

(19) 日本国特許庁(JP)

## 再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02014/021387

発行日 平成28年7月21日(2016.7.21)

(43) 国際公開日 平成26年2月6日(2014.2.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/543 5 8 1 J	4 J 0 0 2
<b>GO 1 N 33/545 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/543 5 8 3	
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/545 B	
<b>CO 8 L 101/00 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 G	
<b>CO 8 L 71/02 (2006.01)</b>	CO 8 L 101/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 24 頁) 最終頁に続く

出願番号 特願2014-528199 (P2014-528199)	(71) 出願人 390037327 積水メディカル株式会社 東京都中央区日本橋3丁目13番5号
(21) 国際出願番号 PCT/JP2013/070775	
(22) 国際出願日 平成25年7月31日(2013.7.31)	
(31) 優先権主張番号 特願2012-170603 (P2012-170603)	(74) 代理人 110000774 特許業務法人 もえぎ特許事務所
(32) 優先日 平成24年7月31日(2012.7.31)	
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	(72) 発明者 服部 恵子 東京都中央区日本橋三丁目13番5号 積水メディカル株式会社内
	(72) 発明者 北野 壮一 東京都中央区日本橋三丁目13番5号 積水メディカル株式会社内
	(72) 発明者 川本 道子 東京都中央区日本橋三丁目13番5号 積水メディカル株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ラテックス凝集阻害免疫法

## (57) 【要約】

本発明は、凝集阻害 L T I A において、生じるべき凝集が生じないという非特異的応答を回避できる方法の提供を課題とする。

ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレンブロック共重体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の化合物の存在下にラテックス凝集阻害測定法を行うことにより、ラテックス凝集阻害法における非特異的応答を回避する方法を提供する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレンブロック共重体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の化合物の存在下にラテックス凝集阻害測定法を行うことを特徴とする、ラテックス凝集阻害法における非特異的反応を回避する方法。

## 【請求項 2】

非特異的反応が、被検試料中に被検物質が存在しないときに生じるべき凝集が生じないという非特異的反応である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

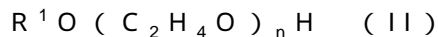
ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレンブロック共重体が、式 (I) で表されるものである、請求項 1 または 2 に記載の方法。



(式中、 $a$ 、 $b$ 、 $c$  は任意の整数を表し、 $a + c$  は 4 ~ 200 単位の平均重合度の酸化エチレンとなるよう決定され、かつ  $b$  は 5 ~ 100 単位の平均重合度の酸化プロピレンとなるよう決定される)

## 【請求項 4】

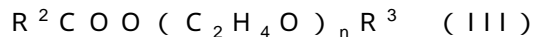
ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、式 (II) で表されるものである、請求項 1 または 2 に記載の方法。



(式中、 $\text{R}^1$  は炭素数 8 ~ 20 のアルキル基 (当該アルキル基は、第 1 級、第 2 級のいずれであってもよく、アルキル基中に二重結合を有していてもよい) を表し、 $n$  は 7 ~ 40 の任意の整数を表す。)

## 【請求項 5】

ポリオキシエチレン脂肪酸エステルが、式 (III) で表されるものである、請求項 1 または 2 に記載の方法。



(式中、 $\text{R}^2$  は炭素数 16 ~ 18 のアルキル基 (当該アルキル基は、二重結合を有していてもよい) を表し、 $n$  は 170 ~ 180 の任意の整数を表し、 $\text{R}^3$  は水素原子を表すかまたは  $\text{R}^2\text{COO}$  基を表す。)

## 【請求項 6】

多価第四級アミン高分子化合物が、ポリブレン (CAS 番号: CB1327317) である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

## 【請求項 7】

ラテックス凝集阻害測定法用の試薬であって、ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレンブロック共重体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の化合物を以下 (1) ~ (4) のいずれか一つ以上に含有することを特徴とする試薬。

(1) 濃度換算用標準物質

(2) 抗被検物質抗体を含む溶液

(3) 抗原が固定化されたラテックス粒子を含む溶液

(4) 濃度換算用標準物質を溶解または希釈するための溶液

## 【請求項 8】

ヒト血液試料中のテイコプラニン測定に用いるものである、請求項 7 に記載の試薬。

## 【請求項 9】

ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレンブロック共重体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の化合物を有効成分とするラテックス凝集阻害測定法用非特異的反応回避剤。

## 【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

**【技術分野】****【0001】**

本発明は、血液試料中の何らかの成分により生じる、ラテックス免疫凝集測定法における非特異的な反応の回避方法、及び当該回避方法に用いられる試薬に関する。

**【背景技術】****【0002】**

ラテックス免疫凝集測定法（以下、L T I Aということがある）は、抗原あるいは抗体を固定化したラテックス粒子を用いて、被検物質を測定する方法であり、臨床検査の分野で広く使用されている。L T I Aにより被検物質である抗原を測定する方法としては、被検物質に対する抗体を固定化したラテックス粒子と、被検物質である抗原とを反応させ、サンドイッチ型の免疫複合体を形成させ、免疫複合体形成に伴う当該ラテックス粒子の凝集の程度から被検物質（抗原）を測定する方法（以下、サンドイッチL T I Aということがある）と、抗原を固定化したラテックス粒子と被検試料中の抗原（被検物質）とを競合させて、当該ラテックス粒子と抗体との免疫複合体の形成を阻害し、免疫複合体の形成阻害に伴う当該ラテックス粒子の凝集阻害の程度から被検物質（抗原）を測定する方法（以下、凝集阻害L T I Aということがある）に大別することができる。

10

**【0003】**

L T I Aにおいては、血清などの被検試料中に被検物質が存在していないにもかかわらず、被検試料中に含まれる何らかの成分により抗原あるいは抗体を固定化したラテックス粒子に生じるべきでない凝集が生じたり、あるいは生じるべき凝集が生じなかったりすることがしばしば発生する。これらは非特異的反応と呼ばれ、様々な測定誤差の原因となることが知られている。

20

**【0004】**

非特異的反応の回避方法として、反応系に様々な物質を添加する方法が知られている。特許文献1には、サンドイッチL T I Aにおける非特異性混濁（非特異的凝集と同義）を除去する方法として、無機ホウ素化合物を緩衝系と組み合わせて試料溶液に添加する方法が記載されている。しかしながら当該方法は、抗体を固定化したラテックス粒子を使用する測定する方法において生じるべきでない凝集が生じることを除去する方法であって、凝集阻害L T I Aにおいて、生じるべき凝集が生じないことに対応できる方法ではない。

30

**【0005】**

凝集阻害L T I Aで血液試料を測定する場合、血液試料中の何らかの成分の影響により、被検物質を含まない血液試料であるにもかかわらず、血液成分を全く含まない緩衝液を被検試料として測定した際に得られる凝集度よりも低い凝集度しか得られない場合がある。また、被検試料中の被検物質の濃度換算用の標準物質（以下、濃度換算用標準物質ということがある）を緩衝液で希釈した場合と血液成分を含む緩衝液で希釈した場合とで、凝集度（吸光度）が一致せずに乖離することがある。しかしながら上記のように、現在においても、凝集阻害L T I Aにおいて、生じるべき凝集が生じないという非特異的反応を回避できる方法は確立しておらず、新たな方法の開発が必要であった。

