



(21) 申請案號：102111399 (22) 申請日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 29 日
(51) Int. Cl. : G01N33/531 (2006.01) C08F222/02 (2006.01)
C08F222/06 (2006.01)
(30) 優先權：2012/03/30 日本 2012-078449
(71) 申請人：電化生研股份有限公司 (日本) DENKA SEIKEN CO., LTD. (JP)
日本
(72) 發明人：加納真由美 KANO, MAYUMI (JP)；橘律子 TACHIBANA, RITSUKO (JP)；飯塚
雅行 IIZUKA, MASAYUKI (JP)
(74) 代理人：賴經臣；宿希成
(56) 參考文獻：
JP 2001-235465
審查人員：林奕萍
申請專利範圍項數：8 項 圖式數：25 共 31 頁

(54) 名稱

免疫分析方法及試藥

(57) 摘要

本發明提供一種可高感度且正確地測定抗原之免疫分析方法及用於其之試藥。

免疫分析方法係於多羧酸型界面活性劑之存在下進行抗原抗體反應及/或測定。該方法中所使用之免疫分析試藥之特徵在於：其含有多羧酸型界面活性劑。

藉由使多羧酸型界面活性劑存在於反應及/或測定體系中之簡易方法，即便於高感度之免疫分析中亦可有效地抑制非特異性反應，且於免疫分析中，可正確地測定抗原而提高特異性。

指定代表圖：

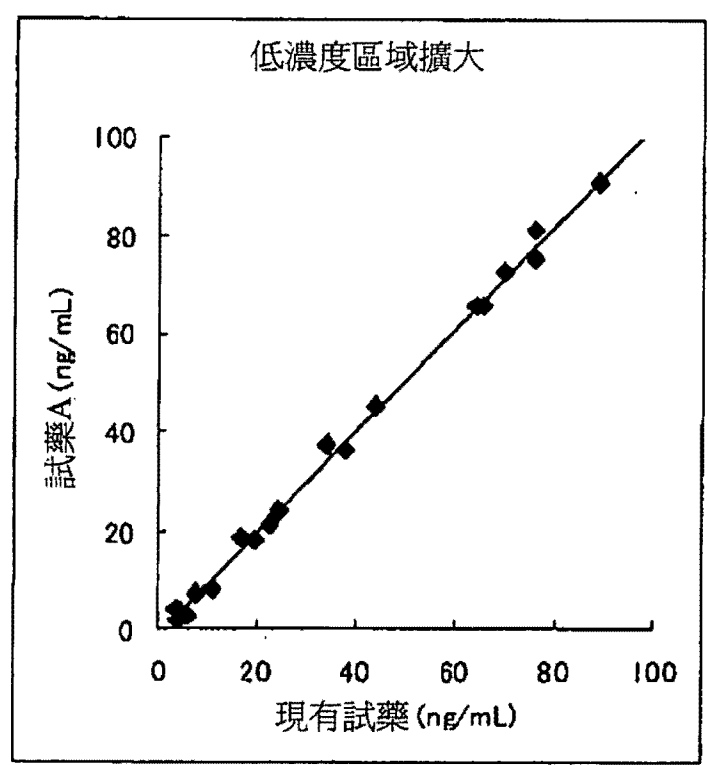


圖3

發明摘要

※ 申請案號：102111399

※ 申請日：102/03/29

※IPC 分類：G01N33/531(2006.01)

C08F222/02(2006.01)

C08F222/06(2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

免疫分析方法及試藥

【中文】

本發明提供一種可高感度且正確地測定抗原之免疫分析方法及用於其之試藥。

免疫分析方法係於多羧酸型界面活性劑之存在下進行抗原抗體反應及/或測定。該方法中所使用之免疫分析試藥之特徵在於：其含有多羧酸型界面活性劑。

藉由使多羧酸型界面活性劑存在於反應及/或測定體系中之簡易方法，即便於高感度之免疫分析中亦可有效地抑制非特異性反應，且於免疫分析中，可正確地測定抗原而提高特異性。

【英文】

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 3 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

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)

免疫分析方法及試藥

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種免疫分析方法及用於其之試藥。

【先前技術】

【0002】 免疫分析方法係廣泛地用於血清、血漿、尿、糞便、腦脊髓液(cerebrospinal fluid)等之臨床檢查中，近年來，由於可簡便、迅速地進行測定，因此通用批次地自動進行自反應至測定為止之自動分析裝置。

【0003】 已知免疫分析方法係利用抗原抗體反應且特異性較高之測定法。但是，存在根據試樣不同而產生偽陽性或偽陰性等非特異性反應之問題。例如，有於試樣中存在識別抗體而進行反應之因子之情況，於此種情形時，存在如下情況：即便於試樣中不存在欲測定之抗原亦成為陽性之測定值，又，另一方面存在干擾試樣中之抗原抗體反應之因子，於此種情形時，存在即便於試樣中存在欲測定之抗原亦成為陰性之測定值等顯示出與真值不同之測定值的問題。

【0004】 作為抑制非特異性反應之方法，已知添加人類IgM(Immunoglobulin M，免疫球蛋白 M)自然抗體、或具有礬基或其鹽之芳香族單體進行聚合而成之聚合物(參照專利文獻 1、2)。但是，有時僅憑該等添加劑並不充分，而成為抑制低濃度區域中之非特異性反應較為困難之狀態。進而於成為高感度之試藥中，由於提高抗體之反應性，因此成為容易產生非特異性反應之狀況。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0005】

[專利文獻 1]日本專利 4065600 號公報

[專利文獻 2]日本專利 4580180 號公報

【發明內容】

(發明所欲解決之問題)

【0006】 本發明之目的在於提供一種於免疫分析中可高感度且正確地測定抗原之免疫分析方法及用於其之試藥。

(解決問題之技術手段)

【0007】 本申請案發明者經過努力研究，結果發現，藉由於免疫分析中存在多羧酸型界面活性劑，即便為高感度之測定，亦可容易地抑制非特異性反應。

【0008】 即，本發明係關於以下之 1)~9)者。

1)一種免疫分析方法，其係於多羧酸型界面活性劑之存在下進行抗原抗體反應及/或測定。

2)如上述 1)之方法，其中，上述多羧酸型界面活性劑為(1)順丁烯二酸及/或順丁烯二酸酐或其鹽與(2)二異丁烯之共聚合體。

3)如上述 1)或 2)之方法，其中，存在上述多羧酸型界面活性劑之反應體系及/或測定體系中之該多羧酸型界面活性劑的濃度為 0.001%~3%。

4)如上述 1)至 3)中任一項之方法，其中，於上述多羧酸型界面活性劑之存在下自抗原抗體反應之開始進行至測定結束。

5)如上述 1)至 4)中任一項之方法，其中，免疫分析方法為免疫凝

集法。

6)如上述 5)之方法，其中，免疫凝集法為乳膠凝集法。

7)一種免疫分析試藥，其係如上述 1)之方法中所使用者，其特徵在於：含有多羧酸型界面活性劑。

8)如上述 7)之試藥，其中，上述多羧酸型界面活性劑為(1)順丁烯二酸及/或順丁烯二酸酐與(2)二異丁烯之共聚合體。

9)如上述 7)或 8)之試藥，其係進而含有用於免疫凝集法之試藥的免疫凝集用試藥。

10)如上述 9)之試藥，其係進而含有用於乳膠凝集法之試藥的乳膠凝集用試藥。

(對照先前技術之功效)

【0009】 根據本發明之方法，藉由使多羧酸型界面活性劑存在於反應及/或測定體系中之簡易之方法，即便於高感度之免疫分析中亦可有效地抑制非特異性反應，於免疫分析中，可正確地測定抗原而提高特異性。

【圖式簡單說明】

【0010】

圖 1 係表示於下述實施例及比較例中製作之校準曲線(calibration curve)。

圖 2 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用已知抑制非特異性反應之市售之試藥(現有試藥)的免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 3 係放大表示圖 2 之低濃度區域。

圖 4 係表示下述比較例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 5 係放大表示圖 4 之低濃度區域。

圖 6 係表示下述比較例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 7 係放大表示圖 6 之低濃度區域。

圖 8 係表示下述比較例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 9 係放大表示圖 8 之低濃度區域。

圖 10 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 11 係放大表示圖 10 之低濃度區域。

圖 12 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 13 係放大表示圖 12 之低濃度區域。

圖 14 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 15 係放大表示圖 14 之低濃度區域。

圖 16 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 17 係放大表示圖 16 之低濃度區域。

圖 18 係表示下述比較例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 19 係放大表示圖 18 之低濃度區域。

圖 20 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 21 係放大表示圖 20 之低濃度區域。

圖 22 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 23 係放大表示圖 22 之低濃度區域。

圖 24 係表示下述實施例之免疫分析方法與使用現有試藥之免疫分析方法之測定結果之相關關係。

圖 25 係放大表示圖 24 之低濃度區域。

【實施方式】

【0011】 以下，對本發明之方法進行說明。再者，本說明書中之「%」只要無特別說明，則係指質量基準(w/v%)。

【0012】 本發明之免疫分析方法係使用對檢體中之被測定物質免疫性地反應之免疫分析試藥，進行抗原抗體反應，並測定所獲得之反應物者，其特徵在於：於多羧酸型界面活性劑之存在下進行反應及/或測定。

