

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02017/179611

発行日 平成31年2月21日 (2019. 2. 21)

(43) 国際公開日 平成29年10月19日 (2017. 10. 19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/531 (2006.01)	GO 1 N 33/531	B
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)

出願番号	特願2018-512041 (P2018-512041)	(71) 出願人	591122956 株式会社 L S I メディエンス 東京都千代田区内神田一丁目 1 3 番 4 号
(21) 国際出願番号	PCT/JP2017/014943	(74) 代理人	100139594 弁理士 山口 健次郎
(22) 国際出願日	平成29年4月12日 (2017. 4. 12)	(74) 代理人	100090251 弁理士 森田 憲一
(31) 優先権主張番号	特願2016-80660 (P2016-80660)	(72) 発明者	清水 隆平 東京都千代田区内神田一丁目 1 3 番 4 号 株式会社 L S I メディエンス内
(32) 優先日	平成28年4月13日 (2016. 4. 13)	(72) 発明者	庄司 慶一 東京都千代田区内神田一丁目 1 3 番 4 号 株式会社 L S I メディエンス内
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 硫酸化多糖類を用いた免疫学的測定法

(57) 【要約】

生体試料中の測定対象物質（例えば、s I L - 2 R）を免疫学的に検出する場合に、一般的に多用される、異なる血液凝固阻害剤の使用による血清、ヘパリン加血漿といった被検試料の種類に関わらず、被検試料中の干渉物質の影響を受けることなく安定的で高精度な測定値を得ることができる測定方法及びキットを提供する。

測定対象物質とそれに特異的に結合する抗体との免疫複合体の形成を硫酸化多糖類の存在下で行う。前記キットは、測定対象物質に特異的に結合する抗体と、硫酸化多糖類を含有する緩衝液を含む。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

生体試料中の測定対象物質を免疫学的に測定する方法において、測定対象物質と該測定対象物質に特異的に結合する抗体との免疫複合体の形成を硫酸化多糖類の存在下で行うことを特徴とする、該測定対象物質を測定する方法。

【請求項 2】

生体試料中の測定対象物質の免疫学的測定において、抗凝固剤としてヘパリンを添加した血液試料を用いた場合の測定値と、血清を用いた場合の測定値との間の乖離を減少させる方法であって、測定対象物質と該測定対象物質に特異的に結合する抗体との免疫複合体の形成を硫酸化多糖類の存在下で行うことを特徴とする、前記方法。

10

【請求項 3】

前記硫酸化多糖類が、デキストラン硫酸、シクロデキストリン硫酸である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記硫酸化多糖類を検体希釈液及び / 又は抗体溶液に含有する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記形成された免疫複合体を B / F 分離する工程を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

測定対象物質に特異的に結合する第 1 抗体と第 2 抗体を接触させ、抗原抗体反応により形成された免疫複合体を測定する、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 7】

測定対象物質が、可溶性インターロイキン 2 受容体、前立腺特異抗原である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法のための、測定対象物質に特異的に結合する抗体と、硫酸化多糖類を含有する緩衝液を含む、該測定対象物質測定キット。

【請求項 9】

前記抗体として、磁性粒子に担持された前記測定対象物質に特異的に結合する抗体を含む、請求項 8 に記載のキット。

30

【請求項 10】

測定対象物質が、可溶性インターロイキン 2 受容体、前立腺特異抗原である、請求項 8 又は 9 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、硫酸化多糖類を用いた異種被検試料間（特に、血清とヘパリン加血漿の間）の測定値乖離を抑制する免疫学的測定法およびキットに関する。

【背景技術】

40

【0002】

抗原抗体反応により光学的に測定する免疫学的測定法において、採取する採血管の違い、例えば、血清被検試料と血漿被検試料の測定値が乖離する現象が確認され問題になる場合がある。乖離の原因は測定対象項目により様々であり、これまでに知られている知見の一つには、血漿中に含まれるフィブリノーゲンの不溶化による血漿被検試料の測定値への影響が挙げられる。その影響を、界面活性剤を含む反応系に配位数 3 個以下のキレート剤を含ませることで回避する技術が知られている（特許文献 1）。

【0003】

また、例えば、種々の心筋トロポニンを評価するために、血液試料（血清、血漿または全血）が通常使用される。しかし、この選択は使用方法によって制限され得る。例え

50

ば、血清は心筋トロポニンの迅速な評価のための方法に不適切な生物学的試料であること、または全血は定量的アッセイの実施を困難にさせることが知られているからである。ヘパリン加血漿又はヘパリン加全血を用いて実施する免疫学的測定において、使用する方法の性能が非常に高い場合でさえ、信頼性に乏しい結果がしばしば得られる。一般に、血漿中の心筋トロポニン濃度がさほど高くない場合に、この問題に遭遇する（非特許文献1）。実際、血液試料中のヘパリンの存在が種々の免疫学的測定の間干渉し測定結果に影響を与え、それによって医師の臨床診断を修飾し得ることが知られている。

【0004】

今までに心筋トロポニンアッセイで検体中の干渉物質の影響を回避する方法に関して、ヘパリン含有生物学的試料に対しヘキサジメトリンプロミド（ポリブレン）の存在下で実施されることを特徴とする免疫学的測定法が開示されている（特許文献2）。 10

しかし、安定して臨床検体を測定するために、未だ十分なものでは無かった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特許第5189067号公報

【特許文献2】特開2010-107363号公報

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】P. O. Collison et al., Ann. Clin. Biochem. Hem., (1995), 32, pp. 454 - 458 20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明者らは、後述する実施例でも詳述するが、免疫学的手法により生体試料（血清及びヘパリン加血漿）中の可溶性インターロイキン2受容体（以下、sIL-2Rと略する場合がある）を測定することを試みたところ、該生体試料から調製された測定用の被検試料（以下、検体と称する場合がある）の種類が異なることによって、測定値に違いが生じることに気がついた。

本発明は、生体試料中の測定対象物質（例えば、sIL-2R）を検出する場合に、一般的に多用される、異なる血液凝固阻害剤の使用による血清、ヘパリン加血漿といった被検試料の種類に関わらず、被検試料中の干渉物質の影響を受けることなく安定的で高精度な測定値を得ることができる測定方法及びキットを提供することを目的とする。 30

