

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02010/021399

発行日 平成24年1月26日 (2012.1.26)

(43) 国際公開日 **平成22年2月25日 (2010.2.25)**

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/531 (2006.01)	GO 1 N 33/531	B
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 14 頁)

出願番号	特願2010-525725 (P2010-525725)	(71) 出願人	591125371 デンカ生研株式会社
(21) 国際出願番号	PCT/JP2009/064729		東京都中央区日本橋茅場町三丁目4番2号
(22) 国際出願日	平成21年8月24日 (2009.8.24)	(74) 代理人	100088546 弁理士 谷川 英次郎
(31) 優先権主張番号	特願2008-214513 (P2008-214513)	(72) 発明者	皆川 康紀
(32) 優先日	平成20年8月22日 (2008.8.22)		新潟県五泉市大字木越字鏡田1359-1 デンカ生研株式会社 鏡田工場内
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シスタチンC吸着抑制剤

(57) 【要約】

要約

シスタチンCの容器への吸着を簡便な方法で抑制し、シスタチンCの測定精度を向上させることができる方法が開示されている。非イオン型界面活性剤を含有するシスタチンC吸着抑制剤、該吸着抑制剤を含むシスタチンC測定試薬及びシスタチンC測定キットを提供した。また、非イオン型界面活性剤の存在下でシスタチンCを含有する試料を測定器具と接触させることを含む、シスタチンCの吸着抑制方法を提供した。前記非イオン型界面活性剤は、好ましくはポリオキシエチレン型界面活性剤である。あるいは、前記非イオン型界面活性剤は、好ましくはフェノキシ構造、より好ましくはベンジルフェノキシ構造を有する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

非イオン型界面活性剤を含有するシスタチン C 吸着抑制剤。

【請求項 2】

前記非イオン型界面活性剤がポリオキシエチレン型界面活性剤である請求項 1 記載のシスタチン C 吸着抑制剤。

【請求項 3】

前記非イオン型界面活性剤がフェノキシ構造を有する請求項 1 又は 2 記載のシスタチン C 吸着抑制剤。

【請求項 4】

前記非イオン型界面活性剤がベンジルフェノキシ構造を有する請求項 3 記載のシスタチン C 吸着抑制剤。

【請求項 5】

請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載のシスタチン C 吸着抑制剤を含有するシスタチン C 測定試薬。

【請求項 6】

請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載のシスタチン C 吸着抑制剤を含むシスタチン C 測定キット。

【請求項 7】

非イオン型界面活性剤の存在下でシスタチン C を含有する試料を測定器具と接触させることを含む、シスタチン C の吸着抑制方法。

【請求項 8】

前記非イオン型界面活性剤がポリオキシエチレン型界面活性剤である請求項 7 記載の吸着抑制方法。

【請求項 9】

前記非イオン型界面活性剤がフェノキシ構造を有する請求項 7 又は 8 記載の吸着抑制方法。

【請求項 10】

前記非イオン型界面活性剤がベンジルフェノキシ構造を有する請求項 9 記載の吸着抑制方法。

【請求項 11】

前記非イオン型界面活性剤の存在量が 0.001 ~ 10w/v% である請求項 7 ないし 10 のいずれか 1 項に記載の吸着抑制方法。

【請求項 12】

前記非イオン型界面活性剤の存在量が 0.01 ~ 5w/v% である請求項 11 記載の吸着抑制方法。

【請求項 13】

前記測定器具がプラスチック製容器である請求項 7 ないし 12 のいずれか 1 項に記載の吸着抑制方法。

【請求項 14】

請求項 7 ないし 13 のいずれか 1 項に記載の吸着抑制方法により、前記測定器具へのシスタチン C の吸着を抑制する工程を含む、試料中のシスタチン C の測定方法。

【請求項 15】

免疫測定法により行なわれる請求項 14 記載の測定方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、シスタチン C 吸着抑制剤及びシスタチン C の吸着抑制方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

10

20

30

40

50

シスタチンCは全身の有核細胞からcystein proteaseとして産生されている。シスタチンCはシスタチンスーパーファミリーに属し、分子量 13kD の塩基性低分子タンパク質である。臨床検査では、クレアチニンに替わる腎機能のマーカーとして注目されている(非特許文献1参照)。臨床検査では、一度に多数の検体を扱うため、自動化による正確なシスタチンCの定量手段が必要である。

