

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-61431

(P2004-61431A)

(43) 公開日 平成16年2月26日(2004.2.26)

(51) Int. Cl.⁷

GO 1 N 33/53
GO 1 N 33/535
// CO 7 K 14/47

F I

GO 1 N 33/53 D
GO 1 N 33/53 U
GO 1 N 33/535
CO 7 K 14/47 Z N A

テーマコード(参考)

4 H O 4 5

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号

特願2002-223588 (P2002-223588)

(22) 出願日

平成14年7月31日(2002.7.31)

(71) 出願人

597096105
株式会社 矢内原研究所
静岡県富士宮市粟倉2480番地の1

(74) 代理人

100068618
弁理士 萼 経夫

(74) 代理人

100093193
弁理士 中村 壽夫

(74) 代理人

100104145
弁理士 宮崎 嘉夫

(74) 代理人

100104385
弁理士 加藤 勉

(72) 発明者

矢内原 千鶴子
静岡県富士宮市粟倉2480番地の1 株式会社矢内原研究所内

最終頁に続く

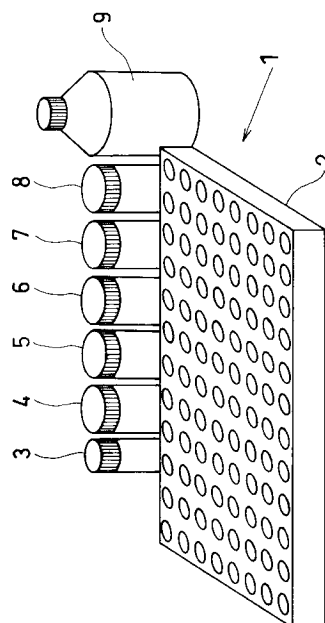
(54) 【発明の名称】 長期間保存可能なヒト・クロモグラニンA測定キット

(57) 【要約】

【課題】長期間保存可能なヒト・クロモグラニンAの測定キットを提供する。

【解決手段】 a) 抗 I g G 抗体を固定化した複数のウェルを有する測定プレート2と、 b) ヒト・クロモグラニンAの344~374残基に相当するアミノ酸配列を有するペプチドを凍結乾燥して得られる標準抗原3と、 c) ヒト・クロモグラニンAの344~374残基に相当するアミノ酸配列のN末端側にビオチニル基および二つのグリシン残基が結合したアミノ酸配列を有するペプチドを凍結乾燥して得られるビオチン標識抗原4、 d) ヒト・クロモグラニンAの344~374残基に相当するアミノ酸配列を有するペプチドを免疫して得られる抗血清から得られる I g G 抗体画分を凍結乾燥して得られる特異抗体5と、 e) ペルオキシダーゼ共役安定保存液で希釈したストレプトアビジン・ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液6と、 f) 発色剤7と、 g) 反応停止液8と、 h) 緩衝液9からなるヒト・クロモグラニンA測定キット1。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) 抗 I g G 抗体を固定化した複数のウェルを有する測定プレートと、

b) アミノ酸配列 (I)

E E E E D N R D S S M K L S F R A R A Y

G F R G P G P Q L R R (I)

を有するペプチドを緩衝液に溶解し、そしてこれを凍結乾燥して得られる標準抗原と、

c) アミノ酸配列 (I I)

ビオチニル - G G E E E E D N R D S S M K L S F

R A R A Y G F R G P G P Q L R R (I I)

を有するペプチドを緩衝液に溶解し、そしてこれを凍結乾燥して得られるビオチン標識抗原と、

d) 前記アミノ酸配列 (I) を有するペプチドを温血動物に免疫して得られる抗血清から I g G 抗体を精製し、該 I g G 抗体画分を緩衝液に溶解し、そしてこれを凍結乾燥して得られる特異抗体と、

e) ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼを緩衝液に溶解し、そしてペルオキシダーゼ共役安定保存液で希釈して得られるストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液と、

f) 発色剤と、

g) 反応停止液と、

h) 緩衝液

からなることを特徴とする、ヒト・クロモグラニン A 測定キット。

【請求項 2】

前記測定プレート a) は、抗体の固定化後に乾燥させられていることを特徴とする、請求項 1 記載のヒト・クロモグラニン A 測定キット。

【請求項 3】

前記特異抗体 d) における I g G 抗体の精製は、プロテイン A 結合多孔性セルロースゲルを充填したカラムで行うことを特徴とする、請求項 1 記載のヒト・クロモグラニン A 測定キット。

