

(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2001 - 201503

(P2001 - 201503A)

(43)公開日 平成13年7月27日(2001.7.27)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト* (参考)
G 0 1 N 33/48		G 0 1 N 33/48	A 2 G 0 4 5
C 1 2 Q 1/61		C 1 2 Q 1/61	4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/531		G 0 1 N 33/531	B
33/92		33/92	Z

審査請求 未請求 請求項の数 15 O L (全 10数)

(21)出願番号 特願2000 - 10357(P2000 - 10357)

(22)出願日 平成12年1月17日(2000.1.17)

(71)出願人 000002004

昭和電工株式会社

東京都港区芝大門1丁目13番9号

(72)発明者 澤柳 豊治

神奈川県川崎市川崎区扇町5番1号 昭和電

工株式会社総合研究所川崎研究室内

(72)発明者 佐藤 元

神奈川県川崎市川崎区扇町5番1号 昭和電

工株式会社総合研究所川崎研究室内

(74)代理人 100094237

弁理士 矢口 平

最終頁に続く

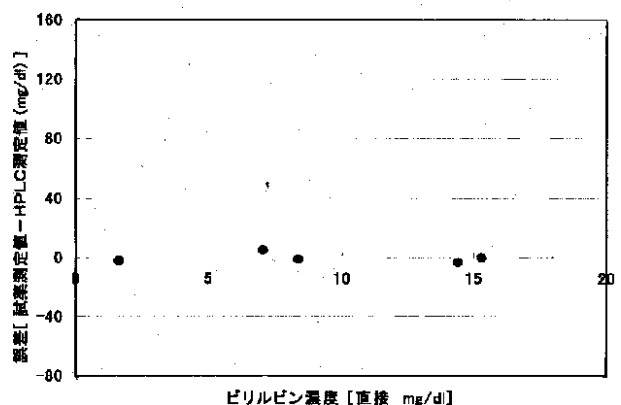
(54)【発明の名称】 高分子化合物を用いて測定妨害を回避する方法

(57)【要約】

【課題】臨床検査分野において今まで個別的に考えられていた検体由来の測定値誤差を包括的に解決する方法の提供。

【解決手段】血清や尿などの生体成分中の特定成分を測定する方法において、水溶性高分子化合物を添加することにより、光学的測定を妨害する不溶性物質を生成することなく、疎水性を有する検体由来する生体成分による測定妨害を回避する方法。

図1 (実施例1) / ビリルビンの影響

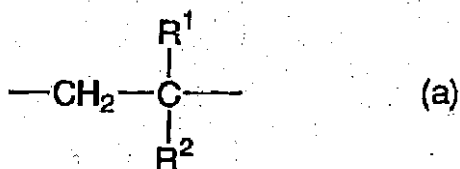


【特許請求の範囲】

【請求項1】生体成分中の特定成分を測定する方法において、高分子化合物を添加することにより、光学的測定を妨害する不溶性物質を生成させることなく、疎水性生体成分による測定妨害を回避する方法。

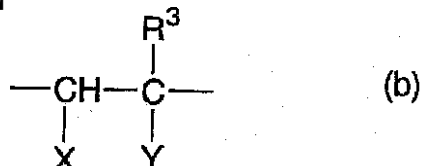
【請求項2】高分子化合物が、下記一般式(a)

【化1】



及び式(b)

【化2】



の繰り返し単位[式中、R¹は炭素数4～30のアルキル基、R²及びR³は独立に水素原子あるいはメチル基であり、Xは水素原子又はCOOHであり、YはCOOH、SO₃H、PO(OH)₂を有する基又はそれらから誘導される基である。]である請求項1に記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項3】上記繰り返し単位(a)と(b)の比率が、30:70～70:30である請求項2に記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項4】高分子化合物の質量平均分子量が5,000～500,000である請求項1ないし3のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項5】試料に添加する高分子化合物の濃度が0.001～1%の範囲である請求項1ないし4のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項6】高分子化合物の共存下において、反応pHが5～10の範囲である請求項1ないし5のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項7】高分子化合物が、炭素数6～32の1-オレフィンとマレイン酸、アクリル酸又はメタクリル酸の共重合体、及びそれらの酸アミドからなる群より選ばれる1種以上の化合物であることを特徴とする請求項1ないし6のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項8】疎水性生体成分による測定妨害が、ピリルピンによる反応干渉、蛋白質による反応干渉、又は脂質もしくは高級脂肪酸の反応干渉のいずれかひとつ以上である請求項1ないし7のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項9】リポ蛋白質分画の直接測定、トリグリセラ*50

*イド、リン脂質、遊離脂肪酸、酵素活性もしくは血糖等の生化学的測定、又はラテックス等を用いた比濁法からなる群より選ばれる1種又は2種以上の測定に用いることを特徴とする請求項1ないし8のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