【0003】

シスタチンCの定量方法として、抗ヒトシスタチンC抗体を結合させたラテックスを用い、ラテックス凝集比濁法で可視光の吸収又は散乱を測定する方法(特許文献1参照)や、酵素標識法で測定する方法(特許文献2参照)等が知られている。

【0004】

また、尿中に排泄されたシスタチンC濃度及び内因性クリアランス物質であるクレアチニン濃度を測定することにより、シスタチンC濃度とクレアチニン濃度の比を算出し、これらを用いることを特徴とする腎疾患の検査方法が知られている(特許文献3参照)。

【0005】

特許文献4には、硫酸エステル塩系及びスルホン酸塩系の陰イオン性界面活性剤を1種又は2種以上用いることを特徴とする、免疫反応測定用プロゾーン現象抑制剤を用いたシスタチンCの定量方法が記載されている。

【0006】

シスタチンCはその物性からプラスチックやガラスなど容器に吸着しやすいことが指摘されている。自動分析装置では市販のプラスチック容器を使用することが多く、臨床的なシスタチンC測定では、シスタチンCがプラスチック容器に吸着することによる測定精度低下を防ぐことが重要とされている。シスタチンCの容器への吸着を抑制する方法として、容器自体を表面処理する手段が考えられるが、表面処理した専用容器が必要となり、コスト高になるという問題がある。

【0007】

このように、簡単な操作で、正確に自動測定できるシスタチンCの定量方法が必要とされており、シスタチンCの容器への吸着を簡便な方法で抑制する手段が求められている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】特開2000 - 193662号公報

【特許文献2】特許第03342819号公報

【特許文献3】特許第03398372号公報

【特許文献4】特開2003 - 149244号公報

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】斎藤憲祐、"第13回生物試料分析科学学会大会 シスタチンCの測定と臨床学的意義"、[online]、平成15年3月14日、[平成20年2月8日検索]、インターネット<URL:http://www.higo.ne.jp/anal-bio-sci13/NewFiles/saitou.html>

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、シスタチンCの容器への吸着を簡便な方法で抑制する手段を提供し、シスタチンCの測定精度を向上させることを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本願発明者らは、鋭意研究の結果、非イオン型の界面活性剤にシスタチンCのプラスチック容器への吸着を抑制する効果があることを見出し、本願発明を完成した。

【0012】

すなわち、本発明は、非イオン型界面活性剤を含有するシスタチンC吸着抑制剤を提供

10

20

30

40

50

する。また、本発明は、上記本発明のシスタチンC吸着抑制剤を含有するシスタチンC測定試薬を提供する。さらに、本発明は、上記本発明のシスタチンC吸着抑制剤を含むシスタチンC測定キットを提供する。さらに、本発明は、非イオン型界面活性剤の存在下でシスタチンCを含有する試料を測定器具と接触させることを含む、シスタチンCの吸着抑制方法を提供する。さらに、本発明は、上記本発明の吸着抑制方法により、前記測定器具へのシスタチンCの吸着を抑制する工程を含む、試料中のシスタチンCの測定方法を提供する。

【発明の効果】

【0013】

本発明によれば、測定系内に非イオン型界面活性剤を共存させるという簡便な方法により、プラスチック製容器等の測定器具へのシスタチンCの吸着を効果的に抑制することができる。多数の検体を同時に扱う臨床検査では、通常、プラスチック製の測定容器を用いた自動測定システムにより被測定物の測定が行なわれるが、本発明によれば、このような自動測定システムによりシスタチンCを測定する場合にも、容易な操作で正確な値を測定できるようになるので、臨床応用上非常に有用である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

