201840978

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201840978 A

(43)公開日： 中華民國 107 (2018) 年 11 月 16 日

(21)申請案號：107110499 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 03 月 27 日

(51)Int. Cl.： *G01N33/531 (2006.01)* *G01N33/569 (2006.01)*

(30)優先權：2017/03/27 日本 2017-061335

(71)申請人：日商日本火腿股份有限公司 (日本) NH FOODS LTD. (JP)
日本
國立研究開發法人農業 食品產業技術總合研究機構 (日本) NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION (JP)
日本

(72)發明人：北條江里 HOJO, ERI (JP)；浦山佳那 URAYAMA, KANA (JP)；松本貴之 MATSUMOTO, TAKASHI (JP)；森岡一樹 MORIOKA, KAZUKI (JP)；山川睦 YAMAKAWA, MAKOTO (JP)；吉田和生 YOSHIDA, KAZUO (JP)；菅野徹 KANNO, TORU (JP)；深井克彥 FUKAI, KATSUHIKO (JP)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：3 共 66 頁

(54)名稱

防止因體液所致之抗原抗體反應阻礙的物質

SUBSTANCES PREVENTING INHIBITION OF ANTIGEN-ANTIBODY REACTION CAUSED BY BODY FLUIDS

(57)摘要

本發明之目的是提供一種對於在使用含有體液(尤其是唾液等來自生體黏膜之成分)的試樣之免疫測定法中之抗原抗體反應阻礙為有效的抑制劑，以及抑制在免疫測定法中之偽陽性及偽陰性。

本發明提供一種免疫反應阻礙抑制劑，其係將在免疫測定法中的因試樣中的體液所致的免疫反應阻礙作用予以抑制者。前述免疫反應阻礙抑制劑之特徵係含有以下的(1)及(2)中任一種化合物：(1)「R^1-SO_3H」表示的磺酸化合物或其鹽(式中，R^1 表示直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基、經具有至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基的碳環式芳香族基取代的直鏈狀 C_1 至 C_{30} 烷基、或具有至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基)，(2)「N^+-$R^2R^3R^4R^5$」表示的四級銨離子或其鹽(式中，R^2 至 R^5 分別獨立表示直鏈狀 C_1 至 C_{30} 烷基、或經至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基取代的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基)。

An objective of the present invention is to provide an effective inhibitor against inhibition of antigen-antibody reaction in an immunoassay using a sample containing biological mucosa-derived components such as body fluids, in particular saliva, and to suppress false positives and false negatives in the immunoassay.

The present invention provides an inhibitor against immune reaction inhibition, which suppresses an immune reaction inhibitory action derived from a body fluid in a sample in an immunoassay; the inhibitor against immune reaction inhibition is characterized by including any one of the following compounds (1)

and (2). (1) A sulfonic acid compound represented by [R^1-SO_3H] or a salt thereof (In the formula, R^1 represents a linear C_5 to C_{30} alkyl group, a linear C_1 to C_{30} alkyl group substituted with a carbocyclic aromatic group having at least one linear C_5 to C_{30} alkyl group, or a carbocyclic aromatic group having at least one linear C_5 to C_{30} alkyl group, and these groups may have a substituent), (2) quaternary ammonium ion represented by [N^+-$R^2R^3R^4R^5$] or a salt thereof (In the formula, R^2 to R^5 each independently represent a linear C_1 to C_{30} alkyl group, or a carbocyclic aromatic group substituted with at least one linear C_5 to C_{30} alkyl group, and these groups may have a substituent).

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】（中文/英文）

防止因體液所致之抗原抗體反應阻礙的物質

SUBSTANCES PREVENTING INHIBITION OF ANTIGEN-ANTIBODY REACTION CAUSED BY BODY FLUIDS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於提供一種將在免疫測定法中的因體液成分(尤其是唾液等來自生體黏膜之成分)所致之抗原抗體反應阻礙予以抑制的阻礙抑制物質，以及使用該阻礙抑制物質的迅速、簡便且正確的免疫測定法。

【先前技術】

【0002】 在人類、動物的疾病等的診斷方面，現在開發有各式各樣的簡易檢查法。關於簡易診斷法，係以使用對於欲檢測之對象物質(病原體等)的專一性抗體結合反應(抗原抗體反應)來做診斷的方法為主流，有 ELISA、免疫層析法(immunochromatography)、乳膠凝聚法(latex agglutination)等廣為所知。由於可由患者、患畜採取檢體後迅速且簡便地得到結果，故可在症狀尚為初期狀態下即開始治療，所以，簡易檢查試劑及套組(kit)的重要性係在醫療、畜產的現場為逐年提高。

現在，在人類及家畜的疾病的診斷方面，關於在以一部分的病原體且以由患者採取的咽頭擦拭液等做為檢體而

迅速診斷的方法等簡易診斷法的實用化係有所進展。但是，此僅限於流行性感冒的迅速診斷等一部分的情況，現在能夠診斷的對象還是有限。

其主要原因之一可列舉如：混入檢體中的來自人類/動物的唾液等體液成分會對抗原抗體反應造成不好的影響(偽陽性化、偽陰性化)，而有產生不能正確地得到診斷結果的現象之情況。例如，關於對家畜生產造成重大災害的口蹄疫，因在現場的迅速診斷為很重要，故係將不需使用大型機器的免疫層析法視為必要者，但有由於牛唾液等來自生體黏膜之成分會混入檢體中而引起免疫層析的反應異常並導致不能做正確診斷之問題點。

已知在體液檢體中，尤其是唾液等來自生體黏膜的檢體，其含有大量的來自黏膜免疫系的生體防禦成分，在藉由免疫分析來檢測受驗物質時，會成為偽陰性或偽陽性的原因(專利文獻 1、2)。

【0003】 用於抑制如此之因唾液等體液成分所致之抗原抗體反應阻礙的阻礙抑制物質的研究開發亦日漸興盛，主要是以使用「各種界面活性劑等具有界面活性作用的物質」或「在分子中具有多數個磺酸基、羧基或硫酸基等離子性官能基的分子量大的聚合物」的技術受到注目。已有提案例如：藉由非離子性或兩性界面活性劑，將因唾液中的黏蛋白(mucin)所導致的變形鏈球菌(Mutans streptococci)的凝聚予以可溶化的技術(專利文獻 3)；使用具有磺酸基及/或羧基的陽離子交換樹脂，將來自咽頭之檢

體進行前處理的技術(專利文獻 4)；藉由以具有磺酸基、羧酸基等的疏水性環式單體聚合的聚合物所構成的離子性界面活性劑，抑制血清中的妨礙物質的作用的技術(專利文獻 5)；藉由含有磺酸基或其鹽的共軛二烯系共聚物，抑制血液中的妨礙物質的作用的技術(專利文獻 6)；使用具有 2 個以上的硫酸基的平均分子量 5,000 至 500,000 的的葡聚糖硫酸鹽，抑制來自生體黏膜之成分中的 IgA 等的妨礙作用的技術(專利文獻 1)等。此外，在使用低分子化合物的例子中，已有提案例如：將糞便、唾液等檢體中的血紅素的免疫學測定中的妨礙物質，藉由具有 SH 基的化學物質予以抑制的技術(專利文獻 7)：以及在蛀牙原因細菌的測定、鑑定檢查時，將唾液等口腔內檢體以十二烷基硫酸鈉等陰離子界面活性劑進行處理的方法(專利文獻 2)。再者，已記載有：在測定來自含有 HCV 等病毒的血液之檢體中的病毒抗原時，對於檢體藉由使用含有陰離子性、兩離子性或非離子性界面活性劑的處理液，可有效地從病毒粒子萃取抗原且同時可抑制血清中成分的測定阻礙(專利文獻 8)。

但是，上述任一技術雖對特定的病原體等有限的對象抗原可得到一定的效果，但未能達到可提供對於因唾液等體液成分所致之廣泛抗原抗體反應阻礙為強力的抑制劑，故仍強烈期望能提供可適用於廣泛的蛋白質抗原及包括該抗原之各種病原體的強力的反應阻礙抑制劑。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0004】

[專利文獻 1]日本特開 2014-149189 號公報

[專利文獻 2]日本特開 2009-52945 號公報

[專利文獻 3]日本特開 2002-357599 號公報

[專利文獻 4]日本專利第 4969245 號公報

[專利文獻 5]日本特開 2005-241415 號公報

[專利文獻 6]日本特開平 9-304384 號公報

[專利文獻 7]日本特開 2010-117244 號公報

[專利文獻 8]日本專利第 3171827 號公報

【發明內容】

[發明要解決的課題]

【0005】 本發明係提供在使用體液試樣(尤其是唾液等來自生體黏膜之試樣)時不限於特定的病原體而可應用於廣泛的一般性蛋白質抗原之簡便且正確的免疫測定法；此外，本發明也提供對於在執行該免疫測定法時因所使用的唾液等體液成分所致的抗原抗體反應阻礙之抑制劑。

[解決課題的手段]

【0006】 在本發明中，為了要解決此問題，在體液成分中係著眼於免疫反應阻礙作用強的唾液，設想若是可抑制因唾液成分所致的對於廣泛蛋白質抗原的強力免疫反應阻礙作用之物質，則可成為可適用於「廣泛的病原體、過敏原的檢測、測定技術」之反應阻礙抑制劑。

於是，從多數的個體收集大量分泌的牛唾液來調查各自的免疫反應阻礙活性，使用阻礙活性最高的唾液試樣，

並使用可簡便地確認效果的免疫層析法，進行篩選實驗。此時，檢測對象抗原係選擇彎曲桿菌(Campylobacter)抗原，並使用市售的彎曲桿菌檢測用套組(Campylobacter detection kit)。

首先，嘗試使用以往以唾液等體液試樣在特定的病原體等的免疫反應中經確認過有一定效果的各種界面活性劑，但任一種界面活性劑的效果皆不充分。其次，嘗試使用各種管柱樹脂，雖然具有磺酸基的強酸性陽離子交換樹脂的效果為特別高，但其會因乾燥而使性能劣化等，有效果不安定的缺點。

繼而，為了檢討具有磺酸基的強酸性陽離子交換樹脂的效果的安定化，而將樹脂的雜質以免疫層析用展開液予以清洗，使用檢測口蹄疫抗原的免疫層析法，計測相對於唾液檢體的對照線(control line)的反應性。同時，為了做比較，對於清洗後的清洗液也進行同樣的計測。結果，令人驚訝的是，清洗液表現出為清洗後的樹脂的約10倍的強力反應性。亦即，在具有磺酸基的強酸性陽離子交換樹脂所觀察到的高免疫阻礙抑制效果，係可解釋是作為在強酸性陽離子交換樹脂製造過程所生成的雜質而混合存在的「具有磺酸基的低分子化合物」所致。

【0007】 於是，對於很可能作為雜質而混合存在的各種低分子磺酸鹽，測定相對於唾液檢體的對照線的反應性及口蹄疫病毒檢測感度，並評估其反應阻礙抑制效果，結果發現具有至少1個碳數5以上的直鏈烷基的脂肪族或

芳香族的磺酸鹽在各種蛋白質抗原的免疫測定法中表現高反應阻礙抑制效果，可防止偽陽性、偽陰性。

此外，搜尋與磺酸鹽同樣具有強的離子性官能基的低分子化合物，對於各種四級銨鹽也確認到同樣的反應阻礙抑制效果。

由上述內容可得知，具有至少1個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基的脂肪族或芳香族磺酸或其鹽以及四級銨離子或其鹽係可用於作為在免疫測定法中因唾液等體液的混入所導致的免疫反應阻礙之抑制劑。

由於得到以上的識見，因而完成本發明。

【0008】 亦即，本發明係如下述。

[1]一種免疫反應阻礙抑制劑，係將在免疫測定法中的因試樣中的體液(尤其是來自生體黏膜的體液)所致的免疫反應阻礙作用予以抑制之免疫反應阻礙抑制劑，係含有以下的(1)及(2)中的任一種化合物；

(1)「R^1-SO_3H」表示的磺酸化合物或其鹽

(式中，R^1 表示直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基、經具有至少1個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基的碳環式芳香族基取代的直鏈狀 C_1 至 C_{30} 烷基、或具有至少1個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基)，