【請求項 4】

前記ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液 e) の希釈率は 4 , 0 0 0 ~ 6 , 0 0 0 倍であることを特徴とする、請求項 1 記載のヒト・クロモグラニン A 測定キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ヒト・クロモグラニン A (以下、C g A と表記する。) の測定キットに関する。より詳しくは、ヒト C g A のアミノ酸配列の一部と同一のアミノ酸配列を有するペプチドを用いて、酵素イムノアッセイによりヒト C g A を定量するためのキットに関する。

【0002】

【従来の技術】

C g A は、可溶性の酸性タンパク質であるクロモグラニン類の一種であり、クロム親和性細胞中に見出すことができる。また C g A はカテコールアミンおよびペプチドホルモンを分泌する様々なニューロンおよびパラニューロン中の分泌腺細胞中にも貯蔵されており、内臓への刺激に应答してアドレナリンおよびノルアドレナリンと共に放出される。さらに、激しい運動が血漿中の C g A 濃度を増加させることも知られている。

【0003】

C g A が果たす生体中での機能の詳細については未だ不明な点もあるが、近年、唾液検体中の C g A 濃度が生物のストレスを反映するという知見が得られた。この知見に基づくと、唾液検体中の C g A 濃度を測定することができれば、該測定の結果から生物のストレスの

10

20

30

40

50

状態を簡便に評価できると考えられ、産業の様々な分野での応用が注目されつつある。

【0004】

ヒトCgAの測定方法としては、例えば特開平11-153598号公報に記載のものが挙げられる。該方法は、ヒトCgAのアミノ酸配列のうちの一部、具体的には344～374残基に相当する配列を有するペプチドを抗原としてヒトを除く温血動物に免疫し、産出したヒトCgAに特異的な反応を有する抗体を用いたイムノアッセイからなる。この方法により、ヒトの組織、血液、尿、髄液、唾液等の中に存在するCgAおよびその関連ペプチドを有効に測定および検出することができる。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら該方法を採用した従来の測定系は、その感度、特異性等の面については満足すべきものであったが、抗体、酵素等について煩雑な測定前処理を必要とし、また使用する調製済試薬の安定性が低く、その保存寿命は凡そ2ヶ月程度と短かった。従って、該測定系に基づいて作製された測定キットの市販品は、保存等の面で十分なものとは言えず、ヒトCgA測定キットとしてなお一層の改良が求められていた。

【0006】

従って本発明の目的は、ヒトCgAに対する良好な感度、特異性等を維持しつつ、長期間保存が可能で、長い使用可能期間を有するヒトCgA測定キットを提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者等は上記の要求に鑑み鋭意開発を行った結果、多岐にわたる調剤処理の中から最適なものを選択して、ヒトCgAの344～374残基に相当する配列を有するペプチドを抗原としたヒトCgAの測定系を構築すると、1年またはそれ以上にわたる長期間保存が可能で、使用可能期間の長いヒトCgA測定キットとなり、また該測定キットは、従来の測定系と同等以上の優れた測定性能を有し、かつ使用時の操作も大変簡便であることを見出して本発明を完成させた。

【0008】

従って、本願請求項1に係る発明のヒト・クロモグラニンA測定キットは、

a) 抗IgG抗体を固定化した複数のウェルを有する測定プレートと、

b) アミノ酸配列(I)

EEEEED NRDS S MKLSF RARAY
GFRGP GPQLR R (I)

を有するペプチドを緩衝液に溶解し、そしてこれを凍結乾燥して得られる標準抗原と、

c) アミノ酸配列(II)

