

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4236629号  
(P4236629)

(45) 発行日 平成21年3月11日(2009.3.11)

(24) 登録日 平成20年12月26日(2008.12.26)

(51) Int.Cl. F I  
**GO 1 N 33/53 (2006.01)** GO 1 N 33/53 D  
 GO 1 N 33/543 (2006.01) GO 1 N 33/543 5 2 1

請求項の数 3 外国語出願 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2004-339760 (P2004-339760)	(73) 特許権者	591003013
(22) 出願日	平成16年11月25日(2004.11.25)		エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
(65) 公開番号	特開2005-181304 (P2005-181304A)		F. HOFFMANN-LA ROCH
(43) 公開日	平成17年7月7日(2005.7.7)		E AKTIENGESELLSCHAFT
審査請求日	平成16年11月26日(2004.11.26)		スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
(31) 優先権主張番号	10355731.8		グレンツァーヘルストラッセ124
(32) 優先日	平成15年11月28日(2003.11.28)	(74) 代理人	100091096
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		弁理士 平木 祐輔
		(74) 代理人	100096183
			弁理士 石井 貞次
		(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 節

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 NT-proBNPを測定するためのサンドイッチ分析試験

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

NT-proBNPを測定するための免疫クロマトグラフィー試験ストリップの形態をした免疫学的サンドイッチ試験装置であって、

NT-proBNPに対する少なくとも2つの抗体が使用されており、ここで、これらの抗体の1つは、NT-proBNPのアミノ酸13-16またはアミノ酸27-31を含むエピトープの部分に対するモノクローナル抗体(MAB)であり、そして

これらの抗体の1つは、NT-proBNPのアミノ酸39-50を含むエピトープの部分に対するポリクローナル抗体(PAB)である、

ことを特徴とする、上記免疫学的試験装置。

10

【請求項2】

以下の抗体の組み合わせ：

DSM ACC 2592として寄託された細胞系により産生されるMAB 18.4.34(27-31)とPAB(39-50)との組み合わせ；あるいは

DSM ACC 2591として寄託された細胞系により産生されるMAB 17.3.1(13-16)とPAB(39-50)との組み合わせ；

を使用することを特徴とする、請求項1に記載の免疫学的試験装置。

【請求項3】

請求項1または2に記載の免疫学的試験装置を用いることを特徴とする、NT-proBNPの検出方法。

20

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、N末端プロ脳性ナトリウム利尿ペプチド（NT-proBNP）を測定するための、サンドイッチ分析試験、特に試験成分、及び特にサンドイッチ法の原理を利用した免疫クロマトグラフィー試験ストリップの形態に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

NT-proBNPは、心不全の診断及び管理のための非常に有望なマーカーである。心不全及びこの疾患のためのマーカー物質としてのNT-proBNPの重要性に関する概説は、例えばWO00/45176号の第1～4頁（該参考文献は本明細書に明示的に組み込まれる）に記載されている。さらに、米国特許第5,786,163号、同第6,461,828号、同第6,117,644号、EP1151304号、WO02/083913号及びEP特許出願第03010591.0号（2003年5月12日、Klemtrら）の文献は、NT-proBNP、これに対する抗体、及び測定方法に関する。

10

## 【0003】

現在、診断市場ではin-vitroでのNT-proBNP試験しか入手可能ではなく、Roche Diagnostics製の完全自動化ElecSys（登録商標）NT-proBNP試験であり、これは、電気化学発光検出を用いたサンドイッチ反応に基づいている。この試験は、巨大な中央研究所において使用する目的で設計されており、また、正確に計量した液体試薬を使用するため、液体を計量し、また試験を行うためには発光シグナルを検出するための比較的複雑な機械が必要である。必要であれば評価装置を使用することなく可視的に評価することのできる、取扱いが簡便なNT-proBNPの迅速試験は現在市場にはない。

