

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公開特許公報** (A) (11)特許出願公開番号

特開2001 - 249079

(P2001 - 249079A)

(43)公開日 平成13年9月14日(2001.9.14)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト* (参考)
G 0 1 N 21/76		G 0 1 N 21/76	2 G 0 5 4
C 0 9 K 11/07		C 0 9 K 11/07	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/25		C 1 2 Q 1/25	
	1/34		
	1/42		
		1/34	
		1/42	

審査請求 未請求 請求項の数 17 O L (全 9 数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 301889(P2000 - 301889)

(22)出願日 平成12年10月2日(2000.10.2)

(31)優先権主張番号 特願平11 - 374513

(32)優先日 平成11年12月28日(1999.12.28)

(33)優先権主張国 日本(JP)

(71)出願人 000237204

富士レビオ株式会社

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号

(72)発明者 松野 達樹

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号 富

士レビオ株式会社内

(72)発明者 猿田 弘子

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号 富

士レビオ株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 発光量調節剤を用いた化学発光測定方法及び酵素免疫測定方法

(57)【要約】

【課題】 化学発光増強剤を用いる化学発光測定方法において、効率的な測定を可能とする化学発光測定方法を提供することを目的とする。

【解決手段】 本発明は、化学発光増強剤、酵素及び化学発光基質とを反応させる化学発光測定方法において、発光量調節剤を添加することにより酵素の濃度に対する発光量の関係を直線比例的に増加させる系で、効率的な測定を可能とする化学発光測定方法である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 化学発光増強剤、酵素及び化学発光基質とを反応させる化学発光測定方法において、発光量調節剤の存在下に行うことを特徴とする該化学発光測定方法。

【請求項2】 発光量調節剤が、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド、セチルトリメチルアンモニウムブロマイド、ラウリルトリメチルアンモニウムブロマイド、ステアリルトリメチルアンモニウムブロマイド、ミリスチルトリメチルアンモニウムクロライド及びベンジルジメチルテトラデシルアンモニウムクロライドからなる群から選ばれる1種又は2種以上の化合物であることを特徴とする請求項1記載の化学発光測定方法。

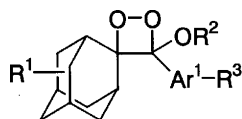
【請求項3】 発光量調節剤が、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイドである請求項2記載の化学発光測定方法。

【請求項4】 化学発光基質の濃度が0.2~0.8mg/ml、化学発光増強剤の濃度が0.4~1.6mg/mlであり、発光量調節剤の使用量が、前記化学発光増強剤の使用重量に対して1/40~等量である請求項1乃至3記載の化学発光測定方法。

【請求項5】 発光量調節剤の使用量が、前記化学発光増強剤の使用重量に対して1/5~1/2量である請求項4記載の化学発光測定方法。

【請求項6】 化学発光基質が、一般式

【化1】



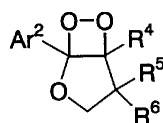
で表わされる1,2-ジオキセタン誘導体である請求項1乃至5記載の化学発光測定方法(式中、R¹は水素原子又はハロゲン原子、R²は低級アルキル基、Ar¹はフェニレン基又はナフチレン基、R³は-OPO₃²⁻・2M⁺で表わされる基(Mは、ナトリウム原子、カリウム原子又はNH₄である。)又はガラクトシル基である。)

【請求項7】 R¹は水素原子、Ar¹は3-フェニレン基である請求項6記載の化学発光測定方法。

【請求項8】 R²はメチル基、R³は-OPO₃²⁻・2Na⁺である請求項7記載の化学発光測定方法。

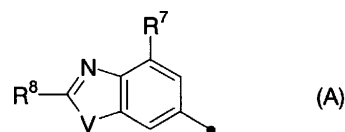
【請求項9】 化学発光基質が、一般式

【化2】



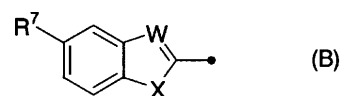
で表わされる1,2-ジオキセタン誘導体である請求項1乃至5記載の化学発光測定方法(式中、R⁴、R⁵及びR⁶は低級アルキル基であり、Ar²は式(A)

【化3】



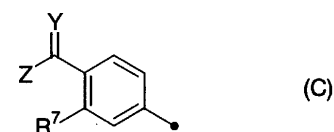
(式中、R⁷は-OPO₃²⁻・2M⁺で表わされる基(Mは、ナトリウム原子、カリウム原子又はNH₄である。)又はガラクトシル基であり、R⁸は水素原子、アルキル基、アリール基、ヒドロキシル基、アルコキシル基、アリールオキシ基又はアラルキルオキシ基であり、Vは酸素原子又は硫黄原子である。)で表わされる基、式(B)

