



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104204801 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 10

(21) 申请号 201380017740. X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 03. 28

G01N 33/531 (2006. 01)

G01N 33/543 (2006. 01)

(30) 优先权数据

2012-078449 2012. 03. 30 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 09. 29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2013/059180 2013. 03. 28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/146977 JA 2013. 10. 03

(71) 申请人 电化生研株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 M. 加纳 橘律子 饭塚雅行

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

司 72001

代理人 杜艳玲 孟慧岚

权利要求书1页 说明书7页 附图25页

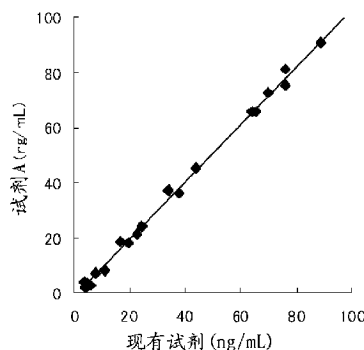
(54) 发明名称

免疫分析方法及试剂

(57) 摘要

本发明公开了能够高灵敏度且正确地测定抗原的免疫分析方法及用于所述方法的试剂。该免疫分析方法在多羧酸型表面活性剂存在下进行抗原抗体反应和/或测定。在该方法中使用的免疫分析试剂的特征是,含有多羧酸型表面活性剂。借助使反应和/或测定体系中存在多羧酸型表面活性剂的简单手段,即使在高灵敏度的免疫分析中也能有效地抑制非特异性反应,且在免疫分析中能够正确地测定抗原而提高特异性。

低浓度区域放大



1. 免疫分析方法,其在多羧酸型表面活性剂的存在下进行抗原抗体反应和 / 或测定。
2. 权利要求 1 所述的方法,其中,所述多羧酸型表面活性剂是:(1) 马来酸和 / 或马来酸酐与 (2) 二异丁烯的共聚体,和 / 或其盐。
3. 权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,在所述多羧酸型表面活性剂存在的反应体系和 / 或测定体系中,所述多羧酸型表面活性剂的浓度是 0.001%-3%。
4. 权利要求 1-3 中任一项所述的方法,其中,在所述多羧酸型表面活性剂的存在下,从抗原抗体反应开始进行至测定结束。
5. 权利要求 1-4 中任一项所述的方法,其中,所述免疫分析方法是免疫凝集法。
6. 权利要求 5 所述的方法,其中,所述免疫凝集法是乳胶凝集法。
7. 在权利要求 1 所述的方法中使用的免疫分析试剂,其特征在于,含有多羧酸型表面活性剂。
8. 权利要求 7 所述的试剂,其中,所述多羧酸型表面活性剂是:(1) 马来酸和 / 或马来酸酐与 (2) 二异丁烯的共聚体。
9. 权利要求 7 或 8 所述的试剂,其为用于免疫凝集的试剂,其还含有用于免疫凝集法的试剂。
10. 权利要求 9 所述的试剂,其为用于乳胶凝集的试剂,其还含有用于乳胶凝集法的试剂。

## 免疫分析方法及试剂

### 技术领域

[0001] 本发明涉及免疫分析方法及用于所述方法的试剂。

### 背景技术

[0002] 免疫分析方法广泛用于血清、血浆、尿、便、脑脊液等的临床检查,近年来,由于能够简单迅速地进行测定,因此广泛应用一起地自动进行从反应到测定的自动分析装置。

[0003] 已知免疫分析方法是利用抗原抗体反应且特异性高的测定方法。但是,存在由于样品而产生假阳性或假阴性等非特异性反应的问题。存在显示出与真实值不同的测定值的问题,例如,有在样品中存在识别抗体并反应的因子的情况,此情况下样品中即使不存在要测定的抗原也得到阳性的测定值,另一方面,有在样品中存在抑制抗原抗体反应的因子的情况,此情况下样品中即使存在要测定的抗原也得到阴性的测定值。

[0004] 作为抑制非特异性反应的手段,已知添加人 IgM 天然抗体、具有砒基或其盐的芳香族单体聚合而成的聚合物(参考专利文献 1、2)。但是,这些添加剂有时不充分,尤其是难以抑制低浓度区域下的非特异性反应。进一步地,对于高灵敏度的试剂,由于抗体反应性增加,非特异性反应容易发生。

[0005] 现有技术文献

专利文献

专利文献 1:专利 4065600 号公报

专利文献 2:专利 4580180 号公报。

### 发明内容

[0006] 本发明要解决的问题

本发明的目的是,提供在免疫分析中能够高灵敏度且正确地测定抗原的免疫分析方法及用于所述方法的试剂。

[0007] 解决问题的手段

本申请发明人进行了深入研究,结果发现,通过使多羧酸型表面活性剂存在于免疫分析中,即使是高灵敏度的测定,也能够容易地抑制非特异性反应。

[0008] 也即,本发明涉及下列 1) -9)。

[0009] 1) 免疫分析方法,其在多羧酸型表面活性剂存在下进行抗原抗体反应和 / 或测定。

[0010] 2) 1) 的方法,其中,所述多羧酸型表面活性剂是:(1) 马来酸和 / 或马来酸酐或其盐与 (2) 二异丁烯的共聚体。

[0011] 3) 1) 或 2) 的方法,其中,在所述多羧酸型表面活性剂存在的反应体系和 / 或测定体系中,该多羧酸型表面活性剂的浓度是 0.001%-3%。

[0012] 4) 1) -3) 中任一项的方法,其中,在所述多羧酸型表面活性剂存在下,从抗原抗体反应开始进行至测定结束。

[0013] 5) 1) -4) 中任一项的方法,其中,所述免疫分析方法是免疫凝集法。

[0014] 6) 5) 的方法,其中,所述免疫凝集法是乳胶凝集法。

[0015] 7) 在 1) 的方法中使用的免疫分析试剂,其特征是,含有多羧酸型表面活性剂。

[0016] 8) 7) 的试剂,其中,所述多羧酸型表面活性剂是:(1) 马来酸和 / 或马来酸酐与 (2) 二异丁烯的共聚体。

[0017] 9) 7) 或 8) 的试剂,其为用于免疫凝集的试剂,其还含有用于免疫凝集法的试剂。

[0018] 10) 9) 的试剂,其为用于乳胶凝集的试剂,其还含有用于乳胶凝集法的试剂。

[0019] 发明的效果

根据本发明方法,通过使多羧酸型表面活性剂在反应和 / 或测定体系中存在的简单手段,即使在高灵敏度的免疫分析中也能有效地抑制非特异性反应,在免疫分析中,能够正确地测定抗原而提高特异性。

[0020] 附图说明

图 1 显示下述实施例及比较例中作出的校准曲线(calibration curve)。

[0021] 图 2 显示下述实施例的免疫分析方法与应用已知抑制非特异性反应的市售试剂(现有试剂)的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0022] 图 3 对图 2 的低浓度区域进行放大显示。

[0023] 图 4 显示下述比较例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0024] 图 5 对图 4 的低浓度区域进行放大显示。

[0025] 图 6 显示下述比较例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0026] 图 7 对图 6 的低浓度区域进行放大显示。

[0027] 图 8 显示下述比较例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0028] 图 9 对图 8 的低浓度区域进行放大显示。

[0029] 图 10 显示下述实施例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0030] 图 11 对图 10 的低浓度区域进行放大显示。

[0031] 图 12 显示下述实施例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0032] 图 13 对图 12 的低浓度区域进行放大显示。

[0033] 图 14 显示下述实施例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0034] 图 15 对图 14 的低浓度区域进行放大显示。

[0035] 图 16 显示下述实施例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0036] 图 17 对图 16 的低浓度域进行放大显示。

[0037] 图 18 显示下述比较例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0038] 图 19 对图 18 的低浓度区域进行放大显示。

[0039] 图 20 显示下述实施例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0040] 图 21 对图 20 的低浓度区域进行放大显示。

[0041] 图 22 显示下述实施例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0042] 图 23 对图 22 的低浓度区域进行放大显示。

[0043] 图 24 显示下述实施例的免疫分析方法与应用现有试剂的免疫分析方法的测定结果的相关关系。

[0044] 图 25 对图 24 的低浓度区域进行放大显示。

[0045] 具体实施方式

下文对本发明的方法进行说明。另外,本说明书中的“%”如无特别限定则意味着质量基准(w/v%)。

[0046] 本发明的免疫分析方法应用对样本中的被测定物质免疫性地反应的免疫分析试剂,进行抗原抗体反应,并测定得到的反应物,其特征是,在多羧酸型表面活性剂存在下进行反应和/或测定。

[0047] 免疫分析的手段本身是公知的。本发明方法适用的免疫分析方法可为公知的任意免疫分析方法,其中优选免疫凝集法,尤其优选应用乳胶粒子作为不溶性载体粒子的乳胶凝集法。免疫凝集法中检测敏化粒子的凝集的方法是公知的,本发明中也可使用公知方法,例如检测敏化粒子凝集引起的吸光度或光散射等的方法等。例如,可列举:免疫比浊法(TIA法、乳胶凝集法)、比色法、RPLA法、CL法及免疫层析法等,优选应用灵敏度高且定量精度良好的比浊法及比色法。

[0048] 作为该免疫分析方法的方式,应用的不溶性载体粒子没有特别限制,可为免疫分析试剂中一直应用的公知粒子。例如,可列举:聚乙烯或聚苯乙烯等乳胶粒子、氧化铝粒子、二氧化硅粒子、胶体金、磁性粒子等粒子。这些不溶性载体中优选应用乳胶粒子,特别是聚苯乙烯乳胶粒子。免疫凝集法公知为光学地检测感应了抗原或抗体的敏化粒子的凝集的方法,在检测中优选应用比浊法或比色法。例如,从比色皿外部照射从可见光至近红外区域的光,例如通常 300-1000nm、优选 500-900nm 的光,检测吸光度变化或散射光的强度变化,从而测定该敏化粒子的凝集的程度。乳胶粒子特别优选应用聚苯乙烯乳胶粒子。乳胶粒子的尺寸没有特别限定,优选粒径是 30-600nm。

[0049] 在上述的乳胶粒子中,固定与应测定的抗原进行免疫反应的抗体或其抗原结合片段。固定的方法也是公知的,通过物理吸附或共价键等公知方法进行。如果将得到的敏化粒子悬浮液与被测样品混合,敏化粒子由于被测样品中含有的被测定物质(抗原)而凝集,敏化粒子悬浮液的吸光度变化。测定该吸光度的变化量(终点法)或变化率(比率法)。制备以各种已知浓度包含应测定的抗原的多个标准样品,并通过上述方法对它们测定吸光度的变化量或变化率。以标准样品中应测定的抗原的浓度为横轴、以测定的吸光度变化量或变化率为纵轴绘图,绘制校准曲线。对未知的被测样品通过相同方法测定吸光度的变化量或变化率,将测定结果与上述校准曲线对照,从而能够对被测样品中的抗原定量。

[0050] 另外,市售有各种进行该免疫凝集法的自动装置,应用市售的用于免疫凝集法的

自动装置,能够容易且简单地实施。

[0051] 本发明中免疫分析的被测定物质没有任何限制,只要是能够通过免疫分析测定的物质即可,被测定物质是抗原时,例如可列举:CRP (C-反应蛋白)、前列腺特异性抗原、铁蛋白、 $\beta$ -2 微球蛋白、肌红蛋白、血红蛋白、白蛋白、肌酸酐等蛋白标志物, IgG、IgA、IgM 等免疫球蛋白,各种肿瘤标志物, LDL、HDL、TG 等脂蛋白,甲型流感病毒 (influenza A virus)、乙型流感病毒 (influenza B virus)、RS 病毒 (RSV)、鼻病毒 (rhinovirus)、轮状病毒 (rotavirus)、诺如病毒 (norovirus)、腺病毒 (adenovirus)、星状病毒 (astrovirus)、HAV、HBs、HCV、HIV、EBV 等病毒抗原,沙眼衣原体 (chlamydia trachomatis)、溶血性链球菌 (hemolytic streptococcus)、百日咳菌 (bordetella pertussis)、幽门螺旋杆菌 (helicobacter pylori)、钩端螺旋体 (leptospira)、梅毒螺旋体 (treponema palidum)、弓形虫 (toxoplasma gondii)、包柔氏螺旋体 (borrelia)、军团菌属菌 (legionella)、炭疽杆菌 (anthrax bacillus)、MRSA 等细菌抗原,细菌等生产的毒素,支原体 (mycoplasma) 脂质抗原,人绒毛膜促性腺激素等肽激素、类固醇激素等类固醇,肾上腺素、吗啡等生理活性胺类,维生素 B 类等维生素类,前列腺素类,四环素等抗生素,农药,环境激素等,但不限于此。优选的例子可列举:CRP、前列腺特异性抗原、铁蛋白、 $\beta$ -2 微球蛋白及血红蛋白等抗原。

[0052] 被测定物质是抗体时,可列举:与上述蛋白标志物、各种肿瘤标志物、脂蛋白、病毒抗原、细菌抗原、细菌等产生的毒素、肽激素、类固醇、生理活性胺类、维生素类、抗生素、农药、环境激素等抗原特异性反应的抗体等。

[0053] 免疫分析中应用的样本没有特别限制,只要含有被测定物质即可,可列举:血液、血清、血浆、尿、便、唾液、组织液、脑脊液、拭子液等体液等或其稀释物,优选血液、血清、血浆、尿、便、脑脊液或其稀释物。

[0054] 如上述,本发明方法的特征是,在反应体系和 / 或测定体系中,在多羧酸型表面活性剂存在的状态下,进行抗原抗体反应和 / 或测定。“多羧酸型表面活性剂”为,作为包含 1 分子中具有多数羧基或其盐、和 / 或酸酐基(酸酐基的至少一部分在水中水解产生羧基,因此在水中在 1 分子中具有多数羧基)的高分子的表面活性剂而为人所知的阴离子表面活性剂的一种,公知各种多羧酸型表面活性剂且有市售且在工业中使用。本发明可应用任一多羧酸型,其中优选:(1) 马来酸和 / 或马来酸酐与 (2) 二异丁烯的共聚体,和 / 或其盐。此处,对盐没有特别限制,优选钠盐。该共聚体或其盐在工业中广泛应用,也有市售,因此本发明中也可优选利用市售品(参考下述实施例)。

[0055] 多羧酸型表面活性剂的重量平均分子量没有特别限制,优选 1000-5 万左右。

[0056] 本发明方法中,对于该多羧酸型表面活性剂,在从抗原抗体反应开始至抗原抗体反应量检测、定量结束的任意阶段,多羧酸型表面活性剂在反应和 / 或测定体系(也称为“反应、测定体系”)中包含即可,优选在从抗原抗体反应开始至检测、定量为止期间均包含。因此,多羧酸型表面活性剂优选在抗原抗体反应开始前或与抗原抗体反应开始同时加入反应体系内。具体地,可在稀释样本时加入,也可在抗体或抗原与样本混合时加入。

[0057] 另外,也可使免疫分析中应用的各种试剂中预先包含多羧酸型表面活性剂,本发明也提供含有该多羧酸型表面活性剂的免疫分析试剂。此处,免疫分析中应用的各种试剂可列举:例如样本稀释液、抗体 / 抗原稀释液、固相化抗体 / 抗原、敏化粒子悬浮液、洗涤液、酶液、基质液、用于制备校准曲线的被测物质标准液等,含有多羧酸型表面活性剂的免疫分