【0013】 免疫分析之方法本身係眾所周知。所謂應用本發明之方法之免疫分析方法，可為公知之任何免疫分析方法，其中較佳為免疫凝集法，尤佳為使用乳膠粒子作為不溶性載體粒子之乳膠凝集法。於免疫凝集法中檢測致敏粒子之凝集的方法係眾所周知，於本發明中亦可採用檢測由致敏粒子之凝集引起之吸光度或光散射等的方法等眾所周知之方法。例如可列舉：免疫比濁法 (TIA(Turbidimetric Immunoassay, 免疫比濁分析)法、乳膠凝集法)、比色法、RPLA(Reversed Passive Latex Agglutination, 反向被動膠乳凝集)法、CL(Chemiluminescence, 化學發光)法及免疫膠體層析法等，可較佳地使用感度較高且定量精度較佳之比濁法及比色法。

【0014】 作為該免疫分析方法之樣態，所使用之不溶性載體粒子並無特別限定，可為先前於免疫分析試藥中使用之眾所周知者。例如可列舉：聚乙烯或聚苯乙烯等乳膠粒子、氧化鋁粒子、二氧化矽粒子、金膠體粒子、磁性粒子等粒子。該等不溶性載體之中，可較佳地使用乳膠粒子、尤其是聚苯乙烯乳膠粒子。免疫凝集法係作為光學性地檢測感應抗原或抗體之致敏粒子之凝集的方法而眾所周知，檢測可適宜地使用比濁法或比色法。例如，藉由自比色皿(cell)外部照射自可見光至近紅外範圍之光、例如通常為 300~1000 nm、較佳為 500~900 nm 之光，檢測吸光度變化或散射光之強度變化，而測定該致敏粒子之凝集之程度。作為乳膠粒子，尤其是可適宜地使用聚苯乙烯乳膠粒子。乳膠粒子之尺寸並無特別限定，粒徑較佳為 30~600 nm。

【0015】 於上述乳膠粒子上固定與應測定之抗原免疫性地反應之抗體或其抗原結合性片段。固定化之方法亦眾所周知，藉由物理吸附或共價鍵等眾所周知之方法而進行。若混合所獲得之致敏粒子之懸浮液與受檢試樣，則致敏粒子因受檢試樣中所含之被測定物質(抗原)而凝集，致敏粒子懸浮液之吸光度發生變化。測定該吸光度之變化量(終點法)或變化率(比率法)。準備以各種已知濃度含有應測定之抗原之複數種標準試樣，並藉由上述方法對該等標準試樣測定吸光度之變化量或變化率。將標準試樣中之應測定之抗原的濃度繪製成橫軸、將所測定之吸光度之變化量或變化率繪製成縱軸而繪出校準曲線。對未知之受檢試樣亦藉由相同之方法測定吸光度之變化量或變化率，並將測定結果與上述校準曲線對照，藉此可對受檢試樣中之抗原進行定量。

【0016】 再者，於市面上銷售有各種進行此種免疫凝集法之自動裝置，可使用市售之免疫凝集法用自動裝置而容易、簡便地進行。

【0017】 作為本發明中之免疫分析之被測定物質，只要為可藉由免疫分析進行測定之物質，則並無任何限定，於被測定物質為抗原之情形時，例如可列舉：CRP(C Reactive Protein，C-反應性蛋白質)、前列腺特異性抗原、鐵蛋白、 β -2 微球蛋白、肌血球素、血紅蛋白、白蛋白、肌酸酐等蛋白質標記物，IgG(Immunoglobulin G，免疫球蛋白 G)、IgA(Immunoglobulin A，免疫球蛋白 A)、IgM 等免疫球蛋白，各種腫瘤標記物，LDL(Low Density Lipoprotein，低密度脂蛋白)、HDL(High Density Lipoprotein，高密度脂蛋白)、TG(Triglyceride，甘油三酯)等脂蛋白，A 型流感病毒、B 型流感病毒、勞斯氏肉瘤病毒(RSV，Rous Sarcoma Virus)、鼻病毒(rhinovirus)、輪狀病毒(rotavirus)、諾羅病毒(norovirus)、腺病毒(adenovirus)、星狀病毒(astrovirus)、HAV(Hepatitis A Virus，A 型肝炎病毒)、HBs(Hepatitis B surface antigen，B 型肝炎表面抗原)、HCV(Hepatitis C Virus，C 型肝炎病毒)、HIV(Human Immunodeficiency Virus，人類免疫缺乏病毒)、EBV(Epstein-Barr Virus，疱疹病毒)等病毒抗原，沙眼披衣菌(chlamydia trachomatis)、鏈球菌(streptococcus)、百日咳嗜血桿菌(bordetella pertussis)、幽門螺桿菌、細螺旋體屬(leptospira)、梅毒螺旋體(treponema pallidum)、弓蟲(toxoplasma gondii)、螺旋體屬(borrelia)、嗜肺性退伍軍人桿菌屬菌、炭疽菌、MRSA(Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus，耐二甲氧苯金黃色葡萄球菌)等細菌抗原，細菌等所產生之毒素，黴漿菌脂質抗原、人絨毛促性腺激素(human chorionic gonadotropin)等肽激素(peptide hormone)，類固醇激素等類固醇，腎上腺素或嗎啡等生理活性胺類，維生素 B 類等維生素類，前列腺素類，四環素等抗生素，農藥，環境激素等，但並不限定於該等。作為較佳之例，可列舉：CRP、前列腺

特異性抗原、鐵蛋白、 β -2 微球蛋白及血紅蛋白等抗原。

【0018】 於被測定物質為抗體之情形時，可列舉：上述之蛋白質標記物、各種腫瘤標記物、脂蛋白、病毒抗原、細菌抗原、細菌等所產生之毒素、肽激素、類固醇、生理活性胺類、維生素類、抗生素、農藥、環境激素等與抗原特異性地反應之抗體等。

【0019】 免疫分析所使用之檢體只要為含有被測定物質者，則並無特別限定，可列舉：血液、血清、血漿、尿、糞便、唾液、組織液、腦脊髓液、拭子(swab)液等體液等或其稀釋物，較佳為血液、血清、血漿、尿、糞便、腦脊髓液或該等之稀釋物。

【0020】 如上所述，本發明之方法之特徵在於：於反應體系及/或測定體系中，於存在多羧酸型界面活性劑之狀態下進行抗原抗體反應及/或測定。「多羧酸型界面活性劑」係作為包含於 1 分子中具有複數個羧基或其鹽、及/或酸酐基之(由於酸酐基之至少一部分於水中進行水解而產生羧基，故而於水中時於 1 分子中具有複數個羧基)高分子之界面活性劑而為人所知的陰離子界面活性劑之一種，各種多羧酸型界面活性劑為眾所周知且於市面上有售，可於工業上使用。於本發明中，可使用任一種多羧酸型，其中較佳為(1)順丁烯二酸及/或順丁烯二酸酐與(2)二異丁烯之共聚合體及/或其鹽。此處，作為鹽，並無特別限定，較佳為鈉鹽。此種共聚合體或其鹽於工業上被廣泛使用，且於市面上亦有售，因此於本發明中亦可較佳地使用市售品(參照下述實施例)。

【0021】 多羧酸型界面活性劑之重量平均分子量並無特別限定，較佳為 1000~5 萬左右者。

【0022】 於本發明之方法中，關於該多羧酸型界面活性劑，只要於自抗原抗體反應之開始至抗原抗體反應量之檢測、定量結束的任一

階段中，多羧酸型界面活性劑包含於反應及/或測定體系(亦稱為「反應、測定體系」)內即可，較佳為自抗原抗體反應之開始至檢測、定量為止之期間均包含。因此，多羧酸型界面活性劑較佳為於抗原抗體反應之開始前或與開始同時添加至反應體系內。具體而言，可於稀釋檢體時添加，亦可於將抗體或抗原與檢體混合時添加。

【0023】 又，可使免疫分析所使用之各種試藥中預先含有多羧酸型界面活性劑，本發明亦提供一種含有該多羧酸型界面活性劑之免疫分析試藥。此處，作為免疫分析所使用之各種試藥，例如可列舉：檢體稀釋液、抗體/抗原稀釋液、固相化抗體/抗原、致敏粒子懸浮液、洗淨液、酵素液、受質液、校準曲線製作用之受檢物質標準液等，作為含有多羧酸型界面活性劑之免疫分析試藥，可列舉於該等試藥中添加有多羧酸型界面活性劑者、例如於稀釋檢體之緩衝液或包含抗體或抗原之試藥等中含有多羧酸型界面活性劑者。

【0024】 又，可使例如含有將抗體或抗原固定化(敏化)之乳膠粒子(致敏粒子)之免疫凝集試藥中含有多羧酸型界面活性劑。於該情形時，免疫分析試藥中之致敏粒子之濃度並無特別限定，較佳為 0.01~0.5%。致敏粒子懸浮液中之抗體量及抗原量只要根據常法即可，並無特別限定，例如於抗體致敏乳膠之情形時，抗體量於乳膠懸浮液中較佳為設為 0.01~2.0 mg/mL。

