 10 ないし 15 に記載されている。

30

【0003】

インフルエンザウイルス抗原の検出を例に、この分析法について簡単に説明する。インフルエンザウイルス抗原を捕捉するための捕捉試薬（例えば、抗インフルエンザウイルス抗体）を固定化したメンブレン上に、患者から採取した検体（咽頭・鼻腔拭い液、鼻腔吸引液等）を検体浮遊液に浮遊させた試料を所定量滴下すると、検体液がメンブレンを通過する際、存在する分析対象物（インフルエンザウイルス抗原）がメンブレンに固定化された捕捉試薬に捕捉される。次いで、例えば酵素、あるいは不溶性着色粒子で標識化した、分析対象物に結合する検出試薬（例えば、標識化抗体）を所定量滴下すると、捕捉試薬 - 分析対象物 - 検出試薬（標識化抗体）の免疫複合体を形成する。その後、前記酵素標識抗体の場合は基質を滴下することにより、不溶性着色粒子を用いた場合はそれ自身が濃縮され、可視化されることにより免疫複合体が形成された領域を発色させて、試料中のインフルエンザウイルス抗原の存在を目視により判定することができる。この分析方法は感度が高い上に、特殊な器具・機材を必要とせず、簡便・迅速に結果が得られることから広く用いられている。

40

【0004】

50

【非特許文献1】Guide to Diagnostic Rapid Test Device Components, 2nd edition, published by Schleicher & Schuell company, January 2000, Edited by Lisa Vickers, p6-8

【特許文献1】特公平03-022589号公報(特許第1774328号)

【特許文献2】特公平06-014044号公報(特許第1889525号)

【特許文献3】特許第2590059号公報

【特許文献4】特公平08-003488号公報(特許第2095891号)

【特許文献5】特公平07-078503号公報(特許第2131938号)

【特許文献6】特許第3304350号公報

【特許文献7】特公平06-095525号公報(特許第1963966号)

【特許文献8】特公平07-013640号公報(特許第2133513号)

【特許文献9】特公平07-060159号公報(特許第2135865号)

【特許文献10】特許第3114531号公報

【特許文献11】特公平05-088785号公報(特許第1879967号)

【特許文献12】特許第2818191号公報

【特許文献13】特公平07-065994号公報(特許第2035586号)

【特許文献14】特公昭57-200862号公報(特願昭56-86655)

【特許文献15】特公昭59-170768号公報(特願昭58-45060)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

しかし、フロースルー式免疫測定法やイムノクロマトグラフィー(ラテラルフロー式免疫測定法)では分析対象物を含む検体がメンブラン上、もしくはメンブラン上の捕捉試薬固定化領域(判定領域)に直接滴下されるため、検体中の分析対象物以外の成分がそこに留まると、非特異的な反応を起こして疑似陽性反応を呈する場合があります、診断が正確に行えない場合があった。

【0006】

従って、本発明の目的は、免疫測定法において、非特異的な反応に起因する疑似陽性反応を防止するための手段を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本願発明者らは、鋭意研究の結果、免疫測定法に供する検体浮遊液を調製するために用いられる媒体に、グリシン誘導体を含ませることで、非特異的な反応に起因する疑似陽性反応を防止できることを見出し本発明を完成した。

【0008】

すなわち、本発明は、グリシンメチルエステル、グリシンエチルエステル、グリシンプロピルエステル、グリシンブチルエステル又はグリシンアミドであるグリシン誘導体を含む、免疫測定に供する検体浮遊液調製用媒体組成物を提供する。また、本発明は、上記本発明の組成物を使用して行なうことを特徴とする免疫測定方法を提供する。

【発明の効果】

【0009】

本発明の検体浮遊液調製用媒体組成物を用いて検体浮遊液を調製し、免疫測定法に供すると、測定時の疑似反応の要因となる患者検体由来成分の非特異的な吸着やバックグラウンドの発生を抑えることができ、非特異的な反応に起因する疑似陽性反応を有意に防止することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

本発明の組成物は、免疫測定法に供する検体浮遊液を調製するために用いられる媒体組成物である。免疫測定法は、特に限定されないが、分析対象物を含む検体がメンブラン上、もしくはメンブラン上の捕捉試薬固定化領域(判定領域)に直接滴下される、フロースルー式免疫測定法やイムノクロマトグラフィー(ラテラルフロー式免疫測定法)が好まし

