

(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
2024年9月19日(19.09.2024)



(10) 国際公開番号
WO 2024/190866 A1

(51) 国際特許分類:

G01N 33/531 (2006.01) G01N 33/483 (2006.01)
C12Q 1/28 (2006.01) G01N 33/536 (2006.01)
C12Q 1/42 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/009991

(22) 国際出願日: 2024年3月14日(14.03.2024)

(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 2023-040387 2023年3月15日(15.03.2023) 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: 青木 一史 (AOKI Kazufumi); 〒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). 砂村 栄一郎 (SUNAMURA Ei-ichiro); 〒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

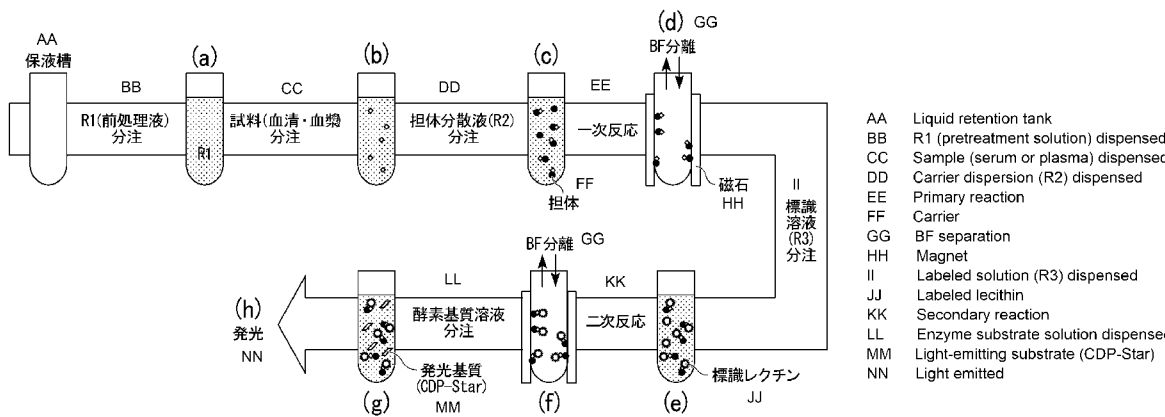
式会社内 Tokyo (JP). 松廣 志乃 (MATSUHIRO Shino); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 妹尾 理子 (SEO Satoko); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 西澤 和純, 外 (NISHIZAWA Kazuyoshi et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 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, MG, MK, MN, MU, 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,

(54) Title: TREATMENT METHOD AND KIT

(54) 発明の名称: 処理方法及びキット



(57) Abstract: Provided is a treatment method for optically detecting, by a heterogeneous method, a lectin-binding analyte in a sample. The treatment method comprises, in order: a step for dispensing a pretreatment solution containing a nonionic surfactant into a liquid retention tank serving as both a reaction tank and a detection tank of a container; a step for dispensing a sample into the liquid retention tank; and a step for dispensing a labeled solution containing labeled lectin into the liquid retention tank.

(57) 要約: 試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するための処理方法であって、容器の反応槽と検出槽とを兼ねる保液槽に非イオン性界面活性剤を含む前処理溶液を分注する工程と、前記保液槽に試料を分注する工程と、前記保液槽に標識レクチンを含む標識溶液を分注する工程と、をこの順番で含む処理方法。

[続葉有]

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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称： 処理方法及びキット

技術分野

[0001] 本発明は、レクチンを用いた測定における処理方法及びキットに関する。
本願は、2023年3月15日に、日本に出願された特願2023-040387号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 従来、関節リウマチ患者の血清中IgGは、健康人のIgGと比較し、顕著にガラクトースを欠損していることが明らかとなっている（非特許文献1～2）。血清中の抗ガラクトース欠損IgG抗体（CARF）を測定することは、関節リウマチの診断の補助や疾患状態の評価に有用である。CARFの測定方法の一例として次の方法が知られている。不溶性ビーズにガラクトース欠損IgGを固定した試薬を準備し、これを検体と混ぜると、検体中のCARFがガラクトース欠損IgGを介してビーズに捕捉される（図2（a））。通常、CARFはガラクトースを有する糖鎖を備える。ここにガラクトース結合性の標識レクチンを添加すると、標識レクチンはCARF及びガラクトース欠損IgGを介してビーズに捕捉される（図2（b））。この標識レクチンが発するシグナルを検出することにより、検体中に含まれていたCARFを定量することができる。この測定原理に基づく体外診断用医薬品の既認証試薬として、積水メディカル社製の「ピコルミCA・RF」が知られている。なお、「ピコルミ」は登録商標である。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献1：Parekh R. B. et al. “Association of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis with changes in the glycosylation pattern of total serum IgG” Nature 316, 452-457 (1985)

非特許文献2：水落次男ら、「早期リウマチにおけるリウマチ因子の測定」リ

ウマチ科 12, 337-343 (1994)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] ところで、検体中のレクチン結合性の物質には、測定対象であるC A R Fだけでなく、夾雑物質も含まれる。原理的には、不溶性ビーズにガラクトース欠損I g Gを固定した試薬に夾雑物質は結合しないはずである。しかし実際には、何らかの理由により、夾雑物質が測定系に残存し、シグナル測定のバックグラウンドを不規則に高める問題があった。また、測定対象物質が測定系内に非特異的に吸着することにより測定値が変動するという問題もあった。

[0005] 本発明は、レクチンを用いた測定の再現性若しくは信頼性を高めることが可能な、処理方法及びキットを提供することを目的の一つとする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らが鋭意検討したところ、非イオン性界面活性剤を特定の方法で測定系に添加することにより、レクチン結合性の夾雑物質が非特異的に測定系内に吸着することを防止し、レクチンを用いた測定の再現性若しくは信頼性を高めることができることを見出し、本発明を完成させた。すなわち、本発明は以下の態様を含む。