ビオチニル-GG EEEEEED NRDS S MKLSF
RARAY GFRGP GPQLR R (II)

を有するペプチドを緩衝液に溶解し、そしてこれを凍結乾燥して得られるビオチン標識抗原と、

d) 前記アミノ酸配列(I)を有するペプチドを温血動物に免疫して得られる抗血清からIgG抗体を精製し、該IgG抗体画分を緩衝液に溶解し、そしてこれを凍結乾燥して得られる特異抗体と、

e) ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼを緩衝液に溶解し、そしてペルオキシダーゼ共役安定保存液で希釈して得られるストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液と、

f) 発色剤と、

g) 反応停止液と、

h) 緩衝液

からなることを特徴とする。

【0009】

本願請求項2に係るヒト・クロモグラニン測定キットは、請求項1記載の測定キットにお

10

20

30

40

50

いて、前記測定プレート a) は、抗体の固定化後に乾燥させられていることを特徴とする。

本発明では、測定プレート a) に乾燥操作を行うことにより、測定の感度が上昇した測定キットとすることができる。

【 0 0 1 0 】

本願請求項 3 に係るヒト・クロモグラニン A 測定キットは、請求項 1 記載の測定キットにおいて、前記特異抗体 d) における I g G 抗体の精製は、プロテイン A 結合多孔性セルロースゲルを充填したカラムで行うことを特徴とする。

本発明では、特異抗体 d) の精製方法を最適なものに変更することにより、測定の感度が上昇した測定キットとすることができる。

10

【 0 0 1 1 】

本願請求項 4 に係るヒト・クロモグラニン A 測定キットは、請求項 1 記載の測定キットにおいて、前記ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液 e) の希釈率は 4 , 0 0 0 ~ 6 , 0 0 0 倍であることを特徴とする。

本発明では、ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液 e) をペルオキシダーゼ共役安定保存液で希釈する際の希釈率を上記の範囲内とすることにより、測定の感度が上昇した測定キットとすることができる。

【 0 0 1 2 】

【 発明の実施の形態 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キット 1 は、図 1 に図示するように、a) 測定プレート 2 と、b) 標準抗原 3 と、c) ビオチン標識抗原 4 と、d) 特異抗体 5 と、e) ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液 6 と、f) 発色剤 7 と、g) 反応停止液 8 と、h) 緩衝液 9 からなる。これらの各キット要素のうち、なかんずくキット要素 a) ~ e) の短い保存寿命が、従来の測定キットの保存寿命が 2 ヶ月程度と短い主な原因であったけれども、詳細には以下に記載する最適な調剤方法を採用することにより、測定キット全体として長期間保存が可能となり、保存寿命は 1 年またはそれ以上とすることができた。

20

【 0 0 1 3 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キット 1 における測定プレート 2 は、複数のウェル、例えば 1 2 x 8 の 9 6 ウェルを有する樹脂製で使い捨て可能な多穴プレートであり、予め抗 I g G 抗体が固定化されている。固定化処理は、先ず始めに緩衝液に溶解させた抗 I g G 抗体を各ウェルに分注し、そして静置してウェル内に抗 I g G 抗体の層を形成して行う。次いでウェル内の上清を捨て、ブロッキング剤を該抗 I g G 抗体層の上に分注し、例えば 4 の低温で静置して抗 I g G 抗体をブロッキングする。さらにウェル内の上清を捨て、スクロース含有緩衝液を各ウェルに分注し、ブロッキング剤の分注の際と同様の低温で静置する。そして好ましくは、最後に上清を捨て、測定プレート 2 の天地を逆転させて乾燥を行う。こうして抗 I g G 抗体を固定化した測定プレートを、例えばアルミ製の袋に密封して測定キット 1 に添付する。

30

【 0 0 1 4 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キット 1 における標準抗原 3 は、ヒト C g A の 3 4 4 ~ 3 7 4 残基に相当する以下のアミノ酸配列 (I)

40

E E E E D N R D S S M K L S F R A R A Y

G F R G P G P Q L R R

(I)