**【先行技術文献】****【特許文献】**

40

**【0006】**

【特許文献1】特開昭64-044855公報

**【発明の概要】****【発明が解決しようとする課題】****【0007】**

本発明は、凝集阻害L T I Aにおいて、生じるべき凝集が生じないという非特異的反応を回避できる方法の提供を課題とする。

**【課題を解決するための手段】****【0008】**

本発明者らは、凝集阻害L T I Aにおける上記課題を解決するため、鋭意検討を行ったと

50

ころ、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重合体（以下、POE-POPブロック共重合体ということがある）、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（以下、POEアルキルエーテルということがある）、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル（以下、POE脂肪酸エステルということがある）、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の非特異的反応回避化合物を、濃度換算用標準物質を希釈するための緩衝液中に添加しておく、当該緩衝液それ自体を被検試料として測定した場合に得られる凝集度と、被検物質を含まない血液試料を測定した場合の凝集度との差を縮小させることができることを見出し、本発明を完成するに至った。

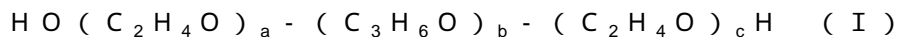
【0009】

本発明は、以下の構成を有する。

<1> ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の化合物の存在下にラテックス凝集阻害測定法を行うことを特徴とする、ラテックス凝集阻害法における非特異的反応を回避する方法。

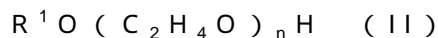
<2> 非特異的反応が、被検試料中に被検物質が存在しないときに、生じるべき凝集が生じないという非特異的反応である、<1>の方法。

<3> ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体が、式(I)で表されるものである、<1>または<2>の方法。



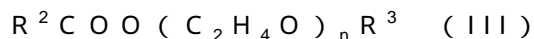
(式中、a, b, cは任意の整数を表し、a+cは4~200単位の平均重合度の酸化エチレンとなるよう決定され、かつbは5~100単位の平均重合度の酸化プロピレンとなるよう決定される)

<4> ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、式(II)で表されるものである、<1>または<2>の方法。



(式中、R<sup>1</sup>は炭素数8~20のアルキル基(当該アルキル基は、第1級、第2級のいずれであってもよく、アルキル基中に二重結合を一つ以上有していてもよい)を表し、nは7~40の任意の整数を表す。)

<5> ポリオキシエチレン脂肪酸エステルが、式(III)で表されるものである、<1>または<2>の方法。



(式中、R<sup>2</sup>は炭素数16~18のアルキル基(当該アルキル基は、二重結合を一つ以上有していてもよい)を表し、nは170~180の任意の整数を表し、R<sup>3</sup>は水素原子を表すかまたはR<sup>2</sup>COO基を表す。)

<6> 多価第四級アミン高分子化合物が、ポリブレン(CAS番号:CB1327317)である、<1>または<2>の方法。

<7> ラテックス凝集阻害法用の試薬であって、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の化合物を以下(1)~(4)のいずれか一つ以上に含有することを特徴とする試薬。

(1) 濃度換算用標準物質

(2) 抗被検物質抗体を含む溶液

(3) 抗原が固定化されたラテックス粒子を含む溶液

(4) 濃度換算用標準物質を溶解または希釈するための溶液

<8> ヒト血液試料中のテイコプラニン測定に用いるものである、<7>の試薬。

<9> ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれる一種以上の化合物を有効成分とするラテックス凝集阻害法用非特異的反応回避剤。

【発明の効果】

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 0 】

本発明により、凝集阻害 L T I A において、生じるべき凝集が生じないという非特異的反応を回避できる方法が提供される。本発明により、凝集阻害 L T I A による血液試料中の被検物質の正確な測定が可能になる。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 1 1 】

【 図 1 】濃度換算用標準物質をヒト血清成分を全く含まない緩衝液で希釈した場合の検量線 ( × )、被検物質を添加したヒト血清をヒト血清成分を全く含まない緩衝液で希釈した場合の検量線 ( ) 及び被検物質を添加したヒト血清を被検物質を添加していないヒト血清で希釈した場合の検量線 ( ) である。

【 図 2 】本発明の非特異的反応回避化合物を含む濃度換算用標準物質希釈液の組成を検討した結果の図である。

【 図 3 】濃度換算用標準物質を本発明の濃度換算用標準物質希釈液で希釈した場合の検量線 ( × )、及び被検物質を添加したヒト血清を被検物質を添加していないヒト血清で希釈した場合の検量線 ( ) である。

## 【 発明を実施するための形態 】

## 【 0 0 1 2 】

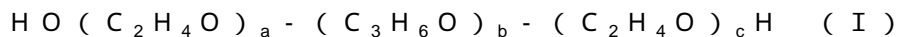
( 非特異的反応回避化合物 )

本発明の非特異的反応回避化合物としては、 P O E - P O P ブロック共重体、 P O E アルキルエーテル、 P O E 脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物からなる群より選ばれられる一種以上の化合物が挙げられる。

## 【 0 0 1 3 】

本発明のポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロック共重体 ( P O E - P O P ブロック共重体 ) は、下記式 ( I ) に示す構造を有する。

[ 化 1 ]



( 式中、 a , b , c は任意の整数を表し、 a + c は 4 ~ 2 0 0 単位の平均重合度の酸化エチレン ( 以下、 E O と表記することがある ) となるよう決定され、かつ b は 5 ~ 1 0 0 単位の平均重合度の酸化プロピレン ( 以下、 P O と表記することがある ) となるよう決定される )

本発明において使用する P O E - P O P ブロック共重体を含有する市販品の具体的な例としては、一般に「プルロニック ( 登録商標 ) 」の名称で販売されている非イオン性界面活性剤のうち「 F 」で括られる製品、または「エバン ( 登録商標 ) 」の名称で販売されている非イオン界面活性剤を挙げることができる。

なお、 P O E - P O P ブロック共重体の成分としての表記は数種類存在し、各表記間で相互に同一性、類似性を確認できるが、同一名称の市販品であっても各表記間での数値が完全に一致しない場合がある。これらは重合性高分子に特有のものであり当業者は当然に理解しうる。

## 【 0 0 1 4 】

より具体的な市販品の例を、確認できる成分としての表記 ( 1 ) , ( 2 ) とともに挙げる。

プルロニック F 7 7 :

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 7 0 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2 3 0 6

( 2 ) E O 数 - P O 数 : ( 5 2 × 2 ) - 3 5

プルロニック F 8 7 :

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 7 0 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2 6 4 4

( 2 ) E O 数 - P O 数 : ( 6 2 × 2 ) - 3 9

プルロニック F 8 8 :

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 8 0 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2 6 4 4

( 2 ) E O 数 - P O 数 : ( 9 7 × 2 ) - 3 9

10

20

30

40

50

ブルロニック F 6 8 :

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 8 0 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 1 9 6 7

( 2 ) E O 数 - P O 数 : ( 7 5 × 2 ) - 3 0

エバン 4 8 5

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 8 5 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 1 2 0 0

( 2 ) E O 数 - P O 数 : ( 8 0 × 2 ) - 2 1

エバン 6 8 0

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 8 0 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 1 7 5 0

( 2 ) E O 数 - P O 数 : ( 8 4 × 2 ) - 3 0

エバン 7 8 5

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 8 5 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2 0 0 0

