

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2007/074860

発行日 平成21年6月4日 (2009.6.4)

(43) 国際公開日 **平成19年7月5日 (2007.7.5)**

(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 8 1 J	
GO 1 N 33/545 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 8 3	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/545 B	
GO 1 N 33/573 (2006.01)	GO 1 N 33/53 X	
	GO 1 N 33/53 D	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 19 頁) 最終頁に続く		

出願番号	特願2007-552004 (P2007-552004)	(71) 出願人	390037327 積水メディカル株式会社
(21) 国際出願番号	PCT/JP2006/326030		東京都中央区日本橋3丁目13番5号
(22) 国際出願日	平成18年12月27日 (2006.12.27)	(74) 代理人	110000774 特許業務法人 もえぎ特許事務所
(31) 優先権主張番号	特願2005-379307 (P2005-379307)	(72) 発明者	山本 光章 茨城県龍ヶ崎市向陽台三丁目3番1号 積水メディカル株式会社つくば研究所内
(32) 優先日	平成17年12月28日 (2005.12.28)	(72) 発明者	吉田 忠晃 茨城県龍ヶ崎市向陽台三丁目3番1号 積水メディカル株式会社つくば研究所内
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 凝集測定用試薬及び凝集測定方法

(57) 【要約】

【課題】本発明は、レセプター感作担体粒子と共存させておいても担体粒子の自然凝集が起こらない反応促進剤を用いた凝集測定用試薬及び測定方法の提供を課題とする。

【解決手段】ある種のアミン化合物を用いることによって、担体粒子の自然凝集を起こさずに特異反応に基づく凝集を促進する凝集測定用試薬及び測定方法を提供する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

測定対象のリガンドに対して特異的に反応するレセプターが感作された不溶性担体粒子と有機アミン化合物を含む凝集測定用試薬。

【請求項 2】

有機アミン化合物が、2 - アミノ - 2 - チアゾリン塩酸塩、ベンズアミジン塩酸塩、ベンジルアミン塩酸塩、グアニジン塩酸塩、アミノピリン、アンチピリン、4 - アミノアンチピリン、o フェニレンジアミン二塩酸塩、p アニシジン塩酸塩、ジフェンヒドラミン塩酸塩、2, 4 - ジアミノアニソール二塩酸塩、ピリジン塩酸塩、塩酸 1, 4 - フェニレンジアミン、アミノグアニジン塩酸塩、ペタイン塩酸塩から選ばれる 1 以上の化合物である請求項 1 に記載の凝集測定用試薬。

10

【請求項 3】

不溶性担体粒子がラテックスである請求項 1 又は 2 に記載の凝集測定用試薬。

【請求項 4】

レセプターが抗体（ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはそれらの反応性部位を含む断片）であり、免疫反応に基づく凝集を測定する請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

【請求項 5】

測定対象のリガンドが、C 反応性タンパク（CRP）、FDP、D - ダイマー、前立腺特異抗原（PSA）、ヘモグロビン A_{1c}、アルブミン、ペプシノーゲン I（PGI）、ペプシノーゲン II（PGII）、マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）、トリプシン、キモトリプシン、エラスターゼ、カテプシンから選ばれるいずれか 1 以上である請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

20

【請求項 6】

有機アミン化合物の含有量が、50 ~ 1000 mM である請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

【請求項 7】

有機アミン化合物が、凝集反応の促進作用及び粒子分散性の安定化作用を有するものである請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

【請求項 8】

測定対象のリガンドと特異的に反応するレセプターが感作された不溶性担体粒子と、有機アミン化合物とを共存状態で含む請求項 1 に記載の凝集測定用試薬。

30

【請求項 9】

測定対象のリガンドが 2 種以上であり、不溶性担体粒子が該測定対象と特異的に反応するレセプターをそれぞれ感作したものである、請求項 1 に記載の凝集測定用試薬。

【請求項 10】

測定対象のリガンドに、該リガンドと特異的に反応するレセプターが感作された不溶性担体粒子を添加し、生ずる凝集反応の経時変化を測定する方法であって、少なくとも反応時に有機アミン化合物を共存させることを特徴とする測定方法。

【請求項 11】

あらかじめ有機アミン化合物を共存させた不溶性担体粒子を用いることを特徴とする請求項 10 に記載の測定方法。

40

【請求項 12】

測定対象のリガンドが 2 種以上であり、リガンド（L1）と特異的に反応するレセプター（R1）が感作された不溶性担体粒子を添加し、生ずる凝集反応の経時変化を測定し、実質的に、該反応が定常となった後、又は、該反応を定常とさせた後 / 該反応を定常とさせると同時に、さらに異なるリガンド（L2）と特異的に反応するレセプター（R2）が感作された不溶性担体粒子を添加して凝集反応の経時変化を測定する請求項 11 に記載の測定方法。

【請求項 13】

50

実質的に、該反応を定常とさせる方法が、L 1 と特異的に反応する R 1 を遊離状態で添加するものである請求項 1 2 に記載の測定方法。

【請求項 1 4】

レセプターが抗体（ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはそれらの反応性部位をふくむ断片）である請求項 1 0 ~ 1 3 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 1 5】

有機アミン化合物を含む、凝集測定用試薬に用いる粒子分散性の安定化剤。

【請求項 1 6】

凝集測定用試薬に、有機アミン化合物を添加することを特徴とする凝集測定用試薬の粒子分散性の安定化方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特異的レセプターが感作された不溶性担体粒子の凝集反応によりリガンドを測定するための凝集測定用試薬及び凝集測定方法に関する。

【背景技術】

【0002】

凝集反応を検出する測定法は、凝集板法などで従前より汎用されてきた測定法であるが、なかでも感度・特異性・再現性の高さから抗原抗体反応を利用した免疫凝集法が主流である。

最近では、測定対象であるリガンドを抗原とする特異的抗体を感作させた不溶性担体粒子と汎用自動分析装置を利用し、より高感度かつ簡便にリガンドを測定できるようになったことから、免疫凝集法が臨床検査等で汎用されている。当該免疫凝集法は、抗原抗体反応に基づいて不溶性担体粒子を凝集させ、生じた凝集の程度を光学的に測定することにより測定対象であるリガンドの濃度を測定する方法であり、不溶性担体粒子としてはラテックスが多く用いられている。この場合は特に、ラテックス免疫比濁法（以下、L T I A 法と略する）という。

これまで、L T I A 法において、塩化ナトリウムやグアニジン類などの凝集促進剤を添加すると、免疫凝集の形成が促進され、測定感度が向上することが知られていた（特許文献 1）。

しかし、これらの凝集促進剤を、抗体感作ラテックスと共存させておくと、免疫反応とは関係ない非特異的な抗体感作ラテックスの凝集（自然凝集とも称される）が生じ、長時間保管しておくと、ついには該粒子が沈降してしまうという問題があった。このため、L T I A 法用の測定試薬では、抗体感作ラテックスと凝集促進剤を別々の構成試薬に処方しておき、測定時に混合するという 2 液の試薬から構成されているものが一般的である。