(2)「N^+-$R^2R^3R^4R^5$」表示的四級銨離子或其鹽

(式中，R^2 至 R^5 分別獨立表示直鏈狀 C_1 至 C_{30} 烷基、或經至少1個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基取代的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基)。

在此，本發明的「免疫反應阻礙抑制劑」係指：在利用了用來檢測或測定「可能存在於受驗試樣中的目標抗原(target antigen)」之抗原抗體反應的免疫測定法中，可將因受驗試樣中所含有的或可能含有的體液所致的免疫反應阻礙作用予以顯著抑制的化合物、或含有該化合物作為有效成分的組成物。

[2]如前述[1]所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(1)的式中，R^1係無取代的直鏈狀C_5至C_{20}烷基、經具有直鏈狀C_5至C_{20}烷基的苯基取代的直鏈狀C_1至C_{20}烷基、或經直鏈狀C_5至C_{20}烷基取代的苯基。

[3]如前述[1]所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2至R^5分別獨立為可經碳環式芳香族基取代的直鏈狀C_1至C_{20}烷基、或經至少1個直鏈狀C_5至C_{20}烷基取代的碳環式芳香族基。

[4]如前述[1]所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2至R^5分別獨立為無取代或經苯基取代的直鏈狀C_1至C_{20}烷基、或是經直鏈狀C_5至C_{20}烷基取代的苯基。

[5]如前述[4]所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2至R^5是下述(a)至(e)中的任一種情況：

(a)R^2至R^5中的任一者為可經苯基取代的直鏈狀C_3至C_{20}烷基，其他三者為甲基或乙基的情況；

(b)R^2至R^5中的任一者為甲基或乙基，其他三者為可經苯基取代的直鏈狀C_3至C_{20}烷基的情況；

(c)R^2至R^5全部皆為可經苯基取代的直鏈狀C_3至C_{20}

烷基的情況；

(d)R^2至R^5中的任一者為苄基，其他三者為可經苯基取代的直鏈狀C_3至C_{20}烷基的情況；或者是

(e)R^2至R^5中的任二者為甲基或乙基，其他二者為可經苯基取代的直鏈狀C_6至C_{20}烷基的情況。

[6]如前述[5]所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2至R^5是下述(a)至(e)中的任一種情況：

(a)R^2至R^5中的任一者為直鏈C_3至C_{16}烷基，其他三者為甲基的情況；

(b)R^2至R^5中的任一者為甲基，其他三者為直鏈C_3至C_{12}烷基的情況；

(c)R^2至R^5全部皆為直鏈C_3至C_{12}烷基的情況；

(d)R^2至R^5中的任一者為苄基，其他三者為直鏈C_3至C_{12}烷基的情況；或者是

(e)R^2至R^5中的任二者為甲基，其他二者為直鏈C_3至C_{12}烷基的情況。

[7]如前述[1]、[3]至[6]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)係銨離子的鹽，且為與由鹵化氫、硝酸、六氟磷酸、三氟化二氫及過氯酸所成之群中選出的化合物所構成的鹽。

[8]一種免疫測定方法，係使用前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑。

更具體而言，可為一種方法，係使用目標抗原專一性抗體來檢測或測定存在或可能存在於受驗試樣中的目標抗

原的方法，係包含下述步驟(a)及(b)：

(a)添加前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑的步驟，以及

(b)使受驗試樣與目標抗原專一性抗體接觸的步驟，

在此，前述步驟(a)是與前述步驟(b)同時或在其前實施者，當前述步驟(a)是在前述步驟(b)之前實施時，前述添加步驟係對於由受驗試樣稀釋液、抗體稀釋液、阻斷液(blocking solution)及反應緩衝溶液所成的群中選出的至少 1 者所實施。

[9]一種偽陽性及/或偽陰性經抑制的免疫測定方法，係包含：在用以測定含有來自受驗體的體液(尤其是來自生體黏膜的體液)之試樣中的受驗物質的由 ELISA、免疫層析法、西方印漬法(Western blotting method)、免疫印漬法(immunoblotting method)、免疫沈降法及乳膠凝聚法中選出的任一種免疫測定法中，使用前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑。

更具體而言，可為下述[9a]、[9b]或[9c]的方法。

[9a]一種使用免疫層析法來檢測或測定目標抗原之方法，係包含下述步驟(a)及(b)：

(a)添加前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑的步驟，以及

(b)在膜上使受驗試樣與目標抗原檢測用抗體接觸的步驟，

在此，前述步驟(a)是與前述步驟(b)同時或在其前實施

者，當前述步驟(a)是在前述步驟(b)之前實施時，前述添加步驟係對於由受驗試樣稀釋液、免疫層析展開液、抗體稀釋液、阻斷液、免疫層析用膜的前處理液、結合墊(conjugate pad)固定用溶液及試樣墊(sample pad)固定用溶液所成的群中選出的至少 1 者所實施。

[9b]一種使用 ELISA 來檢測或測定目標抗原之方法，係包含下述步驟(a)及(b)：

(a)添加前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑的步驟，以及

(b)使受驗試樣與目標抗原檢測用抗體接觸的步驟，

在此，前述步驟(a)是與前述步驟(b)同時或不同時實施者，當前述步驟(a)是與前述步驟(b)不同時實施時，前述添加步驟係對於由受驗試樣稀釋液、阻斷液、一次抗體稀釋液、二次抗體稀釋液及清洗用緩衝液所成的群中選出的至少 1 者所實施。

[9c]一種使用由西方印漬法、免疫印漬法、免疫沈降法及乳膠凝聚法中選出的任一種方法來檢測或測定目標抗原之方法，係包含下述步驟(a)及(b)：

(a)添加前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑的步驟，以及

(b)使受驗試樣與目標抗原檢測用抗體接觸的步驟，

在此，前述步驟(a)是與前述步驟(b)同時或在其前實施者，當前述步驟(a)是在前述步驟(b)之前實施時，前述添加步驟係對於由受驗試樣稀釋液、阻斷液、抗體稀釋液及反

應緩衝溶液所成的群中選出的至少 1 者所實施。

[10]如前述[9]所述的方法，其中，含有來自受驗體的體液之試樣係含有由唾液、咳痰、喉擦拭液、鼻擦拭液、鼻腔抽吸液及角結膜擦拭液中選出的至少 1 種來自生體黏膜的體液。

[11]如前述[8]至[10]中任一項所述的方法，其中，受驗物質係由病原體、病原微生物、激素、炎症關連物質、前列腺素(prostaglandin)及代謝症候群(metabolic syndrome)關連物質所成的群中選出的物質。

[12]如前述[11]所述的方法，其中，前述病原體或病原微生物係由口蹄疫病毒、流行性感冒病毒、腺病毒、RS病毒、冠狀病毒、狂犬病病毒、百日咳菌、溶血性鏈球菌、大腸菌、食中毒細菌、砂眼披衣菌(Chlamydia trachomatis)及黴漿菌(mycoplasma)中選出的病原體或病原微生物。

[13]一種免疫測定用套組，係含有前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑。

[14]如前述[13]所述的免疫測定用套組，係用於由ELISA、免疫層析法、西方印漬法、免疫印漬法、免疫沈降法及乳膠凝聚法中選出的任一種免疫測定法之套組。

[15]一種套組，係使用來自受驗體的體液(尤其是來自生體黏膜的體液)並藉由免疫反應來診斷受驗體是否有罹患病原性疾病之套組，

其中，在受驗體液試樣的稀釋劑、展開液、阻斷液中的至少 1 種中添加有前述[1]至[7]中任一項所述的免疫反

應阻礙抑制劑。

[16]如前述[15]所述的套組，其中，病原性疾病係由口蹄疫病毒、流行性感冒病毒、腺病毒、RS病毒、冠狀病毒、狂犬病病毒、百日咳菌、溶血性鏈球菌、大腸菌、食中毒細菌、砂眼披衣菌及黴漿菌中選出的病原體或病原性微生物所引起之疾病。

[發明的效果]

【0009】 藉由在各種免疫測定方法中將本發明的免疫反應阻礙抑制劑用於前處理液或展開液，而可對於唾液等體液試樣或有可能混有唾液等的受驗試樣有效率地抑制其抗原抗體反應的降低。以往，為了要排除唾液等體液的影響而需要做前處理等，但依據本發明，即可不需前處理等也可測定可能混有唾液等體液的檢體，因此，在醫療及畜產的現場可迅速並正確地對應，可期待對於檢查品質的提高及生產性的提高有所貢獻。

尤其是在牛、豬等家畜的疾病診斷方面，關於口蹄疫、流行性感冒病毒等重要疾病的診斷，即使是唾液或鼻喉擦拭液等免疫反應阻礙活性強的受驗試樣，也可使用迅速且簡便的免疫層析套組來正確地診斷。

【圖式簡單說明】

【0010】

第1圖係驗證牛唾液對於免疫層析的阻礙活性。在作為「彎曲桿菌檢測用的免疫層析」的 NH Immunochromato Campylobacter 中，在試驗彎曲桿菌陽性檢體時，對於測試

線(test line)的影響(在使用抗彎曲桿菌抗體來檢測彎曲桿菌時的反應阻礙)以及對於對照線的影響(在使用抗 IgG 抗體來檢測抗口蹄疫抗體時的反應阻礙)。

第 2 圖係在彎曲桿菌檢測用的免疫層析(NH Immunochromato Campylobacter)中，藉由稀釋牛唾液檢體而驗證反應性的恢復可能性。

第 3 圖係使用口蹄疫抗原檢測用的免疫層析來驗證直鏈烷基磺酸鹽對於免疫反應阻礙的抑制效果。添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉 0.3(w/v)%的牛唾液 49 個檢體的口蹄疫病毒檢測試驗結果。

【實施方式】

【0011】

1. 本發明的免疫反應阻礙抑制劑

(1-1)做為本發明的免疫反應阻礙抑制劑使用的化合物

在本發明中記載「免疫反應阻礙抑制劑」時，係指在利用了用來檢測或測定「可能存在於受驗試樣中的目標抗原」的抗原抗體反應之免疫測定法中，將受驗試樣所含有(或可能含有)的體液(尤其是來自生體黏膜的體液)所致的免疫反應阻礙作用予以抑制的化合物、或含有該化合物作為有效成分的組成物。

本發明的免疫反應阻礙抑制劑之一係在分子中具有可經取代的 C_5 以上的直鏈烷基之脂肪族或芳香族磺酸或該等的鹽。

其他一者係在分子中具有可經取代的 C_3 以上的直鏈

烷基之四級銨離子或其鹽，其中任一者都是在分子內有大的電荷偏離度的低分子化合物。

【0012】

(1-2)含有直鏈烷基的磺酸化合物或其鹽

本發明的免疫反應阻礙抑制劑中，含有直鏈烷基的磺酸化合物係指在分子中具有至少1個可經取代的C_5至C_{30}直鏈狀烷基者，其為下述(式1)表示的磺酸化合物或其鹽：

(式1)

「R^1-SO_3H」

(式中，R^1表示直鏈狀C_5至C_{30}烷基、經具有至少1個直鏈狀C_5至C_{30}烷基的碳環式芳香族基取代的直鏈狀C_1至C_{30}烷基、或具有至少1個直鏈狀C_5至C_{30}烷基的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基)。

【0013】 亦即，

(a)可經取代的直鏈狀C_5至C_{30}(較佳為C_7至C_{20}，更佳為C_8至C_{15}，特佳為C_{10}至C_{12})烷基磺酸或其鹽；

(b)具有可經取代的直鏈狀C_5至C_{30}(較佳為C_7至C_{20}，更佳為C_8至C_{15}，特佳為C_{10}至C_{12})烷基的碳環式芳香族(aryl)磺酸或其鹽；

(c)具備「具有可經取代之直鏈狀C_5至C_{30}(較佳為C_7至C_{20}，更佳為C_8至C_{15}，特佳為C_{10}至C_{12})烷基的碳環式芳香族基(aryl)」之直鏈狀C_1至C_{30}(較佳為C_1至C_{20}，更佳為C_1至C_{15}，特佳為C_1至C_{12})烷基磺酸或其鹽。