( 2 ) E O 数 - P O 数 : ( 1 4 0 × 2 ) - 3 4

エバン 7 5 0

( 1 ) ポリオキシエチレン含量 5 0 %、ポリオキシプロピレンの分子量およそ 2 0 0 0

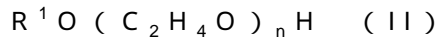
( 2 ) E O - P O 数 : ( 2 3 × 2 ) - 3 4

これらのうち、ブルロニック F 8 8 およびブルロニック F 6 8 は、医薬部外品原料規格 2 0 0 6 にも収載されている。

【 0 0 1 5 】

本発明のポリオキシエチレンアルキルエーテル ( P O E アルキルエーテル ) は、下記式 ( II ) に示す構造を有する。

[ 化 2 ]



( 式中、 $R^1$  は炭素数 8 ~ 2 0 のアルキル基 ( 当該アルキル基は、第 1 級、第 2 級のいずれであってもよく、アルキル基中に二重結合を一つ以上有していてもよい ) を表し、 $n$  は 7 ~ 4 0 の任意の整数を表す。 )

本発明において使用する P O E アルキルエーテルを含有する市販品の具体的な例としては、一般に「N I K K O L ( 登録商標 )」の名称で販売されている非イオン性界面活性剤のうち「B T」、「B C」あるいは「B O」で括られる製品を挙げることができる。

より具体的な市販品の例を、確認できる成分としての表記 ( 3 )、( 4 ) とともに挙げる。

ニッコール B C 4 0 T X :

( 3 ) ポリオキシエチレンセチルエーテル

( 4 )  $R^1$  : 炭素数 1 6、 $n$  : 4 0

ニッコール B O 1 0 T X :

( 3 ) ポリオキシエチレンオレイルエーテル

( 4 )  $R^1$  : 炭素数 1 8、 $n$  : 1 0

ニッコール B T - 7 :

( 3 ) ポリオキシエチレンアルキルエーテル

( 4 )  $R^1$  : 炭素数 1 2 ~ 1 4 ( 2 級アルキル )、 $n$  : 7

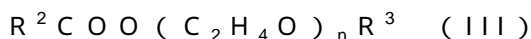
ニッコール B T - 9 :

( 3 ) ポリオキシエチレンアルキルエーテル

( 4 )  $R^1$  : 炭素数 1 2 ~ 1 4 ( 2 級アルキル )、 $n$  : 9

【 0 0 1 6 】

本発明のポリオキシエチレン脂肪酸エステル ( P O E 脂肪酸エステル ) は、下記式 ( III ) に示す構造を有する。



( 式中、 $R^2$  は炭素数 1 6 ~ 1 8 のアルキル基 ( 当該アルキル基は、二重結合を有していてもよい ) を表し、 $n$  は 1 7 0 ~ 1 8 0 の任意の整数を表し、 $R^3$  は水素原子を表すかまたは  $R^2COO$  基を表す。 )

本発明において使用する P O E 脂肪酸エステルを含有する市販品の具体的な例としては、

一般に「ノイゲン（登録商標）」の名称で販売されている非イオン性界面活性剤のうち「DS」で括られる製品を挙げることができる。

より具体的な市販品の例を、確認できる成分としての表記（５）、（６）とともに挙げる。

ノイゲンDS - 601 :

（５）ポリオキシエチレンジステアリン酸エステル

（６）R<sup>1</sup> : 炭素数17、n : 175

【0017】

多価第四級アミン高分子化合物としては、ポリブレン（CAS番号：CB1327317）が挙げられる。

10

【0018】

これらのうち、プルロニックF88、ニッコールBT 7、ニッコールBT - 9が好適である。

【0019】

本発明の非特異的反應回避化合物は、濃度換算用標準物質（いわゆるキャリブレータ）、抗被検物質抗体を含む溶液、抗原が固定化されたラテックス粒子を含む溶液、濃度換算用標準物質を溶解または希釈するための溶液など、凝集阻害L T I Aを行うための試薬の一年以上に添加して使用することができる。なかでも濃度換算用標準物質に添加することが好ましい。

【0020】

非特異的反應回避化合物の好ましい濃度は、濃度換算用標準物質、抗被検物質抗体、抗原が固定化されたラテックス粒子の3成分が反応系中に共存した状態での濃度（反応系中の終濃度）として0.003 ~ 0.078%（v/v、以下同じ）、さらに好ましくは0.006 ~ 0.034%、特に好ましくは0.007 ~ 0.024%である。

20

【0021】

本発明の非特異的反應回避化合物は、本発明の効果に影響を与えないこと、製剤としての性能が担保できることを限度として、L T I Aで通常使用される緩衝液、タンパク質、塩類、防腐剤などと混合して使用することができる。

【0022】

（緩衝液）

緩衝液としては、例えば、中性pH付近、好ましくはpH6.5 ~ 7.8、より好ましくはpH6.8 ~ 7.5に緩衝作用を有する緩衝液（リン酸緩衝液、グッド緩衝液、グリシン緩衝液、ホウ酸緩衝液、及び複数の緩衝剤を組み合わせた広域緩衝液など）が好適である。これらの緩衝液中の緩衝剤の濃度としては、0.1mM ~ 1Mが好ましく、さらに好ましくは1mM ~ 800mM、特に好ましくは5mM ~ 500mMである。

30

なお、製剤としての性能担保の観点から、例えば、抗原が後述実施例のテイコプラニンである場合には、テイコプラニンの保存安定性に望ましくない影響をあたえるので、分子内にアミン構造を有する緩衝剤（例えば、T r i s）の使用は好適ではない。本発明の非特異的反應回避化合物以外の成分は、被検物質それぞれの特性を考慮して、実験などにより選択することができる。

40

【0023】

（タンパク質）

タンパク質としては、ウシ血清アルブミン（BSA）およびカゼインなどが挙げられるが、これらに限定されない。これらは、抗体や抗原が固定化されたラテックス粒子の保存安定性向上のため、あるいは、血液試料が反応系に持ち込むタンパク成分の濃度と近似させ反応環境をそろえるためなどの目的で使用されている。

【0024】

（塩類）

塩類としては、塩化ナトリウム、塩化カリウムなどが挙げられるがこれらに限定されない。

50

## 【0025】

(防腐剤)

防腐剤としては、オフロキサシンなどの抗菌剤や、アジ化ナトリウムなどが挙げられるが、これらに限定されない。

## 【0026】

(測定方法)

本発明の非特異的反応回避化合物を用いる凝集阻害L T I Aの測定方法としては、被検試料中の被検物質の濃度に応じて抗原が固定化されたラテックス粒子の凝集度が減少するラテックス競合法を使用することができ、生じた凝集の程度を光学的あるいは電気化学的に観察することにより被検物質を測定できる。光学的に観察する方法としては、散乱光強度、吸光度、又は透過光強度を光学機器で測定する方法が挙げられる。

10

## 【0027】

(被検試料・被検物質)

本発明の非特異的反応回避化合物を用いたラテックス凝集阻害測定法が測定対象とする被検試料は、血清、血漿などの血液試料である。被検試料中の被検物質(検出対象)としては、ペプチド抗原、ハプテンといった低分子抗原が挙げられ、例えば、テイコプラニン、アルベカシン、バンコマイシンのようなペプチド系抗生物質、オフロキサシンのような合成抗菌剤、卵白や豆類由来のアレルゲンなど、競合免疫測定法に好適な被検物質が挙げられる。これらのなかでもテイコプラニンが好適である。

