

(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2010-513917

(P2010-513917A)

(43) 公表日 平成22年4月30日 (2010.4.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 K	2 GO 4 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2009-542399 (P2009-542399) (86) (22) 出願日 平成18年12月22日 (2006.12.22) (85) 翻訳文提出日 平成21年8月19日 (2009.8.19) (86) 国際出願番号 PCT/IT2006/000872 (87) 国際公開番号 W02008/078344 (87) 国際公開日 平成20年7月3日 (2008.7.3)	(71) 出願人 504312771 ヒューマニタス・ミラソーレ・エス.ピー. .エー. イタリア国、ミラノ、アイー20089 ロッツアーノ、ピア・マンツォニ 56 (74) 代理人 100058479 弁理士 鈴江 武彦 (74) 代理人 100108855 弁理士 蔵田 昌俊 (74) 代理人 100091351 弁理士 河野 哲 (74) 代理人 100088683 弁理士 中村 誠 (74) 代理人 100109830 弁理士 福原 淑弘
---	---

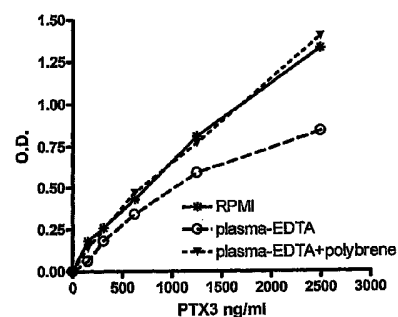
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ロングペントラキシンPTX3の血漿レベルを測定するための方法

(57) 【要約】

本発明は、生物学的流体、とりわけヒトまたは動物の血漿中のPTX3を測定するための方法に関する。とりわけ、本発明は、ヒトまたは動物由来の血漿サンプルにおけるPTX3レベルを測定するための方法であって、前記血漿サンプルを赤血球凝集剤で処理する工程と、その後にPTX3の血漿レベルを測定する工程とを含む方法に関する。

Standard Plots of PTX3 in plasma -EDTA with and without polybrene



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトまたは動物由来の血漿サンプルにおけるPTX3レベルを測定するための方法であって、前記血漿サンプルを赤血球凝集剤で処理する工程と、その後PTX3の血漿レベルを測定する工程とを含む方法。

【請求項 2】

前記赤血球凝集剤が陽イオン媒体である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記陽イオン媒体が第四級アンモニウム塩である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記赤血球凝集剤が、一または複数の第四級アンモニウム基を含有する陽イオンポリマーである、請求項 1 ~ 3 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記陽イオンポリマーが1,5-ジメチル-1,5-ジアザウンデカメチレンポリメトブロマイドである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記血漿が、 Ca^{++} - キレート抗凝固剤で処理された血漿である、請求項 1 ~ 5 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 Ca^{++} - キレート抗凝固剤が、EDTAおよびクエン酸の塩から選択される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記赤血球凝集剤が、サンプルの重量に対して0.01~0.3重量%からなる最終濃度まで血漿に添加される、請求項 1 ~ 7 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記凝集剤の最終濃度が、サンプルの重量に対して0.02~0.1重量%、好ましくは約0.5重量%からなる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記凝集剤が、 Ca^{++} および Mg^{++} フリーPBS中の2.5%溶液として、血漿1 mlに対して4~120 μl からなる量で添加される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

前記凝集剤が、 Ca^{++} および Mg^{++} フリーPBS中の2.5%溶液として、血漿1 mlに対して8~40 μl 、好ましくは約20 μl からなる量で添加される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記赤血球凝集剤で処理された前記血漿サンプルが、PTX3の血漿レベルを測定する前記工程の前に、室温で10~20分間、好ましくは約15分間静置される、請求項 1 ~ 11 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

