

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6242068号
(P6242068)

(45) 発行日 平成29年12月6日 (2017. 12. 6)

(24) 登録日 平成29年11月17日 (2017. 11. 17)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/531 (2006. 01)

GO 1 N 33/531 B

GO 1 N 33/545 (2006. 01)

GO 1 N 33/545 B

GO 1 N 33/543 (2006. 01)

GO 1 N 33/543 5 8 3

GO 1 N 33/577 (2006. 01)

GO 1 N 33/577 B

請求項の数 11 (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2013-82493 (P2013-82493)
 (22) 出願日 平成25年4月10日 (2013. 4. 10)
 (65) 公開番号 特開2014-206391 (P2014-206391A)
 (43) 公開日 平成26年10月30日 (2014. 10. 30)
 審査請求日 平成28年4月4日 (2016. 4. 4)

(73) 特許権者 390037327
 積水メディカル株式会社
 東京都中央区日本橋二丁目1番3号
 (74) 代理人 110000774
 特許業務法人 もえぎ特許事務所
 (72) 発明者 高橋 弘至
 茨城県龍ケ崎市向陽台三丁目3番地1 積
 水メディカル株式会社内
 (72) 発明者 片岡 智恵
 茨城県龍ケ崎市向陽台三丁目3番地1 積
 水メディカル株式会社内
 (72) 発明者 中山 真也
 茨城県龍ケ崎市向陽台三丁目3番地1 積
 水メディカル株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ラテックス免疫凝集測定試薬

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の工程を含む、ラテックス免疫凝集法において、マトリクス効果を低減させる方法：
 生体由来の測定対象物質を含む試料に、

i) 平均分子量 10,000 ~ 17,000 であり、かつ分子中の EO 含量が 75 ~ 95 % であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体（ただし、未感作ラテックス粒子に吸着させた場合を除く）を接触させる工程、ii) 当該測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持するラテックス粒子を接触させる工程、及び iii) 当該測定対象物質と当該ラテックス粒子の凝集反応を測定する工程。

【請求項 2】

i) のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、平均分子量 10,800 であり、かつ分子中の EO 含量が 80 % であるか、平均分子量 13,333 であり、かつ分子中の EO 含量が 85 % であるか、平均分子量 15,500 であり、かつ分子中の EO 含量が 80 % であるものから選ばれる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

i) のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、ポリオキシエチレン (200) ポリオキシプロピレングリコール (40)、ポリオキシエチレン (260) ポリオキシプロピレングリコール (35)、ポリオキシエチレン (280) ポリオキシプロピレングリコール (55) から選ばれる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

10

20

測定対象物質に対する特異的親和性物質がモノクローナル抗体である請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

モノクローナル抗体が、MMP - 3 に対するモノクローナル抗体である請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

以下を含む、ラテックス免疫凝集法においてマトリクス効果を低減させるための試薬：

- (i) 平均分子量 10,000 ~ 17,000 であり、かつ分子中の EO 含量が 75 ~ 95 % であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体を含む緩衝液
(ii) 測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持するラテックス粒子（ただし、当該ラテックス粒子は、未感作時に前記ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体を吸着していない）。

10

【請求項 7】

- (ii) のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、平均分子量 10,800 であり、かつ分子中の EO 含量が 80 % であるか、平均分子量 13,333 であり、かつ分子中の EO 含量が 85 % であるか、平均分子量 15,500 であり、かつ分子中の EO 含量が 80 % であるものから選ばれる請求項 6 に記載の試薬。

【請求項 8】

- (ii) のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、ポリオキシエチレン (200) ポリオキシプロピレングリコール (40)、ポリオキシエチレン (260) ポリオキシプロピレングリコール (35)、ポリオキシエチレン (280) ポリオキシプロピレングリコール (55) から選ばれる請求項 6 に記載の試薬。

20

【請求項 9】

測定対象物質に対する特異的親和性物質がモノクローナル抗体である請求項 6 ~ 8 のいずれかに記載の試薬。

【請求項 10】

モノクローナル抗体が、MMP - 3 に対するモノクローナル抗体である請求項 9 に記載の試薬。

【請求項 11】

以下の構成要素を含む、ラテックス免疫凝集法においてマトリクス効果を低減させるためのキット：

30

緩衝剤を含有する第 1 試薬、および

測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持するラテックス粒子を含有する第 2 試薬；ここで、第 1 試薬と第 2 試薬の少なくとも一方が平均分子量 10,000 ~ 17,000 であり、かつ分子中の EO 含量が 75 ~ 95 % であるポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体を含有する（ただし、未感作ラテックス粒子に吸着させた状態で含有する場合を除く）。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

本発明は、測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持させたラテックス粒子を用いるラテックス免疫凝集測定試薬および測定方法に関する。特に、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体の存在下にラテックス免疫凝集反応を行うことによりマトリクス効果を低減させることを目的としたラテックス免疫凝集測定試薬および測定方法に関する。

【背景技術】

【0002】

生体試料中の測定対象物質（以下、目的成分ということがある）の測定方法として、ラテックス免疫凝集法（以下、L T I A 法ということがある）が臨床検査の分野で繁用されている。L T I A 法は、例えば、目的成分に対する抗体を担持させたラテックス粒子（以

50

下、抗体担持ラテックス粒子ということがある)を用い、目的成分である抗原と抗体担持ラテックス粒子とが抗原抗体複合物を形成して結合することによって生じるラテックス粒子の凝集(濁り)の程度を光学的手段(例えば、透過光を測定する比濁法、散乱光を測定する比濁法など)などにより検出する測定方法である。

【0003】

ここで、目的成分の濃度は、用いる測定法における濃度校正基準(キャリブレーション)の測定値(基準測定値)に基づいて換算・算出されるものであるが、生体試料中には目的成分以外の様々な成分(以下、非目的成分ということがある)が含まれるため、生体試料中での目的成分と非目的成分の量比など、測定時の生体試料の状態によっては、みかけの測定値が、得られるべき測定値に対して高くなったり、低くなったり、ばらついてきたり(以下、かたより等ということがある)、正確な測定ができない場合がある。例えば、精製した目的成分と非目的成分を共存させて測定すると、非目的成分を共存させた場合の測定値が、精製した目的成分のみ(非目的成分を共存させない場合)の測定値と乖離するような場合である。このような試料中の非目的成分の組成(マトリクス)が測定値に影響を与える現象は、マトリクス効果とよばれ、測定系を構築する際の課題となっている。なお、本明細書において非目的成分について言及する場合には、血清タンパクなどの生体試料が元来有している成分以外に、血漿採取の際の抗凝固剤であるEDTAなどの測定系外から生体試料に持ち込まれる成分も含むものとして記載している。