特許文献 2 には、ラテックス凝集反応において測定試料中の成分に由来する非特異的凝集を抑制し、保存安定性に優れることから、アミノスルホン酸塩を試薬中に溶解させ、ラテックス試薬を分散させる方法が開示されている。

また、特許文献 3 には、アミノ酸エステル又はポリアミンをラテックス試薬中に共存させることでタンパク質を安定化させ、ラテックスに結合させたタンパク質同士の非特異的凝集を抑制し、安定化する方法が開示されている。

しかし、これらの文献ではラテックスの非特異的凝集を抑制するという試薬の安定化についてしか言及されておらず、凝集反応の促進効果については不明である。

また、反応促進剤として塩化ナトリウムやグアニジン類を用いた場合であっても、自動分析装置を利用した測定のように、測定時間に制限のある場合には、必ずしも満足できる測定感度が得られるわけではなく、さらに効果の高い反応促進剤の提供が期待されていた。

【特許文献 1】特開平 1 1 - 3 4 4 4 9 3 号公報

【特許文献 2】特開平 7 - 2 2 9 9 0 0 号公報

【特許文献 3】特開 2 0 0 4 - 1 0 8 8 5 0 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

本発明は上記従来技術の問題点を解決するためのものであって、レセプター感作ラテックスと共存させておいても該感作ラテックスの自然凝集が起こらない有機アミン化合物を用いた凝集測定用試薬及び測定方法の提供を課題とする。

また、本発明は、塩化ナトリウムやグアニジン類などの従来の反応促進剤よりも反応促進効果に優れる有機アミン化合物を用いた凝集測定用試薬及び測定方法の提供を別の課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明者らは、ラテックス凝集測定方法において、レセプター感作ラテックスの自然凝集が起こらない化合物について鋭意検討を行ったところ、ある種の有機アミン化合物が該感作ラテックスの自然凝集を起こさずに凝集反応を促進する効果があることを見出し本発明を完成するに至った。

また、これらの有機アミン化合物の中には、従来の反応促進剤よりもさらに優れた効果を有するものがあることを見出し本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は以下の構成を有する。

(1) 測定対象のリガンドに対して特異的に反応するレセプターが感作された不溶性担体粒子と有機アミン化合物を含む凝集測定用試薬。

(2) 有機アミン化合物が、2-アミノ-2-チアゾリン塩酸塩、ベンズアミジン塩酸塩、ベンジルアミン塩酸塩、グアニジン塩酸塩、アミノピリン、アンチピリン、4-アミノアンチピリン、o-フェニレンジアミン二塩酸塩、p-アニシジン塩酸塩、ジフェンヒドラミン塩酸塩、2,4-ジアミノアニソール二塩酸塩、ピリジン塩酸塩、塩酸1,4-フェニレンジアミン、アミノグアニジン塩酸塩、ベタイン塩酸塩から選ばれる1以上の化合物である前記(1)に記載の凝集測定用試薬。

(3) 不溶性担体粒子がラテックスである前記(1)又は(2)に記載の凝集測定用試薬。

(4) レセプターが抗体(ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはそれらの反応性部位を含む断片)であり、免疫反応に基づく凝集を測定する前記(1)~(3)のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

(5) 測定対象のリガンドが、C反応性タンパク(CRP)、FDP、D-ダイマー、前立腺特異抗原(PSA)、ヘモグロビンA_{1c}、アルブミン、ペプシノーゲンI(PGI)、ペプシノーゲンII(PGII)、マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)、トリプシン、キモトリプシン、エラスターゼ、カテプシンから選ばれるいずれか1以上である前記(1)~(4)のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

(6) 有機アミン化合物の含有量が、50~1000mMである前記(1)~(5)のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

(7) 有機アミン化合物が、凝集反応の促進作用及び粒子分散性の安定化作用を有するものである前記(1)~(6)のいずれかに記載の凝集測定用試薬。

(8) 測定対象リガンドと特異的に反応するレセプターが感作された不溶性担体粒子と、有機アミン化合物とを共存状態で含む前記(1)に記載の凝集測定用試薬。

(9) 測定対象のリガンドが2種以上であり、不溶性担体粒子が該測定対象と特異的に反応するレセプターをそれぞれ感作したものである、前記(1)に記載の凝集測定用試薬。

(10) 測定対象のリガンドに、該リガンドと特異的に反応するレセプターが感作された不溶性担体粒子を添加し、生ずる凝集反応の経時変化を測定する方法であって、少なくとも反応時に有機アミン化合物を共存させることを特徴とする測定方法。

(11) あらかじめ有機アミン化合物を共存させた不溶性担体粒子を用いることを特徴とする前記(10)に記載の測定方法。

(12) 測定対象のリガンドが2種以上であり、リガンド(L1)と特異的に反応するレ

10

20

30

40

50

セプター（R1）が感作された不溶性担体粒子を添加し、生ずる凝集反応の経時変化を測定し、実質的に、該反応が定常となった後、又は、該反応を定常とさせた後／該反応を定常とさせると同時に、さらに異なるリガンド（L2）と特異的に反応するレセプター（R2）が感作された不溶性担体粒子を添加して凝集反応の経時変化を測定する前記（11）に記載の測定方法。

（13）実質的に、該反応を定常とさせる方法が、L1と特異的に反応するR1を遊離状態で添加するものである前記（12）に記載の測定方法。

（14）レセプターが抗体（ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはそれらの反応性部位をふくむ断片）である前記（10）～（13）のいずれかに記載の測定方法。

（15）有機アミン化合物を含む、凝集測定用試薬に用いる粒子分散性の安定化剤。

（16）凝集測定用試薬に、有機アミン化合物を添加することを特徴とする凝集測定用試薬の粒子分散性の安定化方法。

【発明の効果】

【0005】

本発明の有機アミン化合物を用いた凝集測定用試薬は、以下の効果を有する。

（1）レセプター感作ラテックスと共存させても自然凝集を起こしにくいため、予めレセプター感作ラテックスに反応促進剤を共存させた1液試薬として調製することが可能である。

（2）1液試薬として調製した場合には、1段階の反応で測定ができるため、従来の2液試薬で要した測定時間の半分以下まで測定時間を短縮することができる。さらに、1液試薬において、従来と同一の測定時間反応させれば、より高い測定感度が得られることになる。

（3）また、2液試薬の測定システムに、前記の様な1液試薬を2種類組み合わせ使用すれば、同一の反応槽内で連続して2種類のリガンドの測定が可能になる。この効果は、同一試料中の2種類のリガンドの含有比率を求めるPGI/PGII比やHbA1cの検査に特に有効である。

（4）凝集反応の反応促進効果に優れるため、反応時間の短縮、ひいては測定時間の短縮、及び／又は測定感度の向上を図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1】ベンジルアミン塩酸塩含有アルブミン測定用ラテックス試薬によるアルブミンの測定結果を示すグラフである。

【図2】2-アミノ-2-チアゾリン塩酸塩含有アルブミン測定用試薬によるアルブミンの測定結果を示すグラフである。

【図3】ベンズアミジン塩酸塩含有アルブミン測定用試薬によるアルブミンの測定結果を示すグラフである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0007】