就直鏈狀C_5至C_{30}烷基而言，雖然可見碳數越大則反

應阻礙抑制效果越高的傾向，但從製造容易度、對測定用試樣的溶解容易度而言，碳數的長度係受到限制。

就碳環式芳香族基(即芳基，aryl group)而言，以苯基或萘基為佳，以苯基為更佳。

【0014】 該等含有直鏈烷基的磺酸化合物亦可具有直鏈烷基以外的取代基，例如只要是鹵分子、羥基、烯基、環烷基、環烯基、烷氧基、醯基、乙醯基、甲醯基、羰基、羧基、胺基、亞胺基、氰基、偶氮基、硝基、硫醇基、酮基等可取代烷基的官能基即可為任何取代基，但以對於含有直鏈烷基的磺酸化合物整體分子內的電荷偏離度不會造成損傷的官能基為佳。具體而言，係以具有正電荷或不具有電荷的官能基為佳。

【0015】 此等含有直鏈烷基的磺酸化合物的代表性例子係可例示如：1-戊磺酸、1-己磺酸、1-庚磺酸、1-辛磺酸、1-壬磺酸、1-癸磺酸、1-十一烷磺酸及 1-十二烷基磺酸等直鏈烷基磺酸；以及 1-十二烷基苯磺酸、對辛基苯磺酸及對甲苯磺酸等直鏈烷基苯磺酸；但不限定於此等化合物。

【0016】 此外，含有直鏈烷基的磺酸的鹽係指將磺酸基(sulfo)以鹼金屬化合物、鹼土金屬化合物、氨等鹼化合物所中和的鹽。以鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽、銨鹽等為較佳，尤其是以鈉鹽為更佳。

【0017】

(2)四級銨離子或其鹽

本發明的免疫反應阻礙抑制劑中，四級銨離子或其鹽係指在分子中具有至少 1 個可經取代的直鏈烷基或可經取代的芳基者，其為下述(式 2)表示的恆常具有正電荷的四級銨陽離子或其與鹵等陰離子所成的鹽的四級銨鹽：

(式 2)

「N^{+}-$R^{2}R^{3}R^{4}R^{5}$」表示的四級銨離子或其鹽

(式中，R^2 至 R^5 分別獨立表示直鏈狀 C_1 至 C_{30} 烷基、或經至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基取代的碳環式芳香族基，此等基團亦可具有取代基)。

【0018】 在此，獨立的 R^2 至 R^5 中係以至少 1 個基是下列(i)或(ii)為佳：

(i)直鏈狀 C_3 至 C_{30}(較佳為 C_3 至 C_{20}，更佳為 C_5 至 C_{15})直鏈烷基；或是

(ii)具有「經直鏈狀 C_3 至 C_{30}(較佳為 C_3 至 C_{20}，更佳為 C_5 至 C_{15})烷基取代的碳環式芳香族基(aryl group)」作為取代基的 C_1 至 C_{30}(較佳為 C_3 至 C_{20}，更佳為 C_5 至 C_{15})直鏈烷基。

此外，就碳環式芳香族基(aryl group)而言，係以苯基或萘基為佳，以苯基為更佳。

【0019】 本發明的較佳態樣可標記如 R^2 至 R^5 為下述(a)至(e)中的任一種情況：

(a)R^2 至 R^5 中的任一者為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20}(較佳為 C_3 至 C_{16})烷基，其他三者為甲基或乙基(較佳為甲基)的情況；

(b)R^2 至 R^5 中的任一者為甲基或乙基(較佳為甲基)，其他三者為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20}(較佳為 C_3 至 C_{12})烷基的情況；

(c)R^2 至 R^5 全部皆為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20} 烷基(較佳為無取代的直鏈狀 C_3 至 C_{12} 烷基)的情況；

(d)R^2 至 R^5 中的任一者為苄基，其他三者為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20} 烷基(較佳為無取代的直鏈 C_3 至 C_{12} 烷基)的情況；或者是

(e)R^2 至 R^5 中的任二者為甲基或乙基(較佳為甲基)，其他二者為可經苯基取代的直鏈狀 C_6 至 C_{20} 烷基(較佳為無取代的直鏈狀 C_3 至 C_{12} 烷基)的情況。

【0020】 作為本發明的免疫反應阻礙抑制劑而使用的四級銨離子或其鹽，亦可具有直鏈烷基以外的取代基，例如只要是鹵分子、羥基、烯基、環烷基、環烯基、烷氧基、醯基、乙醯基、甲醯基、羰基、羧基、胺基、亞胺基、氰基、偶氮基、硝基、硫醇基、酮基等可取代烷基的官能基即可為任何取代基，但以對於四級銨離子整體分子內的電荷偏離度不會造成損傷的官能基為佳。具體而言，係以具有負電荷或不具有電荷的官能基為佳。

【0021】 此等的四級銨離子的代表性例子係可例示如正辛基三甲基銨、月桂基三甲基銨、肉豆蔻基三甲基銨、硬脂基三甲基銨、十二烷基三甲基銨、甲基三辛基銨、甲基三丁基銨、四丁基銨、四甲基銨及苄基三丁基銨，但不限定於此等銨離子。

【0022】 作為本發明的免疫反應阻礙抑制劑而使用的四級銨離子係因恆常具有正電荷而反應性高，故以作為安定銨鹽而使用為佳。形成安定銨鹽的陰離子係例如鹵、硝酸、六氟磷酸、三氟化二氫或過氯酸等，較佳為Cl、Br、或I等的鹵化物。

【0023】

2. 本發明的免疫測定法中的檢測、測定對象

(2-1)檢測、測定對象

本發明中的檢測物質，係可依據免疫分析等利用抗原抗體反應的免疫測定法來測定的抗原或抗體。就抗原而言，只要是可製作抗體者，則可為任何抗原，但以蛋白質、糖蛋白質或肽為佳，也可檢測出含有該等物質的原生動物、真菌、細菌、黴漿菌、立克次體(richettsia)、披衣菌、病毒等。尤其較佳係適用於將口蹄疫病毒、流行性感冒病毒、腺病毒、RS病毒、冠狀病毒、狂犬病病毒、百日咳菌、溶血性鏈球菌、或彎曲桿菌、沙門桿菌(Salmonella)、病原性大腸菌等食中毒細菌等病原性病毒及細菌予以迅速且正確地檢測或定量時之情形。

再者，亦有用於藉由ELISA、酵素免疫分析(EIA)等對來自唾液試樣的前列腺素等類花生酸(eicosanoids)、皮質醇等壓力激素、睪固酮、雌二醇等性激素、褪黑激素、胰島素等各種激素、TNF-α、IL-1β等炎症關連物質、α-澱粉酶等消化酶、脂聯素(adiponectin)等代謝症候群關連物質進行檢測、測定(高知縣大學紀要，看護學部編第64卷，第

73至83頁,2014)時之情形。

此外，在飲食品、飼料等的品質管理中，當在保存時有人類及動物的體液混入之虞的情況時，也可適用於飲食品、飼料中的過敏原蛋白質抗原的檢測或定量。

【0024】 用於檢測前述抗原的抗體，只要是能與做為測定對象的抗原有專一性反應而結合的抗體，即使不是單株抗體，也可使用多株抗體、抗血清。

【0025】

(2-2)受驗試樣

應用本發明的免疫測定法的受驗試樣，係具有目標抗原或目標抗體或是有其可能性的試樣，雖沒有特別的限定，但以能大幅發揮「抑制妨礙物質的影響」之本發明效果的生體試樣(尤其是唾液等來自生體黏膜的試樣)為佳，就典型而言為由人類及動物(豬、牛、雞、山羊、綿羊等家畜；狗、貓等寵物等)採取的來自生體黏膜的體液，可舉例如由唾液、口腔擦拭液、咳痰、咽頭擦拭液、鼻腔擦拭液、鼻腔抽吸液及角結膜擦拭液等中選出的檢體或其稀釋液等。其他，例如有混入該等體液之虞的飲食品、飼料等也可成為受驗試樣。尤其唾液試樣係由於為最非侵入性的採取方法，而為較佳。

【0026】

3. 本發明的免疫測定法及本發明的免疫反應阻礙抑制劑的使用方法

(3-1)使用本發明抗原抗體反應的檢測系、測定系

本發明的免疫反應阻礙抑制劑，只要是使用抗原抗體反應的檢測系、測定系，則都可適用。具體而言，在適用於免疫層析、ELISA、西方印漬法、免疫印漬法、免疫沈降法、乳膠凝聚法等時，可抑制偽陰性及偽陽性，因而為佳。尤其是若適用於容易受到唾液等來自黏膜之物質的影響的免疫層析法時，效果為高。

以下，針對各免疫測定法，例示本發明的典型性的使用方法並簡單說明，但本發明的使用方法不受該等方法所限定。

【0027】

(a)在免疫層析法中的使用方法

在免疫層析法中，在硝化纖維素膜等適當的膜上預先將受驗試樣中的目標抗原專一性抗體(捕捉抗體)固定化，將由準備於檢體滴下部之經金屬膠體等所標誌的抗體與檢體中的抗原所形成的免疫複合體，利用該膜的毛細管現象而使其移動展開。當在捕捉抗體上捕捉住免疫複合體時，其標誌量(測試線)可藉由目視來做定性判定。若讀取裝置係使用免疫層析讀數器(以下，也稱為 IC 讀數器)，則可將反應性予以數值化。在固定化的捕捉抗體的下游，固定化有會辨認經金屬膠體所標誌之抗體的抗 IgG 抗體等，剩餘的金屬膠體標誌抗體所結合的位置是做為對照線而可藉由目視或免疫層析讀數器來確認。

【0028】 在免疫層析法中，雖然是將受驗試樣以緩衝液等稀釋而使用，但可將本發明的免疫反應阻礙抑制劑

預先添加於稀釋液中、或可與受驗試樣同時添加於稀釋液中。

此時，就稀釋液而言，若使用一般性的免疫層析法的展開液所使用的 Tris 緩衝液(Tris buffer)及磷酸緩衝液等(亦可視需要而添加界面活性劑或白蛋白等蛋白質)，則可直接作為免疫層析法的展開液而使用。

此外，也可添加在金屬膠體標誌抗體、乳膠粒子標誌抗體等的稀釋液中。也可用於阻斷乳膠粒子。

再者，亦可使用在用於阻斷在免疫層析法中所使用的硝化纖維素膜等膜的膜前處理液，或用於固定於結合墊、試樣墊的溶液。

亦即，本發明的免疫測定法中，使用免疫層析法來檢測或測定目標抗原之方法係包含下述步驟(a)及(b)：

(a)添加本發明的免疫反應阻礙抑制劑的步驟，以及

(b)在膜上使受驗試樣與目標抗原檢測用抗體接觸的步驟，

在此，前述步驟(a)是與前述步驟(b)同時或在其前實施者，當前述步驟(a)是在前述步驟(b)之前實施時，前述添加步驟係對於由受驗試樣稀釋液、免疫層析展開液、抗體稀釋液、阻斷液、免疫層析用膜的前處理液、結合墊固定用溶液及試樣墊固定用溶液所成的群中選出的至少 1 者所實施。

【0029】 在免疫層析法等免疫測定法中，在稀釋液、前處理液等中所添加的本發明的免疫反應阻礙抑制劑的最佳濃度範圍，係依據免疫反應阻礙抑制劑的種類、受

驗對象生物的種類、年齡、混入的體液的種類、作為檢測對象的目標抗原的種類等而有不同，但一般而言為 0.01 至 10(w/v)%，較佳為 0.02 至 5.0(w/v)%，更佳為 0.05 至 3.0(w/v)%，特佳為 0.1 至 1.0(w/v)%。

【0030】

(b)ELISA

就 ELISA 而言，若為直接吸附法，則是使受驗試樣溶液依附於微孔盤(microplate)、玻璃珠(glass beads)等固相，以不會參與抗原抗體反應及酵素反應的蛋白質(脫脂乳、白蛋白等)將固相阻斷(blocking)後，使目標抗原專一性抗體進行反應，引起抗原抗體反應，並將多餘的抗體洗去(當抗體未經標誌時，係使酵素標誌二次抗體進行反應，附加二次抗體的清洗步驟)。繼而，添加經標誌的酵素的基質，檢測酵素反應生成物。

