



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103038641 B

(45)授权公告日 2017.05.10

(21)申请号 201180026269.1

(22)申请日 2011.03.31

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 103038641 A

(43)申请公布日 2013.04.10

(30)优先权数据  
2010-081678 2010.03.31 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2012.11.27

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/JP2011/058356 2011.03.31

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02011/125912 JA 2011.10.13

(73)专利权人 积水医疗株式会社  
地址 日本国东京都

(72)发明人 高桥弘至 高桥由纪 斋藤和典

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任  
公司 11021

代理人 胡交宇

(51)Int.Cl.  
G01N 33/543(2006.01)  
G01N 33/531(2006.01)

(56)对比文件  
JP H11-14628 A,1999.01.22,说明书第  
[0001]-[0005]段,第[0027]-[0034]段,实施例  
1,附图1.  
CN 102687014 A,2012.09.19,说明书第  
[0010],[0022],[0054]-[0056]段,实施例1.  
CN 1122913 A,1996.05.22,说明书第20-26  
页的实施例.  
US 4536478 A,1985.08.20,全文.

审查员 许珊萍

权利要求书1页 说明书12页

(54)发明名称

减少来自测量系统外部的成分的干扰的方法

(57)摘要

本发明的目的是提供一种在胶乳凝集免疫测定法中减少由测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对所述测量系统的干扰的方法。在聚硅氧烷化合物存在下进行胶乳免疫凝集反应可以减少从测量系统外部混入的来源于微量采血管的成分(水溶性聚硅氧烷)和/或表面活性剂对所述测量系统的干扰。

1. 一种减少从测量系统外部混入的表面活性剂对所述测量系统的干扰的方法,其中在胶乳凝集免疫测定中,在聚醚-改性的硅油的存在下进行用于测量生物样品中的分析物的胶乳免疫凝集反应,

所述方法的特征在于,所述方法包括向含有载有对分析物具有高亲和性的物质的胶乳颗粒的试剂溶液添加聚醚-改性的硅油;

将所述试剂溶液与添加的聚醚-改性的硅油在30至65°C的温度温育;以及

利用样品和所温育的试剂溶液进行胶乳凝集免疫测定。

2. 权利要求1的方法,其中在所述胶乳免疫凝集反应时所述聚醚-改性的硅油的浓度是0.0001至1%。

3. 一种减少从测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷对所述测量系统的干扰的方法,其中在胶乳凝集免疫测定中,在聚醚-改性的硅油的存在下进行用于测量生物样品中的分析物的胶乳免疫凝集反应,

所述方法的特征在于,所述方法包括向含有载有对分析物具有高亲和性的物质的胶乳颗粒的试剂溶液添加聚醚-改性的硅油;

将所述试剂溶液与添加的聚醚-改性的硅油在30至65°C的温度温育;以及

利用样品和所温育的试剂溶液进行胶乳凝集免疫测定。

4. 权利要求3的方法,其中在所述胶乳免疫凝集反应时所述聚醚-改性的硅油的浓度是0.0001至1%。

## 减少来自测量系统外部的成分的干扰的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及：i) 一种减少来自测量系统外部的成分、特别是污染所述测量系统的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对所述测量系统的干扰的方法，所述方法特征在于，在使用载有对分析物具有高亲和性的物质或载有分析物的胶乳颗粒的胶乳凝集免疫测定(胶乳免疫凝集测定)中，在聚硅氧烷化合物的存在下进行胶乳免疫凝集反应，ii) 一种用于所述减少干扰的方法中的试剂，和iii) 具有减少的干扰的胶乳凝集免疫测定法。

### 背景技术

[0002] 胶乳免疫凝集测定(胶乳浊度测定免疫凝集法)(latex turbidimetric immunoagglutination method)(下文中也称为LT1A法)通常在临床检验领域中用作生物样品中分析物(下文中也称为靶成分)的测量(测定)方法。LT1A法是这样的一种测量方法，其使用，例如，载有针对靶成分的抗体的胶乳颗粒(下文中也称为载有抗体的胶乳颗粒)，以便利用光学方法(例如，测量透射光的浊度测定法(turbidimetric method)、测量散射光的浊度法(nephelometric method))等来检测由于抗原(即，靶成分)与载有抗体的胶乳颗粒的结合所产生的胶乳颗粒的凝集程度(浊度)。

[0003] 已知表面活性剂类物质干扰包括LT1A法在内的免疫学测量系统。某种表面活性剂在免疫学测量系统中的存在可能引起问题，如抑制抗原-抗体反应本身并且解离通过抗原-抗体反应形成的抗原-抗体的结合。LT1A法是一种均质测量法，其中抗原-抗体反应在一个液相中进行，并且导致组成测量系统的物质，如载有抗体的胶乳颗粒，在测量过程中持续暴露于表面活性剂的环境，并且因此，由于表面活性剂，这可能导致对测量系统的干扰以复合方式发生，诸如引起分析物本身结构的改变，形成与分析物的复合物，对载有抗体的胶乳颗粒的非特异性吸附，和由胶乳颗粒载有的抗体和封闭蛋白的分离。