20

## 【0004】

物質を免疫学的に検出するための迅速試験は、長い間、例えばWO97/06439号、EP0291194号、米国特許第5,591,645号、同第4,861,711号、同第5,141,850号、同第6,506,612号、同第5,458,852号、同第5,073,484号に記載されるように、多くの種々のパラメーターについて知られている。これらの場合、免疫学的検出試薬（本質的には、標識及び未標識の抗体又は抗原）は、通常、支持体上又は支持体中に存在する液体サンプル（特に、血液、血清、血漿、尿、唾液などの体液）の移動が可能となるよう支持体上に乾燥形態で提供される。この目的のため、支持体は、好ましくは毛管作用を有するもの、例えばキャピラリー溝を備えた膜又はプラスチック製支持体である。当業者においては、これらは免疫クロマトグラフィー試験ストリップ又は試験装置と呼ばれることが多い。

30

## 【0005】

急性呼吸窮迫症の患者においては、NT-proBNPの測定をできる限り迅速に行って、呼吸困難が原因で生じる心不全を排除又は診断し、適切な処置を開始することが好ましい。ElecSys（登録商標）NT-proBNP試験は中央研究所においてのみ実施できるものであるため、日常の時間外でNT-proBNPを迅速に測定することは困難である。従って、日常の時間外に救急病棟内で直接実施することができる迅速試験が利用可能であれば、救急病棟に特に利益がもたらされるだろう。しかしながら、この迅速試験は、実際に行われる試験の種類とは無関係に結果が良好な適合性を満たすように、中央研究所の基準方法（ElecSys（登録商標）NT-proBNP）と同じ基準範囲及びカットオフ値を保証する必要がある。

40

## 【0006】

ElecSys（登録商標）NT-proBNP試験で使用されるポリクローナル抗体（PAB）は、NT-proBNPの非常に特別な分画を認識するものである（「ネイティブ」NT-proBNP；EP特許出願第03010591.0号（2003年5月1

50

2日、K l e m t ら)、この試験では、NT - p r o B N P のアミノ酸 1 - 2 1 ( A A 1 - 2 1 ) 及び 3 9 - 5 0 ( A A 3 9 - 5 0 ) を含むエピトープを認識する)。しかしながら、これらのポリクローナル抗体は、標識としてコロイド金などの粒状標識を使用する NT - p r o B N P 迅速試験には不適切であることが判明した。その理由は、これらの標識が、迅速試験の成分(例えば、支持部材、マトリックスなど)との物理 - 化学的相互作用によりシグナル発生において高い変動を示すが、これは好ましくないためである。このため、バッチ間で試験の質に顕著な変動が生じる。

【特許文献 1】WO 0 0 / 4 5 1 7 6 号

【特許文献 2】米国特許第 5 , 7 8 6 , 1 6 3 号

【特許文献 3】米国特許第 6 , 4 6 1 , 8 2 8 号

【特許文献 4】米国特許第 6 , 1 1 7 , 6 4 4 号

【特許文献 5】E P 1 1 5 1 3 0 4 号

【特許文献 6】WO 0 2 / 0 8 3 9 1 3 号

【特許文献 7】E P 特許出願第 0 3 0 1 0 5 9 1 . 0 号 ( 2 0 0 3 年 5 月 1 2 日、K l e m t ら )

【特許文献 8】WO 9 7 / 0 6 4 3 9 号

【特許文献 9】E P 0 2 9 1 1 9 4 号

【特許文献 1 0】米国特許第 5 , 5 9 1 , 6 4 5 号

【特許文献 1 1】米国特許第 4 , 8 6 1 , 7 1 1 号

【特許文献 1 2】米国特許第 5 , 1 4 1 , 8 5 0 号

【特許文献 1 3】米国特許第 6 , 5 0 6 , 6 1 2 号

【特許文献 1 4】米国特許第 5 , 4 5 8 , 8 5 2 号

【特許文献 1 5】米国特許第 5 , 0 7 3 , 4 8 4 号

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7】

以上のように、本発明の目的は、従来技術の不都合点を解消することである。特に、再現性をもって実施され、かつ研究室で用いられる方法と良好な相関を示す、NT - p r o B N P を測定するための迅速試験を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 8】

