

【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 6 部門第 1 区分

【発行日】平成24年1月12日(2012.1.12)

【公開番号】特開2011-117973(P2011-117973A)

【公開日】平成23年6月16日(2011.6.16)

【年通号数】公開・登録公報2011-024

【出願番号】特願2011-32661(P2011-32661)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/543 5 4 5 A

G 0 1 N 33/53 U

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 0 7 K 14/47

【手続補正書】

【提出日】平成23年11月22日(2011.11.22)

【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】

生物学的流体の試料における P T X 3 タンパク質のレベルを定めるための方法であって、次の工程：

i) 96 - ウェルの E L I S A のプレートをし、ラットの単クローン抗体を含有する 100 μ l の溶液により被覆し、及び一夜の間、4 でインキュベートする工程；

i i) 次いで、プレートを、緩衝剤溶液及び非 - 特異結合部位をブロックし得る溶液により洗浄する工程；

i i i) 2 時間の間の周囲温度でのインキュベートの後、プレートを、更に（再び）洗浄緩衝剤により洗浄する工程；

i v) 繰り返して、50 μ l の、適切な媒体において希釈する標準組換えヒト P T X 3 又は試験下の生物学的流体の試料を、各ウェルにおいて配置し、及びプレートを 2 時間の間 37 でインキュベートする工程；

v) プレートを洗浄緩衝剤により繰り返し洗浄し、及び次いで洗浄緩衝剤における 25 ng / ml のビオチン化した抗 - P T X 3 のラビットの I g G の 100 μ l を、各ウェルに添加する工程；

v i) プレートを 1 時間の間 37 でインキュベートし、及び次いで洗浄緩衝剤により繰り返し洗浄する工程；

v i i) 100 μ l の希釈したストレプトアビジン - ペルオキシダーゼを各ウェルに添加し、及びプレートを 1 時間の間周囲温度でインキュベートする工程；

v i i i) プレートを洗浄緩衝剤により繰り返し洗浄した後、100 μ l の色素生産性基質を各ウェルに添加する工程；

i x) プレートを短時間に周囲温度でインキュベートし、停止溶液を添加し、及びプレートを 405 nm で自動読取機により読み取る工程

を含み；

改善は、

- 工程 (i) において用いるラットの単クローン抗体が、ハイブリドーマ M N B 1 0 (受託番号 A B C / P D 0 4 0 0 1) から得られる抗体であり；

- 工程 (v i i) において用いるストレプトアビジン - ペルオキシダーゼが 1 : 8 0 0 0 に希釈され；及び

- 工程 (v i i i) において用いる色素生産性基質がテトラメチルベンジジン (T M B) である

という事実があり、試験血漿試料を希釈するのに用いる媒体が、P B S + 2 % の B S A (ウシ血清アルブミン) + 0 . 1 8 % の E D T A から構成される

ことを特徴とする、方法。

【請求項 2】

工程 (i) における溶液において、ラットの単クローン抗体の濃度が、約 7 0 0 n g / m l であることを特徴とする、請求項 1 の方法。

【請求項 3】

工程 (i) における溶液が被覆緩衝剤溶液であることを特徴とする、請求項 1 又は 2 の方法。

【請求項 4】

前記緩衝剤溶液が 1 5 m M の炭酸塩緩衝剤を含有し、及びその p H が 9 . 6 であることを特徴とする、請求項 3 の方法。

【請求項 5】

工程 (i i) において用いる緩衝剤溶液が、P B S (リン酸塩緩衝剤塩類溶液) + 0 . 0 5 % のトゥイーン 2 0 から構成されることを特徴とする、請求項 1 ~ 4 の何れか 1 項の方法。

【請求項 6】

前記溶液を約 3 0 0 μ l / ウェルの量において用いることを特徴とする、請求項 5 の方法。

【請求項 7】

工程 (i i) において用いる非 - 特異結合部位をブロックし得る溶液が、P B S + 0 . 0 5 % のトゥイーン 2 0 からなる緩衝剤溶液における粉乳の 5 % 溶液から構成されることを特徴とする、請求項 1 ~ 6 の何れか 1 項の方法。

【請求項 8】

非 - 特異結合部位をブロックし得る前記溶液を、約 3 0 0 μ l / ウェルの量において用いることを特徴とする、請求項 7 の方法。

【請求項 9】

工程 (i i i) において特定する洗浄を、好ましくは 3 回繰り返し、毎回到約 3 0 0 μ l の溶液を各ウェルについて用いることを特徴とする、請求項 1 ~ 8 の何れか 1 項の方法。

【請求項 1 0】

工程 (i v) において、用いる標準組換えヒト P T X 3 を、ウェルにおいて、7 5 p g / m l から 1 . 2 n g までは増加する量で配置することを特徴とする、請求項 1 ~ 9 の何れか 1 項の方法。

【請求項 1 1】

生物学的流体における P T X 3 タンパク質のレベルを定めるためのキットであって、前記キットがラットの抗 - P T X 3 の単クローン抗体を含み、それがまた、アッセイすべき生物学的流体の試料のための希釈剤を含み、前記希釈剤に E D T A が含まれることを特徴とする、キット。

【請求項 1 2】

それがまた、ラビットの抗 - P T X 3 多クローン性抗体を含むことを特徴とする、請求項 1 1 のキット。

【請求項 1 3】

それがまた、精製組換え P T X 3 タンパク質を含むことを特徴とする、請求項 1 1 又は 1 2 のキット。

【請求項 1 4】

それがまた、セイヨウワサビペルオキシダーゼと複合化したストレプトアビジンを含むことを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 3 の何れか 1 項のキット。

【請求項 1 5】

それがまた、洗浄緩衝剤溶液を含むことを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 4 の何れか 1 項のキット。

【請求項 1 6】

それがまた、色素原を含むことを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 5 の何れか 1 項のキット。

【請求項 1 7】

色素原がテトラメチルベンジジン (T M B) の溶液から構成されることを特徴とする、請求項 1 6 のキット。

【請求項 1 8】

それがまた、停止溶液を含むことを特徴とする、請求項 1 1 ~ 1 5 の何れか 1 項のキット。