

(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2002 - 131318

(P2002 - 131318A)

(43)公開日 平成14年5月9日(2002.5.9)

| (51) Int. Cl <sup>7</sup> | 識別記号 | F I           | テ-マ-ト* ( 参考 ) |
|---------------------------|------|---------------|---------------|
| G 0 1 N 33/53             |      | G 0 1 N 33/53 | S 4 B 0 2 4   |
| C 1 2 N 5/10              |      | 33/543 551    | D 4 B 0 6 4   |
| 15/02                     |      | 33/577        | B 4 B 0 6 5   |
| G 0 1 N 33/543            | 551  | C 1 2 P 21/08 |               |
| 33/577                    |      | C 1 2 N 5/00  | B             |

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L ( 全 7 数 ) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 325468(P2000 - 325468)

(22)出願日 平成12年10月25日(2000.10.25)

(71)出願人 000237204

富士レピオ株式会社

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号

(72)発明者 白木 英行

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号 富

士レピオ株式会社内

(72)発明者 本多 秀夫

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号 富

士レピオ株式会社内

(74)代理人 100098431

弁理士 山中 郁生 ( 外 3 名 )

最終頁に続く

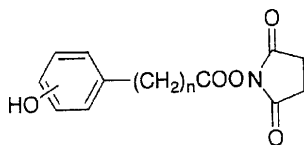
(54)【発明の名称】 ビスフェノールAの測定方法

(57)【要約】

【課題】 従来の測定後の処理が煩雑な従来の酵素標識ビスフェノールA ( B P A ) を用いた B P A の測定法に替わる高感度な酵素免疫測定法の提供。

【解決手段】 一般式

【化1】

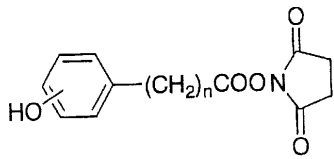


(式中、nは、1ないし5の整数である。)で表されるフェノール誘導体の酵素標識体と、検体中のB P A とを固相の抗体に競合反応させる方法により B P A 測定を行うことができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

【化1】



で表されるフェノール誘導体を用いるビスフェノールAの測定方法(式中、nは、1ないし5の整数である。)

【請求項2】 nが2ないし5であるフェノール誘導体を用いる請求項1に記載の方法。

【請求項3】 nが2であるフェノール誘導体を用いる請求項1に記載の方法。

【請求項4】 水酸基が4位に位置したフェノール誘導体を用いる請求項1に記載の方法。

【請求項5】 測定方法が酵素免疫測定法であり、請求項1ないし4に記載のいずれかのフェノール誘導体を用いるビスフェノールAの測定方法。

【請求項6】 請求項1ないし4のいずれかに記載のフェノール誘導体を酵素に結合させ、競合法により行う請求項5に記載の方法。

【請求項7】 請求項1ないし4のいずれかに記載のフェノール誘導体を固相に結合させ、競合法により行う請求項5に記載の方法。

【請求項8】 モノクローナル抗体を使用する請求項5ないし7に記載の方法。

【請求項9】 モノクローナル抗体が、FERMP-18012である請求項8に記載の方法。

【請求項10】 請求項9に記載のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ。

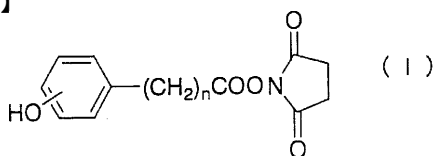
【請求項11】 請求項1に記載の測定方法を行うためのキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、一般式