PTX3の血漿レベルを測定する前記工程が免疫測定法により行われ、i) 血漿サンプルをPTX3に対するモノクローナルおよび/またはポリクローナル抗体に晒す工程とii) 特異的な抗原/抗体結合を測定する工程とを含む、請求項 1 ~ 12 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記特異的な抗原/抗体結合の測定が、IRMA(免疫放射定量測定法)、EIA(酵素免疫測定法)、ELISA(固相酵素免疫測定法)、FIA(蛍光免疫測定法)、CLIA(化学発光免疫測定法)から選択される方法により行われる、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記免疫測定法が、ラットのモノクローナル抗体MNB4(IgG2a)および抗-PTX3ウサギポリクローナル抗体(ビオチン化IgG)を使用したELISAタイプのアッセイである、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

10

20

30

40

50

心臓血管および脳血管の疾患の予後を決定するための方法であって、請求項 1 ~ 15 の何れか 1 項に記載の方法に従ってヒトまたは動物の血漿サンプルにおける PTX3 のレベルを測定する工程と、ここで測定された PTX3 血漿レベルを基準値と比較する工程とを含み、前記基準値より高い PTX3 の血漿レベルが、心筋梗塞後の死亡率もしくは心臓の代償不全、または脳卒中後の死亡率もしくは合併症のリスク増大の指標である、方法。

【請求項 17】

前記 PTX3 基準値が、健康な個体で測定され得る PTX3 の血漿レベルに相当する、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記 PTX3 基準値が、2 ng/ml、好ましくは 5 ng/ml PTX3 に相当する、請求項 16 または 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記血漿サンプルが、サンプル回収の 8 ~ 12 時間前に心筋梗塞を経験したか、あるいはサンプル回収の約 24 時間前に脳卒中を経験した患者に由来する、請求項 16 ~ 18 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

血漿サンプルにおける PTX3 の血漿レベルを決定するためのキットであって、抗 - PTX3 モノクローナルおよび/またはポリクローナル抗体および赤血球凝集剤を所定の量および濃度で含むキット。

【請求項 21】

前記抗体が、ラットのものクローナル抗体 MNB4 (IgG2a) およびウサギのポリクローナル抗体 (ビオチン化 IgG) である、請求項 20 に記載のキット。

【請求項 22】

前記赤血球凝集剤が、請求項 2 ~ 5 の何れか 1 項に規定されるものである、請求項 20 または 21 に記載のキット。

【請求項 23】

組換えヒト PTX3、検出試薬、緩衝液、希釈剤、安定剤から選択される一または複数の構成成分を、一緒の容器または別々の容器に含む、請求項 20 ~ 22 の何れか 1 項に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【発明の概要】

【0001】

本発明は、生物学的流体、とりわけヒトまたは動物の血漿中の PTX3 を測定するための方法に関する。

【0002】

ロング (long) ペントラキシン PTX3 は、ペントラキシンファミリーに属するタンパク質であり、心臓血管疾患に罹患した個体における死亡リスクの早期診断に有用な生物学的マーカーである。ペントラキシンは、ペントラマーを形成する能力のためにこのように呼ばれ、炎症メディエーターに応答して肝臓により産生される C - 反応性タンパク質 (CRP) および血清アミロイド P (SAP) を含む一群のタンパク質である。CRP および SAP は、最も典型的な急性期タンパク質であると考えられ、その循環レベルは、炎症、感染および組織損傷の間に上昇する。PTX3 は、このファミリーの新規メンバーであり、インターロイキン - 1 で刺激された内皮細胞からクローニングされた。この分子は、二つの構造ドメイン、すなわち公知タンパク質の何れに対しても相同性を有していない N - 末端、および CRP および SAP などのショート (short) ペントラキシンと類似している C - 末端により構成される。主な産生部位が肝臓であるショートペントラキシンの状況に対して、PTX3 は、炎症後タンパク質、たとえば IL-1 および TNF および細菌産物に応答して、種々の細胞タイプ、とりわけ内皮細胞、単球 - マクロファージ、および樹状細胞により産生される。従来の研究により、PTX3 の循環レベルは、急性または慢性の炎症性疾患、たとえば敗血症および心筋梗塞に罹患した患者において上昇することが示されている。とりわけ、本発明の起案者は

