



(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 202102850 A

(43) 公開日：中華民國 110 (2021) 年 01 月 16 日

(21) 申請案號：109110517

(22) 申請日：中華民國 109 (2020) 年 03 月 27 日

(51) Int. Cl. : G01N33/53 (2006.01)

G01N33/543 (2006.01)

G01N33/545 (2006.01)

(30) 優先權：2019/03/29 日本

JP2019-067785

(71) 申請人：日商積水醫療股份有限公司 (日本) SEKISUI MEDICAL CO., LTD. (JP)

日本

(72) 發明人：大田美惠子 OTA, MIEKO (JP)；稻葉祐也 INABA, YUUYA (JP)；小林大毅

KOBAYASHI, HIROKI (JP)；山本光章 YAMAMOTO, MITSUAKI (JP)

(74) 代理人：閻啓泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：0 共 20 頁

(54) 名稱

免疫測定試劑及免疫測定方法

(57) 摘要

本發明之課題在於提供一種試劑及使用該試劑之免疫測定方法，上述試劑於使用含有乳膠粒子之試劑之免疫測定方法中，藉由活用既有之反應槽 (reaction cell) 且亦不會對試劑構成造成影響之方法，可降低反應槽內之污垢之附著。

本發明提供一種免疫測定試劑，其係含有乳膠粒子者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。又，本發明提供一種免疫測定方法，其係包括使乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸之步驟者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

無



202102850

【發明摘要】

【中文發明名稱】 免疫測定試劑及免疫測定方法

【英文發明名稱】 IMMUNOASSAY REAGENT AND IMMUNOASSAY
METHOD

【中文】

本發明之課題在於提供一種試劑及使用該試劑之免疫測定方法，上述試劑於使用含有乳膠粒子之試劑之免疫測定方法中，藉由活用既有之反應槽（reaction cell）且亦不會對試劑構成造成影響之方法，可降低反應槽內之污垢之附著。

本發明提供一種免疫測定試劑，其係含有乳膠粒子者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。又，本發明提供一種免疫測定方法，其係包括使乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸之步驟者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

【英文】

無

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 免疫測定試劑及免疫測定方法

【英文發明名稱】 IMMUNOASSAY REAGENT AND IMMUNOASSAY
METHOD

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種含有乳膠粒子之免疫測定試劑及使用該試劑之免疫測定方法。詳細而言，係關於一種乳膠粒子含有鹵素原子之免疫測定試劑及使用該試劑之免疫測定方法。

【先前技術】

【0002】 使用不溶性載體粒子之勻相測定法、尤其是乳膠凝集免疫測定法（LTIA）由於能夠實現高感度檢測，故於臨床檢查之領域中測定對象擴大。LTIA法之測定對象為血液或尿等活體試樣中所含之蛋白質、糖、脂質、酵素、激素、無機離子、疾病標記等，大部分係藉由自動分析裝置來實施測定。作為自動分析裝置，例如已知有對在反應槽（reaction cell）內將活體試樣與試劑加以混合而成之反應溶液之吸光度進行測定，而判定有無特定物質或測定濃度者。

【0003】 近年來，隨著醫療診斷技術之提高，臨床檢查中之測定項目數飛躍性地增加。伴隨此，於臨床檢查中分配至各測定項目之檢體之量有限，因此，要求使用自動分析裝置之測定對於微量之檢體高感度地進行。

【0004】 此處，反應槽通常使用疏水性樹脂所形成，因此有時活體試樣或檢查試劑容易附著，僅憑特定之洗淨未將污垢充分去除乾淨。尤其是於利用自動分析裝置連續地處理大量檢體之情形時，亦有根據檢體之種類，僅憑程式化之洗淨未將污垢充分去除乾淨之虞。進而，於因檢體之微量化而使用小型反應槽之情

形時，預測到即便僅殘存少許污垢，基於光學手段之檢測感度亦會降低而成為問題。

因此，為了高感度地分析微量之檢體，要求極力減少由檢體或試劑所導致之污垢附著。

【0005】 例如，專利文獻1中揭示有一種自動分析裝置用反應槽，其係由「作為聚烯烴系樹脂之第一高分子材料」、及「具有選自由羥基、醚基、羰基、羧基、及酯基所組成之群中之至少一種含氧官能基之第二高分子材料」之混合體所形成，藉此減少了氣泡附著或污染物質。

又，專利文獻2中揭示有如下方法：向自動分析裝置之反應槽供給由「作為水溶性樹脂之聚乙二醇（PEG）之水溶液或聚乙烯吡咯啉酮（PVP）之水溶液」所構成之防污液，於反應槽之內壁面形成防污膜，藉此減少污染物質附著。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0006】 [專利文獻1]日本特開2018-25415號公報

[專利文獻2]日本特開2016-50796號公報

【發明內容】

[發明所欲解決之課題]