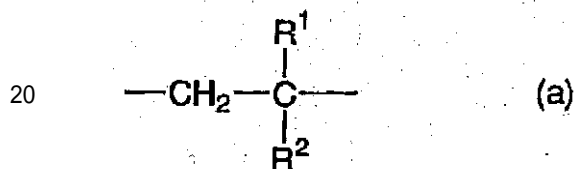
【請求項10】リポ蛋白質分画の直接測定において用いることを特徴とする請求項9に記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項11】ラテックス等を用いた比濁法等の免疫学的測定において用いることを特徴とする請求項9に記載の測定妨害を回避する方法。

【請求項12】脂質及び/又は疎水性蛋白質を含む検体あるいは抗生物質等の疎水性投与薬剤の混入した検体の測定に用いることを特徴とする請求項1ないし11のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

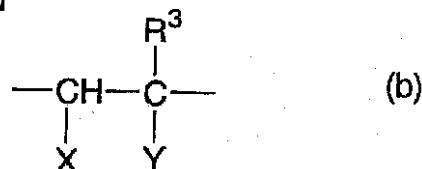
【請求項13】下記一般式(a)

【化3】



及び式(b)

【化4】



の繰り返し単位[式中、R¹は炭素数4～30のアルキル基、R²及びR³は独立に水素原子あるいはメチル基であり、Xは水素原子又はCOOHであり、YはCOOH、SO₃H、PO(OH)₂を有する基又はそれらから誘導される基である。]を有する高分子化合物および検出試薬を含んでなる臨床診断用試薬。

【請求項14】検出試薬として、少なくとも検出用酵素、緩衝液、及び色素もしくは補酵素から構成される請求項13に記載の臨床診断用試薬。

【請求項15】検出試薬として、少なくとも抗体または受容体を担持したラテックス、及び緩衝液から構成され、比濁法に用いることを特徴とする請求項13に記載の臨床診断用試薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、主として臨床検査分野での使用を目的とし、血清や尿等の生体成分中の特定成分を測定する際に生じる、測定対象である特定成分以外の生体成分による測定妨害を回避する方法に関す

る。

【0002】

【従来の技術】近年自動分析装置を用いた生化学検査をはじめとする検体検査が多項目にわたり日常的に行われている。その際、血清や尿等の検体中の検査目的となる特定成分の検査値が、検査目的である特定成分以外の検体成分に影響され不正確な値をとることが問題となっている（新訂3版臨床検査研修ハンドブック 2 薬事日報社 P.324-331）。

【0003】これらの問題は検体成分が直接又は間接的に現行の測定方法を妨害することにより起こる。例えば、ビリルビン、血清蛋白質又は高脂血による混濁、さらに投与薬剤等の検体成分等は直接的な妨害要因であり、リポ蛋白質分画の直接測定系の測定過程で生じる脂質分解物等は間接的な妨害要因である。

【0004】検体由来のビリルビンが比色測定法に干渉することはよくあるが、特に酸化酵素 - パーオキシダーゼ - 発色剤系の反応に干渉し、各種の生化学検査測定の正確性にしばしば大きな影響を与えることが報告されている（特開平6-14799号公報）。

【0005】ビリルビンの影響を回避するための従来技術を大別すると、酸化酵素等によりビリルビンを不活性にする方法、錯体等によりビリルビンを反応系外に除去する方法等がある。前者の例としては、ビリルビンオキシダーゼ等を反応系に添加してビリルビンを消去する方法（特公昭55-25840号公報）やビリルビンオキシダーゼの発色剤に対する作用を強く阻害するがビリルビンに対する作用はほとんど阻害しない物質をビリルビンオキシダーゼと共に使用する事でビリルビンを消去する方法（特開平06-04799号公報）があるが、酵素法は費用効果の点で問題がある。また後者の例として、EDTA - 鉄錯体を添加する方法（特開昭57-71398号公報）やポリマーと水不溶性錯体とを結合させて水性溶液から除去する方法（特開平05-249106号公報）等があるが、いずれも不溶性の沈降物を形成するため、近年臨床検査分野で多用される、分離操作を行わずに測定したい特定成分を定量的に色素に変換し光学的に測定する方法には不向きである。

【0006】検体蛋白質の影響としては、血清アルブミンがアミラーゼ活性測定に影響する場合や血清蛋白分画に異常をきたした血清検体やイムノグロブリンが高値の検体では生化学検査測定時の濁度増加（いわゆる膠質反応等）の問題がある（新訂3版臨床検査研修ハンドブック 2 薬事日報社 P.324、P.271及び日本臨床検査自動化学会誌 1998 vol.23 No4 P.319）。これらの問題は蛋白質の疎水性に起因すると考えられるが包括的に解決する手段は提示されておらず未解決の状態である。

【0007】また、脂質分解物の影響では、酵素法によるリポ蛋白分画コレステロールの測定系で、エステル型*

*コレステロールの加水分解と、副反応としての検体中の中性脂肪の加水分解により疎水性の高い高級脂肪酸の生成は避けられない。主に界面活性剤の作用でリポ蛋白質の選択性を実現するように設計されたり蛋白分画の直接測定系では、副次的に生成した高級脂肪酸が有する界面活性作用のため酵素の選択性を維持することが困難になり、目的とするリポ蛋白質コレステロールの測定精度が低下する傾向があるが、現状技術ではこのような脂質分解物の妨害回避についてはまだ十分ではなかった。