上記課題は、本発明により達成される。

【 0 0 0 9】

本発明は、免疫学的試験、特に、特許請求の範囲の独立項に記載されるような分析試験用成分などの迅速試験の形態に関する。従属項に記載される実施形態が好ましい。

【 0 0 1 0】

サンドイッチ形式の免疫学的試験、特に E l e c s y s (登録商標)の基準方法と十分に相関する迅速試験を実施するための本発明の解決手段は、少なくとも 1 つの抗体はモノクローナル抗体 ( M A B ) である、NT - p r o B N P に対する少なくとも 2 つの抗体を含む特定の抗体の組み合わせを使用するものである。本発明に係るサンドイッチ試験の別の抗体は、M A B であってもよいし又はポリクローナル抗体 ( P A B ) であってもよい。この点に関し、これらの抗体 ( A B と略す ) の 1 つは、少なくとも NT - p r o B N P のアミノ酸 3 8 ~ 5 0 を含むエピトープの部分に対して作製されたものである (以下、A B ( 3 8 - 5 0 ) 又は M A B ( 3 8 - 5 0 ) 又は P A B ( 3 8 - 5 0 ) と略す)。別の少なくとも 1 つの抗体は、少なくとも NT - p r o B N P のアミノ酸 1 ~ 3 7 又は 4 3 ~ 7 6 を含むエピトープの部分に対して作製されたものである (以下、A B ( 1 - 3 7 ) 若しくは A B ( 4 3 - 7 6 ) 又は M A B ( 1 - 3 7 ) 若しくは M A B ( 4 3 - 7 6 ) 又は P A B ( 1 - 3 7 ) 若しくは P A B ( 4 3 - 7 6 ) )。上記抗体により認識されるエピトープは、わずかに重複していてもよく、好ましくは 5 アミノ酸未満、特に好ましくは 2 アミノ酸未満が重複していてもよい。

10

20

30

40

50

## 【0011】

抗体の組み合わせは、NT - p r o B N Pに対する少なくとも1つのポリクローナル抗体 ( P A B ) と1つのモノクローナル抗体 ( M A B ) を含む (いわゆる P A B / M A B 組み合わせ) ことが好ましい。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0012】

本特許出願において使用する P A B ( X - Y ) という用語は、NT - p r o B N P のアミノ酸 X ~ Y を含むエピトープに対して作製されたポリクローナル抗体を意味する。M A B ( X - Y ) は対応するモノクローナル抗体である。A B ( X - Y ) は、一般的には NT - p r o B N P のアミノ酸 X ~ Y を含むエピトープに対して作製された抗体 (例えば P A B 又は M A B ) を意味する。

10

## 【0013】

M A B a . b . c . ( X - Y ) は、寄託細胞系 a . b . c から得られる、NT - p r o B N P のアミノ酸 X ~ Y を含むエピトープに対して作製されたモノクローナル抗体である。

## 【0014】

抗体と標識との結合体の品質の再現性を保証するために、M A B を、粒状標識、特に金標識上に固定化することが好ましい。他の好適な粒状標識としては、例えば、着色ラテックス、他の金属ゾル標識、ポリマー標識又は半導体ナノ結晶 (いわゆる量子ドット) などがある。M A B - 標識結合体は、例えば、好適な支持部材 (フリース、膜など) を浸漬することにより、サンプル液体により迅速分析装置から分離できるように迅速試験装置に提供することが好ましい。しかしながら、M A B - 標識結合体は、溶液として迅速試験に添加することも可能である。

20

## 【0015】

哺乳動物、特にヒツジ、ヤギ又はウサギを免疫することにより好ましく得られる P A B は、ピオチン誘導体として迅速試験に提供することが好ましく、アビジン又はストレプトアビジン検出系に結合させてもよい。しかしながら、迅速試験装置において P A B を直接固定化することも可能であり、例えば適当なクロマトグラフィー膜上の検出系の形態で固定化することが可能である。

## 【0016】

本発明においては、それほど好ましくはないが、標識 A B 、特に標識 M A B と、第二抗体、特に迅速試験のための溶液 (1種又は複数) 中の第二 M A B 又は P A B を使用することも可能である。適当に標識された A B を捕捉することができる結合パートナーを試験装置の検出ゾーンに配置して、それにより第一抗体、分析対象物及び第二抗体を含むサンドイッチ複合体を迅速試験の固相に結合させることもできる。