【0007】 關於上述專利文獻1之反應槽，必須準備特別之槽，無法使用既有之連續測定裝置所附帶之槽，又，於專利文獻2中需要特定之防污液，因此亦必須研究對於免疫反應之影響或試劑構成之變更等。

本發明之課題在於提供一種試劑及使用該試劑之免疫測定方法，上述試劑於使用含有乳膠粒子之試劑之免疫測定方法中，藉由活用既有之反應槽且亦不會對試劑構成造成影響之方法，可減少反應槽內之污垢附著。

[解決課題之技術手段]

【0008】 為了解決上述課題，進行了深入研究，結果查明，藉由使乳膠粒子含有鹵素原子，可減少由檢體或試劑所導致之污垢附著，從而完成了本發明。即，本發明具有以下之構成。

[1]一種免疫測定試劑，其係含有乳膠粒子者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

[2]如[1]中記載之免疫測定試劑，其中，鹵素原子為氟。

[3]如[1]或[2]中記載之免疫測定試劑，其中，乳膠粒子為聚苯乙烯乳膠粒子。

[4]如[1]至[3]中任一項所記載之免疫測定試劑，其中，乳膠粒子為抗原或抗體均不致敏之未致敏粒子。

[5]如[1]至[4]中任一項所記載之免疫測定試劑，其為自動分析裝置用試劑。

[6]一種HbA1c測定試劑，其至少含有：含有鹵素原子之乳膠粒子及針對HbA1c之抗體。

[7]一種HbA1c測定用乳膠免疫測定試劑，其含有以下之第1試劑及第2試劑。

(1) 第1試劑：含有含鹵素原子之乳膠粒子

(2) 第2試劑：含有抗HbA1c單株抗體

[8]一種免疫測定方法，其係包括使乳膠粒子與測定對象樣品於反應槽內接觸之步驟者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

[9]如[8]中記載之免疫測定方法，其中，鹵素原子為氟。

[10]如[8]或[9]中記載之免疫測定方法，其中，乳膠粒子為聚苯乙烯乳膠粒子。

[11]如[8]至[10]中任一項所記載之免疫測定方法，其中，乳膠粒子為抗原或抗體均不致敏之未致敏粒子。

[12]如[8]至[11]中任一項所記載之免疫測定方法，其使用自動分析裝置進行

測定。

[13]一種HbA1c測定方法，其包括使含有鹵素原子之乳膠粒子、針對HbA1c之抗體、及樣品於反應槽內接觸之步驟。

[14]一種HbA1c測定方法，其包括以下步驟。

(1) 藉由使含有鹵素原子之乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸而使樣品中之HbA1c吸附於乳膠粒子之步驟

(2) 藉由使吸附於乳膠粒子之HbA1c與HbA1c單株抗體接觸而使乳膠粒子凝集之步驟

[15]一種抑制反應槽之污垢之方法，其係包括使乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸之步驟的抑制免疫測定方法中之反應槽污垢之方法，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

[16]一種乳膠粒子，其係用於免疫測定者，其特徵在於含有鹵素原子。

[發明之效果]

【0009】 根據本發明之試劑，可提供一種直接活用以往之反應槽且不變更試劑構成，而檢體或試劑之污垢難以附著之測定試劑。根據本發明試劑，即便反覆進行測定，污垢亦不會附著於槽，可防止空白值之高值化。因此，於對各種檢體或各種檢查項目大量實施之自動分析裝置中尤其適宜使用。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

【0010】 本發明係一種免疫測定試劑之發明，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子，又，係一種關於免疫測定方法之發明，其包括使含有鹵素原子之乳膠粒

子與樣品於反應槽內接觸之步驟。又，該免疫測定方法可抑制反應槽之污垢，因此，本發明亦為抑制免疫測定方法中之反應槽之污垢之方法的發明，該方法包括使含有鹵素原子之乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸之步驟。以下，分別詳細地說明本發明之構成。

【0011】 (反應槽)

本發明之反應槽係用以收容檢體樣品與試劑之混合物，並對該混合物進行光學測定者，且該反應槽為玻璃製或塑膠製。作為塑膠，可列舉由聚乙烯、聚丙烯、聚乙烯及聚丙烯之共聚物、聚甲基丙烯酸甲酯等素材所製造之槽。反應槽存在如下類型：不拋棄而繼續使用之類型；每次測定時進行交換之拋棄型；以及針對每種測定檢體、或者每個測定項目使用後、或者使用一定次數或一定期間後拋棄之半拋棄型，但本發明之試劑較佳為用於不拋棄而繼續使用之類型及半拋棄型之槽之情形。

【0012】 本發明之試樣中之測定對象物質之測定可藉由手動方法來進行，或亦可使用測定裝置等機器進行。測定裝置可為通用自動分析裝置，亦可為專用之測定裝置（專用機）。