【化2】



(式中、nは、1ないし5の整数である。)で表されるフェノール誘導体を用いるビスフェノールA(以下、BPAと称す。)の測定方法に関する。

【0002】

【従来の技術】BPAは、高分子化合物の製造原料として使用されている。とりわけ、毒性もなく問題視されることもなった化合物である。ところが、近年、環境ホル

10

20

30

40

モン物質ではないかとの疑いもたれるようになってきた。たとえば、女性ホルモンへの影響やマウスでの出生児への影響が報告されている。従来、BPAは、高速液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、それらのいずれかとマススペクトロメトリーとを一体化した機器等を用いて測定していたが、これらの測定機器は大変高価であり、また、サンプルが大気の場合は、これら機器測定前に濃縮操作を行わねばならず、煩雑であった。これらの問題は酵素免疫測定法を採用することで解決することができた。さらに、高感度測定を目指したところ、BPAを認識するモノクローナル抗体が見出されるにいたった(用水と廃水 41, 9 (1999))。この方法は、迅速かつ簡便、低コストで高感度測定ができるが、酵素標識BPAを用いる必要があり、測定後の処理が非常に煩雑である。また、高感度化は、ある程度達成されたものの、まだ十分と言えるものではなく、改良が望まれていた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、高感度かつ簡便なBPAの測定方法を提供することが目的である。さらに、本発明は、煩雑な後処理を必要としないBPAの測定方法を提供することが目的である。

【0004】

【課題を解決するための手段】かかる課題を解決するため本発明者らは、前記一般式(I)で表されるフェノール誘導体を用いるとBPAを高感度かつ簡便に測定できること、さらに高感度化を目指し、BPAを認識するモノクローナル抗体を見出し、本発明を完成した。

【0005】

【発明の実施の形態】本発明は、前記一般式(I)で表されるフェノール誘導体を用いた免疫測定方法を利用し、BPAを測定するものである。BPAの測定系を組むに当たっては、酵素免疫測定法の採用が定量的し易さ等から好ましい。酵素免疫測定法においては、前記一般式(I)で表されるフェノール誘導体の酵素標識体と検体中のBPAを固相の抗体に競合反応させる方法が、測定対象化合物の分子の形態上好ましい。

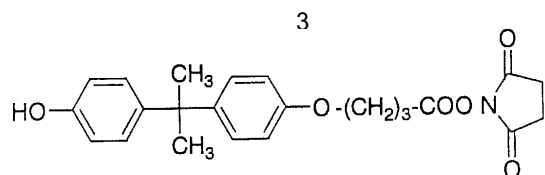
【0006】本発明に使用することができる酵素標識抗体の酵素は、測定系に影響のない酵素を使用でき、その点、アルカリフォスファターゼは簡便に使用できる。抗体は、本発明を実施することができる抗体ならばいずれの抗体でもよいが、モノクローナル抗体は、感度を向上させる上からも好ましい抗体といえる。

【0007】そのモノクローナル抗体は、既知の方法に従い製造することができる。本発明のモノクローナル抗体作成にあたっての免疫原の基本構造は、以下の構造式で表される化合物である。