を有するペプチドからなる。標準抗原 3 は緩衝液に溶解させ、小ビンに溶液を分注し、そして小ビン中で凍結乾燥して測定キット 1 に添付する。添付する標準抗原 3 の量は例えば、1 0 0 p m o l / ビンである。測定キット 1 の使用時には、小ビンに緩衝液を加えて溶解させ、溶液として用いる。

【 0 0 1 5 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キット 1 におけるビオチン標識抗原 4 は、ヒト C g A の 3 4 4 ~ 3 7 4 残基に相当するアミノ酸配列の N 末端側にビオチニル基および二つの

50

グリシン残基を結合してなる以下のアミノ酸配列 (I I)

ピオチニル - G G E E E E D N R D S S M K L S F

R A R A Y G F R G P G P Q L R R (I I)

を有するペプチドからなる。ピオチン標識抗原 4 も標準抗原 3 と同様に緩衝液に溶解させ、小ビンに分注し、そして小ビン中で凍結乾燥して測定キット 1 に添付する。測定キット 1 の使用時には、小ビンに蒸留水を加えて溶解させ、溶液として用いる。

【 0 0 1 6 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットにおける特異抗体 5 は、前記アミノ酸配列 (I) を有するペプチドに対する抗血清の I g G 抗体画分を精製して得られる。特異抗体 5 は、アミノ酸配列 (I) を有するペプチドを温血動物に免疫して抗血清を入手して精製し、I g G 抗体画分のみを分別することにより得ることができる。この際、該精製をプロテイン A 結合多孔性セルロースゲルを充填したカラムに抗血清を通すことにより行うと、測定キットの感度を上昇させることができる。こうして得られた該 I g G 画分を緩衝液に溶解させ、小ビンに分注し、小ビン中で凍結乾燥して特異抗体 5 とし、測定キット 1 に添付する。測定キット 1 の使用時には、小ビンに蒸留水を加えて溶解させ、溶液として用いる。

10

【 0 0 1 7 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットにおけるストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ (S A - H R P) 溶液 6 は、先ずストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼを緩衝液に溶解させ、そしてペルオキシダーゼ共役安定保存液により希釈して得られる。希釈率は 4 , 0 0 0 ~ 6 , 0 0 0 倍、例えば 5 , 0 0 0 倍が好ましく、この程度に希釈することにより、測定キット 1 の感度を上昇させることができる。

20

【 0 0 1 8 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットにおける発色剤 7 は例えば、o - フェニレンジアミンの錠剤と、その溶解液としての緩衝液からなる。また毒性を有する o - フェニレンジアミンに代えて、無毒な他の発色剤を用いることも可能である。

【 0 0 1 9 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットにおける反応停止液 8 はイムノアッセイにおける呈色反応を停止させるための薬剤であり、例えば 2 N の硫酸を用いることができ、小ビンに分注して測定キット 1 に添付する。

30

【 0 0 2 0 】

本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットにおける緩衝液 9 は、凍結乾燥されている標準抗原 3、ピオチン標識抗原 4 および特異抗体 5 を使用時に溶解して溶液とするため、また該溶液を希釈するために用いられる緩衝液である。使用時には数倍に希釈して使用する濃縮緩衝液を用いることもできる。

【 0 0 2 1 】

前記の要素 a) ~ h) からなる測定キット 1 は長期間保存が可能であるが、該保存は例えば冷蔵庫 (約 4) 中等の低温環境下で行うことが好ましい。冷蔵庫中での保存は、従来品の 2 ヶ月程度の保存寿命と比較して、1 年またはそれ以上にわたる長い保存寿命を可能にする。

40

【 0 0 2 2 】

【 実施例 】

以下の実施例により本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されることはない。

【 0 0 2 3 】

実施例 1 : ヒト・クロモグラニン A 測定キットの作製

a) 測定プレート、b) 標準抗原、c) ピオチン標識抗原、d) 特異抗体、e) ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液、f) 発色剤、g) 反応停止液、および h) 緩衝液を以下のように調製し、本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットを

50

得た。

a) 測定プレート

96ウェルプレート (MaxiSorp Nunc社製) の各ウェルに0.01Mリン酸緩衝液で200倍に希釈したヤギ抗ウサギIgG抗体 (ICN/CAPPEL社製) を100 μ Lずつ分注した。25 $^{\circ}$ Cで20時間静置した後、上清を捨て、蒸留水で4倍に希釈したブロッキング剤 (商品名: ブロックエース、大日本製薬株式会社製) を各ウェルに350 μ Lずつ分注した。4 $^{\circ}$ Cで2日間静置した後、上清を捨て、3%スクロース含有緩衝液を各ウェルに200 μ Lずつ分注した。4 $^{\circ}$ Cで2日間静置した後、上清を捨て、プレートを転倒させて3日間乾燥させた。得られた抗体固定化プレートをアルミ製の袋に密封し、測定プレートとした。

10

b) 標準抗原

ヒトCgAの344~374残基に相当するアミノ酸配列 (前記アミノ酸配列 (I)) を有するペプチドを合成し、該合成ペプチドをリン酸緩衝液に溶解して4 μ mol/mLの溶液を調製した。該溶液を25 μ Lずつ小ビンに分注して凍結乾燥し、100 μ mol/ビンの標準抗原とした。

c) ビオチン標識抗原

ヒトCgAの344~374残基に相当するアミノ酸配列のN末端側にビオチニル基および二つのグリシン残基が結合したアミノ酸配列 (前記アミノ酸配列 (II)) を有するペプチドを合成し、該合成ペプチドをリン酸緩衝液に溶解して30ng/mLの溶液を調製した。該溶液を1mLずつ小ビンに分注して凍結乾燥しビオチン標識抗原とした。

20

d) 特異抗体

ヒトCgAの344~374残基に相当するアミノ酸配列 (前記アミノ酸配列 (I)) を有するペプチドを合成し、該合成ペプチドを抗原としてウサギに免疫して得られた血清 (ウサギ抗ヒトCgA (344~374) 血清RY76、株式会社矢内原研究所製) を、staphylococcus aureus由来のプロテインAを結合させた多孔性セルロースゲル (商品名: プロテインA-セルロファイン、チッソ株式会社製) を充填したカラムに通して精製し、IgG抗体をセルロースゲルに吸着させた。次いで該カラムに0.1Mクエン酸緩衝液 (pH4.0) を通し、IgG抗体を溶離させ、得られたIgG抗体画分を限外濾過により濃縮して精製前と等量とし、その後リン酸緩衝液で4倍に希釈した。こうして得られたIgG抗体画分を3mLずつ小ビンに分注して凍結乾燥し特異抗体とした。

30

e) ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液

ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ (Oncogene社製) を1mLのリン酸緩衝液に溶解させ、さらにペルオキシダーゼ共役安定保存液 (商品名: Guardian, Pierce社製) で5,000倍に希釈した。該溶液を12mLずつ小ビンに分注してストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液とした。

f) 発色剤

10mgのo-フェニレンジアミン錠剤を用意し、該錠剤のための溶解液として0.015%の過酸化水素水を含む0.1Mリン酸ナトリウム-クエン酸緩衝液を13mLずつ小ビンに分注して発色剤とした。

40

g) 反応停止液

2N硫酸を12mLずつ小ビンに分注して酵素の反応停止液とした。

h) 緩衝液

4倍に希釈することにより、0.5%のウシ血清アルブミン、0.025MのEDTAおよび0.15MのNaClを含有する0.01Mリン酸緩衝液 (pH7.4) を生成し得る濃縮緩衝液を小ビンに12mLずつ分注し緩衝液とした。