20

## 【0028】

(抗体)

本発明に用いる抗体は、ポリクローナル抗体でもモノクローナル抗体でもよい。本発明の抗体としては、抗体分子全体のほかに抗原抗体反応活性を有する抗体の機能性断片を使用することも可能であり、一般的な動物(マウス、ヤギ、ヒツジなど)への免疫工程を経て得られたもののほか、遺伝子組み換え技術を使用して得られるものやキメラ抗体を用いることも可能である。抗体の機能性断片としては抗原抗体反応活性を有する断片であるF(a b')<sub>2</sub>、F a b'などが挙げられる。これらの抗体の機能性断片は前記のようにして得られた抗体をタンパク質分解酵素(例えば、ペプシンやパインなど)で処理することにより製造できる。また、これらの抗体は、ラテックス粒子に固定化されていてもよいし、固定化されていなくてもよい。

30

## 【0029】

(ラテックス粒子)

本発明に用いるラテックス粒子としては、例えば、ポリスチレン、スチレン-スチレンスルホン酸塩共重合体、メタクリル酸重合体、アクリル酸重合体、アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体、塩化ビニル-アクリル酸エステル共重合体、ポリ酢酸ビニルアクリレートなどが挙げられる。ラテックス粒子の平均粒径は、被検物質の被検試料中での濃度あるいは測定機器の検出感度などを考慮し、0.1 μm ~ 0.4 μmのものが適宜選択される。

## 【0030】

(抗原を固定化したラテックス粒子)

本発明に用いる抗原を固定化したラテックス粒子における抗原の固定化方法は、固定化しようとする抗原の特性に応じて物理吸着(疎水結合)法、化学結合法のいずれかを適宜選択することができる。物理吸着(疎水結合)法においては、ポリハプテンを形成させて吸着させる方法、化学結合法においてはマレイミド基などの結合性の官能基を抗原に導入したり、抗原が糖を有する場合にはこれを利用してラテックス粒子表面の結合性の官能基に結合させ固定化することができる。

40

## 【0031】

(凝集阻害L T I A用試薬)

本発明の非特異的反応回避化合物を含有する凝集阻害L T I A用試薬は、通常使用される以下の形態のいずれか一以上で提供することができるが、これに限定されない。

50

- (1) 濃度換算用標準物質（キャリアプレートなどの名称で呼ばれる場合がある）
- (2) 被検物質に対する抗体を含む溶液（抗体液、第一試液などの名称で呼ばれる場合がある）
- (3) 抗原が固定化されたラテックス粒子溶液（ラテックス試液、第二試液などの名称で呼ばれる場合がある）
- (4) 濃度換算用標準物質を溶解または希釈するための溶液（キャリアプレート希釈液などの名称で呼ばれる場合がある）

このうち、(1) 濃度換算用標準物質に、本発明の非特異的反応回避化合物を含有させる場合には、本発明の非特異的反応回避化合物を含有させたのち、これを溶液のまま提供しても、あるいは凍結乾燥などの手段により固形化して提供してもよい。また、本発明の非特異的反応回避化合物を含有しない状態で提供し、使用時に本発明の非特異的反応回避化合物を含有する緩衝液等で復元あるいは希釈して使用できるように提供してもよい。前記本発明の非特異的反応回避化合物を含有する緩衝液等は、濃度換算用標準物質（キャリアプレート）希釈液、検体希釈液等の名称で提供される場合もあり、前記(4)の形態に相当する。

(2) 被検物質に対する抗体を含む溶液あるいは(3) 抗原が固定化されたラテックス粒子溶液に、本発明の非特異的反応回避化合物を含有させる場合には、本発明の非特異的反応回避化合物を含有させた溶液として提供することができる。

上記(1)～(4)は、凝集阻害L T I Aを実施する際に、一連で使用されるものであれば、それぞれが独立して提供されても、キットなどのように一括提供されても構わない。

#### 【実施例】

#### 【0032】

< 比較例 1 > 濃度換算用標準物質を、ヒト血清成分を全く含まない緩衝液で希釈した場合の検量線と、被検物質を含まないヒト血清で希釈した場合の検量線の比較

#### 1. 試薬

(1) テイコプラニン (Sigma Aldrich 社製)

(2) テイコプラニン非投与ヒトから得た血清 (100名のプール血清。以下、ベース血清という)

(3) 濃度換算用標準物質希釈液 (以下、標準物質希釈液という) : 5% BSA - PBS (pH 7.2)、0.002% オフロキサシン

PBS 錠剤 (DULBECCO'S PBS TABLETS (-) (DSファーマバイオメディカル社製)) 1錠、BSA (Probumin (商標) Reagent Grade (k) (MILLIPORE社製)) 5g およびオフロキサシン 2mg を水で 100 mL にメスアップし、標準物質希釈液を調製した。

なお、PBS 錠剤を 100 mL の溶液とした場合の組成は以下である。

800 mg NaCl、20 mg KCl、115 mg リン酸一水素ナトリウム (無水)、リン酸二水素カリウム (無水)

(4) 抗テイコプラニン抗体液 (2.8 mg/mL 抗テイコプラニンヒツジポリクローナル抗体及び 0.5% BSA 含有。pH 7.0。以下、抗体液という)

(5) テイコプラニン感作ラテックス試液 (pH 7.2。以下、ラテックス試液という)

#### 2. 方法

テイコプラニンを標準物質希釈液で 0、5、10、25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  になるように希釈し、キャリアプレートとした。また、110  $\mu\text{g}/\text{mL}$  となるようテイコプラニンを添加したベース血清を、テイコプラニン非添加のベース血清または標準物質希釈液で 10 段階 (0、11、22、33、44、55、66、77、88、99、110  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に希釈し、それぞれ模擬検体溶液 1、模擬検体溶液 2 とした。2.4  $\mu\text{L}$  のキャリアプレート、模擬検体溶液 1 あるいは模擬検体溶液 2 と、180  $\mu\text{L}$  の抗テイコプラニン抗体液を混合し、37、5 分混和した。続いて、60  $\mu\text{L}$  のラテックス試液を混合し、37、1 分後 (吸光度 I)、1 分 20 秒後 (吸光度 II)、3 分後 (吸光度 III)、3 分 20 秒後 (吸光度 IV) に、それぞれ 700 nm の吸光度を測定した。(吸光度 II と吸光度 I

10

20

30

40

50

の平均値)と(吸光度IVと吸光度IIIの平均値)の差を求め、吸光度変化量(以下、d a b sという)とした。

### 3. 結果

結果を図1に示す。テイコプラニン非添加のベース血清で希釈した模擬検体溶液1( )では、ベース血清それ自体(テイコプラニン濃度 $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ )のd a b sが、テイコプラニン濃度 $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ のキャリブレーション(標準物質希釈液それ自体)のd a b sよりも低く、また $11 \sim 110 \mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度範囲でのキャリブレーション(x)および模擬検体溶液2( )のd a b sと比較して、いずれも低いd a b sとなり、何らかの血清成分による非特異的反応が疑われた。

#### 【0033】

10

#### <実施例1> 非特異的反応回避化合物の探索検討

##### 1. 試薬

(1) テイコプラニン非投与ヒトから得た血清(ベース血清)