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、上記のような現状に鑑みて鋭意検討を重ねた結果、血清及びヘパリン加血漿中のsIL-2Rを免疫学的に測定する方法において、反応液中に硫酸化多糖類が添加された条件下で、該sIL-2Rを測定することによって、被検試料の種類に関わらず、被検試料中の干渉物質の影響を受けることなく安定的で高精度な測定値を得ることを見出し、本発明を完成した。特に、硫酸基を持たない多糖類及び多糖類を持たず硫酸基を含む化合物を共存させた場合では上記のような効果は得られず、硫酸化多糖類を共存させた場合でないと上記の高い効果が得られないことは驚くべきことであった。また、B/F分離を行ったにも関わらず、硫酸化多糖類を共存させないと、被検試料中の干渉物質の影響を受けたことから、該干渉物質は、従来知られていたフィブリノーゲンの不溶化やヘモグロビンの影響等ではないと考えられた。 40

【0009】

よって、本発明は、以下のように例示できる。

[1] 生体試料中の測定対象物質を免疫学的に測定する方法において、測定対象物質と該測定対象物質に特異的に結合する抗体との免疫複合体の形成を硫酸化多糖類の存在下で行うことを特徴とする、該測定対象物質を測定する方法、 50

[2] 生体試料中の測定対象物質の免疫学的測定において、抗凝固剤としてヘパリンを添加した血液試料を用いた場合の測定値と、血清を用いた場合の測定値との間の乖離を減少させる方法であって、測定対象物質と該測定対象物質に特異的に結合する抗体との免疫複合体の形成を硫酸化多糖類の存在下で行うことを特徴とする、前記方法、

[3] 前記硫酸化多糖類が、デキストラン硫酸、シクロデキストリン硫酸である、[1] 又は [2] の方法、

[4] 前記硫酸化多糖類を検体希釈液及び / 又は抗体溶液に含有する、[1] ~ [3] のいずれかの方法、

[5] 前記形成された免疫複合体を B / F 分離する工程を含む、[1] ~ [4] のいずれかの方法、

[6] 測定対象物質に特異的に結合する第 1 抗体と第 2 抗体を接触させ、抗原抗体反応により形成された免疫複合体を測定する、[1] ~ [5] のいずれかの方法、

[7] 測定対象物質が、可溶性インターロイキン 2 受容体、前立腺特異抗原である、[1] ~ [6] のいずれかの方法、

[8] [1] ~ [7] のいずれかの方法のための、測定対象物質に特異的に結合する抗体と、硫酸化多糖類を含有する緩衝液を含む、該測定対象物質測定キット、

[9] 前記抗体として、磁性粒子に担持された前記測定対象物質に特異的に結合する抗体を含む、[8] のキット、

[10] 測定対象物質が、可溶性インターロイキン 2 受容体、前立腺特異抗原である、[8] 又は [9] のキット。

【発明の効果】

【0010】

本発明の方法、及び試薬キットを用いることにより、生体試料中の測定対象物質（例えば、s I L - 2 R）を、一般的に多用されている、被検試料（血清及びヘパリン加血漿）の種類に関わらず、被検試料中の干渉物質の影響を受けることなく安定に精度よく測定することができる。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明における生体試料とは、ヒト等から採取された測定対象物質（例えば、s I L - 2 R）を含む可能性がある試料である。生体試料としては、全血、血清、血漿などの血液試料などが挙げられるが、特に被検試料に、血清とヘパリン加血漿が含まれることが好ましい。

【0012】

本発明に使用可能な被検試料（検体）としては、前記生体試料から調製することができる測定用試料であれば良く、例えば、血液試料を対象とした場合には、血液凝固阻害剤を使用して得た全血、血清、血漿などの検体が挙げられる。血液凝固阻害剤としては、例えば、ヘパリン、E D T A、クエン酸等を用いることができる。これらは、好ましくは、ヒト等の測定対象から採血を行う際に、あらかじめ採血管等に添加して用いることができる。特に、血清及びヘパリン加血漿を並列して対象とする場合、本発明の効果が高いので好ましい。

【0013】

本発明で対象とする測定対象物質は、免疫測定法で測定可能な物質であれば特に制限は無い。例えば、タンパク質、糖タンパク質、脂質タンパク質、レセプター、酵素、ウィルス抗原、抗ウィルス抗体等が挙げられ、具体的には、可溶性インターロイキン 2 受容体（s I L - 2 R）、前立腺特異抗原（P S A）、B 型肝炎ウィルス表面抗原（H B s A g）、C 型肝炎ウィルス（H C V）抗体および抗原、ヒト免疫不全ウィルス（H I V）抗体、ヒト T 細胞白血病ウィルス - 1（H T L V - 1）抗体、梅毒トレポネーマ（T P）抗体等、各種心筋マーカー（クレアチンキナーゼ（C K M B）、ミオグロビン、トロポニン）、各種ホルモン類等が挙げられる。好ましくは、可溶性インターロイキン 2 受容体である。可溶性インターロイキン 2 受容体とは、主に免疫細胞である T 細胞の膜上に存在し、リガ

10

20

30

40

50

ンドであるインターロイキン2と複合体を形成し、T細胞機能の活性化を促進するなど、免疫反応に関与している受容体である2)。インターロイキン2受容体は3種類サブタイプを持ち、その中のサブユニットは細胞膜から単離し、血中に存在することが知られている。可溶性インターロイキン2受容体はインターロイキン2との結合性を保持することから、生体の免疫調節にも関与しているとされ、臨床現場では主に急性白血病のマーカーとして使用されている。

【0014】

本発明で使用可能な免疫学的測定法は、測定対象物質に特異的な抗体を使用する公知の方法であれば良い。例えば、免疫比濁法(TIA)、酵素免疫測定法(EIA)、放射免疫測定法(RIA)、ラテックス凝集反応法、蛍光免疫測定法、イムノクロマト法等が挙げられる。具体的には、反応液中で、被検試料中の測定対象物質と該測定対象物質に特異的な抗体との免疫複合体を形成させ、その形成されたことによるシグナルを適宜検出することで該測定対象物質の存在を検出する方法である。測定系によって使用する抗体は決定することができるが、高感度に定量的に測定する際には、2種類以上の抗体を使用するサンドイッチ免疫学的測定法(サンドイッチイムノアッセイ)を選択することができる。サンドイッチ免疫学的測定法の方法は、1以上の段階(2段階、3段階など)で実施してもよい。例えば、測定対象物質と、B/F分離用の不溶性担体に担持された該測定対象物質に特異的に結合する抗体との免疫複合体を形成させる工程、該免疫複合体をB/F分離する工程、分離された該免疫複合体を測定する工程を含む方法が挙げられる。

