

(19) 日本国特許庁(JP)

再 公 表 特 許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2009/123060

発行日 平成23年7月28日(2011.7.28)

(43) 国際公開日 平成21年10月8日(2009.10.8)

(51) Int. Cl. F 1 テーマコード (参考)
G O 1 N 33/531 (2006.01) G O 1 N 33/531 Z

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 26 頁)

出願番号	特願2009-532472 (P2009-532472)	(71) 出願人	390037327 積水メディカル株式会社
(21) 国際出願番号	PCT/JP2009/056316		東京都中央区日本橋3丁目13番5号
(22) 国際出願日	平成21年3月27日(2009.3.27)	(74) 代理人	110000914 特許業務法人 安富国際特許事務所
(11) 特許番号	特許第4452324号 (P4452324)	(72) 発明者	原 康之 日本国茨城県龍ヶ崎市向陽台3丁目3-1 積水メディカル株式会社内
(45) 特許公報発行日	平成22年4月21日(2010.4.21)	(72) 発明者	赤峰 隆之 日本国大阪府三島郡島本町百山2-1 積 水化学工業株式会社内
(31) 優先権主張番号	特願2008-93001 (P2008-93001)	(72) 発明者	吉川 勝己 日本国東京都中央区日本橋三丁目13番5 号 積水メディカル株式会社内
(32) 優先日	平成20年3月31日(2008.3.31)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 精製血清アルブミン及び免疫学的測定方法

(57) 【要約】

本発明は、ロット差が少ない精製血清アルブミン、及び、該精製血清アルブミンを用いた反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定方法を提供することを目的とする。本発明は、免疫学的測定方法においてブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いる血清アルブミンであって、1%水溶液としたときに光路長が1.0 cmの石英セルを用い463 nmの波長にて測定した吸光度が9.0 mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンである。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

免疫学的測定方法においてブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いる血清アルブミンであって、1%水溶液としたときに光路長が1.0 cmの石英セルを用い463 nmの波長にて測定した吸光度が9.0 mAbs以下である画分を主成分とすることを特徴とする精製血清アルブミン。

【請求項 2】

1%水溶液としたときに光路長が1.0 cmの石英セルを用い463 nmの波長にて測定した吸光度が9.0 mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンを用いてなることを特徴とする免疫学的測定試薬。

10

【請求項 3】

抗原抗体反応を利用した免疫学的測定方法において、ブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に、1%水溶液としたときに光路長が1.0 cmの石英セルを用い463 nmの波長にて測定した吸光度が9.0 mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンを用いることを特徴とする免疫学的測定方法。

【請求項 4】

請求項 1 記載の精製血清アルブミンを主成分とすることを特徴とする免疫学的測定に用いる固相調製用試薬。

【請求項 5】

免疫学的測定方法においてブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いる血清アルブミンであって、1 molあたりのビリルビン結合量が0.9 mmol以下である画分を主成分とすることを特徴とする精製血清アルブミン。

20

【請求項 6】

1 molあたりのビリルビン結合量が0.9 mmol以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンを用いてなることを特徴とする免疫学的測定試薬。

【請求項 7】

抗原抗体反応を利用した免疫学的測定方法において、ブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に、1 molあたりのビリルビン結合量が0.9 mmol以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンを用いることを特徴とする免疫学的測定方法。

30

【請求項 8】

請求項 5 記載の精製血清アルブミンを主成分とすることを特徴とする免疫学的測定に用いる固相調製用試薬。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、ロット差が少ない精製血清アルブミン、及び、該精製血清アルブミンを用いた反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

血液、尿等に含まれる微量物質の測定方法として、免疫学的測定方法が採用されている。免疫学的測定方法は、抗原抗体反応の特異的な強い結合に基づくものであり、様々な物質が混在する試料からでも、目的物質を特異的に感度よく測定することが可能である。

40

しかし、近年、血液中の癌マーカー、ウイルス等の抗原、細菌やウイルスに対する抗体等の極微量成分を測定するニーズが高まってきており、免疫学的測定方法の更なる高感度化が強く求められるようになってきた。

【0003】

免疫学的測定方法の高感度化を実現する試みは、例えば、測定試薬中に反応促進剤を添加する方法（特許文献 1）、反応系中に不活性なタンパク質を多量に添加する方法（特許文献 2）、不溶性担体に抗原又は抗体を固定化し免疫学的に不活性なタンパク質等でブロッキングする際に、ブロッキング剤を熱により変性させる方法（特許文献 3）等が提案され

50

ている。

【0004】

しかしながら、特許文献1に記載された反応促進剤を添加する方法では、非特異的な反応を誘発することがあるという問題がある。

一方、特許文献2、3に記載された方法では、非特異的な反応を防止するためのブロッキング剤として血清由来のアルブミンを用いることが一般的である。しかしながら、血清アルブミンは、ロット差により反応性が大きく異なったり、十分に効果が得られなかったりすることがあるという問題があった。

【特許文献1】特開平4-122858号公報

【特許文献2】特開2000-46828号公報

10

【特許文献3】特開平10-197530号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、上記現状に鑑み、ロット差が少ない精製血清アルブミン、及び、該精製血清アルブミンを用いた反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定方法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】

【0006】

本発明1は、免疫学的測定方法においてブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いる血清アルブミンであって、1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンである。 20

