

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2023年1月19日(19.01.2023)



(10) 国際公開番号

WO 2023/286821 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/531 (2006.01) *G01N 33/96* (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2022/027642
- (22) 国際出願日: 2022年7月14日(14.07.2022)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2021-116842 2021年7月15日(15.07.2021) JP
- (71) 出願人: 積水メディカル株式会社 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 藤村 建午 (FUJIMURA Kengo); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP).
佐々木 龍太 (Sasaki Ryuta); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 弁理士法人 もえぎ特許事務所 (MOEGI PATENT ATTORNEYS); 〒1030022 東京都中央区日本橋室町一丁目12番3号 K a n a I P l a t z 7階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: COMPOSITION CONTAINING TARC, DILUTED SOLUTION, METHOD FOR PREVENTING CARRY OVER OF TARC, ADSORPTION-PREVENTING AGENT, AND CONTINUOUS ANALYSIS METHOD

(54) 発明の名称: T A R C を含有する組成物、希釈液、T A R C のキャリアオーバー抑制方法、吸着防止剤、及び連続的分析方法

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a diluted solution of each of a calibration sample and a specimen, in which the carry over of a TARC antigen rarely occurs. The problem can be solved by a composition containing TARC (thymus and activation-regulated chemokine), the composition comprising (A) TARC and (B) at least one component selected from the group consisting of an acidic amino acid, a basic amino acid, an acidic polymer having an average molecular weight of 4,000 to 1,200,000 and salts thereof, and the composition having a liquid form.

(57) 要約: T A R C 抗原のキャリアオーバーが生じにくい校正用試料および検体の希釈液を提供することを課題とする。T A R C (T h y m u s a n d a c t i v a t i o n - r e g u l a t e d c h e m o k i n e) を含む組成物であって、(A) T A R C、並びに (B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分を含み、そして、液状である、前記組成物により、前記課題を解決することができる。

WO 2023/286821 A1

明 細 書

発明の名称：

T A R C を含有する組成物、希釈液、T A R C のキャリアオーバー抑制方法、吸着防止剤、及び連続的分析方法

技術分野

[0001] 本発明は、T A R C を含有する組成物、及びT A R C を含有する組成物のための希釈液に関する。本発明は、また、T A R C のキャリアオーバー抑制方法、及びT A R C の吸着防止剤にも関する。本発明は、また、T A R C を含む2以上の試料の連続的分析方法にも関する。

背景技術

[0002] T h y m u s a n d a c t i v a t i o n - r e g u l a t e d c h e m o k i n e (以下、T A R C と称することがある) は、C - C ケモカイン リガンド17 (C C L 17) であり、白血球遊走作用を持つケモカインの一種である。T A R C は、リンパ球の1つであるT h 2 細胞を病変局所に引き寄せて、I g E 産生や好酸球の浸潤・活性化を引き起こす。このようにして、アレルギー反応を亢進させることで、T A R C はアトピー性皮膚炎の症状を増悪させると考えられている (非特許文献1) 。

[0003] アトピー性皮膚炎の炎症に対しては、速やかにかつ確実に鎮静させることが重要とされている。T A R C は、他のアトピー性皮膚炎の病勢を示す指標として用いられてきた血清I g E 値、末梢血好酸球数、血清L D H 値と比較して、アトピー性皮膚炎の重症度によく一致し、病勢をより鋭敏に反映すると考えられている (非特許文献2) 。したがって、T A R C をバイオマーカーとして使用することで、アトピー性皮膚炎に対する治療薬を選択又は変更する際に、客観的に且つ迅速に重症度を把握し、効果を判定することができる。

[0004] 試料中の成分の測定を行うには、校正用試料を用いる必要がある。校正用試料は、内部標準又は濃度校正用基準 (キャリブレーション) 等の用途で用いら

れる、測定対象成分を含む試料である。校正用試料は、操作の簡便さから、流動性のある溶液の状態（以下、「液状」ということがある）であることが好ましい。この場合に校正用試料に望まれる事項としては、生物学的活性（例えば、特異抗体に対する抗原性、抗体やレクチンなどが有する特異的結合相手に対する結合活性、ペプチドホルモンなどが有する生理活性、酵素活性、前記各活性を支持するためのタンパク質としての立体構造など）の維持、容器への吸着防止、防腐能力の維持などが挙げられる。

[0005] 免疫学的測定方法での使用を意図した校正用試料の液状での保存方法としては、校正用試料にカゼイン及び／又はホエイ蛋白を共存させて抗原を安定化する方法（特許文献1）、胆汁酸アミド誘導体を共存させてインスリンを安定化する方法（特許文献2）、キレート剤を共存させて可溶性インターロイキン-2受容体（sIL-2R）を安定化する方法（特許文献3）が知られている。TARCに関しては、さらに本発明者らによって、陽イオン性界面活性剤又は陰イオン性界面活性剤を用いる方法（特許文献4）、糖脂肪酸エステル型非イオン性界面活性剤、ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンブロック共重合型非イオン性界面活性剤、及びポリオキシエチレンアルキルアミン型非イオン性界面活性剤からなる群より選択される1種以上を用いる方法（特許文献5）、及び2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリンを構成単位として有する重合体を用いる方法（特許文献6）が検討されてきた。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：特開平08-005634号公報
特許文献2：特開平08-012593号公報
特許文献3：特開2010-230660号公報
特許文献4：特願2020-119024
特許文献5：特願2020-119025
特許文献6：特願2020-119026

非特許文献

[0007] 非特許文献1: J Allergy Clin Immunol 107:535-541, 2001

非特許文献2: 日本皮膚科学会雑誌 116(1):27-39, 2006

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 自動分析装置を用いて試料中の成分の測定を行う際には、サンプルプローブによって、試料が希釈セルや反応セルに分注される。具体的に、サンプルプローブとは、試料（校正用試料や検体、希釈液で希釈した検体）を必要量吸い取り、反応セルへ入れるための微細管である。サンプルプローブは、自動分析装置ごとに固有のプログラムに基づき、動作する。濃度校正時は、低濃度側からサンプリングを行うので、サンプルプローブを試料毎に水ですすぐことはあっても、洗剤で洗浄するプログラムがない装置が多い。さらに、サンプルプローブを試料毎に水ですすぐことさえおこなわず、すべての校正用基準物質のサンプリングが完了した最後にのみ、すすぎや洗剤で洗浄するプログラムとしている装置もある。そのため、高濃度の校正用試料をサンプリングしている間、又はサンプリングした後であってすすぎや洗浄がおこなわれる前に、エラー等で濃度校正を再度実施する場合は、高濃度の校正用基準物質を吸引したサンプルプローブを洗浄することなくゼロ濃度又は低濃度の校正用試料をサンプリングすることになる。高濃度の校正用試料に含まれる抗原が、サンプルプローブに付着しやすく、水ですすぎきれない場合、当該成分の次の試料への混入、すなわちキャリアオーバーが発生する。このように、濃度校正時にキャリアオーバーが発生することで、正確な検量線を作成することが出来ず、検体の正確な測定値が得られなくなるという課題があった。

また、検体測定時は、通常サンプルプローブを検体毎に水ですすぐ方式のため、校正用試料と同様にキャリアオーバーが起こり得るが、サンプリングの前に洗剤でサンプルプローブを洗浄するよう装置上の設定（キャリアオー