【化4】



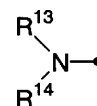
(式中、R⁷は前式(A)のR⁷と同じであり、Wは窒素原子又はC-R⁹(R⁹は、水素原子、アルキル基、アリール基、アルコキシル基又はアラルキルオキシ基である。)で表わされる基であり、Xは酸素原子又は硫黄原子である。)で表わされる基、又は式(C)

【化5】



(式中、R⁷は前式(A)のR⁷と同じであり、Yは酸素原子、硫黄原子又はN-R¹⁰であり、Zは水素原子、アルキル基、アリール基、-OR¹¹、-SR¹²又は式

【化6】

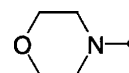


で表わされる基である。ここで、R¹⁰は水素原子、アルキル基、アリール基、ヒドロキシル基又はアルコキシル基であり、R¹¹、R¹²、R¹³及びR¹⁴は水素原子、アルキル基又はアリール基である。また、R¹⁰とR¹¹、R¹⁰とR¹²、R¹⁰とR¹³及びR¹³とR¹⁴は一体となって環を形成することもでき、この環には2つ以上のヘテロ環を含んでいてもよい。)で表わされる基である。)

【請求項10】 前式(C)のYは酸素原子であり、ZのR¹³とR¹⁴とが一体となって3~7員環を形成するのである請求項9記載の化学発光測定方法。

【請求項11】 前式(C)のZが、

【化7】



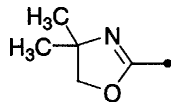
で表わされる基である請求項10記載の化学発光測定方法。

【請求項12】 前式(C)のYはN-R¹⁰、Zは-O

R¹¹であり、R¹⁰とR¹¹とが一体となって3～7員環を形成するものである請求項9記載の化学発光測定方法。

【請求項13】 前式(C)の、R¹⁰とR¹¹とが一体となって形成する環が、

【化8】



で表わされる基である請求項12記載の化学発光測定方法。

【請求項14】 化学発光増強剤が、ポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロライド、ポリビニルベンジルトリメチルアンモニウムクロライド、ポリビニルベンジルベンジルジメチルアンモニウムクロライド、ベンジルジメチルセチルアンモニウムクロライド、ポリメタクリルアミドプロピレンメチルアンモニウムクロライド、ポリビニルピロリドン、1,5-ジメチル-1,5-ジアゾ-ウンデカメチレンポリメトプロマイド、ポリメチレンイミン、ポリ-L-リジン又はポリジアリルジメチルアンモニウムクロライドである請求項1乃至13記載の化学発光測定方法。

【請求項15】 化学発光増強剤が、ポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロライドである請求項14記載の化学発光測定方法。

【請求項16】 酵素が、酸ホスファターゼ、アルカリホスファターゼ又はガラクトシダーゼである請求項1乃至15記載の化学発光測定方法。

【請求項17】 請求項1乃至16記載の化学測定方法を用いる酵素免疫測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、化学発光増強剤、酵素及び化学発光基質とを反応させる化学発光測定方法において、発光量調節剤の存在下で測定を行うことを特徴とする化学発光測定方法及び該測定方法を用いる酵素免疫測定方法に関する。本発明により、化学発光測定を効率よく行うことができる。

【0002】

【従来の技術】化学発光測定は、検体中の測定対象物の存在又は濃度を、迅速、高感度に測定することができ、HIV、HCV等のウィルス、その他生体内微量成分等を測定するために広く用いられている。

【0003】その中でも、化学発光物質として1,2-ジオキセタン類は特に関心を集めている化合物であり、該化合物を基質として酵素と反応させることにより生じる発光を利用した測定において、感度の向上や測定操作の改善等についてこれまで種々の検討がなされている。

【0004】感度を向上させる検討は特に活発に行われており、1,2-ジオキセタン類を化学発光物質として用いる化学発光測定方法において、発光量を増大させ測

定感度を上昇させる様々な化学発光増強剤が見いだされている。その一つとしてポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロライド(以下、TBQと称する。)に極めて高い発光増強効果があることは既に知られており(特開平4-124185号公報参照)、さらに、生じる発光量をより増加させるための改良方法が種々検討されている(特表平8-507694号公報参照)。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、化学発光増強剤を用いる測定系において、酵素濃度が低い場合その発光増強効率は著しく高くなり、また、酵素濃度があるレベルを越えると減少していくため、酵素濃度と発光量の関係を示すグラフは直線的な比例関係にならなかった。そのため、この標準曲線を測定に用いることが困難であり、酵素濃度の測定を効率的に安定して行うことができなかった。