10

20

30

40

50

、心筋梗塞の37人の患者に臨床試験を行い、PTX3のレベルは、冠動脈血栓症ユニット (coronary unit) への入院から7.5時間後に6.94 ng/ml $\pm$ 11.26のピークに達するのに対し、CRPのピークは、入院 (admission) から24時間後にみられることを観察した。近年、ずっと広範な研究 (心筋梗塞の724人の患者) において、梗塞から1日後のPTX3の上昇レベルは、死亡リスクの増大または梗塞後の最初の3ヶ月における心不全の発症と関連することが示されている。PTX3は、血中に存在する分子、たとえばCRP、および線維芽細胞増殖因子-2の両方に結合する。

【0003】

PTX3が血中に存在する分子に結合する能力に関するこれら最新の観察は、今日までに直面しているPTX3の循環レベルの測定に伴う困難の原因であるかもしれない。実際、US特許公報US 2004137544は、PTX3の血漿レベルを測定するための方法を記載するが、これは、重大な欠点を有する。実際、前述の方法を適用すると、血清PTX3の値は、平均して、EDTA-血漿で測定された値の半分であり、前述の違ひは、必ずしも一定ではないが、被検体ごとに変化する。更に、血清について、その値は、時間の経過後、および1回または2回の凍結-融解サイクル後に再現可能であるが、EDTA-血漿またはクエン酸塩-血漿において、その値は、通常、時間の経過とともに、および凍結-融解を繰り返した後に、増大する傾向がある。また、血清およびEDTA-血漿もしくはクエン酸塩-血漿の両方において、上記エレメントにおけるPTX3の標準曲線の追加で、RPMI 1640メディウム+2%ウシ血清アルブミン (BSA) もしくはPBS+2% BSAの溶液中の同一濃度のPTX3を用いて同一の光学密度 (O.D.) 値を得ることができないという点で、測定を阻害する因子が存在することが観察された。

10

20

【0004】

よって、試験中のサンプルに存在する全てのPTX3の測定を可能にし、これにより偽陰性の測定を回避する、PTX3の血漿レベルを測定するための方法を提供するニーズがある。

【0005】

このニーズは、本願の説明に不可欠な部分を形成する添付の特許請求の範囲に規定される、体液中のロングペントラキシンPTX3を測定するための方法により満足される。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1】図1は、凝集剤 (ポリブレン (登録商標)) を添加したEDTA-血漿および凝集剤 (ポリブレン (登録商標)) を添加していないEDTA-血漿中のPTX3レベルを示すヒストグラムである。

30

【図2】図2は、直後および4で24時間後に測定された凝集剤 (ポリブレン (登録商標)) を補充したEDTA-血漿中のPTX3レベルを示すヒストグラムである。

【図3】図3は、凝集剤 (ポリブレン (登録商標)) を含むEDTA-血漿および凝集剤 (ポリブレン (登録商標)) を含まないEDTA-血漿中のPTX3の標準曲線を表すグラフである。

【図4】図4は、1回、2回および3回の凍結-融解サイクル後の、凝集剤 (ポリブレン (登録商標)) を補充したEDTA-血漿中のPTX3レベルを示すヒストグラムである。

【発明を実施するための形態】

【0007】

本発明は、陽イオンポリマー、とりわけ商標名ポリブレン (登録商標) で知られているポリマーのEDTA-血漿への添加が、図1に示されるとおり、ポリブレン (登録商標) を添加していない同一のEDTA-血漿サンプルで観察されるPTX3レベルに対して、より高いPTX3レベルの測定を可能にすることが観察されたことに基く。更に、図2のヒストグラムは、融解の直後または4で24時間後に融解されたサンプルから得られたPTX3値が、陽イオンポリマーを添加していないEDTA-血漿サンプルで予め観察されたPTX3値と比べて、有意な差を示さないことを明らかに示す。

40

【0008】

上記観察を考慮して、本発明の方法を用いてPTX3測定の信頼性を実証するために更なる実験を行った。実際、図3は、RPMI + 2% BSA中のPTX3の標準溶液における血漿PTX3レベ