（測定対象試料）

本発明の測定試薬の測定対象試料としては、例えば血液、血清、血漿、リンパ球培養上清、尿、髄液、唾液、汗、腹水、又は細胞あるいは臓器の抽出液等が挙げられる。

【0008】

（リガンド）

本発明で測定対象とするリガンドとは、凝集法により測定できるものであれば、いずれも対象とすることができる。具体的には、C反応性タンパク（CRP）、FDP、D-ダイマー、前立腺特異抗原（PSA）、ヘモグロビンA1c、アルブミン、ペプシノーゲンI（PGI）、ペプシノーゲンII（PGII）、マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）、トリプシン、キモトリプシン、エラスターゼ、カテプシン等のタンパク質、その他、ペプチド、糖類、核酸、脂質などが挙げられる。

【0009】

10

20

30

40

50

(レセプター)

本発明で用いるレセプターとしては、測定対象であるリガンドが特異的に結合する物質を用いる。一般的にはウサギ、ヒツジ、ヤギ等に測定対象のリガンドを免疫して得られる抗リガンドポリクローナル抗体や抗リガンドモノクローナル抗体を用いることができる。その中でも特異性の点からはモノクローナル抗体の使用が特に望ましい。用いる抗体は、抗体全体でも構わないが、常法に従い酵素で切断した抗体のフラグメントであってもよい。

また、測定対象が抗体である場合には、抗原をレセプターとすることができる。その他、リガンドの種類によってはレクチン、核酸等もレセプターとして用いることができる。

【0010】

(担体粒子)

本発明で使用するレセプターを感作する不溶性担体粒子は、特に限定されないが、ラテックスが好ましい。ラテックスの材質としては、レセプターの感作方法に適したものなら良く、凝集測定法で一般的に用いられるポリスチレンを主成分とするラテックスの他に、スチレン-ブタジエン共重合体、(メタ)アクリル酸エステル類ポリマーなどが挙げられる。また、金属コロイド、ゼラチン、リポソーム、マイクロカプセル、シリカ、アルミナ、カーボンブラック、金属化合物、金属、セラミックス又は磁性体等の材質よりなる粒子を使用することもできる。担体粒子にレセプターを感作する方法としては、一般的に使用されている物理的吸着法その他、化学結合法も採用できる。

本発明で用いる担体粒子は同一種類、あるいは二種類以上を用いることができ、材質以外に、平均粒子径の異なる二種類以上を用いることもできる。

【0011】

(有機アミン化合物)

本発明の有機アミン化合物は、凝集反応を促進し、及び/又は、レセプターを感作した担体粒子と共存させた場合に、自然凝集を起こしにくいものであればよい。

ここで、ある有機アミン化合物が、自然凝集を起こしにくいかどうかについては、後述するスクリーニング方法により確認することができ、また、凝集反応を促進するかどうかについては、有機アミン化合物を用いた場合の凝集度合いを、無添加の場合と比較することにより確認できるので、容易に評価し、選択することが可能である。

具体的には、2-アミノ-2-チアゾリン塩酸塩、ベンズアミジン塩酸塩、ベンジルアミン塩酸塩、グアニジン塩酸塩、アミノピリン、アンチピリン、4-アミノアンチピリン、o-フェニレンジアミン二塩酸塩、p-アニシジン塩酸塩、ジフェンヒドラミン塩酸塩、2,4-ジアミノアニソール二塩酸塩、ピリジン塩酸塩、塩酸1,4-フェニレンジアミン、アミノグアニジン塩酸塩、ベタイン塩酸塩から選ばれる1以上が好ましく用いられる。この中でも、ベンズアミジン塩酸塩、ベンジルアミン塩酸塩、2-アミノ-2-チアゾリン塩酸塩がさらに好ましい。

尚、各有機アミン化合物の塩としては、硫酸塩、硝酸塩、臭化水素塩、ふっ化水素酸塩、ほうふっ化水素酸塩、しゅう酸塩、乳酸塩、アジピン酸塩、酒石酸塩、よう化水素酸塩、トルエンスルホン酸塩、マロン酸塩、重炭酸塩など特に制限は無いが、本発明の効果以外に試薬としての取扱い易さや入手のしやすさ等を勘案して適宜選ぶことができる。

【0012】

有機アミン化合物の添加濃度は、無添加時に比較して凝集反応を促進し、及び/又は、担体粒子と共存させた場合に、自然凝集を起こしにくい濃度であればよく、50~1000mMが好ましい。使用する有機アミン化合物毎の最適な濃度は、本明細書の記載に従って実験的に求めることができる。

【0013】

本発明でいう自然凝集とは、リガンドとレセプター間の特異的結合に基づかない担体粒子の凝集をいい、粒子分散性の安定化作用とは、レセプター感作不溶性担体粒子を含む試薬中に有機アミン化合物が共存することで自然凝集が起こりにくくなる作用をいう。後者の安定化作用は、例えば、レセプター感作不溶性担体粒子と本発明の有機アミン化合物を

共存させ一定期間静置した後、自然凝集に伴う担体粒子の沈降が観察されないこと、あるいは該静置前後における有機アミン化合物を含有する試薬の光学的な変化の割合が一定以上とならないことを以って評価し、選択することができる。

【 0 0 1 4 】

具体的には、レセプター感作担体粒子としてラテックスを用いる場合、レセプター感作担体粒子と有機アミン化合物を共存させ一定期間（例えば、4 で3日以上）静置したときの、該静置前後における波長600nm及び800nmにおける吸光度の比（ A_{600nm} / A_{800nm} 比）を測定し、静置前の値（初期値）に対する静置後の値を相対評価し、初期値に対する静置後の値の減少割合が30%以下とならないような有機アミン化合物が安定化作用を有しており、好適に使用できる。また、該吸光度比の減少割合が10%以下であるものがさらに好ましく、最も好ましいものは5%以下となるものである。

10

【 0 0 1 5 】

上記は、レセプター感作担体粒子としてラテックスを用いる場合についてのものであるが、このように粒子分散性の安定化作用は容易に評価できることから、これを本発明の有機アミン化合物のスクリーニング方法とすることができ、具体的には、抗体感作不溶性担体と4 で3日以上共存させた場合の、波長600nm、及び800nmにおける吸光度比（ A_{600nm} / A_{800nm} 比）の初期値に対する減少割合が30%以下とならないような安定化作用を有する有機アミン化合物を選択する方法が挙げられる。

【 0 0 1 6 】

本発明という凝集反応とは、レセプター感作不溶性担体粒子のレセプターと測定対象であるリガンドの特異的結合に基づく凝集反応をいい、凝集促進作用とは、試薬中に共存させることで特異的凝集を起しやすくする機能をいう。該促進機能は例えば次のようにして確認できる。測定対象であるリガンドを含む試料にレセプター感作不溶性担体粒子を添加し、一定時間経過後の吸光度を有機アミン添加時と無添加時とで比較した場合、有機アミン添加時の方が無添加時に比べて高いか否かを確認すればよい。好ましい凝集促進剤としては、塩化ナトリウムを用いた場合と同等以上の促進機能を有するものが良く、上述の粒子分散性の安定化作用と凝集反応促進作用の両方を兼ね備えた有機アミン化合物が更に好ましい。このような両方の機能を兼ね備えた化合物のスクリーニングは、測定方法の簡便さから、粒子分散性の安定化作用を有するかどうかを先に調べ、次に凝集反応促進作用を有するかどうかを調べる方が化合物の絞り込みを効率的に行うことができ、望ましい。