若為三明治法時，則是使對目標抗原為專一性的捕獲抗體吸附於固相，在阻斷步驟後，使受驗試樣溶液及會辨認與捕獲抗體不同之表位(epitope)的抗原專一性抗體(一次抗體)進行反應，如果是一次抗體未經標誌時則再與標誌二次抗體進行反應。

【0031】　不論是直接吸附法或三明治法，都可添加在 ELISA 中的受驗試樣稀釋液、阻斷用的脫脂乳等溶解液、及/或目標抗原專一性抗體、二次抗體等的抗體用稀釋液中而使用。

亦即，本發明的免疫測定法中，使用 ELISA 來檢測或

測定目標抗原的方法係包含下述步驟(a)及(b)：

(a)添加本發明的免疫反應阻礙抑制劑的步驟，以及

(b)使受驗試樣與目標抗原檢測用抗體接觸的步驟，

在此，前述步驟(a)是與前述步驟(b)同時或不同時實施者，當前述步驟(a)是與前述步驟(b)不同時實施時，前述添加步驟係對於由受驗試樣稀釋液、阻斷液、一次抗體稀釋液、二次抗體稀釋液及清洗用緩衝液所成的群中選出的至少 1 者所實施。

【0032】

(c)在其他免疫測定法中的使用方法

其他適合使用本發明的免疫反應阻礙抑制劑之免疫測定法，係有免疫凝聚法。免疫凝聚法係根據由抗原抗體反應所產生的反應液的濁度或吸光度等光學性質的變化而檢測或定量受驗試樣中的抗原或抗體的方法，亦包含免疫比濁法及使用乳膠粒子的乳膠凝聚法。在含有經標誌的抗血清之反應液、或懸浮有「經塗覆對目標抗原為專一性的抗體之乳膠粒子」的反應液中，添加受驗試樣，因形成免疫複合體而使抗血清或乳膠粒子凝聚，藉此而觀察、測定濁度或吸光度的變化。

此時，除了可添加於受驗試樣稀釋液等以外，亦可用於乳膠粒子的阻斷(blocking)用溶液及反應液中。

另外，在西方印漬法中，除了可添加於受驗試樣稀釋液以外，亦可添加於抗體稀釋液、阻斷液中，在免疫沈降法中也是除了可添加於受驗試樣稀釋液以外，亦可添加於

抗體稀釋液、反應緩衝溶液中。

亦即，在其他免疫測定法中，也是以「在調製受驗試樣稀釋液、抗體稀釋液、阻斷液及反應緩衝溶液的步驟的至少任一步驟及/或使受驗試樣與目標抗原專一性抗體進行反應的步驟中，包含添加本發明的免疫反應阻礙抑制劑的步驟」為特徵。

更具體而言，

可為一種方法，係使用由西方印漬法、免疫印漬法、免疫沈降法及乳膠凝聚法中選出的任一種方法來檢測或測定目標抗原的方法，係包含下述步驟(a)及(b)：

(a)添加本發明的免疫反應阻礙抑制劑的步驟，以及

(b)使受驗試樣與目標抗原檢測用抗體接觸的步驟，

在此，前述步驟(a)是與前述步驟(b)同時或在其前實施者，當前述步驟(a)是在前述步驟(b)之前實施時，前述添加步驟係對於由受驗試樣稀釋液、阻斷液、抗體稀釋液及反應緩衝溶液所成的群中選出的至少1種所實施。

【0033】

(3-2)免疫測定用套組

本發明的免疫反應阻礙抑制劑係可與通常的各種免疫測定法用的套組加以組合而成為本發明的免疫反應阻礙抑制劑套組。此外，若在套組中含有「預先在此等各種免疫測定法用套組中所使用的稀釋用緩衝液、展開液、反應液、阻斷液等至少1種溶液中溶解本發明的免疫反應阻礙抑制劑成為所規定的濃度而裝入容器者」，即可更加提高便

利性。

[實施例]

【0034】 以下，以實施例更詳細說明本發明，但本發明不受該等實施例所限定。

在本發明中的其他用語及概念係依據該領域中慣用的用語的意義，關於為了實施本發明而使用的各種技術，除了有特別明示其出典處的技術之外，根據公知的文獻等，只要是本發明所屬技術領域中具有通常知識者即可容易且確實地實施。此外，各種分析等係依據所使用的分析機器或試劑、套組的使用說明書、型錄等所記載述的方法而實施。

另外，在本說明書中引用的先前技術文獻、專利公報及專利申請說明書中的記述內容係做為本發明的記述內容而參照者。

【0035】

(實施例 1)由唾液所致的免疫反應阻礙

(1-1)由唾液所致之對於彎曲桿菌抗原的檢測阻礙

在本實施例中，為了觀察在彎曲桿菌檢測用免疫層析中的抗原抗體反應阻礙，故對於「將牛唾液以展開液稀釋的檢體」添加彎曲桿菌(Campylobacter jejuni; ATCC29428)死菌液以使其成為 8×10^6 CFU/mL 並攪拌而製成檢體，將該檢體滴加至彎曲桿菌檢測用免疫層析(NH Immunochromato Campylobacter(日本火腿股份有限公司製))，並以免疫層析讀數器(濱松 PHOTONICS 製 C10066)測定測試線及對照線

(第1圖)。測試線係塗布抗彎曲桿菌抗體，對照線係塗布抗小鼠IgG抗體，分別與彎曲桿菌菌體、抗彎曲桿菌抗體有反應。

【0036】 結果，在檢討過的牛唾液中，雖然依據來源個體而使各檢體的阻礙程度有所不同，但以牛唾液做為檢體時，與對照的PBS做為檢體時相比較，確認到反應會降低。再者，觀察到即使是對於完全不同組合的抗原抗體反應，其發揮的阻礙程度也是幾乎不變。

因此，將在本檢體表現強的阻礙作用的唾液選定為用於搜尋阻礙活性抑制物質的檢討試樣。

【0037】

(1-2)由牛/豬唾液所致之對彎曲桿菌抗原的阻礙狀況

在此實施例中，確認到：與(1-1)同樣的由唾液所致之對「彎曲桿菌抗原蛋白的免疫測定」的阻礙狀況，不只是發生在牛唾液，也發生在豬的唾液。

具體而言，將牛/豬唾液以PBS稀釋10倍，供於NH Immunochromato Campylobacter(日本火腿股份有限公司製)進行試驗。在為牛唾液時，20個檢體中，對照線被阻礙的偽陰性檢體有2例，偽陽性有1例；相對於此，在為豬唾液時，54個檢體中偽陰性是0例，但偽陽性的唾液檢體亦存在有12例(第1表)。

此外，由於在口腔內以高濃度存在有彎曲桿菌的可能性為低，所以，在測試線顯示高的測定值時係計數為偽陽性。另外，關於對照線被阻礙的唾液，認為其測試線成為

偽陰性的可能性高。

結果的詳細內容的一部分係做為(第 2 表)表示。

【0038】 [第 1 表]

	供試檢體數	對照線被阻礙的唾液	在測試線顯現(偽)陽性線的唾液
牛唾液	20	2	1
豬唾液	54	0	12

【0039】 [第 2 表]

※結果的詳細內容(一部分)

牛唾液(檢體名、品種、性別、年齡)	測試線 目視	測試線 IC 讀數器	對照線
BS-K1 雜交 去勢♂ 2 歲 3 個月	-	5.3	99.9
BS-K2 雜交♀ 2 歲 3 個月	-	6.0	62.7
BS-K3 雜交♀ 2 歲 5 個月	-	6.1	103.1
BS-K7 黑毛 去勢♂ 2 歲 6 個月	-	6.8	84.2
BS-K8 雜交♀ 1 歲 4 個月	-	1.5	224.8
BS-K9 黑毛 去勢♂ 2 歲 4 個月	-	0.6	**7.0**
BS-K10 黑毛 去勢♂ 2 歲 7 個月	+	**43.7**	178.5
BS-K14 黑毛 去勢♂ 1 歲 4 個月	-	3.4	245.9
BS-K15 黑毛 ♀ 1 歲 4 個月	-	2.2	377.7
BS-K16 雜交 ♀ 1 歲 5 個月	-	0.0	**0.0**

豬唾液(檢體名)	測試線 目視	測試線 IC 讀數器	對照線
SS-K1	-	0.0	211.8
SS-K3	-	0.0	220.4
SS-K5	-	1.9	238.0
SS-K10	-	1.3	234.4
SS-K44	+	**150.8**	264.7
SS-K49	-	1.9	266.4
SS-K53	+	**114.7**	303.2
SS-K55	-	1.6	269.3
SS-K61	+	**210.2**	205.8
SS-K83	-	3.4	296.3

【0040】

(1-3)對各種免疫層析的因唾液所致的反應阻礙

在本實施例中，使用實施例(1-1)所得的阻礙活性最高的唾液試樣(G)，觀察對於「檢測對象的抗原蛋白質不同的各種免疫層析」的因唾液成分混入所導致的免疫反應阻礙的程度。

具體而言，不同的抗原蛋白質檢測用的免疫層析的模型係選定屬於食品過敏原蛋白質之蛋、牛乳、小麥蛋白質，此外，病原菌的檢測模型係選定腸管出血性大腸菌 O157，病原病毒的檢測模型係選定口蹄疫病毒，分別使用「FASTKIT SLIM 蛋」、「FASTKIT SLIM 小麥」(日本火腿股份有限公司製)以及「NH Immunochromato O157」(日本火腿股份有限公司製)、「口蹄疫抗原檢測用免疫層析」(開發品)進行實驗。

在食品過敏原蛋白質的檢測實驗中，製作將唾液試樣(G)稀釋 10 倍的稀釋唾液試樣，於該稀釋唾液試樣中混合過敏原蛋白質的蛋蛋白質及小麥蛋白質而使該等分別成為約 25 ng/mL 以製成試樣，將該試樣 100μL 供於免疫層析試驗。

另一方面，在腸管出血性大腸菌 O157 檢測實驗中，製作將唾液試樣(G)稀釋 10 倍的稀釋唾液試樣，並將「O157」(野生株)(1×10^6 CFU/mL)以稀釋唾液試樣予以稀釋 26 倍而製成試樣，將該試樣 100μL 供於免疫層析試驗。在口蹄疫病毒檢測試驗中，使用以與實施例(1-1)不同之檢討所得的阻礙活性高的唾液試樣(R)。製作將唾液試樣(R)

稀釋 10 倍的稀釋唾液試樣，於該稀釋唾液試樣中混合口蹄疫病毒(O/JPN/2010 株)而使其成為 $10^{4.75}$ TCID $_{50}$/mL 以製成試樣，將該試樣 60μL 供於免疫層析試驗。

再者，設計在各試驗中添加 PBS 以代替牛唾液的對照試驗，比較其與添加牛唾液的試驗之反應性之差異。

【0041】 結果，尤其是在蛋、小麥、口蹄疫的檢測用免疫層析中，觀察到由唾液所致之接近約 100% 的反應性降低。此外，在「O157」的檢測用免疫層析中，為接近約 40% 的反應性降低。由此得知，在實施例(1-1)所檢討的牛唾液，係對於 IgG、細菌、過敏原蛋白、病毒等廣範圍的抗原會顯現反應阻礙(第 3 表)。

【0042】 [第 3 表]

		陽性試驗	
		測試線	對照線
蛋 檢測用免疫層析	PBS	27.4	45.5
	牛唾液	0.0	0.0
小麥 檢測用免疫層析	PBS	15.6	189.1
	牛唾液	0.0	39.9
O157 檢測用免疫層析	PBS	22.5	294.5
	牛唾液	13.0	75.3
口蹄疫 檢測用免疫層析	PBS	199.4	382.6
	牛唾液	0.0	43.3

【0043】

(1-4)稀釋對於「因唾液成分所導致的反應阻礙」的影響

在人類的診斷套組等中，有為了避免「因唾液混入檢體而導致的反應阻礙」而推薦稀釋檢體的例子。

因此，使用與實施例(1-3)所用者為相同的唾液試樣，為了檢討在彎曲桿菌檢測用免疫層析(NH Immunochromato Campylobacter)的測試線及對照線的消失是否會因稀釋而恢復、且以幾倍稀釋會恢復，而改變稀釋率並實施複數次。