於本發明中，自動分析裝置係指主要以臨床檢查中之用途為目的由各公司所製造、銷售者，作為具體例，可列舉：Hitachi High-Technologies公司製造之自動分析裝置系列、TOSHIBA MEDICAL SYSTEMS公司製造之TBA系列、日本電子公司製造之BM系列、Beckman Coulter Biomedical公司製造、SEKISUI MEDICAL公司製造等所謂通用試劑型自動分析裝置、或近紅外測定裝置LPIA（註冊商標）（Mitsubishi Chemical Medience公司製造）、散射光強度測定裝置（DADE BEHRING公司製造）等所謂專用試劑型自動分析裝置、進而能夠進行光學測定之血液凝固測定裝置等。

【0013】 該等自動分析裝置通常藉由如下動作來測定檢體。以使用適合本

發明之由2種構成試劑所構成之檢查試劑（兩試液系試劑）之情形為例，按照測定步驟來進行說明。依序進行：反應槽之洗淨；水空白樣品之測定；樣品及第一試劑之分注、互溶；第2試劑之分注、互溶；反應；光學變化之測定；反應液之抽吸；反應槽之洗淨。如此，於自動分析裝置之測定步驟中組入有反應槽之洗淨步驟，但僅憑該步驟，若為以往之試劑，則無法充分去除由樣品所導致之污垢。

【0014】 作為專用之測定裝置，可為如下檢查用設備裝置，即利用微小流路（微流路）將試樣與試劑加以混合，使該等進行反應從而進行檢測。具體而言，採用繞著水平旋轉軸進行旋轉操作之反應盒，該反應盒具備微小流路、及與微小流路連通而將液體試樣導入至微小流路之注入孔，且具備可簡易地導入稀釋液之手段。該反應流路具備組入有分析試劑之試劑區、及沿微小流路擾亂液體試樣之由重力導致之流動之手段，該手段係用以使液體試樣與分析試劑接觸，且將液體試樣與分析試劑一起攪拌，藉此充分促進特定反應。如此構成之反應盒為如下構造之裝置：藉由進行旋轉及振動而使液體試樣通過微小流路來流動並使之與分析試劑接觸，且將液體試樣與分析試劑一起攪拌，藉此促成特定之反應，測定液體試樣中之能夠檢測出之反應。

【0015】 （含鹵素原子之乳膠粒子）

本發明之含鹵素原子之乳膠粒子由分子內含有鹵素原子之聚合物系乳膠粒子所構成。作為構成聚合物系乳膠粒子之聚合物，並無特別限定，例如可列舉：聚苯乙烯、苯乙烯-苯乙烯磺酸鹽共聚物、聚乙烯基萘、苯乙烯-乙烯基萘共聚物、甲基丙烯酸聚合物、丙烯酸聚合物、伊康酸聚合物、苯乙烯-親水性羧基單體共聚物、苯乙烯-甲基丙烯酸共聚物、苯乙烯-丙烯酸共聚物、苯乙烯-伊康酸共聚物等。其中，較佳為苯乙烯-苯乙烯磺酸鹽共聚物、苯乙烯-乙烯基萘共聚物。尤佳為苯乙烯-苯乙烯磺酸鹽共聚物。本發明之含鹵素原子之乳膠粒子藉由使用成為聚合物之原料之單體之一部分含有鹵素原子的單體（含鹵素原子之單體），可製

造含鹵素原子之乳膠粒子。

【0016】 作為本發明中使用之苯乙烯磺酸鹽之鹽，並無特別限定，可列舉：鈉鹽、鉀鹽、鋰鹽、銨鹽等。該等可單獨使用，亦可併用2種以上。其中，較佳地使用苯乙烯磺酸鈉。

【0017】 作為製備本發明中使用之分子內含有鹵素原子之聚合物系乳膠粒子之方法，並無特別限定，可使用公知之方法。例如，可較佳地使用不使用乳化劑（界面活性劑）之無皂乳化聚合法。作為該無皂乳化聚合法所使用之聚合起始劑，可列舉過硫酸鉀、過硫酸銨等，較佳為過硫酸鉀。於本發明中，亦可藉由如下方式進行製造：向反應容器中添加離子交換水、成為粒子之基底之單體、含鹵素之單體、聚合起始劑，一面攪拌一面對反應容器內進行氮氣置換後，進行聚合反應。

作為含鹵素原子之單體，只要為含有雙鍵或三鍵及鹵素原子之化合物，則並無特別限定，例如可列舉含鹵素之苯乙烯。其中，可列舉：2-氟苯乙烯、3-氟苯乙烯、4-氟苯乙烯、2,3,4,5,6-五氟苯乙烯、2-氯苯乙烯、3-氯苯乙烯、4-氯苯乙烯、2-溴苯乙烯、3-溴苯乙烯、4-溴苯乙烯等。其中較佳為2-氟苯乙烯、3-氟苯乙烯、4-氟苯乙烯、2,3,4,5,6-五氟苯乙烯。尤佳為4-氟苯乙烯、2,3,4,5,6-五氟苯乙烯。