バー回避設定)を追加することで、キャリアオーバーを回避することが可能となる。一方で、上記の洗浄機構を搭載していない自動分析装置もあり、サンプルプローブ洗浄のために処理能力が低下するデメリットもある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、T A R Cの定量を連続的に行う際に、T A R C抗原がサンプルプローブに吸着し、次試料以降に定量するサンプルにキャリアオーバーが発生することを発見した。本発明者らは、キャリアオーバーが発生しない方法を鋭意検討した。そして、本発明者らは、以下の構成を採用することにより、キャリアオーバーの発生を防止することができることを見出し、本発明を完成するに至った。

具体的に、本発明は以下のとおりである。

<1>

T A R C (Thymus and activation-regulated chemokine) を含む組成物であって、

(A) T A R C、並びに

(B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分を含み、そして、液状である、前記組成物。

<2>

T A R Cを測定するための校正用試料溶液である、<1>に記載の組成物。

<3>

(C) 緩衝液

をさらに含む、<1>又は<2>に記載の組成物。

<4>

酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、<1>~<3>のいずれかに記載の組成物。

<5>

前記成分（B）の濃度が、組成物に対して、0.0001～20質量%である、<1>～<4>のいずれかに記載の組成物。

<6>

（B）酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000～1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分を含む、TARCを含む試料の希釈液。

<7>

酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、<6>に記載の希釈液。

<8>

（C）緩衝液

をさらに含む、<6>又は<7>に記載の組成物。

<9>

前記成分（B）の濃度が、希釈液に対して、0.0001～20質量%である、<6>～<8>のいずれかに記載の希釈液。

<10>

（A）TARCと、

（B）酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000～1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分と

を溶液中で接触させることを含む、TARCのキャリアオーバー抑制方法。

<11>

酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、<10>に記載のTARCのキャリアオーバー抑制方法。

<12>

前記溶液が緩衝液である、＜10＞又は＜11＞に記載のTARCのキャリアオーバー抑制方法。

＜13＞

キャリアオーバーが、サンプルプローブにおけるキャリアオーバーである、＜10＞～＜12＞のいずれかに記載のTARCのキャリアオーバー抑制方法。

＜14＞

前記成分（B）の濃度が、溶液に対して、0.0001～20質量%である、＜10＞～＜13＞のいずれかに記載のTARCのキャリアオーバー抑制方法。

＜15＞

TARCを含む溶液中のTARCのサンプルプローブへの吸着防止剤であって、

（B）酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000～1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分

を含む前記吸着防止剤。

＜16＞

酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、＜15＞に記載の吸着防止剤。

＜17＞

TARCを含む2以上の試料の連続的分析方法であって、

- （a）TARCを含む第一試料をサンプルプローブで吸引することと
- （b）サンプルプローブから前記第一試料を排出することと
- （c）前記第一試料におけるシグナル強度を測定することと
- （d）前記サンプルプローブの壁面をすすぎ液ですすぐことと
- （e）TARCを含む第二試料をサンプルプローブで吸引することと

(f) 前記第二試料におけるシグナル強度を測定することと
を含み、

前記第一試料及び第二試料は、(B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分を、第一試料及び第二試料に対して、それぞれ0.0001質量%~20質量%含み、そして、

前記TARCを含む第一試料におけるTARCの濃度が、前記TARCを含む第二試料におけるTARCの濃度よりも高い、前記連続的分析方法。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、TARC抗原のキャリーオーバーが生じにくい校正用試料及び検体の希釈液を提供することができる。したがって、本発明によれば、生体試料中のTARCを正確に定量することができ、アトピー性皮膚炎の重症度を正確に把握することができる。

発明を実施するための形態

[0011] 以下、本発明を詳細に説明する。本明細書においては、発明の態様 (aspect) に分けて説明をしているが、それぞれの態様に記載の事項、語句の定義、及び実施形態は、他の態様においても適用可能である。

[0012] 1. TARCを含む組成物

(成分(A): TARC)

本明細書において「TARC」は、Thymus and activation-regulated chemokine (CCL17) を意味する。TARCは、白血球遊走作用を持つケモカインの一種である。TARCは、リンパ球の1つであるTh2細胞を病変局所に引き寄せて、IgE産生又は好酸球を浸潤・活性化する機能を有する。TARCをバイオマーカーとして使用することで、アトピー性皮膚炎に対する治療薬を選択又は変更する際に、客観的に且つ迅速に重症度を把握することができる。

[0013] TARCの測定は、公知の手法、例えば、免疫学的手法を使用して行うことができる。免疫学的手法としては、ELISA、酵素免疫測定法、表面プ

ラズモン共鳴法、ラテックス凝集免疫測定法（L T I A）、化学発光免疫測定法、電気化学発光免疫測定法、蛍光抗体法、放射免疫測定法、ウエスタンブロット法、イムノクロマトグラフィー法、及び高速液体クロマトグラフィー法（H P L C法）等が挙げられる。

[0014] 本発明の組成物に含まれるT A R Cとしては、市販のものを使用してもよく、自ら作製又は精製したものを使用してもよい。本発明の組成物に含まれるT A R Cとしては、インビトロで作製したものを使用してもよく、生体から抽出したものを使用してもよい。

[0015] （T A R Cの濃度）

本発明の組成物に含まれるT A R Cの濃度としては、以下に限定されるものではないが、組成物に対して、好ましくは1 0 p g / m L ~ 1 μ g / m L、より好ましくは5 0 p g / m L ~ 5 0 0 n g / m L、さらに好ましくは1 0 0 p g / m L ~ 1 0 0 n g / m L、最も好ましくは1 0 0 p g / m L ~ 5 0 n g / m Lである。

[0016] （成分（B））

本発明の組成物は、酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4, 0 0 0 ~ 1, 2 0 0, 0 0 0の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分（以後、単に成分（B）と呼ぶことがある）を含む。これらの成分は、水溶液中で電離し、負電荷又は正電荷を示す。水溶液中で電離し負電荷を示すとは、アミノ基などの塩基性官能基よりもスルホ基などの酸性官能基を多く有しており、水に溶解したときに負電荷を示すことである。水溶液中で電離し正電荷を示すとは、酸性官能基よりも塩基性官能基を多く有しており、水に溶解したときに正電荷を示すことである。

酸性官能基としては、スルホ基、ホスホ基、又はカルボキシル基などが挙げられる。スルホ基又はカルボキシル基が好ましい。

塩基性官能基としては、第一級アミノ基、第二級アミノ基、第三級アミノ基、第四級アンモニウム塩等のアミノ基、アミド基、ピリジル基、ピリジン基、ピロリドン基、イミダゾール基、又はイミン基等が挙げられる。アミノ

基が好ましい。

[0017] 酸性アミノ酸、重量平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマー、又はそれらの塩としては、L-グルタミン酸、L-アスパラギン酸、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム（CAS登録番号25704-18-1）、ポリアクリル酸ナトリウム（CAS登録番号9003-04-7）、ナフタレンスルホン酸縮合物（CAS登録番号9084-06-4）、又はポリアクリル酸（CAS登録番号9003-01-4）を使用することができる。ナフタレンスルホン酸縮合物は、デモール（登録商標）RNとして花王株式会社から製造販売されているものを使用することができる。なお、本明細書で言及するアミノ酸は、生体の構成単位となる α -アミノ酸でもよく、非天然型アミノ酸でもよい。本明細書において、アミノ酸には、L体、D体、及びその混合物が含まれる。