10

20

30

40

50

い。

【0011】

上記の通り、本発明の組成物は、グリシンメチルエステル、グリシンエチルエステル、グリシンプロピルエステル、グリシンブチルエステル又はグリシンアミドであるグリシン誘導体を含む。なお、グリシン誘導体は単独で用いても2種以上を混合して用いてもよい。

【0012】

グリシン誘導体の含有量は、特に限定されないが、通常、組成物全体の重量に対し0.01~10w/v%の範囲であり、好ましくは0.5~5w/v%である。

【0013】

本発明の組成物は、さらに非イオン性界面活性剤及び/又はイオン性界面活性剤を含むことが好ましい。これらの界面活性剤を含むことにより、上記した本発明の効果がさらに高まる。

【0014】

非イオン性界面活性剤としては、HLB値が10以上、さらに好ましくはHLB値が13以上のポリオキシエチレン系界面活性剤を好ましく用いることができる。HLB値の上限は特にないが、通常、HLB値は、20以下である。ポリオキシエチレン系界面活性剤の好ましい例としては、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル等を挙げることができ、より具体的には、ポリオキシエチレンp-t-オクチルフェニルエーテル（商品名「Triton」シリーズ）、特にTriton X-100（商品名、HLB値13.5）、Nonidet P-40（商品名、HLB値13.1）、TritonX-102（商品名、HLB14.6）、TritonX-165（商品名、HLB15.8）、TritonX-405（商品名、HLB17.9）、ポリオキシエチレンp-t-ノニルフェニルエーテル（商品名「TritonN」シリーズ）、特にTritonN-101（商品名、HLB13.5）、TritonN-111（商品名、HLB13.8）、TritonN-150（商品名、HLB15.0）等を挙げることができる。非イオン性界面活性剤は、単独でも2種以上を混合して用いることもできる。

【0015】

前記イオン性界面活性剤としては、第四級アンモニウム塩界面活性剤、アルキルベタイン系界面活性剤又はアルキルアミンオキサイド系界面活性剤を好ましく用いることができる。第四級アンモニウム塩界面活性剤の好ましい例としては、アルキルトリメチルアンモニウムクロライド、もしくはアルキルトリメチルアンモニウムプロマイド等を挙げることができ、より具体的にはラウリルトリメチルアンモニウムクロライド、ラウリルトリメチルアンモニウムプロマイド、ステアリルトリメチルアンモニウムクロライド、ステアリルトリメチルアンモニウムプロマイド、セチルトリメチルアンモニウムクロライド、セチルトリメチルアンモニウムプロマイド、ジステアリルジメチルアンモニウムクロライド、ジステアリルジメチルアンモニウムプロマイド、アルキルベンジルジメチルアンモニウムクロライド、アルキルベンジルジメチルアンモニウムプロマイド等を挙げることができる。アルキルベタイン系界面活性剤の好ましい例としては、アルキルベタイン等を挙げることができ、より具体的にはラウリルベタイン、ステアリルベタイン等を挙げることができる。アルキルアミンオキサイド系界面活性剤の好ましい例としては、ラウリルジメチルアミンオキサイド等を挙げることができる。イオン性界面活性剤は、単独でも2種以上を混合して用いることもできる。

【0016】

上記した非イオン性界面活性剤及びイオン性界面活性剤は、いずれか一方のみを配合してもよいし、両者を配合してもよい。非イオン性界面活性剤及びイオン性界面活性剤含有量は、特に限定されないが、組成物全体の重量に対しそれぞれ0.01~10w/v%の範囲であり、好ましくは0.5~5w/v%である。

【0017】

本発明の組成物の溶媒は、従来の検体浮遊液調製用媒体組成物と同様、通常、水である。

【0018】

10

20

30

40

50

本発明の組成物は、上記した成分に加え、従来の検体浮遊液調製用媒体組成物と同様、緩衝剤を含有することが好ましい。緩衝剤の好ましい例としては、リン酸塩、トリスヒドロキシメチルアミノメタン、グッドの緩衝剤等を挙げることができる。また、さらに他の成分として、従来の検体浮遊液調製用媒体組成物と同様、ウシ血清アルブミン(BSA)等のタンパク質成分(含有量は通常0.01w/v%~10w/v%)、変性剤(例えば、尿素、グアニジン塩酸、チオシアン酸塩等、含有量は通常0.01M~8M)、高分子ポリマー(例えば、カルボキシメチルセルロースなどの可溶性セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン等)、塩基性化合物(例えば、スペルミン、スペルミジン、硫酸プロタミン等、含有量は通常0.01w/v%~3w/v%)等を任意的に含んでいてもよい。