【0018】 關於鹵素原子之含有率之下限，較理想為含有鹵素原子之單體之重量為全部單體重量之1%以上。其原因在於：若小於1%，則槽污垢之抑制效果不足。鹵素原子之含有率之下限進而較佳為2%以上，進一步更佳為3%以上，最佳為5%以上。進而亦有較佳為6%以上、7%以上、8%以上、9%以上、10%以上之情形。又，關於鹵素原子之含有率之上限，較理想為含有鹵素原子之單體之重量為全部單體重量之50%以下。其原因在於：若大於50%，則HbA1c向乳膠粒子表面之吸附受到阻礙，而導致感度降低。鹵素原子之含有率之上限進而較佳為

40%以下，更佳為30%以下，最佳為25%以下。

又，作為鹵素原子含有率之較佳範圍，可列舉上述下限與上限之組合。具體而言為1~50%，更佳為2~40%，更佳為3~30%，最佳為5~25%。

【0019】 作為含氟之苯乙烯粒子之製造方法，具體而言可列舉如下方法：向容器內添加苯乙烯單體、4-氟苯乙烯或2,3,4,5,6-五氟苯乙烯、及苯乙烯磺酸鈉、過硫酸鉀，對容器內進行氮氣置換後，進行聚合反應。

【0020】 乳膠粒子之尺寸可視本發明之免疫測定法及試劑之檢測原理於0.05至1 μm 之範圍內適當選擇，於自動分析裝置之光學測定中通用平均粒徑0.1~0.4 μm ，較佳為0.1~0.2 μm 。

於本發明中，藉由使乳膠粒子含有鹵素原子而可減少槽內之污垢附著之原因並未確定，但於樹脂之領域中，使用「將聚乙烯之氫原子全部取代為氟原子而成之PTFE（四氟化-聚四氟乙烯）」作為單體而成之樹脂與聚乙烯樹脂相比，具有物質難以附著之性質，因此認為於乳膠粒子含有鹵素原子之情形時亦根據同樣之理由，可防止源自檢體或試劑之污垢附著於槽。

【0021】 （高親和性物質）

本發明之含有乳膠粒子之試劑藉由與對於測定對象物質具有高親和性之物質一起使用，能夠測定樣品中所存在之測定對象物質。作為高親和性物質，可列舉：蛋白質、肽、胺基酸、脂質、糖質、核酸、半抗原等，分子量之高低及天然、合成等來源並無特別限制，但通常利用多株抗體、單株抗體（包含各抗體之功能性片段）、或抗原。作為本發明之抗體，除抗體分子整體以外，亦能夠使用具有抗原抗體反應活性之抗體之功能性片段。除經過通常之對動物（小鼠、山羊、綿羊等）之免疫步驟所得者以外，亦可為藉由基因重組技術等而變成與對免疫原（測定對象物質）免疫之動物不同之動物種之胺基酸序列的抗體（嵌合抗體、人源化抗體、或完全人源化抗體等）。作為抗體之功能性片段，可列舉具有抗原抗

體反應活性之片段即F(ab')₂、Fab'或單鏈抗體（scFv）等。該等抗體之功能性片段可藉由利用蛋白質分解酵素（例如，胃蛋白酶或木瓜酶等）對以上述方式獲得之抗體進行處理而製造。

該等抗體或抗原可以游離之狀態或者與乳膠表面結合之狀態含於試劑中。有時將抗原或抗體等高親和性物質未結合（致敏）之狀態之乳膠粒子於本發明中特別稱為未致敏乳膠粒子。關於高親和性物質與乳膠粒子結合之方法，可利用物理吸附、化學結合、利用親和性之結合等任一者。

【0022】（能夠利用之測定原理）

本發明之含有乳膠粒子之試劑可適宜地用於酵素免疫測定法、螢光免疫測定法、乳膠免疫凝集法、免疫層析法等利用生物學反應之各種方法，其中，可更適宜地用於測定乳膠之凝集程度之乳膠免疫凝集法。

乳膠之凝集測定可藉由光學或者電化學觀察所產生之凝集之程度而對測定對象之濃度進行測定。作為光學觀察之方法，可列舉利用光學機器對散射光強度、吸光度、或透射光強度進行測定之方法（終點法、速率法等）。

將測定試樣所得之吸光度等測定值與測定標準物質所得之吸光度等測定值進行比較，可算出試樣中所含之測定對象物質之濃度（定量值）。再者，透射光或散射光等之吸光度等之測定可為1個波長測定，或亦可為2個波長測定（2個波長所造成之差或比）。測定波長通常選自400 nm至800 nm之中。

【0023】（測定試樣、測定對象）

作為本發明之測定試劑及測定方法中之檢測對象之「試樣」，只要含有可利用免疫反應來進行檢測之對象，則可為任一者，主要可列舉源自活體（生物）之體液。具體而言為全血、血漿、血清、血球、咽拭液、尿等。