本発明2は、免疫学的測定方法においてブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いる血清アルブミンであって、1molあたりのビリルビン結合量が0.9mmol以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンである。

以下に本発明を詳述する。

【0007】

本発明者らは、鋭意検討の結果、1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分、又は、1molあたりのビリルビン結合量が0.9mmol以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンをブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液として用いた場合には、ロット差がほとんどなく、反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定を行うことができることを見出し、本発明を完成するに至った。 30

【0008】

この理由については現時点では定かではない。血液中での血清アルブミンは、通常はビリルビン（黄色色素成分）や遊離脂肪酸等を吸着し、これらを運搬する役目を担っている。従来の血清アルブミンのロット差は、これらの吸着物の有無及び量比で起こっていたのではないかと考えている。本発明1、2の要件を満たす画分は、吸着物が極めて少ない画分であって、これを主成分とする精製血清アルブミンを用いることにより反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定が実現されるのではないかと考えられる。 40

【0009】

本発明1の精製血清アルブミンは、1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分を主成分とする。好ましくは1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が8.0mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンであり、より好ましくは1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が7.0mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンである。

血清アルブミンのこのような画分は、ビリルビン（黄色色素成分、吸収波長438nm（ 50

B S A結合型ビリルビンの吸収波長は463 nm))等の吸着が極めて少ない画分であり、このような画分を主成分とする本発明の精製血清アルブミンをブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いた場合には、ロット差がほとんどなく、反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定を行うことができる。

なお、主成分とするとは、上記画分のみからなることが好ましいものの、本発明の目的効果を阻害しない範囲においては、他の画分が混入してもかまわないことを意味する。

【0010】

混入が許される他の画分の量比は、画分により異なる。127 T. U. での波長700 nmにおける吸光度変化量が0.06 Abs以上を維持できる割合を表5及び図1より求めた。

10

例えば、1%水溶液としたときに光路長が1.0 cmの石英セルを用い463 nmの波長にて測定した吸光度が9.0 mAbsを超えて13.5 mAbs以下である画分の場合には、全体の45重量%程度まで混入可能である。

例えば、1%水溶液としたときに光路長が1.0 cmの石英セルを用い463 nmの波長にて測定した吸光度が9.0 mAbsを超えて20.0 mAbs以下である画分の場合には、全体の15重量%程度まで混入可能である。

例えば、1%水溶液としたときに光路長が1.0 cmの石英セルを用い463 nmの波長にて測定した吸光度が9.0 mAbsを超えて26.0 mAbs以下である画分の場合には、全体の5重量%程度まで混入可能である。

【0011】

20

なお、本明細書においてT. U. はトレポネーマ抗体測定キットであるメディエースTP LA (積水メディカル社製) により測定される抗トレポネーマ抗体価の単位であるTITER UNITSの略称である。WHO標準品 (THE INTERNATIONAL STANDARD for SYPHILITIC HUMAN SERUM [1st international standard preparation]、established in 1958) を測定した場合、1 T. U. = 2 mIUとなる。また、10 T. U. 以上を示すものを陽性とする。

【0012】

本発明2の精製血清アルブミンは、1 molあたりのビリルビン結合量が0.9 mmol以下である画分を主成分とする。好ましくは1 molあたりのビリルビン結合量が0.8 mmol以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンであり、より好ましくは1 molあたりのビリルビン結合量が0.7 mmol以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンである。血清アルブミンのこのような画分を主成分とする本発明の精製血清アルブミンをブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いた場合には、ロット差がほとんどなく、反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定を行うことができる。

30

なお、主成分とするとは、上記画分のみからなることが好ましいものの、本発明の目的効果を阻害しない範囲においては、他の画分が混入してもかまわないことを意味する。

【0013】

なお、血清アルブミンの1 molあたりのビリルビン結合量は、例えば、ビリルビン測定試薬 (積水メディカル社製、「オートセラBIL-2」、「オートセラD-BIL-2」) を用いたアズビリルビン法により測定することができる。

40

【0014】

混入が許される他の画分の量比は、画分により異なる。127 T. U. での波長700 nmにおける吸光度変化量が0.06 Abs以上を維持できる割合を表5及び図1より求めた。

例えば、1 molあたりのビリルビン結合量が0.9 mmolを超えて1.5 mmol以下である画分の場合には、全体の45重量%程度まで混入可能である。

例えば、1 molあたりのビリルビン結合量が0.9 mmolを超えて2.0 mmol以下である画分の場合には、全体の15重量%程度まで混入可能である。

例えば、1 molあたりのビリルビン結合量が0.9 mmolを超えて2.7 mmol以

50

下である画分の場合には、全体の5重量%程度まで混入可能である。

【0015】

上記1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分、又は、1molあたりのビリルビン結合量が0.9mmol以下である画分は、例えば、陰イオン交換クロマトグラフィー精製において150mM以下の塩濃度の溶出液を用いて溶出させることにより得ることができる。

【0016】

本発明の精製血清アルブミンの原料となる血清アルブミンは、動物血清由来のアルブミンであって、具体的には例えば、ヒト、牛、馬、羊等の大型哺乳動物の血清由来のものが好適である。なかでも、安価で大量に入手できることから、牛血清由来の血清アルブミンが特に好適である。