【0025】 就非特異性反應抑制之方面而言，多羧酸型界面活性劑之反應、測定體系內之濃度較佳為 0.001~3%，進而較佳為 0.005~1%。因此，於使免疫分析試藥中預先含有多羧酸型界面活性劑之情形時，只要以使反應及/或測定體系內之濃度成為上述濃度之方式含有於免疫分析試藥中即可。

【0026】 免疫分析中所使用之空白試樣只要為不含有被測定物質者，則並無特別限定，較佳為純化水、生理食鹽液、緩衝液、陰性檢體或其稀釋物。

【0027】 如下述實施例所記載，於使多羧酸型界面活性劑存在於反應及/或測定體系內之情形時，非特異性反應受到抑制。並且，特異性與不存在多羧酸型界面活性劑之情形時相比，優勢性地提高。因此，藉由使用本發明之方法，尤其是於容易引起非特異性反應之經高感度化之試藥中，與先前相比，可提高試藥性能。

【0028】 以下，基於實施例及比較例更具體地說明本發明。然而，本發明並不限定於下述實施例。

【0029】

[實施例 1、比較例 1~3]

(1)試藥之製備

使用針對鐵蛋白之抗體，如下所述般製備利用免疫凝集法之測定試藥。

i)將相對於平均粒徑 300 nm 之聚苯乙烯乳膠懸浮液 1 mL 擔載有抗鐵蛋白抗體 0.03 mg 而成之致敏粒子，以成為 0.04% 之方式懸浮於緩衝液(三羥甲基胺基甲烷，pH 值 8.0)中，而製備乳膠懸浮液。

ii)於緩衝液(三羥甲基胺基甲烷，pH 值 8.5)中添加多羧酸型界面活性劑(順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉)，而製備下述試藥 A(實施例 1)。作為比較例 1~3，製備未添加任何物質、或進而添加有其他添加劑之試藥 B~D。

【0030】 [表 1]

例	試藥	添加劑(濃度)
實施例 1	A	+ 順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉* 1 1.0%
比較例 1	B	無
比較例 2	C	+ 正常兔球蛋白 3 g/L
比較例 3	D	+ 聚苯乙烯磺酸鈉* 2 1.0%

* 1: 多羧酸型界面活性劑(陰離子性界面活性劑)「Polystar OM」(商品名，由日油股份有限公司銷售)

* 2: 陰離子性界面活性劑「PS-5」(商品名，由東梭股份有限公司銷售)

【0031】

(2)利用自動分析裝置之測定

自動分析裝置係利用日立公司 7180 型自動分析裝置藉由終點法進行自動測定。使用上述試藥 A~D，對含有已知會引起非特異性反應之 RF(Rheumatoid Factor，類風濕性因子)陽性檢體的血清 24 檢體進行測定。於檢體溶液 10.0 μ L 中添加試藥 A~D 之上述所製備之緩衝液 100 μ L，於 37°C 下攪拌混合該混合液。放置 5 分鐘後，添加乳膠懸浮液 100 μ L，進而於 37°C 下進行攪拌混合。將約 5 分鐘之凝集反應設為吸光度變化量而進行測定，根據校準曲線算出各檢體之鐵蛋白濃度。

【0032】

(3)與現有試藥之感度比較

進行上述實施例 1 及比較例 1~3 之測定感度、與已知抑制非特異性反應的作為現有之市售乳膠試藥的 FER-Latex X2「生研」CN(Denkaseiken)(以下，稱為「現有試藥」)之感度之比較。將結果示於圖 1 中。

【0033】 如圖 1 所示，得知於實施例 1 及比較例 1~3 之方法中，與使用現有試藥之方法相比，若為相同之鐵蛋白濃度，則吸光度變化

量增大，且實施例 1 及比較例 1~3 之方法之測定感度較高。

【0034】

(4)與現有試藥之特異性比較

比較上述實施例 1 及比較例 1~3 之測定結果、與使用上述現有試藥之方法的測定結果。將結果分別示於圖 2~9 中。

【0035】 已知現有試藥係抑制非特異性反應之試藥。若比較表示實施例 1 之結果之圖 2 及圖 3 與表示各比較例的結果之圖 4~圖 9，則顯示於進行高感度化之免疫分析方法中，藉由添加多羧酸型界面活性劑，非特異性反應受到抑制，且與使用現有試藥之情形時之測定結果的相關性提高。顯示出尤其是於低濃度區域提高。

【0036】

[實施例 2~5、比較例 4]

(1)試藥之製備

使用針對鐵蛋白之抗體，如下所述般製備利用免疫凝集法之測定試藥。

i)將相對於平均粒徑 300 nm 之聚苯乙烯乳膠懸浮液 1 mL 擔載有抗鐵蛋白抗體 0.03 mg 而成之致敏粒子，以成為 0.04% 之方式懸浮於緩衝液(三羥甲基胺基甲烷，pH 值 8.0)中，而製備乳膠懸浮液。

ii)於緩衝液(三羥甲基胺基甲烷，pH 值 8.5)中，添加多羧酸型界面活性劑(順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉，「Polystar OM」(商品名，由日油股份有限公司銷售))，而製備下述試藥 E~H(實施例 2~5)。作為比較例 4，製備未添加任何物質之試藥 I。

【0037】 [表 2]

例	試藥	添加劑(濃度)
實施例 2	E	+ 順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉 0.1%
實施例 3	F	+ 順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉 0.5%
實施例 4	G	+ 順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉 1.0%
實施例 5	H	+ 順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉 2.0%
比較例 4	I	無

【0038】

(2)利用自動分析裝置之測定

自動分析裝置係利用日立公司 7180 型自動分析裝置藉由終點法進行自動測定。使用上述試藥 E~I，對含有已知會引起非特異性反應之 RF 陽性檢體的血清 24 檢體進行測定。於檢體溶液 10.0 μL 中添加試藥 E~I 之上述所製備之緩衝液 100 μL ，於 37°C 下攪拌混合該混合液。放置 5 分鐘後，添加乳膠懸浮液 100 μL ，進而於 37°C 下進行攪拌混合。將約 5 分鐘之凝集反應設為吸光度變化量而進行測定，根據校準曲線算出各檢體之鐵蛋白濃度。

【0039】

(3)與現有試藥之比較

比較上述實施例 2~5 及比較例 4 之測定結果、與使用上述現有試藥之方法的測定結果。將結果分別示於圖 10~19 中。

【0040】 已知現有試藥為抑制非特異性反應之試藥。若比較表示實施例 2~5 之結果之圖 10~圖 17、與表示比較例 4 的結果之圖 18~圖 19，則顯示於進行高感度化之免疫分析方法中，藉由添加多羧酸型界面活性劑，非特異性反應受到抑制，且與使用現有試藥之情形時之測定結果的相關性提高。顯示出尤其於低濃度區域中提高。

【0041】

[實施例 6、7、比較例 5]

(1) 試藥之製備

使用針對鐵蛋白之抗體，如下所述般製備利用免疫凝集法之測定試藥。

i) 將相對於平均粒徑 300 nm 之聚苯乙烯乳膠懸浮液 1 mL 擔載有抗鐵蛋白抗體 0.03 mg 而成之致敏粒子，以成為 0.04% 之方式懸浮於緩衝液(三羥甲基胺基甲烷，pH 值 8.0)中，而製備乳膠懸浮液。

ii) 於緩衝液(三羥甲基胺基甲烷，pH 值 8.5)中，添加多羧酸型界面活性劑，而製備下述試藥 J(實施例 6)、試藥 K(實施例 7)。作為比較例 5，製備未添加任何物質之試藥 L。

【0042】 [表 3]

例	試藥	添加劑(濃度)
實施例 6	J	+ 順丁烯二酸-二異丁烯共聚合體鈉* 1 1.0%
實施例 7	K	+ 多羧酸型界面活性劑* 2 1.0%
比較例 5	L	無

* 1: 多羧酸型界面活性劑(陰離子性界面活性劑)「Polystar OM」(商品名，由日油股份有限公司銷售)

* 2: 多羧酸型界面活性劑(商品名「Demol EP」，由花王股份有限公司銷售)

【0043】

(2) 利用自動分析裝置之測定

自動分析裝置係利用日立公司 7180 型自動分析裝置藉由終點法進行自動測定。使用上述試藥 J~L，對含有已知會引起非特異性反應之 RF 陽性檢體的血清 24 檢體進行測定。於檢體溶液 10.0 μ L 中添加含有試藥 J~L 之上述所製備之緩衝液 100 μ L，於 37°C 下攪拌混合該混合液。放置 5 分鐘後，添加乳膠懸浮液 100 μ L，進而於 37°C 下進行攪拌