【0008】

【化3】

50

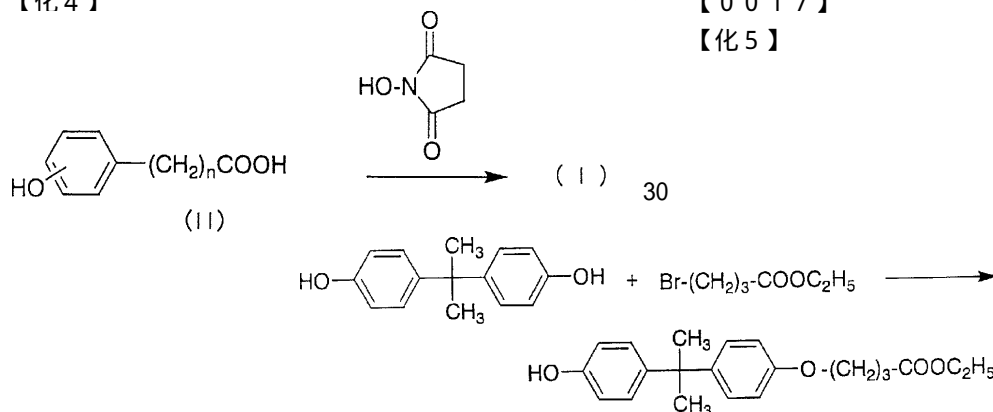


【0009】この化合物をKLH等の表面アミノ基と結合させた複合体を免疫原として用いるものである。動物に免疫するには、この複合体を動物に接種することにより行うものである。接種する動物としては、ヤギ、ウサギ、マウス等を使用することができる。接種方法は、フロイントの完全アジュバントとともに接種する通常の方法で行うことができる。その後、免疫動物より脾臓細胞を採取し、抗体産生細胞を骨髄腫細胞と融合させるものである。所望の抗体産生ハイブリドーマを得、クローニングに供することにより、目的とするモノクローナルなハイブリドーマを取得することができる。ハイブリドーマによるモノクローナル抗体の産生、精製も既知の方法に従い行える。本方法に従い製造したモノクローナル抗体産生ハイブリドーマを寄託し、寄託番号FERM P-18012を得ている。本発明は、このモノクローナル抗体を用いて行うことが特に好ましいと言える。

【0010】前記一般式(I)で表されるフェノール誘導体は以下の式に従い製造することができる。

【0011】

【化4】



【0018】2, 2'-ビス(4-ヒドロキシフェニル)プロパン1140mg(5.0mmol)を無水ジメチルホルムアミド10mlに溶解し、炭酸カリウム1450mg(10.5mmol)、4-ブロモ酪酸エチル975mg(5.0mmol)を加え、室温で18時間攪拌した。反応液を10%クエン酸にて酸性とし、酢酸エチルで抽出し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、標記4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブタン酸エチル919mg(収率53.7%)を得た。

【0019】<sup>1</sup>H-NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 50

\* (式中、nは、1ないし5の整数である。)

【0012】より具体的には、一般式(II)で表されるカルボン酸にN-ヒドロキシサクシニミドを縮合させることにより前記一般式(I)で表されるフェノール誘導体を製造することができる。

【0013】以上の反応を経て得られる化合物としては、たとえば、ヒドロキシフェノキシ酢酸サクシニミドエステル、ヒドロキシフェノキシプロパン酸サクシニミドエステル、ヒドロキシフェノキシブタン酸サクシニミドエステル、ヒドロキシフェノキシペンタン酸サクシニミドエステルである。

【0014】なお、本発明は、測定系の組み易さから固相に抗体、酵素標識した前記一般式(I)で表されるフェノール誘導体を用いた方法を挙げたが、本発明がこの方法に限られるものではない。測定に際しては通常の酵素免疫測定の測定環境が整えばよく、特に緩衝溶液等に制限はない。本発明は、さらに、以上の測定が実施できるキットを含むものである。

【0015】実施例

以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は実施例により限定されるものではない。

【0016】参考例1

4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブタン酸エチルの合成

【0017】

【化5】

1.22(t, J=7.1Hz, 3H), 1.62(s, 6H), 2.09(m, 2H), 2.50(t, J=7.3Hz, 2H), 3.97(t, J=6.0Hz, 2H), 4.14(q, J=7.1Hz, 2H), 4.71(s, 1H), 6.72(d, J=8.6Hz, 2H), 6.78(d, J=8.8Hz, 2H), 7.09(d, J=8.6Hz, 2H), 7.12(d, J=8.8Hz, 2H)ppm.

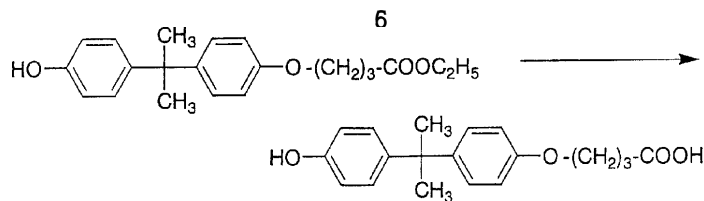
【0020】参考例2

4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブタン酸の合成

【0021】

【化6】

(4)



【0022】4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブタン酸エチル 919 mg (2.68 mmol) をエタノール 10 ml に溶解し、4 N 水酸化リチウム水溶液を 2 ml (8.0 mmol) 加え、室温で 18 時間撹拌した。反応終了後、10% クエン酸にて酸性とし、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をエーテル-ヘキサンから再結晶し標記 4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブタン酸 614 mg (収率 107.2.9%) を得た。