結果，測試線、對照線都是在以 5 倍稀釋時會有些許恢復，但即使稀釋到 50 倍其反應也未完全恢復。關於測試線，即使稀釋 50 倍也僅恢復 56%左右(第 2 圖)。

【0044】

(實施例 2)免疫反應阻礙抑制劑的篩選

(2-1)從界面活性劑來篩選

首先，就免疫反應阻礙抑制劑的候選者而言，嘗試使用以往被認為對唾液等體液中的免疫反應阻礙物質有抑制效果的各種界面活性劑。

使用在專利文獻 1 經確認對唾液中的黏蛋白有可溶化效果的各種非離子性界面活性劑及兩性界面活性劑作為界面活性劑，實施陰性試驗及陽性試驗。

陰性試驗及陽性試驗係與實施例(1-2)等同樣地使用唾液試樣(G)，以與實施例(1-1)同樣的條件使用 NH Immunochromato Campylobacter 及彎曲桿菌稀釋液而實施。

【0045】 結果，幾乎全部的界面活性劑皆無法確認到有充分的效果(未顯示數據)。將效果較高者示於下述(第4表)。

當使用屬於陰離子界面活性劑的牛膽酸鈉水合物(sodium taurocholate hydrate)(濃度2%)時，對照線是有恢復，但測試線未恢復。當使用同樣屬於陰離子界面活性劑的去氧膽酸(deoxycholic acid)(濃度1至5%)及月桂醯基肌胺酸(濃度1至5%)時也是同樣地對照線是有恢復，但測試線的恢復為不充分(第4表)。當使用十二烷基硫酸鈉(SDS)時，雖然測試線有些許恢復，但若從添加在檢體中的彎曲桿菌菌體添加量來考量，其線強度並不充分，故判斷為反應未恢復。

結論是無法找到對照線與測試線皆恢復且不顯現偽陽性反應的充分的界面活性劑。

【0046】 [第 4 表]

		彎曲桿菌檢測用的免疫層析 (NH Immunochromato Campylobacter)	
		測試線	對照線
無界面活性劑		0.0	0.0
牛膽酸鈉水合物	0.1%	12.3	11.1
	0.5%	8.2	38.0
	1.0%	9.5	50.9
	2.0%	8.7	191.7
	5.0%	6.9	326.8
十二烷基硫酸鈉(SDS)	0.1%	17.2	15.4
	0.5%	29.4	147.7
	1.0%	0.0	124.5
	2.0%	0.0	73.6
	5.0%	0.0	45.9
去氧膽酸鈉	0.1%	10.0	22.2
	0.5%	0.0	33.8
	1.0%	0.0	146.3
	2.0%	0.0	199.7
	5.0%	0.0	214.6
月桂醯基肌胺酸	0.1%	10.4	26.9
	0.5%	17.5	139.2
	1.0%	0.0	150.0
	2.0%	0.0	161.7
	5.0%	0.0	165.5

【0047】

(2-2)從管柱樹脂來篩選

繼而，從「在專利文獻 2 中用於前處理來自咽頭之檢體而對流行性感冒病毒檢測有效果的具有磺酸基或羧基的陽離子交換樹脂等各種管柱樹脂」來進行篩選。

針對 6 種強酸性陽離子交換樹脂、2 種弱酸性陽離子交換樹脂、8 種強鹼性陰離子交換樹脂、4 種弱鹼性陰離子交換樹脂、以及 2 種螯合樹脂及 4 種合成吸附劑的管柱等對於合計 26 種類，分別測定恢復率。此時，做為陽性對照

組而言，係以在 PBS 懸浮的彎曲桿菌菌液的反應性作為 100%，而測定其恢復率。

詳細而言，在牛唾液 2.36mL 添加含有 1%BSA 的硼酸緩衝液(pH8.0)21.24mL 而製成唾液稀釋液，並在該唾液稀釋液添加彎曲桿菌死菌 750μL 而製成試樣，使試驗用試樣 500μL 通過各充填有上述各樹脂約 0.5mL 的管柱。

將所得的各管柱通過液供於彎曲桿菌檢測用免疫層析(NH Immunochromato Campylobacter，日本火腿股份有限公司製)，測定測試線及對照線的反應性(第 5 表)。

此時，就除去阻礙的陽性控制組而言，係將在 PBS 23.6mL 懸浮上述彎曲桿菌死菌 750μL 的溶液供於 NH Immunochromato Campylobacter，以此時的反應性做為 100%，從通過其他管柱時的測試線的值算出恢復率。

【0048】 [第 5 表]

			測試線	對照線	測試線的恢復率
無處理			8.9	31.5	
陽性對照組			289.1	339.7	100%
離子交換樹脂	強酸性陽離子	1	92.9	83.5	32%
		2	7.0	16.4	2%
		3	0.0	22.7	0%
		4	0.0	26.3	0%
		5	98.8	184.1	34%
		6	66.8	82.4	23%
	弱酸性陽離子	7	4.0	33.1	1%
		8	13.0	15.5	4%
	強鹼性陽離子	9	11.0	11.8	4%
		10	13.3	11.4	5%
		11	13.9	15.3	5%
		12	9.6	22.7	3%
		13	83.6	158.5	29%
		14	16.4	17.9	6%
		15	6.4	41.2	2%
		16	11.5	24.1	4%
	弱鹼性陰離子	17	18.4	19.6	6%
		18	34.8	34.8	12%
		19	18.4	17.2	6%
		20	11.0	12.7	4%
螯合樹脂		21	21.3	6.9	7%
		22	48.8	44.6	17%
合成吸附劑		23	38.6	27.4	13%
		24	18.6	15.2	6%
		25	6.4	11.1	2%
		26	10.7	8.2	4%

【0049】 關於該等管柱的第1次結果(第5表)，在強酸性陽離子交換樹脂及強鹼性陰離子交換樹脂中，雖發現有複數種樹脂顯現恢復效果高的結果，但再度實施追加試驗時缺乏實驗的再現性，無法得到安定的效果。(未顯示數據)

將離子交換樹脂等充填於管柱後，隨著靜置狀態的時間經過，會進行樹脂的乾燥，但其進行狀況係依據對管柱的充填方式、當時的室內環境等各種原因而不為恆定。推測如此的管柱內的樹脂的乾燥狀態的偏差情形係導致結果不安定的原因。

【0050】

(2-3)強酸性陽離子交換樹脂的安定性

在以下的實驗中，係選擇「在(2-2)的實驗中效果最高的具有磺酸基的強酸性陽離子交換樹脂 No.5(三菱化學製 PK220)」作為暫定的免疫阻礙抑制劑的候選者，試驗其安定性。

當使用強酸性陽離子交換樹脂時，在充填於管柱後放置時，隨著時間的經過，樹脂會乾燥。由於如此的管柱內的樹脂的乾燥狀態的偏差情形，導致結果有不安定的傾向。於是，將強酸性陽離子交換樹脂 PK220(三菱化學公司製)懸浮於含有0.1%BSA的硼酸緩衝液，將其0.3g充填於內徑約0.8cm、長度約1.0cm的圓錐狀管柱，對其密封或不密封，在通常的實驗室環境放置1週，試驗其安定性。具體而言，係製作將唾液試樣(R)稀釋10倍的稀釋唾液試

樣，於該稀釋唾液試樣中混合口蹄疫病毒(O/JPN/2010 株)而使其成為 10^4 $TCID_{50}$/mL 以製成試樣，將該試樣 60μL 供於口蹄疫抗原檢測用免疫層析試驗。結果，如(第 6 表)所示，可知因樹脂乾燥而使對唾液中的口蹄疫病毒的反應性降低。

【0051】 [第 6 表]

保存狀況(1 週)	樹脂的外觀	對唾液中的口蹄疫病毒的反應性(O/JPN/2010 $10^5$$TCID_{50}$/唾液 1mL)	
		目視	IC 讀數器
密封	無變化	+	37.4
不密封而放置	乾燥，且體積減小	-	0.0

【0052】

(2-4)強酸性陽離子交換樹脂的在清洗液的阻礙抑制效果

將樹脂的乾燥狀態的偏差情形予以均一化做為初步目的，將強酸性陽離子交換樹脂 PK220(三菱化學公司製)6g 懸浮於免疫層析用的含有 0.1%BSA 的硼酸緩衝液 18mL 並在 4℃ 靜置一夜後的樹脂做為清洗後的樹脂，確認其性能。更進一步回收清洗後的上澄液。與清洗後的樹脂一起，做為比較例而計測清洗後的上澄液的對於唾液檢體的口蹄疫抗原檢測用免疫層析的對照線的反應性。

結果，令人驚訝的是，清洗後的上澄液比清洗後的樹

脂有接近約強 10 倍的反應性(第 7 表)。

關於清洗後的上澄液顯示較高的阻礙除去活性的原因，可推測係因阻礙除去物質是樹脂管柱所含的「可溶於含有 0.1%BSA 的硼酸緩衝液者」，由此可推測，具有磺酸基的強酸性陽離子交換樹脂所致的對免疫阻礙的高抑制效果很可能係因「在強酸性陽離子交換樹脂的製造過程中所生成之作為雜質而混合存在之具有磺酸基的低分子化合物」。

【0053】 [第 7 表]

樹脂的處理	對唾液檢體的對照線的反應性	
	目視	IC 讀數器
展開液清洗(上澄液)	+	164.0
展開液清洗後的樹脂	WW+	17.9

【0054】

(實施例 3)檢討具有磺酸基之化合物的免疫反應阻礙抑制效果

(3-1)對因唾液檢體所致之反應性阻礙的恢復效果

針對因實施例(2-4)的結果而被期待免疫反應阻礙抑制效果高的具有直鏈烷基的各種含有磺酸基之低分子化合物，觀察對於由在實施例 1(1-1)使用的口蹄疫抗原檢測用免疫層析的牛唾液檢體所致的對於對照線的反應性的阻礙是否會恢復。

結果，以最低濃度使對照線的反應阻凝情形恢復者是直鏈十二烷基苯磺酸鹽。因此，推測直鏈十二烷基苯磺酸是阻凝除去效果最高者(第 8 表)。

再者，關於直鏈十二烷基苯磺酸鹽以外的各種烷基磺酸鹽，其直鏈烷基的碳數越大則在越低濃度顯示效果，且可確認其效果高。關於直鏈烷基磺酸鈉，若為碳數 5 以上者，其對照線係恢復。關於直鏈烷基苯磺酸鈉，當具有碳數 8 及 11 的烷基時，確認其對照線係恢復(第 8 表)。

【0055】 [第 8 表]

● 烷基

	添加濃度	測試線		對照線	
		目視	IC讀數器	目視	IC讀數器
1-十一烷磺酸鈉(C11)	0.50%	-	0.0	+	175.9
	0.25%	-	0.0	+	193.5
	0.13%	-	0.0	+	130.7
	0.06%	-	0.0	+	35.4
	0.03%	-	0.0	-	0.0
	0.00%	-	0	-	0.0
1-癸磺酸鈉(C10)	10.00%	N.T			
	5.00%	-	0.0	+	198.1
	2.50%	-	0.0	+	99.9
	1.25%	-	0.0	+	202.0
	0.63%	-	0.0	+	104.9
	0.31%	-	0.0	+	261.4
	0.16%	-	0.0	+	84.4
	0.00%	-	0.0	-	0.0
1-辛磺酸鈉(C8)	10.00%	-	0.0	+	173.7
	5.00%	-	0.0	+	198.4
	2.50%	-	0.0	+	302.1
	1.25%	-	0.0	-	62.9
	0.63%	-	0.0	-	0.0
	0.00%	-	0.0	-	0.0
1-庚磺酸鈉(C7)	10.00%	-	0.0	+	284.1
	5.00%	-	0.0	+	275.1
	2.50%	-	0.0	+	80.7
	1.25%	-	0.0	-	0.0
	0.00%	-	0.0	-	0.0
1-己磺酸鈉(C6)	10.00%	-	0.0	+	247.2
	5.00%	-	0.0	+	27.7
	2.50%	-	0.0	-	0.0
	1.25%	-	0.0	-	7.9
	0.63%	-	0.0	-	0.0
	0.00%	-	0.0	-	0.0
1-戊磺酸鈉(C5)	10.00%	-	0.0	+	117.2
	5.00%	-	0.0	-	0.0
	2.50%	-	0.0	-	0.0
	1.25%	-	0.0	-	0.0
	0.63%	-	0.0	-	0.0
	0.00%	-	0.0	-	0.0