10

【0015】

例えば、生体試料中に含まれるsIL-2Rを測定対象物質として、これを測定する場合には、前述のように該生体試料から調製された検体を、更に検体希釈液で測定用検体として調製し、sIL-2Rに特異的に結合する抗体(第1抗体)を担持させた不溶性担体、および標識物質で標識化された第1抗体とは異なるsIL-2Rに特異的に結合する抗体(第2抗体)とを混合して免疫複合体を形成させ、洗浄によって未反応の抗体およびsIL-2Rを除去(B/F分離)した後、不溶性担体に結合した標識物質の量を測定することによって行うことができる。

20

【0016】

上記の不溶性担体は、当該技術において通常用いられるものを用いることができる。不溶性担体の材料としては、例えば、ラテックス、ゴム、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、スチレン-ブタジエン共重合体、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル、ポリアクリルアミド、ポリメタクリレート、スチレン-メタクリレート共重合体、ポリグリシジルメタクリレート、アクロレイン-エチレングリコールジメタクリレート共重合体、ポリビニリデンジフルオライド(PVDF)、シリコンなどのポリマー材料；アガロース；ゼラチン；赤血球；シリカゲル、ガラス、不活性アルミナ、磁性体などの無機材料などが挙げられる。これらの1種又は2種以上を組み合わせてもよい。

30

【0017】

また、不溶性担体の形状としては、マイクロタイタープレート、試験管、ビーズ、粒子、ナノ粒子などが挙げられる。粒子としては、磁性粒子、ポリスチレンラテックスのような疎水性粒子、粒子表面にアミノ基、カルボキシル基などの親水基を有する共重合ラテックス粒子、赤血球、ゼラチン粒子などが挙げられる。中でも、迅速簡便なB/F分離を実現する観点においては磁性粒子が特に好ましく、具体的には、例えば、四酸化三鉄(Fe_3O_4)、三酸化二鉄(Fe_2O_3)、種々のフェライト、鉄、マンガン、ニッケル、コバルト、クロムなどの金属、コバルト、ニッケル、マンガンなどの合金からなる微粒子等の磁性粒子が好ましく用いられる。また、これらの磁性粒子を、ポリスチレン等の高分子のラテックスや、ゼラチン、リポソーム等の内部に含まれる形で調製したり、表面に固定化したものを好ましく用いることができる。

40

【0018】

これらの不溶性担体に第1抗体を固定化させる方法は、当該技術において公知である。該固定化は、例えば物理的吸着法、共有結合法、イオン結合法、これらの組み合わせなど

50

により行うことができる。

【0019】

標識物質は、通常の免疫学的測定法において用い得る標識物質であれば特に限定されず、例えば、酵素、蛍光物質、放射性同位元素、不溶性粒状物質などが挙げられる。該標識用の酵素としては、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、チロシナーゼ、酸性ホスファターゼなどが上げられる。蛍光物質としては、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)、グリーン蛍光タンパク質(GFP)、ルシフェリンなどが上げられる。放射性同位元素としては、 ^{125}I 、 ^{14}C 、 ^{32}P などが挙げられる。

【0020】

また、標識物質が酵素である場合、該酵素に対する基質を用いて発光、蛍光又は発色反応を行うことにより、標識物質を測定できる。例えば、酵素がアルカリホスファターゼである場合、基質としては、CDP-star(登録商標)(4-クロロ-3-(メトキシスピロ{1,2-ジオキセタン-3,2'-(5'-クロロ)トリシクロ[3.3.1.1^{3,7}]デカン}-4-イル)フェニルリン酸2ナトリウム)、CSPD(登録商標)(3-(4-メトキシスピロ{1,2-ジオキセタン-3,2-(5'-クロロ)トリシクロ[3.3.1.1^{3,7}]デカン}-4-イル)フェニルリン酸2ナトリウム)、AMPDP(登録商標)(アダマンチルメトキシフェニルホスホリルジオキセタン)、APS-5などの化学発光基質; 4-メチルウンベリフェリルフォスフェート(4-methylumbelliferyl phosphate)などの蛍光基質; p-ニトロフェニルホスフェート、BCIP(5-ブromo-4-クロロ-3-インドリル-リン酸)、NBT(4-ニトロブルーテトラゾリウムクロリド)、INT(ヨードニトロテトラゾリウム)などの発色基質を用いることができる。

【0021】

本発明において用いられる測定対象物質に特異的に結合する抗体は、当業者であれば公知のものを適宜選択して使用することができる。例えば、sIL-2Rに特異的に結合する抗体は、sIL-2Rのアミノ酸配列や立体構造等をエピトープとして認識するモノクローナル抗体、またはポリクローナル抗体であれば特に限定するものではないが、例えば、抗体AM92.3(ピアース社製)、モノクローナル抗体7G7/B6(ピアース社製)、MAB223(R&D Systems社製)、MAB623(R&D Systems社製)、MAB1020(R&D Systems社製)、YNRhIL2R(SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY社製)、IL2R.1(アブカム社製)、B-B10(Lifetechnologies社製)、EPR6452(Genetex社製)、OAPA00004(AVIVA system biology社製)、DM254-05(Acris antibodies社製)等が挙げられる。

【0022】

これらの抗体は、公知の方法に従って、例えば、sIL-2Rの場合には、ヒトT細胞から精製したsIL-2Rや、*in vitro*で作製したリコンビナントのsIL-2Rなどを抗原とし、動物に免疫して作製し、更に、エピトープを決定することができる。エピトープとは、抗体が認識する最少の領域だけでなく、抗体が認識可能な領域として同定されたものを意味する。また、公知の方法で調製可能なFabなどの抗体フラグメントであってもよい。また、これらの抗体は、Genway Biotech社、Diaclone社、Santa Cruz社、R&D Systems社、などから適宜購入することができる。

【0023】

本発明の測定において、2種類の抗体を使用する場合、生体試料中の測定対象物質(例えば、sIL-2R)と免疫複合体を形成することが可能であれば、限定するものではないが、第1抗体と第2抗体が認識するエピトープが異なる方が好ましい。また、モノクローナル抗体とポリクローナル抗体は適宜組み合わせ使用することができる。また、第1抗体および第2抗体は、それぞれ1種類に限定することなく2種類以上を併用することが

