

【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3部門第2区分

【発行日】平成18年11月24日(2006.11.24)

【公開番号】特開2000-143691(P2000-143691A)

【公開日】平成12年5月26日(2000.5.26)

【出願番号】特願平11-282460

【国際特許分類】

C 0 7 J 1/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

C 1 2 N 15/02 (2006.01)

【F I】

C 0 7 J 1/00

C 1 2 P 21/08

G 0 1 N 33/53 A

G 0 1 N 33/566

C 1 2 N 15/00 C

【手続補正書】

【提出日】平成18年10月4日(2006.10.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

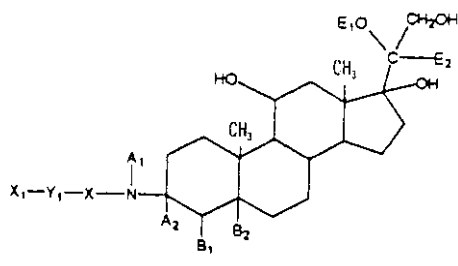
【補正方法】変更

【補正の内容】

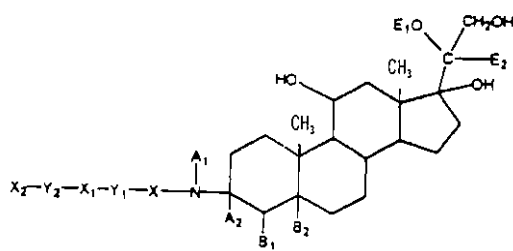
【特許請求の範囲】

【請求項1】 下式

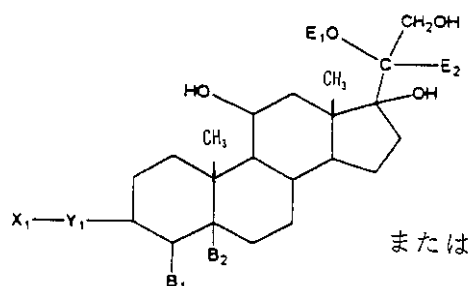
【化1】



IA

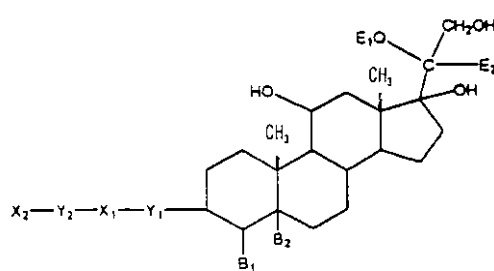


IB



IC

または



ID

(上式中、XはO、S、スルホニルまたはホスホノであり；X₁は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり；Y₁は連結基または結合であり；X₂は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり；Y₂は連結基または結合であり；A₁とA₂は各々水素であるか、またはA₁とA₂が一緒になって単結合を形成し、B₁とB₂は各々水素であるか、またはB₁とB₂が一緒になって単結合を形成し、E₁とE₂は各々水素であるか、またはE₁とE₂が一緒になって単結合を形成し、ただし、A₁とA₂、またはB₁とB₂、またはE₁とE₂の少なくとも1つが各々水素である)を有する還元型コルチゾール接合体。

【請求項2】 XがOでありそしてX₁がウシ血清アルブミンである、請求項1に記載の還元型コルチゾール接合体。

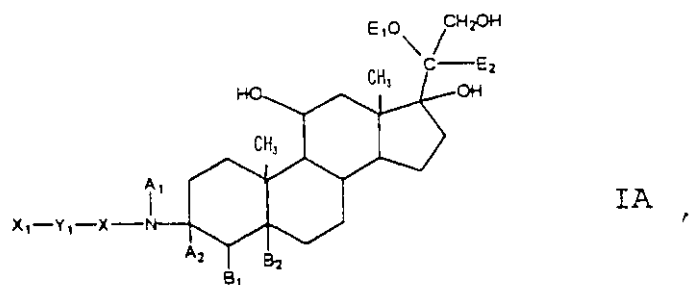
【請求項3】 Y₁がメチレンカルボニルオキシである、請求項2に記載の還元型コルチゾール接合体。

【請求項4】 X₂がペルオキシダーゼであり、そしてY₂が(4-[2,5-ジオキソ-3-{(2-エチルカルボニル)スルファニル}テトラヒドロ-1H-1-ピロリル]メチル)-1-シクロヘキサンカルボニルである、請求項3に記載の還元型コルチゾール接合体。