[0004] 当在血液(全血、血清或血浆)用作生物样品的情形中，从受试者采集血液时，可以将预防性成分(下文中也称为采血管处理剂)施用于采血管的内壁和盖上，以防止血液(血块)粘在采血管的内壁并在采血管和盖部分中起泡，并且防止获取血清的不充分的凝固和血清层与血细胞层的不充分分离。某种聚硅氧烷化合物本身被用作采血管处理剂，并且在一些情形中，被作用于将除聚硅氧烷化合物外的其他采血管处理剂施用到内壁和盖上的介质。

[0005] 已经有一些关于来自施用到采血管内壁上的成分对LT1A法的干扰的报道。非专利文献1报道当用LT1A法测量用商购微量采血管得到的测量样品时观察到测量值减小。非专利文献1指出由采血管内壁释放出的水溶性聚硅氧烷是一种起因物质，并且描述了用多种LT1A试剂测量添加了水溶性聚硅氧烷的测量样品的测量结果。在非专利文献1中，还考虑当表面活性剂(Brij(注册商标) 35, Tween(注册商标) 20, Triton(注册商标) X-100)添加到测量样品时的干扰，并且报道了如与在水溶性聚硅氧烷的情形中一样观察到测量值的减小。非专利文献2报道了将用多种采血管得到的测量样品用多种LT1A试剂测量，并且在测量用微量采血管得到的测量样品时，如非专利文献1的情形一样，观察到测量值的减小，并且也

指出在该情形中,由采血管内壁释放的水溶性聚硅氧烷是起因物质。

[0006] 在从较成人具有较小体重的新生儿采集血液时,通常使用微量采血管。即使使用微量采血管,在一些情形中,也不能容易地采集到预定量的血液,这导致采集的血液少于预定的量。在这样的情形中,测量样品中的采血管处理剂的浓度增加,并且预测对测量系统的干扰是突出的。

[0007] 非专利文献1中所考虑的表面活性剂在包括ELISA在内的免疫学测量方法中用作防止非特异性反应的试剂和清洁剂,并且还通常在临床测定所用的生化自动化分析仪中用作以下各项的清洁剂:用于分散或搅拌测量样品和试剂的探头;试剂的流动通道;和重复使用的反应池。因此,在自动化分析仪中必须使用的LT1A试剂的情形中,必须注意由于在测量系统中混入表面活性剂引起的干扰。

[0008] 除了这样的情形外,没有关于避免来自这些表面活性剂的干扰的报道,特别是没有关于当用LT1A法测量通过微量采血管得到的测量样品时减少来自表面活性剂的干扰的方法的报道。

[0009] 引用列表

[0010] 非专利文献

[0011] 非专利文献1:Japanese Journal of Medical Technology,卷49,No.10(2000), pp.1399-1403;

[0012] 非专利文献2:Okayama Journal of Medical Technology,卷40,No.2(2003), pp.6-10。

[0013] 发明概述

[0014] 技术问题

[0015] 本发明的目的是提供:i)在使用载有对分析物具有高亲和性的物质或载有分析物的胶乳颗粒进行的胶乳凝集免疫测定中减少来自从测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对所述测量系统的干扰的方法,ii)一种用于所述减少干扰的方法中的试剂,和iii)具有减少的干扰的胶乳凝集免疫测定法。

[0016] 问题的解决方案

[0017] 本发明人尝试验证各种观点,并且已经进行了广泛的研究来解决LT1A法中的问题,并且完全出乎意料地发现当在聚醚-改性的硅油存在下进行胶乳免疫凝集反应时,可以减少从测量系统外部混入并且来源于微量采血管的成分对测量系统的干扰,所述聚醚-改性的硅油被分类为与在非专利文献1和2中被认为是干扰的原因的水溶性聚硅氧烷相同的聚硅氧烷化合物。本发明人还出乎意料地发现当在聚醚-改性的硅油存在下进行胶乳免疫凝集反应时,也可以减少来自具有不同于水溶性聚硅氧烷的结构表面活性剂(Brij(注册商标)35,Tween(注册商标)20,Triton(注册商标)X-100)的干扰,这使得完成了本发明。

[0018] 本发明包括下述:

[0019] (1)一种减少从测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对所述测量系统的干扰的方法,其中在胶乳凝集免疫测定中,在聚硅氧烷化合物的存在下进行胶乳免疫凝集反应。