● 芳香族

	添加濃度	測試線		對照線	
		目視	IC讀數器	目視	IC讀數器
直鏈十二烷基苯磺酸鈉(芳香環+C12)	0.63%	-	0.0	+	232.0
	0.31%	-	0.0	+	205.6
	0.16%	-	0.0	+	170.6
	0.08%	-	0.0	+	73.6
	0.04%	-	0.0	-	27.6
	0.00%	-	0.0	-	0.0
對辛基苯磺酸鈉(芳香環+C8)	0.50%	-	0.0	+	320.0
	0.13%	-	0.0	+	298.5
	0.63%	-	0.0	+	152.5
	0.03%	-	0.0	-	0.0
	0.00%	-	0.0	-	0.0
對甲苯基磺酸鈉(芳香環+C1)	2.00%	-	0.0	+	309.3
	1.00%	-	0.0	-	70.7
	0.50%	-	0.0	-	0.0
	0.25%	-	0.0	-	0.0
	0.00%	-	0.0	-	0.0

【0056】

(3-2)檢討最佳添加濃度

於是，對於含有直鏈十二烷基苯磺酸鹽的免疫層析用展開液，添加「經添加有口蹄疫病毒(O/JPN/2010 株)10^6

$TCID_{50}$/mL 的唾液」並攪拌。將此試驗液供於口蹄抗原檢測用免疫層析的試驗。

使直鏈十二烷基苯磺酸鹽的添加濃度變化而進行檢討時，可知直鏈十二烷基苯磺酸鹽的添加濃度若在 0.05 至 1.0(w/v)% 的範圍即可檢測牛唾液中的口蹄疫病毒，並以在 0.1 至 0.8(w/v)% 的範圍為佳(第 9 表)。

【0057】 [第 9 表]

直鏈十二烷基苯磺酸鹽添加濃度	目視	讀數器測定值
0.625 %	w+	21.2
	+	57.3
0.3125 %	+	40.7
	+	36.3
0.15625 %	+	35.4
	+	57.2
0.078125 %	ww+	14.5
	±	5.2
0%	-	0.0

【0058】

(實施例 4)由脂肪族或芳香族烷基磺酸鹽所致的免疫反應阻礙抑制效果

(4-1)口蹄疫病毒的檢測效果-1

使用阻礙活性強的牛唾液，調查由本發明的磺酸鈉化合物所致的阻礙抑制效果。

詳細而言，在牛唾液檢體 10μL 中添加口蹄疫病毒(O/JPN/2010 株)而使其成為 10^6 $TCID_{50}$/mL 後，在通常組成(含有 Triton X-100)的展開液、或是添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉 0.3(w/v)% 或辛磺酸鈉 2.5w/v% 的展開液中以成為稀釋 10 倍之方式懸浮，藉由在實施例 1(1-1)使用的口蹄

疫抗原檢測用免疫層析進行測定。

結果，當只有展開液時，由於唾液的阻礙，而使口蹄疫病毒係無法以目視檢測，且測試線的讀數器測定值也顯示 0.0，但相對於此，若將本發明的磺酸鈉化合物預先添加於唾液檢體中，即可抑制阻礙作用，且以目視及讀數器測定值皆可檢測(第 10 表)。

再者，在整體不含「含有口蹄疫病毒的唾液檢體」時，也確認不會變成偽陽性(第 10 表)。

此結果同時也表示，對於展開液中的屬於非離子性界面活性劑的 TritonX-100，在免疫活性阻礙強的情況下幾乎不能期待有抑制效果。

【0059】 [第 10 表]

唾液+口蹄疫病毒		目視	讀數器測定值
通常展開液		-	0.0
添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉的展開液	0.3%	+	125.3
		+	143.4
添加有辛磺酸鈉的展開液	2.5%	+	52.9
		+	20.6

僅有展開液		目視	讀數器測定值
添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉的展開液	0.3%	-	0.0
		-	0.0
添加有辛磺酸鈉的展開液	2.5%	-	0.0
		-	0.0

【0060】

(4-2)口蹄疫病毒的檢測效果-2

在此實驗中，增加與實施例 1(1-1)同樣的唾液檢體數，添加直鏈十二烷基苯磺酸鈉而實施，確認直鏈十二烷基苯磺酸鈉的免疫阻礙抑制效果。

具體而言，從 JAPAN BIOSERUM 股份有限公司購入由口蹄疫陰性的牛 49 頭採取的唾液，製成以含有 0.1% BSA 的硼酸緩衝液(pH8.0)稀釋 10 倍的展開液，添加直鏈十二烷基苯磺酸鈉 0.3(w/v)%。繼而，添加口蹄疫病毒(O/JPN/2010 株)而使其成為 10^4 $TCID_{50}$/mL，進行攪拌。將各 140μL 滴入至口蹄疫抗原檢測用免疫層析，藉由目視及讀數器進行測定(第 3 圖)。此外，檢體編號係與(第 1 圖)不一致。

結果，在 47/49 檢體可正確判定為陽性，在(實施例 1-1)能正確判定的只有 4/17 檢體而已，由此可確認到直鏈十二烷基苯磺酸鈉的免疫阻礙抑制效果。

【0061】

(4-3)藉由烷基苯磺酸鹽而改善偽陽性

在本實施例中，確認直鏈十二烷基苯磺酸鈉的偽陽性抑制效果。

具體而言，將在(4-2)採取的牛唾液中雖為口蹄疫陰性卻被口蹄疫抗原檢測用免疫層析顯示為陽性的偽陽性的唾液，分別添加至「通常展開液稀釋 10 倍者」及「在該稀釋液添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉 0.3(w/v)%者」中，以與

實施例 1(1-1)同樣的口蹄疫抗原檢測用免疫層析進行測定。

結果，確認到因使用直鏈十二烷基苯磺酸鈉，故不僅可抑制反應阻礙，且也可抑制偽陽性(第 11 表)。

【0062】 [第 11 表]

牛唾液	測試線		展開液
	目視	IC 讀數器	
E-第 4 日	+	23.0	通常展開液
	+	15.4	
E-第 5 日	W+	8.3	
	+	21.9	
F-第 1 日	±	0.0	
	+	23.5	
E-第 4 日	-	3.9	添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉的展開液
	-	0.0	
E-第 5 日	-	0.0	
	-	0.0	
F-第 1 日	-	0.0	
	-	0.0	

【0063】

(實施例 5)過敏原蛋白抗原的檢測效果

在本實施例中，使用在實施例 1(1-3)觀察到由唾液檢

體所致之幾乎 100%之阻礙活性的小麥蛋白質檢測用免疫層析(FASTKIT SLIM 小麥，日本火腿公司製)，確認是否會因直鏈十二烷基苯磺酸鈉而使反應性恢復。

結果，由於有使用直鏈十二烷基苯磺酸鈉，故在目視及 IC 讀數器的結果都恢復到可檢測的程度(第 12 表)。

【0064】 [第 12 表]

FASTKIT SLIM 小麥　使用多株抗體

唾液+小麥蛋白質(100 ng/mL)	目視	讀數器測定值
通常展闋液	-	0.0
添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉 0.25%的展開液	+	33.2

小麥蛋白質(100 ng/mL)	目視	讀數器測定值
通常展開液	+	43.1

【0065】

(實施例 6)食中毒細菌 O157 的檢測

在本實施例中，使用在實施例 1(1-2)觀察到由唾液檢體所致之接近 40%之阻礙活性的腸管出血性大腸菌 O157 的檢測用免疫層析(NH Immunochromato O157，日本火腿公司製)，確認是否會因直鏈十二烷基苯磺酸鈉而使反應性恢復。

結果，對於食中毒細菌 O157 檢測用免疫層析，也是

由於有使用直鏈十二烷基苯磺酸鈉而使反應恢復，確認到反應阻礙抑制效果(第 13 表)。

【0066】 [第 13 表]

NH Immunochromato O157 使用多株抗體

唾液+O157 10^7 CFU/mL	目視	讀數器測定值
通常展開液	-	0.0
添加有直鏈十二烷基苯磺酸鈉 0.25%的展開液	+	33.0

O157 10^7 CFU/mL	目視	讀數器測定值
通常展開液	+	61.7

【0067】

(實施例 7)四級銨鹽的篩選

由於已知磺酸鈉可防止因唾液所致的阻礙及偽陽性，所以，在本實施例中係著眼於與磺酸鈉鹽在電荷及構造之特點上為類似的四級銨鹽，檢討其對於因唾液所致的阻礙及偽陽性的防止效果。

具體而言，對於下述(第 14 表)的(1)至(14)所示的四級銨鹽，與實施例(3-1)同樣地使用在實施例(1-1)中選出的阻礙作用最高的牛唾液並以含有 1% BSA 的硼酸緩衝液(pH8.0)稀釋 10 倍而製成展開液，在該展開液中添加各化合物，藉由彎曲桿菌檢測用免疫層析(NH Immunochromato

Campylobacter)實施陰性試驗及陽性試驗。

【0068】 [第 14 表]

No.	名稱	英語名稱	製造廠商	編碼
①	溴化正辛基三甲基銨	n-Octyltrimethylammonium Bromide	Wako	323-21122
②	溴化硬脂基三甲基銨	Stearyltrimethylammonium Bromide	Wako	324-92462
③	硝酸四丁基銨	Tetrabutylammonium Nitrate	Wako	325-42741
④	六氟磷酸四丁基銨	Tetrabutylammonium Hexafluorophosp hate	Wako	326-42732
⑤	氯化月桂基三甲基胺	Lauryltrimethylammonium Chloride	Wako	328-86992
⑥	三溴化四丁基銨	Tetrabutylammonium Tribromide	Wako	352-21232
⑦	碘化甲基三丁基銨	Methyltributylaminonium Iodide	Wako	354-27711
⑧	氟化四丁基銨三水合物	Tetrabutylammoniumu Fuoride Trihydrate	Wako	354-28992
⑨	氫氧化四甲基銨五水合物	Tetramethylammonium Hydroxide Pentahydrate	Wako	357-23622
⑩	氯化苄基三丁基銨	Benzyltributylammonium Chloride	Wako	357-26802
⑪	三氟化二氫四丁基銨	Tetrabutyammonium Dihydrogen Trifluoride	Wako	358-19421
⑫	過氯酸三丁基銨	Tetrabutylammonium Perchlorate	Wako	358-20852
⑬	溴化十二烷基甲基銨	Dodecyltrimethylammonium Bromide	Wako	359-21122
⑭	氯化甲基三辛基銨	Methyltrioctyhlammonium Chloride	Wako	359-24282

【0069】 結果，(5)的氯化月桂基三甲基銨、(8)的氟化四丁基銨、(11)的三氟化二氫四丁基銨、(13)的溴化十二烷基三甲基銨及(14)的氯化甲基三辛基銨係使測試線及對照線皆有恢復，故做為本發明的免疫阻礙抑制劑的候選者。

【0070】 繼而，檢討恢復效果最高的(14)的氯化甲基三辛基銨的濃度條件。

結果，可知若為氯化甲基三辛基銨，則在 2.5 至 5.0(v/w)%可檢測彎曲桿菌(未顯示數據)。

【0071】

(實施例 8)四級銨鹽的免疫反應阻礙效果

(8-1)對於因牛/豬唾液所致之偽陰性的消解效果

在實施例(1-2)中因對照線被阻礙而被認為是偽陰性的牛唾液 BS-K16 中，添加彎曲桿菌菌液而使其成為 10^8 CFU/mL(添加有彎曲桿菌之唾液)。

將添加有彎曲桿菌之唾液以「將四級銨鹽以 PBS 溶解的溶液」或「將直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽以 PBS 溶解的溶液」稀釋 10 倍，供於 NH Immunochromato Campylobacter 的試驗。

