

【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 4 月 6 日 (2006.4.6)

【公開番号】特開 2000-239239 (P2000-239239A)

【公開日】平成 12 年 9 月 5 日 (2000.9.5)

【出願番号】特願 平 11-43030

【国際特許分類】

C 0 7 C 229/12 (2006.01)

C 0 7 K 16/44 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 R 1/91 (2006.01)

【F I】

C 0 7 C 229/12

C 0 7 K 16/44

C 1 2 P 21/08

G 0 1 N 33/53 J

C 1 2 N 5/00 B

C 1 2 N 5/00 B

C 1 2 R 1:91

C 1 2 P 21/08

C 1 2 R 1:91

【手続補正書】

【提出日】平成 18 年 2 月 20 日 (2006.2.20)

【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

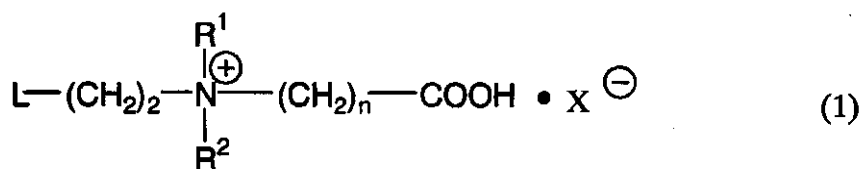
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式 (1) :

【化 1】



[式 (1) 中、

R¹ 及び R² は、枝分かれしていてもよい炭素数 1 - 5 のアルキル基及びアミノ基からなるグループから別個に選択される基であり；

L は、F、Cl、Br 及び I から選択されるハロゲン原子、OH 基又は OCOCH₃ 基であり；

X は、F、Cl、Br 及び I から選択されるハロゲン原子であり；そして

n は、1 ないし 10 の整数である]

で表される構造を有する化合物。

【請求項 2】

式(1)において、 R^1 及び R^2 が CH_3 基であり、 X 及び L が Cl 又は Br である、請求項 1 に記載の化合物。

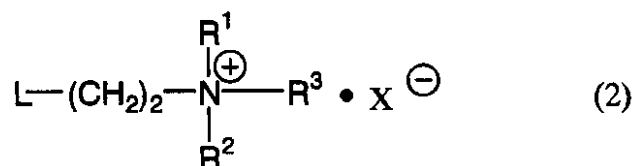
【請求項 3】

請求項 1 もしくは 2 に記載された化合物と高分子化合物又は標識物質との結合体。

【請求項 4】

請求項 1 又は 2 に記載された化合物と高分子化合物を結合させることにより抗原を作製し、当該抗原を用いることにより、以下の式(2)：

【化 2】



[式(2)中、

R^3 は、枝分かれしていてもよい炭素数 1 - 5 のアルキル基又はアミノ基であり；そして

R^1 、 R^2 、 L 及び X は先に定義した通りである]

で表される構造を有する化合物に反応性を示す抗体を製造することを特徴とする、式(2)で表される構造を有する化合物に反応性を示す抗体又は抗原と結合可能なそのフラグメントの製造方法。

【請求項 5】

請求項 3 に記載の結合体を抗原として用いることにより製造された、式(2)の化合物に反応性を示す抗体又は抗原と結合可能なそのフラグメント。

【請求項 6】

モノクローナル抗体である、請求項 5 に記載の抗体又は抗原と結合可能なフラグメント。

【請求項 7】

モノクローナル抗体 C M Q 1 9 - 4 である、請求項 5 もしくは 6 に記載の抗体又は抗原と結合可能なフラグメント。

【請求項 8】

請求項 5 ないし 7 のいずれか 1 項に記載の抗体を産生するハイブリドーマ。

【請求項 9】

寄託番号 F E R M P - 1 7 1 5 6 で寄託されている、請求項 8 に記載のハイブリドーマ。

【請求項 10】

請求項 5 ないし 7 のいずれか 1 項に記載の抗体又は抗原と結合可能なフラグメントを用いることを特徴とする、式(2)で表される化合物の免疫学的測定方法。

【請求項 11】

さらに、請求項 1 もしくは 2 に記載された化合物、又は請求項 3 に記載の結合体を用いることを含む、請求項 10 に記載の免疫学的測定方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 8】

本発明は、さらにまた、前記抗体を産生するハイブリドーマを提供することを目的とする。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

本発明は、さらに、前記抗体もしくは抗原と結合可能なそのフラグメント及び/又は前記クロルメコートハプテンと高分子化合物との結合体を使用することを含む、クロルメコートの免疫学的測定方法を提供することを目的とする。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0059