[0020] (2)上述(1)的方法,其中所述聚硅氧烷化合物包含聚醚-改性的硅油。

[0021] (3)上述(1)或(2)的方法,其中通过允许胶乳试剂溶液包含所述聚硅氧烷化合物

来提供所述聚硅氧烷化合物。

[0022] (4) 上述 (1) 至 (3) 的方法, 其中允许胶乳试剂溶液包含所述聚硅氧烷化合物的步骤是基于封闭处理。

[0023] (5) 上述 (1) 至 (4) 的方法, 其中在所述胶乳免疫凝集反应时所述聚硅氧烷化合物的浓度是 0.0001 至 1%。

[0024] (6) 一种减少来自胶乳凝集免疫测定中混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂的干扰的方法, 所述方法包括下述步骤:

[0025] 使得 i) 载有对分析物具有高亲和性的物质的胶乳颗粒和 ii) 聚硅氧烷化合物与包含来源于活体的所述分析物和所述混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂的样品相接触; 和

[0026] 测量所述分析物和所述胶乳颗粒的凝集反应。

[0027] (7) 一种胶乳凝集免疫测定法, 所述测定法包括下述步骤:

[0028] 使得 i) 载有对分析物具有高亲和性的物质的胶乳颗粒和 ii) 聚硅氧烷化合物与包含来源于活体的所述分析物的样品相接触。

[0029] (8) 一种用于胶乳凝集免疫测定法的试剂盒, 所述试剂盒包括:

[0030] 第一试剂, 所述第一试剂包含缓冲剂; 和

[0031] 第二试剂, 所述第二试剂包含载有对分析物具有高亲和性的物质的胶乳颗粒,

[0032] 其中所述第一试剂和所述第二试剂中的至少一种包含聚硅氧烷化合物。

[0033] (9) 一种用于胶乳凝集免疫测定法的试剂, 所述试剂包括:

[0034] i) 缓冲剂; ii) 聚硅氧烷化合物; 和 iii) 载有对分析物具有高亲和性的物质的胶乳颗粒。

[0035] 发明的有益效果

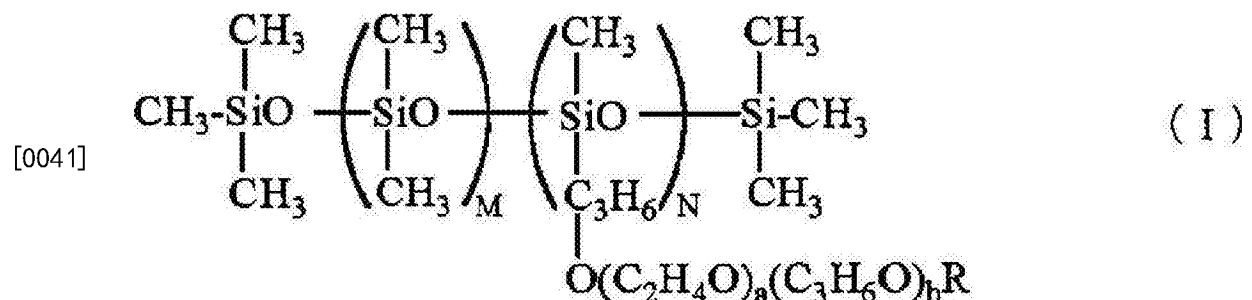
[0036] 本发明提供一种减少由测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对 LT1A 测量系统的干扰的方法。即使利用 LT1A 法使用通过微量采血管采集的测量样品进行测量, 本发明也能够准确测量。

[0037] 实施方案描述

[0038] (聚硅氧烷化合物)

[0039] 聚醚改性的硅油可以优选地用作本发明的聚硅氧烷化合物。优选的聚醚改性的硅油包括烷基 (具有 1 至 3 个碳原子) 硅氧烷和聚氧化烯 (优选在烯基中具有 2 至 5 个碳原子) 的共聚物, 并且特别优选二甲基硅氧烷和聚氧化烯的共聚物。聚氧化烯是指聚氧乙烯、聚氧丙烯以及聚氧乙烯与聚氧丙烯的无规或嵌段聚合物。这样的聚醚改性的硅油的实例包括由下述通式 (1) 表示的化合物:

[0040] [化学式 1]



[0042] (在该式中,M、N、a和b是平均聚合度,R是氢或烷基)

[0043] 在这种情形中,优选地,M和N分别为10-10,000和1-1,000,并且满足 $M > N$ ,更优选地,M和N分别为10-1,000和1-50,并且满足 $M > N$ 。优选地,a是2-100,b是0-50。优选地R是氢或具有1至4个碳原子的烷基。