【0004】

このマトリクス効果は、一般に洗浄工程により物理的に非目的成分の除去が可能なヘテロジニアス系よりも、洗浄工程を有さないホモジニアス系で問題となる場合が多い。このマトリクス効果の起こる原因は複雑であり、ホモジニアス系であるLTI A法を例にすれば、試料中の非目的成分が、抗原抗体反応に直接影響を与える場合(非目的成分の粘度が高くラテックス粒子の分散を阻害する場合や目的成分を介さずに抗体担持ラテックス粒子同士を非特異的に凝集させる場合など)、目的成分の構造変化の惹起や目的成分との複合体形成(抗原エピトープの露出や被覆)を起こす場合、非目的成分の抗体担持ラテックス粒子への非特異的吸着(抗体パラトープの被覆など)を起こす場合などが原因として挙げられるが、このような原因が特定できるとは限らず、また原因が単独ではなく複数である場合も多いと考えられる。

【0005】

このようなマトリクス効果を排除する方法として、キャリブレーションや生体試料の希釈液に予め非目的成分を添加しておく方法が知られているが、測定系の感度低下を招く場合などには採用することができない。一方、測定系に特定の物質を共存させてマトリクス効果を排除する方法としては、特許文献1~3に記載の方法が知られている。

【0006】

特許文献1には、一般式(I)で示される化合物を免疫反応液中に添加することで、夾雑蛋白、脂肪等(非目的成分に相当)による望ましくない副反応である非特異反応を抑制し、測定対象物の高濃度域におけるプロゾーンの発生を抑え、さらには測定対象物の低濃度域も精度良く測定できるという発明が開示されている。ここで式(I)の化合物の[]内はオキシエチレン基とオキシアリレン基とのランダム共重合体であり、特許文献1の一般式(I)の化合物にはポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体は含まれない。

【0007】

特許文献2には、片末端にアルキル基を有するポリオキシエチレン/ポリオキシプロピレンブロック共重合体を免疫測定前の試料に添加することで非特異反応を抑制する検体処理試薬組成物が開示されている。前記組成物は、片末端にアルキル基を有するポリオキシエチレン/ポリオキシプロピレンブロック共重合体を用いることを必須要件としており、両末端が水酸基のポリオキシエチレン/ポリオキシプロピレンブロック共重合体については、非特異的反応の要因となる糖タンパク等の夾雑物(非目的成分に相当)の変性が阻害される、処理液中への可溶性や分散性が落ちるなどの理由により、非特異的反応を抑制で

きないと記載されている（特許文献2明細書段落〔0008〕）。そして、両末端が水酸基であるポリオキシエチレン/ポリオキシプロピレンブロック共重合体（プルロニックL-44）では所望の効果がなことが比較例1としても示されている。また、本組成物で処理された検体については、免疫クロマトグラフィーにより当該検体中の測定対象の検出が行われており、本組成物による処理がL T I A法においても同様の効果を奏するかどうかは明らかではない。

【0008】

特許文献3には、第4級アンモニウム塩とポリエチレン-ポリプロピレン共重合体を反応系に添加することで非特異反応を抑制する免疫比濁測定方法が開示されている。しかし、本測定方法は、抗原抗体反応などによる分子会合体形成を抑制する効果をもつ第4級アンモニウム塩を測定系に添加することを必須としており、目的としない分子会合体形成を抑制しつつ、目的とする分子会合体形成には影響を及ぼさないようにするために、適切な濃度範囲を選択している。ここで、ポリエチレン-ポリプロピレン共重合体については、添加剤の一例として記載があるのみで実際に添加した実施例はなく、また、該共重合体の効果がどのようなものであるかという記載もない。なお、ポリエチレン-ポリプロピレン共重合体の市販品の例にはプルロニックF88が含まれてはいるものの、前述のとおり、実施例および作用効果について、記載も示唆もない。

さらにまた、本免疫比濁測定方法は、ラテックス等の不溶性担体を用いずに抗原抗体反応で生じる不溶性の免疫複合体を測定するものであり、不溶性担体を用いた場合にも同様の効果を奏するかどうかは明らかではない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】特開平2-103466号公報

【特許文献2】特開2009-186359号公報

【特許文献3】特開平6-300761号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持させたラテックス粒子を用いるラテックス免疫凝集測定法（L T I A法）において、いわゆるマトリクス効果を低減させる試薬ならびに該マトリクス効果を低減させたL T I A法の提供を課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは、L T I A法における上記課題を解決するため、鋭意研究をおこなったところ、全く意外なことに、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体の存在下にラテックス免疫凝集反応を行うと、生体試料あるいは測定系外から持ち込まれた成分（血漿採取の際の抗凝固剤であるEDTAなど）に由来するマトリクス効果を低減させることができることを見出し、本発明を完成させるに至った。上記特許文献1～3のいずれにもポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体を用いてマトリクス効果を低減させたラテックス免疫凝集測定法について記載されておらず、また示唆もされていない。

【0012】

本発明は、以下の構成を有する。

（1）以下を含む、ラテックス免疫凝集法のための試薬：

（i）緩衝剤

（ii）ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体

（iii）測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持するラテックス粒子。

（2）ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、平均分子量10,000～17,000であり、かつ分子中のEO含量が75～95%である（1）に記載の試薬。

(3) ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、平均分子量 10,800 であり、かつ分子中の EO 含量が 80% であるか、平均分子量 13,333 であり、かつ分子中の EO 含量が 85% であるか、平均分子量 15,500 であり、かつ分子中の EO 含量が 80% であるものから選ばれる (1) に記載の試薬。