混合。將約 5 分鐘之凝集反應設為吸光度變化量而進行測定，根據校準曲線算出各檢體之鐵蛋白濃度。

【0044】

(3)與現有試藥之比較

比較上述實施例 6 及 7 以及比較例 5 之測定結果、與使用上述現有試藥之方法的測定結果。將結果分別示於圖 20~25 中。

【0045】 已知現有試藥為抑制非特異性反應之試藥。若比較表示實施例 6~7 之結果之圖 20~圖 23、與表示比較例 5 的結果之圖 24~圖 25，則顯示於進行高感度化之免疫分析方法中，藉由添加多羧酸型界面活性劑，非特異性反應得以抑制，且與使用現有試藥之情形時之測定結果的相關性提高。顯示出尤其於低濃度區域中提高。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種免疫分析方法，其係於多羧酸型界面活性劑之存在下進行抗原抗體反應及/或測定，上述多羧酸型界面活性劑為(1)順丁烯二酸及/或順丁烯二酸酐與(2)二異丁烯之共聚合體及/或其鹽。
2. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中，存在上述多羧酸型界面活性劑之反應體系及/或測定體系中之該多羧酸型界面活性劑的濃度為 0.001%~3%。
3. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中，於上述多羧酸型界面活性劑之存在下自抗原抗體反應之開始進行至測定結束。
4. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中，免疫分析方法為免疫凝集法。
5. 如申請專利範圍第 4 項之方法，其中，免疫凝集法為乳膠凝集法。
6. 一種免疫分析試藥，其係申請專利範圍第 1 項之方法中所使用者，其特徵在於：含有多羧酸型界面活性劑，上述多羧酸型界面活性劑為(1)順丁烯二酸及/或順丁烯二酸酐與(2)二異丁烯之共聚合體。
7. 如申請專利範圍第 6 項之試藥，其係進而含有用於免疫凝集法之試藥的免疫凝集用試藥。
8. 如申請專利範圍第 7 項之試藥，其係進而含有用於乳膠凝集法之試藥的乳膠凝集用試藥。