[0044] 本发明中使用的包含聚醚改性的硅油的商购产品的具体实例包括由Nippon Unicar Company Limited(日本尤尼卡有限责任公司)生产的S1LWET FZ-2166,由Shin-Etsu Chemical(日本信越化工)生产的KF-618,由Dow Corning Toray Silicone Co.,Ltd.(道康宁有机硅有限公司)生产的SH3749、SH7090、SF8410、SH8700和由GE Toshiba Silicone或Momentive Performance Materials Japan LLC.(迈图高新材料日本有限公司)生产的TSA775、TSF4440,并且这些产品中的一种可以单独使用或者两种以上的产品可以作为混合物使用。这些产品可以是与聚烷基硅氧烷或二氧化硅的混合物,如在TSA775的情形中。

[0045] 以下将通过以使用载有抗体的胶乳颗粒作为载有对分析物具有高亲和性的物质或载有分析物的胶乳颗粒的情形为例描述使用本发明的聚硅氧烷化合物制备LT1A试剂的方法。尽管本发明的聚硅氧烷化合物可以添加到组成LT1A试剂的包含或不包含载有抗体的胶乳颗粒的试剂溶液中,但是所述聚硅氧烷化合物优选地添加在包含载有抗体的胶乳颗粒的试剂溶液中。如果聚硅氧烷化合物添加到包含载有抗体的胶乳颗粒的试剂溶液中,所述聚硅氧烷化合物可以在胶乳颗粒载有抗体之前或之后添加到包含胶乳颗粒的试剂溶液中,而所述聚硅氧烷化合物优选地在胶乳颗粒载有抗体之后添加到包含胶乳颗粒的试剂溶液中。添加本发明的聚硅氧烷化合物时的温度可以例如选择为1-65℃的适当温度,只要载有的抗体的功能(活性)没有丧失,在所述温度,预计本发明的聚硅氧烷化合物的溶解性增加。

[0046] 在将本发明的聚硅氧烷化合物添加到包含载有抗体后的胶乳颗粒的试剂溶液中后,可以在1-65℃的适当温度进行适当时间的额外温育。结果,可以预计对载有抗体的胶乳颗粒施加与封闭作用相同的作用。如果进行温育,温育优选地在30-65℃进行。如果温度小于30℃,则可能不能充分施加封闭作用,如果温度超过65℃,则抗体等可能如蛋白质一样变性,导致失去抗体活性。在约37℃温育可以被提供作为优选的温育温度的一个实例。当进行温育时,时间没有限制,并且可以依据温度凭经验选择,以获得预计的封闭效果。在本说明书中,这样的加热或温育操作可以称为封闭处理。

[0047] 本发明的聚硅氧烷化合物的浓度可以规定为例如在胶乳免疫凝集反应时的浓度。优选的浓度包括0.0001%至1%、0.0002%至1%、0.0004%至1%、0.0008%至1%、0.002%至1%、0.003%至1%、0.006%至1%、0.01%至1%、0.03%至1%、0.05%至1%、0.0001%至0.5%、0.0002%至0.5%、0.0004%至0.5%、0.0008%至0.5%、0.002%至0.5%、0.003%至0.5%、0.006%至0.5%、0.01%至0.5%、0.03%至0.5%、0.05%至0.5%、0.0001%至0.2%、0.0002%至0.2%、0.0004%至0.2%、0.0008%至0.2%、0.002%至0.2%、0.003%至0.2%、0.006%至0.2%、0.01%至0.2%、0.03%至0.2%、0.05%至0.2%、0.0001%至0.1%、0.0002%至0.1%、0.0004%至0.1%、0.0008%至0.1%、0.002%至0.1%、0.003%至0.1%、0.006%至0.1%、0.01%至0.1%、0.03%至0.1%,和0.05%至0.1%。通常,优选的浓度是0.0001%至1%,优选0.001%至0.5%,更优选0.01%至0.1%。尽管一些商购的聚硅氧烷化合物产品作为与其他成分(例如,聚烷基硅氧烷和二氧化硅)的

混合物经销,关于获得本发明的效果的浓度(单个产品的剂量)可以参考实施例所述的方法凭经验验证。

[0048] 如上所述,考虑测量灵敏性的可用性、测量范围和测量系统所需要的重复性或试剂的稳定性,本发明的聚硅氧烷化合物可以选自能够在LT1A法中减少由测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对测量系统的干扰的聚硅氧烷化合物(聚硅氧烷产品)的组,并且因此,可以根据需要使用实际最适的类型、浓度、和LT1A试剂制备方法。在本说明书中,“减少干扰”意指抑制由于水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂所致的测量值的减少。