該等試樣有時直接使用，但亦有時利用檢體稀釋液進行稀釋，或實施其他預處理後使用。

作為測定對象，可列舉：蛋白質、肽、胺基酸、脂質、糖質、核酸、半抗原等，但理論上只要為能夠測定之分子，則並無特別限制。作為例，可列舉：HbA1c、CRP（C反應性蛋白質）、Lp（a）、MMP3（基質金屬蛋白酶3）、抗CCP（環狀瓜胺酸化肽）抗體、抗磷脂質抗體、RPR、IV型膠原蛋白、PSA、BNP（腦性鈉利尿肽）、NT-proBNP、胰島素、微白蛋白、胱抑素C（cystatin C）、RF（類風濕因子）、CA-RF、KL-6、PIVKA-II、FDP、D二聚物、SF（可溶性血纖維蛋白）、TAT（凝血酶-抗凝血酶III複合體）、PIC、PAI、XIII因子、胃蛋白酶原I、II、或苯妥英、苯巴比妥、卡巴馬平、丙戊酸、茶鹼等。

【0024】（免疫測定試劑、免疫測定試劑套組）

本發明之免疫測定試劑至少含有上述含有鹵素原子之乳膠粒子，亦含有其他免疫測定所需要之構成。通常以第一試劑、第二試劑之形態提供，且上述乳膠粒子可含於第一試劑或者第二試劑中。通常於乳膠粒子未致敏之情形時，較佳為使乳膠粒子含於第一試劑中，且使與測定對象結合之高親和性物質含於第二試劑中。又，於為經致敏之乳膠粒子之情形時，較佳為使第一試劑含有緩衝劑，使第二試劑含有經致敏之乳膠粒子。進而，本發明之測定試劑除設為上述兩試劑（兩步驟法）以外，亦可設為三試劑（三步驟法）。於設為兩試劑以上之構成之情形時，可為免疫測定試劑，又，亦可稱為免疫測定試劑套組。

【0025】（其他）

本發明之免疫測定試劑套組有時除上述試劑以外，還適當包含緩衝成分（緩衝液）。作為可用於本發明之緩衝液，只要為通常使用者即可，例如可列舉：三經甲基胺基甲烷鹽酸、硼酸、磷酸、乙酸、檸檬酸、琥珀酸、酞酸、戊二酸、順丁烯二酸、甘胺酸及其等之鹽等、或MES、Bis-Tris、ADA、PIPES、ACES、MOPSO、BES、MOPS、TES、HEPES等古德緩衝液（Good's buffer）等。

又，套組中亦可包含其他檢測所需要之試劑、檢體之稀釋液、檢體採集用用

具、或操作說明書等。

【0026】 (HbA1c測定試劑)

如上所述，本發明所適用之測定對象並無限定，以測定對象為血液中之HbA1c之情形之測定用試劑為例來進行說明。HbA1c測定用試劑至少具有以下構成。

(a) 含有鹵素原子之乳膠粒子

(b) 抗體

作為(b)之抗體，必須含有抗HbA1c單株抗體。又，為了增強乳膠凝集之強度，亦可含有第2抗體，可列舉：抗HbA1c單株抗體及與抗HbA1c單株抗體結合之多株抗體之組合、或抗HbA1c單株抗體及與抗HbA1c單株抗體反應之單株抗體之組合。有時將與抗HbA1c單株抗體結合之多株抗體或與抗HbA1c單株抗體反應之單株抗體統稱為針對HbA1c單株抗體之抗體。

關於使用上述試劑之測定方法，於(b)所含之抗體為1種之情形時，可藉由如下步驟測定樣品中之HbA1c：藉由使含有鹵素原子之乳膠粒子與樣品接觸而使樣品中之HbA1c吸附於乳膠粒子；及藉由使吸附於乳膠粒子之HbA1c與抗體接觸而使乳膠粒子凝集。

於(b)所含之抗體為2種之情形時，可藉由如下步驟測定樣品中之HbA1c：藉由使含有鹵素原子之乳膠粒子與樣品接觸而使樣品中之HbA1c吸附於乳膠粒子；

藉由使吸附於乳膠粒子之HbA1c與第1抗體接觸而形成第1抗體、HbA1c、及乳膠粒子之複合體；及

藉由使該複合體與第2抗體接觸之步驟而使乳膠粒子凝集。

以下，列舉實施例進一步詳細地說明本發明，但本發明並不限定於該等。

[實施例]

【0027】 < 粒子之製造方法 >

粒子之製造中使用以下之原料。

- 苯乙烯單體（NS Styrene Monomer股份有限公司製造）
- 苯乙烯磺酸鈉（東京化成工業股份有限公司製造）
- 過硫酸鉀（Merck公司製造）
- 4-氟苯乙烯（東京化成工業股份有限公司製造）
- 2,3,4,5,6-五氟苯乙烯（東京化成工業股份有限公司製造）
- 1-乙炔基萘（東京化成工業股份有限公司製造）

