

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-526307

(P2010-526307A)

(43) 公表日 平成22年7月29日(2010.7.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 O 1 A	
GO 1 N 33/564 (2006.01)	GO 1 N 33/564 B	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 34 頁)

(21) 出願番号	特願2010-506844 (P2010-506844)	(71) 出願人	591003013 エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
(86) (22) 出願日	平成20年5月6日 (2008.5.6)		F. HOFFMANN-LA ROCH
(85) 翻訳文提出日	平成21年11月25日 (2009.11.25)		E AKTIENGESELLSCHAFT
(86) 国際出願番号	PCT/EP2008/003623		T
(87) 国際公開番号	W02008/135274		スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
(87) 国際公開日	平成20年11月13日 (2008.11.13)		グレンツァーヘルストラッセ124
(31) 優先権主張番号	07009240.8	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(32) 優先日	平成19年5月8日 (2007.5.8)	(74) 代理人	100096183 弁理士 石井 貞次
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100122389 弁理士 新井 栄一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 特異的免疫グロブリンクラスG抗体の検出方法

(57) 【要約】

本発明は、洗浄工程を行うことなく1工程形態で行われうるアッセイによるサンプル中のアナライトの測定方法に関する。該方法は、該アナライトに対する少なくとも1つの結合点を含有する第1のアナライト特異的受容体（例えば、粒子上の数個の抗体）、および該第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子を含む配置物に選択的に結合できる第2のアナライト特異的受容体を含む。検出が電気化学発光に基づくものである抗体サンドイッチイムノアッセイが記載されている。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプル中のアナライトの測定方法であって、以下の工程：

(a) 第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体と該サンプルを接触させる工程であって、それらの2つの受容体の一方は固相に結合しているか、または固相に結合することができ、もう一方の受容体はシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができる工程、ならびに

(b) 該固相上の該シグナル生成基を測定することにより、該アナライトの存在および/または量を検出する工程

を含んでなり、ここで第1のアナライト特異的受容体が該アナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有し、第2のアナライト特異的受容体が、該第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子の配置物に選択的に結合することができる、方法。 10

【請求項 2】

該アナライトが、抗原特異的抗体、特に、免疫グロブリンクラスGの抗原特異的抗体である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

該第1の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第2の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができる、請求項 1 または 2 記載の方法。

【請求項 4】

該第2の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第1の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができる、請求項 1 または 2 記載の方法。 20

【請求項 5】

該第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子が凝集している、請求項 1 ~ 4 のいずれか1項記載の方法。

【請求項 6】

該第1の受容体が該アナライトに対する少なくとも2つの異なる結合部位、少なくとも2つの同一の結合部位、または異なる及び同一の結合部位の組合せ、を含有する、請求項 1 ~ 5 のいずれか1項記載の方法。 30

【請求項 7】

該第1の受容体がオリゴマー受容体または多量体受容体である、請求項 1 ~ 6 のいずれか1項記載の方法。

【請求項 8】

第1の受容体が、該アナライトに対する結合部位として少なくとも2つのエピトープを含有する抗原を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか1項記載の方法。

【請求項 9】

該第1の受容体がビーズを含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか1項記載の方法。

【請求項 10】

該第1の受容体が受容体前駆体の形態で提供される、請求項 1 ~ 9 のいずれか1項記載の方法。 40

【請求項 11】

該受容体前駆体が、工程 (a) の途中または前に互いに会合するかまたは互いに結合して該第1の受容体を形成するという性質を有する、請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

該第2の受容体がリウマチ因子様抗体である、請求項 1 ~ 11 のいずれか1項記載の方法。

【請求項 13】

該第2の受容体が、少なくとも2つのパラトープを有する抗体である、請求項 1 ~ 12 のいずれか1項記載の方法。 50

【請求項 14】

該第2の受容体が免疫グロブリンクラスMの抗体である、請求項1～13のいずれか1項記載の方法。

【請求項 15】

該第2の受容体が、該アナライトに対する低いアフィニティおよび高いアビディティを有する抗体である、請求項1～14のいずれか1項記載の方法。

【請求項 16】

該第2の受容体がモノクローナル抗体である、請求項1～15のいずれか1項記載の方法。

【請求項 17】

工程(a)を、洗浄工程を行うことなく1つの反応混合物中で行う、請求項1～16のいずれか1項記載の方法。

【請求項 18】

診断方法である、請求項1～17のいずれか1項記載の方法。

【請求項 19】

第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体を含んでなるキットであって、それらの2つの受容体の一方が固相に結合しているか、または固相に結合することができ、もう一方の受容体がシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができ、第1のアナライト特異的受容体が該アナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有し、第2のアナライト特異的受容体が、該第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子の配置物に選択的に結合することができる、キット。

【請求項 20】

第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体が、1つの反応混合物中での使用のために製剤化されている、請求項19記載のキット。

【請求項 21】

該第1の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第2の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができる、請求項19または20記載のキット。

【請求項 22】

該第2の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第1の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができ、請求項19または20記載のキット。

【請求項 23】

サンプル中のアナライトの測定方法における、該アナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有するアナライト特異的受容体の使用。

【請求項 24】

診断方法における、請求項23記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、洗浄工程を伴わずに1工程形態で行われうるアッセイによるサンプル中のアナライトの測定方法に関する。

【背景技術】

【0002】

哺乳類生物の免疫系は、外来物質の侵入に対する応答として、免疫グロブリンとしても知られる抗体を産生する。それらは、抗原とも称される外来物質に対する防御として働く。免疫グロブリンは5つの異なるクラスに分類可能であり、M、G、A、EおよびDクラスの免疫グロブリン間で区別がなされる。これらの5つの免疫グロブリンクラスは、それぞれ μ 、 γ 、 α 、 β および δ と称される重鎖の組成において異なる。

【0003】

10

20

30

40

50

各免疫グロブリンクラスは、生物において、異なる機能を有する。クラスM免疫グロブリンは抗原との最初の接触中に生じ、これは初回免疫と称される。しかし、これらの免疫グロブリンの濃度は、感染が進行するにつれて急速に減少する。クラスG免疫グロブリンは最初は初回免疫中にゆっくり生成し、同じ抗原による2回目の感染において大量に生じる。クラスA免疫グロブリンは生物の粘膜の表面上で見出され、局所防御過程をもたらす。クラスE免疫グロブリンは主としてアレルギー反応を引き起こす。クラスD免疫グロブリンの厳密な機能は現在のところ不明である。

【0004】

個々の免疫グロブリンクラスは、非常に異なる濃度で血中に存在する。すなわち、クラスG免疫グロブリン(IgG)は、正常ヒト血清中に最も豊富に存在するクラスであり、その割合は約75%であり、これは8~18mg/mlの血清中含量に相当する。2番目に多い免疫グロブリンはIgAであり、その平均血清濃度は0.9~4.5mg/mlである。クラスM免疫グロブリンは0.6~2.8mg/mlの濃度で存在し、クラスD免疫グロブリンは0.03~0.4mg/mlの濃度で存在する。IgE抗体の比率は最も低く、それは血清中に0.02~0.05µg/mlの濃度で存在するに過ぎない。

10

【0005】

抗原に特異的な特定クラスの抗体を検出するための種々の方法が先行技術において記載されている。すなわち、サンプル中の特定クラスの抗原特異的抗体の検出は、しばしば、該特異的抗原でコーティングされた固相に特異的抗体を結合させることにより行われる。該抗原に特異的であり今や該固相に結合した免疫グロブリン(Ig)は、検出すべきIg分子に対する特定クラスのヒトIgに特異的に向けられた抗体の結合により検出される。ヒトIgに対する抗体には、検出を行うための標識が付される。しかし、そのような試験法(間接試験形態)は、ヒトIgに対するクラス特異的標識抗体との反応の前に、全ての非特異的未結合Igが洗浄により除去される場合にのみ可能である。したがって、自動化システムにしばしば必要とされるような1工程試験法はこの形態では不可能である。