[0049] 尽管并不清楚用于微量采血管的水溶性聚硅氧烷的详细信息,但是商购的水溶性聚硅氧烷包括KS-538 (Shin-Etsu Silicone (信越有机硅)),KM-70 (Shin-Etsu Silicone (信越有机硅)),KM-72F (Shin-Etsu Silicone (信越有机硅)),TSA770 (Comentative),TSA732 (Comentative),TSA7341 (Comentative),AntifoamSl (Wako Pure Chemical Industries (日本和光制药公司)),SM5571 (Toray silicone)等。这些水溶性聚硅氧烷实际上是否引起对胶乳凝集免疫测定的测量系统的干扰可以根据需要通过进行实验检验,并且如果证实为干扰成分,则可以使用所述水溶性聚硅氧烷作为筛选本发明的聚硅氧烷化合物的物质。

[0050] 尽管已经通过以使用载有抗体的胶乳颗粒作为载有对分析物具有高亲和性的物质或载有分析物的胶乳颗粒的情形为例进行了上述描述,但是,明显必须以相同的方式来理解使用抗原作为被载有的物质的情形。从高亲和性结合物质的观点来看,分析物是高亲和性结合物质。如果除抗原或抗体之外的靶成分与载有对所述靶成分特异的结合配体的胶乳颗粒结合,并且因此,取决于所述靶成分的丰度形成所述胶乳颗粒的凝集,则这样的反应液包括在根据本发明的胶乳免疫凝集反应中。

[0051] (胶乳颗粒)

[0052] 尽管本发明中的胶乳颗粒是指聚苯乙烯胶乳颗粒等,但是当在上述胶乳免疫凝集反应中包括胶乳颗粒时和当载有对靶成分特异的结合配体的方法是基于物理方法(如疏水结合)时,本发明的胶乳粒子包括金属胶体、二氧化硅、碳等。考虑所用的光学测量法(例如,测量透射光的浊度测定法、测量散射光的浊度法),胶乳颗粒的尺寸可以按照需要从0.05-1  $\mu\text{m}$ 的范围内选择,以获得需要的测量灵敏性、测量范围等。在自动化分析仪中的光学测量中所用的平均颗粒直径通常为0.1-0.4  $\mu\text{m}$ ,优选0.1-0.2  $\mu\text{m}$ 。胶乳颗粒的平均颗粒直径可以通过粒度分析仪、透射电子显微镜成像或其他方法检验。根据需要,可以依据所用的胶乳颗粒的颗粒直径和测量系统的整体设计例如从0.0001mg/mL至10mg/mL的范围内选择试剂溶液中的胶乳颗粒的浓度。

[0053] (LT1A试剂的组成等)

[0054] 除了反应的主要成分外,本发明的LT1A试剂(试剂溶液)可以包含用于缓冲和调节样品的pH、离子强度、渗透压等的成分,如乙酸、柠檬酸、磷酸、tris、甘氨酸、硼酸、碳酸和Good's缓冲剂以及它们的钠盐、钾盐和钙盐。LT1A试剂可以进一步包含用于增强凝集的成分,诸如大分子,包括聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮和磷脂聚合物。LT1A试剂还可以包含一种或多种用于控制凝集的成分,诸如蛋白质、氨基酸、糖、金属盐、表面活性剂、还原剂和通常用于该目的的离液剂。还可以向本发明的测定试剂中加入任何倾向于引起发泡的成分。

[0055] 尽管用本发明的LT1A试剂测量(测定)的样品的类型可以是多种生物样品中的任

一种,但是优选包含在通过微量采血管采集的血液中的分析物。例如,所述分析物(即,目的物质)可以是蛋白质、肽、氨基酸、脂质、碳水化合物、核酸、或半抗原,或理论上可定量的任意其他分子。分析物的实例包括CRP(C-反应蛋白)、Lp(a)、MMP3(基质金属蛋白酶3)、抗CCP(环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide))抗体、抗磷脂抗体、RPR、IV型胶原、PSA、BNP(脑钠肽)、NT-proBNP、胰岛素、微量白蛋白、半胱氨酸蛋白酶抑制剂C、RF(类风湿因子)、CARF、KL-6、PIVKA-11、FDP、D-二聚体、SF(可溶性血纤蛋白)、TAT(凝血酶-抗凝血酶111复合物)、PIC、PA1、因子X111、胃蛋白酶原1/11、苯妥英(phenytoin)、苯巴比妥(phenobarbital)、卡马西平(carbamazepine)、丙戊酸(valproic acid)、茶碱(theophylline),以及其他。

[0056] 本发明的LT1A试剂由一种或多种试剂溶液组成,即,上述多种试剂溶液。多种试剂溶液的实例包括由缓冲液组成的试剂溶液、包含载有抗体的胶乳颗粒的试剂溶液等,所述缓冲液意在将分析物调节至用于测量的优选浓度或调节抗原-抗体反应的环境。本发明的聚硅氧烷化合物可以包含在组成试剂的所有组分试剂溶液中,或者可以包含在组成测定试剂的任意选择的组分试剂溶液中。