30

## 【0017】

本発明において使用される M A B は、基準系 ( E l e c s y s (登録商標) 試験) と良好な相関を満たすために、該基準系において検出されるエピトープ ( A A 1 - 2 1 ) を認識する必要は必ずしもない。請求項 1 に示される抗体の組み合わせ、特に M A B 1 7 . 3 . 1 ( 1 3 - 1 6 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) 及び M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) の M A B / P A B 組み合わせは、NT - p r o B N P のエピトープ A A 1 - 2 1 及び A A 3 9 - 5 0 に対するポリクローナル抗体 ( ( P A B ( 1 - 2 1 ) 及び P A B ( 3 9 - 5 0 ) ) を使用する E l e c s y s (登録商標) 基準系と十分に相関する。

40

## 【0018】

P A B ( 1 - 2 1 ) 及び P A B ( 3 9 - 5 0 ) などのポリクローナル抗体は、当業者に公知の方法、特に W O 0 0 / 4 5 1 7 6 号の実施例 2 と類似の方法により取得し、特性決定し、同定することができる。

## 【0019】

M A B ( 3 8 - 4 2 ) 及び M A B ( 4 4 - 5 0 ) などのモノクローナル抗体は、当業者に公知の方法、特に W O 0 0 / 4 5 1 7 6 号の実施例 3、又は E P 特許出願第 0 3 0 1

50

0 5 9 1 . 0 号 ( K l e m t ら、 2 0 0 3 年 5 月 1 2 日 ) の 実 施 例 3 と 類 似 の 方 法 に よ り 取 得 し、 特 性 決 定 し、 同 定 す る こ と が で き る。

【 0 0 2 0 】

抗体は、当業者に公知の方法により、例えば金又は他の標識、ビオチンなどで標識する ( W O 0 0 / 4 5 1 7 6 号 の 実 施 例 2、 E P 特 許 出 願 第 0 3 0 1 0 5 9 1 . 0 号 ( K l e m t ら、 2 0 0 3 年 5 月 1 2 日 ) の 実 施 例 2 を 参 照 )。 金 を 用 い た 標 識 は、 例 え ば E P - A 0 8 9 8 1 7 0 号 に 詳 細 に 記 載 さ れ て い る。

【 0 0 2 1 】

特に、好ましいモノクローナル抗体 M A B 1 7 . 3 . 1 ( 1 3 - 1 6 )、 M A B 1 6 . 1 . 3 9 ( 3 8 - 4 2 )、 M A B 1 8 . 2 9 . 2 3 ( 6 4 - 6 7 ) 及 び M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) は、 E P 特 許 出 願 第 0 3 0 1 0 5 9 1 . 0 号 ( K l e m t ら、 2 0 0 3 年 5 月 1 2 日 出 願 ) の 実 施 例 3 に 従 っ て 取 得 す る こ と が で き る。 対 応 す る 細 胞 系 は、 「 D e u t s c h e S a m m l u n g v o n M i k r o o r g a n i s m e n u n d Z e l l k u l t u r e n G m b H ( D S Z M ) 」 に 以 下 の 受 託 番 号 及 び 受 託 日 で 寄 託 さ れ て い る： M A B 1 7 . 3 . 1 ( 1 3 - 1 6 ) に つ い て は D S M A C C 2 5 9 1 ( 2 0 0 3 年 5 月 7 日 )； M A B 1 6 . 1 . 3 9 ( 3 8 - 4 2 ) に つ い て は D S M A C C 2 5 9 0 ( 2 0 0 3 年 5 月 7 日 )； M A B 1 8 . 2 9 . 2 3 ( 6 4 - 6 7 ) に つ い て は D S M A C C 2 5 9 3 ( 2 0 0 3 年 5 月 7 日 )； 及 び M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) に つ い て は D S M A C C 2 5 9 2 ( 2 0 0 3 年 5 月 7 日 )。

【 0 0 2 2 】

M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) の 組 み 合 わ せ は、 M A B 1 7 . 3 . 1 ( 1 3 - 1 6 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) の 組 み 合 わ せ を 用 い る 基 準 試 験 と 比 較 的 良 好 な 相 関 を 示 す ( 実 施 例 2 も 参 照 )。

