

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-187646
(P2007-187646A)

(43) 公開日 平成19年7月26日(2007.7.26)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N 33/53	S	
GO 1 N 33/577	(2006.01)	GO 1 N 33/577	B	

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (全 20 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2006-50872 (P2006-50872)</p> <p>(22) 出願日 平成18年2月27日 (2006.2.27)</p> <p>(31) 優先権主張番号 特願2005-362485 (P2005-362485)</p> <p>(32) 優先日 平成17年12月15日 (2005.12.15)</p> <p>(33) 優先権主張国 日本国 (JP)</p> <p>特許法第30条第1項適用申請有り 2005年6月15日 日本環境化学会主催の「第14回討論会」において文書をもって発表</p>	<p>(71) 出願人 000173809 財団法人電力中央研究所 東京都千代田区大手町1丁目6番1号</p> <p>(74) 代理人 100107515 弁理士 廣田 浩一</p> <p>(74) 代理人 100107733 弁理士 流 良広</p> <p>(74) 代理人 100115347 弁理士 松田 奈緒子</p> <p>(72) 発明者 大村 直也 千葉県我孫子市我孫子1646 財団法人電力中央研究所 環境科学研究所内</p> <p>(72) 発明者 佐々木 和裕 千葉県我孫子市我孫子1646 財団法人電力中央研究所 環境科学研究所内</p>
---	--

(54) 【発明の名称】 PCBの免疫学的定量方法

(57) 【要約】

【課題】多数の異性体や同族体を含む被検物質、特にPCBを、免疫学的測定法を用い、簡便に、かつ最小限の誤差で高感度に定量可能な方法、該定量方法に用いられる抗体を提供する。

【解決手段】PCBの一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示す抗PCBモノクローナル抗体を2種以上用い、

前記2種以上の抗PCBモノクローナル抗体を混合し、PCBを含む試料中に導入した後、該試料を、担体に固定させた抗体検出用物質と接触させ、

前記抗体検出用物質と結合した前記抗PCBモノクローナル抗体量を測定し、該抗PCBモノクローナル抗体量から、前記試料中のPCBの量を求めることを特徴とするPCBの免疫学的定量方法である。また、被検物質の一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示すモノクローナル抗体を2種以上含むことを特徴とする免疫学的定量用抗体である。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

複数の同族体を含む被検物質の一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示すモノクローナル抗体を 2 種以上用い、

該 2 種以上のモノクローナル抗体を混合して前記被検物質を含む試料中に導入した後、該試料を、担体に固定させた抗体検出用物質と接触させ、

前記抗体検出用物質と結合した前記モノクローナル抗体量を測定し、該モノクローナル抗体量から、前記試料中の前記被検物質の量を求めることを特徴とする被検物質の免疫学的定量方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の免疫学的定量方法により、

P C B の一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示す抗 P C B モノクローナル抗体を 2 種以上用い、

前記 2 種以上の抗 P C B モノクローナル抗体を混合し、P C B を含む試料中に導入した後、該試料を、担体に固定させた抗体検出用物質と接触させ、

前記抗体検出用物質と結合した前記抗 P C B モノクローナル抗体量を測定し、該抗 P C B モノクローナル抗体量から、前記試料中の P C B の量を求めることを特徴とする P C B の免疫学的定量方法。

【請求項 3】

抗 P C B モノクローナル抗体として、塩素数 3 の P C B に特異的反応性を示し、かつ塩素数が 4 以上の P C B との交差反応性が 50 % 未満である抗 P C B モノクローナル抗体を少なくとも用いる請求項 2 に記載の P C B の免疫学的定量方法。

【請求項 4】

塩素数 3 の P C B に対する親和性を A、塩素数 4 の P C B に対する親和性を B、塩素数 5 の P C B に対する親和性を C、及び塩素数 6 の P C B に対する親和性を D としたとき、 $A < B < C < D$ の関係を満たす抗 P C B モノクローナル抗体と、 $D < C < B < A$ の関係を満たす抗 P C B モノクローナル抗体とを用いる請求項 2 から 3 のいずれかに記載の P C B の免疫学的定量方法。

【請求項 5】

抗 P C B モノクローナル抗体が標識物質により標識された抗体であり、抗体検出用物質と結合した前記抗 P C B モノクローナル抗体量を、前記標識物質に由来する信号の強度から測定する請求項 2 から 4 のいずれかに記載の P C B の免疫学的定量方法。

【請求項 6】

抗体検出用物質に結合した抗 P C B モノクローナル抗体を無標識の一次抗体とし、前記一次抗体に特異的に結合する標識物質により標識された抗体を二次抗体として用い、前記抗体検出用物質と結合した前記抗 P C B モノクローナル抗体量を、前記二次抗体の標識物質に由来する信号の強度から測定する請求項 2 から 4 のいずれかに記載の P C B の免疫学的定量方法。

【請求項 7】

2 種以上の抗 P C B モノクローナル抗体を、標識物質に由来する信号の強度が略同一となる濃度でそれぞれ配合し、試料に導入する請求項 5 から 6 のいずれかに記載の P C B の免疫学的定量方法。

【請求項 8】

抗体検出用物質を固定した担体を備え、かつ通液可能な検出容器に、抗 P C B モノクローナル抗体を添加した試料を導入し、

前記担体に固定された前記抗体検出用物質と結合した前記抗 P C B モノクローナル抗体量を測定する請求項 2 から 7 のいずれかに記載の P C B の免疫学的定量方法。

【請求項 9】

被検物質の一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示すモノクローナル抗体を 2 種以上含むことを特徴とする免疫学的定量用抗体。

10

20

30

40

50

【請求項 10】

塩素数 3 の PCB に対する親和性を A、塩素数 4 の PCB に対する親和性を B、塩素数 5 の PCB に対する親和性を C、及び塩素数 6 の PCB に対する親和性を D としたとき、 $A < B < C < D$ の関係を満たす抗 PCB モノクローナル抗体と、 $D < C < B < A$ の関係を満たす抗 PCB モノクローナル抗体とを少なくとも含む請求項 9 に記載の免疫学的定量用抗体。

【請求項 11】

請求項 9 から 10 のいずれかに記載の免疫学的定量用抗体と、抗体検出用抗原が固定された担体とを少なくとも含むことを特徴とする免疫学的定量用キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、複数の同族体を含む被検物質の免疫学的定量方法に関し、特に複数の抗 PCB モノクローナル抗体からなる免疫学的定量用抗体を用いた PCB の免疫学的定量方法に関する。

【背景技術】

【0002】

PCB (ポリ塩化ビフェニル) は、安定性や絶縁性の高さから、変圧器及びコンデンサー等の電気絶縁材、並びに熱媒体などとして広く使用されてきたが、人体や環境への有害性が確認されたことから製造や使用が禁止された。PCB は、難分解性で環境中に残留し、食物連鎖を通じて生物に蓄積され、人の健康や生態系に影響を及ぼす性質を有する残留性有機汚染物質の代表的な化学物質として規制されており、PCB を含む廃棄物は、適正に処理されるまで、生活環境の保全上支障のないように保管することが義務づけられている。

しかし、適正処理が行われずに保管されていた PCB 廃棄物は、保管の長期化により、紛失や漏洩の発生が問題視され、平成 13 年に「ポリ塩化ビフェニル廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法」(PCB 特措法) が施行された。この PCB 特措法により、15 年以内に全ての PCB 廃棄物の適正処理が義務付けられた。

【0003】

例えば、絶縁油の場合、保管されている絶縁油以外にも、過去において PCB を絶縁油として使用していた変圧器において置換された代替絶縁油も、前記変圧器内に微量に残留した PCB に汚染されていることが知られており、このような変圧器中代替絶縁油も含め、大量の廃棄物中の PCB 濃度を検査し、迅速に処理の必要性の有無を明確にする必要がある。また、処理を行った PCB 廃棄物に対し、処理後の PCB 残留濃度、環境中の PCB 濃度を検査することも極めて重要である。

【0004】

従来 of PCB 分析方法としては、例えば、公定法として、高分解能ガスクロマトグラフ - 高分解能質量分析 (HRGC - HRMS) や、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ法 (GC - ECD 法) が用いられている (非特許文献 1 参照)。これらの方法は分解能が高く、また定量下限も低いのが、分析に要する時間が長く、分析の妨害となる夾雑成分を除去する試料の操作が煩雑であり、コスト負担が大きいという問題がある。このため、簡便かつ迅速な分析方法で、測定現場で簡易に測定可能な方法が求められていた。

【0005】

これに対し、簡便かつ迅速な分析方法として、抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法 (イムノアッセイ) が提案されている。前記免疫学的測定法としては、例えば、ラジオイムノアッセイ (RIA)、蛍光イムノアッセイ (FIA)、エンザイムイムノアッセイ (EIA、ELISA) 等が挙げられる。