(2) 抗テイコプラニン抗体液(抗体液)

(3) テイコプラニン感作ラテックス試液(ラテックス試液)

以上(1)~(3)は比較例1と同様のものを使用した。

(4) 10% BSA - 2x PBS (pH 7.0)

PBS錠剤1錠とBSA 5gを水で50mlにメスアップし、10% BSA - 2x PBSとした。

(5) 探索した化合物

20

表1に示した。

(a) ブロッキングN101、N102(ともに日油社製)。合成ポリマーを主成分とする免疫学的測定用ブロッキング試薬である。

(b) エパン750(POE-POPブロック共重合体。第一工業製薬社製)

(1) ポリオキシエチレン含量50%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ2000

(2) EO数-PO数:( $23 \times 2$ )-34

(c) プロニックL34(POE-POPブロック共重合体。ADEKA社製)

(1) ポリオキシエチレン含量40%、ポリオキシプロピレンの分子量およそ870

(2) EO数-PO数:( $7 \times 2$ )-15

(d) プロニックF68(POE-POPブロック共重合体。ADEKA社製)

30

(e) ノイゲンDS601(POE脂肪酸エステル。第一工業製薬社製)

(f) ニッコールBC40TX(POEアルキルエーテル。日光ケミカルズ社製)

(g) ニッコールBO-10TX(POEアルキルエーテル。日光ケミカルズ社製)

(h) ニッコールBT-7(POEアルキルエーテル。日光ケミカルズ社製)

(i) ニッコールBT-9(POEアルキルエーテル。日光ケミカルズ社製)

(j) PEG6000( $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$  平均分子量: 7300~9300、和光純薬社製)

(k) マンニトール(キシダ化学社製)

(l) ポリブレン(Sigma Aldrich社製)

(m) ヘパリンナトリウム(Sigma Aldrich社製)

40

##### 2. 方法

2.4  $\mu\text{L}$ のベース血清あるいは10% BSA - 2x PBSと、表1中に記載の終濃度の2倍濃度に調製した探索した化合物を容量比1:1で混合した溶液(試験溶液1)を、180  $\mu\text{L}$ の抗体液と混合し、37、5分混和した。続いて、60  $\mu\text{L}$ のラテックス試液を混合し、37、1分後(吸光度I)、1分20秒後(吸光度II)、3分後(吸光度III)、3分20秒後(吸光度IV)にそれぞれ700nmの吸光度を測定した。(吸光度IIと吸光度Iの平均値)と(吸光度IVと吸光度IIIの平均値)の差を求め、d a b sとした。下記式(A)で差がマイナスとなる場合を効果ありと判定した。

(ベース血清のd a b s) - (試験溶液1のd a b s) ... 式(A)

なお、非特異的反応回避化合物の代わりに精製水を添加した物をコントロールとした。

50

## 3. 結果

プルロニック F 6 8、ノイゲン D S 6 0 1、ニッコール B C 4 0 T X、ニッコール B O - 1 0 T X、ニッコール B T - 7、ニッコール B T - 9 で効果ありと判定し、非特異的反應回避化合物とした。またベース血清との差から、エパン 7 5 0 とポリブレンも非特異的反應回避化合物候補とした。

【 0 0 3 4 】

【表 1】

種類	終濃度	dabs	血清との差
血清		0.4788	0.0000
コントロール		0.5129	0.0341
ブロッキング N101	1/2	0.5068	0.0280
ブロッキング N102	1/2	0.5257	0.0469
エパン750	5%	0.4872	0.0084
プルロニックL34	5%	0.5114	0.0326
プルロニックF68	5%	0.4371	-0.0417
ノイゲンDS601	0.5%	0.4430	-0.0358
ニッコール BC40TX	5%	0.3476	-0.1312
ニッコール BO-10TX	5%	0.4296	-0.0492
ニッコール BT-7	5%	0.4070	-0.0718
ニッコール BT-9	5%	0.4245	-0.0543
PEG6000	5%	0.5441	0.0653
マンニトール	5%	0.5088	0.0300
ポリブレン	5mg/mL	0.4989	0.0201
ヘパリン	5mg/mL	0.5100	0.0312

注：表 1 に記載の終濃度中、「1 / 2」の記載は、市販品原液を 1 とした場合の希釈度（2 倍希釈）を表している。

【 0 0 3 5 】

< 実施例 2 > 非特異的反應回避化合物（候補）の有効濃度範囲の検討 - 1

実施例 1 の結果から絞込んだ非特異的反應回避化合物候補について、有効な濃度範囲を検討した。

## 1. 試薬

( 1 ) テイコプラニン非投与ヒトから得た血清（ベース血清）

( 2 ) 抗テイコプラニン抗体液（抗体液）

( 3 ) テイコプラニン感作ラテックス試液（ラテックス試液）

以上 ( 1 ) ~ ( 3 ) は比較例 1 と同様のものを使用した。

( 4 ) 1 0 % B S A - 2 x P B S ( p H 7 . 0 )

( 5 ) 非特異的反應回避化合物（候補）

表 2 に示した。

( a ) エパン 4 8 5 ( P O E - P O P ブロック共重合体。第一工業製薬社製 )

( b ) プルロニック F 6 8

( c ) プルロニック F 8 8

( d ) ノイゲン D S 6 0 1

( e ) ニッコール B T - 7

( f ) ニッコール B T - 9

( g ) ポリブレン

## 2 . 方法

2 . 4  $\mu$  L のベース血清あるいは 10 % B S A - 2  $\times$  P B S と、表 2 中に記載の終濃度の 2 倍濃度に調製した添加化合物を 1 : 1 で混合した溶液 ( 試験溶液 2 ) を 180  $\mu$  L の抗体液と混合し、37、5 分混和した。続いて、60  $\mu$  L のラテックス試液を混合し、37、1 分後 ( 吸光度 I )、1 分 20 秒後 ( 吸光度 II )、3 分後 ( 吸光度 III )、3 分 20 秒後 ( 吸光度 IV ) にそれぞれ 700 nm の吸光度を測定した。( 吸光度 II と吸光度 I の平均値 ) と ( 吸光度 IV と吸光度 III の平均値 ) の差を求め、d a b s とした。下記式 ( B )

( ベースの血清の d a b s ) / ( 試験溶液 2 の d a b s )  $\cdot \cdot \cdot$  式 ( B )

## 3 . 結果

ブルロニック F 68、ブルロニック F 88、ノイゲン D S 601、ニッコール B T - 7、ニッコール B T - 9、ポリブレンで効果ありと判定した。また、エパン 485 についても、終濃度を上げることで効果があることが推測された。以上より、これらを非特異的反応回避化合物と判断した。