【 0 0 2 3 】

さらに、 M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) の 組 み 合 わ せ が 本 発 明 に 係 る 試 験 に 特 に 有 利 で あ る と 証 明 さ れ た。 こ の 組 み 合 わ せ に よ っ て、 迅 速 試 験 に 特 に 好 適 な 機 能 曲 線 を 使 用 し 得 る ( 実 施 例 3 参 照 )。 相 対 的 に、 M A B 1 7 . 3 . 1 ( 1 3 - 1 6 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) の 組 み 合 わ せ は 試 験 感 度 が 良 好 で は な い こ と が 示 さ れ た。

【 0 0 2 4 】

本発明を、以下の実施例及び図面に基づいてさらに説明する。

【 実 施 例 1 】

【 0 0 2 5 】

全血から NT - p r o B N P を 測 定 す る た め の 試 験 装 置 の 準 備 ( 図 1 参 照 )

試験装置 ( 図 1 ) は、サンプル導入ゾーン ( 1 )、赤血球分離ゾーン ( 2 )、検出ゾーン ( 3 )、及び吸引ゾーン ( 4 ) が備え付けられた支持部材 ( 5 ) から構成される。赤血球分離ゾーン ( 7 ) と部分的に重複するサンプル導入マトリックス ( 6 ) は、サンプル導入ゾーン ( 1 ) に配置されている。次に、赤血球分離マトリックス ( 7 ) は、線状に固定化物質が塗布されている ( 9 ) 検出マトリックス ( 8 ) ( 検出ゾーン ) と若干重複している。吸引マトリックス ( 1 0 ) は検出マトリックス ( 8 ) と若干重複している。検出しようとする分析対象物との複合体を形成するために必要なすべての試薬は、サンプル導入マトリックス ( 6 ) に供給する。この場合、サンプル導入ゾーンは、重なり合う 2 つのフリースからなり、第 1 フリース ( 金フリース ) は NT - p r o B N P ( M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) ) 対 する 金 標 識 抗 体 を 含 浸 さ せ た も の で あ り、 第 2 フリース ( ビオチンフリース ) は NT - p r o B N P ( P A B ( 3 9 - 5 0 ) ) 対 する ビオチニル化抗体を含有する。ストレプトアビジンで作製された線 ( 9 ) は検出ゾーン ( 3 ) 内に設ける。

【 0 0 2 6 】

3 5 0 μ m 厚 の プ ラ ス チ ッ ク 薄 片 ( P u t z ) を 支 持 層 ( 5 ) と し て 使 用 す る。 3 6 0 μ m 厚 の ポ リ エ ス テ ル フ リ ー ス ( R o c h e D i a g n o s t i c s ) を サ ン プ ル 導 入 マ ト リ ッ ク ス ( 6 ) の 「 金 フ リ ー ス 」 及 び 「 ビ オ チ ン フ リ ー ス 」 と し て 使 用 す る。 1 . 8

10

20

30

40

50

mm厚のガラスファイバーフリース (Roche Diagnostics) を赤血球分離マトリックス (7) として使用する。140 μm厚のニトロセルロース膜 (Sartorius) を検出マトリックス (8) として使用する。1.8 mm厚のガラスファイバーフリース (Roche Diagnostics) を吸引マトリックス (10) として使用する。個々の構成要素 (6、7、8、10) を、図1に示すように、若干重複させて熱溶解接着剤で支持層 (5) 上に接着する。

【0027】

「金及びビオチンフリース」の含浸製剤は、以下のとおりである：

「ビオチンフリース」：100 mM HEPES pH7.4、0.1% Tween (登録商標)、20 μg/ml ビオチニル化PAB (39-50)

「金フリース」：100 mM HEPES pH7.4、OD4 MAB18.4.34 (27-31) 金結合体

【実施例2】

【0028】

Electsysis (登録商標) 形式におけるエピトープ/抗体の組み合わせMAB17.3.1 (13-16) / PAB (39-50) 及びMAB18.4.34 (27-31) / PAB (39-50) と、Electsysis (登録商標) NT-proBNP 試験キットの相関 (図2及び3参照)

