

【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 07 J	1/00	(2006.01)
C 12 P	21/08	(2006.01)
G 01 N	33/53	(2006.01)
G 01 N	33/566	(2006.01)
C 12 N	15/02	(2006.01)

【F I】

C 07 J	1/00	
C 12 P	21/08	
G 01 N	33/53	A
G 01 N	33/566	
C 12 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

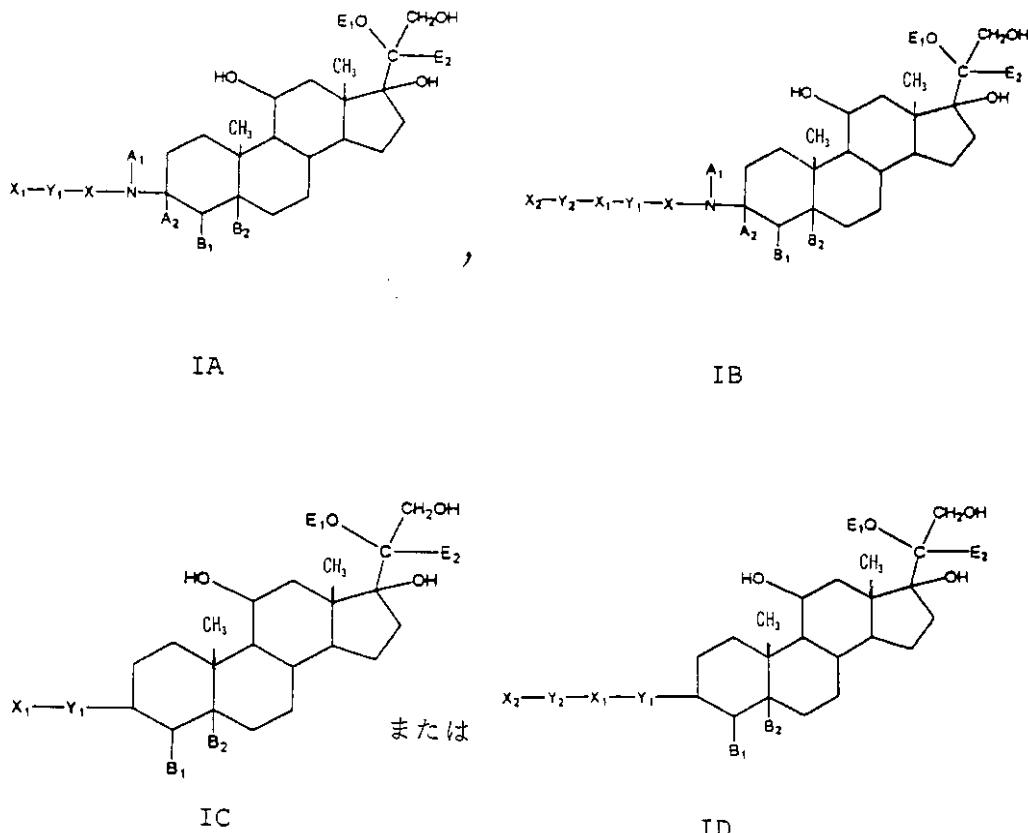
【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】下式

【化1】



(上式中、XはO、S、スルホニルまたはホスホノであり；X<sub>1</sub>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<sub>1</sub>は連結基または結合であり；X<sub>2</sub>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<sub>2</sub>は連結基または結合であり；A<sub>1</sub>とA<sub>2</sub>は各々水素であるか、またはA<sub>1</sub>とA<sub>2</sub>が一緒になって単結合を形成し、B<sub>1</sub>とB<sub>2</sub>は各々水素であるか、またはB<sub>1</sub>とB<sub>2</sub>が一緒になって単結合を形成し、E<sub>1</sub>とE<sub>2</sub>は各々水素であるか、またはE<sub>1</sub>とE<sub>2</sub>が一緒になって単結合を形成し、ただし、A<sub>1</sub>とA<sub>2</sub>、またはB<sub>1</sub>とB<sub>2</sub>、またはE<sub>1</sub>とE<sub>2</sub>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X<sub>1</sub>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。