圖式

公告本

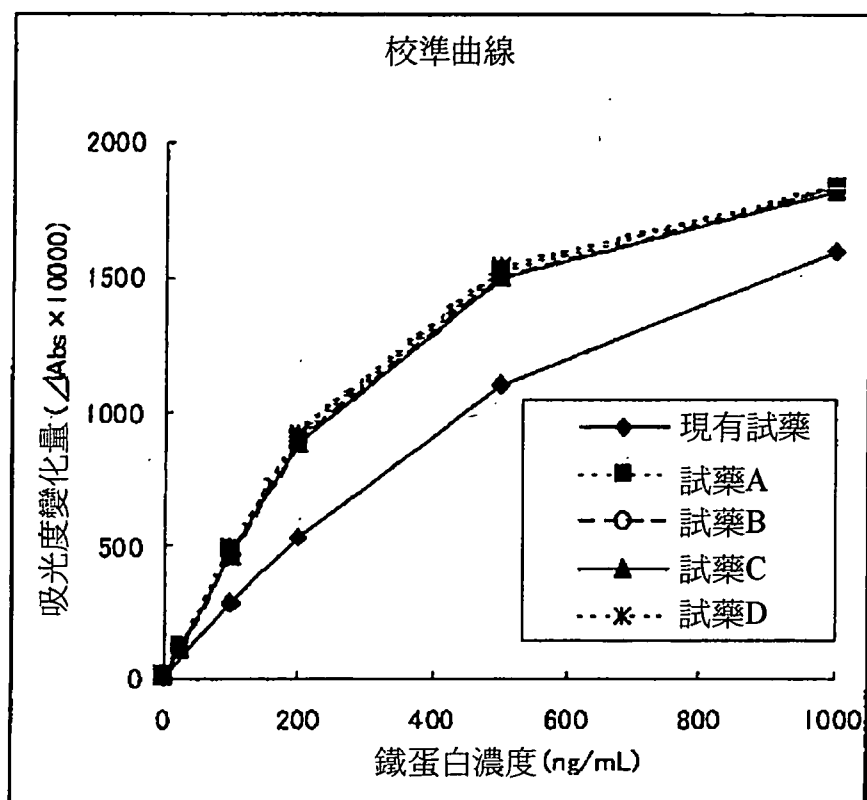


圖1

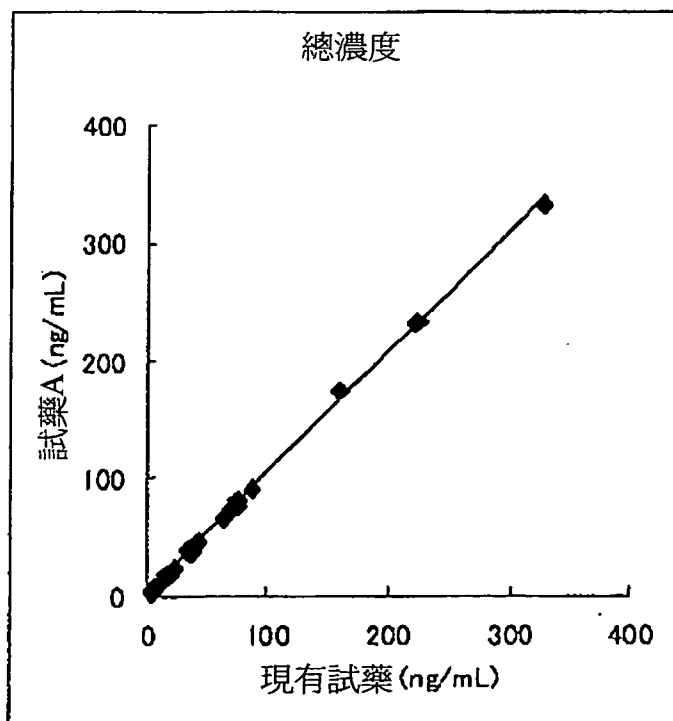


圖2

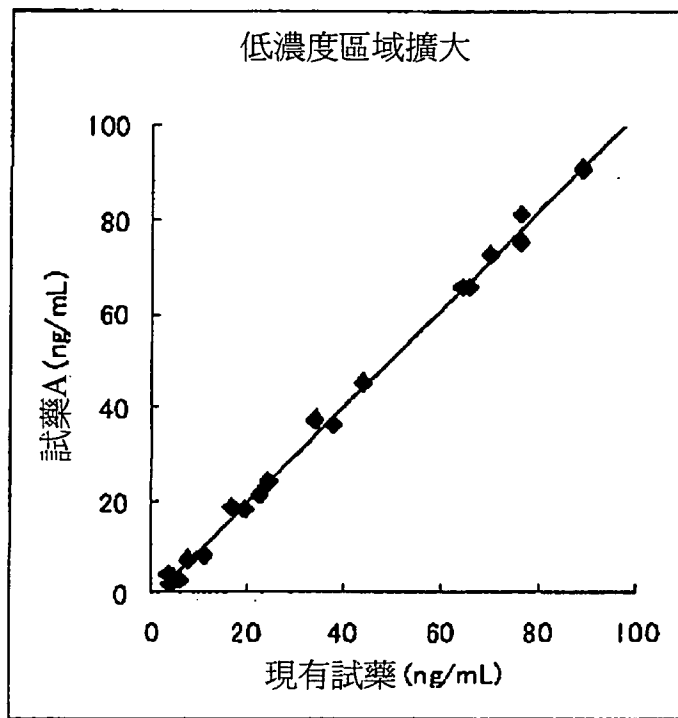


圖3

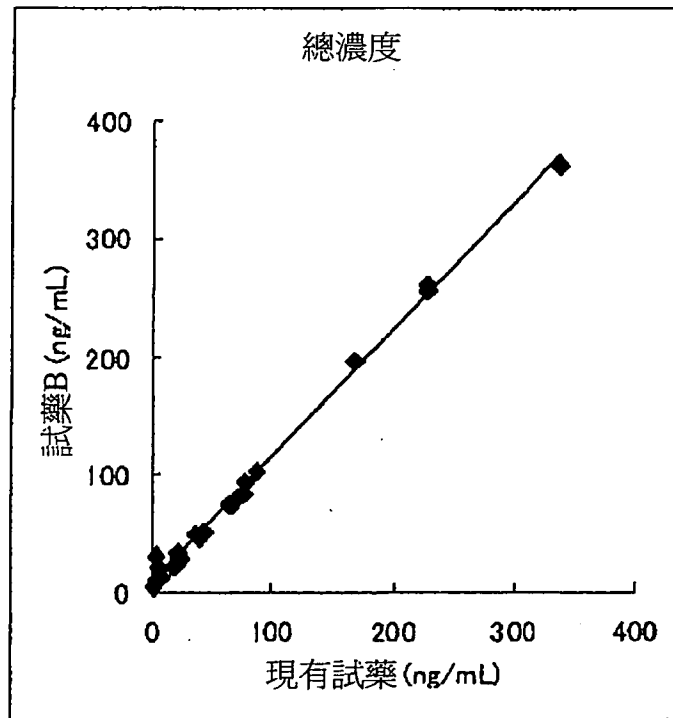


圖4

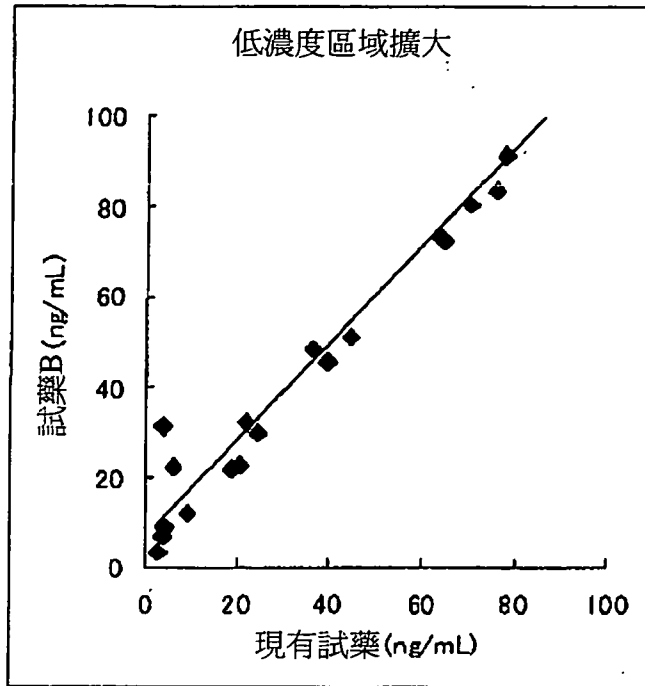


圖5

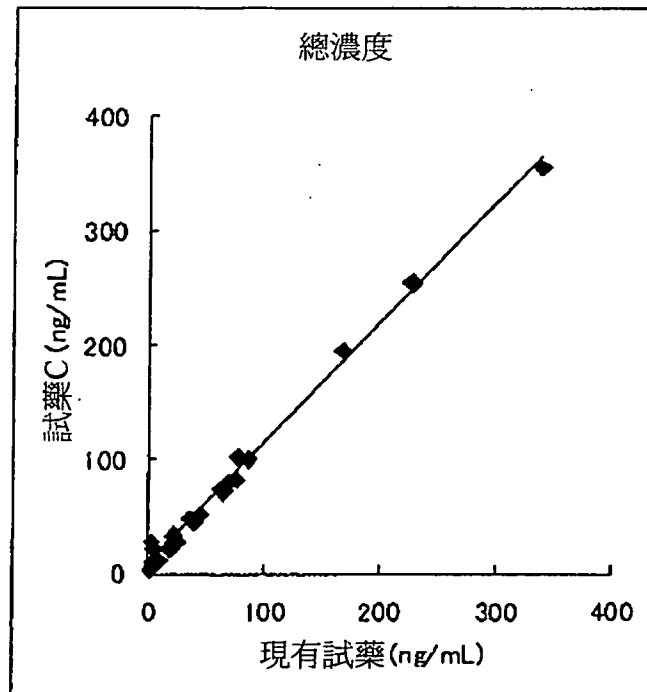


圖6