【0008】また、従来技術として検体の変質や検体成分の影響を回避する目的で、多くの採取方法、検体容器や保存方法が工夫されているが、これらの方法はいずれも検体由来の測定値誤差を生じる原因を本質的に解決できるものではない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、かかる状況に鑑みてなされたものであり、臨床検査分野において今まで個別的に考えられていた検体由来の測定値誤差を包括的に解決する方法の提供、具体的には、検体頻度が高く検査値に大きな影響を及ぼすビリルビン、蛋白質、脂質やその分解物である高級脂肪酸といった疎水性生体成分による影響を回避してより正確な測定値を得る方法及び試薬を提供するものである。

【0010】

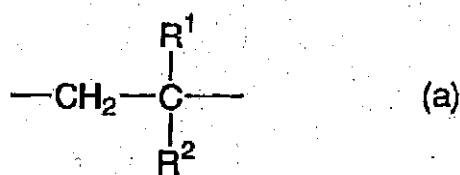
【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記のような臨床検査の測定値に対して異常値を与える疎水性生体成分の影響を包括的に取り除くべく鋭意研究を重ねた結果、式(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物[式中、R¹は炭素数4~30のアルキル基、R²及びR³は独立に水素原子あるいはメチル基であり、Xは水素原子又はCOOHであり、YはCOOH、SO₃H、PO(OH)₂を有する基又はそれらから誘導される基である。]を共存させることにより、上記課題を解決することができることを見だし本発明を完成するに至った。すなわち本発明は次の事項に関する。

[1] 生体成分中の特定成分を測定する方法において、高分子化合物を添加することにより、光学的測定を妨害する不溶性物質を生成させることなく、疎水性生体成分による測定妨害を回避する方法。

[2] 高分子化合物が、式(a)

【0011】

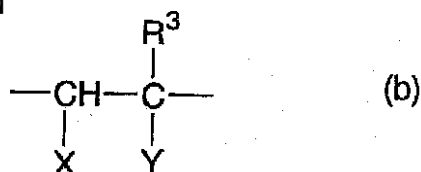
【化5】



及び式(b)

【0012】

【化6】



の繰り返し単位[式中、R¹は炭素数4～30のアルキル基、R²及びR³は独立に水素原子あるいはメチル基であり、Xは水素原子又はCOOHであり、YはCOOH、SO₃H、PO(OH)₂を有する基又はそれらから誘導される基である。]である上記[1]に記載の測定妨害を回避する方法。

[3]上記繰り返し単位(a)と(b)の比率が、30:70～70:30である上記[2]に記載の測定妨害を回避する方法。

[4]高分子化合物の質量平均分子量が5,000～500,000である上記[1]ないし[3]のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

[5]試料に添加する高分子化合物の濃度が0.001～1%の範囲である上記[1]ないし[4]のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

[6]高分子化合物の共存下において、反応pHが5～10の範囲である上記[1]ないし[5]のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

[7]高分子化合物が、炭素数6～32の1-オレフィンとマレイン酸、アクリル酸又はメタクリル酸の共重合体、及びそれらの酸アミドからなる群より選ばれる1種以上の化合物であることを特徴とする上記[1]ないし[6]のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

[8]疎水性生体成分による測定妨害が、ピリルピンによる反応干渉、蛋白質による反応干渉、又は脂質もしくは高級脂肪酸の反応干渉のいずれかひとつ以上である上記[1]ないし[7]のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

[9]リポ蛋白質分画の直接測定、トリグリセライド、リン脂質、遊離脂肪酸、酵素活性もしくは血糖等の生化学的測定、又はラテックス等を用いた比濁法からなる群より選ばれる1種又は2種以上の測定に用いることを特徴とする上記[1]ないし[8]のいずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

[10]リポ蛋白質分画の直接測定において用いることを特徴とする上記[9]に記載の測定妨害を回避する方法。

[11]ラテックス等を用いた比濁法等の免疫学的測定において用いることを特徴とする上記[9]に記載の測定妨害を回避する方法。

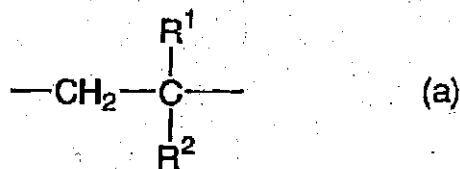
[12]脂質及び/又は疎水性蛋白質を含む検体あるいは抗生物質等の疎水性投与薬剤の混入した検体の測定に用いることを特徴とする上記[1]ないし[11]のい

ずれかに記載の測定妨害を回避する方法。

[13]下記一般式(a)

【0013】

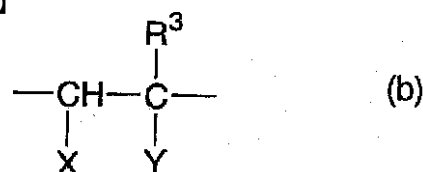
【化7】



及び式(b)

