

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) **公開特許公報** ( A ) (11)特許出願公開番号

**特開2001 - 305135**

(P2001 - 305135A)

(43)公開日 平成13年10月31日(2001.10.31)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/531			G 0 1 N 33/531	B
	33/536		33/536	F

審査請求 未請求 請求項の数 16 O L ( 全 7 数 )

(21)出願番号 特願2000 - 119370(P2000 - 119370)

(22)出願日 平成12年4月20日(2000.4.20)

(71)出願人 000252300

和光純薬工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町3丁目1番2号

(72)発明者 西村 一平

兵庫県尼崎市高田町6番1号 和光純薬工業

株式会社大阪研究所内

(72)発明者 足立 広道

兵庫県尼崎市高田町6番1号 和光純薬工業

株式会社大阪研究所内

(54)【発明の名称】 免疫学的測定法

(57)【要約】

【課題】試料中の成分の免疫学的測定法に於ける、自動分析装置の構造上の何らかの要因により試薬中の蛋白成分が変性して生じる非特異的濁りに起因する測定誤差を排除し、目的物質のみを迅速かつ高精度に定量し得る免疫学的測定法及び試液の提供。

【解決手段】アミノホスホン酸化合物の存在下に、試料中の成分を免疫学的測定法により測定する方法及びそれに用いられる免疫学的測定用試液。該化合物を含んでなる非特異的濁り抑制剤及び非特異的濁り抑制方法。

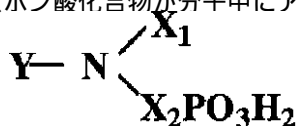
1

【特許請求の範囲】

【請求項1】アミノホスホン酸化合物の存在下に、試料中の成分を免疫学的測定法により測定する方法。

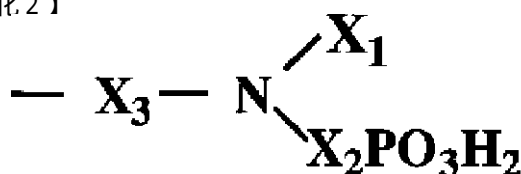
【請求項2】免疫学的測定法が、抗原抗体反応に起因する濁度の変化又は散乱光強度の変化に基づいて行うものである、請求項1記載の方法。

【請求項3】アミノホスホン酸化合物が分子中にアミノ\*



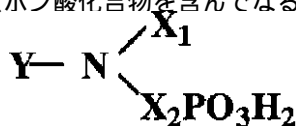
(式中、Yは -X<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>又は

【化2】



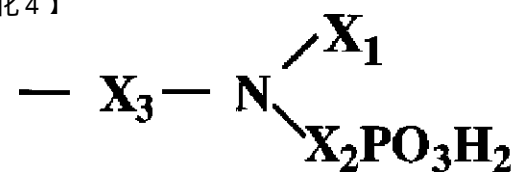
を示し、X<sub>1</sub>は水素原子又は -X<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>を示し、X<sub>2</sub> 及びX<sub>3</sub>は夫々独立して炭素数1~6の低級アルキレン基を示す。)で表される化合物又はその塩である、請求項1記載の方法。

【請求項6】アミノホスホン酸化合物を含んでなる、免\*



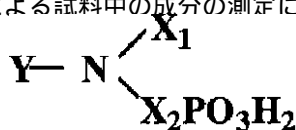
(式中、Yは -X<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>又は

【化4】



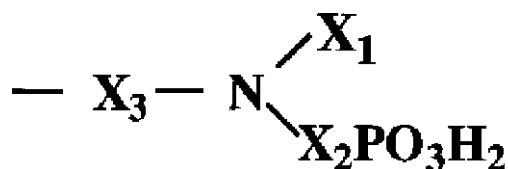
を示し、X<sub>1</sub>は水素原子又は -X<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>を示し、X<sub>2</sub> 及びX<sub>3</sub>は夫々独立して炭素数1~6の低級アルキレン基を示す。)で表される化合物又はその塩である、請求項6記載の抑制剤。