【0023】<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1.55 (s, 6H), 1.91 (m, 2H), 2.2. \*

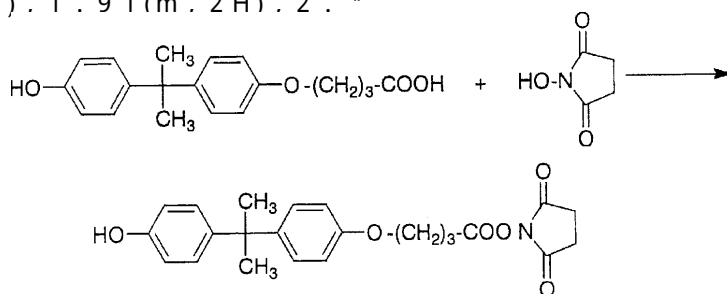
\* 3.6 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.92 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 6.64 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.98 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 9.14 (s, 1H), 12.12 (s, 1H) ppm.

【0024】参考例 3

N-スクシンイミジル-4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブチレートの合成

【0025】

【化 7】



【0026】4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブタン酸 314 mg (1.0 mmol) をジクロロメタン 10 ml に溶解し、エーテル 10 ml、N-ヒドロキsuccinimid 127 mg (1.1 mmol)、塩酸 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド 211 mg (1.1 mmol) を加え、室温で 15 時間撹拌した。反応終了後、10% クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、標記 N-スクシンイミジル-4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブチレート 374 mg (収率 91.1. \*)

\* 2%) を得た。

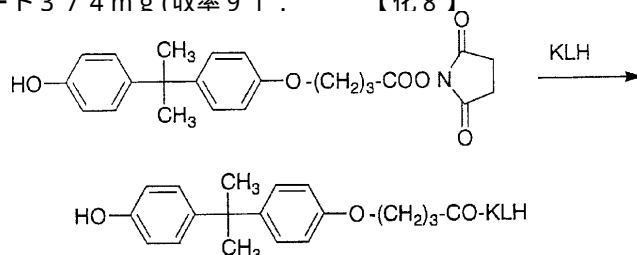
【0027】<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.62 (s, 6H), 2.22 (m, 2H), 2.84 (s, 4H), 2.84 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 4.03 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.56 (s, 1H), 6.72 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.80 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.03 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 9.0 Hz, 2H) ppm.

【0028】参考例 4

免疫原：ビスフェノール A-KLH 複合体の合成

【0029】

【化 8】



【0030】キーホール・リンペット・ヘモシアニン (KLH) 5.0 mg を 0.1 M のリン酸緩衝液 (pH 7.5) 900 μl に溶解し、参考例 3 で作成した N-ス

クシンイミジル-4-(4-(1-メチル-1-(4-ヒドロキシフェニル)エチル)フェノキシ)ブチレート 0.61 mg の無水ジメチルホルムアミド溶液 (100 μl)

