

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年 3 月 21 日 (21.03.2002)

PCT

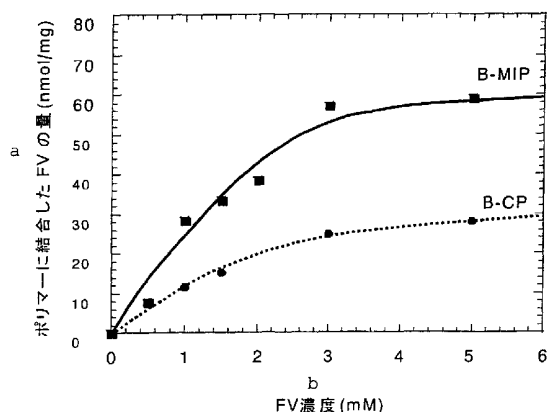
(10) 国際公開番号
WO 02/22698 A1

- (51) 国際特許分類: C08F 26/06, (74) 代理人: 田中玲子(TANAKA, Reiko); 〒100-6036 東京都千代田区霞が関3丁目2番5号 霞が関ビル36階 大野総合法律事務所 Tokyo (JP).
30/06, 220/34, G01N 27/30
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/07835
- (22) 国際出願日: 2001 年 9 月 10 日 (10.09.2001)
- (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2000-318618 2000 年 9 月 12 日 (12.09.2000) JP
- (71) 出願人 および
- (72) 発明者: 早出広司 (SODE, Koji) [JP/JP]; 〒152-0013 東京都目黒区南1丁目13番16号 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: ENZYME-MIMICKING POLYMERS

(54) 発明の名称: 酵素模倣ポリマー



a...AMOUNT OF FV BINDING TO POLYMER (nmol/mg)
b...FV CONCENTRATION (mM)

(57) Abstract: Synthetic polymers having a novel catalytic function mimicking an enzyme reaction; a method of assaying a glycoprotein (in particular, glycohemoglobin (HbA1c), glycoalbumin and fuctosylamines such as fructosylvaline which are digestion products thereof) by using the above polymers; and an assay reagent and a sensor constructed based on this method.

(57) 要約:

本発明は酵素反応を模倣した新しい触媒機能を有する合成ポリマーを提供する。さらに、本発明は、そのようなポリマーを用いた糖化蛋白質の測定方法、特に糖化ヘモグロビン (HbA1c)、糖化アルブミンやその分解産物であるフルクトシルバリンをはじめとするフルクトシルアミンの測定方法ならびにその方法に基づき構築される測定用試薬ならびにセンサーを提供する。



規則 4.17 に規定する申立て:

- すべての指定国のための不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て (規則 4.17(v))

- 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て

添付公開書類:

- 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

酵素模倣ポリマー

技術分野

- 5 本発明は酵素反応を模倣した新しい触媒機能を有する合成ポリマーとそれを用いた新規な糖化蛋白質の測定方法に関する。より詳細には本発明は触媒機能を有するモノマーおよび分子認識機能を有するモノマーを分析対象としている分子を鋳型として存在させた状態で重合して得られるポリマーに関する。さらに臨床検査などの分野で糖尿診断のマーカなどで利用されている糖化ヘモグロビン (HbA1c)、糖化アルブミンやその分解
- 10 産物であるフルクトシルバリンをはじめとするフルクトシルアミンの測定方法ならびにその方法に基づき構築される測定用試薬ならびにセンサーに関する。

背景技術

- 蛋白質主鎖および側鎖のアミノ基はグルコースなどの還元糖の還元末端と非酵素的に結合して、アマドリ化合物すなわち糖化蛋白質を生ずる。血中においては、ヘモグロビン
- 15 ンが糖化されて糖化ヘモグロビン (グリコヘモグロビン; HbA1c) を生ずることが知られている。糖尿病患者では健常人に比べてヘモグロビンに対するHbA1cの存在比率が高いこと、およびHbA1cの血中濃度は過去数週間の血糖値を反映することから、HbA1c血中濃度は糖尿病の診断および糖尿病患者の血糖コントロールの指標として、臨床試験において極めて重要である。
- 20 これまでに、種々の菌株からアマドリ化合物に対して作用する酵素、フルクトシルアミン酸化酵素が単離されており、これらの酵素を用いて糖化アルブミン、HbA1cおよびフルクトシルアミン等の糖化蛋白質を分析しうることが示唆されている (特開昭61-268178、特開昭61-280297、特開平3-155780、特開平5-192193、特開平7-289253、特開平8-154672、Agric. Biol.
- 25 Chem., 53(1), 103-110, 1989、Agric. Biol. Chem., 55(2), 333-338, 1991、J. Biol. Chem., 269(44), 27297-27302, 1994、Appl. Environ. Microbiol., 61(12), 4487-4489, 1995、Biosci. Biotech. Biochem., 59(3), 487-491, 1995、J. Biol. Chem., 270(1), 218-224, 1995、J. Biol. Chem., 271(51), 32803-32809, 1996、J. Biol. Chem., 272(6), 3437-3443, 1997、Electrochemistry, 68(11), 869-871, 2000、
- 30 Marine Biotechnology, 3, 126-132, 2001/09/05)。

しかし、これまでに報告されているフルクトシルアミン酸化酵素は蛋白質であること

から安定性の改良が望まれていた。

- 本発明はアマドリ化合物を認識し、これを酸化するための触媒機能を有するポリマーならびに新規な糖化蛋白質の測定方法を提供することを目的とする。より詳細には本発明は臨床検査などの分野で利用され、糖化ヘモグロビン（HbA1c）、糖化アルブミンや
- 5 その分解産物であるフルクトシルバリンをはじめとするフルクトシルアミンの測定方法ならびにその方法に基づき構築される測定用試薬ならびにセンサーを提供することを目的とする。

発明の開示

- 本発明は糖化蛋白質およびその分解産物を基質として酸化する合成高分子触媒を鋭意
- 10 検討した結果、フルクトシルアミン化合物と結合し、さらに該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒するポリマーを開発することに成功した。すなわち、イミダゾールおよびボロン酸を含むポリマーを合成したところ該触媒活性を有することを見出し、さらに同ポリマーを用いてフルクトシルアミンを反応させる方法を見出した。

- すなわち、本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒するポリマーならび
- 15 にこれを用いるフルクトシルアミンならびにその関連化合物の測定方法を提供する。別の観点からは、フルクトシルアミンをイミダゾールとボロン酸を含むポリマーと作用させた結果還元される電子受容体（メディエータ）を測定することの特徴とするフルクトシルアミンの測定方法を提供する。特に、本測定をメディエータの存在下で反応を行い、かつ反応溶液の pH が 6 ～ 10 であることを特徴とするフルクトシルアミンの測定方法を
- 20 提供する。

すなわち本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒するポリマーを提供する。またそのようなポリマーにおいて、イミダゾール基あるいはボロン酸基、あるいはイミダゾール基およびボロン酸基を同時に有するポリマーを提供する。

- 本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒する、ビニルボロン酸を重合し
- 25 て得られるポリマーを提供する。

さらに本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒するビニルイミダゾールを含む化合物を用いて合成して得られるポリマーを提供する。

また本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒するビニルイミダゾールとビニルボロン酸の共重合体であることを特徴とするポリマーを提供する。

- 30 本発明はまたフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒する 1-ビニルイミダゾールを用いて合成したポリマーを提供する。

本発明はまたフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒する 4-ビニルフェニルボロン酸を用いて合成したポリマーを提供する。

さらに本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒する架橋試薬を用いて合成されたポリマーを提供する。

- 5 また本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒する架橋試薬がエチレングリコールジメタクリレート (ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA) であることを特徴とするポリマーを提供する。