20

【0006】

いわゆる架橋試験は、1工程試験において抗体検出を行う可能性を切り開くものである。架橋試験の概念はEP-A-0 280 211に記載されている。この方法においては、測定すべき抗体に特異的に結合しうる第1の結合パートナー(例えば、抗原)を固相に結合させる。測定する抗体は該固相結合抗原に結合する。標識が付された別の特異的抗原も該試験混合物中に存在する。該標識を利用して該抗体を検出する。異なるクラスであるが同じ特異性の免疫グロブリンがサンプル中に存在する場合、該試験はそれらの異なるクラス間を区別しない。

30

【0007】

EP 0 944 838 B1は、同じ特異性のIgM抗体をも含有するサンプル中の抗原特異的IgG抗体の選択的測定を可能にする架橋試験検出方法を開示している。この場合、該抗原を単量体形態で使用する。該単量体抗原は、同じ特異性を有するIgM抗体が該抗原と反応できないかまたは弱くしか反応できないという効果を有する。

【0008】

特異的抗体試験は感染血清学において特に重要であり、その試験では病原体の抗原性構造に対する免疫応答が検出される。病原体の抗原を得るための様々な起源(原核系および真核系における組換え発現; 病原体の制御培養、天然源からの抗原の単離)は最新技術であるが、1工程形態のIgG選択的イムノアッセイを続行するための単量体形態の抗原を得ることが常に可能なわけではない。

40

【0009】

EP 0 957 360 B1は、アナライトの測定方法におけるフック効果を低減するためのリウマチ因子の使用を記載している。

【0010】

EP 1 098 198 A1はヒトIgG抗体の測定のためのイムノアッセイを記載している。この場合、抗原に結合したヒトIgGのFcフラグメントのコンホメーションエピトープに対する特

50

定のモノクローナル抗体を使用する。この抗体はIgGの選択的検出のために使用され、抗原に結合するIgGと、いずれの抗原にも結合しないIgGとを識別しうる。しかし、未結合IgGの存在が障害となり、シグナルの減少を招く。

【0011】

EP 1 653 233 A1は、IgGクラスの抗原特異的抗体の測定のための試験方法を記載しており、この方法では、抗原が結合している固相と、サンプルを接触させる。この方法においては、固相に非特異的に結合した免疫グロブリンと、抗原に結合した免疫グロブリンとを識別するモノクローナル抗体を使用する。サンプルを固相に接触させた後、それを洗浄し、ついで該モノクローナル抗体を適用する。

【0012】

自動分析装置を使用して行われうる1工程形態で抗原特異的免疫グロブリンGを検出するためのイムノアッセイが特許出願WO 99/15898 (Chienら)に記載されている。この場合、ヒト免疫グロブリンGの定常部に特異的な抗体を使用する。このアッセイにおいては、遊離IgGと複合体化IgGとの間の十分な識別がされず、遊離非特異的IgGによる有意な干渉が生じる。

【0013】

したがって、IgGの検出のための先行技術の1工程方法は遊離IgGと結合IgGとを適切に識別できない。同じ特異性のIgGおよびIgMを識別するためには、抗原は単量体でなければならず、これは、しばしば達成され得ない要件である。

【0014】

したがって、本発明の目的は、自動化システムで有利に用いられようよう1工程方法で行われうる、サンプル中のアナライト、特に、免疫グロブリンクラスGの抗原特異的抗体の検出方法を開発することであった。また、本発明は、先行技術の欠点を少なくとも部分的に克服するという目的を有する。このためには、遊離アナライトと結合アナライトとを適切に識別することが必要である。

【発明の概要】

【0015】

第1の態様において、本発明は、サンプル中のアナライトの測定方法であって、以下の工程：

(a) 第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体と該サンプルを接触させる工程であって、それらの2つの受容体の一方は固相に結合しているか、または固相に結合することができ、もう一方の受容体はシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができる工程、ならびに

(b) 該固相上の該シグナル生成基を測定することにより、該アナライトの存在および/または量を検出する工程

を含んでなり、ここで第1のアナライト特異的受容体が該アナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有し、第2のアナライト特異的受容体が、該第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子の配置物に選択的に結合することができる、方法に関する。

【0016】

驚くべきことに、サンプル中のリウマチ因子の存在は本発明の方法を妨げないことが判明した。

【0017】

本発明の方法はサンプル中の任意のアナライトの検出に適している。アナライトは抗原特異的抗体、例えば、G、M、A、Dおよび/またはEクラスの抗原特異的抗体であることが好ましい。アナライトは、より好ましくは、Gクラスの抗原特異的抗体、例えば、病原体、腫瘍抗原および/または自己抗原に対するGクラスの抗原特異的抗体である。

【0018】

アナライトを含有するサンプルは、好ましくは、液体サンプルである。液体サンプルは任意の液体サンプル、例えば水性サンプルでありうる。サンプルは生物学的サンプルおよび/または臨床サンプル、例えば体液、例えば血液、血清、尿、喀痰、膿などでありうる

10

20

30

40

50

。サンプルは、より好ましくは、リウマチ因子を含有しうる。

【0019】

好ましい実施形態においては、第1および第2のアナライト特異的受容体は互いに異なる。

【0020】

本発明の方法においては、第2の受容体は、第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子の配置物に選択的に結合しうる。「少なくとも2つのアナライト分子の配置物」は、少なくとも2つのアナライト分子が一緒になって、第2の受容体が選択的に結合可能な（すなわち、第2の受容体により認識されうる）構造を有していることを意味し、ここで、第2の受容体は、単独のアナライト分子、特に、第1の受容体に結合していない単独のアナライト分子を識別しうるものである。また、「選択的に結合しうる」とは、第2の受容体が、少なくとも2つのアナライト分子の配置物に、単独のアナライト分子への結合よりも強力に結合しうることを意味する。配置物はまた、第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子（特に抗体）を含む免疫複合体でありうる。第1の受容体は、少なくとも2つのエピトープを有する抗原を含みうる。

10

【0021】

「配置物（Anordnung）」は、好ましくは、互いに「凝集」しており第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子を含有する。本発明の意義における「凝集している」または「凝集する」は、該受容体に結合したアナライト分子が、第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子に第2のアナライト特異的受容体が結合するよう選ばれた特定距離を互いに隔てて存在することを意味する。したがって、第1の受容体に結合したそれらのアナライト分子は互いに空間的に接近している。第1の受容体に結合したアナライト分子間の距離は該受容体内の結合部位間の距離により決定される。本発明の意義における「凝集している」または「凝集する」は、第1の受容体に結合したアナライト分子が互いに化学的に結合していない、あるいは互いの間に化学結合、例えば共有結合または非共有結合、例えば水素結合もしくは抗原-抗体結合を有することを意味する。

20

【0022】

第1のアナライト特異的受容体はアナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有する。第1のアナライト特異的受容体は、少なくとも2つの異なる結合部位、少なくとも2つの同一の結合部位、または異なる及び同一のアナライト結合部位の組合せ、を含有しうる。

30

【0023】

さらにもう1つの好ましい実施形態においては、第1の受容体はオリゴマー受容体または多量体受容体である。本発明の意義における「オリゴマー」または「多量体」は、第1の受容体がアナライトに対する複数の結合部位、好ましくは、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも50または少なくとも100個の結合部位を含有することを意味する。第1の受容体は、好ましくは、200個まで、100個まで、50個まで、20個まで、10個まで、または5個までの結合部位を含有する。本発明の意義における「オリゴマー」または「多量体」は、第1の受容体がビルディングブロック（該ビルディングブロックのそれぞれは結合部位を有さないまたは1個の結合部位もしくは複数の結合部位を有するものであってよい）のオリゴマーまたは多量体でありうるという意味をも含む。「オリゴマー」または「多量体」は「オリゴ価」または「多価」をも含む。