【0014】

【化8】



の繰り返し単位[式中、R¹は炭素数4～30のアルキル基、R²及びR³は独立に水素原子あるいはメチル基であり、Xは水素原子又はCOOHであり、YはCOOH、SO₃H、PO(OH)₂を有する基又はそれらから誘導される基である。]を有する高分子化合物を含んでなる臨床診断用試薬。

[14]検出試薬として、少なくとも検出用酵素、緩衝液、及び色素もしくは補酵素から構成される上記[13]に記載の臨床診断用試薬。

[15]検出試薬として、少なくとも抗体または受容体を担持したラテックス、及び緩衝液から構成され、比濁法に用いることを特徴とする上記[13]に記載の臨床診断用試薬。

【0015】

【発明の実施の形態】本発明は、測定時に検体と一緒に上記の疎水性と親水性を兼ね備える水溶性高分子化合物を何らかの形で関与させる事により、検体中に含まれる多様な疎水性を有する生体成分の妨害を包括的に回避するという優れた特徴を有するものである。

【0016】類似の作用を示す高分子化合物については既に多数開示されている。例えば、特開平6-213899号公報において開示されている水溶性櫛型ポリマーはリポ蛋白質凝集物を形成して反応液の濁度を上昇させる点で、特開平9-121895号公報で開示されているアクリル酸/メタクリル酸とラウリルアクリレートとのコポリマーは作用特性で、それぞれ本発明の高分子化合物と異なる。さらにヘパリン、デキストラン硫酸、リントングステン酸等の凝集剤は、アルカリ土類金属の共存下でのみ凝集活性が発現し、やはり不溶性の凝集物を形成するという点において本発明の高分子化合物とは明確に異なるものである。

【0017】本発明の高分子化合物は、構造上疎水性と親水性を適度に兼ね備えるため、標的とする疎水性妨害物質との相互作用により妨害物質を測定系に閉鎖しにくい形態にして妨害を回避するばかりでなく、それ自身又は検体由来のタンパク質やリポ蛋白質とも光学的測定を妨害する凝集塊を形成しないという優れた特徴を有するものである。

【0018】本発明において上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物は、高級アルキル基を有するモノマー単位と、アニオン性基を有するモノマー単位から構成される水溶性高分子化合物である。

【0019】アルキル基(R¹)としては、炭素数が4以上のものが好ましく、ブチル、シクロヘキシル、オクチル、ドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル基等が例示できるが、これらの中でも効果の点から特にドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル基が好ましい。

【0020】またYとしてはCOOH、CONH₂、CONHC₂H₄OH、CONHNH₂、CH₂COOH、COOC₂H₄COOH、COOC₂H₄SO₃H、COOC₂H₂PO(OH)₂、CONHC₂H₂SO₃H、CH₂OC₂H₆SO₃H等が挙げられ、これらの中でもCOOH、CONH₂、CONHC₂H₄OH、CONHNH₂が好ましく用いられる。

【0021】上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する化合物としては、たとえば、炭素数6～32の1-オレフィンとアクリル酸、メタクリル酸又はマレイン酸の共重合体、それらの酸アミド類、エステル類等が挙げられ、これらの中でも特にポリ(1-エイコセン-*co*-マレイン酸)、ポリ(1-ノナデセン-*co*-マレイン酸)、ポリ(1-オクタデセン-*co*-マレイン酸)、ポリ(1-ヘプタデセン-*co*-マレイン酸)、ポリ(1-ヘキサデセン-*co*-マレイン酸)、ポリ(1-ペンタデセン-*co*-マレイン酸)、ポリ(1-テトラデセン-*co*-マレイン酸)、ポリ(1-トリデセン-*co*-マレイン酸)、及びそれらの酸アミド、ポリ(1-エイコセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-ノナデセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-オクタデセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-ヘプタデセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-ヘキサデセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-ペンタデセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-テトラデセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-トリデセン-*co*-アクリル酸エステル)、ポリ(1-ドデセン-*co*-アクリル酸エステル)ポリ(1-エイコセン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-ノナデセン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-オクタデセン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-ヘプタデセン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-ヘキサデセン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-ペンタデ

セン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-テトラデセン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-トリデセン-*co*-メタクリレート)、ポリ(1-ドデセン-*co*-メタクリレート)が好ましい。

【0022】また、上記繰り返し単位(a)と(b)の比率は30:70～70:30であるが、繰り返し単位(a)と(b)以外の他の繰り返し単位を含んでいても構わない。繰り返し単位(a)と(b)の比率が、上記範囲を外れた場合は、妨害回避効果が低下するため好ましくない。

【0023】液体クロマトグラフィーで測定した上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物の質量平均分子量は、5,000～500,000が好ましく、より好ましくは10,000～100,000である。高分子化合物の質量平均分子量が5,000未満では妨害回避効果が低下するため好ましくなく、また500,000を超えると溶液粘度を著しく上げるため実用上好ましくない。

【0024】上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物の濃度は試料中の妨害物質に依存するが、血清あるいは血漿に用いる場合には0.001～1%がよく、好ましくは0.1～0.3%の範囲である。高分子化合物の濃度が0.001%未満の場合は十分な妨害回避効果が得られないため好ましくなく、1%を超えると特定物質の測定系に酵素を使用する場合、酵素の活性に影響する場合があるため好ましくない。