本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒する鑄型分子を重合時に添加し合成されることを特徴するポリマーを提供する。

- 10 本発明はまた、フルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒する、重合後、鑄型分子が取り除かれて調製されることを特徴とするポリマーを提供する。

本発明はまた上記のポリマーにおいて鑄型分子がフルクトシルアミンであることを特徴とするポリマーを提供する。

- 15 さらに本発明では上記のポリマーにおいてフルクトシルアミンがフルクトシルバリンであることを特徴とするポリマーを提供する。

本発明はまた上記ポリマーにおいて鑄型分子がメチルアミン化合物であることを特徴とするポリマーを提供する。

さらに本発明では上記ポリマーにおいてメチルアミン化合物がメチルバリンであることを特徴とするポリマーを提供する。

- 20 本発明はフルクトシルアミンと結合しその酸化を触媒するポリマーを含むフルクトシルアミン測定キットを提供する。また本発明は上記記載の方法においてフルクトシルアミンが反応した結果生成される還元型のメディエータを電気化学的手法により計測することを特徴とするフルクトシルアミンの測定方法を提供する。

- 25 さらに本発明は上記記載の方法を実施するためのフルクトシルアミンセンサーを提供する。

本発明はまた、フルクトシルアミンセンサーにおいて電極としてカーボンペーストを用いることを特色としたフルクトシルアミンセンサーを提供する。

- 30 さらに本発明は上記記載の方法を実施するための糖化ヘモグロビン測定キットを提供する。また本発明は上記記載の方法を実施するための糖化ヘモグロビンセンサーを提供する。さらに本発明は糖化アルブミンの測定方法を提供する。すなわち、試料中の糖化アルブミンあるいは糖化アルブミンを分解して生成させたフルクトシルアミンを上記記

載の方法で定量することを含む方法を提供する。

さらに本発明は上記記載の方法を実施するための糖化アルブミン測定キットを提供する。また、本発明は上記記載の方法を実施するための糖化アルブミンセンサーを提供する。

- 5 さらに本発明は、フルクトシルアミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒する合成ポリマーを製造する方法を提供する。該方法は、ビニルボロン酸を重合させることを特徴とする。好ましくは、ビニルイミダゾールとビニルボロン酸とを共重合させ、より好ましくは、ビニルイミダゾールと4-ビニルフェニルボロン酸とを共重合させる。重合すべきモノマー混合物は、さらに架橋試薬、鑄型分子または塩基性モノマーを含んでいてもよい。

図面の簡単な説明

図1は、実施例1で合成されたポリマーのフルクトシルバリリンに対する結合能力を評価した図である。B-M I Pは鑄型分子の存在下で作成したボロン酸重合体を、B-C Pは鑄型分子の非存在下で作成したボロン酸重合体をそれぞれ示す。

- 15 図2は、実施例1および実施例3で合成されたポリマーのフルクトシルバリリンに対する結合能力を評価した図である。B I-M I Pは鑄型分子の存在下で作成したビニルイミダゾール-ボロン酸共重合体を、B I-C Pは鑄型分子の非存在下で作成したビニルイミダゾール-ボロン酸共重合体を、B-M I Pは鑄型分子の存在下で作成したボロン酸重合体を、B-C Pは鑄型分子の非存在下で作成したボロン酸重合体を、それぞれ示す。

20 図3は、本発明のセンサーシステムの図である。

- 図4は、実施例5で作成したセンサーを用いてフルクトシルバリリンの濃度を電気化学的に測定した結果である。B I-M I Pは鑄型分子の存在下で作成したビニルイミダゾール-ボロン酸共重合体を用いた電極、B I-C Pは鑄型分子の非存在下で作成したビニルイミダゾール-ボロン酸共重合体を用いた電極、B-M I Pは鑄型分子の存在下で作成したボロン酸重合体を用いた電極、C Pは対照であるカーボンペースト電極の応答をそれぞれ示す。

- 図5は、フルクトシルバリリンを鑄型として作成したポリマーの、 ϵ -フルクトシルリジンと比較したフルクトシルバリリンに対する選択性を示す図である。F r u-L y sは ϵ -フルクトシルリジンを、F r u-V a lはフルクトシルバリリンを、M I Pはフルクトシルバリリンを鑄型として作成したポリマーを、C Pは鑄型を用いずに作成した対照ポ

リマーをそれぞれ示す。

図6は、フルクトシルバリンを鋳型として作成したポリマーの、種々のフルクトシルアミンと比較したフルクトシルバリンに対する選択性を示す表である。MIPはフルクトシルバリンを鋳型として作成したポリマーを用いたときの電極の応答を、CPは鋳型を用いずに作成した対照ポリマーを用いたときの電極の応答をそれぞれ示す。

図7は、塩基性モノマーとしてアリルアミンを加えて得られたコポリマーを用いた電極の、フルクトシルバリンおよびフルクトシルリシンに対する応答を示す図である。CP-1はアリルアミンを加えて得られたコポリマーを用いた電極の応答を、CPは対照であるカーボンペースト電極の応答をそれぞれ示す。

図8は、メチルバリンを鋳型として合成したポリマーを用いた電極の、種々のフルクトシルアミン化合物に対する応答を示す図である。m-Va1はメチルバリンを鋳型として合成したポリマーを、対照は鋳型を用いずに合成したポリマーを示す。各化合物の下に示される数字は、m-Va1と対照の電流値増加の比率を表す。

発明を実施するための最良の形態

本発明のフルクトシルアミンと結合し、その酸化反応を触媒する能力を有するポリマーはイミダゾール基あるいはボロン酸基、あるいはイミダゾール基およびボロン酸基を同時に有するポリマーとして合成される。イミダゾール基およびボロン酸基を有するポリマーは、イミダゾール基およびボロン酸基を有するモノマーを重合することによって合成できる。このようなポリマーを合成するためにはモノマーとして例えば1-ビニルイミダゾールあるいは4-ビニルフェニルボロン酸などがあるが、イミダゾール基およびボロン酸基を有するモノマーであれば限定されるものではない。また、フルクトシルアミン類を認識し、さらに該物質の酸化を電子受容体の存在下で進行する触媒機能を有するのであれば、イミダゾール基およびボロン酸基を有するモノマーに限定されるものではない。たとえば、イミダゾールに限らず、一般塩基触媒の機能を果たす官能基、たとえばピリジンを含むビピリジルを含むモノマーを用いて重合してよい。このようなモノマーの例としては、4(5)-ビニルイミダゾール、4-ビニルピリジン、2-ビニルピラジン、2-ビニルピリジン、2-ビニル-2,6-ジアミノ-s-トリアジンが挙げられる。

さらに、このようにして作成されるポリマーの組成にアクリル酸、アクリルアミドなどのほかの重合可能な機能性モノマーを混在させ、同時に重合してコポリマーを形成してもよい。特に、アリルアミン、N,N'-ジメチルアミノエチルメタクリレート、ジ

メチルアミノプロピルメタクリレート、ジエチルアミノエチルメタクリレート等の塩基性ポリマーを加えてコポリマーを作成すると、鋳型としてフルクトシルバリンを用いない場合であっても、フルクトシルリシンと比較してフルクトシルバリンに対する選択性を有するポリマーを得ることができる。また、2-ヒドロキシエチルメタクリレート等

5 を加えて重合することにより、ポリマーの親水性を高めることができる。

さらに、本発明のポリマーを架橋することにより安定なポリマーが合成される。例えばポリマー重合時にEGDMA等の架橋剤を添加することにより、ポリマーの構造がより安定化され、分子の認識機能が向上する。

