

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成26年7月24日(2014.7.24)

【公開番号】特開2012-233754(P2012-233754A)

【公開日】平成24年11月29日(2012.11.29)

【年通号数】公開・登録公報2012-050

【出願番号】特願2011-101595(P2011-101595)

【国際特許分類】

G 01 N 33/48 (2006.01)

G 01 N 21/64 (2006.01)

G 01 N 21/49 (2006.01)

C 12 Q 1/02 (2006.01)

【F I】

G 01 N 33/48 M

G 01 N 33/48 P

G 01 N 21/64 F

G 01 N 21/49 Z

C 12 Q 1/02

【手続補正書】

【提出日】平成26年6月11日(2014.6.11)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

生体試料と、核酸を染色可能な蛍光色素を含有する第1試薬と、赤血球を溶血させ、白血球の細胞膜に前記蛍光色素が透過できる程度の損傷を与えるための、カチオン性界面活性剤およびノニオン性界面活性剤、ならびに20 mM以上50 mM以下の濃度で芳香族の有機酸を含有する第2試薬とを混合して測定試料を調製する工程；

調製された測定試料に光を照射し、そのときに生じる散乱光情報および蛍光情報を取得する工程；および

取得された散乱光情報および蛍光情報に基づいて、前記生体試料中の白血球を分類するとともに、芽球と異型リンパ球とを区別して検出する工程；  
を含み、

前記第2試薬中の芳香族の有機酸の濃度が20 mM以上30 mM未満の場合は前記第2試薬のpHが5.5以上6.4以下であり、前記第2試薬中の芳香族の有機酸の濃度が30 mM以上50 mM以下の場合は前記第2試薬のpHが5.5以上7.0以下である白血球の分類計数方法。

【請求項2】

前記芳香族の有機酸が、芳香族カルボン酸、芳香族スルホン酸およびそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1つである請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記第2試薬中の芳香族の有機酸の濃度が、40 mM以上50 mM以下である請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記第2試薬中のpHが、5.5以上6.2以下である請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 5】

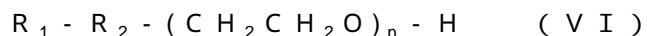
前記散乱光情報が、側方散乱光情報である請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記カチオン性界面活性剤が、第四級アンモニウム塩型界面活性剤、またはピリジニウム塩型界面活性剤である請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記ノニオン性界面活性剤が、以下の一般式 (V I) :



(式中、R<sub>1</sub>は炭素数 8～25 のアルキル基、アルケニル基またはアルキニル基であり；

R<sub>2</sub>は酸素原子、-COO- または

## 【化 1】



であり；

n は 10～50 の整数である)

で表されるポリオキシエチレン系ノニオン界面活性剤である請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 8】

核酸を染色可能な蛍光色素を含有する第 1 試薬と、

赤血球を溶血させ、白血球の細胞膜に前記蛍光色素が透過できる程度の損傷を与えるための、カチオン性界面活性剤およびノニオン性界面活性剤、ならびに 20 mM 以上 50 mM 以下の濃度で芳香族の有機酸を含有する第 2 試薬とを含み、

前記第 2 試薬中の芳香族の有機酸の濃度が 20 mM 以上 30 mM 未満の場合は前記第 2 試薬の pH が 5.5 以上 6.4 以下であり、前記第 2 試薬中の芳香族の有機酸の濃度が 30 mM 以上 50 mM 以下の場合は前記第 2 試薬の pH が 5.5 以上 7.0 以下である白血球分類試薬キット。

## 【請求項 9】

前記芳香族の有機酸が、芳香族カルボン酸、芳香族スルホン酸およびそれらの塩からなる群より選択される少なくとも 1 つである請求項 8 に記載の試薬キット。

## 【請求項 10】

前記第 2 試薬中の芳香族の有機酸の濃度が 40 mM 以上 50 mM 以下である、請求項 8 または 9 に記載の試薬キット。

## 【請求項 11】

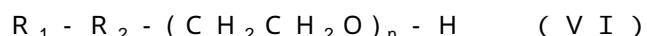
前記第 2 試薬中の pH が、5.5 以上 6.2 以下である請求項 8～10 のいずれか 1 項に記載の試薬キット。

## 【請求項 12】

前記カチオン性界面活性剤が、第四級アンモニウム塩型界面活性剤、またはピリジニウム塩型界面活性剤である請求項 8～11 のいずれか 1 項に記載の試薬キット。

## 【請求項 13】

前記ノニオン性界面活性剤が、以下の一般式 (V I) :



(式中、R<sub>1</sub>は炭素数 8～25 のアルキル基、アルケニル基またはアルキニル基であり；

R<sub>2</sub>は酸素原子、-COO- または

## 【化2】



であり；

nは10～50の整数である）

で表されるポリオキシエチレン系ノニオン界面活性剤である請求項8～12のいずれか1項に記載の試薬キット。

## 【請求項14】

核酸を染色可能な蛍光色素と、カチオン性界面活性剤と、ノニオン性界面活性剤と、芳香族の有機酸とを含む白血球分類試薬であって、

前記試薬に含まれる芳香族の有機酸の濃度が20 mM以上50 mM以下であり、

前記芳香族の有機酸の濃度が20 mM以上30 mM未満の場合はのpHが5.5以上6.4以下であり、前記芳香族の有機酸の濃度が30 mM以上50 mM以下の場合はpHが5.5以上7.0以下であることを特徴とする白血球分類試薬。