

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02012/169453

発行日 平成27年2月23日 (2015. 2. 23)

(43) 国際公開日 平成24年12月13日 (2012. 12. 13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 8 1 D	4 J 1 0 0
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 X	
CO 8 F 220/36 (2006.01)	CO 8 F 220/36	
CO 8 F 220/60 (2006.01)	CO 8 F 220/60	
CO 8 F 20/36 (2006.01)	CO 8 F 20/36	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁) 最終頁に続く

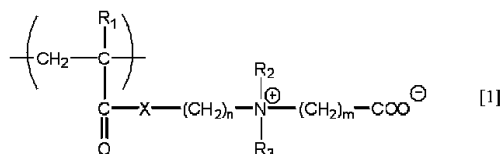
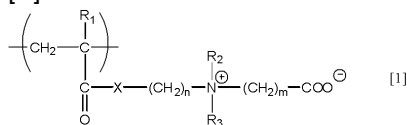
出願番号 特願2013-519479 (P2013-519479)	(71) 出願人 000252300 和光純薬工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町3丁目1番2号
(21) 国際出願番号 PCT/JP2012/064355	
(22) 国際出願日 平成24年6月4日 (2012.6.4)	(72) 発明者 山本 直之 兵庫県尼崎市高田町6番1号
(31) 優先権主張番号 特願2011-127076 (P2011-127076)	(72) 発明者 増田 勤 兵庫県尼崎市高田町6番1号
(32) 優先日 平成23年6月7日 (2011.6.7)	Fターム(参考) 4J100 AJ01Q AL08P AM21P BA18P BA32P CA01 CA03 CA04 JA18
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 凝集促進剤

(57) 【要約】

本発明は、従来の免疫凝集促進剤よりも優れた凝集促進効果を示す凝集促進剤の提供を課題とし、下記一般式 [1]

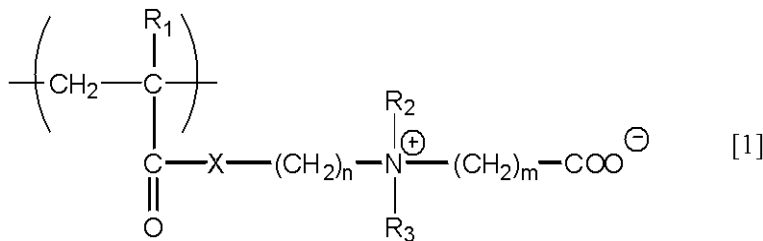


(式中、R₁は水素原子又はメチル基を表し、R₂及びR₃はそれぞれ独立してメチル基又はエチル基を表し、Xは -NH- 又は酸素原子を表し、nは1~6の整数を表し、mは1~3の整数を表す) で示されるモノマー単位を有するポリマーを含んでなる免疫凝集測定法用凝集促進剤、並びに、上記免疫凝集測定法用凝集促進剤の共存下で、測定対象物質測定対象物質に対する抗体又は抗原を、測定対象物質と接触させて抗原抗体反応を行わせる免疫凝集測定方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記一般式 [1]

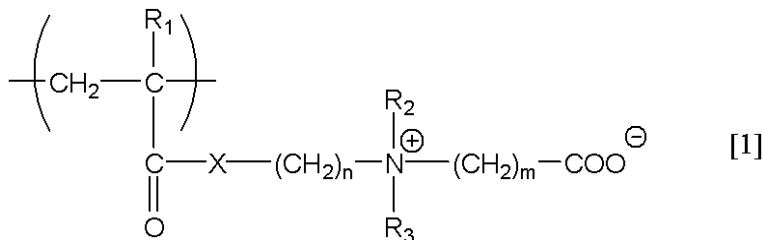


10

(式中、 R_1 は水素原子又はメチル基を表し、 R_2 及び R_3 はそれぞれ独立してメチル基又はエチル基を表し、 X は $-\text{NH}-$ 又は酸素原子を表し、 n は1~6の整数を表し、 m は1~3の整数を表す)で示されるモノマー単位を有するポリマーを含んでなる免疫凝集測定法用凝集促進剤。

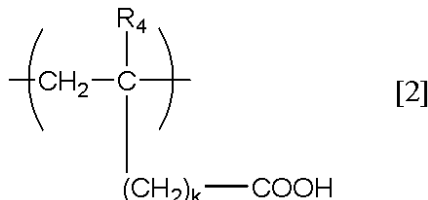
【請求項 2】

前記ポリマーが、下記一般式 [1]



20

(式中、 R_1 は水素原子又はメチル基を表し、 R_2 及び R_3 はそれぞれ独立してメチル基又はエチル基を表し、 X は $-\text{NH}-$ 又は酸素原子を表し、 n は1~6の整数を表し、 m は1~3の整数を表す)で示されるモノマー単位と下記一般式 [2]



30

(式中、 R_4 は水素原子又はメチル基を表し、 k は1~10の整数を表す)で示されるモノマー単位を有するコポリマーである、請求項 1 記載の凝集促進剤。

【請求項 3】

コポリマー中の一般式 [1] で示されるモノマー単位の含有量が50モル%以上100モル%未満である、請求項 2 記載の凝集促進剤。

【請求項 4】

ポリマーの重量平均分子量が、50,000~3,000,000である、請求項 1 記載の凝集促進剤。

【請求項 5】

一般式 [1] における R_2 及び R_3 がいずれもメチル基である、請求項 1 記載の凝集促進剤。

40

【請求項 6】

一般式 [1] における n が2~4であり、 m が1である、請求項 1 記載の凝集促進剤。

【請求項 7】

一般式 [2] における R_4 が水素原子であり、 k が4~8である、請求項 2 記載の凝集促進剤。

【請求項 8】

請求項 1 記載の凝集促進剤を含んでなる免疫凝集測定法用試薬。

【請求項 9】

試薬が、C反応性タンパク質 (CRP)、血清フェリチン (Fer)、前立腺特異抗原 (PSA) 又はクレアチンキナーゼ - MB (CK-MB) 測定用である、請求項 8 記載の免疫凝集測定法用試

50

薬。

【請求項 10】

請求項 1 記載の免疫凝集測定法用凝集促進剤の共存下で、測定対象物質に対する抗体又は抗原を、測定対象物質と接触させて抗原抗体反応を行わせることを特徴とする、免疫凝集測定方法。

【請求項 11】

測定対象物質が、C反応性タンパク質（CRP）、血清フェリチン（Fer）、前立腺特異抗原（PSA）又はクレアチンキナーゼ - MB（CK-MB）測定用である、請求項 9 記載の免疫凝集測定方法。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

免疫凝集測定法に用いられる凝集促進剤、並びにそれを用いた免疫凝集測定法に関する。

【背景技術】

【0002】

例えば血清、血漿、尿等の生体由来試料中の測定対象物質の有無又は濃度を測定するために、測定対象物質と反応する抗原又は抗体を固定化したラテックス等の不溶性担体を用いて、生ずる凝集の度合いから測定対象物質の有無を確認することや濃度を測定することは、免疫凝集測定法として従来よりなされている。

20

【0003】

この免疫凝集法においては、感度の向上を目的として抗原抗体反応に基づく凝集をより生じさせやすくする免疫凝集促進剤が通常用いられる。該免疫凝集促進剤としては、ポリエチレングリコール（PEG）等がよく知られているが、PEGは、塩濃度の高い溶液中では塩析するため、ブランク値が高くなり測定精度が悪くなるという問題があった。

【0004】

そこで、このような問題を解決する免疫凝集促進剤としてメタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン（MPC）含有ポリマーを用いることが考案されている（特許文献 1）。

【先行技術文献】

【特許文献】

30

【0005】

【特許文献 1】特開2002-365296

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

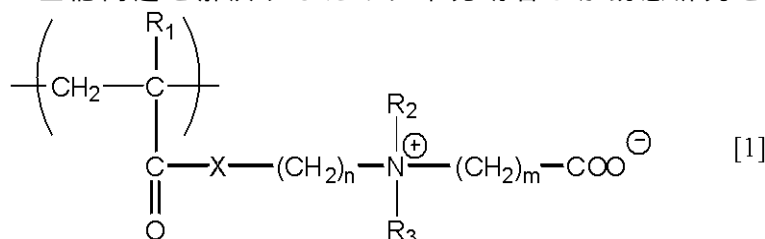
現在、より高感度な測定を可能とする免疫凝集測定方法が求められており、該MPC含有ポリマーよりも強い凝集促進効果を示す免疫凝集促進剤の開発が望まれていた。上記状況に鑑み、本発明は、高感度な免疫凝集測定を可能とする、従来の免疫凝集促進剤よりも優れた凝集促進効果を示す凝集促進剤の提供を課題とする。

【課題を解決するための手段】

40

【0007】

上記問題を解決するために本発明者らが鋭意研究を重ねた結果、下記一般式[1]



（式中、R₁は水素原子又はメチル基を表し、R₂及びR₃はそれぞれ独立してメチル基又はエ

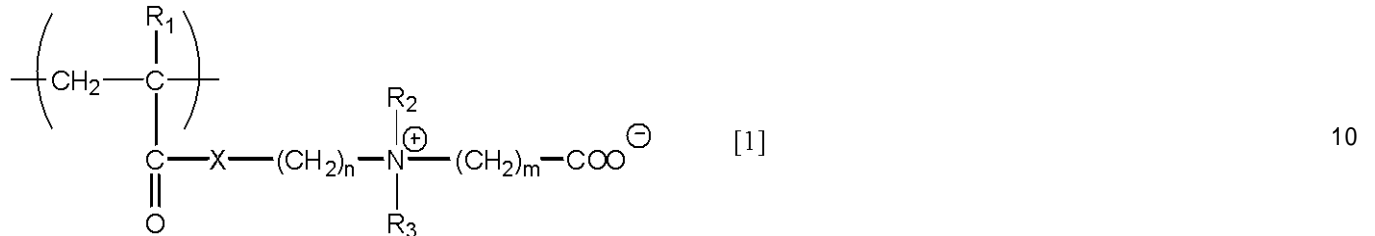
50

チル基を表し、Xは -NH- 又は酸素原子を表し、nは1~6の整数を表し、mは1~3の整数を表す)で示されるモノマー単位を有するポリマーが、従来の免疫凝集促進剤よりも優れた凝集促進効果を示すことを見出し、本発明を完成するに至った。

【0008】

即ち、本発明は、

「下記一般式[1]



(式中、R₁、R₂、R₃、X、n及びmは上記と同じ)で示されるモノマー単位を有するポリマーを含んでなる免疫凝集測定法用凝集促進剤、上記ポリマーが、上記一般式[1]で示されるモノマー単位と下記一般式[2]