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0059】

一方、混合酸無水物法において用いられる混合酸無水物は、通常のショットテン - バウマン反応により得られ、これを高分子化合物と反応させることにより目的とするハプテン - 高分子化合物結合体が製造される。ショットテン - バウマン反応は塩基性化合物の存在下に行われる。塩基性化合物としては、ショットテン - バウマン反応において慣用されている化合物を使用することができる。例えば、トリブチルアミン、トリエチルアミン、トリメチルアミン、N - メチルモルホリン、ピリジン、N, N - ジメチルアニリン、DBN、DBU、DABCO等の有機塩基、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸水素ナトリウム等の無機塩基等が挙げられる。該反応は、通常マイナス20 から150、好ましくは0 から100 において行われ、反応時間は5分から10時間、好ましくは5分から2時間である。得られた混合酸無水物と高分子化合物との反応は、通常マイナス20 から100、好ましくは0 から50 において行われ、反応時間は5分から10時間、好ましくは5分から5時間である。混合酸無水物法は一般に溶媒中で行われる。溶媒としては、混合酸無水物法に慣用されているいずれの溶媒も使用可能であり、具体的にはジオキサン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジメトキシエタン等のエーテル類、ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン等のハロゲン化炭化水素類、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル類、N, N - ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ヘキサメチルリン酸トリアミド等の非プロトン性極性溶媒等が挙げられる。混合酸無水物法において使用されるハロ蟻酸エステルとしては、例えばクロロ蟻酸メチル、プロモ蟻酸メチル、クロロ蟻酸エチル、プロモ蟻酸エチル、クロロ蟻酸イソブチル等が挙げられる。当該方法におけるハプテンとハロ蟻酸エステルと高分子化合物の使用割合は、広い範囲から適宜選択され得る。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0102

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0102】

なお、酵素等の標識物質に結合させるハプテンとしては、間接競合阻害ELISA法における固相化抗原の場合と同様に、抗体作製に使用したクロルメコートハプテン自体のみならず、式(1)で表される他のハプテンと高分子化合物との結合体を用いることもできる。例えば、式(1)において R^1 、 R^2 、L又はnが抗体作製用抗原と相違する化合物を、酵素結合用ハプテンとして使用することも可能である。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0108

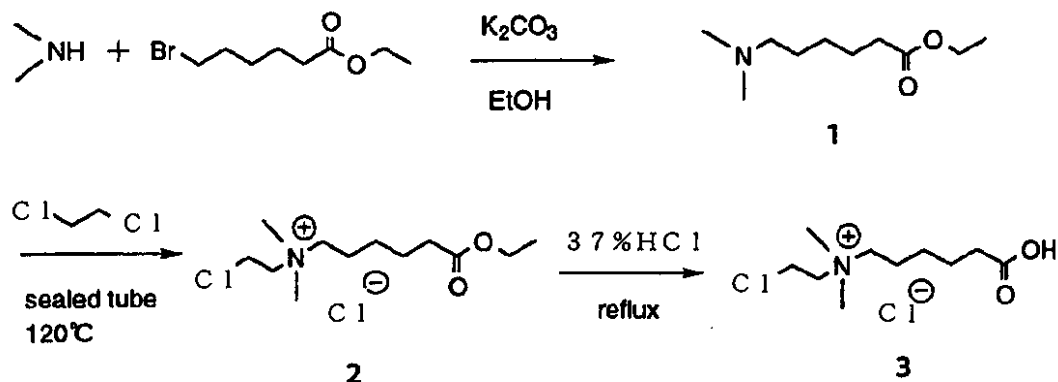
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0108】

【化12】

実施例1 クロルメコートハプテンー1の合成



【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0129

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0129】

結果を図3に示す。図3に示すように、モノクローナル抗体CMQ19-4は4 ng/mlから300 ng/mlの濃度範囲でクロルメコートを測定できた。

実施例11：モノクローナル抗体CMQ19-4の交差反応性

実施例10に示した直接競合阻害ELISA法により、モノクローナル抗体CMQ19-4と、クロルメコート及びその類縁化合物との交差反応性を調べた。その結果を、IC₅₀値と交差反応率として以下の表4に示す。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0131

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0131】

表4においてIC₅₀は、抗体とHRP結合ハプテンの反応を、50%阻害する化合物の濃度である。交差反応率とは、クロルメコートのIC₅₀値/対象化合物のIC₅₀値×100である。