

【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2月16日(2006.2.16)

【公開番号】特開2000-191624(P2000-191624A)

【公開日】平成12年7月11日(2000.7.11)

【出願番号】特願平10-367732

【国際特許分類】

C 07 C 271/54	(2006.01)
C 07 C 271/44	(2006.01)
C 07 K 16/44	(2006.01)
C 12 P 21/08	(2006.01)
G 01 N 33/53	(2006.01)
C 12 N 5/10	(2006.01)
C 12 N 15/02	(2006.01)
C 12 R 1/91	(2006.01)

【F I】

C 07 C 271/54	
C 07 C 271/44	
C 07 K 16/44	
C 12 P 21/08	
G 01 N 33/53	G
G 01 N 33/53	S
G 01 N 33/53	J
C 12 N 5/00	B
C 12 N 15/00	C
C 12 N 5/00	B
C 12 R 1:91	
C 12 P 21/08	
C 12 R 1:91	

【手続補正書】

【提出日】平成17年12月20日(2005.12.20)

【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

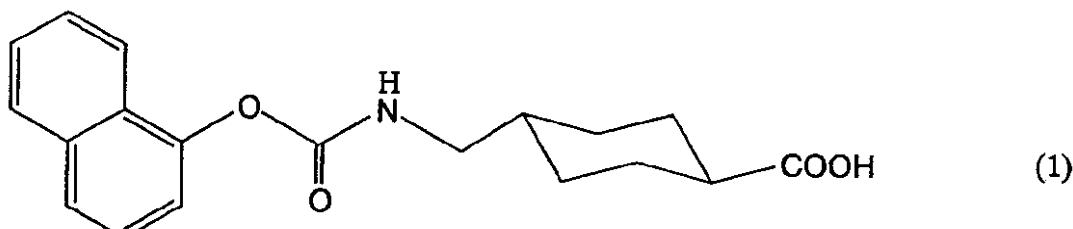
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式(1)：

【化1】

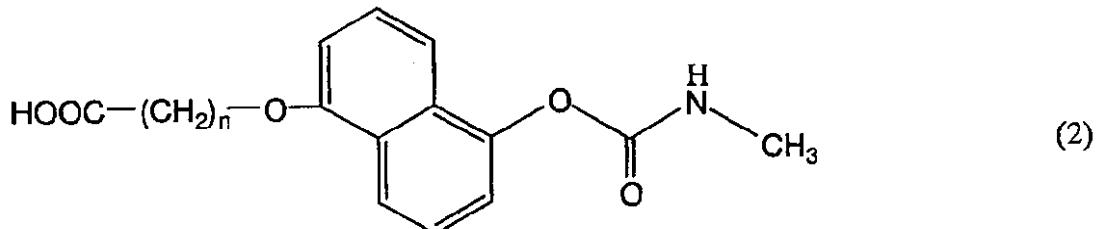


で表される構造を有する化合物。

【請求項 2】

以下の式(2)：

【化2】



[式(2)中、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。

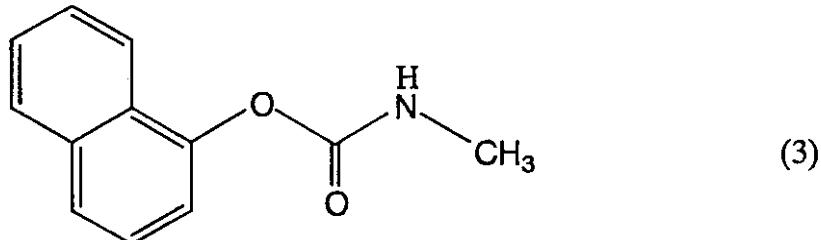
【請求項 3】

請求項1又は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に記載の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(3)：

【化3】



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(3)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(3)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そのフラグメント。

【請求項 7】

モノクローナル抗体29B1-1-1である、請求項5又は6に記載の抗体又は抗原と結合可能なそのフラグメント。

【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 0 9 3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そのフラグメントを用いることを特徴とする、式(3)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若しくは2に記載の化合物、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】0001

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、1-ナフチル-N-メチルカーバメート(以下、本明細書中「カルバリル」と言う)のハプテン化合物、抗原、抗体及び抗原と結合可能なそのフラグメントに関する。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0002

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0002】

本発明はさらに、前記抗原、抗体及び抗原と結合可能なそのフラグメントを用いた免疫学的測定方法に関する。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0014

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0014】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、カルバリルに反応する新規な抗体もしくは抗原と結合可能なそのフラグメント、及びその作製方法を提供することを目的とする。尚、本明細書において抗体の「フラグメント」とは、抗原と結合可能な抗体の一部分、例えばF_a b断片等を意味する。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

本発明は、さらにまた、前記抗体を產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 6】

【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/又は前記カルバリル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、カルバリル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 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0067

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0067】

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、カルボン酸とハロゲン蟻酸エステルとの反応により得られ、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。この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、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8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0093

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0093】

なお、担体に固相化させる抗原としては、抗体を作製したカルバリルハプテンと高分子化合物との結合体自体のみならず、式(1)又は式(2)に含まれない他のカルバリル類似化合物も、固相化抗原として使用することも可能である。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0109

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0109】

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カルバリルハプテン自体のみならず、式(1)又は式(2)に含まれない他のカルバリル類似化合物も、酵素に結合させるハプテンとして使用可能である。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0118

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0118】

(2)の合成

水素化ナトリウム(油性、60%)0.8g(20mmol)をN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)30mlに懸濁し、3.2g(20mmol)の1,5-ジヒドロキ

シナフタレン(1)のジメチルスルホキシド(DMSO)溶液20mlを室温で滴下した。室温で20分攪拌後、4-クロロ酪酸tert-ブチル3.6g(20ml)のDMF溶液5mlを滴下した。室温で5時間加熱攪拌後、反応液をジエチルエーテル-水で分配抽出した。集めたジエチルエーテル層を水洗、脱水(無水硫酸マグネシウム)、ろ過、濃縮後、シリカゲルクロマトグラフィー(n-ヘキサン：酢酸エチル=4:1 2:1)で精製し、褐色固体として0.61g(収率10%)の(2)を得た。

(3) の合成

ジヒドロキシナフタレン誘導体(2)0.61g(2mmol)を50mlのジクロロメタンに溶解させ、イソシアニ酸メチル0.14g(2.5mmol)を加えて室温で4時間攪拌した。反応液を濃縮後、シリカゲルクロマトグラフィー(n-ヘキサン：酢酸エチル=4:1 1:1)で精製し、白色結晶として0.67g(収率92%)の(3)を得た。

(4) の合成

ハブテンエステル(3)0.67g(1.9mmol)を60mlのジクロロメタンに溶解させ、トリフルオロ酢酸(TFA)5mlを加えて室温で1時間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し、白色結晶として0.53g(収率94%)の(4)を得た。