[0018] （塩基性アミノ酸又はその塩）

塩基性アミノ酸又はその塩としては、L-リシン、L-アルギニン、又はそれらの塩を使用することができる。

[0019] 酸性アミノ酸の塩、塩基性アミノ酸の塩、又は重量平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマーの塩としては、本発明の効果が得られる限り限定されず、例えば、塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩等の無機酸又は有機酸との塩、及びナトリウム塩、カリウム塩等の塩基との塩などが挙げられる。

[0020] 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、又は重量平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマーとしては、L-グルタミン酸、L-アスパラギン酸、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、又はポリアクリル酸が好ましく、L-グルタミン酸、L-アスパラギン酸、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、又はナフタレンスルホン酸縮合物（デモールRN）がより好ましい。酸性ポリマーとしては、平均分子量（Average MW：重量平均分子量）で、例えば4,000~1,200,000、好ましくは5,000~1,000,000であるものを使用することができる。さらに、重量平均分子量（MW）は70,000~1,000,000が好

ましい。重量平均分子量（MW）は、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC:Size Exclusion Chromatography）を用いて測定することができる。酸性ポリマーとしては、酸性を有する基を有するモノマーが重合したポリマーであれば、際限なく使用することができる。酸性ポリマーは、カルボキシル基又はスルホ基を有するモノマーが重合した酸性ポリマーが好ましい。

[0021] 成分（B）の濃度は、組成物に対して、例えば0.0001～20質量%、好ましくは0.001～10質量%である。

酸性アミノ酸又はその塩を用いる場合には、より好ましい濃度は、組成物に対して0.05～10質量%、さらに好ましくは0.1～5質量%、最も好ましくは、0.5～1質量%である。

酸性ポリマー又はその塩を用いる場合には、より好ましい濃度は、組成物に対して0.001～1質量%、さらに好ましくは0.001～0.5質量%、最も好ましくは、0.002～0.1質量%である。

塩基性アミノ酸又はその塩を用いる場合には、濃度は、組成物に対して、例えば1～20質量%、好ましくは3～18質量%、より好ましくは5～15質量%、最も好ましくは5～10質量%である。

[0022] 本発明の組成物では、本発明の効果が得られる限りにおいて、成分（B）とTARCの添加順序は特に限定されない。

[0023] （成分（C）：緩衝液）

本明細書において、「緩衝液」は、pHの緩衝作用を有する溶液を意味する。

本発明において用いられる緩衝液は、以下に限定されるものではないが、例えば、PBS (phosphate buffered saline)、MES (2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid)、PIPES (piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid)、ACES (N-(2-Acetamido)-2-aminoethanesulfonic acid)、ADA (N-(2-Acetamido)iminodiacetic acid)、Bis-Tris (2,2-Bis(hydroxyethyl)-(iminotris)-(hydroxymethyl)-methane)、Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethane)、MOPS (3-Morpholinopropanesulfonic

acid)、H E P E S (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)、クエン酸緩衝液、グリシン緩衝液、ホウ酸緩衝液又はリン酸緩衝液などの公知の緩衝液を適宜用いることができる。本発明において用いられる緩衝液は、好ましくはP B Sである。

緩衝液の濃度は、本発明の効果が得られる限りは特に限定されないが、たとえば、1～500mM、5～400mM、10～300mM、又は50～200mMである。

本発明において使用される緩衝液のpHは、例えば、4.0～11.0、5.0～10.0、6.0～9.0、6.5～8.0、又は7.0～8.0である。pHの調整は、当業者に周知のpH調整用試薬、例えば水酸化ナトリウム又は塩酸などを用いて行うことができる。

本発明の組成物において、緩衝液の含有量は、組成物に対して、例えば90質量%以上、92質量%以上、95質量%以上、97質量%以上、又は99質量%以上であることができる。

[0024] (保存容器)

本発明の組成物は、好ましくは、保存容器に充填されている。保存容器の材質は、本発明の効果をj得ることができ、そして密封ができれば特に限定されないが、少なくとも組成物との接触部分の一部又は全部が、プラスチック[例えば、オレフィン系樹脂、スチレン系樹脂、アクリル系樹脂、ポリエステル系樹脂、ポリカーボネート系樹脂、フッ素樹脂、塩素系樹脂(ポリ塩化ビニルなど)、ポリアミド系樹脂、ポリアセタール系樹脂、ポリフェニレンエーテル系樹脂(変性ポリフェニレンエーテルなど)、ポリアリレート、ポリスチレンスルホン、ポリイミド系樹脂、セルロース系樹脂(セルロースアセテートなど)、炭化水素系樹脂(ハロゲン原子置換品を含む)など]、金属(アルミニウムなど)、ガラスなどである。中でも、校正用試料の製造、輸送、保管の観点からプラスチック又はガラスが好ましく、プラスチックの中ではオレフィン系樹脂が好ましく、ポリプロピレンがより好ましい。

[0025] 保存容器は、単独又は2種以上の材質で構成されていてもよいが、単独の

材質で構成されていることが好ましい。保存容器は、容器本体部分とキャップとを含むことができる。この場合、容器本体部分とキャップとは異なる材質で構成されていてもよい。また、保存容器、特に本体部分は、外部から内容液が見える程度の透明性を有していることが好ましい。

保存容器の形態としては、ハードタイプ又はソフトタイプのいずれでもよく、アンプル、バイアル、ソフトバッグ、注射型容器、ガラス瓶などが例示される。保存容器は、容器本体部分とキャップ部分を含む、プラスチック製の点眼瓶の形態、特に円筒形状の点眼瓶の形態であることが、使用しやすさ及びT A R Cの安定性の観点から好ましい。

[0026] (組成物)

本発明の組成物は、T A R Cの測定において、校正用試料溶液として用いることができる。本明細書において、校正用試料溶液とは、測定対象物質の測定を正確に行うために使用する、測定対象物質を一定の濃度で含有する試料溶液を意味し、標準物質、キャリブレーター、コントロール、及び内部標準物質などが該当する。本発明の組成物の供給の形態としては、T A R Cと成分(B)とを溶媒に混合した、あらかじめ溶液状態にした形態が挙げられる。

なお、T A R Cの測定において「組成物を使用する」とは、T A R Cの測定を正確に行うために組成物を使用することを意味し、例えば、T A R Cを含む液状組成物を校正用試料溶液(標準物質、キャリブレーター、コントロール、及び内部標準物質など)として使用することを意味する。

[0027] 本発明の組成物のpHは、例えば、4.0~11.0、5.0~10.0、6.0~9.0、6.5~8.0、又は7.0~8.0である。

pHの調整は、当業者に周知のpH調整用試薬、例えば水酸化ナトリウム又は塩酸などを用いて行うことができる。

[0028] 本発明の組成物の組成は、本発明の効果を損なわないことを限度として特に制限はない。T A R Cを免疫学的測定方法により測定するのであれば、本発明の効果を損なわず、かつ、抗原抗体反応又は酵素反応などの測定系を構

成する反応の全部又は一部を妨害しなければよい。免疫学的測定方法において通常使用される各種成分、例えば、抗原抗体反応を促進する成分（ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドンなどの高分子など）、糖タンパク質やペプチド（BSA、カゼインなど）、アミノ酸、塩類（塩化ナトリウム、塩化カリウムなど）、糖類（ショ糖、シクロデキストリンなど）、防腐剤（アジ化ナトリウム、ProClin300など）、他の吸着防止剤（Lipidureなど）などを目的に応じ、適宜選択して使用することができる。