(4) ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、ポリオキシエチレン (200) ポリオキシプロピレングリコール (40)、ポリオキシエチレン (260) ポリオキシプロピレングリコール (35)、ポリオキシエチレン (280) ポリオキシプロピレングリコール (55) から選ばれる (1) に記載の試薬。

(5) 測定対象物質に対する特異的親和性物質がモノクローナル抗体である (1) ~ (4) に記載の試薬。

10

(6) 測定対象物質に対する特異的親和性物質が、MMP-3 に対するモノクローナル抗体である (5) に記載の試薬。

(7) 以下の構成要素を含む、ラテックス免疫凝集法のためのキット：

緩衝剤を含有する第 1 試薬、および

測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持するラテックス粒子を含有する第 2 試薬；ここで、第 1 試薬と第 2 試薬の少なくとも一方がポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体を含有する。

(8) ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、平均分子量 10,000 ~ 17,000 であり、かつ分子中の EO 含量が 75 ~ 95% である (7) に記載のキット。

20

(9) ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、平均分子量 10,800 であり、かつ分子中の EO 含量が 80% であるか、平均分子量 13,333 であり、かつ分子中の EO 含量が 85% であるか、平均分子量 15,500 であり、かつ分子中の EO 含量が 80% であるものから選ばれる (7) に記載のキット。

(10) ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、ポリオキシエチレン (200) ポリオキシプロピレングリコール (40)、ポリオキシエチレン (260) ポリオキシプロピレングリコール (35)、ポリオキシエチレン (280) ポリオキシプロピレングリコール (55) から選ばれる (7) に記載のキット。

(11) 以下の工程を含む、ラテックス免疫凝集法：

生体由来の測定対象物質を含む試料に、i) ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体を接触させる工程、及び ii) 当該測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持するラテックス粒子を接触させる工程

30

(12) 以下の工程を含む、ラテックス免疫凝集法において、マトリクス効果を低減させる方法：生体由来の測定対象物質を含む試料に、i) ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体を接触させる工程、ii) 当該測定対象物質に対する特異的親和性物質を担持するラテックス粒子を接触させる工程、及び iii) 当該測定対象物質と当該ラテックス粒子の凝集反応を測定する工程。

【発明の効果】

【0013】

本発明により、生体試料中あるいは測定系外から持ち込まれた成分などの非目的成分の影響を抑制し、マトリクス効果の低減された L T I A 法が提供される。本発明により、L T I A 法による生体試料中の目的成分の正確な測定が可能になる。

40

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図 1】基準測定法 (パナクリア (登録商標) MMP-3「プレート」) での測定値とブルロニック F 88 無添加 L T I A 法 (対照例) あるいは 0.005% 添加 L T I A 法 (実施例) での測定値の相関性を試験した結果の図である。

【発明を実施するための形態】

【0015】

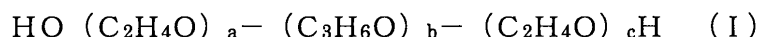
(ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体)

50

本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体は、下記式 (I) に示す構造を有する。

【 0 0 1 6 】

【 化 1 】



(式中、 a 、 b 、 c は任意の整数を表し、 $a + c$ は4 ~ 300単位の平均重合度の酸化エチレンとなるよう決定され、かつ b は5 ~ 100単位の平均重合度の酸化プロピレンとなるよう決定される)

【 0 0 1 7 】

10

本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体は、上述のように疎水性のポリオキシプロピレンブロックポリマーが、2つの親水性のポリオキシエチレンブロックポリマーにより挟まれた構造より成り、非イオン性界面活性剤として挙動する。なお、ポリオキシエチレン： $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a$ 又は $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_c$ は、EO、POEなどの略号で、ポリオキシプロピレン： $(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b$ は、PO、POP、PPGなどの略号で表記される場合があり、本明細書においても同様の表記をすることがある。

【 0 0 1 8 】

本発明において使用するポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体を含む市販品の具体的な例としては、一般に「プルロニック(登録商標)」の名称で販売されている非イオン性界面活性剤のうち「F」で括られる製品を挙げることができる。また「エバン(登録商標)」の名称で販売されている非イオン性界面活性剤も使用することがある。

20

なお、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体の成分としての表記方法は数種類存在し、各表記間で相互に同一性、類似性を確認できるが、同一名称の市販品であっても各表記間での数値が完全に一致しなかったり、EOやPOの含量%から分子全体の分子量を計算しようとした場合などにも表示されている数値と完全に一致しないことがある。しかしながら、これらは重合性高分子に特有のものであり当業者は当然に理解しうる。

【 0 0 1 9 】

より具体的な市販品の例を、確認できる成分としての表記(1)、(2)とともに挙げる。

30

プルロニック F 108 :

(1) ポリオキシエチレン含量 80%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 3250

(2) EO - PO 数 : $(140 \times 2) / 55$

プルロニック F 77 :

(1) ポリオキシエチレン含量 70%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2306

(2) EO - PO 数 : $(52 \times 2) / 35$

プルロニック F 87 :

(1) ポリオキシエチレン含量 70%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2644

(2) EO - PO 数 : $(62 \times 2) / 39$

40

プルロニック F 98 :

(1) ポリオキシエチレン含量 80%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2750

(2) EO - PO 数 : $(125 \times 2) / 48$

プルロニック F 88 :

(1) ポリオキシエチレン含量 80%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2644

(2) EO - PO 数 : $(97 \times 2) / 39$

プルロニック F 68 :

(1) ポリオキシエチレン含量 80%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 1967

(2) EO - PO 数 : $(75 \times 2) / 30$

エバン 785 :

50

(1) ポリオキシエチレン含量 85%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2000

(2) EO-PO 数: $(130 \times 2) / 35$

【0020】

これらのうち、プルロニック F88 およびプルロニック F68 は、以下の内容で医薬部外品原料規格 2006 にも収載されている。

プルロニック F88:

外原規名: ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール (200E.O) (40P.O)、

プルロニック F68:

外原規名: ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール (160E.O) (30P.O)、

なお、上記の () 内の数値は各ブロックポリマーの平均重合度を表す。

【0021】

上記した以外にも医薬部外品原料規格 2006 にはポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が多数収載されており、これらを参照して本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体を選抜することができる。