10

【0019】

本発明の組成物を用いる免疫測定により分析しようとする被分析物質は、特に限定されないが通常は抗原または抗体である。検体も限定されず、全血、血清、血漿、尿、唾液、喀痰、汗、粘膜擦過物等の生体試料の他、肉、植物等の食物の抽出物等が含まれる。被分析物質に結合するリガンドは、典型的には被分析物質が抗原の場合は、該抗原に特異的に結合する抗体、被分析物質が抗体の場合は該抗体が特異的に結合する抗原であり、その他、被分析物質-リガンドの組み合わせとして、受容体-リガンド、リガンド-受容体等の組み合わせが挙げられる。

【0020】

本発明の免疫測定方法は、上記した本発明の組成物を、検体浮遊液を調製するために用いる点を除き、従来の免疫測定方法と全く同様に行うことができる。以下、本発明の免疫測定方法の好ましい例について説明する。

20

【0021】

本発明の免疫測定方法は、検体中の被分析物質を検出する方法であって、フロースルー式検出方法およびイムノクロマトグラフィー式検出方法を含む。フロースルー式検出方法およびイムノクロマトグラフィー式検出方法はいずれも、少なくとも被分析物質を結合捕捉し得る捕捉物質を固定化した膜状の固相支持体を含む。フロースルー式検出方法においては、検体試料が前記固相支持体を横切るように通過し、イムノクロマトグラフィー式検出法においては、固相支持体に沿って展開移動する。

【0022】

本発明の方法においてはまず、被分析物質の定性及び定量分析を行う目的の検体を、上記した本発明の組成物に浮遊し、必要に応じ被分析物質と被分析物質に特異的に結合するリガンドを含む標識試薬が特異的結合反応を起こしやすい状態に処理をする。処理方法は酸・塩基等各種化学薬品等を用いた化学的処理方法でも良いし、加熱・攪拌・超音波等を用いた物理的処理方法のどちらでも構わず、またその両方法を用いても良い。

30

【0023】

被分析物質及び検体は上記したとおりである。標識試薬とは、前記リガンドと適当な標識物質を結合させたコンジュゲートであり、標識物質として、金コロイド等の金属コロイド、セレンウムコロイド等の非金属コロイド、着色樹脂粒子、染料コロイド及び着色リボソーム等の不溶性粒状物質やアルカリフォスファターゼ、ペルオキシダーゼ等の発色反応を触媒する酵素、蛍光色素、放射性同位体等が挙げられる。

40

【0024】

次に上述の方法で処理された検体試料を捕捉試薬を固定化した固相支持体上に供する前に前記標識試薬と接触させ混合することにより、前記標識試薬-前記被分析物質の複合体を形成させる。検体中に被分析物質が含まれる場合、検体と標識試薬を接触させることにより、検体と標識試薬が混合し混合物ができる。検体と標識試薬の混合物は、被分析物質と標識試薬の混合物を含み、さらに被分析物質と標識試薬の複合体を含む。試料は被分析物質と被分析物質に特異的に結合するリガンドが特異的結合反応を起こしやすいよう上述の方法で処理してあり、また前記標識試薬は前記被分析物質に対して過剰量を接触させるので、前記被分析物質の多くは前記標識試薬のみと効率的に前記複合体を形成する。ここ

50

で、捕捉試薬とは被分析物質と特異的に結合する物質であり、捕捉試薬-被分析物質の関係は、前述の被分析物質-標識試薬との関係と同様に、抗原-抗体、抗体-抗原、受容体-リガンド、リガンド-受容体等であり得る。捕捉試薬と標識試薬は同じ物質でもよいが、被分析物質中に該物質と結合する部位が一つしか存在しない場合は、標識試薬-被分析物質-捕捉試薬複合体が形成されない。従って、この場合捕捉試薬と標識試薬はそれぞれ被分析物質の異なる部位に結合する必要がある。固相支持体は毛管現象により試料検体が吸収され流動し得るものであれば、どのようなものであってもよい。例えば、支持体はニトロセルロース、酢酸セルロース、ナイロン、ポリエーテルスルホン、ポリビニルアルコール、ポリエステル、ガラス繊維、ポリオレフィン、セルロース、これらの混合繊維からなる人工ポリマーからなる群から選択される。固相支持体は本発明の方法がフロースルー式検出法である場合は、任意の大きさの膜状の支持体であり、膜に捕捉試薬が固定化され、膜上に捕捉試薬領域が設定される。本発明の方法がイムノクロマトグラフィー式検出法の場合は、好ましくは短冊状のストリップの形状を有する。前記捕捉試薬の固相支持体への固定化は、吸着による方法、アミノ基、カルボキシル基、アルデヒド基等の官能基を利用して化学的に結合させる方法等、公知の方法で行えばよい。