50

ルに対してプロットされた、ポリブレン（登録商標）を含むEDTA - 血漿およびポリブレン（登録商標）を含まないEDTA - 血漿における、光学密度（O.D.）値を報告するグラフを示す。このグラフから観察されるとおり、標準量のPTX3を混ぜた、ポリブレン（登録商標）を含むEDTA - 血漿サンプルの曲線は、PTX3標準溶液の曲線と実際にオーバーラップするが、同量のPTX3標準を補充した、ポリブレン（登録商標）を含まないEDTA - 血漿サンプルは、全く異なる傾向を示す。この実験は、EDTA - 血漿サンプルへの陽イオンポリマーの添加が、サンプルに存在する全てのPTX3の測定を可能にし、これにより当該タンパク質の正確なレベルの測定を可能にすることを証明する。逆に、普通のEDTA - 血漿サンプルに存在するPTX3のレベルの測定は、下向きにゆがみ、結果として、反対に高レベルのPTX3を含有する血液サンプルにおいて偽陰性を測定するリスクがある。

10

【0009】

その結果、図4は、1回、2回および3回の凍結 - 融解サイクル後の、ポリブレン（登録商標）を補充したEDTA - 血漿サンプルで測定されたPTX3レベルを表すヒストグラムを示す。PTX3レベルは、おそらくPTX3の分子が、血漿中で金属封鎖性（sequestering）相互作用に晒されないという事実のおかげで、挙げられた3つのケースで変化しないことが観察され得る。

【0010】

特定の理論にとらわれないが、観察される効果は、陽イオンポリマーが、PTX3分子と血漿の構成成分、たとえば赤血球またはclqタンパク質などの血液タンパク質との間の相互作用を破壊し、このため、かかる相互作用を受けないPTX3は、完全に測定することができるという事実によるものである。また、論理的可能性に関して、観察される効果は、陽イオンポリマーの非特異的で可逆的な赤血球凝集活性と幾らか相関関係を有していると仮説を立てることができる。

20

【0011】

従って、本発明の対象は、ヒトまたは動物由来の血漿サンプルにおけるPTX3レベルを測定するための方法であって、前記血漿サンプルを赤血球凝集剤で処理する工程を含む方法である。

【0012】

好ましくは、前記血漿サンプルはヒトの血漿である。

【0013】

好ましくは、前記凝集剤は、陽イオン媒体、より好ましくは第四級アンモニウム塩である。本発明の特に好ましい態様において、前記凝集剤は、一または複数の第四級アンモニウム基を含む陽イオンポリマーである。更に好ましくは、前記陽イオンポリマーは、1,5-ジメチル-1,5-ジアザウンデカメチレンポリメトブロマイドであり、これは、ヘキサジメトリンブロマイドの名称でも知られ、商標名ポリブレン（登録商標）でSigma-Aldrichにより販売されている。

30

【0014】

本発明の方法に従って、 Ca^{++} - キレート効果を有する抗凝固剤、好ましくはEDTA（エチレンジアミンテトラ酢酸）またはクエン酸の塩、たとえばクエン酸ナトリウムで処理され、その後、遠心分離された血漿（これ以降、“キレート剤 - 血漿”と称される）に、サンプルの重量に対して0.01~0.3重量%からなる最終濃度まで凝集剤を補充する。好ましくは、凝集剤の最終濃度は、0.02~0.1重量%、より好ましくは約0.5重量%からなる。前記濃度は、 Ca^{++} および Mg^{++} フリーPBS中の凝集剤の2.5%溶液を、キレート剤 - 血漿1mlに対して4~120 μl 、好ましくは8~40 μl 、より好ましくは約20 μl 添加することにより達成され得る。

40

【0015】

好ましくは、凝集剤で処理されたキレート剤 - 血漿サンプルは、PTX3のレベルを測定する前に、室温で10~20分間、より好ましくは約15分間静置される。

【0016】

その後、本発明の凝集剤で処理されたキレート剤 - 血漿サンプルは、標準的な免疫測定

50

法の技術を受ける。本発明による典型的な免疫測定法は、i) 処理済みのキレート剤 - 血漿サンプルをPTX3に対するモノクローナルまたはポリクローナル抗体、好ましくはモノクローナル抗体に晒す工程とii) 特異的な抗原/抗体結合を測定する工程とを含む。