析试剂可列举：在这些试剂中加入多羧酸型表面活性剂而成的试剂，例如，在稀释样本的缓冲液、含有抗体或抗原的试剂等中包含多羧酸型表面活性剂而成的试剂。

[0058] 另外，例如，可使含有将抗体或抗原固定(敏化)而成的乳胶粒子(敏化粒子)的免疫凝集试剂中包含多羧酸型表面活性剂。此时，免疫分析试剂中敏化粒子的浓度没有特别限制，优选 0.01-0.5%。敏化粒子悬浮液中抗体量及抗原量根据常规方法即可，没有特别限制，例如在抗体敏化乳胶的情况下，优选抗体量在乳胶悬浮液中是 0.01-2.0mg/mL。

[0059] 从非特异性反应抑制方面而言，多羧酸型表面活性剂在反应、测定体系内的浓度优选 0.001-3%，更优选 0.005-1%。因此，免疫分析试剂中预先包含多羧酸型表面活性剂时，其可在免疫分析试剂中使得在反应和 / 或测定体系中的浓度成为上述浓度的方式包含。

[0060] 免疫分析中应用的空白样品不含被测定物质即可，没有特别限制，优选纯化水、生理盐水、缓冲液、阴性样本或它们的稀释物。

[0061] 如下述实施例中公地，使多羧酸型表面活性剂在反应和 / 或测定体系中存在时，非特异性反应得到抑制。并且，特异性与多羧酸型表面活性剂不存在时相比优势性地提高。因此，通过应用本发明方法，尤其是在容易产生非特异性反应的高灵敏度化试剂中，与以前相比可提高试剂性能。

[0062] 以下，基于实施例及比较例对本发明进行更具体说明。但本发明不限于下述实施例。

[0063] 实施例 1、比较例 1-3

#### (1) 试剂的配制

应用针对铁蛋白的抗体，如下配制利用免疫凝集法的测定试剂。

[0064] i) 将相对于平均粒径 300nm 的聚苯乙烯乳胶悬浮液 1mL 担载 0.03mg 抗铁蛋白抗体而成的敏化粒子，以成为 0.04% 的方式悬浮在缓冲液(tris、pH8.0)中，而配制乳胶悬浮液。

[0065] ii) 在缓冲液(tris、pH8.5)中加入多羧酸型表面活性剂(马来酸·二异丁烯共聚体钠)，配制下述试剂 A(实施例 1)。作为比较例 1-3，配制不加入任何物质或进一步加入其它添加剂的试剂 B-D。

[0066] 【表 1】

例	试剂	添加剂(浓度)
实施例 1	A	+马来酸·二异丁烯共聚体钠 *1 1.0%
比较例 1	B	无
比较例 2	C	+正常兔球蛋白 3 g /L
比较例 3	D	+聚苯乙烯磺酸钠 *2 1.0%

\*1: 多羧酸型表面活性剂(阴离子表面活性剂)“polystar OM”(商品名，日油株式会社市售)

\*2: 阴离子表面活性剂“PS-5”(商品名，东曹株式会社(TOSOH CORPORATION)市售)。

[0067] (2) 利用自动分析装置的测定

自动分析装置为，利用日立公司 7180 型自动分析装置通过终点法进行自动测定。

[0068] 应用前述试剂 A-D，测定含有已知引起非特异性反应的 RF 阳性样本的 24 个血清样本。在样本溶液 10.0 μL 中加入试剂 A-D 的上述配制的缓冲液 100 μL，在 37°C 下搅拌混合该混合液。放置 5 分钟后，加入乳胶悬浮液 100 μL，进一步在 37°C 下搅拌混合。以吸光度

变化量测定约 5 分钟的凝集反应,通过校准曲线算出各样本的铁蛋白浓度。

#### [0069] (3) 与现有试剂的灵敏度比较

上述实施例 1 及比较例 1-3 的测定灵敏度与已知抑制非特异性反应的现有市售乳胶试剂 FER-Latex X2 “生研”CN (Denka Seiken) (以下称为“现有试剂”)的灵敏度进行比较。结果示于图 1。

[0070] 如图 1 所知,在实施例 1 及比较例 1-3 的方法中,与应用现有试剂的方法相比,若为相同铁蛋白浓度,则吸光度变化量变大,实施例 1 及比较例 1-3 的方法测定灵敏度高。

#### [0071] (4) 与现有试剂的特异性比较

上述实施例 1 及比较例 1-3 的测定结果与应用上述现有试剂的方法的测定结果进行比较。结果分别示于图 2-9。

[0072] 已知现有试剂是抑制非特异性反应的试剂。比较显示实施例 1 的结果的图 2 及图 3、以及显示各比较例的结果的图 4- 图 9,显示出在高灵敏度化的免疫分析方法中,通过加入多羧酸型表面活性剂,非特异性反应得以抑制,与应用现有试剂时的测定结果的相关性增加。显示出尤其是低浓度区域增加。

#### [0073] 实施例 2-5、比较例 4

##### (1) 试剂的配制

应用针对铁蛋白的抗体,如下配制利用免疫凝集法的测定试剂。

[0074] i) 将相对于平均粒径 300nm 的聚苯乙烯乳胶悬浮液 1mL 负载 0.03mg 抗铁蛋白抗体而成的敏化粒子,以成为 0.04% 的方式悬浮在缓冲液(tris、pH8.0)中,配制乳胶悬浮液。

[0075] ii) 在缓冲液(tris、pH8.5)中加入多羧酸型表面活性剂(马来酸·二异丁烯共聚体钠、“polystar 0M”(商品名,日油株式会社市售)),配制下述试剂 E-H (实施例 2-5)。作为比较例 4,配制不加入任何物质的试剂 I。

#### [0076] 【表 2】

例	试剂	添加剂(浓度)
实施例 2	E	+ 马来酸·二异丁烯共聚体钠 0.1%
实施例 3	F	+ 马来酸·二异丁烯共聚体钠 0.5%
实施例 4	G	+ 马来酸·二异丁烯共聚体钠 1.0%
实施例 5	H	+ 马来酸·二异丁烯共聚体钠 2.0%
比较例 4	I	无

##### (2) 利用自动分析装置的测定

自动分析装置为,利用日立公司 7180 型自动分析装置通过终点法进行自动测定。

[0077] 应用前述试剂 E-I,测定含有已知引起非特异性反应的 RF 阳性样本的 24 个血清样本。在样本溶液 10.0  $\mu$ L 中加入试剂 E-I 的上述配制的缓冲液 100  $\mu$ L,在 37 $^{\circ}$ C 下搅拌混合该混合液。放置 5 分钟后,加入乳胶悬浮液 100  $\mu$ L,进一步在 37 $^{\circ}$ C 下搅拌混合。以吸光度变化量测定约 5 分钟的凝集反应,通过校准曲线算出各样本的铁蛋白浓度。

#### [0078] (3) 与现有试剂的比较

上述实施例 2-5 及比较例 4 的测定结果与应用上述现有试剂的方法的测定结果进行比较。结果分别示于图 10-19。

[0079] 已知现有试剂是抑制非特异性反应的试剂。比较显示实施例 2-5 的结果的图 10- 图 17、以及显示比较例 4 的结果的图 18- 图 19,显示出在高灵敏度化的免疫分析方法中,通过加入多羧酸型表面活性剂,非特异性反应得以抑制,与应用现有试剂时的测定结果

的相关性增加。显示出尤其是低浓度区域增加。

[0080] 实施例 6、7, 比较例 5

(1) 试剂的配制

应用针对铁蛋白的抗体, 如下配制利用免疫凝集法的测定试剂。

[0081] i) 将相对于平均粒径 300nm 的聚苯乙烯乳胶悬浮液 1mL 担载 0.03mg 抗铁蛋白抗体而成的敏化粒子, 以成为 0.04% 的方式悬浮在缓冲液(tris、pH8.0)中, 配制乳胶悬浮液。

[0082] ii) 在缓冲液(tris、pH8.5)中加入多羧酸型表面活性剂, 配制下述试剂 J (实施例 6)、试剂 K (实施例 7)。作为比较例 5, 配制不加入任何物质的试剂 L。

[0083] 【表 3】

例	试剂	添加剂(浓度)
实施例 6	J	+马来酸·二异丁烯共聚体钠 *1 1.0%
实施例 7	K	+多羧酸型表面活性剂 *2 1.0%
比较例 5	L	无

\*1: 多羧酸型表面活性剂(阴离子表面活性剂)“polystar 0M”(商品名, 日油株式会社市售)

\*2: 多羧酸型表面活性剂(商品名“デモール EP”(DEMOL EP), 花王株式会社市售)。

[0084] (2) 利用自动分析装置的测定

自动分析装置为, 利用日立公司 7180 型自动分析装置通过终点法进行自动测定。

[0085] 应用前述试剂 J-L, 测定含有已知引起非特异性反应的 RF 阳性样本的 24 个血清样本。在样本溶液 10.0  $\mu$ L 中加入试剂 J-L 的上述配制的缓冲液 100  $\mu$ L, 在 37°C 下搅拌混合该混合液。放置 5 分钟后, 加入乳胶悬浮液 100  $\mu$ L, 进一步在 37°C 下搅拌混合。以吸光度变化量测定约 5 分钟的凝集反应, 通过校准曲线算出各样本的铁蛋白浓度。

[0086] (3) 与现有试剂的比较

上述实施例 6 和 7 以及比较例 5 的测定结果与应用上述现有试剂的方法的测定结果进行比较。结果分别示于图 20-25。

[0087] 已知现有试剂是抑制非特异性反应的试剂。比较显示实施例 6-7 的结果的图 20-图 23、以及显示比较例 5 的结果的图 24-图 25, 显示出在高灵敏度化的免疫分析方法中, 通过加入多羧酸型表面活性剂, 非特异性反应得以抑制, 与应用现有试剂时的测定结果的相关性增加。显示出尤其是低浓度区域增加。