さらに上記架橋時に分子認識の対象となる鋳型分子を混合しておくことにより、合成されたポリマーに高い分子認識機能を付与することが可能となる。例えば、1-ビニルイミダゾールと4-フェニルビニルボロン酸とを混合し、架橋剤としてEGDMAを加えラジカル重合を開始する際に、フルクトシルアミン化合物の1つであるフルクトシルバリンを添加して重合することにより、得られるポリマーのフルクトシルバリン認識機能は鋳型分子を混合せずに合成したポリマー（コントロールポリマー）に比べ1.2倍以上、より好ましくは1.5倍以上となる。また単位ポリマーあたりに結合できるようになるフルクトシルバリン量も同コントロールポリマーに比べ1.5倍以上となる。その結果、電子受容体の存在下でのフルクトシルバリンの酸化速度も同コントロールポリマーに比べ1.2倍以上、より好ましくは1.5倍以上となる。

10

15

さらに本発明に従えば、フルクトシルバリンを鋳型として重合することにより、他のフルクトシルアミンと比較してフルクトシルバリンに対する選択性を有するポリマーを得ることができる。血中に含まれる糖化タンパク質はヘモグロビン以外にも糖化アルブミンがある。糖化アルブミンとはアルブミンのアミノ酸配列中のリジンの ϵ 位アミンが糖化を受けたものである。これまでの糖化タンパク質の測定法では糖化ヘモグロビンと糖化アルブミンを明確に区別して測定することはできなかった。フルクトシルバリンを

20

25

フルクトシルバリンを鋳型として合成したポリマーは、糖化アルブミンのモデル化合物である ϵ -フルクトシルリジンと比較してフルクトシルバリンに対する反応性の向上を示すため、血中の糖化アルブミンに対して糖化ヘモグロビンを特異的に認識するセンサーへの応用が可能である。

また、鋳型分子としてメチルアミンを用いることもできる。例えば、鋳型としてメチルバリンを用いてポリマーを作成することによって、フルクトシルバリンに対する選択性を

30

得ることができる。

本発明における糖化蛋白質、たとえば糖化アルブミンあるいはHbA1c、あるいは糖化アルブミンやHbA1cを酵素的あるいは化学的に分解し生成したフルクトシルバリン等のフルクトシルアミンを測定する方法は、フルクトシルアミン等をまたこのようにして合成されたポリマーと作用させることにより達成される。特に、本測定をメディエータの存在下で反応を行い、かつ反応溶液のpHが6～10、好ましくはpH6～8、より好ましくはpH7近辺で測定することが望ましい。

ビニルイミダゾールとビニルボロン酸とをEGDMAを架橋剤としてフルクトシルバリン存在下で合成されたポリマーを触媒とし、メディエータとしてフェナジンメトスルフェート(PMS)とジクロロフェノールインドフェノール(DCIP)を用いて基質としてフルクトシルバリンを用いたとき、時間とともにフルクトシルバリンが酸化され、PMSを介してDCIPが還元され退色していくことが観測される。このDCIPの退色の速度を指標にフルクトシルバリンの濃度を測定できる。すなわち、本発明のポリマーを触媒とし、メディエータとしてフェナジンメトスルフェート(PMS)とジクロロフェノールインドフェノール(DCIP)の存在下で未知濃度のフルクトシルバリンを1mM以下の感度で定量できる。

さらに種々の人工電子メディエーターを利用することができる。メディエーターとしては、フェリシアン化カリウム、フェロセン、オスミウム誘導体などを用いることができる。

アッセイキット

別の観点においては、本発明は、本発明のポリマーを用いた測定方法を含むHbA1cあるいは糖化アルブミンといった糖化蛋白質およびフルクトシルアミンの測定キットを特徴とする。本発明の糖化蛋白質測定キットは、本発明に従うビニルイミダゾールとビニルボロン酸とをEGDMAを架橋剤としてフルクトシルバリン存在下で合成されたポリマーを触媒として備えた反応液を少なくとも1回のアッセイに十分な量で含む。典型的には、キットは、該ポリマーとpH6.0～10に調整された緩衝液、適当なメディエーター、キャリブレーションカーブ作製のためのフルクトシルバリンもしくはその誘導体の標準溶液、ならびに使用の指針を含む。本発明に従う糖化蛋白質分析キットは種々の形態で、例えば、凍結乾燥された試薬として、または適切な保存溶液中の溶液として提供することができる。

さらに別の観点においては、本発明はHbA1cアッセイキットを特徴とする。HbA1cを酵素的または化学的に分解することによりフルクトシルバリンが生成し、これを本発明のフルクトシルバリン分析キットを用いて定量することによりHbA1cをア

ッセイすることができる。したがって、本発明のHbA1cアッセイキットは、上述のフルクトシルバリンアッセイキットにさらに加水分解試薬または蛋白質分解酵素を含む。センサー

別の観点においては、本発明は、糖化アルブミン、HbA1cおよびフルクトシルアミン計測用センサーを特徴とする。本発明のポリマーのひとつであるビニルイミダゾールとビニルボロン酸とをEGDMAを架橋剤としてフルクトシルバリン存在下で合成されたポリマーが基質の酸化反応を触媒し、このときにメディエータが還元され、還元されたメディエータを電極上で電気化学的に酸化し、得られた電流値を指標に基質の濃度を決定することができる。

- 10 本発明の測定原理に従い、以下のようにフルクトシルアミン計測用センサーが構築できる。本発明のセンサーシステムの一例を図3に示す。アンペロメトリック系で測定する場合、センサーシステムは、セル10、ポテンシオスタット12およびレコーダー14を備え、セル10の中には適当な緩衝液、例えば10mMリン酸カリウム緩衝液（pH7.0）が入れられている。セル10は、バッチ式でもフロー式でもよい。セル10
- 15 には、作用電極20、対極22および参照電極24が緩衝液中に浸るように備えられており、ポテンシオスタット12により作用電極20に一定（例えば100mV）の電圧を印加する。作用電極20としては、カーボン電極、金電極、白金電極などを用い、この電極上に本発明のポリマーを固定化する。固定化方法としては、架橋試薬を用いる方法、高分子マトリックス中に封入する方法、透析膜で被覆する方法、光架橋性ポリマー、
- 20 導電性ポリマー、酸化還元ポリマーを用いる方法などがあり、これらを組み合わせて用いてもよい。

- カーボン電極、金電極、白金電極などを用いてアンペロメトリック系で測定する場合には、作用電極20としてフルクトシルアミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒するポリマーを固定化した電極を用い、対極22（例えば白金電極）および参照電極24（例えばAg/AgCl電極）とともに、メディエーターを含む緩衝液を入れたセル10の中に挿入して一定温度に保持する。ポテンシオスタット12により作用電極20に一定の電圧を印加し、試料を加えて電流の増加値を測定し、レコーダー14で記録する。メディエーターとしては、フェリシアン化カリウム、フェロセン、オスミウム誘導体、フェナジンメトサルフェートなどを用いることができる。

- 30 さらにカーボン電極、金電極、白金電極などを用いてアンペロメトリック系で測定する方法として、固定化電子メディエーターを用いる系がある。すなわち、フルクトシルア

ミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒する本発明のポリマーとともに、フェリシアン化カリウム、フェロセン、オスミウム誘導体、フェナジンメトサルフェートなどの電子メディエータを吸着あるいは共有結合法により高分子マトリックスに固定化した電極を作用電極 20 として用い、対極 22 (例えば白金電極) および
5 参照電極 24 (例えば Ag/AgCl 電極) とともに、緩衝液を入れたセル 10 の中に挿入して一定温度に保持する。ポテンシオスタット 12 により作用電極 20 に一定の電圧を印加し、試料を加えて電流の増加値を測定し、レコーダー 14 で記録する。