[0029] 本明細書において「キャリアオーバー」とは、第一試料を分取した際に、試料中のTARC抗原がサンプルプローブ等の壁面に吸着して残存し、次にサンプリングを行う第二試料以降の反応セルに第一試料由来のTARC抗原が流入することを意味する。キャリアオーバーが生じると、第二試料以降のシグナル強度が本来得られるシグナル強度と比較して高くなり、正確な定量値が得られなくなる。本発明者らは、前述のように、TARCがサンプルプローブへごく短い時間のみ接触する場合でも、キャリアオーバーが発生することを発見した。本発明の組成物を使用することにより、キャリアオーバーを防止して、TARC測定の精度を向上させることができる。

[0030] 本明細書において、サンプルプローブとは、採血管等の容器から検体を必要量吸い取り、反応セルへ入れるための微細管を意味する。サンプルプローブは、自動測定装置用のものと、手動で使用するものの両方を含む。サンプルプローブは、好ましくは金属製であり、より好ましくはステンレス製である。

[0031] (TARCの測定を行うための試料)

TARCの測定を行うための試料としては、TARCの測定が可能であれば特に限定されることはないが、血液、血清、又は血漿を用いることが好ましい。試料には、必要に応じて適宜前処理を実施してもよい。試料は、好ましくは、ヒトから採取された生体試料である。

[0032] (TARCの試薬キット)

本発明の組成物は、本発明の組成物と他の試薬とを含む、T A R Cの試薬キットの形態で提供することができる。試薬キットとしては、例えば免疫学的手法を用いた試薬キットを挙げることができる。免疫学的手法としては、E L I S A、酵素免疫測定法、表面プラズモン共鳴法、ラテックス凝集免疫測定法（L T I A）、化学発光免疫測定法、電気化学発光免疫測定法、蛍光抗体法、放射免疫測定法、ウエスタンブロット法、イムノクロマトグラフィー法、及び高速液体クロマトグラフィー法（H P L C法）等が挙げられる。

試薬キットは、アトピー性皮膚炎の治療方法又は薬の選択のために、そして治療の効果を判定する際に、アトピー性皮膚炎の重症度を把握するために用いることができる。

試薬キットは、他に使用説明書などを含むこともできる。試薬キットは、任意の構成要素、例えば、安定化剤、p H調整剤、反応容器等を含んでもよい。

[0033] 2. T A R Cを含む試料の希釈液

(T A R Cを含む試料)

本発明の希釈液は、T A R Cを含む試料を希釈するために使用することができる。T A R Cを含む試料としては、T A R Cの測定を行うための試料（血液、血清、又は血漿など）、標準物質、キャリブレーター、コントロール、及び内部標準物質が挙げられる。T A R Cを含まない以外の組成は、前述の「1. T A R Cを含む組成物」と同様である。

[0034] 本発明の希釈液は、希釈後のT A R Cの濃度が、好ましくは10 pg/mL~1 μg/mL、より好ましくは50 pg/mL~500 ng/mL、さらに好ましくは100 pg/mL~100 ng/mL、最も好ましくは1000 pg/mL~50 ng/mLとなるように、使用することができる。

[0035] 3. T A R Cのキャリーオーバー抑制方法

本発明のT A R Cのキャリーオーバー抑制方法は、T A R Cと、成分（B）とを溶液中で接触させることを含む。溶液に成分（B）を添加した後に、T A R Cを添加してもよく、T A R Cを溶液に添加した後に成分（B）を添

加してもよい。溶液は、緩衝液であることが好ましく、PBSであることがより好ましい。

[0036] キャリーオーバーは、サンプルプローブにおいて生じるキャリーオーバーであることができる。本発明の効果が得られる限り、成分(A)であるTARCと成分(B)である本願で見出された化合物とをサンプルプローブにおいて接触させてもよく、成分(A)と成分(B)とを接触させた後、調製されたTARCを含む組成物をサンプルプローブに移してもよい。

[0037] 本発明のTARCのキャリーオーバー抑制方法は、サンプルプローブにおいて、調製されたTARCを含む組成物を保持することを含むことができる。「サンプルプローブにおいて、調製されたTARCを含む組成物を保持する」とは、サンプルプローブの壁面にTARCを含む組成物が接触していればよく、その他の動作、例えば、分注のためのサンプルプローブの移動などを並行して行ってもよい。

サンプルプローブ内におけるTARCの保持時間は、本発明の効果が得られる限りにおいて限定されることはないが、例えば、下限は、0.1秒以上、0.2秒以上、又は0.5秒以上であることができる。上限は、1時間以下、30分以下、15分以下、10分以下、5分以下、1分以下、30秒以下、10秒以下、5秒以下、3秒以下、又は2秒以下であることができる。具体的な保持時間の範囲としては、0.1秒~1時間、0.1秒~30分、0.1秒~15分、0.1秒~10分、0.1秒~1分、0.2秒~30秒、0.2秒~10秒、0.5秒~5秒、又は0.5秒~3秒であることができる。

[0038] 本発明のTARCのキャリーオーバー抑制方法は、任意で、以下の工程の1つ以上をさらに含むことができる。

- (a) TARCを含む第一試料をサンプルプローブで吸引することと、
- (b) サンプルプローブから前記第一試料を排出することと、
- (c) 前記第一試料におけるシグナル強度を測定することと、
- (d) 前記サンプルプローブの壁面をすすぎ液ですすぐことと、

(e) T A R Cを含む第二試料（及びそれ以降の試料）をサンプルプローブで吸引することと、

(f) サンプルプローブから前記第二試料（及びそれ以降の試料）を排出することと、

(g) 前記第二試料以降の試料におけるシグナル強度を測定すること。

[0039] 工程（a）に関して、T A R Cを含む第一試料及びT A R Cを含む第二試料以降の試料は、いずれも成分（B）を含む。第一試料が含む成分（B）と第二試料が含む成分（B）は、同じであることが好ましい。第一試料及び第二試料は、成分（B）を、測定の前に検体希釈液として添加されてもよく、最初から、成分（B）を含んでいてもよい。第一試料及び第二試料は、T A R Cの測定を行うための試料（血液、血清、又は血漿など）、校正用試料（標準物質、キャリブレーター、コントロールなど）のいずれであってもよい。第一試料及び第二試料は、T A R Cの測定を行うための校正用試料（標準物質、キャリブレーター、コントロールなど）であることが好ましい。

[0040] 工程（a）及び（e）における「サンプルプローブで吸引すること」は、分析をする者が手動で第一試料を吸引することと、分析をする者がスイッチを入れることにより、自動分析機が自動で第一試料を吸引することを含む。（a）以外の工程も同様である。自動分析機としては、ラテックス免疫比濁法（L T I A法）、電気化学発光免疫測定法（E C L法）、酵素免疫測定法（E L I S A）、化学発光免疫測定法、及び蛍光抗体法等を行うための自動分析機などを使用できる。

[0041] 工程（a）～（g）において、工程（a）、（b）、（d）、（e）、及び（f）は記載の順序で実施される。（c）及び（g）を行うタイミングは、使用する自動分析装置のプログラムに応じて自由に設定することができる。

[0042] シグナルを発生させる物質は、分析方法の種類に応じて、適宜選択することができる。シグナルを発生させる物質としては、例えば金属錯体、酵素、不溶性粒子、蛍光物質、化学発光物質、ビオチン、アビジン、放射性同位体