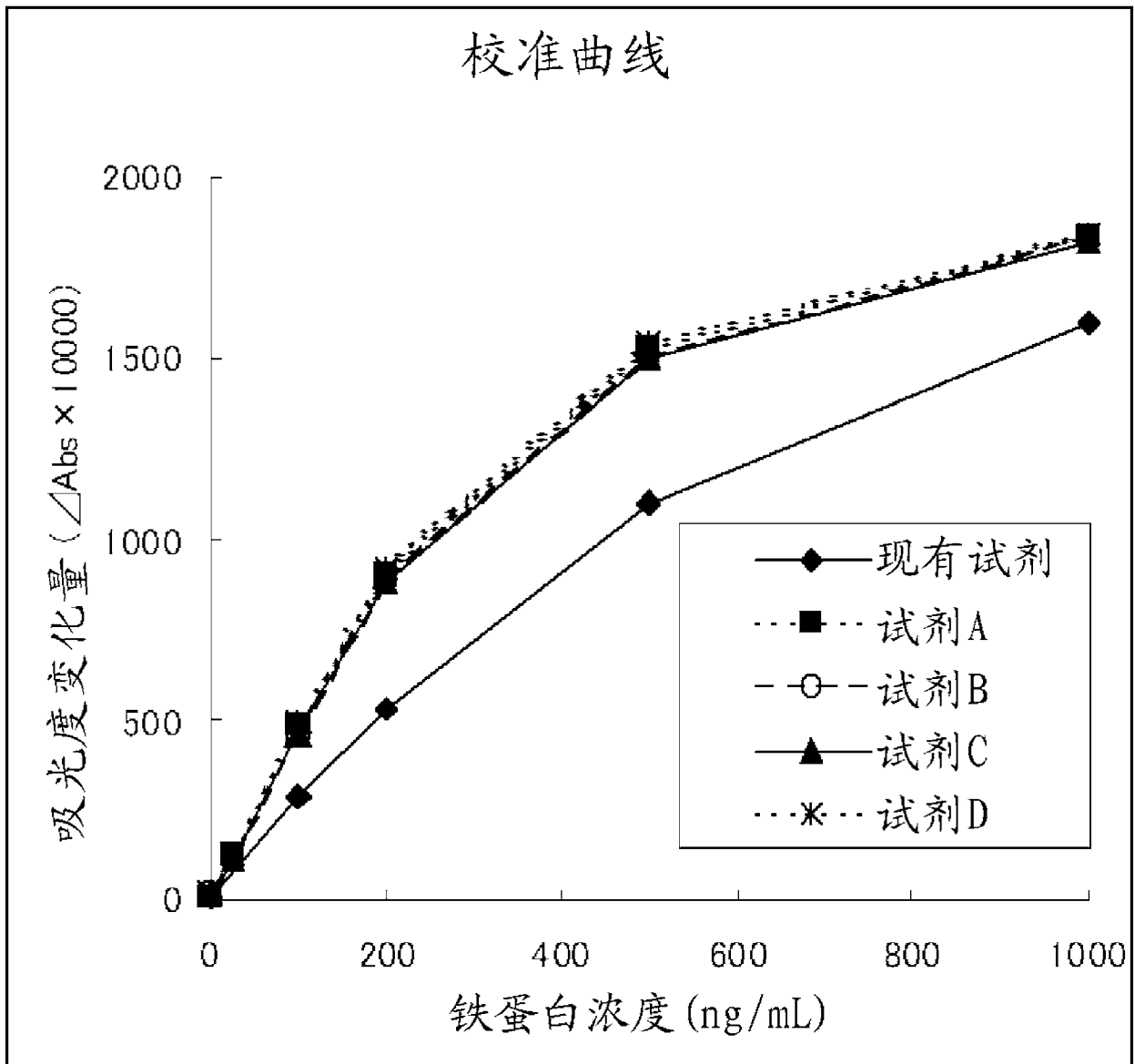


图 1

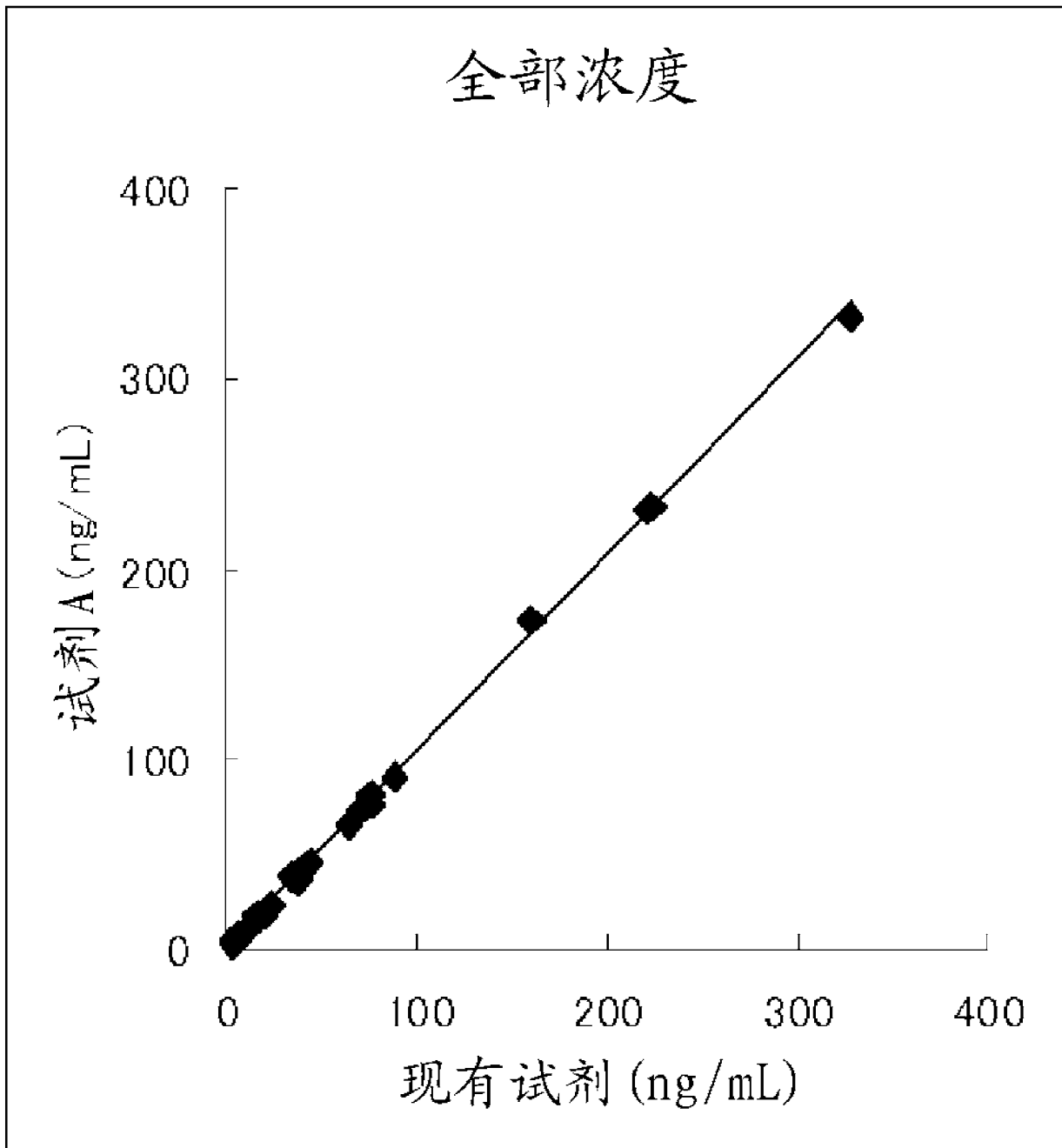


图 2

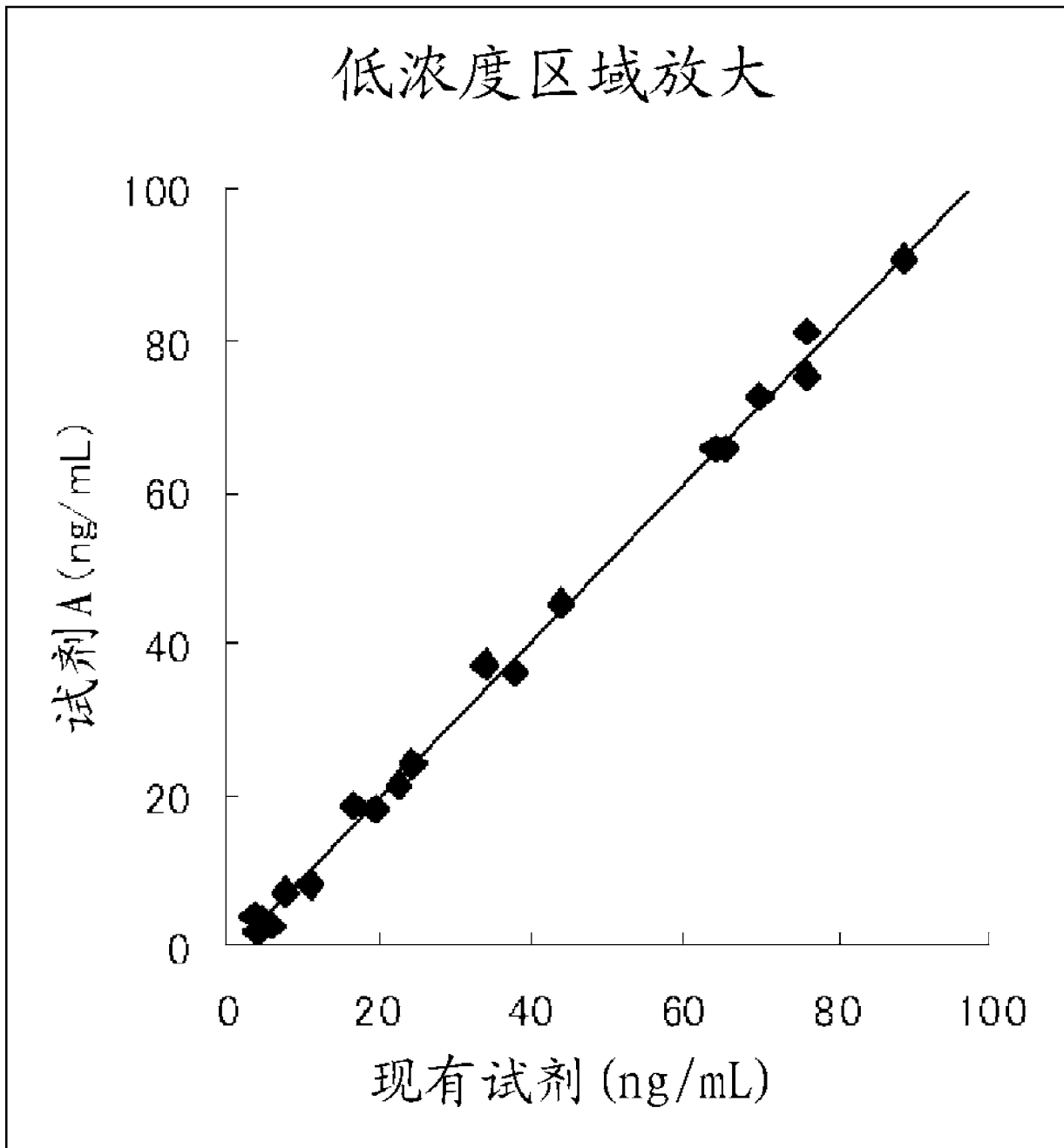


图 3

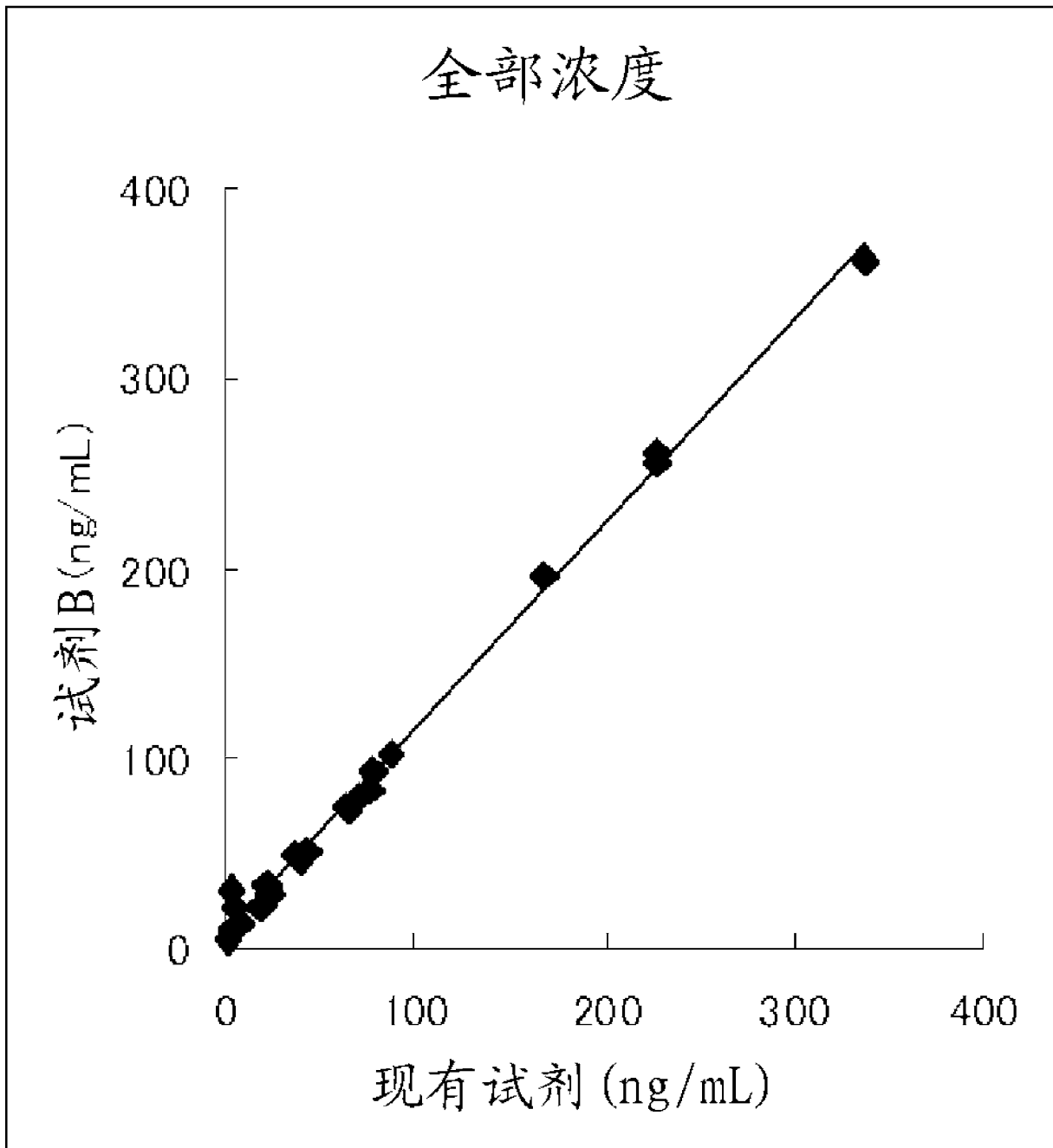


图 4

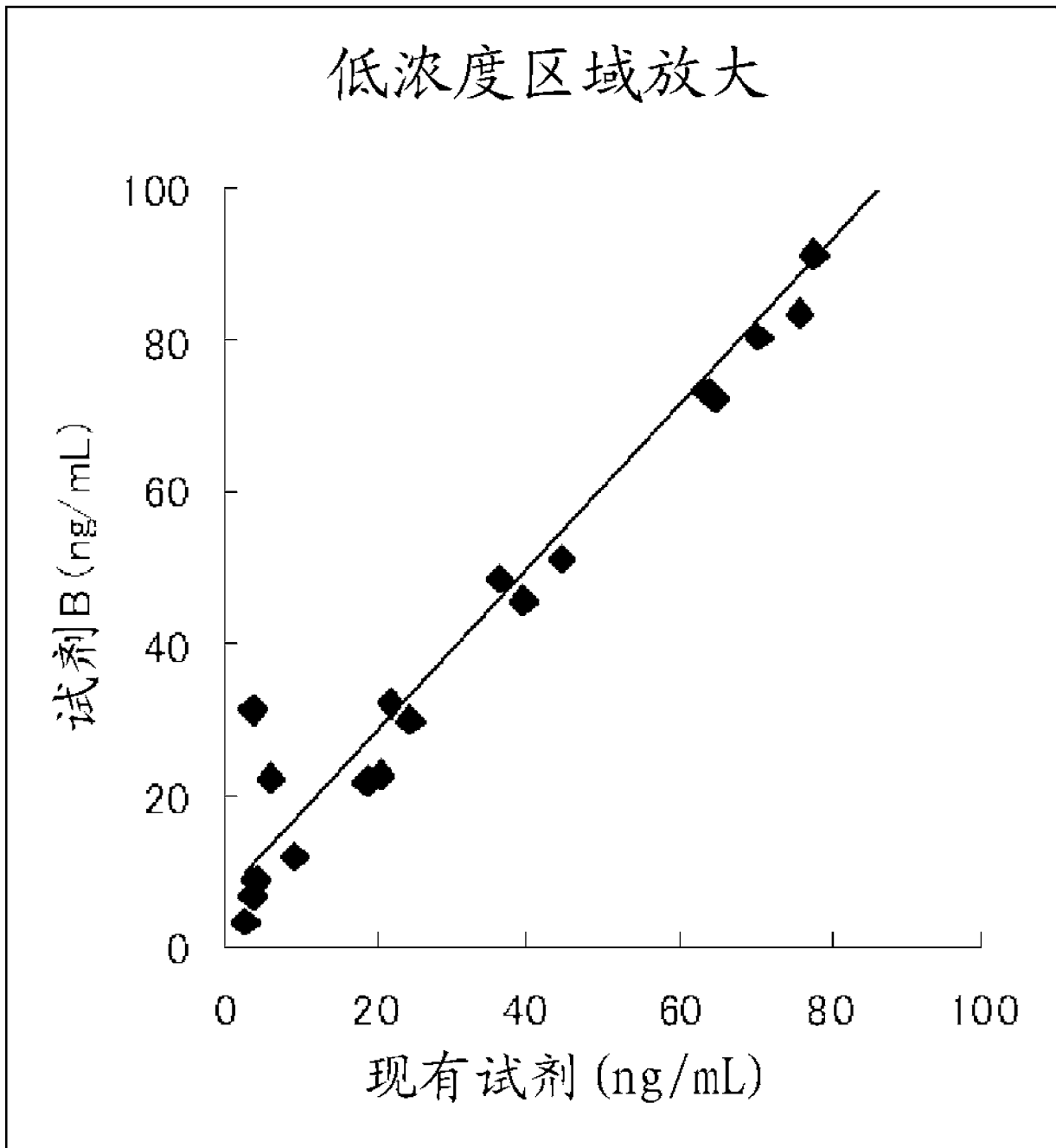


图 5

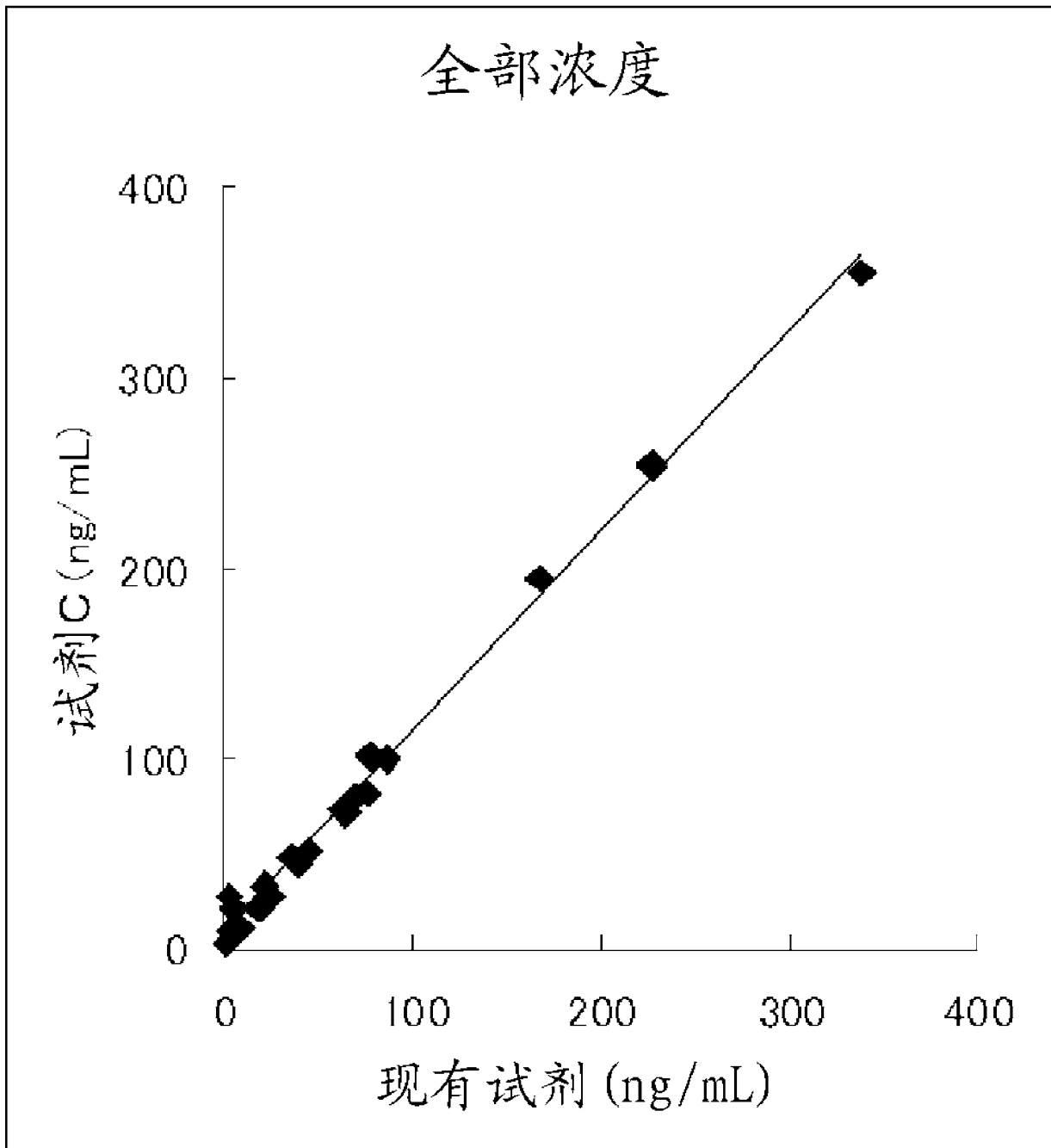


图 6

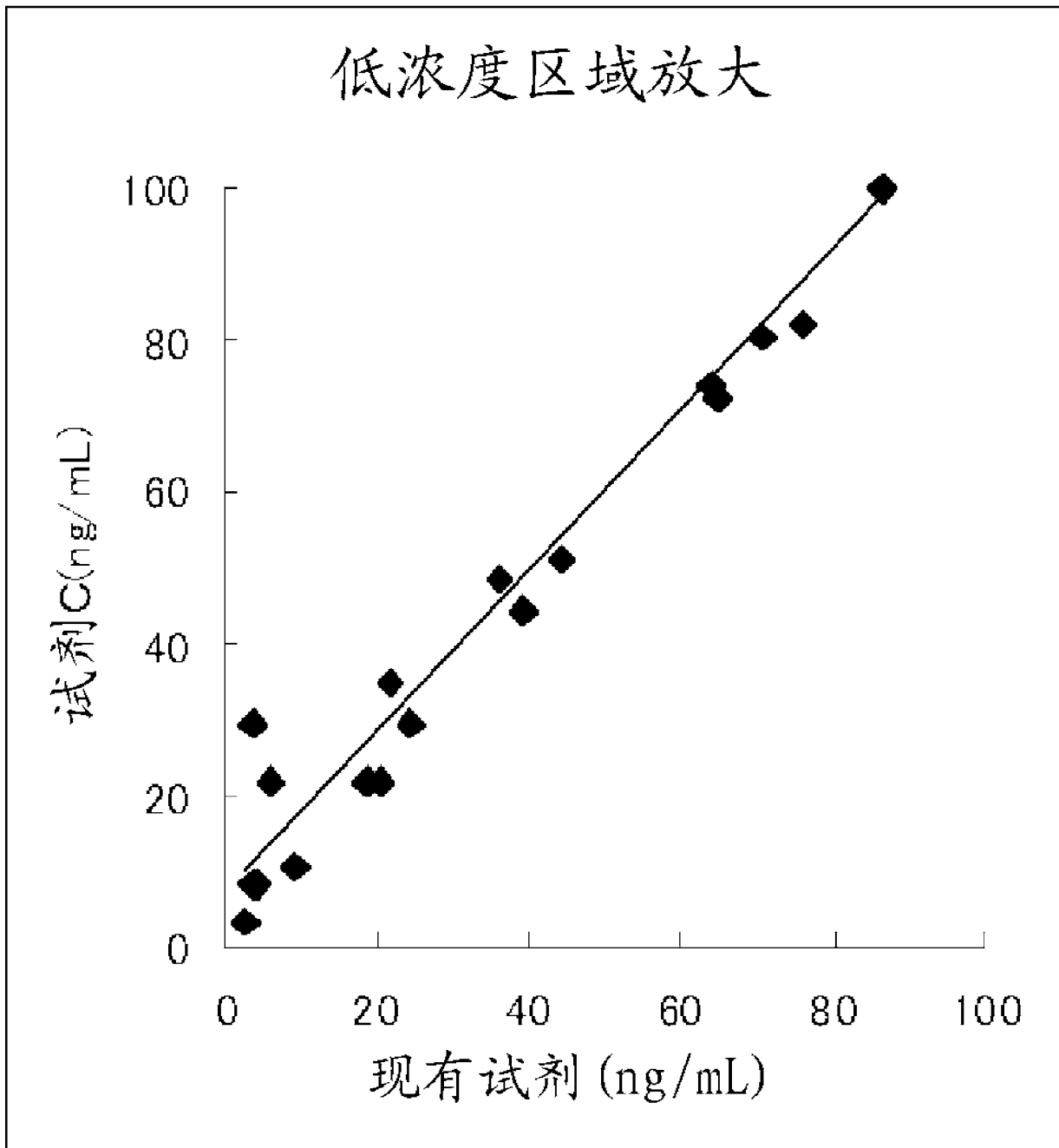