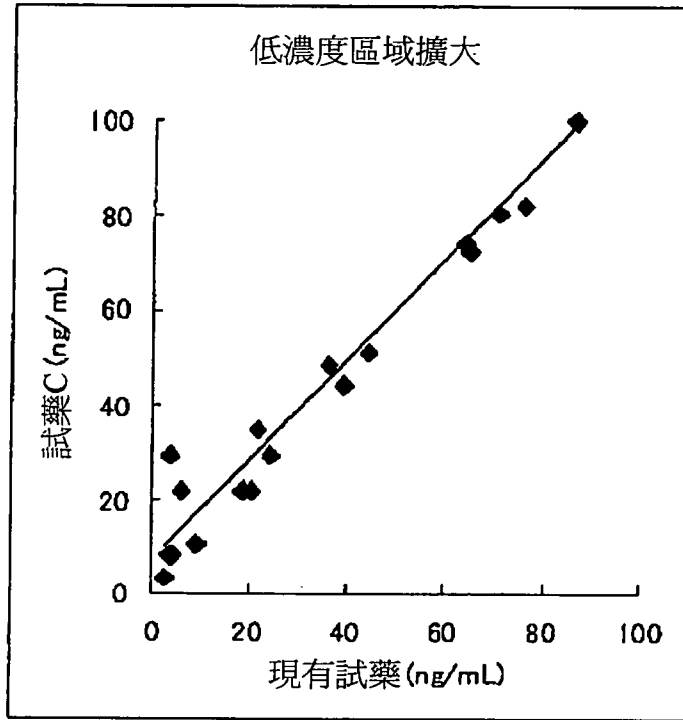


圖7

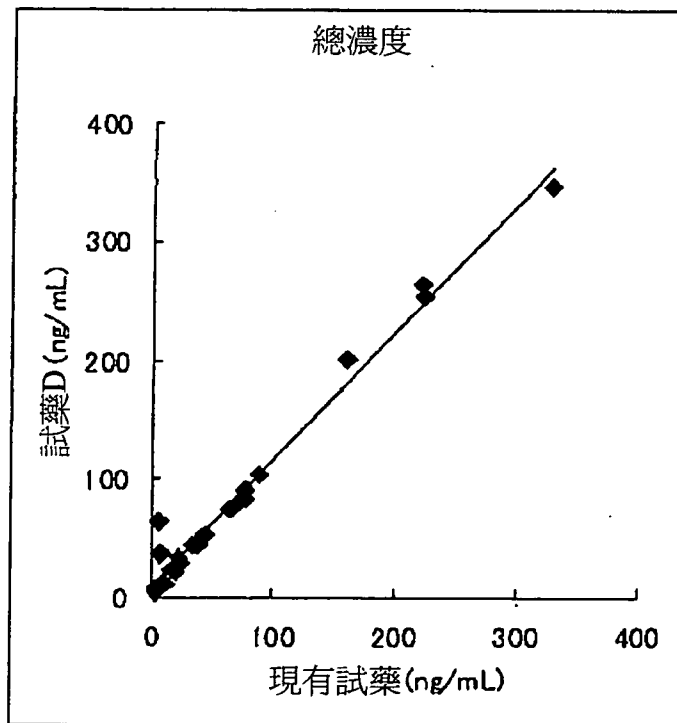


圖8

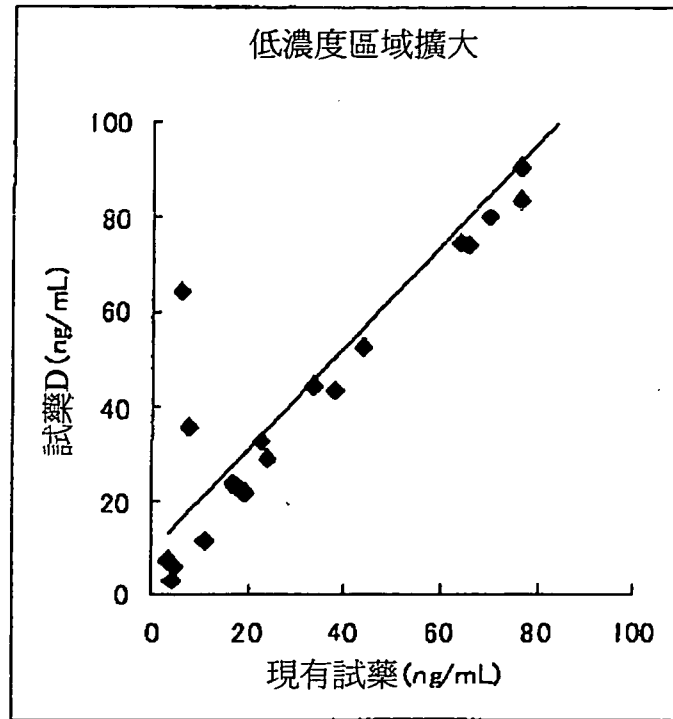


圖9

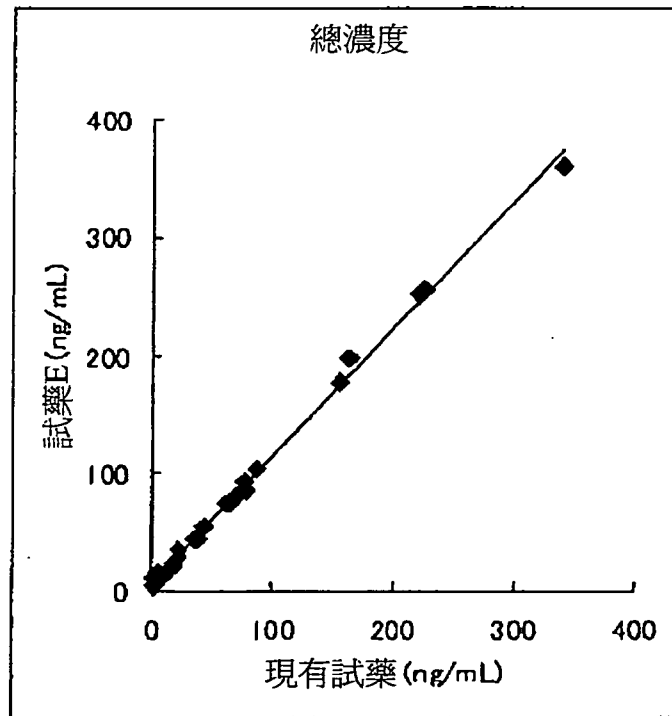


圖10

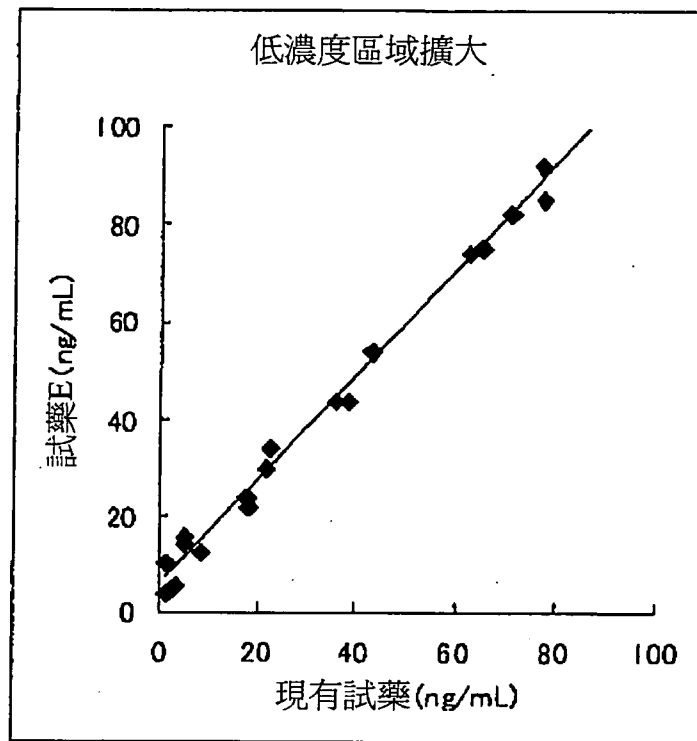


圖11

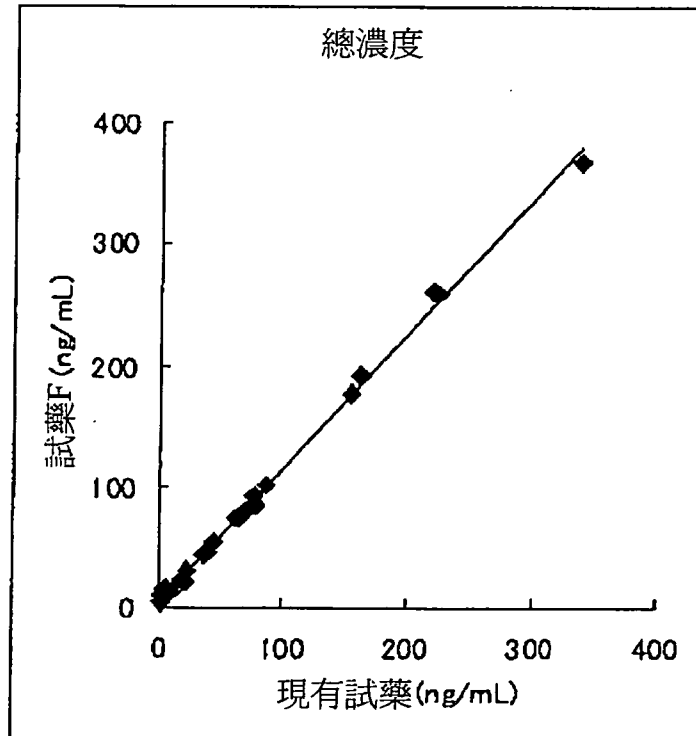


圖12

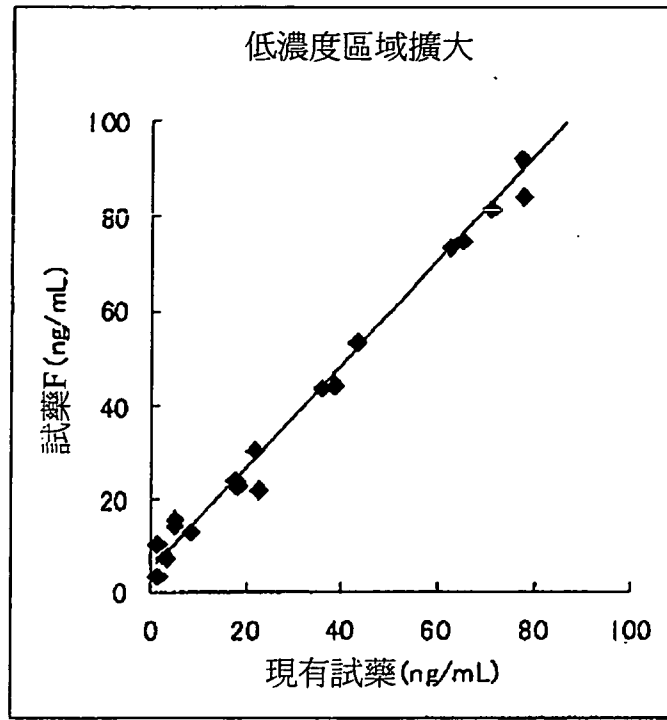