## 实施例

[0057] 尽管以下将参考下述实施例详细描述本发明,但是本发明并不限于下述实施例。

[0058] [实施例1] 验证本发明的聚硅氧烷化合物的作用(1)

[0059] 验证本发明的聚硅氧烷化合物在测量用微量采血管处理的样品中的作用。

[0060] <测试方法>

[0061] (1) 常规LT1A试剂

[0062] 使用SS型Pure Auto(注册商标)S,CRP胶乳(由Sekisui Medical Co.,Ltd.生产)。

[0063] (2) 测试试剂

[0064] (2-1) 第一试剂

[0065] 直接使用所述常规LT1A试剂的缓冲液1(2-氨基-2-羟基甲基-1,3-丙二醇缓冲液(pH 8.5) 20mmol/L)。

[0066] (2-2) 第二试剂

[0067] (i) 对照试剂溶液

[0068] 直接使用所述常规LT1A试剂的胶乳试剂溶液2(抗人C-反应蛋白鼠单克隆抗体敏化的胶乳2.25mg/ml)。

[0069] (ii) 实施例1a至1c的试剂溶液

[0070] 将FZ-2166(由Nippon Unicar Company Limited(日本尤尼卡有限责任公司)生产),KF-618(由Shin-Etsu Silicone生产),SH3749,SH7090,SF8410,SH8700(由Dow Corning Toray Co.,Ltd.(道康宁有机硅有限公司)生产)和TSA775、TSF4440(由GE Toshiba Silicone生产)作为聚硅氧烷化合物以0.01%、0.03%和0.10%的终浓度添加到对照试剂溶液中,并且在37°C加热24小时后使用。

[0071] (3) 制备微量采血管处理的样品和对照样品

[0072] 微量采血管:将预定量,即0.6mL,或预定量的1/12,即0.05mL的全血分散到BD Microtainer Microguard管(目录号:365985;具有肝素锂(Lithium Heparin)和血浆分离

剂添加剂(plasma separator additive);由日本Becton,Dickinson and Company生产;填充体积:0.4-0.6mL)中,并且允许在倒置后静置30分钟,以制备微量采血管处理的样品(以下分别称为0.6-mL样品和0.05-mL样品)。对照样品使用Venoject 11(编号:VP-HL050K;肝素锂;由Terumo生产;填充体积:5mL)制备。

[0073] (4) 测定方法

[0074] 将四种类型的第二试剂(一种对照试剂溶液和实施例1a至1c的三种试剂溶液)与第一试剂(上述常规LT1A试剂的缓冲液1)组合,并且用作测试试剂,按照下述(5)的测量参数,使用HITACHI 7170自动化分析仪(HITACHI 7170 Automated Analyzer)(由Hitachi HighTechnologiesCorporation制造)测量所述测量样品(对照样品和微量采血管处理的样品(0.6-mL样品和0.05-mL样品))。

[0075] (5) HITACHI 7170自动化分析仪的测量参数

[0076] (i) 液体体积:测量样品,3 $\mu$ L;第一试剂,150 $\mu$ L;第二试剂,50 $\mu$ L。

[0077] (ii) 分析方法:二终点法(two-point end method)(光度点19-34)

[0078] (iii) 测量波长:570nm/第二波长800nm

[0079] (iv) 校准:样条(spline)

[0080] (v) 校准物:SS型Pure Auto(注册商标)S,CRP胶乳,校准物

[0081] <测定结果>

[0082] 将通过用所述四种类型的第二试剂(一种对照试剂溶液和实施例1a至1c的三种试剂溶液)测量的0.6-mL样品和0.05-mL样品的吸光度除以使用对照试剂溶液作为第二试剂测量的对照样品的吸光度,以得到相对吸光度(%)。结果显示在表1中。

[0083] 当将不包含本发明的聚硅氧烷化合物的对照试剂溶液用作第二试剂来测量微量采血管-处理的样品时(比较例1),证实相对吸光度的减少。特别是对于0.05-mL样品(通过分散0.05mL得到,0.05mL是预定量的1/12),证实相对吸光度显著变化(减少)至75.6%。

[0084] 相反,当使用实施例1a至1c的试剂溶液(包含八种类型的本发明的聚硅氧烷化合物,每种化合物采用三种浓度)作为第二试剂来测量微量采血管-处理的样品时(实施例1a至1c),即使测量0.05-mL样品,也仅观察到相对吸光度的略微变化或几乎没有变化。

[0085]

[表 1]