を加え、室温で3時間攪拌した。その後反応液をPBS中で透析し脱塩し、免疫原のKLH複合体を得た。

#### 【0031】実施例1

モノクローナル抗体の作製

参考例4で作成したKLH複合体100 $\mu$ gをフロイントの完全アジュバントとともにBALB/cマウスに腹腔内投与して免疫した。2週間間隔でこれを3回繰り返すその3週間後、最終免疫として前記KLH複合体100 $\mu$ gを静脈内投与した。さらにその3日後、摘出した脾臓をケーラーとミルシュタインの定法により(Nature 256, 495 (1975))細胞融合に供した。他方、融合の親細胞にはP3-X63-Ag8-U1(P3U1)を用い、融合剤としてはポリエチレングリコールを用いた。この様にして融合した細胞はHAT培地に懸濁し、96ウェルのマイクロカルチャープレートに分注して培養した。約2週間後、ハイブリドーマの増殖したウェルの培養上清について、以下のような方法によりスクリーニングし、ビスフェノールAに特異的なモノクローナル抗体を産生しているハイブリドーマを選択した。即ち、リン酸緩衝液(PBS)にビスフェノールAとBSAの結合体を500ng/mlの濃度で溶解し、96ウェルマイクロアッセイプレートに100 $\mu$ l/ウェルとなるように分注し、4 $^{\circ}$ Cで一晩放置して抗原固相化プレートを作製した。つぎに非吸着のビスフェノールA BSA結合体を除去し、0.05%のTween 20を含むPBSで洗浄した後、1%のBSAを含むPBSを分注し、37 $^{\circ}$ Cで2時間放置してブロッキングした。続いて同様な洗浄後、ハイブリドーマ培養上清を100 $\mu$ l/ウェルとなるように分注し、37 $^{\circ}$ Cで2時間放置した。同様の洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗マウス免疫グロブリン抗体(DAKO社)を0.05%のTween 20を含むPBSで1000倍に希釈したものを100 $\mu$ l/ウェルとなるように分注し、37 $^{\circ}$ Cで1時間放置した。最後に同様な洗浄の後、ペルオキシダーゼ基質(ABTS-過酸化水素系)を100 $\mu$ l/ウェルとなるように加え、吸光度を測定した。以上のようにして選択されたハイブリドーマのうちBPA12E5クローンを工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託し、その寄託番号はFERM P-18012である。

【0032】ハイブリドーマの $1 \times 10^7$ 個をプリスタン0.5ml投与後2週間のBALB/cに腹腔内投与した。約1週間後マウス腹腔中に腹水が貯留し、この腹腔中に抗ビスフェノールAモノクローナル抗体が高濃度に含まれていた。抗ビスフェノールAモノクローナル抗体は採取した腹水から、プロテインAカラムによるアフィニティークロマトで精製した。モノクローナル抗体BPA12E5の性状は、以下の通りである。

免疫グロブリンのタイプ; IgG

分子量; 約15万ダルトン

分子吸光係数; E280nm = 14.0

#### 【0033】実施例2

ELISAによる抗ビスフェノールAモノクローナル抗体(BPA12E5)の抗体価測定

ビスフェノールA BSA結合体を500ng/mlの濃度でリン酸緩衝液に溶解、96ウェルアッセイプレートに100 $\mu$ l/ウェルで分注し4 $^{\circ}$ Cで一晩放置して抗原固相化プレートを作製した。非吸着の抗原を除去し、0.05% Tween 20を含むPBSで洗浄後、1% BSAを含むPBSを100 $\mu$ l/ウェルで分注して37 $^{\circ}$ C、2時間放置してブロッキングした。ここでフリーのビスフェノールAを5nM希釈して、5000-0.3ng/mlとなるように1% BSAを含むPBSで調製し、これと10 $\mu$ g/mlの抗ビスフェノールAモノクローナル抗体(BPA12E5)を同量混合したものを100 $\mu$ l/ウェルで抗原固相化プレートに分注し、37 $^{\circ}$ C、2時間反応させた。0.05% Tween 20を含むPBSで洗浄し、ペルオキシダーゼ標識抗マウス免疫グロブリン抗体(DAKO社)を1000倍に希釈したものを100 $\mu$ l/ウェルとなるように分注し、さらに37 $^{\circ}$ Cで1時間放置した。0.05% Tween 20を含むPBSで洗浄した後、ペルオキシダーゼ基質(ABTS-過酸化水素系)を100 $\mu$ l/ウェルとなるように加え、吸光度を測定した。この結果を図1に示す。この測定系では30ng/ml濃度のビスフェノールAが測定可能であった。