40

【0024】

もう1つの好ましい実施形態においては、第1の受容体は受容体前駆体の形態で提供される。好ましくは、少なくとも2つの受容体前駆体が提供される。該受容体前駆体は、好ましくは、互いに会合し、または互いに結合して、第1の受容体を形成する。該受容体前駆体は、本発明の方法の工程（a）において互いに会合または結合して第1の受容体を形成することができる性質のものでありうる。それらはまた、本発明の方法の工程（a）の前に互いに会合または結合しうる性質のものでありうる。前記の少なくとも2つの受容体前駆体は、該受容体前駆体のいずれか一方がアナライトに対する全結合部位を含むか、または

50

両方の受容体前駆体がアナライトに対する少なくとも1つの結合部位を含むという性質のものでありうる。

【0025】

前記の少なくとも2つの受容体前駆体は化学結合により互いに会合または互いに結合することが可能であって、該結合は共有結合または非共有結合でありうる。当業者に公知の任意の結合系が該会合または結合のために用いられうる。本明細書に記載されているX/抗X結合系、例えば、アビジン/ストレプトアビジンビオチン系が好ましい。したがって、前記の少なくとも2つの受容体前駆体の一方はビオチン基を含有することが可能であり、もう一方の受容体前駆体はアビジンまたはストレプトアビジン基を含有する。例えば、アナライトに対する少なくとも1つの結合部位を含有するペプチドのようなビオチン化分子は、アビジンまたはストレプトアビジンでコーティングされたビーズとの結合または会合により第1の受容体を形成することが可能であり、この場合、該受容体はアナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有する。該ビーズはビオチン化されうるが、少なくとも1つの結合基を含有する分子はアビジンまたはストレプトアビジンと結合してもよい。

10

【0026】

したがって、第1の受容体は、アナライトに対する少なくとも2つの結合部位の配置物を含有するビーズを含みうる。第1の受容体は、少なくとも10個、少なくとも50個または少なくとも100個の結合部位を含むビーズを含むことが好ましい。

【0027】

本発明の方法の更にもう1つの好ましい実施形態においては、第1の受容体は、アナライトに対する結合部位として少なくとも2つのエピトープを含有する抗原を含む。この実施形態においては、アナライトは抗体、好ましくは、G、M、A、Dおよび/またはEクラスの抗体、より一層好ましくは、Gクラスの抗体である。

20

【0028】

本発明の抗原はオリゴマー抗原または多量体抗原でありうる。前記の少なくとも2つのエピトープは同一であっても異なってもよい。該抗原は、少なくとも2つの異なるエピトープ、少なくとも2つの同一のエピトープ、または同一の及び異なるエピトープの組合せを含みうる。該抗原は反復エピトープを含みうる。該抗原は複数のエピトープ、好ましくは、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも20個または少なくとも50個のエピトープを含有しうる。該抗原は100個まで、50個まで、20個まで、10個まで、または5個までのエピトープを含有しうる。

30

【0029】

本発明の抗原は、異なる構造的特徴および組成を有する任意のエピトープを有しうる。該抗原は微生物、細胞、細胞オルガネラ、細胞区画またはライセート、またはその調製物、例えば膜調製物を含みうる。該抗原は、天然源から単離された抗原、あるいは原核生物および/もしくは真核生物における組換え発現ならびに/または化学合成により産生された抗原でありうる。該抗原のオリゴマー化または多量体化は、場合によっては、自然集合または凝集により、あるいは標的化吸着結合または共有結合により、あるいは吸着または共有結合により生じうる。

40

【0030】

もう1つの好ましい実施形態においては、第2のアナライト特異的受容体は抗体を含む。好ましくは凝集化またはオリゴマー化免疫グロブリンには結合できるが単独の免疫グロブリンには結合できないリウマチ因子様特性を有する抗体がより好ましい。

【0031】

第2の受容体は、アナライトの結合に対する低いアフィニティを有する抗体を含むことが同様に好ましい。本発明の抗体のアフィニティは抗体上の個々の抗原結合部位と個々のエピトープとの間の全ての非共有相互作用の強度として定義される。低いアフィニティを有する抗体は弱く結合し迅速に解離し、一方、高いアフィニティの抗体はより強く結合し、より長期にわたって結合を維持できる。

50

【0032】

結合部位におけるアフィニティは、抗原-抗体相互作用（例えば、アナライト分子、例えば抗原特異的抗体が結合する少なくとも2つのエピトープを有する第1の受容体としての本発明の抗原と、例えば、第2の受容体としての複数の結合部位を有する抗体との間の相互作用）の実際の強度を常に反映するわけではない。1つの部位における抗体の抗原結合部位と抗原との間の相互作用は、相互作用相手の架橋をもたらさう、同じ抗体の第2の抗原結合部位における反応の可能性を増加させる。多価抗体と抗原との間のそのような複数の相互作用の強度はアビディティと称される。これに関して、例えば五量体免疫グロブリンIgMの場合のように、高いアビディティは低いアフィニティを補償する。

【0033】

好ましい実施形態においては、第2の受容体は、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、特に好ましくは10個またはそれ以上のパラトープを含む抗体である。

【0034】

本発明においては、第2の受容体は、より好ましくは、アナライトに対する低いアフィニティおよび高いアビディティの抗体、例えば、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、特に好ましくは10個またはそれ以上のパラトープを含む抗原特異的抗体を含む。より一層好ましい第2の受容体は、互いに架橋された免疫グロブリンクラスIgMまたはIgG免疫グロブリンの抗原特異的抗体である。抗体<h>agg. IgG</h>IgMが最も強く好ましい。

【0035】

本発明の低アフィニティ抗体は好ましくは、 10^{-8} M以上、好ましくは 10^{-7} M以上、より好ましくは 10^{-6} M以上のアフィニティ係数を有する。

【0036】

第2の受容体としての本発明の低アフィニティ抗体は、好ましくは、アナライト分子、特に、配置物において例えば十分な密度でおよび/または凝集物として第1の受容体に結合した抗原特異的抗体を認識する。未結合アナライト分子、または第1の受容体に非特異的に結合し疎かつ不規則に分布したアナライト分子は、好ましくは、認識されないか、または無視しうる程度でしか認識されない。したがって、本発明のそのような第2のアナライト特異的受容体は、少なくとも2つのアナライト分子が結合した第1の受容体に、選択的に結合しうる。

【0037】

IgMクラスの抗体は一般的なリウマチ抗体クラスの特徴を有する。すなわち、それらは、好ましくは、免疫グロブリンクラスIgGの抗原特異的結合抗体に結合する。なぜなら、それらは、イムノアッセイの多量体抗原上に十分に密に詰まった抗原特異的抗体を認識するに過ぎないからである。該抗原に特に特異的ではない未複合体化遊離免疫グロブリンGは認識されないか、または無視しうる程度でしか認識されない。

【0038】

このように、例えば、同一抗原特異性を有する他のクラスの免疫グロブリンの存在下、そしてまた、非特異的IgGの存在下で、アッセイを損なう感度低下を起こすことなく抗原特異的IgGを検出することが可能である。本発明の第2の受容体の使用は、抗原特異的結合免疫グロブリンGと非抗原特異的遊離IgGとの間で高度な識別が達成されることを可能にする。さらに、本発明の第2の受容体は、好ましくは、本発明における抗原上で互いに特異的に結合し互いに隣接して位置しオリゴマー化されうる免疫グロブリン分子を認識するが、それは遊離非複合体化抗原特異的免疫グロブリンを認識しないか、または無視しうる程度でしか認識しない。

【0039】

したがって、過剰に存在する天然の非抗原特異的IgG分子の存在下でのサンプル中のクラスGの抗原特異的免疫グロブリンの1工程形態での検出が保証される。

【0040】

「1工程方法」は、本発明の反応物とのアナライトの反応が1つの反応混合物中で実施可能であり、特に、該混合物の成分を1以上の洗浄工程により互いから分離する必要がないことを意味すると理解される。

【0041】

「1工程方法」または「1つの反応混合物中での反応」は、反応混合物（サンプル）に反応物を同時に／連続的に加える可能性、および／または他の補助物質（例えば、バッファ、塩など）を同時に／連続的に加える可能性を含む。