これらの測定方法においては、測定対象となる物質 (抗原) の種類及びその測定範囲は、使用する抗体の該抗原に対する親和性に依存するため、抗体の選択が重要となる。一方、このような免疫学的測定法では、化学構造の類似した抗原 (例えば、異性体や同族体)

10

20

30

40

50

が多数混合されて含まれている試料の測定においては、該試料中の抗原含有量の正確な定量が困難であるという問題がある。

【0006】

特に、PCBは、209個の異性体と10個の同族体が存在し、しかも上述の分析対象となっている廃棄物中に含まれるPCBの組成（例えば、工業製品であるカネクロールの含有比率）も一定ではないため、単一のモノクローナル抗体を用いて該抗体にのみ反応性を有する抗原を検出し測定を行う方法では、正確な定量ができない。

【0007】

このような問題に対し、PCBと同様に多数の異性体が存在するダイオキシン類の定量方法として、ポリクローナル抗体を用いる方法が提案されている（特許文献1参照）。しかし、遺伝的に均一なポリクローナル抗体を、動物を用いて大量に再現性よく作製することは実質的に困難である。

したがって、多数の異性体や同族体を含む被検物質、特に、未知の組成のPCBを、抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法を用い、簡便に、かつ最小限の誤差で高感度に定量可能な方法、該定量方法に用いられる抗体は、未だ満足なものが提供されておらず、改良が求められているのが現状である。

【0008】

【特許文献1】特開2003-098173号公報

【非特許文献1】「絶縁油中のポリ塩素化ビフェニル（PCB）の分析方法規定」（電気技術基準調査委員会編集、社団法人日本電気協会発行、平成3年9月30日発行）

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明は従来における前記問題を解決し、以下の目的を達成することを課題とする。即ち、本発明は、多数の異性体や同族体を含む被検物質、特に未知の組成のPCBを、抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法を用い、簡便に、かつ最小限の誤差で高感度に定量可能な方法、及び該定量方法に用いられる抗体を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

前記課題を解決するため、本発明者らが鋭意検討を重ねた結果、PCBの同族体に対する親和性が、塩素数との関係において反対の傾向を示す抗PCBモノクローナル抗体、すなわち、塩素数が大きい同族体が高い親和性を示すモノクローナル抗体と、塩素数が小さい同族体が高い親和性を示すモノクローナル抗体とを混合して使用することにより、組成が未知のPCBを、最小の誤差で効率よく定量できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0011】

本発明は、本発明者による前記知見に基づくものであり、前記課題を解決するための手段としては、以下の通りである。即ち、

<1> 複数の同族体を含む被検物質の一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示すモノクローナル抗体を2種以上用い、

該2種以上のモノクローナル抗体を混合して前記被検物質を含む試料中に導入した後、該試料を、担体に固定させた抗体検出用物質と接触させ、

前記抗体検出用物質と結合した前記モノクローナル抗体量を測定し、該モノクローナル抗体量から、前記試料中の前記被検物質の量を求めることを特徴とする被検物質の免疫学的定量方法である。

<2> モノクローナル抗体が標識物質により標識された抗体であり、抗体検出用物質と結合した前記モノクローナル抗体量を、前記標識物質に由来する信号の強度から測定する前記<1>に記載の被検物質の免疫学的定量方法である。

<3> モノクローナル抗体を無標識の一次抗体とし、該モノクローナル抗体に特異的に結合する標識物質により標識された抗体を二次抗体として用い、前記抗体検出用物質と

10

20

30

40

50

結合した前記モノクローナル抗体量を、前記二次抗体の標識物質に由来する信号の強度から測定する前記< 1 >に記載の被検物質の免疫学的定量方法である。

< 4 > 2種以上のモノクローナル抗体を、標識物質に由来する信号の強度が略同一となる濃度でそれぞれ配合し、試料に導入する前記< 1 >から< 3 >のいずれかに記載の免疫学的定量方法である。

【0012】

< 5 > 前記< 1 >から< 4 >のいずれかに記載の免疫学的定量方法により、PCBの同一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示す抗PCBモノクローナル抗体を2種以上用い、

前記2種以上の抗PCBモノクローナル抗体を混合し、PCBを含む試料中に導入した後、該試料を、担体に固定させた抗体検出用物質と接触させ、

前記抗体検出用物質と結合した前記抗PCBモノクローナル抗体量を測定し、該抗PCBモノクローナル抗体量から、前記試料中のPCBの量を求めることを特徴とするPCBの免疫学的定量方法である。

< 6 > 抗PCBモノクローナル抗体として、塩素数3のPCBに特異的反応性を示し、かつ塩素数が4以上のPCBとの交差反応性が50%未満である抗PCBモノクローナル抗体を少なくとも用いる前記< 5 >に記載のPCBの免疫学的定量方法である。

< 7 > 受託番号FERM P - 20547のハイブリドーマ、及び受託番号FERM P - 20744のハイブリドーマのいずれかから産生された抗PCBモノクローナル抗体を少なくとも用いる前記< 6 >に記載のPCBの免疫学的定量方法である。

< 8 > 塩素数3のPCBに対する親和性をA、塩素数4のPCBに対する親和性をB、塩素数5のPCBに対する親和性をC、及び塩素数6のPCBに対する親和性をDとしたとき、 $A < B < C < D$ の関係を満たす抗PCBモノクローナル抗体と、 $D < C < B < A$ の関係を満たす抗PCBモノクローナル抗体とを用いる前記< 5 >から< 7 >のいずれかに記載のPCBの免疫学的定量方法である。

< 9 > 抗PCBモノクローナル抗体が標識物質により標識された抗体であり、抗体検出用物質と結合した前記抗PCBモノクローナル抗体量を、前記標識物質に由来する信号の強度から測定する前記< 5 >から< 8 >のいずれかに記載のPCBの免疫学的定量方法である。

< 10 > 抗体検出用物質に結合した抗PCBモノクローナル抗体を無標識の一次抗体とし、前記一次抗体に特異的に結合する標識物質により標識された抗体を二次抗体として用い、前記抗体検出用物質と結合した前記抗PCBモノクローナル抗体量を、前記二次抗体の標識物質に由来する信号の強度から測定する前記< 5 >から< 8 >のいずれかに記載のPCBの免疫学的定量方法である。

< 11 > 2種以上の抗PCBモノクローナル抗体を、標識物質に由来する信号の強度が略同一となる濃度でそれぞれ配合し、試料に導入する前記< 9 >から< 10 >のいずれかに記載のPCBの免疫学的定量方法である。

< 12 > 抗体検出用物質を固定した担体を備え、かつ通液可能な検出容器に、抗PCBモノクローナル抗体を添加した試料を導入し、

前記担体に固定された前記抗体検出用物質と結合した前記抗PCBモノクローナル抗体量を測定する前記< 5 >から< 11 >のいずれかに記載のPCBの免疫学的定量方法である。

【0013】

< 13 > 被検物質の同一の同族体に特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示すモノクローナル抗体を2種以上含むことを特徴とする免疫学的定量用抗体である。

< 14 > 塩素数3のPCBに対する親和性をA、塩素数4のPCBに対する親和性をB、塩素数5のPCBに対する親和性をC、及び塩素数6のPCBに対する親和性をDとしたとき、 $A < B < C < D$ の関係を満たす抗PCBモノクローナル抗体と、 $D < C < B < A$ の関係を満たす抗PCBモノクローナル抗体とを少なくとも含む前記< 13 >に記載の

10

20

30

40

50

免疫学的定量用抗体である。

【0014】

<15> 前記<13>から<14>のいずれかに記載の免疫学的定量用抗体と、抗体検出用抗原が固定された担体とを少なくとも含むことを特徴とする免疫学的定量用キットである。

【発明の効果】

【0015】

本発明によると、多数の異性体や同族体を含む被検物質、特に未知の組成のPCBを、抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法を用い、簡便に、かつ最小限の誤差で高感度に定量することができる。

10

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

(被検物質の免疫学的定量方法)

本発明の被検物質の免疫学的定量方法は、複数の同族体を含む被検物質の一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示すモノクローナル抗体を2種以上用い、該2種以上のモノクローナル抗体を混合して前記被検物質を含む試料中に導入した後、該試料を、担体に固定させた抗体検出用物質と接触させ、前記抗体検出用物質と結合した前記モノクローナル抗体量を測定し、該モノクローナル抗体量から、前記試料中の前記被検物質の量を求める方法である。