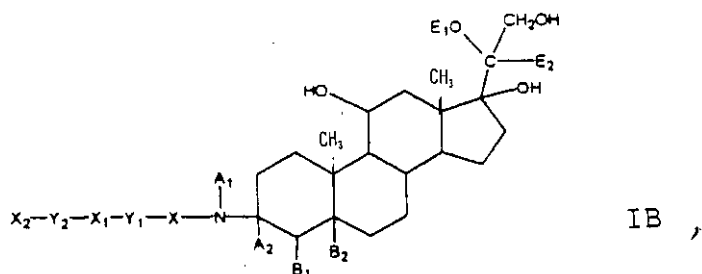
【請求項5】 水性組成物中の請求項1に記載の還元型コルチゾール接合体。

【請求項6】 下式

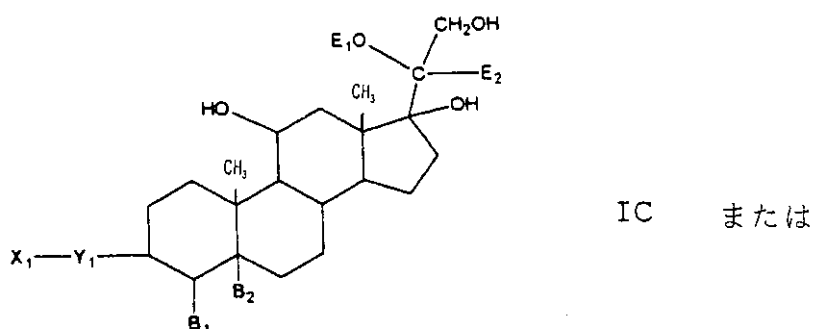
【化2】



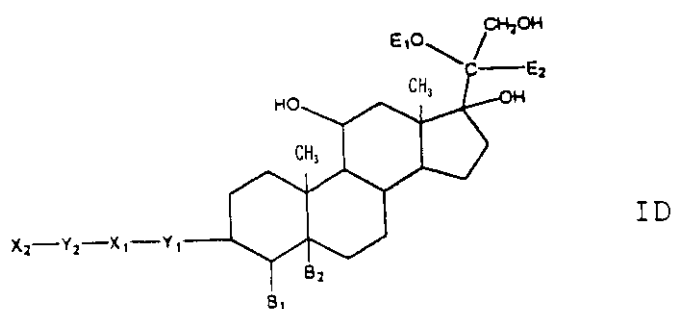
IA



IB



IC または

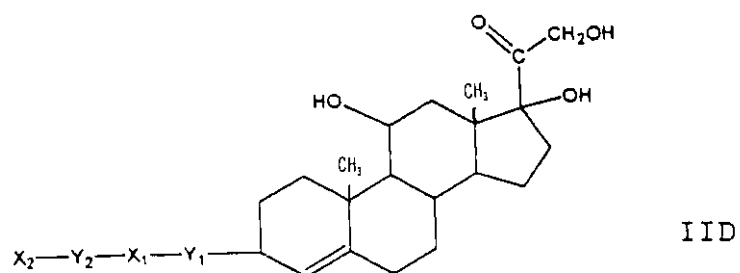
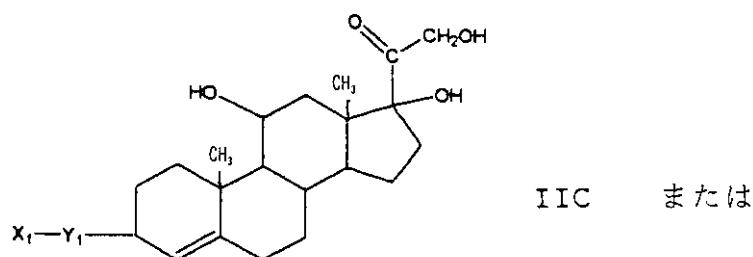
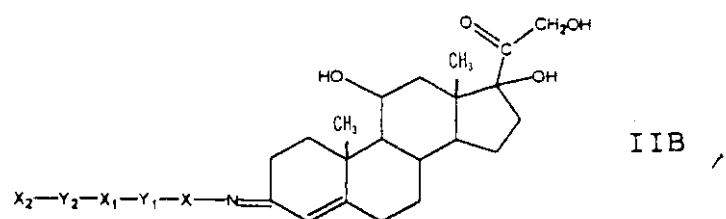
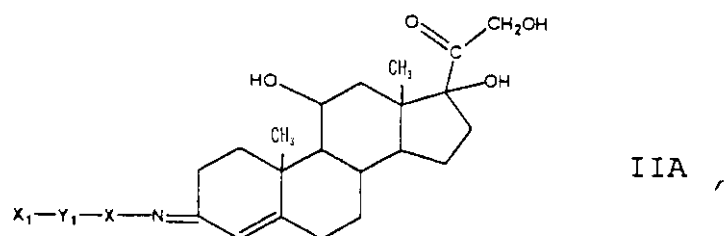