また、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体は、EO 含有量 (%) を横軸、PPG 分子量を縦軸として区分けする「プルロニックグリッド」と呼ばれる区分け法があり、市販品のカタログ等にも記載されており、これらを参照して本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体を選抜することができる。

【0022】

本発明においては、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体の平均分子量が 10,000 ~ 17,000 であり、かつ分子中の EO 含量が 75 ~ 95% であるものが好適であり、また、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体の平均分子量が 10,800 であり、かつ分子中の EO 含量が 80% (市販品名: プルロニック F88) であるか、平均分子量が 13,333 であり、かつ分子中の EO 含量が 85% (市販品名: エパン 785) であるか、平均分子量 15,500 であり、かつ分子中の EO 含量が 80% (市販品名: プルロニック F108) であるものが好適であり、また、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体が、ポリオキシエチレン (200) ポリオキシプロピレングリコール (40) (市販品名: プルロニック F88)、ポリオキシエチレン (260) ポリオキシプロピレングリコール (35) (市販品名: エパン 785)、ポリオキシエチレン (280) ポリオキシプロピレングリコール (55) (市販品名: プルロニック F108) であるものが好適である。

なかでも、酸化エチレンの平均重合度が 200 単位、酸化プロピレンの平均重合度が 40 単位の共重合体が好ましく、成分名: ポリオキシエチレン (200) ポリオキシプロピレングリコール (40) を含有するプルロニック F88 を使用することが好ましい。

【0023】

本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体を用いた L T I A 試薬の調製方法について、臨床検査の分野で繁用される抗体担持ラテックス粒子を用いる L T I A 試薬を例として以下説明する。臨床検査の分野で繁用される L T I A 試薬は、抗体担持ラテックス粒子を含有しない試薬 (第 1 試薬) 及び抗体担持ラテックス粒子を含有する試薬 (第 2 試薬) の二試薬 (二試液) 系で構成されている場合が多い。そしてこの構成を採用する場合、第 1 試薬は、第 2 試薬が行う抗原抗体反応に好適な測定環境 (例えば、目的成分の希釈や抗原エピトープの露出など) を準備する役割を担っている場合が多い。

本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体は、L T I A 試薬を構成する抗体担持ラテックス粒子を含有しない試薬 (第 1 試薬) あるいは抗体担持ラテックス粒子を含有する試薬 (第 2 試薬) のいずれに添加してもよいが、上述の二試薬 (二試液) の構成の場合には、目的成分と抗体担持ラテックス粒子が接触する前にマトリクス効果が低減していることが望ましいので、抗体担持ラテックス粒子を含有しない試薬 (第 1 試薬) に添加するのが好ましい。また、上述の構成にこだわらず抗体担持ラテックス粒子を含有

10

20

30

40

50

する試液に添加する場合には、その添加のタイミングは、ラテックス粒子への抗体担持効率を変動させる可能性があるため抗体担持前ではなく、抗体担持後に添加するのが好ましい。

【0024】

また、本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体を抗体担持後のラテックス粒子を含有する試液に添加した場合には、添加後に、さらに1～65の適当な温度で、適当な時間、インキュベーションをすることができる。このようにすると、いわゆるブロック効果と同様の効果を抗体担持ラテックス粒子に付加することも期待できる。インキュベーションをする場合、30～65で行うことが好ましい。30未満であると、ブロック効果が十分に備わらない場合があり、また65を超えると、抗体などに、タンパク質としての変性がおこり抗体活性を喪失する場合がある。好適なインキュベーション温度の一例として、37前後でのインキュベーションを挙げることができる。インキュベーションをする場合の時間についても、制限はなく、期待するブロック効果が得られるよう、温度とあわせて実験的に選択をすることができる。なお、本明細書においては、このような加温・インキュベーション操作をブロック処理とすることができる。

10

【0025】

本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体の濃度は、例えば、ラテックス免疫凝集反応時の濃度で規定することができる。好ましい濃度としては、0.0001%～1%、0.0002%～1%、0.0004%～1%、0.0008%～1%、0.002%～1%、0.003%～1%、0.006%～1%、0.01%～1%、0.03%～1%、0.05%～1%、0.0001%～0.5%、0.0002%～0.5%、0.0004%～0.5%、0.0008%～0.5%、0.002%～0.5%、0.003%～0.5%、0.006%～0.5%、0.01%～0.5%、0.03%～0.5%、0.05%～0.5%、0.0001%～0.2%、0.0002%～0.2%、0.0004%～0.2%、0.0008%～0.2%、0.002%～0.2%、0.003%～0.2%、0.006%～0.2%、0.01%～0.2%、0.03%～0.2%、0.05%～0.2%、0.0001%～0.1%、0.0002%～0.1%、0.0004%～0.1%、0.0008%～0.1%、0.002%～0.1%、0.003%～0.1%、0.006%～0.1%、0.01%～0.1%、0.03%～0.1%、および0.05%～0.1%、が挙げられる。一般的には、0.0001%～1%が好適であり、好ましくは0.0001%～0.5%、より好ましくは0.01%～0.1%である。

20

30

【0026】

上記のように発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体は、L T I A法において、測定系としての所望の測定感度、測定範囲、再現性、あるいは試薬の安定性などが得られることを勘案したうえで、実用的に最適な種類、濃度、L T I A試薬の調製方法を選択し適宜利用することができる。なお、本願明細書で「マトリクス効果を低減させる」というときは、生体試料中の非目的成分が共存することにより、L T I A法による生体試料中の目的成分の測定値が、濃度校正基準（キャリブレーション）の測定値（基準測定値）に基づいて得られるべき測定値に対してかたより等する場合に、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体がL T I A法測定系中に存在することにより、該かたより等が得られるべき測定値に収束することを意味する。収束の有無は、基準測定値とL T I A法測定値との相関性が、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体の非存在時に對して存在時に向上・改善されているかにより評価することができる。

40

【0027】

以上、測定対象物質に対する特異的親和性物質あるいは測定対象物質を担持させたラテックス粒子として、抗体担持ラテックス粒子の場合を例に説明を行ったが、担持させる物質が抗原である場合も同様に理解すべきであることは当然である。なお、特異的親和性物質から見れば、測定対象物質が特異的親和性物質である。また、抗原と抗体に限らず、目