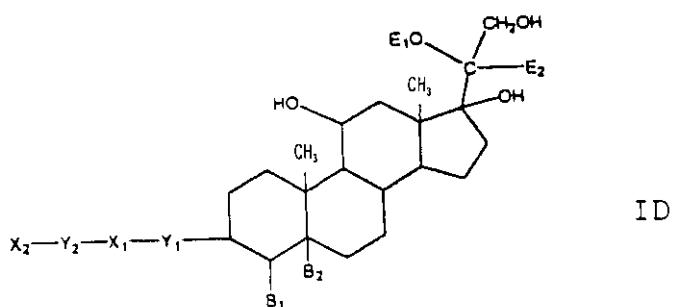
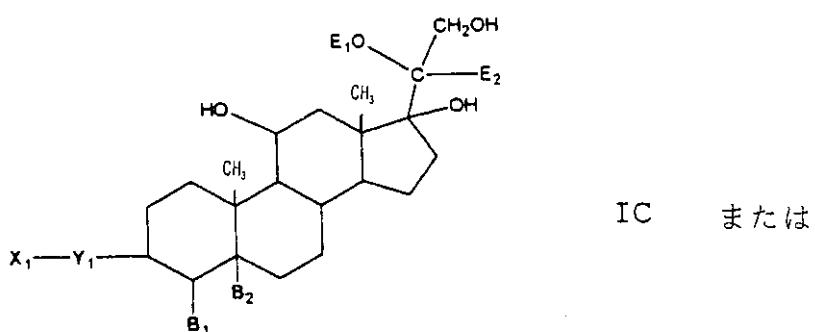
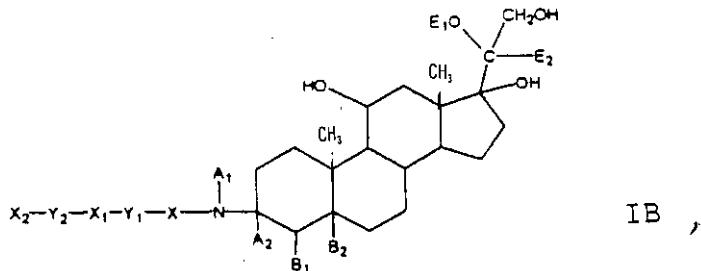
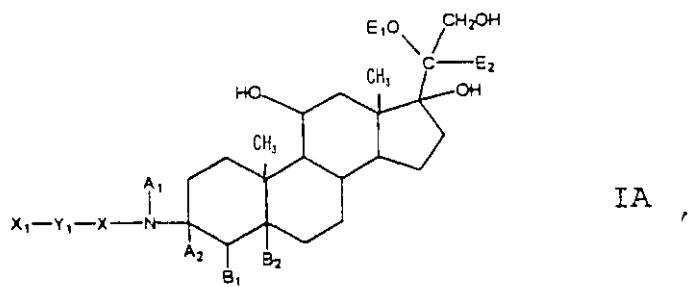
【請求項3】 Y<sub>1</sub>がメチレンカルボニルオキシである、請求項2に記載の還元型コルチゾール接合体。

【請求項4】 X<sub>2</sub>がペルオキシダーゼであり、そしてY<sub>2</sub>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】