ID

(上式中、XはO、S、スルホニルまたはホスホノであり； X_1 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_1 は連結基または結合であり； X_2 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_2 は連結基または結合であり； A_1 と A_2 は各々水素であるか、または A_1 と A_2 が一緒になって単結合を形成し、 B_1 と B_2 は各々水素であるか、または B_1 と B_2 が一緒になって単結合を形成し、 E_1 と E_2 は各々水素であるか、または E_1 と E_2 が一緒になって単結合を形成し、ただし A_1 と A_2 、または B_1 と B_2 、または E_1 と E_2 の少なくとも1つが各々水素である)

を有する還元型コルチゾール接合体の製造方法であって、
下式の化合物

【化 3】



を還元剤と反応させることを含んで成る方法。

【請求項 7】 前記還元剤が水素化ホウ素塩である、請求項 6 に記載の方法。

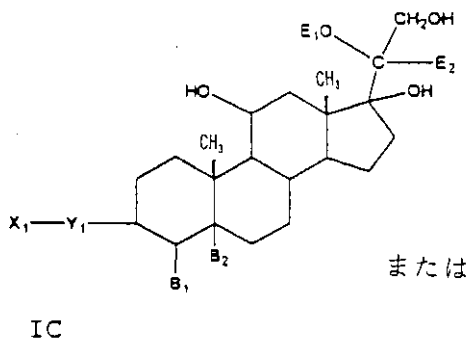
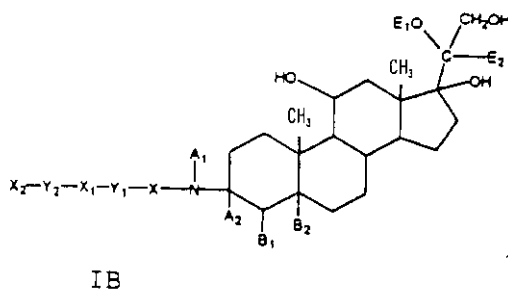
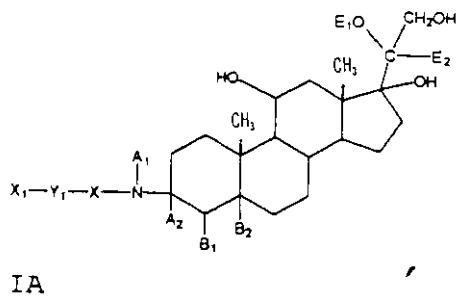
【請求項 8】 X が O であり、X₁ がウシ血清アルブミンであり、そして Y₁ がメチレンカルボニルオキシである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】 X₂ がペルオキシダーゼである、請求項 8 に記載の方法。

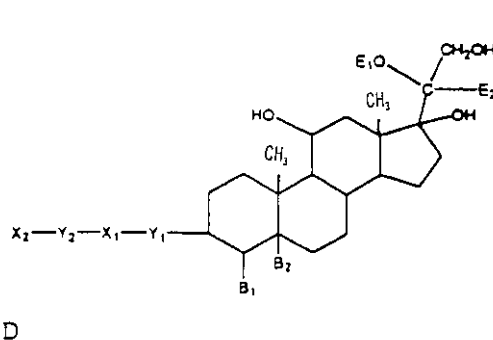
【請求項 10】 Y₂ が (4 - { 2 , 5 - ジオキソ - 3 - { (2 - エチルカルボニル) スルファニル } テトラヒドロ - 1 H - 1 - ピロリル } メチル) - 1 - シクロヘキサンカルボニルであり、そして X₂ が西洋ワサビペルオキシダーゼである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】 下式