【0042】

好ましい「1工程方法」は、洗浄工程を伴うことなく行われる。

【0043】

別の好ましい実施形態においては、本発明の方法における工程（a）は、洗浄工程を行うことなく1つの反応混合物中で行われる。より好ましくは、工程（a）および（b）は、洗浄工程を行うことなく1つの反応混合物中で行われる。本発明の方法は、免疫グロブリンクラスGの抗原特異的抗体が1工程形態で検出されることを可能にする。これらの抗体試験は感染症および自己免疫疾患の *in vitro* 診断において特に重要である。

【0044】

他の実施形態においては、本発明の方法は洗浄工程を含みうる。

【0045】

最も好ましい実施形態においては、本発明の方法における第1の受容体は本発明における抗原であり、第2の受容体はリウマチ因子様抗体、特に、Mクラスの免疫グロブリンであり、アナライトは抗原特異的免疫グロブリンGである。したがって、抗原結合相手への複数の特異的免疫グロブリンGの結合が可能であり、そしてそれはIgG分子のオリゴマー化をもたらす。すなわち、2以上のIgGが互いに空間的に接近し、その結果、リウマチ因子様受容体に結合可能となりうる。

【0046】

さらにもう1つの好ましい実施形態においては、本発明の方法は診断方法、特に、生物学的サンプル、特に臨床サンプル中の抗体の検出のための診断方法である。本発明の診断方法においては、例えば、病原体、例えばウイルスもしくは微生物、腫瘍抗原および／または自己抗体に対する抗体を検出することが可能である。特に、ウイルス、例えば風疹、CMV、HAV、HBV、HCVに対する抗体を検出することが可能である。

【0047】

本発明の方法においては、抗体フラグメントも受容体として使用されうる。抗体のフラグメント化は当業者に公知であり、通常の技術により行われる。タンパク質分解切断および／または組換え法により製造されるフラグメントの具体例には、Fab、F(ab')₂、Fab'、Fvおよび一本鎖抗体（scFv）（これはペプチドリンカーと共にV[L]および／またはV[H]ドメインを含有する）が含まれる。scFv'は、2以上の結合部位を有する抗体を形成するよう共有結合または非共有結合しうる。本発明の抗体は、組換え生産されうるポリクローナル、モノクローナル、キメラまたはヒト化抗体でありうる。第2の受容体はモノクローナル抗体であることが好ましい。

【0048】

本発明の抗体は、好ましくは、モノクローナル抗体、特に、IgG（特にヒトIgG）に対する低いアフィニティおよび高いアビディティという特性を有するIgMクラスのモノクローナル抗体である。高いアビディティを用いて、この抗体は、多点結合により複合化状態のヒトIgGの認識を選択的に確保しうる。

【0049】

本発明においては、それらの2つの受容体の一方は固相に結合しているか、または固相に結合することができ、それらの2つの受容体のもう一方はシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができる。好ましい実施形態においては、第1の受容体は固相に結合しているか、または固相に結合することができ、第2の受容体はシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができる。別の好ましい

10

20

30

40

50

実施形態においては、第2の受容体は固相に結合しているか、または固相に結合することができ、第1の受容体はシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができる。

【0050】

当業者によく知られている全てのシグナル生成基がシグナル生成基として使用されうる。好ましくは、直接的に検出可能な基、例えば、化学発光、蛍光または放射性基、あるいは金属ソール (sole)、ラテックスまたは金粒子が使用される。該シグナル生成基は、当業者に公知の方法で検出されうる。

【0051】

結合しうる第1のまたは第2の受容体は、好ましくは、可溶性であり、好ましくは、該受容体に結合するよう働く標識を含有する。X/抗X結合系のパートナー、例えば、ビオチン/アビジン、ビオチン/ストレプトアビジン、ビオチン/抗ビオチン、ハプテン/抗ハプテン、抗体のFcフラグメントおよびこのFcフラグメントに対する抗体、抗-抗体または糖鎖およびレクチンから選ばれる組合せのパートナーが標識として好ましい。該結合系のもう一方の反応相手は担体またはシグナル生成基に結合している。該結合系のパートナー(相手)は、当業者に公知の通常の方法により結合されうる。これに関しては、共有結合および吸着結合が適している。

10

【0052】

もう1つの実施形態においては、標識は、本明細書に記載されているシグナル生成基である。好ましくは、直接的に検出可能な基が標識として使用される。受容体を標識するための方法は先行技術として公知である。標識は、シグナル生成基を測定することにより自体公知の方法で直接的に検出される。

20

【0053】

標識は間接的方法によっても検出されうる。この場合、もう1つの結合相手(そしてこれ自体はシグナル生成基に結合している)が該受容体、該受容体上の標識、該抗原、および/または該抗原上の標識に特異的に結合する。

【0054】

本発明の方法の最も好ましい実施形態は、1工程形態のイムノアッセイによりサンプル中の免疫グロブリンクラスGの抗原特異的抗体を検出するための方法であって、以下の工程：

30

(a) 抗原に特異的である免疫グロブリンクラスGの抗体を含有するサンプルを、抗原、その抗原に特異的に結合した免疫グロブリンGおよび第2の受容体からなる免疫複合体が形成される条件下、オリゴマー形態または多量体形態の抗原を含みシグナル生成基を含有する第1の受容体、および抗原結合凝集免疫グロブリンGに選択的に結合し標識を含有する第2の受容体と接触させる工程、

(b) (a)からの反応混合物を、第2の受容体の標識に対する固定化結合相手を含有する固相と、(a)からの免疫複合体が第2の受容体を介して該固相に結合する条件下で接触させる工程、

(c) 該シグナル生成基を利用して(b)から結合複合体を検出する工程を含んでなる方法である。

40

【0055】

本発明の方法の別の最も好ましい実施形態は、1工程形態のイムノアッセイによりサンプル中の免疫グロブリンクラスGの抗原特異的抗体を検出するための方法であって、以下の工程：

(a) 抗原に特異的である免疫グロブリンクラスGの抗体を含有するサンプルを、抗原、その抗原に特異的に結合した免疫グロブリンGおよび第2の受容体からなる免疫複合体が形成される条件下、オリゴマー形態または多量体形態の抗原を含み標識を含有する第1の受容体、および抗原結合凝集免疫グロブリンGに選択的に結合しシグナル生成基を含有する第2の受容体と接触させる工程、

(b) (a)からの反応混合物を、第1の受容体の標識に対する固定化結合相手を含有す

50

る固相と、(a)からの免疫複合体が第1の受容体を介して該固相に結合する条件下で接触させる工程、

(c)該シグナル生成基を利用して(b)から結合複合体を検出する工程を含んでなる方法である。

【0056】

本発明のもう1つの主題は、好ましい実施形態を含む本明細書に記載されている本発明の方法における使用に適したキットである。

【0057】

好ましいキットは第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体を含み、それらの2つの受容体の一方は固相に結合しているか、または固相に結合することができ、もう一方の受容体はシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができ、ここで第1のアナライト特異的受容体はアナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有し、第2のアナライト特異的受容体は、第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子の配置物に選択的に結合することができるものである。

10

【0058】

より好ましい本発明のキットにおいては、第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体は、1つの反応混合物中で使用されるように製剤化されている。

【0059】

更に好ましい実施形態は、第1の受容体が固相に結合しているか、または固相に結合することができ、第2の受容体がシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができるキットに関する。

20

【0060】

もう1つの同様に更に好ましい実施形態は、第2の受容体が固相に結合しているか、または固相に結合することができ、第1の受容体がシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができる、キットに関する。

【0061】

もう1つの好ましい実施形態においては、第1の受容体はまた、本発明のキットにおいて、受容体前駆体の形態で提供されうる。受容体前駆体は、本発明の方法との関連で本明細書に記載されている。特に、該キットは受容体前駆体としてのビーズ、および追加的受容体前駆体、例えばペプチドを含有しうる。