20

30

【 0 0 1 7 】

上記では、専らレセプター感作担体粒子としてラテックスを用いる場合について説明したが、測定波長は、担体粒子の材質や平均粒子径を考慮して適切なものを選ぶことができる。また、吸光度比による評価方法を説明したが、粒子数（沈降すれば濃淡が生じる）、粒子サイズ測定（凝集すればサイズは大きくなる）、散乱光測定や吸収スペクトルの測定（凝集すれば増大もしくはシフトする）など当業者が用いる手段に適宜置き換えることが可能である。さらに、光学的な検出を可能な範囲で電気化学的な検出によって置き換えることも可能である。

【 0 0 1 8 】**（緩衝液）**

本発明における凝集反応は、緩衝液中で行われ、その緩衝液は、凝集反応が最適に行われる種類、濃度、pHが選択され、リン酸緩衝液、トリス塩酸緩衝液、炭酸緩衝液、グリシン緩衝液、グッドの緩衝液等を用いる事ができる。その緩衝液の緩衝剤の濃度は、5mM～500mM程度で用いられ、pHは中性域から塩基性域で用いられることが多く、通常7.0～9.5の範囲で用いられる。

40

【 0 0 1 9 】**（凝集シグナルの測定方法）**

凝集シグナルの測定は、通常凝集反応測定に用いられる測定方法であればいずれでもよく、吸光度、粒子数、粒子サイズ測定、散乱光測定などがあげられる。

【 0 0 2 0 】

50

凝集シグナルの検出は、前記の如く種々の方法があるが、汎用の生化学分析装置を用いる方法が便利である。例えば、測定対象であるリガンドを含む試料に、有機アミン化合物とレセプターが感作されたラテックス等の不溶性担体粒子を含む試薬を加え、一定温度で一定時間インキュベートし、この間の吸光度を測定し、吸光度の変化量を検出し、予め濃度の判っている標準液を試料とした場合の検量線から被検試料中のリガンドの濃度を算出することができる。ラテックス凝集法では、通常500～900nmの波長の吸光度が用いられ、反応時の吸光度の変化量を定量に用いるのが一般的である。

【0021】

(凝集測定用試薬としての構成)

本発明の有機アミン化合物はレセプター感作ラテックスと共存させても自然凝集を起こしにくいため、予めレセプター感作ラテックスに反応促進剤を共存させた1液試薬として調製することが可能である。これより該1液試薬の凝集測定用試薬として構成することができる。1液試薬として調製した場合には、1段階の反応で測定ができるため、従来の2液試薬で要した測定時間の半分以下まで測定時間を短縮することができる。さらに、1液試薬において、従来と同一の測定時間反応させれば、より高い測定感度が得られることになる。このように1液試薬の凝集測定用試薬として構成することで本発明の効果を最も有効に享受することができる。

本発明の有機アミン化合物は、反応促進効果を有しているので、従来の2液試薬として調製し、凝集測定用試薬を構成することも可能である。

【0022】

また、本発明の効果を低下させないことを限度として、通常、凝集測定用試薬に添加、使用されている塩、糖、タンパク、界面活性剤、防腐剤などの使用も制限がない。

【0023】

(測定試薬としての使用方法)

本発明の凝集測定用試薬は、処方されている有機アミン化合物の作用により凝集反応の反応促進効果に優れるため、反応時間の短縮、ひいては測定時間の短縮、及び/又は測定感度の向上を図ることができる。したがって、1液試薬の凝集測定用試薬として単位時間当たりの測定数を増やすような使用方法や、従来の2液試薬では感度が不足し測定が困難であったリガンドの測定に使用することができる。

【0024】

また、2液試薬の測定システムに、本発明の1液試薬を2種類組み合わせ使用すれば、同一の反応槽内で連続して2種類のリガンドの測定が可能になる。具体的には以下のような使用方法が採用される。すなわち、測定対象のリガンドが2種以上である場合、リガンド(L1)と特異的に反応するレセプター(R1)が感作された不溶性担体粒子を添加し、生ずる凝集反応の経時変化を測定し、実質的に、該反応が定常となった後、又は、該反応を定常とさせた後/該反応を定常とさせると同時に、さらに異なるリガンド(L2)と特異的に反応するレセプター(R2)が感作された不溶性担体粒子を添加して凝集反応の経時変化を測定する。

【0025】

L2とR2の測定結果に影響を与えるので、L2とR2の反応開始時点でL1とR1の反応が実質的に定常となっている必要があることは容易に推察される。測定対象リガンドの試料中の量(濃度)とレセプター感作ラテックスの量(濃度)とが好適に合致することが困難である場合には、L2とR2の反応開始前に、L1と特異的に反応する物質(遊離のR1であってもよい)を添加するなどして、定常とすることができる。

【0026】

本発明の1液試薬を2種類組み合わせ使用し、同一の反応槽内で連続して2種類のリガンドを測定する方法は、同一試料中の2種類のリガンドの含有比率を求めるPGI/PGII比やHbA1c等の検査に特に有効であり、このような方法は全く新規なものである。

【0027】

10

20

30

40

50

以下、実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【実施例】

【0028】

実施例 1

(不溶性担体粒子としてラテックスを使用した場合の粒子分散性の安定化作用を有する有機アミン化合物のスクリーニング)

表 1 に示した各種の有機アミン化合物を 20 mM トリス緩衝液 (pH 7.0) に溶解し、D-ダイマー測定用ラテックス試薬 (ナノピア D-ダイマーの D-ダイマーラテックス試液 (2) (第一化学薬品社製)) と 1:1 で混和し、最終濃度が 62.5 ~ 500 mM の有機アミン化合物を含むラテックス試薬を調製した。また、対照 (control) として 20 mM トリス緩衝液 (pH 7.0) を用いて同様に調製したものを用いた。更に、比較のため、最終濃度が 150、300、500 mM の塩化ナトリウムを含むラテックス試薬を同様に調製した。これらを 4 で 3 日間静置し、上清及び攪拌後のラテックス液の吸光度を波長 600 nm 及び 800 nm で測定し、その吸光度比 (A_{600nm} / A_{800nm} 比) をそれぞれ算出した。表 1 には、2-アミノ-2-チアゾリン塩酸塩、ベンジルアミン塩酸塩、ベンズアミジン塩酸塩、グアニジン塩酸塩、アミノピリン、アンチピリン、4-アミノアンチピリン、o-フェニレンジアミン二塩酸塩、p-アニシジン塩酸塩、ジフェンヒドラミン塩酸塩、2,4-ジアミノアニソール二塩酸塩、ピリジン塩酸塩、塩酸 1,4-フェニレンジアミン、アミノグアニジン塩酸塩、及びベタイン塩酸塩の各種有機アミン塩酸塩について、検討した濃度範囲において、吸光度比 (A_{600nm} / A_{800nm} 比)、及び上清の吸光度が低下していない、すなわち、自然凝集による粒子の沈降が抑制されているという結果を基に、分散状態がもっとも良好、かつ、ラテックスの沈降を生じなかった濃度の成績を示した。