【請求項11】アミノホスホン酸化合物を用いることか  
らなる、免疫学的測定による試料中の成分の測定におけ



(式中、Yは -X<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>又は

【化6】



2

\*基及び/又は置換アミノ基を有するものである、請求項1記載の方法。

【請求項4】置換アミノ基が、アミノ基にホスホリルアルキル基が置換したものである、請求項3記載の方法。

【請求項5】アミノホスホン酸化合物が一般式【化1】

【1】

\*疫学的測定法に於ける非特異的濁り抑制剤。

【請求項7】免疫学的測定法が、抗原抗体反応に起因する濁度の変化又は散乱光強度の変化に基づいて行うものである、請求項6記載の抑制剤。

【請求項8】アミノホスホン酸化合物が分子中に、アミノ基及び/又は置換アミノ基を有するものである、請求項6記載の抑制剤。

【請求項9】置換アミノ基が、アミノ基にホスホリルアルキル基が置換したものである、請求項8記載の抑制剤。

【請求項10】アミノホスホン酸化合物が一般式【化3】

【1】

る非特異的濁り抑制方法。

30 【請求項12】免疫学的測定法が、抗原抗体反応に起因する濁度の変化又は散乱光強度の変化に基づいて行うものである、請求項11記載の抑制方法。

【請求項13】アミノホスホン酸化合物が分子中にアミノ基及び/又は置換アミノ基を有するものである、請求項11記載の抑制方法。

【請求項14】置換アミノ基が、アミノ基にホスホリルアルキル基が置換されたものである、請求項13記載の抑制方法。

【請求項15】アミノホスホン酸化合物が一般式【化5】

【1】

を示し、 $X_1$ は水素原子又は $-X_2PO_3H_2$ を示し、 $X_2$ 及び $X_3$ は夫々独立して炭素数1~6の低級アルキレン基を示す。)で表される化合物又はその塩である、請求項1記載の抑制方法。

【請求項16】アミノホスホン酸化合物が添加されていることを特徴とする、免疫学的測定用試液。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、例えば血清、血漿等の生体試料中の微量成分を自動分析装置を用いて測定する免疫学的測定法に於ける改良技術に関する。詳しくは、自動分析装置の構造上の何らかの要因により試薬中の蛋白成分が変性して生じる非特異的な濁りに起因する測定誤差を排除し、目的物質のみを迅速且つ高精度に定量し得る免疫学的測定法に関する。

【0002】

【発明の背景】近年、多数検体、多項目同時分析が可能な自動分析装置が普及し、抗原抗体反応に起因する濁度の変化を測定することにより目的成分の測定を行なう所謂免疫比濁法(TIA)や、抗原抗体反応に起因する散乱光強度の変化を測定することにより目的成分の測定を行なう所謂免疫比ろ法(NIA)等の免疫学的測定法による生体試料中の微量成分の測定を自動分析装置へ適用することが試みられている。

【0003】しかしながら、免疫学的測定法に於いては、自動分析装置を用いて連続的に測定を行なうと、自動分析装置の構造上の何らかの要因により測定用試液中の蛋白成分が変性して非特異的な濁りが生じ、その結果測定誤差が生じて測定対象の微量成分を高精度に測定することが妨げられるという問題点があり、このような問題点を回避し得る方法の開発が望まれている状況にある。

【0004】

【発明の目的】本発明は、上記した如き状況に鑑み成されたもので、自動分析装置を用いて測定を行なう生体試料中の微量成分の免疫学的測定法に於ける、測定用試液中の蛋白成分が自動分析装置の構造上の何らかの要因により変性して生じる、抗原抗体反応に起因しない非特異的な濁りを抑制或いは低減することにより、測定対象の微量成分を高精度に再現性よく、迅速且つ簡便に測定する方法及び試液を提供することをその目的とする。

【0005】

【発明の構成】本発明は、アミノホスホン酸化合物の存在下に、試料中の成分を免疫学的測定法により測定する方法の発明である。また、本発明はアミノホスホン酸化合物を含んでなる、免疫学的測定法に於ける非特異的な濁り抑制剤の発明である。更に、本発明はアミノホスホン酸化合物を用いることからなる、免疫学的測定による試料中の成分の測定における非特異的な濁り抑制方法の発明である。更にまた、本発明はアミノホスホン酸化合物が