图 7

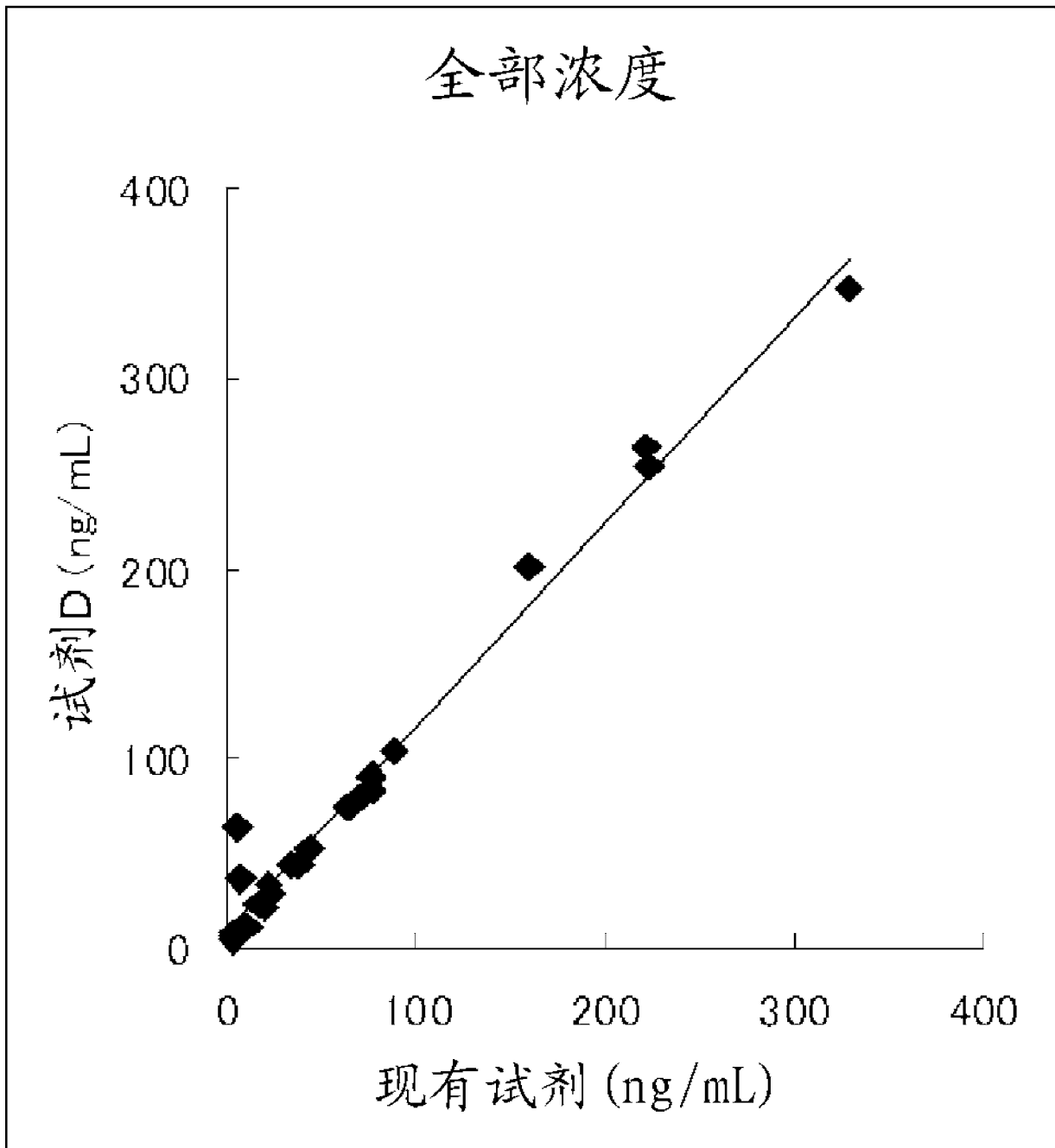


图 8

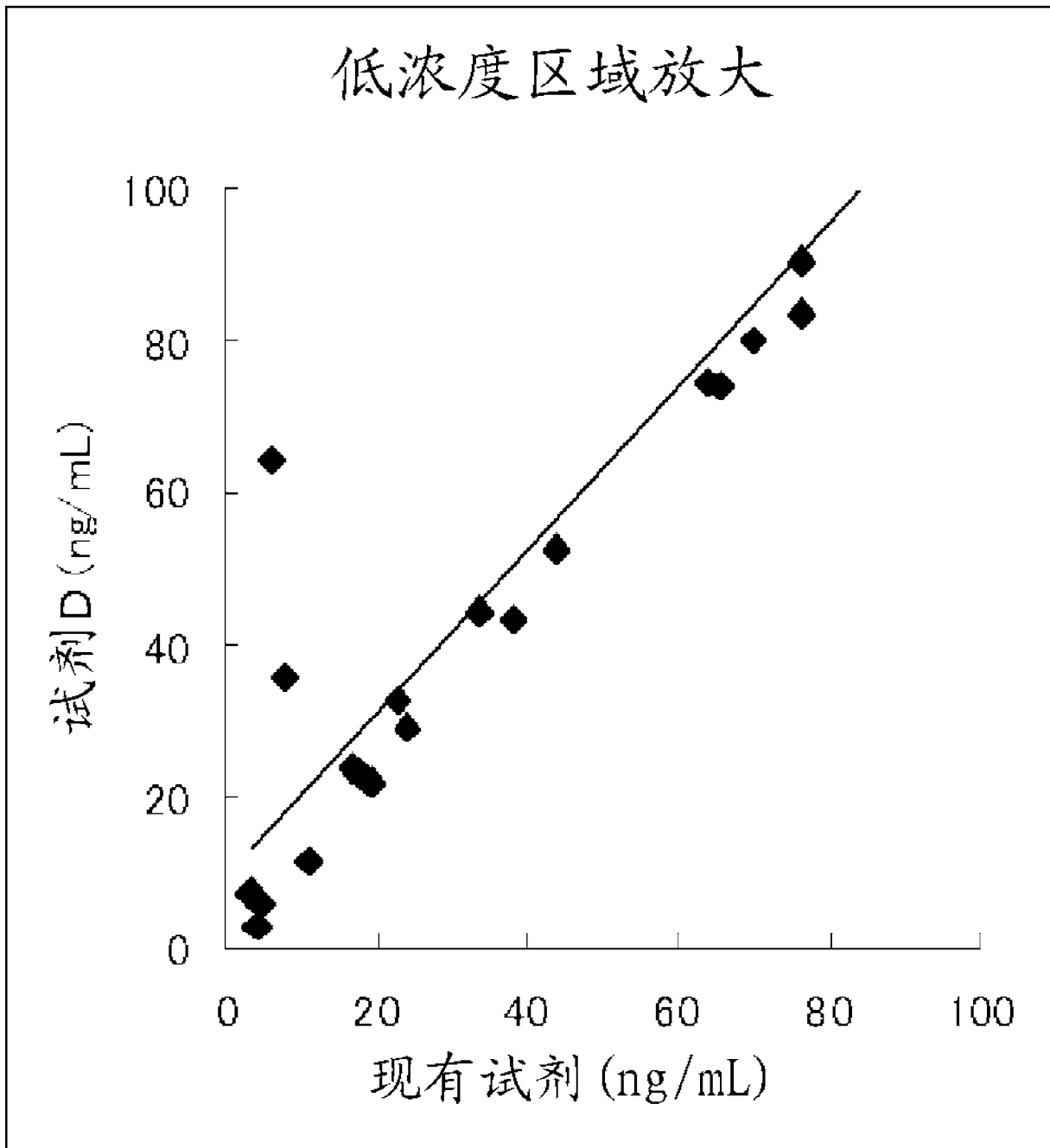


图 9

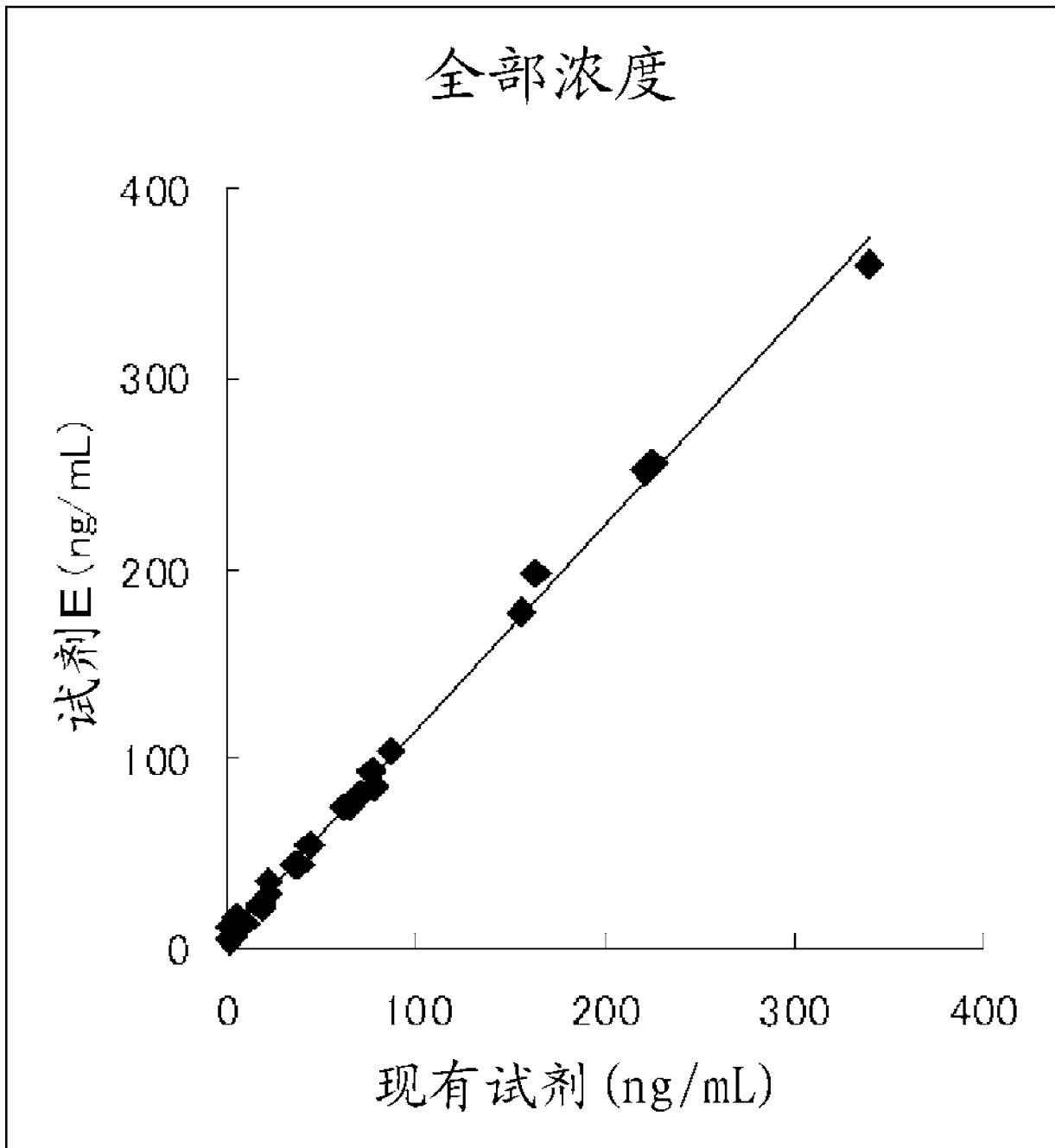


图 10

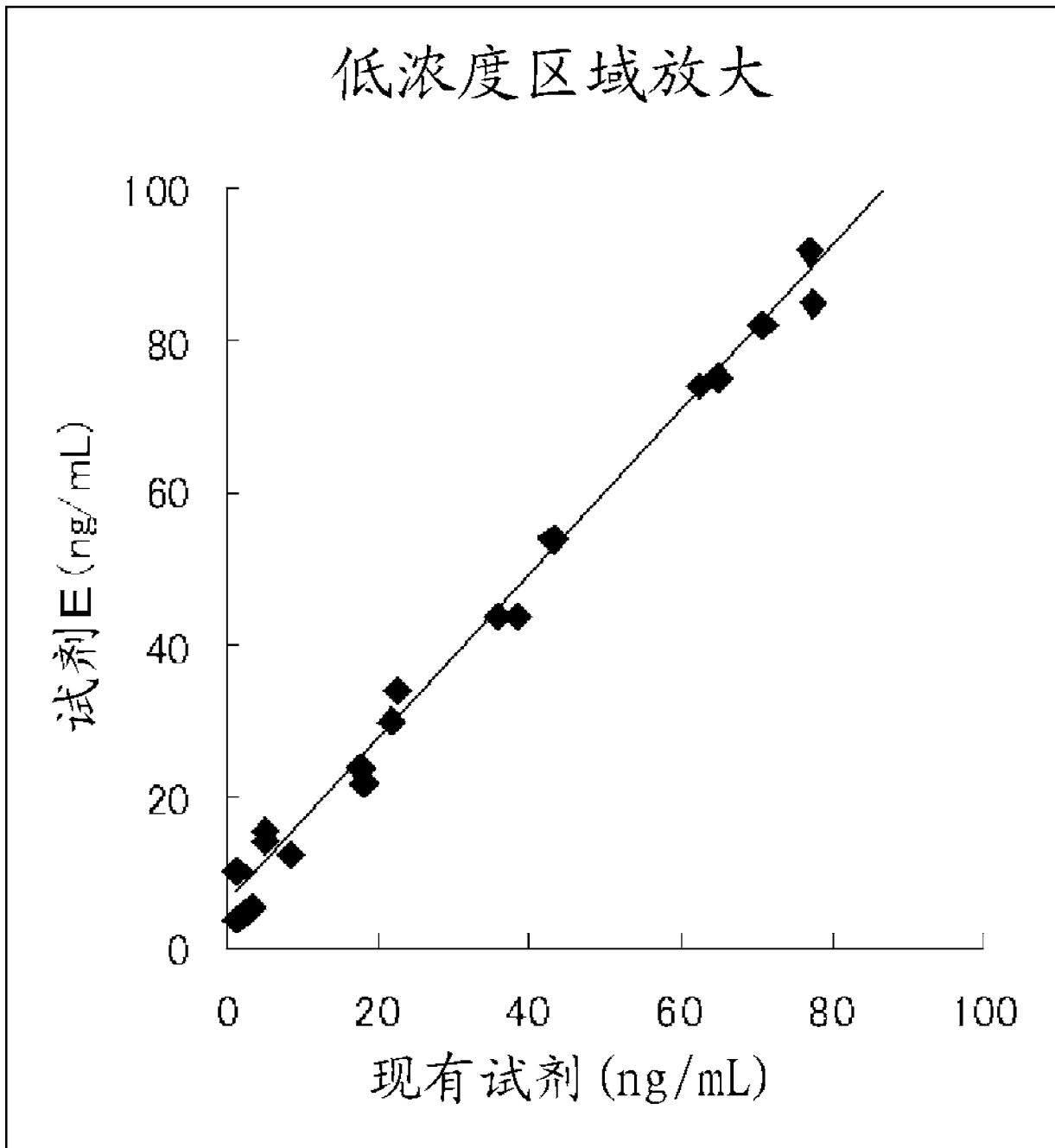


图 11

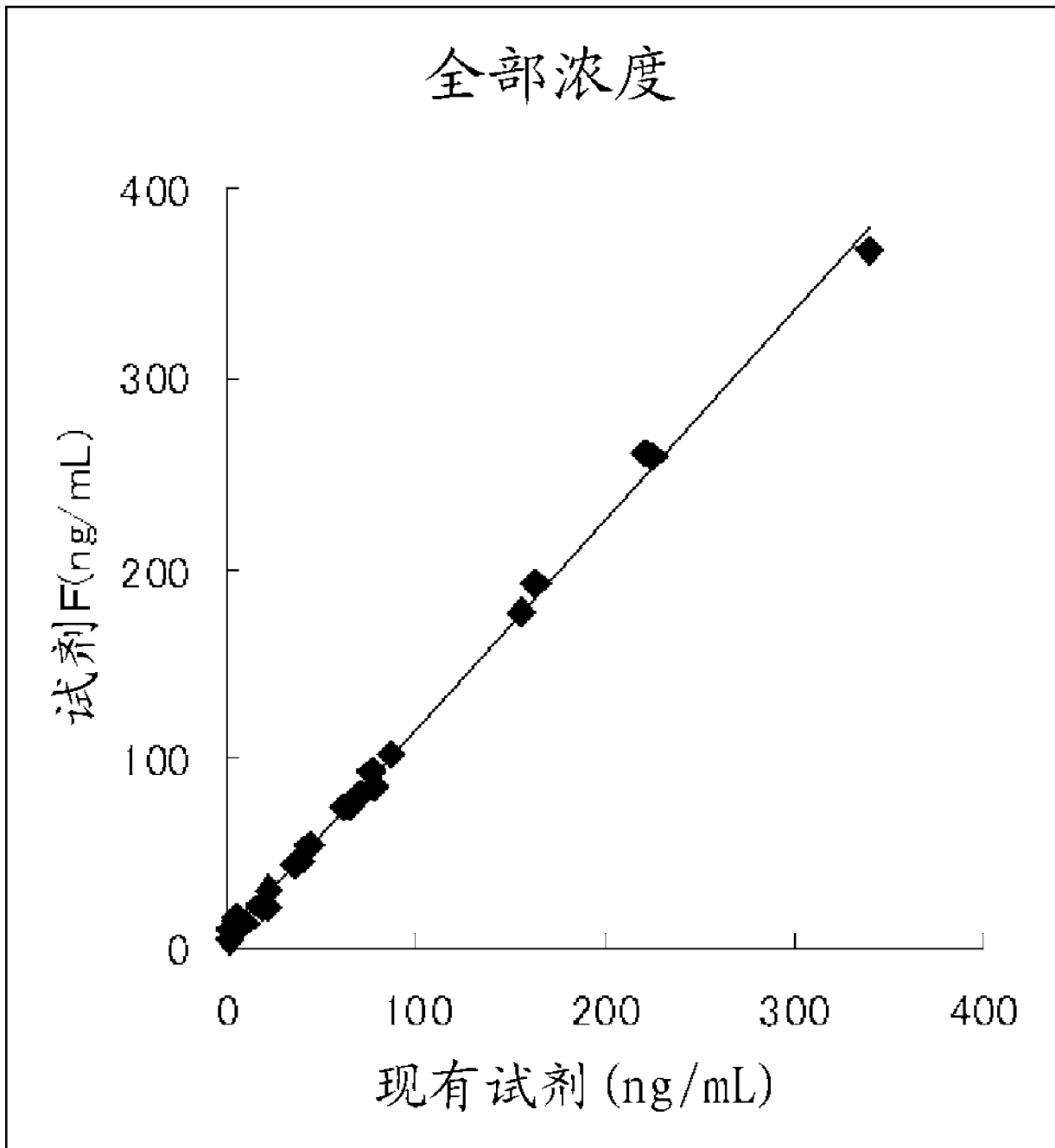


图 12

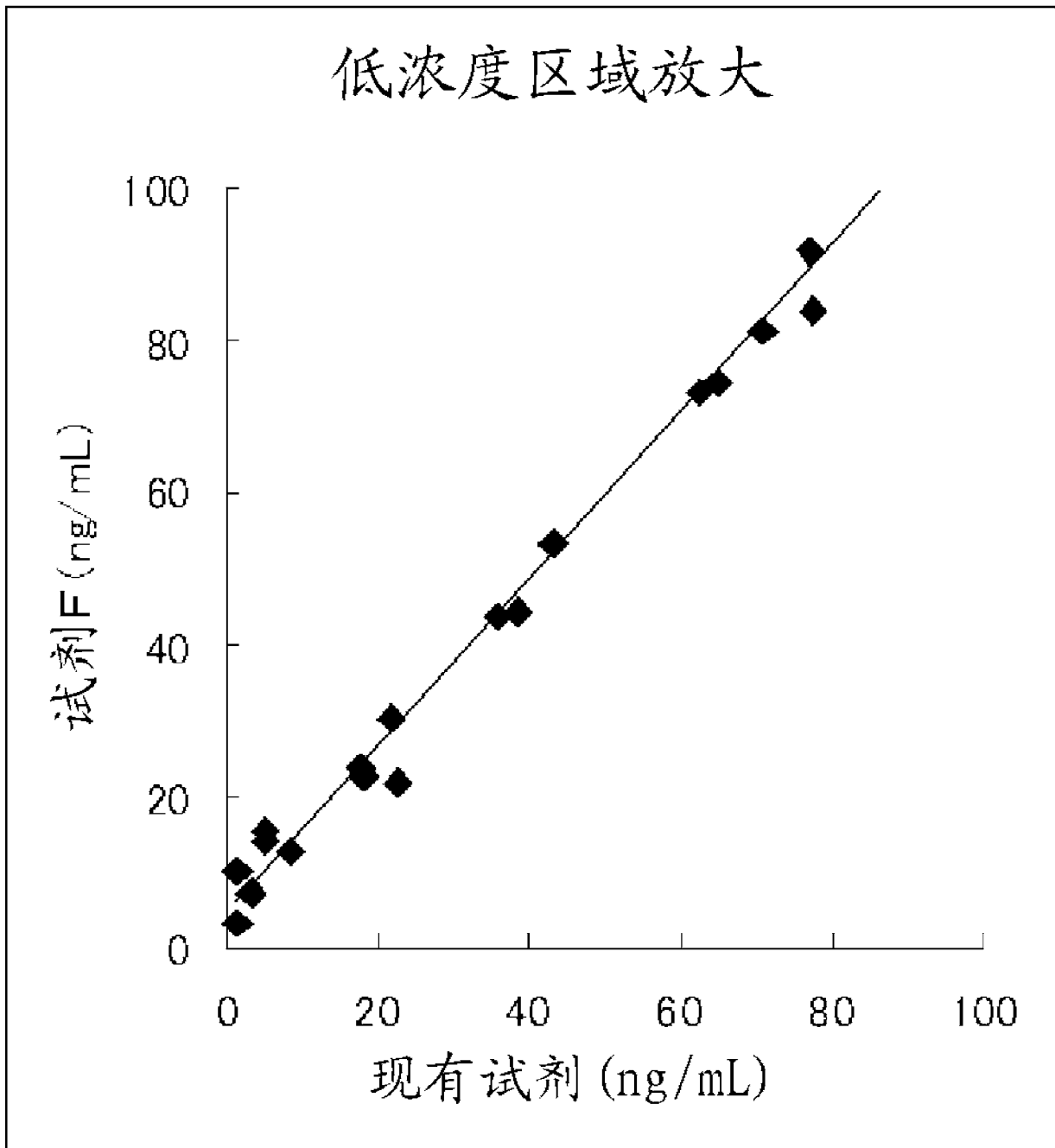


图 13