聚硅氧烷化合物	比较例 1		实施例 1a		实施例 1b		实施例 1c
	0.6mL	0.05mL	0.6mL	0.05mL	0.6mL	0.05mL	0.10%
无 (Con. Re. Sol.)	92.7	75.6					
FZ-2166			98.9	101.8	98.8	99.7	101.1
KF-618			99.8	95.0	97.7	98.8	102.0
SH3749			98.4	96.8	100.8	98.3	100.2
SH7090			99.6	95.4	97.9	98.5	101.2
SH8410			97.2	93.9	100.8	97.8	99.3
SH8700			99.2	96.2	99.7	98.8	99.1
TSA775			100.3	97.6	99.5	99.0	100.2
TSF4440			97.6	95.5	99.7	98.4	98.9

微量采血管处理的样品

(%)

Con. Re. Sol. =对照试剂溶液

[0086] [实施例2] 使用本发明的聚硅氧烷化合物制备LT1A试剂的方法的考虑

[0087] 对使用本发明的聚硅氧烷化合物制备LT1A试剂的方法有考虑。

[0088] <测试方法>

[0089] (1) 常规LT1A试剂

[0090] 使用与实施例1相同的常规LT1A试剂。

[0091] (2) 测试试剂

- [0092] (2-1) 第一试剂
- [0093] (i) 对照试剂溶液R1
- [0094] 直接使用所述常规LT1A试剂的缓冲液1。
- [0095] (ii) 实施例2a的试剂溶液
- [0096] 将TSA775以0.01%和0.03%的终浓度添加到对照试剂溶液R1中,并且在37℃加热24小时后使用。
- [0097] (2-2) 第二试剂
- [0098] (i) 对照试剂溶液R2
- [0099] 直接使用所述常规LT1A试剂的胶乳试剂溶液2。
- [0100] (ii) 实施例2b的试剂溶液
- [0101] 将TSA775以0.01%和0.03%的终浓度添加到对照试剂溶液R2中,并且在10℃以下静置24小时后使用。
- [0102] (iii) 实施例2c的试剂溶液
- [0103] 将TSA775以0.01%和0.03%的终浓度添加到对照试剂溶液R2中,并且在37℃加热24小时后使用。
- [0104] (3) 制备微量采血管处理的样品和对照样品
- [0105] 如在实施例1中的情形一样制备0.6-mL样品、0.05-mL样品和对照样品。
- [0106] (4) 测定方法
- [0107] 所述第一试剂和所述第二试剂以下述四种组合用作测试试剂,并且按照下述(5)的测量参数,使用HITACHI 7170自动化分析仪(HITACHI 7170Automated Analyzer)测量测量样品(对照样品和微量采血管处理的样品(0.6-mL样品和0.05-mL样品))。
- [0108] 比较例2:对照试剂溶液R1和对照试剂溶液R2
- [0109] 实施例2a:实施例2a的试剂溶液和对照试剂溶液R2
- [0110] 实施例2b:对照试剂溶液R1和实施例2b的试剂溶液
- [0111] 实施例2c:对照试剂溶液R1和实施例2c的试剂溶液
- [0112] (5) HITACHI 7170自动化分析仪的测量参数
- [0113] 条件与实施例1相同。
- [0114] <测定结果>
- [0115] 将通过使用第一和第二试剂的四种组合(比较例2和实施例2a至2c)测量的0.6-mL样品和0.05-mL样品的测量值(通过由校准物进行浓度转化获得的值)除以使用比较例2的第一和第二试剂的组合测量的对照样品的测量值,以得到相对测量值(%)。结果显示在表2中。
- [0116] 当以不包含本发明的聚硅氧烷化合物的对照试剂溶液R1和对照试剂溶液R2的组合来测量微量采血管处理的样品时(比较例2),证实了相对测量值的减小。
- [0117] 相反,当使用包含本发明的聚硅氧烷化合物的实施例2a至2c的试剂溶液测量微量采血管处理的样品时(实施例2a至2c),即使测量0.05-mL样品,也仅观察到相对测量值的略微变化或几乎没有变化。
- [0118] 在使用包含本发明的聚硅氧烷化合物的试剂溶液的实施例2a至2c中,0.6-mL样品和0.05-mL样品在两种聚硅氧烷化合物的浓度的相对测量值(四种类型)的平均值为96.0%

(实施例2a), 98.3% (实施例2b), 和100.5% (实施例2c)。由上述结果, 当将本发明的聚硅氧烷化合物添加到包含载有抗体的胶乳的试剂中并且在37°C加热24小时时, 在三种检验的条件下获得最大的干扰减少作用。

[0119] 认为这可能归因于聚硅氧烷化合物在试剂溶液中溶解性的改善, 或者由于加热和温育而施加的与封闭作用相同的作用。

[0120]

[表 2]