【0017】

20

本発明の免疫学的定量方法は、抗原抗体反応を利用するものであり、具体的には、被検物質である抗原を含有する試料に、該抗原に親和性を有する抗体を接触させ、抗原抗体反応を起こさせた後、前記抗原に結合しなかった抗体を、前記担体に固定させた前記抗体検出用物質で捕捉し、捕捉された前記抗体の量を蛍光標識によって測定し、前記試料中に被検物質を含まない場合(ブランク)における蛍光強度と、前記捕捉された抗体の蛍光強度との蛍光強度差から、試料中の抗原の存在を検出する方法である。

【0018】

本発明の免疫学的定量方法において、前記被検物質としては、複数の同族体を含む限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、PCB、ダイオキシン、ポリ塩化フェノール、類似の構造を持つ農薬(ピレスロイド系殺虫剤、ジチオカーバメイト系殺菌剤など)、EDTA錯体、DTPA錯体等が挙げられる。

30

【0019】

本発明の免疫学的定量用抗体は、前記被検物質の一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示すモノクローナル抗体を2種以上含む。

なお、前記免疫学的定量用抗体としては、他の抗体と組み合わせられたことによって、その抗体の抗原に対する親和性が変化しないことが必要であり、組合せた2種以上の抗体同士が干渉することなく、独立して同時に反応が起こるものが好ましい。

以下、前記被検物質がPCBである場合、すなわちPCBの免疫学的定量方法の説明を通じ、本発明の免疫学的定量方法、及び本発明の免疫学的定量用抗体を明らかにする。

【0020】

40

<PCBの免疫学的定量方法>

前記PCBの免疫学的定量方法は、PCBの一の同族体に対して特異的反応性を示し、かつ他の同族体に対して少なくとも交差反応性を示す抗PCBモノクローナル抗体を2種以上用いる方法であり、前記2種以上の抗PCBモノクローナル抗体を混合してなる前記免疫学的定量用抗体を、PCBを含む試料中に導入した後、該試料を、担体に固定させた抗体検出用物質と接触させ、前記抗体検出用物質と結合した前記抗PCBモノクローナル抗体量を測定し、該抗PCBモノクローナル抗体量から、前記試料中のPCBの量を求める方法である。

【0021】

<<抗PCBモノクローナル抗体>>

50

前記 PCB の免疫学的定量方法において用いられる前記免疫学的定量用抗体を構成する抗 PCB モノクローナル抗体としては、PCB の一の同属体に特異的反応性を示し、かつ他の同属体に対して少なくとも交差反応性を示すものであれば、特に制限はなく、適宜作製したものであってもよく、市販品であってもよい。

【0022】

前記 PCB の免疫学的定量方法において用いられる前記免疫学的定量用抗体を構成する2種以上の抗 PCB モノクローナル抗体のうち、少なくとも1種が、塩素数3の PCB に特異的反応性を示し、かつ塩素数が4以上の PCB との交差反応性が50%未満である抗 PCB モノクローナル抗体であることが好ましい。

【0023】

また、前記 PCB の免疫学的定量方法において用いられる前記免疫学的定量用抗体を構成する2種以上の抗 PCB モノクローナル抗体として、塩素数3の PCB に対する親和性を A、塩素数4の PCB に対する親和性を B、塩素数5の PCB に対する親和性を C、及び塩素数6の PCB に対する親和性を D としたとき、 $A < B < C < D$ の関係を満たす抗 PCB モノクローナル抗体と、 $D < C < B < A$ の関係を満たす抗 PCB モノクローナル抗体とを用いることがより好ましい。

【0024】

ここで、PCB は、単独では抗原性を持たないため、PCB を認識する抗体を作製する場合には、例えば、ハプテンとしての PCB が免疫原性を有するタンパク質に連結される複合体を免疫原として用いることが好ましい。

前記抗 PCB モノクローナル抗体は、例えば、前記複合体を用いてマウス等の動物を免疫し、免疫した前記動物の脾臓細胞を回収し、該脾臓細胞とミエローム細胞とを融合して得たハイブリドーマを培養して作製することができる。

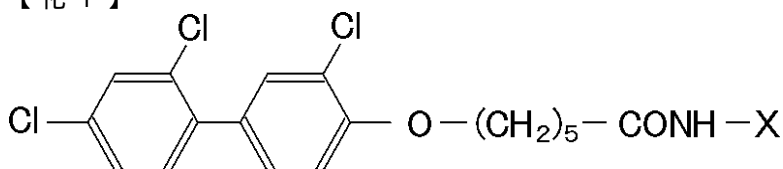
【0025】

また、樹立された抗 PCB モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを培養して前記抗 PCB モノクローナル抗体を調製してもよい。前記ハイブリドーマとしては、PCB を認識する本発明の抗 PCB モノクローナル抗体を産生する限り、特に限定されないが、例えば、塩素数3の PCB に特異的反応性を示し、かつ塩素数が4以上の PCB との交差反応性が50%未満である抗 PCB モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマとしては、例えば、受託番号 FERM P - 20547 として独立行政法人産業技術総合研究所

特許生物寄託センターに寄託されているハイブリドーマ Sz k 2 E 4 株、及び下記構造式で表される化合物を用いて調製された、受託番号 FERM P - 20744 として独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託されているハイブリドーマ S k 3 A 1 1 株が好ましく、前記 S k 3 A 1 1 株が特に好ましい。

【0026】

【化1】



ただし、前記構造式中、X はタンパク質を表す。

【0027】

前記抗 PCB モノクローナル抗体は、それ自体が前記標識物質により標識された抗体であってもよい。

前記抗 PCB モノクローナル抗体の標識物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ペルオキシダーゼ、ビオチン、金コロイド、蛍光物質 (FITC、Cy 3、Cy 5、FITC、Dy Light 547、Dy Light 647 等) などが挙げられる。

前記標識物質で前記抗 PCB モノクローナル抗体を標識する方法としては、特に制限は

10

20

30

40

50

なく、公知の方法から適宜選択することができる。

【0028】

また、前記抗PCBモノクローナル抗体が無標識である場合には、前記抗PCBモノクローナル抗体を一次抗体として、該一次抗体に特異的に結合する前記標識物質により標識された抗体を二次抗体として用いてもよい。該二次抗体は、適宜作製したものであってもよく、市販品であってもよい。

【0029】

<<抗PCBモノクローナル抗体の親和性及び特異性>>

前記抗PCBモノクローナル抗体のPCBに対する親和性は、前記抗PCBモノクローナル抗体のPCBとの結合を50%阻害する抗原濃度(IC₅₀値)により評価することができる。

10

また、前記抗PCBモノクローナル抗体のPCBに対する特異性(交差反応性)は、塩素数3の同族体に対する特異性を評価する場合、例えば、3塩素化物PCBに対するIC₅₀値と、4~6塩素化物PCBに対するIC₅₀値とを比較することにより、具体的にはそれぞれのIC₅₀値の比を求めることにより評価することができる。

【0030】

前記IC₅₀値の算出方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、前記標識物質に由来する信号強度の測定データを、下記式(1)で表される近似式に当てはめて求めることにより解析することができる。

【0031】

20

【数1】

$$y=99/(1+(x/P1)^{P2})+0.5 \quad \text{式(1)}$$

前記式(1)中、yは、抗原を加えなかったときの信号強度の値を100%とした時の相対的な信号強度を表し、xは、抗原濃度を表し、P1とP2は、近似のパラメータを表す。

【0032】

測定データは、抗原を加えなかったときの信号強度の値を100%として相対値に変換した後、最適なP1及びP2を決定する。P1及びP2は、例えば、グラフ作成ソフトウェアOrigin version 6.0(OriginLab製)等を用いて決定することができる。

このようにして得られた近似式を、前記抗体と前記抗原との結合曲線とし、y=50%となるときxの値(=P1)をIC₅₀値とする。

30

なお、IC₅₀値に対して抗体濃度が十分に小さい時(例えば、10分の1以下の時)、IC₅₀値と平衡解離定数(Kd)がほぼ一致することが知られている。

【0033】

前記抗PCBモノクローナル抗体の塩素数の異なるPCBに対する特異性は、例えば、カネクロール(KC-300、KC-400、KC-500、KC-600、KC-1000)を標準試料として評価することができる。

前記カネクロールは、それぞれ下記表1に示す比率で異なる塩素数のPCBを含有しているため、例えば、塩素数3の同族体に高い親和性を示す前記抗PCBモノクローナル抗体(以下、「3塩素抗体」という)は、カネクロール(KC-300、KC-400、KC-500、KC-600、KC-1000)の中でも3塩素化物を最も多く含有するKC-300に対して最も高い親和性を示す。また、前記3塩素抗体は、KC-300以外のカネクロールにも交差反応性を示すが、KC-400、KC-500、KC-600、及びKC-1000に対する交差反応性は、それぞれ50%未満である。