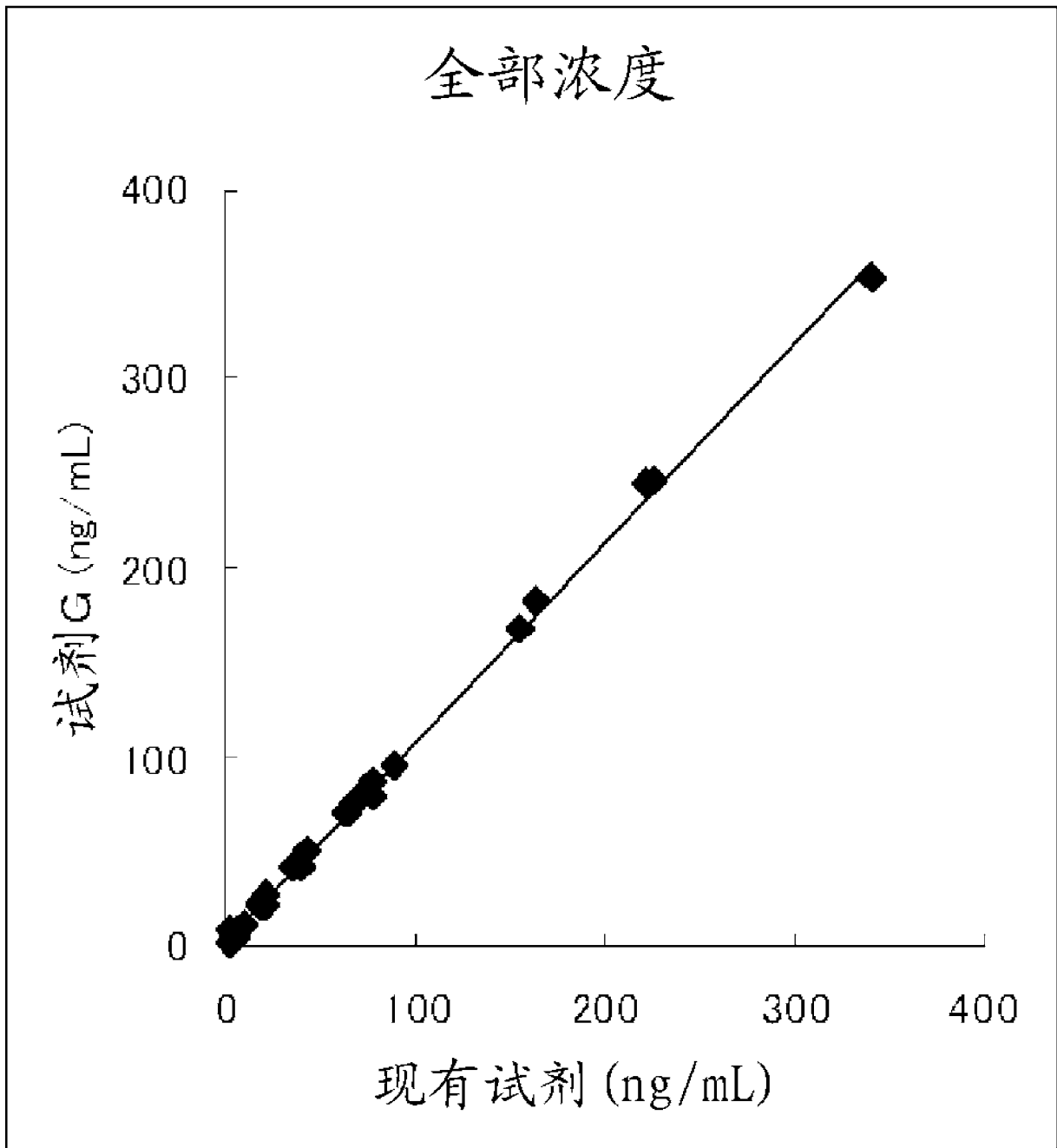


图 14

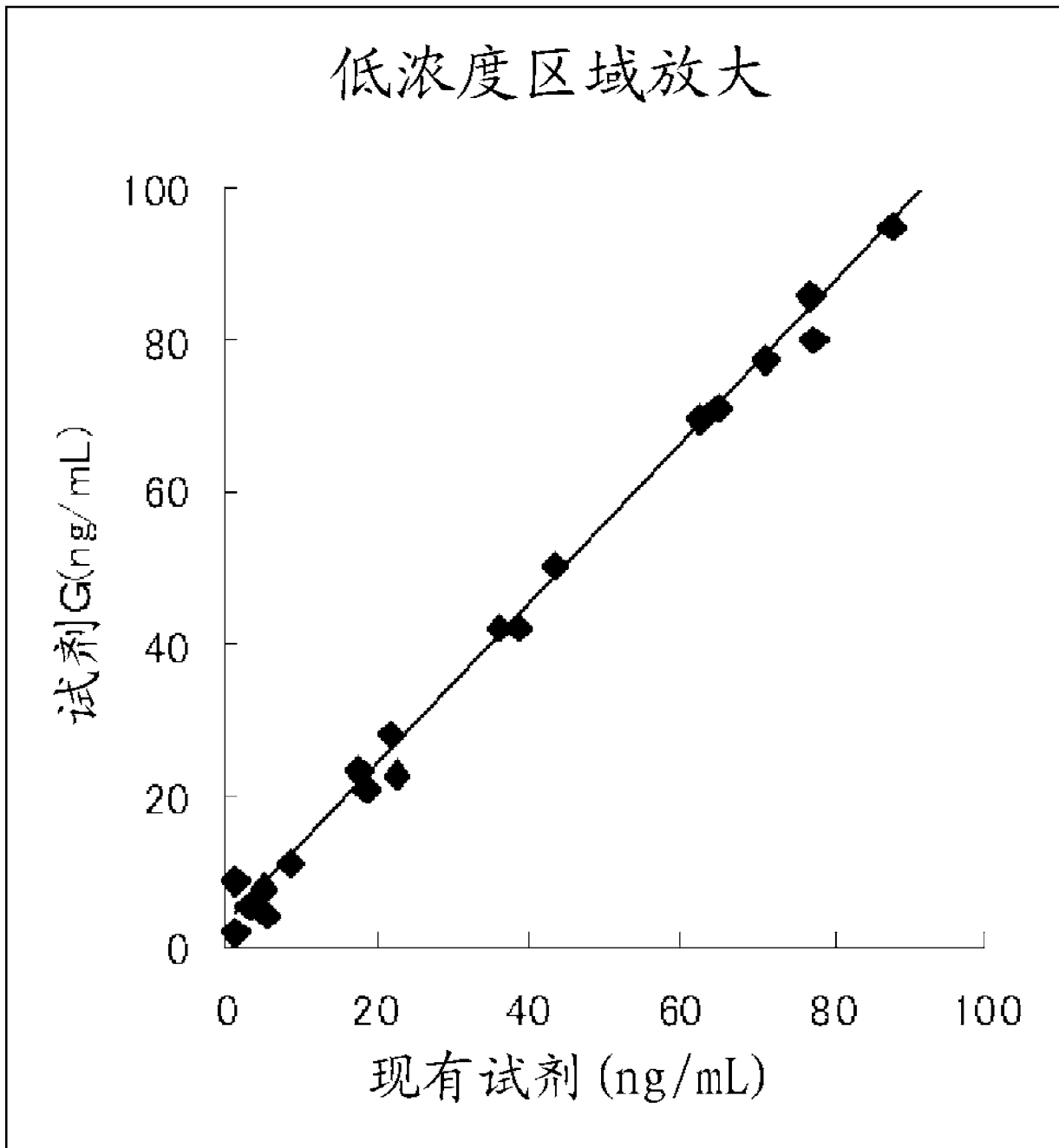


图 15

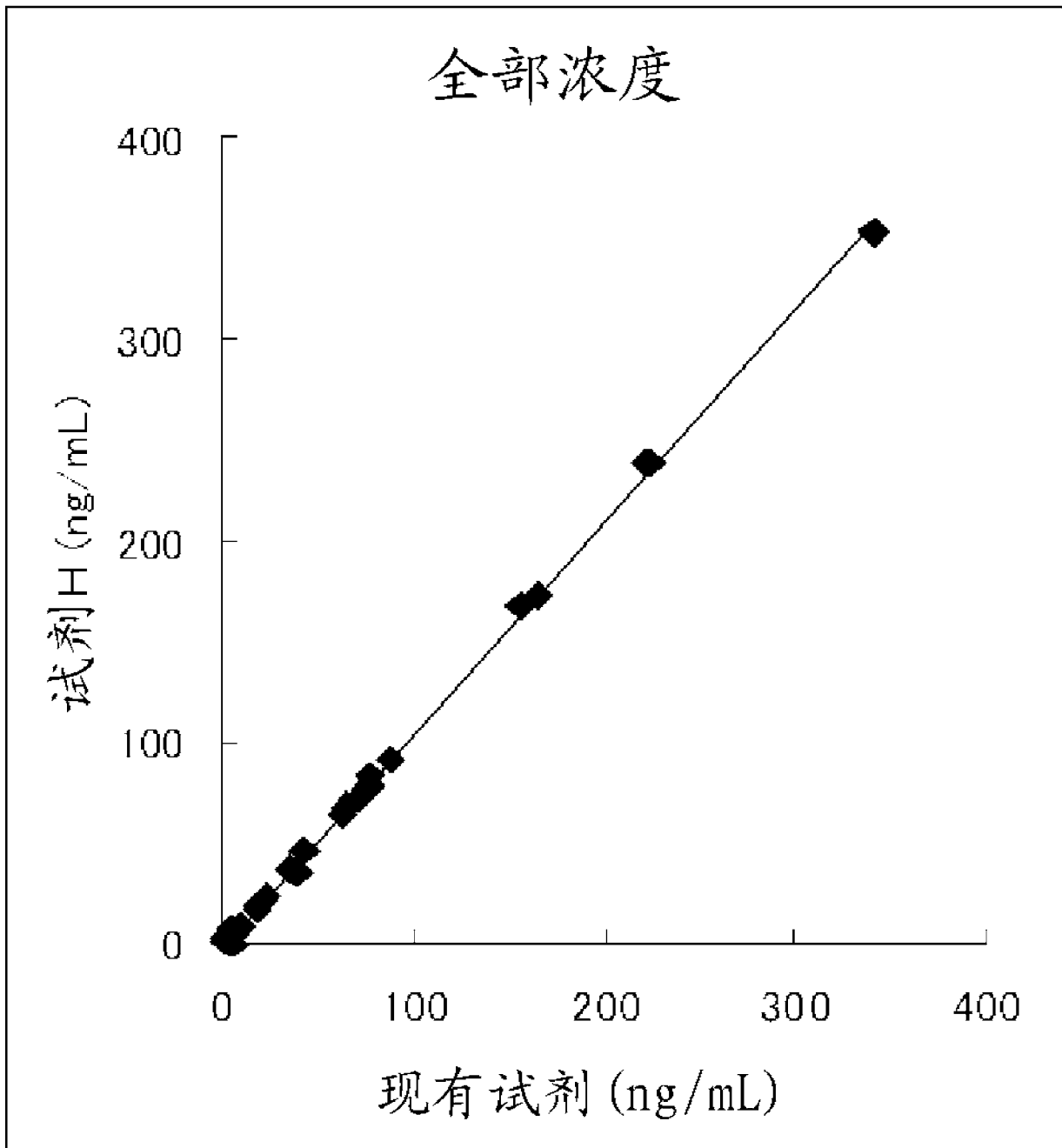


图 16

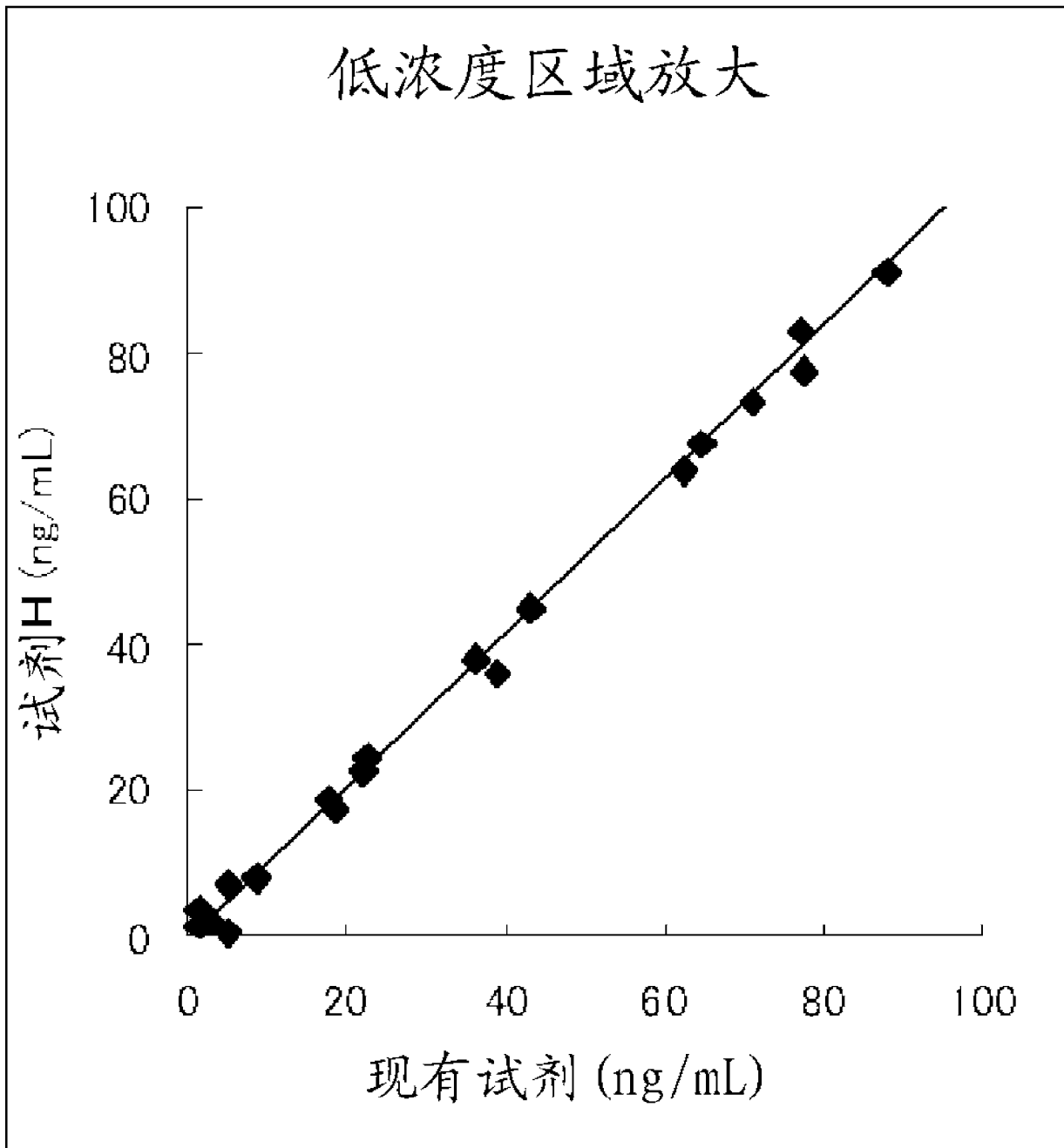


图 17

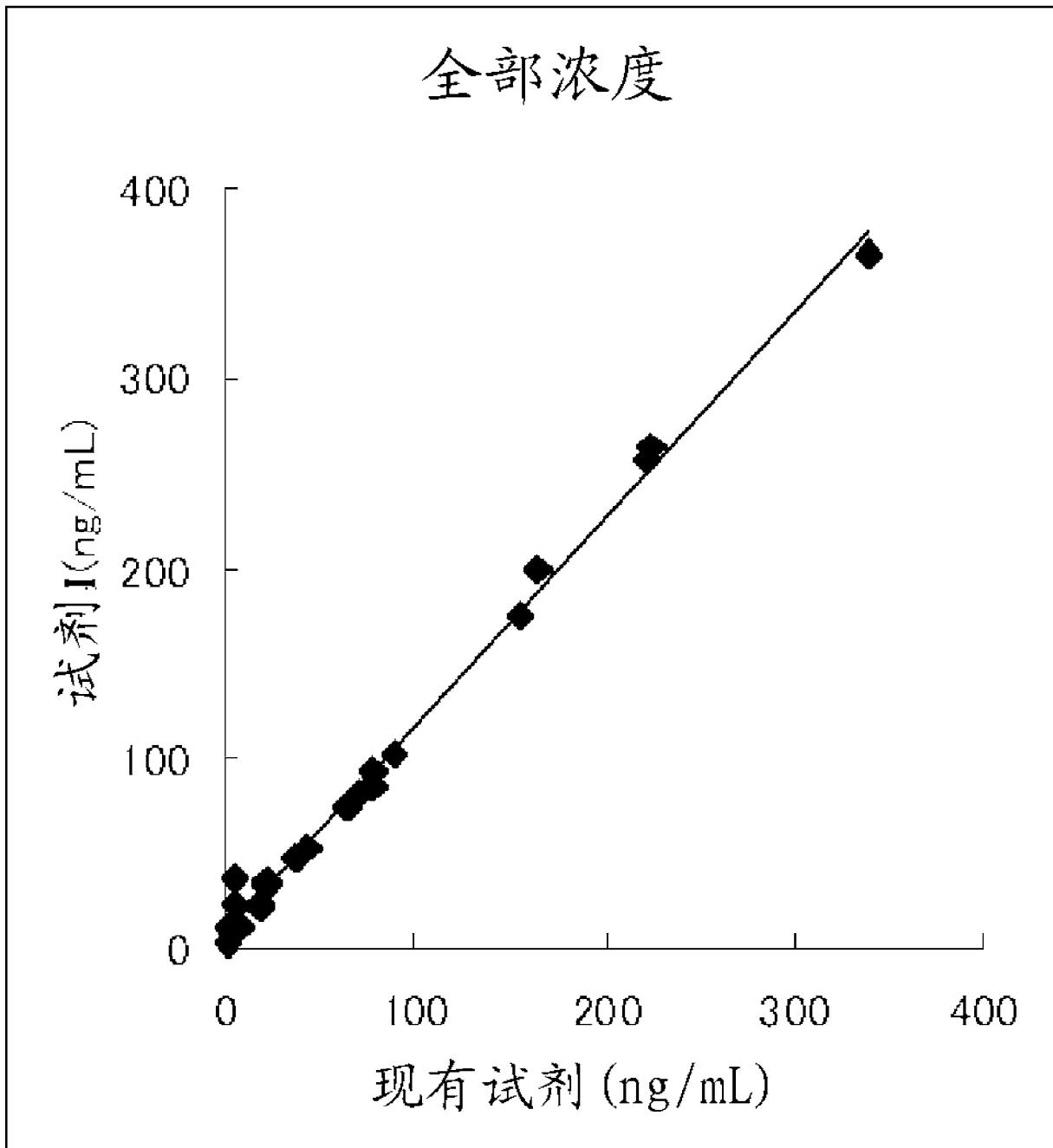


图 18

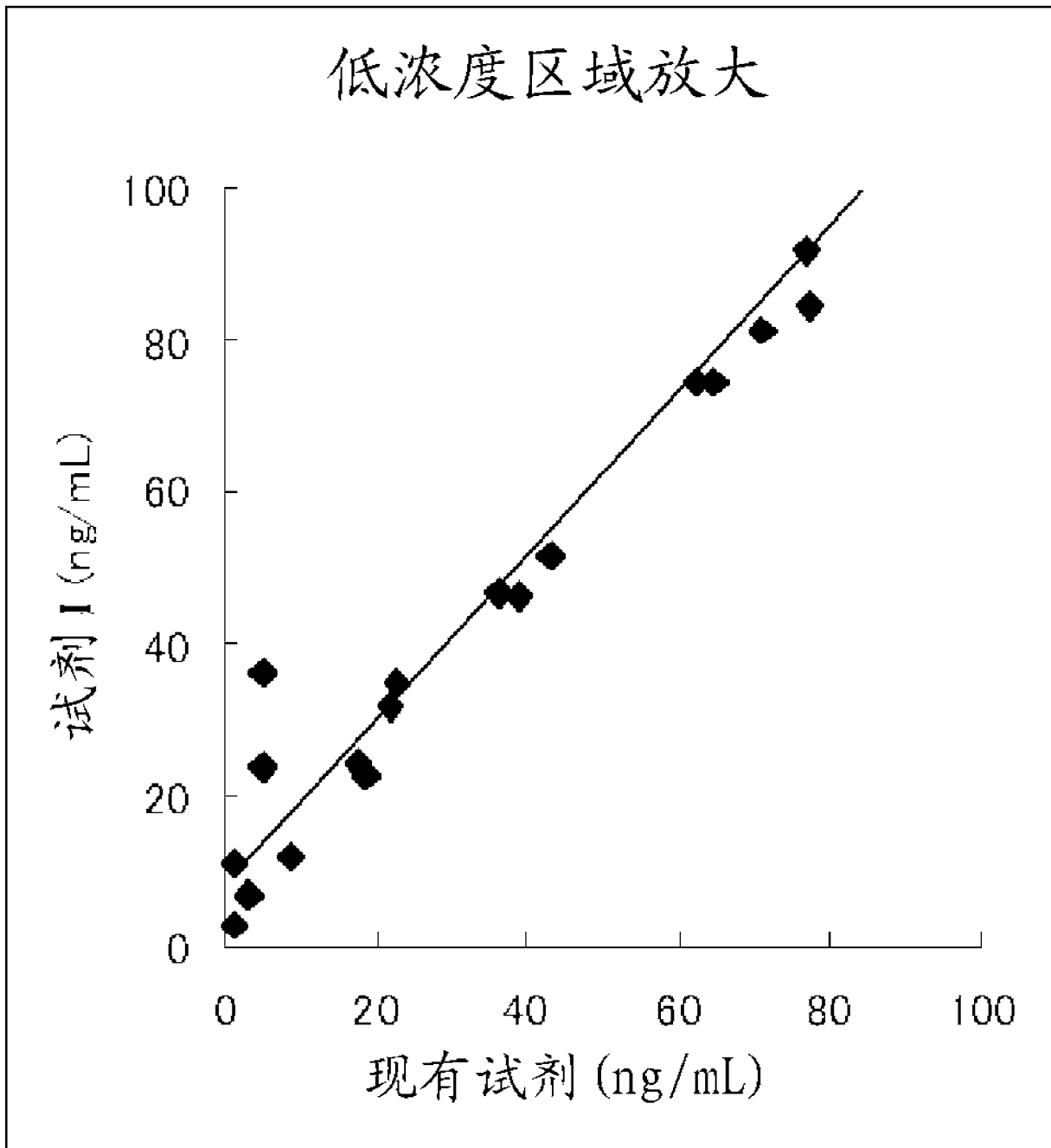


图 19

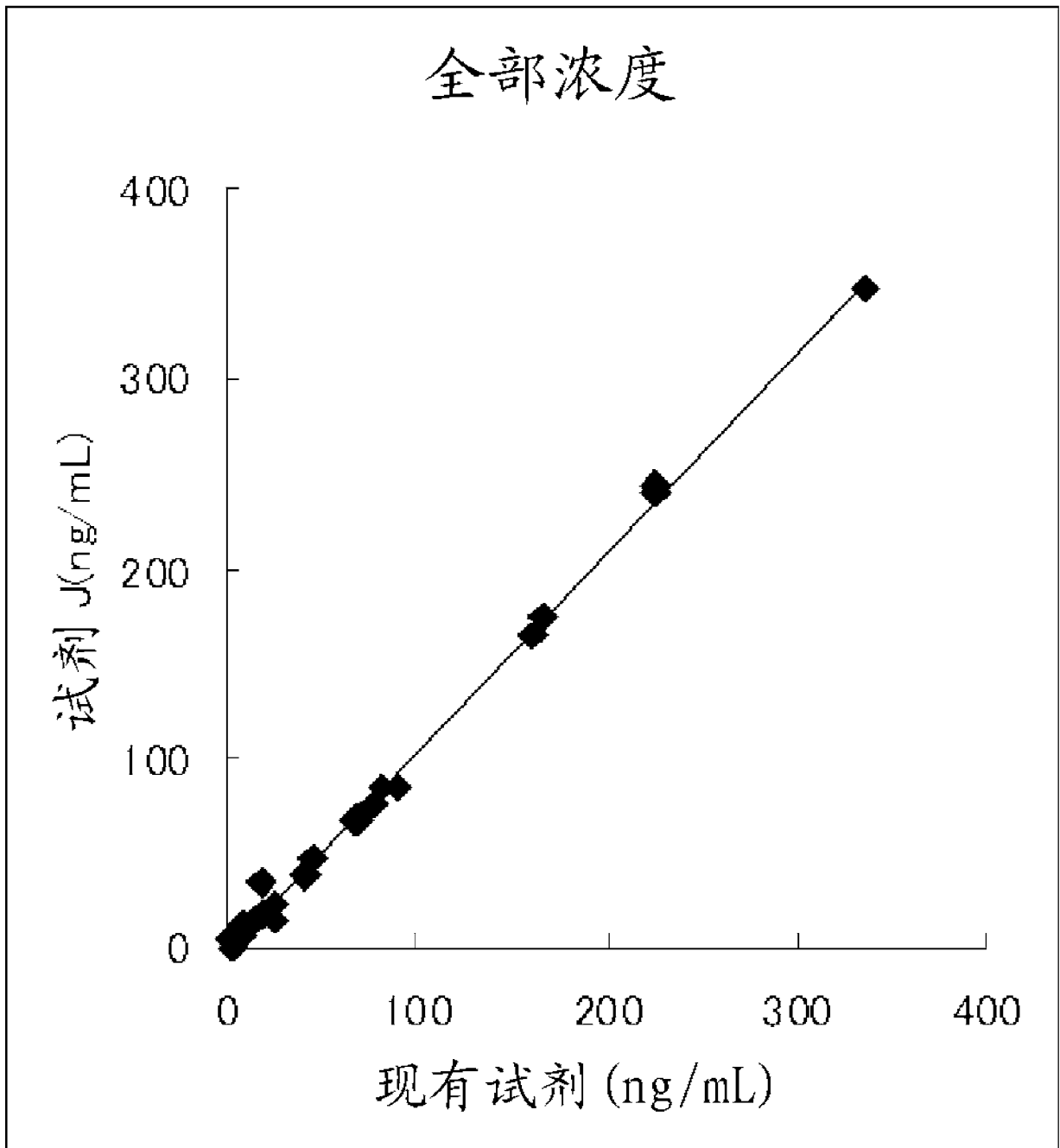