[0007] [1] 試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するための処理方法であって、容器の反応槽と検出槽とを兼ねる保液槽に非イオン性界面活性剤を含む前処理溶液を分注する工程と、前記保液槽に試料を分注する工程と、前記保液槽に標識レクチンを含む標識溶液を分注する工程と、をこの順番で含む処理方法。

[2] 前記保液槽に、前記測定対象物質に結合する物質を固定化した不溶性担体を含む担体溶液を分注する工程を含む[1]に記載の処理方法。

[3] 前記試料が、前記測定対象物質とは異なり、かつ、前記標識レクチンに結合可能な夾雑物質を含む[1]又は[2]に記載の処理方法。

[4] 前記標識レクチンが、レクチンを酵素標識した物質である[1]～

〔３〕のいずれかに記載の処理方法。

〔５〕 前記非イオン性界面活性剤がポリオキシエチレンアルキルエーテルである〔１〕～〔４〕のいずれかに記載の処理方法。

〔６〕 試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するための処理方法であって、容器の反応槽と検出槽とを兼ねる保液槽に非イオン性界面活性剤を含む試料を分注する工程と、前記保液槽に標識レクチンを含む標識溶液を分注する工程と、をこの順番で含む処理方法。

〔７〕 試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するために使用されるキットであって、試料処理試薬、不溶性担体試薬、及び標識レクチン試薬を含み、前記試料処理試薬が非イオン性界面活性剤を含むキット。

発明の効果

〔０００８〕 本発明によれば、レクチンを用いた測定の再現性若しくは信頼性を高めることが可能な、処理方法及びキットが提供される。

図面の簡単な説明

〔０００９〕〔図１〕本発明に係る第一実施形態の手順の一例を示す概略図である。

〔図２〕ＣＡＲＦの測定方法の一例を示す概略図である。（ａ）ビーズに固定されたガラクトース欠損ＩｇＧにＣＡＲＦが抗原抗体反応により結合する様子。（ｂ）ＣＡＲＦが有する糖鎖のガラクトースにレクチンが特異的に結合した様子。

発明を実施するための形態

〔００１０〕 本発明の第一態様は、試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するための処理方法である。

〔００１１〕＜第一実施形態＞

本態様の第一実施形態は、容器の反応槽と検出槽とを兼ねる保液槽に非イオン性界面活性剤を含む前処理溶液を分注する工程（前処理工程）と、前記保液槽に試料を分注する工程（試料分注工程）と、前記保液槽に標識レクチンを含む標識溶液を分注する工程（標識工程）と、をこの順番で含む処理方

法である。

以下、本実施形態の具体例を、図1を参照して説明する。

[0012] [前処理工程]

プラスチック製の透明容器を準備し、保液槽（容器の中）に前処理液を分注する（図1（a））。

保液槽は、後述の一次反応及び二次反応を行う反応槽と、後述のシグナル検出を行う検出槽とを兼ねる。

プラスチックとしては、例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、アクリル樹脂等が挙げられる。

透明容器の透明度としては、容器の外側面から照射した可視光線について、（出射光の強度／入射光の強度）の比率で表される透過率が例えば30～99%のものが好ましい。

保液槽の容積は特に制限されず、従来から使用されているキュベットと同等の容積、例えば0.05ml～5.0mlが挙げられる。

保液槽の形状は特に制限されず、従来から使用されているキュベットと同様に、例えば円柱、四角柱等の柱状が挙げられる。

[0013] 前処理液（試薬溶液：R1）は、非イオン性界面活性剤と、水とを含む。この他に、本発明の趣旨を損なわない範囲で、生理的塩類やpH緩衝剤等の任意の成分を含んでもよい。

[0014] 非イオン性界面活性剤は、水中で電離する官能基を有しない界面活性剤である。

非イオン性界面活性剤の具体例としては、ポリオキシエチレンエーテル、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート等が挙げられる。なかでも、本発明の効果が特に奏されることから、ポリオキシエチレンエーテルが好ましい。

なお、ポリオキシエチレンエーテルは、ポリオキシエチレン部位と炭化水素基とがエーテル結合した分子をいう。炭化水素基がアルキル基である場合、ポリオキシエチレンアルキルエーテルと呼ばれる。

[0015] ポリオキシエチレンエーテルにおいて、ポリオキシエチレン部位の繰り返し単位の繰り返し数は、例えば3～60の範囲、5～50の範囲、10～40の範囲、15～30の範囲のいずれであってもよい。

ポリオキシエチレンエーテルにおいて、1価の炭化水素の炭素数は、例えば4～30の範囲、5～25の範囲、8～20の範囲、10～15の範囲のいずれであってもよい。

ポリオキシエチレンアルキルエーテルにおいて、アルキル基の炭素数は、例えば4～30の範囲、5～25の範囲、8～20の範囲、10～15の範囲のいずれであってもよい。

[0016] ポリオキシエチレンエーテルの好ましい具体例としては、次のエマルゲン・シリーズ（花王社製）が挙げられる。なお、「エマルゲン」は登録商標である。

- ・エマルゲン120（前記繰り返し数は12、前記アルキル基はドデシル基、HLBは15.3）

- ・エマルゲン108（前記繰り返し数は6、前記アルキル基はドデシル基、HLBは12.1）

- ・エマルゲン420（前記繰り返し数は13、前記炭化水素基はオレイル基（oleyl基；炭素数18の1価の不飽和炭化水素基）、HLBは13.6）

- ・エマルゲン2020G（前記繰り返し数は20、前記アルキル基は炭素数20のオクチルドデシル基、HLBは15.0）

- ・エマルゲン150（前記繰り返し数は47、前記アルキル基はドデシル基、HLBは18.4）

[0017] 非イオン性界面活性剤のHLB値は、12.0～18.5が好ましく、12.0～15.5がより好ましく、13.0～14.0がさらに好ましい。この好ましい範囲であると、本発明の効果がより一層奏される。

非イオン性界面活性剤のHLB値は製造元が公表している数値を引用することができる。非イオン性界面活性剤のHLB値はアトラス法、グリフィン法、デイビス法又は川上法によっても算出することができる。