「シスタチンC吸着抑制剤」とは、溶液中のシスタチンCが測定器具に吸着するのを抑制する剤をいう。該吸着抑制剤は、特に、プラスチック製の器具への吸着を抑制するのに好適に用いることが出来る。なお、本発明において、「測定器具」とは、シスタチンCの測定のための一連の操作において用いられる種々の器具類を指し、例えば自動分析装置に含まれる検体試料と接触する部材も包含される。具体的には、例えばプレート、セル等の容器、ピペット、チップ等が挙げられるが、これらに限定されない。また、本発明において、「プラスチック製の器具」と言った場合、器具全体がプラスチックから成るもののみならず、シスタチンC含有試料と接触する表面のみがプラスチックから成るものも包含される。例えば、「プラスチック製容器」には、少なくとも容器内壁がプラスチックから成るものが広く包含される。「プラスチック」は特に限定されず、実験器具類に従来用いられているポリプロピレンやポリスチレン等の合成樹脂をいう。

【0015】

本発明で用いられる非イオン型界面活性剤としては、例えば第2級アルコールエトキシレート、ポリオキシエチレンクミルフェニルエーテル、p-イソオクチルポリオキシエチレンフェノールホルムアルデヒドポリマー、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多環フェニルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルプロピレンジアミン、ノニルフェノールエトキシレート、オクチルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル、ポリオキシエチレン誘導体、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリオキシエチレンオキシプロピレンブロックポリマー、ラウリルアルコールアルコキシレート、ポリオキシエチレンラウリルエーテル、ポリオキシエチレンモノオレエート、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレンジスチレン化フェニルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレンオクタデシルアミン、ポリオキシエチレンステアリルエーテル、ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンオレイルエーテル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンベンジルフェニルエーテル、ポリオキシエチレントリベンジルフェニルエーテル等のポリオキシエチレン型や、脂肪族リン酸エステル等のリン酸エステル型、アルキルアルキローラアミド等のアミド型の非イオン型界面活性剤が挙げられるが、これらに限定されない。非イオン型界面活性剤は、1種類のみであってもよく、また2種類以上の混合物であってもよい。下記実施例に具体的に示される通り、非イオン型界面活性剤をシスタチンC含有試料に添加すると、シスタチンCがプラスチック器具に吸着する量を低下させることができる。イオン型界面活性剤ではこのような効果は得られない(比較例参照)。

【0016】

非イオン型界面活性剤の中でも、ポリオキシエチレン型の界面活性剤の場合、試料中のシスタチンCが容器器壁に吸着する量が特に少ないので、より好ましい。また、フェノキシ構造を親油基として有する非イオン型界面活性剤も好ましい。中でも、本発明で用いる非イオン型界面活性剤としては、ポリオキシエチレンベンジルフェニルエーテルやポリオキシエチレントリベンジルフェニルエーテル等のベンジルフェノキシ構造を親油基として有する非イオン型界面活性剤が最も好ましい。ここで、ベンジルフェノキシ構造とはPh-CH₂-Ph-O-構造であって、Phはフェニル基であり、フェニル基又はCH₂基の水素Hの一部はハロゲン又はアルキル基等の置換基で置換していても良い。

【0017】

非イオン型界面活性剤のHLB値(Hydrophile-Lipophile Balance値)は、11~16が好ましく、特に12.5~15がより好ましい。HLB値がこの範囲だと、測定器具へのシスタチンCの吸着を抑制する効果が高い。

10

【0018】

界面活性剤にベンジルフェノキシ構造を採用すると、シスタチンCの吸着を特に効果的に抑制できる理由は定かではないが、直鎖状の親油基中にあるベンジルフェノキシ構造部分が、シスタチンCもしくは測定器具の親油性部位と絡まって、シスタチンCが測定器具に吸着するのを抑制すると考えられる。

【0019】

本発明のシスタチンC吸着抑制剤は、非イオン型界面活性剤のみから成るものであってもよいし、また、非イオン型界面活性剤を緩衝液に溶解した形態であってもよい。緩衝液は特に限定されず、シスタチンCの測定系に悪影響を及ぼさないいずれの緩衝液を用いてもよい。そのような緩衝液としては、例えば、グッド緩衝液、トリス緩衝液、リン酸系緩衝液、炭酸系緩衝液、酢酸系緩衝液、グリシン緩衝液等が使用可能である。グッド緩衝液としては、MES、Bis-Tris、ADA、Bis-Trisプロパン、PIPES、ACES、コラミンクロリド、BES、MOPS、TES、HEPES、HEPPS、Tricine、グリシンアミド、Bicine、TAPS、CHES、CAPS等が好適に用いられる。また、シスタチンC吸着抑制剤は、安定化剤、キレート剤等の公知の添加剤を含んでいてもよい。添加剤の具体例としては、牛血清アルブミンやカゼイン等の安定化剤、EDTA等のキレート剤等が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0020】