、金コロイド粒子、ラテックス粒子又は着色ラテックスが挙げられる。シグナルは、シグナルの強度に基づき検体におけるTARCの濃度が測定できれば限定されることはなく、蛍光、吸光度、又は散乱光強度等を分析方法の種類に応じて適宜選択することができる。

[0043] 工程（b）に関して、第一試料が成分（B）を含まない場合、第一試料の排出後、サンプルプローブの壁面には、TARC抗原が付着している。したがって、第一試料の排出後、洗浄剤などによる洗浄工程がなければ、次に測定する第二試料以降の試料に、TARC抗原のキャリアオーバーが発生する。

[0044] 工程（d）に関して、「サンプルプローブの壁面をすすぐ」とは、ブラシ等でこする、磨くといった作用を利用せずに、すすぎ液が流れる際に発生する摩擦力、せん断応力等により、サンプルプローブの壁面を洗い流すことを意味する。すすぎ液は、実質的に水のみから成る場合が多く、すすぎ液は、洗浄剤を実質的に含まないことがより好ましい。これは、すすぎ液に洗浄剤が含まれる場合、サンプルプローブ内に残った洗浄剤をさらに水ですすぐ必要が生じ、すすぎ工程に要する時間が延長されるためである。すすぎ液が、洗浄剤を含むことを除外するものではないが、すすぎ液における洗浄剤の含有量は、好ましくは0.1質量%以下であり、より好ましくは0.01質量%以下であり、さらに好ましくは0.001質量%以下であり、最も好ましくは洗浄剤を含まない。

洗浄剤とは、化学的作用に基づきタンパク質をサンプルプローブの壁面から遊離させる能力を有する物質を意味する。洗浄剤には、具体的には、酸、アルカリ、界面活性剤及び酵素などが含まれる。

[0045] 工程（e）に関して、TARCを含む第一試料におけるTARCの濃度は、前記TARCを含む第二試料以降の試料におけるTARCの濃度よりも高いことが好ましい。TARCを含む第一試料におけるTARCの濃度は、前記TARCを含む第二試料におけるTARCの濃度よりも高い場合に、TARC抗原のキャリアオーバーの影響により、第二試料以降の試料におけるシ

グナル強度が、本来得られるシグナル強度と比較して高くなり、正確な定量値が得られなくなる可能性がある。

[0046] 第一試料におけるTARCの濃度は、サンプルプローブから排出される直前において、例えば、500 pg/mL以上、1,000 pg/mL以上、5,000 pg/mL以上、10,000 pg/mL以上、15,000 pg/mL以上、又は20,000 pg/mL以上である。

第二試料におけるTARCの濃度は、サンプルプローブから排出される直前において、第一試料よりTARCの濃度が低ければよく、例えば、0 pg/mL~10,000 pg/mL、0 pg/mL~5,000 pg/mL、0 pg/mL~1000 pg/mL、0 pg/mL~700 pg/mL、0 pg/mL~600 pg/mL、0 pg/mL~500 pg/mL、0 pg/mL~300 pg/mL、又は0 pg/mL~100 pg/mLである。上記濃度は、検体希釈液が添加されている場合は、希釈後の濃度である。

[0047] 工程(g)に関して、第一試料が、成分(B)を含むことにより、第二試料以降の試料におけるTARC抗原のキャリアオーバーの影響を防止することができる。したがって、TARCの濃度を精度よく測定することができる。

[0048] 本発明のTARC抗原のキャリアオーバー抑制方法は、任意で、以下の工程の1つ以上をさらに含むことができる。

- ・ 第一試料及び第二試料以降の試料のシグナル強度に基づき、第一試料及び第二試料以降の試料中のそれぞれのTARCの濃度を算出すること
- ・ 第一試料及び第二試料を含む試料のシグナル強度に基づき、検量線を作成すること
- ・ 試料の分析開始時及び／又は試料の分析終了時に、サンプルプローブを洗浄剤を含む洗浄液で洗浄すること

なお、「試料の分析終了時」とは分析すべき全ての試料の分析を終了した時を意味する。

[0049] 4. TARC抗原の吸着防止剤

本発明のT A R C抗原の吸着防止剤は、正又は負電荷を示す化合物を有効成分として含有する。本発明のT A R C抗原の吸着防止剤の実施形態は、前述の実施形態と同様である。

[0050] 5. T A R Cを含む2以上の試料の連続的分析方法

本明細書において「2以上の試料の連続的分析」とは、全自動分析装置により、2以上の試料を連続的に分析することを意味する。

本発明のT A R C抗原を含む2以上の試料の連続的分析方法では、各試料を分析する間に洗浄剤等による洗浄工程を含まずに2以上の試料を分析することが好ましい。すなわち、本発明のT A R C抗原を含む2以上の試料の連続的分析方法では、各試料を分析する間にサンプルプローブの壁面を水ですすぎ、分析の開始時及び終了時に洗浄剤等による洗浄工程を含むことが好ましい。なお、2以上の試料の連続的分析方法において、各試料を分析する間にサンプルプローブの壁面を洗浄剤で洗浄する機構について、除外するものではない。

[0051] 本発明のT A R C抗原を含む2以上の試料の連続的分析方法は、必要に応じて、成分(A)のT A R Cと、成分(B)とを溶液中で接触させることを含むことができる。前記工程は、例えば、T A R Cを含む第一試料及び／又は第二試料以降の試料を、成分(B)を含む検体希釈液で希釈する工程であることができる。

[0052] 次に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。なお、本明細書において特に説明のない限り、%は質量%を示す。BR>Bなお、実施例で使用した添加剤の製品名、成分名及び販売元は以下のとおりである。

[0053] ・L i p i d u r e (登録商標) シリーズ、日油株式会社製

・アセタミン (登録商標) 24 成分名：ココナットアミンアセテート、花王株式会社製

・デモール (登録商標) R N - L 成分名：β-ナフタレンスルホン酸ホルマリン縮合物ナトリウム塩、花王株式会社製

・エナジコール（登録商標）L30-AN 成分名：ラウロイルメチルーβ
アラニンナトリウム、ライオン株式会社製

・BlockMaster（登録商標）CEシリーズ MBLライフサイエ
ンス株式会社製

その他汎用の試薬は、適宜試薬メーカーより購入して使用した。

実施例

[0054] 1. 測定方法

1-1. 測定試薬

以下に示す、第1試薬及び第2試薬からなる、TARC測定用のLTIA
測定試薬を調製した。

(1) 第1試薬

100mM MOPS-NaOH (pH7.5)

500mM NaCl

0.5% BSA

(2) 第2試薬

抗ヒトTARCモノクローナル抗体感作ラテックス（2種類）

5mM MOPS-NaOH (pH7.0)

なお、抗ヒトTARCモノクローナル抗体は、市販のTARC抗原を使用
し、当業者周知の方法にて取得した。市販のTARC抗原には、CCL17
, t h y m u s a n d a c t i v a t i o n r e g u l a t e d c
h e m o k i n e (Shenandoah Biotechnology, Inc.)、CCL17/TA
RC, H u m a n (LifeSpan Bioscience, Inc.)、H u m a n T A R C (
CCL17) (Abeomics, Inc.)があった。さらに、TARC抗原に対して
サンドイッチ測定が可能であるモノクローナル抗体の組み合わせを、当業者
周知の方法にて選定した。抗ヒトTARCモノクローナル抗体感作ラテック
スは、特開2017-181377記載の方法を参考にして調製した。