また、上記血清アルブミンは、陰イオン交換クロマトグラフィー精製を行う前に、コーン変法やヒートショック法等で粗精製されていることが好ましい。

【0017】

上記陰イオン交換クロマトグラフィー精製に用いるカラムの担体は特に限定されず、例えば、弱陰イオン性のDEAE Separose Fast Flow、ANX Separose 4 Fast Flowや、強陰イオン性のQ Separose Fast Flow、Q Sepharose XL等が挙げられる。

【0018】

上記陰イオン交換クロマトグラフィー精製に用いるカラムの担体の粒径の好ましい下限は10 μ m、好ましい上限は200 μ mである。上記カラムの担体の粒径が10 μ m未満であると、バックプレッシャーが上昇し、精製時の流速を遅くせざるを得なくなることがある。上記カラムの担体の粒径が200 μ mを超えると、分離能が悪くなることがある。上記カラムの担体の粒径のより好ましい下限は45 μ m、より好ましい上限は165 μ mである。

【0019】

上記陰イオン交換クロマトグラフィー精製に用いるカラムは、例えば、HiPrep 16/10 DEAE FF、HiPrep 16/10 ANX FF (high sub)、HiPrep 16/10 Q FF (いずれもGE Healthcare社製)等の市販品を用いてもよい。

【0020】

上記陰イオン交換クロマトグラフィー精製において血清アルブミンをカラム担体に結合させる際に用いられる緩衝液(以下、結合液ともいう)は特に限定されず、例えば、リン酸緩衝液、グリシン緩衝液、トリス緩衝液等が挙げられる。

上記緩衝液の濃度は、通常5~150mMの範囲で用いられる。

上記緩衝液のpHは4~9が好ましく、5~8がより好ましい。

【0021】

上記陰イオン交換クロマトグラフィー精製に用いられる溶出液としては、塩濃度が150mM以下のものが挙げられ、例えば、リン酸緩衝液、グリシン緩衝液、トリス緩衝液等に塩濃度が150mM以下になるように塩が加えられたものが挙げられる。

上記塩は特に限定されず、例えば、塩化ナトリウム(NaCl)、塩化カリウム(KCl)等が挙げられる。

上記溶出液のpHは4~9が好ましく、5~8がより好ましい。

ただし、通常は、結合液と同じ緩衝液に塩が加えられたものが用いられる。

【0022】

上記陰イオン交換クロマトグラフィーによる精製方法の好ましい1例を説明する。

まず、血清アルブミンを結合液(例えば、50mM Tris-HCl緩衝液(pH 7.5))に添加した溶液を調製する。

次いで、該溶液を結合液で平衡化した陰イオン交換カラムに添加し、結合液を流しながら

血清アルブミンを陰イオン交換カラムに吸着させる。

次いで、塩濃度が150 mM以下である溶出液を流して血清アルブミンを溶出させ、精製血清アルブミンを得る。

【0023】

上記陰イオン交換クロマトグラフィー精製により得られた精製血清アルブミンは、更に、透析法やゲルろ過法等による精製を行ってもよい。

【0024】

本発明の精製血清アルブミンは、ロット差が極めて少ないものである。

本発明の精製血清アルブミンを免疫学的測定方法におけるブロッキング剤又は不溶性担体の懸濁液として用いれば、反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定を行うことができる。 10

本発明の精製血清アルブミンを用いてなる免疫学的測定試薬もまた、本発明の1つである。

抗原抗体反応を利用した免疫学的測定方法において、ブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液として、本発明の精製血清アルブミンを用いる免疫学的測定方法もまた、本発明の1つである。

本発明の精製血清アルブミンを主成分とする免疫学的測定に用いる固相調製用試薬もまた、本発明の1つである。

本発明の精製血清アルブミンをゲルろ過によって精製した単量体は、更に免疫学的測定試薬の反応性を向上するために用いられる。 20

【0025】

本発明の免疫学的測定法について更に詳しく説明する。

本発明の免疫学的測定法の対象とする被測定物質は、例えば、生体試料中の抗原又は抗体が挙げられる。具体的には例えば、肝炎（B型、C型）由来抗原又は抗体、HIV抗原又は抗体、梅毒由来抗体、 α -フェトプロテイン等の癌マーカー、インシュリン等のホルモン、オートコイド等が挙げられる。

【0026】

なかでも、梅毒由来抗原である抗トレポネーマ・パリダム抗体を被測定物質としたときに特に効果的である。

上記抗トレポネーマ・パリダム抗体測定系に用いる抗原は、菌体破砕物であってもよく、精製物であってもよい。また、遺伝子組み換え技術により人工的に合成されたものを1種又はそれ以上組み合わせたものでもよい。 30

【0027】

本発明の免疫学的測定法は特に限定されないが、不溶性担体に抗原又は抗体を担持させたものを用いる方法が好適である。

上記不溶性担体は特に限定されず、例えば、有機高分子粉末、微生物、血球、細胞膜片等が挙げられる。なかでも有機高分子粉末が好適である。

上記有機高分子粉末は特に限定されず、例えば、天然高分子粉末、合成高分子粉末等が挙げられる。

上記天然高分子粉末は特に限定されず、例えば、不溶性アガロース、セルロース、不溶性デキストラン等が挙げられる。 40

上記合成高分子粉末は特に限定されず、例えば、ポリスチレン、スチレンスルホン酸（塩）共重合体、スチレンメタクリル酸共重合体、アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体、塩化ビニルアクリル酸エステル共重合体、酢酸ビニルアクリル酸エステル共重合体等が挙げられる。