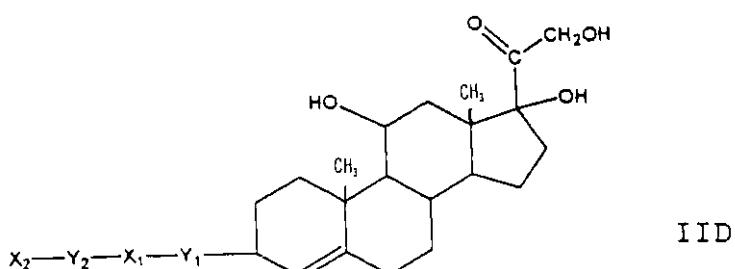
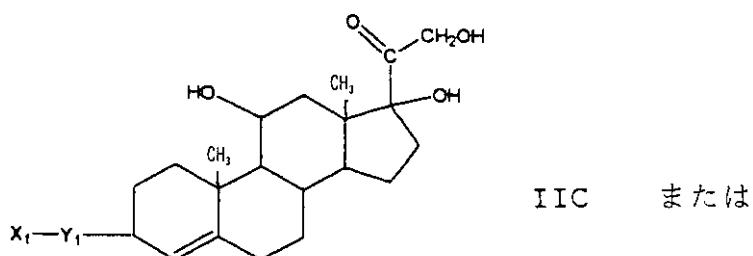
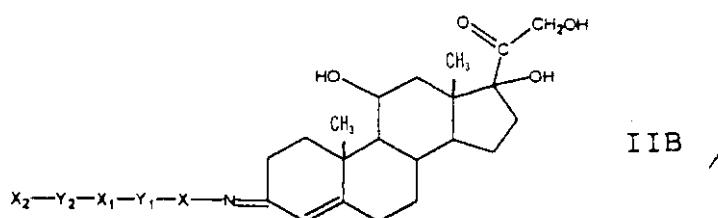
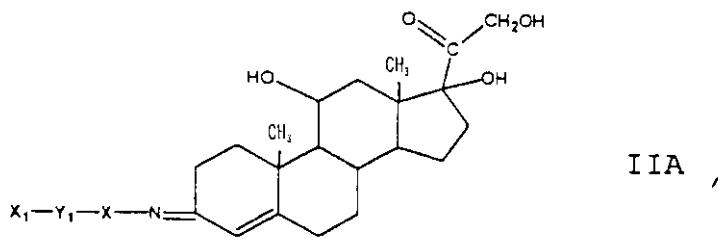


(上式中、XはO、S、スルホニルまたはホスホノであり；X<sub>1</sub>は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり；Y<sub>1</sub>は連結基または結合であり；X<sub>2</sub>は標識されたもしくは未標識の天然もしくは合成ポリマーであるかまたは標識であり；Y<sub>2</sub>は連結基または結合であり；A<sub>1</sub>とA<sub>2</sub>は各々水素であるか、またはA<sub>1</sub>とA<sub>2</sub>が一緒になって単結合を形成し、B<sub>1</sub>とB<sub>2</sub>は各々水素であるか、またはB<sub>1</sub>とB<sub>2</sub>が一緒になって単結合を形成し、E<sub>1</sub>とE<sub>2</sub>は各々水素であるか、またはE<sub>1</sub>とE<sub>2</sub>が一緒になって単結合を形成し、ただしA<sub>1</sub>とA<sub>2</sub>、またはB<sub>1</sub>とB<sub>2</sub>、またはE<sub>1</sub>とE<sub>2</sub>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。

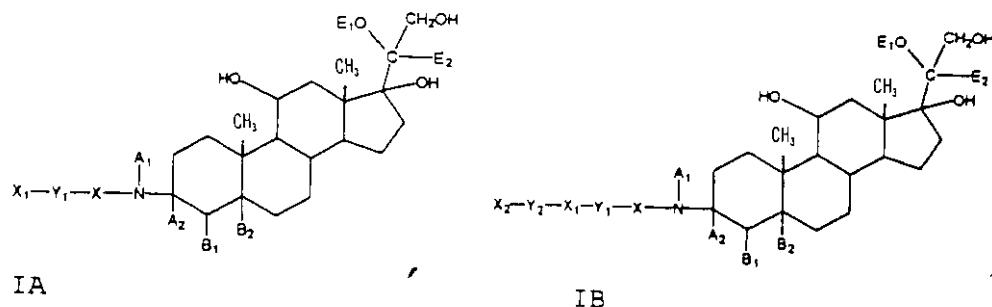
【請求項 8】 X が O であり、X<sub>1</sub> がウシ血清アルブミンであり、そして Y<sub>1</sub> がメチレンカルボニルオキシである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】 X<sub>2</sub> 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】 Y<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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。