いずれの電極を用いる場合にも、標準濃度のフルクトシルバリリン溶液により作製したキャリブレーションカーブに従い、試料中のフルクトシルバリリン濃度を求めることがで
10 きる。

HbA1c 計測用センサーとして用いる場合は、上述のフルクトシルバリリン計測用センサーに、さらに蛋白質分解酵素 (例えばプロテアーゼ) を固定化した膜などを組み合わせて、複合センサーを構築する。このような、複数の酵素等の触媒の組み合わせによる連続的反応を用いる複合センサーの構造は、当該技術分野においてよく知られており、
15 例えば Biosensors -Fundamental and Applications-Anthony P. F. Tuner, Isao Karube and Geroge S. Wilson, Oxford University Press 1987 に記載されている。

本明細書において明示的に引用される全ての特許および参考文献の内容は全て引用により本明細書に取り込まれるものとする。また、本出願が有する優先権主張の基礎となる出願である日本特許出願 2000-318618 号の明細書に記載の内容は全て本明
20 細書の一部としてここに引用する。

以下の実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されることはない。

実施例 1

4-ビニルフェニルボロン酸 0.2 mmol、架橋試薬としてエチレングリコールジメタクリレート (ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA) 2 mmol、重合開始剤として
25 2,2'-Azobisisobutyronitrile を 0.06 mmol 加え、鋳型分子としてフルクトシルバリリン 0.2 mmol を加え、溶媒として 522 μ l のメタノールと 174 μ l の水を用い、アルゴン置換した後、45℃で12時間重合反応を行った。ここで得られたポリマー-B-MIP とよぶ。このポリマーを乳鉢にてすりつぶし、ふるいによって粒子径 40 μ m のポリマーを調製した。また鋳型分子であるフルクトシルバリリンを添加しないで、上記と全く同じ操作を行うことによりコントロールポリマー、B-CP を合成した。これらのポリマ
30

ーをメタノール：酢酸（7：2）で2回、アセトニトリル：酢酸（9：1）で2回、アセトニトリルで1回、メタノールで1回、それぞれ洗浄した。

実施例 2

実施例 1 で得られたポリマーをそれぞれ 5 mg/ml となるように 10 mM リン酸緩衝液 pH 7.0 に懸濁し、そこへ適当量のフルクトシルバリンを添加し、ポリマーのフルクトシルバリン結合能力を評価した。その結果を図 1 に示す。鑄型分子であるフルクトシルバリンの存在下で重合した B-MIP のフルクトシルバリンに対する結合定数ならびに単位ポリマーあたりの最大結合能力はコントロールとして用いた B-CP のそれぞれ 1.2 倍、および 2.1 倍であった。

10 実施例 3

1-ビニルイミダゾール 1.6 mmol、4-ビニルフェニルボロン酸 0.8 mmol、架橋試薬としてエチレングリコールジメタクリレート (ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA) 2 mmol、重合開始剤として 2,2'-アゾビスイソブチロニトリルを 0.06 mmol 加え、鑄型分子としてフルクトシルバリン 0.2 mmol を加え、溶媒として 522 μ l のメタノールと 174 μ l の水を用い、アルゴン置換した後、45℃で12時間重合反応を行った。ここで得られたポリマー BI-MIP とよぶ。このポリマーを乳鉢にてすりつぶし、ふるいによって粒子径 40 μ m のポリマーを調製した。また鑄型分子であるフルクトシルバリンを添加しないで、上記と全く同じ操作を行うことによりコントロールポリマー、BI-CP を合成した。これらのポリマーをメタノール：酢酸（7：2）で2回、アセトニトリル：酢酸（9：1）で2回、アセトニトリルで1回、メタノールで1回、それぞれ洗浄した。

実施例 4

実施例 3 で得られたポリマーをそれぞれ 5 mg/ml となるように 10 mM リン酸緩衝液 pH 7.0 に懸濁し、そこへ適当量のフルクトシルバリンを添加し、ポリマーのフルクトシルバリン結合能力を評価した。その結果を図 2 に示す。鑄型分子であるフルクトシルバリンの存在下で重合した BI-MIP のフルクトシルバリンに対する結合定数ならびに単位ポリマーあたりの最大結合能力はコントロールとして用いた BI-CP のそれぞれ 1.5 倍、および 1.6 倍であった。

実施例 5

30 カーボンペースト 50 mg に対して実施例 1 および 3 で作成したポリマーを 20 mg 混合し、カーボンペースト電極に充填した。この電極を 1mM 1-メトキシフェナジンメ

トスルフェート (mPMS) を含む 10 mM phosphate buffer saline pH 7.4 の溶液に浸漬し、印加電圧を 100 mV (vs Ag/AgCl) とし、基質にフルクトシルバリンを添加したときの応答を観測した。本センサーを図 3 に示す。また、本センサーを用いて、フルクトシルバリンの測定を行った結果を図 4 に示す。何もポリマーをつけていないカーボンペースト電極単独では応答はきわめて低い。これに対して B-MIP、B-CP を固定した電極の応答は 2.5 倍に向上する。さらに BI-CP を固定した電極では 3 倍、さらに BI-MIP を固定した電極では 5 倍の応答が得られた。

実施例 6

フルクトシルバリンを鋳型として作成したポリマーのフルクトシルバリンに対する選択性を調べた。恒温セルに 10mM リン酸緩衝液(pH7.5)を入れ、電子受容体として、終濃度 1mM メトキシ-PMS(m-PMS)を加え、総量を 10ml とした。作用電極としては実施例 5 で作製したカーボンペースト電極を用い、対極として白金電極、参照極として Ag/AgCl 電極を用いた。

応答電流値は +100mV の電位を印加し、電流が定常になったところで、適当な濃度のフルクトシルバリンを加えて増加した電流値を測定した。同様の操作をフルクトシルグリシン、フルクトシルアラニン、フルクトシルフェニルアラニン、 ϵ -フルクトシルリジンについて行った。フルクトシルバリンを加えていないときの電流値を 0A とした。測定温度は 40℃で行った。結果を図 5 および 6 に示す。調べたすべてのフルクトシルアミン化合物に対して、電極の反応性が向上していた。インプリントしたポリマーとコントロールポリマーとの反応性の差はフルクトシルグリシンがもっとも大きく、次いでフルクトシルバリン、フルクトシルアラニン、フルクトシルフェニルアラニン、フルクトシルリジンの順であった。

実施例 7

種々の塩基性モノマーの添加の効果を調べた。1-ビニルイミダゾール、4-ビニルフェニルボロン酸、塩基性モノマーとして、アリルアミン、N, N'-ジメチルアミノエチルメタクリレート、ジメチルアミノプロピルメタクリレートまたはジエチルアミノエチルメタクリレート、架橋剤としてエチレングリコールジメタクリレート (8 : 4 : 8 : 10) に重合開始剤 A B D V を加え、メタノール : 水 (4 : 1) の溶媒に溶解し、Ar で置換し、45℃で 12 時間、重合反応を行った。得られたポリマーを破碎して粒子径を 32 μ m 以下に制限した後、洗浄し、乾燥した。

カーボンペースト 50 mg に得られたポリマー各 20 mg およびミネラルオイル 20

μ lを加え、よく混合した。これをカーボンペースト電極に充填し、作用極とした。参照極としてAg/AgCl電極、対極として白金電極を用い、反応溶液1 mM m-PMSを含む10 mM p p b (pH 7.5)、反応温度40℃、印加電位+100 mV/AgClとして、フルクトシルバリンまたはフルクトシルリシンを添加したときの増加
5 電流値を測定した。