【0025】上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物はその効果発現に際しアルカリ土類金属の共存を必要としない。従ってアルカリ土類金属を添加する必要はないが、特に制限されるものではない。

【0026】本発明において、試料に上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物を接触させる際のpHは、5～10の範囲において行うが、本発明の高分子化合物の効果をより高めるためには6～9のpH範囲が好ましく、6～8がより好ましい。反応時のpHが5未満の場合は、高分子の溶解度が低下するため好ましくなく、10を超える場合は、現行の生化学検査において検出系に酵素を用いる場合、酵素の安定性を低下させるため好ましくない。

【0027】本発明において用いるpH緩衝剤には特に制限はなく、設定したpHに対応するpKaを持つ1～200mMのpH緩衝剤により調節することができる。用いるpH緩衝剤としては、N-(2-2ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-(2-エタンスルフォネート)(HEPES)、ピペラジン-N,N'-(2-エタンスルフォネート)(PIPES)、3-(N-モルフォリノ)プロパンスルフォネート(MOPS)等が例示できる。

【0028】また本発明においては、上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物の作用に影

響しないものであれば任意の物質を共存させることができる。例えば、塩化ナトリウム、リン酸カリウム等の塩類、血清アルブミン等の蛋白質、アスコルビン酸オキシダーゼ、パーオキシダーゼ、カタラーゼ等の酵素、色素原体等が挙げられる。さらに、上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物の作用に干渉しないものであれば、界面活性剤等を共存させることも可能である。

【0029】本発明において、ビリルビンによる反応干渉とは、生体成分中の特定成分を測定する場合、ビリルビンが一連の測定系の反応に干渉して結果として測定値の精度を低下させる場合を指す。例えば、ビリルビンは酸化酵素 - パーオキシダーゼ - 発色剤系の反応に干渉し、各種の生化学検査測定 of の正確性にしばしば大きな影響を与えるがこれらの干渉は本発明により解決可能である。

【0030】また、蛋白質による反応干渉とは、生体成分中の特定成分を測定する場合、蛋白質が一連の測定系の反応に干渉して結果として測定値の精度を低下させる場合を指す。例えば、血清アルブミンはアマラーゼ活性測定に影響する場合があるがこれらの干渉は本発明により解決可能である。

【0031】さらに、脂質もしくは高級脂肪酸による反応干渉とは、生体成分中の特定成分を測定する場合、脂質もしくは高級脂肪酸が一連の測定系の反応に干渉して結果として測定値の精度を低下させる場合を指す。例えば、酵素法によるリポ蛋白分画コレステロールの測定系では、コレステロールエステラーゼに対して、中性脂質は基質であるコレステロールエステルと競争的に作用してコレステロールエステルの加水分解反応に干渉する。またその際コレステロールエステラーゼの作用で疎水性の高い高級脂肪酸が、エステル型コレステロールの加水分解の他、副反応として検体中の中性脂肪の加水分解によっても多量に生成するが、それらはリポ蛋白検出特異性を攪乱する主要因となる。これらの反応干渉も本発明により解決可能である。

【0032】本発明が適用される測定項目としては特に限定はないが、適用例としては、リポ蛋白分画、トリグリセリド、リン脂質、遊離脂肪酸、酵素活性、血糖等の生化学的測定が挙げられ、また、近年免疫学的測定で多用されているラテックス等を用いた比濁法等が挙げられる。

【0033】本発明が適用される濁度増加により測定妨害をおこす検体として次のような例が挙げられる。高脂検体、イムノグロブリン高値検体、抗生物質等の疎水性投与薬剤の混入した検体は、検体と検出試薬との混合でしばしば混濁をおこすため、光学的な測定において正確な測定を妨害する要因となる。また、比濁法では光学的な測定と同様の検体要因の他にリュウマトイド因子等の自己抗体も検体由来の濁度増加をおこし正確な測定を妨

害する要因となる。これらの濁度増加による妨害の解決にも本発明が有用である。

【0034】また、光学的な測定では検体に起因する色の影響もしばしば受ける。例えばビリルビン高値検体では、クレアチニンの比色測定に正誤差を与えるが、これらも本発明により解決可能である。

【0035】本発明の臨床診断用試薬は、上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物および検出試薬から構成される。例えばリポ蛋白分画、トリグリセリド、リン脂質、遊離脂肪酸、血糖等を目的とする臨床診断用試薬の場合には一般に酵素法が用いられるが、高分子化合物とともに用いられる検出試薬は、少なくとも検出用酵素、緩衝液、及び色素もしくは補酵素から構成される。さらに所望により界面活性剤を含んでも構わない。

【0036】また、酵素活性の測定を目的とする場合の検出試薬は、少なくとも前記高分子化合物、基質、緩衝液及び色素もしくは補酵素から構成される。

【0037】さらに、本発明において比濁法を用いる臨床診断用試薬としては、少なくとも前記高分子化合物、抗体または受容体を担持したラテックス及び緩衝液から構成される。比濁法を用いる臨床診断用試薬は、緩衝液中に高分子を添加した溶液と検体を接触させ、次いで抗体または受容体を担持したラテックス試液と接触させて用いる。

