



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103597352 B

(45) 授权公告日 2015. 10. 21

(21) 申请号 201280027997. 9

(22) 申请日 2012. 06. 04

(30) 优先权数据

2011-127076 2011. 06. 07 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 12. 06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2012/064355 2012. 06. 04

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/169453 JA 2012. 12. 13

(73) 专利权人 和光纯药工业株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 山本直之 增田勤

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司

11127

代理人 丁香兰 庞东成

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006. 01)

C08F 20/36(2006. 01)

C08F 20/60(2006. 01)

C08F 220/36(2006. 01)

C08F 220/60(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 33/573(2006. 01)

G01N 33/574(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1449495 A, 2003. 10. 15,

JP 2002365296 A, 2002. 12. 18,

JP 2007225343 A, 2007. 09. 06,

JP 2947600 B2, 1999. 09. 13,

JP S5847256 A, 1983. 03. 18,

审查员 李倩

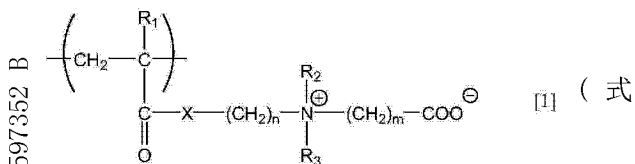
权利要求书2页 说明书24页

(54) 发明名称

凝集促进剂

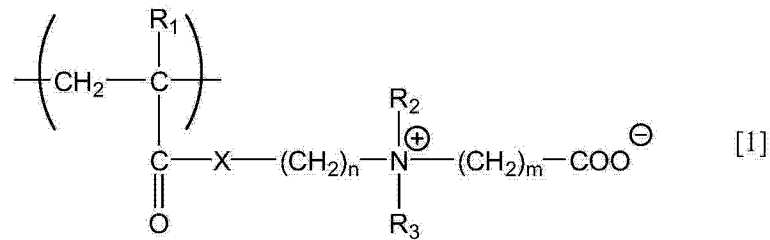
(57) 摘要

本发明的课题在于提供一种凝集促进剂,其可显示出比以往的免疫凝集促进剂更优异的凝集促进效果。本发明涉及一种免疫凝集测定方法用凝集促进剂,其含有具有由下述通式 [1] 表示的单体单元的聚合物;还涉及一种免疫凝集测定方法,其中,在所述免疫凝集测定方法用凝集促进剂的共存下,使针对测定对象物质的抗体或抗原与测定对象物质相接触从而进行抗原抗体反应。



中, R₁表示氢原子或甲基, R₂和 R₃分别独立地表示甲基或乙基, X表示 -NH- 或氧原子, n表示 1~6 的整数, m表示 1~3 的整数)。

1. 一种凝集促进剂在免疫凝集测定方法中的应用,所述凝集促进剂含有具有由下述通式 [1] 表示的单体单元的聚合物,



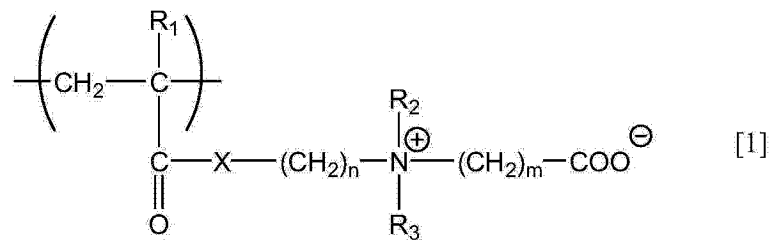
式中, R_1 表示氢原子或甲基, R_2 和 R_3 分别独立地表示甲基或乙基, X 表示 $-\text{NH}-$ 或氧原子, n 表示 1 ~ 6 的整数, m 表示 1 ~ 3 的整数。

2. 如权利要求 1 所述凝集促进剂在免疫凝集测定方法中的应用,其中,所述聚合物的重均分子量为 50000 ~ 3000000。

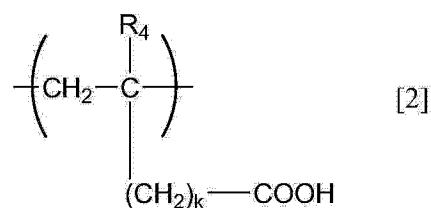
3. 如权利要求 1 所述凝集促进剂在免疫凝集测定方法中的应用,其中,通式 [1] 中的 R_2 和 R_3 均为甲基。

4. 如权利要求 1 所述凝集促进剂在免疫凝集测定方法中的应用,其中,通式 [1] 中的 n 为 2 ~ 4, m 为 1。

5. 一种免疫凝集测定方法用凝集促进剂,所述凝集促进剂含有聚合物,所述聚合物为具有由下述通式 [1] 表示的单体单元和由下述通式 [2] 表示的单体单元的共聚物,



通式 [1] 中, R_1 表示氢原子或甲基, R_2 和 R_3 分别独立地表示甲基或乙基, X 表示 $-\text{NH}-$ 或氧原子, n 表示 1 ~ 6 的整数, m 表示 1 ~ 3 的整数,



通式 [2] 中, R_4 表示氢原子或甲基, k 表示 1 ~ 10 的整数。

6. 如权利要求 5 所述的凝集促进剂,其中,所述共聚物中的由通式 [1] 表示的单体单元的含量为 50mol% 以上且小于 100mol%。

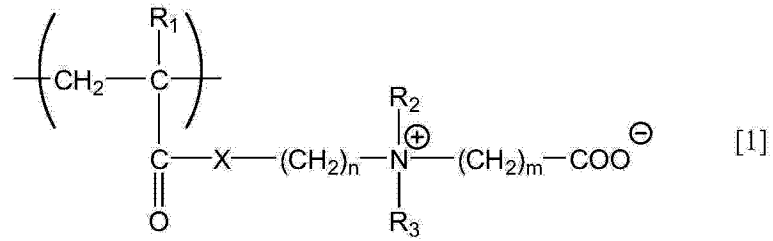
7. 如权利要求 5 所述的凝集促进剂,其中,通式 [2] 中的 R_4 为氢原子、 k 为 4 ~ 8。

8. 一种免疫凝集测定方法用试剂,其含有权利要求 5 所述的凝集促进剂。

9. 如权利要求 8 所述的免疫凝集测定方法用试剂,其中,所述试剂用于测定 C 反应蛋白 (CRP)、血清铁蛋白 (Fer)、前列腺特异性抗原 (PSA) 或肌酸磷酸激酶 MB (CK-MB)。

10. 一种免疫凝集测定方法,其特征在于,在凝集促进剂的共存下,使针对测定对象物质的抗体或抗原与测定对象物质相接触从而进行抗原抗体反应,所述凝集促进剂含有具有

由下述通式 [1] 表示的单体单元的聚合物,



式中, R_1 表示氢原子或甲基, R_2 和 R_3 分别独立地表示甲基或乙基, X 表示 $-\text{NH}-$ 或氧原子, n 表示 1 ~ 6 的整数, m 表示 1 ~ 3 的整数。

11. 如权利要求 10 所述的免疫凝集测定方法, 其中, 所述测定对象物质用于测定 C 反应蛋白 (CRP)、血清铁蛋白 (Fer)、前列腺特异性抗原 (PSA) 或肌酸磷酸激酶 MB (CK-MB)。

凝集促进剂

技术领域

[0001] 本发明涉及用于免疫凝集测定方法的凝集促进剂、以及使用了该凝集促进剂的免疫凝集测定方法。

背景技术

[0002] 为了测定例如血清、血浆、尿等来自生物体的试料中有无测定对象物质或测定其浓度,作为免疫凝集测定方法,以往采用了下述方法:使用固定化有与测定对象物质发生反应的抗原或抗体的乳胶等不溶性载体,由产生的凝集的程度来确认有无测定对象物质或测定其浓度。

[0003] 在该免疫凝集法中,以提高敏感度为目的而通常使用免疫凝集促进剂,其可使抗原抗体反应产生的凝集更容易产生。作为该免疫凝集促进剂,已知有聚乙二醇(PEG)等,但存在如下问题:PEG在盐浓度高的溶液中会发生盐析,因而空白值增高而使测定精度变差。

[0004] 因此,作为解决上述问题的免疫凝集促进剂,考察了使用含有甲基丙烯酰氧基乙基磷酸胆碱(MPC)的聚合物(专利文献1)。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:日本特开2002-365296

发明内容

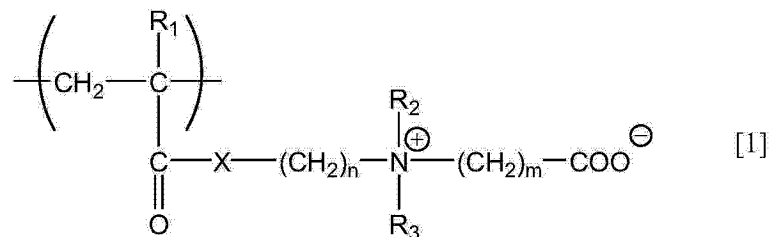
[0008] 发明要解决的问题

[0009] 目前,要求一种能够以更高敏感度进行测定的免疫凝集测定方法,并且期望开发出可显示出比该含有MPC的聚合物更强的凝集促进效果的免疫凝集促进剂。鉴于上述状况,本发明的课题为提供一种凝集促进剂,其能够以高敏感度进行免疫凝集测定、并且显示出比以往的免疫凝集促进剂更优异的凝集促进效果。

[0010] 用于解决问题的手段

[0011] 为了解决上述问题,本发明人反复进行了深入研究,结果发现,具有由下述通式[1]表示的单体单元的聚合物显示出比以往的免疫凝集促进剂更优异的凝集促进效果,从而完成了本发明。

[0012]

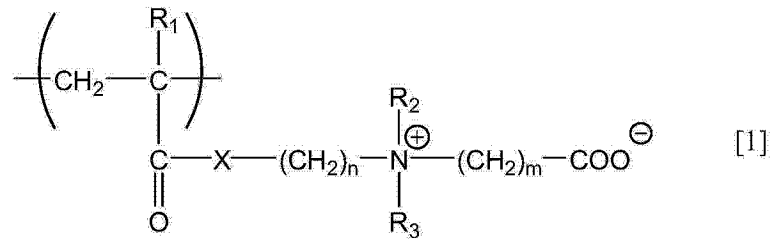


[0013] (式中、 R_1 表示氢原子或甲基, R_2 和 R_3 分别独立地表示甲基或乙基,X表示-NH-或氧原子,n表示1~6的整数,m表示1~3的整数)

[0014] 即,本发明涉及:

[0015] “一种免疫凝集测定方法用凝集促进剂,其含有具有由下述通式 [1] 表示的单体单元的聚合物,

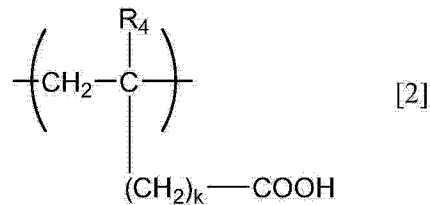
[0016]