【0009】

(式中、R₄は水素原子又はメチル基を表し、kは1~10の整数を表す)で示されるモノマー単位を有するコポリマーである凝集促進剤を含んでなる免疫凝集測定法用試薬、並びに、上記免疫凝集測定法用凝集促進剤の共存下で、測定対象物質測定対象物質に対する抗体又は抗原を、測定対象物質と接触させて抗原抗体反応を行わせることを特徴とする免疫凝集測定方法」に関する。

【発明の効果】

【0010】

本発明の免疫凝集促進剤は、従来の免疫凝集促進剤と比較して、より強い凝集促進効果を有する。よって、抗原若しくは抗体を固定化したラテックス粒子等の担体を用いて生じさせた抗原抗体反応生成物の凝集を利用した免疫比濁法、免疫比ろう法等の免疫凝集測定法において、本発明の免疫凝集促進剤を用いることにより、抗原抗体反応による凝集を生じやすくする。その結果、高感度な測定を可能とする。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明の免疫凝集測定法用凝集促進剤(以下、本発明の凝集促進剤と略記する場合がある)で用いられるポリマーとしては、一般式[1]で示されるモノマー単位を有するものであれば、ホモポリマーでもコポリマーでもよい。該コポリマーとしては、具体的には、例えば一般式[1]で示されるモノマー単位と一般式[2]で示されるモノマー単位とからなるものが挙げられる。

【0012】

本発明の凝集促進剤で用いられるポリマーの重量平均分子量は、通常50,000~3,000,000であり、100,000~3,000,000が好ましく、200,000~3,000,000がより好ましい。また、該凝集促進剤がコポリマーの場合、その重量平均分子量は、通常50,000~3,000,000であり、100,000~3,000,000が好ましく、200,000~3,000,000がより好ましい。

【0013】

(1) 一般式[1]で示されるモノマー単位を有するホモポリマー

一般式[1]におけるR₁としては、水素原子、メチル基等が挙げられるが、メチル基が好

10

20

30

40

50

ましい。

【 0 0 1 4 】

一般式[1]における R_2 としては、メチル基、エチル基等が挙げられるが、メチル基が好ましい。

【 0 0 1 5 】

一般式[1]における R_3 としては、メチル基、エチル基等が挙げられるが、メチル基が好ましい。

【 0 0 1 6 】

一般式[1]におけるXとしては、-NH-又は酸素原子を表し、酸素原子が好ましい。

【 0 0 1 7 】

一般式[1]におけるnとしては、通常1～6の整数を表し、2～4の整数が好ましく、2～3の整数がより好ましい。

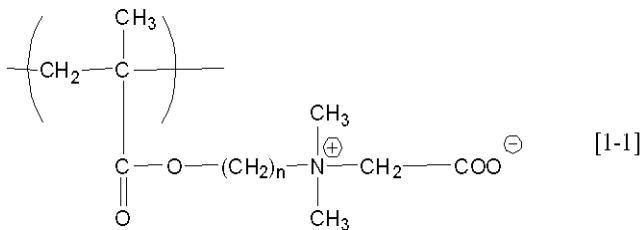
【 0 0 1 8 】

一般式[1]におけるmとしては、通常1～3の整数を表し、1～2の整数が好ましく、1がより好ましい。

【 0 0 1 9 】

一般式[1]で示されるモノマー単位の好ましい具体例としては、例えば下記一般式[1-1]～[1-8]が挙げられる。

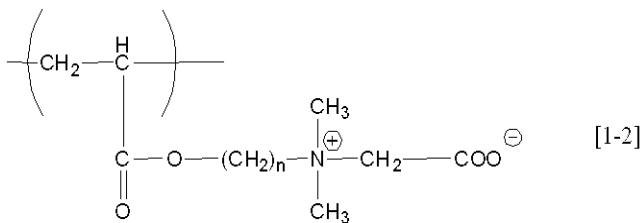
【 0 0 2 0 】



20

(式中、nは、1～6の整数を表す)

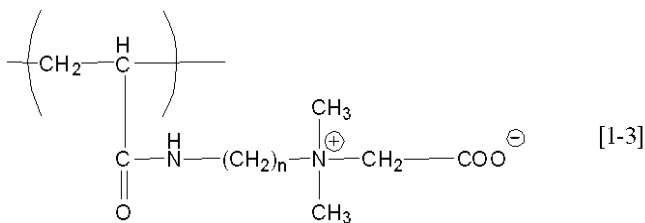
【 0 0 2 1 】



30

(式中、nは、1～6の整数を表す)

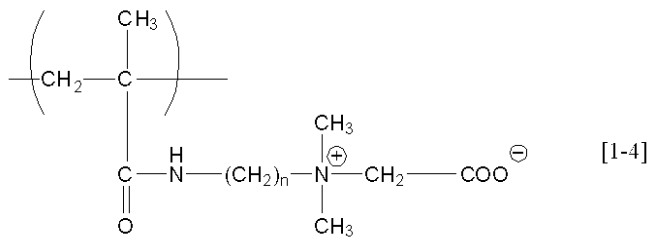
【 0 0 2 2 】



40

(式中、nは、1～6の整数を表す)

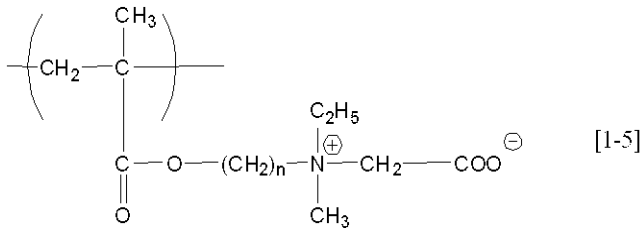
【 0 0 2 3 】



(式中、nは、1～6の整数を表す)

【0024】

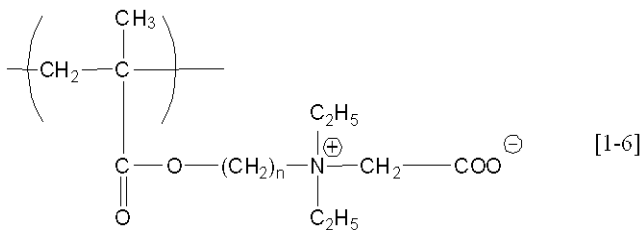
10



(式中、nは、1～6の整数を表す)

【0025】

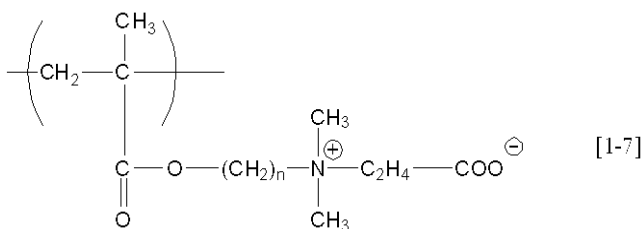
20



(式中、nは、1～6の整数を表す)

【0026】

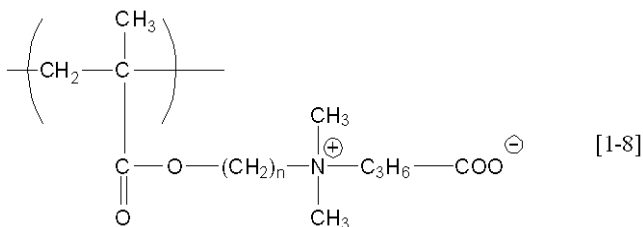
30



(式中、nは、1～6の整数を表す)

【0027】

40



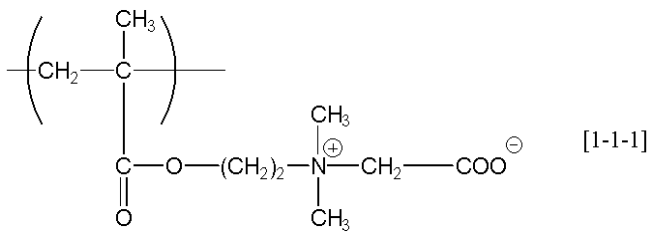
(式中、nは、1～6の整数を表す)

【0028】

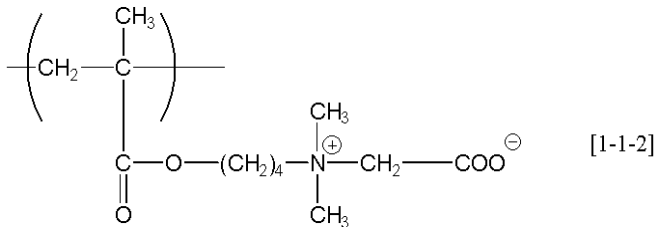
中でも、一般式 [1-1] ~ [1-4] が好ましく、一般式 [1-1]、一般式 [1-3]、一般式 [1-4] がより好ましく、一般式 [1-1] が特に好ましい。より具体的には、下記 [1-1-1]、[1-1-2]、[1-3-1]、[1-4-1] で示されるものが好ましい。

【0029】

50

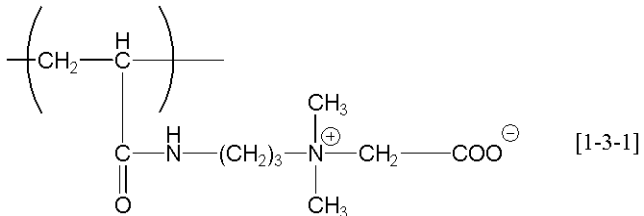


【 0 0 3 0 】



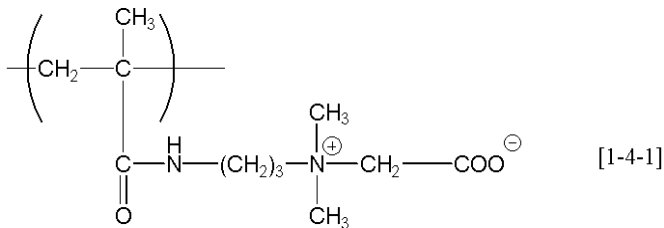
10

【 0 0 3 1 】



20

【 0 0 3 2 】

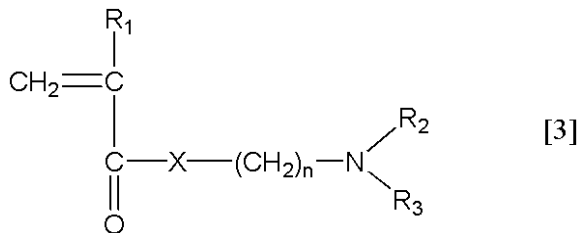


30

【 0 0 3 3 】

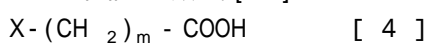
(2) 一般式[1]で示されるモノマー単位を有するホモポリマーの製造方法

一般式[1]で示されるモノマー単位を有するホモポリマーは、例えば下記一般式[3]



40

【 0 0 3 4 】

(式中、R₁、R₂、R₃、X及びnは上記と同じ)で示される(メタ)アクリル酸誘導体と、例えば下記一般式[4]