【0006】

前記したように、1,2-ジオキセタン類を用いる化学発光測定系においては、その測定感度の向上を目的として発光量を増加させる種々の改善が行われてきているが、酵素の濃度と発光量との比例関係を改善する検討はなされていない。そこで、本発明は化学発光増強剤を用いる化学発光測定において、酵素の濃度に対する発光量の関係を直線比例的に増加させる系とすることで、効率的な測定を可能とすることを目的とするものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは前記課題を解決するため鋭意検討した結果、発光量調節剤を添加することにより、酵素の量に対する発光量が直線比例的に増加することを見だし、本発明を完成したものである。すなわち本発明は、化学発光増強剤、酵素及び化学発光基質とを反応させる化学発光測定方法において、発光量調節剤の存在下で行うことを特徴とする該化学発光測定方法、及び該測定方法を用いる酵素免疫測定方法である。

【0008】

本発明の発光量調節剤としては、ミリスチルトリメチルアンモニウムプロマイド(以下、MTABと称する。)、セチルトリメチルアンモニウムプロマイド(以下、CTABと称する。)、ラウリルトリメチルアンモニウムプロマイド(以下、DTABと称する。)、ステアリルトリメチルアンモニウムプロマイド(以下、STABと称する。)、ミリスチルトリメチルアンモニウムクロライド(以下、MTACと称する。)及びベンジルジメチルテトラデシルアンモニウムクロライド(以下、BDMACと称する。)が挙げられ、これらの化合物の1種を単独で用いてもよいし、2種以上の化合物を混合して用いてもよい。

【0009】

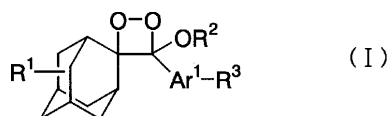
特に、直線比例性を極めて高くすることにより、測定を効率的に行うことができる点から、発光量調節剤としてMTABを用いることが好ましい。

【0010】発光量調節剤の使用量は、酵素の量と化学発光量の関係が直線関係もしくは直線に近い関係となるのに必要な量である。発光量調節剤の量が少ない場合には、測定に有効な標準曲線を得ることができず、量が多い場合には、発光増強効率を低下させてしまう。

【0011】従って、その使用量は、TBQの使用重量に対して1/40～等量の範囲で用いることができるが、標準曲線の有効性の観点からTBQに対して1/5～1/2量であることが好ましい。

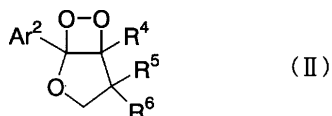
【0012】また、本発明の化学発光基質としては、一般式(I)

【化9】



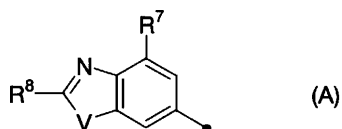
(式中、R¹は水素原子又はハロゲン原子、R²は低級アルキル基、Ar¹はフェニレン基又はナフチレン基、R³は-OPO₃²⁻・2M⁺で表わされる基(Mは、ナトリウム原子、カリウム原子又はNH₄である。)又はガラクトシル基である。)で表わされる1,2-ジオキセタン誘導体、又は一般式(II)

【化10】



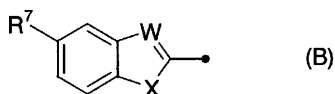
(式中、R⁴、R⁵及びR⁶は低級アルキル基であり、Ar²は式(A)

【化11】



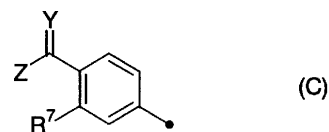
(式中、R⁷は-OPO₃²⁻・2M⁺で表わされる基(Mは、ナトリウム原子、カリウム原子又はNH₄である。)又はガラクトシル基であり、R⁸は水素原子、アルキル基、アリール基、ヒドロキシル基、アルコキシル基、アリールオキシ基又はアラルキルオキシ基であり、Vは酸素原子又は硫黄原子である。)で表わされる基、式(B)

【化12】



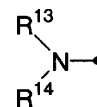
(式中、R⁷は前式(A)のR⁷と同じであり、Wは窒素原子又はC-R⁹(R⁹は、水素原子、アルキル基、アリール基、アルコキシル基又はアラルキルオキシ基である。)で表わされる基であり、Xは酸素原子又は硫黄原子である。)で表わされる基、又は式(C)

【化13】



(式中、R⁷は前式(A)のR⁷と同じであり、Yは酸素原子、硫黄原子又はN-R¹⁰であり、Zは水素原子、アルキル基、アリール基、-OR¹¹、-SR¹²又は式

【化14】



で表わされる基である。ここで、R¹⁰は水素原子、アルキル基、アリール基、ヒドロキシル基又はアルコキシル基であり、R¹¹、R¹²、R¹³及びR¹⁴は水素原子、アルキル基又はアリール基である。また、R¹⁰とR¹¹、R¹⁰とR¹²、R¹⁰とR¹³及びR¹³とR¹⁴は一体となって環を形成することもでき、この環には2つ以上のヘテロ環を含んでいてもよい。)で表わされる1,2-ジオキセタン誘導体を用いるものである。