40

【0034】

【表 1】

PCB異性体	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600
1塩素化物	0.0025	0.01	0.008	0.008
2塩素化物	12.1	0.48	0.38	0.23
3塩素化物	54.98	17.47	1.72	0.65
4塩素化物	27.05	51.43	10.31	1.09
5塩素化物	4.72	27.92	51.80	8.58
6塩素化物	1.08	2.55	32.49	42.34
7塩素化物	0.04	0.14	3.23	39.19
8塩素化物	0.00	0.00	0.06	7.44
9塩素化物	0.00	0.00	0.00	0.47
10塩素化物	0.00	0.00	0.00	0.01

10

(出典：高菅卓三ら、「各種クリーンアップ法とHRGC/HRMSを用いたポリ塩化ビフェニル(PCBs)の全異性体詳細分析方法」, 環境化学, Vol. 5, No. 3, pp. 647 - 675, 1995)

20

【0035】

<<抗体検出用物質>>

前記担体に固定化される前記抗体検出用物質としては、試料中に含まれる被検物質と同種の物質であり、前記免疫学的定量用抗体に対して抗原性を有する物質である限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

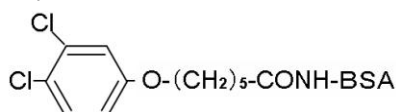
【0036】

前記抗PCBモノクローナル抗体の抗体検出用物質としては、前記抗PCBモノクローナル抗体を結合可能な物質であれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、下記に示すo-ジクロロベンゼンをBSAなどのタンパク質にリンカーを介して結合させた物質等が挙げられる。

30

【0037】

【化2】



【0038】

前記担体としては、特に制限はなく、種々の形状や材質のものを適宜選択して使用することができるが、例えば、綿、麻、ポリエステル、芳香族ポリアミド、ナイロン、及びポリオレフィン等の繊維体からなる膜、ポリメチルメタクリル酸、及びガラス等からなるビーズ、アルギン酸カルシウム粒子等の微細粒子、寒天、ポリアクリルアミド、アガロース等のゲル状物質などが挙げられる。

40

【0039】

前記担体への前記抗体検出用物質の固定方法としては、前記抗体検出用物質の抗原性を失わない方法であれば、特に制限はなく、例えば、直接自然吸着法、イオン結合法、共有結合法などを用いて担体に直接結合させる方法、適当な化学物質あるいはタンパク質などのスペーサーを介して間接的に結合させる方法等が挙げられる。

【0040】

<<抗原抗体反応>>

前記PCBの免疫学的定量方法において、試料中に存在すると思われるPCBに対し、

50

P C B の一 の 同 属 体 に 特 異 的 反 応 性 を 示 し、 かつ 他 の 同 属 体 に 対 し て 少 なく と も 交 差 反 応 性 を 示 す 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 を 2 種 以 上 組 み 合 わ せ て 用 い、 こ れ ら 2 種 以 上 の 抗 体 を 前 記 試 料 に 同 時 に 導 入 し、 抗 原 抗 体 反 応 を 起 こ さ せ る。

【 0 0 4 1 】

前 記 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 の 濃 度 は、 抗 原 へ の 平 衡 解 離 定 数 に 比 べ て 十 分 に 低 く、 前 記 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 自 身 の 抗 原 結 合 親 和 性 に よ り 抗 原 と の 結 合 が 支 配 さ れ る よ う に 添 加 す る こ と が 好 ま し い。 こ の よ う な 条 件 下 と す れ ば、 異 な る 抗 原 に 対 す る 親 和 性 を 独 立 し て 組 み 合 わ せ る こ と が 可 能 で、 高 感 度 に 検 出 可 能 な 抗 原 種 を 拡 大 で き る。

【 0 0 4 2 】

ま た、 前 記 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 は、 標 識 物 質 に 由 来 す る 信 号 の 強 度 が 略 同 一 と なる 濃 度 で そ れ ぞ れ 配 合 し、 試 料 に 導 入 す る こ と が 好 ま し い。 例 え ば、 複 数 の 前 記 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 に つ い て、 前 記 標 識 物 質 に 由 来 す る 信 号 強 度 (又 は 電 圧 換 算 値) と 濃 度 と の 相 関 を 予 め 求 め て お き、 同 じ 信 号 強 度 が 得 ら れ る 濃 度 比 で 混 合 し て、 試 料 に 導 入 す る こ と が 好 ま し い。

【 0 0 4 3 】

< < 検 出 > >

本 発 明 の 免 疫 学 的 定 量 方 法 は、 試 料 中 の 抗 原 と 未 反 応 の 抗 体 を、 担 体 に 固 定 さ れ た 抗 体 検 出 用 物 質 で 捕 捉 し、 そ の 抗 体 量 を 測 定 す る こ と で、 間 接 的 に 試 料 中 の 抗 原 量 を 検 出 す る 方 法 である が、 迅 速 な 測 定 を 行 う た め に、 前 記 抗 体 検 出 用 物 質 が 固 定 さ れ た 前 記 担 体 を 内部 に 保 持 し て なる 検 出 容 器 を 用 い る こ と が 好 ま し い。

具 体 的 に は、 抗 体 検 出 用 物 質 を 固 定 し た 担 体 を 備 え、 かつ 通 液 可 能 な 検 出 容 器 に、 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 を 導 入 し た 試 料 を 連 続 的 に 供 給 し、 前 記 担 体 に 固 定 さ れ た 前 記 抗 体 検 出 用 物 質 と 結 合 し た 前 記 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 量 を 測 定 す る こ と が 好 ま し い。

【 0 0 4 4 】

前 記 検 出 容 器 と し て は、 前 記 担 体 を 内部 に 保 持 し、 かつ 該 担 体 に 固 定 さ れ た 前 記 抗 体 検 出 用 物 質 と 結 合 し た 前 記 標 識 物 質 に 由 来 す る 信 号 の 検 出 を 阻 害 し な い た め に、 透 明 な 材 質 なら なる こ と が 好 ま し く、 例 え ば、 ガ ラ ス 製、 プ ラ ス チ ッ ク 製 である こ と が 好 ま し い。

前 記 検 出 容 器 は、 底 部 が 解 放 さ れ、 導 入 さ れ る 試 料 を 通 液 可 能 (い わ ゆ る フ ロ ー 式 の 検 出 容 器) と す る と、 前 記 試 料 を 連 続 的 に 導 入 す る こ と が 可 能 で、 検 出 容 器 中 に 検 出 対 象 の 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 が 蓄 積 ・ 濃 縮 さ れ、 感 度 を 向 上 さ せ る こ と が 可 能 な た め 好 ま し い。

ま た 液 相 と 固 相 の 接 触 時 間 が 極 端 に 短 く、 液 中 の 数 パ ー セ ン ト に あ た る 抗 体 を フ ロ ー に よ り 連 続 的 に 捕 捉 す る た め、 液 相 中 の 結 合 平 衡 状 態 を 乱 す こ と なく 解 析 が 可 能 である と 同 時 に、 連 続 捕 捉 が 可 能 な た め、 液 相 中 の 結 合 が 抗 体 の 親 和 性 支 配 に なる ま で 抗 体 の 結 合 部 位 濃 度 を 低 下 さ せ る こ と が 可 能 である。

【 0 0 4 5 】

前 記 標 識 物 質 に よ り 標 識 さ れ た 抗 体 の 前 記 標 識 物 質 に 由 来 す る 信 号 強 度 の 測 定 は、 前 記 抗 体 検 出 用 物 質 に 捕 捉 さ れ た 抗 体 上 の 標 識 に 対 し て 光 を 照 射 し、 例 え ば、 前 記 標 識 物 質 が 励 起 さ れ て 発 生 す る 蛍 光 等 を 検 出 器 に よ り 検 出 す る 方 法、 担 体 の 透 過 光 量 を 測 定 す る 方 法 等 に よ り 行 わ れ る。

こ の よ う な 測 定 お い て は、 ま ず 実 際 の 試 料 測 定 に 先 立 ち、 ある 濃 度 の 抗 体 を 前 記 抗 体 検 出 用 物 質 に 結 合 さ せ た 場 合 の 信 号 強 度 (ブ ラ ン ク) を 測 定 し、 こ の 値 を 例 え ば、 検 出 値 F_0 と す る。 次 に 被 検 物 質 を 含 む 試 料 を、 ブ ラ ン ク 測 定 時 と 同 濃 度 の 抗 体 と 接 触 さ せ、 そ の 後、 こ の 接 触 混 合 物 を 前 記 抗 体 検 出 用 物 質 に 接 触 さ せ、 該 抗 体 検 出 用 物 質 に 結 合 し た 抗 体 の 信 号 強 度 を 測 定 し、 こ の 値 を 例 え ば、 検 出 値 F_1 と す る。