【0038】

【実施例】以下、本発明を実施例を挙げてさらに詳細に説明するが、本発明はこれら実施例によりなから限定されるものではない。

【0039】(製造例)市販の1-オクタデセン-c o -無水マレイン酸0.1gを100mlの1N水酸化ナトリウム溶液に懸濁して70℃で2時間加熱した後、1N塩酸でpH7.0に中和して透析膜で12時間脱塩することにより上記(a)及び(b)の繰り返し単位を有する高分子化合物を得た。

【0040】以下に示す実施例1~3及び比較例1~3で、LDLコレステロール測定法を例に本発明の効果を示す。

(LDLコレステロール測定法の試薬組成)

1) 試薬A

0.05% コール酸Na、0.05% ポリ(1-オクタデセン-c o -マレイン酸)、0.75u/ml Pseudomonas属微生物由来のコレステロールエステラーゼ、3.0u/ml 微生物由来のコレステロールオキシダーゼ、200u/ml カタラーゼ、1mM T O O S、5u/ml アスコルビン酸オキシダーゼ、150mM NaCl、30mM M O P S pH7

2) 試薬B

試薬Aから、1-オクタデセン-c o -マレイン酸を除いた以外はすべて同様に調製した試薬。

3) 試薬C

0.04 M NaN_3 、0.2% エマルゲン104P、2.4% ノニドットP-40、10 $\mu\text{m l}$ パーオキシダーゼ、3.0mM 4-アミノアンチピリン、150mM NaCl 、30mM MOPS pH7

【0041】(LDL-コレステロールの測定方法)実施例1~3について、日立7070型自動分析装置(株式会社日立製作所製)を用いて、血清を被検試料としてLDLコレステロールを測定した。37において試薬Aを添加後約5分間反応させてLDL以外のリポ蛋白質を消去した後(第1工程)、試薬Cを添加してLDL-コレステロールを反応させる(第2工程)。吸光度変化(550nm/700nm)を測定して、濃度既知のリポ蛋白質コレステロールキャリブレーター(試料プランク=精製水)を用いて血清中のLDLコレステロール濃度を算出した。

【0042】比較例1~3については、本発明の高分子化合物を含まない試薬Bを用いたこと以外は実施例と同様の方法で同一血清のLDL値を測定した。

【0043】対照法として、反応液体クロマトグラフィー法で同一血清のLDLコレステロールを定量した。Shodex(昭和電工株式会社登録商標)KW-804カラム(昭和電工株式会社製)を用い150mM磷酸緩衝液(pH7.0)を溶離液として血清中のリポ蛋白質を分離し、カラム出口に溶出液とコレステロール検出液を混合させる反応コイルを接続して、反応コイル中でカラム溶出液とコレステロール検出液混合物を45で3分間反応させた後に、550nmの吸光度を測定することによってリポ蛋白質各分画のコレステロール量を測定した。

【0044】なお、コレステロール検出液はPseudomonas属微生物由来のコレステロールエステラーゼ(10U/ml)、Pseudomonas属微生物由来のコレステロールオキシダーゼ(10U/ml)、パーオキシダーゼ(20U/ml)、4-アミノアンチピリン(2mM)及びTOOS(2mM)を含む0.5% Triton X-100溶液であり、溶出液と1:1に混合するように反応コイルへの流入量を調節した。クロマトグラム中のピークは超遠心法によって分離したHDL、LDL、VLDL分画を用いて同定した。また、同法によるLDL-コレステロール値は検体への添加法によりビリルビン等の妨害物質の影響を受けない事を予め確認した。

【0045】(実施例1~3及び比較例1~3)本発明*

*の高分子化合物を添加した測定妨害回避方法を用いた場合を実施例1~3に、本発明の測定妨害回避方法における高分子を添加しない場合を比較例1~3に示す。実施例1及び比較例1では、ビリルビン高値検体を用い、実施例2及び比較例2はグロブリン(IgM)高値検体を用い、実施例3及び比較例3は中性脂肪高値検体を用いた。

【0046】横軸に検体中の各成分の濃度、縦軸に試薬測定値とHPLC測定値との誤差をとり、本発明の効果を調べた結果を図1~6に示す。結果、本発明の高分子化合物を添加した系である実施例1~3は、ビリルビン、グロブリン、中性脂肪の影響をほとんど受けないことがわかる。

【0047】一方、本発明の高分子化合物未添加の系である比較例1~3は、ビリルビン、中性脂肪では濃度依存的に正の誤差が認められ、グロブリンでは濃度依存ではないが全般的に誤差が大きくなる傾向が見られた。

【0048】

【発明の効果】本発明の高分子化合物を用いた妨害回避方法により、臨床検査において測定誤差を生じる原因となる疎水性を有する生体成分による影響を回避して、より正確な測定値を得られるため、特に生化学的検査や免疫学的検査等の臨床診断の分野に有用である。

【0049】

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明を応用した場合のビリルビン高値検体に関する試薬測定値と液体クロマトグラフィー値との測定差の一例を示す散布図である。