[0017] (式中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 X 、 n 和 m 同上);

[0018] 还涉及一种含有上述凝集促进剂的免疫凝集测定方法用试剂,该凝集促进剂的上述聚合物为具有由上述通式 [1] 表示的单体单元和由下述通式 [2] 表示的单体单元的共聚物,

[0019]



[0020] (式中, R_4 表示氢原子或甲基, k 表示 1 ~ 10 的整数);

[0021] 进一步涉及一种免疫凝集测定方法,其特征在于,在上述免疫凝集测定方法用凝集促进剂的共存下,使针对测定对象物质的抗体或抗原与测定对象物质相接触从而进行抗原抗体反应”。

[0022] 发明效果

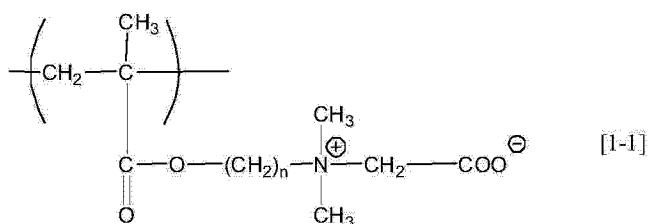
[0023] 相比于以往的免疫凝集促进剂,本发明的免疫凝集促进剂具有更强的凝集促进效果。因此,通过在利用了使用固定化有抗原或抗体的乳胶颗粒等载体而产生的抗原抗体反应生成物的凝集的免疫比浊法、免疫散射比浊法(比ろう法)等免疫凝集测定方法中使用本发明的免疫凝集促进剂,可使由抗原抗体反应产生的凝集更容易发生。其结果,能够以高灵敏度进行测定。

具体实施方式

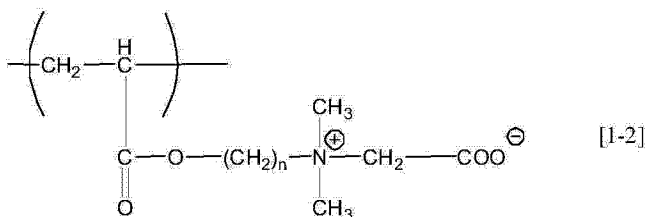
[0024] 作为在本发明的免疫凝集测定方法用凝集促进剂(以下有时简称为本发明的凝集促进剂)中使用的聚合物,只要具有由通式 [1] 表示的单体单元则可以为均聚物也可以为共聚物。作为该共聚物,具体来说,可以举出例如由以通式 [1] 表示的单体单元和以通式 [2] 表示的单体单元构成的共聚物。

[0025] 在本发明的凝集促进剂中使用的聚合物的重均分子量通常为 50000 ~ 3000000、优选为 100000 ~ 3000000、更优选为 200000 ~ 3000000。另外,该凝集促进剂为共聚物时,其重均分子量通常为 50000 ~ 3000000、优选为 100000 ~ 3000000、更优选为 200000 ~ 3000000。

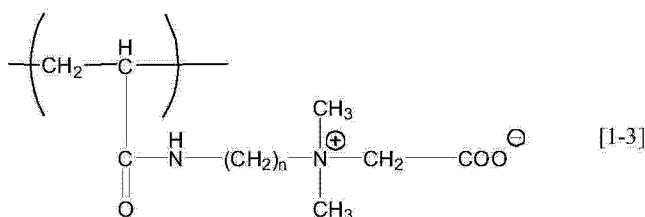
- [0026] (1) 具有由通式 [1] 表示的单体单元的均聚物
- [0027] 作为通式 [1] 中的 R_1 , 可以举出氢原子、甲基等, 优选为甲基。
- [0028] 作为通式 [1] 中的 R_2 , 可以举出甲基、乙基等, 优选为甲基。
- [0029] 作为通式 [1] 中的 R_3 , 可以举出甲基、乙基等, 优选为甲基。
- [0030] 作为通式 [1] 中的 X, 其表示 -NH- 或氧原子, 优选为氧原子。
- [0031] 作为通式 [1] 中的 n, 其通常表示 1 ~ 6 的整数、优选为 2 ~ 4 的整数、更优选为 2 ~ 3 的整数。
- [0032] 作为通式 [1] 中的 m, 其通常表示 1 ~ 3 的整数、优选为 1 ~ 2 的整数、更优选为 1。
- [0033] 作为由通式 [1] 表示的单体单元的优选的具体例, 可以举出例如下述通式 [1-1] ~ [1-8]。
- [0034]



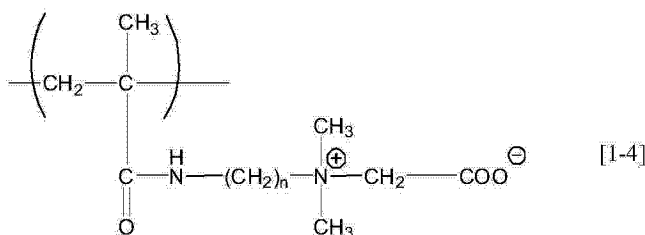
- [0035] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)
- [0036]



- [0037] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)
- [0038]

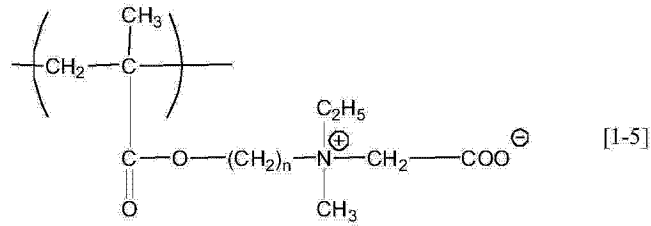


- [0039] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)
- [0040]



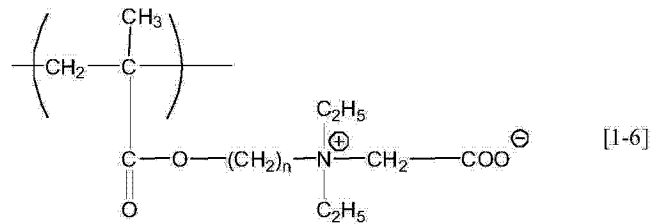
- [0041] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)

[0042]



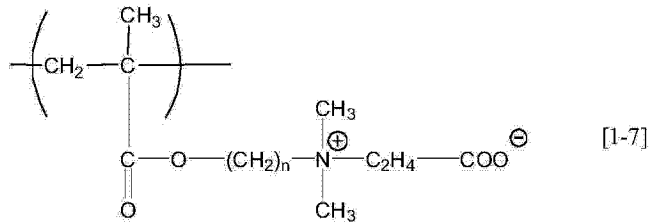
[0043] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)

[0044]



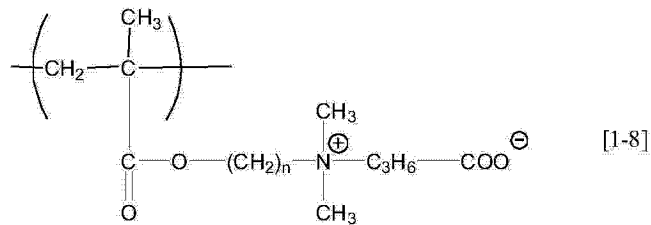
[0045] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)

[0046]



[0047] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)

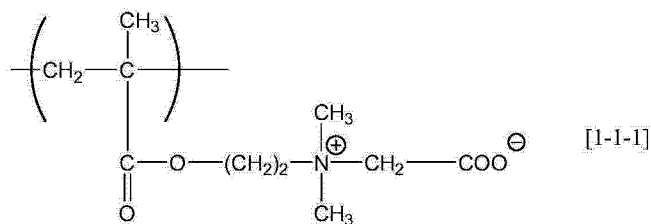
[0048]



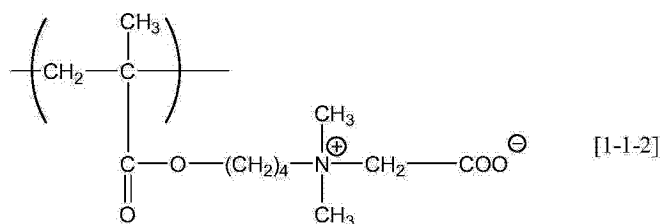
[0049] (式中, n 表示 1 ~ 6 的整数)

[0050] 其中, 优选为通式 [1-1] ~ [1-4], 更优选为通式 [1-1]、通式 [1-3]、通式 [1-4], 特别优选为通式 [1-1]。更具体来说, 优选为由下述 [1-1-1]、[1-1-2]、[1-3-1]、[1-4-1] 表示的单体单元。

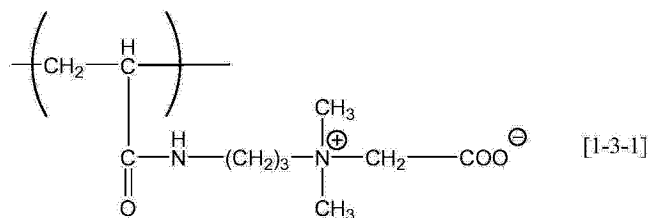
[0051]



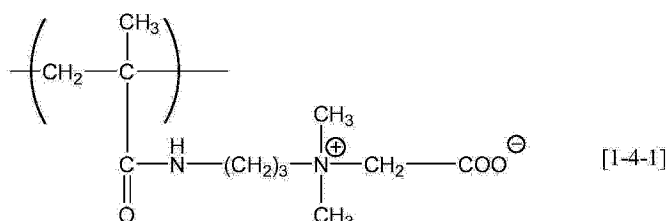
[0052]



[0053]



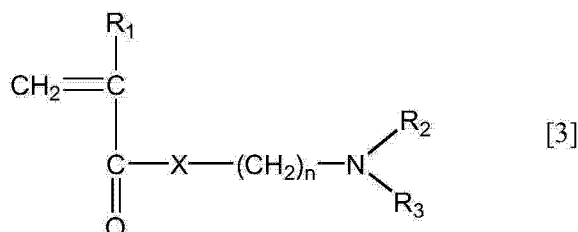
[0054]



[0055] (2) 具有由通式 [1] 表示的单体单元的均聚物的制造方法

[0056] 具有由通式 [1] 表示的单体单元的均聚物可以通过下述方法制造得到：在适当的溶剂中使用例如由下述通式 [3] 表示的（甲基）丙烯酸衍生物与例如由下述通式 [4] 表示的羧酸化合物反应，通过公知的聚合反应使所得到的单体进一步聚合，从而制造具有由通式 [1] 表示的单体单元的均聚物。

[0057]

[0058] (式中, R₁、R₂、R₃、X 和 n 同上)[0059] X-(CH₂)_m-COOH [4]

[0060] (式中, X 表示卤原子, m 同上)