圖13

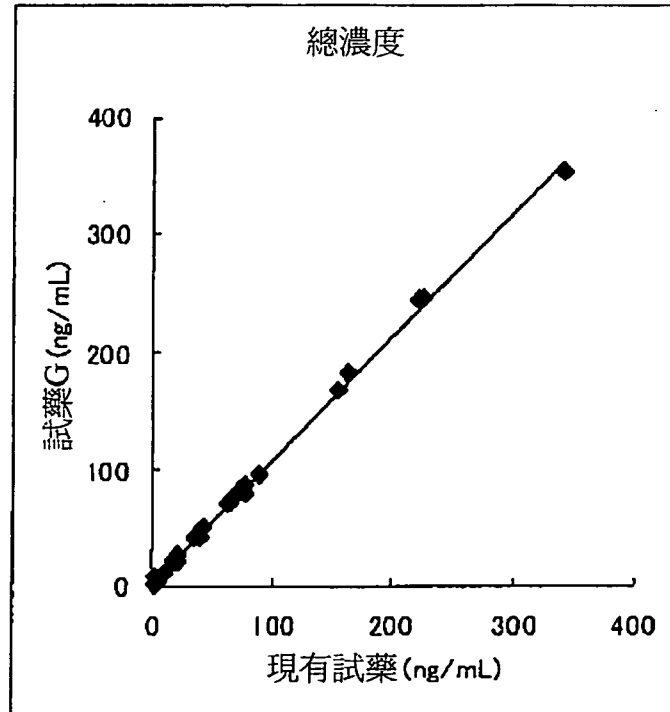


圖14

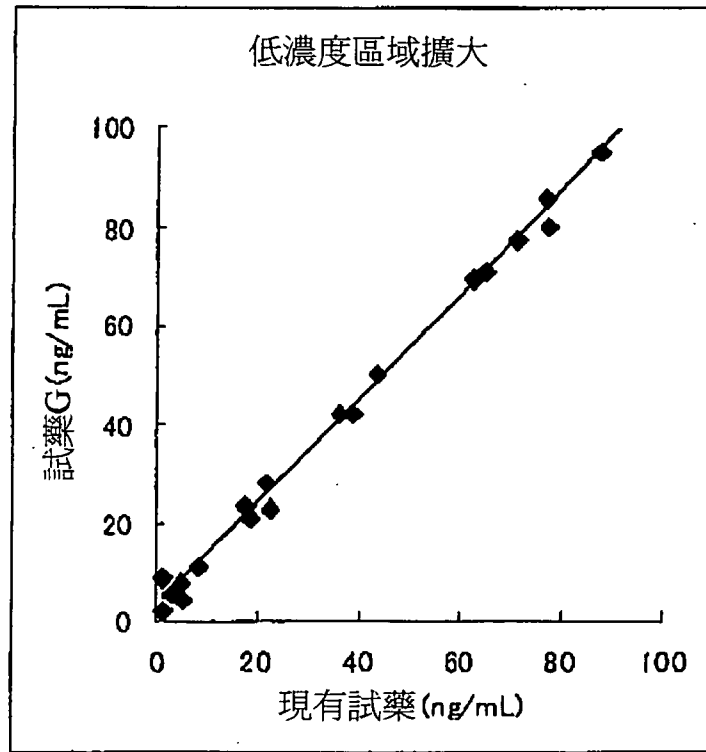


圖15

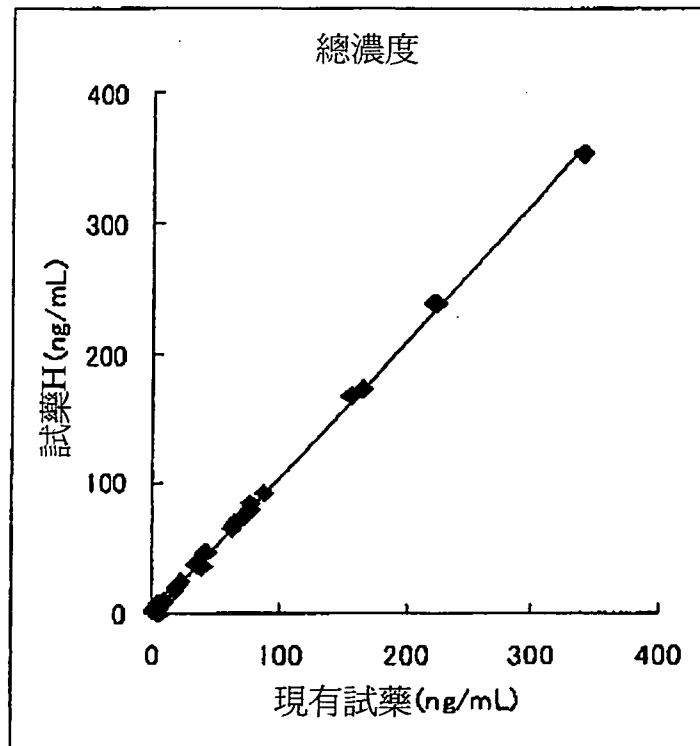


圖16

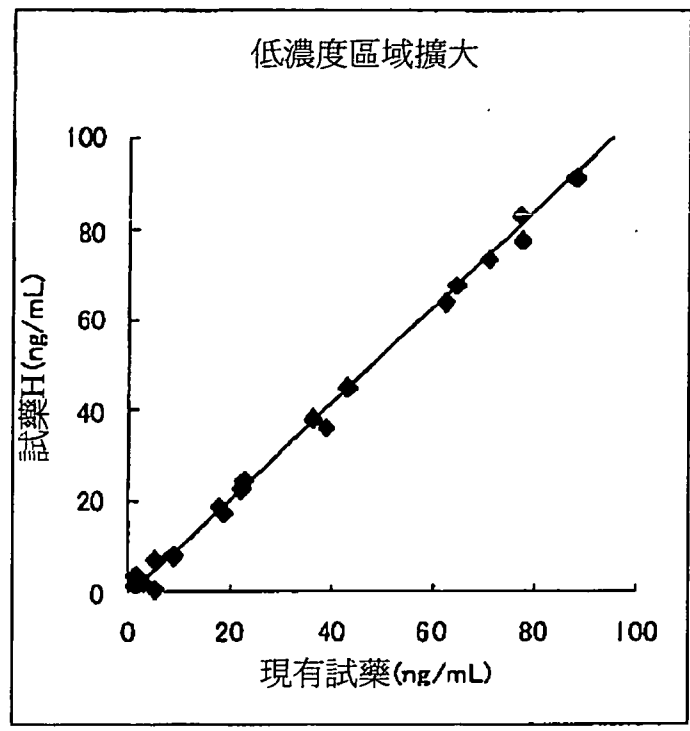


圖17

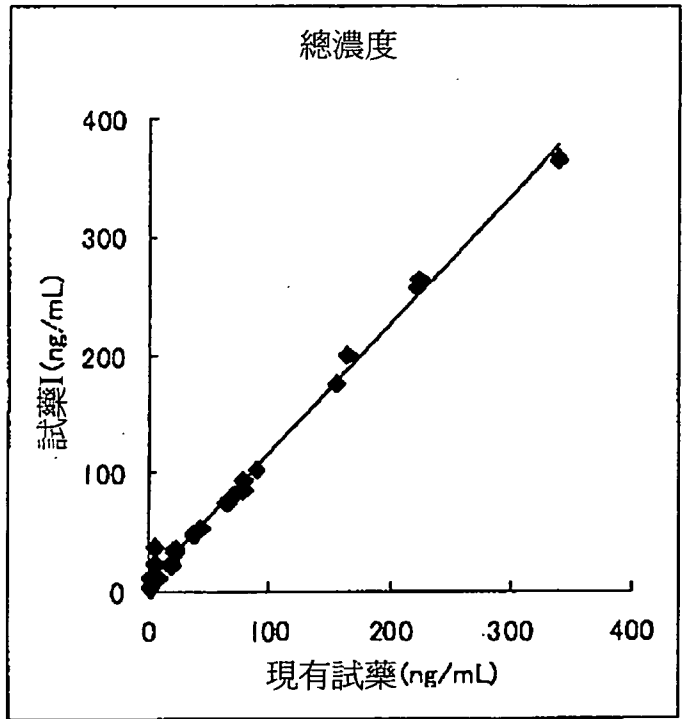


圖18

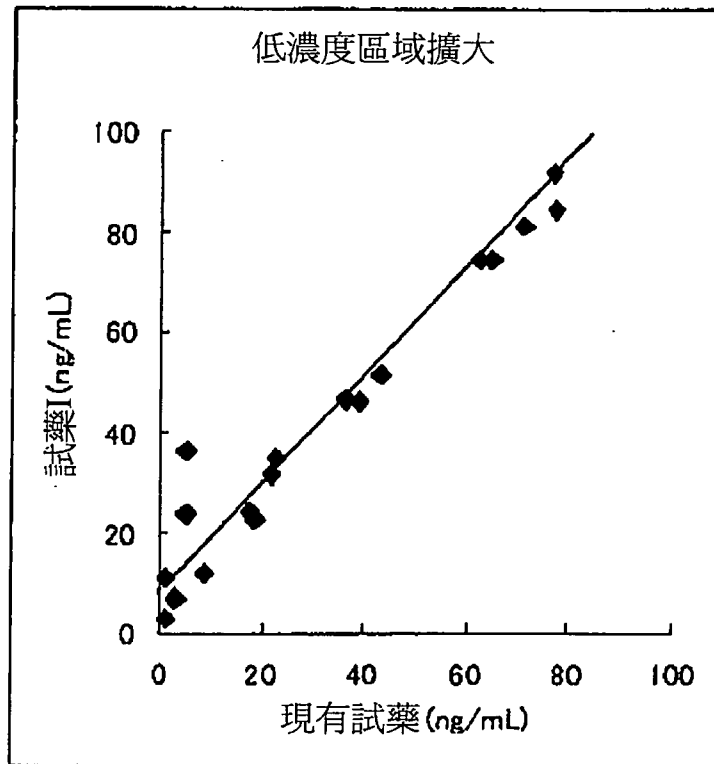