图 20

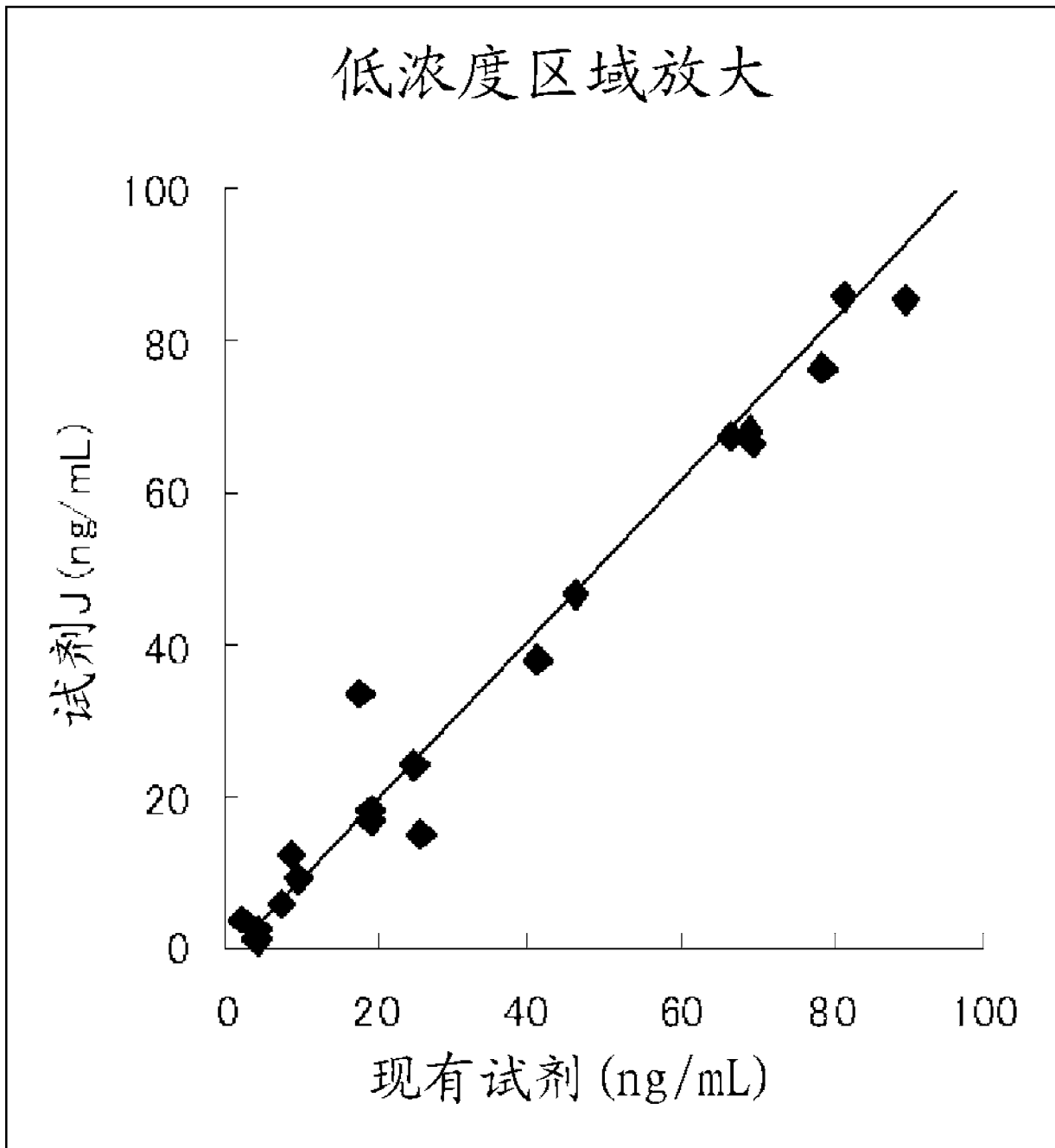


图 21

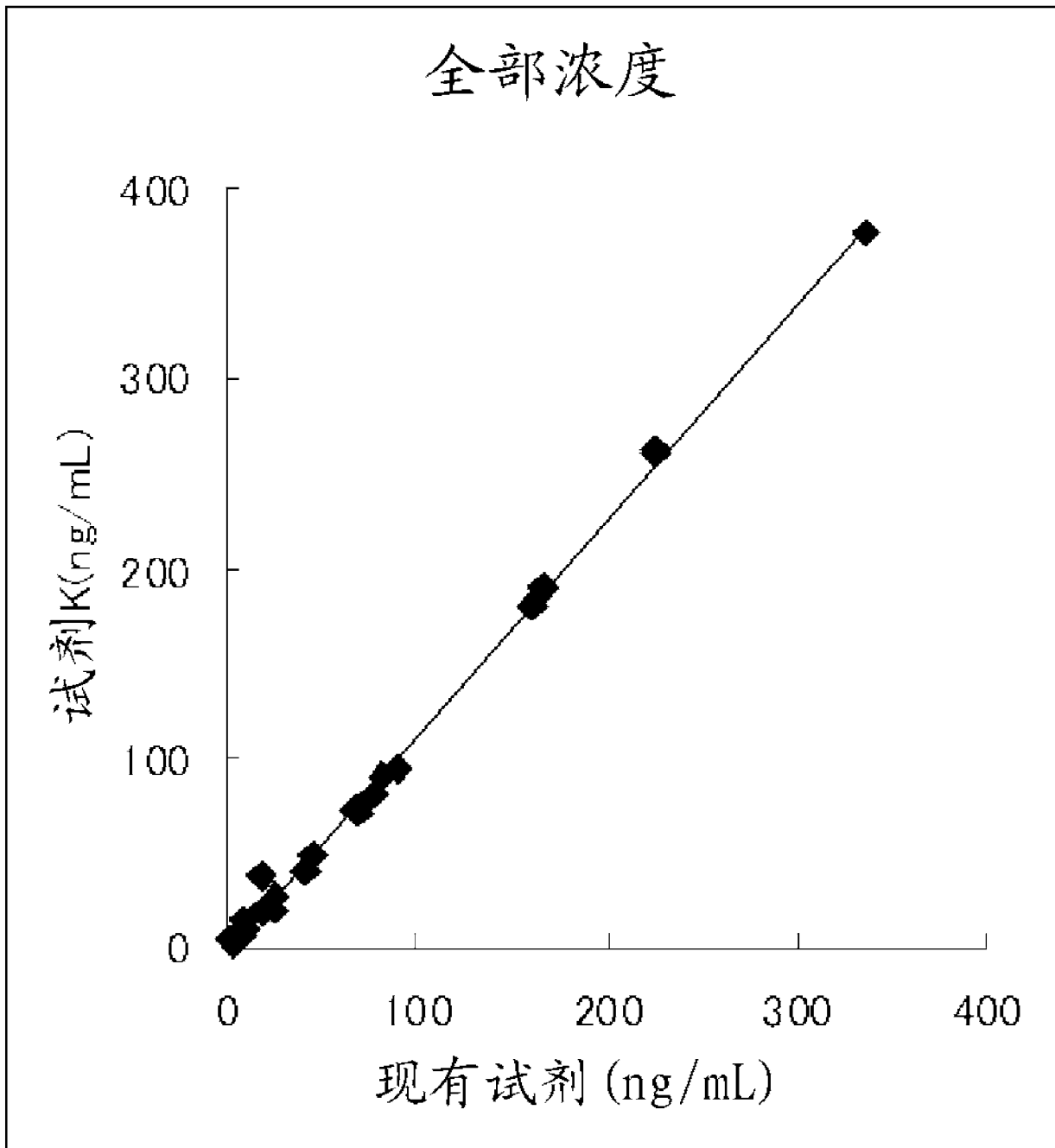


图 22

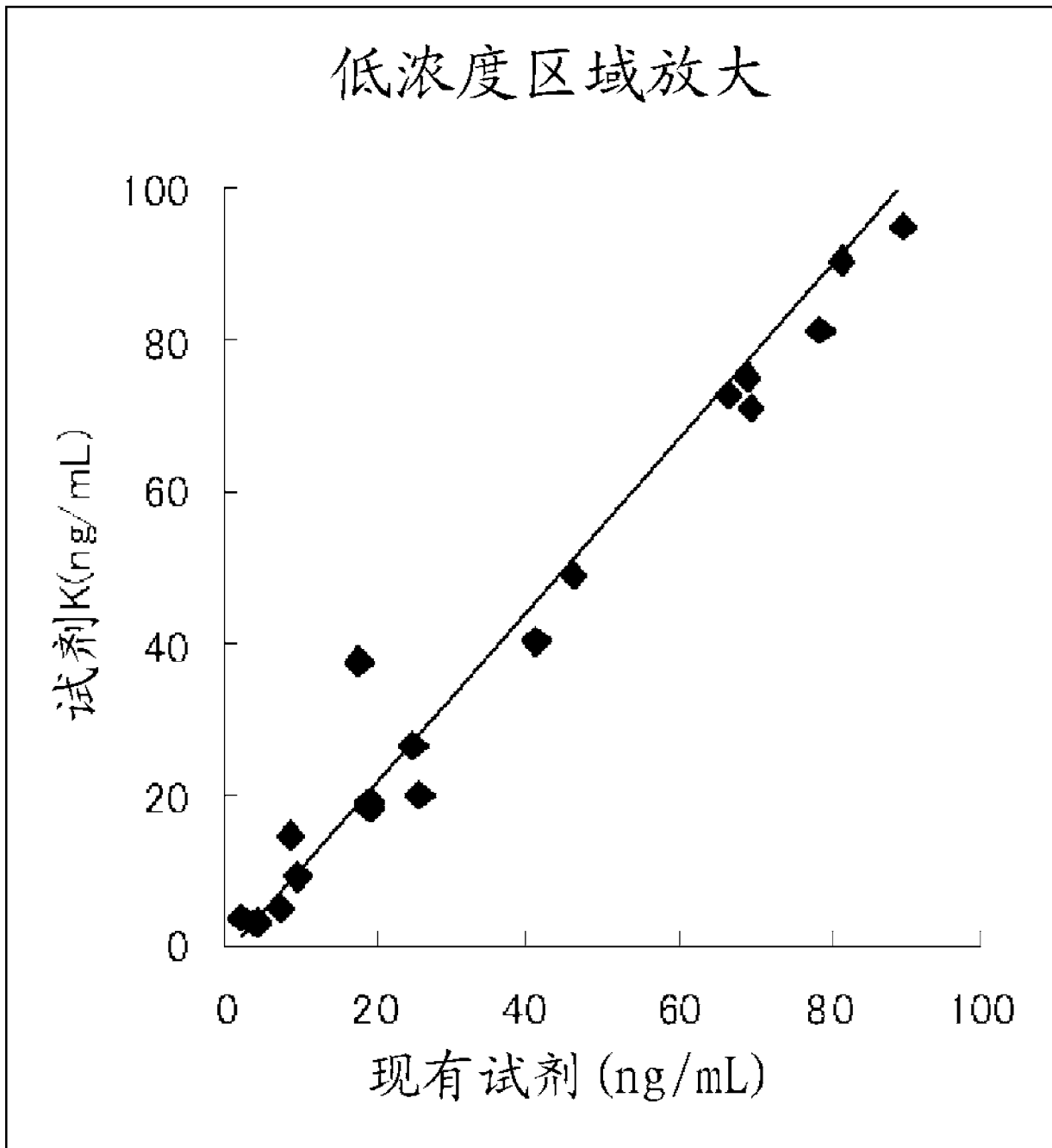


图 23

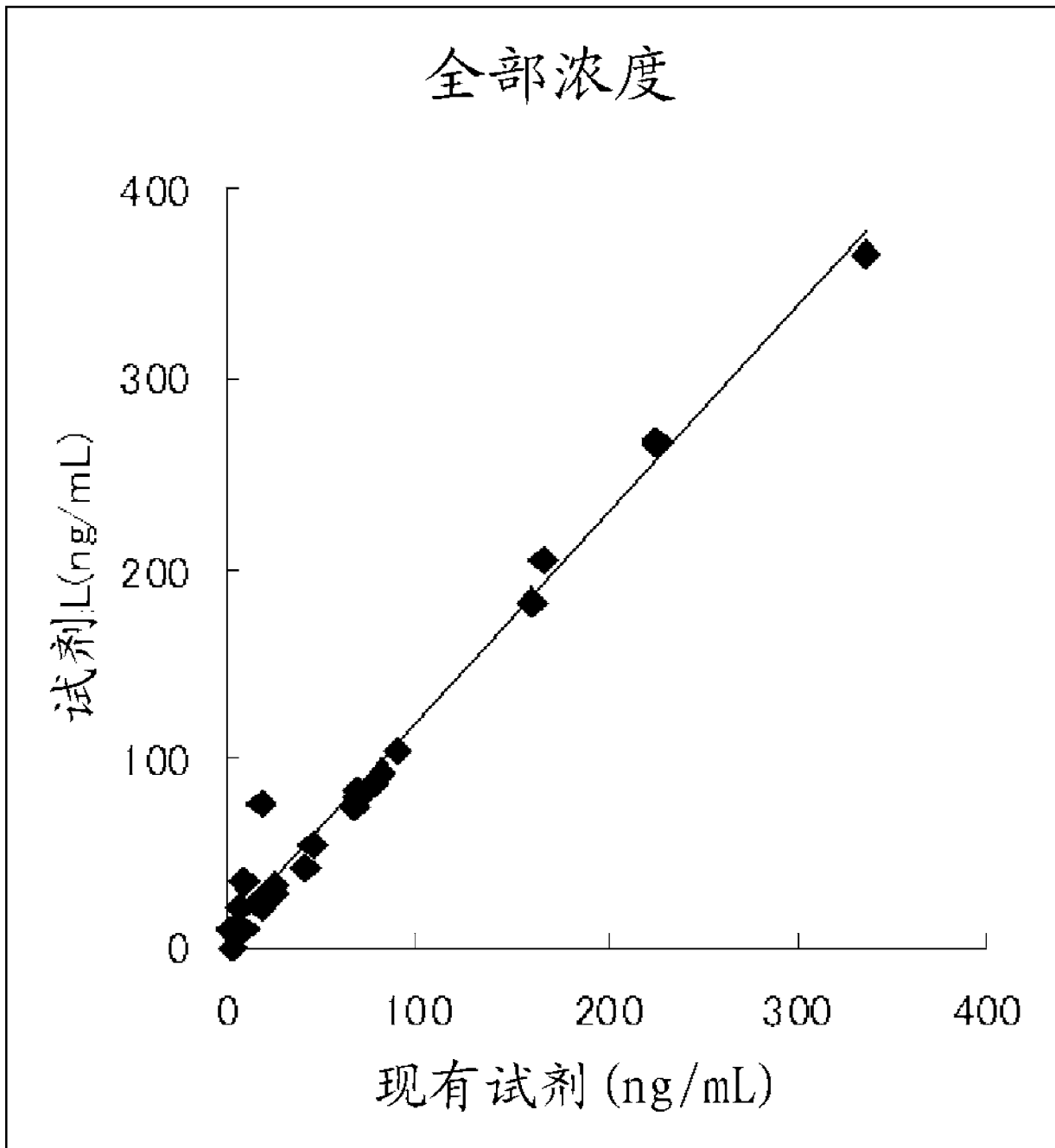


图 24

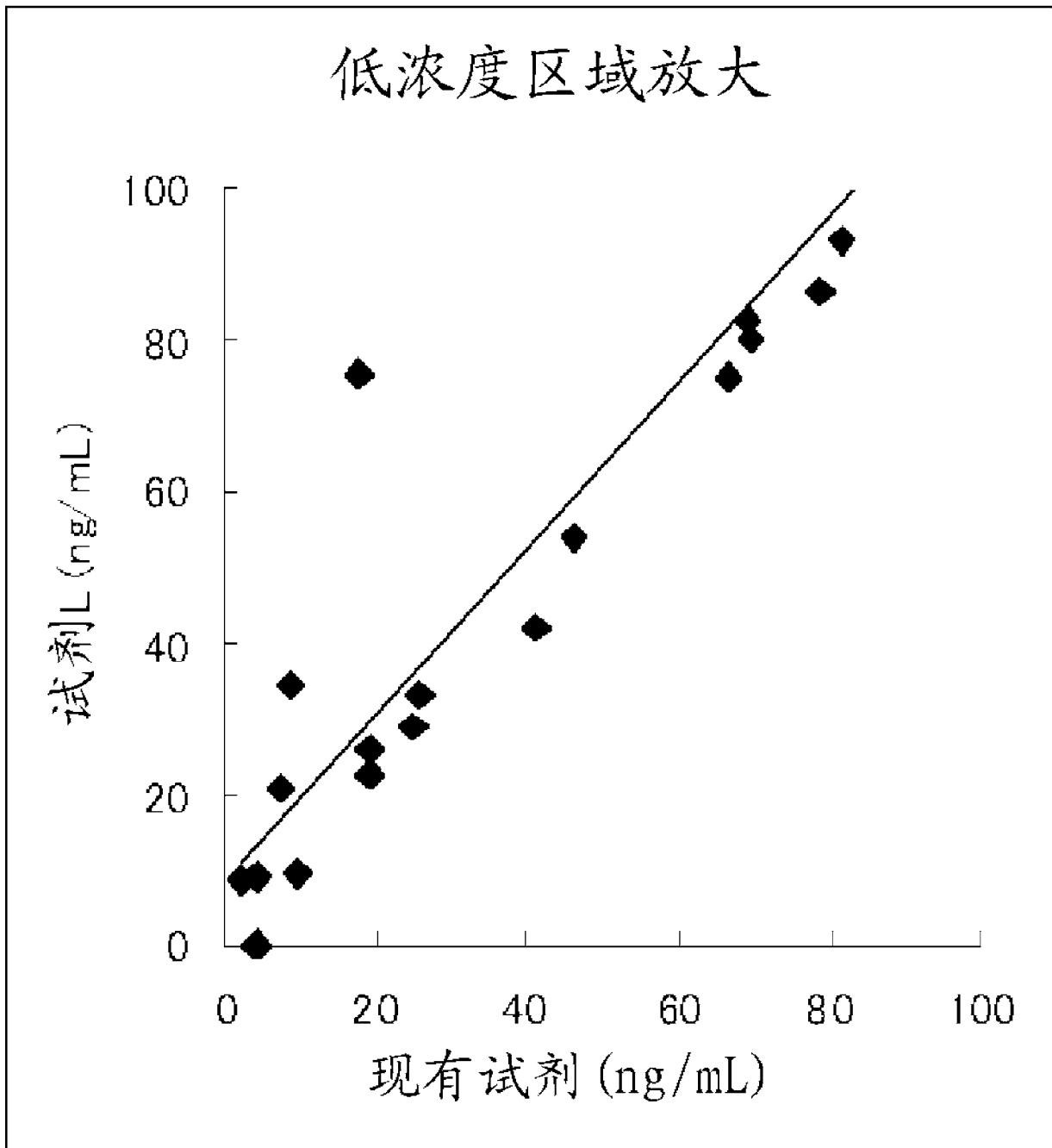


图 25

专利名称(译)	免疫分析方法及试剂		
公开(公告)号	<a href="#">CN104204801A</a>	公开(公告)日	2014-12-10
申请号	CN201380017740.X	申请日	2013-03-28
[标]申请(专利权)人(译)	电化生研株式会社		
申请(专利权)人(译)	电化生研株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	电化生研株式会社		
[标]发明人	M 加纳 橘律子 饭塚雅行		
发明人	M.加纳 橘律子 饭塚雅行		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/54393 G01N33/531 G01N33/5306 G01N33/54313 C08F210/14 C08F222/02		
代理人(译)	杜艳玲		
优先权	2012078449 2012-03-30 JP		
其他公开文献	CN104204801B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了能够高灵敏度且正确地测定抗原的免疫分析方法及用于所述方法的试剂。该免疫分析方法在多羧酸型表面活性剂存在下进行抗原抗体反应和/或测定。在该方法中使用的免疫分析试剂的特征是，含有多羧酸型表面活性剂。借助使反应和/或测定体系中存在多羧酸型表面活性剂的简单手段，即使在高灵敏度的免疫分析中也能有效地抑制非特异性反应，且在免疫分析中能够正确地测定抗原而提高特异性。