[0018] 前処理液の総質量に対する非イオン性界面活性剤の含有量は、0.01～2.0質量%が好ましく、0.05～1.5質量%がより好ましく、0.10～1.2質量%がさらに好ましい。

上記下限値以上であると、レクチン結合性の夾雑物質の非特異的な吸着を抑制する効果がより高まる。上記上限値以下であると、標識レクチンのC A R Fに対する結合を妨害することを抑制できる。また、経済的である。

[0019] 保液槽に前処理液を分注する方法は特に制限されず、例えば公知のピペットやディスペンサーにて所定量を注入すればよい。分注する前処理液の温度は例えば4～37℃の範囲とすればよい。分注する前処理液の量としては、保液槽の容積100%に対して、例えば10～90%とすればよい。

[0020] [試料分注工程]

予め前処理液を分注した保液槽に試料を分注する(図1(b))。この際、試料が保液槽の内壁面に直接に接触することを防ぎながら、前処理液の中に試料を分注することが好ましい。このように分注すれば、試料中の測定対象物質及び夾雑物質が内壁面に非特異的に吸着することを低減することができる。分注した試料は保液槽中で前処理液と自然に又は機械的に混合される。混合された溶液を以下では混合液という。

[0021] 保液槽に試料を分注する方法は特に制限されず、例えば公知のピペットやディスペンサーにて所定量を注入すればよい。ここで、混合液の体積は、保液槽の容積の100%以下とし、好ましくは50%以下とする。分注する試料の量としては、前処理液の体積100%に対して、例えば1～200%が挙げられ、5～100%が好ましく、10～50%がより好ましい。この混合割合であると、試料中の夾雑物質に対して非イオン性界面活性剤がよく作用し、夾雑物質が保液槽の内壁面に非特異的に吸着することを十分に低減することができる。分注する試料の温度は例えば4～37℃の範囲とすればよい。

[0022] 保液槽にて前処理液と試料を混合し、混合液を得た後、非イオン性界面活性剤が夾雑物質に作用する時間を確保するために、インキュベーションする

ことが好ましい。その時間は例えば1～10分とし、その温度は例えば4～37℃とすればよい。

[0023] 試料分注工程で用いる試料は生体試料であり、ヒト由来であってもよいし、動物由来であってもよい。試料は血液であってもよいし、培養上清、尿、便、髄液、唾液、汗、腹水、又は細胞あるいは組織の抽出液等であってもよい。血液は全血であってもよいし、血漿であってもよいし、血清であってもよい、血液に対して希釈、精製など任意の処理が施された試料であってもよい。

[0024] [一次反応工程]

保液槽内の混合液に、ヒトガラクトース欠損IgGを担持した磁性粒子を所定量で含む担体分散液（試薬溶液：R2）を所定量で分注する（図1（c））。担体分散液は公知のものを適用できる。

担体分散液に含まれる磁性粒子は、プラスチック樹脂に鉄等の磁性体が埋め込まれたものであり、容器の外側面に磁石を近づけると保液槽の内壁面に磁力で引き寄せられるものである。磁性粒子は、水に対する不溶性担体でもある。

本実施形態においては、測定対象物質であるCARFに結合する、ヒトガラクトース欠損IgGが磁性粒子の表面に公知方法で固定化されたものを用いる。この磁性粒子の複数を適当な分散媒に分散し、担体分散液が得られる。分散媒としては、例えば生理的塩類やpH緩衝剤を含む水溶液が挙げられる。

[0025] 分注した担体分散液は保液槽中で前記混合液と自然に又は機械的に混合され、一次反応液となる。一次反応液において、試料に含まれている可能性のあるCARFと、磁性粒子の表面に固定されたヒトガラクトース欠損IgGがタンパク質間相互作用により結合する。この結合反応（一次反応）が起こる時間を確保するために、インキュベーションすることが好ましい。その時間は例えば1～10分とし、その温度は例えば4～37℃とすればよい。

[0026] インキュベーション後に、容器の外側面に磁石を近づけ、保液槽の内壁面

に磁性粒子を磁力で吸引する。この状態で、保液槽内の反応液（液体）を吸引又はデカンテーションにより、全て除去する（図1（d））。保液槽の内壁面やそこに吸引した磁性粒子に付着している夾雑物質を洗浄するために、保液槽内に洗浄液を分注し、その後に除去する。この洗浄処理を数回行うことが好ましい。この際、磁石を一時的に離して磁性粒子を洗浄液中に分散させると、洗浄効率を高められる。このような洗浄により、磁性粒子に結合したCARFと、磁性粒子に結合しないCARF以外の夾雑物質とを分離（B／F分離）することができる。一般に、B／F分離を伴う試料の処理方法を、ヘテロジニアス法という。

[0027] [標識工程（二次反応工程）]

洗浄した磁性粒子が入っている保液槽に、標識レクチンを所定量で含む標識溶液（試薬溶液：R3）を分注する（図1（e））。標識溶液は公知のものを適用できる。

[0028] 標識レクチンは、標識されたレクチンである。レクチンは、一般に、糖鎖に対する特異的結合性を有するタンパク質として知られている。本実施形態で用いるレクチンは、CARFが有する糖鎖のうち、ガラクトースを有する糖鎖、好ましくは末端にガラクトースを有する糖鎖、に特異的に結合するレクチンである。

具体的なレクチンとしては、ヒマシ種子由来のレクチン、ピーナッツ由来のレクチン、ダイズ由来のレクチン等が挙げられる。これらのうち、糖鎖末端ガラクトース単糖への特異性が高いことから、ヒマシ種子由来のレクチンが好ましい。例えば、市販のVector社製のRCA120が好ましい。

[0029] 標識レクチンが有する標識は、標識レクチンの存在を、その標識単独で又は他の物質を介して、シグナルとして発しうる物質である。シグナルの種類としては、例えば発光、変色、着色、放射線放出等が挙げられる。具体的な標識としては酵素が好ましい。酵素標識されたレクチンに対して、酵素の基質を添加すると、酵素反応の生成物が発光したり、発色したり、変色したりする。これらのシグナルは、酵素と基質の公知の組み合わせに基づき、適宜