【0013】前記一般式(I)で表わされる1,2-ジオキセタン誘導体のR¹は、水素原子であってもよく、また、クロル原子、ブロム原子、ヨウ素原子等のハロゲン原子であってもよい。また、R²の「低級アルキル基」としては、炭素数1～6個のアルキル基をいい、例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシルの直鎖状、分枝鎖状又は環状の基を挙げることができる。また、Ar¹はフェニレン基、ナフチレン基等の芳香族炭化水素基を挙げることができる。

【0014】さらに、一般式(I)の化合物を具体的に例示すれば、3-[4-メトキシスピロ(1,2-ジオキセタン-3,2'-トリシクロ[3,3,1,1^{3,7}]デカン)-4-イル]フェニルリン酸二ナトリウム塩(以下、AMPDPと称する。)、7-[4-メトキシスピロ(1,2-ジオキセタン-3,2'-トリシクロ[3,3,1,1^{3,7}]デカン)-4-イル]ナフチル-2-イルリン酸二ナトリウム塩、3-[4-メトキシスピロ(1,2-ジオキセタン-3,2'-トリシクロ[3,3,1,1^{3,7}]デカン)-4-イル]フェニル-D-ガラクトピラノース、3-[4-メトキシスピロ[1,2-ジオキセタン-3,2'-((5'-クロロ)トリシクロ[3,3,1,1^{3,7}]デカン]-4-イル]フェニルリン酸二ナトリウム塩、3-[4-メトキシスピロ[1,2-ジオキセタン-3,2'-((5'-クロロ)トリシクロ[3,3,1,1^{3,7}]デカン]-4-イル]フェニル-D-ガラクトピラノース等を挙げることができる。

【0015】特に、臨床検査薬の分野において広く知られ、実用化されている点から、化学発光基質として、A

MPPDを用いることが好ましい。

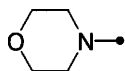
【0016】前記一般式(II)で表わされる1,2-ジオキセタン誘導体において、「低級アルキル基」とは、前記した低級アルキル基と同様の基を挙げることができ、さらに、「アルキル基」としては、置換基を有していてもよい炭素数1~20個のアルキル基をいい、前記した「低級アルキル基」の例示に加え、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、ヘキサデシル、ヘプタデシル、オクタデシル、ノナデシル、イコサニル10の直鎖状、分枝鎖状又は環状の基を挙げることができる。

【0017】前記置換してもよい基とは、例えば、ヒドロキシル基、アルコキシル基、アリール基等である。そのアルコキシル基としては、例えばメトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシ、メトキシエトキシ、メトキシプロポキシ、エトキシエトキシ、エトキシプロポキシ、メトキシエトキシエトキシ基等の炭素数1~20個のアルコキシル基が直鎖状又は分枝鎖状に1~5個結合したものを挙げること15ことができる。また、前記アリール基としては、例えば、フェニル、ナフチル基等の炭素数6~20個の芳香族炭化水素基、及び、フリル、チエニル、ピリジル基等の環内に1~5個の窒素原子、酸素原子又は硫黄原子を有するヘテロアリール基等を挙げることができる。

【0018】また、「アルコキシル基」としては、前記したアルキル基に置換してもよいアルコキシル基と同じものを挙げることができ、「アリール基」としては、これも前記したアルキル基に置換してもよいアリール基と同じものを挙げることができる。さらに、「アラルキル20オキシ基」としては、ベンジルオキシ、フェネチルオキシ基等の炭素数7~20個の基を挙げることができる。

【0019】前記一般式(II)において、Ar²が前記式(C)で表わされる基である場合、Yが酸素原子であり、R¹³及びR¹⁴が一体となって3~7員環を形成する基であることが好ましい。より好ましくは、Zが

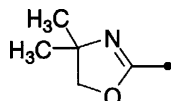
【化15】



で表わされる基である場合である。

【0020】また、前記一般式(II)において、Ar²が前記式(C)で表わされる基である場合、YがN-R¹⁰であり、Zが-OR¹¹であり、R¹⁰とR¹¹とが一体となって3~7員環を形成するものも好ましい。より好ましくは、R¹⁰とR¹¹とが一体となり

【化16】



で表わされる基である場合である。

【0021】化学発光基質の使用量は、測定の際、測定溶液に溶解する範囲で使用することが可能であるが、0.2~0.8mg/mlの範囲であることが好ましい。

【0022】本発明の化学発光増強剤としては、TBQ、ポリビニルベンジルトリメチルアンモニウムクロライド、ポリビニルベンジルベンジルジメチルアンモニウムクロライド、ベンジルジメチルセチルアンモニウムクロライド、ポリメタクリルアミドプロピレンメチルアンモニウムクロライド、ポリビニルピロリドン、1,5-ジメチル-1,5-ジアゾ-ウンデカメチレンポリメトプロマイド、ポリメチレンイミン、ポリ-L-リジン、ポリジアリルジメチルアンモニウムクロライド等が挙げられるが、この中でも極めて高い発光増強効果があるTBQを用いることが好ましい。TBQは、1,2-ジオキセタン化合物の化学発光増強剤として古くから知られている化合物である。