MAB17.3.1 (13-16) / PAB (39-50) とMAB18.4.34 (27-31) / PAB (39-50) のMAB/PAB組み合わせとElectsysis (登録商標) 試験キット (PAB (1-21) / PAB (30-50)) との相関を、Electsysis (登録商標) 2010 (Roche Diagnostics) を用いて電気化学発光イムノアッセイにおいて調べた。このため、PAB (39-50) をビオチニル化捕捉試薬として使用し、MABのルテニウム付加F(ab')<sub>2</sub> フラグメントを検出試薬として使用した。20 μlのサンプル又は標準物質をそれぞれ、75 μlの2つの抗体試薬と共に、37 °Cにて9分間インキュベートした。その後、35 μlのストレプトアビジン被覆磁性ポリスチレン粒子を添加し、さらに室温にて9分間インキュベートした。インキュベーション溶液のアリコートの電気発光シグナルを慣用法に従ってElectsysis (登録商標) 2010で測定し、標準曲線を用いて濃度シグナルに変換した。

【0029】

この時点で、心不全患者由来の臨床サンプルを2つのMAB/PAB改変試験とElectsysis (登録商標) キットを用いて測定した。結果を図2及び3に示す。両方のMAB/PAB改変試験を用いて、Electsysis (登録商標) キットに対する非常に良好な相関 ( $r = 0.978$  及び  $r = 0.957$ ) が達成された。

【実施例3】

【0030】

2つの異なるMAB/PAB組み合わせを用いたNT-proBNP試験ストリップの機能曲線

NT-proBNP試験ストリップを実施例1と同様にして準備した。試薬フリースのために以下の含浸製剤を使用した：

「ビオチンフリース」：100 mM HEPES pH7.4、0.1% Tween (登録商標)、

20 μg/ml ビオチニル化PAB (39-50)

「金フリース」：100 mM HEPES pH7.4、OD4 MAB18.4.34 (27-31) 又はMAB17.3.1 (13-16) 金結合体

【0031】

健常ドナーからのヘパリン添加血液サンプルに心不全患者のNT-proBNP含有血清を混合し、等分した。150 μlの混合血液サンプルを試験ストリップにピペットで導入し、標準法に従ってCARDIAC Reader (登録商標) (Roche Diagnostics) で測定した。サンプル検出後の反応時間は12分とした。サンプルのNT

10

20

30

40

50

- p r o B N P濃度を測定するために、1つのアリコートから血漿を遠心分離し、E l e c s y s (登録商標) N T - p r o B N Pキット ( R o c h e D i a g n o s t i c s ) を用いて測定した。2つの改変試験ストリップ M A B 1 7 . 3 . 1 ( 1 3 - 1 6 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) 及び M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) を用いて得られた機能曲線を図4に示す。M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) 改変試験は顕著に急勾配の標準曲線を示し、より高感度な試験といえる。

【実施例4】

【0032】

E l e c s y s (登録商標) N T - p r o B N P試験キットに対するN T - p r o B N P試験ストリップとA B組み合わせ ( A u - M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / B i - P A B ( 3 9 - 5 0 ) ) の相関

10

心不全患者からのN T - p r o B N P含有血清を健常ドナー由来のヘパリン添加血液サンプルに添加し、等分した。150µlのこれらの「混合 ( s p i k e d ) 」血液サンプルを試験ストリップにピペットで導入し、C A R D I A C R e a d e r (登録商標) ( R o c h e D i a g n o s t i c s ) で標準的な方法に従って測定した。同じサンプルに由来する血漿を遠心分離し、E l e c s y s (登録商標) N T - p r o B N Pキットを用いてE l e c s y s (登録商標) 1010分析システム ( R o c h e D i a g n o s t i c s ) で測定した。60サンプルをこのようにして調製し、両方のシステムで測定した。図5は、両方のシステムで測定した値を示す。相関は $r = 0.95$ で非常に良好であった。