【0017】

抗原/抗体結合は、ラジオアイソトープ法または非ラジオアイソトープ法を用いて測定され得る。たとえば、これらには、IRMA (免疫放射定量測定法)、EIA (酵素免疫測定法)、ELISA (固相酵素免疫測定法)、FIA (蛍光免疫測定法)、およびCLIA (化学発光免疫測定法) の技術が含まれる。この方法は、検出手段の使用、たとえば放射性核種ラベル、酵素、補酵素、蛍光団、化学発光剤、クロモゲン、基質、酵素補因子または阻害剤、フリーラジカル、色素の産生などを想定する。

10

【0018】

好ましい態様において、免疫測定法は、ELISAタイプのアッセイであり、100 pg/ml未満の感度でPTX3に特異的に結合することが可能なラットのモノクローナル抗体MNB4 (IgG2a)、およびウサギ抗 - PTX3ポリクローナル抗体 (ビオチン化IgG) の使用を想定する。

【0019】

以下の実施例は、ELISAアッセイに従ってヒト血漿サンプル中のPTX3を測定するための典型的な方法を記載する。使用される血漿サンプルは、サンプル中のポリブレン (登録商標) 最終濃度が0.05重量%となるように、血漿1 mlに対して、Ca++およびMg++フリーPBS中のポリブレン (登録商標) の2.5%溶液20 µlで処理されたキレート剤 - 血漿サンプルである。

20

【実施例】

【0020】

96ウェルELISAプレートを、pH 9.6の15 mM炭酸緩衝液中700 ng/mlの濃度のMNB4モノクローナル抗体100 µlで被覆し、その後、4℃で一晩インキュベートした。モノクローナル抗体は、組換えPTX3で免疫処置したマウス由来の脾臓細胞とマウス骨髄腫細胞株SP2/0との融合により得た。

【0021】

その後、プレートを洗浄緩衝液 (PBS + 0.005% Tween20) で3回洗浄し (300 µl/ウェル)、次いで、非特異的な結合部位をブロックするために、5%ドライミルクパウダーを含む300 µlの洗浄緩衝液を各ウェルに添加した。

30

【0022】

室温で2時間インキュベートした後、プレートを300 µlの洗浄緩衝液で3回洗浄した。

【0023】

各ウェルに、50 µlの組換えヒトPTX3スタンダード (1.2 ng/ml ~ 75 pg/mlの間の2倍の連続希釈液) およびEDTA - 血漿サンプルを添加し、上述のとおり処理し、他のウェルに添加されたPBS + 2% BSA中で2倍に希釈し、プレートを37℃で2時間インキュベートした。

【0024】

その後、プレートを洗浄緩衝液で5回洗浄し、次いで、洗浄緩衝液中の100 µlのウサギ抗 - PTX3ビオチン化IgG (25 ng/ml) を各ウェルに添加した。

40

【0025】

37℃で1時間インキュベートした後、プレートを300 µlの洗浄緩衝液で5回洗浄した。

【0026】

100 µlのAmdex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コンジュゲート (RPN 4401 Amersham) を、1 ~ 8000に希釈して各ウェルに添加し、プレートを室温で1時間インキュベートした。

【0027】

プレートを洗浄緩衝液で5回洗浄した後、100 µlのTMB (テトラメチルベンジジン) を各ウェルに添加し、プレートを室温で5分間インキュベートした。酵素反応を、50 µlの1 M H2SO4溶液の添加により終結させ、その後、反応の終結から30分以内に、450 nmにおける吸光度を讀取った。

50

【 0 0 2 8 】

§ § §

本発明の更なる対象は、心臓血管および脳血管の疾患の予後を決定するための方法であって、上述の方法に従ってヒトまたは動物、好ましくヒトの血漿サンプルにおけるPTX3のレベルを測定する工程と、ここで測定されたPTX3血漿レベルを基準値と比較する工程とを含み、前記基準値より高いPTX3の血漿レベルが、心筋梗塞後の死亡率もしくは心臓の代償不全、または脳卒中後の死亡もしくは合併症のリスク増大の指標である方法である。

【 0 0 2 9 】

とりわけ、前記PTX3基準値は、健康な個体で測定され得る血漿PTX3のレベルに相当し、好ましくは2 ng/ml、より好ましくは5 ng/ml PTX3に相当する。