選択される。

具体的な標識としては、アルカリフォスファターゼ（ALP）、ホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）等が挙げられる。このうち、反応速度が一定であり、反応時間の延長で検出感度が向上されることから、ALPが好ましい。例えば、市販のRoche社製のALPが好ましい。

なお、レクチンを酵素で標識する方法、すなわちレクチンに酵素を結合する方法は公知であり、例えばいわゆるSATA試薬により結合することができる。

[0030] 分注した標識溶液は保液槽中で前記磁性粒子と接触し、標識溶液中に前記磁性粒子が分散され、二次反応液となる。二次反応液において、前記磁性粒子に結合している可能性のあるCARFと、標識溶液中の標識レクチンとが、糖鎖－レクチンの特異的相互作用により結合する。この結合反応（二次反応）が起こる時間を確保するために、インキュベーションすることが好ましい。その時間は例えば1～10分とし、その温度は例えば4～37℃とすればよい。

[0031] インキュベーション後に、容器の外側面に磁石を近づけ、保液槽の内壁面に磁性粒子を磁力で吸引する。この状態で、保液槽内の反応液（液体）を吸引又はデカンテーションにより、全て除去する（図1（f））。保液槽の内壁面やそこに吸引した磁性粒子に非特異的に付着している標識レクチンを洗浄するために、保液槽内に洗浄液を分注し、その後に除去する。この洗浄処理を数回行うことが好ましい。この際、磁石を一時的に離して磁性粒子を洗浄液中に分散させると、洗浄効率を高められる。このような洗浄により、磁性粒子に特異的に結合した標識レクチンと、磁性粒子に結合しない標識レクチンとを分離（B/F分離）することができる。

[0032] [シグナル測定工程]

前段の工程の後、保液槽には洗浄した磁性粒子が入っている。試料にCARFが含まれている場合、磁性粒子にはCARFが結合し、さらに標識レクチンが結合している。標識レクチンが発するシグナルの量は、試料に含まれ

ていたCARFの量に依存する。

シグナルの検出及び測定の方法は、標識の種類に応じて公知方法から適宜選択される。

[0033] 標識がALPである場合、保液槽に発光基質を含む酵素基質溶液の所定量を分注し、磁石を離して保液槽の内壁面に吸着していた前記磁性粒子を解放し、酵素基質溶液中に分散させ、酵素反応液を得る（図1（g））。ALPが発光基質を分解して発した発光をシグナルとして測定し、これを定量することにより、試料中のCARFの含有量を算出することができる（図1（h））。予めCARFの含有量が分かっている標準試料を用い、そのシグナルの定量と含有量との関係を示す検量線を準備しておくことが好ましい。

[0034] <作用効果>

本実施形態にあつては、前処理液に非イオン性界面活性剤を配合しており、容器に予め前処理液を分注している。これにより、後から分注する試料に含まれるレクチン結合性の夾雑物質やCARFが、保液槽の内壁面や磁性粒子に非特異的に結合することを抑制できる。この結果、シグナル測定工程まで保液槽（検出槽）内に残留するレクチン結合性の夾雑物質の量や、保液槽における磁性粒子上のヒトガラクトース欠損IgG以外の部分に非特異的に吸着するCARFの量を低減することができ、レクチンを用いた測定の再現性若しくは信頼性を高めることができる。

[0035] 以上で説明した第一実施形態の処理方法では、前処理液に非イオン性界面活性剤を配合した。これに代えて、次の第二実施形態の処理方法のように、試料に非イオン性界面活性剤を配合してもよい。

[0036] <第二実施形態>

第二実施形態は、容器の反応槽と検出槽とを兼ねる保液槽に非イオン性界面活性剤を含む試料を分注する工程（前処理済み試料の分注工程）と、前記保液槽に標識レクチンを含む標識溶液を分注する工程（標識工程）と、をこの順番で含む処理方法である。前処理済み試料の分注工程の前に、試料希釈用の溶液を保液槽に分注する工程を含んでもよい。

[0037] [前処理済み試料の分注工程]

保液槽に分注する試料には、非イオン性界面活性剤を予め添加しておく。
つまり、本実施形態で保液槽に分注する試料は、第一実施形態の試料分注工程で得られる混合液と同じものでありうる。

第二実施形態で分注する試料の総質量に対する非イオン性界面活性剤の含有量は、例えば0.05～2.00質量%とすることができ、0.5～1.5質量%が好ましい。

本実施形態で使用する非イオン性界面活性剤の説明は第一実施形態の説明と同じであるので、重複する説明は省略する。

本実施形態で使用する透明容器の説明は第一実施形態の説明と同じであるので、重複する説明は省略する。

本実施形態において保液槽に試料を分注する方法の説明は第一実施形態の説明と同じであるので、重複する説明は省略する。

[0038] 第二実施形態において、第一実施形態の[一次反応工程]、[標識工程（二次反応工程）]、[シグナル測定工程]と同様に各工程を順に行うことが好ましい。

[0039] <作用効果>

本実施形態にあっては、試料に非イオン性界面活性剤を予め添加している。この段階で、試料に含まれるレクチン結合性の夾雑物質が、非イオン性界面活性剤と相互作用する。

推測であるが、夾雑物質に非イオン性界面活性剤が吸着すると考えられる。この状態の試料を保液槽に分注すると、前記夾雑物質はもはや保液槽の内壁面に非特異的に吸着する性質を失っており、前記夾雑物質が保液槽の内壁面や磁性粒子に非特異的に結合することを抑制できる。この結果、シグナル測定工程まで保液槽（検出槽）内に残留するレクチン結合性の夾雑物質の量を低減することができ、レクチンを用いた測定の再現性若しくは信頼性を高めることができる。