#### 【0034】参考例5

抗体感作粒子の調製

0.2Mリン酸-0.1Mクエン酸緩衝液(McClaine緩衝液)pH4に溶解した抗ビスフェノールAモノクローナル抗体(BPA12E5)20 $\mu$ g/mlを蒸留水で洗浄した磁性粒子(日本ペイント社製)10mgに1ml加え、充分混和後ローテーターで25 $^{\circ}$ C、1時間回転反応させた。反応終了後、磁性粒子を磁石で集磁し、反応液を吸引除去した。感作磁性粒子を50mMメス緩衝液pH5.5で2回洗浄した後、1mlの50mMメス緩衝液pH5.5で懸濁し、40mg/mlの1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(和光純薬製)水溶液を50 $\mu$ g/ml添加して、ローテーターで25 $^{\circ}$ C、30min.回転反応させた。磁性粒子を磁石で集磁し、反応液を吸引除去した。感作磁性粒子を2% BSA含有50mMトリス緩衝液pH7.2で3回洗浄し、37 $^{\circ}$ Cで一晩ローテーター攪拌した。磁性粒子を磁石で集磁し、BSA含有トリス緩衝液を吸引除去した。0.1% BSA含有50mMトリス緩衝液pH7.2で3回洗浄後、粒子濃度1%濃度になるようメスアップし、抗体感作粒子を得た。

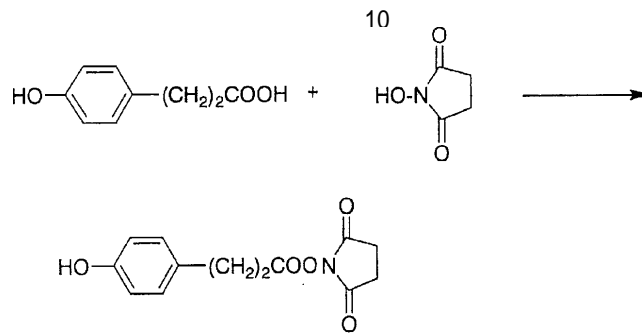
#### 【0035】参考例6

N-スクシンイミジル-3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオネートの合成

【0036】

9

【化9】

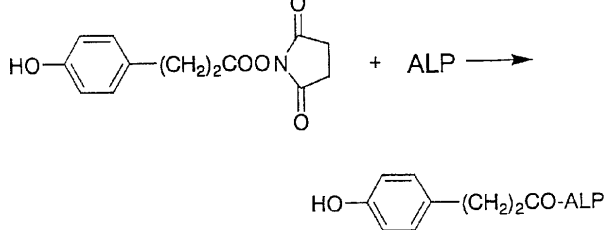


【0037】3-(4-ヒドロキシフェニル)プロパン酸166mg(1.0mmol)をジメチルホルムアミドに溶解し、N-ヒドロキシスクシンイミド345mg(1.2mmol)、塩酸1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド230mg(3mmol)を加え、室温で終夜撹拌した。反応終了後、水を加え、酢酸エチルで抽出し、5%飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、5%クエン酸水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去し、標記N-スクシンイミジル-3-(4-ヒドロキシ

フェニル)プロピネレート200mg(収率76.0%)を得た。

【0038】参考例73-(4-ヒドロキシフェニル)プロパン酸-アルカリフォスファターゼ複合体の合成

【0039】



【0040】アルカリフォスファターゼ(17mg/ml)300μlをPD-10にて0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)1.8mlに置換した。参考例6で作成したN-スクシンイミジル-3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオレート1.5mgの無水ジメチルホルムアミド溶液(75μl)を加え、室温で1時間撹拌した。その後反応液をPD-10にて脱塩し、3-(4-ヒド

ロキシフェニル)プロパン酸-アルカリフォスファターゼ複合体(HPP-ALP)を得た。

【0041】実施例3

ビスフェノールAの測定

参考例5で作成した抗体感作粒子液150μl、酵素標識ハプテン溶液(ビスフェノールA結合アルカリフォスファターゼ(BPA-ALP、オリエンタル酵母社製)又は参考例7で作成したHPP-ALP)20μl、標準液(4,4-イソプロピリデンジフェノール(関東化学)10%ジメチルスルホキシド水溶液)又は試料120μlを用い、全自動化学発光免疫測定システムルミパルスフォルテ(富士レビオ社製)により37、30分間の1ステップ競合法測定を行った。すなわち、粒子液150μlに標準液又は試料120μlと酵素標識ハプテン溶液20μlを同時に加え、37、20分間免疫反応を行った後、発光量を測定した。試料の測定値は標準液の発光量から作成した検量線に基づいて算出した。なお、これらの操作は全てコンピューター制御により実施した。標準液0濃度のカウント値を100%とした時の各標準液の応答(B/B0(%))を図2に示す。酵素標識ハプテンとしてBPA-ALPを用いた測定系では、50%阻害率を示す濃度点は1ng/mlであったが、HPP-ALPを使用した場合は、0.5ng/mlとなり、感度が約2倍上昇した。