(式中、Xはハロゲン原子を表し、mは上記と同じ)で示されるカルボン酸化合物とを、適当な溶媒中で反応させ、得られたモノマーを、更に自体公知の重合反応により重合することにより製造することができる。

【 0 0 3 5 】

一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体の具体例としては例えば、N-[2-(ジメチルアミノ)エチル]メタアクリル酸、N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル

50

メタアクリル酸、N - [4 - (ジメチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸、N - [5 - (ジメチルアミノ) ペンチル] メタアクリル酸、N - [6 - (ジメチルアミノ) ヘキシル] メタアクリル酸 ; N - [2 - (ジメチルアミノ) エチル] アクリル酸、N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] アクリル酸、N - [4 - (ジメチルアミノ) ブチル] アクリル酸、N - [5 - (ジメチルアミノ) ペンチル] アクリル酸、N - [6 - (ジメチルアミノ) ヘキシル] アクリル酸 ; N - [2 - (ジメチルアミノ) エチル] アクリルアミド、N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] アクリルアミド、N - [4 - (ジメチルアミノ) ブチル] アクリルアミド、N - [5 - (ジメチルアミノ) ペンチル] アクリルアミド、N - [6 - (ジメチルアミノ) ヘキシル] アクリルアミド ; N - [2 - (ジメチルアミノ) エチル] メタクリルアミド、N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] メタクリルアミド、N - [4 - (ジメチルアミノ) ブチル] メタクリルアミド、N - [5 - (ジメチルアミノ) ペンチル] メタクリルアミド、N - [6 - (ジメチルアミノ) ヘキシル] メタクリルアミド ; N - [2 - (エチルメチルアミノ) エチル] メタアクリル酸、N - [3 - (エチルメチルアミノ) プロピル] メタアクリル酸、N - [4 - (エチルメチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸、N - [5 - (エチルメチルアミノ) ペンチル] メタアクリル酸、N - [6 - (エチルメチルアミノ) ヘキシル] メタアクリル酸 ; N - [2 - (ジエチルアミノ) エチル] メタアクリル酸、N - [3 - (ジエチルアミノ) プロピル] メタアクリル酸、N - [4 - (ジエチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸、N - [5 - (ジエチルアミノ) ペンチル] メタアクリル酸、N - [6 - (ジエチルアミノ) ヘキシル] メタアクリル酸等が挙げられ、N - [2 - (ジメチルアミノ) エチル] メタアクリル酸、N - [4 - (ジメチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸、N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] アクリルアミド、N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] メタクリルアミド、N - [2 - (ジエチルアミノ) エチル] メタアクリル酸、N - [3 - (ジエチルアミノ) プロピル] メタアクリル酸、N - [4 - (ジエチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸、N - [3 - (ジエチルアミノ) プロピル] アクリルアミド等が好ましく、中でも、N - [2 - (ジメチルアミノ) エチル] メタアクリル酸、N - [4 - (ジメチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸、N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] アクリルアミド、N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] メタクリルアミド等が特に好ましい。尚、これら(メタ)アクリル酸誘導体は、市販品を用いてもよいし、(メタ)アクリル酸から常法等により適宜合成したものを

10

20

30

【0036】

一般式[4]におけるXで示されるハロゲン原子としては、例えばフッ素、塩素、臭素、ヨウ素等が挙げられ、塩素、臭素が特に好ましい。

【0037】

一般式[4]で示されるカルボン酸化合物の具体例としては、例えばクロロ酢酸、フッ化酢酸、プロモ酢酸、ヨード酢酸、クロロプロピオン酸、フッ化プロピオン酸、プロモプロピオン酸、ヨードプロピオン酸、クロロブタン酸、フッ化ブタン酸、プロモブタン酸、ヨードブタン酸等が挙げられるが、プロモ酢酸、クロロプロピオン酸、クロロ酢酸が好ましく、中でもクロロ酢酸が特に好ましいものとして挙げられる。

40

【0038】

一般式[4]で示されるカルボン酸化合物の使用量は、一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体の、通常0.5~3倍モル、好ましくは1~2倍モルとなるような量であればよい。

【0039】

上記一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体と一般式[4]で示されるカルボン酸化合物又はその塩との反応時における反応溶媒としては、例えばトルエン、キシレン、ベンゼン、シクロヘキサン、n-ヘキサン、n-オクタン等の炭化水素類、例えばメタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、n-ブタノール、イソタノール、tert-ブタノール等のアルコール類、ジメチルホルムアミド(DMF)、水等が挙げられるが、アルコール類が好ましく、中でもメタノール、エタノール、n-プロパノール、イソ

50

プロパノール等が好ましい。尚、上記溶媒は2種以上を適宜混合して用いてもよい。用いられる反応溶媒の量は、一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体と一般式[4]で示されるカルボン酸化合物又はその塩の総量50gに対して、通常100~300mLである。

【0040】

上記一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体と一般式[4]で示されるカルボン酸化合物又はその塩との反応温度は、反応溶媒等に応じて適宜設定すればよいが、通常20~120、好ましくは40~80であり、反応時間は、通常1~20時間、好ましくは5~12時間である。

【0041】

一般式[1]で示されるモノマー単位を有するポリマーの製造方法における重合反応としては、例えば溶液重合、塊状重合、乳化重合、懸濁重合など自体公知の方法によって行うことができる。重合開始剤としては、例えばアゾイソブチロニトリル、2,2'-アゾビス(2,4-ジメチルバレロニトリル)、2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオン酸メチル)、2,2'-アゾビス(2-メチルブチロニトリル)等のアゾ化合物、過酸化ベンゾイル、過酸化ラウロイル、ペルオキシ二硫酸カリウム、ペルオキシ二硫酸アンモニウム等の過酸化物を用いることができるが、過酸化物が好ましく、中でもペルオキシ二硫酸アンモニウムが特に好ましい。重合開始剤の使用量は全モノマーの総重量に対して通常0.1~3重量%である。該重合反応においては、例えば窒素、アルゴン等の不活性ガス雰囲気下で行うのが好ましく、重合温度は通常40~120、好ましくは50~70で、重合時間は1~20時間、好ましくは0.5~5時間行えばよい。ここで用いられる溶媒としては、上記一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体と一般式[4]で示されるカルボン酸化合物又はその塩との反応時における反応溶媒の具体例の他、水が挙げられ、中でも水が好ましい。用いられる溶媒の量は、ポリマーの総重量20gに対して、通常30~360mLである。

【0042】

一般式[1]で示されるモノマー単位を有するホモポリマーの具体的な製造方法としては、例えば、先ず、上記一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体1molと、上記一般式[4]で示されるカルボン酸化合物又はその塩1~2molとを、エタノール500~1000mL中で、40~80で5~12時間反応させてモノマーを得る。その後、得られたモノマー10gを水50~100mLに溶解し、該溶液に1~30mgの過酸化物を添加し、アルゴン雰囲気下、50~70で1~20時間重合反応させることによりなされる。

【0043】

(3) 一般式[1]で示されるモノマー単位と一般式[2]で示されるモノマー単位を有するコポリマー

該コポリマー中の一般式[1]で示されるモノマー単位の含有量は、通常50モル%以上100モル%未満であり、50~95モル%が好ましく、50~60モル%がより好ましい。また、該コポリマー中の一般式[2]で示されるモノマー単位の含有量は、通常0モル%超50モル%以下であり、5~50モル%が好ましく、40~50モル%がより好ましい。

【0044】

一般式[1]で示されるモノマー単位的具体例は上記(1)の一般式[1]で示されるモノマー単位を有するホモポリマーの項で述べたものと同じものが挙げられ、好ましいものも同じである。

【0045】

一般式[2]における R_4 としては、水素原子又はメチル基を表し、水素原子が好ましい。

一般式[2]における k としては、通常1~10であり、4~8が好ましく、6~8がより好ましい。

一般式[2]で示されるモノマー単位的具体例としては、例えば一般式[2-1]~[2-2]が挙げられ、一般式[2-1]が好ましい。

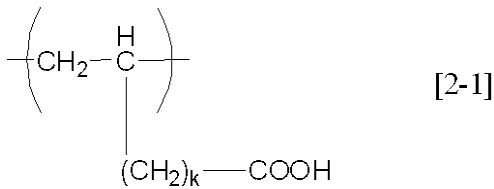
【0046】

10

20

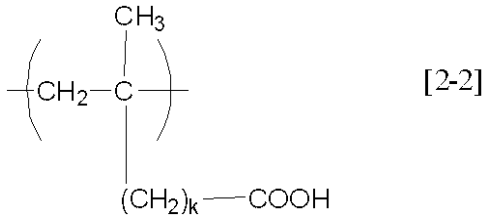
30

40



(式中、kは、上記と同じ。)

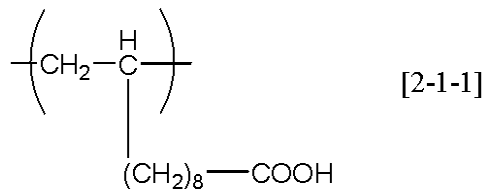
【0047】



(式中、kは、上記と同じ。)

【0048】

中でも、下記[2-1-1]



が好ましい。

【0049】

一般式[1]で示されるモノマー単位と一般式[2]で示されるモノマー単位の組合せとしては、例えば

【0050】

ポリマーNo.	一般式[1]で示されるモノマー単位	一般式[2]で示されるモノマー単位
P-1	一般式 [1-1]	一般式 [2-1]
P-2	一般式 [1-2]	一般式 [2-1]
P-3	一般式 [1-3]	一般式 [2-1]
P-4	一般式 [1-4]	一般式 [2-1]
P-5	一般式 [1-5]	一般式 [2-1]
P-6	一般式 [1-6]	一般式 [2-1]
P-7	一般式 [1-1]	一般式 [2-2]
P-8	一般式 [1-2]	一般式 [2-2]
P-9	一般式 [1-3]	一般式 [2-2]
P-10	一般式 [1-4]	一般式 [2-2]
P-11	一般式 [1-5]	一般式 [2-2]
P-12	一般式 [1-6]	一般式 [2-2]

が挙げられ、好ましい組合せとしては、

【0051】

10

20

30

40

ポリマーNo.	一般式[1]で示されるモノマー単位	一般式[2]で示されるモノマー単位
P-1	一般式 [1 - 1]	一般式 [2 - 1]
P-3	一般式 [1 - 3]	一般式 [2 - 1]
P-4	一般式 [1 - 4]	一般式 [2 - 1]