【0029】

10

20

【表 1】

	懸濁直後						4°C 3日間静置後								
	800nm			600/800			800nm			600/800			600/800		
	吸光度	600nm	800nm	600/800	600nm	800nm	600/800	600nm	800nm	600/800	600nm	800nm	600/800		
有機アミン化合物 / 吸光度	0.486	1.466	3.02	3.02	92.2	91.6	99.3	98.6	98.9	100.2					
control(無添加)	0.451	1.363	3.02	3.02	92.2	90.7	98.4	92.2	90.7	98.4					
+500mM 2-アミノ-2-チアゾリン塩酸塩	0.442	1.339	3.03	3.03	92.3	90.0	97.5	92.0	90.3	98.1					
+500mM ベンズアミン塩酸塩	0.442	1.337	3.02	3.02	103.5	98.5	95.2	103.6	98.4	95.0					
+500mM グアニジン塩酸塩	0.471	1.413	3.00	3.00	126.2	116.3	92.2	125.6	116.2	92.5					
+62.5mM アミノピリン	0.461	1.388	3.01	3.01	103.7	102.4	98.8	103.7	102.4	98.8					
+500mM アンチピリン	0.434	1.311	3.02	3.02	97.6	98.3	100.8	98.1	98.1	100.0					
+500mM 4-アミノアンチピリン	0.431	1.312	3.05	3.05	99.6	99.1	99.5	99.5	99.6	100.1					
+150mM o-フェニルジアンミン塩酸塩	0.483	1.420	2.94	2.94	118.6	117.2	98.8	119.1	118.3	99.3					
+150mM p-アニジン塩酸塩	0.457	1.373	3.01	3.01	102.9	103.8	100.9	104.8	104.5	99.7					
+500mM ジフェニヒドラミン塩酸塩	0.339	1.021	3.01	3.01	103.4	102.5	99.1	104.0	103.0	99.0					
+150mM 2,4-ジアミノアニソール二塩酸塩	0.451	1.340	2.97	2.97	106.8	116.5	109.1	109.4	117.7	107.7					
+150mM ピリジン塩酸塩	0.452	1.361	3.01	3.01	99.3	99.6	100.4	99.6	99.8	100.1					
+150mM 塩酸1,4-フェニレンジアミン	0.459	1.374	2.99	2.99	110.1	107.2	97.4	111.2	108.1	97.2					
+500mM アミノグアニジン塩酸塩	0.465	1.398	3.01	3.01	123.2	111.2	90.2	123.7	111.2	89.9					
+150mM ベタイン塩酸塩	0.470	1.429	3.04	3.04	100.3	96.2	95.9	100.5	96.4	95.9					
+150mM 塩化ナトリウム	0.483	1.462	3.03	3.03	156.8	87.0	55.5	468.9	174.8	37.3					
+300mM 塩化ナトリウム	0.485	1.461	3.01	3.01	59.5	32.7	54.9	463.1	173.5	37.5					
+500mM 塩化ナトリウム	0.485	1.459	3.01	3.01	56.9	28.5	50.1	457.9	172.0	37.6					

*懸濁直後の吸光度・吸光度比に対する割合(%)

【0030】

表1より、4 で3日間静置後の150、300、500mM塩化ナトリウムを含むラテックス試薬の吸光度比(A_{600nm}/A_{800nm}比;表1中では「600/800」と表記した)は上清と攪拌後で30%以上の差が認められ、さらに、攪拌後の吸光度比は、controlに比べて約60%低下しており、従来、一般的に凝集促進剤として使用されている塩化ナトリウム共存下では、抗体感作ラテックスを分散状態で安定に保存できないことが判る

。

これに対して、前記した有機アミン化合物を使用した場合は、上清と攪拌後の吸光度比（ A_{600nm} / A_{800nm} 比）に殆どで差がなく、controlの吸光度比の10%以内であった。これらより、前記の有機アミン化合物を使用することで、抗体感作ラテックスの分散状態を維持し、自然凝集等による沈降が防止されていることが判る。

【0031】

実施例2

ベンジルアミン塩酸塩含有アルブミン測定試薬によるアルブミンの測定

(1) 抗アルブミン抗体の調製

精製ヒトアルブミン（シグマ社製）100 μ gを1回の免疫に使用した。初回免疫はアルブミンとフロイドの完全アジュバンドを等量混合して調製したエマルジョン200 μ Lを用い、これをBALB/cマウスの腹腔に注射した。追加免疫にはフロイドの不完全アジュバンドを使用して同様に調製したエマルジョン200 μ Lを用い、2週間間隔で3回繰り返した。

10

【0032】

マウス眼底静脈より採血した血液中の抗体価をELISA法にて測定し、抗体価の高いマウスを選んで細胞融合に供した。4回目の免疫から2週間後にアルブミン100 μ gを生理食塩液200 μ Lに溶解したものをマウス腹腔に注射し、3日後に脾臓を摘出した。脾臓をRPMI 1640培地中でほぐした後、1500 rpmで遠心分離して脾細胞を回収した。これを牛胎児血清フリーのRPMI 1640培地で3回以上洗浄後、15%牛胎児血清を含むRPMI 1640培地2 mLを加えて懸濁し、脾細胞懸濁液とした。脾細胞とミエローマ細胞SP2/O-AG14を6対1の割合で混合した後、50%ポリエチレングリコール存在下で細胞融合させた。1500 rpmの遠心分離で沈殿部を集め、GKN液（グルコース2 g、塩化カリウム0.4 g、塩化ナトリウム8 g、リン酸水素二ナトリウム1.41 g及びリン酸二水素ナトリウム二水和物0.78 gを精製水に溶かして1リットルとしたもの）に懸濁し、遠心分離により洗浄後、沈殿部を回収した。これを15%牛胎児血清を含むRPMI 1640培地30 mLに懸濁し、96穴マイクロプレート3枚に1ウエルあたり100 μ Lずつ、及び200 μ Lのフィーダー細胞としてBALB/cマウスの胸腺細胞を 2.5×10^5 個/mLを含むHAT培地をそれぞれ分注し、37