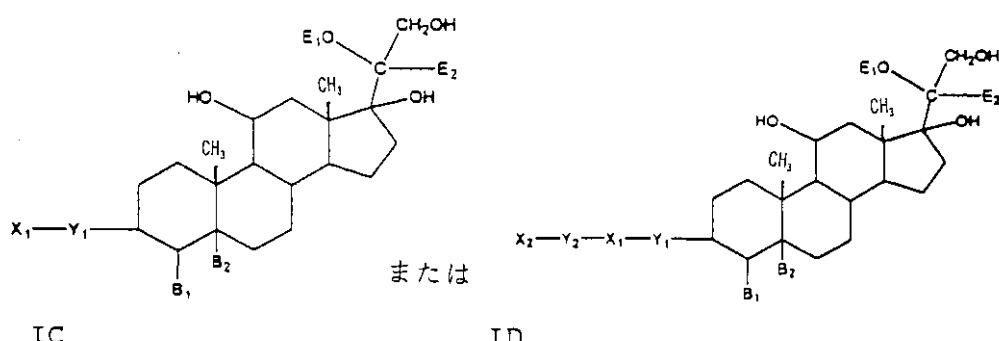
【請求項 11】 下式

【化 4】



IA

IB



または

IC

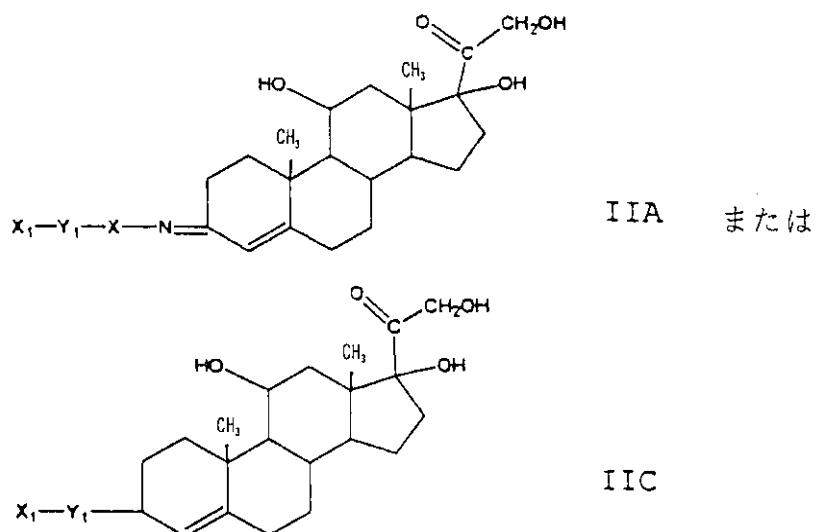
ID

(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、

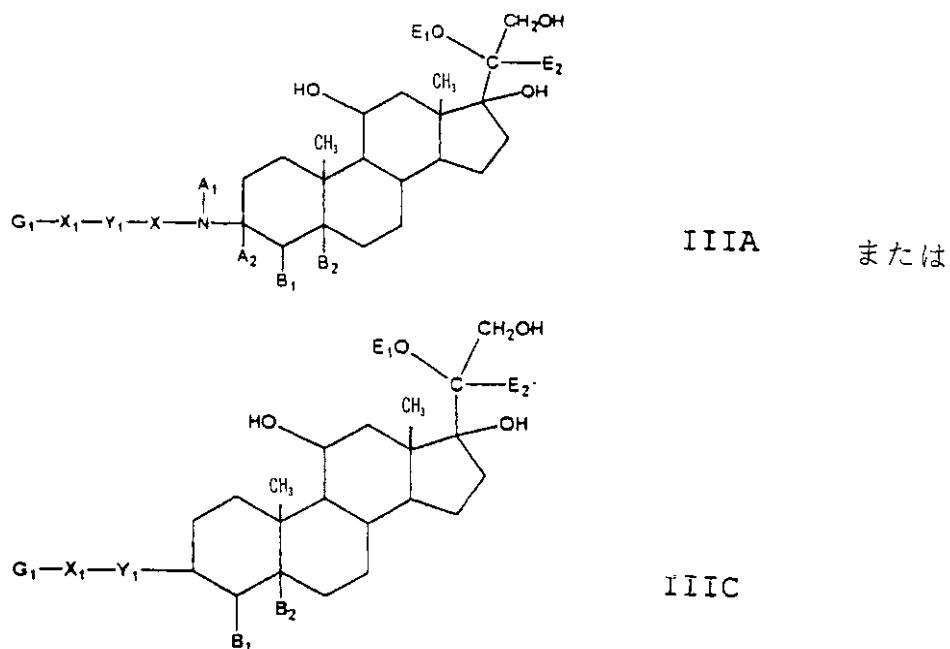
(i)下式の化合物

【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<sub>1</sub> はカップリング基である)を形成させ；