50

的成分と該目的成分に対して特異的な結合相手が担持されたラテックス粒子間で結合が形成され、目的成分の存在量に依存したラテックス粒子の凝集が形成される場合には、それらの反応も本発明でいうラテックス免疫凝集反応に含まれる。

【0028】

(ラテックス粒子)

本発明において、ラテックス粒子という場合には、ポリスチレンラテックス粒子などというが、上記のラテックス免疫凝集反応に含まれる場合であって、目的成分に対して特異的な結合相手を担持する方法が疎水結合など物理的な方法によるものである場合には、金属コロイド、シリカ、カーボンなども本発明のラテックス粒子に含まれる。ラテックス粒子のサイズは、使用する光学的測定法(例えば、透過光を測定する比濁法、散乱光を測定する比濁法など)を考慮し、所望の測定感度、測定範囲などが得られるよう0.05~1 μmの範囲から適宜選択することができる。自動分析装置における光学的測定においては平均粒子径0.1~0.4 μmが汎用されており、好ましくは0.1~0.2 μmである。ラテックス粒子の平均粒子径は粒度分布計や透過型電子顕微鏡像などで確認することができる。ラテックス粒子の試液中の濃度は、使用するラテックス粒子の粒径や測定系全体の設計にあわせ、例えば0.0001 mg/mL~10 mg/mLの範囲から適宜選択をすることができる。

【0029】

(L T I A試薬としての構成など)

本発明のL T I A試薬(試液)は、反応の主成分の他に、試料のpH、イオン強度、浸透圧などを緩衝、調整する成分として、例えば、酢酸、クエン酸、リン酸、トリス、グリシン、ホウ酸、炭酸、及びグッドの緩衝液や、それらのナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩などを含んでも良い。また凝集形成を増強する成分としてポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、リン脂質ポリマーなどの高分子を含んでも良い。また、凝集の形成をコントロールする成分として、タンパク質、アミノ酸、糖類、金属塩類、界面活性剤類、還元性物質やカオトロピック物質など汎用される成分を1種類、または複数の成分を組合わせて含んでも良い。

【0030】

本発明のL T I A試薬は種々の生体試料を測定対象とすることができる。測定対象物質としてはタンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質、糖質、核酸、ハプテンなどが挙げられるが、理論的に測定可能な分子であれば特に制限はない。例としてC R P (C反応性タンパク質)、L p (a)、M M P - 3 (マトリクスメタロプロテイナーゼ3)、抗C C P (環状シトルリン化ペプチド)抗体、抗リン脂質抗体、R P R、I V型コラーゲン、P S A、A F P、B N P (脳性ナトリウム利尿ペプチド)、N T - p r o B N P、インスリン、マイクロアルブミン、シスタチンC、F A B P、R F (リウマチ因子)、C A - R F、K L - 6、P I V K A - I I、F D P、Dダイマー、S F (可溶性フィブリン)、T A T (トロンビン-アンチトロンビンI I I複合体)、P I C、P A I、X I I I因子、ペプシノーゲンI・I Iや、フェニトイン、フェノバルビタール、カルバマゼピン、バルプロ酸、テオフィリンなどが挙げられる。

本発明において、測定対象物質に対する特異的親和性物質がモノクローナル抗体である場合の当該抗体の産生方法について説明する。モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは、KohlerとMilsteinの方法(Nature、第256巻495頁(1975年)参照)に準じ、測定対象物質で免疫した動物の脾臓細胞と同種の実細胞(骨髄腫細胞)とを細胞融合して作製することができる。得られたハイブリドーマは、公知の方法に従って増殖させることができ、産生される抗体の性質を確認しつつ所望のハイブリドーマを選択することができる。ハイブリドーマのクローニングは、例えば限界希釈法や軟寒天法などの公知の方法により行うことが可能である。

本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの選択は、産生される抗体が実際の測定に用いられる条件を考慮して効果的に行うことができる。標準的な一例としては、E L I S A法、R I A法、B i a c o r e (登録商標)を用いる方法などにより、測定

10

20

30

40

50

対象物質である抗原に反応するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを選択することにより得られる。具体的には、まず、ハイブリドーマの培養上清中の抗体を、プレートなどに固相化した抗原と反応させ、次いで標識抗IgG抗体を反応させる抗原固相化ELISA法により、抗原に対し高い反応性を有するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを選択する。

このように本発明において、モノクローナル抗体は、上記の試験方法に従って抗原を動物に免疫して作製したハイブリドーマより得ることもできるが、市販のモノクローナル抗体のうち所望の性質を有する抗体を用いることもできる。

【0031】

本発明のLTI A試薬は、前記したように一試液以上の複数の試液から構成される。複数の試液の例としては、測定対象物質を測定に好適な濃度に調整したり抗原抗体反応の環境を調整するなどを目的とする緩衝液からなる試液、抗体担持ラテックス粒子を含有する試液ほか挙げられる。本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体は試薬を構成する全ての試液に含まれていても良いし、測定試薬を構成する試液のいずれかに選択的に含まれていても良い。

【実施例】

【0032】

以下、実施例により本発明を詳細に説明するが、本発明は以下の実施例により限定されるものではない。

【0033】

〔実施例1〕本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体の効果確認(1)

1. 抗MMP-3モノクローナル抗体の作製

(1) ハイブリドーマの作製

a. 材料

・ヒトMMP-3: 正常ヒト線維芽細胞NB1RGB, 理研RCB, #RCB022

2の培養上清より精製

・フロインド完全アジュバント: 和光純薬工業社製, 014-09541

・ミエローマ細胞(SP2/O)

・RPMI1640, GlutaMAX: GIBCO社製, 61870-036

・Fetal Bovine Serum (FBS): BIOLOGICAL INDUSTRIES社製, 04-001-1A

・ポリエチレングリコール溶液(PEG): Sigma Aldrich社製, P7306

・HAT 培地: コスモバイオ社製, 16213004

・96穴プレート: NUNC社製, 167008

・HRP標識ヤギ抗マウスIgG(γ)抗体: Southern Biotech社製, 1030-05

【0034】

b. 方法

(動物への免疫)