【0024】

実施例2: ヒト・クロモグラニンAの測定

実施例1で作製した測定キットを用いて、以下の手順に従いヒト・クロモグラニンAを定

50

量した。

1) 希釈標準抗原溶液の調製

標準抗原 b) を 4 倍に希釈した緩衝液 h) 1 mL に溶解させ、標準抗原溶液を作製した。この標準抗原溶液 0.1 mL と該希釈緩衝液 0.2 mL とを混合し、33.33 pmol/mL の希釈標準抗原溶液を得た。さらにこの溶液について同様の 3 倍希釈の操作を 6 回繰り返し、11.11、3.70、1.23、0.41、0.14、0.05 pmol/mL の希釈標準抗原溶液を得た。また 0 pmol/mL の希釈標準抗原溶液として、希釈緩衝液をそのまま使用した。

2) 測定プレートの前処理

測定プレート a) を 0.05% の Tween 20 および 0.9% の NaCl を含有する生理食塩水で 3 回洗浄した。 10

3) 抗体反応

前処理した測定プレートの各ウェルに、4 倍に希釈した緩衝液 h) 50 μ L、希釈標準抗原溶液または検体 25 μ L、ビオチン標識抗原 c) を蒸留水 6 mL に溶解させて得たビオチン標識抗原溶液 50 μ L、および特異抗体 d) を蒸留水 12 mL に溶解させて得た特異抗体溶液 100 μ L を順に分注し、25 で一晩 (16 ~ 20 時間) 静置した。

4) ヒト・クロモグラニン A の定量

抗体反応の完了後、測定プレートを前記生理食塩水で 3 回洗浄し、次いでストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液 100 μ L を各ウェルに分注し、室温で 2 時間プレート振盪機を用いて混和した。その後、測定プレートを前記生理食塩水で 4 回 20 洗浄し、溶解液 12 mL に o - フェニレンジアミン錠剤を溶解させて得た発色剤 f) 100 μ L を各ウェルに分注し、室温で 30 分間静置した。30 分経過後、反応停止液 g) 100 μ L を各ウェルに分注した。こうして処理した測定プレートについてプレートリーダーにより波長 492 nm での吸光度を測定した。希釈標準抗原溶液についての測定値より検量線を作成し、そして該検量線に基づいて検体中のヒト・クロモグラニン A の量を定量した。

【0025】

実施例 3 : 測定キットの保存寿命の評価

A) 冷蔵庫中で 1 年間保存した測定キット、B) 冷蔵庫中で 2 ヶ月間保存した測定キット、および作製直後の測定キット C) についてそれぞれ、実施例 2 と同様にして、希釈標準 30 抗原溶液中のヒト・クロモグラニン A の濃度を測定した。測定結果を図 2 に図示する。図 2 から明らかなように、1 年間保存した測定キット (上段) は、2 ヶ月間保存した測定キット (中段) および作製直後の測定キット (下段) とほとんど変わらない検量線を示し、この結果は測定キットの長期間にわたる安定な保存が可能となったことを表す。

【0026】

【発明の効果】

本発明によれば、標準抗原、ビオチン標識抗原および特異抗体の調剤方法並びにストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼの希釈液について、多岐にわたる選択肢の中から特定のものを選択・採用したことにより、長期間保存が可能で、使用可能期間の長いヒト・クロモグラニン A 測定キットを提供できる。また、測定プレートの乾燥操作 40、特異抗体の精製操作、およびストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼの希釈率を最適化することにより、測定の感度を上昇させることもできる。従って、本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットは、組織、血液、尿、髄液、唾液等の生物検体中の CgA の簡便な定量により、生物の様々な状態を評価する手段として有効である。

【図面の簡単な説明】

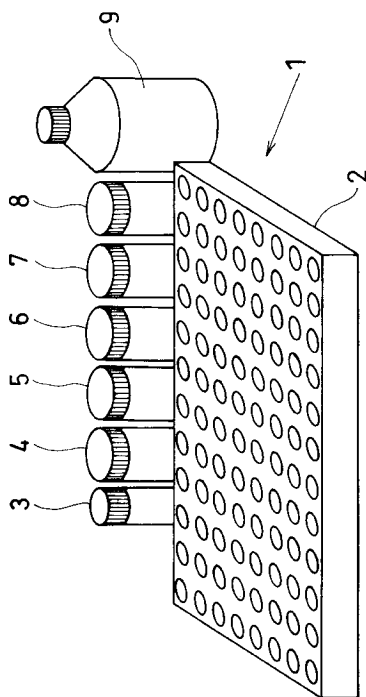
【図 1】図 1 は、本発明のヒト・クロモグラニン A 測定キットの斜視図である。