[0055] 1-2. 試料

TARC抗原を以下の組成の希釈液に溶解し、低濃度試料（サンプルA、

800 pg/mLレベル)、高濃度試料(サンプルB、20,000 pg/mLレベル)を調製した。また、別途生理食塩液を用意した。

[0056] 希釈液

- ・PBS (pH 7.2)
- ・0.5% Lipidure (但し、表5に記載の成分とは異なる)
- ・添加剤(濃度及び成分名は表2~6参照)

[0057] 1-3. 測定手順

第1試薬と第2試薬を組み合わせ、日立自動分析装置3500(サンプルプローブはステンレス製)を用いて、試料中のTARC濃度を測定した。具体的には、試料2.4 µLに第1試薬120 µLを加えて37°Cで5分間保温した後、第2試薬40 µLを加えて攪拌した。凝集形成に伴う吸光度変化を、その後5分間にわたり、主波長570 nm及び副波長800 nmで測定した。その吸光度変化量から測定感度を算出した。

[0058] 1-4. 解析方法

各添加剤を使用した希釈液それぞれにおいて、生理食塩液を2回、サンプルAを5回(=1セット目)、サンプルBを2回、サンプルAを5回(=2セット目)、計12回を、サンプルプローブを洗剤による洗浄操作を行わず、水ですすいだ後にサンプリングを行い連続測定を実施した。各測定における測定感度から、生理食塩液の2測定の平均測定感度を引いた。1セット目の5測定の平均測定感度を算出し、2セット目の各測定感度の、1セット目の平均測定感度に対する相対比(%)を算出した。なお、一回の測定当たりのサンプルプローブにおける保持時間は、1~2秒程度であった。

[0059] 2. 結果

まずキャリブレーター希釈液に成分(B)を添加しなかった場合の結果を表1に示した。サンプルA(800 pg/mLレベル)の1セット目5測定の測定感度は、20.9~22.1 mAbsであり、平均測定感度は21.4 mAbsであった。その後サンプルB(20,000 pg/mLレベル)を2回測定した後、再びサンプルAを5回測定した(2セット目)。2セッ

ト目1回目の測定感度は、38.3 mAbsとなり、1セット目平均測定感度と比較して大きく高値化し、相対比は178.5%と不良であった。これは、サンプルBに含まれるTARC抗原がサンプルプローブへ吸着し、2セット目の測定へ持ち込まれるキャリアオーバーが生じたことが原因と考えられた。2セット目2回目、3回目と測定を重ねるごとに測定感度は低下したが、5回目であっても相対比は120.2(%)であり、キャリアオーバーの影響が認められた。

[0060] [表1]

		比較例 1		
		測定感度 (mAbs)	平均測定感度 (mAbs)	相対比(%)
1set サンプルA 低濃度試料 (n=5)	1回目	20.9	21.4	—
	2回目	21.1		—
	3回目	21.7		—
	4回目	21.4		—
	5回目	22.1		—
サンプルB 高濃度試料 (n=2)	1回目	275.7	—	—
	2回目	276.5		—
2set サンプルA 低濃度試料 (n=5)	1回目	38.3	—	178.5
	2回目	32.4		151.4
	3回目	30.3		141.2
	4回目	29.0		135.1
	5回目	25.8		120.2

[0061] 次に、各種成分を表中に示した終濃度となるように希釈液に添加した場合の結果を、表2～表6に示した。表には、1セット目5測定の平均測定感度に対する、2セット目各測定感度の相対比を抜粋して示した。

[0062]

[表2]

酸性アミノ酸添加結果

		相対比(%)					判定
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	
比較例 1	未添加 (対照)	178.5	151.4	141.2	135.1	120.2	—
実施例 1	+1.0% グルタミン酸	102.6	103.2	101.9	96.8	100.7	A
実施例 2	+0.5% グルタミン酸	108.1	99.2	101.5	99.0	98.8	A
実施例 3	+0.5% アスパラギン酸	104.2	97.8	101.4	99.6	101.6	A

[0063] [表3]

塩基性アミノ酸、中性アミノ酸添加結果

		相対比(%)					判定
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	
比較例 1	未添加 (対照)	178.5	151.4	141.2	135.1	120.2	—
実施例 4	+5.0% アルギニン	132.2	110.0	100.7	103.8	105.5	B
実施例 5	+10% アルギニン	117.9	99.5	96.5	98.6	88.5	B
実施例 6	+5.0% リシン	140.4	104.7	97.7	100.6	98.1	B
実施例 7	+10% リシン	126.0	98.2	103.3	98.0	102.5	B
比較例 2	+1.0% ヒスチジン	218.7	176.4	162.1	149.8	144.0	D
比較例 3	+1.0% グリシン	179.7	159.6	146.6	140.8	133.4	D
比較例 4	+5.0% グリシン	182.7	161.7	131.3	138.5	131.8	D
比較例 5	+10% グリシン	176.1	153.1	146.5	133.8	130.0	D
比較例 6	+1.0% メチオニン	125.4	118.8	116.1	113.9	106.5	C
比較例 7	+10% プロリン	129.3	120.5	118.6	116.7	113.1	C
比較例 8	+1.0% プロリン	123.2	115.7	114.0	111.4	111.4	C
比較例 9	+1.0% スレオニン	126.1	115.8	118.2	111.9	110.7	C
比較例 10	+1.0% フェニルアラニン	129.6	118.5	119.6	119.0	114.6	C
比較例 11	+1.0% アスパラギン ・ 1水和物	123.3	116.4	116.2	110.9	115.0	C
比較例 12	+1.0% グルタミン	124.3	120.7	117.9	115.0	111.4	C

[0064] まず、表2及び表3について説明する。表2は酸性アミノ酸を添加した結果であり、表3は塩基性アミノ酸又は中性アミノ酸を添加した結果である。

「判定」欄は、「A」は2セット目1回目の相対比が90～110%以内であり大変良好な結果であったこと、「B」は2セット目1回目の相対比は90～110%を逸脱したが、2回目の相対比は90～110%以内であり良好な結果であったこと、「C」は2セット目1, 2回目の相対比は90～110%を逸脱したが、3回目で80～120%となり、未添加と比較すると

効果はあるものの不十分であったこと、「D」は効果が認められなかったことを示す。

[0065] 表2より、酸性アミノ酸であるグルタミン酸を0.5%~1.0%添加した場合（実施例1、2）、2セット目1回目の測定感度の、1セット目5測定の平均測定感度に対する相対比は102.6~108.1%となり、サンプルBのキャリアオーバーを抑制することができた。酸性アミノ酸であるアスパラギン酸を0.5%添加した場合も、2セット目1回目の測定感度の、1セット目5測定の平均測定感度に対する相対比は104.2%であり、グルタミン酸と同様にキャリアオーバーを抑制することができた（実施例3）。

[0066] さらに表3に示す通り、塩基性アミノ酸であるアルギニンを高濃度（5.0%、10%）で添加した場合、キャリアオーバーが抑制される傾向が認められた（実施例4、5）。塩基性アミノ酸であるリシンも、アルギニンと同様に、高濃度で添加した場合キャリアオーバーが抑制される傾向が認められた（実施例6、7）。一方で、中性アミノ酸を添加した場合は、酸性アミノ酸のようなキャリアオーバーの抑制効果は認められなかった（比較例2~12）。