【0023】化学発光増強剤の使用量は、測定の際、測定溶液に溶解する範囲で使用することが可能であるが、0.4~1.6mg/mlの範囲であることが好ましい。

【0024】また、酵素としては酸ホスファターゼ、アルカリホスファターゼ、ガラクトシダーゼ等を用いることができる。アルカリホスファターゼは、動物又は植物から分離精製することにより入手することもでき、市販品を購入してもよい。

【0025】酵素の測定は、酵素が遊離の状態であってもよく、抗原、抗体、ハプテン等と結合した状態であってもよい。免疫反応に基づいて行う場合には、通常、抗原、抗体、ハプテン等と結合させ複合体とし、測定対象物と該複合体とが免疫反応に基づいて間接的に結合した状態の酵素を測定することにより、測定対象物の濃度を算出することができる。

【0026】本発明の化学発光測定は、発光量調節剤の存在下に測定することを必須の要件とするものである。発光量調節剤を存在させることにより、化学発光増強剤による発光の増強効率が酵素の濃度に関わらずほぼ一定となり、発光量との関係において直線性を与えることができる。本発明における発光量調節剤は、化学発光増強剤のみを用いた発光量と比較した場合、発光量を抑えて直線比例性を高めるものであり、発光量をさらに増大させるものではない。

【0027】本発明は、化学発光を用いた測定であれば通常行われているものに適用することができ、特に酵素免疫測定に有効に用いることができる。その場合には、検体として、血液、血漿、血清、尿、組織液等の測定対象物を含む可能性の疑われるものを用いることができる。

【0028】酵素免疫測定による測定対象物としては、前記検体に含まれるホルモン、酵素、蛋白質、サイトカ

イン、細菌、ウィルス等の抗原又はこれらの抗原に対する抗体を挙げるができる。

【0029】また、酵素免疫測定に抗体を用いる場合、抗体はポリクローナル抗体でもモノクローナル抗体でもよいが、特異性の観点からモノクローナル抗体であることが好ましい。モノクローナル抗体はケーラーとミルシュタインの常法(Nature, 256, 495(1975))に従って調製することができる。調製した抗体は公知の方法で精製すればよく、抗体を使用する際には、精製抗体のままでも抗体フラグメントとしても使用することができる。

【0030】

【実施例】以下、参考例及び実施例により、本発明をさらに説明する。

【0031】(参考例1)抗原として - フェトプロテイン(AFP)、固相としてモノクローナル抗AFP抗体結合磁性粒子、標識抗体としてアルカリホスファターゼ(ALP)結合モノクローナル抗AFP抗体を用いたAFP測定系(2ステップサンドイッチ法)において、該測定系に用いる基質液として、化学発光基質としてAMPDPを0.2mg/ml、化学発光増強剤としてポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロライド(TBQ)を0.4mg/ml、0.1Mジエタノールアミン(DEA)、1mM塩化マグネシウム(MgCl₂)、0.05%アジ化ナトリウム(NaN₃)から成る水溶液(pH=10.0)を調製した。次に、0、10、100、800、2000ng/mlのAFPを含むサンプルをBSA溶液で10倍希釈した。この溶液各20μlをそれぞれ0.015%抗AFP抗体結合磁性粒子250μl中に添加、混合後、反応容器中37℃で10分間反応させた。この後、この反応容器に磁石を接して粒子を集磁させ上清を除き洗浄を行った。次に0.1μg/ml ALP結合抗AFP抗体の溶液を250μl添加、混合し、37℃で10分間反応させた。反応後この反応容器に磁石を接して粒子を集磁させ上清を除き洗浄を行った。この粒子に基質液を200μl添加し、混合した。37℃で5分間反応させた後、フォトンカウンターで発光量を測定した。その結果を図1に示す。

【0032】(実施例1)参考例1と同じ測定系において、まず、基質液として、化学発光基質としてAMPDPを0.2mg/ml、化学発光増強剤としてポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロライド(TBQ)を0.4mg/ml、0.1Mジエタノールアミン(DEA)、1mM塩化マグネシウム(MgCl₂)、0.05%アジ化ナトリウム(NaN₃)と、さらに発光量調節剤としてミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド(MTAB)を0.08mg/ml及び0.16mg/mlの濃度で添加した水溶液(pH=10.0)をそれぞれ調製した。次に、参考例1と同様に、0、10、100、800、2000ng/mlのAFP