第一试剂	比较例 2		实施例 2a		实施例 2b		实施例 2c	
	Con. Re. Sol. R1	Con. Re. Sol. R2	Con. Re. Sol. R1	Con. Re. Sol. R2	Con. Re. Sol. R1	Con. Re. Sol. R2	Con. Re. Sol. R1	Con. Re. Sol. R2
第二试剂								
聚硅氧烷化合物			添加到第一试剂	添加到第二试剂并且允许在 10°C 以下静置	添加到第二试剂并且允许在 37°C 加热 24 小时			
			0.01%	0.03%	0.01%	0.03%	0.01%	0.03%
0.6mL	92.7		96.9	96.7	98.8	100.4	101.1	96.8
0.05mL	77.0		93.4	96.8	93.3	100.7	102.7	101.2

(%)

Con. Re. Sol. = 对照试剂溶液

- [0121] [实施例3] 验证本发明的聚硅氧烷化合物的作用 (2)
- [0122] 验证本发明的聚硅氧烷化合物在测量添加有表面活性剂的样品中的作用。
- [0123] <测试方法>
- [0124] (1) 常规LT1A试剂
- [0125] 使用与实施例1相同的常规LT1A试剂。
- [0126] (2) 测试试剂
- [0127] (2-1) 第一试剂
- [0128] 直接使用所述常规LT1A试剂的缓冲液1。
- [0129] (2-2) 第二试剂
- [0130] (i) 对照试剂溶液
- [0131] 直接使用所述常规LT1A试剂的胶乳试剂溶液2。
- [0132] (ii) 实施例3的试剂溶液
- [0133] 将TSA775以0.01%的终浓度添加到对照试剂溶液中,并且在37°C加热20小时后使用。
- [0134] (3) 制备添加有表面活性剂的样品和对照样品
- [0135] 将Triton (注册商标) X-100 (聚氧乙烯 (10) 辛基苯基醚), Tween (注册商标) 20 (聚氧乙烯失水山梨醇单月桂酸酯), 和Brij (注册商标) 35 (聚氧乙烯 (23) 月桂基醚) 以表3所述的添加剂浓度 (终浓度) 添加到通过将全血分散到玻璃试管中得到的血清中, 以制备添加有表面活性剂的样品。将具有盐水的血清用作对照样品。
- [0136] (4) 测定方法
- [0137] 将两种类型的第二试剂 (对照试剂溶液和实施例3的试剂溶液) 与第一试剂 (常规LT1A试剂的缓冲液1) 组合并且用作测试试剂, 并且按照下述 (5) 的测量参数, 使用HITACHI 7170自动化分析仪 (HITACHI 7170Automated Analyzer) 测量测量样品 (对照样品和添加有表面活性剂的样品)
- [0138] (5) HITACHI 7170自动化分析仪的测量参数
- [0139] 条件与实施例1相同。
- [0140] <测定结果>
- [0141] 将使用第一和第二试剂的两种组合 (比较例3和实施例3) 测量的添加有表面活性剂的样品的测量值 (通过由校准物进行浓度转化获得的值) 除以使用比较例3的第一和第二试剂的组合测量的对照样品的测量值, 以得到相对测量值 (%)。结果显示在表3中。
- [0142] 在包含本发明的聚硅氧烷化合物的实施例3中, 与比较例3相比较, 相对测量值的波动范围较小。特别是在较高的表面活性剂浓度的情形中, 这种差异变得显著。
- [0143] 还发现使用本发明的方法的LT1A测量系统可以避免非专利文献1中所述的表面活性剂的干扰。
- [0144] [表3]

[0145]

表面活性剂	添加剂浓度	比较例 3	实施例 3
Triton X-100	0.10%	91.4	100.0
	1.00%	0.0	54.3
Tween 20	0.10%	92.9	95.2
	0.50%	66.7	83.3
Brij 35	0.10%	97.6	97.6
	1.00%	88.1	95.2

(%)

[0146] 工业适用性

[0147] 本发明提供一种减少由测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对LT1A测量系统的干扰的方法。即使将通过微量采血管采集的测量样品用于进行LT1A法测量,本发明也能够进行准确测量。

专利名称(译)	减少来自测量系统外部的成分的干扰的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103038641B</a>	公开(公告)日	2017-05-10
申请号	CN201180026269.1	申请日	2011-03-31
[标]申请(专利权)人(译)	积水医疗株式会社		
申请(专利权)人(译)	积水医疗株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	积水医疗株式会社		
[标]发明人	高桥弘至 高桥由纪 斋藤和典		
发明人	高桥弘至 高桥由纪 斋藤和典		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/5375 G01N33/54313		
优先权	2010081678 2010-03-31 JP		
其他公开文献	CN103038641A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明的目的是提供一种在胶乳凝集免疫测定法中减少由测量系统外部混入的水溶性聚硅氧烷和/或表面活性剂对所述测量系统的干扰的方法。在聚硅氧烷化合物存在下进行胶乳免疫凝集反应可以减少从测量系统外部混入的来源于微量采血管的成分(水溶性聚硅氧烷)和/或表面活性剂对所述测量系统的干扰。

