

【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1部門第1区分

【発行日】平成27年2月12日(2015.2.12)

【公表番号】特表2014-501526(P2014-501526A)

【公表日】平成26年1月23日(2014.1.23)

【年通号数】公開・登録公報2014-004

【出願番号】特願2013-545486(P2013-545486)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/28 (2006.01)

G 01 N 33/72 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/28

G 01 N 33/72 Z

【手続補正書】

【提出日】平成26年12月18日(2014.12.18)

【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】

試料中のハプトグロビン濃度の定量アッセイ法において、

(i) ヘモグロビンをアッセイ対象の前記試料と混合して、前記試料中に存在するハプトグロビンでハプトグロビン-ヘモグロビン複合体を形成させるステップと、

(ii) 過酸化水素が試薬から生成され、存在する前記ハプトグロビン-ヘモグロビン複合体のペルオキシジス活性の基質を形成し、緩衝液のpHが、複合体を形成していない任意のヘモグロビンのペルオキシジス活性が実質的に抑制されるには十分に低いが過酸化水素の生成が起こるには十分に高い範囲内であるという条件下で、

前記緩衝液の存在下で、ステップ(i)の生成物を、過酸化水素を生成する前記試薬と、ペルオキシダーゼ活性が存在する場合に光学的に検出可能な変化をする1種又は複数種の色原体とに接触させるステップと、

(iii) 前記反応混合物の光学的性質における変化を測定することによって、前記ハプトグロビン-ヘモグロビン複合体のペルオキシダーゼ活性を定量するステップと、

(iv) 前記ハプトグロビン-ヘモグロビン複合体のペルオキシジス活性のレベルを前記試料中のハプトグロビンの量と関連づけるステップと

を含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項2】

請求項1に記載のアッセイ法において、ステップ(i)及びステップ(ii)が同時に実施されることを特徴とするアッセイ法。

【請求項3】

請求項1又は2に記載のアッセイ法において、前記アッセイがpH3.9～pH4.5の範囲のpHで実施されることを特徴とするアッセイ法。

【請求項4】

請求項3に記載のアッセイ法において、前記アッセイがpH4～pH4.5の範囲のpHで実施されることを特徴とするアッセイ法。

【請求項5】

請求項4に記載のアッセイ法において、前記アッセイがpH4.1で実施されることを

特徴とするアッセイ法。

【請求項 6】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、過酸化水素を生成する前記試薬が、反応生成物として過酸化水素を生成する反応を触媒する酵素を、前記酵素の基質とともに含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 7】

請求項 6 に記載のアッセイ法において、過酸化水素を生成する前記試薬が酵素グルコースオキシダーゼ及び基質グルコースを含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 8】

請求項 1 乃至 7 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記色原体が、ペルオキシジス活性が存在する場合に分光学的に検出することができる色変化をすることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載のアッセイ法において、前記色原体が、フェノール、4 - ヨードフェノール、3 - アミノフェノゾン、8 - アニリノナフタレンスルホン酸 (ANS)、4 - アミノアンチピリン (AAP)、2 - アミノ - 4 - ヒドロキシベンゼンスルホン酸 (AHBS)、テトラメチルベンジジン (TMB)、O - フェニレンジアミン二塩酸塩、O - ジアニジン、ナトリウム - 2 - ヒドロキシ - 3 , 5 - ジクロロベンゼンスルホナート及び 2 , 2 ' - アジノ - ジ (3 - エチルベンズチアゾリン - 6 - スルホン酸 (ABTS) 又はこれらの混合物を含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 10】

請求項 9 に記載のアッセイ法において、前記色原体が、フェノールと 8 - アニリノナフタレンスルホン酸 (ANS) と 4 - アミノアンチピリンとの組合せを含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 11】

請求項 1 乃至 10 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記アッセイが、前記試料中のアルブミン又は他のタンパク質によるペルオキシダーゼ効果を低減するための 1 種又は複数種の追加の試薬の存在下で実施されることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 12】

請求項 11 に記載のアッセイ法において、前記 1 種又は複数種の追加の試薬が、タンパク質結合阻害剤、ジスルフィド結合を抑える効果のある還元剤及びカオトロピック剤又はこれらの混合物から選択されることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 13】

請求項 12 に記載のアッセイ法において、前記タンパク質結合阻害剤が 8 - アニリノナフタレンスルホン酸 (ANS)、プロトポリリン、ビリルビン、タウロデオキシコール酸 (胆汁塩)、ジクマロール又は 2 - メルカプトベンゾチアゾールを含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 14】

請求項 12 又は 13 に記載のアッセイ法において、前記還元剤が、ジチオトレイトール、ジチオエリトリトル、システイン、メルカプトエタノール、グルタチオン、4 , 4 ' - デチオピリジン又は 5 , 5 ' - デチオ (2 - ニトロ安息香酸) を含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 15】

請求項 12 乃至 14 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記カオトロピック剤が、塩酸グアニジン、チオシアノ酸カリウム又は塩化ナトリウムを含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 16】

請求項 1 乃至 15 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記アッセイ混合物が界面活性剤をさらに含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 17】

請求項 1 乃至 1 6 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記アッセイ混合物が抗菌剤をさらに含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 1 8】

請求項 1 乃至 1 7 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記アッセイがアッセイ対象の前記試料と第 1 の反応混合物及び第 2 の反応混合物との混合物を形成することによって実施されることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 1 9】

請求項 1 8 に記載のアッセイ法において、前記第 1 の試薬混合物が、ヘモグロビン、及び過酸化水素を反応生成物として生成する反応を触媒する酵素を含み、前記第 2 の試薬混合物が、1 種又は複数種の色原体及び前記第 1 の混合物の前記酵素の基質を含むことを特徴とするアッセイ法。

【請求項 2 0】

請求項 1 9 に記載のアッセイ法において、前記 1 種又は複数種の色原体が前記第 1 の反応混合物中に含まれることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 2 1】

請求項 1 乃至 2 0 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記アッセイを実施するために、構成成分としての前記アッセイ試薬の一部又は全部を乾燥形態で組み合わせ、次いで前記水性試料に添加することを特徴とするアッセイ法。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 に記載のアッセイ法において、前記アッセイ試薬の組合せが、溶液で調製され、固体表面上に凍結乾燥されることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 2 3】

請求項 2 2 に記載のアッセイ法において、前記固体表面が紙又はアッセイスティックであることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 2 4】

請求項 1 乃至 2 3 の何れか 1 項に記載のアッセイ法において、前記ハプトグロビン - ヘモグロビン複合体のペルオキシダーゼ活性レベルが、既知のハプトグロビン濃度を使用して作成した標準曲線を参照して、前記試料中のハプトグロビン量と関連づけられることを特徴とするアッセイ法。

【請求項 2 5】

請求項 1 乃至 2 4 の何れか 1 項に記載のハプトグロビンアッセイで使用するためのキットにおいて、ヘモグロビン、過酸化水素を生成する試薬、ペルオキシダーゼ活性が存在する場合に光学的に検出可能な変化をする 1 種又は複数種の色原体及び緩衝液を含むことを特徴とするキット。