[0061] 作为由通式 [3] 表示的（甲基）丙烯酸衍生物的具体例，例如可以举出 N-[2-(二甲基氨基)乙基]甲基丙烯酸、N-[3-(二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酸、N-[4-(二甲基氨基)丁基]甲基丙烯酸、N-[5-(二甲基氨基)戊基]甲基丙烯酸、N-[6-(二甲基氨基)己基]甲基丙烯酸；N-[2-(二甲基氨基)乙基]丙烯酸、N-[3-(二甲基氨基)丙基]丙烯酸、N-[4-(二甲基氨基)丁基]丙烯酸、N-[5-(二甲基氨基)戊基]丙烯酸、N-[6-(二甲基氨基)己基]丙烯酸；N-[2-(二甲基氨基)乙基]丙烯酰胺、N-[3-(二甲基氨基)丙基]丙烯酰胺、N-[4-(二甲基氨基)丁基]丙烯酰胺、N-[5-(二甲基氨基)戊基]丙烯酰胺、N-[6-(二甲基氨基)己基]丙烯酰胺；N-[2-(二甲基氨基)乙基]甲基丙烯酰胺、N-[3-(二

甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺、N-[4-(二甲基氨基)丁基]甲基丙烯酰胺、N-[5-(二甲基氨基)戊基]甲基丙烯酰胺、N-[6-(二甲基氨基)己基]甲基丙烯酰胺;N-[2-(乙基甲基氨基)乙基]甲基丙烯酸、N-[3-(乙基甲基氨基)丙基]甲基丙烯酸、N-[4-(乙基甲基氨基)丁基]甲基丙烯酸、N-[5-(乙基甲基氨基)戊基]甲基丙烯酸、N-[6-(乙基甲基氨基)己基]甲基丙烯酸;N-[2-(二乙基氨基)乙基]甲基丙烯酸、N-[3-(二乙基氨基)丙基]甲基丙烯酸、N-[4-(二乙基氨基)丁基]甲基丙烯酸、N-[5-(二乙基氨基)戊基]甲基丙烯酸、N-[6-(二乙基氨基)己基]甲基丙烯酸;等等。优选为N-[2-(二甲基氨基)乙基]甲基丙烯酸、N-[4-(二甲基氨基)丁基]甲基丙烯酸、N-[3-(二甲基氨基)丙基]丙烯酰胺、N-[3-(二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺、N-[2-(二乙基氨基)乙基]甲基丙烯酸、N-[3-(二乙基氨基)丙基]甲基丙烯酸、N-[4-(二乙基氨基)丁基]甲基丙烯酸、N-[3-(二乙基氨基)丙基]丙烯酰胺等。其中,特别优选为N-[2-(二甲基氨基)乙基]甲基丙烯酸、N-[4-(二甲基氨基)丁基]甲基丙烯酸、N-[3-(二甲基氨基)丙基]丙烯酰胺、N-[3-(二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺等。需要说明的是,这些(甲基)丙烯酸衍生物可以使用市售品,也可以使用通过常规方法由(甲基)丙烯酸而适当合成得到的(甲基)丙烯酸衍生物。

[0062] 通式[4]中,由X表示的卤原子,可以举出例如氟、氯、溴、碘等,特别优选为氯、溴。

[0063] 作为由通式[4]表示的羧酸化合物的具体例,例如可以举出氯乙酸、氟乙酸、溴乙酸、碘乙酸、氯丙酸、氟丙酸、溴丙酸、碘丙酸、氯丁酸、氟丁酸、溴丁酸、碘丁酸等,但优选为溴乙酸、氯丙酸、氯乙酸,其中可以举出氯乙酸作为特别优选的示例。

[0064] 由通式[4]表示的羧酸化合物的使用量通常可以为由通式[3]表示的(甲基)丙烯酸衍生物的0.5倍摩尔量~3倍摩尔量的量,优选为1倍摩尔量~2倍摩尔量的量。

[0065] 作为由上述通式[3]表示的(甲基)丙烯酸衍生物与由通式[4]表示的羧酸化合物或其盐的反应时的反应溶剂,可以举出例如甲苯、二甲苯、苯、环己烷、正己烷、正辛烷等烃类;例如甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、叔丁醇等醇类;二甲基甲酰胺(DMF);水;等等,优选为醇类,其中优选为甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇等。需要说明的是,上述溶剂也可以适当地混合2种以上进行使用。相对于由通式[3]表示的(甲基)丙烯酸衍生物与由通式[4]表示的羧酸化合物或其盐的总量50g,所使用的反应溶剂的量通常为100mL~300mL。

[0066] 由上述通式[3]表示的(甲基)丙烯酸衍生物与由通式[4]表示的羧酸化合物或其盐的反应温度可以根据反应溶剂等适当设定,但通常为20℃~120℃、优选为40℃~80℃,反应时间通常为1小时~20小时、优选为5小时~12小时。

[0067] 作为在具有由通式[1]表示的单体单元的聚合物的制造方法中的聚合反应,可以通过例如溶液聚合、块状聚合、乳液聚合、悬浮聚合等公知方法来进行。作为聚合引发剂,例如可以使用偶氮异丁腈、2,2'-偶氮双(2,4-二甲基戊腈)、2,2'-偶氮双(2-甲基丙酸甲酯)、2,2'-偶氮双(2-甲基丁腈)等偶氮化合物;过氧化苯甲酰、过氧化月桂酰、过硫酸钾、过硫酸铵等过氧化物,优选为过氧化物,其中特别优选过硫酸铵。相对于全部单体的总重量,聚合引发剂的使用量通常为0.1重量%~3重量%。对于该聚合反应来说,优选在例如氮、氩等惰性气体气氛下进行,聚合温度通常可以为40℃~120℃、优选为50℃~70℃,聚合时间进行1小时~20小时、优选进行0.5小时~5小时。作为此处可以使用的溶剂,除

了由上述通式 [3] 表示的 (甲基) 丙烯酸衍生物与由通式 [4] 表示的羧酸化合物或其盐反应时的反应溶剂的具体例之外, 还可以举出水, 其中优选为水。相对于聚合物的总重量 20g, 可使用的溶剂的量通常为 30mL ~ 360mL。

[0068] 作为具有由通式 [1] 表示的单体单元的均聚物的具体制造方法, 例如首先在乙醇 500mL ~ 1000mL 中使由上述通式 [3] 表示的 (甲基) 丙烯酸衍生物 1mol 与由上述通式 [4] 表示的羧酸化合物或其盐 1mol ~ 2mol 以 40°C ~ 80°C 反应 5 小时 ~ 12 小时, 从而得到单体。其后, 将所得到的单体 10g 溶解于 50mL ~ 100mL 的水中, 向该溶液添加 1mg ~ 30mg 的过氧化物, 在氩气气氛下以 50°C ~ 70°C 进行 1 小时 ~ 20 小时的聚合反应, 从而形成具有由通式 [1] 表示的单体单元的均聚物。

[0069] (3) 具有由通式 [1] 表示的单体单元和由通式 [2] 表示的单体单元的共聚物

[0070] 该共聚物中的由通式 [1] 表示的单体单元的含量通常为 50mol% 以上且小于 100mol%、优选为 50mol% ~ 95mol%、更优选为 50mol% ~ 60mol%。另外, 该共聚物中的由通式 [2] 表示的单体单元的含量通常为超过 0mol% 且为 50mol% 以下、优选为 5mol% ~ 50mol%、更优选为 40mol% ~ 50mol%。

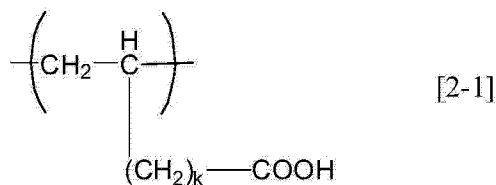
[0071] 作为由通式 [1] 表示的单体单元的具体例, 可以举出与上述 (1) 的具有由通式 [1] 表示的单体单元的均聚物的项目中所所述的物质相同的物质, 优选的物质也是相同的。

[0072] 作为通式 [2] 中的 R_1 , 表示氢原子或甲基, 优选为氢原子。

[0073] 作为通式 [2] 中的 k , 通常为 1 ~ 10、优选为 4 ~ 8、更优选为 6 ~ 8。

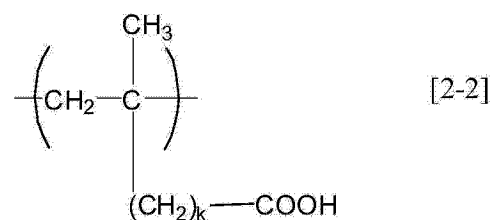
[0074] 作为由通式 [2] 表示的单体单元的具体例, 可以举出例如通式 [2-1] ~ [2-2], 优选为通式 [2-1]。

[0075]



[0076] (式中, k 同上。)

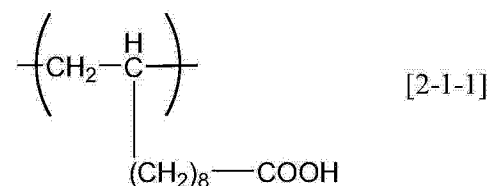
[0077]



[0078] (式中, k 同上。)

[0079] 其中, 优选为下述 [2-1-1]。

[0080]



[0081] 作为由通式 [1] 表示的单体单元与由通式 [2] 表示的单体单元的组合,例如可以举出下述表内的组合。

| 聚合物 No. | 由通式[1]表示的 单体单元 | 由通式[2]表示的 单体单元 |
|---------|-------------------|-------------------|
| P-1 | 通式[1-1] | 通式[2-1] |
| P-2 | 通式[1-2] | 通式[2-1] |
| P-3 | 通式[1-3] | 通式[2-1] |
| P-4 | 通式[1-4] | 通式[2-1] |
| P-5 | 通式[1-5] | 通式[2-1] |
| P-6 | 通式[1-6] | 通式[2-1] |
| P-7 | 通式[1-1] | 通式[2-2] |
| P-8 | 通式[1-2] | 通式[2-2] |
| P-9 | 通式[1-3] | 通式[2-2] |
| P-10 | 通式[1-4] | 通式[2-2] |
| P-11 | 通式[1-5] | 通式[2-2] |
| P-12 | 通式[1-6] | 通式[2-2] |

[0083] 优选的组合为下述表中的组合。

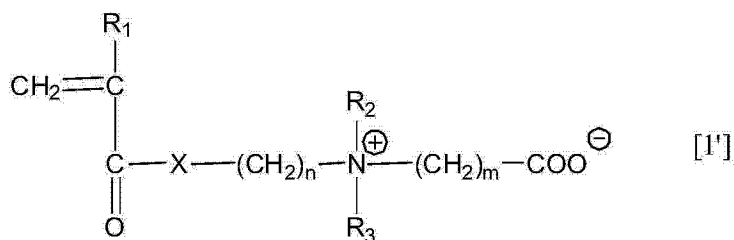
| 聚合物 No. | 由通式[1]表示的 单体单元 | 由通式[2]表示的 单体单元 |
|---------|-------------------|-------------------|
| P-1 | 通式[1-1] | 通式[2-1] |
| P-3 | 通式[1-3] | 通式[2-1] |
| P-4 | 通式[1-4] | 通式[2-1] |