本発明のシスタチンC吸着抑制剤は、シスタチンCを含む溶液に添加して用いることができる。シスタチンCを含む溶液としては、生体から分離した検体試料や、シスタチンCの定量に必要な検量線を作成するためのシスタチンC標準液等が挙げられる。生体から分離した試料としては、例えば血液、血清、血漿、尿、便、唾液、組織液、髄液、ぬぐい液やこれらの希釈物が挙げられる。シスタチンC吸着抑制剤の使用量は、溶液中のシスタチンC含有量に応じて適宜選択することができるが、生体由来試料中の含有量は通常0.01~100mg/L程度の範囲内であり、検量線の作成も通常この濃度範囲のシスタチンC標準液を用いて行なわれる。従って、シスタチンC吸着抑制剤の使用量としては、0.01~100mg/LのシスタチンC濃度に適した量が好ましく、具体的には、非イオン型界面活性剤の最終濃度(複数の界面活性剤が用いられる場合はその合計濃度)で0.001~10w/v%が好ましく、0.01~5w/v%がより好ましい。

30

40

【0021】

シスタチンC吸着抑制剤を添加した試料は、公知のシスタチンC測定方法のいずれにも好適に用いることができる。本発明のシスタチンC吸着抑制剤を試料に添加すると、試料中のシスタチンCがプラスチック製容器等の器具に吸着するのを効果的に抑制することができるので、試料中のシスタチンCを正確に測定可能になる。

【0022】

シスタチンCの測定方法としては、シスタチンCに対する抗体を用いた免疫測定が知られている(例えば特許文献1~4及び非特許文献1参照)。シスタチンCは公知のタンパク質であり、シスタチンCに対する抗体も既に知られている。また、免疫測定方法自体は

50

周知の常法であり、そのための試薬類やキットも市販されている。本発明のシスタチンC吸着抑制剤は、そのような市販の測定試薬やキットと組み合わせて提供することができる。すなわち、本発明は、シスタチンC吸着抑制剤を含む測定試薬やキットも提供する。なお、ここでいう「測定試薬」には、検体希釈液、抗体希釈液、洗浄液、酵素液、基質液等の他、上記したシスタチンC標準液も包含される。シスタチンC標準液中に本発明のシスタチンC吸着抑制剤を添加すると、標準液中のシスタチンCを正確に測定できるため、正確な検量線を作成することができる。

【0023】

上記の通り、非イオン型界面活性剤を含有するシスタチンC吸着抑制剤を用いることで、生体試料等の試料中のシスタチンCが測定器具に吸着するのを抑制することができる。すなわち、本発明は、非イオン型界面活性剤の存在下でシスタチンCを含有する試料を測定器具と接触させることを含む、シスタチンCの吸着抑制方法も提供する。ここでいう「吸着抑制方法」とは、プラスチック製容器等の測定器具に試料中のシスタチンCが吸着するのを抑制することを意味する。該吸着抑制方法において用いられる非イオン型界面活性剤、その存在濃度、シスタチンC含有試料の条件は、吸着抑制剤について上記した条件と同様である。

10

【0024】

また、本発明は、上記シスタチンCの吸着抑制方法により、測定器具へのシスタチンCの吸着を抑制する工程を含む、試料中のシスタチンCの測定方法をも提供する。該測定方法は、好ましくは免疫測定法により行なわれる。上記吸着抑制方法を用いることで、シスタチンCの測定精度を高め、試料中のシスタチンCを正確に測定することが可能になる。吸着抑制方法を実施する工程は、試料を測定プレート等の測定容器に接触させる前に行われるのが好ましく、例えば、測定に供する試料を調製する工程で試料と非イオン型界面活性剤とを混合するのが好ましい。なお、本発明において、「測定」という語には、「検出」、「定量」、「半定量」が包含される。