10

20

30

40

50

できる。

【0024】

本発明における硫酸化多糖類の添加は、上記の免疫学的測定法において、測定対象物質（例えば、s I L - 2 R）と該測定対象物質（例えば、s I L - 2 R）に特異的に結合する抗体の少なくとも第一回目の免疫複合体形成時（反応液中）に存在するように行われれば良い。具体的には、免疫複合体形成時（反応液中）に同時に添加されても良いが、複合体形成前（前記抗体と前記測定対象物質含有検体が接触する前）に、検体に添加されても良い。

【0025】

また、添加される硫酸化多糖類は、公知の緩衝液に溶解されて溶液として調製され得る。緩衝剤の他、単独で調製されても良いが、検体の前処理や、反応時に必要な公知の物質と共に調製されても良い。硫酸化多糖類は、前記のように、少なくとも免疫複合体形成時（反応液中）に添加されていれば良いので、その際に存在させることが可能な緩衝液等に含有させることができる。免疫複合体形成時に存在させることが可能な緩衝液等とは、使用する測定法や装置によって適宜設定可能であるが、例えば、検体希釈液や、抗体溶液（抗体固相粒子液や、標識抗体液など）などが挙げられる。また、複数の緩衝液に添加させても良い。

【0026】

本発明における硫酸化多糖類としては、硫酸デキストラン、シクロデキストリン硫酸、N - アセチルヘパリン（N A H）、N - アセチル - 脱 - O - 硫酸化 - ヘパリン（N A - d e - o - S H）、脱 - N - 硫酸化 - ヘパリン（D e - N S H）、脱 - N - 硫酸化 - アセチル化 - ヘパリン（D e - N S A H）、過ヨウ素 - 酸化ヘパリン（P O H）、化学的硫酸化ラミナリン（C S L）、化学的硫酸化アルギン酸（C S A A）、化学的硫酸化ペクチン（C S P）、ヘパリン - 誘導オリゴ糖（H D O）、ペントサンポリサルフェート（P P S）、およびフコイダン等が挙げられる。好ましくは、硫酸デキストラン、シクロデキストリン硫酸が挙げられる。該物質が、反応液中でイオンとして存在できるように供給されればどのような形態で添加されても良いが、例えば、塩化硫酸化多糖類、臭化硫酸化多糖類等が挙げられ、具体的には、塩化リチウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、塩化マグネシウム、塩化アンモニウム、臭化リチウム、臭化ナトリウム、臭化カリウム、臭化カルシウム、臭化マグネシウム、臭化アンモニウム等を共存させることが挙げられ、塩化ナトリウムが好ましい。

【0027】

本発明における硫酸化多糖類の濃度としては、前記免疫複合体形成時の濃度として、0 . 0 0 0 0 0 0 4 % より大きく、0 . 0 0 0 0 0 4 % 以上、好ましくは0 . 0 0 0 0 4 % 以上、より好ましくは0 . 0 0 0 4 % 以上、より好ましくは0 . 0 0 4 % 以上、より好ましくは0 . 0 4 % 以上、より好ましくは0 . 0 1 % 以上、より好ましくは0 . 0 2 % 以上、また、1 % 以下、好ましくは0 . 4 % 以下、より好ましくは0 . 0 4 % 以下の範囲から適宜組み合わせで選択される。本発明では、生体試料中の硫酸化多糖類（例えば、ヘパリン加血漿中のヘパリン）の存在にかかわらず、反応液中の硫酸化多糖類が上記の濃度範囲となるように存在させておくものである。尚、反応液中の硫酸化多糖類をあまり高めると、抗原抗体反応が抑制（阻害）されて目的の測定が精度よく行なうことができなくなるので、注意が必要である。また、本発明に従って検体の種類に関係なく安定して高精度に生体試料中のs I L - 2 Rを測定するために、検体に含まれる測定対象物質（例えばs I L - 2 R）の量や使用する硫酸化多糖によって、添加する濃度を決定することは設計の範囲である。

例えば、デキストラン硫酸（分子量20,000）は0.0000004%以上0.04%以下、デキストラン硫酸（分子量4,000）は0.0004%以上0.04%以下、シクロデキストリン硫酸塩は0.02%以上0.4%以下等が挙げられる。

【0028】

本発明における硫酸化多糖類の濃度や種類は、後述の実施例に示すように、ヘパリンを

添加した血液試料（ヘパリン加血漿）と、それ以外の血液試料（血清）とを用意し、複数の異なる濃度の硫酸化多糖類の存在下で、各血液試料中の測定対象物質（例えば s I L - 2 R）を測定し、両試料の測定値が一致する硫酸化多糖類の濃度範囲を把握することにより、当業者であれば容易に決定することができる。すなわち、本発明における硫酸化多糖類の濃度や種類は、抗凝固剤としてヘパリンを添加した血液試料（ヘパリン加血漿）を用いた場合の測定値と、それ以外の血液試料（血清）を用いた場合の測定値とが一致する濃度範囲から選択することができる。測定値が一致するとは、具体的には、測定値（測定機器から提供された光学カウントや標準物質を用いて計算された濃度等）が、マイナス 10% ~ プラス 10% の間に入っていることを意味する。一般的に、この間に入っていれば、臨床的に有用であるとする事ができる。

10

【0029】

本発明のキットは、本発明の方法を実施するために用いることができ、測定対象物質（例えば、s I L - 2 R）に特異的に結合する抗体と、硫酸化多糖類を含有する緩衝液を含む。

【0030】

測定対象物質に特異的に結合する抗体とは、前述した公知の抗体を使用することができるし、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体のいずれであることもできる。また、心筋トロポニンへの特異的結合能を保持する抗体断片、例えば、F a b、F a b'、F (a b')₂、又は F v として、キットに用いることもできる。

【0031】

更に、前記抗体は、そのままの状態でもキットに用いることもできるし、利用する免疫学的手法に基づいて、それに適した形態、例えば、ラテックス凝集免疫測定法を利用するのであれば、ラテックス担体に固定した状態で、磁性粒子などを利用した高感度測定法を利用するのであれば、磁性粒子に固定した状態で、イムノクロマトグラフ法などの基板を利用する方法であれば、基板に固定した状態で、標識物質（例えば、酵素、蛍光物質、化学発光物質、放射性同位体、ビオチン、アビジン）による標識の必要があれば、標識化した状態で、キットに用いることもできる。

20

【0032】

前記硫酸化多糖類を含む緩衝液としては、前述を参照すれば良いが、例えば、検体希釈液や抗体溶液（抗体固相粒子液や標識抗体液）などが挙げられる。好ましくは、検体希釈液として調製されていると良い。