【図2】本発明を応用しない場合のビリルビン高値検体に関する試薬測定値と液体クロマトグラフィー値との測定差の一例を示す散布図である。

【図3】本発明を応用した場合のグロブリン(IgM)高値検体に関する試薬測定値と液体クロマトグラフィー値との測定差の一例を示す散布図である。

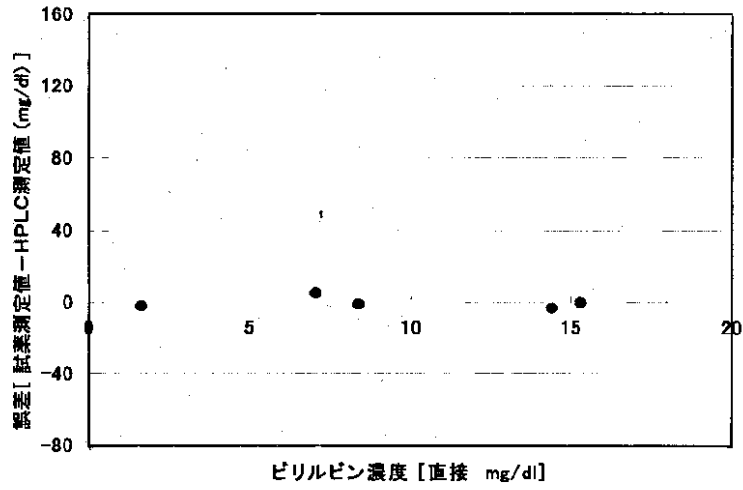
【図4】本発明を応用しない場合のグロブリン(IgM)高値検体に関する試薬測定値と液体クロマトグラフィー値との測定差の一例を示す散布図である。