【0028】 [比較例1之粒子製造例] 苯乙烯粒子之製造

向具備攪拌機、回流用冷卻器、溫度檢測器、氮氣導入管及夾套之玻璃製反應容器（容量2 L）添加超純水800 g、苯乙烯單體38 g、苯乙烯磺酸鈉0.02 g、過硫酸鉀0.3 g，對容器內進行氮氣置換後，一面於70°C以120 rpm之速度進行攪拌一面實施聚合24小時。

聚合結束後，利用濾紙對上述溶液進行過濾處理，取出乳膠粒子。

之後，利用透析膜進行透析處理48小時，獲得經純化之乳膠粒子。所獲得之乳膠粒子之粒徑為0.119 μm 。

[比較例2之粒子製造例] 乙炔基萘粒子之製造

設為超純水800 g、苯乙烯單體28.5 g、1-乙炔基萘14 g、苯乙烯磺酸鈉0.01 g、過硫酸鉀0.2 g，除此以外，與比較例1粒子製造例同樣地獲得乳膠粒子。所獲得之乳膠粒子之粒徑為0.114 μm 。

【0029】 [實施例1之粒子製造例] 氟粒子之製造

設為超純水800 g、苯乙烯單體38 g、4-氟苯乙烯11.1 g、苯乙烯磺酸鈉0.02 g、過硫酸鉀0.3 g，除此以外，與比較例1粒子製造例同樣地獲得乳膠粒子。所獲得之乳膠粒子之粒徑為0.104 μm 。含有氟之單體之物質質量為全部單體物質質量之

20%。

【0030】 [實施例2之粒子製造例]氟粒子之製造

設為超純水800 g、苯乙烯單體38 g、2,3,4,5,6-五氟苯乙烯17.7 g、苯乙烯磺酸鈉0.02 g、過硫酸鉀0.3 g，除此以外，與比較例1同樣地獲得乳膠粒子。所獲得之乳膠粒子之粒徑為0.107 μm 。含有氟之單體之物質質量為全部單體物質質量之20%。

【0031】 [實施例3之粒子製造例]氟粒子之製造

設為超純水800 g、苯乙烯單體38 g、4-氟苯乙烯2.3 g、苯乙烯磺酸鈉0.02 g、過硫酸鉀0.3 g，除此以外，與比較例1粒子製造例同樣地獲得乳膠粒子。所獲得之乳膠粒子之粒徑為0.107 μm 。含有氟之單體之物質質量為全部單體物質質量之5%。

【0032】 [實施例4之粒子製造例]氟粒子之製造

設為超純水800 g、苯乙烯單體38 g、4-氟苯乙烯5.0 g、苯乙烯磺酸鈉0.02 g、過硫酸鉀0.3 g，除此以外，與比較例1粒子製造例同樣地獲得乳膠粒子。所獲得之乳膠粒子之粒徑為0.110 μm 。含有氟之單體之物質質量為全部單體物質質量之10%。

再者，抗人HbA1c單株抗體及大鼠抗小鼠IgG單株抗體係藉由通常的方法製造。

【0033】 [實施例]試劑之製備

將比較例1、實施例1～實施例6之第一試劑及第二試劑之組成示於以下。各第一試劑之乳膠粒子之種類及含量係如表1所示。

(1-1) 第一試劑

緩衝液 pH值7.0

乳膠粒子 (*1)

0.05% ProClin 300

10% 甘油

(*1)：示於表1。

【0034】 (1-2) 第二試劑

緩衝液 pH值7.0

500 mM 氯化鈉

0.09% 疊氮化鈉

0.05% Tween-20

0.1 mg/mL 抗人HbA1c單株抗體

0.1 mg/mL 大鼠抗小鼠IgG單株抗體

【0035】 [表1]

試劑	粒子	第一試劑中之粒子之含量(重量%)
比較例 1	比較例 1 粒子(苯乙烯粒子)	0.1%
比較例 2	比較例 2 粒子(乙烯基萘粒子)	0.1%
實施例 1	實施例 1 粒子(氟含量(*) 20%)	0.1%
實施例 2	實施例 2 粒子(氟含量(*) 20%)	0.1%
實施例 3	實施例 3 粒子(氟含量(*) 5%)	0.1%
實施例 4	實施例 4 粒子(氟含量(*) 10%)	0.1%
實施例 5	實施例 1 粒子(氟含量(*) 20%)	0.17%
實施例 6	實施例 1 粒子(氟含量(*) 20%)	0.25%

(*) 含氟之單體物質量相對於全部單體物質量之比率(%)