30

【0033】

また、本発明のキットには、本発明のキットを使用する免疫学的測定法の実施手順に関する説明、キット自体の保存・取り扱いなどに関する注意事項などが記載された取扱説明書を含むことができる。

【実施例】**【0034】**

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【0035】

《参考例 1：可溶性インターロイキン 2 受容体測定用試薬の作製と測定》
参考例 1 - 1：可溶性インターロイキン 2 受容体測定用試薬の作製と被検試料の調製
可溶性インターロイキン 2 受容体（s I L - 2 R）の測定用の試薬を作製した。

40

【0036】

・検体希釈液：0.1 mol / L H E P E S (8.0)、0.15 mol / L N a C l、0.05% T w e e n 20 を含む緩衝液を使用した。

【0037】

・第 1 抗体溶液：磁性ラテックス粒子（J S R 社）に s I L - 2 R を認識するマウスモノクローナル抗体（R & D S y s t e m s 社製）を結合した磁性粒子溶液を用いた。

【0038】

50

・第2抗体溶液：s I L - 2 Rを認識する別のマウスモノクローナル抗体（R & D S y s t e m s社製）をマレイミド法によりアルカリホスファターゼ（A L P）標識した標識抗体溶液を用いた。

【0039】

・発光基質溶液：C D P - s t a r（アプライドバイオシステム社製）を使用した。

【0040】

・B / F洗浄液：0 . 0 1 m o l / L M O P S（7 . 5）、0 . 1 5 m o l / L N a C l、0 . 0 5 % T r i t o n X - 1 0 0を含む緩衝液を使用した。

【0041】

・被検試料（検体）は、常法に従って、健常人から取得した血清、ヘパリン加血漿を用いた。

10

【0042】

参考例1 - 2：可溶性インターロイキン2受容体測定用試薬による測定

全自動臨床検査システム（S T A C I A：L S Iメディアエンス社製）による測定

S T A C I A専用ボトルに、調製した検体希釈液、第1抗体溶液（磁性ラテックス試薬）、第2抗体溶液（酵素標識抗体試薬）をそれぞれ充填し、装置にセットした。以下、前記装置の運転方法に従い、測定した。

具体的には、検体 5 μ Lに検体希釈液 5 0 μ Lを加え、3 7 で3 . 5分間加温した後、第1抗体溶液（磁性ラテックス試薬）2 5 μ Lを加え、3 7 で4 . 2分間加温した。検体中のs I L - 2 Rは第1抗体（磁性ラテックス）と反応し、磁性ラテックス - s I L - 2 R複合体を形成した。次いで、第2抗体溶液（酵素標識抗体試薬）5 0 μ Lを加え、3 7 で4 . 4分間加温した。第2抗体溶液（A L P標識抗体）を加えると、A L P標識抗体は磁性ラテックス - s I L - 2 R複合体と反応し、磁性ラテックス - s I L - 2 R - A L P標識抗体複合体を形成した。洗浄によって未反応の抗体およびs I L - 2 Rを除去（B / F分離）した後、発光基質液 1 0 0 μ Lを加え、3 7 で2 . 7分間反応後に発光量を測定した。C D P - S t a rを加えると、C D P - S t a rは複合体中のA L Pにより加水分解され発光する。検出は、光電子増倍管（P M T）により検出される化学発光基質の発光カウントを測定結果とした。

20

【0043】

《実施例1：反応液への硫酸化多糖類又は硫酸基を持たない多糖類又は多糖類を持たず硫酸基を含む化合物の添加によるs I L - 2 Rの反応性への影響》

30

硫酸化多糖類又は硫酸基を持たない多糖類又は多糖類を持たず硫酸基を含む化合物を、反応液中に下記の濃度になるように検体希釈液に添加したこと以外は、参考例1に従って行った。

・硫酸化多糖類：デキストラン硫酸塩（分子量4 0 0 0）を、0 . 0 4 %になるように検体希釈液に添加した。シクロデキストリン硫酸塩を、0 . 0 4 %になるように検体希釈液に添加した。

・硫酸基を持たない多糖類：デキストランを、0 . 0 4 %になるように検体希釈液に添加した。シクロデキストリンを、0 . 0 4 %になるように検体希釈液に添加した。

・多糖類を持たず硫酸基を含む化合物：C H A P S Oを、0 . 0 4 %になるように検体希釈液に添加した。オクタン酸ナトリウムを、0 . 0 4 %になるように検体希釈液に添加した。それ以外は、参考例1に従って行った。

40

【0044】

その結果を表1に示す。ヘパリン加血漿のカウントを血清のカウントで割った後1 0 0を掛けたものを、ヘパリン加血漿 / 血清として示した。添加無しの例だと、血清およびヘパリン加血漿とでは、可溶性インターロイキン2受容体の反応性が異なることがわかった。さらに、デキストラン硫酸塩（分子量4 0 0 0）やシクロデキストリン硫酸塩などの、硫酸基を持つ多糖類（硫酸化多糖類）では血清とヘパリン加血漿の反応性が一致する（ヘパリン加血漿 / 血清が9 9 %あるいは1 0 0 %）が、デキストランやシクロデキストリンなどの硫酸基を持たない多糖類、あるいは、C H A P S Oやオクタン酸ナトリウムなど

50

の多糖類を持たず硫酸基を含む化合物のみでは血清とヘパリン加血漿の反応性は一致しなかった（ヘパリン加血漿 / 血清が 130% ~ 138%）。血清とヘパリン加血漿の反応性を一致させるには、硫酸基を持つ多糖類の添加が必要であることが示された。

【0045】

【表1】

	添加無し	デキストラン硫酸 (4,000)	β シクロ デキストリン 硫酸塩	デキストラン (2,000)	シクロ デキストリン	CHAPSO	オクタン酸 ナトリウム
血清試料 (count)	15544	21591	21328	16185	16156	15508	16224
ヘパリン加血漿試料 (count)	20779	21462	21310	21112	22316	20981	21349
ヘパリン加血漿 / 血清	134%	99%	100%	130%	138%	135%	132%

10

【0046】

《実施例2：反応液への各種硫酸化多糖類添加による可溶性インターロイキン2受容体の反応性への影響》

以下に記載すること以外は、参考例1の手法に従って行った。

・検体希釈液：0.1 mol / L HEPES (8.0)、0.15 mol / L NaCl、0.05% Tween 20、0.4 mmol / L エチレンジアミン四酢酸を含む緩衝液を使用した。