添加されていることを特徴とする、免疫学的測定用試液の発明である。

【0006】即ち、本発明者らは、免疫学的測定法による測定を自動分析装置を用いて連続的に実施する際に生じる現象、即ち、測定用試液中の蛋白成分(例えば、抗体、アルブミン等)が、自動分析装置の試液分注系の構造上の問題(おそらく切替弁内に於ける何らかの要因)により変性されて非特異的な濁りを生じ、それに起因して測定誤差が生じるという現象を抑制或いは回避して、測定対象の微量成分を高精度に測定し得る方法を見出すべく鋭意研究を重ねた結果、免疫学的測定をアミノホスホン酸化合物の存在下に行うことにより、所期の目的が達せられることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0007】本発明に係るアミノホスホン酸化合物としては、分子中にホスホン酸基を少なくとも1つ有するアミノ化合物が挙げられる。また、該アミノホスホン酸化合物は、例えば分子中にアミノ基及び/又は置換アミノ基を有していても良い。分子中のホスホン酸基、アミノ基又は置換アミノ基の数は夫々1~4が好ましい。置換アミノ基の置換基としては、例えばホスホリルアルキル基、置換基を有していてもよいアルキル基、アルケニル基、アリール基、アラールキル基等が挙げられる。

【0008】ホスホリルアルキル基及び置換基を有していてもよいアルキル基のアルキル基としては、直鎖状、分枝状又は環状でもよく、通常炭素数1~6のものが挙げられ、具体的には、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、シクロプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、イソペンチル基、tert-ペンチル基、1-メチルペンチル基、シクロペンチル基、n-ヘキシル基、イソヘキシル基、シクロヘキシル基等が挙げられる。

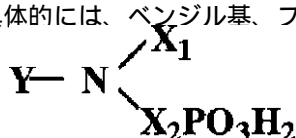
【0009】置換基を有していてもよいアルキル基の置換基としては、例えばフッ素、塩素、ヨウ素、ホウ素、臭素等のハロゲン原子、炭素数1~6のメトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、イソブトキシ基、tert-ブトキシ基、sec-ブトキシ基、n-ペンチルオキシ基、イソペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基、イソヘキシルオキシ基等のアルコキシ基(直鎖状又は分枝状の何れにても良い。)等が挙げられる。

【0010】アルケニル基としては、通常炭素数1~6のものが挙げられ、具体的には、例えばビニル基、アリール基、1-プロペニル基、イソプロペニル基、3-ブテニル基、2-ブテニル基、1-ブテニル基、1,3-ブタジエニル基、4-ペンテニル基、3-ペンテニル基、2-ペンテニル基、1-ペンテニル基、1,3-ペンタジエニル基、2,4-ペンタジエニル基、1,1-ジメチル-2-プロペニル基、1-エチル-2-プロペニル基、1,2-ジメチル-1-プロペニル基、1-メチル-1-ブテニル基、5-ヘキセニル基、4-ヘキセニル基、2-ヘキセニル基、1-ヘキセニル基、1-シクロプロペ

ニル基、2-シクロプロペニル基、2,4-シクロペンタンジエニル基、2-シクロヘキセニル基、1-シクロヘキセニル基、2-シクロヘキセニル基、3-シクロヘキセニル基等が挙げられる。

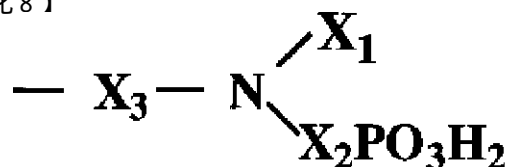
【0011】アリアル基としては、通常炭素数6～14のものが挙げられ、具体的には、例えばフェニル基、o-トリル基、m-トリル基、p-トリル基、2,3-キシリル基、2,4-キシリル基、2,5-キシリル基、2,6-キシリル基、3,5-キシリル基、ナフチル基、アントリル基等が挙げられる。

【0012】アラルキル基としては、通常炭素数7～12のものが挙げられ、具体的には、ベンジル基、フェネ\*



(式中、Yは - X<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> 又は

【化8】



を示し、X<sub>1</sub>は水素原子又は - X<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> を示し、X<sub>2</sub>及びX<sub>3</sub>は低級アルキレン基を示す)で表される化合物が好ましい。