アリルアミンを固定した電極はカーボンペーストのみの電極と比較すると、フルクトシルバリンはより高い応答を示し、フルクトシルリシンはより低い応答を示した(図7)。N, N'-ジメチルアミノエチルメタクリレートまたはジメチルアミノプロピルメタクリレートを固定した電極はカーボンペーストのみの電極と比較すると、フルクト
10シルバリンは同程度の応答を示し、フルクトシルリシンはより低い応答を示した。ジエチルアミノエチルメタクリレートを固定した電極はカーボンペーストのみの電極と比較すると、フルクトシルバリン、フルクトシルリシンともにより低い応答を示したが、フルクトシルバリンの応答はフルクトシルリシンより高かった。

すなわち、塩基性モノマーを加えることにより、鑄型としてフルクトシルバリンを用
15 いない場合であっても、フルクトシルリシンと比較してフルクトシルバリンに対する選択性が向上した。

実施例 8

フルクトシルバリンの代わりにメチルバリンを鑄型として実施例3と同様にポリマーを合成し、これをカーボンペースト電極に固定して作成したセンサーについて、実施例
20 5と同様にして種々のフルクトシルアミン化合物に対する応答を調べた。対照としては鑄型を用いずに合成したポリマーを用いた。結果を図8に示す。メチルバリンを鑄型としたポリマーは、フルクトシルバリンを鑄型としたポリマーを用いた場合と同様に、 α 位が糖化されたフルクトシルアミン化合物に対する応答性が向上し、特に ϵ フルクトシルリシンと比較してフルクトシルバリンに対する選択性が向上した。

25 実施例 9

1-ビニルイミダゾールの代わりに4-(5)-ビニルイミダゾールまたは4-ビニルイミダゾールを用いて、実施例3と同様にポリマーを作成し、これらのポリマーを固定した電極を用いてフルクトシルバリンおよびフルクトシルリシンに対する応答を調べた。いずれのポリマーもフルクトシルバリンに対して酸化触媒能を有していた。しかし、フ
30 ルクトシルバリンとフルクトシルリシンに対する応答は同程度であり、1-ビニルイミダゾールを用いたポリマーとは異なりフルクトシルバリンに対する選択性は示さなかつ

た。

産業上の利用性

- 本発明のポリマーは酵素反応を模倣した触媒機能を有する合成ポリマーとして、糖化蛋白質の測定、特に糖化ヘモグロビン（HbA1c）、糖化アルブミンやその分解産物であるフルクトシルバリンをはじめとするフルクトシルアミンの測定において用いるのに有用である。
- 5

請求の範囲

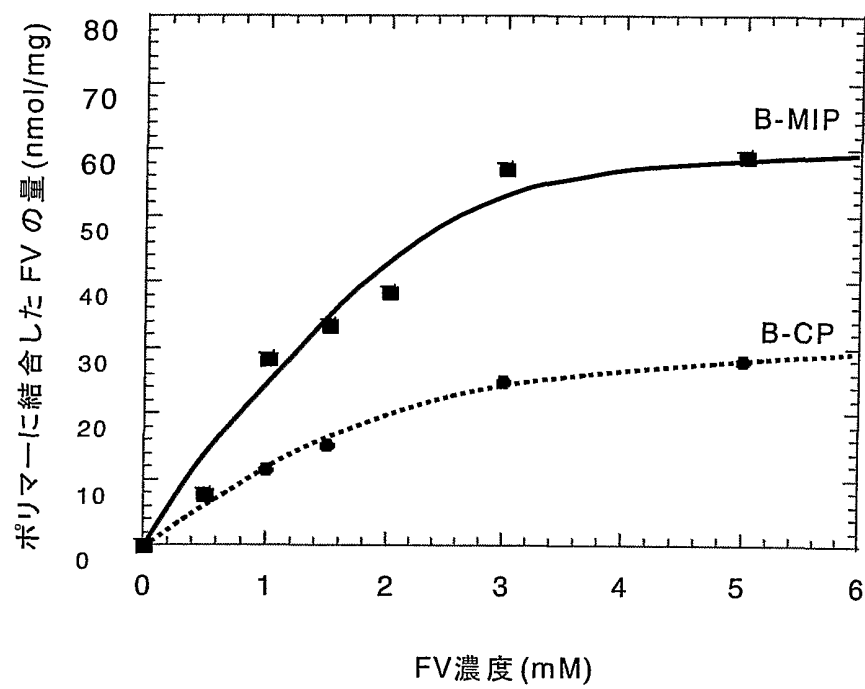
1. フルクトシルアミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒する合成ポリマー。
- 5 2. 請求項 1 記載のポリマーにおいてボロン酸基を有するポリマー。
3. 請求項 1 記載のポリマーにおいてイミダゾール基を有するポリマー。
4. 請求項 1 記載のポリマーにおいてイミダゾール基とボロン酸基との両方を有するポリマー。
5. 請求項 1 記載のポリマーにおいてビニルボロン酸を重合して得られるポリマー。
- 10 6. 請求項 1 から 5 のいずれかに記載のポリマーにおいてビニルイミダゾールを含む化合物を用いて合成して得られるポリマー。
7. 請求項 1 から 6 のいずれかに記載のポリマーにおいてビニルイミダゾールとビニルボロン酸の共重合体であることを特徴とするポリマー。
8. 請求項 1 から 7 のいずれかに記載のポリマーにおいて 1-ビニルイミダゾールを用いて合成して得られるポリマー。
- 15 9. 請求項 1 から 8 のいずれかに記載のポリマーにおいて 4-ビニルフェニルボロン酸を用いて合成して得られるポリマー。
10. 請求項 1 から 9 のいずれかに記載のポリマーにおいて、さらに架橋試薬を添加して合成して得られることを特徴とするポリマー。
- 20 11. 請求項 10 記載のポリマーにおいて架橋試薬がエチレングリコールジメタクリレートであることを特徴とするポリマー。
12. 請求項 1 から 11 のいずれかに記載のポリマーにおいて、さらに鑄型分子を添加して合成して得られることを特徴するポリマー。
13. 請求項 12 記載のポリマーにおいて、重合後、鑄型分子が取り除かれて得られることを特徴とするポリマー。
- 25 14. 請求項 12 または 13 記載のポリマーにおいて鑄型分子がフルクトシルアミンであることを特徴とするポリマー。
15. 請求項 14 記載のポリマーにおいてフルクトシルアミンがフルクトシルバリンであることを特徴とするポリマー。
- 30 16. 請求項 12 または 13 記載のポリマーにおいて鑄型分子がメチルバリンであることを特徴とするポリマー。