【化 4】



または

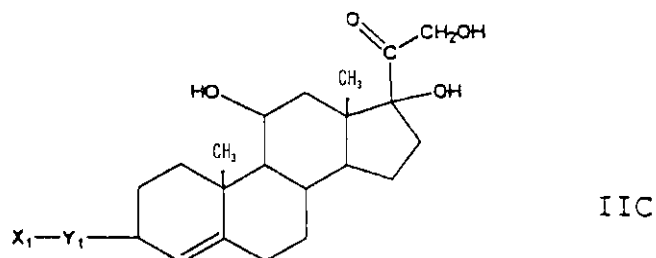
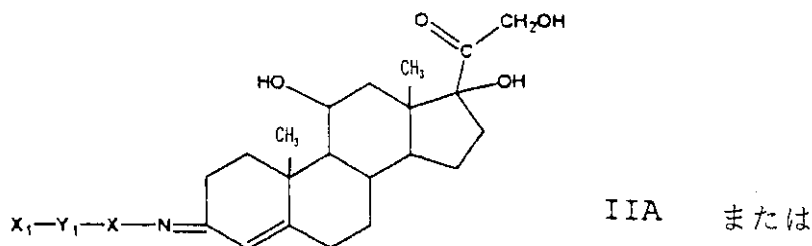


(上式中、X は O、S、スルホニルまたはホスホノであり； X_1 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_1 は連結基または結合であり； X_2 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_2 は連結基または結合であり； A_1 と A_2 は各々水素であるか、または A_1 と A_2 が一緒になって単結合を形成し、 B_1 と B_2 は各々水素であるか、または B_1 と B_2 が一緒になって単結合を形成し、 E_1 と E_2 は各々水素であるか、または E_1 と E_2 が一緒になって単結合を形成し、ただし A_1 と A_2 、または B_1 と B_2 、または E_1 と E_2 の少なくとも 1 つが各々水素である)

を有する還元型コルチゾール接合体の製造方法であって、

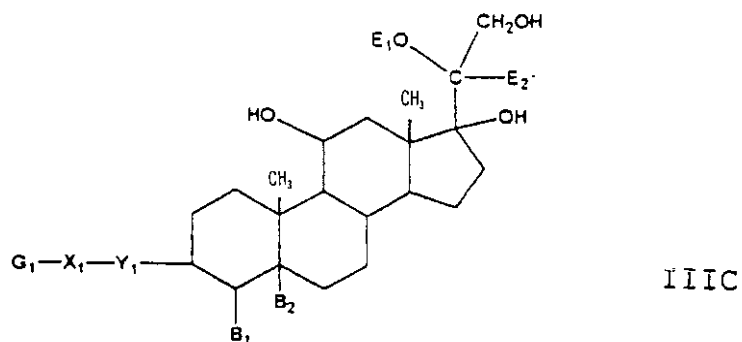
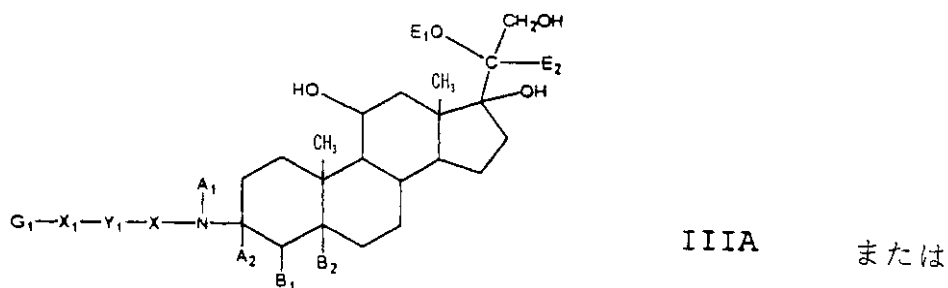
(i) 下式の化合物

【 化 5 】



を還元剤と反応させ、それにより化合物 I A または I C を形成させ；そして
(ii) 場合により、化合物 I A または I C を第一のカップリング剤と反応させて、下式の化合物

【化 6】



(上式中、 G_1 はカップリング基である) を形成させ；

(iii) 場合により、 X_2 を第二のカップリング剤と反応させて、 $X_2 - G_2$ (ここで G_2 はカップリング基 G_1 と共に共有結合を形成することができるカップリング基であり、そして G_1 と G_2 は同じであってもよい) を形成させ；