Pを含むサンプルをBSA溶液で10倍希釈した。この溶液各20μlをそれぞれ0.015%抗AFP抗体結合磁性粒子250μl中に添加、混合後、反応容器中37℃で10分間反応させた。この後、この反応容器に磁石を接して粒子を集磁させ上清を除き洗浄を行った。次に0.1μg/ml ALP結合抗AFP抗体の溶液を250μl添加、混合し、37℃で10分間反応させた。反応後この反応容器に磁石を接して粒子を集磁させ上清を除き洗浄を行った。この粒子に基質液を200μl添加し、混合した。37℃で5分間反応させた後、フォトンカウンターで発光量を測定した。その結果を図2に示す。また、標準曲線の傾きを図3に示す。

【0033】(実施例2)発光量調節剤として、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド(MTAB)の代わりに、ラウリルトリメチルアンモニウムブロマイド(DTAB)を0.01mg/mlの濃度で添加した基質液を用いて実施例1と同一の操作によりAFPを測定した。その結果を図4に示す。

【0034】(実施例3)発光量調節剤として、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド(MTAB)の代わりに、セチルトリメチルアンモニウムブロマイド(CTAB)を0.04mg/mlの濃度で添加した基質液を用いて実施例1と同一の操作によりAFPを測定した。その結果を図5に示す。

【0035】(実施例4)発光量調節剤として、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド(MTAB)の代わりに、ステアリルトリメチルアンモニウムブロマイド(STAB)を0.04mg/mlの濃度で添加した基質液を用いて実施例1と同一の操作によりAFPを測定した。その結果を図6に示す。

【0036】(実施例5)発光量調節剤として、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド(MTAB)の代わりに、ミリスチルトリメチルアンモニウムクロライド(MTAC)を0.08mg/mlの濃度で添加した基質液を用いて実施例1と同一の操作によりAFPを測定した。その結果を図7に示す。

【0037】(実施例6)発光量調節剤として、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド(MTAB)の代わりに、ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウムクロライド(BDMAC)を0.08mg/mlの濃度で添加した基質液を用いて実施例1と同一の操作によりAFPを測定した。その結果を図8に示す。

【0038】(実施例7)発光量調節剤として、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド(MTAB)を0.04mg/mlの濃度で添加する他に、ラウリルトリメチルアンモニウムブロマイド(DTAB)を0.04mg/mlの濃度で添加した基質液を用いて実施例1と同一の操作によりAFPを測定した。その結果を図9に示す。

【0039】(実施例8)発光量調節剤として、ミリス

チルトリメチルアンモニウムブロマイド (MTAB) を 0.04 mg/ml の濃度で添加する他に、セチルトリメチルアンモニウムブロマイド (CTAB) を 0.04 mg/ml の濃度で添加した基質液を用いて実施例 1 と同一の操作により AFP を測定した。その結果を図 10 に示す。

【0040】(実施例 9) 発光量調節剤として、ミリスチルトリメチルアンモニウムブロマイド (MTAB) を 0.04 mg/ml の濃度で添加する他に、ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウムクロライド (BDMA 10 C) を 0.04 mg/ml の濃度で添加した基質液を用いて実施例 1 と同一の操作により AFP を測定した。その結果を図 11 に示す。

【0041】

【発明の効果】本発明によれば、化学発光増強剤としてポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロライドを用いる化学発光測定方法において、効率的な測定ができ、従来よりも安定した測定が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 発光量調節剤を含有しない測定系における標準曲線を示す図である。

*【図 2】 発光量調節剤として MTAB を含有する測定系における標準曲線を示す図である。

【図 3】 発光量調節剤を含有しない測定系と発光量調節剤として MTAB を含有する測定系の標準曲線の傾きを表す図である。

【図 4】 発光量調節剤として DTAB を含有する測定系における標準曲線を示す図である。

【図 5】 発光量調節剤として CTAB を含有する測定系における標準曲線を示す図である。

【図 6】 発光量調節剤として STAB を含有する測定系における標準曲線を示す図である。

【図 7】 発光量調節剤として MTAC を含有する測定系における標準曲線を示す図である。

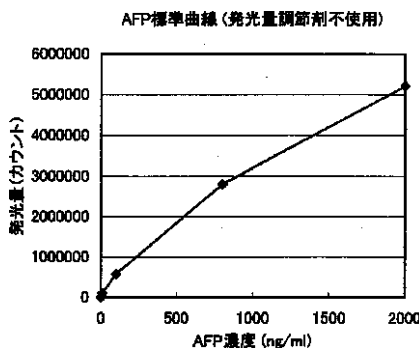
【図 8】 発光量調節剤として BDMA 含有する測定系における標準曲線を示す図である。