【 0 0 3 6 】

【 表 2 】

種類	終濃度	dabs			(血清との比)		
		実験1	実験2	実験3	実験1	実験2	実験3
血清		0.4783	0.4829	0.4812	100.0%	100.0%	100.0%
コントロール		0.5125	0.5169	0.5226	107.2%	107.0%	108.6%
エパン485	2.5%	0.5052			105.6%		
	0.5%	0.5115			106.9%		
	0.1%	0.5138			107.4%		
ブルロニックF68	2.5%	0.4571			95.6%		
	0.5%	0.4974			104.0%		
	0.1%	0.5094			106.5%		
ブルロニックF88	2.5%	0.4558	0.4593	0.4610	95.3%	95.1%	95.8%
	0.5%	0.4992	0.4993	0.4997	104.4%	103.4%	103.8%
	0.1%	0.5111	0.5127	0.5127	106.9%	106.2%	106.5%
ノイゲンDS601	0.25%	0.4532			94.8%		
	0.05%	0.4960			103.7%		
	0.01%	0.5049			105.6%		
ニッコールBT-7	2.5%	0.4700	0.4698		98.3%	97.3%	
	0.5%	0.5104	0.5083		106.7%	105.3%	
	0.1%	0.5178	0.5111		108.3%	105.8%	
ニッコールBT-9	2.5%	0.4732	0.4727	0.4757	98.9%	97.9%	98.9%
	0.5%	0.5112	0.5081	0.5083	106.9%	105.2%	105.6%
	0.1%	0.5126	0.5049	0.5035	107.2%	104.6%	104.6%
ポリブレン	50mg/mL	0.3777	0.3777		79.0%		
	25mg/mL	0.4859	0.4871		101.6%		
	10mg/mL	0.5017	0.5090		104.9%		

注：空欄は試験を実施しなかった。

【 0 0 3 7 】

< 実施例 3 > 非特異的反応回避化合物の濃度範囲の検討 - 2

## 1 . 試薬

( 1 ) テイコプラニン非投与ヒトから得た血清 ( ベース血清 )

( 2 ) 抗テイコプラニン抗体液 ( 抗体液 )

( 3 ) テイコプラニン感作ラテックス試液 ( ラテックス試液 )

以上 ( 1 ) ~ ( 3 ) は比較例 1、2 と同様のものを使用した。

( 4 ) 10 % B S A - 2  $\times$  P B S ( p H 7 . 0 )

( 5 ) 非特異的反応回避化合物

( a ) プルロニック F 8 8

( b ) ニッコール B T - 9

## 2 . 方法

2 . 4  $\mu$  L のベース血清ならびに 1 0 % B S A - 2  $\times$  P B S と、表 3 中に記載の終濃度の 2 倍濃度に調製した添加化合物を 1 : 1 で混合した溶液 ( 試験溶液 3 ) を 1 8 0  $\mu$  L の抗体液と混合し、 3 7  $^{\circ}$  C 、 5 分混和した。続いて、 6 0  $\mu$  L のラテックス試液を混合し、 3 7  $^{\circ}$  C 、 1 分後 ( 吸光度 I ) 、 1 分 2 0 秒後 ( 吸光度 II ) 、 3 分後 ( 吸光度 III ) 、 3 分 2 0 秒後 ( 吸光度 IV ) にそれぞれ 7 0 0 n m の吸光度を測定した。( 吸光度 II と吸光度 I の平均値 ) と ( 吸光度 IV と吸光度 III の平均値 ) の差を求め、 d a b s とした。

下記式 ( C ) で比が最も小さくなる濃度を単回帰分析から算出した。

( ベース血清の d a b s ) / ( 試験溶液 3 の d a b s )  $\cdots$  式 ( C )

## 3 . 結果

プルロニック F 8 8 は、 1 . 7 5 % で、ベース血清との差が最も小さくなった。ニッコール B T - 9 では、 2 . 5 % でベース血清との差が最も小さくなった。

【 0 0 3 8 】

【表 3】

種類	終濃度	dabs			(血清との比)		
		実験1	実験2	実験3	実験1	実験2	実験3
血清		0.4880	0.4904	0.4835	100.0%	100.0%	100.0%
プルロニックF88	2.00%	0.4799	0.4801	0.4825	98.3%	97.9%	99.8%
	1.75%	0.4845	0.4830	0.4857	99.3%	98.5%	100.5%
	1.50%	0.4912	0.4861	0.4966	100.7%	99.1%	102.7%
ニッコール BT-9	2.50%	0.4817	0.4879	0.4855	98.7%	99.5%	100.4%
	2.25%	0.4872	0.4929	0.4930	99.8%	100.5%	102.0%
	2.00%	0.4919	0.4940	0.4932	100.8%	100.7%	102.0%

【 0 0 3 9 】

< 参考例 1 > バッファー組成の検討

## 1 . 試薬

( 1 ) テイコプラニン非投与ヒトから得た血清 ( ベース血清 )

( 2 ) 抗テイコプラニン抗体液 ( 抗体液 )

( 3 ) テイコプラニン感作ラテックス試液 ( ラテックス試液 )

以上 ( 1 ) ~ ( 3 ) は比較例 1、2 と同様のものを使用した。

( 4 ) 非特異的反応回避化合物

プルロニック F 8 8

## 2 . 方法

以下の 6 通りの試験溶液 4 を調製した。

・ B S A 0 % 、 P B -

1 . 7 5 g の塩化ナトリウム、 0 . 7 g のプルロニック F 8 8 、 2 m g のオフロキサシンを秤量し 1 0 0 m L にメスアップした。

・ B S A 5 % 、 P B -

1 . 7 5 g の塩化ナトリウム、 0 . 7 g のプルロニック F 8 8 、 5 g の B S A 、 2 m g のオフロキサシンを秤量し 1 0 0 m L にメスアップした。

・ B S A 1 0 % 、 P B -

1 . 7 5 g の塩化ナトリウム、 0 . 7 g のプルロニック F 8 8 、 1 0 g の B S A 、 2 m g のオフロキサシンを秤量し 1 0 0 m L にメスアップした。

・ B S A 0 % 、 P B +

P B S 錠剤 1 錠、 0 . 7 g のプルロニック F 8 8 、 2 m g のオフロキサシンを秤量し 1 0 0 m L にメスアップした。

・ B S A 5 % 、 P B +

P B S 錠剤 1 錠、 0 . 7 g のプルロニック F 8 8 、 5 g の B S A 、 2 m g のオフロキサ

シンを秤量し100 mLにメスアップした。

・ B S A 10%、 P B +

P B S 錠剤1錠、0.7 gのプルロニックF88、10 gのB S A、2 mgのオフロキサシンを秤量し100 mLにメスアップした。

2.4  $\mu$ Lのベース血清ならびに上記6種類の試験溶液4を180  $\mu$ Lの抗体液と混合し、37、5分混和した。続いて、60  $\mu$ Lのラテックス試液を混合し、37 1分後(吸光度I)、1分20秒後(吸光度II)、3分後(吸光度III)、3分20秒後(吸光度IV)にそれぞれ700 nmの吸光度を測定した(吸光度I、吸光度II、吸光度III、吸光度IV)。(吸光度IIと吸光度Iの平均値)と(吸光度IVと吸光度IIIの平均値)の差を求め、d a b sとした。下記式(D)で比を計算し、バッファー組成の効果を確認した。

(ベース血清のd a b s) / (試験溶液4のd a b s)・・・式(D)

### 3. 結果

結果を図2に示す。P B Sは、本発明の非特異的反応回避化合物の効果を向上させることが確認された。一方、B S Aは非特異的反応回避化合物の効果には影響を与えなかった。

【0040】

以上、比較例1、実施例1~3、参考例1の結果より、P O E - P O Pブロック共重体、P O Eアルキルエーテル、P O E脂肪酸エステル、多価第四級アミン高分子化合物に、凝集阻害L T I Aにおける生じるべき凝集が生じないという非特異的反応を回避できることが確認された。