(iv) 場合により、化合物 I A または I C を $X_2 - G_2$ (ここで G_2 は X_1 の官能基と共有結合することができる) と反応させて、還元型コルチゾール接合体 I B または I D を形成させ；

(v) 場合により、化合物 IIIA または IIIC を X_2 (ここで G_1 は X_2 の官能基と共有結合することができる) と反応させて、還元型コルチゾール接合体 I B または I D を形成さ

せ；

(vi) 場合により、化合物 IIIA または IIIC を $X_2 - G_2$ と反応させて、還元型コルチゾール接合体 IB または ID を形成させるという各段階を含んでなる方法。

【請求項 12】 X が O であり、そして X_1 がウシ血清アルブミンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】 Y_1 がメチレンカルボニルオキシである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】 X_2 がペルオキシダーゼであり、第一のカップリング剤が 4 - (N - マレイミドメチル)シクロヘキサン - 1 - カルボン酸 N - ヒドロキシスクシンイミドエステルであり、そして第二のカップリング剤が S - アセチルチオ酢酸 N - ヒドロキシスクシンイミドエステルである、請求項 13 に記載の方法。

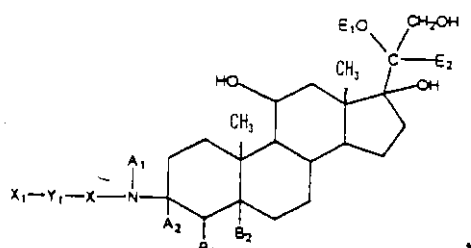
【請求項 15】 コルチゾールについての競合アッセイの実施方法であって、

A) コルチゾールを含む疑いのある試料を

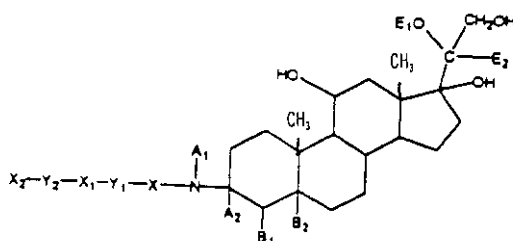
i) コルチゾールを結合する固定化されたまたは固定化可能なレセプターと接触させ、それにより固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合したコルチゾールと、固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合しないコルチゾールとを形成させ、

ii) 下式

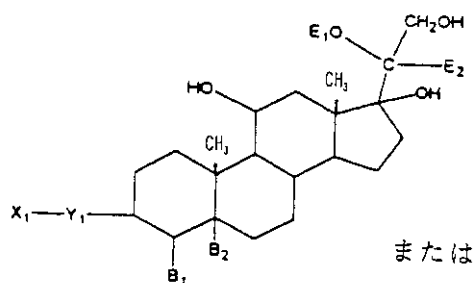
【化 7】



IA

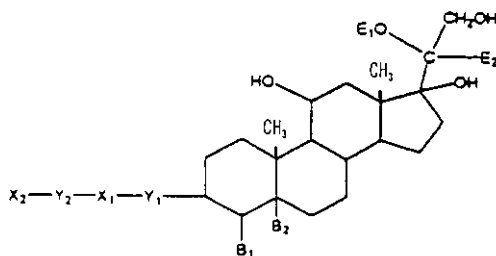


IB



IC

または



ID

(上式中、 X は O、S、スルホニルまたはホスホノであり； X_1 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_1 は連結基または結合であり； X_2 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_2 は連結基または結合であり； A_1 と A_2 は各々水素であるか、または A_1 と A_2 が一緒になって単結合を形成し、 B_1 と B_2 は各々水素であるか、または B_1 と B_2 が一緒になって単結合を形成し、 E_1 と E_2 は各々水素であるか、または E_1 と E_2 が一緒になって単結合を形成し、ただし A_1 と A_2 、または B_1 と B_2 、または E_1 と E_2 の

少なくとも1つが各々水素であり、そして X_1 と X_2 の少なくとも1つが標識された天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識である)

を有する還元型コルチゾール接合体と接触させ、それにより固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合した標識還元型コルチゾール接合体と、固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合しない標識還元型コルチゾール接合体とを形成させ；そして

B) 試料中のコルチゾールの量の測度として、前記固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合した標識還元型コルチゾール接合体か、前記固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合しない標識還元型コルチゾール接合体のいずれかを検出するという各段階を含んで成る方法。