・デキストラン硫酸（分子量20,000）を、反応液中に各濃度（0.0000004、0.000004、0.00004、0.0004、0.004、0.04%）になるように検体希釈液に添加した。

・デキストラン硫酸（分子量4,000）を、反応液中に各濃度（0.0000004、0.00004、0.0004、0.004、0.04%）になるように検体希釈液に添加した。

・シクロデキストリン硫酸塩を、反応液中に各濃度（0.004、0.01、0.02、0.04、0.08、0.2、0.4%）になるように検体希釈液に添加した。

・標準品：組み換えsIL-2Rを100000、40000、2500、500、0 U / mLになるように希釈したものをを用いた。希釈には0.05 mol / L PBS (7.4)、0.05% Tween 20、0.1% BSA、0.05% アジ化ナトリウムを含む緩衝液を使用した。該標準品を使用し、公知の方法に従って、発光カウントから各濃度（U / mL）を算出した。

20

30

【0047】

その結果を表2に示す。ヘパリン加血漿の濃度を血清の濃度で割った後100を掛けたものを、ヘパリン加血漿 / 血清として示した。添加無しの例だと、血清およびヘパリン加血漿とでは、可溶性インターロイキン2受容体の反応性が異なることがわかった。

その結果、一致とみなす範囲をマイナス10% ~ プラス10%とすると、デキストラン硫酸塩（分子量20,000）は0.0000004%以上、デキストラン硫酸（分子量4,000）は0.0004%以上、シクロデキストリン硫酸塩は0.004%以上添加されることにより、血清およびヘパリン加血漿の可溶性インターロイキン2受容体の反応性が一致することが確認された。

40

【0048】

【表 2】

デキストラン硫酸塩 (分子量20,000)

硫酸化多糖濃度 (%)	0	0.0000004%	0.000004%	0.00004%	0.0004%	0.004%	0.04%
血清試料 (U/mL)	119	185	224	259	259	270	271
ヘパリン血漿試料 (U/mL)	142	223	223	247	252	266	267
ヘパリン血漿/血清	119%	121%	100%	95%	97%	99%	99%

デキストラン硫酸塩 (分子量4,000)

硫酸化多糖濃度 (%)	0	0.000004%	0.00004%	0.0004%	0.004%	0.04%
血清試料 (U/mL)	119	175	176	217	259	262
ヘパリン血漿試料 (U/mL)	142	217	217	235	245	249
ヘパリン血漿/血清	119%	124%	123%	108%	95%	95%

10

 β シクロデキストリン硫酸塩

硫酸化多糖濃度 (%)	0.000%	0.004%	0.01%	0.02%	0.04%	0.08%	0.2%	0.4%
血清試料 (U/mL)	119	147	161	173	170	180	192	191
ヘパリン血漿試料 (U/mL)	142	149	174	175	168	162	174	189
ヘパリン血漿/血清	119%	101%	108%	101%	99%	90%	91%	99%

20

【0049】

《比較例 1：反応液への硫酸基を持たない多糖類及び多糖類を持たず硫酸基を含む化合物の添加による s I L - 2 R の反応性への影響》

硫酸化多糖類と同様な反応性となるか、硫酸基を持たない多糖類及び多糖類を持たず硫酸基を含む化合物を、同時に反応液中添加して検討した。硫酸基を持たない多糖類及び多糖類を持たず硫酸基を含む化合物を、下記の濃度になるように検体希釈液に添加したこと以外は、参考例 1 に従って行った。

・多糖類を持たず硫酸基を含む化合物：NDSB - 195、NDSB - 201、NDSB - 256 を、それぞれ 0.385 mmol/L、3.85 mmol/L になるように検体希釈液に添加した。

30

・多糖類を持たず硫酸基を含む化合物及び硫酸基を持たない多糖類の混合：NDSB - 195 を 3.85 mmol/L、及び、デキストラン (分子量 2000) を 0.19% になるように検体希釈液に添加した。

【0050】

その結果を表 3 に示す。ヘパリン加血漿のカウントを血清のカウントで割った後 100 を掛けたものを、ヘパリン加血漿/血清として示した。その結果、多糖類を持たず硫酸基を含む化合物では血清とヘパリン加血漿の測定値が一致しないこと、更に、硫酸基を持たない多糖類を添加した状態においても測定値が一致しないことがわかった。

40

硫酸基を持たない多糖類及び多糖類を持たず硫酸基を含む化合物を共存させた場合では、実施例 1、2 の硫酸基を持つ多糖類のような効果は得られず、硫酸基を持つ多糖類を共存させた場合でないこの高い効果が得られないことは、硫酸基と多糖類の存在によるものではないことから、意外な結果であった。

【0051】

【表 3】

化合物	添加物無し	NDSB-195		NDSB-201		NDSB-256		NDSB-195 +デキストラン (2000)
		3.85mM	0.385mM	3.85mM	0.385mM	3.85mM	0.385mM	
濃度	—	3.85mM	0.385mM	3.85mM	0.385mM	3.85mM	0.385mM	3.85mM+0.19%
血清試料 (count)	5352	5476	5388	5317	5352	5390	5200	5822
ヘパリン加血漿試料 (count)	6619	6943	7173	6678	7143	7115	7055	7617
ヘパリン加血漿/血清	124%	127%	133%	126%	133%	132%	136%	131%

10

【0052】

《実施例3：反応液への硫酸化多糖類の添加によるtotal PSAの反応性への影響》

実施例3-1：total PSA測定用試薬の作製と被検試料の調製

total PSAの測定用の試薬を作製した。

【0053】

・検体希釈液：0.1 mol/L HEPES (8.0)、0.15 mol/L NaCl、0.05% Tween 20を含む緩衝液を使用した。

【0054】

・第1抗体溶液：磁性ラテックス粒子（JSR社）にPSAを認識するマウスモノクローナル抗体（Biospacific社製）を結合した磁性粒子溶液を用いた。

20

【0055】

・第2抗体溶液：PSAを認識する別のマウスモノクローナル抗体（Biospacific社製）をマレイミド法によりアルカリホスファターゼ（ALP）標識した標識抗体溶液を用いた。