[0067] 以上より、酸性アミノ酸を希釈液に添加した場合、0.5%~1.0%程度の低濃度であってもTARC抗原がサンプルプローブに吸着して生じるキャリアオーバーを抑制できることが分かった。したがって、酸性アミノ酸を添加した場合、TARC抗原の濃度が高濃度であるサンプルを測定した直後に、TARC抗原の濃度が低濃度であるサンプルを測定しても、TARC抗原の濃度が低濃度であるサンプルを高精度に測定可能であると考えられた。

同様に、塩基性アミノ酸を5.0%~10%と高濃度で希釈液に添加した場合でも、TARC抗原がサンプルプローブに吸着して生じるキャリアオーバーの抑制効果があることが分かった。

[0068]

[表4]

酸性ポリマー、界面活性剤添加結果

(なお、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸の名称に付属する数値は、各化合物の重量平均分子量を示す)

		相対比(%)					判定
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	
比較例 1 3	未添加 (対照)	125.7	117.5	121.2	115.4	114.2	—
実施例 8	+0.01% ポリスチレンスルホン酸 ナトリウム-70000	101.6	100.2	100.4	96.2	101.9	A
実施例 9	+0.01% ポリスチレンスルホン酸 ナトリウム-200000	100.5	101.8	97.0	96.1	98.5	A
実施例 1 0	+0.01% ポリスチレンスルホン酸 ナトリウム-1000000	99.1	99.1	95.5	89.4	97.8	A
実施例 1 1	+0.01% デモールRN	104.9	99.2	103.5	101.8	103.7	A
実施例 1 2	+0.01% ポリアクリル酸 ナトリウム 22000-70000	113.9	108.2	103.9	103.3	107.0	B
実施例 1 3	+0.1% ポリアクリル酸 5000	109.9	101.9	100.5	92.7	98.6	A
実施例 1 4	+0.01% ポリアクリル酸 250000	117.1	105.8	105.8	102.9	104.5	B
実施例 1 5	+0.01% ポリアクリル酸 1000000	115.6	111.6	109.9	108.2	108.0	C
比較例 1 4	+0.01% コール酸ナトリウム	123.9	117.7	117.7	112.6	115.0	D
比較例 1 5	+0.01% SDS	121.7	113.2	114.0	109.9	110.6	D
比較例 1 6	+0.01% エナジーコールL-30AN	123.1	116.6	118.5	114.0	110.0	D

[0069] 次に、高分子化合物及び界面活性剤を添加した結果について説明する（表4）。「判定」欄は、「A」は2セット目1回目の相対比が90～110%以内であり大変良好な結果であったこと、「B」は2セット目1回目の相対比は90～110%を逸脱したが、2回目の相対比は90～110%以内であり良好な結果であったこと、「C」は2セット目1, 2回目の相対比は90～110%を逸脱したが、3回目で90～110%以内であり、一定の効果があったこと、「D」は効果が認められなかったことを示す。

まずスルホ基を有するモノマーが重合した高分子化合物である、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム（実施例8：Mw7万、実施例9：Mw20万、実施例10：Mw100万）、及びデモールRN（実施例11）を用いた場合、2セット目1回目の測定感度の、1セット目5測定の平均測定感度に対する相対比は、99.1～104.9%となり、サンプルBのキャリーオーバーを抑制することができた。カルボキシル基を有するモノマーが重合した高分子化合物である、ポリアクリル酸ナトリウム（実施例12、分子量22,

000~70,000)、及びポリアクリル酸(実施例13~15、分子量5,000~100万)も、一定の効果を認めた。分子量や濃度、溶液条件の至適化により、さらに良い結果が得られると思われた。一方で、コール酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)、及びエナジコールL-30ANは、キャリアオーバー抑制効果を示さなかった(比較例14~16)。

[0070] 以上より、酸性ポリマーである、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム(分子量70,000~1,000,000)、ナフタレンスルホン酸縮合物(デモールRN)、ポリアクリル酸ナトリウム(分子量22,000~70,000)、及びポリアクリル酸(分子量5,000~1,000,000)を希釈液に添加した場合にも、TARC抗原がサンプルプローブに吸着して生じるキャリアオーバーを抑制できることが分かった。したがって、酸性ポリマーを希釈液に添加した場合、TARC抗原の濃度が高濃度であるサンプルを測定した直後に、TARC抗原の濃度が低濃度であるサンプルを測定しても、TARC抗原の濃度が低濃度であるサンプルを高精度に測定可能であると考えられた。

[0071] なお、デモールRNは界面活性作用も有するが、分子中にスルホン酸を有することから、本明細書では酸性ポリマーとして扱っている。

[0072] [表5]

分子内に正電荷を有する化合物の添加結果

		相対比(%)					判定
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	
比較例1	未添加(対照)	178.5	151.4	141.2	135.1	120.2	—
比較例17	+0.01% アセタミン24P	149.2	150.7	146.4	138.0	129.1	D
比較例18	+0.05% アセタミン24P	192.5	165.1	148.4	143.9	134.9	D
比較例19	+0.01% コータミン24P	170.3	145.2	139.1	136.9	118.6	D
比較例20	+0.05% コータミン24P	169.2	155.1	143.8	139.2	131.3	D
比較例21	+0.05% Lipidure-BL502	174.1	155.9	149.0	144.4	140.6	D
比較例22	+0.1% Lipidure-BL502	170.7	151.0	145.6	138.0	139.7	D
比較例23	+0.2% Lipidure-BL502	159.8	145.8	136.2	133.2	126.3	D
比較例24	+0.1% Lipidure-NH01	152.1	153.6	143.4	134.6	134.4	D
比較例25	+10倍希釈BlockmasterCE210	183.6	153.2	140.5	139.8	134.6	D
比較例26	+10倍希釈BlockmasterCE510	167.9	153.2	120.0	137.1	126.6	D

[0073] 表5に、分子内にアミノ基又は4級アンモニウム塩等の正電荷を有する化合物の検討結果を示した。評価基準は、表2、表3と同一であるが、いずれも、未添加（比較例1）に対して、添加した効果は認められなかった。

[0074] [表6]

酸性ポリマーの添加濃度検討

（なお、化合物名称に付随する数値は、各化合物の重量平均分子量を示す）

番号	添加剤	添加濃度	相対比 (%)					判定
			1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	
比較例1	未添加	-	155.5	138.1	125.3	119.6	111.8	-
実施例16	ポリスチレンスルホン酸ナトリウム-70,000	0.002%	100.8	100.6	103.6	101.6	99.8	A
実施例17		0.005%	100.6	104.1	105.9	99.4	99.0	A
実施例18		0.010%	106.4	98.6	95.8	94.8	99.0	A
実施例19		0.020%	102.4	103.0	102.0	96.7	96.9	A
実施例20		0.050%	97.2	98.5	97.9	98.3	93.8	A
実施例21	ポリスチレンスルホン酸ナトリウム-200,000	0.002%	93.8	100.7	88.2	99.0	93.8	A
実施例22		0.005%	100.7	99.4	100.5	99.2	100.7	A
実施例23		0.010%	99.0	101.6	98.0	103.5	88.8	A
実施例24		0.020%	104.7	96.1	104.3	99.8	102.1	A
実施例25		0.050%	97.8	100.9	104.0	101.4	102.7	A
実施例26	ポリスチレンスルホン酸ナトリウム-1,000,000	0.002%	103.0	101.0	103.0	104.0	98.4	A
実施例27		0.005%	102.3	100.0	97.5	96.7	100.0	A
実施例28		0.010%	96.6	94.9	96.2	96.8	98.4	A
実施例29		0.020%	102.8	101.3	103.7	97.7	95.8	A
実施例30		0.050%	101.0	98.1	99.0	95.6	99.2	A