20

【0025】

試料中のシスタチンCの測定自体は、公知のいかなる方法を用いてもよい。例えば、シスタチンCに対する抗体を用いた免疫測定が公知であり（例えば特許文献1～4及び非特許文献1参照）、このような公知の方法を採用することができる。ただし、免疫測定方法自体は上記の通り周知であるから、これらの公知の方法に限定されず、いずれの免疫測定方法をも適用することができる。すなわち、反応形式に基づき分類すると、サンドイッチ法、競合法、凝集法、イムノクロマト法等があり、標識に基づき分類すると、酵素免疫分析、放射免疫分析、蛍光免疫分析、化学発光免疫分析等があるが、これらのいずれもが本発明で言う「免疫測定」に包含され、上記免疫測定法として採用することができる。また、上記した通り、シスタチンCは公知のタンパク質であり、抗シスタチンC抗体も公知であり、市販品も存在するため、入手は容易である。また、公知のタンパク質を遺伝子工学的手法により調製する方法も、公知のタンパク質に対するポリクローナル抗体やモノクローナル抗体等の抗体及び抗原結合性断片（Fab断片やF(ab')₂断片のような、対応抗原に対する結合性を維持している抗体断片）の調製方法も、この分野で周知の常法であるから、当業者であれば、シスタチンCに対する抗体又はその抗原結合性断片を容易に調製することができる。

30

40

【0026】

本発明のシスタチンC測定方法に用いられる試料としては、生体から分離された試料が好ましく、例えば血液、血清、血漿、尿、便、唾液、組織液、髄液、ぬぐい液やこれらの希釈物が挙げられる。本発明の測定方法には、特に血液、血清及び血漿等の血液由来の体液、並びに血液由来の体液の希釈物が好適に用いられる。

【0027】

下記実施例では免疫凝集法が採用されている。以下、免疫凝集法について説明するが、これは本発明の範囲を免疫凝集法に限定することを意図しているものではない。

【0028】

50

免疫凝集法は、抗原抗体反応により生じる反応液の濁度や吸光度のような光学的性質の変化に基づいて、被検試料中の抗原又は抗体を検出又は定量する方法である。免疫凝集法には、免疫比濁法及び免疫比ろ法（ネフェロメトリー）が包含される。免疫凝集法では、金コロイドやラテックス粒子のような感作粒子が用いられる。免疫凝集法では、検体中の抗原と感作粒子の抗体が抗原抗体反応するか、又は検体中の抗体と感作粒子の抗原が抗原抗体反応して、溶液の濁度や吸光度等の光学的性質が変化することを利用して被検物質（本発明ではシスタチンC）の測定を行う。ラテックス粒子を用いる免疫凝集法は、ラテックス凝集法とも呼ばれる。免疫凝集法には、感作粒子の代わりに抗血清を用いる場合もある。

【0029】

本発明のシスタチンC測定方法として免疫凝集法を採用する場合、反応液中の感作粒子の濃度は、通常0.01～0.5%程度であり、反応温度は、通常1～55℃、好ましくは35～40℃で1分間～10分間程度である。反応媒体は特に限定されず、グリシン緩衝液やグットの緩衝液等の各種緩衝液を用いることができる。

【0030】

試料中のシスタチンC濃度は、反応溶液の濁度又は吸光度を測定し、変化の大きさ（エンドポイント法）又は変化の速度（レート法）に基づいて算出される。エンドポイント法は反応の開始前と開始後一定時間測定した濁度若しくは吸光度の変化の大きさに基づき、レート法は反応の開始前及び開始後経時的に測定した濁度若しくは吸光度の変化の大きさに基づく方法である。免疫凝集法は、手動により行なってもよく、公知の自動分析装置を用いてもよい。

【実施例】

【0031】

以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。ただし、本発明は下記実施例に限定されるものではない

【0032】

（サンプル液の調製）

50mM Hepesバッファ（pH7.5）に下記の各界面活性剤を0.1（w/v）%となるように添加したものをベース液とし、各々のベース液にシスタチンC抗原を約1mg/Lの濃度になるように添加して調製サンプル液とした。