【0042】

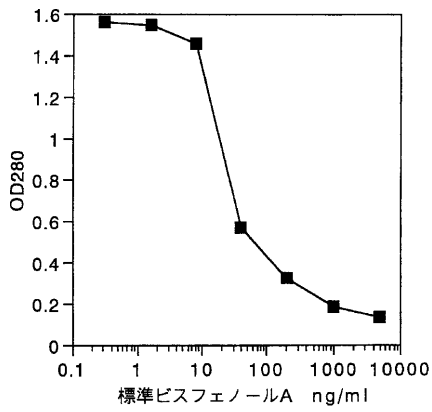
【発明の効果】本発明は、従来の酵素標識BPAを用いる方法に比べ煩雑な後処理を必要としないBPAの測定法を提供する。また、本発明のモノクローナル抗体は、検体中のBPAの高感度測定に有用である。

【図面の簡単な説明】

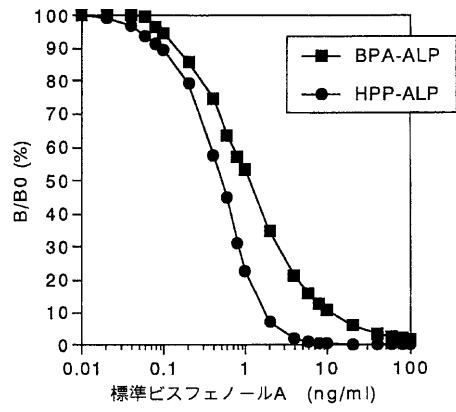
【図1】ビスフェノールAを測定したときの標準測定曲線を示す。

【図2】ビスフェノールAをBPA-ALPまたはHPP-ALPを用いて測定したときの標準測定曲線を示す。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テ-マコード(参考)

// C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 15/00

C

(72)発明者 倉野 義裕

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

Fターム(参考) 4B024 AA11 AA17 BA53 GA03 HA15

4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA13  
DA16

4B065 AA71X AA92X AB05 AC14

BA08 CA25 CA46 CA54

|                |  |         |            |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 测量双酚A的方法   |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">JP2002131318A</a>  | 公开(公告)日 | 2002-05-09 |
| 申请号            | JP2000325468   | 申请日     | 2000-10-25 |
| [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         | 白木英行<br>本多秀夫<br>倉野義裕   |         |            |
| 发明人            | 白木 英行<br>本多 秀夫<br>倉野 義裕  |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/53 C12N5/10 C12N15/02 C12P21/08 G01N33/543 G01N33/577   |         |            |
| FI分类号          | G01N33/53.S G01N33/543.551.D G01N33/577.B C12P21/08 C12N5/00.B C12N15/00.C C12N5/00.102 C12N5/20   |         |            |
| F-TERM分类号      | 4B024/AA11 4B024/AA17 4B024/BA53 4B024/GA03 4B024/HA15 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA13 4B064/DA16 4B065/AA71X 4B065/AA92X 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA46 4B065/CA54 |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a>  |         |            |

摘要(译)

解决的问题：提供一种高灵敏度的酶免疫测定方法，该方法取代了使用酶标记双酚A ( BPA ) 来测量BPA的常规方法，该方法需要在测量后进行复杂的处理。 解决方案：通式[化学式1] ( 式中，n为1~5的整数。 ) BPA可以通过使式中表示的酚衍生物和样品中的BPA的酶标记产物与固相抗体竞争性反应的方法来测定。 我可以