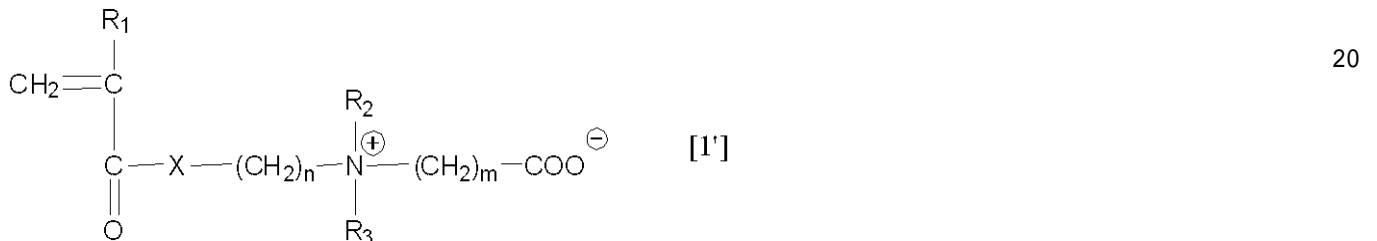
【 0 0 5 2 】

であり、中でも、一般式[1]で示されるモノマー単位が、[1-1-1]、[1-1-2]、[1-3-1]又は[1-4-1]で示されるものであって、一般式[2]で示されるモノマー単位が[2-1-1]である組合せがより好ましく、一般式[1]で示されるモノマー単位が[1-1-1]であって、一般式[2]で示されるモノマー単位が[2-1-1]である組合せが特に好ましい。

【 0 0 5 3 】

(4) 一般式[1]で示されるモノマー単位と一般式[2]で示されるモノマー単位を有するコポリマーの製造方法

一般式[1]で示されるモノマー単位と一般式[2]で示されるモノマー単位を有するコポリマーの製造方法としては、例えば下記一般式[1']



(式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 X 、 n 及び m は上記と同じ)で示されるモノマーと一般式[2']で示される



【 0 0 5 4 】

(式中、 R_4 及び k は上記と同じ)ビニル化合物を、自体公知の、例えば特開昭52-27713号記載の方法に準じて重合反応により重合することにより製造することができる。

【 0 0 5 5 】

一般式[1']で示されるモノマーの具体例及び好ましい具体例としては、上記一般式[1]で示されるモノマー単位に準じたものが挙げられる。また、一般式[1']で示されるモノマーは、上記一般式[1]で示されるモノマー単位を有するホモポリマーの製造方法の項における、一般式[3]で示される(メタ)アクリル酸誘導体と一般式[4]で示されるカルボン酸化合物又はその塩との反応により得られる。

【 0 0 5 6 】

一般式[2']で示されるビニル化合物の具体例としては、例えば4-ペンテン酸、5-ヘキセン酸、6-ヘプテン酸、7-オクテン酸、8-ノネン酸、9-デセン酸、10-ウンデセン酸、4-メチル-4-ペンテン酸、5-メチル-5-ヘキセン酸、6-メチル-6-ヘプテン酸、7-メチル-7-オクテン酸、8-メチル-8-ノネン酸、9-メチル-9-デセン酸、10-メチル-10-ウンデセン酸等が挙げられるが、7-オクテン酸、8-ノネン酸、9-デセン酸、10-ウンデセン酸等が好ましく、中でも10-ウンデセン酸が好ましい。

これらビニル化合物は、市販品を用いてもよいし、ハロゲン化アルキル化合物から常法等により適宜合成したものをを用いてもよい。

【0057】

一般式[2']で示されるビニル化合物の使用量は、一般式[1']で示されるモノマーに対して通常1~100mol%、好ましくは、3~100mol%、より好ましくは、50~100mol%である。

【0058】

上記一般式[1']で示されるモノマーと一般式[2']で示されるビニル化合物との重合反応の態様としては、上記一般式[1]で示されるモノマー単位を有するポリマーの製造方法における重合反応と同じものが挙げられ、好ましいものも同じである。

10

【0059】

一般式[1]で示されるモノマー単位と一般式[2]で示されるモノマー単位を有するコポリマーの製造方法としては、具体的には、一般式[1']で示されるモノマー1molと、上記一般式[2']で示されるビニル化合物0.01~1molとを、水とDMFの混合溶液(容量比として1:2~2:1)50~100mLに溶解し、上記モノマーとビニル化合物の総重量に対して0.1~3重量%の過酸化物を添加し、アルゴン雰囲気下、50~70℃で1~20時間重合反応させることによりなされる。

【0060】

(5) 本発明の凝集促進剤、免疫凝集測定方法、免疫凝集測定法用試薬

本発明の凝集促進剤は、上記の如き、一般式[1]で示されるモノマー単位を有するポリマーを含んでなるものであり、より具体的には、上記一般式[1]で示されるモノマー単位を有するホモポリマー、或いは、上記一般式[1]で示されるモノマー単位と一般式[2]で示されるモノマー単位を有するコポリマーを含んでなるものである。該凝集促進剤は、免疫凝集測定方法の中でも免疫比濁法で用いられる試薬に溶解させて用いられるのが好ましく、その中でもラテックスを担体に用いるラテックス凝集法用試薬に溶解させて用いられるのが特に好ましい。

20

【0061】

本発明の免疫凝集測定方法においては、上記本発明の凝集促進剤を、反応液中の濃度として、通常0.1~8w/v%、好ましくは0.1~4w/v%、より好ましくは0.1~2w/v%となるように添加して用いられる。また、該濃度は、測定対象物質により設定を変えるのが好ましく、例えば測定対象物質がCRPやFerの場合、通常0.1~8w/v%、好ましくは0.1~4w/v%、より好ましくは0.1~1w/v%となるように添加して用いられ、例えば測定対象物質がPSAの場合、通常0.1~7w/v%、好ましくは0.1~4w/v%、より好ましくは0.1~2w/v%となるように添加して用いられるのが好ましい。

30

【0062】

本発明の免疫凝集測定方法は、抗原抗体反応を行わせる際に、本発明の凝集促進剤を共存させて行う以外は、抗原抗体反応に由来する凝集等に基づいて測定対象物質の測定を行う自体公知の免疫凝集測定方法(免疫比濁法、免疫比ろろ法等)に於いて用いられる各種試薬を用い、自体公知の操作法に準じて行えばよい。例えば、上記本発明の凝集促進剤の共存下で、測定対象物質に対する抗体又は抗原を、測定対象物質と接触させて抗原抗体反応を行わせることによりなされればよく、より具体的には、例えば上記本発明凝集促進剤の共存下で、測定対象物質に対する抗体又は抗体を担持した担体を、或いは、測定対象物質に対する抗原又は抗原を担持した担体を、測定対象物質と接触させて抗原抗体反応を行わせることによりなされればよい。上記方法における本発明の凝集促進剤は、上記した如き反応液中の濃度で共存させればよい。上記本発明の凝集促進剤を共存させる以外の具体的な方法としては、例えば散乱光を測定する方法(比ろろ法)を用いる場合には、例えば金原出版株式会社、臨床検査法提要、第30版、第2刷、p.851-853(1993)、等に記載された方法に準じて行えばよく、また、透過光を測定する方法(免疫比濁法)を用いる場合には、例えば同じく金原出版株式会社、臨床検査法提要、第30版、第2刷、p.853-854(1993)等に記載された方法に準じて行えばよい。更にまた、測定対象物質に対する抗体又は抗原を

40

50

感作させたラテックスの凝集の程度を散乱光、透過光等の変化に基づいて測定しその結果に基づいて測定対象物質の測定を行うラテックス凝集法を用いる場合には、例えば免疫測定法の新しい活用事例と診断試薬・治療薬開発への応用（経営教育出版社）p.103-187等に記載された方法に準じて行えばよい。

【0063】

本発明の免疫凝集測定方法の反応時に用いられる緩衝剤としては、具体的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比濁法、免疫比ろう法に用いられている緩衝剤は全て挙げられ、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の範囲から好ましく選択される。

10

【0064】

本発明の免疫凝集測定方法に於ける測定は、散乱光又は透過光を測定することによりなされ、その測定は、自動分析装置、分光光度計等の生化学汎用機や、レーザーネフェロメーター等の比ろう測定用専用機等を用いてなされればよい。

【0065】

本発明の免疫凝集測定方法により測定可能な測定対象成分は、抗原抗体反応を利用して測定可能なものであればよいが、例えば血清、血漿、尿、リンパ、髄液等の生体由来試料中に含まれる、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）、免疫グロブリンE（IgE）ASO（抗ストレプトリジンO価）、アルブミン、尿中微量アルブミン、プレアルブミン、補体C3、補体C4、トランスフェリン、ハプトグロビン、リポプロテイン（a）（LP(a））、アポリポ蛋白A-I（ApoA I）、アポリポ蛋白A-II（ApoA II）、アポリポ蛋白B（ApoB）、アポリポ蛋白C-II（ApoC II）、アポリポ蛋白C-III（ApoC III）、アポリポ蛋白E（ApoE）、リウマチ因子（RF）、前立腺特異抗原（PSA）、フェリチン（Fer）、 α 2マイクロアルブミン（ α 2m）、ミオグロビン（Mb）、ペプシノゲン（PG）、ヒアルロン酸（HA）、クレアチンキナーゼMBアイソザイム（CK-MB）、梅毒TP抗体、梅毒脂質抗体、ヘリコバクターピロリ抗原・抗体、HCV抗原・抗体、HBs抗原・抗体、HIV抗原・抗体、シスタチンC、マトリックスメタロプロテイナーゼ-3（MMP-3）、KL-6、 α -フェトプロテイン（AFP）、癌胎児性抗原（CEA）、インスリン、C-ペプチド等が挙げられ、中でも、CRP、Fer、PSA又はCK-MB等が好ましい。尚、CK-MBを測定対象とする場合には、一般式[1]で示されるモノマー単位と下記一般式[2]で示されるモノマー単位を有するコポリマーを含んでなる凝集促進剤を用いるのが好ましい。

20

30

【0066】

本発明の免疫凝集測定法用試薬は、上記本発明の凝集促進剤を含むものであればよいが、その含有量は、試薬中の濃度として、通常0.1～10w/vW/V%、好ましくは0.1～5w/v%、より好ましくは0.1～2w/v%である。また、該濃度は、測定対象物質により変えるのが好ましく、例えば測定対象物質がCRPやFerの場合、通常0.1～10w/v%、好ましくは0.1～5w/v%、より好ましくは0.1～1w/v%であり、例えば測定対象物質がPSAの場合、通常0.1～10w/v%、好ましくは0.1～5w/v%、より好ましくは0.1～2w/v%である。該試薬においては、その他に、例えば、測定対象成分が抗原の場合は、抗体若しくは該抗体を担持した適当な担体（例えばラテックス等）を、測定対象成分が抗体の場合は、抗原若しくは該抗原を担持した適当な担体（例えばラテックス等）を含んでいてもよい。また、該反応試薬中には、緩衝剤（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）、安定化剤（例えばアルブミン、グロブリン、水溶性ゼラチン、界面活性剤、糖類等）、防腐剤（例えばサリチル酸、安息香酸、アジ化ナトリウム等）、その他この分野で用いられているものであって、共存する試薬等の安定性を阻害したり、抗原抗体反応を阻害しないものを有していてもよい。またその濃度も、通常この分野で通常用いられる濃度範囲で用いられればよい。