【0033】

調製サンプル液を二つの新品の日立自動分析用サンプルカップに移し、一つを「移し替え0回サンプル」とした。もう一つのサンプル液は新しいサンプルカップに移し替え、ボルテックスで十分に攪拌することにより、カップに十分に接触させた。この操作をもう1度繰り返し、計2回の移し替えを行った。このサンプル液を「移し替え2回サンプル」とした。また、比較例としてベース液に界面活性剤を含まないサンプル液を調製し、実施例と同様に吸光度変化量の測定を行った。

【0034】

（使用材料）

非イオン型界面活性剤A：エマルゲン707（花王社製、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを主体）、HLB値12.1

非イオン型界面活性剤B：エマルゲンA-90（花王社製、ポリオキシエチレンジスチレン化フェニルエーテルを主体）、HLB値14.5

非イオン型界面活性剤C：エマルゲンB-66（花王社製、ポリオキシエチレントリベンジルフェニルエーテルを主体）、HLB値13.2

非イオン型界面活性剤D：Tween80（シグマ社製、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレートを主体）、HLB値15.0

陰イオン型界面活性剤A：PS-1（東ソー社製、ポリスチレンスルホン酸ナトリウムを主体）

陰イオン型界面活性剤B：ペレックスNBL（花王、アルキルナフタレンスルホン酸ナトリウ

10

20

30

40

50

ムを主体)

シスタチンC抗原：リコンビナントヒトシスタチンC (DAKO社製)

【0035】

(測定用試薬)

第1試薬：100 mMトリス緩衝液、pH8.5、500 mM塩化ナトリウムを含有。

第2試薬：抗ヒトシスタチンC抗体感作ラテックス浮遊液。

測定方法：日立7180型自動分析装置(日立製作所製、<http://www.hitachi-hitec.com/science/medical/7180.html>参照)により、エンドポイント法で自動測定を行った。

【0036】

(自動分析装置による測定)

前述のシスタチンC測定用試薬を用いて各サンプルのシスタチンC濃度の測定を行った。前述の調製サンプル液3 μ Lに第1試薬230 μ Lを添加し、この混合液を37 $^{\circ}$ Cで攪拌混合した後、5分放置後、第2試薬を50 μ L添加し、更に37 \pm 0.1 $^{\circ}$ Cで攪拌混合した。約5分間の凝集反応を546nmの吸光度変化量として測定し、シスタチンC濃度の比較を行った。あらかじめ既知濃度の試料を同一条件で測定し、シスタチンC濃度と吸光度変化量の関係を用いて検量線を作成した。吸光度変化量の測定、検量線作成、及び定量値の計算は、自動分析装置の付属ソフトウェアで行った。

10

【0037】

以下の計算式で吸着率を算出し、判定基準に従って各検討材料におけるシスタチンCの吸着抑制能を評価した。

20

吸着率 [%] = (移し変え2回サンプル液のシスタチンC濃度 / 移し変え0回サンプル液のシスタチンC濃度 - 1) \times 100

判定基準

(優良) : 吸着率の絶対値が1%以下

(良) : 吸着率の絶対値が10%以下

×(不可) : 吸着率の絶対値が10%超

【0038】

【表 1】

	界面活性剤の種類	界面活性剤の主成分 ()内は界面活性剤の 最終濃度	移し替え処理前後 のシスタチンC濃度 (mg/L)		移し替え前後 のシスタチンC吸着 率 (%)	判定
			0回 (前) A	2回 (後) B	$(B/A-1) \times 100$	
比較例 1	なし	Hepes Buffer(50mM)	0.935	0.695	-25.7	×
実施例 1	非イオン型界面 活性剤A	ポリオキシエチレンアルキル エーテル (0.1%)	0.998	1.015	1.7	○
実施例 2	非イオン型界面 活性剤B	ポリオキシエチレンジスチレ ン化フェニルエーテル (0.1%)	0.943	0.950	0.7	◎
実施例 3	非イオン型界面 活性剤C	ポリオキシエチレントリベン ジルフエニルエーテル (0.1%)	0.954	0.954	0.0	◎
実施例 4	非イオン型界面 活性剤D	ポリオキシエチレンソルビタ ンモノオレエート (0.1%)	0.953	0.936	-1.8	○
比較例 2	陰イオン型界面 活性剤A	ポリスチレンスルホン酸 ナトリウム (0.1%)	0.898	0.703	-21.7	×
比較例 3	陰イオン型界面 活性剤B	アルキルナフタレンスルホン 酸ナトリウム (0.1%)	0.695	0.444	-36.1	×