【図 9】 発光量調節剤として MTAB と DTAB を含有する測定系における標準曲線を示す図である。

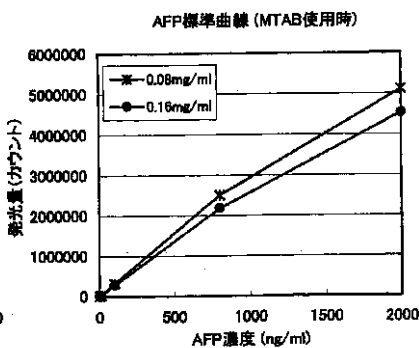
【図 10】 発光量調節剤として MTAB と CTAB を含有する測定系における標準曲線を示す図である。

【図 11】 発光量調節剤として MTAB と BDMA 含有する測定系における標準曲線を示す図である。

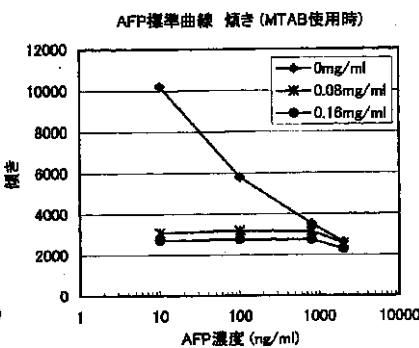
【図 1】



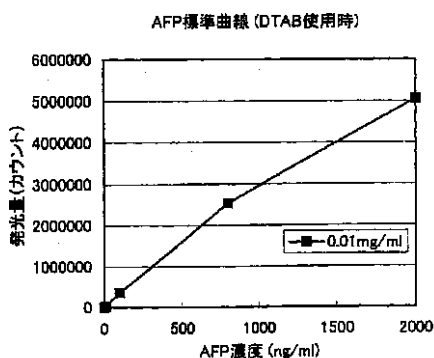
【図 2】



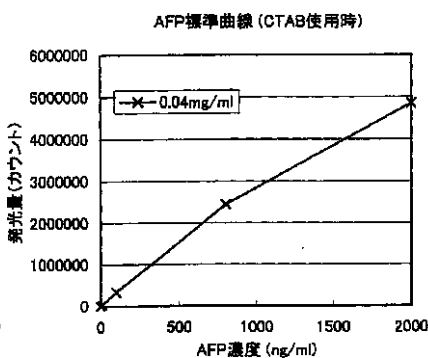
【図 3】



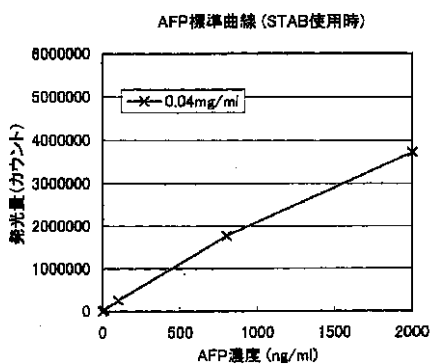
【図 4】



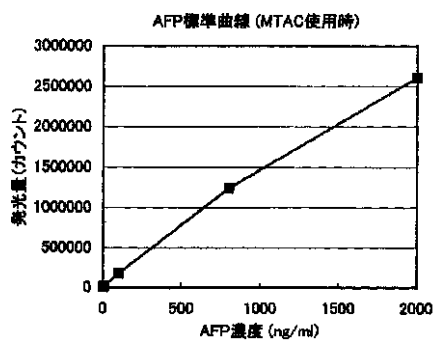
【図 5】



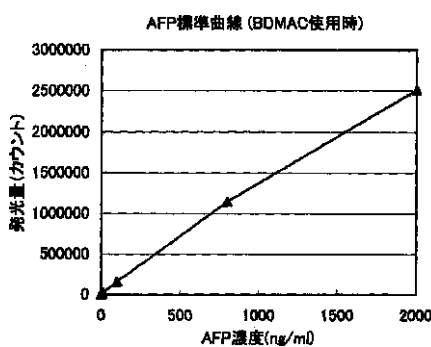
【図6】



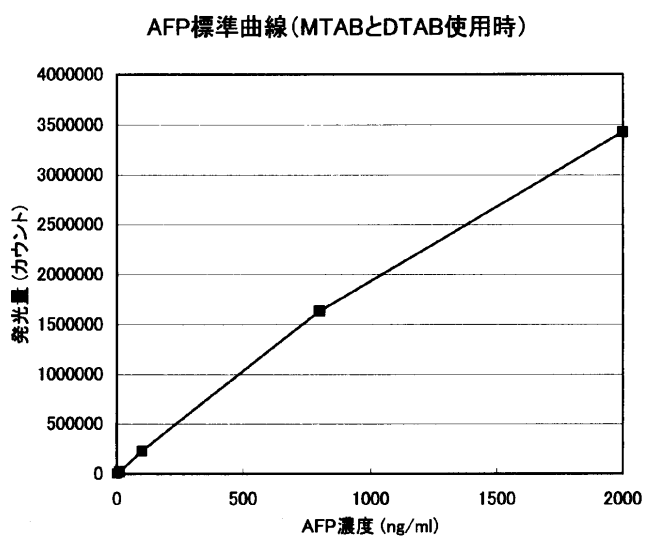
【図7】



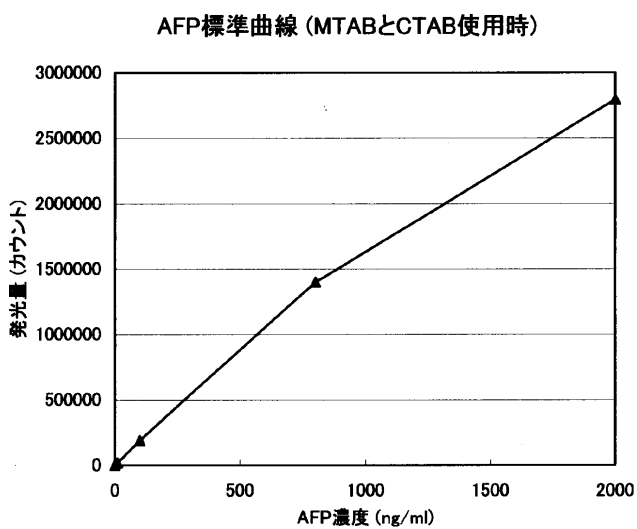
【図8】



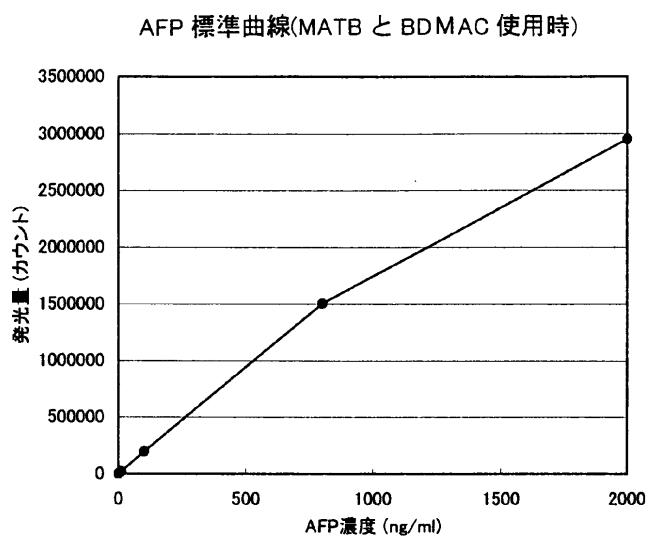
【図9】



【図10】



【図11】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷
G 0 1 N 33/535

識別記号

F I
G 0 1 N 33/535

テ-マコ-ド(参考)

专利名称(译)	化学发光测量方法和酶免疫测定法使用发光量调节剂		
公开(公告)号	JP2001249079A	公开(公告)日	2001-09-14