【 0 0 4 6 】

こ こ で、 P C B の 定 量 お い て は、 前 記 試 料 中 に 被 検 物 質 (P C B) が 存 在 す る なら ば、 前 記 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 の 一 部 は 前 記 試 料 と の 最 初 の 接 触 お い て、 試 料 中 の P C B と 結 合 し、 こ の 試 料 中 の P C B と 結 合 し た 抗 P C B モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 は、 続 く 抗 体 検 出 用 物 質 と の 接 触 お い て、 該 抗 体 検 出 用 物 質 と 結 合 で き ず、 反 応 混 合 物 中 に 遊 離 状

10

20

30

40

50

態で残ることとなるため、その結果が検出値 F_1 における信号強度の低下となって示される。従って、検出値 F_1 が検出値 F_0 に比べ小さい場合 ($F_1 < F_0$)、前記試料中に PCB が存在すると判断でき、さらに、 F_1 の F_0 に比べた低下の割合が、試料中に含まれる PCB の量と比例することから、既知の濃度の PCB を用いて予め検量線等を作成することにより、 F_1 の低下の割合に応じて前記試料中に含まれる PCB の定量を行うこともできる。

【0047】

前記免疫学的定量方法において、信号強度の測定方法としては、上述の方法に限定されるわけではなく、種々の態様を取ることが可能であり、例えば、標識の種類を追加する、検出容器を複数連結するなどして、さらに高度化することができる。

10

【0048】

また、前記担体に前記免疫学的定量用抗体を固定し、これを試料と接触させ、試料中の PCB を直接捕捉固定化する態様も、同様に考慮し得るものである。

【0049】

<< 試料 >>

前記試料としては、少なくとも被検物質を含む可能性がある限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、水溶液であることが好ましい。

前記被検物質が PCB であるとき、前記試料としては、例えば、絶縁油、絶縁油以外の油（例えば、植物油、動物油、合成油、鉱物油等）、工場排水、土壌、排ガス、動物の血液や体液、絶縁油の処理作業等において使用した部材等の廃棄物などから PCB を抽出し、転溶してなるものが挙げられる。前記絶縁油としては、脱塩素化処理等の PCB 分解処理を行った後の絶縁油も好適に挙げられる。

20

【0050】

（免疫学的定量用キット）

本発明の免疫学的定量用キットとしては、前記免疫学的定量用抗体と、抗体検出用抗原が固定された担体とを少なくとも含み、試料中の被検物質を定量可能である限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、標識された二次抗体、緩衝液、検出試薬、及び標準試料（例えば、カネクロール）等を含む。なお、前記免疫学的定量用抗体は、標識されていてもよい。

30

【実施例】

【0051】

以下、本発明の実施例について説明するが、本発明はこの実施例に何ら限定されるものではない。

【0052】

（実施例 1）

ハイブリドーマ Sz k 2 E 4 株（独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに平成 17 年 5 月 26 日付で、受託番号 F E R M P - 2 0 5 4 7 として寄託されている）を用い、公知の方法により抗 PCB モノクローナル抗体（以下、「Sz k 2 E 4 抗体」という）を作製した。

前記 Sz k 2 E 4 抗体について、PCB の標準試料として、既知濃度のカネクロール（KC - 3 0 0、KC - 4 0 0、KC - 5 0 0）を測定対象として、以下の方法により、PCB の各同族体に対する親和性及び交差反応性を評価した。結果を図 1 及び表 2 に示す。

40

また、市販の抗 PCB モノクローナル抗体（R D I 社製、PCB 3 5、以下「R D I 抗体」という）についても同様に、PCB の各同族体に対する親和性及び交差反応性を以下の方法により評価した。結果を図 2 及び表 2 に示す。

【0053】

前記カネクロールは D M S O を用いて希釈し、2% D M S O で測定を行う場合には、前記カネクロールを含む D M S O 溶液 2 0 μ L と、P B S 緩衝液 4 8 0 μ L とを混合した試料を調製した。前記試料に、前記 Sz k 2 E 4 抗体溶液 5 0 0 μ L を加えて 1 m L とし、これを、アガロースビーズ（N H S - a c t i v a t e d S e p h a r o s e ; アマシ

50

ヤム バイオサイエンス社製)に、抗体検出用物質としてo-ジクロロベンゼンをタンパク質(BSA)にリンカーを介して結合させた物質を固定した担体を備える検出容器に導入し、前記担体上に捕捉された前記Szk2E4抗体の量を測定した。

【0054】

前記Szk2E4抗体の量は、2次抗体(Cy-5 conjugated F(ab')₂ fragment of goat anti mouse IgG; Jackson ImmunoResearch社製)で標識された前記抗PCBモノクローナル抗体の信号強度を、蛍光光度計(Sapidyne社製、KinExA 3000)を用いて蛍光強度として測定し、前記試料中にPCBを含まない場合(ブランク)における蛍光強度との差を求めた。

10

【0055】

上記の蛍光標識以外の標識由来の信号強度を測定することによっても、得られた値から以下の方法により親和性及び交差反応性を求め、定量することができる。

具体的には、前記標識が金コロイドの場合には、前記担体の透過光量を信号強度とし、透過光量測定装置(例えば、柴田科学社製、Imny等)を用いて測定することができる。

【0056】

(i) 親和性の測定

得られた前記信号強度の値を下記式(1)で表される近似式に当てはめ、IC₅₀値を求めた。

20

【0057】

【数1】

$$y = 99 / (1 + (x/P1)^{P2}) + 0.5 \quad \text{式(1)}$$

前記式(1)中、yは、試料中に抗原(PCB)を加えなかったときの信号強度の値を100%とした時の相対的な信号強度を表し、xは、抗原濃度を表し、P1とP2は、近似のパラメータを表す。

【0058】

なお、IC₅₀値に対して抗体濃度が十分に小さい時(例えば、10分の1以下の時)、IC₅₀値と平衡解離定数(Kd)とがほぼ一致することが知られているため、親和性の評価として、該平衡解離定数(Kd)を用いた。前記平衡解離定数(Kd)の値が小さいほど、親和性が高いことを表す。

30

【0059】

(ii) 交差反応性

交差反応性は、それぞれ、下記式により算出した。結果を下記表2に示す。

$$Sk3A11 \text{の交差反応性}(\%) = (KC300 \text{の} IC_{50} \text{値} / \text{試料の} IC_{50} \text{値}) \quad \dots \text{式(2)}$$

$$RDI \text{の交差反応性}(\%) = (KC300 \text{の} IC_{50} \text{値} / \text{試料の} IC_{50} \text{値}) \quad \dots \text{式(3)}$$

【0060】

【表2】

40

	Kd(ppb)		交差反応性(%)	
	Szk2E4	RDI	Szk2E4	RDI
KC-300	10.8	17.6	100.0	9.4
KC-400	30.4	6.2	35.5	27.0
KC-500	35.5	1.7	30.4	100.0
KC-600	212.0	1.8	5.1	93.8

【0061】

50

前記 S z k 2 E 4 抗体は、塩素数 3 の P C B に特異的反応性を示し、かつ塩素数が 4 以上の P C B との交差反応性が 5 0 % 未満であることがわかった。また、前記 R D I 抗体は、塩素数 5 及び 6 の P C B に高い特異性を示し、塩素数と親和性との関係において、前記 S z k 2 E 4 と反対の傾向を示すことがわかった。

前記 S z k 2 E 4 抗体と、前記 R D I 抗体ともに、異なるカネクロールに対する親和性の間に最大で 1 0 倍以上の差があるため、それぞれ単独では、各カネクロールの混合比率が不明である絶縁油にコンタミした P C B の濃度を正確に測定できないことが分かった。

【 0 0 6 2 】

そこで、前記 S z k 2 E 4 抗体と、前記 R D I 抗体とを等モルずつ混合して用い、上記と同様にカネクロール (K C - 3 0 0 、 K C - 4 0 0 、 K C - 5 0 0) を測定対象として、 P C B の各同族体に対する親和性を評価した。結果を図 3 に示す。

【 0 0 6 3 】

図 3 から、 P C B の塩素数の大小に対して、反対の親和性を示す 2 種の抗 P C B モノクローナル抗体を混合して試料中の P C B と結合させることにより、単独の抗 P C B モノクローナル抗体を結合させたときよりも、同族体の組成が異なる P C B (カネクロール) に対する親和性のばらつきが縮小され、 2 種の抗 P C B モノクローナル抗体間の親和性の平均値を検量線として、誤差の少ない正確な定量に用いることができることが明らかとなった。

【 0 0 6 4 】

(実施例 2)

ハイブリドーマ S k 3 A 1 1 株 (独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに平成 1 7 年 1 2 月 2 2 日付で、受託番号 F E R M P - 2 0 7 4 4 として寄託されている) を用い、公知の方法により抗 P C B モノクローナル抗体 (以下、「 S k 3 A 1 1 抗体」という) を作製した。