17. 請求項1から11のいずれかに記載のポリマーにおいて、さらに塩基性モノマーを添加して合成して得られることを特徴するポリマー。
18. 請求項A2記載のポリマーにおいて、塩基性モノマーが、アリルアミン、N, N'-ジメチルアミノエチルメタクリレート、ジメチルアミノプロピルメタクリレート
5 およびジエチルアミノエチルメタクリレートからなる群より選択されることを特徴とするポリマー。
19. フルクトシルアミンの測定方法であって、試料を請求項1～A3のいずれかに記載のポリマーと接触させ、酸化されたフルクトシルアミンの量を測定することを特徴とする方法。
- 10 20. 請求項19記載の方法において、前記接触がメディエータの存在下で行われ、フルクトシルアミンの酸化により生成される還元型のメディエータの量を電気化学的手法により計測することを特徴とする方法。
21. 請求項19または20に記載の方法において、前記接触がpH6～10の反応溶液中で行われることを特徴とする方法。
- 15 22. 請求項1～18のいずれかに記載のポリマーを含むフルクトシルアミン測定キット。
23. 請求項1～18のいずれかに記載のポリマーを含むことを特徴とするフルクトシルアミンセンサー。
24. 請求項23記載のフルクトシルアミンセンサーにおいて電極がカーボンペースト電極であることを特徴とするフルクトシルアミンセンサー。
- 20 25. 糖化ヘモグロビン (HbA1c) の測定方法であって、試料中のHbA1cあるいはHbA1cを分解して生成させたフルクトシルバリンを請求項19記載の方法により定量することを含む方法。
26. 請求項1～18のいずれかに記載のポリマーを含む糖化ヘモグロビン測定キット
25 ト。
27. 請求項1～18のいずれかに記載のポリマーを含む糖化ヘモグロビンセンサー。
28. 糖化アルブミンの測定方法であって、試料中の糖化アルブミンあるいは糖化アルブミンを分解して生成させたフルクトシルアミンを請求項19記載の方法により定量することを含む方法。
- 30 29. 請求項1～18のいずれかに記載のポリマーを含む糖化アルブミン測定キット。
30. 請求項1～18のいずれかに記載のポリマーを含む糖化アルブミンセンサー。

- 3 1. フルクトシルアミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒する合成ポリマーを製造する方法であって、ビニルボロン酸を重合させることを特徴とする方法。
- 3 2. フルクトシルアミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒する合成ポリマーを製造する方法であって、ビニルイミダゾールとビニルボロン酸とを共重合させることを特徴とする方法。
- 3 3. フルクトシルアミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒する合成ポリマーを製造する方法であって、ビニルイミダゾールと4-ビニルフェニルボロン酸とを共重合させることを特徴とする方法。
- 10 3 4. 請求項3 2または3 3記載の方法において、ビニルイミダゾールが1-ビニルイミダゾールであることを特徴とする方法。
- 3 5. 請求項3 1－3 4のいずれかに記載の方法において、さらに架橋試薬を添加して重合させることを特徴とする方法。
- 3 6. 請求項3 5記載の方法において、架橋試薬がエチレングリコールジメタクリレートであることを特徴とする方法。
- 15 3 7. 請求項3 1－3 6のいずれかに記載の方法において、さらに鑄型分子を添加して重合させることを特徴とする方法。
- 3 8. 請求項3 7記載の方法において、重合後に鑄型分子を取り除く工程をさらに含むことを特徴とする方法。
- 20 3 9. 請求項3 7または3 8記載の方法において、鑄型分子がフルクトシルアミンであることを特徴とする方法。
- 4 0. 請求項3 9記載の方法において、フルクトシルアミンがフルクトシルバリンであることを特徴とする方法。
- 4 1. 請求項3 7または3 8記載の方法において、鑄型分子がメチルアミンであることを特徴とする方法。
- 25 4 2. 請求項4 1記載の方法において、メチルアミンがメチルバリンであることを特徴とする方法。
- 4 3. 請求項3 1－3 6のいずれかに記載の方法において、さらに塩基性モノマーを添加して重合させることを特徴とする方法。
- 30 4 4. 請求項4 3記載の方法において、塩基性モノマーが、アリルアミン、N, N'-ジメチルアミノエチルメタクリレート、ジメチルアミノプロピルメタクリレートおよ

びジエチルアミノエチルメタクリレートからなる群より選択されることを特徴とする方法。

1/8

*Fig.1*

2/8

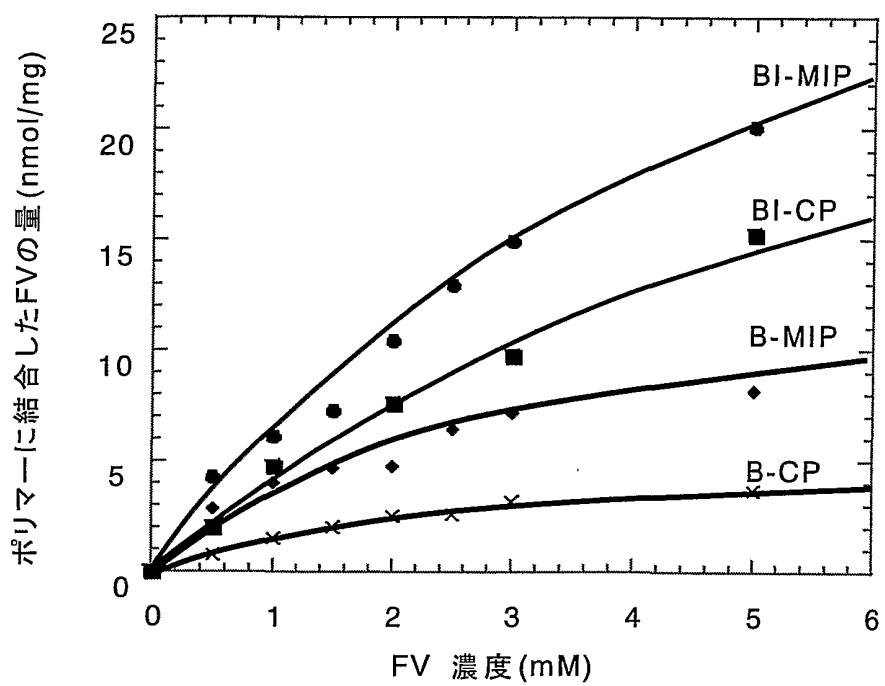
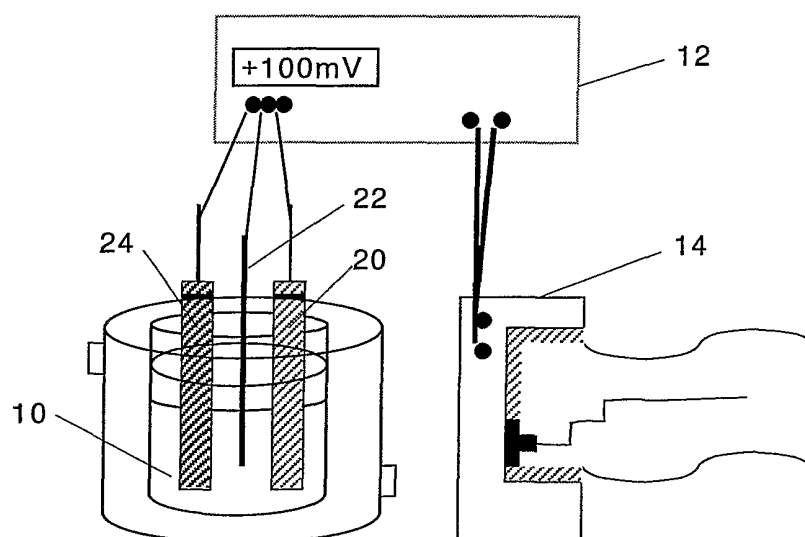