40

【0067】

50

本発明の免疫凝集測定法用試薬に於ける、測定対象としては、本発明の免疫凝集測定方法の項で記載したものと同じものが挙げられ、好ましいものも同じである。

【0068】

以下実施例によって本発明を説明するが、本発明はこれによって限定されるものでない。

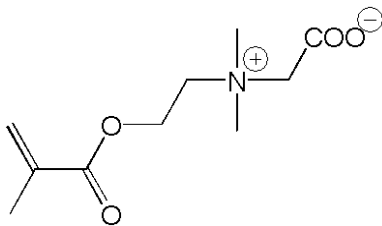
【実施例】

【0069】

合成例1. ポリマー1～3の合成

(1) N - [2 - (カルボキシメチルジメチルアミノ) エチル] メタアクリル酸 (モノマー A) の合成

297g(4.5mol)の水酸化カリウムを1.6Lのエタノールに溶解し、該溶液に426g(4.5mol)のクロロ酢酸(和光純薬工業(株)製)を添加した後、室温で2時間攪拌反応させた。次いで、反応により析出した結晶を濾取し、イソプロパノールで洗浄した。更に、洗浄した結晶を1Lのイソプロパノールに懸濁し、該懸濁液に475g(3.0mol)のN - [2 - (ジメチルアミノ) エチル] メタアクリル酸(和光純薬工業(株)製)を添加した後、還流下で12時間攪拌反応させた。反応終了後、不溶物を濾別し、該不溶物をイソプロパノールで洗浄し、該洗浄液を回収した。濾液と洗浄液を混合して減圧乾燥した後、得られた残渣にアセトンを添加して結晶を析出させた。その後、析出した結晶を濾取し、減圧乾燥して420gのN - [2 - (カルボキシメチルジメチルアミノ) エチル] メタアクリル酸(以下、モノマーAと略記する)を得た。



【0070】

(2) ポリマー1～3の合成

上記(1)で得たモノマーA(11g～22g)をイオン交換水(90mL～180mL)に溶解した後、5～30分間のアルゴンガス置換を行った。この溶液に2mLの10%-ペルオキシ二硫酸アンモニウム溶液を添加した後、50℃で1～2時間攪拌反応させた。反応終了後、該反応液を透析チューブ[スペクトラポア2(分画分子量12K～14K、Spectrum社製)、イオン交換水; 5L×3回]で精製した。上記操作を3回行い、得られたポリマー溶液をそれぞれ凍結乾燥し、9.4g～14.8gのポリマー1～3を得た。

【0071】

ポリマー1～3については、¹H-NMRスペクトル分析により、メタクリル酸セグメント(0.84ppm～1.32ppm)の存在を、IRスペクトル分析により、カルボニル基(-C=O)(1725cm⁻¹)の存在をそれぞれ確認した。

【0072】

ポリマー1～3の物性について、GPC(SB-806M-HQ、Shodex社製)で測定した結果を下記表に示した。

【0073】

	重量平均分子量	分子量分布
ポリマー1	64,240	4.279
ポリマー2	121,752	2.984
ポリマー3	2,644,350	5.234

【0074】

合成例2. ポリマー4の合成

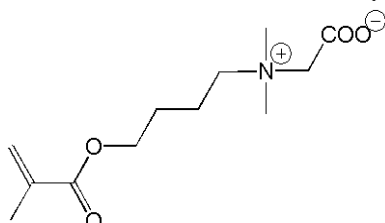
(1) N - (4 - ジメチルアミノ) ブチルメタアクリル酸の合成

23g(0.2mol)のN - (4 - ジメチルアミノ) ブタノール (和光純薬工業 (株) 製) を200mLのクロロホルムに溶解し、氷冷下で該溶液に25g(0.24mol)のメタアクリル酸クロリド (和光純薬工業 (株) 製) を添加した後、室温で1.5時間攪拌しながら反応させた。次いで、得られた反応溶液を飽和重曹水及び飽和食塩水で洗浄した後、硫酸マグネシウムで乾燥した。その後、硫酸マグネシウムを濾別し、得られた濾液を減圧濃縮して38gのN - [4 - (ジメチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸を得た。

【 0 0 7 5 】

(2) N - [4 - (カルボキシメチルジメチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸 (モノマー B) の合成

12g(0.21mol)の水酸化カリウムを150mLのエタノールに溶解し、該溶液に20g(0.21mol)のクロロ酢酸 (和光純薬工業 (株) 製) を添加した後、室温で2時間攪拌して反応させた。次いで、反応により析出した結晶を濾取し、エタノールで洗浄した。その後、洗浄した結晶を50mLのエタノールに懸濁し、上記(1)で得た38g(0.2mol)のN - (4 - ジメチルアミノ) ブチルメタアクリル酸を添加した後、還流下で12時間攪拌反応させた。反応終了後、不溶物を濾別し、エタノールで洗浄し、該洗浄液を回収した。濾液と洗浄液とを混合して減圧乾燥した後、得られた残渣にアセトンを添加して結晶を析出させた。その後、析出した不溶物を濾別し、減圧濃縮して26gのN - [4 - (カルボキシメチルジメチルアミノ) ブチル] メタアクリル酸 (以下モノマーBと略記する) を得た。



【 0 0 7 6 】

(3) ポリマー 4 の合成

上記(2)で得た25gのモノマーBを90mLのイオン交換水に溶解し、30分間のアルゴンガス置換を行った。この溶液に2mLの10%-ペルオキシ二硫酸アンモニウム溶液を添加した後、50℃で2時間攪拌反応させた。反応終了後、反応液を透析チューブ [スペクトラポア 2 (分画分子量12K~14K、Spectrum社製) , イオン交換水 ; 5L×3回] で精製した。精製後、得られたポリマー溶液を凍結乾燥し、17.2gのポリマー4を得た。

【 0 0 7 7 】

ポリマー4については、¹H-NMRスペクトル分析により、メタクリル酸セグメント(0.84ppm~1.45ppm)の存在を、IRスペクトル分析により、カルボニル基 (-C=O) (1725cm⁻¹)の存在をそれぞれ確認した。

ポリマー4の物性をGPC (SB-806M-HQ、Shodex社製) により測定した結果、重量平均分子量は807,920、分子量分布は3.895であった。

【 0 0 7 8 】

合成例 3 . ポリマー 5 の合成

(1) N - [3 - (カルボキシメチルジメチルアミノ) プロピル] アクリルアミド (モノマー C) の合成

198g(3.0mol)の水酸化カリウムを1Lのエタノールに溶解し、284g(3.0mol)のクロロ酢酸 (和光純薬工業 (株) 製) を添加した後、室温で2時間攪拌反応させた。次いで、反応により析出した結晶を濾取し、イソプロパノールで洗浄した。その後、洗浄した結晶を400mLのイソプロパノールに懸濁し、該懸濁液に511g(3.0mol)のN - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] アクリルアミド (和光純薬工業 (株) 製) を添加した後、還流下で12時間攪拌反応させた。反応終了後、不溶物を濾別し、イソプロパノールで洗浄し、該洗浄液を回収した。濾液と洗浄液とを混合して減圧乾燥した後、得られた残渣にアセトンを添加して結晶を析出させた。その後、析出した結晶を濾取し、減圧乾燥して565gのN - [3 -

10

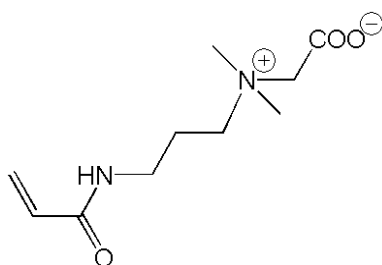
20

30

40

50

(カルボキシメチルジメチルアミノ)プロピル]アクリルアミド〔以下モノマーCと略記する〕を得た。



【0079】

(2) ポリマー5の合成

上記(1)で得た46gのモノマーCを90mLのイオン交換水に溶解し、30分間のアルゴンガス置換を行った。次いで、この溶液に2mLの10%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液を添加した後、50℃で2時間攪拌反応させた。反応終了後、反応液を透析チューブ〔スペクトラポア2(分画分子量12K~14K、Spectrum社製)、イオン交換水;5L×3回〕で精製した。精製後、得られたポリマー溶液を凍結乾燥することで26.2gのポリマー5を得た。

【0080】

ポリマー5については、¹H-NMRスペクトル分析により、メタクリル酸セグメント(1.13ppm~2.05ppm)の存在を、IRスペクトル分析により、アミド基(-NH-C=O)(1640cm⁻¹, 1540cm⁻¹)の存在をそれぞれ確認した。

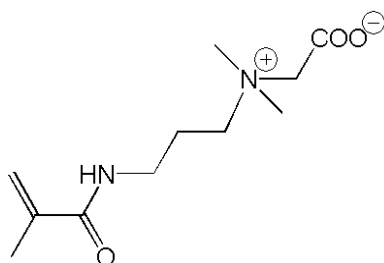
ポリマー5の物性をGPC(SB-806M-HQ、Shodex社製)により測定した結果、重量平均分子量は262,065、分子量分布は4.332であった。

【0081】

合成例4. ポリマー6の合成

(1) N-[3-(カルボキシメチルジメチルアミノ)プロピル]メタアクリルアミド(モノマーD)の合成

198g(3.0mol)の水酸化カリウムを1Lのエタノールに溶解し、284g(3.0mol)のクロロ酢酸(和光純薬工業(株)製)を添加した後、室温で2時間攪拌反応させた。次いで、反応により析出した結晶を濾取し、イソプロパノールで洗浄した。その後、洗浄した結晶を400mLのイソプロパノールに懸濁し、該懸濁液に511g(3.0mol)のN-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]メタアクリルアミド(和光純薬工業(株)製)を添加した後、還流下で12時間攪拌反応させた。反応終了後、不溶物を濾別し、イソプロパノールで洗浄し、該洗浄液を回収した。濾液と洗浄液とを混合して減圧乾燥した後、得られた残渣にアセトンを添加して結晶を析出させた。その後、析出した結晶を濾取し、減圧乾燥して565gのN-[3-(カルボキシメチルジメチルアミノ)プロピル]メタアクリルアミド〔以下モノマーDと略記する〕を得た。



【0082】

(2) ポリマー6の合成

上記(1)で得た21gのモノマーDを90mLのイオン交換水に溶解し、30分間のアルゴンガス置換を行った。次いで、この溶液に2mLの10%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液を添加した後、50℃で2時間攪拌反応させた。反応終了後、反応液を透析チューブ〔スペクトラポア2(分画分子量12K~14K、Spectrum社製)、イオン交換水;5L×3回〕で精製した。精製後、得られたポリマー溶液を凍結乾燥することで13.5gのポリマー6を得た。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 3 】