ヒトMMP-3とフロインド完全アジュバンドを等量ずつ混合して調製したエマルジョンを用い、オスのBALB/cマウスの腹腔もしくはフットパットに1匹あたり30 μ gを注射した。さらに、1週間の間隔で2~7回、該エマルジョンの注射を繰り返した。マウス眼底静脈より採血して得た抗血清中の抗体価を、後述する抗原固相化ELISA法にて測定した。

【0035】

(抗体価の確認(抗原固相化ELISA法))

上述のマウス抗血清中の抗MMP-3抗体の存在を、ヒトMMP-3を固相化したELISA法(抗原固相化ELISA法)で確認した。抗原固相化ELISA法の詳細は以下

10

20

30

40

50

である。

まず、 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ になるようヒトMMP-3を、 150mM 塩化ナトリウムを含む 10mM リン酸緩衝液(pH7.2;以下、PBSという)に溶解してMMP-3溶解液とし、該溶解液 $50\mu\text{L}$ を96穴マイクロプレートの各ウェルに分注して、4で1晩静置した。

前記各ウェルを0.05%Tween(登録商標)20を含むPBS(以下、PBSTという) $300\mu\text{L}$ で3回洗浄した後、1%牛血清アルブミンを含むPBST(以下、BSA-PBSTという) $300\mu\text{L}$ を加え、室温で1時間ブロッキングを行った。

前記各ウェルをBSA-PBSTで3回洗浄した後、BSA-PBSTで10倍から100倍に希釈したマウス抗血清 $50\mu\text{L}$ を前記各ウェルに添加し、室温で1時間静置した。

10

前記各ウェルをPBSTで3回洗浄した後、5000倍希釈したHRP標識ヤギ抗マウスIgG(γ)を $50\mu\text{L}$ 前記各ウェルに分注し、室温で1時間静置した。

前記各ウェルをPBSTで3回洗浄した後、0.2%オルトフェニレンジアミン及び0.02%過酸化水素を含むクエン酸緩衝液(pH5.0) $50\mu\text{L}$ を加え、室温で10分間放置後、4.5N硫酸 $50\mu\text{L}$ を加えて酵素反応を停止させ、波長492nmにおける吸光度を測定した。測定の結果、抗体価の高かったマウスから、脾臓もしくはリンパ節を摘出して、脾臓由来細胞もしくはリンパ節由来細胞を調製し、細胞融合に用いた。

【0036】

(細胞融合)

20

前記脾臓由来細胞もしくはリンパ節由来細胞のいずれかとミエローマ細胞を細胞数で6対1の割合で混合し、PEGを添加して細胞融合させた。該融合させた細胞をHAT培地に懸濁し、 CO_2 インキュベータ内で37、5% CO_2 にて8日間培養して、融合細胞(ハイブリドーマ)を得た。

【0037】

(2)ハイブリドーマの選別

(抗原固相化ELISA法での選別)

上述の抗原固相化ELISA法において、マウス抗血清の代わりに融合細胞の培養上清を用いた以外は、同様の方法を行った。測定の結果、吸光度の高いウェルを抗MMP-3抗体産生ハイブリドーマの存在するウェル(陽性ウェル)として選択し、抗MMP-3抗体産生株を選抜した。

30

【0038】

(競合ELISA法での選別)

上述の抗原固相化ELISA法において、ヒトMMP-3を共存させて、競合ELISA法を行った。

測定の結果、吸光度の高いウェルを抗MMP-3抗体産生ハイブリドーマの存在するウェル(陽性ウェル)として選択し、抗MMP-3抗体産生株を選抜した。

上述の2種類の選別方法とともに抗MMP-3抗体産生株として選択されたハイブリドーマを用いて、ハイブリドーマの単クローン化とモノクローナル抗体の精製を行った。

【0039】

40

(3)モノクローナル抗体の精製

単クローン化は定法(限界希釈法)で行い、上述の2種類のELISA法と同様の方法で陽性ウェルを選別し、最終的に26種の抗MMP-3モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを得た。

各細胞の約 10^5 個をプリスタン前処理したマウス腹腔に投与し、生成した腹水をそれぞれ採取した。採取した各腹水から遠心分離により不溶物を除去し、等量の飽和硫酸液を加え、撪拌しながら1晩放置後、遠心分離で沈殿を回収した。回収した沈殿を 20mM Tris緩衝液(pH8.0)に溶解し、同緩衝液で透析した。透析内容物それぞれを同緩衝液で平衡化したDEAE-セファロースカラムに別個に吸着させた後、それぞれ同緩衝液中の塩化ナトリウム0~ 300mM の濃度勾配で溶出させて得たIgG画分を 50m

50

Mグリシン緩衝液で透析して、26種の抗体を得た。

【0040】

(4) 抗体の組み合わせ検討

(サンドイッチELISA法)

得られた抗体26種それぞれを96穴プレートのウェルに固相化し、ヒトMMP-3溶解液を各ウェルに添加して反応させた。次いでそれぞれビオチン標識した26種の抗体を添加して反応させ、さらにHRP標識ストレプトアビジンを添加して反応させた。0.2%オルトフェニレンジアミン及び0.02%過酸化水素を含むクエン酸緩衝液(pH5.0)を加え、室温で反応させた後、4.5N硫酸により酵素反応を停止させ、波長492nmにおける吸光度を測定した。サンドイッチELISA法で高感度が得られた抗体の組み合わせ(82208抗体と82216抗体)を選択して、LTIA法に用いた。

10

【0041】

2. サンドイッチELISA法によるMMP-3の定量(基準測定法例)

a. 材料

・パナクリア(登録商標)MMP-3「プレート」: 積水メディカル社製, 310775

・ヒト血清検体(n=7): プルロニックF88非添加の第1試薬を使用するLTIA法測定で、基準測定法の測定値に収束しなかった検体

【0042】

b. 方法

20

パナクリアMMP-3「プレート」の添付書類に従って行った。測定にはEL808(Biotek社製)を用いた。

パナクリアMMP-3「プレート」は、MMP-3分子上の異なる部位を認識する2種類のモノクローナル抗体を使用するワンステップELISA法であり、免疫複合体を形成させた後、洗浄工程が必須である。