【0056】

・発光基質溶液：CDP-star（アブライドバイオシステム社製）を使用した。

【0057】

・B/F洗浄液：0.01 mol/L MOPS (7.5)、0.15 mol/L NaCl、0.05% Triton X-100を含む緩衝液を使用した。

30

【0058】

・シクロデキストリン硫酸塩を、反応液中に各濃度（0.002、0.004、0.008、0.031%）になるように検体希釈液に添加した。

【0059】

・被検試料（検体）は、常法に従って、健常人から取得した血清、ヘパリン加血漿を用いた。

【0060】

・標準品：組み換えPSAを100、50、10、1.0 ng/mLになるように希釈したものを用いた。希釈には0.01 mol/L MOPS (7.0)、0.15 mol/L NaCl、0.05% Triton X、0.05% Proclin 300を含む緩衝液を使用した。該標準品を使用し、公知の方法に従って、発光カウントから各濃度（ng/mL）を算出した。

40

【0061】

実施例3-2：total PSA測定用試薬による測定と結果

測定対象をtotal PSAとしたこと以外は、参考例1-2と同様に実施した。

その結果を表4に示す。ヘパリン加血漿の濃度を血清の濃度で割った後100を掛けたものを、ヘパリン加血漿/血清として示した。添加無しの例だと、血清およびヘパリン加血漿とでは、total PSAの反応性が異なることがわかった。さらに、一致とみなす範囲をマイナス10%～プラス10%とすると、シクロデキストリン硫酸塩は0.002%以上添加されることにより、血清およびヘパリン加血漿のtotal PSAの反

50

応性が一致することが確認された。

【 0 0 6 2 】

【 表 4 】

β シクロデキストリン硫酸塩

硫酸化多糖濃度 (%)	0.000%	0.031%	0.008%	0.004%	0.002%
血清試料 (ng/mL)	0.48	0.54	0.54	0.58	0.53
ヘパリン加血漿試料 (ng/mL)	0.56	0.58	0.58	0.59	0.54
ヘパリン加血漿/血清	116%	107%	106%	101%	103%

10

【 産業上の利用可能性 】

【 0 0 6 3 】

本発明は、測定対象物質（例えば、s I L - 2 R）を検出する場合に、特に一般的に使用検体の種類（血清及びヘパリン加血漿）に関わらず、検体中の干渉物質の影響を受けることなく安定して高精度に測定結果を得ることができる。臨床検査は、簡便・迅速に測定される必要があり、検査室だけでなく P O C T 分野等においても測定される。例えば、血液試料を対象とすると、様々な状況で測定され得る可能性を考慮すると、該試料の採取に用いられる容器は多岐にわたるため、得られた検体の種類に関わらず、特に一般的に使用される血清やヘパリン加血漿を使用する上で、安定して高精度に測定結果を得ることが可能となる本発明は特に有用である。

20

以上、本発明を特定の態様に沿って説明したが、当業者に自明の変法や改良は本発明の範囲に含まれる。

【 手続補正書 】

【 提出日 】平成29年9月4日(2017.9.4)

【 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 】

(削除)

【 請求項 2 】

生体試料中の測定対象物質の免疫学的測定において、抗凝固剤としてヘパリンを添加した血液試料を用いた場合の測定値と、血清を用いた場合の測定値との間の乖離を減少させる方法であって、測定対象物質と該測定対象物質に特異的に結合する抗体との免疫複合体の形成を硫酸化多糖類の存在下で行うことを特徴とする、前記方法。

【 請求項 3 】

前記硫酸化多糖類が、デキストラン硫酸、シクロデキストリン硫酸である、請求項 2 に記載の方法。

【 請求項 4 】

前記硫酸化多糖類を検体希釈液及び/又は抗体溶液に含有する、請求項 2 又は 3 に記載の方法。

【 請求項 5 】

前記形成された免疫複合体を B / F 分離する工程を含む、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【 請求項 6 】

測定対象物質に特異的に結合する第 1 抗体と第 2 抗体を接触させ、抗原抗体反応により形成された免疫複合体を測定する、請求項 2 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【 請求項 7 】

測定対象物質が、可溶性インターロイキン2受容体、前立腺特異抗原である、請求項2～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

請求項2～7のいずれか一項に記載の方法のための、測定対象物質に特異的に結合する抗体と、硫酸化多糖類を含有する緩衝液を含む、該測定対象物質測定キット。

【請求項9】

前記抗体として、磁性粒子に担持された前記測定対象物質に特異的に結合する抗体を含む、請求項8に記載のキット。

【請求項10】

測定対象物質が、可溶性インターロイキン2受容体、前立腺特異抗原である、請求項8又は9に記載のキット。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/014943

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>G01N33/531</i> (2006.01)i, <i>G01N33/48</i> (2006.01)i, <i>G01N33/53</i> (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) <i>G01N33/531</i> , <i>G01N33/48</i> , <i>G01N33/53</i> 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 1996-2017 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPlus/MEDLINE/BIOSIS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 2013-152247 A (Abbott Japan Co., Ltd.), 08 August 2013 (08.08.2013), abstract; claim 4 & JP 2010-127827 A	1, 3-6, 8 7, 9-10 2
X Y A	JP 2009-53195 A (Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.), 12 March 2009 (12.03.2009), abstract & US 8617820 B2 abstract & EP 2031392 A1 & CN 101377488 A & KR 10-2009-0023223 A	1, 4-6, 8 7, 9-10 2, 3
Y	Detamina CL IL-2R, Kyowa Medex Co., Ltd., 2011	7, 9-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 12 June 2017 (12.06.17)		Date of mailing of the international search report 04 July 2017 (04.07.17)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/014943

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Siemens Immulyze IL-2R II, Siemens Healthcare Diagnostics Kabushiki Kaisha, 2015	1,5-7
A	DE JONGH R, The Effects of Anticoagulation and Processing on Assays of IL-6, sIL-6R, sIL-2R and Soluble Transferrin Receptor, Cytokine, 1997, Vol.9 No.9, Page.696-701	1-10
A	JP 2002-502979 A (Biorad Pasteur), 29 January 2002 (29.01.2002), abstract & WO 1999/040442 A1 abstract & EP 1051623 A1	1-10
A	WO 2012/115221 A1 (LSI Medience Corp.), 30 August 2012 (30.08.2012), abstract; example 2 & EP 2679997 A1 abstract; example 2 & JP 5864530 B2 & US 2013/0330841 A1 & CN 103380377 A & KR 10-2014-0007449 A	1-10
A	US 4829009 A (The Regents of the University of California), 09 May 1989 (09.05.1989), column 6, lines 32 to 58 (Family: none)	1-10
A	US 2012/0045847 A1 (SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.), 23 February 2012 (23.02.2012), paragraph [0045] & WO 2012/024416 A1 & EP 2606352 A1	1-10
A	COLLINSON P O, Rapid troponin T measurement in whole blood for detection of myocardial damage, Ann Clin Biochem, 1995, Vol.32 No.5, Page.454-458	1-10
A	Serufuri N IL-2R, Kyowa Medex Co., Ltd., 2010	1-10
A	Ryo TAKANO, "Sulfation and Desulfation of Polysaccharides: Effects of the Modification on their Properties", Kagaku to Seibutsu, 1996, vol.34, no.9, pages 598 to 604	1-10
E,X	WO 2017/078119 A1 (Fujirebio Inc.), 11 May 2017 (11.05.2017), paragraph [0055] & JP 2017-90132 A	1-10