30

【0062】

本発明のキットはまた、少なくとも10個、少なくとも50個または少なくとも100個の結合部位を含む第1の受容体としてのビーズをも含む。

【0063】

本発明のもう1つの態様は、サンプル中のアナライトの測定方法における、アナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有するアナライト特異的受容体の使用に関する。この方法は、好ましくは、本明細書に記載されている方法、より好ましくは、本明細書に記載されている診断方法である。

【0064】

本発明は以下の実施例により説明される。該実施例のそれぞれは、本発明によるデータ、および先行技術の方法を用いて得られた比較データを含む。

40

【0065】

実施例

【実施例1】

【0066】

本発明の方法によるヒト血清中の抗風疹特異的免疫グロブリンGの検出、および洗浄工程を伴う間接試験形態の先行技術のイムノアッセイと本発明の方法との感度の比較

1.1 本発明の方法

Elecsys (登録商標) 2010自動分析装置 (Roche Diagnostics GmbH) を使用して、天然血清中の抗風疹IgGを免疫学的に検出した。本発明の抗体を捕捉抗体として使用して測定

50

を行った。この抗体のビオチンコンジュゲートをストレプトアビジンコート化磁気ビーズの表面上に固定化した。したがって、それはサンプルからの多量体風疹様粒子（RLP）に結合した抗風疹IgGに結合する。RLPに結合したルテニウム化モノクローナル抗体により、該複合体を検出した。Elecsys（登録商標）2010におけるシグナル検出は電気化学発光に基づくものであった。

【0067】

該発色性ルテニウム複合体を、特異的免疫グロブリンアナライトの存在下、固相に結合させたところ、白金電極上での励起後、620nmの光を放出した。該光シグナルは任意の単位で示される。該測定は、混合力価を有するパネルおよび2つのセロコンバージョンパネルからの抗風疹IgG陽性サンプルを使用して行った。

10

【0068】

1.2 先行技術

比較のために、先行技術の2工程イムノアッセイ（Cobas Core, 風疹IgG recomb II）を行った。

【表1】

混合力価を有するパネル

	本発明の1工程イムノアッセイ		2工程イムノアッセイ
	coi < 1 陰性		< 10 IU/ml 陰性
	coi ≥ 1 陽性		≥ 10 IU/ml 陽性
閾値	3500 カウント		10 IU/ml
サンプル	カウント	COI	IU/ml
PTR 201-1	3867	1.1	20.8
PTR 201-2	73943	21.1	144.8
PTR 201-3	626833	179.1	134.8
PTR 201-4	434690	124.2	300
PTR 201-5	2268	0.65	0.4
PTR 201-6	5371	1.53	19.6
PTR 201-7	185186	52.9	15.4
PTR 201-8	9367	2.68	26.4
PTR 201-9	174982	50.0	129.1
PTR 201-10	134451	38.4	84.5
PTR 201-11	71459	20.4	56
PTR 201-12	582819	166.5	300
PTR 201-13	582257	166.4	109.1
PTR 201-14	31982	9.1	22.2
PTR 201-15	645934	184.6	300
PTR 201-16	2250	0.64	1.2
PTR 201-17	36001	10.3	64.9
PTR 201-18	12711	3.6	16.5
PTR 201-19	141224	40.3	12.1
PTR 201-20	350990	100.3	155.3
PTR 201-21	57148	16.3	91.1
PTR 201-22	5030	1.4	28.7
PTR 201-23	30672	8.8	66.6
PTR 201-24	27950	8.0	8.3
PTR 201-25	194719	55.6	142.5

20

30

40

【0069】

【表 2】

セロコンバージョンパネル

		本発明の1工程イムノアッセイ coi < 1 陰性 coi ≥ 1 陽性		2工程イムノアッセイ < 10 IU/ml 陰性 ≥ 10 IU/ml 陽性	
閾値		3500 カウント		10 IU/ml	
サンプル	日	カウント	COI	IU/ml	
RP 001-001	0	1767	0.50	0.8	
RP 001-002	2	1821	0.52	0.7	
RP 001-003	7	1833	0.52	0.4	
RP 001-004	9	1732	0.49	0.6	
RP 001-005	14	1880	0.47	0.5	
RP 001-006	17	2592	0.74	0.5	
RP 001-007	21	30305	8.66	3	
RP 001-008	24	76058	21.73	5.7	
RP 001-009	28	203264	58.08	13.8	
RP 001-010	31	293043	83.73	23.7	
RP 001-011	35	262759	75.07	23.8	
RP 001-012	38	194288	55.51	16.3	
RP 001-013	42	181673	51.91	16.3	
RP 001-014	45	160403	45.83	14.4	
RP 001-015	50	139584	39.88	18.1	
RP 011-001	0	1902	0.54	0	
RP 011-002	3	1766	0.50	0.2	
RP 011-003	9	1753	0.50	0	
RP 011-004	12	1720	0.49	0.1	
RP 011-005	18	3928	1.12	0.4	
RP 011-006	19	92242	26.35	7.7	
RP 011-007	24	366359	104.57	28.8	
RP 011-008	27	408392	116.88	37.4	
RP 011-009	31	405799	115.94	33.9	
RP 011-010	36	417007	119.14	39.1	
RP 011-011	39	414958	118.55	38	
RP 011-012	43	385813	110.23	44.4	
RP 011-013	46	398357	113.82	52.8	

10

20

30

【0070】

セロコンバージョンパネルにおける陽性力価は、該1工程方法においては、それぞれ第21日および第18日に検出できたが、該2工程方法においては、それぞれ第28日および第24日まで検出できなかった。

40

【0071】

本発明のイムノアッセイ形態は先行技術の2工程イムノアッセイより高感度である。なぜなら、陽性力価の検出が、より早い時点で可能だからである。

【実施例2】

【0072】

本発明の特性（低アフィニティ、凝集ヒトIgGへの選択的結合）を有する抗ヒトIgG抗体受容体と、先行技術の特性（高アフィニティ、凝集および未凝集IgGへの同等に強力な結合）を有する抗ヒトIgG抗体受容体との性能の比較

50

実施例1の免疫学的方法を用いて、マスター・キャリブレータ (master calibrator) (MC)、陰性および陽性血清を抗風疹IgG抗体に関して試験した。

【表3】

	Mab<h-IgG>IgM型 低アフィニティ coi< 1 陰性 coi≥ 1 陽性		Mab<h-IgG-IgG型 高アフィニティ coi< 1 陰性 coi≥ 1 陽性	
	6859 カウント		3521 カウント	
サンプル	カウント	COI	カウント	COI
MC1 0 IU/ml	2399	0.35	1483	0.42
MC2 10 IU/ml	6859	1.00	3521	1.00
MC3 50 IU/ml	35617	5.19	3385	0.96
MC4 150 IU/ml	170048	24.79	6027	1.71
MC5 300 IU/ml	334483	48.76	10946	3.11
陰性 700-1899	2349	0.34	1269	0.36
陰性 705-2814	2171	0.32	1308	0.37
陽性 1810	287386	41.90	5291	1.50
陽性 1851	55348	8.07	1666	0.47

10

20

【0073】

この実施例においては、遊離IgGによる本発明の試験の阻害に対する感受性を調べた。左側の結果の欄は、ヒト血清サンプル中に常に存在する遊離IgGが該試験を阻害することなく、高い試験感度が達成されることを示している。低いアフィニティを有する、ヒト凝集IgGに対する捕捉抗体は、遊離IgGに結合しないか、または無視しうる程度でしか結合しない。したがって、凝集IgGのみが固相に結合し、そしてこれが次に、多量体/多価風疹抗原(「風疹様粒子」)への結合およびルテニウム化抗風疹MABによる検出により、抗風疹特異的IgGとして検出されうる。

【0074】

これとの対比として、先行技術による試験方法に関する結果が実施例2における右側の欄に示されている。該先行技術においては、捕捉抗体は凝集IgGと未凝集(すなわち、遊離)IgGとを識別しない。したがって、凝集IgGだけでなく遊離IgGも固相に結合する。それに続く風疹抗原の結合および検出反応において、これは該試験の感度を明らかに低下させる。サンプルMC4は本発明の試験方法では24.79の値を有するが、同じサンプルは先行技術の方法では1.71の値にしか達しない(すなわち、カットオフ指数1をかるうじて超えているに過ぎない)。