此外，關於各試劑溶解於 PBS 的濃度，係在不會阻礙對於彎曲桿菌的反應性的範圍內選出最濃的濃度。

結果，氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨、溴化肉豆蔻基三甲基銨等具有 C12 至 C14 烷基鏈的四級銨鹽係對於因唾液所致之偽陰性顯現高的消解效果(第 15 表)。

【0072】 [第 15 表]

添加的試劑、濃度	唾液	測試線		對照線	
		目視	IC 讀數器		
PBS(對照)	無	+	183.9	262.2	
	BS-K16	±	9.5	24.2	←偽陰性
氯化月桂基三甲基銨 1%	BS-K16	+	**144.7**	**124.4**	**←反應恢復**
氯化苄基三丁基銨 0.25%	BS-K16	±	12.8	51.3	←偽陰性(無效果)
溴化十二烷基三甲基銨 1%	BS-K16	+	**119.7**	**112.6**	**←反應恢復**
溴化肉豆蔻基三甲基銨 1%	BS-K16	W+	**52.0**	**79.4**	**←反應恢復**

【0073】

(8-2)對於因牛/豬唾液所致之偽陽性的消解效果

將在(8-1)顯示偽陽性的牛/豬唾液檢體以「將直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽以 PBS 溶解的溶液」或「將直鏈烷基四級銨鹽以 PBS 溶解的溶液」稀釋 10 倍，供於 NH Immunochromato Campylobacter 的試驗。

結果，與直鏈十二烷基苯磺酸鈉同樣地確認氯化月桂基三甲基銨及溴化十二烷基三甲基銨都會抑制因唾液所致的偽陽性(第 16 表)。

【0074】 由上述可知，關於各種病原菌抗原在測定時被視為問題的免疫阻礙，可期待四級銨鹽可發揮與具有

直鏈烷基之磺酸化合物同樣的抑制效果。

【0075】 [第 16 表]

添加的試劑、濃度	唾液	測試線		對照線
		目視	IC 讀數器	
PBS(對照)	BS-K10	+	**43.7**	178.5
	SS-K44	+	**150.8**	264.7
	SS-K53	+	**114.7**	303.2
	SS-K61	+	**210.2**	205.8
直鏈十二烷基苯磺酸鈉 0.3%	BS-K10	±	**7.6**	252.6
	SS-K44	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	SS-K53	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	SS-K61	[illegible]	[illegible]	[illegible]
氯化月桂基三甲基銨 1%	BS-K10	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	SS-K44	-	0.8	180.7
	SS-K53	-	3.4	161.0
	SS-K61	-	0.0	153.4
溴化十二烷基三甲基銨 1%	BS-K10	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	SS-K44	-	1.5	176.2
	SS-K53	-	4.2	182.2
	SS-K61	-	9.3	165.8

【0076】

(實施例 9)在 O157 檢測用免疫層析中的唾液的阻礙抑制效果

(9-1)對於因牛/豬唾液所致之偽陰性的消解效果

首先，將對於直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽及複數種四級

銨鹽分別以 PBS 溶解而成的 1(w/v)% 溶液供於 NH Immunochromato O157 進行試驗，結果如(第 17 表)所示，所檢討的全部化合物皆為陰性，故用於以下的實驗。

【0077】 [第 17 表]

添加的試劑、濃度	測試線		對照線
	目視	IC 讀數器	
直鏈十二烷基苯磺酸鈉 1%	-	2.4	507.6
氯化月桂基三甲基銨 1%	-	0.0	710.7
溴化十二烷基三甲基銨 1%	-	0.0	763.0
溴化肉豆蔻基三甲基銨 1%	-	3.0	750.6

【0078】 使用在實施例(1-2)經 NH Immunochromato Campylobacter 檢討而結果被認為是偽陰性的牛唾液 BS-K16，添加 O157 菌液而使其成為 10^7 CFU/mL(添加有 O157 之唾液)。

繼而，將添加有 O157 之唾液以「將直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽或各四級銨鹽以 PBS 溶解的溶液」稀釋 10 倍，供於 NH Immunochromato O157 進行試驗。

結果，確認直鏈十二烷基苯磺酸鈉以及氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨及溴化肉豆蔻基三甲基銨

皆有效於消解因唾液所致之偽陰性(第 18 表)。

【0079】 [第 18 表]

添加的試劑、濃度	唾液	測試線		對照線	
		目視	IC 讀數器		
PBS(對照)	無	+	162.6	741.6	
	BS-K16	W+	37.7	79.6	←反應減弱
直鏈十二烷基苯磺酸鈉 1%	BS-K16	+	**100.6**	**407.9**	**←反應恢復**
氯化月桂基三甲基銨 1%	BS-K16	+	**121.3**	**413.6**	**←反應恢復**
溴化十二烷基三甲基銨 1%	BS-K16	+	**153.6**	**468.2**	**←反應恢復**
溴化肉豆蔻基三甲基銨 1%	BS-K16	+	**113.3**	**365.2**	**←反應恢復**

【0080】

(9-2)對於因牛/豬唾液所致之偽陽性的消解效果

將在實施例(1-2)經 NH Immunochromato Campylobacter 檢討而結果顯示偽陽性的唾液(SS-K44)，與(9-1)同樣地以「將直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽或四級銨鹽以 PBS 溶解的溶液」稀釋 10 倍，供於 NH Immunochromato O157 進行試驗。

結果，確認直鏈十二烷基苯磺酸鈉以及氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨及溴化肉豆蔻基三甲基銨皆有效於消解因唾液所致之偽陽性(第 19 表)。

【0081】 [第 19 表]

添加的試劑、濃度	唾液	測試線		對照線	
		目視	IC 讀數器		
PBS(對照)	SS-K44	+	323.0	619.7	←偽陽性
直鏈十二烷基苯磺酸鈉 1%	SS-K44	-	4.0	701.2	
氯化月桂基三甲基銨 1%	SS-K44	-	0.0	765.0	
溴化十二烷基三甲基銨 1%	SS-K44	±	6.3	779.3	
溴化肉豆蔻基三甲基銨 1%	SS-K44	±	10.9	746.8	

【0082】

(實施例 10)在花生過敏原檢測用免疫層析中的偽陰性消解效果

(10-1)對於因牛/豬唾液所致之偽陰性的消解效果

在實施例(1-2)經 NH Immunochromato Campylobacter 檢討而結果被認為是偽陰性的牛唾液 BS-K16 中，添加花生蛋白而使其成為 1 μg/mL，製成添加有花生蛋白之唾液檢體。

首先，預先確認將直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽或四級銨鹽以 PBS 溶解的溶液在供試濃度下不會顯示偽陽性(第 20 表)。

【0083】 [第 20 表]

添加的試劑、濃度	測試線		對照線
	目視	IC 讀數器	
直鏈十二烷基苯磺酸鈉 1%	-	0.0	228.6
氯化月桂基三甲基銨 1%	-	1.5	194.8
溴化十二烷基三甲基銨 1%	±	20.3	235.2
溴化肉豆蔻基三甲基銨 1%	-	6.3	197.9

【0084】 繼而，將添加有花生蛋白之唾液檢體以「將直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽或四級銨鹽以 PBS 溶解的溶液」稀釋 10 倍，供於 FASTKIT SLIM 花生進行試驗。

結果，確認藉由直鏈十二烷基苯磺酸鈉、氯化月桂基三甲基銨及溴化肉豆蔻基三甲基銨可恢復反應性，有效於消解因唾液所致之偽陰性。

【0085】 [第 21 表]

添加的試劑、濃度	唾液	測試線		對照線	
		目視	IC 讀數器		
PBS(對照)	無	+	152.8	313.7	
	BS-K16	-	1.3	5.8	←偽陰性
直鏈十二烷基苯磺酸鈉 1%	BS-K16	**W+**	**17.1**	**186.6**	**←反應恢復**
氯化月桂基三甲基銨 1%	BS-K16	**W+**	**30.3**	**138.4**	**←反應恢復**
溴化肉豆蔻基三甲基銨 1%	BS-K16	**W+**	**22.8**	**102.9**	**←反應恢復**

【0086】

(實施例 11)在各種過敏原檢測用免疫層析中的偽陰性消解效果

由於實施例 10 等顯示四級銨鹽係有效於消解因唾液所致之偽陰性，故針對各種過敏原套組來確認此等物質是否有效。

具體而言，對阻礙活性強的牛唾液添加各種過敏原蛋白，藉由將該唾液在添加有四級銨鹽的展開液中稀釋 10 倍而製作試樣液，將該試樣液供於各種過敏原檢測用免疫層析進行試驗。過敏原檢測用免疫層析係使用蛋、小麥、花生、甲殼類。

結果，在複數種四級銨鹽確認到免疫反應阻礙抑制效果(第 22 表)。

【0087】 [第 22 表]

	蛋	小麥	花生	甲殼類
因唾液所致的阻礙	有	有	有	有
4 級銨鹽，係藉由添加在展開液中而有效於消解因唾液所致的阻礙者	氯化苄基三丁基銨	氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨、溴化肉豆蔻基三甲基銨	氯化月桂基三甲基銨、溴化肉豆蔻基三甲基銨	氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨

【0088】

(實施例 12)彎曲桿菌檢測用 ELISA

在本實施例中，確認在 ELISA 中是否也有因唾液所導致的偽陽性，另亦確認該偽陽性是否會與在免疫層析中同樣地被本發明的四級銨鹽化合物所消解。

具體而言，將由大阪公衆衛生研究所分贈的抗彎曲桿菌單株抗體(4B4：參照日本特開 2009-77658 號公報)以 5 μg/mL 的濃度固定化在盤上，製成固相盤。

繼而，在固相盤中添加「使用 PBS 或含有各種四級銨鹽化合物的 PBS 稀釋 10 倍並含有彎曲桿菌 10^7 CFU/mL 的唾液」，培養 1 小時，清洗。其次，將生物素標誌 4B4 做為 2 次抗體以 1.6 μg/mL 的濃度添加，培養 1 小時，清洗。

繼而，添加鏈黴親和素-HRP(streptavidin-HRP)，培養 30 分鐘，清洗後，添加 HRP 基質並培養 20 分鐘，添加稀

硫酸液，使反應停止。

之後，測定 450nm 吸光度(參考波長 620nm)。

結果如(第 23 表)所示，確認在 ELISA 也會藉由添加四級銨鹽而將因唾液所致之免疫反應阻礙予以恢復。

【0089】 [第 23 表]

彎曲桿菌菌液	唾液	添加試劑、濃度	Well 1	Well 2	平均
10^7 CFU/mL	無	無	0.949	0.941	0.945
10^7 CFU/mL	BS-K16	無	0.290	0.229	0.256
10^7 CFU/mL	BS-K16	氯化月桂基三甲基銨 1%	0.691	0.692	0.692
10^7 CFU/mL	BS-K16	溴化十二烷基三甲基銨 1%	0.642	0.619	0.631
10^7 CFU/mL	BS-K16	溴化肉豆蔻基三甲基銨 1%	0.605	0.582	0.594
10^7 CFU/mL	BS-K16	氟化四丁基銨三水合物 1%	0.369	0.365	0.367
10^7 CFU/mL	BS-K16	氯化苄基三丁基銨 0.25%	0.551	0.540	0.546
無	無	無	0.005	0.004	0.005

←若添加唾液則會使反應性降低

藉由添加而使反應性恢復

藉由添加而使反應性恢復

【0090】

(實施例 13)在過敏原檢測用 ELISA 套組中驗證對於因唾液所致之阻礙的抑制效果

確認在各種過敏原檢測用 ELISA 中是否會觀察到因唾液所致之阻礙的偽陰性，另亦確認是否會與在免疫層析

中同樣地可藉由本發明的直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽或四級銨鹽而恢復。

具體而言，花生過敏原檢測用 ELISA 套組係使用「FASTKIT ELISA 花生(日本火腿股份有限公司製)」，將 50μL 的添加有牛唾液 BS-K16 或 PBS 5μL 的花生過敏原蛋白 50 ng/mL 或 25 ng/mL 以「直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽或四級銨鹽的 PBS 溶解溶液 45μL」稀釋，供於 ELISA 套組進行試驗。