【図 2】図 2 は、A) 1 年間保存した測定キット、B) 2 ヶ月間保存した測定キット、および作製直後の測定キット C) を用いたヒト・クロモグラニン A の測定結果を図示するグラフである。

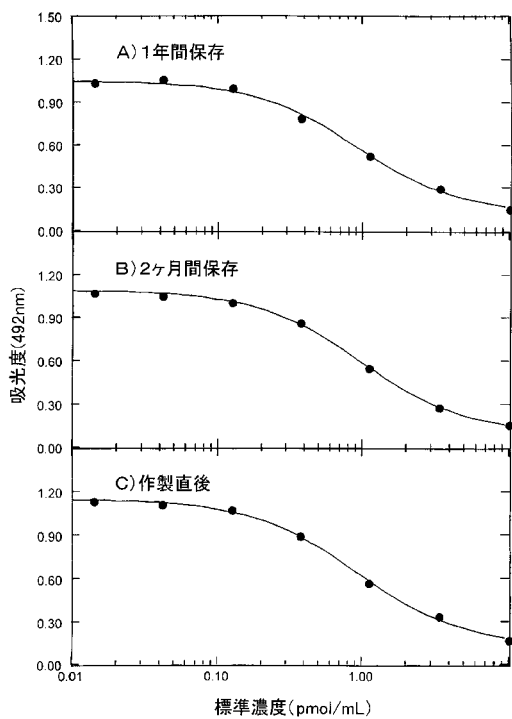
【符号の説明】

- 1 測定キット
- 2 測定プレート
- 3 標準抗原
- 4 ビオチン標識抗原
- 5 特異抗体
- 6 ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ溶液
- 7 発色剤
- 8 反応停止液
- 9 緩衝液

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(72)発明者 長澤 晋吾

静岡県富士宮市粟倉 2 4 8 0 番地の 1 株式会社矢内原研究所内

Fターム(参考) 4H045 AA30 BA18 CA40 DA75 DA86 EA50

专利名称(译)	Human Chromogranin一种可以长期保存的测量套件		
公开(公告)号	JP2004061431A	公开(公告)日	2004-02-26
申请号	JP2002223588	申请日	2002-07-31
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社 矢内原研究所		
申请(专利权)人(译)	株式会社 矢内原研究所		
[标]发明人	矢内原千鶴子 長澤晋吾		
发明人	矢内原 千鶴子 長澤 晋吾		
IPC分类号	G01N33/53 C07K14/47 G01N33/535		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/53.U G01N33/535 C07K14/47.ZNA		
F-TERM分类号	4H045/AA30 4H045/BA18 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA50		
代理人(译)	加藤 勉		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供一种可长期保存的人类嗜铬粒蛋白A的测定试剂盒。
 解决方案：通过冻干a) 具有多个固定有抗IgG抗体的孔的测量板2和b) 具有与人嗜铬粒蛋白A的第344至374位残基相对应的氨基酸序列的肽，将其冻干而获得。通过冷冻干燥标准抗原3和c) 获得具有氨基酸序列的肽，其中生物素基和两个甘氨酸残基连接到氨基酸序列的N端侧，对应于人嗜铬粒蛋白A的344至374残基。生物素标记的抗原4, d) 通过冻干从抗血清获得的IgG抗体部分而获得的特异性抗体5，该抗血清是通过对具有对应于人嗜铬粒蛋白A 5的残基344至374的氨基酸序列的肽进行免疫获得的 由e) 用过氧化物酶结合的的稳定储备液稀释的链霉亲和素-辣根过氧化物酶溶液6, f) 成色剂7, g) 反应终止溶液8和h) 缓冲溶液9。
 Granin A测量套件1。[选型图]图1