[0040] 本発明の第二態様は、試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジ

ニアス法で光学的に検出するために使用されるキットであって、試料処理試薬、不溶性担体試薬、及び標識レクチン試薬を含み、前記試料処理試薬が非イオン性界面活性剤を含むキットである。

[0041] 試料処理試薬は、非イオン性界面活性剤と、水とを含む。この他に、本発明の趣旨を損なわない範囲で、生理的塩類やpH緩衝剤等の任意の成分を含んでもよい。

試料処理試薬は、試料と混合する目的で使用される。前述の第一実施形態の前処理液として使用してもよいし、前述の第二実施形態の試料に予め添加する薬剤として使用してもよい。

[0042] 不溶性担体試薬は、ヒトガラクトース欠損IgGを担持した不溶性担体を含み、この他に、本発明の趣旨を損なわない範囲で、水、生理的塩類やpH緩衝剤等の任意の成分を含んでもよい。不溶性担体としては、前述の磁性粒子が好ましいが、この例に制限されず、抗体の担体として知られる種々の公知の不溶性担体であってもよい。

不溶性担体試薬は、前述の一次反応工程の担体分散液として使用することができる。

[0043] 標識レクチン試薬は、前記標識レクチンを含み、この他に、本発明の趣旨を損なわない範囲で、水、生理的塩類やpH緩衝剤等の任意の成分を含んでもよい。

標識レクチン試薬は、前述の標識工程の標識溶液として使用することができる。

実施例

[0044] 以下、「%」や「部」の単位は、特に明記しない限り、質量基準の「質量%」や「質量部」を意味する。

[0045] [試験の概要]

以下の試験例で用いる容器は透明プラスチック製の保液槽（容積0.5 ml）を備える。保液槽は反応槽と検出槽を兼ねる。以下で特に明記しない限り、各溶液の温度は37℃とした。

まず、保液槽に前処理溶液の所定量（一例では0.1 mL）を分注し、保液槽の内壁面に前処理液を接触させた。

次に、レクチン結合性の測定対象物質であるCARFを含む可能性があり、かつ、レクチン結合性の夾雑物質（非測定対象物質）を含む可能性がある試料溶液の所定量（一例では10 μ L）を、前処理溶液と混合するようにして保液槽へ分注した。保液槽内にこれらの混合液が得られた。混合液を所定温度、所定時間（一例では37℃、3.5分）でインキュベートした。

続いて、ヒトガラクトース欠損IgGを担持した磁性粒子を所定量で含む担体分散液の所定量（一例では50 μ L）を保液槽へ分注し、前記混合液とよく混ぜ、一次反応液を得た。

CARFと前記IgGとが結合する一次反応のための所定の反応時間（一例では37℃、2.7分）が経過した後、容器の外側面に磁石を付け、保液槽の内壁面に前記磁性粒子を磁力で吸引した。この状態で、保液槽内の反応液を吸引して、液体を全て除去した。保液槽内に洗浄液を分注し、吸引する洗浄処理を数回行った。

次に、保液槽に酵素標識されたレクチンを含む標識溶液の所定量（一例では0.1 mL）を分注し、磁石を離して保液槽の内壁面に吸着していた前記磁性粒子を解放し、標識溶液中に分散させ、二次反応液を得た。

前記磁性粒子に前記IgGを介して結合したCARFに対して、前記レクチンが結合する二次反応のための反応時間（一例では37℃、4.4分）が経過した後、容器の外側面に再び磁石を付け、保液槽の内壁面に前記磁性粒子を磁力で吸着させた。この状態で、保液槽内の反応液を吸引して、液体を全て除去した。保液槽内に洗浄液を分注し、吸引する洗浄処理を数回行った。

続いて、保液槽に発光基質を含む酵素基質溶液の所定量（一例では100 μ L）を分注し、磁石を離して保液槽の内壁面に吸着していた前記磁性粒子を解放し、酵素基質溶液中に分散させ、酵素反応液を得た。

最後に、前記酵素反応液中で、前記酵素が前記発光基質を分解する際の発

光量を測定した。発光量は、前記試料に含まれる測定対象物質の含有量に応じて高くなる。ただし、この発光量は、前記夾雑物質が前記二次反応液に残存していると、真の測光値よりも高くなってしまう。

本発明に係る実施例にあつては、前記夾雑物質による悪影響を低減するために、前処理液に非イオン性界面活性剤を配合している。

以下で、各試験例の方法とその結果を示し、種々の非イオン性界面活性剤の効果を示す。

[0046] 1 化学発光測定法試薬の調製

1-1 反应用緩衝液の調製

反应用緩衝液（以降、R1と記載）として、以下の組成の溶液を用いた。

50mM Tris-HCl、150mM NaCl、pH8.0

当該組成の溶液を「標準R1」とする。

[0047] 1-2 ガラクトース欠損IgGの調製

ヒト精製IgG抗体（Merck社製）を0.1M酢酸バッファー（pH5.0）で透析した。10mgのヒトIgG抗体を含む溶液に1UのNeuraminidase（Roche社製）を添加し、37℃で24時間静置した。0.5UのGalactosidase（Agilent社製）、及び全液量と等量の0.1Mリン酸-クエン酸バッファー（90mM Na₂HCO₃、10mMクエン酸、pH7.0）を添加し、37℃で48時間静置した。0.1M酢酸バッファー（pH5.0）で平衡化したProteinGカラム（Cytiva製）に抗体液を添加し、0.1Mグリシン（pH3.0）で溶出した。回収した抗体液を炭酸バッファー（0.1M NaHCO₃、0.5M NaCl、pH9.5）で2回透析してガラクトース欠損IgG溶液を得た。