10

【 0 0 3 0 】

より好ましくは、前記血漿サンプルは、サンプル回収の8～12時間前に心筋梗塞を経験したか、あるいはサンプル回収の約24時間前に脳卒中を経験した患者に由来するサンプルである。

【 0 0 3 1 】

抗 - PTX3モノクローナルおよびポリクローナル抗体および赤血球凝集剤を所定の量および濃度で含むキットは、本発明の更なる対象を構成する。

【 0 0 3 2 】

好ましくは、前記抗体は、ラットのモノクローナル抗体MNB4 (IgG2a) およびウサギのポリクローナル抗体 (ビオチン化IgG) である。

20

【 0 0 3 3 】

好ましくは、前記凝集剤は、上記で規定されるものから選択され、とりわけ1,5-ジメチル-1,5-ジアザウンデカメチレンポリメトプロマイドである。

【 0 0 3 4 】

必要に応じて、本発明のキットは、組換えヒトPTX3、検出試薬、緩衝液、希釈剤、安定剤、および免疫測定法の実施に有用な他の試薬を、一緒の容器または別々の容器に含んでもよい。

【 0 0 3 5 】

本発明の方法は、血漿サンプルにおいて正確かつ信頼性の高いPTX3の測定を提供し、偽陰性を回避するという利点を有する。

30

【 0 0 3 6 】

本発明の方法は、更に、試験中の血漿サンプルにおいてPTX3を安定化させ、これにより凍結 - 融解サイクルを繰り返した後でも、正確なレベルを提供することを可能にする。

【 0 0 3 7 】

本発明の更なる利点は、従来の方方法に対して、クレームされるアッセイ方法が、EDTA - 血漿またはクエン酸塩 - 血漿サンプルで同様に、同じ信頼度で、血漿PTX3レベルの測定を可能にすることである。

【図 1】

図 1

10人のドナーにおけるポリブレンを含む血漿-EDTA
およびポリブレンを含まない血漿-EDTA中のPTX3のレベル

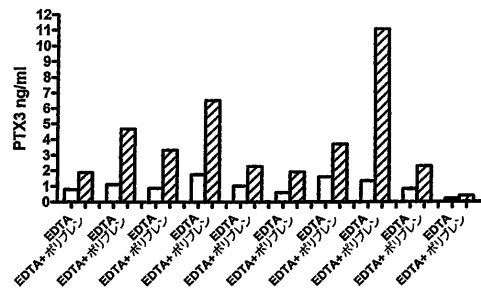


FIG.1

【図 3】

図 3

ポリブレンを含む血漿-EDTAおよびポリブレンを
含まない血漿-EDTA中のPTX3の標準プロット

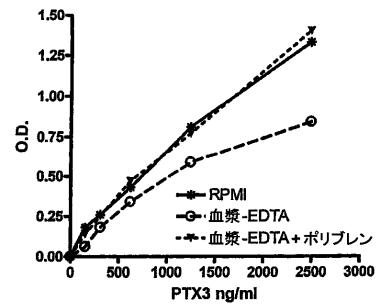


FIG.3

【図 2】

図 2

直後および4°Cで24時間後に測定された
血漿-EDTA+ポリブレン中のPTX3のレベル

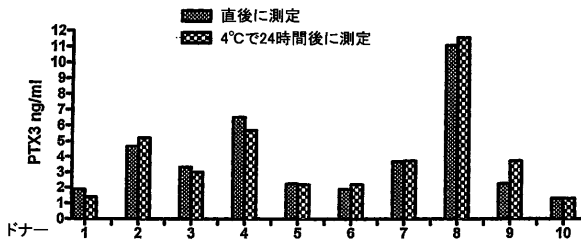
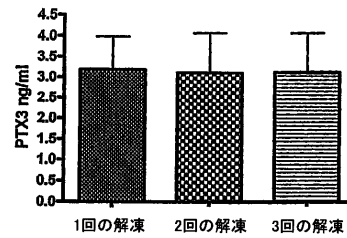