10

【0025】

次に前記被分析物質に特異的に結合する捕捉試薬を固定化した固相支持体上に前記標識試薬-前記被分析物質の複合体を含む検体と標識試薬の混合試料を供して、標識試薬-被分析物質-捕捉試薬複合体を形成させる。この際、フロースルー式検出法においては、標識試薬-前記被分析物質の複合体は、捕捉試薬が固定化された固相支持体を通過する際に捕捉試薬に捕捉され、標識試薬-被分析物質-捕捉試薬複合体が形成される。また、イムノクロマトグラフィー式検出法においては、捕捉試薬が固定化された固相支持体上を移動する際に捕捉試薬に捕捉され、標識試薬-被分析物質-捕捉試薬複合体が形成される。固相支持体に捕捉された標識試薬の存否を検出することで被分析物質の存在を判定することができる。被分析物質と標識試薬が固相支持体と分離した部位で予め接触するよう構成してあるので、被分析物質と標識試薬が十分接触し複合体を形成している。

20

【0026】

そのため、試料を、捕捉試薬を固定化した固相支持体に添加する動作を行うだけで標識試薬-被分析物質-捕捉試薬の複合体の形成を簡便且つ迅速に行うことができ、被分析物質の検出(アッセイ)を実施できる。

30

【0027】

本発明の方法に用いる検出装置は、さらに、対照用試薬を含んでいてもよく、さらに検体添加部や吸収部を含んでいてもよい。対照用試薬は限定されないが、例えば標識試薬中のリガンドが結合する物質を用いることができる。対照用試薬は、フロースルー式検出法においては、膜上の捕捉試薬とは異なる部位に固定化すればよく、イムノクロマトグラフィー式検出法においては、捕捉試薬固定化部位の下流に固定化すればよい。検体添加部は、一旦検体と標識試薬の混合物を吸収し、次いで吸収した混合物を捕捉試薬が固定化された固相支持体に供給するための部分である。該検体添加部は、一定量の液体を吸収できるような多孔質材料でできていることが望ましく、例えば、ガラス繊維やポリスチレンでできた不織布を用いればよい。吸収部は、捕捉部を通過した検体を吸収することにより、検体の流れを制御する液体吸収性を有する部位である。フロースルー式検出法においては、例えば捕捉試薬を固定化した膜の下部に設ければよく、イムノクロマトグラフィー式検出法においては、検出装置の最下流に設ければよい。吸収部は例えば紙製のものをアブソorbentパッドとして用いればよい。

40

【実施例】**【0028】**

以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【0029】

実施例1~4、比較例1 フロースルー式検出装置を用いたA型インフルエンザウイル

50

スの検出

(1) 金コロイド抗体の調製

10mLの金コロイドを取り、100mM炭酸カリウムでpHを7.0に調製した。2mMホウ酸溶液で透析、遠心分離し精製した抗A型インフルエンザウイルスモノクローナル抗体を2mMホウ酸溶液で100 μ g/mLの濃度になるように調製した。調製した抗A型インフルエンザウイルスモノクローナル抗体の最終濃度が4 μ g/mLとなる量を十分攪拌させながら金コロイドに加えた。5分後10%BSAを1mL加え、穏やかに10分間ローターで攪拌した。全量を遠心管に移し、14000rpm、30分、4 で遠心する。遠心後上清を吸引廃棄し、沈殿している金コロイドと抗A型インフルエンザウイルスモノクローナル抗体の感作されたものに、最終濃度が20mMトリス塩酸緩衝液、1%BSA、150mM塩化ナトリウムを含む溶液1mLで浮遊した。