ポリマー 6 については、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル分析により、メタクリル酸セグメント(1.10ppm~2.00ppm)の存在を、IRスペクトル分析により、アミド基(-NH-C=O)(1640cm^{-1} , 1540cm^{-1})の存在をそれぞれ確認した。

ポリマー 6 の物性をGPC (SB-806M-HQ、Shodex社製)により測定した結果、重量平均分子量は407,359、分子量分布は2.375であった。

【 0 0 8 4 】

合成例 5 . コポリマー 1 の合成

上記合成例 1 で得た22gのモノマー A と1.8gの10-ウンデセン酸(和光純薬工業(株)製)を50mLのイオン交換水と40mLのDMFとの混合溶媒に溶解し、30分間のアルゴンガス置換を行った。次いで、この溶液に2mLの10%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液を添加した後、50 で2時間攪拌反応させた。反応終了後、反応液を透析チューブ[スペクトラポア 2 (分画分子量12K~14K、Spectrum社製), イオン交換水; 5L x 3回]で精製した。精製後、得られたポリマー溶液を凍結乾燥することで16.2gのコポリマー 1 を得た。尚、コポリマー 1 はウンデセン酸由来のモノマー単位(以下、モノマー単位 E と略記する)を40モル%含む。

10

【 0 0 8 5 】

コポリマー 1 については、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル分析により、メタクリル酸由来のモノマー単位(1.10ppm~2.00ppm)及びウンデセン酸由来のモノマー単位(1.03ppm)の存在を、IRスペクトル分析により、カルボニル基(-C=O)(1725cm^{-1})の存在をそれぞれ確認した。

20

コポリマー 1 の物性をGPC (SB-806M-HQ、Shodex社製)により測定した結果、重量平均分子量は658,206、分子量分布は2.216であった。

【 0 0 8 6 】

合成例 6 . コポリマー 2 の合成

上記合成例 1 で得た22gのモノマー A と7.4gの10-ウンデセン酸(和光純薬工業(株)製)を50mLのイオン交換水と40mLのDMFとの混合溶媒に溶解し、30分間のアルゴンガス置換を行った。次いで、この溶液に2mLの10%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液を添加した後、50 で2時間攪拌反応させた。反応終了後、反応液を透析チューブ[スペクトラポア 2 (分画分子量12K~14K、Spectrum社製), イオン交換水; 5L x 3回]で精製した。精製後、得られたポリマー溶液を凍結乾燥することで19.4gのコポリマー 2 を得た。尚、コポリマー 2 は、モノマー単位 E を5モル%含む。

30

【 0 0 8 7 】

コポリマー 2 については、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル分析により、メタクリル酸セグメント(1.10ppm~2.00ppm)及びウンデセン酸セグメント(1.03ppm)の存在を、IRスペクトル分析により、カルボニル基(-C=O)(1725cm^{-1})の存在をそれぞれ確認した。

コポリマー 2 の物性をGPC (SB-806M-HQ、Shodex社製)により測定した結果、重量平均分子量は957,680、分子量分布は2.041であった。

【 0 0 8 8 】

実施例 1 分子量の異なるポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法によるCRPの測定

40

(1) 抗ヒトCRP抗体感作(固定化)ラテックス試薬の調製

抗ヒトCRP山羊ポリクローナル抗体(オリエンタル酵母工業(株)製)1mg/mLを含む50mMホウ酸緩衝液(pH7.5)4.5mLと、粒径0.12 μm のポリスチレンラテックス(日本ペイント(株)製)の10w/v%水溶液0.5mLとを混合し、7 で一晩反応させた。その後、得られた懸濁液5mLとウシ血清アルブミン(BSA)を2.5w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液(pH7.5)5mLとを混合し、7 で2時間反応させた。次いで、遠心分離(45,000g、30分)により分離したラテックス全量を50mMホウ酸緩衝液(pH7.5)5mLで洗浄し、BSAを0.5w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液(pH7.5)12.5mLに懸濁させ、該懸濁液を抗ヒトCRP抗体感作ラテックス溶液1)とした。また、上記と同様にして粒径0.2 μm のポリスチレンラテックス(日本ペイント(株)製)を用いて調製したものを、抗ヒトCRP抗体感作ラテックス溶液2)とした。

50

【 0 0 8 9 】

(2) 試料

試薬盲検測定用試料（ブランク）には、生理食塩水（0.85%NaCl）を使用した。試料には、LT・CRP-HSキャリブレーターセットHO（和光純薬工業（株）製、CRP濃度がそれぞれ0.2 mg/dL、1.0 mg/dL、4.0 mg/dL、18.0 mg/dL、35.0mg/dLのもの）を使用した。

【 0 0 9 0 】

(3) 試薬

第一試薬

合成例1で合成した、ポリマー1、ポリマー2又はポリマー3を凝集促進剤として0.4w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)を調製し、3種類の第一試薬を準備した。

第二試薬

上記(1)で調製した抗ヒトCRP抗体感作ラテックス1) 12mL及び抗ヒトCRP抗体感作ラテックス2) 8mLを混合したものを第二試薬とした。

【 0 0 9 1 】

(4) 測定方法

上記試料、上記第一試薬及び上記第二試薬を下記条件でBM-8形自動分析装置（日本電子（株）製）を用いて、試料中のCRP濃度を測定した。

【 0 0 9 2 】

試料 : 7.5 µL (生理食塩水で5倍希釈)

第一試薬 : 100 µL

第二試薬 : 25 µL

測定方法 : 2ポイントエンド法 (34-65)

主波長 : 596nm

得られた結果を表1に示す。

【 0 0 9 3 】

比較例1 従来の免疫凝集促進剤を用いたラテックス免疫凝集測定法によるCRPの測定

実施例1のポリマー1～3の代わりにポリエチレングリコール6,000（PEG6,000、和光純薬工業（株）製）又はMPCポリマー（日油（株）製）を凝集促進剤として0.4w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)を第一試薬として用いた以外は、実施例1と同様の方法によりCRPを測定した。その結果を、実施例1の結果と併せて表1に示す。

【 0 0 9 4 】

【表1】

凝集促進剤 CRP濃度 \ MW	実施例1			比較例1	
	ポリマー1 64,340	ポリマー2 121,752	ポリマー3 2,644,000	PEG 6,000	MPC 245,000
ブランク	51	51	45	47	51
0.2 mg/dL	360	452	523	189	230
1.0 mg/dL	1299	1516	1758	733	936
4.0 mg/dL	2427	2703	2982	1686	2038
18.0 mg/dL	5540	6298	6911	3900	4711
35.0 mg/dL	7187	8128	8623	4945	6883

【 0 0 9 5 】

表1の結果より、CRP測定系においてポリマー1、2及び3はいずれも、従来品である比較例1のPEG6,000やMPCよりも高い凝集促進効果を示すことが判った。また、その効果はポリマーの分子量が高いほど優れた効果を示すことが判った。

【 0 0 9 6 】

実施例2 分子量の異なるポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法によるFerの測定

(1) 抗ヒトFer抗体感作(固定化)ラテックス試薬の調製

10

20

30

40

50

抗ヒトFer 兎ポリクローナル抗体 (Dako社製) 0.6mg/mLを含む50mMホウ酸緩衝液 (pH7.5) 1mlと、粒径0.3 μmのポリスチレンラテックス (積水化学工業(株)製) を2w/v%含むように懸濁させた50mMホウ酸緩衝液 (pH7.5) 1mlとを混合し、25℃で2時間反応させた。その後、得られた懸濁液 2mLとBSAを1.25w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液 (pH7.5) 2mLとを混合し、7℃で2時間反応させた。次いで、遠心分離 (45,000g、30分) により分離したラテックス全量を50mMホウ酸緩衝液 (pH7.5) 4mLで洗浄し、BSAを0.5w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液 (pH7.5) 20mLに懸濁したものを、抗ヒトFer抗体感作ラテックス溶液とした。

【0097】

(2) 試料

試薬盲検測定試料 (ブランク) には、生理食塩水 (0.85%NaCl) を使用した。試料には、フェリチンキャリブレーターセット (和光純薬工業(株)製、Fer濃度が、それぞれ30 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mLのもの) を使用した。

【0098】

(3) 試薬

第一試薬

合成例1で合成した、ポリマー1、ポリマー2又はポリマー3を凝集促進剤として0.4w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1MHEPES-NaOH緩衝液 (pH7.0) を調製し、3種類の第一試薬を準備した。

第二試薬

上記(1)で調製した抗ヒトFer抗体感作ラテックス溶液を第二試薬とした。

【0099】

(4) 測定方法

上記試料、上記第一試薬及び上記第二試薬を下記条件でBM-8形自動分析装置 (日本電子(株)製) を用いて、試料中のFer濃度を測定した。

試料 : 12.0 μL (生理食塩水で2倍希釈)

第一試薬 : 90 μL

第二試薬 : 30 μL

測定方法 : 2ポイントエンド法 (35-59)

主波長 : 694nm

得られた結果を表2に示す。

【0100】

比較例2 従来の免疫凝集促進剤を用いたラテックス免疫凝集測定法によるFerの測定

実施例2のポリマー1~3の代わりにポリエチレングリコール6,000 (PEG6,000, 和光純薬工業(株)製) 又はMPCポリマー (日油(株)製) を凝集促進剤として0.4w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1MHEPES-NaOH緩衝液 (pH7.0) を第一試薬として用いた以外は、実施例2と同様の方法によりFerを測定した。

その結果を、実施例2の結果と併せて表2に示す。

【0101】

【表2】

凝集促進剤 Fer濃度 \ MW	実施例2			比較例2	
	ポリマー1 64,340	ポリマー2 121,752	ポリマー3 2,644,000	PEG 6,000	MPC 245,000
0ng/mL(ブランク)	-32	-39	-21	-26	-29
30 ng/mL	95	117	115	40	66
100 ng/mL	406	483	512	201	291
200 ng/mL	792	978	1070	438	609
500 ng/mL	2206	2677	2894	1115	1553
1000 ng/mL	3439	3814	3913	2074	2767

【0102】

表2の結果より、Fer測定系においてポリマー1、2及び3のいずれも、比較例2のPEG6,000やMPCよりも高い凝集促進効果を示すことが判った。また、その効果はCRP測定系と同