また、上記不溶性担体は、表面にスルホン酸基やカルボキシル基等を導入したものも用いることができる。

【0028】

上記不溶性担体は、合成高分子粉末を均一に懸濁させたラテックス粒子が特に好適である。 50

上記ラテックス粒子の粒径は特に限定されないが、好ましい下限は $0.05\mu\text{m}$ 、好ましい上限は $1.5\mu\text{m}$ である。上記ラテックス粒子の粒径が $0.05\mu\text{m}$ 未満であると、凝集による光学的变化量が小さく、測定に必要な高い感度が得られないことがある。上記ラテックス粒子の粒径が $1.5\mu\text{m}$ を超えると、ラテックス粒子の凝集による光学的变化量が測定可能域を超えてしまい、測定範囲が小さくなることがある。上記ラテックス粒子の粒径のより好ましい下限は $0.1\mu\text{m}$ 、より好ましい上限は $0.8\mu\text{m}$ である。

【0029】

不溶性担体に抗原又は抗体を担持させる方法は特に限定されず、物理的、化学的結合により担持させる従来公知の方法を用いることができる。

【0030】

本発明の免疫学的測定法においては、本発明の精製血清アルブミンを上記不溶性担体（ラテックス粒子）に抗原又は抗体を担持させたものに対してブロッキング剤として用いたり、上記不溶性担体に抗原又は抗体を担持させたものの懸濁液として用いたりする。

【0031】

このようにして得られた抗原又は抗体を担持させたラテックス粒子懸濁液に対して、検体を添加し、一定時間反応させる。反応後にラテックス粒子に担持された抗原又は抗体と検体中の被測定物質との抗原抗体反応により生じる凝集の度合いを光学的に測定又は目視にて観察することにより、検体中の被測定物質を測定することができる。

【0032】

上記凝集の度合いを光学的に測定する方法は特に限定されず、用いる不溶性担体の粒子の大きさ、濃度の選択、反応時間の設定により、散乱光強度、吸収光度、透過光強度等の増減を測定する。また、これらの方法を併用することも可能である。

上記測定を行う際の光の波長は、 $300\sim 900\text{nm}$ が好ましい。

【0033】

上記の光学的測定方法に用いる装置は、散乱光強度、透過光強度、吸光度等を検出できる光学機器が挙げられ、一般的に使用されている生化学自動分析機であればいずれのものであっても用いることができる。

【0034】

上記凝集の度合いを目視にて観察する方法は、通常、検体とラテックス粒子懸濁液とを含む溶液を判定板上で混合し、混合液を揺り動かした後、凝集の有無を判定する方法等を用いることができる。なお、凝集の度合いの観察には、目視による方法以外に、凝集状態をビデオカメラ等で撮影し、画像処理を施す方法を用いることも可能である。

【発明の効果】

【0035】

本発明によれば、ロット差が少ない精製血清アルブミン、及び、該精製血清アルブミンを用いた反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定方法を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0036】

以下に実施例を挙げて本発明の態様を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例にのみ限定されるものではない。

【0037】

（実施例1）

（1）精製血清アルブミンの調製

市販の牛血清アルブミン（セロロジカル社製、「Cohn Fraction V」、以下、「未精製BSA」ともいう、Lot 83）を結合液（ 50mM Tris-HCl 緩衝液（ $\text{pH} 7.5$ ））に添加し、 15% 未精製BSA溶液を調整した。

得られた 15% 未精製BSA溶液 5mL を、結合液で平衡化した市販の陰イオン交換カラム（GE Healthcare社製、「DEAE Sepharose FF」 480mL ／「XK50」）に添加し、結合液を $4\text{mL}/\text{min}$ で流しながらBSAをカラムに吸着させた。次いで、塩化ナトリウム濃度が 80mM になるように 2M の塩化ナトリウム溶

10

20

30

40

50

液を結合液に混和した溶出液を、流速 10 mL/min で流し、 80 mM の塩濃度の溶出液で溶出されたアルブミン画分を得た。また、これとは別に、1 分間に塩化ナトリウム濃度が 2 mM ずつ増加するように 2 M の塩化ナトリウム溶液を結合液に混和しながら、流速 10 mL/min で流し、混和開始後 $73.3 \sim 74.5$ 分（塩濃度 $69.6 \sim 72.0 \text{ mM}$ 分画）に溶出されたアルブミン画分を得た。なお、得られたアルブミン画分の塩濃度は、カラム容量を考慮し、カラムから溶出されたアルブミン溶液中の塩化ナトリウム濃度を示した。

【0038】

得られた画分溶液を 100 mM リン酸緩衝液（ $\text{pH} 7.4$ ）で透析し、 1% となるように調整した。得られた精製血清アルブミンの 1% 溶液について波長 463 nm での吸光度を標準セル（ジーエルサイエンス社製、「S10-UV」、光路長 1.0 cm ）を用いて測定したところ、それぞれ 1.3 mAbs 、 5.1 mAbs であった。