(iii) 場合により、X<sub>2</sub> を第二のカップリング剤と反応させて、X<sub>2</sub> - G<sub>2</sub> (ここで G<sub>2</sub> はカップリング基 G<sub>1</sub> 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<sub>1</sub> と G<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> - G<sub>2</sub> (ここで G<sub>2</sub> は X<sub>1</sub> 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 III A または III C を X<sub>2</sub> (ここで G<sub>1</sub> は X<sub>2</sub> 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 1 2 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 1 3 に記載の方法。

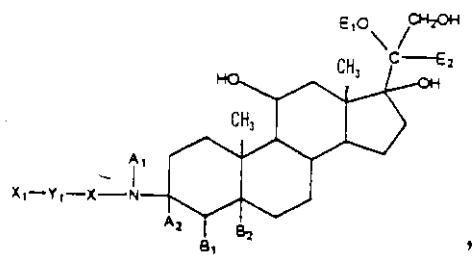
【請求項 15】 コルチゾールについての競合アッセイの実施方法であって、

A ) コルチゾールを含む疑いのある試料を

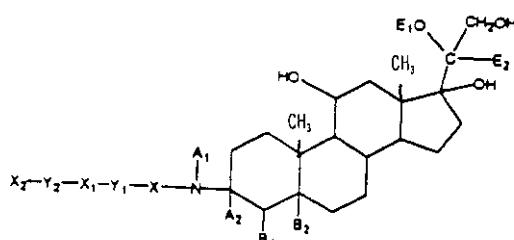
i) コルチゾールを結合する固定化されたまたは固定化可能なレセプターと接触させ、それにより固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合したコルチゾールと、固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合しないコルチゾールとを形成させ、

ii) 下式

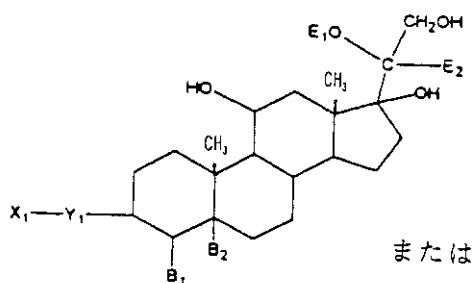
【化 7】



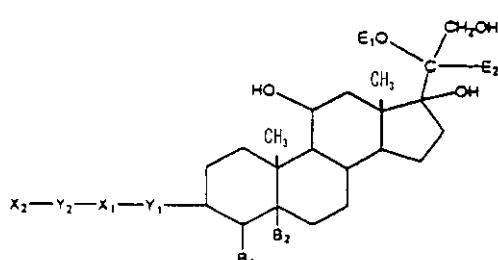
IA



IB



IC



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 - 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 17 に記載の方法。

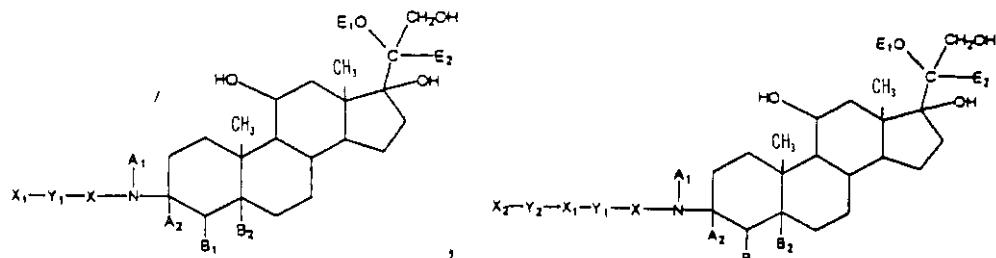
【請求項 19】 前記固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合しない標識還元型コルチゾール接合体から、前記固定化されたまたは固定化可能なレセプターに結合した標識還元型コルチゾール接合体を分離することを更に含んで成る、請求項 15 に記載の方法。