10

20

30

40

50

様に、ポリマーの分子量が高いほど優れていることが判った。

【 0 1 0 3 】

実施例 3 分子量の異なるポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法によるPSAの測定

(1) 抗ヒトPSA抗体感作(固定化)ラテックス試薬の調製

抗ヒトPSAモノクローナル抗体(クローンNo.PSA10、和光純薬工業(株)製)0.6mg/mLを含む50mMホウ酸緩衝液(pH7.1)1mlと、粒径0.28 μ mのポリスチレンラテックス(積水化学工業(株)製)を2w/v%含むように懸濁させた50mMホウ酸緩衝液(pH7.1)1mlとを混合し、25℃で2時間反応させた。その後、該懸濁液から遠心分離(45,000g、30分)によりラテックス全量を分離し、50mMホウ酸緩衝液(pH7.1)2mLで洗浄した。次いで、BSAを0.5w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液(pH7.3)2mLに懸濁したものを抗ヒトPSA抗体感作ラテックス溶液1)とした。

10

また、上記と同様にして抗ヒトPSAモノクローナル抗体(クローンNo.PSA14、和光純薬工業(株)製)1.4mgを含む50mMホウ酸緩衝液(pH7.1)1mlと、粒径0.15 μ mのポリスチレンラテックス(積水化学工業(株)製)を2w/v%含むように懸濁させた50mMホウ酸緩衝液(pH7.1)1mlとを混合して調製したものを、抗ヒトPSA抗体感作ラテックス溶液2)とした。

【 0 1 0 4 】

(2) 試料

試薬盲検測定試料(ブランク)には、リン酸緩衝液(1w/v%BSA、0.85%NaCl含有10mMリン酸緩衝液)を使用した。試料には、PSAキャリブレーターセット(和光純薬工業(株)製、PSA濃度が、それぞれ5.0ng/mL、10.0ng/mL、39.8 ng/mL、69.3ng/mL、98.6ng/mLのもの)を使用した。

20

【 0 1 0 5 】

(3) 試薬

第一試薬

合成例1で合成した、ポリマー1、ポリマー2又はポリマー3を0.75w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1MHEPES-NaOH緩衝液(pH7.0)を調製し、3種類の第一試薬を準備した。

第二試薬

上記(1)で調製した抗ヒトPSA抗体感作ラテックス1)および2)をそれぞれ2mLずつ、BSAを0.5w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液(pH7.5)16mLに懸濁し混合したものを第二試薬とした。

30

【 0 1 0 6 】

(4) 測定方法

上記試料、上記第一試薬及び上記第二試薬を下記条件でBM-8形自動分析装置(日本電子(株)製)を用いて、試料中のPSA濃度を測定した。得られた結果を表3に示す。

【 0 1 0 7 】

試料 : 18.0 μ L(生理食塩水で2倍希釈)
 第一試薬 : 90 μ L
 第二試薬 : 30 μ L
 測定方法 : 2ポイントエンド法(37-65)
 主波長 : 694nm

40

【 0 1 0 8 】

比較例 3 従来の免疫凝集促進剤を用いたラテックス免疫凝集測定法によるPSAの測定

実施例3のポリマー1~3の代わりにポリエチレングリコール6,000(PEG6,000、和光純薬工業(株)製)又はMPCポリマー(日油(株)製)を凝集促進剤として0.75w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1MHEPES-NaOH緩衝液(pH7.0)を第一試薬として用いた以外は、実施例3と同様の方法によりPSAを測定した。

その結果を、実施例3の結果と併せて表3に示す。

【 0 1 0 9 】

50

【表 3】

凝集促進剤	実施例3			比較例3	
	ポリマー1	ポリマー2	ポリマー3	PEG	MPC
PSA濃度 \ MW	64,340	121,752	2,644,000	6,000	245,000
0ng/mL(ブランク)	-15	-19	-12	-37	-17
5 ng/mL	218	252	269	153	178
10 ng/mL	453	539	580	257	366
39.8 ng/mL	2034	2720	3141	989	1529
69.3 ng/mL	3566	4772	5464	1716	2615
98.6 ng/mL	4786	6271	7028	2224	3735

【0110】

表3の結果より、PSA測定系においてポリマー1、2及び3のいずれも、比較例3のPEG 6,000やMPCよりも高い凝集促進効果を示すことが判った。また、その効果は、CRP測定系やFer測定系と同様、ポリマーの分子量が高いほど優れていることが判った。

【0111】

実施例4 各種ポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法によるCRPの測定

ポリマー1～3の代わりにポリマー4～6を凝集促進剤として0.4w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)を第一試薬として用いた以外は、実施例1と同様の方法によりCRPを測定した。その結果を表4に示す。

【0112】

【表4】

CRP濃度\凝集促進剤	ポリマー4	ポリマー5	ポリマー6
0mg/dL(ブランク)	48	51	48
0.2 mg/dL	434	399	386
1.0 mg/dL	1451	1370	1314
4.0 mg/dL	2602	2493	2409
18.0 mg/dL	5902	5645	5421
35.0 mg/dL	7618	7280	7081

【0113】

表4の結果より、CRP測定系においてポリマー4、5及び6はいずれも、ポリマー1～3と同様、高い凝集促進効果を示すことが判った。また、従来品であるPEG6,000やMPCよりも高い凝集促進効果を示すことも判った。

【0114】

実施例5 各種ポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法によるFerの測定

ポリマー1～3の代わりにポリマー4～6を凝集促進剤として0.4w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)を第一試薬として用いた以外は、実施例2と同様の方法によりFerを測定した。その結果を表5に示す。

【0115】

【表5】

Fer濃度\凝集促進剤	ポリマー4	ポリマー5	ポリマー6
0ng/mL(ブランク)	-27	-33	-31
30 ng/mL	120	99	92
100 ng/mL	463	438	407
200 ng/mL	992	951	890
500 ng/mL	2500	2389	2263
1000 ng/mL	3768	3678	3566

【0116】

表5の結果より、Fer測定系においてもポリマー4、5及び6はいずれも、ポリマー1～3と同様、高い凝集促進効果を示すことが判った。また、従来品であるPEG6,000やMPCよりも高い凝集促進効果を示すことも判った。

10

20

30

40

50

【 0 1 1 7 】

実施例 6 各種ポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法による PSA の測定

ポリマー 1 ~ 3 の代わりにポリマー 4 ~ 6 を凝集促進剤として 0.4w/v% 含有した、0.1% BSA 及び 1%NaCl を含む 0.1M HEPES-NaOH 緩衝液 (pH7.0) を第一試薬として用いた以外は、実施例 3 と同様の方法により PSA を測定した。その結果を表 6 に示す。

【 0 1 1 8 】

【表 6】

PSA濃度\凝集促進剤	ポリマー4	ポリマー5	ポリマー6
0ng/mL(ブランク)	-13	-15	-17
5 ng/mL	210	238	222
10 ng/mL	440	485	446
39.8 ng/mL	2027	2281	2063
69.3 ng/mL	3571	3986	3642
98.6 ng/mL	4877	5663	4905

10

【 0 1 1 9 】

表 6 の結果より、PSA 測定系においてもポリマー 4、5 及び 6 はいずれも、ポリマー 1 ~ 3 と同様、高い凝集促進効果を示すことが判った。また、従来品である PEG6,000 や MPC よりも高い凝集促進効果を示すことも判った。

【 0 1 2 0 】

実施例 7 コポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法による CRP の測定

20

ポリマー 1 ~ 3 の代わりにコポリマー 1 又は 2 を凝集促進剤として 0.4w/v% 含有した、0.1%BSA 及び 1%NaCl を含む 0.1M トリス緩衝液 (pH8.0) を第一試薬として用いた以外は、実施例 1 と同様の方法により CRP を測定した。その結果を表 7 に示す。

【 0 1 2 1 】

【表 7】

ポリマー	コポリマー1	コポリマー2
分子量	658,206	957,680
CRP濃度 \ モノマー1の含量	5%	40%
0mg/dL(ブランク)	49	47
0.2 mg/dL	655	463
1.0 mg/dL	1802	1510
4.0 mg/dL	2914	2688
18.0 mg/dL	6565	6183
35.0 mg/dL	8202	7927

30

【 0 1 2 2 】

表 7 の結果より、CRP 測定系においてコポリマー 1 および 2 はいずれも、ポリマー 1 ~ 6 と同様に高い凝集促進効果を示すことが判った。また、従来品である PEG6,000 や MPC よりも高い凝集促進効果を示すことも判った。

【 0 1 2 3 】

実施例 8 コポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法による Ferr の測定

40

ポリマー 1 ~ 3 の代わりにコポリマー 1 又は 2 を凝集促進剤として 0.4w/v% 含有した、0.1%BSA 及び 1%NaCl を含む 0.1MHEPES-NaOH 緩衝液 (pH7.0) を第一試薬として用いた以外は、実施例 2 と同様の方法により Ferr を測定した。その結果を表 8 に示す。

【 0 1 2 4 】

【表 8】

ポリマー	コポリマー1	コポリマー2
分子量	658,206	957,680
Fer濃度 \ モノマーCの含量	5%	40%
0mg/dL(ブランク)	-33	-41
30 ng/mL	129	107
100 ng/mL	496	453
200 ng/mL	1133	987
500 ng/mL	2828	2503
1000 ng/mL	3876	3679

【0125】

10

表 8 の結果より、Fer測定系においてもコポリマー 1 および 2 のいずれも、ポリマー 1 ~ 6 と同様に高い凝集促進効果を示すことが判った。また、従来品であるPEG6,000やMPCよりも高い凝集促進効果を示すことも判った。

【0126】

実施例 9 コポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法によるPSAの測定

ポリマー 1 ~ 3 の代わりにコポリマー 1 又は 2 を凝集促進剤として0.75w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1MHEPES-NaOH緩衝液(pH7.0)を第一試薬として用いた以外は、実施例 3 と同様の方法によりPSAを測定した。その結果を表 9 に示す。

【0127】

20

【表 9】

ポリマー	コポリマー1	コポリマー2
分子量	658,206	957,680
PSA濃度 \ モノマーCの含量	5%	40%
0mg/dL(ブランク)	-16	-13
5 ng/mL	282	246
10 ng/mL	598	529
39.8 ng/mL	3212	2634
69.3 ng/mL	5453	4583
98.6 ng/mL	6992	5975

表 9 の結果より、PSA測定系においてもコポリマー 1 および 2 のいずれも、ポリマー 1 ~ 6 と同様に高い凝集促進効果を示すことが判った。また、従来品であるPEG6,000やMPCよりも高い凝集促進効果を示すことも判った。

30

【0128】

実施例 10 コポリマーを免疫凝集促進剤として用いたラテックス免疫凝集測定法によるCK-MBの測定

(1) 抗ヒトCK-MB抗体感作(固定化)ラテックス試薬の調製

抗ヒトCK-MBモノクローナル抗体(クローンMAK CK-MB M-7.4.5-IgG、Roche社製)0.8 mg/mLを含む50mMホウ酸緩衝液(pH7.5) 1mlと、粒径0.4 μmのポリスチレンラテックス(藤倉化成(株)製)を2w/v%含むように懸濁させた50mMホウ酸緩衝液(pH7.5) 1mlとを混合し、25℃で2時間反応させた。その後、遠心分離(45,000g、30分)により分離したラテックス全量を50mMホウ酸緩衝液(pH7.5) 2mLで洗浄した。次いで、BSAを0.5w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液(pH7.5) 2mLに懸濁させ、抗ヒトCK-MB抗体感作ラテックス溶液1)とした。