20

30

【0033】

培養上清中の抗アルブミン抗体の存在は、アルブミンを固相化したELISA法で確認した。10日後に全てのウエルで融合細胞の増殖を確認した。詳細には、10 μ g/mLのアルブミン及び150 mM塩化ナトリウムを含む10 mMリン酸緩衝液（pH 7.2；以下、PBSと略す）100 μ Lを96穴マイクロプレートに分注し、4で1晩放置した。次にこれを0.05% Tween 20及び1%牛血清アルブミンを含むPBS 300 μ Lで3回洗浄した後、各ウエルの培養上清を50 μ L/ウエル加え室温で1時間放置した。その後、0.05% Tween 20を含むPBSで3回洗浄の後、ペルオキシダーゼ標識抗マウス抗体（第一化学薬品製）を50 μ L/ウエル加え、室温で1時間放置した。これを0.5% Tween 20を含むPBSで3回洗浄後、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（pH 5）50 μ L/ウエルを加え、室温で15分間放置後、4.5 N硫酸50 μ L/ウエルを加えて反応を停止させ、波長492 nmにおける吸光度を測定し、吸光度の高いウエルを選択した。

40

【0034】

単クローン化は限界希釈法で行った。すなわちフィーダー細胞としてBALB/cマウスの胸腺細胞を10⁵個ずつ分注した96穴マイクロプレートに、陽性ウエル中のハイブリドーマを10個/mLとなるように希釈したものを0.1 mLずつ分注した。培地は、初回はHT培地を、2回目以降は15%牛胎児血清を含むRPMI 1640を用い、37

にて5%炭酸ガス培養器中で10日間培養した。ELISA法による陽性ウエルの選択及び限界希釈法による単クローン化操作を各3回繰り返して30種の抗アルブミンモノク

50

ローナル抗体産生細胞を得た。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、攪拌しながら1晩放置後、遠心分離で沈殿を回収した。回収した沈殿を20 mM トリス緩衝液 (pH 8) 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0~300 mMの濃度勾配で溶出させて得たIgG画分を50 mM グリシン緩衝液で透析し、30種の精製抗体を得た。

【0035】

(2) 抗アルブミンモノクローナル抗体の選択

各精製抗体を1.4 mg/mL 含む20 mM トリス緩衝液 (pH 8.5) 3 mL に、平均粒径0.3 μ m の2% ラテックス (積水化学工業社製) 懸濁液3 mL を加え、4にて2時間攪拌した。これに、0.4% 牛血清アルブミンを含む20 mM トリス緩衝液 (pH 8.5) 6 mL を加え、4で1時間攪拌した。遠心分離後、上清を除去し、沈殿を20 mM トリス緩衝液 (pH 8.5) で、波長600 nmにおける吸光度が1 ODとなるように再懸濁し、各抗アルブミン抗体感作ラテックス溶液を調製した。

次に、150 mM 塩化ナトリウムを含む20 mM トリス緩衝液 (pH 8.5) 100 μ L に、アルブミンを含有する試料液3 μ L を加え、37で5分間加温後、前記の各抗アルブミン抗体感作ラテックス溶液の2種類の組合わせ (1:1 混液) 100 μ L を加えて攪拌し、主波長570 nm / 副波長800 nm で5分間の吸光度変化量を測定し、最も大きい吸光度変化を示す抗体の組合わせを選択した。

【0036】

(3) アルブミン測定用ラテックス試薬の調製

選択した抗アルブミンモノクローナル抗体1.4 mg/mL を含む20 mM トリス緩衝液 (pH 8.5) 3 mL を用い、前記と同様に操作し、アルブミン測定用ラテックス試薬を調製した。

【0037】

(4) ベンジルアミン塩酸塩の至適濃度決定

最終濃度で150、300、500 mM のベンジルアミン塩酸塩 (東京化成工業株式会社) を含むよう、アルブミン測定用ラテックス試薬を調製した。これを4で3日間静置し、上清及び懸濁液の波長600 nm、800 nm における吸光度を測定し、その吸光度比 (A_{600nm} / A_{800nm} 比; 表2中では「600/800」と表記) を算出した (表2)。この結果から、アルブミン測定用ラテックス試薬において実施した範囲で上清の吸光度が低下していない、すなわち、自然凝集による粒子の沈降が抑制されており、分散状態がもっとも良好なベンジルアミン塩酸塩濃度は、500 mM と決定した。

【0038】

【表2】

アルブミン測定試薬	800nm	600nm	600/800
control	0.7297	1.5746	2.16
+150mM ベンジルアミン塩酸塩 上清	0.2912	0.6358	2.18
攪拌後	1.2363	1.9812	1.60
+300mM ベンジルアミン塩酸塩 上清	0.7180	1.5243	2.12
攪拌後	0.8197	1.6854	2.06
+500mM ベンジルアミン塩酸塩 上清	0.7217	1.5523	2.15
攪拌後	0.7277	1.5598	2.14

【0039】

(5) ベンジルアミン塩酸塩含有アルブミン測定用ラテックス試薬の調製

最終濃度で500 mM のベンジルアミン塩酸塩を含むよう、ベンジルアミン塩酸塩含有アルブミン測定用ラテックス試薬を調製した。

【0040】

10

20

30

50

(6) アルブミンの測定

ベンジルアミン塩酸塩含有アルブミン測定用ラテックス試薬 200 μ L に、0 ~ 50 μ g / mL アルブミンを含有する試料液 3 μ L をそれぞれ加え、攪拌後、主波長 570 nm / 副波長 800 nm における 37 $^{\circ}$ C で 5 分間 (図 1 の A)、及び 10 分間 (図 1 の B) の吸光度変化量を測定した。

【0041】

(7) 比較例

500 mM ベンジルアミン塩酸塩、或いは 500 mM 塩化ナトリウムを含む 20 mM トリス緩衝液 (pH 8.5) 100 μ L に、0 ~ 50 μ g / mL アルブミンを含有する試料液 3 μ L をそれぞれ加え、37 $^{\circ}$ C で 5 分間加熱後、前記のアルブミン測定用ラテックス試薬 100 μ L をそれぞれ加え、攪拌後、37 $^{\circ}$ C で 5 分間の主波長 570 nm / 副波長 800 nm における吸光度変化量を測定した (図 1 の C 及び D)。

10

【0042】

(8) 結果

図 1 より、ベンジルアミン塩酸塩を使用した 1 液試薬 5 分間測定時 (図 1 の A) の測定感度は、反応時間が、従来の測定方法である 2 液試薬 10 分間測定時 (図 1 の C) の 1 / 2 でありながら、これと同等の測定感度を有し、塩化ナトリウム使用時 (図 1 の D) の測定感度と比較しても同等の測定感度を有することが判る。従って、ベンジルアミン塩酸塩を使用し、1 液試薬にすることにより、大幅な測定時間の短縮が可能となる。また、1 液試薬 10 分間測定時 (図 1 の B) は、2 液試薬 10 分間測定時 (図 1 の C) よりも測定感度が大幅に上昇しており、従来と同一時間の測定を行う場合には、測定感度の大幅な上昇が可能であることが判る。

20

【0043】

実施例 3

2 - アミノ - 2 - チアゾリン塩酸塩含有アルブミン測定用試薬によるアルブミンの測定

有機アミン化合物として 2 - アミノ - 2 - チアゾリン塩酸塩を用いた以外は、前記実施例 1 と同様に試薬調製を行い、アルブミンの測定を行なった。結果を図 2 に示す。図 2 より、2 - アミノ - 2 - チアゾリン塩酸塩についても、ベンジルアミン塩酸塩と同様の効果を有することがわかった。