[0075] 次に、酸性ポリマーであるポリスチレンスルホン酸ナトリウムの添加濃度を変動した結果について説明する（表6）。「判定」欄は、「A」は2セット目1回目の相対比が90～110%以内であり大変良好な結果であったことを示す。

ポリスチレンスルホン酸ナトリウムの添加濃度を0.002%から0.050%まで変動した場合（実施例16～20：Mw7万、実施例21～25：Mw20万、実施例26～30：Mw100万）、2セット目1回目の測定感度の、1セット目5測定の平均測定感度に対する相対比は、93.8～106.4%となり、ポリスチレンスルホン酸ナトリウムの添加濃度0.002%から0.050%までサンプルBのキャリアオーバーを抑制することができた。

産業上の利用可能性

[0076] 本発明によれば、TARC抗原のキャリアオーバーが生じにくい校正用試

料および検体の希釈液を提供することができる。

請求の範囲

- [請求項1] T A R C (T h y m u s a n d a c t i v a t i o n - r e g u l a t e d c h e m o k i n e) を含む組成物であって、
(A) T A R C、並びに
(B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分
を含み、そして、液状である、前記組成物。
- [請求項2] T A R C を測定するための校正用試料溶液である、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] (C) 緩衝液
をさらに含む、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項4] 酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、請求項1~3のいずれかに記載の組成物。
- [請求項5] 前記成分(B)の濃度が、組成物に対して、0.0001~20質量%である、請求項1~4のいずれかに記載の組成物。
- [請求項6] (B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分
を含む、T A R C を含む試料の希釈液。
- [請求項7] 酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、請求項6に記載の希釈液。
- [請求項8] (C) 緩衝液
をさらに含む、請求項6又は7に記載の組成物。
- [請求項9] 前記成分(B)の濃度が、希釈液に対して、0.0001~20質量%である、請求項6~8のいずれかに記載の希釈液。

- [請求項10] (A) T A R Cと、
(B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4, 000~1, 200, 000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分と
を溶液中で接触させることを含む、T A R Cのキャリアオーバー抑制方法。
- [請求項11] 酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、請求項10に記載のT A R Cのキャリアオーバー抑制方法。
- [請求項12] 前記溶液が緩衝液である、請求項10又は11に記載のT A R Cのキャリアオーバー抑制方法。
- [請求項13] キャリアオーバーが、サンプルプローブにおけるキャリアオーバーである、請求項10~12のいずれかに記載のT A R Cのキャリアオーバー抑制方法。
- [請求項14] 前記成分(B)の濃度が、溶液に対して、0.0001~20質量%である、請求項10~13のいずれかに記載のT A R Cのキャリアオーバー抑制方法。
- [請求項15] T A R Cを含む溶液中のT A R Cのサンプルプローブへの吸着防止剤であって、
(B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4, 000~1, 200, 000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分
を含む前記吸着防止剤。
- [請求項16] 酸性ポリマー及びその塩が、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム、ナフタレンスルホン酸縮合物、ポリアクリル酸ナトリウム、又はポリアクリル酸である、請求項15に記載の吸着防止剤。
- [請求項17] T A R Cを含む2以上の試料の連続的分析方法であって、

- (a) T A R Cを含む第一試料をサンプルプローブで吸引することと
- (b) サンプルプローブから前記第一試料を排出することと
- (c) 前記第一試料におけるシグナル強度を測定することと
- (d) 前記サンプルプローブの壁面をすすぎ液ですすぐことと
- (e) T A R Cを含む第二試料をサンプルプローブで吸引することと
- (f) 前記第二試料におけるシグナル強度を測定することと

を含み、

前記第一試料及び第二試料は、(B) 酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、平均分子量4,000~1,200,000の酸性ポリマー、及びそれらの塩から成る群から選択される1つ以上の成分を、第一試料及び第二試料に対して、それぞれ0.0001質量%~20質量%含み、そして、

前記T A R Cを含む第一試料におけるT A R Cの濃度が、前記T A R Cを含む第二試料におけるT A R Cの濃度よりも高い、前記連続的分析方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/027642

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 33/531</i> (2006.01)i; <i>G01N 33/68</i> (2006.01)i; <i>G01N 33/96</i> (2006.01)i FI: G01N33/68; G01N33/96; G01N33/531 Z		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N33/68; G01N33/531; G01N33/96		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022 Registered utility model specifications of Japan 1996-2022 Published registered utility model applications of Japan 1994-2022		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2009-115813 A (TOKIWA YAKUHHIN KOGYO KK) 26 May 2009 (2009-05-26) claim 1	1-17
A	HISCL TARC 試薬, 添付文書, シスメックス株式会社, October 2019, (SYSMEX CORP.), non-official translation (Hiscl Tarc Reagent, Package Insert.) entire text	1-17
A	JP 2018-163149 A (SANYO CHEM. IND., LTD.) 18 October 2018 (2018-10-18) paragraph [0017]	1-17
A	JP 2000-206117 A (WAKAMOTO PHARMACEUT. CO., LTD.) 28 July 2000 (2000-07-28) claims 1, 3	1-17
A	JP 2021-32635 A (TOSOH CORP.) 01 March 2021 (2021-03-01) claim 1, paragraph [0013]	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 31 August 2022		Date of mailing of the international search report 13 September 2022
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/027642

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2009-115813 A	26 May 2009	(Family: none)	
JP 2018-163149 A	18 October 2018	(Family: none)	
JP 2000-206117 A	28 July 2000	(Family: none)	
JP 2021-32635 A	01 March 2021	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） G01N 33/531(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i; G01N 33/96(2006.01)i FI: G01N33/68; G01N33/96; G01N33/531 Z		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） G01N33/68; G01N33/531; G01N33/96 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2022年 日本国実用新案登録公報 1996-2022年 日本国登録実用新案公報 1994-2022年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2009-115813 A（常盤薬品工業株式会社）26.05.2009（2009-05-26） 請求項1	1-17
A	HISCL TARC試薬，添付文書，シスメックス株式会社，2019.10 全文	1-17
A	JP 2018-163149 A（三洋化成工業株式会社）18.10.2018（2018-10-18） 段落[0017]	1-17
A	JP 2000-206117 A（わかもと製薬株式会社）28.07.2000（2000-07-28） 請求項1、3	1-17
A	JP 2021-32635 A（東ソー株式会社）01.03.2021（2021-03-01） 請求項1、段落[0013]	1-17
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	31.08.2022	国際調査報告の発送日 13.09.2022
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 海野 佳子 2J 3906 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	

国際調査報告
特許ファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2022/027642

引用文献	公表日	特許ファミリー文献	公表日
JP 2009-115813 A	26.05.2009	(ファミリーなし)	
JP 2018-163149 A	18.10.2018	(ファミリーなし)	
JP 2000-206117 A	28.07.2000	(ファミリーなし)	
JP 2021-32635 A	01.03.2021	(ファミリーなし)	