申请号	JP2000301889	申请日	2000-10-02
[标]申请(专利权)人(译)	富士瑞必欧株式会社		
申请(专利权)人(译)	FUJIREBIO		
[标]发明人	松野達樹 猿田弘子		
发明人	松野 達樹 猿田 弘子		
IPC分类号	G01N33/535 C09K11/07 C12Q1/25 C12Q1/34 C12Q1/42 G01N21/76 G01N33/569 G01N33/58		
CPC分类号	C12Q1/34 G01N33/582 Y10S435/968		
FI分类号	G01N21/76 C09K11/07 C12Q1/25 C12Q1/34 C12Q1/42 G01N33/535		
F-TERM分类号	2G054/CE01 2G054/EA01 2G054/GA09 2G054/GE01 2G054/JA06 4B063/QA01 4B063/QQ03 4B063/QQ06 4B063/QQ10 4B063/QQ21 4B063/QQ79 4B063/QQ94 4B063/QQ96 4B063/QR13 4B063/QR15 4B063/QR41 4B063/QR48 4B063/QR51 4B063/QR58 4B063/QS03 4B063/QS28 4B063/QS33 4B063/QS35 4B063/QS36 4B063/QX02		
优先权	1999374513 1999-12-28 JP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供一种化学发光测量方法，该方法能够在使用化学发光增强剂的化学发光测量方法中进行有效的测量。本发明提供一种化学发光测量方法，其中化学发光增强剂，酶和化学发光底物反应，并添加发光控制剂，使得发光与酶浓度之间的关系成线性比例。它是一种化学发光测量方法，可以在不断增加的系统中进行有效的测量。