【請求項16】 X がOであり、そして X_1 がウシ血清アルブミンである、請求項15に記載の方法。

【請求項17】 Y_1 がメチレンカルボニルオキシであり、そして X_2 がペルオキシダーゼである、請求項16に記載の方法。

【請求項18】 Y_2 が(4-[2,5-ジオキソ-3-{(2-エチルカルボニル)スルファニル}テトラヒドロ-1H-1-ピロリル]メチル)-1-シクロヘキサンカルボニルであり、そして X_2 が西洋ワサビペルオキシダーゼである、請求項17に記載の方法。

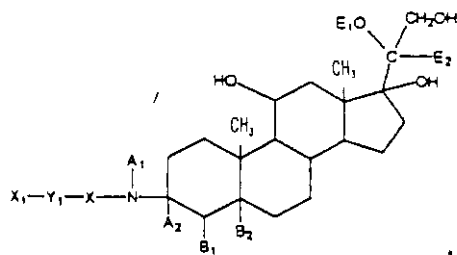
【請求項19】 前記固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合しない標識還元型コルチゾール接合体から、前記固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合した標識還元型コルチゾール接合体を分離することを更に含んで成る、請求項15に記載の方法。

【請求項20】 コルチゾールについての競合結合アッセイの実施方法であって、該方法は

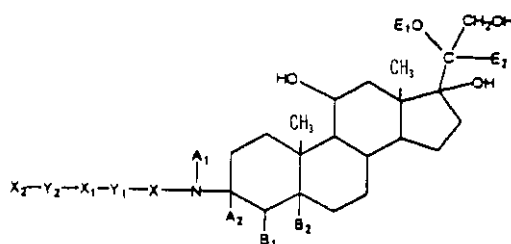
- a) 展開区画、
- b) 1または複数の試薬区画、
- c) 支持体、並びに

前記区画の1区画または複数区画において一緒にまたは別々に、コルチゾールを結合する固定化されたレセプター、および場合により下式

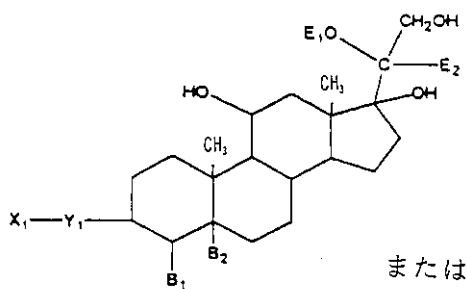
【化8】



IA

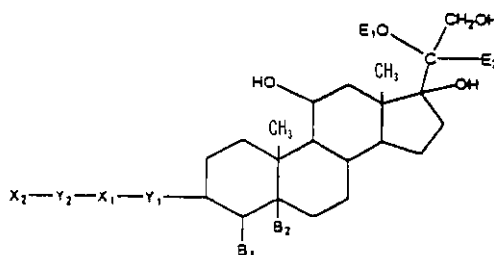


IB



IC

または



ID

(上式中、X は O、S、スルホニルまたはホスホノであり； X_1 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_1 は連結基または結合であり； X_2 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_2 は連結基または結合であり； A_1 と A_2 は各々水素であるか、または A_1 と A_2 が一緒になって単結合を形成し、 B_1 と B_2 は各々水素であるか、または B_1 と B_2 が一緒になって単結合を形成し、 E_1 と E_2 は各々水素であるか、または E_1 と E_2 が一緒になって単結合を形成し、ただし A_1 と A_2 、または B_1 と B_2 、または E_1 と E_2 の少なくとも 1 組が各々水素であり、そして X_1 と X_2 の少なくとも 1 つが標識された天然もしくは合成ポリマーであるか、または標識である)

を有する標識還元型コルチゾール接合体

を含んで成る乾式分析要素を使用し、

A) 前記乾式分析要素の展開区画を

i) コルチゾールを含む疑いのある試料と接触させ、それにより固定化されたレセプターに結合したコルチゾールと、固定化されたレセプターに結合しないコルチゾールとを形成させ、

ii) 前記標識還元型コルチゾール接合体が乾式分析要素中に存在しない場合には、その標識還元型コルチゾール接合体と接触させ、それにより前記固定化されたレセプターに結合した標識還元型コルチゾール接合体と、前記固定化されたレセプターに結合しない標識還元型コルチゾール接合体とを形成させ、