【0043】

3. LTIA法によるMMP-3の定量(対照例、実施例)

(抗体担持ラテックス粒子の調製)

a. 材料

・抗MMP-3抗体82208(82208抗体)液: 1.5Abs/mL(280nm、50mM Tris-HCl、pH9.0), 受託番号FERM P-22219

30

・抗MMP-3抗体82216(82216抗体)液: 1.5Abs/mL(280nm、20mM Tris-HCl、pH8.5), 受託番号FERM BP-11486

・1%ラテックス粒子液: 平均粒子径0.26μm

・1%BSA: Sigma Aldrich社製, A-7030

本明細書において、特にことわらない限り%濃度は(w/v)%を意味する。

【0044】

b. 方法

40

82208抗体と1%ラテックス粒子液を等容量混合して、4℃、1時間攪拌した。さらに混合液と等容量の1%BSAを添加して4℃にて30分間攪拌し、15000rpm、5分間遠心して上清を除去したあと、沈殿をMOPS緩衝液(pH7.0)に再懸濁し、抗体担持ラテックス粒子溶液とした。

82216抗体と1%ラテックス液を用い、同様の方法で抗体担持ラテックス粒子溶液とした。

【0045】

(LTIA法第1試薬の調製)

a. 材料

・Tris

50

- ・ N a C l
- ・ B S A : S i g m a A l d r i c h 社製 , A - 7 0 3 0
- ・ P r o C l i n (登録商標) 3 0 0 : S i g m a A l d r i c h 社製 , 4 8 9 1 2 - U
- ・ プルロニック F 8 8 : ポリオキシエチレン (2 0 0) ポリオキシプロピレングリコール (4 0) , アデカ社製

【 0 0 4 6 】

b . 方法

5 0 0 m M の塩化ナトリウム、1 % B S A、0 . 0 5 % P r o C l i n 3 0 0 を含む 3 0 m M T r i s 緩衝液 (p H 8 . 0) を調製し、0 . 0 0 5 % になるようプルロニック F 8 8 を添加して実施例の第 1 試薬とした。また、プルロニック F 8 8 を添加しない前記 T r i s 緩衝液を対照例の第 1 試薬とした。

10

【 0 0 4 7 】

(第 2 試薬の調製)

a . 材料

- ・ 8 2 2 0 8 抗体担持ラテックス溶液
- ・ 8 2 2 1 6 抗体担持ラテックス溶液
- ・ M O P S
- ・ B S A : S i g m a A l d r i c h 社製 , A - 7 0 3 0

【 0 0 4 8 】

20

b . 方法

8 2 2 0 8 抗体担持ラテックス粒子溶液と 8 2 2 1 6 抗体担持ラテックス粒子溶液をラテックス粒子の含量比で 1 : 1 になるよう混合し、0 . 5 % B S A を含む M O P S 緩衝液 (p H 7 . 0) で最終吸光度 4 . 0 O D となるように希釈して第 2 試薬とした。

【 0 0 4 9 】

(測定方法)

第 1 試薬と第 2 試薬とを組合せ、日立 7 1 7 0 形自動分析装置を用いて上述の基準測定法例で用いたヒト血清検体 (n = 7) を測定した。具体的には、ヒト血清 3 μ L に、第 1 試薬 1 5 0 μ L を加えて 3 7 $^{\circ}$ C で 5 分間加温後、第 2 試薬 5 0 μ L を加えて攪拌した。その後 5 分間の凝集形成に伴う吸光度変化を、主波長 5 7 0 n m、副波長 8 0 0 n m にて測定した。別途、上述の M M P - 3 溶解液の希釈系列をキャリブレーションとして測定し、検量線を作成し、ヒト血清中の M M P - 3 濃度を算出した。

30

【 0 0 5 0 】

4 . 結果

プルロニック F 8 8 を第 1 試薬に添加した L T I A 試薬での測定値 (実施例) は、プルロニック F 8 8 を第 1 試薬に添加しない L T I A 試薬での測定値 (対照例) と比較して、基準測定値に対するかたより等が収束し、基準測定値との相関性が向上した (図 1) 。

【 0 0 5 1 】

〔実施例 2〕本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体の効果確認 (2)

40

1 . 試薬及び測定方法

ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体として、表 1 記載の種類及び濃度を選び第 1 試薬を調製した以外は、実施例 1 と同様の操作を行い、ヒト血清検体 (n = 2 0) 中の M M P - 3 を測定し、基準測定値との関係を解析し、本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体の効果を確認した。

【 0 0 5 2 】

2 . 結果

結果を表 1 に示した。本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体 (プルロニック F 8 8、プルロニック F 1 0 8 (以上、アデカ社製)、あるいはエパン 7 8 5 (第一工業製薬社製)) を第 1 試薬に添加した L T I A 試薬での測定値 (実施例 2 a ~ 2

50

f) は、本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体を第1試薬に添加しないL T I A試薬での測定値(対照例)と比較して、基準測定値に対するかたよりが収束した。

【0053】

【表1】

	POEPOP		R^2	回帰式
	種類	濃度 (%)		
対照例	無添加	0	0.97	$y=0.85x-0.10$
実施例2 a	プルロニック	0.005	0.97	$y=0.90x-1.52$
実施例2 b	F88	0.015	0.97	$y=0.97x-5.44$
実施例2 c	プルロニック	0.0001	0.98	$y=0.96x-4.20$
実施例2 d	F108	0.00025	0.97	$y=1.11x+6.04$
実施例2 e	エハソ785	0.02	0.98	$y=0.90x+3.83$
実施例2 f		0.05	0.98	$y=0.99x+13.35$

POEPOP：ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体

R^2 ：基準測定値との相関係数

濃度は第1試薬中の濃度を示す。

【0054】

〔実施例3〕本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体の効果確認(3)