また、得られた精製血清アルブミンについて、ビリルビン測定試薬（積水メディカル社製、「オートセラBIL-2」、「オートセラD-BIL-2」）を用いたアゾビリルビン法により、BSA 1 mol あたりのビリルビン結合量を測定したところ、 0.1 mmol 、 0.5 mmol であった。

以下、それぞれを「精製BSA（ $1.3 \text{ mAbs}/0.1 \text{ mmol}$ ）」、「精製BSA（ $5.1 \text{ mAbs}/0.5 \text{ mmol}$ ）」ともいう。

【0039】

（2）抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液の調製

100 mM リン酸緩衝液（ $\text{pH} 7.4$ ）に $150 \mu\text{g/mL}$ の蛋白濃度で溶解した抗トレポネーマ・パリダム抗原液 $400 \mu\text{L}$ を平均粒径 $0.4 \mu\text{m}$ のポリスチレンラテックス（固形分 $10 (\text{w/v})\%$ 、積水化学工業社製） $100 \mu\text{L}$ に添加し、 4°C にて1時間攪拌した。

次いで、精製BSA（ $5.1 \text{ mAbs}/0.5 \text{ mmol}$ ）溶液 2 mL を添加し、1時間攪拌した。得られた液体を 10°C にて10分間、 $13,000 \text{ rpm}$ で遠心分離し、得られた沈殿物を、精製BSA溶液（ $1.3 \text{ mAbs}/0.1 \text{ mmol}$ ） 4 mL に添加し、ラテックスを懸濁させることにより抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0040】

（実施例2）

1 分間に塩化ナトリウム濃度が 2 mM ずつ増加するように 2 M の塩化ナトリウム溶液を結合液に混和しながら、流速 10 mL/min で流し、混和開始後 $87.7 \sim 88.9$ 分（塩濃度 $98.4 \sim 100.8 \text{ mM}$ 分画）に溶出される精製BSA（ $0.9 \text{ mAbs}/0.1 \text{ mmol}$ ）溶液をブロッキング剤として用いたこと以外は、実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0041】

（実施例3）

1 分間に塩化ナトリウム濃度が 2 mM ずつ増加するように 2 M の塩化ナトリウム溶液を結合液に混和しながら、流速 10 mL/min で流し、混和開始後 $102.1 \sim 103.3$ 分（塩濃度 $127.2 \sim 129.6 \text{ mM}$ 分画）に溶出される精製BSA（ $3.3 \text{ mAbs}/0.3 \text{ mmol}$ ）溶液をブロッキング剤として用いたこと以外は、実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0042】

（比較例1）

BSA 溶液を陰イオン交換クロマト精製せずに（以下、未精製BSAという）用いたこと以外は、実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

また、未精製BSAの 1% 溶液について、実施例1と同様にして測定した波長 463 nm での吸光度は 9.8 mAbs 、BSA 1 mol あたりのビリルビン結合量は、 1.0 mmol

0.1であった。

【0043】

(比較例2)

1分間に塩化ナトリウム濃度が2mMずつ増加するように2Mの塩化ナトリウム溶液を結合液に混和しながら、流速10mL/minで流し、混和開始後116.5～117.7分(塩濃度156.0～158.4mM分画)に溶出される精製BSA(9.8mAbs/1.0mmol)溶液をブロッキング剤として用いたこと以外は、実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0044】

(比較例3)

10

1分間に塩化ナトリウム濃度が2mMずつ増加するように2Mの塩化ナトリウム溶液を結合液に混和しながら、流速10mL/minで流し、混和開始後130.9～132.1分(塩濃度184.8～187.2mM分画)に溶出される精製BSA(17.9mAbs/1.9mmol)溶液をブロッキング剤として用いたこと以外は、実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0045】

(比較例4)

1分間に塩化ナトリウム濃度が2mMずつ増加するように2Mの塩化ナトリウム溶液を結合液に混和しながら、流速10mL/minで流し、混和開始後145.3～146.5分(塩濃度213.6～216.0mM分画)に溶出される精製BSA(24.9mAbs/2.6mmol)溶液をブロッキング剤として用いたこと以外は、実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

20

【0046】

(評価)

実施例1～3、比較例1～4にて調製した抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を用いて、下記の方法により評価を行った。

【0047】

(1) 抗トレポネーマ・パリダム抗体標準液の測定

抗トレポネーマ・パリダム抗体標準液として、梅毒陽性標準血清(積水メディカル社製、5濃度)15μLを採取し、これに検体希釈液(BSAを1%含有する100mMリン酸緩衝液(pH7.4)にLipidure(日油社製)を0.2(w/v)%添加したもの)150μLを混和し、37℃で適時保持した。これに、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液50μLを添加、攪拌した後、約80秒から300秒までの間の波長700nmでの吸光度の変化量を測定し、吸光度変化量(ΔAbs)とした。