10

20

注 1 : 吸着率の数値は、絶対値が小さいほうが吸着量が少ない。

【 0 0 3 9 】

(考 察)

非イオン型界面活性剤を用いることで、シスタチンCのサンプルカップへの吸着を簡便に抑制することができた。これにより、自動分析装置を用いて、簡単な操作で、正確にシスタチンCの定量ができることが示された。

30

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2009/064729
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/531(2006.01)i, G01N33/53(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) G01N33/531, G01N33/53 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 1996-2009 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2009 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2009 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Hiroshi ADACHI, "Cystain-C Sokuteiho no Genjo Kin Colloid Gyoshuho ni yoru Cystain-C Sokutei Shiyaku no Genjo to Kongo", Seibutsu Shiryo Bunseki, 2007, Vol.30, No.3, pages 228 to 232, III. 2.	1-15
Y	JP 2004-271226 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 30 September, 2004 (30.09.04), Par. Nos. [0015], [0016], [0063] & US 2005/0008851 A1	1-15
Y	JP 6-66798 A (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 11 March, 1994 (11.03.94), Par. Nos. [0008], [0009] (Family: none)	1-15
<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: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 04 September, 2009 (04.09.09)		Date of mailing of the international search report 29 September, 2009 (29.09.09)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/064729

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 9-68529 A (Sanyo Chemical Industries, Ltd.), 11 March, 1997 (11.03.97), Par. Nos. [0002], [0003], [0007] (Family: none)	1-15
Y	WO 2002/086492 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 31 October, 2002 (31.10.02), Background Art & US 2004/0185572 A1 & EP 1382964 A1	1-15
Y	REBESKI D E, WINGER E M, SHIN Y-K, LELENTA M, ROBINSON M M, VARECKA R, CROWTHER J R, Identification of unacceptable background caused by non-specific protein adsorption to the plastic surface of 96-well immunoassay plates using a standardized enzyme-linked immunosorbent assay procedure, J Immunol Methods, 1999, Vol.226, No.1/2, Page.85-92, Abstract	1-15
Y	Hiroshi NAKAYAMA, Ken YAMAMOTO, Koji TAKIO, "Proteomics no Tameno Biryō Tanpakushitsu Handling", Chromatography, 2001, Vol.22, pages 95 to 96, Ketsuron	1-15
Y	Xy Weigi, Kazumi UCHIYAMA, Toshiyuki HOBŌ, "Microchip Technology ni yoru Bunri Bunseki", Chromatography, 2001, Vol.22, pages 7 to 8, Abstract	1-15
A	JP 2003-149244 A (Azwel, Inc.), 21 May, 2003 (21.05.03), Par. Nos. [0017], [0029], [0034] (Family: none)	1-15
A	JP 10-332697 A (Toyobo Co., Ltd.), 18 December, 1998 (18.12.98), Par. No. [0006] (Family: none)	1-15