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 1 4 9 4 3									
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, G01N33/48(2006.01)i, G01N33/53(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, G01N33/48, G01N33/53											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2017年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2017年	日本国実用新案登録公報	1996-2017年	日本国登録実用新案公報	1994-2017年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2017年										
日本国実用新案登録公報	1996-2017年										
日本国登録実用新案公報	1994-2017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/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/MEDLINE/BIOSIS (STN)											
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									
X Y A	JP 2013-152247 A (アボットジャパン株式会社) 2013.08.08, [要約][請求項4] & JP 2010-127827 A	1, 3-6, 8 7, 9-10 2									
X Y A	JP 2009-53195 A (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス・インコーポレーテッド) 2009.03.12, [要約] & US 8617820 B2 (ABSTRACT) & EP 2031392 A1 & CN 101377488 A & KR 10-2009-0023223 A	1, 4-6, 8 7, 9-10 2, 3									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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		の日の後に公表された文献									
「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		「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									
「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		「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									
「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)		「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									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 12.06.2017		国際調査報告の発送日 04.07.2017									
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) 三木 隆	2 J 3312								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3252									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 1 4 9 4 3
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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
Y	デタミナーC L I L - 2 R, 協和メデックス株式会社, 2011	7, 9-10
X	シーメンス・イムライズ I L - 2 R I I, シーメンスヘルスケ ア・ダイアグノスティクス株式会社, 2015	1, 5-7
A	DE JONGH R, The Effects of Anticoagulation and Processing on Assays of IL-6, sIL-6R, sIL-2R and Soluble Transferrin Receptor, Cytokine, 1997, Vol.9 No.9, Page.696-701	1-10
A	JP 2002-502979 A (ビオーラド・パストゥール) 2002.01.29, [要約] & WO 1999/040442 A1(Abstract) & EP 1051623 A1	1-10
A	WO 2012/115221 A1 (株式会社L S I メディエンス) 2012.08.30, [要 約]実施例2 & EP 2679997 A1(Abstract, Example2) & JP 5864530 B2 & US 2013/0330841 A1 & CN 103380377 A & KR 10-2014-0007449 A	1-10
A	US 4829009 A (The Regents of the University of California) 1989.05.09, 6欄32行~58行 (ファミリーなし)	1-10
A	US 2012/0045847 A1 (SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.) 2012.02.23, [0045] & WO 2012/024416 A1 & EP 2606352 A1	1-10
A	COLLINSON P O, Rapid troponin T measurement in whole blood for detection of myocardial damage, Ann Clin Biochem, 1995, Vol.32 No.5, Page.454-458	1-10
A	セルフリーN I L - 2 R, 協和メデックス株式会社, 2010	1-10
A	高野良, 硫酸化多糖の化学修飾 硫酸化や脱硫酸化は多糖の機能に どのように関わるか?, 化学と生物, 1996, Vol.34 No.9, Page.598-604	1-10
EX	WO 2017/078119 A1 (富士レビオ株式会社) 2017.05.11, [0055] & JP 2017-90132 A	1-10

フロントページの続き

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(72)発明者 張 旭

東京都千代田区内神田一丁目13番4号 株式会社LSIメディエンス内

(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)	使用硫酸化多糖的免疫测定		
公开(公告)号	JPWO2017179611A1	公开(公告)日	2019-02-21
申请号	JP2018512041	申请日	2017-04-12
[标]申请(专利权)人(译)	三菱化学美迪恩斯株式会社		
申请(专利权)人(译)	有限公司的LSI Medience		
[标]发明人	清水隆平 庄司慶一 張旭		
发明人	清水 隆平 庄司 慶一 張 旭		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/5306 G01N33/54333 G01N2400/18 G01N2400/22 G01N2400/40		
FI分类号	G01N33/531.B G01N33/53.D		
代理人(译)	山口健次郎 森田健一		
优先权	2016080660 2016-04-13 JP		
其他公开文献	JP6668459B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

通过使用不同的凝血抑制剂对生物样品中的待测物质（例如sIL-2R）进行免疫学检测时常用的测试样品类型，例如血清和肝素化血浆 无论如何，提供了一种能够获得稳定且高度精确的测量值而不受测试样品中干扰物质影响的测量方法和试剂盒。在硫酸多糖存在下，在待测物质和与之特异性结合的抗体之间形成免疫复合物。该试剂盒包括与待测物质特异性结合的抗体和含有硫酸化多糖的缓冲溶液。

(19) 日本国特許庁 (JP)		再公表特許(A1)		(11) 国際公開番号	
				WO2017/179611	
発行日 平成31年2月21日 (2019. 2. 21)		(43) 国際公開日 平成29年10月19日 (2017. 10. 19)			
(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)	
GO 1 N 33/531 (2006. 01)		GO 1 N 33/531 B			
GO 1 N 33/53 (2006. 01)		GO 1 N 33/53 D			
				審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)	
出願番号	特願2018-512041 (P2018-512041)	(71) 出願人	591122956 株式会社 L S I メディエンス		
(2) 国際出願番号	PCT/JP2017/014943	(72) 発明者	清水 隆平 東京部千代田区内神田一丁目 1 3 番 4 号 株式会社 L S I メディエンス内		
(2) 国際出願日	平成29年4月12日 (2017. 4. 12)	(74) 代理人	弁理士 山口 健次郎 100139594		
(31) 優先権主張番号	特願2016-80660 (P2016-80660)	(74) 代理人	弁理士 森田 憲一 100090251		
(32) 優先日	平成28年4月13日 (2016. 4. 13)	(72) 発明者	庄司 慶一 東京部千代田区内神田一丁目 1 3 番 4 号 株式会社 L S I メディエンス内		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)				

(54) 【発明の名称】 硫酸化多糖類を用いた免疫学的測定法

最終頁に続く