30

なお、測定は自動分析装置日立7170形を使用した。

結果を表1に示した。

【0048】

【表 1】

	BSAのロット	ブロッッキング剤				ラテックス懸濁液				127T. U. での吸光度変化量
		陰イオン交換クロマト精製	吸光度(A463nm)／1%BSA	ビリルビン結合量／BSA1mol	塩化ナトリウム濃度	陰イオン交換クロマト精製	吸光度(A463nm)／1%BSA	ビリルビン結合量／BSA1mol	塩化ナトリウム濃度	
比較例1	Lot83	なし	9.8mAbs	1.0mmol	—	なし	9.8mAbs	1.0mmol	—	0.0212
実施例1		あり	5.1mAbs	0.5mmol	69.6—72.0mM	あり	1.3mAbs	0.1mmol	0—80mM	0.1239
実施例2			0.9mAbs	0.1mmol	98.4—100.8mM					0.1029
実施例3			3.3mAbs	0.3mmol	127.2—129.6mM					0.0988
比較例2			9.8mAbs	1.0mmol	156.0—158.4mM					0.0593
比較例3			17.9mAbs	1.9mmol	184.8—187.2mM					0.0348
比較例4			24.9mAbs	2.6mmol	213.6—216.0mM					0.0188

(Abs)

(2) 陰性検体測定

生理食塩水及び陰性検体1～10を検体とした以外は(1)と同様にして吸光度変化量($\Delta A b s$)を求め、(1)の標準品測定結果に基づいて作成した検量線から抗体価を算出した。結果を表2に示した。

【0050】

【表2】

	比較例1	実施例1	実施例2	実施例3	比較例2	比較例3
生理食塩水	0	0	0	0	0	0
陰性検体1	4.4	1.3	1.4	0	0	17.5
陰性検体2	2.2	0	0	0	0	10.7
陰性検体3	11.0	0.6	3.2	3.1	3.7	40.7
陰性検体4	7.5	0	0	0	0.9	11.6
陰性検体5	5.0	0	0	0.1	1.5	20.0
陰性検体6	12.2	0.3	0.1	0	1.3	16.7
陰性検体7	7.5	0	0.2	3.5	0.8	0
陰性検体8	5.7	0	0	0	0.4	6.0
陰性検体9	9.1	0	0	0	2.6	9.8
陰性検体10	11.3	0	0	8.4	11.8	23.8

(T. U.)

【0051】

表1、2より、実施例で調製した抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を用いた場合には、比較例で調製したものをを用いた場合に比べて反応性が高く、かつ、非特異反応が少ないことがわかった。

【0052】

(実施例4)

市販の牛血清アルブミンとして3種のロットのもの(Lot 83、Lot 91、Lot 77)を準備した。これらの3種のロットの牛血清アルブミンの各々について実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0053】

(比較例5)

市販の牛血清アルブミンとして3種のロットのもの(Lot 83、Lot 91、Lot 77)を未精製のまま用いたこと以外は、比較例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0054】

(評価)

実施例4、比較例5にて調製した抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を用いて、下記の方法により評価を行った。

【0055】

抗トレポネーマ・パリダム抗体標準液として、梅毒陽性標準血清(積水メディカル社製、5濃度)15 μ Lを採取し、これに検体希釈液(BSAを1%含有する100mMリン酸緩衝液(pH7.4)にLipidure(日油社製)を0.2(w/v)%添加したもの)150 μ Lを混和し、37 $^{\circ}$ Cで適時保持した。これに、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液50 μ Lを添加、攪拌した後、約80秒から300秒までの間の波長700nmでの吸光度の変化量を測定し、吸光度変化量($\Delta A b s$)とした。

なお、測定は自動分析装置日立7170形を使用した。

結果を表3に示した。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 6 】
【表 3】

	BSAの ロット	ブロッキング剤			ラテックス懸濁液			127T. U. での 吸光度変化量	標準偏差
		陰イオン交換 クロマト精製	吸光度 (A463nm) ／1%BSA	ビリルビン結合量 ／BSA1mol	陰イオン交換 クロマト精製	吸光度 (A463nm) ／1%BSA	ビリルビン結合量 ／BSA1mol		
実施例4	Lot83	あり	1. 3mAbs	0. 1mmol	あり	1. 3mAbs	0. 1mmol	0. 2230	0. 0089
	Lot91							0. 2228	
	Lot77							0. 2075	
比較例5	Lot83	なし	9. 8mAbs	1. 0mmol	なし	9. 8mAbs	1. 0mmol	0. 0212	0. 0250
	Lot91							0. 0709	
	Lot77							0. 0521	

(Abs)

(Abs)

10

20

30

40

50

【0057】

表3より、実施例で調製した抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を用いた場合には、比較例で調製したものをした場合に比べてロット差が少ないことが分かった。

【0058】

(実施例5)

実施例1で得られた精製BSA溶液(1.3mAbs/0.1mmol)を濃縮し、市販のゲルろ過カラムSephacryl S-200HR(GE Healthcare社製)に添加し、溶離液として100mMのリン酸緩衝液(pH7.4)を用いてゲルろ過精製し、その単量体画分のみからなるBSAを用いたこと以外は実施例1と同様にして、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

10

【0059】

(実施例6)

実施例1で得られた精製BSA溶液(1.3mAbs/0.1mmol)をゲルろ過精製した単量体画分のみからなるBSAをブロッキング剤としてのみ用い、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液の調製には実施例1で得られた精製BSA(1.3mAbs/0.1mmol)溶液を用いたこと以外は実施例5と同様にして、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0060】

(実施例7)

実施例1で得られた精製BSA溶液(1.3mAbs/0.1mmol)をゲルろ過精製した単量体画分のみからなるBSAをブロッキング剤としてのみ用い、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液の調製には未精製BSA溶液を用いた以外は実施例5と同様にして、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