【0036】 [試驗例1]槽污垢之評價

於使用上述配方之各試劑對血液樣品連續測定之情形時，對槽之污垢情況進行評價。

(1) 試驗方法

關於比較例1、實施例1、實施例2之各試劑，各使用3個未使用之反應槽(槽之材質：塑膠，Hitachi High-Tech Fielding製造，製品名：反應槽，商品碼：21003)，對測定樣品連續測定30次，評價測定後之反應槽之污垢情況。

(i) 測定裝置及測定波長

日立7170型自動分析裝置，340 nm

(ii) 測定樣品

血液檢體：以2000×g對利用EDTA採血管採集所得之人血液進行離心分離5分鐘，利用純化水對所得之下層血球稀釋100倍，將所得者作為檢體。

空白檢體：純化水。

(iii) 測定程序

將測定樣品6.3 μL及第一試劑150 μL添加至反應槽，於37°C反應5分鐘後，進而將第二試劑50 μL添加至反應槽，於37°C反應5分鐘。

關於該反應，使用各試劑，並於特定編號之槽中以連續測定之方式實施測定。

於測定樣品之連續測定之前後，測定340 nm之槽空白值，算出槽空白值上升幅度。自「將檢體作為測定樣品並連續測定之情形時之槽空白值之上升幅度」減去「連續測定空白樣品（將純化水作為測定樣品，作為第一試劑及第二試劑，亦使用純化水）之情形時之槽空白值上升幅度」，將所得之值作為槽污垢（mAbs.）來進行評價。即，槽污垢（mAbs.）係藉由以下之式求出。

$$\text{槽污垢 (mAbs.)} = (b2 - b1) - (a2 - a1)$$

檢體之槽空白值上升幅度：b2 - b1

連續測定前之槽空白之測定值：b1 (mAbs.)

連續測定後之槽空白之測定值：b2 (mAbs.)

空白樣品（純化水）之槽空白值上升幅度：a2 - a1

連續測定前之槽空白之測定值：a1 (mAbs.)

連續測定後之槽空白之測定值：a2 (mAbs.)

將如此算出之3個槽污垢數據之平均值算出，探討試驗結果。

【0037】 [表2]

試劑	粒子之種類	槽污垢 (mAbs.)
		平均值
比較例 1	苯乙烯	6.0
比較例 2	乙烯基萘	7.6
實施例 1	氟	2.3
實施例 2	氟	1.9

【0038】 (2) 試驗結果

於使用苯乙烯粒子之比較例1中，連續測定30次之槽污垢為6.0 mAbs.，於使用乙烯基萘粒子之比較例2中，槽污垢為7.6 mAbs.。另一方面，於使用氟粒子之實施例1、2中，槽污垢為2.3、1.9 mAbs.。根據本結果，認為與苯乙烯粒子、乙烯基萘粒子相比，使用本發明之氟粒子之試劑防止血液檢體或粒子之污垢吸附於槽，反應槽難以被污染。

【0039】 [試驗例2]

(1) 試驗方法

使用實施例1、實施例3、實施例4之試劑，且各使用1個反應槽，連續進行20次測定。

【0040】 [表3]

試劑	氟含量 (*)	槽污垢 (mAbs.)
實施例 1	20%	0.1
實施例 3	5%	0.7
實施例 4	10%	1.0

(*) 含氟之單體之物質質量相對於全部單體之物質質量之比率
(%)

【0041】 (2) 試驗結果

粒子之氟含量為20%之實施例1之槽污垢為0.1 mAbs.，氟含量為5%之實施例3為0.7 mAbs.，氟含量為10%之實施例4為1.0 mAbs.。根據本結果，顯示本發明之使用含氟之苯乙烯粒子之試劑於粒子之氟含量為5~20%之間防止血液檢體或粒子之污垢吸附於槽，反應槽難以被污染。

【0042】 [試驗例3]

(1) 試驗方法

使用實施例1、5、6之試劑，且各使用3個反應槽，連續測定30次。

【0043】 [表4]

試劑	第一試劑中之粒子之 含量 (重量%)	槽污垢 (mAbs.)
		平均值
比較例 1	0.1%	9.9
實施例 1	0.1%	0.9
實施例 5	0.17%	0.7
實施例 6	0.25%	0.5

【0044】 (2) 試驗結果

於第一試劑所含之粒子為苯乙烯粒子之比較例1中，槽污垢為9.9 mAbs.。相對於此，於使用本發明之氟粒子之試劑中，第一試劑所含之氟粒子之含量為0.1%之實施例1為0.9 mAbs.，為0.17%之實施例5為0.7 mAbs.，為0.25%之實施例6為0.5 mAbs.，槽污垢均極少。根據本結果，顯示使用本發明之氟粒子之試劑即便增加第一試劑所含之氟粒子之含量 (重量%)，槽污垢亦不會增加，反應槽難以被污染。

[產業上之可利用性]