40

また、上記と同様の方法により、抗ヒトCK-MBモノクローナル抗体(クローンMAK CK-MB M-6.12.47-IgG、Roche社製)0.8mgを含む50mMホウ酸緩衝液(pH7.5) 1mlと、粒径0.4 μmのポリスチレンラテックス(藤倉化成(株)製)を2w/v%含むように懸濁させた50mMホウ酸緩衝液(pH7.5) 1mlとを混合して調製したものを、抗ヒトCK-MB抗体感作ラテックス溶液2)とした。

【0129】

(2) 試料

試薬盲検測定用試料(ブランク)には、生理食塩水(0.85%NaCl)を使用した。試料は

50

、CK-MB抗原（ヒト由来CK-MB、Cliniqa社製）をリン酸緩衝液（10mMリン酸、1w/v%BSA、0.85%NaCl含有）で希釈し、濃度がそれぞれ5.2ng/mL、19.0ng/mL、47.9ng/mL、98.7ng/mL、204.3ng/mLとなるように調製したものを使用した。

【0130】

(3) 試薬

第一試薬

ポリマー1、コポリマー1又はコポリマー2を凝集促進剤として0.75w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1M HEPES-NaOH緩衝液(pH7.0)を調製し、3種類の第一試薬を準備した。

第二試薬

上記(1)で調製した抗ヒトCK-MB抗体感作ラテックス溶液(1)および(2)をそれぞれ2mLずつ、BSAを0.5w/v%含有する50mMホウ酸緩衝液(pH7.5) 16mLに懸濁し混合したものを第二試薬とした。

【0131】

(4) 測定方法

上記試料、上記第一試薬及び上記第二試薬を下記条件でBM-8形自動分析装置（日本電子(株)製）を用いて、試料中のCK-MB濃度を測定した。

【0132】

試料 : 12.0 μL (生理食塩水で2倍希釈)
 第一試薬 : 90 μL
 第二試薬 : 30 μL
 測定方法 : 2ポイントエンド法 (34-65)
 主波長 : 596nm
 得られた結果を表10に示す。

【0133】

比較例4 従来の免疫凝集促進剤を用いたラテックス免疫凝集測定法によるCK-MBの測定

ポリマー1、コポリマー1及びコポリマー2の代わりにポリエチレングリコール6,000 (PEG6,000, 和光純薬工業(株)製)又はMPCポリマー(日油(株)製)を凝集促進剤として0.75%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1M HEPES-NaOH緩衝液(pH7.0)を第一試薬として用いた以外は、実施例10と同様の方法によりCK-MBを測定した。その結果を、実施例10の結果と併せて表10に示す。

【0134】

【表10】

凝集促進剤 分子量	実施例10			比較例4	
	ポリマー2	コポリマー1	コポリマー2	PEG	MPC
CK-MB濃度 \ モノマーCの含量	0%	5%	40%		
0 ng/mL(ブランク)	-102	-65	-31	-139	-129
5.2 ng/mL	83	90	93	19	24
19.0 ng/mL	481	599	810	85	197
47.9 ng/mL	1439	1789	2232	257	624
98.7 ng/mL	2547	2942	3198	534	1220
204.3 ng/mL	3335	3502	3590	1134	2232

【0135】

表10の結果より、CK-MB測定系においてポリマー2、コポリマー1および2のいずれにもこれらを添加することにより、比較例4のPEG6,000またはMPCよりも高い凝集促進効果を示すことが判った。更に、ホモポリマーであるポリマー2よりもコポリマーであるコポリマー1および2の方がより高い凝集促進効果を示すことも判った。

【0136】

実施例11 免疫凝集促進剤の含量が異なるラテックス免疫凝集測定法によるCRPの測定

ポリマー1を0.24w/v%、0.32w/v%、0.56w/v%又は0.72w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)を第一試薬として用いた以外は、実施例1と同様の

10

20

30

40

50

方法によりCRPを測定した。その結果を表 1 1 に示す。

【 0 1 3 7 】

【 表 1 1 】

CRP濃度\ポリマー1の添加量	0.24%	0.32%	0.56%	0.72%
0 mg/dL	64	68	54	54
0.2 mg/dL	238	298	526	795
1.0 mg/dL	1035	1316	2048	2703
4.0 mg/dL	2265	2630	3477	4208
18 mg/dL	4923	5691	7441	8568
35 mg/dL	6513	7556	8968	9408

10

【 0 1 3 8 】

表 1 1 の結果から明らかな様に、CRP測定系におけるポリマー 1 は、その添加量が多ければ多いほど、凝集促進効果が高くなることが判った。

【 0 1 3 9 】

実施例 1 2 免疫凝集促進剤の含量が異なるラテックス免疫凝集測定法によるFerの測定

第一試薬として、ポリマー 1 を0.25w/v%、0.31w/v%、0.49w/v%又は0.61w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1M HEPES-NaOH緩衝液(pH7.0)を用いた以外は、実施例 2 と同様の方法によりFerを測定した。その結果を表 1 2 に示す。

【 0 1 4 0 】

【 表 1 2 】

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

20

【 0 1 4 1 】

表 1 2 の結果から明らかな様に、Fer測定系におけるポリマー 1 は、その添加量が多ければ多いほど、凝集促進効果が高くなることが判った。

【 0 1 4 2 】

実施例 1 3 免疫凝集促進剤の含量が異なるラテックス免疫凝集測定法によるPSAの測定

第一試薬として、ポリマー 1 を0.60w/v%、0.90w/v%、1.35w/v%又は1.50w/v%含有した、0.1%BSA及び1%NaClを含む0.1M HEPES-NaOH緩衝液(pH7.0)を用いた以外は、実施例 3 と同様の方法によりPSAを測定した。その結果を表 1 3 に示す。

【 0 1 4 3 】

【 表 1 3 】

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

40

【 0 1 4 4 】

表 1 3 の結果から明らかな様に、PSA測定系におけるポリマー 1 は、その添加量が多ければ多いほど、凝集促進効果が高くなることが判った。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/064355

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/543(2006.01)i, C08F20/36(2006.01)i, C08F20/60(2006.01)i, C08F220/36(2006.01)i, C08F220/60(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/573(2006.01)i, G01N33/574(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) G01N33/543, C08F20/36, C08F20/60, C08F220/36, C08F220/60, G01N33/53, G01N33/573, G01N33/574		
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 1996-2012 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 58-047256 A (Mitsubishi Chemical Industries Ltd.), 18 March 1983 (18.03.1983), claims (Family: none)	1-11
A	JP 04-122858 A (Sekisui Chemical Co., Ltd.), 23 April 1992 (23.04.1992), examples (Family: none)	1-11
A	JP 2002-365296 A (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 18 December 2002 (18.12.2002), claim 1; paragraph [0010] & US 2004/0157276 A1	1-11
<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 28 August, 2012 (28.08.12)		Date of mailing of the international search report 11 September, 2012 (11.09.12)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/064355

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02/018953 A1 (Kyowa Medex Co., Ltd.), 07 March 2002 (07.03.2002), claim 1 & US 2003/0166302 A1 & EP 1314982 A1 & DE 60139408 D & AU 8021001 A & CA 2420770 A & AT 438097 T	1-11
A	JP 2007-225343 A (Sanyo Chemical Industries, Ltd.), 06 September 2007 (06.09.2007), claim 1 (Family: none)	1-11

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 2 / 0 6 4 3 5 5	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/543(2006.01)i, C08F20/36(2006.01)i, C08F20/60(2006.01)i, C08F220/36(2006.01)i, C08F220/60(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/573(2006.01)i, G01N33/574(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. G01N33/543, C08F20/36, C08F20/60, C08F220/36, C08F220/60, G01N33/53, G01N33/573, G01N33/574			
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 1971-2012年 日本国実用新案登録公報 1996-2012年 日本国登録実用新案公報 1994-2012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)			
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 58-047256 A (三菱化成工業株式会社) 1983.03.18, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-11	
A	JP 04-122858 A (積水化学工業株式会社) 1992.04.23, 実施例 (ファミリーなし)	1-11	
A	JP 2002-365296 A (和光純薬工業株式会社) 2002.12.18, 請求項1、【0010】 & US 2004/0157276 A1	1-11	
<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 「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 28.08.2012		国際調査報告の発送日 11.09.2012	
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) 海野 佳子	2 J 3906
		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 2 / 0 6 4 3 5 5
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	WO 02/018953 A1 (協和メデックス株式会社) 2002.03.07, 請求項 1 & US 2003/0166302 A1 & EP 1314982 A1 & DE 60139408 D & AU 8021001 A & CA 2420770 A & AT 438097 T	1-11
A	JP 2007-225343 A (三洋化成工業株式会社) 2007.09.06, 請求項 1 (ファミリーなし)	1-11

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
C 0 8 F 20/60	(2006.01)	C 0 8 F 20/60	
C 0 8 F 220/64	(2006.01)	C 0 8 F 220/64	
C 0 8 F 220/02	(2006.01)	C 0 8 F 220/02	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, 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, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) 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 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 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)	凝集促进剂		
公开(公告)号	JPWO2012169453A1	公开(公告)日	2015-02-23
申请号	JP2013519479	申请日	2012-06-04
申请(专利权)人(译)	和光纯薬工业株式会社		
[标]发明人	山本直之 增田勤		
发明人	山本 直之 增田 勤		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 C08F220/36 C08F220/60 C08F20/36 C08F20/60 C08F220/64 C08F220/02		
CPC分类号	G01N33/5306 C08F220/36 C08F220/60 G01N33/542		
FI分类号	G01N33/543.581.D G01N33/53.X C08F220/36 C08F220/60 C08F20/36 C08F20/60 C08F220/64 C08F220/02		
F-TERM分类号	4J100/AJ01Q 4J100/AL08P 4J100/AM21P 4J100/BA18P 4J100/BA32P 4J100/CA01 4J100/CA03 4J100/CA04 4J100/JA18		
优先权	2011127076 2011-06-07 JP		
其他公开文献	JP6107653B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的目的是提供一种聚集促进剂，其具有优于常规免疫聚集促进剂的聚集促进作用，并且具有以下通式[1]。（式中，R1表示氢原子或甲基，R2和R3分别独立地表示甲基或乙基，X表示-NH-或氧原子，n表示1到6的整数，m表示1到3的整数），用于免疫聚集测定的聚集促进剂，其包含具有以下单体单元的聚合物：免疫聚集测定方法技术领域本发明涉及在启动子的存在下使测定对象物质的抗体或抗原与测定对象物质接触以引起抗原-抗体反应的免疫聚集测定方法。