20

【0061】

(評価)

実施例5～7にて調製した抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を用いて、下記の方法により評価を行った。

【0062】

抗トレポネーマ・パリダム抗体標準液として、梅毒陽性標準血清(積水メディカル社製、5濃度)15μLを採取し、これに検体希釈液(BSAを1%含有する100mMリン酸緩衝液(pH7.4)にLipidure(日油社製)を0.2(w/v)%添加したもの)150μLを混和し、37℃で適時保持した。これに、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液50μLを添加、攪拌した後、約80秒から300秒までの間の波長700nmでの吸光度の変化量を測定し、吸光度変化量(ΔAbs)とした。

30

なお、測定は自動分析装置日立7170形を使用した。

結果を表4に示した。

【0063】

【表 4】

	BSAの ロット	ブロッキング剤				ラテックス懸濁液				127T. U. での 吸光度変化量
		陰イオン交換 クロマト精製	吸光度 (A463nm) ／1%BSA	ビリルビン結合量 ／BSA1mol	ゲルろ過精製	陰イオン交換 クロマト精製	吸光度 (A463nm) ／1%BSA	ビリルビン結合量 ／BSA1mol	ゲルろ過精製	
実施例5	Lot83	あり	1. 3mAbs	0. 1mmol	あり	あり	1. 3mAbs	0. 1mmol	あり	0. 2230
実施例6									なし	0. 1841
実施例7									なし	0. 1648

(Abs)

(Abs)

表4より、ゲルろ過精製することで更に反応性が向上することが分かった。

【0065】

(参考例1～10)

ブロッキング剤として表5に記載した比率で混合したBSA溶液を用いた以外は実施例1と同様にして抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を調製した。

【0066】

(評価)

参考例1～10にて調製した抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液を用いて、下記の方法により評価を行った。

【0067】

10

抗トレポネーマ・パリダム抗体標準液として、梅毒陽性標準血清（積水メディカル社製、5濃度）15 μ Lを採取し、これに検体希釈液（BSAを1%含有する100mMリン酸緩衝液（pH7.4）にLipidure（日油社製）を0.2（w/v）%添加したもの）150 μ Lを混和し、37℃で適時保持した。これに、抗トレポネーマ・パリダム抗原担持ラテックス液50 μ Lを添加、攪拌した後、約80秒から300秒までの間の波長700nmでの吸光度の変化量を測定し、吸光度変化量（ ΔAbs ）とした。

なお、測定は自動分析装置日立7170形を使用した。

結果を表5に示した。

また、横軸を混入BSA比率、縦軸を吸光度変化量として表5の結果をプロットしたグラフを図1に示した。

20

【0068】

【表 5】

	BSAの ロット	ブロッキング剤				ラテックス懸濁液		127T. Uでの 吸光度変化量	
		精製BSA(3. 3mAbs／0. 3mmol)		混入させるBSA		吸光度 (A463nm) ／1%BSA	ビリルビン結合量 ／BSA1mol		
		比率(重量%)	塩化ナトリウム濃度	種類	塩化ナトリウム濃度 (重量%)				
参考例1	Lot83	0	1. 0－141. 6mM	3. 3mAbs ／0. 3mmol	1. 0－141. 6mM	1. 3mAbs	0. 1mmol	0. 1285	
参考例2		85		11. 4mAbs ／1. 2mmol	141. 6－170. 4mM			15	0. 1091
参考例3		75						25	0. 0860
参考例4		65						35	0. 0774
参考例5		90		17. 5mAbs ／1. 8mmol	170. 4－199. 2mM			10	0. 0734
参考例6		80						20	0. 0465
参考例7		70						30	0. 0354
参考例8		95		23. 6mAbs ／2. 5mmol	199. 2－228. 0mM			5	0. 0632
参考例9		85						15	0. 0281
参考例10		75						25	0. 0162

(Abs)

(Abs)

【産業上の利用可能性】

10

20

30

40

50

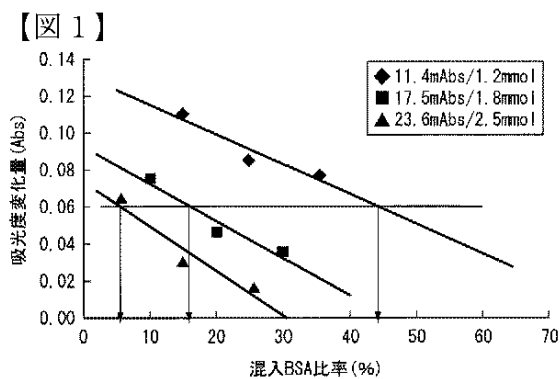
【0069】

本発明によれば、ロット差が少ない精製血清アルブミン、及び、該精製血清アルブミンを用いた反応性が高く、非特異反応の少ない免疫学的測定方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0070】

【図1】 表5の結果を横軸を混入BSA比率、縦軸を吸光度変化量としてプロットしたグラフである。



【手続補正書】

【提出日】平成21年11月30日(2009.11.30)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

免疫学的測定方法においてブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に用いる精製血清アルブミンであって、1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分を主成分とすることを特徴とする精製血清アルブミン。