[0085] 其中,更优选为如下组合:由通式 [1] 表示的单体单元为由 [1-1-1]、[1-1-2]、[1-3-1] 或 [1-4-1] 表示的单体单元,并且由通式 [2] 表示的单体单元为 [2-1-1];特别优选为如下组合:由通式 [1] 表示的单体单元为 [1-1-1],并且由通式 [2] 表示的单体单元为 [2-1-1]。

[0086] (4) 具有由通式 [1] 表示的单体单元和由通式 [2] 表示的单体单元的共聚物的制造方法

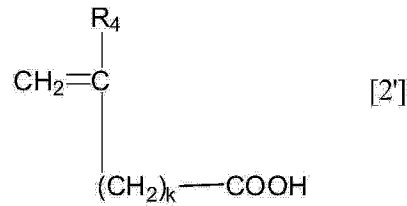
[0087] 作为具有由通式 [1] 表示的单体单元和由通式 [2] 表示的单体单元的共聚物的制造方法,例如可以如下进行:依照公知的例如日本特开昭 52-27713 号记载的方法通过聚合反应使由下述通式 [1'] 表示的单体与由通式 [2'] 表示的乙烯基化合物聚合,从而制造具有由通式 [1] 表示的单体单元和由通式 [2] 表示的单体单元的共聚物。

[0088]



[0089] (式中, R₁、R₂、R₃、X、n 和 m 同上)

[0090]

[0091] (式中, R_4 和 k 同上)

[0092] 作为由通式 [1'] 表示的单体的具体例和优选的具体例, 可以举出与由上述通式 [1] 表示的单体单元一致的物质。另外, 由通式 [1'] 表示的单体可以通过在具有由上述通式 [1] 表示的单体单元的均聚物的制造方法的项目中的由通式 [3] 表示的(甲基)丙烯酸衍生物与由通式 [4] 表示的羧酸化合物或其盐的反应而得到。

[0093] 作为由通式 [2'] 表示的乙烯基化合物的具体例, 例如可以举出 4-戊烯酸、5-己烯酸、6-庚烯酸、7-辛烯酸、8-壬烯酸、9-癸烯酸、10-十一烯酸、4-甲基-4-戊烯酸、5-甲基-5-己烯酸、6-甲基-6-庚烯酸、7-甲基-7-辛烯酸、8-甲基-8-壬烯酸、9-甲基-9-癸烯酸、10-甲基-10-十一烯酸等, 但优选为 7-辛烯酸、8-壬烯酸、9-癸烯酸、10-十一烯酸等, 其中优选为 10-十一烯酸。

[0094] 这些乙烯基化合物即可以使用市售品, 也可以使用通过常规方法由卤化烷基化合物出发适当合成出的乙烯基化合物。

[0095] 相对于由通式 [1'] 表示的单体, 由通式 [2'] 表示的乙烯基化合物的使用量通常为 1mol% ~ 100mol%、优选为 3mol% ~ 100mol%、更优选为 50mol% ~ 100mol%。

[0096] 作为由上述通式 [1'] 表示的单体与由通式 [2'] 表示的乙烯基化合物的聚合反应的方式, 可以举出与具有上述通式 [1] 表示的单体单元的聚合物的制造方法中的聚合反应相同的反应, 优选的反应也是相同的。

[0097] 作为具有由通式 [1] 表示的单体单元和由通式 [2] 表示的单体单元的共聚物的制造方法, 具体来说, 将由通式 [1'] 表示的单体 1mol、和由上述通式 [2'] 表示的乙烯基化合物 0.01mol ~ 1mol 溶解于水与 DMF 的混合溶液(以容量比计为 1:2 ~ 2:1) 50mL ~ 100mL 中, 添加相对于上述单体与乙烯基化合物的总重量为 0.1 重量% ~ 3 重量% 的过氧化物, 在氩气氛下以 50°C ~ 70°C 进行 1 小时 ~ 20 小时的聚合反应, 由此形成具有由通式 [1] 表示的单体单元和由通式 [2] 表示的单体单元的共聚物。

[0098] (5) 本发明的凝集促进剂、免疫凝集测定方法、免疫凝集测定方法用试剂

[0099] 如上所述, 本发明的凝集促进剂含有具有由通式 [1] 表示的单体单元的聚合物, 更具体来说, 本发明的凝集促进剂含有具有由上述通式 [1] 表示的单体单元的均聚物或具有由上述通式 [1] 表示的单体单元与由通式 [2] 表示的单体单元的共聚物。在免疫凝集测定方法中, 该凝集促进剂优选溶解于在免疫比浊法中所使用的试剂中来进行使用, 其中, 特别优选为溶解于使用乳胶作为载体的乳胶凝集法用试剂中进行使用。

[0100] 在本发明的免疫凝集测定方法中, 按照反应液中的浓度通常为 0.1w/v% ~ 8w/v%、优选为 0.1w/v% ~ 4w/v%、更优选为 0.1w/v% ~ 2w/v% 的方式添加使用上述本发明的凝集促进剂。另外, 该浓度优选根据测定对象物质而改变设定, 优选的是: 例如测定对象物质为 CRP 或 Fer 时, 按照通常为 0.1w/v% ~ 8w/v%、优选为 0.1w/v% ~ 4w/v%、更优选为 0.1w/v% ~

1w/v%的方式添加使用；例如测定对象物质为PSA时，按照通常为0.1w/v%~7w/v%、优选为0.1w/v%~4w/v%、更优选为0.1w/v%~2w/v%的方式添加使用。

[0101] 对于本发明的免疫凝集测定方法来说，在进行抗原抗体反应时，按照共存有本发明的凝集促进剂的方式来进行，除此以外，可以使用公知的免疫凝集测定方法（免疫比浊法、免疫散射比浊法等）中所使用的各种试剂依照公知的操作方式进行测定，所述公知的免疫凝集测定方法中，基于抗原抗体反应产生的凝集等对测定对象物质进行测定。例如，可以在上述本发明的凝集促进剂的共存下，通过使针对测定对象物质的抗体或抗原与测定对象物质相接触而进行抗原抗体反应，由此来进行测定；更具体来说，可以例如在上述本发明凝集促进剂的共存下，通过使针对测定对象物质的抗体或负载有抗体的载体、或着针对测定对象物质的抗原或负载有抗原的载体与测定对象物质相接触而进行抗原抗体反应，由此来进行测定。上述方法中，本发明的凝集促进剂可以按照如上所述的反应液中的浓度共存。作为使上述本发明的凝集促进剂共存以外的具体方法，例如在使用测定散射光的方法（散射比浊法）时，可以依照例如“金原出版株式会社、临床检查法提要（臨床検査法提要）、第30版、第2次印刷、p.851-853(1993)”等中记载的方法进行测定；另外，在使用测定透射光的方法（免疫比浊法）时，同样可以依照例如“金原出版株式会社、临床检查法提要、第30版、第2次印刷、p.853-854(1993)”等中记载的方法进行测定。进一步，在使用乳胶凝集法时，可以依照例如“免疫测定方法的新活用事例与在诊断试剂、治疗药开发中的应用”（免疫測定方法の新しい活用事例と診断試薬・治療薬開発への応用）（经营教育出版社）p.103-187等中记载的方法进行测定，所述乳胶凝集法根据散射光、透射光等的变化对使针对测定对象物质的抗体或抗原敏化的乳胶的凝集程度进行测定，并根据该结果进行测定对象物质的测定。

[0102] 作为在本发明的免疫凝集测定方法的反应时所使用的缓冲剂，具体来说可以举出例如Tris缓冲剂、磷酸缓冲剂、Veronal缓冲剂、硼酸缓冲剂、Good's缓冲剂等通常用于免疫比浊法、免疫散射比浊法的所有缓冲剂，测定反应时的pH只要是不抑制抗原抗体反应的范围就没有特别限定，通常自6~10的范围适当选择。

[0103] 本发明的免疫凝集测定方法中的测定通过测定散射光或透射光来进行，该测定可以使用自动分析装置、分光光度计等生物化学常用机器、激光比浊仪等散射比浊测定用专用机等进行。

[0104] 能够通过本发明的免疫凝集测定方法进行测定的测定对象成分可以是能够利用抗原抗体反应进行测定的成分，可以举出在例如血清、血浆、尿、淋巴、脊髓液等来自生物体的试料中所含有的例如C反应蛋白（CRP）、免疫球蛋白G（IgG）、免疫球蛋白A（IgA）、免疫球蛋白M（IgM）、免疫球蛋白E（IgE）、ASO（抗链球菌溶血素O）、白蛋白、尿微量白蛋白、前白蛋白、补体C3、补体C4、转铁蛋白、结合珠蛋白、脂蛋白（a）（LP（a））、载脂蛋白A-I（ApoAI）、载脂蛋白A-II（ApoAII）、载脂蛋白B（载脂蛋白B）、载脂蛋白C-II（ApoCII）、载脂蛋白C-III（ApoCIII）、载脂蛋白E（ApoE）、类风湿因子（RF）、前列腺特异性抗原（PSA）、铁蛋白（Fer）、 β 2微球蛋白（ β 2m）、肌红蛋白（Mb）、胃蛋白酶原（PG）、透明质酸（HA）、肌酸激酶MB同工酶（CK-MB）、梅毒TP抗体、梅毒脂质抗体、幽门螺杆菌抗原/抗体、HCV抗原/抗体、HBs抗原/抗体、HIV抗原/抗体、胱抑素C、基质金属蛋白酶-3（MMP-3）、KL-6、 α -甲胎蛋白（AFP）、癌胚抗原（CEA）、胰岛素、C-肽等，其中，优选为CRP、Fer、PSA或CK-MB等。需要

说明的是,以 CK-MB 为测定对象时,优选使用含有具有由通式 [1] 表示的单体单元与由下述通式 [2] 表示的单体单元的共聚物的凝集促进剂。

[0105] 本发明的免疫凝集测定方法用试剂只要含有上述本发明的凝集促进剂的试剂即可;以试剂中的浓度计,本发明的凝集促进剂的含量通常为 0.1w/v% ~ 10w/v%、优选为 0.1w/v% ~ 5w/v%、更优选为 0.1w/v% ~ 2w/v%。另外,该浓度优选根据测定对象物质而改变,例如测定对象物质为 CRP 或 Fer 时,该浓度通常为 0.1w/v% ~ 10w/v%、优选为 0.1w/v% ~ 5w/v%、更优选为 0.1w/v% ~ 1w/v%;例如测定对象物质为 PSA 时,该浓度通常为 0.1w/v% ~ 10w/v%、优选为 0.1w/v% ~ 5w/v%、更优选为 0.1w/v% ~ 2w/v%。除此以外,在该试剂中,例如测定对象成分为抗原时,还可以含有抗体或负载有该抗体的适当载体(例如乳胶等);测定对象成分为抗体时,还可以含有抗原或负载有该抗原的适当载体(例如乳胶等)。另外,该反应试剂中还可以含有不会妨害共存的试剂等的稳定性或不会妨害抗原抗体反应的物质,所述物质为缓冲剂(例如 Tris 缓冲剂、磷酸缓冲剂、Veronal 缓冲剂、硼酸缓冲剂、Good's 缓冲剂等)、稳定化剂(例如白蛋白、球蛋白、水溶性明胶、表面活性剂、糖类等)、防腐剂(例如水杨酸、苯甲酸、叠氮化钠等)和其他用于该领域中的物质。并且,其浓度只要为通常在该领域中所常用的浓度范围即可。