10

【0030】

(2) 金コロイド抗体の乾燥化

前項で作製した金コロイド抗体を陽圧噴霧装置 (BioDot社製、BioJet) を用いて8.00D₅₂₀、10 μ L/cmの速度、及び量で10mmx300mmのポリスチレン不織布に噴霧する。次いで減圧装置内で1時間減圧乾燥し、乾燥金コロイド抗体パッドとした。使用時には7mm間隔で裁断し、用いた。

【0031】

(3) 診断用メンブレンフィルターへの抗体の固定化、検出装置の作製

ニトロセルロースフィルターへの抗インフルエンザウイルスモノクローナル抗体 (マウス) を以下のとおり固定化した。プロテインAカラムでアフィニティー精製した抗イン 20
フルエンザウイルスモノクローナル抗体 (マウス) を用意した。抗体が浮遊されている緩衝液をSephadexG-25ゲル濾過カラムを用いて0.1%トレハロース加10mMクエン酸緩衝液 (pH 4.0) に置き換えた。280nmでの吸光度が1.0となるように0.1%トレハロース加10mMクエン酸緩衝液 (pH4.0) で希釈し、適量を (例えばフロースルー検出 (診断) 装置の場合10 μ L /装置 (デバイス) となるように) 検出装置に装着したニトロセルロース上に滴下、次いで45 、40分間静置、乾燥した。

【0032】

(4) 検出方法

A型インフルエンザウイルスを含むと思われるサンプル (吸引カテーテルにより採取した鼻腔吸引液から綿棒で検体を採取) を以下の検体浮遊液調製用媒体組成物に浮遊させた 30

従来品 ; 1w/v%BSA、20mM MES緩衝液 (pH6.0)、50mM NaCl、4w/v%TritonX-100 (商品名)、2w/v%アルギニン (比較例 1)、

(i) 1w/v%BSA、10mM MES (pH6.0)、50mM NaCl、4w/v%TritonX-100 (商品名)、3w/v%グリシンエチルエステル (実施例 1)

(ii) 1w/v%BSA、10mM MES (pH6.0)、50mM NaCl、4w/v%TritonX-100 (商品名)、3w/v%グリシンエチルエステル、0.25v/v%ドデシルトリメチルアンモニウムクロライド (実施例 2)

(iii) 1w/v%BSA、10mM MES (pH6.0)、50mM NaCl、4w/v%TritonX-100 (商品名)、3w/v%グリシンエチルエステル、0.7v/v%ラウリルジメチルアミノオキサイド (実施例 3) 40

(iv) 1w/v%BSA、10mM MES (pH6.0)、50mM NaCl、3w/v%NonidetP-40、3w/v%グリシンエチルエステル (実施例 4)

その溶液500 μ Lと金コロイド抗体8.00D₅₂₀、50 μ Lを混合し反応させた。一定時間反応後、フィルター (例えば、0.22 μ m) で濾過した後、検出装置 (デバイス) へ全量滴下した。液が膜部材に全て吸収された後、抗インフルエンザウイルスモノクローナル抗体を吸着させた部分の膜部材が金コロイドの色 (例えば、赤色 ~ 赤褐色) に着色していれば、サンプル中にA型インフルエンザウイルスが存在していると確認される。色調の変化がなく膜部材の色のままであれば、サンプル中にA型インフルエンザウイルスが存在していないことになる。

【0033】

50

結果を下記表 1 に示す。表 1 に示されるように、比較例 1 では、4 つの陰性検体のうちの 1 つで偽陽性が生じたが、本発明の組成物を用いた実施例 1 ~ 3 では、偽陽性は全く生じなかった。

【 0 0 3 4 】

【表 1】

表 1

検体	比較例 1	実施例 1	実施例 2	実施例 3	実施例 4	備考
強陽性検体	+++	+++	+++	+++	+++	インフルエンザ感染者の検体
中陽性検体	++	++	++	++	++	インフルエンザ感染者の検体
弱陽性検体	+	+	+	+	+	インフルエンザ感染者の検体
陰性検体 (i)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体 (ii)	++	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体 (iii)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体 (iv)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体