FIG.2

【図 4】

図 4

1回、2回および3回の解凍後の
血漿-EDTA+ポリブレン中のPTX3のレベル



データは6人のドナーの中央値±S.D.を表す

FIG.4

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2006/000872

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/68 G01N33/50		
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, EMBASE, BIOSIS, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	INOUE KENJI ET AL: "Establishment of a high sensitivity plasma assay for human pentraxin3 as a marker for unstable angina pectoris." ARTERIOSCLEROSIS, THROMBOSIS, AND VASCULAR BIOLOGY JAN 2007, vol. 27, no. 1, January 2007 (2007-01), pages 161-167, XP009084262 ISSN: 1524-4636 the whole document	1-23
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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		Date of mailing of the international search report
30 May 2007		14/06/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Pilch, Bartosz

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2006)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2006/000872

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LATINI ROBERTO ET AL: "Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction." CIRCULATION 19 OCT 2004, vol. 110, no. 16, 19 October 2004 (2004-10-19), pages 2349-2354, XP002435282 ISSN: 1524-4539 the whole document	1-23
A	US 2004/137544 A1 (LATINI ROBERTO [IT] ET AL) 15 July 2004 (2004-07-15) claims 1-10	1-23
A	GB 1 325 043 A (GREENSPAN D J) 1 August 1973 (1973-08-01) the whole document	1-23
A	WO 94/24555 A (ACTIMED LAB INC [US]) 27 October 1994 (1994-10-27) claims 1-15	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IT2006/000872

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004137544 A1	15-07-2004	US 2006286617 A1	21-12-2006
GB 1325043 A	01-08-1973	DE 2038722 A1	18-02-1971
		FR 2056591 A5	14-05-1971
WO 9424555 A	27-10-1994	AU 6708694 A	08-11-1994
		US 5652148 A	29-07-1997

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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, 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, LV, LY, MA, MD, 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 100075672

弁理士 峰 隆司

(74)代理人 100095441

弁理士 白根 俊郎

(74)代理人 100084618

弁理士 村松 貞男

(74)代理人 100103034

弁理士 野河 信久

(74)代理人 100140176

弁理士 砂川 克

(74)代理人 100100952

弁理士 風間 鉄也

(72)発明者 マントバーニ、アルベルト

イタリア国、アイ - 2 0 0 8 9 ロッツアーノ(ミラノ)、ピア・マンツォニ 56、ヒューマニタス・ミラソーレ・エス・ピー・エー・気付

(72)発明者 ペリ、ジュゼッペ

イタリア国、アイ - 2 0 0 8 9 ロッツアーノ(ミラノ)、ピア・マンツォニ 56、ヒューマニタス・ミラソーレ・エス・ピー・エー・気付

(72)発明者 パスクアリーニ、ファビオ

イタリア国、アイ - 2 0 0 8 9 ロッツアーノ(ミラノ)、ピア・マンツォニ 56、ヒューマニタス・ミラソーレ・エス・ピー・エー・気付

Fターム(参考) 2G045 AA13 AA25 BB38 CA26 DA36 FB03

专利名称(译)	测量Long Pen Traxin PTX3血浆水平的方法		
公开(公告)号	JP2010513917A	公开(公告)日	2010-04-30
申请号	JP2009542399	申请日	2006-12-22
[标]申请(专利权)人(译)	仁爱米拉索莱有限公司		
申请(专利权)人(译)	Hyumanitasu-Mirasore上课.复制.呃.		
[标]发明人	マントバーニアルベルト ペリジュゼッペ パスクアリーニファビオ		
发明人	マントバーニ、アルベルト ペリ、ジュゼッペ パスクアリーニ、ファビオ		
IPC分类号	G01N33/48 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N33/5002 G01N2333/71 G01N2800/32		
FI分类号	G01N33/48.K G01N33/53.D		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA25 2G045/BB38 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FB03		
代理人(译)	河野 哲 中村 诚		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种测量生物流体，特别是人或动物血浆中PTX3的方法。特别地，本发明涉及测量人或动物血浆样品中PTX3水平的方法，包括用血凝剂处理所述血浆样品，然后测量PTX3的血浆水平的步骤。它所述方法包括。

Standard Plots of PTX3 in plasma -EDTA with and without polybrene