【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

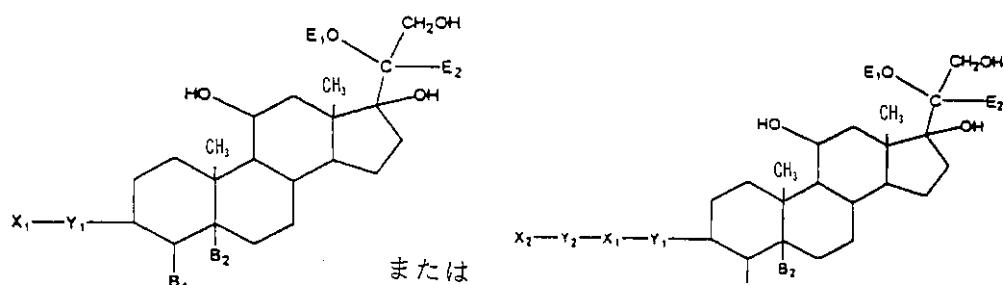
前記区画の 1 区画または複数区画において一緒にまたは別々に、コルチゾールを結合する固定化されたレセプター、および場合により下式

【化 8】



IA

IB



IC

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 21】  $X$  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 20 に記載の方法。

【請求項 22】  $Y_1$  がメチレンカルボニルオキシである、請求項 21 に記載の方法

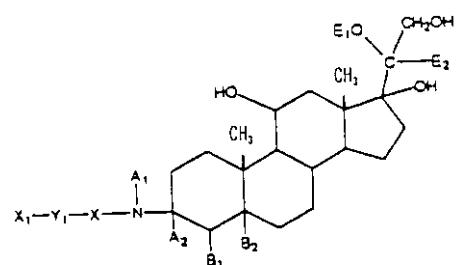
【請求項 23】  $Y_2$  が (4-[2,5-ジオキソ-3-{(2-エチルカルボニル)スルファニル}テトラヒドロ-1H-1-ピロリル]メチル)-1-シクロヘキサンカルボニルであり、そして  $X_2$  が西洋ワサビペルオキシダーゼである、請求項 22 に記載の方法。

【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。

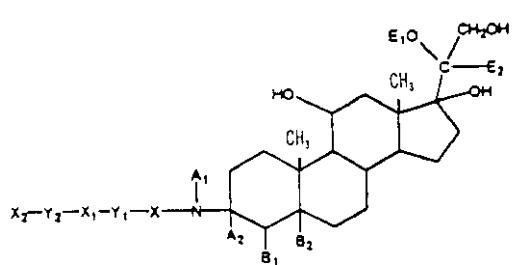
【請求項 25】 抗コルチゾール抗体の產生方法であつて、

A ) 下式

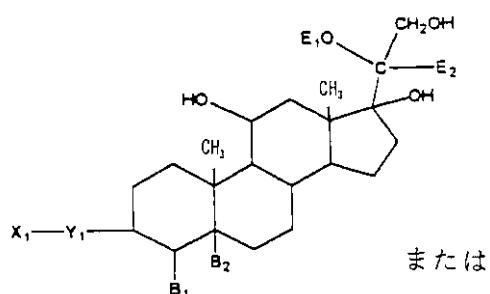
【化 9】



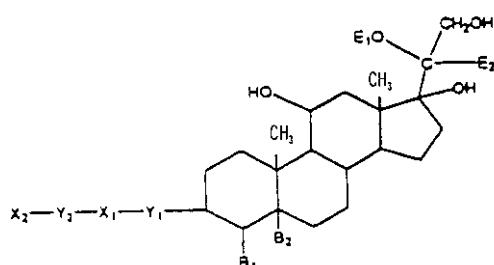
IA



IB



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產生させ；

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 ) 抗体產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 ) 前記抗体產生細胞を取り出し；

E ) 前記抗体產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產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。