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2009/064729									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/531(2006.01)i, G01N33/53(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. G01N33/531, G01N33/53											
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>1971-2009年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2009年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2009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	1971-2009年	日本国実用新案登録公報	1996-2009年	日本国登録実用新案公報	1994-2009年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2009年										
日本国実用新案登録公報	1996-2009年										
日本国登録実用新案公報	1994-2009年										
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)											
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									
Y	足立浩, シスタチンC測定法の現状 金コロイド凝集法によるシスタチンC測定試薬の現状と今後, 生物試料分析, 2007, Vol. 30, No. 3, Page. 228-232, III, 2.	1-15									
Y	JP 2004-271226 A (富士写真フイルム株式会社) 2004.09.30, 【0015】【0016】【0063】 & US 2005/0008851 A1	1-15									
Y	JP 6-66798 A (日本化薬株式会社) 1994.03.11, 【0008】【0009】 (ファミリーなし)	1-15									
<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 「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 「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 「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) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「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 「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 「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 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 04.09.2009		国際調査報告の発送日 29.09.2009									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 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) 三木 隆	2J 3312								
		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 0 9 / 0 6 4 7 2 9
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
Y	JP 9-68529 A (三洋化成工業株式会社) 1997. 03. 11, 【0002】【0003】【0007】 (ファミリーなし)	1-15
Y	WO 2002/086492 A1 (中外製薬株式会社) 2002. 10. 31, 背景技術 & US 2004/0185572 A1 & EP 1382964 A1	1-15
Y	REBESKI D E, WINGER E M, SHIN Y-K, LELENTA M, ROBINSON M M, VARECKA R, CROWTHER J R, Identification of unacceptable background caused by non-specific protein adsorption to the plastic surface of 96-well immunoassay plates using a standardized enzyme-linked immunosorbent assay procedure, J Immunol Methods, 1999, Vol. 226, No. 1/2, Page. 85-92, Abstract	1-15
Y	中山洋, 山本賢, 瀧尾擴士, プロテオミクスのための微量タンパク質ハンドリング, Chromatography, 2001, Vol. 22, Page. 95-96, 結論	1-15
Y	徐偉, 内山一美, 保母敏行, マイクロチップテクノロジーによる分離分析, Chromatography, 2001, Vol. 22, Page. 7-8, Abstract	1-15
A	JP 2003-149244 A (株式会社アズウェル) 2003. 05. 21, 【0017】【0029】【0034】 (ファミリーなし)	1-15
A	JP 10-332697 A (東洋紡績株式会社) 1998. 12. 18, 【0006】 (ファミリーなし)	1-15

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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, KM, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(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)	胰抑素C吸附抑制剂		
公开(公告)号	JPWO2010021399A1	公开(公告)日	2012-01-26
申请号	JP2010525725	申请日	2009-08-24
[标]申请(专利权)人(译)	电化生研株式会社		
申请(专利权)人(译)	デンカ生研株式会社		
[标]发明人	皆川康紀		
发明人	皆川 康紀		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/54393 G01N2333/8139		
FI分类号	G01N33/531.B G01N33/53.D		
代理人(译)	谷川荣次郎		
优先权	2008214513 2008-08-22 JP		
其他公开文献	JP5653216B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了一种方法，通过该方法可以以简单的方式抑制半胱氨酸蛋白酶抑制剂C在容器上的吸附，从而提高半胱氨酸蛋白酶抑制剂C的测量精度。包含吸附抑制剂的胰抑素C测定试剂；和半胱氨酸蛋白酶抑制剂C测量套件。还提供了抑制半胱氨酸蛋白酶抑制剂C的吸附的方法，该方法包括在非离子表面活性剂存在下使含半胱氨酸蛋白酶抑制剂C的样品与测量仪器接触。前述非离子表面活性剂优选为聚氧乙烯型表面活性剂。或者，上述非离子表面活性剂优选具有苯氧基结构，更优选苄基苯氧基结构。

【表1】

	界面活性剤の種類	界面活性剤の主成分 ()内は界面活性剤の最終濃度	移し替え処理前後のシスチンC濃度 (mg/L)		移し替え前後のシスチンC吸着率 (%)	判定
			0回(前)	2回(後)		
比較例 1	なし	Hepes Buffer(50mM)	0.935	0.695	-25.7	×
実施例 1	非イオン型界面活性剤A	ポリオキシエチレンアルキルエーテル (0.1%)	0.998	1.015	1.7	○
実施例 2	非イオン型界面活性剤B	ポリオキシエチレンジスチレン化フェニルエーテル (0.1%)	0.943	0.950	0.7	◎
実施例 3	非イオン型界面活性剤C	ポリオキシエチレントリベンジルフェニルエーテル (0.1%)	0.954	0.954	0.0	◎
実施例 4	非イオン型界面活性剤D	ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (0.1%)	0.953	0.936	-1.8	○
比較例 2	陰イオン型界面活性剤A	ポリスチレンスルホン酸ナトリウム (0.1%)	0.898	0.703	-21.7	×
比較例 3	陰イオン型界面活性剤B	アルキルナフタレンスルホン酸ナトリウム (0.1%)	0.695	0.444	-36.1	×