前記 S k 3 A 1 1 抗体について、 P C B の標準試料として、既知濃度のカネクロール (K C - 3 0 0 、 K C - 4 0 0 、 K C - 5 0 0) を測定対象として、実施例 1 と同様にして P C B の各同族体に対する親和性及び交差反応性を評価した。結果を図 4 及び表 3 に示す。また、市販の抗 P C B モノクローナル抗体 (R D I 社製、 P C B 3 5 、以下「 R D I 抗体」という) についても同様に、 P C B の各同族体に対する親和性及び交差反応性を評価した。結果を図 5 及び表 3 に示す。

【 0 0 6 5 】

【 表 3 】

	Kd (ppb)		交差反応性 (%)	
	Sk3A11	RDI	Sk3A11	RDI
KC-300	0.7	17.6	100	5.1
KC-400	1.9	6.2	37	15
KC-500	7.2	1.7	9.7	53
KC-600	21.4	0.9	3.3	100




【 0 0 6 6 】

図 4 及び図 5 、並びに表 3 の結果から、前記 S k 3 A 1 1 抗体は、塩素数 3 の P C B に特異的反応性を示し、かつ塩素数が 4 以上の P C B との交差反応性が 5 0 % 未満である抗 P C B モノクローナル抗体であることがわかった。

また、前記塩素数 3 の P C B に対する親和性を A 、塩素数 4 の P C B に対する親和性を B 、塩素数 5 の P C B に対する親和性を C 、及び塩素数 6 の P C B に対する親和性を D としたとき、前記 A < B < C < D の関係を満たす抗 P C B モノクローナル抗体を R D I 抗体と、 D < C < B < A の関係を満たす抗 P C B モノクローナル抗体を S k 3 A 1 1 抗体として、これらを図 1 0 から求められる標識物質に由来する信号の強度が略同一となる濃度で

混合してP C Bの免疫学的定量方法に用い、試料中のP C B（カネクロール）の定量を行った。

【0067】

なお、図10の信号強度は、前記試料中に、前記抗P C Bモノクローナル抗体に結合する物質が存在しない条件下において略同一となることを表し、混合する濃度は、S k 3 A 1 1抗体（図10中「」で表す）とR D I抗体（図10中「」で表す）とを、（S k 3 A 1 1抗体）：（R D I抗体）= 2 . 3 : 1の比率とすればよいことを表す。図10中、「」は、その比率で混合した抗体の総濃度と信号値の関係を示す。

【0068】

図6に示す前記S k 3 A 1 1抗体のシグナル曲線と、図7に示す前記R D I抗体のシグナル曲線とから、これらの抗体を混ぜてカネクロールと反応させた時のシグナル曲線を計算した結果を図8に示す。なお、図6は、S k 3 A 1 1抗体の各カネクロールに対する結合曲線から求めたカネクロール混合液に対するシグナル曲線の計算値であり、図7は、R D I抗体の各カネクロールに対する結合曲線から求めたカネクロール混合液に対するシグナル曲線の計算値である。

それぞれの抗体で個別に測定するよりも各カネクロール間の曲線の差が小さくなり、抗体を混合することによって、成分構成が不明であるP C Bの測定を少ない誤差で測定できると考えられる。

前記S k 3 A 1 1抗体と前記R D I抗体とを用いた定量結果について、図8に示した計算結果と、実測値とをあわせて、図9に示す。

【0069】

図9の結果から、実験値と理論値との間に、若干の差は見られるが、前記S k 3 A 1 1抗体と前記R D I抗体との混合比率を、同じ信号値が得られるように調整し、試料中のP C Bの定量に用いることによって、試料中のP C Bが未知の組成からなる場合でも、極めて少ない誤差で、定量することができることがわかった。




【産業上の利用可能性】




【0070】




本発明の免疫学的定量方法は、多数の異性体や同族体を含む被検物質の定量に好適であり、10個の同族体からなるP C Bの定量方法として特に好適である。本発明のP C Bの免疫学的定量方法は、未知の組成のP C Bを、抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法を用い、簡便に、かつ最小限の誤差で高感度に定量することができるため、廃棄物処理後のP C B残留濃度、環境中のP C B濃度等の検査に好適に使用することができる。





【図面の簡単な説明】

【0071】

【図1】図1は、実施例1で測定した抗P C Bモノクローナル抗体（S z k 2 E 4抗体）の各カネクロールに対する結合曲線であり、「」はK C - 3 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 4 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 5 0 0に対する結合曲線を表し、実線はこれらの平均値を表す。

【図2】図2は、実施例1で測定した抗P C Bモノクローナル抗体（R D I抗体）の各カネクロールに対する結合曲線であり、「」はK C - 3 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 4 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 5 0 0に対する結合曲線を表し、実線はこれらの平均値を表す。

【図3】図3は、実施例1で測定したS z k 2 E 4抗体とR D I抗体とを等モル混合したときの各カネクロールに対する結合曲線であり、「」はK C - 3 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 4 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 5 0 0に対する結合曲線を表し、実線はこれらの平均値を表す。

【図4】図4は、実施例2で測定した抗P C Bモノクローナル抗体（S k 3 A 1 1抗体）の各カネクロールに対する結合曲線であり、「」はK C - 3 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 4 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 5 0 0に対する結合曲線、「」はK C - 6 0 0に対する結合曲線を表す。

10

20

30

40

50

【図5】図5は、実施例2で測定した抗PCBモノクローナル抗体（RDI抗体）の各カネクロールに対する結合曲線であり、「 \square 」はKC-300に対する結合曲線、「 \bullet 」はKC-400に対する結合曲線、「 \blacktriangle 」はKC-500に対する結合曲線、 \square はKC-600に対する結合曲線を表す。

【図6】図6は、実施例2で測定した抗PCBモノクローナル抗体（Sk3A11抗体）の各カネクロールに対する結合曲線から求めたカネクロール混合液に対するシグナル曲線の計算値を表すグラフである。

【図7】図7は、実施例2で測定した抗PCBモノクローナル抗体（RDI抗体）の各カネクロールに対する結合曲線から求めたカネクロール混合液に対するシグナル曲線の計算値を表すグラフである。

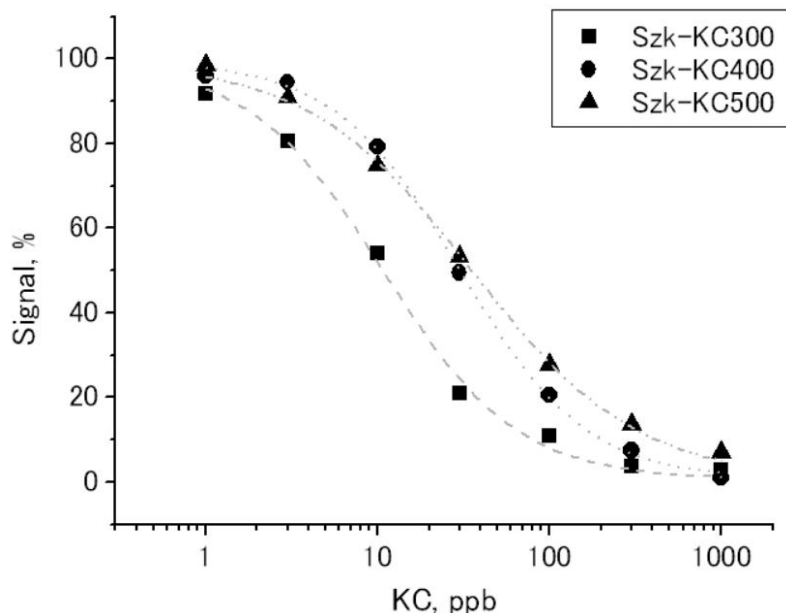
【図8】図8は、図6のSk3A11抗体のシグナル曲線と、図7のRDI抗体のシグナル曲線とから求めた、Sk3A11抗体とRDI抗体とを混合して用いた場合の計算値を示すグラフである。