[0106] 作为本发明的免疫凝集测定方法用试剂中的测定对象,可以举出与本发明的免疫凝集测定方法的项目中记载的测定对象相同的测定对象,优选的测定对象也是相同的。

[0107] 以下通过实施例说明本发明,但本发明不限于这些实施例。

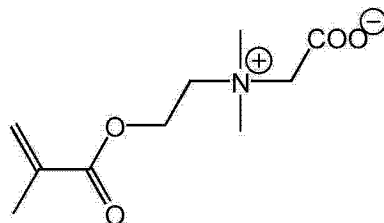
[0108] 实施例

[0109] 合成例 1. 聚合物 1 ~ 3 的合成

[0110] (1) N-[2-(羧甲基二甲基氨基)乙基]甲基丙烯酸(单体 A)的合成

[0111] 将 297g(4.5mol) 的氢氧化钾溶解于 1.6L 的乙醇中,向该溶液添加 426g(4.5mol) 的氯乙酸(和光纯药工业株式会社制造),然后在室温下搅拌反应 2 小时。接着,对通过反应而析出的结晶进行过滤,用异丙醇进行清洗。进一步,将清洗后的结晶悬浮于 1L 的异丙醇中,向该悬浮液添加 475g(3.0mol) 的 N-[2-(二甲基氨基)乙基]甲基丙烯酸(和光纯药工业株式会社制造),然后在回流下搅拌反应 12 小时。反应结束后,滤出不溶物,用异丙醇清洗该不溶物,回收该清洗液。将滤液与清洗液混合并进行减压干燥,然后向所得到的残渣添加丙酮使其析出结晶。其后,对析出的结晶进行过滤,进行减压干燥得到了 420g 的 N-[2-(羧甲基二甲基氨基)乙基]甲基丙烯酸(以下简称单体 A)。

[0112]



[0113] (2) 聚合物 1 ~ 3 的合成

[0114] 将上述 (1) 中得到的单体 A(11g ~ 22g) 溶解于离子交换水(90mL ~ 180mL)中,然后进行了 5 分钟 ~ 30 分钟的氩气置换。向该溶液添加 2mL 的 10% 过硫酸铵溶液,然后在 50°C 搅拌反应 1 小时 ~ 2 小时。反应结束后,利用透析管 [Spectra/Por2(截留分子量为

12K ~ 14K、Spectrum 公司制造), 离子交换水; 5L×3 次] 对该反应液进行了提纯。进行 3 次上述操作, 分别对所得到的聚合物溶液进行冷冻干燥, 得到了 9.4g ~ 14.8g 的聚合物。

[0115] 对于聚合物 1 ~ 3 来说, 分别通过 ¹H-NMR 谱图分析确认了甲基丙烯酸链段 (0.84ppm ~ 1.32ppm) 的存在, 通过 IR 谱图分析确认了羰基 (-C=O) (1725cm⁻¹) 的存在。

[0116] 对于聚合物 1 ~ 3 的物性来说, 利用 GPC (SB-806M-HQ、Shodex 公司制造) 测定的结果示于下述表中。

[0117]

| | 重均分子量 | 分子量分布 |
|-------|---------|-------|
| 聚合物 1 | 64240 | 4.279 |
| 聚合物 2 | 121752 | 2.984 |
| 聚合物 3 | 2644350 | 5.234 |

[0118] 合成例 2. 聚合物 4 的合成

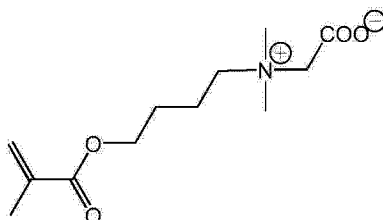
[0119] (1) N-(4-二甲基氨基) 丁基甲基丙烯酸的合成

[0120] 将 23g (0.2mol) 的 N-(4-二甲基氨基) 丁醇 (和光纯药工业株式会社制造) 溶解于 200mL 的氯仿中, 在水冷下向该溶液添加 25g (0.24mol) 的甲基丙烯酰氯 (和光纯药工业株式会社制造), 然后在室温下搅拌并反应 1.5 小时。接着, 利用饱和碳酸氢钠水和饱和食盐水对所得到的反应溶液进行清洗, 然后利用硫酸镁进行了干燥。其后, 滤出硫酸镁, 对所得到的滤液进行减压浓缩而得到了 38g 的 N-[4-(二甲基氨基) 丁基] 甲基丙烯酸。

[0121] (2) N-[4-(羧甲基二甲基氨基) 丁基] 甲基丙烯酸 (单体 B) 的合成

[0122] 将 12g (0.21mol) 的氢氧化钾溶解于 150L 的乙醇中, 向该溶液添加 20g (0.21mol) 的氯乙酸 (和光纯药工业株式会社制造), 然后在室温下搅拌反应 2 小时。接着, 对通过反应而析出的结晶进行过滤, 用乙醇进行清洗。其后, 将清洗后的结晶悬浮于 50mL 的乙醇中, 添加上述 (1) 中得到的 38g (0.2mol) 的 N-(4-二甲基氨基) 丁基甲基丙烯酸, 然后在回流下搅拌反应 12 小时。反应结束后, 滤出不溶物, 用乙醇清洗该不溶物, 回收该清洗液。将滤液与清洗液混合并进行减压干燥, 然后向所得到的残渣添加丙酮使其析出结晶。其后, 过滤出析出的不溶物, 进行减压浓缩得到了 26g 的 N-[4-(羧甲基二甲基氨基) 丁基] 甲基丙烯酸 (以下简称单体 B)。

[0123]



[0124] (3) 聚合物 4 的合成

[0125] 将上述 (2) 中得到的 25g 的单体 B 溶解于 90ml 的离子交换水中, 并进行了 30 分钟的氩气置换。向该溶液添加 2mL 的 10% 过硫酸铵溶液, 然后在 50℃ 搅拌反应 2 小时。反应结束后, 利用透析管 [Spectra/Por2 (截留分子量为 12K ~ 14K、Spectrum 公司制造), 离

子交换水 ;5L×3 次] 对反应液进行了提纯。提纯后,对所得到的聚合物溶液进行冷冻干燥,得到了 17.2g 的聚合物 4。

[0126] 对于聚合物 4 来说,分别通过 $^1\text{H-NMR}$ 谱图分析确认了甲基丙烯酸链段 (0.84ppm ~ 1.45ppm) 的存在,通过 IR 谱图分析确认了羰基 ($-\text{C}=\text{O}$) (1725cm^{-1}) 的存在。

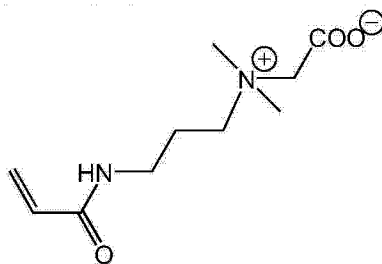
[0127] 通过 GPC (SB-806M-HQ、Shodex 公司制造) 对聚合物 4 的物性进行了测定,其结果为,重均分子量为 807920,分子量分布为 3.895。

[0128] 合成例 3. 聚合物 5 的合成

[0129] (1)N-[3-(羧甲基二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺(单体 C)的合成

[0130] 将 198g (3.0mol) 的氢氧化钾溶解于 1L 的乙醇中,并添加 284g (3.0mol) 的氯乙酸 (和光纯药工业株式会社制造),然后在室温下搅拌反应 2 小时。接着,对通过反应而析出的结晶进行过滤,用异丙醇进行清洗。其后,将清洗后的结晶悬浮于 400mL 的异丙醇中,向该悬浮液添加 511g (3.0mol) 的 N-[3-(二甲基氨基)丙基]丙烯酰胺 (和光纯药工业株式会社制造),然后在回流下搅拌反应 12 小时。反应结束后,滤出不溶物,用异丙醇进行清洗,回收该清洗液。将滤液与清洗液混合并进行减压干燥,然后向所得到的残渣添加丙酮使其析出结晶。其后,过滤得到析出的结晶,进行减压干燥得到了 565g 的 N-[3-(羧甲基二甲基氨基)丙基]丙烯酰胺 (以下简记为单体 C)。

[0131]



[0132] (2) 聚合物 5 的合成

[0133] 将上述 (1) 中得到的 46g 的单体 C 溶解于 90ml 的离子交换水中,并进行了 30 分钟的氩气置换。接着,向该溶液添加 2mL 的 10% 过硫酸铵溶液,然后在 50°C 搅拌反应 2 小时。反应结束后,利用透析管 [Spectra/Por2 (截留分子量为 12K ~ 14K、Spectrum 公司制造),离子交换水 ;5L×3 次] 对反应液进行了提纯。提纯后,通过对所得到的聚合物溶液进行冷冻干燥而得到了 26.2g 的聚合物 5。

[0134] 对于聚合物 5 来说,分别通过 $^1\text{H-NMR}$ 谱图分析确认了甲基丙烯酸链段 (1.13ppm ~ 2.05ppm) 的存在,通过 IR 谱图分析确认了酰胺基 ($-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$) (1640cm^{-1} , 1540cm^{-1}) 的存在。

[0135] 通过 GPC (SB-806M-HQ、Shodex 公司制造) 对聚合物 5 的物性进行了测定,其结果为,重均分子量为 262065,分子量分布为 4.332。

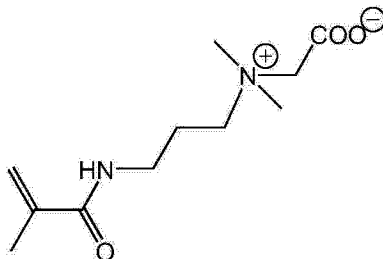
[0136] 合成例 4. 聚合物 6 的合成

[0137] (1)N-[3-(羧甲基二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺(单体 D)的合成

[0138] 将 198g (3.0mol) 的氢氧化钾溶解于 1L 的乙醇中,并添加 284g (3.0mol) 的氯乙酸 (和光纯药工业株式会社制造),然后在室温下搅拌反应 2 小时。接着,对通过反应而析出的结晶进行过滤,用异丙醇进行清洗。其后,将清洗后的结晶悬浮于 400mL 的异丙醇中,向该悬浮液添加 511g (3.0mol) 的 N-[3-(二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺 (和光纯药工业

株式会社制造),然后在回流下搅拌反应 12 小时。反应结束后,滤出不溶物,用异丙醇进行清洗,回收该清洗液。将滤液与清洗液混合并进行减压干燥,然后向所得到的残渣添加丙酮使其析出结晶。其后,过滤得到析出的结晶,进行减压干燥得到了 565g 的 N-[3-(羧甲基二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺(以下简称单体 D)。

[0139]



[0140] (2) 聚合物 6 的合成

[0141] 将上述(1)中得到的 21g 的单体 D 溶解于 90ml 的离子交换水中,并进行了 30 分钟的氩气置换。接着,向该溶液添加 2ml 的 10% 过硫酸铵溶液,然后在 50℃ 搅拌反应 2 小时。反应结束后,利用透析管 [Spectra/Por2(截留分子量为 12K ~ 14K、Spectrum 公司制造),离子交换水;5L×3 次] 对反应液进行了提纯。提纯后,通过对所得到的聚合物溶液进行冷冻干燥而得到了 13.5g 的聚合物 6。

[0142] 对于聚合物 6 来说,分别通过 ¹H-NMR 谱图分析确认了甲基丙烯酸链段(1.10ppm ~ 2.00ppm)的存在,通过 IR 谱图分析确认了酰胺基(-NH-C=O)(1640cm⁻¹, 1540cm⁻¹)的存在。

[0143] 通过 GPC(SB-806M-HQ、Shodex 公司制造)对聚合物 6 的物性进行了测定,其结果为,重均分子量为 407359,分子量分布为 2.375。

[0144] 合成例 5. 共聚物 1 的合成

[0145] 将上述合成例 1 中得到的 22g 的单体 A 与 1.8g 的 10-十一烯酸(和光纯药工业株式会社制造)溶解于 50ml 的离子交换水与 40ml 的 DMF 的混合溶剂中,进行了 30 分钟的氩气置换。接着,向该溶液添加 2ml 的 10% 过硫酸铵溶液,然后在 50℃ 搅拌反应 2 小时。反应结束后,利用透析管 [Spectra/Por2(截留分子量为 12K ~ 14K、Spectrum 公司制造),离子交换水;5L×3 次] 对反应液进行了提纯。提纯后,通过对所得到的聚合物溶液进行冷冻干燥而得到了 16.2g 的共聚物 1。需要说明的是,共聚物 1 含有 40mol% 的来自十一烯酸的单体单元(以下简称单体单元 E)。

[0146] 对于共聚物 1 来说,分别通过 ¹H-NMR 谱图分析确认了来自甲基丙烯酸的单体单元(1.10ppm ~ 2.00ppm)和来自十一烯酸的单体单元(1.03ppm)的存在,通过 IR 谱图分析确认了羰基(-C=O)(1725cm⁻¹)的存在。

[0147] 通过 GPC(SB-806M-HQ、Shodex 公司制造)对共聚物 1 的物性进行了测定,其结果为,重均分子量为 658206,分子量分布为 2.216。

[0148] 合成例 6. 共聚物 2 的合成

[0149] 将上述合成例 1 中得到的 22g 的单体 A 与 7.4g 的 10-十一烯酸(和光纯药工业株式会社制造)溶解于 50ml 的离子交换水与 40ml 的 DMF 的混合溶剂中,并进行了 30 分钟的氩气置换。接着,向该溶液添加 2ml 的 10% 过硫酸铵溶液,然后在 50℃ 搅拌反应 2 小时。

反应结束后,利用透析管 [Spectra/Por2(截留分子量为 12K ~ 14K、Spectrum 公司制造),离子交换水;5L×3 次] 对反应液进行了提纯。提纯后,通过对所得到的聚合物溶液进行冷冻干燥而得到了 19.4g 的共聚物 2。需要说明的是,共聚物 2 含有 5mol% 的单体单元 E。

[0150] 对于共聚物 2 来说,分别通过 $^1\text{H-NMR}$ 谱图分析确认了甲基丙烯酸链段 (1.10ppm ~ 2.00ppm) 和十一烯酸链段 (1.03ppm) 的存在,通过 IR 谱图分析确认了羰基 ($-\text{C}=\text{O}$) (1725cm^{-1}) 的存在。

[0151] 通过 GPC (SB-806M-HQ、Shodex 公司制造) 对共聚物 2 的物性进行了测定,其结果为,重均分子量为 957680,分子量分布为 2.041。

[0152] 实施例 1 通过使用了分子量不同的聚合物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 CRP

[0153] (1) 抗人 CRP 抗体致敏(固定化)乳胶试剂的制备

[0154] 将含有 1mg/mL 的山羊抗人 CRP 多克隆抗体 (Oriental Yeast 公司制造) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 4.5mL 与粒径为 $0.12\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯乳胶 (Nippon paint 公司制造) 的 10w/v% 水溶液 0.5mL 混合,在 7°C 反应一个晚上。其后,将所得到的悬浮液 5mL 与含有 2.5w/v% 的牛血清白蛋白 (BSA) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 5mL 混合,在 7°C 反应 2 小时。接着,使用 5mL 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 对通过离心分离 (45000g、30 分钟) 分离出的全部乳胶进行清洗,并将其悬浮于含有 0.5w/v% 的 BSA 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 12.5mL 中,将该悬浮液作为抗人 CRP 抗体致敏乳胶溶液 (1)。另外,将按照与上述同样的方法使用粒径为 $0.2\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯乳胶 (Nippon paint 公司制造) 制备出的悬浮液作为抗人 CRP 抗体致敏乳胶溶液 (2)。

[0155] (2) 试料

[0156] 使用生理食盐水 (0.85%NaCl) 作为试剂盲检测定用试料(空白)。试料使用了 LT-CRP-HS 定标剂组 (Calibrator Set) H0 (和光纯药工业株式会社制造、CRP 浓度分别为 0.2mg/dL、1.0mg/dL、4.0mg/dL、18.0mg/dL、35.0mg/dL 的定标剂)。

[0157] (3) 试剂

[0158] 第一试剂

[0159] 制备含有 0.4w/v% 的在合成例 1 中合成的聚合物 1、聚合物 2 或聚合物 3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M Tris 缓冲液 (pH8.0),从而准备了 3 种第一试剂。

[0160] 第二试剂

[0161] 将上述 (1) 中制备的抗人 CRP 抗体感作乳胶 (1) 12mL 和抗人 CRP 抗体感作乳胶 (2) 8mL 混合而成的混合物作为第二试剂。

[0162] (4) 测定方法

[0163] 对于上述试料、上述第一试剂和上述第二试剂,使用 BM-8 型自动分析装置 (日本电子株式会社制造) 以下述条件测定了试料中的 CRP 浓度。

[0164] 试料: $7.5\mu\text{L}$ (利用生理食盐水稀释 5 倍)

[0165] 第一试剂: $100\mu\text{L}$

[0166] 第二试剂: $25\mu\text{L}$

[0167] 测定方法: 二点终点法 (34-65)

[0168] 主波长 :596nm

[0169] 所得到的结果示于表 1 中。

[0170] 比较例 1 通过使用了以往的免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 CRP

[0171] 使用含有 0.4w/v% 的聚乙二醇 6000 (PEG6000、和光纯药工业株式会社制造) 或 MPC 聚合物 (日油株式会社制造) 代替实施例 1 的聚合物 1 ~ 3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M Tris 缓冲液 (pH8.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 1 同样的方法测定了 CRP。其结果与实施例 1 的结果一并示于表 1 中。

[0172] [表 1]

| 凝集促进剂 CRP 浓度\MW | 实施例 1 | | | 比较例 1 | |
|--------------------|----------------|-----------------|------------------|-------------|---------------|
| | 聚合物 1 64340 | 聚合物 2 121752 | 聚合物 3 2644000 | PEG 6000 | MPC 245000 |
| 空白 | 51 | 51 | 45 | 47 | 51 |
| 0.2 mg/dL | 360 | 452 | 523 | 189 | 230 |
| 1.0 mg/dL | 1299 | 1516 | 1758 | 733 | 936 |
| 4.0 mg/dL | 2427 | 2703 | 2982 | 1686 | 2038 |
| 18.0 mg/dL | 5540 | 6298 | 6911 | 3900 | 4711 |
| 35.0 mg/dL | 7187 | 8128 | 8623 | 4945 | 6883 |

[0174] 由表 1 的结果可知,在 CRP 测定体系中,聚合物 1、2 和 3 均显示了高于以往品、即比较例 1 的 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。另外可知,对于其效果而言,聚合物的分子量越高则越会显示出优异的效果。

[0175] 实施例 2 通过使用了分子量不同的聚合物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 Fer

[0176] (1) 抗人 Fer 抗体致敏 (固定化) 乳胶试剂的制备

[0177] 将含有 0.6mg/mL 的兔抗人 Fer 多克隆抗体 (Dako 公司制造) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 1ml、与以含量为 2w/v% 的方式悬浮有粒径为 0.3 μm 的聚苯乙烯乳胶 (积水化学工业株式会社制) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 1ml 混合,在 25℃ 反应 2 小时。其后,将所得到的悬浮液 2mL 与含有 1.25w/v%BSA 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 2mL 混合,在 7℃ 反应 2 小时。接着,使用 4mL 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 对通过离心分离 (45000g、30 分钟) 分离出的全部乳胶进行清洗,并将悬浮于含有 0.5w/v%BSA 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 20mL 中而成的悬浮液作为抗人 Fer 抗体致敏乳胶溶液。

[0178] (2) 试料

[0179] 使用生理食盐水 (0.85%NaCl) 作为试剂盲检测定试料 (空白)。试料使用铁蛋白定标剂组 (和光纯药工业株式会社制造、Fer 浓度分别为 30ng/mL、100ng/mL、200ng/mL、500ng/mL、1000ng/mL 的定标剂)。

[0180] (3) 试剂

[0181] 第一试剂

[0182] 制备含有 0.4w/v% 的在合成例 1 中合成的聚合物 1、聚合物 2 或聚合物 3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0),从而制备了 3 种第一试剂。

[0183] 第二试剂

[0184] 使用上述 (1) 中制备的抗人 Fer 抗体致敏乳胶溶液作为第二试剂。

[0185] (4) 测定方法

[0186] 对于上述试料、上述第一试剂和上述第二试剂,使用 BM-8 型自动分析装置(日本电子株式会社制造)以下述条件测定了试料中的 Fer 浓度。

[0187] 试料:12.0 μ L(利用生理食盐水稀释 2 倍)

[0188] 第一试剂:90 μ L

[0189] 第二试剂:30 μ L

[0190] 测定方法:二点终点法(35-59)

[0191] 主波长:694nm

[0192] 所得到的结果示于表 2 中。

[0193] 比较例 2 通过使用了以往的免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 Fer

[0194] 使用含有 0.4w/v% 的聚乙二醇 6000(PEG6000、和光纯药工业株式会社制造)或 MPC 聚合物(日油株式会社制造)代替实施例 2 的聚合物 1~3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液(pH7.0)作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 2 同样的方法测定了 Fer。