Fig.2

3/8

*Fig.3*

4/8

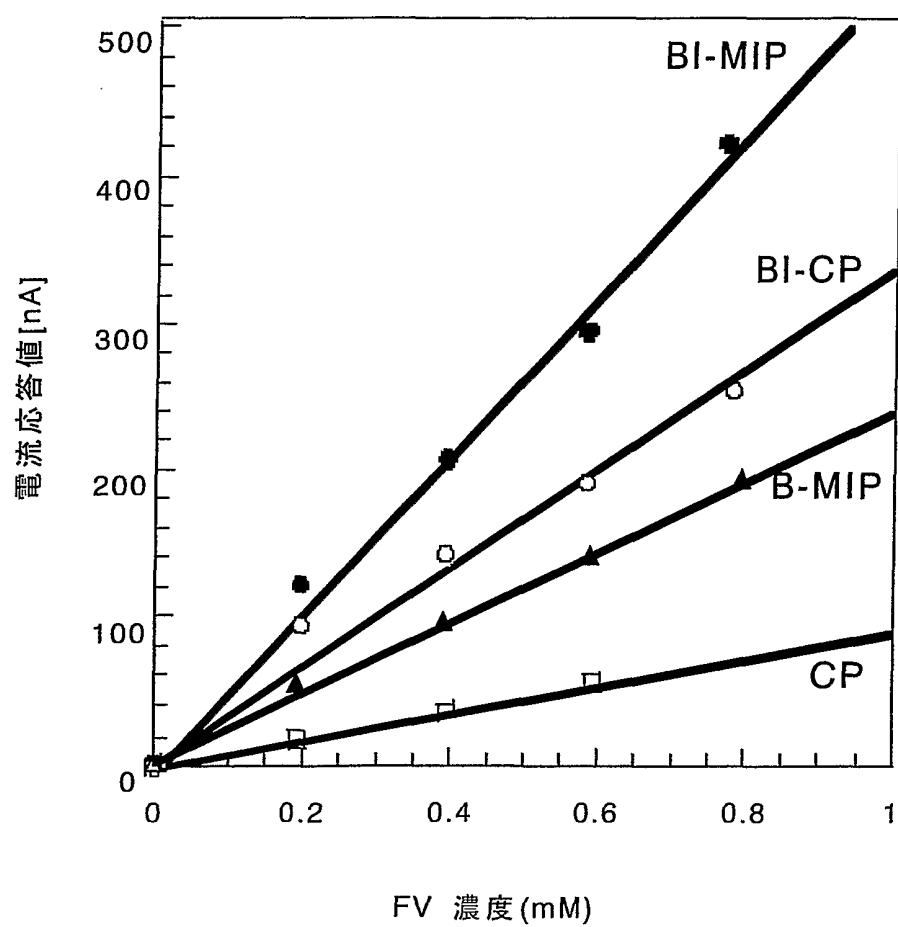


Fig.4

5/8

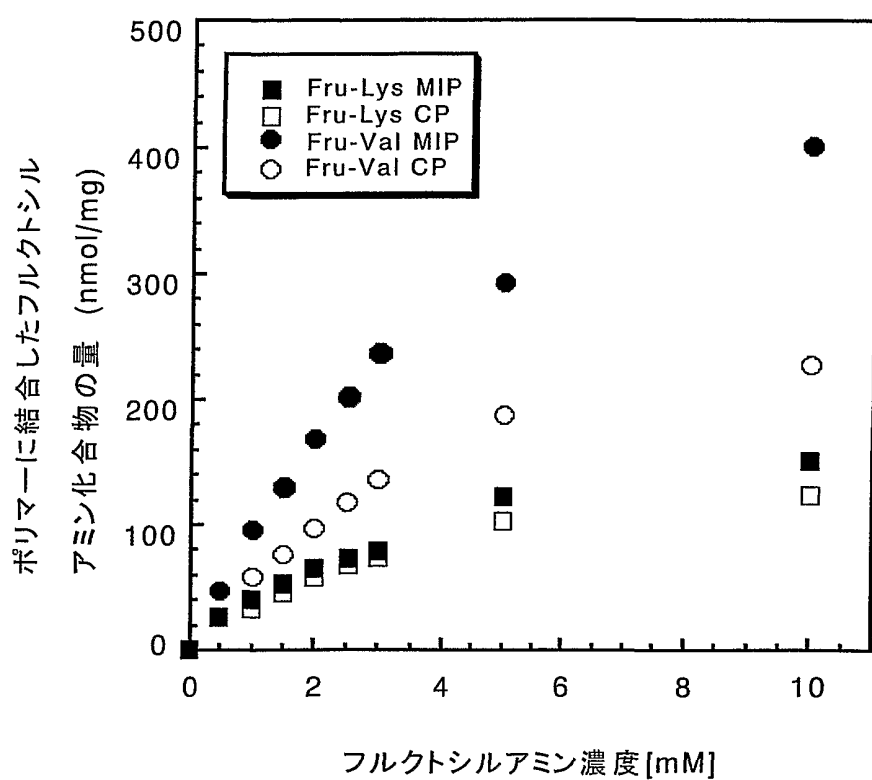
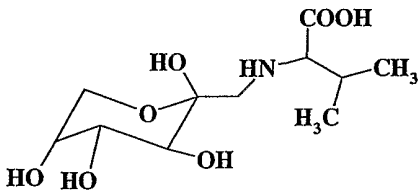


Fig.5

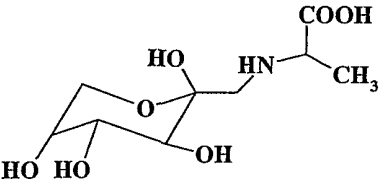
表 1

基質	MIP [nA/mM]	CP [nA/mM]	MIP/CP
Fru-Val	142	82	1.8
Fru-Ala	64	39	1.6
Fru-Gly	74	32	2.3
Fru-Phe	40	31	1.3
ε-Fru-Lys	82	76	1.1