【図9】図9は、図8の計算値に対する実測値を示すグラフである。

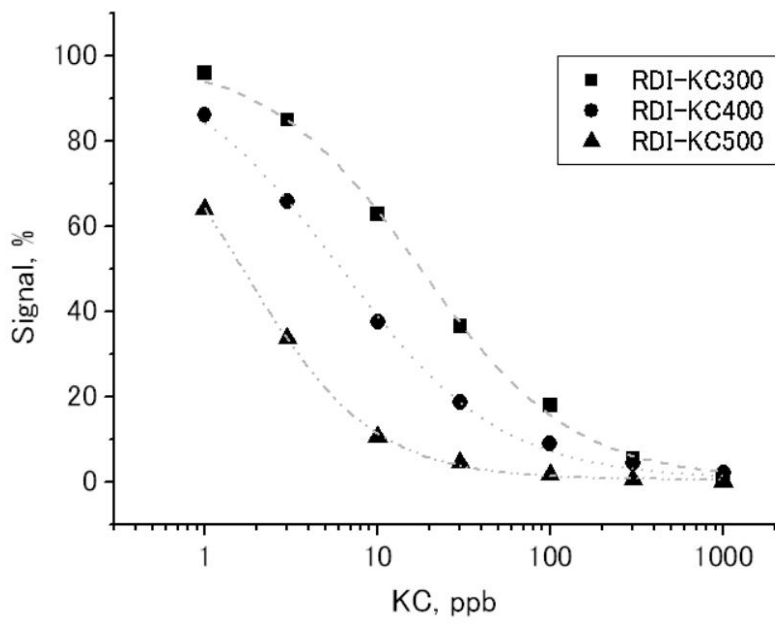
【図10】図10は、標識物質に由来する信号の強度が略同一となる濃度を求めるグラフの一例であり、3塩素抗体（Sk3A11）「 \square 」、6塩素抗体（RDI）「 \bullet 」、免疫学的定量用抗体（混合した抗体の合計）「 \blacktriangle 」の総濃度と信号値との関係を示すグラフである。