[0048] 1-3 ガラクトース欠損IgG固相磁性粒子懸濁液の調製

Dynabeads M-280 Tosylactivated（Thermo Fisher Scientific社製、以下「M280」と記載）22.5mgを炭酸バッファーで洗浄し、溶液を除去した。280n

mにおける吸光度が1.12 Absとなるように炭酸バッファーで希釈したガラクトース欠損IgG溶液0.75 mLを洗浄済みのM280に添加して25℃で18時間攪拌した。2 Mグリシンを187.4 μ L添加し、25℃で60分間攪拌した。洗浄液(50 mM Tris、0.5% Tween 20、pH 8.0) 0.75 mLで2回洗浄した。溶液中のM280濃度が0.25 mg/mLとなるよう、磁性粒子希釈液(50 mM HEPES、150 mM NaCl、0.01% Tween 20、0.33% スクロース、pH 8.0)を添加し、ガラクトース欠損IgG固相磁性粒子懸濁液(以降、「標準R2」と記載)を得た。

[0049] 1-4 グリシン固相磁性粒子懸濁液の調整

M280 22.5 mgを炭酸バッファーで洗浄し、溶液を除去した。2 Mグリシンを187.4 μ L添加し、25℃で60分間攪拌した。洗浄液(50 mM Tris、0.5% Tween 20、pH 8.0) 0.75 mLで2回洗浄した。溶液中のM280濃度が0.25 mg/mLとなるよう磁性粒子希釈液を添加し、抗体未結合磁性粒子溶液(以降、「抗体未結合R2」と記載)を得た。

[0050] 1-5 ALP標識RCA120溶液の調製

PBSで透析した、ヒマシ種子由来のレクチンであるRCA120(Vector社製)に、20 mM N-succinimidyl S-acetylthioacetate(Thermo Fisher Scientific社製、DMSOで溶解、以下SATAと記載)を、モル比でRCA120:SATA=1:2.5となるように添加し、25℃で30分間攪拌した。RCA120-SATA反応液の液量の10分の1量のHydroxylamine溶液(500 mM Hydroxylamine、20 mM PBS、25 mM EDTA、pH 7.5)を添加し、25℃で2時間攪拌した。脱塩カラム(NAP5カラム、Cytiva社製)に反応液を添加し、PBSで溶出してチオール基付加RCA120溶液を得た。PBSで透析したAlkaline Phosphatase, recombinant

nt, highly active, carbohydrate reduced (Roche社製、以下ALPと記載)に、10mM SM (PEG) 2 (PEGylated SMCC crosslinker, Thermo Fisher Scientific社製、DMSOで溶解)を、モル比でALP : SM (PEG) 2 = 1 : 2.5となるように添加し、25℃で30分間攪拌した。反応液を脱塩カラム (NAP5カラム, Cytiva製)に添加し、PBSで溶出してALP-SMCCを得た。ALP-SMCCとチオール基付加RCA120をモル比1 : 5で混合し、25℃で1時間攪拌した。反応液中のALP標識RCA120を、AKTA pure™ 25 (Cytiva製)とSuperdex200 Increase 10/300GL (Cytiva製)を用いたゲル濾過クロマトグラフィーにより分離し、希釈液 (25mM MES, 150mM NaCl, 1mM MgCl₂, 0.1mM ZnCl₂, 0.01% Tween20, pH6.5)で終濃度0.5μg/mLに希釈し、ALP標識RCA120溶液 (以降、「R3」と記載)を得た。

[0051] 2 標準R1への添加剤追加による非特異反応抑制効果の検証2-1 試料の調製

互いに異なる検体から採取された血清10μLに、検体希釈液 (50mM Tris-HCl、10mM EDTA-2Na、pH8.0) 490μLを添加し、試料1~10とラベルした。また、RO水も試料として用いた。試料中のCARF濃度は、既認証試薬であるピコルミCA・RF (積水メディカル社製)を用いて測定した。

[0052] 2-2 測定試薬

標準R1に下記終濃度となるように下記の化合物を添加したものをR1 (前記「前処理溶液」)として用いた。

実施例1 : 1% エマルゲン108 (花王社製)

実施例2 : 1% エマルゲン2020G (花王社製)

実施例3 : 1% エマルゲン420 (花王社製)

実施例4：0.1% エマルゲン120（花王社製）

実施例5：1% エマルゲン120（花王社製）

実施例6：1% エマルゲン150（花王社製）

比較例1：追加化合物なし

比較例2：0.1% Blockmaster PA1080（JSR Life Sciences社製）

比較例3：0.1% LIPIDURE-BL405（日油社製）

比較例4：0.1% LIPIDURE-BL502（日油社製）

比較例5：0.1% LIPIDURE-BL1002（日油社製）

比較例6：0.1% CHAPS

比較例7：0.05% ドデシル硫酸ナトリウム

[0053] 上記の各実施例で用いた添加剤は非イオン性界面活性剤であり、各比較例で用いた添加剤は「非イオン性界面活性剤」以外の添加剤である。

上記の実施例1～6で用いたエマルゲンのシリーズは、いずれもポリオキシエチレンアルキルエーテルである。

[0054] 2-3 測定方法

全自動臨床検査システムSTACIA（LISメディエンス社製、以下ステイシア）を用いて、前述の「試験の概要」に沿って、以下の操作で測定した。

10 μ Lの試料と100 μ LのR1を混合し、37℃で3.5分間インキュベートした。

50 μ Lの前記磁性粒子希釈液を添加し、磁性粒子を含まない疑似の一次反応液を得て、37℃で2.7分間インキュベートした。

BF洗浄液（BF洗浄液（ステイシア用）、製品番号RM75W-007）で洗浄後、100 μ LのR3を添加し、二次反応液を得て、37℃で4.4分間インキュベートした。

BF洗浄液で洗浄後、ALP基質液を添加して2.7分間インキュベートした後、化学発光を検出した。

[0055] 2-4 結果

結果を表1に示す。測定系にはガラクトース欠損IgG固相磁性粒子が存在せず、サンドイッチ検出系が成り立たないため、試料中にCARFが存在している場合にもRO水を測定した際と近いカウントを示すことが望ましい。

添加剤を加えていない比較例1では、有意なカウント上昇を認め、反応容器かつ検出容器であるキュベット（前記「保液槽」）にCARF、又は検体由来のRCA120結合性成分が吸着することによる非特異反応が生じていると考えられた。