【0016】一般式[1]に於いて、X<sub>2</sub>及びX<sub>3</sub>で示される低級アルキレン基は同じであっても異なっても良く、直鎖状でも分枝状でも或いは環状でもよく、通常炭素数1～6のものが挙げられ、具体的には、例えばメチレン基、エチレン基、メチルメチレン基、メチルエチレン基、エチルメチレン基、トリメチレン基、プロピレン基、テトラメチレン基、ブチレン基、2-メチルプロピレン基、ペンタメチレン基、ペンチレン基、2,2-ジメチルプロピレン基、2-エチルプロピレン基、ヘキサメチレン基、ヘキシレン基等が挙げられる。

【0017】上記一般式[I]で示されるアミノホスホン酸化合物の中でも、例えばエチレンジアミンテトラキスメチレンホスホン酸(EDTPO)、エチレンジアミンビスメチレンホスホン酸・1/2水(EDDPO)、ニトリロトリスメチレンホスホン酸三ナトリウム塩(NTPO)等が、自動分析装置の構造上の何らかの要因により蛋白成分が変性して生じる非特異的な濁りの測定値への影響を回避する効果が特に大きいという点で特に好ましい。尚、これらのアミノホスホン酸化合物は単独で用いても、適宜2種以上組み合わせ用いても良いことは言うまでもない。

【0018】本発明に係る免疫学的測定法としては、例えば抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法を行う場合、特に自動分析装置を用いて抗原抗体反応に起因する

\*チル基、フェニルプロピル基、フェニルブチル基、フェニルヘキシル基、メチルベンジル基、メチルフェネチル基、エチルベンジル基等が挙げられる。

【0013】また、上記アミノホスホン酸類は、例えばナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属、その他の金属等と塩を形成していても良い。

【0014】これらのアミノホスホン酸類の中でも、例えば下記一般式[1]

10 【0015】

【化7】

[1]

濁度の変化又は散乱光強度の変化に基づいて測定を行う場合であれば、何れの方法も挙げられる。実際には、免疫学的測定法による測定をアミノホスホン酸化合物の存在下に行う以外は、自体公知の免疫学的測定法の測定条件(例えば反応時間、測定波長等)や、測定操作法に準じて実施すればよい。また、測定時に使用するその他の試薬や自動分析装置等も通常この分野で使用されているものが何れも使用し得る。

【0019】本発明に係る免疫学的測定法をアミノホスホン酸化合物の存在下に行う方法としては、アミノホスホン酸化合物を、該測定試液中に添加、溶解する方法が最も簡便であるが、最終的に反応時に共存させることができればこの方法に限定されるものではない。

【0020】本発明に係る非特異的濁り抑制剤としては、本発明に係るアミノホスホン酸化合物を主成分として含有しており、抗原抗体反応等の、免疫学的測定方法による測定を阻害するような成分を含んでいなければ特に限定されない。

【0021】本発明に係る非特異的濁り抑制方法としては、本発明に係るアミノホスホン酸化合物を免疫学的測定試液中に添加、溶解する方法が最も簡便であるが、最終的に反応時に該化合物を共存させることのできる方法であればこの方法に限定されるものではない。

【0022】本発明で用いられる免疫学的測定用試液において、本発明に係るアミノホスホン酸化合物の濃度としては、使用する化合物の種類により若干変動するが、該測定試液中の濃度として通常0.01～100mM、好ましくは0.1～10mMの範囲となるように適宜選択される。

【0023】本発明で用いられる免疫学的測定用試液には、例えばトリス緩衝剤、リン酸緩衝剤、ペロナル緩衝剤、ホウ酸緩衝剤、グッド緩衝剤等通常免疫学的測定法に於いて用いられている緩衝剤が添加されていてもよく、また、該試液の測定反応時のpHとしては抗原抗体

反応を抑制しない範囲であれば特に限定されないが、通常6～10、好ましくは7～9の範囲から適宜選択される。

【0024】尚、本発明で用いられる免疫学的測定用試液には、通常この分野で用いられる界面活性剤が通常この分野で用いられる濃度範囲で共存していてもよい。このような界面活性剤共存下であっても、本発明の方法によれば、測定用試液中の蛋白成分が自動分析装置の構造上の何らかの要因により変性されるのを(非特異的濁りを生じさせるのを)、抑制或いは低減することができる。