[0195] 其结果与实施例 2 的结果一并示于表 2 中。

[0196] [表 2]

| | 实施例 2 | | | 比较例 2 | |
|--------------------|-------|--------|---------|-------|--------|
| | 聚合物 1 | 聚合物 2 | 聚合物 3 | PEG | MPC |
| 凝集促进剂 Fer 浓度\MW | 64340 | 121752 | 2644000 | 6000 | 245000 |
| [0197] 0 ng/mL(空白) | -32 | -39 | -21 | -26 | -29 |
| 30 ng/mL | 95 | 117 | 115 | 40 | 66 |
| 100 ng/mL | 406 | 483 | 512 | 201 | 291 |
| 200 ng/mL | 792 | 978 | 1070 | 438 | 609 |
| 500 ng/mL | 2206 | 2677 | 2894 | 1115 | 1553 |
| 1000 ng/mL | 3439 | 3814 | 3913 | 2074 | 2767 |

[0198] 由表 2 的结果可知,在 Fer 测定体系中,聚合物 1、2 和 3 均显示了高于比较例 2 的 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。另外可知,与 CRP 测定体系同样,聚合物的分子量越高则其效果越优异。

[0199] 实施例 3 通过使用了分子量不同的聚合物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 PSA

[0200] (1) 抗人 PSA 抗体致敏(固定化)乳胶试剂的制备

[0201] 将含有 0.6mg/mL 的抗人 PSA 单克隆抗体(C1oneNo. PSA10、和光纯药工业株式会社制造)的 50mM 硼酸缓冲液(pH7.1)1ml、与以含量为 2w/v% 的方式悬浮有粒径为 0.28 μ m 的聚苯乙烯乳胶(积水化学工业株式会社制)的 50mM 硼酸缓冲液(pH7.1)1ml 混合,在 25 $^{\circ}$ C 反应 2 小时。其后,通过离心分离(45000g、30 分钟)从该悬浮液分离出全部乳胶,利用 2mL 的 50mM 硼酸缓冲液(pH7.1)进行了清洗。接着,将上述乳胶悬浮于 2mL 的含有 0.5w/v%BSA 的 50mM 硼酸缓冲液(pH7.3)而成的悬浮液作为抗人 PSA 抗体致敏乳胶溶液(1)。

[0202] 另外,与上述同样地将含有 1.4mg 的抗人 PSA 单克隆抗体(C1oneNo. PSA14、和光纯药工业株式会社制造)的 50mM 硼酸缓冲液(pH7.1)1ml、与以含量为 2w/v% 的方式悬浮有粒

径为 0.15 μm 的聚苯乙烯乳胶 (积水化学工业株式会社制) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.1) 1ml 混合, 将制备得到的悬浮液作为抗人 PSA 抗体致敏乳胶溶液 (2)。

[0203] (2) 试料

[0204] 将磷酸缓冲液 (含有 1w/v%BSA、0.85%NaCl 的 10mM 磷酸缓冲液) 作为试剂盲检测定试料 (空白)。试料使用了 PSA 定标剂组 (和光纯药工业株式会社制造、PSA 浓度分别为 5.0ng/mL、10.0ng/mL、39.8ng/mL、69.3ng/mL、98.6ng/mL 的定标剂)。

[0205] (3) 试剂

[0206] 第一试剂

[0207] 制备含有 0.75w/v% 的在合成例 1 中合成的聚合物 1、聚合物 2 或聚合物 3 且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0), 从而制备了 3 种第一试剂。

[0208] 第二试剂

[0209] 将上述 (1) 中制备的抗人 PSA 抗体致敏乳胶 (1) 和 (2) 各 2ml 悬浮混合于含有 0.5w/v%BSA 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 16mL 中, 将所得到的混合物作为第二试剂。

[0210] (4) 测定方法

[0211] 对于上述试料、上述第一试剂和上述第二试剂, 使用 BM-8 型自动分析装置 (日本电子株式会社制造) 以下述条件测定了试料中的 PSA 浓度。所得到的结果示于表 3 中。

[0212] 试料: 18.0 μL (利用生理食盐水稀释 2 倍)

[0213] 第一试剂: 90 μL

[0214] 第二试剂: 30 μL

[0215] 测定方法: 二点终点法 (37-65)

[0216] 主波长: 694nm

[0217] 比较例 3 通过使用以往的免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 PSA

[0218] 使用含有 0.75w/v% 的聚乙二醇 6000 (PEG6000、和光纯药工业株式会社制造) 或 MPC 聚合物 (日油株式会社制造) 代替实施例 3 的聚合物 1 ~ 3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0) 作为第一试剂, 除此以外, 通过与实施例 3 同样的方法测定了 PSA。

[0219] 其结果与实施例 3 的结果一并示于表 3 中。

[0220] [表 3]

| | 实施例 3 | | | 比较例 3 | |
|---------------------|-------|--------|---------|-------|--------|
| | 聚合物 1 | 聚合物 2 | 聚合物 3 | PEG | MPC |
| 凝集促进剂 | | | | | |
| PSA 浓度\MW | 64340 | 121752 | 2644000 | 6000 | 245000 |
| [0221] 0 ng/mL (空白) | -15 | -19 | -12 | -37 | -17 |
| 5 ng/mL | 218 | 252 | 269 | 153 | 178 |
| 10 ng/mL | 453 | 539 | 580 | 257 | 366 |
| 39.8 ng/mL | 2034 | 2720 | 3141 | 989 | 1529 |
| 69.3 ng/mL | 3566 | 4772 | 5464 | 1716 | 2615 |
| 98.6 ng/mL | 4786 | 6271 | 7028 | 2224 | 3735 |

[0222] 由表 3 的结果可知, 在 PSA 测定体系中, 聚合物 1、2 和 3 均显示了高于比较例 3 的 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。另外可知, 与 CRP 测定体系和 Fer 测定体系同样, 聚合物的分子量越高则其效果越优异。

[0223] 实施例 4 通过使用了各种聚合物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 CRP

[0224] 使用含有 0.4w/v% 的聚合物 4~6 代替聚合物 1~3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M Tris 缓冲液 (pH8.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 1 同样的方法测定了 CRP。其结果示于表 4 中。

[0225] [表 4]

| CRP 浓度\凝集促进剂 | 聚合物 4 | 聚合物 5 | 聚合物 6 |
|--------------|-------|-------|-------|
| 0 mg/mL (空白) | 48 | 51 | 48 |
| 0.2 mg/dL | 434 | 399 | 386 |
| 1.0 mg/dL | 1451 | 1370 | 1314 |
| 4.0 mg/dL | 2602 | 2493 | 2409 |
| 18.0 mg/dL | 5902 | 5645 | 5421 |
| 35.0 mg/dL | 7618 | 7280 | 7081 |

[0227] 由表 4 的结果可知,在 CRP 测定体系中,与聚合物 1~3 同样,聚合物 4、5 和 6 均显示出了高凝集促进效果。另外可知,显示出了高于以往品、即 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。

[0228] 实施例 5 通过使用了各种的聚合物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 Fer

[0229] 使用含有 0.4w/v% 的聚合物 4~6 代替聚合物 1~3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M Tris 缓冲液 (pH8.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 2 同样的方法测定了 Fer。其结果示于表 5 中。

[0230] [表 5]

| Fer 浓度\凝集促进剂 | 聚合物 4 | 聚合物 5 | 聚合物 6 |
|--------------|-------|-------|-------|
| 0 ng/mL (空白) | -27 | -33 | -31 |
| 30 ng/mL | 120 | 99 | 92 |
| 100 ng/mL | 463 | 438 | 407 |
| 200 ng/mL | 992 | 951 | 890 |
| 500 ng/mL | 2500 | 2389 | 2263 |
| 1000 ng/mL | 3768 | 3678 | 3566 |

[0232] 由表 5 的结果可知,在 Fer 测定体系中,与聚合物 1~3 同样,聚合物 4、5 和 6 均显示出了高凝集促进效果。另外可知,显示出了高于以往品、即 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。

[0233] 实施例 6 通过使用了各种聚合物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 PSA

[0234] 使用含有 0.4w/v% 的聚合物 4~6 代替聚合物 1~3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 3 同样的方法测定了 PSA。其结果示于表 6 中。

[0235] [表 6]

| PSA 浓度\凝集促进剂 | 聚合物 4 | 聚合物 5 | 聚合物 6 |
|--------------|-------|-------|-------|
| 0 ng/mL(空白) | -13 | -15 | -17 |
| 5 ng/mL | 210 | 238 | 222 |
| 10 ng/mL | 440 | 485 | 446 |
| 39.8 ng/mL | 2027 | 2281 | 2063 |
| 69.3 ng/mL | 3571 | 3986 | 3642 |
| 98.6 ng/mL | 4877 | 5663 | 4905 |

[0237] 由表 6 的结果可知,在 PSA 测定体系中,与聚合物 1~3 同样,聚合物 4、5 和 6 均显示出了高凝集促进效果。另外可知,显示出了高于以往品、即 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。

[0238] 实施例 7 通过使用了共聚物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 CRP

[0239] 使用含有 0.4w/v% 的共聚物 1 或 2 代替聚合物 1~3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M Tris 缓冲液 (pH8.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 1 同样的方法测定了 CRP。其结果示于表 7 中。

[0240] [表 7]

| 聚合物 | 共聚物 1 | 共聚物 2 |
|-----------------|--------|--------|
| 分子量 | 658206 | 957680 |
| CRP 浓度/单体 1 的含量 | 5 % | 40 % |
| 0 mg/dL(空白) | 49 | 47 |
| 0.2 mg/dL | 655 | 463 |
| 1.0 mg/dL | 1802 | 1510 |
| 4.0 mg/dL | 2914 | 2688 |
| 18.0 mg/dL | 6565 | 6183 |
| 35.0 mg/dL | 8202 | 7927 |

[0242] 由表 7 的结果可知,在 CRP 测定体系中,与聚合物 1~6 同样,共聚物 1 和 2 均显示出了高凝集促进效果。另外可知,显示出了高于以往品、即 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。

[0243] 实施例 8 通过使用了共聚物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 Fer

[0244] 使用含有 0.4w/v% 的共聚物 1 或 2 代替聚合物 1~3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 2 同样的方法测定了 Fer。其结果示于表 8 中。

[0245] [表 8]

| | 聚合物 | 共聚物 1 | 共聚物 2 |
|--------|-----------------|--------|--------|
| | 分子量 | 658206 | 957680 |
| | Fer 浓度\单体 C 的含量 | 5 % | 40 % |
| [0246] | 0 ng/mL (空白) | -33 | -41 |
| | 30 ng/mL | 129 | 107 |
| | 100 ng/mL | 496 | 453 |
| | 200 ng/mL | 1133 | 987 |
| | 500 ng/mL | 2828 | 2503 |
| | 1000 ng/mL | 3876 | 3679 |