【0045】 本發明可提供一種直接活用以往之反應槽，不變更試劑構成而檢體或試劑之污垢難以附著之測定試劑。因此，若使用本發明試劑，則尤其是即便利用自動分析裝置等反覆進行測定，污垢亦不會附著於槽，可防止空白值之高值化，故適宜。

【符號說明】

無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種免疫測定試劑，其係含有乳膠粒子者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

【請求項2】如請求項1之免疫測定試劑，其中，鹵素原子為氟。

【請求項3】如請求項1或2之免疫測定試劑，其中，乳膠粒子為聚苯乙烯乳膠粒子。

【請求項4】如請求項1至3中任一項之免疫測定試劑，其中，乳膠粒子為抗原或抗體均不致敏之未致敏粒子。

【請求項5】如請求項1至4中任一項之免疫測定試劑，其為自動分析裝置用試劑。

【請求項6】一種HbA1c測定試劑，其至少含有：含有鹵素原子之乳膠粒子、及針對HbA1c之抗體。

【請求項7】一種HbA1c測定用乳膠免疫測定試劑，其含有以下之第1試劑及第2試劑：

(1) 第1試劑：含有含鹵素原子之乳膠粒子；

(2) 第2試劑：含有抗HbA1c單株抗體。

【請求項8】一種免疫測定方法，其係包括使乳膠粒子與測定對象樣品於反應槽（reaction cell）內接觸之步驟者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

【請求項9】如請求項8之免疫測定方法，其中，鹵素原子為氟。

【請求項10】如請求項8或9之免疫測定方法，其中，乳膠粒子為聚苯乙烯乳膠粒子。

【請求項11】如請求項8至10中任一項之免疫測定方法，其中，乳膠粒子為抗原或抗體均不致敏之未致敏粒子。

【請求項12】如請求項8至11中任一項之免疫測定方法，其使用自動分析裝

置進行測定。

【請求項13】一種HbA1c測定方法，其包括使含有鹵素原子之乳膠粒子、針對HbA1c之抗體、及樣品於反應槽內接觸之步驟。

【請求項14】一種HbA1c測定方法，其包括以下步驟：

(1) 藉由使含有鹵素原子之乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸而使樣品中之HbA1c吸附於乳膠粒子之步驟；

(2) 藉由使吸附於乳膠粒子之HbA1c與HbA1c單株抗體接觸而使乳膠粒子凝集之步驟。

【請求項15】一種抑制反應槽之污垢之方法，其係包括使乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸之步驟的抑制免疫測定方法中之反應槽污垢之方法，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

【請求項16】一種乳膠粒子，其係用於免疫測定者，其特徵在於含有鹵素原子。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種免疫測定試劑，其係含有乳膠粒子者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

【請求項2】如請求項1之免疫測定試劑，其中，鹵素原子為氟。

【請求項3】如請求項1或2之免疫測定試劑，其中，乳膠粒子為聚苯乙烯乳膠粒子。

【請求項4】如請求項1或2之免疫測定試劑，其中，乳膠粒子為抗原或抗體均不致敏之未致敏粒子。

【請求項5】如請求項1或2之免疫測定試劑，其為自動分析裝置用試劑。

【請求項6】一種HbA1c測定試劑，其至少含有：含有鹵素原子之乳膠粒子、及針對HbA1c之抗體。

【請求項7】一種HbA1c測定用乳膠免疫測定試劑，其含有以下之第1試劑及第2試劑：

(1) 第1試劑：含有含鹵素原子之乳膠粒子；

(2) 第2試劑：含有抗HbA1c單株抗體。

【請求項8】一種免疫測定方法，其係包括使乳膠粒子與測定對象樣品於反應槽（reaction cell）內接觸之步驟者，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

【請求項9】如請求項8之免疫測定方法，其中，鹵素原子為氟。

【請求項10】如請求項8或9之免疫測定方法，其中，乳膠粒子為聚苯乙烯乳膠粒子。

【請求項11】如請求項8或9之免疫測定方法，其中，乳膠粒子為抗原或抗體均不致敏之未致敏粒子。

【請求項12】如請求項8或9之免疫測定方法，其使用自動分析裝置進行測定。

【請求項13】一種HbA1c測定方法，其包括使含有鹵素原子之乳膠粒子、針對HbA1c之抗體、及樣品於反應槽內接觸之步驟。

【請求項14】一種HbA1c測定方法，其包括以下步驟：

(1) 藉由使含有鹵素原子之乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸而使樣品中之HbA1c吸附於乳膠粒子之步驟；

(2) 藉由使吸附於乳膠粒子之HbA1c與HbA1c單株抗體接觸而使乳膠粒子凝集之步驟。

【請求項15】一種抑制反應槽之污垢之方法，其係包括使乳膠粒子與樣品於反應槽內接觸之步驟的抑制免疫測定方法中之反應槽污垢之方法，其特徵在於乳膠粒子含有鹵素原子。

【請求項16】一種乳膠粒子，其係用於免疫測定者，其特徵在於含有鹵素原子。