B) 試料中のコルチゾールの量の測度として、前記固定化されたレセプターに結合した標識還元型コルチゾール接合体か、前記固定化されたレセプターに結合しない標識還元型コルチゾール接合体のいずれかを検出する

という各段階を含んで成る方法。

【請求項 2 1】 X が O であり、そして X_1 がウシ血清アルブミンである、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】 Y_1 がメチレンカルボニルオキシである、請求項 2 1 に記載の方法

。

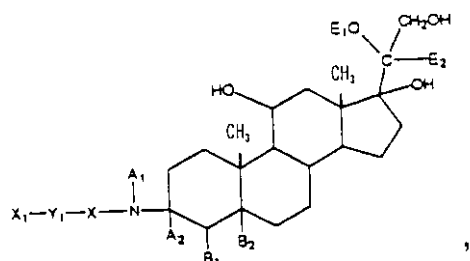
【請求項 23】 Y_2 が (4 - { 2 , 5 - ジオキソ - 3 - { (2 - エチルカルボニル) スルファニル } テトラヒドロ - 1 H - 1 - ピロリル } メチル) - 1 - シクロヘキサンカルボニルであり、そして X_2 が西洋ワサビペルオキシダーゼである、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】 前記固定化されたレセプターに結合しない標識還元型コルチゾール接合体から、前記固定化されたレセプターに結合した標識還元型コルチゾール接合体を分離することを更に含んで成る、請求項 20 に記載の方法。

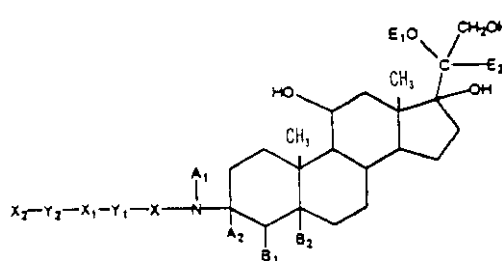
【請求項 25】 抗コルチゾール抗体の産生方法であって、

A) 下式

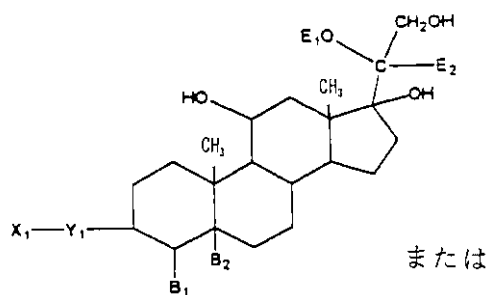
【化 9】



IA

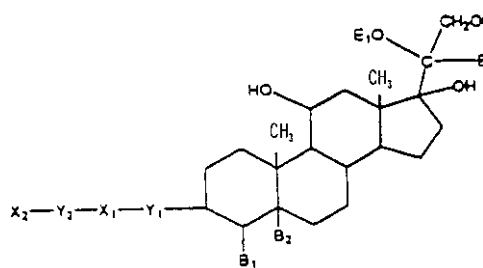


IB



IC

または



ID

(上式中、X は O、S、スルホニルまたはホスホノであり； X_1 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_1 は連結基または結合であり； X_2 は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり； Y_2 は連結基または結合であり； A_1 と A_2 は各々水素であるか、または A_1 と A_2 が一緒になって単結合を形成し、 B_1 と B_2 は各々水素であるか、または B_1 と B_2 が一緒になって単結合を形成し、 E_1 と E_2 は各々水素であるか、または E_1 と E_2 が一緒になって単結合を形成し、ただし A_1 と A_2 、または B_1 と B_2 、または E_1 と E_2 の少なくとも 1 つが各々水素である)

を有する還元型コルチゾール接合体を用いて宿主動物を免疫し、それによりコルチゾールを結合する抗体を産生させ；

B) 前記宿主動物の血清または血漿からコルチゾールを結合する抗体を単離し；または

C) 抗体産生細胞を含有する脾臓、リンパ系組織または他の組織を取り出し；

D) 前記抗体産生細胞を取り出し；

E) 前記抗体産生細胞からハイブリドーマを作製し；

F) コルチゾールを結合する抗体を産生するハイブリドーマを選択し；そして
G) コルチゾールを結合する抗体を単離する
という各段階を含んで成る方法。