30

【0075】

その相違は、該結果の表の最後の2行、特に最後の1行において、非常にはっきりとする。血清「陽性1851」は本発明の方法においては明らかに抗風疹陽性(値: 8.07)であるが、該先行技術の方法は同じサンプルを陰性、すなわち、偽陰性(値0.47、すなわち、カットオフ指数1未満)に分類している。

40

【0076】

このように、該先行技術の方法の感度の不足は致命的な結果をもたらす。なぜなら、陽性サンプルが誤って陰性として検出されるからである。

【0077】

これらの結果は、本発明の受容体抗体の使用が、先行技術の受容体抗体の場合より高感度な、抗風疹抗体の検出を可能にすることを明らかに示している。

【実施例3】

【0078】

リウマチ因子を含有するヒト血清サンプル中の抗風疹IgG抗体の検出

50

リウマチ因子を含有する市販のヒト血清サンプル (Bioclinical Partners) を、実施例 1 に記載されている本発明の方法を用いて、抗風疹 IgG 抗体に関して試験した。

【 0 0 7 9 】

先行技術の 2 工程イムノアッセイ (Cobas Core, 風疹 IgG recomb II) を、比較実験として行った。

【表 4】

閾値 サンプル	本発明の 1 工程イムノアッセイ		2 工程イムノアッセイ	リウマチ因子
	coi < 1 陰性 coi ≥ 1 陽性		< 10 U/ml 陰性 ≥ 10 IU/ml 陽性	
	3254 カウント		10 IU/ml	
	カウント	COI	IU/ml	IU/ml
BCP 9808-114-04673	141077	43.35	103.76	24
BCP 9808-114-04674	765	0.24	3.53	353
BCP 9808-114-04675	173111	53.19	208.43	429
BCP 9808-114-04676	167319	51.41	82.80	186
BCP 9808-114-04677	153119	47.05	124.57	324
BCP 9808-114-04678	82728	25.42	42.28	189
BCP 9808-114-04679	164793	50.64	> 300	400
BCP 9808-114-04680	171594	52.73	204.08	185
BCP 9808-114-04681	5696	1.75	11.18	56
BCP 9808-114-04682	64006	19.67	65.89	272
BCP 9808-114-04683	167373	51.43	146.24	56
BCP 9808-114-04684	138037	42.42	71.94	40
BCP 9808-114-04685	166660	51.21	187.39	139
BCP 9808-114-04686	79085	24.30	85.52	315

10

20

【 0 0 8 0 】

該結果は、リウマチ因子の存在にもかかわらず、本発明の方法がサンプルを正確に分類していることを明らかに示している。

【手続補正書】

【提出日】平成 21 年 3 月 23 日 (2009.3.23)

【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】

サンプル中のアナライトの測定方法であって、以下の工程：

(a) 第 1 のアナライト特異的受容体および第 2 のアナライト特異的受容体と該サンプルを接触させる工程であって、それらの 2 つの受容体の一方は固相に結合しているか、または固相に結合することができ、もう一方の受容体はシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができる工程、ならびに

(b) 該固相上の該シグナル生成基を測定することにより、該アナライトの存在および/または量を検出する工程
を含んでなり、ここで第 1 のアナライト特異的受容体が該アナライトに対する少なくとも 2 つの結合部位を含有し、第 2 のアナライト特異的受容体が、該第 1 の受容体に結合した少なくとも 2 つのアナライト分子の配置物に選択的に結合することができ、該第 1 の受容体に結合した少なくとも 2 つのアナライト分子は凝集している、方法。

【請求項 2】

該アナライトが、抗原特異的抗体、特に、免疫グロブリンクラスGの抗原特異的抗体である、請求項1記載の方法。

【請求項3】

該第1の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第2の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができる、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

該第2の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第1の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができる、請求項1または2記載の方法。

【請求項5】

該第1の受容体が該アナライトに対する少なくとも2つの異なる結合部位、少なくとも2つの同一の結合部位、または異なる及び同一の結合部位の組合せ、を含有する、請求項1～4のいずれか1項記載の方法。

【請求項6】

該第1の受容体がオリゴマー受容体または多量体受容体である、請求項1～5のいずれか1項記載の方法。

【請求項7】

第1の受容体が、該アナライトに対する結合部位として少なくとも2つのエピトープを含有する抗原を含む、請求項1～6のいずれか1項記載の方法。

【請求項8】

該第1の受容体がビーズを含む、請求項1～7のいずれか1項記載の方法。

【請求項9】

該第1の受容体が受容体前駆体の形態で提供される、請求項1～8のいずれか1項記載の方法。

【請求項10】

該受容体前駆体が、工程(a)の途中または前に互いに会合するか又は互いに結合して該第1の受容体を形成するという性質を有する、請求項9記載の方法。

【請求項11】

該第2の受容体がリウマチ因子様抗体である、請求項1～10のいずれか1項記載の方法。

【請求項12】

該第2の受容体が、少なくとも2つのパラトープを有する抗体である、請求項1～11のいずれか1項記載の方法。

【請求項13】

該第2の受容体が免疫グロブリンクラスMの抗体である、請求項1～12のいずれか1項記載の方法。

【請求項14】

該第2の受容体が、該アナライトに対する低いアフィニティおよび高いアビディティを有する抗体である、請求項1～13のいずれか1項記載の方法。

【請求項15】

該第2の受容体がモノクローナル抗体である、請求項1～14のいずれか1項記載の方法。

【請求項16】

工程(a)を、洗浄工程を行うことなく1つの反応混合物中で行う、請求項1～15のいずれか1項記載の方法。

【請求項17】

診断方法である、請求項1～16のいずれか1項記載の方法。

【請求項18】

第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体を含んでなるキット

であって、それらの2つの受容体の一方が固相に結合しているか、または固相に結合することができ、もう一方の受容体がシグナル生成基を含有するか、またはシグナル生成基に結合することができ、第1のアナライト特異的受容体が該アナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有し、第2のアナライト特異的受容体が、該第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子の配置物に選択的に結合することができ、該第1の受容体に結合した少なくとも2つのアナライト分子は凝集している、キット。

【請求項 19】

第1のアナライト特異的受容体および第2のアナライト特異的受容体が、1つの反応混合物中での使用のために設計されている、請求項 18 記載のキット。

【請求項 20】

該第1の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第2の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができる、請求項 18 または 19 記載のキット。

【請求項 21】

該第2の受容体が該固相に結合しているか、または該固相に結合することができ、該第1の受容体が該シグナル生成基を含有するか、または該シグナル生成基に結合することができ、請求項 18 または 19 記載のキット。

【請求項 22】

サンプル中のアナライトの測定方法における、該アナライトに対する少なくとも2つの結合部位を含有するアナライト特異的受容体の使用。

【請求項 23】

診断方法における、請求項 22 記載の使用。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/003623

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/543 G01N33/68		
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) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, COMPENDEX, BIOSIS, INSPEC, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YIN X-B ET AL: "4-(Dimethylamino)butyric acid labeling for electrochemiluminescence detection of biological substances by increasing sensitivity with gold nanoparticle amplification" ANALYTICAL CHEMISTRY 20050601 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY US, vol. 77, no. 11, 1 June 2005 (2005-06-01), pages 3525-3530, XP002495080 the whole document abstract page 3526, right-hand column, last paragraph - page 3527, right-hand column, line 17 figures 1,2	1,2,19
Y	----- -/--	1,2,19
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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 document 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 8 Januar 2009		Date of mailing of the international search report 21/01/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Tuynman, Antonin