10

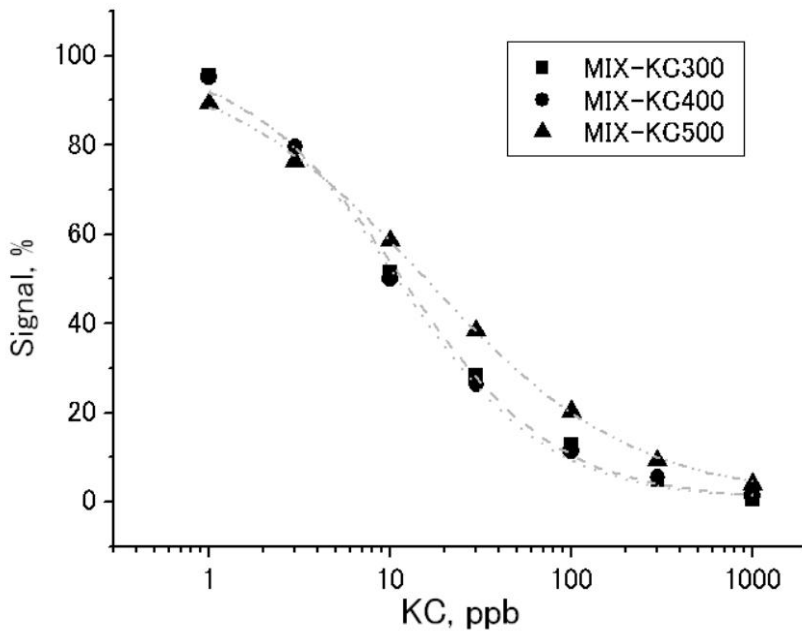
【図1】



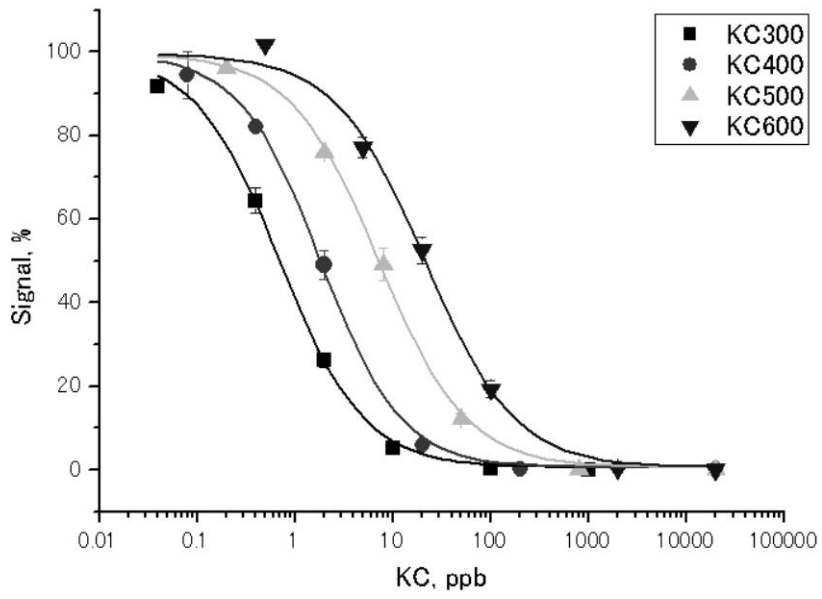
【 図 2 】



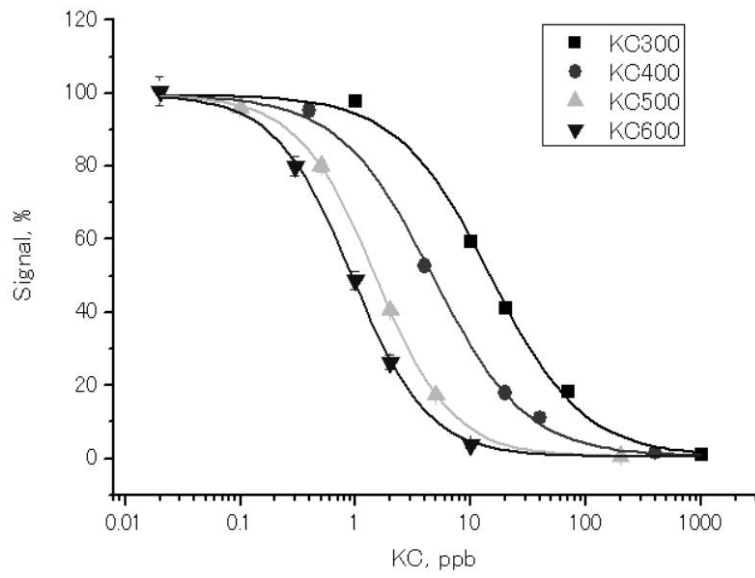
【 図 3 】



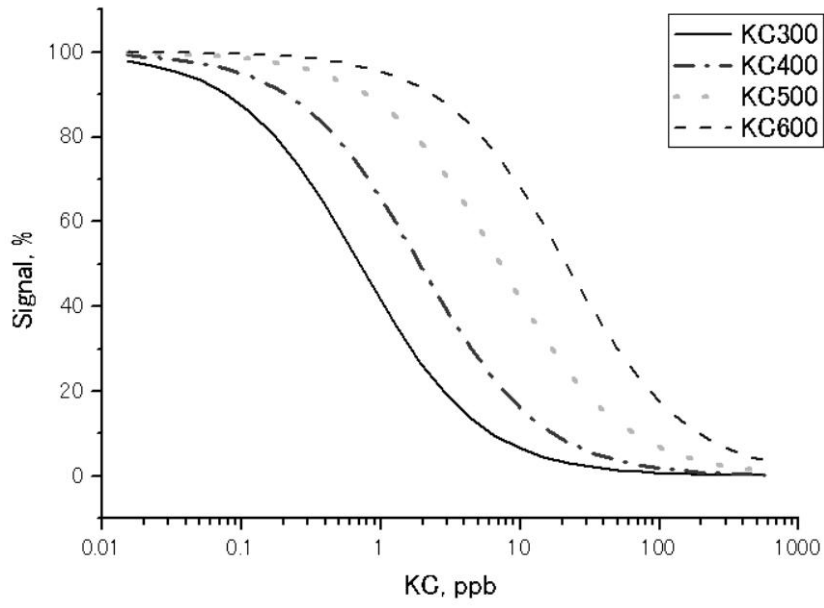
【 図 4 】



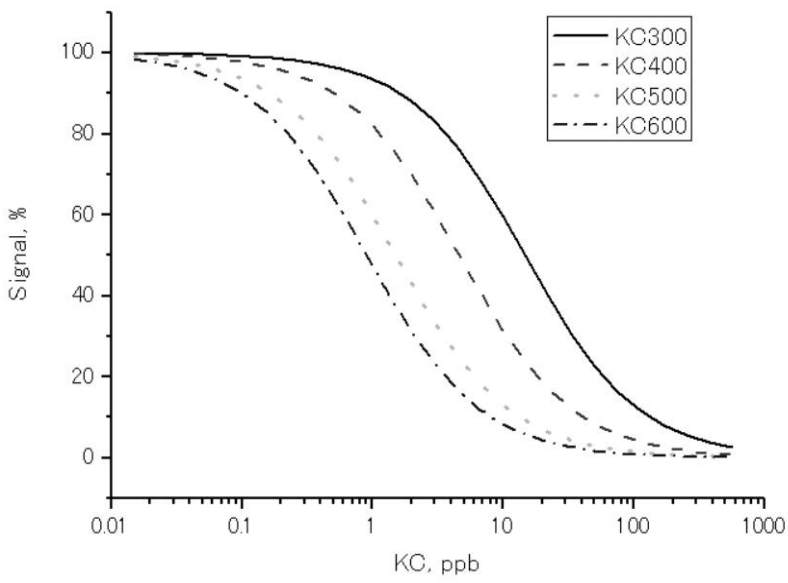
【 図 5 】



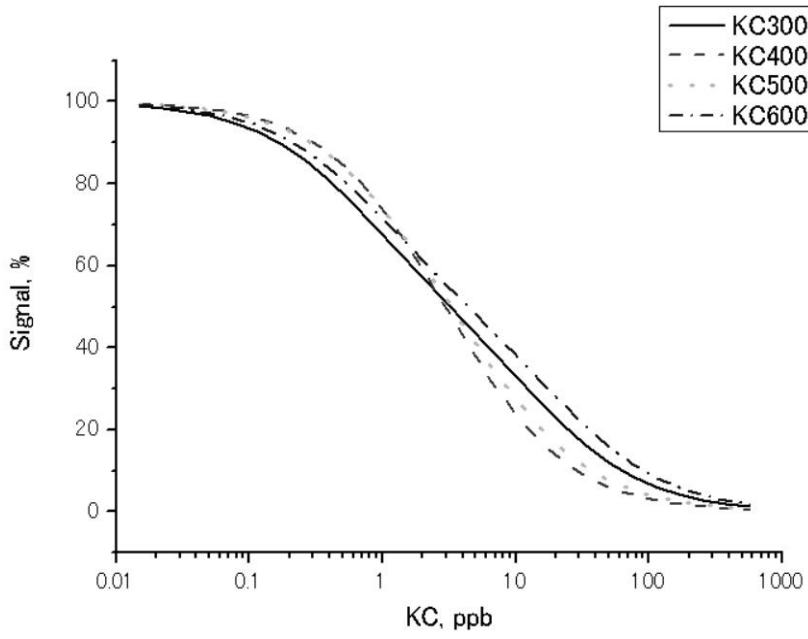
【 図 6 】



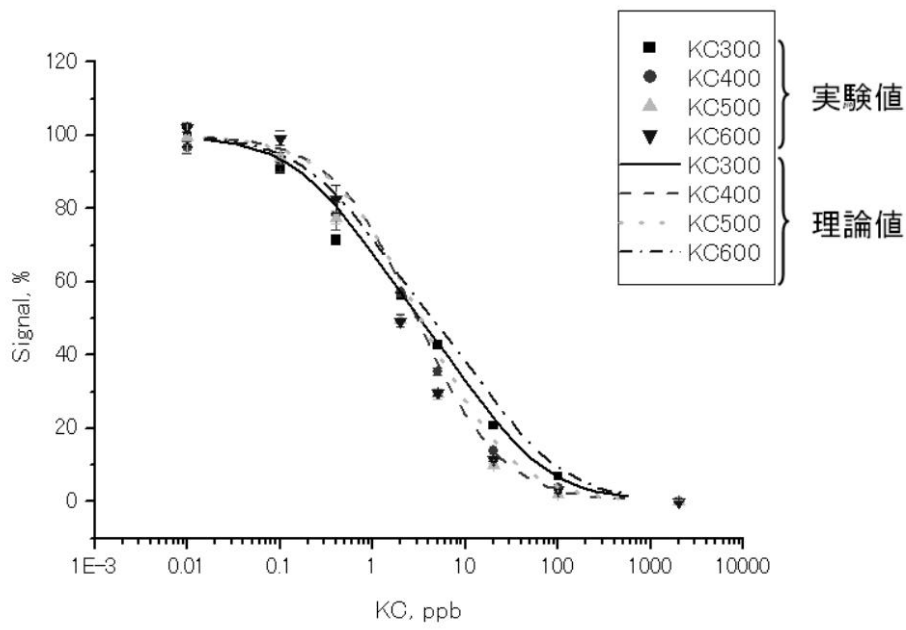
【 図 7 】



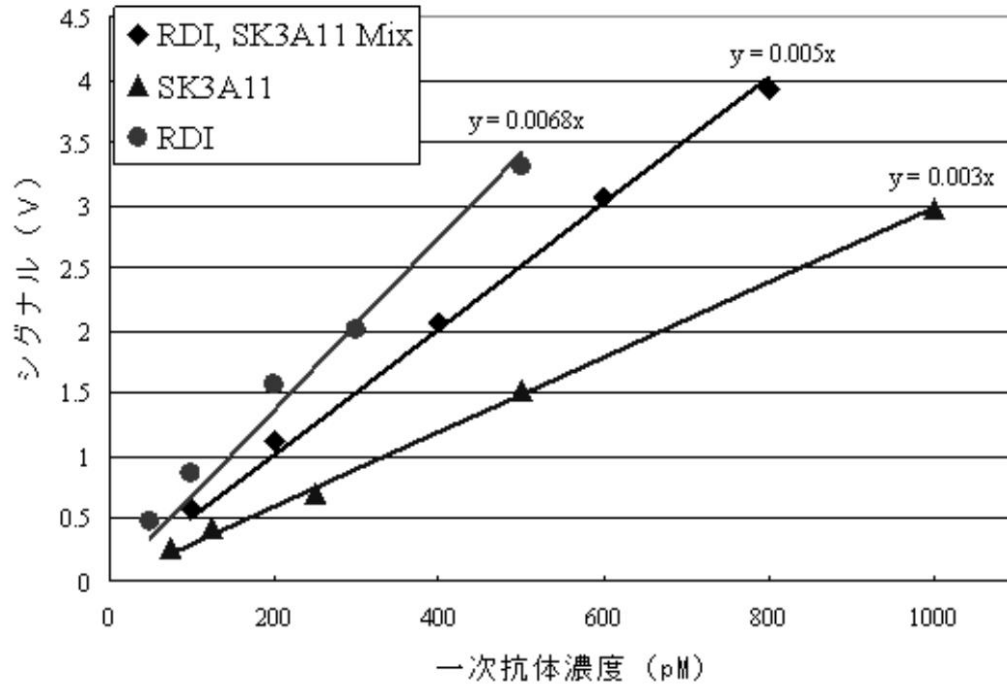
【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 1 0 】



专利名称(译)	PCBの免疫学的定量方法		
公开(公告)号	JP2007187646A	公开(公告)日	2007-07-26
申请号	JP2006050872	申请日	2006-02-27
申请(专利权)人(译)	財団法人電力中央研究所		
[标]发明人	大村直也 佐々木和裕		
发明人	大村 直也 佐々木 和裕		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/577		
FI分类号	G01N33/53.S G01N33/577.B		
代理人(译)	广田幸一		
优先权	2005362485 2005-12-15 JP		
其他公开文献	JP4651558B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

大量分析物的各异构体和同系物，特别是印刷电路板，利用免疫学测定法，使用方便，并以最小误差灵敏度量化的方法中，在恒定量的方法它提供了一种抗体即是。解决方案：使用两种或多种抗PCB单克隆抗体，这些抗体对一种PCB同源物具有特异性反应性，并且与其他同源物至少具有交叉反应性，将两种或更多种类型的抗PCB单克隆抗体混合并引入含有PCB的样品中，使样品与固定在载体上的抗体检测物质接触，测量与抗体检测物质结合的抗PCB单克隆抗体的量，并根据抗PCB单克隆抗体的量确定样品中PCB的量。此外，表现出特异反应性的测试物质的同系物，和其他同源至少表现出交叉反应性的单克隆抗体，其特征在于，所述含两个或更多个免疫定量抗体对体它是。【选择图】无

		(P2007 (43) 公開日 平成19年7月26日(2)	
Int. Cl.	F I	テーマコード(※)	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 S		
G O 1 N 33/577 (2006.01)	G O 1 N 33/577 B		
		審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (3)	
出願番号	特願2006-50872 (P2006-50872)	(71) 出願人	000173809
出願日	平成18年2月27日 (2006. 2. 27)		財団法人電力中央研究所
優先権主張番号	特願2005-362485 (P2005-362485)		東京都千代田区大手町1丁目6番
優先日	平成17年12月15日 (2005. 12. 15)	(74) 代理人	100107515
優先権主張国	日本国 (JP)		弁理士 廣田 浩一
		(74) 代理人	100107733
			弁理士 流 良広
		(74) 代理人	100115347
			弁理士 松田 奈緒子
		(72) 発明者	大村 直也
			千葉県我孫子市我孫子1 6 4 6
			電力中央研究所 環境科学研究所
		(72) 発明者	佐々木 和裕
			千葉県我孫子市我孫子1 6 4 6
			電力中央研究所 環境科学研究所
[発明の名称] PCBの免疫学的定量方法			