【0025】また、本発明で用いられる免疫学的測定用試液中には、反応促進剤(凝集反応促進剤)(例えばポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール等)が通常この分野で用いられる濃度範囲で共存していてもよく、これら反応促進剤共存下であっても本発明の方法によれば、測定用試液中の蛋白成分が、自動分析装置の構造上の何らかの要因により変性されて非特異的濁りとなることを、抑制或いは低減することができる。

【0026】本発明の測定方法により測定可能な生体試料中の微量成分としては、通常免疫学的測定法で測定可能なものであれば何れにてもよく特に限定されないが、例えばC反応性蛋白質(CRP)、免疫グロブリンG(IgG)、免疫グロブリンA(IgA)、免疫グロブリンM(IgM)、ASO(抗ストレプトリジンO)、アルブミン、尿中微量アルブミン、補体C3、補体C4、RF、リポ蛋白、トランスフェリン、ハプトグロブリン、 $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)等が挙げられる。

【0027】本発明の免疫学的測定用試液は、上記した如き本発明の測定法を実施するために用いられるものであり、その構成要素の好ましい態様、具体例は上で述べた通りである。以下に実施例を挙げて、本発明を更に詳細に述べるが、本発明はこれら実施例により何ら制約を受けるものではない。

#### 【0028】

【実施例】実施例1. アミノホスホン酸化合物の効果の確認

##### (1)被検試料及び検量線作成用試料

被検試料としてプール血清(CRP濃度:2mg/dl)を用いた。また、生理食塩液(0.85w/v% NaCl、CRP濃度:0mg/dl)及びCRPキャリブレーター(CRP表示値5.0mg/dl、和光純薬工業(株)製)を、CRP濃度が0及び5.0mg/dlの2点検量線作成用試料として用いた。

##### (2)測定用試液

###### 第1試液

2.5w/v% ポリエチレングリコール6,000、0.1w/v%  $\text{NaN}_3$ 、及び1.0w/v% NaClを含む50mM HEPPSO-NaOH緩衝液(pH8.2)を第1試液とした。

###### 【0029】 第2試液

抗ヒCRP抗血清(ヤシ, 和光純薬工業(株)製)3.0mgAb/ml、

0.85w/v% NaCl、0.3w/v%  $\text{NaN}_3$ 及び、アミノホスホン酸化合物としてEDTPO、EDDPO及びNTPPO(何れも(株)同仁化学研究所製)の何れかを0.1mM含む50mM HEPPSO-NaOH緩衝液(pH8.2)を第2試液とした。

##### 【0030】(3)免疫比濁法によるCRP値測定

###### (測定操作)

日立自動分析装置7250形(検体処理能力:1測定項目の場合で、600検体/時間)を用いて、以下のように測定を行なった。被検試料10 $\mu$ lと第1試液250 $\mu$ lとを混合し、37 $^{\circ}$ Cで4分間加温した後、主波長340nm、副波長700nmに於ける吸光度(吸光度Aとする)を測定した。更に、これに第2試液50 $\mu$ lを分注し、37 $^{\circ}$ Cで5分間反応させた後、主波長340nm、副波長700nmに於ける吸光度(吸光度Bとする)を測定し、得られた吸光度A及びBを下記式に当てはめて、吸光度変化値を求めた。

吸光度変化値 = (吸光度B) - (260/310) × (吸光度A)

尚、測定操作を連続して30回行なった後、該日立自動分析装置での測定を、被検試料並びに測定用試液をセットしたまま1時間中断した。中断後さらに、同じ被検試料並びに測定用試液を用いて、上記と同様の操作にて連続して70回測定を行なった。また、被検試料の代わりに検量線作成用試料を用いた以外は上記と同じ試液を用い、上記と同様の測定操作を行い、CRP濃度が0及び5.0mg/dlのときの吸光度変化を求め、これらの値に基づいて吸光度変化値とCRP濃度との関係を表す検量線を作製した。これに被検試料を連続して得られた吸光度変化値をあてはめて、各測定におけるCRP濃度を算出した。