【図面の簡単な説明】

20

【0033】

【図1】本発明に係る迅速試験装置の免疫クロマトグラフィー試験ストリップの形態の好ましい実施形態の概略を示す。

【図2】E l e c s y s (登録商標) 湿潤試験形式における抗体の組み合わせ M A B 1 7 . 3 . 1 ( 1 3 - 1 6 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) と E l e c s y s (登録商標) 基準法 P A B ( 1 - 2 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) との相関を示す。

【図3】E l e c s y s (登録商標) 湿潤試験形式における抗体の組み合わせ M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) と E l e c s y s (登録商標) 基準法 P A B ( 1 - 2 1 ) / P A B ( 3 9 - 5 0 ) との相関を示す。

【図4】実施例1に記載した、種々の抗体組み合わせを用いたN T - p r o B N P試験ストリップの機能曲線を示す。

30

【図5】E l e c s y s (登録商標) N T - p r o B N P試験キットに対する、A u - M A B 1 8 . 4 . 3 4 ( 2 7 - 3 1 ) / B i - P A B ( 3 9 - 5 0 ) の抗体の組み合わせを用いたN T - p r o B N P試験ストリップの相関を示す。

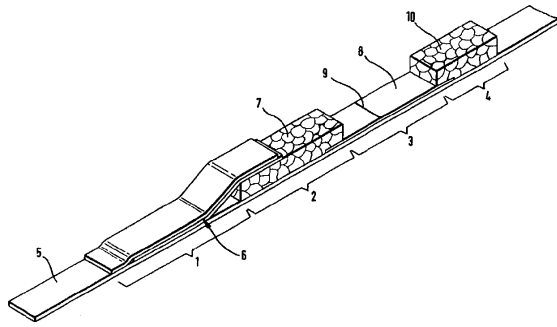
【符号の説明】

【0034】

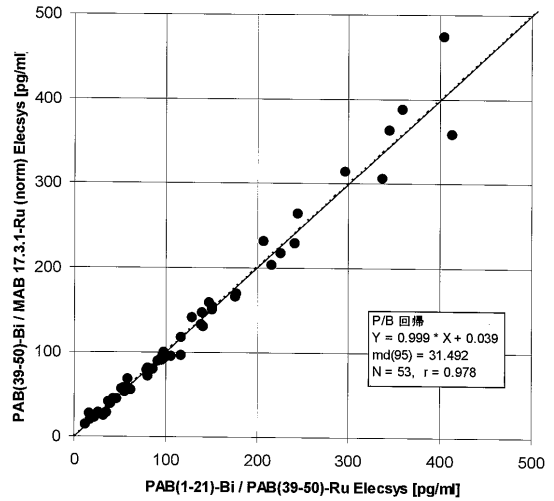
- 1 サンプル導入ゾーン
- 2 赤血球分離ゾーン
- 3 検出ゾーン
- 4 吸引ゾーン
- 5 支持部材
- 6 サンプル導入マトリックス ( ビオチンフリース及び金フリース )
- 7 赤血球分離マトリックス
- 8 検出マトリックス
- 9 線形固定ゾーン
- 10 吸引マトリックス