R1に非イオン性界面活性剤を添加した実施例1～6で、全試料において当該非特異反応によるカウント上昇が抑制され、比較例1と比べてカウントが1/2未満となった。特にHLBが16未満の非イオン性界面活性剤を添加した実施例1～5での非特異反応抑制効果が高かった。

一方で、両親媒性ポリマーを添加した比較例2、アニオン性側鎖ポリマーを添加した比較例3、カチオン性側鎖ポリマーを添加した比較例4、疎水性側鎖ポリマーを添加した比較例5、両親媒性界面活性剤を添加した比較例6、陰イオン性界面活性剤を添加した比較例7では、全試料に一貫した非特異反応によるカウント抑制効果を認めなかった。

[0056]

[表1]

試料	試料中 CARF濃度 [AU/mL]	実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	実施例5	実施例6	比較例1	比較例2	比較例3	比較例4	比較例5	比較例6	比較例7
		1.00% エマルゲン108	1.00% エマルゲン2020G	1.00% エマルゲン420	0.10% エマルゲン120	1.00% エマルゲン120	1.00% エマルゲン150	添加剤 なし	0.10% PA1080	0.10% BL405	0.10% BL502	0.10% BL1002	0.10% CHAPS	0.10% SDS
R0水	0	185	201	249	189	209	194	179	171	177	164	197	177	204
試料1	3.8	356	310	290	897	406	765	8,647	15,451	11,614	10,360	20,357	13,397	18,706
試料2	10.1	437	454	347	2,442	592	518	28,185	25,205	11,882	16,577	25,343	34,491	20,259
試料3	11.7	340	279	326	1,142	477	1,895	12,940	15,338	14,147	12,144	25,765	19,694	16,793
試料4	24.5	272	303	280	710	351	2,502	6,696	8,318	12,192	10,680	23,832	7,772	10,687
試料5	36.8	349	225	348	1,382	480	5,471	40,733	26,797	53,672	34,480	26,167	28,953	23,202
試料6	49.5	327	346	251	1,450	459	4,791	37,366	27,787	24,247	27,980	30,745	20,319	32,335
試料7	115.3	410	625	559	2,334	683	9,012	20,679	26,002	21,015	20,998	26,622	29,868	16,105
試料8	194.6	323	233	252	790	425	2,380	7,214	6,986	5,325	12,595	10,101	10,022	8,766
試料9	208.6	780	657	814	2,177	760	1,583	11,433	17,729	20,642	15,349	26,941	24,629	23,164
試料10	268.2	347	404	236	2,584	697	2,479	14,730	14,152	27,917	16,086	35,405	29,350	29,561

「カウント

[0057] 3 R 1 への添加剤濃度による非特異反応抑制効果の検証 3-1 試料の調製

2-1 と同様にして試料 1 1 ~ 1 5 を調製した。

[0058] 3-2 測定試薬

実施例 3 ~ 5 の R 1 をそのまま用いた。また、標準 R 1 に、下記の終濃度となるように下記の化合物を添加したものを R 1 として用いた。

実施例 7 : 0. 0 5 % エマルゲン 1 2 0 (花王社製)

実施例 8 : 0. 2 0 % エマルゲン 1 2 0

実施例 9 : 0. 0 5 % エマルゲン 4 2 0

実施例 1 0 : 0. 1 0 % エマルゲン 4 2 0

実施例 1 1 : 0. 2 0 % エマルゲン 4 2 0

[0059] 3-3 測定方法

全自動臨床検査システム S T A C I A (L I S メディエンス社製、以下ステイシア) を用いて、前述の「試験の概要」に沿って、以下の操作で測定した。

1 0 μ L の試料と 1 0 0 μ L の R 1 を混合し、3 7 $^{\circ}$ C で 3. 5 分間インキュベートした。

5 0 μ L の前記抗体未結合 R 2 を添加し、ガラクトース欠損 I g G を有しない磁性粒子を含んだ疑似の一次反応液を得て、3 7 $^{\circ}$ C で 2. 7 分間インキュベートした。

B F 洗浄液で洗浄後、1 0 0 μ L の R 3 を添加し、二次反応液を得て、3 7 $^{\circ}$ C で 4. 4 分間インキュベートした。

B F 洗浄液で洗浄後、A L P 基質液を添加して 2. 7 分間インキュベートした後、化学発光を検出した。

[0060] 3-4 結果

結果を表 2 に示す。測定系にはガラクトース欠損 I g G 抗体が存在せず、サンドイッチ検出系が成り立たないため、試料中に C A R F が存在している場合にも R O 水を測定した際と近いカウントを示すことが望ましい。

添加剤を加えていない比較例 1 では、有意なカウント上昇を認め、キューベット（前記「保液槽」）や磁性粒子表面に C A R F 等が吸着することによる非特異反応が生じていると考えられた。

実施例 3 ～ 5 および 7 ～ 1 1 では当該非特異反応が抑制され、比較例 1 と比べてカウントが 1 / 2 未満となった。また、非イオン性界面活性剤添加濃度上昇に伴って非特異反応によるカウントは低下した。

[0061]

[表2]

		[カウント]								
試料	試料中 CARF濃度 [AU/mL]	実施例7	実施例4	実施例8	実施例5	実施例9	実施例10	実施例11	実施例3	比較例1
R0水	0	303	277	250	198	388	327	334	295	238
試料11	1.6	9,115	7,941	7,085	5,000	2,484	1,672	1,176	641	68,222
試料12	2.9	7,656	7,364	8,781	3,031	5,190	4,441	1,406	762	131,430
試料13	4.5	7,785	5,314	5,590	4,576	3,379	2,363	1,542	600	95,618
試料14	8.6	6,955	4,933	5,195	4,555	2,864	1,902	980	628	70,439
試料15	16.2	4,910	6,207	4,729	3,999	1,389	1,042	878	632	25,191

[0062] 4 R 1 ～ R 3 に添加剤を追加した際の特異反応抑制効果の比較 4 - 1

試料の調製

2-1と同様にして試料16～24を調製した。

[0063] 4-2 測定試薬

[実施例12]