【請求項2】

1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンを用いてなることを特徴とする免疫学的測定試薬。

【請求項3】

抗原抗体反応を利用した免疫学的測定方法において、ブロッキング剤及び／又は不溶性担体の懸濁液に、1%水溶液としたときに光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分を主成分とする精製血清アルブミンを用いることを特徴とする免疫学的測定方法。

【請求項4】

請求項1記載の精製血清アルブミンを主成分とすることを特徴とする免疫学的測定に用いる固相調製用試薬。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2009/056316
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/531(2006.01)i, G01N33/543(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N33/531, G01N33/543 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2009 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2009 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2009 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus (JDreamII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-046828 A (Sekisui Chemical Co., Ltd.), 18 February, 2000 (18.02.00), Par. Nos. [0019], [0021] (Family: none)	1-8
A	JP 10-197530 A (Tokuyama Corp.), 31 July, 1998 (31.07.98), Par. Nos. [0017] to [0020] (Family: none)	1-8
A	Tsugikazu TOMONO, "Bunri · Seisei Gijutsu wa Ima ~33~ Ketsueki to Bunri · Seisei Gijutsu", Kagaku Gijutsushi, 1985.11, Vol.23, No. 11, pages 47 to 53	1-8
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 16 June, 2009 (16.06.09)		Date of mailing of the international search report 30 June, 2009 (30.06.09)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/056316

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 4-134266 A (Nissho Corp.), 08 May, 1992 (08.05.92), Claims; page 3, lower right column, line 15 (Family: none)	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/056316

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The special technical feature of the inventions of claims 1-4 relate to "a purified serum albumin characterized by comprising, as the main component, a fraction having an absorbance of 9.0 mAbs or less as measured at a wavelength of 463 nm and using a quartz cell having an optical path length of 1.0 cm". The special technical feature of the inventions of claims 5-8 relate to "a purified serum albumin characterized by having a quantity of bilirubin bound thereto of 0.9 mmol or less per mol". There is no technical relation involving one or more of the same or corresponding special technical features between these groups of inventions. Thus, it cannot be regarded that these groups
(continued to extra sheet)

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/056316

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

of inventions are so linked to each other as to form a single general inventive concept.

Consequently, the inventions of claims 1-4 and the inventions of claims 5-8 do not comply with the requirement of unity of invention.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 9 / 0 5 6 3 1 6	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/531(2006.01)i, G01N33/543(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/531, G01N33/543			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2009年 日本国実用新案登録公報 1996-2009年 日本国登録実用新案公報 1994-2009年			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus(JDreamII)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
A	JP 2000-046828 A (積水化学工業株式会社) 2000.02.18, 段落【0019】、【0021】 (ファミリーなし)	1-8	
A	JP 10-197530 A (株式会社トクヤマ) 1998.07.31, 段落【0017】 - 【0020】 (ファミリーなし)	1-8	
A	伴野丞計, 分離・精製技術は今～33～血液と分離・精製技術, 化学技術誌, 1985.11, Vol.23, No11, Page.47-53	1-8	
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 の日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 16.06.2009		国際調査報告の発送日 30.06.2009	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 白形 由美子 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 4075

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 9 / 0 5 6 3 1 6
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 4-134266 A (株式会社ニッソー) 1992.05.08, 特許請求の範囲、第3頁右下欄第15行 (ファミリーなし)	1-8

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 9 / 0 5 6 3 1 6

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求項 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求項1-4に係る発明の特別な技術的特徴は、「光路長が1.0cmの石英セルを用い463nmの波長にて測定した吸光度が9.0mAbs以下である画分を主成分とすることを特徴とするせい精製血清アルブミン」に関し、請求項5-8に係る発明の特別な技術的特徴は、「1molあたりのビリルビン結合量が0.9mmol以下であることを特徴とする精製血清アルブミン」に関するものである。これらの発明は、一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術関係にないから、単一の一般的発明概念を形成するように関連しているものとは認められない。

よって、請求項1-4に係る発明と請求項5-8に係る発明は、発明の単一性の要件を満たしていない。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☒ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210（第1ページの続葉（2））（2007年4月）

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 川本 道子

日本国茨城県龍ヶ崎市向陽台3丁目3-1 積水メディカル株式会社内

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	纯化血清白蛋白和免疫学测定方法		
公开(公告)号	JPWO2009123060A1	公开(公告)日	2011-07-28
申请号	JP2009532472	申请日	2009-03-27
[标]申请(专利权)人(译)	积水医疗株式会社		
申请(专利权)人(译)	积水医疗有限公司		
[标]发明人	原康之 赤峰隆之 吉川勝己 川本道子		
发明人	原 康之 赤峰 隆之 吉川 勝己 川本 道子		
IPC分类号	G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/54393		
FI分类号	G01N33/531.Z		
优先权	2008093001 2008-03-31 JP		
其他公开文献	JP4452324B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的目的是提供具有小的反应差异和小的非特异性反应的，具有很多差异的纯化的血清白蛋白和使用该纯化的血清白蛋白的免疫学测定方法。本发明是在免疫学测定方法中在封闭剂和/或不溶性载体的悬液中使用血清白蛋白，使用石英电池在波长463nm下的1%水溶液的光路长度为1.0cm。它是一种纯化的血清白蛋白，其主要成分是其吸光度通过9.0 mAbs或更小的部分。

[illegible]