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/003623

(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MERRILL ET AL: "A quantitative electrochemiluminescence assay for Clostridium perfringens alpha toxin" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC. NEW YORK, vol. 357, no. 2, 15 October 2006 (2006-10-15), pages 181-187, XP005660641 ISSN: 0003-2697 the whole document abstract	1,2,19
Y	WO 98/12539 A (MESO SCALE TECHNOLOGIES LLC [US]) 26 March 1998 (1998-03-26) the whole document examples 6.73,6.77 page 69, line 28 - line 37	1,2,19
Y	US 2003/003460 A1 (SIGAL GEORGE B [US] ET AL) 2 January 2003 (2003-01-02) the whole document	1,2,19
X	SCHAERTL S ET AL: "A NOVEL AND ROBUST HOMOGENEOUS FLUORESCENCE-BASED ASSAY USING NANOPARTICLES FOR PHARMACEUTICAL SCREENING AND DIAGNOSTICS" JOURNAL OF BIOMOLECULAR SCREENING, LARCHMONT, NY, US, vol. 5, no. 4, 1 January 2000 (2000-01-01), pages 227-237, XP001006052 ISSN: 1087-0571 the whole document insbesondere: abstract figure 1 page 229, right-hand column, line 20 - line 44; table 1	1,17,19
X	BENECKY M J ET AL: "Detection of hepatitis B surface antigen in whole blood by coupled particle light scattering (Copalis)" CLINICAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION FOR CLINICAL CHEMISTRY, WASHINGTON, DC, vol. 43, no. 9, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 1764-1770, XP002326863 ISSN: 0009-9147 the whole document insbesondere: abstract page 1766; figure 3	1,17,19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2008/003623

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BYSTRYAK S ET AL: "HOMOGENEOUS IMMUNOFLUORESCENCE ASSAY BASED ON DYE-SENSITIZED PHOTBLEACHING" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC. NEW YORK, vol. 225, 1 January 1995 (1995-01-01), pages 127-134, XP000882217 ISSN: 0003-2697 the whole document insbesondere: abstract "Scheme 1" page 128 -----	1, 17, 19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2008/003623

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:

See additional 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.:
1, 2, 17, 19
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 additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the 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/EP2008/003623

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims 1, 19 (in part), 2 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the analyte being an antigen-specific antibody, in particular an antigen-specific immunoglobulin class G antibody.

2. Claims 1, 19 (in part), 3, 21 (in full)

Method and kit for determining an analyte, wherein the first receptor is bonded to the solid phase or is capable of bonding to the solid phase and the second receptor carries the signal-emitting group or is capable of bonding to the signal-emitting group.

3. Claims 1, 19 (in part), 4, 20 (in full)

Method and kit for determining an analyte, wherein the second receptor is bonded to the solid phase or is capable of bonding to the solid phase and the first receptor carries the signal-emitting group or is capable of bonding to the signal-emitting group.

4. Claims 1, 19 (in part), 5 (in full)

Method and kit for determining an analyte, wherein the at least two analyte molecules which are bonded to the first receptor are aggregated.

5. Claims 1, 19 (in part), 6 (in full)

Method and kit for determining an analyte, wherein the first receptor contains at least two different binding sites, at least two identical binding sites or a combination of different and identical binding sites for the analyte.

6. Claims 1, 19 (in part), 7 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the first receptor being an oligomeric or multimeric receptor.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2008/003623

7. Claims 1, 19 (in part), 8 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the first receptor comprising an antigen that contains at least two epitopes as binding sites for the analyte.

8. Claims 1, 19 (in part), 9 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the first receptor comprising a bead.

9. Claims 1, 19 (in part), 10, 11 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the first receptor being provided in the form of receptor precursors.

10. Claims 1, 19 (in part), 12 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the second receptor being a rheumatoid factor-similar antibody.

11. Claims 1, 19 (in part), 13 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the second receptor being an antibody with at least two paratopes.

12. Claims 1, 19 (in part), 14 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the second receptor being an immunoglobulin class M antibody.

13. Claims 1, 19 (in part), 15 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the second receptor being an antibody having a low affinity and a high avidity for the analyte.

14. Claims 1, 19 (in part), 16 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the second receptor being a monoclonal antibody.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2008/003623

15. Claims 1, 19 (in part), 17 (in full)

Method and kit for determining an analyte, wherein step (a) is carried out in a reaction preparation without performing a washing step.

16. Claims 1, 19 (in part), 18 (in full)

Method and kit for determining an analyte, the method being a diagnostic method.

17. Claims 1, 19 (in part), 20 (in full)

Method and kit for determining an analyte, wherein the first analyte-specific receptor and the second analyte-specific receptor are formulated for an application in a reaction preparation.

18. Claims 23, 24 (in full)

Use of an analyte-specific receptor containing at least two binding sites for the analyte in a diagnostic method.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2008/003623

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9812539	A	26-03-1998	AU 743567 B2 31-01-2002
			AU 4649597 A 14-04-1998
			CA 2265828 A1 26-03-1998
			EP 0944820 A1 29-09-1999
			IL 129022 A 12-02-2003
			JP 2001503856 T 21-03-2001
			JP 2008170449 A 24-07-2008
			KR 20000036176 A 26-06-2000
			TW 541416 B 11-07-2003
			ZA 9708380 A 17-04-1998
US 2003003460	A1	02-01-2003	NONE

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2008/003623

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. G01N33/543 G01N33/68		
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) GOIN		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, COMPENDEX, BIOSIS, INSPEC, EMBASE, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Batr. Anspruch Nr.
X	YIN X-B ET AL: "4-(Dimethylamino)butyric acid labeling for electrochemiluminescence detection of biological substances by increasing sensitivity with gold nanoparticle amplification" ANALYTICAL CHEMISTRY 20050601 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY US, Bd. 77, Nr. 11, 1. Juni 2005 (2005-06-01), Seiten 3525-3530, XP002495080 das ganze Dokument Zusammenfassung Seite 3526, rechte Spalte, letzter Absatz - Seite 3527, rechte Spalte, Zeile 17 Abbildungen 1,2	1,2,19
Y	----- -/--	1,2,19
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
8. Januar 2009		21/01/2009
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Tuyman, Antonin

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP2008/003623

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	MERRILL ET AL: "A quantitative electrochemiluminescence assay for Clostridium perfringens alpha toxin" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC. NEW YORK, Bd. 357, Nr. 2, 15. Oktober 2006 (2006-10-15), Seiten 181-187, XP005660641 ISSN: 0003-2697 das ganze Dokument Zusammenfassung	1,2,19
Y	WO 98/12539 A (MESO SCALE TECHNOLOGIES LLC [US]) 26. März 1998 (1998-03-26) das ganze Dokument Beispiele 6.73,6.77 Seite 69, Zeile 28 - Zeile 37	1,2,19
Y	US 2003/003460 A1 (SIGAL GEORGÉ B [US] ET AL) 2. Januar 2003 (2003-01-02) das ganze Dokument	1,2,19
X	SCHAERTL S ET AL: "A NOVEL AND ROBUST HOMOGENEOUS FLUORESCENCE-BASED ASSAY USING NANOPARTICLES FOR PHARMACEUTICAL SCREENING AND DIAGNOSTICS" JOURNAL OF BIOMOLECULAR SCREENING, LARCHMONT, NY, US, Bd. 5, Nr. 4, 1. Januar 2000 (2000-01-01), Seiten 227-237, XP001006052 ISSN: 1087-0571 das ganze Dokument insbesondere: Zusammenfassung Abbildung 1 Seite 229, rechte Spalte, Zeile 20 - Zeile 44; Tabelle 1	1,17,19
X	BENECKY M J ET AL: "Detection of hepatitis B surface antigen in whole blood by coupled particle light scattering (Copalis)" CLINICAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION FOR CLINICAL CHEMISTRY, WASHINGTON, DC, Bd. 43, Nr. 9, 1. Januar 1997 (1997-01-01), Seiten 1764-1770, XP002326863 ISSN: 0009-9147 das ganze Dokument insbesondere: Zusammenfassung Seite 1766; Abbildung 3	1,17,19

-/--

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2008/003623

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	BYSTRYAK S ET AL: "HOMOGENEOUS IMMUNOFLUORESCENCE ASSAY BASED ON DYE-SENSITIZED PHOTOBLEACHING" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC. NEW YORK, Bd. 225, 1. Januar 1995 (1995-01-01), Seiten 127-134, XP000882217 ISSN: 0003-2697 das ganze Dokument insbesondere: Zusammenfassung "Scheme 1" Seite 128	1, 17, 19

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2008/003623**Feld Nr. II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)**

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein internationaler Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche diese Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich _____

2. Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, dass eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich _____

3. Ansprüche Nr. _____
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefasst sind.

Feld Nr. III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Diese Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung solcher Gebühren aufgefordert.