##### 【0031】(結果)結果を図1に示す。尚、図1に於いて、

はアミノホスホン酸無添加の第2試液を用いた結果を、はEDTPO、はEDDPO、はNTPPOをそれぞれ添加した第2試液を用いた結果を夫々示す。図1から明らかなように、アミノホスホン酸無添加の第2試液を用いた場合には、160～180検体あたりでCRPの測定値が次第に大きくなり急上昇してピークに達した後、徐々に下降するという現象が見られる(測定誤差が山型に増減している)ことが判る。言い換えれば、この時点で、検体を測定する際に、非特異的濁りが発生することが判る。これに対して、本発明に係るアミノホスホン酸を添加することにより、このような現象を回避できることが判る。即ち、本発明に係るアミノホスホン酸化合物の存在下に測定を行うと、自動分析装置の構造上の何らかの要因に由来する非特異的濁りによる測定への影響を低減させることができ、しかも再現性の良い測定結果を得ることが出来ることが判る。

##### 【0032】実施例2. 有効濃度の検討

###### (1)被検試料及び検量線作成用試料

実施例1の(1)と同じ。

###### (2)測定用試液

###### 第1試液

実施例1と同じ。

第2試液

抗ヒCRP抗血清(ヤギ, 和光純薬工業(株)製)3.0mgAb/ml、0.85w/v% NaCl、0.3w/v%Na<sub>3</sub>及びEDTPOを所定濃度含む50mM HEPPSO-NaOH緩衝液(pH8.2)を第2試液とした。

(3)免疫比濁法によるCRP値測定

(測定操作) 実施例1の(3)と同様の操作によりCRP値を求めた。

(結果) 結果を表1に示す。尚、表1中の抑制効果について、非特異的濁りを完全に抑制した場合を、抑制の効果があつた場合を、全く効果がなかつた場合を×とした。

表 1

アミノホスホン酸化合物	濃度	pH	効果
EDTPO	無添加	pH8.2	×
	0.01mM	pH8.2	△
	0.1mM	pH8.2	○
	1.0mM	pH8.2	○
	10.0mM	pH8.2	○

表1の結果から明らかな如く、添加するEDTPOの濃度について、0.01mM以上で非特異的濁りを抑制する効果が認められ、好ましくは0.1~10mMの範囲であった。

【0033】実施例3. 測定時の緩衝剤及びpHによる\*

アミノホスホン酸化合物	濃度	緩衝剤	pH	効果
EDTPO	無添加	MPOS	pH6.0	×
	0.1mM			○
	無添加	MOPS	pH7.0	×
	0.1mM			○
	無添加	MOPS	pH8.0	×
	0.1mM			○
	無添加	CHES	pH8.0	×
	0.1mM			○
	無添加	CHES	pH9.0	×
	0.1mM			○
	無添加	CHES	pH10.0	×
	0.1mM			○

その結果、表2より明らかな如く、アミノホスホン酸化合物の抑制効果は、用いる緩衝剤の種類及びpHに影響を受けなかつた。

【0035】実施例4. C4の測定

\*影響の検討

(1)被検試料及び検量線作成用試料

実施例1の(1)と同じ。

(2)測定用試液

第1試液

2.5w/v%ポリエチレングリコール6,000、0.1w/v% Na<sub>3</sub>N<sub>3</sub>、及び1.0w/v% NaClを含む50mM MOPS-NaOH緩衝液をpH6.0、7.0、8.0に夫々調製したもの、及び50mMCHES-NaOH緩衝液をpH8.0、9.0、10.0に夫々調製したものを第1試液とした。

第2試液

抗ヒCRP抗血清(ヤギ, 和光純薬工業(株)製)3.0mgAb/ml、0.85w/v% NaCl、0.3w/v%Na<sub>3</sub>及び0.1mM EDTPOを含む50mM MOPS-NaOH緩衝液をpH6.0、7.0、8.0に夫々調製したもの、及び抗ヒCRP抗血清(ヤギ, 和光純薬工業(株)製)3.0mgAb/ml、0.85w/v% NaCl、0.3w/v%Na<sub>3</sub>及び0.1mM EDTPOを含む50mM CHES-NaOH緩衝液をpH8.0、9.0、10.0に夫々調製したものを第2試液とした。第1試液と第2試液は、同一緩衝剤種と同じpHの試液を組み合わせた。