また、本発明の非特異的反応回避化合物は、濃度換算用標準物質(キャリブレータ)に添加することでその効果を発揮するという従来にない特徴を有していることが確認された。

【0041】

<実施例4> 濃度換算用標準物質を、本発明の非特異的反応回避化合物を含む緩衝液で希釈した場合の検量線と、被検物質を含まないヒト血清で希釈した場合の検量線の比較

#### 1. 試薬

(1) テイコプラニン(Sigma Aldrich社製)

(2) テイコプラニン非投与ヒトから得た血清(以下、ベース血清という)

(3) 濃度換算用標準物質希釈液(以下、標準物質希釈液という): 5% B S A - P B S (pH 7.2)、0.002% オフロキサシン、0.7% プルロニックF88

(4) 抗テイコプラニン抗体液(抗体液)

(5) テイコプラニン感作ラテックス試液(ラテックス試液)

#### 2. 方法

テイコプラニンを標準物質希釈液で0、5、10、25、50、100  $\mu$ g/mLになるように希釈し、キャリブレータとした。また、110  $\mu$ g/mLとなるようテイコプラニンを添加したベース血清を、テイコプラニン非添加のベース血清で10段階(0、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100  $\mu$ g/mL)に希釈し、模擬検体溶液3とした。2.4  $\mu$ Lのキャリブレータ、模擬検体溶液3と、180  $\mu$ Lの抗テイコプラニン抗体液を混合し、37、5分混和した。続いて、60  $\mu$ Lのラテックス試液を混合し、37、1分後(吸光度I)、1分20秒後(吸光度II)、3分後(吸光度III)、3分20秒後(吸光度IV)に、それぞれ700 nmの吸光度を測定した。(吸光度IIと吸光度Iの平均値)と(吸光度IVと吸光度IIIの平均値)の差を求め、d a b sとした。

#### 3. 結果

結果を図3に示す。テイコプラニン非添加のベース血清で希釈した模擬検体溶液3( )とキャリブレータ(x)のd a b sはテイコプラニン濃度0  $\mu$ g~110  $\mu$ g/mLの濃度範囲すべてで一致した。以上により、本発明の効果が確認された。

【産業上の利用可能性】

【0042】

本発明により、凝集阻害L T I Aにおいて、生じるべき凝集が生じないという非特異的反応を回避できる方法が提供される。本発明により、凝集阻害L T I Aによる血液試料中の

10

20

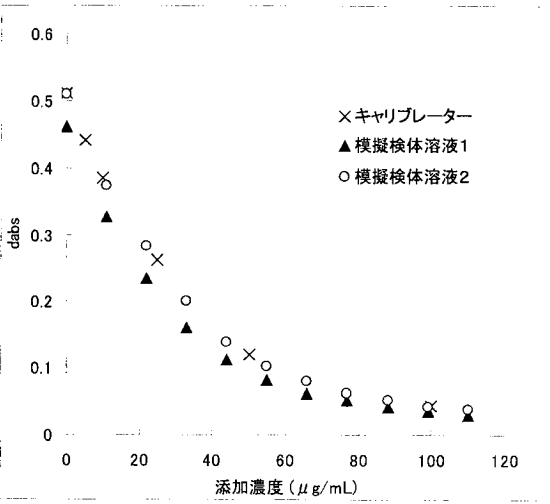
30

40

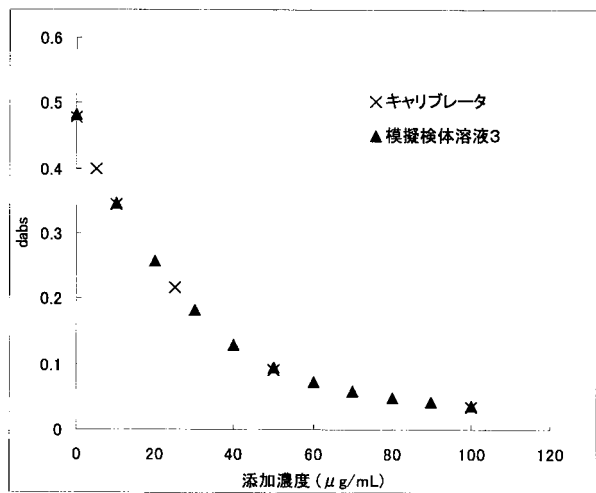
50

被検物質の正確な測定が可能になる。

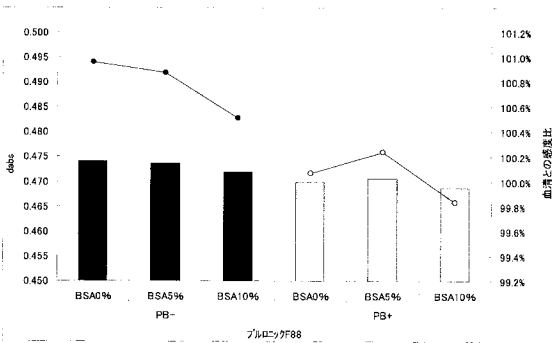
【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 2 】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/070775

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/543(2006.01) i		
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) G01N33/543		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2013 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2013 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2013		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/REGISTRY (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	JP 2007-121204 A (Denka Seiken Co., Ltd.), 17 May 2007 (17.05.2007), entire text; particularly, paragraphs [0004], [0005], [0010], [0011], [0013], [0014], [0019] (Family: none)	1, 3, 4, 5, 7, 9/ 6, 8
X Y	JP 2011-038903 A (Kanto Chemical Co., Inc.), 24 February 2011 (24.02.2011), entire text; particularly, paragraphs [0026], [0032] (Family: none)	9 6, 7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"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
"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)		"&" document member of the same patent family
"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		
Date of the actual completion of the international search 11 October, 2013 (11.10.13)	Date of mailing of the international search report 22 October, 2013 (22.10.13)	
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/070775

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2002-502979 A (BIO-RAD Pasteur), 29 January 2002 (29.01.2002), entire text; particularly, claims; paragraphs [0013], [0045] & EP 1051623 A & WO 1999/040442 A1 & FR 2774473 A & FR 2774473 A1	9 6,7
Y	JP 62-071860 A (Gruppo Lepetit S.p.A.), 02 April 1987 (02.04.1987), entire text & GB 8522388 A & GB 8522388 A0 & EP 221282 A2 & DE 3680072 C & DE 3680072 D & NO 863493 A & AT 64997 E & NZ 217502 A & PT 83299 A & AU 6232186 A & FI 863637 A & CA 1276880 A & DK 429386 A & HU 41904 A & IL 79924 A & ZA 8606643 A & AT 64997 T	8
Y	JP 10-506184 A (Beckman Instruments, Inc.), 16 June 1998 (16.06.1998), entire text & US 5627080 A & EP 774117 A & WO 1996/004555 A1 & DE 69530210 D & DE 69530210 T & CA 2196204 A & ES 2196073 T	8
A	JP 2008-157931 A (Sekisui Medical Co., Ltd.), 10 July 2008 (10.07.2008), entire text; particularly, claims; paragraphs [0026], [0027] (Family: none)	1,3-9
A	JP 06-300761 A (Eiken Chemical Co., Ltd.), 28 October 1994 (28.10.1994), entire text (Family: none)	1,3-9
A	JP 2012-078161 A (Shino-Test Corp.), 19 April 2012 (19.04.2012), entire text (Family: none)	1,3-9

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2013/070775

<b>Box No. II</b>	<b>Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)</b>
<p>This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <p>1. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:</p> <p>2. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 2 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: See extra sheet.</p> <p>3. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).</p>	
<b>Box No. III</b>	<b>Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)</b>
<p>This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:</p> <p>1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.</p> <p>2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.</p> <p>3. <input type="checkbox"/> 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.:</p> <p>4. <input type="checkbox"/> 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.:</p> <p><b>Remark on Protest</b></p> <p><input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</p> <p><input type="checkbox"/> 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.</p> <p><input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.</p>	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2013/070775

Continuation of Box No.II-2 of continuation of first sheet(2)

In the invention described in claim 2, a matter that, in the method for avoiding the occurrence of a non-specific reaction in a latex aggregation inhibition method, "the non-specific reaction is a non-specific reaction in which aggregation that usually occurs when a substance to be tested is absent in a sample to be tested does not occur" is specified.