1. 試薬及び測定方法

0.015%になるようプルロニックF88を添加して実施例の第1試薬とした。同一ヒト個体から採取した血清検体及びEDTA血漿検体中のMMP-3を測定し、マトリクス成分としてのEDTAが測定系にあたえる影響を、本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体が回避可能か両検体の測定値及び両検体の測定値の比率(EDTA血漿の測定値/血清の測定値)で評価した。

【0055】

2. 結果

結果を表2に示した。本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体を第1試薬に添加しないL T I A試薬(対照例)での比率に対して、本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体であるプルロニックF88を第1試薬に添加したL T I A試薬での比率は100%に近づき、本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体が、マトリクス成分としてのEDTAが測定系にあたえる影響を低減できることが確認された。

【0056】

【表 2】

検体	対照例			実施例 3		
	血清 ng/mL	EDTA 血漿 ng/mL	比率 %	血清 ng/mL	EDTA 血漿 ng/mL	比率 %
1	55.6	49.2	88.5	63.3	59.7	94.3
2	93.7	74.5	79.5	102.7	93.4	90.9
3	126.1	112.1	88.9	138.7	131.0	94.4
4	691.0	562.0	81.3	737.2	645.2	87.5

比率: EDTA血漿の測定値/血清の測定値

【産業上の利用可能性】

【0057】

本発明により、試料中の成分の影響を抑制し、マトリクス効果の低減された L T I A 法が提供される。本発明により、L T I A 法による正確な測定を行うことが可能になる。

【受託番号】

【0058】

[寄託された微生物への言及]

(1) 8 2 2 0 8 抗体を産生するハイブリドーマ 8 2 2 0 8

イ 当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

独立行政法人 産業技術総合研究所 特許生物寄託センター

日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番地 1 中央 6 (郵便番号 3 0 5 - 8 5 6 6)

ロ イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

平成 2 4 年 1 月 2 7 日 (2 0 1 2 年 1 月 2 7 日)

ハ イの寄託機関が寄託について付した受託番号

F E R M P - 2 2 2 1 9

(2) 8 2 2 1 6 抗体を産生するハイブリドーマ 8 2 2 1 6

イ 当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

独立行政法人 産業技術総合研究所 特許生物寄託センター

日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番地 1 中央 6 (郵便番号 3 0 5 - 8 5 6 6)

ロ イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

平成 2 2 年 4 月 2 7 日 (2 0 1 0 年 4 月 2 7 日) (原寄託日)

平成 2 4 年 5 月 2 5 日 (2 0 1 2 年 5 月 2 5 日) (原寄託によりブタペスト条約に

基づく寄託への移管日)

ハ イの寄託機関が寄託について付した受託番号

F E R M B P - 1 1 4 8 6

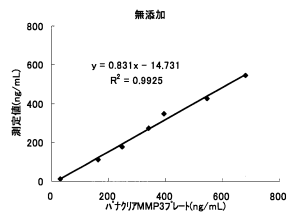
10

30

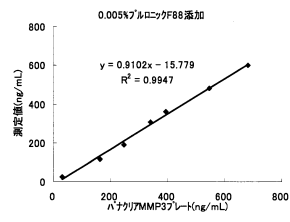
40

【図 1】

(対照例)



(実施例)



フロントページの続き

(72)発明者 平山 明義
茨城県龍ケ崎市向陽台三丁目3番地1 積水メディカル株式会社内

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 特開平02-103466(JP,A)
特開昭51-009716(JP,A)
特開2007-225343(JP,A)
国際公開第2011/65573(WO,A1)
国際公開第2011/125912(WO,A1)
特公昭60-4938(JP,B2)
米国特許出願公開第2006/0275841(US,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/53-33/577

专利名称(译)	乳胶免疫凝集试验试剂		
公开(公告)号	JP6242068B2	公开(公告)日	2017-12-06
申请号	JP2013082493	申请日	2013-04-10
[标]申请(专利权)人(译)	积水医疗株式会社		
申请(专利权)人(译)	积水医疗有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	积水医疗有限公司		
[标]发明人	高橋弘至 片岡智恵 中山真也 平山明義		
发明人	高橋 弘至 片岡 智恵 中山 真也 平山 明義		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/545 G01N33/543 G01N33/577		
FI分类号	G01N33/531.B G01N33/545.B G01N33/543.583 G01N33/577.B		
其他公开文献	JP2014206391A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种用于降低由胶乳免疫凝集测定法中的样品中待测组分以外的组分引起的所谓基质效应的方法。通过进行所述的聚氧乙烯聚氧丙烯共聚物的存在下，胶乳免疫凝集反应，降低了基体效应，它可能是一个准确的测量。【选型图】无

(19) 日本国特許庁(JP)	(12) 特 許 公 報(B2)	(11) 特許番号 特許第6242068号 (P6242068)
(45) 発行日 平成29年12月6日(2017.12.6)	(24) 登録日 平成29年11月17日(2017.11.17)	
(51) Int. Cl.	F I	
GO 1 N 33/531 (2006.01)	GO 1 N 33/531 B	
GO 1 N 33/545 (2006.01)	GO 1 N 33/545 B	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 8 3	
GO 1 N 33/577 (2006.01)	GO 1 N 33/577 B	
請求項の数 11 (全 17 頁)		
(21) 出願番号 特願2013-82493 (P2013-82493)	(73) 特許権者 390037327	
(22) 出願日 平成25年4月10日(2013.4.10)	積水メディカル株式会社	
(65) 公開番号 特開2014-206391 (P2014-206391A)	東京都中央区日本橋二丁目1番3号	
(43) 公開日 平成28年10月30日(2014.10.30)	110000774	
審査請求日 平成28年4月4日(2016.4.4)	(74) 代理人 特許業務法人 もえぎ特許事務所	
	(72) 発明者 高橋 弘至	
	茨城県龍ヶ崎市内向陽台三丁目3番地1 積	
	水メディカル株式会社内	
	(72) 発明者 片岡 智恵	
	茨城県龍ヶ崎市内向陽台三丁目3番地1 積	
	水メディカル株式会社内	
	(72) 発明者 中山 真也	
	茨城県龍ヶ崎市内向陽台三丁目3番地1 積	
	水メディカル株式会社内	
最終頁に続く		
(54) 【発明の名称】 ラテックス免疫凝集測定試薬		