(3)免疫比濁法によるCRP値測定

(測定操作) 実施例1の(3)と同様の操作によりCRP値を求めた。

(結果) 結果を表2に示す。尚、表2中の抑制効果について、非特異的濁りを完全に抑制した場合を、抑制の効果があつた場合を、全く効果がなかつた場合を×とした。

【0034】表 2

(1)被検試料及び検量線作成用試料

被検試料としてプール血清を用いた。また、生理食塩液(0.85w/v% NaCl、C4濃度:0mg/dl)及び「C3・C4管理血清」(C4表示値24.6mg/dl, 和光純薬工業(株)製)

を、C4濃度が0及び24.6mg/dlの2点検量線作成用試料として用いた。

(2)測定用試液

第1試液

3.0w/v%ポリエチレングリコール6,000、0.1w/v% Na<sub>3</sub>N<sub>3</sub>、及び2.0w/v% NaClを含む50mM HEPPSO-NaOH緩衝液(pH8.2)を第1試液とした。

第2試液

抗tC4抗血清(ヤキ, 和光純薬工業(株)製)2.5mgAb/ml、0.85w/v% NaCl、0.3w/v%NaN<sub>3</sub>及びアミノホスホン酸化合物としてEDTPO、EDDPO、NTPOの何れかを0.1mM含む50mM HEPPSO-NaOH緩衝液(pH8.2)を第2試液とした。

(3)免疫比濁法によるC4値測定

(測定操作) 実施例1の(3)と同様の操作によりC4値を求めた。ただし、被検試料を4μl、第1試薬を300μlと第2試薬を60μlを混合して測定した。

(結果) 結果を図2に示す。尚、図2に於いて、はアミノホスホン酸無添加の第2試液を用いた結果を、はEDTPO、はEDDPO、はNTPOをそれぞれ添加した第2試液を用いた結果を夫々示す。図2の結果から、C4測定に於いても、試液にアミノホスホン酸化合物を添加されることにより、非特異的濁りによる測定への影響を抑制することが出来ることが判る。

【0036】

\*【発明の効果】以上述べたことから明らかな如く、本発明は、自動分析装置を用いて測定を行なう生体試料中の微量成分の免疫学的測定法に於いて、測定対象成分を高精度に再現性よく、迅速且つ簡便に測定することができる方法を提供するものであり、本発明を利用することにより、免疫学的測定用試液中の蛋白成分が自動分析装置の構造上の何らかの要因により変性して生じる、抗原抗体反応に起因しない非特異的濁りによる測定値への影響を抑制或いは低減することができるので目的の測定をより高精度に実施し得る、という効果を奏するものであり、斯業に貢献するところ極めて大なる発明である。

【0037】

【図面の簡単な説明】

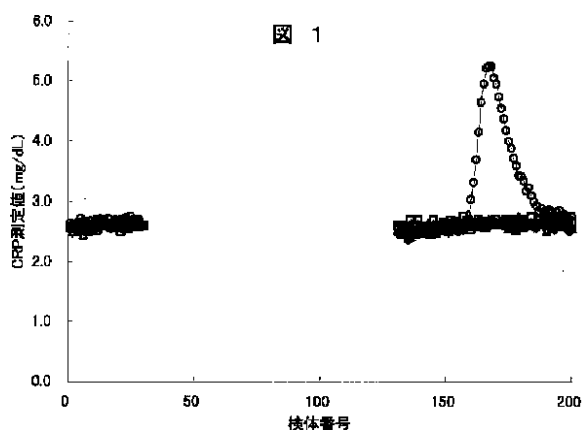
【図1】 実施例1に於ける測定結果を示す。

【図2】 実施例4に於ける測定結果を示す。

【符号の説明】

図1に於いて、はアミノホスホン酸無添加の第2試液を用いた結果を、はEDTPOを添加した第2試液を用いた結果を、はEDDPOを添加した第2試液を用いた結果を、はNTPOを添加した第2試液を用いた結果を夫々示す。図2に於いて、はアミノホスホン酸無添加の第2試液を用いた結果を、はEDTPOを添加した第2試液を用いた結果を、はEDDPOを添加した第2試液を用いた結果を、はNTPOを添加した第2試液を用いた結果を夫々示す。

【図1】



【図2】