結果，若添加唾液則可見反應性降低，在 ELISA 中也確認到因唾液所致的阻礙。然後，在反應溶液中若添加四級銨鹽的氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨或溴化肉豆蔻基三甲基銨，則可確認到反應性會恢復(第 24 表)。

【0091】 [第 24 表]

添加抗原	唾液	添加化合物	Well 1	Well 2	Ave.
花生蛋白 25ng/mL	無	無	0.786	0.794	0.79
花生蛋白 12.5ng/mL	無	無	0.362	0.38	0.371
花生蛋白 0ng/mL	無	無	0.004	0.003	0.0035
花生蛋白 25ng/mL	BS-K16	PBS	0.166	0.156	0.161
花生蛋白 12.5ng/mL	BS-K16	PBS	0.028	0.024	0.026
花生蛋白 25ng/mL	BS-K16	(No.3)硝酸四丁基銨	0.074	0074	0.074
花生蛋白 12.5ng/mL	BS-K16	(No.3)硝酸四丁基銨	0.029	0.03	0.0295
花生蛋白 25ng/mL	BS-K16	(No.5)氯化月桂基三甲基銨	0.527	0.538	0.5325
花生蛋白 12.5ng/mL	BS-K16	(No.5)氯化月桂基三甲基銨	0.294	0.29	0.292
花生蛋白 25ng/mL	BS-KJ6	(No.13)溴化十二烷基三甲基銨	0.543	0.566	0.5545
花生蛋白 12.5nf/fnL	BS-K16	(No.13)溴化十二烷基三甲基銨	0.296	0.296	0.296
花生蛋白 25ng/mL	BS-KI6	(No.30)溴化肉豆蔻基三甲基銨	0.551	0.502	0.5265
花生蛋白 12.5ng/mL	BS-K16	(No.30)溴化肉豆蔻基三甲基銨	0.309	0.31	0.3095
無	無	(直鏈十二烷基苯磺酸鈉)	0.003	0.003	0.003
無	無	(No.3)硝酸四丁基銨	0.004	0.007	0.0055
無	無	(No.5)氯化月桂基三甲基銨	0.004	0.004	0.004
無	無	(No.13)溴化十二烷基三甲基銨	0.004	0.005	0.0045

←若添加唾液則會使反應性降低

反應恢復

無	無	(No.30)溴化肉豆蔻基三甲基銨	0.004	0.004	0.004

【0092】 針對其他的過敏原蛋白質(具體而言為小麥、芝麻、大豆過敏原蛋白質)，使用各自的過敏原檢測用ELISA套組的「FASTKIT ELISA 小麥(日本火腿股份有限公司製)」、「FASTKIT ELISA 芝麻(日本火腿股份有限公司製)」、「FASTKIT ELISA 大豆(日本火腿股份有限公司製)」，進行與花生過敏原時同樣的檢查。

結果，關於其他的過敏原蛋白質，亦與花生過敏原蛋白質的情況時同樣地可確認由複數種四級銨鹽或直鏈十二烷基苯磺酸鈉鹽可抑制因唾液所致之免疫反應阻礙(未顯示數據：第25表)。

【0093】 [第25表]

	小麥	花生	芝麻	大豆
因唾液所致的阻礙	有	有	有	有
化合物，係藉由添加在展開液中而有效於消解因唾液所致的阻礙者	氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨、溴化肉豆蔻基三甲基銨	氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨、溴化肉豆蔻基三甲基銨、直鏈十二烷基苯磺酸鈉	氯化月桂基三甲基銨、溴化十二烷基三甲基銨、溴化肉豆蔻基三甲基銨	溴化十二烷基三甲基銨、溴化肉豆蔻基三甲基銨、直鏈十二烷基苯磺酸鈉

【符號說明】

無

201840978

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

防止因體液所致之抗原抗體反應阻礙的物質

SUBSTANCES PREVENTING INHIBITION OF ANTIGEN-ANTIBODY REACTION CAUSED BY BODY FLUIDS

【中文】

本發明之目的是提供一種對於在使用含有體液(尤其是唾液等來自生體黏膜之成分)的試樣之免疫測定法中之抗原抗體反應阻礙為有效的抑制劑，以及抑制在免疫測定法中之偽陽性及偽陰性。

本發明提供一種免疫反應阻礙抑制劑，其係將在免疫測定法中的因試樣中的體液所致的免疫反應阻礙作用予以抑制者。前述免疫反應阻礙抑制劑之特徵係含有以下的(1)及(2)中任一種化合物：

(1)「R^1-SO_3H」表示的磺酸化合物或其鹽

(式中，R^1表示直鏈狀 C_5至 C_{30}烷基、經具有至少 1 個直鏈狀 C_5至 C_{30}烷基的碳環式芳香族基取代的直鏈狀 C_1至 C_{30}烷基、或具有至少 1 個直鏈狀 C_5至 C_{30}烷基的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基)，

(2)「N^+-$R^2R^3R^4R^5$」表示的四級銨離子或其鹽

(式中，R^2至 R^5分別獨立表示直鏈狀 C_1至 C_{30}烷基、或經至少 1 個直鏈狀 C_5至 C_{30}烷基取代的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基)。

【英文】

An objective of the present invention is to provide an effective inhibitor against inhibition of antigen-antibody reaction in an immunoassay using a sample containing biological mucosa-derived components such as body fluids, in particular saliva, and to suppress false positives and false negatives in the immunoassay.

The present invention provides an inhibitor against immune reaction inhibition, which suppresses an immune reaction inhibitory action derived from a body fluid in a sample in an immunoassay; the inhibitor against immune reaction inhibition is characterized by including any one of the following compounds (1) and (2).

(1) A sulfonic acid compound represented by [R^1-SO_3H] or a salt thereof

(In the formula, R^1 represents a linear C_5 to C_{30} alkyl group, a linear C_1 to C_{30} alkyl group substituted with a carbocyclic aromatic group having at least one linear C_5 to C_{30} alkyl group, or a carbocyclic aromatic group having at least one linear C_5 to C_{30} alkyl group, and these groups may have a substituent),

(2) quaternary ammonium ion represented by [N^+-$R^2R^3R^4R^5$] or a salt thereof

(In the formula, R^2 to R^5 each independently represent a linear C_1 to C_{30} alkyl group, or a carbocyclic aromatic group substituted with at least one linear C_5 to C_{30} alkyl group, and these groups may have a substituent).

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：

本案圖式皆為用以顯示化合物效果之實驗數據圖，並非用以表示本案申請專利範圍所請內容，故並非本案代表圖。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

本案無化學式。

申請專利範圍

1. 一種免疫反應阻礙抑制劑，係將在免疫測定法的試樣中的因體液所致的免疫反應阻礙作用予以抑制者，係含有以下的(1)及(2)的任一種化合物：

(1) R^1-SO_3H 表示的磺酸化合物或其鹽：

式中，R^1 表示直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基、經具有至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基的碳環式芳香族基取代的直鏈狀 C_1 至 C_{30} 烷基、或具有至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基；

(2) N^+-$R^2R^3R^4R^5$ 表示的四級銨離子或其鹽：

式中，R^2 至 R^5 分別獨立表示直鏈狀 C_1 至 C_{30} 烷基、或經至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{30} 烷基取代的碳環式芳香族基，該等基團亦可具有取代基。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(1)的式中，R^1 係無取代的直鏈狀 C_5 至 C_{20} 烷基、經具有直鏈狀 C_5 至 C_{20} 烷基的苯基取代的直鏈狀 C_1 至 C_{20} 烷基、或經直鏈狀 C_5 至 C_{20} 烷基取代的苯基。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2 至 R^5 分別獨立為可經碳環式芳香族基取代的直鏈狀 C_1 至 C_{20} 烷基、或經至少 1 個直鏈狀 C_5 至 C_{20} 烷基取代的碳環式芳香族基。

4. 如申請專利範圍第 1 項所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2 至 R^5 分別獨立為無取代或經苯基取代的直鏈狀 C_1 至 C_{20} 烷基、或是經直鏈狀 C_5 至 C_{20} 烷

基取代的苯基。

5. 如申請專利範圍第4項所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2 至 R^5 是下述(a)至(e)中的任一種情況：

(a)R^2 至 R^5 中的任一者為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20} 烷基，其他三者為甲基或乙基的情況；

(b)R^2 至 R^5 中的任一者為甲基或乙基，其他三者為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20} 烷基的情況；

(c)R^2 至 R^5 全部皆為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20} 烷基的情況；

(d)R^2 至 R^5 中的任一者為苄基，其他三者為可經苯基取代的直鏈狀 C_3 至 C_{20} 烷基的情況；或者是

(e)R^2 至 R^5 中的任二者為甲基或乙基，其他二者為可經苯基取代的直鏈狀 C_6 至 C_{20} 烷基的情況。

6. 如申請專利範圍第5項所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)的式中，R^2 至 R^5 是下述(a)至(e)中的任一種情況：

(a)R^2 至 R^5 中的任一者為直鏈 C_3 至 C_{16} 烷基，其他三者為甲基的情況；

(b)R^2 至 R^5 中的任一者為甲基，其他三者為直鏈 C_3 至 C_{12} 烷基的情況；

(c)R^2 至 R^5 全部皆為直鏈 C_3 至 C_{12} 烷基的情況；

(d)R^2 至 R^5 中的任一者為苄基，其他三者為直鏈 C_3 至 C_{12} 烷基的情況；或者是

(e)R^2 至 R^5 中的任二者為甲基，其他二者為直鏈 C_3 至 C_{12} 烷基的情況。

7. 如申請專利範圍第 1 項、第 3 項至第 6 項中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑，其中，(2)為銨離子的鹽，且為與由鹵化氫、硝酸、六氟磷酸、三氟化二氫及過氯酸所成之群中選出的化合物所構成的鹽。

8. 一種免疫測定方法，係使用如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑。

9. 一種偽陽性及/或偽陰性經抑制的免疫測定方法，係包含：

在用以測定含有來自受驗體的體液之試樣中的受驗物質的由 ELISA、免疫層析法、西方印漬法、免疫印漬法、免疫沈降法及乳膠凝聚法中選出的任一種免疫測定法中，使用如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑。

10. 如申請專利範圍第 9 項所述的免疫測定方法，其中，含有來自受驗體的體液之試樣係含有至少 1 種由唾液、咳痰、喉擦拭液、鼻擦拭液、鼻腔抽吸液及角結膜擦拭液中選出的來自生體黏膜的體液。

11. 如申請專利範圍第 8 項至第 10 項中任一項所述的免疫測定方法，其中，受驗物質係由病原體、病原微生物、激素、炎症關連物質、前列腺素及代謝症候群關連物質所成的群中選出的物質。

12. 如申請專利範圍第 11 項所述的免疫測定方法，其中，

前述病原體或病原微生物係由口蹄疫病毒、流行性感冒病毒、腺病毒、RS 病毒、冠狀病毒、狂犬病病毒、百日咳菌、溶血性鏈球菌、大腸菌、食中毒細菌、砂眼披衣菌及黴漿菌中選出的病原體或病原微生物。

13. 一種免疫測定用套組，係含有如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑。

14. 如申請專利範圍第 13 項所述的免疫測定用套組，係用於 ELISA、免疫層析法、西方印漬法、免疫印漬法、免疫沈降法及乳膠凝聚法中選出的任一種免疫測定法之套組。

15. 一種套組，係使用來自受驗體的體液並藉由免疫反應來診斷受驗體是否有罹患病原性疾病之套組，

其中，在受驗體液試樣的稀釋劑、展開液、阻斷液中的至少 1 者中添加有如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項所述的免疫反應阻礙抑制劑。

16. 如申請專利範圍第 15 項所述的套組，其中，病原性疾病係由口蹄疫病毒、流行性感冒病毒、腺病毒、RS 病毒、冠狀病毒、狂犬病病毒、百日咳菌、溶血性鏈球菌、大腸菌、食中毒細菌、砂眼披衣菌及黴漿菌中選出的病原體或病原性微生物所引起之疾病。