[0247] 由表 8 的结果可知,在 Fer 测定体系中,与聚合物 1 ~ 6 同样,共聚物 1 和 2 均显示出了高凝集促进效果。另外可知,显示出了高于以往品、即 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。

[0248] 实施例 9 通过使用了共聚物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 PSA

[0249] 使用含有 0.75w/v% 的共聚物 1 或 2 代替聚合物 1 ~ 3 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 3 同样的方法测定了 PSA。其结果示于表 9 中。

[0250] [表 9]

| | 聚合物 | 共聚物 1 | 共聚物 2 |
|--------|-----------------|--------|--------|
| | 分子量 | 658206 | 957680 |
| | PSA 浓度\单体 C 的含量 | 5 % | 40 % |
| [0251] | 0 mg/dL (空白) | -16 | -13 |
| | 5 ng/mL | 282 | 246 |
| | 10 ng/mL | 598 | 529 |
| | 39.8 ng/mL | 3212 | 2634 |
| | 69.3 ng/mL | 5453 | 4583 |
| | 98.6 ng/mL | 6992 | 5975 |

[0252] 由表 9 的结果可知,在 PSA 测定体系中,与聚合物 1 ~ 6 同样,共聚物 1 和 2 均显示出了高凝集促进效果。另外可知,显示出了高于以往品、即 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。

[0253] 实施例 10 通过使用了共聚物作为免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 CK-MB

[0254] (1) 抗人 CK-MB 抗体致敏 (固定化) 乳胶试剂的制备

[0255] 将含有 0.8mg/mL 的抗人 CK-MB 单克隆抗体 (Clone MAK (CK-MB) M-7.4.5-IgG、Roche 公司制造) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 1ml、与以含量为 2w/v% 的方式悬浮有粒径为 0.4 μm 的聚苯乙烯乳胶 (藤仓化成株式会社制) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 1ml 混合,在 25℃ 反应 2 小时。其后,利用 2mL 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 对通过离心分离 (45000g、30 分钟) 分离出的全部乳胶进行了清洗。接着,将上述乳胶悬浮于含有 0.5w/v%BSA 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 2mL 中,制成了抗人 CK-MB 抗体致敏乳胶溶液 (1)。

[0256] 另外,按照与上述同样的方法,将含有 0.8mg 的抗人 CK-MB 单克隆抗体 (Clone MAK <CK-MB> M-7.4.5-IgG、Roche 公司制造) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 1ml、与以含量为 2w/v% 的方式悬浮有粒径为 0.4 μm 的聚苯乙烯乳胶 (藤仓化成株式会社制) 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 1ml 混合而制备的悬浮液作为抗人 CK-MB 抗体致敏乳胶溶液 (2)。

[0257] (2) 试料

[0258] 使用生理食盐水 (0.85%NaCl) 作为试剂盲检测定用试料 (空白)。试料使用了利用磷酸缓冲液 (含有 10mM 磷酸、1w/v%BSA、0.85%NaCl) 稀释 CK-MB 抗原 (来自人的 CK-MB、Cliniqa 公司制造)、以浓度分别为 5.2ng/mL、19.0ng/mL、47.9ng/mL、98.7ng/mL、204.3ng/mL 的方式制备而成的液体。

[0259] (3) 试剂

[0260] 第一试剂

[0261] 制备含有 0.75w/v% 的聚合物 1、共聚物 1 或共聚物 2 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0), 从而制备了 3 种第一试剂。

[0262] 第二试剂

[0263] 将上述 (1) 中制备的抗人 CK-MB 抗体致敏乳胶 (1) 和 (2) 各 2ml 悬浮混合于含有 0.5w/v%BSA 的 50mM 硼酸缓冲液 (pH7.5) 16mL 中而成的混合物作为第二试剂。

[0264] (4) 测定方法

[0265] 对于上述试料、上述第一试剂和上述第二试剂,使用 BM-8 型自动分析装置 (日本电子株式会社制造) 以下述条件测定了试料中的 CK-MB 浓度。

[0266] 试料:12.0 μL (利用生理食盐水稀释 2 倍)

[0267] 第一试剂:90 μL

[0268] 第二试剂:30 μL

[0269] 测定方法:二点终点法 (34-65)

[0270] 主波长:596nm

[0271] 所得到的结果示于表 10 中。

[0272] 比较例 4 通过使用了以往的免疫凝集促进剂的乳胶免疫凝集测定方法测定 CK-MB

[0273] 使用含有 0.75w/v% 的聚乙二醇 6000 (PEG6000、和光纯药工业株式会社制造) 或 MPC 聚合物 (日油株式会社制造) 代替聚合物 1、共聚物 1 和共聚物 2 作为凝集促进剂且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 10 同样的方法测定了 CK-MB。其结果与实施例 10 的结果一并示于表 10 中。

[0274] [表 10]

[0275]

| 凝集促进剂 分子量 | 实施例 10 | | | 比较例 4 | |
|-------------------|--------|--------|--------|-------|--------|
| | 聚合物 2 | 共聚物 1 | 共聚物 2 | PEG | MPC |
| 分子量 | 121752 | 658206 | 957680 | 6000 | 245000 |
| CK-MB 浓度\单体 C 的含量 | 0 % | 5 % | 40 % | | |
| 0 ng/mL(空白) | -102 | -65 | -31 | -139 | -129 |
| 5.2 ng/mL | 83 | 90 | 93 | 19 | 24 |
| 19.0 ng/mL | 481 | 599 | 810 | 85 | 197 |
| 47.9 ng/mL | 1439 | 1789 | 2232 | 257 | 624 |
| 98.7 ng/mL | 2547 | 2942 | 3198 | 534 | 1220 |
| 204.3 ng/mL | 3335 | 3502 | 3590 | 1134 | 2232 |

[0276] 由表 10 的结果可知,在 CK-MB 测定体系中,通过添加聚合物 2、共聚物 1 和 2 的任一者,均显示了高于比较例 4 的 PEG6000 或 MPC 的凝集促进效果。进一步还可知,作为共聚物的共聚物 1 和 2 显示了比作为均聚物的聚合物 2 更高的凝集促进效果。

[0277] 实施例 11 通过免疫凝集促进剂含量不同的乳胶免疫凝集测定方法测定 CRP

[0278] 使用含有 0.24w/v%、0.32w/v%、0.56w/v% 或 0.72w/v% 的聚合物 1 且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M Tris 缓冲液 (pH8.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 1 同样的方法测定了 CRP。其结果示于表 11 中。

[0279] [表 11]

| CRP 浓度\聚合物 1 的添加量 | 0.24 % | 0.32 % | 0.56 % | 0.72 % |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|
| 0 mg/dL | 64 | 68 | 54 | 54 |
| 0.2 mg/dL | 238 | 298 | 526 | 795 |
| 1.0 mg/dL | 1035 | 1316 | 2048 | 2703 |
| 4.0 mg/dL | 2265 | 2630 | 3477 | 4208 |
| 18 mg/dL | 4923 | 5691 | 7441 | 8568 |
| 35 mg/dL | 6513 | 7556 | 8968 | 9408 |

[0281] 由表 11 的结果可知,对于 CRP 测定体系中的聚合物 1 来说,其添加量越多,凝集促进效果越高。

[0282] 实施例 12 通过免疫凝集促进剂含量不同的乳胶免疫凝集测定方法测定 Fer

[0283] 使用含有 0.25w/v%、0.32w/v%、0.49w/v% 或 0.61w/v% 的聚合物 1 且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 2 同样的方法测定了 Fer。其结果示于表 12 中。

[0284] [表 12]

| Fer 浓度\聚合物 1 的添加量 | 0.25 % | 0.31 % | 0.49 % | 0.61 % |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|
| 0 ng/mL | -27 | -24 | -44 | -40 |
| 30 ng/mL | 79 | 87 | 128 | 156 |
| 100 ng/mL | 276 | 321 | 457 | 564 |
| 200 ng/mL | 579 | 659 | 971 | 1252 |
| 500 ng/mL | 1501 | 1720 | 2541 | 3319 |
| 1000 ng/mL | 2797 | 3143 | 4023 | 4500 |

[0286] 由表 12 的结果可知,对于 Fer 测定体系中的聚合物 1 来说,其添加量越多,凝集促进效果越高。

[0287] 实施例 13 通过免疫凝集促进剂含量不同的乳胶免疫凝集测定方法测定 PSA

[0288] 使用含有 0.60w/v%、0.90w/v%、1.35w/v% 或 1.50w/v% 的聚合物 1 且含有 0.1%BSA 和 1%NaCl 的 0.1M HEPES-NaOH 缓冲液 (pH7.0) 作为第一试剂,除此以外,通过与实施例 3 同样的方法测定了 PSA。其结果示于表 13 中。

[0289] [表 13]

| PSA 浓度\聚合物 1 的添加量 | 0.60 % | 0.90 % | 1.35 % | 1.50 % |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|
| 0 ng/mL | -17 | -17 | -12 | -3 |
| 4.9 ng/mL | 189 | 236 | 341 | 389 |
| 10.0 ng/mL | 391 | 520 | 781 | 1024 |
| 40.1 ng/mL | 1741 | 2531 | 4654 | 5847 |
| 69.8 ng/mL | 3054 | 4502 | 7239 | 8044 |
| 99.2 ng/mL | 4208 | 5959 | 8524 | 9247 |

[0291] 由表 13 的结果可知,对于 PSA 测定体系中的聚合物 1 来说,其添加量越多,凝集促进效果越高。

| | | | |
|---------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 凝集促进剂 | | |
| 公开(公告)号 | CN103597352B | 公开(公告)日 | 2015-10-21 |
| 申请号 | CN201280027997.9 | 申请日 | 2012-06-04 |
| 申请(专利权)人(译) | 和光纯药工业株式会社 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 和光纯药工业株式会社 | | |
| [标]发明人 | 山本直之 增田勤 | | |
| 发明人 | 山本直之 增田勤 | | |
| IPC分类号 | G01N33/543 C08F20/36 C08F20/60 C08F220/36 C08F220/60 G01N33/53 G01N33/573 G01N33/574 | | |
| CPC分类号 | G01N33/5306 C08F220/36 C08F220/60 G01N33/542 | | |
| 审查员(译) | 李倩 | | |
| 优先权 | 2011127076 2011-06-07 JP | | |
| 其他公开文献 | CN103597352A | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明的课题在于提供一种凝集促进剂，其可显示出比以往的免疫凝集促进剂更优异的凝集促进效果。本发明涉及一种免疫凝集测定方法用凝集促进剂，其含有具有由下述通式[1]表示的单体单元的聚合物；还涉及一种免疫凝集测定方法，其中，在所述免疫凝集测定方法用凝集促进剂的共存下，使针对测定对象物质的抗体或抗原与测定对象物质相接触从而进行抗原抗体反应。(式中，R1表示氢原子或甲基，R2和R3分别独立地表示甲基或乙基，X表示-NH-或氧原子，n表示1~6的整数，m表示1~3的整数)。