【0044】

30

実施例 4

ベンズアミジン塩酸塩含有アルブミン測定用試薬によるアルブミンの測定

有機アミン化合物としてベンズアミジン塩酸塩を用いた以外は、前記実施例 1 と同様に試薬調製を行い、アルブミンの測定を行なった。結果を図 3 に示す。

図 3 より、ベンズアミジン塩酸塩についても、ベンジルアミン塩酸塩と同様に 1 液試薬にすることにより、大幅な測定時間の短縮が可能であり、従来と同一時間の測定を行う場合には、測定感度の大幅な上昇が可能であることが判る。さらに、従来の反応促進剤である塩化ナトリウムを用いた場合 (図 3 の D) に比べ、塩化ナトリウムの代わりにベンズアミジン塩酸塩を用いただけ (図 3 の C) で、測定感度が大幅に上昇していることがわかる。

40

【産業上の利用可能性】

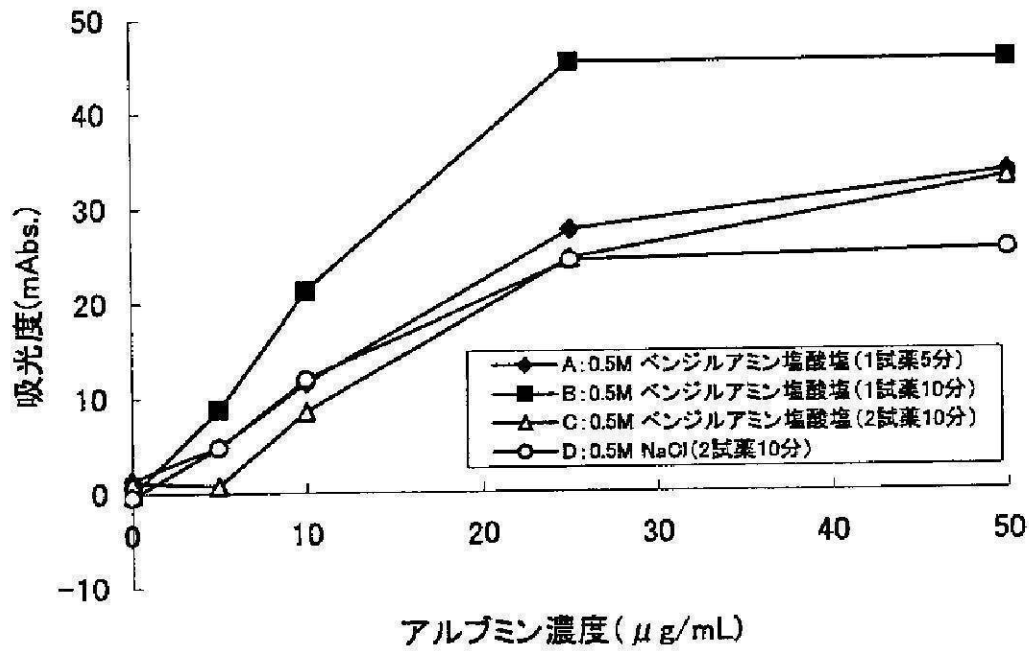
【0045】

本発明によれば、試薬としての安定性及び測定感度に優れたリガンドの凝集測定用試薬を提供可能であり、レセプター感作担体粒子と反応促進剤を予め共存させた場合には、1 液試薬としての提供が可能である。

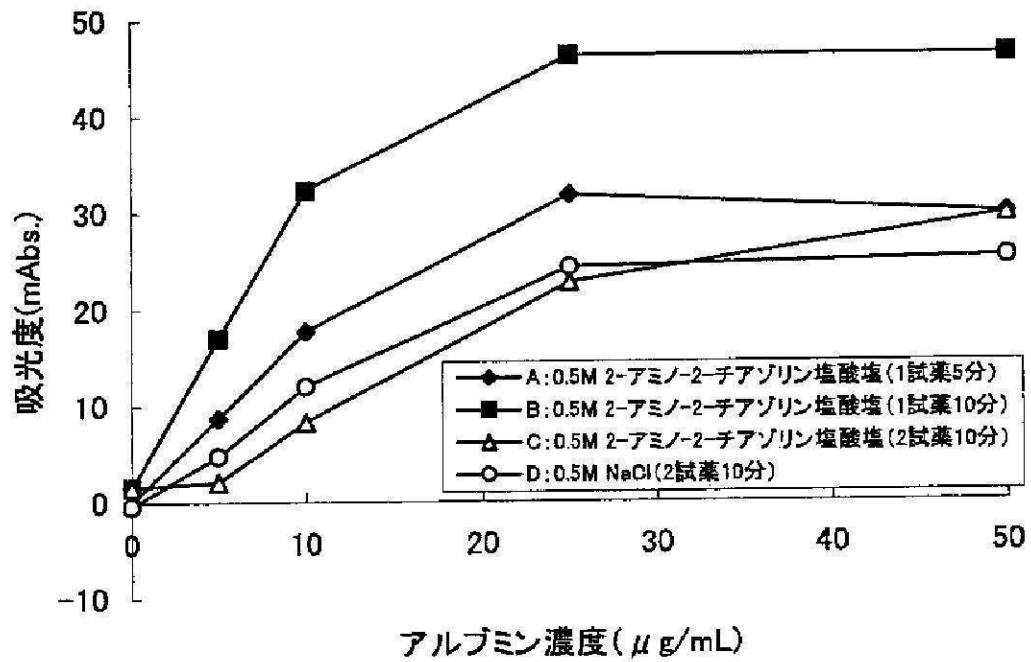
特に、1 液試薬として調製した場合には、測定が簡便で、反応時間を短縮することができる、即ち、従来と同一時間内における測定感度が上がることになる。さらに、2 種類の 1 液試薬を組み合わせることで、同一の反応槽内で連続して 2 種類のリガンドを測定できる試薬の提供も可能となり、臨床検査分野において画期的な測定試薬として利用価値が高い。