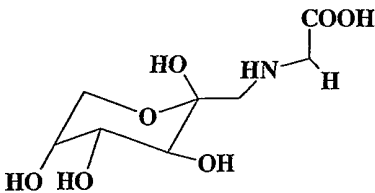
Fru-Val



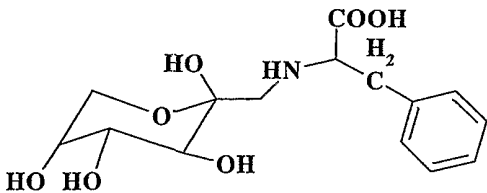
Fru-Ala



Fru-Gly



Fru-Phe



ε-Fru-Lys

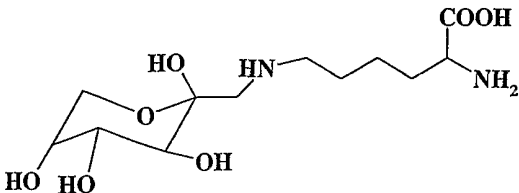


Fig.6

7/8

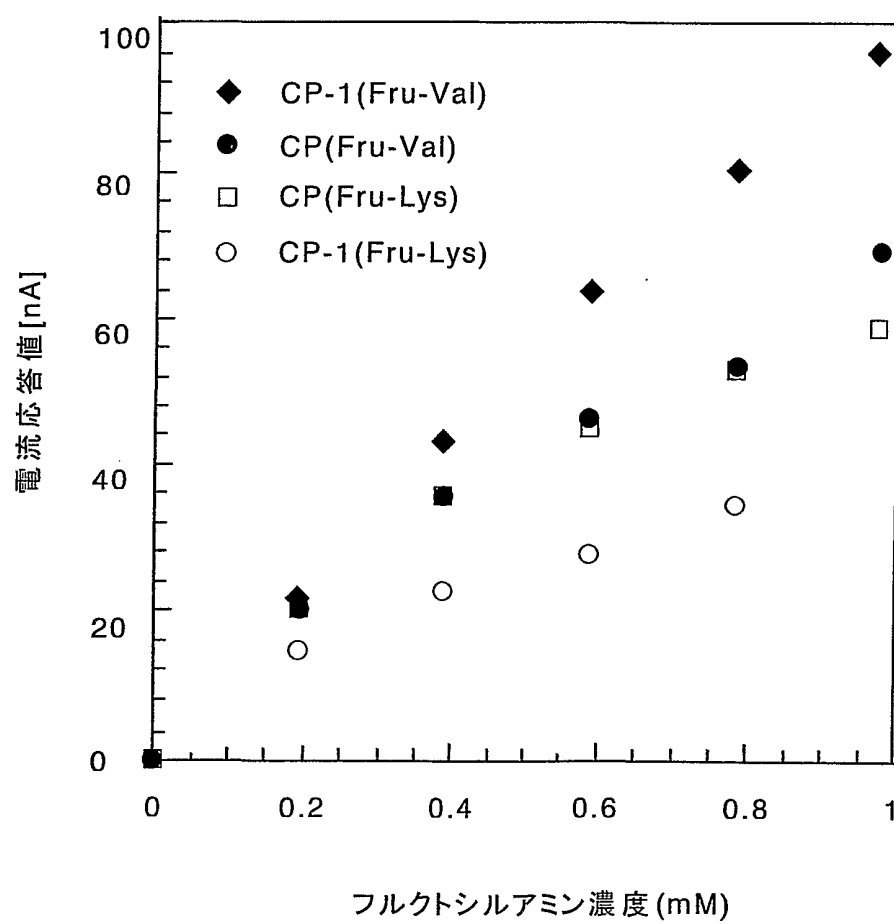


Fig.7

8/8

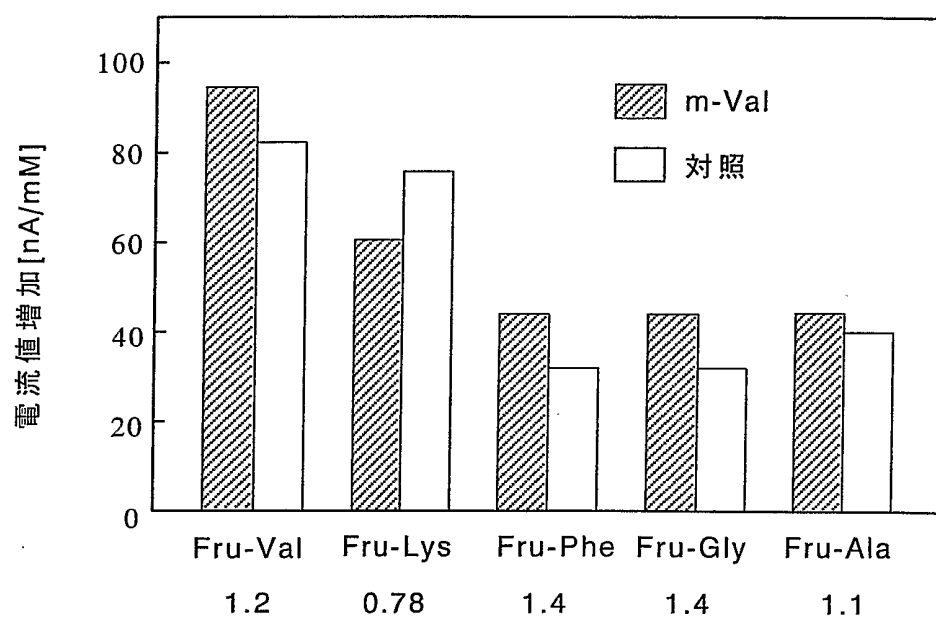


Fig.8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07835

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C08F26/06, C08F30/06, C08F220/34, G01N27/30

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)

Int.Cl.⁷ C08F2/00-2/60, C08F10/00-299/08, G01N27/00-27/92

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PA	JP 2000-270855 A (Koji HAYADE), 03 October, 2000 (03.10.00), Claims (Family: none)	19-30
X	JP 5-93019 A (NOF Corporation), 16 April, 1993 (16.04.93),	1-9, 17, 18, 31-34, 43, 44
Y	Claims; columns 10, 11 (Family: none)	10-13, 35-38
Y	JP 2000-74900 A (Toshifumi TAKEUCHI, Sysmex Corporation), 14 March, 2000 (14.03.00), column 2 & US 6177513 A	10-13, 35-38
X	EP 953358 A (BASF Aktiengesellschaft), 03 November, 1999 (03.11.99), Patentansprüche & JP 11-322586 A	1, 3, 6, 8
X	JP 59-223706 A (Japan Synthetic Rubber Co., Ltd.), 15 December, 1984 (15.12.84), Claims (Family: none)	1, 2, 5, 9, 31

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ 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 document 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

11 October, 2001 (11.10.01)

Date of mailing of the international search report

30 October, 2001 (30.10.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07835

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 64-33111 A (Japan Atomic Energy Research Institute, Kokusan Kagaku K.K.), 03 February, 1989 (03.02.89), Claims (Family: none)	1-44

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07835

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The matter common to the inventions as set forth in claims 1 to 18 and 31 to 44, the inventions as set forth in claims 19 to 21, 25 and 28 and the inventions as set forth in claims 22 to 24, 26, 27, 29 and 30 resides in "synthetic polymers binding to fructosylamine compounds and catalyzing the oxidation thereof in the presence of an electron acceptor".

As the results of our search, however, it is found out that such resins have been already disclosed in a document JP 5-93019 A (Nippon Oil and Fats Co., Ltd.) April 16, 1993 (16.04.93) and, therefore, are not novel.

Thus, these inventions have no matter in common which can be regarded as a special technical feature in the meaning as defined in the second sentence of Rule 13.2 of the Regulations under the PCT. Such being the case, no technical relationship as defined in Rule 13.1 of the Regulations under the PCT can be found out among these groups of inventions which differ from each other.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C08F26/06, C08F30/06, C08F220/34,
G01N27/30

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))

Int. Cl⁷ C08F2/00-2/60, C08F10/00-299/08
G01N27/00-27/92

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

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)

CAS ONLINE

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 請求の範囲の番号
PA	J P 2000-270855 A (早出 広司) 3. 10月. 2000 (03. 10. 00) 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	19-30
X	J P 5-93019 A (日本油脂株式会社) 16. 4月. 1993 (16. 04. 93) 特許請求の範囲、第10欄、第11欄 (ファミリーなし)	1-9, 17, 18, 31-34, 43, 44
Y		10-13, 35-38
Y	J P 2000-74900 A (竹内 俊文、シスメックス株式会社) 14. 3月. 2000 (14. 03. 00) 第2欄 & US 6177513 A	10-13, 35-38

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ 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矛盾するものではなく、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

11. 10. 01

国際調査報告の発送日

30.10.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

天野 宏樹



4 J 2941

電話番号 03-3581-1101 内線 3455

C (続き). 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 請求の範囲の番号
X	EP 953358 A1 (BASF AKTIENGESELLSCHAFT) 3. 11 月. 1999 (03. 11. 99) Patentansprüche & JP 11-322586 A	1, 3, 6, 8
X	JP 59-223706 A (日本合成ゴム株式会社) 15. 12 月. 1984 (15. 12. 84) 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1, 2, 5, 9, 31
A	JP 64-33111 A (日本原子力研究所、国産化学株式会社) 3. 2月. 1989 (03. 02. 89) 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-44

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1～18、31～44に記載の発明、請求の範囲19～21、25、28に記載の発明、及び請求の範囲22～24、26、27、29、30に記載の発明に共通の事項は、「フルクトシルアミン化合物と結合し、該物質の酸化を電子受容体の存在下で触媒する合成ポリマー」である。

しかし、調査の結果、該樹脂は、文献 JP 5-93019 A (日本油脂株式会社) 16.4月. 1993 (16.04.93) に開示されているから、新規でないことが明らかとなった。

それ故、PCT規則13.2の第2文の意味において特別な技術的事項と考えられる共通する事項は存在しないので、それらの相違する発明の間にPCT規則13.1の意味における技術的な連関を見いだすことはできない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。