3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. _____
1, 2, 17, 19

4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Dieser internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfasst:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Der Anmelder hat die zusätzlichen Recherchegebühren unter Widerspruch entrichtet und die gegebenenfalls erforderliche Widerspruchsgebühr gezahlt.
- Die zusätzlichen Recherchegebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt, jedoch wurde die entsprechende Widerspruchsgebühr nicht innerhalb der in der Aufforderung angegebenen Frist entrichtet.
- Die Zahlung der zusätzlichen Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Internationales Aktenzeichen PCT/EP2008 /003623

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 2 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der Analyt ein antigenspezifischer Antikörper ist, insbesondere ein antigenspezifischer Antikörper der Immunglobulinklasse G.

2. Ansprüche: 1,19 (teilweise) 3,21(komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der erste Rezeptor an die Festphase gebunden ist oder an die Festphase bindefähig ist und der zweite Rezeptor die signalgebende Gruppe trägt oder an die signalgebende Gruppe bindefähig ist.

3. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 4,20 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der zweite Rezeptor an die Festphase gebunden ist oder an die Festphase bindefähig ist und der erste Rezeptor die signalgebende Gruppe trägt oder an die signalgebende Gruppe bindefähig ist.

4. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 5 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei die mindestens zwei an den ersten Rezeptor gebundenen Analytmoleküle aggregiert sind.

5. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 6 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der erste Rezeptor mindestens zwei verschiedene Bindungsstellen, mindestens zwei gleiche Bindungsstellen oder eine Kombination von verschiedenen und gleichen Bindungsstellen für den Analyten enthält.

6. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 7 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der erste Rezeptor ein oligomerer oder ein multimerer Rezeptor ist.

7. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 8 (komplett)

Internationales Aktenzeichen PCT/EP2008 /003623

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der erste Rezeptor ein Antigen umfasst, welches mindestens zwei Epitope als Bindestellen für den Analyten enthält.

8. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 9 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der erste Rezeptor einen Bead umfasst.

9. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 10,11 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der erste Rezeptor in Form von Rezeptorvorläufern bereitgestellt wird.

10. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 12 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der zweite Rezeptor ein Rheumafaktor-ähnlicher Antikörper ist.

11. Ansprüche: 1,19 (teilweise) 13 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der zweite Rezeptor ein Antikörper mit wenigstens zwei Paratopen ist.

12. Ansprüche: 1,19 (teilweise) 14 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der zweite Rezeptor ein Antikörper der Immunglobulinklasse M ist.

13. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 15 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der zweite Rezeptor ein Antikörper mit niedriger Affinität und hoher Avidität zum Analyten ist.

14. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 16 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der zweite Rezeptor ein monoklonarer Antikörper ist.

15. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 17 (komplett)

Internationales Aktenzeichen PCT/EP2008 /003623

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei Schritt (a) in einem Reaktionsansatz ohne Waschschrift durchgeführt wird.

16. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 18 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei das Verfahren ein diagnostisches Verfahren ist.

17. Ansprüche: 1,19 (teilweise), 20 (komplett)

Verfahren und Kit zur Bestimmung eines Analyten wobei der erste analytspezifische Rezeptor und der zweite analytspezifische Rezeptor zur Anwendung in einem Reaktionsansatz formuliert werden.

18. Ansprüche: 23,24 (komplett)

Verwendung eines analytspezifischer Rezeptor, welcher mindestens zwei Bindestellen für den Analyten enthält in einem diagnostischen Verfahren.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2008/003623

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9812539	A	26-03-1998	AU 743567 B2 31-01-2002
			AU 4649597 A 14-04-1998
			CA 2265828 A1 26-03-1998
			EP 0944820 A1 29-09-1999
			IL 129022 A 12-02-2003
			JP 2001503856 T 21-03-2001
			JP 2008170449 A 24-07-2008
			KR 20000036176 A 26-06-2000
			TW 541416 B 11-07-2003
			ZA 9708380 A 17-04-1998
US 2003003460	A1	02-01-2003	KEINE

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, 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, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100111741

弁理士 田中 夏夫

(72)発明者 ブロノルド, マルティナ

ドイツ連邦共和国 8 2 5 1 5 ヴォルフラーツハオゼン, ストーベウシュトラーセ 2 1 ベー

(72)発明者 マルケルト - ハーン, クリスティーネ

ドイツ連邦共和国 8 2 3 7 7 ペンツベルク, ザエルヴァイアーシュトラーセ 5 4

(72)発明者 ドニー, フレデリック

ドイツ連邦共和国 8 2 3 7 7 ペンツベルク, オーバーアングアー 9

(72)発明者 ボルハーゲン, ラルフ

ドイツ連邦共和国 8 2 3 7 7 ペンツベルク, カベレンヴァイゼ 4

(72)発明者 アップメイアー, バルバラ

ドイツ連邦共和国 8 2 3 9 3 イッフェルドルフ, エーゲルレンダーシュトラーセ 1 2 ツェ

ー

专利名称(译)	特异性免疫球蛋白G类抗体的检测方法		
公开(公告)号	JP2010526307A	公开(公告)日	2010-07-29
申请号	JP2010506844	申请日	2008-05-06
申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
[标]发明人	ブロノルドマルティナ マルケルトハーンクリスティーネ ドニーフレデリック ボルハーゲンラルフ アップメイアーバルバラ		
发明人	ブロノルド,マルティナ マルケルト-ハーン,クリスティーネ ドニー,フレデリック ボルハーゲン,ラルフ アップメイアー,バルバラ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/564		
CPC分类号	G01N33/6854 G01N33/54313 G01N33/5438		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/543.501.A G01N33/564.B		
代理人(译)	荒井英一		
优先权	2007009240 2007-05-08 EP		
其他公开文献	JP5414667B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种通过测定法测定样品中分析物的方法，该测定法可以以一步法形式进行而无需进行洗涤步骤。该方法包括第一分析物特异性受体，其包含分析物的至少一个结合点，例如颗粒上的几种抗体，以及可选择性结合至包含至少两种分析物分子的排列的第二分析物特异性受体。它们与第一个受体结合。描述了抗体夹心免疫测定，其中检测基于电化学发光。

関値	本発明の1工程イムノアッセイ		2工程イムノアッセイ
	3500 カウント	COI	10 IU/ml 陰性 > 10 IU/ml 陽性
サンプル	カウント	COI	IU/ml
PTR 201-1	3867	1.1	20.8
PTR 201-2	73943	21.1	144.8
PTR 201-3	626833	179.1	134.8
PTR 201-4	434690	124.2	300
PTR 201-5	2268	0.65	0.4
PTR 201-6	5371	1.53	19.6
PTR 201-7	185186	52.9	15.4
PTR 201-8	9367	2.68	26.4
PTR 201-9	174982	50.0	129.1
PTR 201-10	134451	38.4	84.5
PTR 201-11	71459	20.4	56
PTR 201-12	582819	166.5	300
PTR 201-13	582257	166.4	109.1
PTR 201-14	31982	9.1	22.2
PTR 201-15	645934	184.6	300
PTR 201-16	2250	0.64	1.2
PTR 201-17	36001	10.3	64.9
PTR 201-18	12711	3.6	16.5
PTR 201-19	141224	40.3	12.1
PTR 201-20	350990	100.3	155.3
PTR 201-21	57148	16.3	91.1
PTR 201-22	5030	1.4	28.7
PTR 201-23	30672	8.8	66.6
PTR 201-24	27950	8.0	8.3
PTR 201-25	194719	55.6	142.5