10

+ ; 陽性であることを示す。“+”の数が多い方が着色が強いことを示す。

- ; 陰性であることを示す。

* ; インフルエンザ未感染であるのに陽性と判定された偽陽性例

【 0 0 3 5 】

実施例 5 ~ 8、比較例 2 イムノクロマトグラフィー（ラテラルフロー）式装置を用いた A 型インフルエンザウイルスの検出

20

(1) 金コロイド抗体の調製及び金コロイド抗体の乾燥化

上記実施例 1 ~ 4、比較例 1 と同様に行なった。

【 0 0 3 6 】

(2) イムノクロマトグラフィー式装置の製作

A 型インフルエンザウイルスを検出する膜部材上に抗インフルエンザウイルスモノクローナル抗体をごく少量（約 2 μ L）滴下し、一定時間（10 分 ~ 60 分）放置し膜部材に吸着させた。

【 0 0 3 7 】

(4) 検出方法

30

A 型インフルエンザウイルスを含むと思われるサンプル（吸引カテーテルにより採取した鼻腔吸引液から綿棒で検体を採取）を実施例 1 ~ 4 及び比較例 1 と同じ組成物に浮遊させた（それぞれ実施例 5 ~ 8、比較例 2）。その溶液 200 μ L と金コロイド抗体 1.00D₅₂₀、30 μ L を混合し反応させた。一定時間反応後フィルター（例えば、0.22 μ m）で濾過した後、パッドへ全量滴下した。液が膜部材を展開し、抗インフルエンザウイルスモノクローナル抗体を吸着させた部分の膜部材が金コロイドの色（例えば、赤色 ~ 赤褐色）に着色していれば、サンプル中に A 型インフルエンザウイルスが存在していたと確認される。色調の変化がなく膜部材の色のままであれば、サンプル中に A 型インフルエンザウイルスが存在していないことになる。

【 0 0 3 8 】

40

結果を下記表 2 に示す。表 2 に示されるように、比較例 2 では、4 つの陰性検体のうちの 1 つで偽陽性が生じたが、本発明の組成物を用いた実施例 4 ~ 6 では、偽陽性は全く生じなかった。

【 0 0 3 9 】

【表 2】

表 2

検体	比較 例 2	実施 例 5	実施 例 6	実施 例 7	実施 例 8	備考
強陽性検体	+++	+++	+++	+++	+++	インフルエンザ感染者の検体
中陽性検体	++	++	++	++	++	インフルエンザ感染者の検体
弱陽性検体	+	+	+	+	+	インフルエンザ感染者の検体
陰性検体 (i)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体 (ii)	+	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体 (iii)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体 (iv)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体

10

+ ; 陽性であることを示す。“+”の数が多い方が着色が強いことを示す。

- ; 陰性であることを示す。

* ; インフルエンザ未感染であるのに陽性と判定された偽陽性例

フロントページの続き

(56)参考文献 特開2003-279577(JP,A)
国際公開第03/050292(WO,A1)
グッドの緩衝液, 生化学辞典, 1992年12月 1日

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/53-33/577
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
PubMed

专利名称(译)	用于制备待进行免疫测定的样品悬浮液的组合物和使用其的免疫测定方法		
公开(公告)号	JP4503334B2	公开(公告)日	2010-07-14
申请号	JP2004103962	申请日	2004-03-31
[标]申请(专利权)人(译)	电化生研株式会社		
申请(专利权)人(译)	デンカ生研株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	デンカ生研株式会社		
[标]发明人	瀧澤和幸		
发明人	瀧澤 和幸		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/543		
FI分类号	G01N33/531.B G01N33/543.521		
代理人(译)	谷川荣次郎		
其他公开文献	JP2005291780A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种防止免疫测定中非特异性反应引起的假阳性反应的方法。解决方案：提供用于制备经过含有甘氨酸衍生物的免疫测定的样品漂浮溶液的培养基组合物，并使用该培养基组合物进行免疫测定。使用用于制备样品漂浮溶液的培养基组合物制备样品漂浮溶液，并且当该样品漂浮溶液进行免疫测定时，来自患者样品的组分的非特异性吸附导致假阳性反应。可以抑制测量或背景的发生，并且可以显著地防止由非特异性反应引起的假阳性反应。 Z

表1

検体	比較 例1	実施 例1	実施 例2	実施 例3	実施 例4	備考
強陽性検体	+++	+++	+++	+++	+++	インフルエンザ感染者の検体
中陽性検体	++	++	++	++	++	インフルエンザ感染者の検体
弱陽性検体	+	+	+	+	+	インフルエンザ感染者の検体
陰性検体(i)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体(ii)	+*	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体(iii)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体
陰性検体(iv)	-	-	-	-	-	インフルエンザ未感染者の検体