50

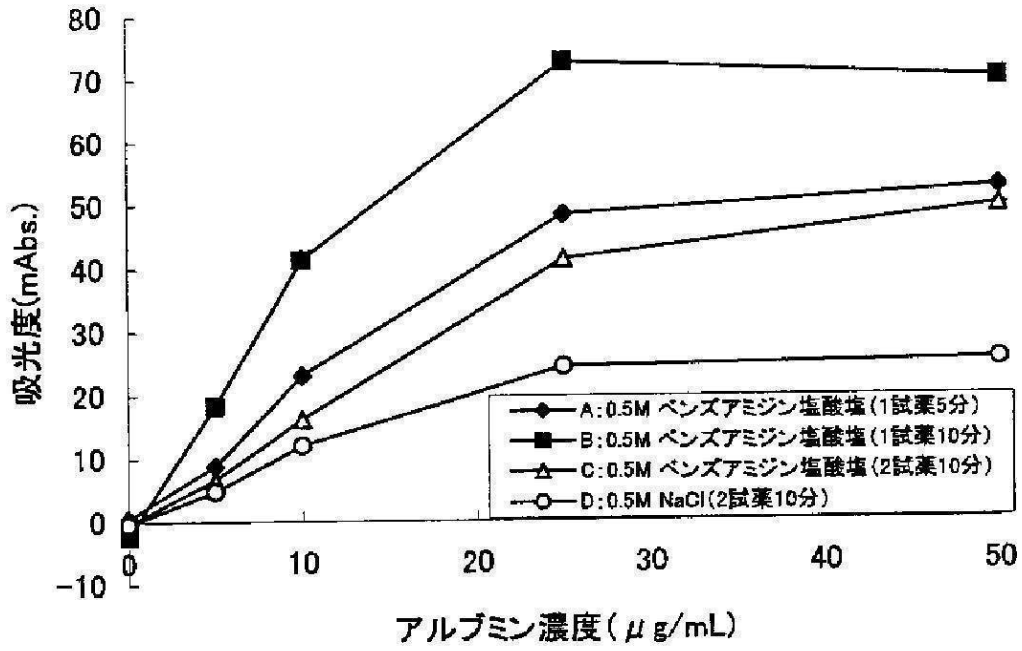
【図1】



【図2】



【 図 3 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/326030

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/543(2006.01)i, G01N33/483(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/545(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i		
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) G01N33/543, G01N33/483, G01N33/53, G01N33/545, G01N33/574		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y/A	JP 2005-106609 A (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 21 April, 2005 (21.04.05), & US 2005/0069967 A	1-8, 10, 11, 14-16/9, 12/ 13
X/Y/A	JP 2000-258419 A (Hitachi Chemical Co., Ltd.), 22 September, 2000 (22.09.00), (Family: none)	1-8, 10, 11, 14-16/9, 12/ 13
Y	JP 4-48265 A (Hitachi Chemical Co., Ltd.), 18 February, 1992 (18.02.92), (Family: none)	9, 12
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 application or patent 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 January, 2007 (23.01.07)		Date of mailing of the international search report 30 January, 2007 (30.01.07)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2006/326030									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/543(2006.01)i, G01N33/483(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/545(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/543, G01N33/483, G01N33/53, G01N33/545, G01N33/574											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2007年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2007年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2007年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2007年	日本国実用新案登録公報	1996-2007年	日本国登録実用新案公報	1994-2007年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2007年										
日本国実用新案登録公報	1996-2007年										
日本国登録実用新案公報	1994-2007年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号									
X/ Y/ A	JP 2005-106609 A (和光純薬工業株式会社) 2005.04.21 & US 2005/0069967 A	1-8, 10, 11, 14-16/ 9, 12/ 13									
X/ Y/ A	JP 2000-258419 A (日立化成工業株式会社) 2000.09.22 (ファミリーなし)	1-8, 10, 11, 14-16/ 9, 12/ 13									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの									
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 23.01.2007		国際調査報告の発送日 30.01.2007									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JJP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 宮澤 浩	2J 9407								
		電話番号 03-3581-1101 内線	3252								

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 6 / 3 2 6 0 3 0
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 4- 48265 A (日立化成工業株式会社) 1992. 02. 18 (ファミリーなし)	9, 12

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 33/573 A

(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,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,L
A,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE
,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	聚集测量试剂和聚集测量方法		
公开(公告)号	JPWO2007074860A1	公开(公告)日	2009-06-04
申请号	JP2007552004	申请日	2006-12-27
[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		
[标]发明人	山本光章 吉田忠晃		
发明人	山本 光章 吉田 忠晃		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/545 G01N33/53 G01N33/573		
CPC分类号	G01N33/54313		
FI分类号	G01N33/543.581.J G01N33/543.583 G01N33/545.B G01N33/53.X G01N33/53.D G01N33/573.A		
优先权	2005379307 2005-12-28 JP		
其他公开文献	JP5170742B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的目的是提供一种凝集测量试剂和使用反应促进剂的测量方法，即使它们与受体敏化的载体颗粒共存，也不会引起载体颗粒的自发团聚。本发明提供一种凝集测定用试剂和方法，其通过使用特定的胺化合物促进基于特定反应的凝集而不会引起载体粒子的自发凝集。[选择图]无

	4℃ 3日静置後												
	凝集量後					上清*					懸液*		
	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm	800nm
有糖之化合物 / 糖光線	0.486	1.466	3.02	9.22	91.6	99.3	98.6	98.9	100.2				
control(標準品)													
+800nm 2-アミノエチルシロシノ酸塩	0.451	1.363	3.02	9.22	90.7	98.4	92.2	90.7	98.4				
+800nm 4-アミノシロシノ酸塩	0.442	1.339	3.03	9.23	90.0	97.5	92.0	90.3	99.1				
+800nm 6-アミノシロシノ酸塩	0.442	1.337	3.02	10.35	98.5	95.2	103.6	98.4	95.0				
+800nm 7-アミノシロシノ酸塩	0.471	1.413	3.00	10.62	116.3	92.2	126.6	116.2	92.5				
+82.5nm アミノシロシノ酸塩	0.461	1.389	3.01	10.37	102.4	99.3	103.7	102.4	99.3				
+800nm アミノシロシノ酸塩	0.494	1.311	3.02	97.9	99.3	100.3	98.1	98.1	100.0				
+800nm 4-アミノペンチン	0.431	1.312	3.05	99.6	98.1	99.5	99.6	100.1					
+150nm 6-アミノシロシノ酸塩	0.463	1.420	2.94	118.6	117.2	99.8	118.1	118.3	99.3				
+150nm 7-アミノシロシノ酸塩	0.457	1.373	3.01	102.9	103.8	100.9	104.6	104.5	99.7				
+800nm シンデシチン塩	0.339	1.021	3.01	103.4	102.5	99.1	104.0	103.0	99.0				
+150nm 2-アミノアミノニルニシロシノ酸塩	0.461	1.340	2.97	106.8	116.5	108.1	109.4	117.7	107.7				
+150nm エチルシロシノ酸塩	0.492	1.361	3.01	99.3	99.6	100.4	99.6	99.9	100.1				
+150nm 塩酸1,4-ジアミノシロシノ酸	0.459	1.374	2.99	110.1	107.2	97.4	111.2	108.1	97.2				
+800nm アミノシロシノ酸塩	0.465	1.399	3.01	122.2	111.2	90.2	133.7	111.2	99.9				
+150nm 6-アミノシロシノ酸塩	0.470	1.420	3.04	100.3	98.2	95.9	100.5	98.4	95.9				
+150nm 4-アミノシロシノ酸塩	0.483	1.462	3.03	156.8	87.0	55.5	468.9	174.6	37.3				
+800nm 塩化ナトリウム	0.485	1.461	3.01	99.5	92.7	54.9	463.1	173.5	37.5				
+800nm 塩化ナトリウム	0.485	1.459	3.01	99.9	93.5	28.5	50.1	453.9	170.9	37.6			

*懸液の吸光度(吸光度)に対する割合 (%)