However, from the statements mentioned above, it is quite unclear as to what types of non-specific reactions are defined particularly.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2013/070775									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/543(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/543											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2013年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2013年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2013年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2013年	日本国実用新案登録公報	1996-2013年	日本国登録実用新案公報	1994-2013年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2013年										
日本国実用新案登録公報	1996-2013年										
日本国登録実用新案公報	1994-2013年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/REGISTRY (STN)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
X/Y	JP 2007-121204 A (デンカ生研株式会社) 2007.05.17, 全文、特に、段落【0004】、【0005】、【0010】、【0011】、【0013】、【0014】、【0019】等参照 (ファミリーなし)	1, 3, 4, 5, 7, 9/ 6, 8									
X Y	JP 2011-038903 A (関東化学株式会社) 2011.02.24, 全文、特に、段落【0026】、【0032】等参照 (ファミリーなし)	9 6, 7									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの									
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 11.10.2013		国際調査報告の発送日 22.10.2013									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 草川 貴史	2 J 4075								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3252									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 7 0 7 7 5
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	JP 2002-502979 A (ピオーラド・パストゥール) 2002. 01. 29, 全文、特に、 【特許請求の範囲】、段落【0013】、【0045】等参照 & EP 1051623 A & WO 1999/040442 A1 & FR 2774473 A & FR 2774473 A1	9 6, 7
Y	JP 62-071860 A (グルポ・レパチツト・エス・ピー・エイ) 1987. 04. 02, 全 文等参照 & GB 8522388 A & GB 8522388 A0 & EP 221282 A2 & DE 3680072 C & DE 3680072 D & NO 863493 A & AT 64997 E & NZ 217502 A & PT 83299 A & AU 6232186 A & FI 863637 A & CA 1276880 A & DK 429386 A & HU 41904 A & IL 79924 A & ZA 8606643 A & AT 64997 T	8
Y	JP 10-506184 A (ベックマン インストルメンツ インコーポレーテッド) 1998. 06. 16, 全文等参照 & US 5627080 A & EP 774117 A & WO 1996/004555 A1 & DE 69530210 D & DE 69530210 T & CA 2196204 A & ES 2196073 T	8
A	JP 2008-157931 A (積水メディカル株式会社) 2008. 07. 10, 全文、特に、 【特許請求の範囲】、段落【0026】、【0027】等参照 (ファミリーな し)	1, 3-9
A	JP 06-300761 A (栄研化学株式会社) 1994. 10. 28, 全文等参照 (ファミリ ーなし)	1, 3-9
A	JP 2012-078161 A (株式会社シノテスト) 2012. 04. 19, 全文等参照 (ファミ リーなし)	1, 3-9

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2013/070775

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求項 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、
2.  請求項 2 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、別紙参照
3.  請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2009年7月)

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2013/070775

## 第 I I 欄 2.

請求項 2 に係る発明では、ラテックス凝集阻害法における非特異的反応を回避する方法として「非特異的反応が、被検試料中に被検物質が存在しないときに生じるべき凝集が生じないという非特異反応である」という事項が特定されている。しかしながら、当該記載からでは、非特異反応として、具体的にどのようなものを定義しているのか全く不明である。

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
<b>C 0 8 L 79/02</b>	<b>(2006.01)</b>	C 0 8 L 71/02	
		C 0 8 L 79/02	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, 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, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

Fターム(参考) 4J002 CH021 CH051 CM011 FD201 GB00 HA04

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	乳胶凝集抑制免疫方法		
公开(公告)号	<a href="#">JPWO2014021387A1</a>	公开(公告)日	2016-07-21
申请号	JP2014528199	申请日	2013-07-31
[标]申请(专利权)人(译)	积水医疗株式会社		
申请(专利权)人(译)	积水医疗有限公司		
[标]发明人	服部惠子 北野壮一 川本道子		
发明人	服部 惠子 北野 壮一 川本 道子		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/545 G01N33/53 C08L101/00 C08L71/02 C08L79/02		
CPC分类号	G01N33/54313 G01N33/54393 C08G2650/58 C08L71/02 C08L2203/02 G01N33/5306 G01N2400/00		
FI分类号	G01N33/543.581.J G01N33/543.583 G01N33/545.B G01N33/53.G C08L101/00 C08L71/02 C08L79/02		
F-TERM分类号	4J002/CH021 4J002/CH051 4J002/CM011 4J002/FD201 4J002/GB00 4J002/HA04		
优先权	2012170603 2012-07-31 JP		
其他公开文献	JP6334401B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明的目的是提供一种能够避免在抑制聚集的LTIA中不发生应该发生的聚集的非特异性反应的方法。在选自聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物，聚氧乙烯烷基醚，聚氧乙烯脂肪酸酯和多价季胺聚合物化合物中的一种或多种化合物存在下的胶乳聚集抑制测量 通过执行该方法，提供了一种避免胶乳聚集抑制方法中的非特异性反应的方法。

(19) 日本国特許庁 (JP)	再公表特許(A1)	(11) 国際公開番号
発行日 平成28年7月21日 (2016. 7. 21)		WO2014/021387
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/543 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/543 5 8 1 J	4 J 0 0 2
<b>GO 1 N 33/545 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/543 5 8 3	
<b>GO 1 N 33/53 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/545 B	
<b>CO 8 L 101/00 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/53 G	
<b>CO 8 L 71/02 (2006. 01)</b>	CO 8 L 101/00	
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 24 頁) 最終頁に続く	
出願番号 特願2014-528199 (P2014-528199)	(71) 出願人 390037327	
(21) 国際出願番号 PCT/JP2013/070775	積水メディカル株式会社	
(22) 国際出願日 平成25年7月31日 (2013. 7. 31)	東京都中央区日本橋3丁目1番5号	
(31) 優先権主張番号 特願2012-170603 (P2012-170603)	(74) 代理人 110000774	
(32) 優先日 平成24年7月31日 (2012. 7. 31)	特許業務法人 もえぎ特許事務所	
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(72) 発明者 服部 惠子	
	東京都中央区日本橋三丁目1番5号 積水メディカル株式会社内	
	(72) 発明者 北野 壮一	
	東京都中央区日本橋三丁目1番5号 積水メディカル株式会社内	
	(72) 発明者 川本 道子	
	東京都中央区日本橋三丁目1番5号 積水メディカル株式会社内	
	最終頁に続く	
(54) 【発明の名称】 ラテックス凝集阻害免疫法		