【図5】本発明を応用した場合の中性脂肪高値検体に関する試薬測定値と液体クロマトグラフィー値との測定差の一例を示す散布図である。

【図6】本発明を応用しない場合の中性脂肪高値検体に関する試薬測定値と液体クロマトグラフィー値との測定差の一例を示す散布図である。

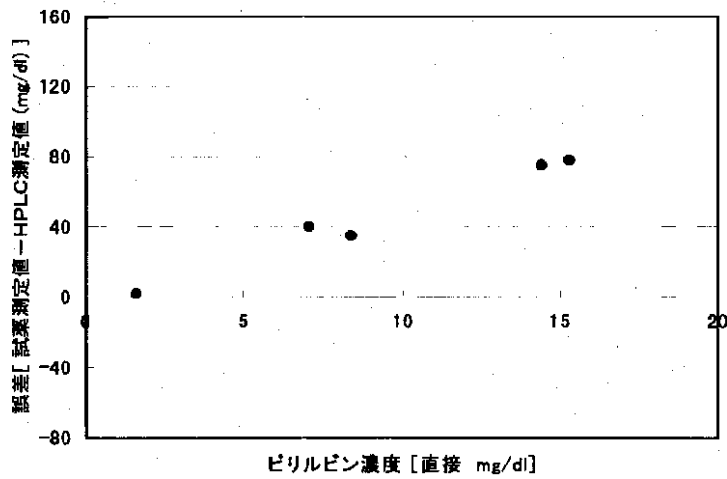
【図1】

図1 (実施例1) / ビリルビンの影響



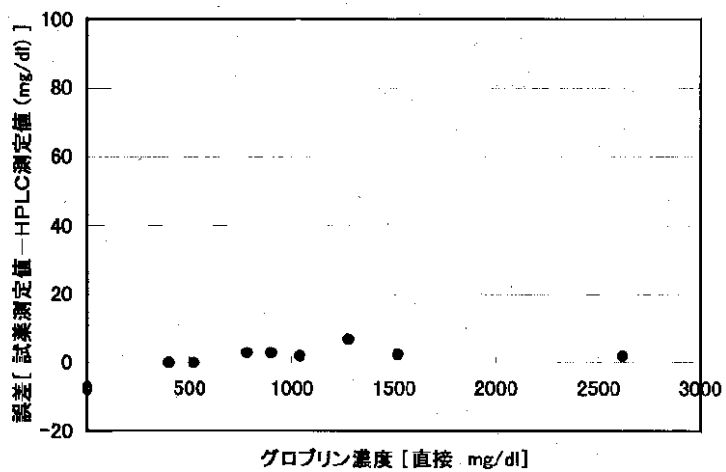
【図2】

図2 (比較例1) / ビリルビンの影響



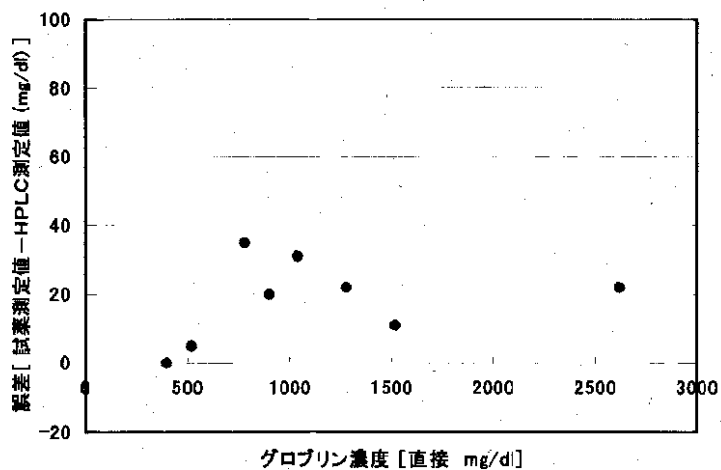
【図3】

図3 (実施例2) / グロブリン(IgM)の影響



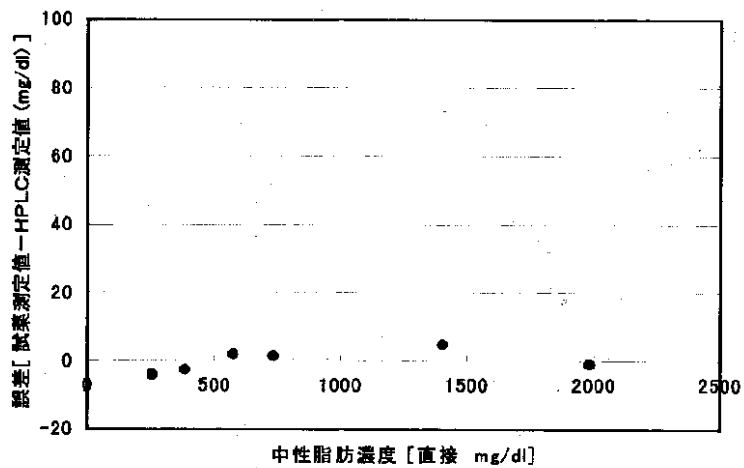
【図4】

図4 (比較例2) / グロブリン(IgM)の影響



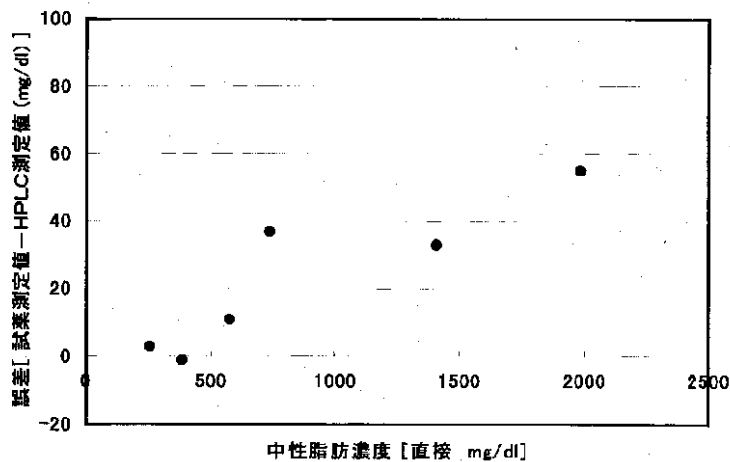
【図5】

図5 (実施例3) / 中性脂肪の影響



【図6】

図6 (比較例3) / 中性脂肪の影響



フロントページの続き

(72)発明者 小山 珠美
 神奈川県川崎市川崎区扇町5番1号 昭和
 電工株式会社総合研究所川崎研究室内

Fターム(参考) 2G045 AA01 BB10 BB29 BB31 BB50
 CA26 DA64 FB01 FB03 FB06
 GC10
 4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ70 QQ73
 QQ76 QQ79 QR03 QR10 QR12
 QR23 QR41 QR48 QR51 QR66
 QS02 QS20 QX01

专利名称(译)	使用高分子化合物避免测量干扰的方法		
公开(公告)号	JP2001201503A	公开(公告)日	2001-07-27
申请号	JP2000010357	申请日	2000-01-17
[标]申请(专利权)人(译)	昭和电工株式会社		
申请(专利权)人(译)	昭和电工株式会社		
[标]发明人	澤柳豊治 佐藤元 小山珠美		
发明人	澤柳 豊治 佐藤 元 小山 珠美		
IPC分类号	C12Q1/61 G01N33/48 G01N33/531 G01N33/92		
FI分类号	G01N33/48.A C12Q1/61 G01N33/531.B G01N33/92.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA01 2G045/BB10 2G045/BB29 2G045/BB31 2G045/BB50 2G045/CA26 2G045/DA64 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB06 2G045/GC10 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ70 4B063/QQ73 4B063/QQ76 4B063/QQ79 4B063/QR03 4B063/QR10 4B063/QR12 4B063/QR23 4B063/QR41 4B063/QR48 4B063/QR51 4B063/QR66 4B063/QS02 4B063/QS20 4B063/QX01		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种方法，用于解决由临床检查领域中迄今为止单独考虑的样本引起的测量值的误差。解决方案：在血清和尿液等生物成分中的特定成分的测量方法中，通过添加水溶性高分子化合物而不产生不溶性物质，可以避免由具有疏水性的样品导致的生物成分的测量干扰光学测量。

図1 (実施例1) / ビリルビンの影響