40

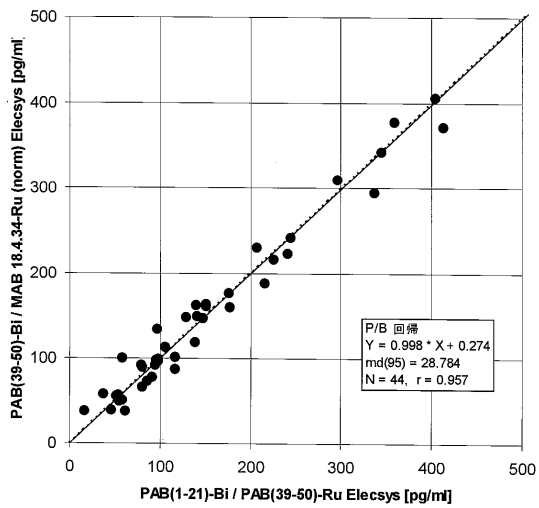
【 図 1 】



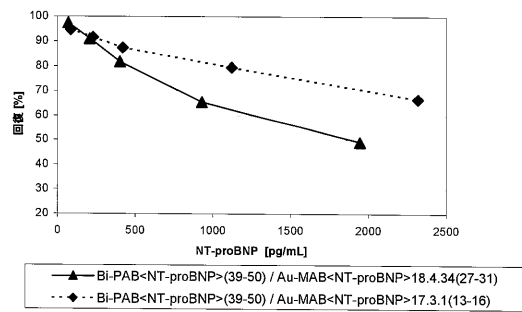
【 図 2 】



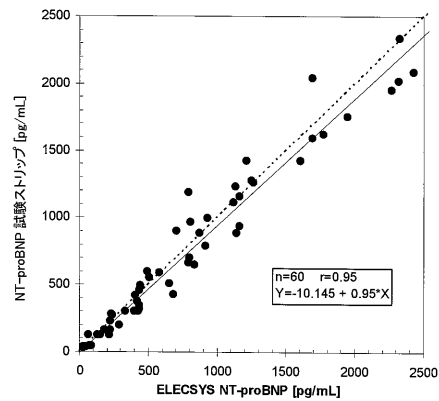
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



## フロントページの続き

- (72)発明者 ユールゲン スピンケ  
ドイツ連邦共和国 6 4 6 5 3 ローシュ, マグノリーンシュトラッセ 2 9
- (72)発明者 アルフォンス ニヒトル  
ドイツ連邦共和国 8 2 3 8 3 ホーエンパイッセンベルク, ムーレンヴェーク 1 1
- (72)発明者 フォルカー クレムト  
ドイツ連邦共和国 8 2 3 6 2 ヴァイルハイム, フランツィスクスヴェーク 8
- (72)発明者 クラウス ハルラーマイヤー  
ドイツ連邦共和国 8 2 3 4 0 フェルダフィング, プショールシュトラッセ 1
- (72)発明者 ミカエル グロル  
ドイツ連邦共和国 8 2 3 4 0 フェルダフィング, ポッセンホフェナー シュトラッセ 2 2
- (72)発明者 アンネリーゼ ボーグヤ  
ドイツ連邦共和国 8 2 4 0 2 ゼーエスハウプト, タンネンシュトラッセ 1
- (72)発明者 アンドレアス ガルラッサー  
ドイツ連邦共和国 8 2 3 7 7 ペンツベルク, アム ファーヘンホルツ 1 0

審査官 三木 隆

- (56)参考文献 特表平07-507210(JP, A)  
特表2003-508724(JP, A)  
国際公開第03/087819(WO, A1)  
Clinical Science, 1999年, Vol.96, No.4, page.373-380

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G 0 1 N 3 3 / 4 8 ~ 3 3 / 9 8

专利名称(译)	用于测量NT-proBNP的夹心分析测试		
公开(公告)号	<a href="#">JP4236629B2</a>	公开(公告)日	2009-03-11
申请号	JP2004339760	申请日	2004-11-25
申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
当前申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
[标]发明人	ユールゲンスピンケ アルフォンスニヒトル フォルカークレムト クラウスハルラーマイヤー ミカエルグロル アンネリーゼボーグヤ アンドレアスガルラッサー		
发明人	ユールゲン スピンケ アルフォンス ニヒトル フォルカー クレムト クラウス ハルラーマイヤー ミカエル グロル アンネリーゼ ボーグヤ アンドレアス ガルラッサー		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/577 G01N33/68 G01N33/74		
CPC分类号	G01N33/74 C07K16/26 C07K2317/34 G01N33/5302 G01N33/543 G01N33/558 G01N2333/58 Y10S436/811 Y10S530/80		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/543.521		
审查员(译)	三木隆		
优先权	10355731 2003-11-28 DE		
其他公开文献	JP2005181304A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

(经修改) 需要解决的问题: 提供免疫和快速测量N末端脑钠肽 (NT-proBNP) 的方法, 该肽是心力衰竭诊断和治疗的标志物。解决方案: 使用针对NT-proBNP的两种抗体进行免疫夹心法。其中一种抗体使用单克隆抗体 (MAB)。对于抗体组合, 使用识别具有NT-proBNP的不同氨基酸序列的两个表位的两种抗体。各种表位的组合是可能的。通过免疫色谱法作为方法进行测量。点域1

【图2】