圖19

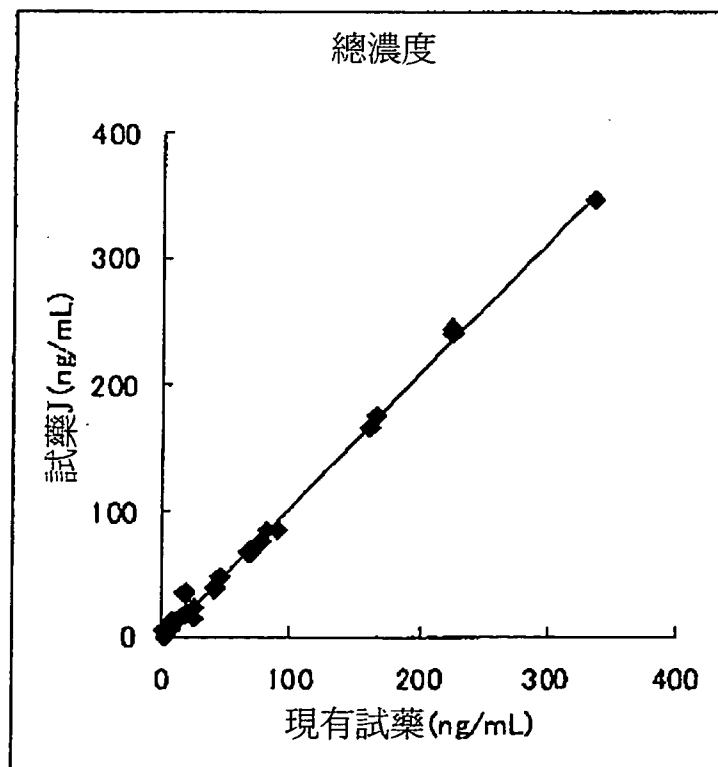


圖20

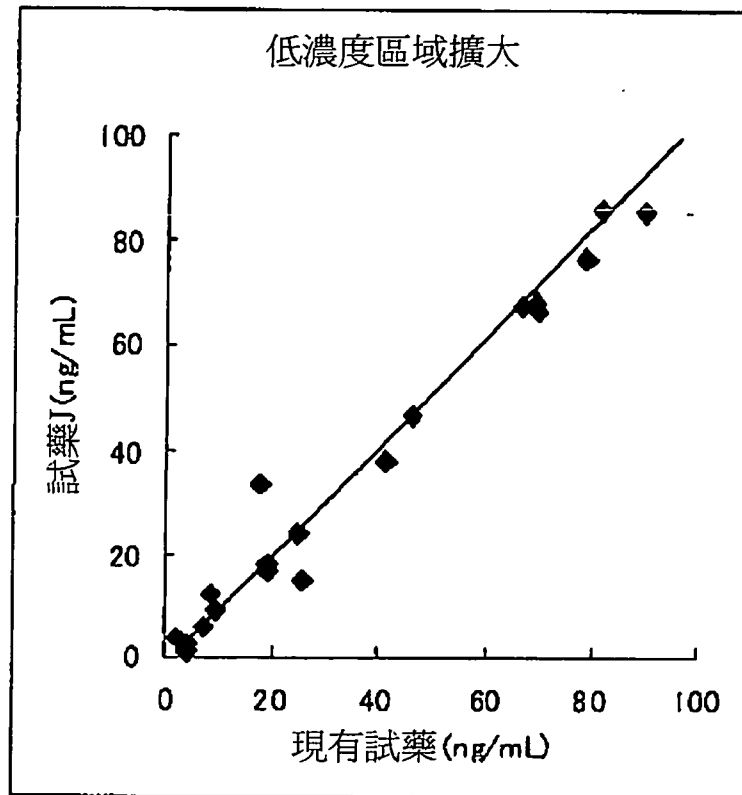


圖21

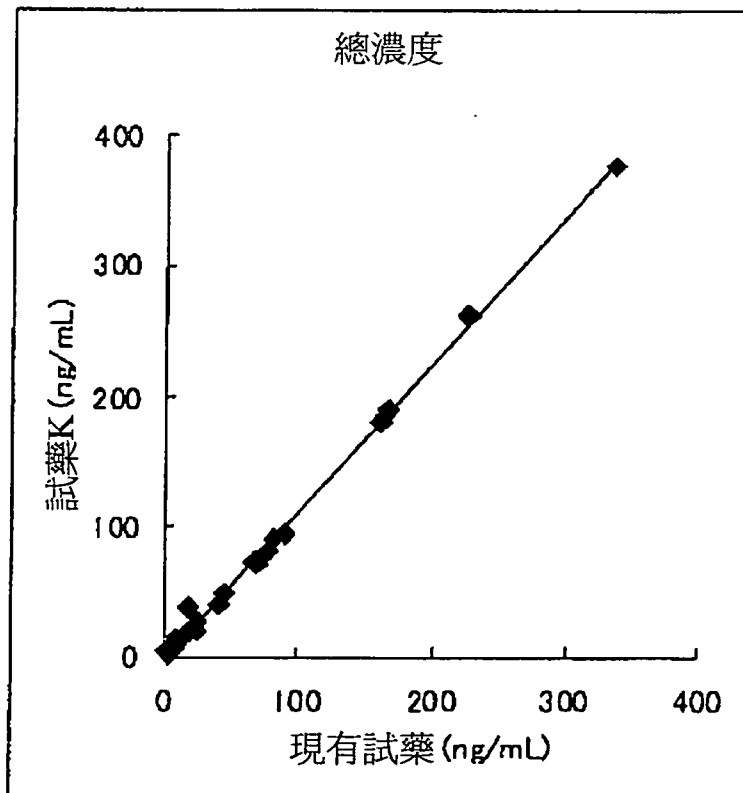


圖22

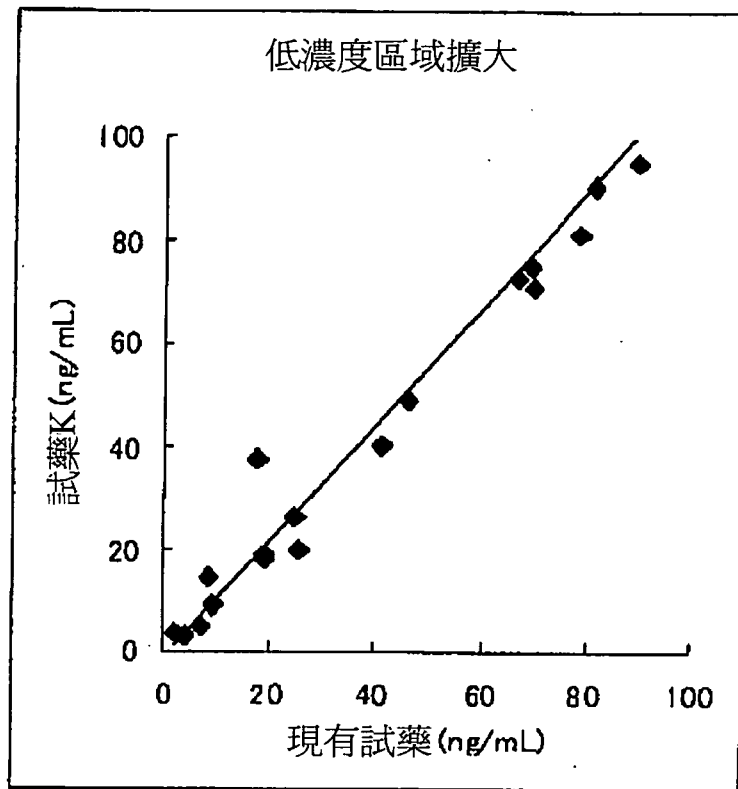


圖23

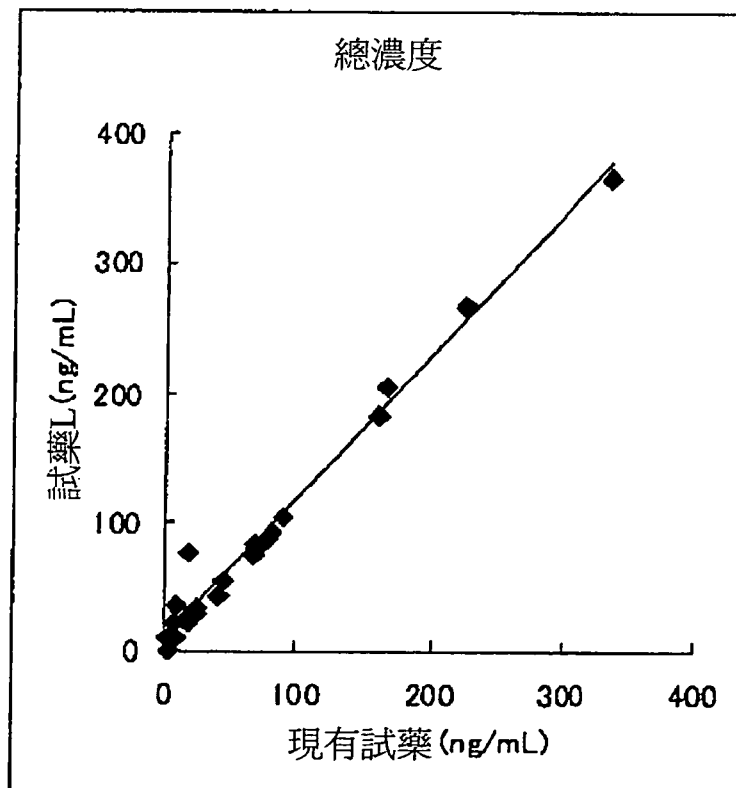


圖24

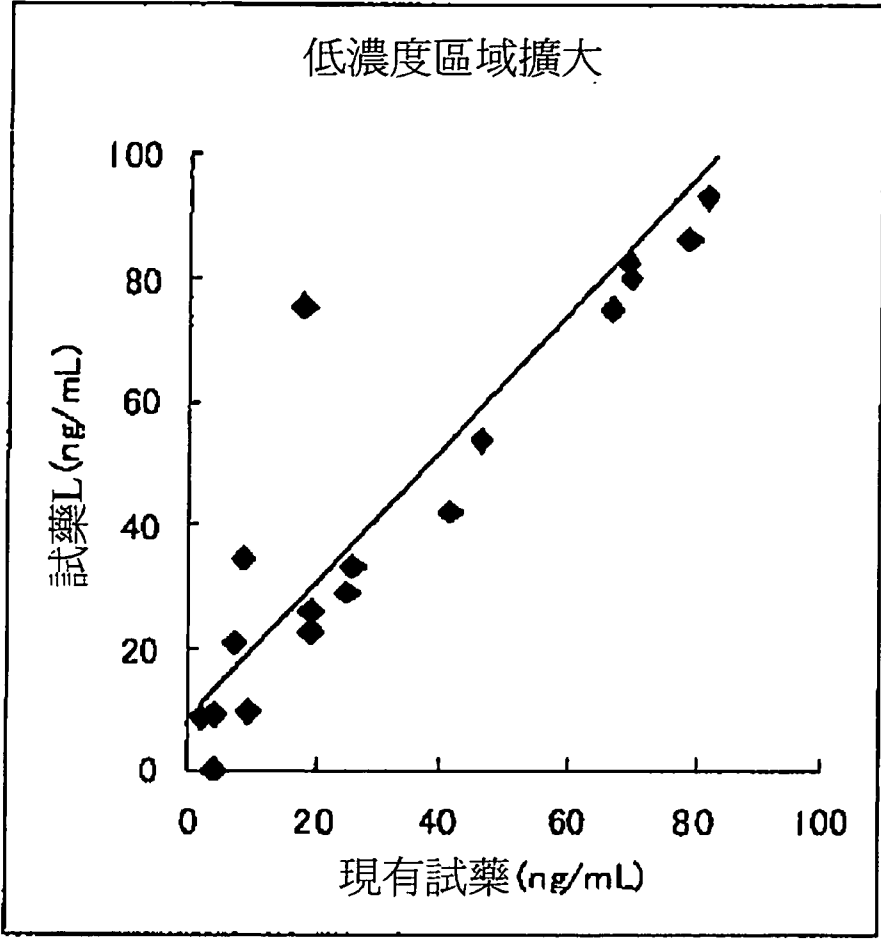


圖25