標準R1に1% エマルゲン420（花王社製）を添加したものをR1（前記「前処理溶液」）として用いた。1-3の標準R2を用いた。1-5のR3をそのまま用いた。

[比較例8]

標準R1を前記「前処理溶液」として用いた。1-3の磁性粒子希釈液（抗体無し）を用いた。1-5のR3をそのまま用いた。

[比較例9]

標準R1を前記「前処理溶液」として用いた。1-3の磁性粒子希釈液（抗体無し）に1% エマルゲン420（花王社製）を添加して用いた。1-5のR3をそのまま用いた。

[比較例10]

標準R1を前記「前処理溶液」として用いた。1-3の磁性粒子希釈液（抗体無し）をそのまま用いた。1-5のR3に1% エマルゲン420（花王社製）を添加して用いた。

[0064] 4-3 測定方法

4-2の試薬を用い、2-3と同様の操作で測定した。

[0065] 4-4 結果

結果を表3に示す。標準R1に非イオン性界面活性剤を添加した実施例12では、非イオン性界面活性剤非添加の比較例8と比べて顕著に非特異反応によるカウント上昇が抑制された。これに対し、R2、R3に非イオン性界面活性剤を添加した比較例9、10では非特異反応抑制効果が十分ではなかった。

[0066]

[表3]

[カウント]					
	CARF濃度 [AU/mL]	実施例12	比較例8	比較例9	比較例10
		1.0%エマルゲン420 — —	— — —	— 1.0%エマルゲン420 —	— — 1.0%エマルゲン420
					R1添加剤 磁性粒子希釈液添加剤 R3添加剤
R0水	0	141	125	138	125
試料16	2.3	140	3,635	2,281	2,909
試料17	5.8	155	15,150	3,899	7,757
試料18	5.0	172	11,602	3,169	4,244
試料19	19.2	153	7,184	2,297	6,009
試料20	43.4	177	24,337	8,418	8,529
試料21	92.2	217	8,443	3,643	6,919
試料22	176.8	161	4,963	2,147	3,279
試料23	194.6	151	4,620	1,707	5,354
試料24	342.3	322	6,723	4,468	5,536

[0067] 5 検体希釈液への非イオン性界面活性剤添加による非特異反応抑制効果検

証 5－1 試料の調製

実施例 1 3 の試料の調製を次の通り行った。

前記検体希釈液（50 mM Tris-HCl、10 mM EDTA-2 Na、pH 8.0）に、1%エマルゲン420を添加した検体希釈液Sを準備した。

前述の実施例12で使用したのと同じ血清10 μ Lに、検体希釈液Sの500 μ Lをそれぞれ添加し、試料16~24とした。また、RO水も試料として用いた。試料中のCARF濃度はピコルミCA・RF（積水メディカル社製）を用いて測定した。

[0068] 5-2 測定試薬

5-3 測定方法

次の試薬を用い、2-3と同様の操作で測定した。

[実施例13]

標準R1を前記「前処理溶液」として用いた。1-3の磁性粒子希釈液を用い、疑似の一次反応液を得た。1-5のR3をそのまま用い、二次反応液を得た。

[0069] [実施例12（再試験）]

4-1と同じ試料を用い、4-2と同じ試薬を用い、2-3と同様の操作で、再度測定した。

[比較例8（再試験）]

4-1と同じ試料を用い、4-2と同じ試薬を用い、2-3と同様の操作で、再度測定した。

[0070] 5-4 結果

実施例13の結果を、再度行った実施例12、比較例8の結果と合せて、表4に示す。

検体希釈液に非イオン性界面活性剤を添加した実施例13で、標準R1に非イオン性界面活性剤を添加した実施例12と同等の非特異反応抑制効果を認めた。

[0071]

[表4]

[カウント]				
	CARF濃度 [AU/mL]	実施例12	実施例13	比較例8
		— 1.0%エマルゲン420	1.0%エマルゲン420 —	— —
R0水	0	120	128	118
試料16	2.3	149	198	4,533
試料17	5.8	171	371	19,052
試料18	5.0	155	297	13,235
試料19	19.2	168	283	12,401
試料20	43.4	187	278	18,701
試料21	92.2	147	273	12,352
試料22	176.8	142	234	8,986
試料23	194.6	140	284	11,288
試料24	342.3	274	466	11,359

[0072] 6 非イオン性界面活性剤添加による同時再現性への影響検証 6－1 試料の調製

2－1と同様に試料25～28を調製した。

[0073] 6－2 測定試薬

〔実施例 1 4〕

実施例 4 の R 1 を前記「前処理溶液」として用いた。1－3 で調製した R 2 を用いた。1－5 で調製した R 3 を用いた。

〔実施例 1 5〕

実施例 1 0 の R 1 を前記「前処理溶液」として用いた。1－3 で調製した R 2 を用いた。

1－5 で調製した R 3 を用いた。

〔比較例 1 1〕

標準 R 1 を前記「前処理溶液」として用いた。1－3 で調製した R 2 を用いた。1－5 で調製した R 3 を用いた。

〔0074〕 6－3 測定方法

全自動臨床検査システム S T A C I A（L I S メディエンス社製、以下ステイシア）を用いて、前述の「試験の概要」に沿って、以下の操作で測定した。

1 0 μ L の試料と 1 0 0 μ L の R 1 を混合し、3 7℃で 3. 5 分間インキュベートした。

5 0 μ L の R 2 を添加し、一次反応液を得て、3 7℃で 2. 7 分間インキュベートした。

B F 洗浄液で洗浄後、1 0 0 μ L の R 3 を添加し、二次反応液を得て、3 7℃で 4. 4 分間インキュベートした。

B F 洗浄液で洗浄後、A L P 基質液を添加して 2. 7 分間インキュベートした後、化学発光を検出した。

C A R F 濃度が既知の試料を測定した際のカウント値と C A R F 濃度をプロットして作成した検量線により、検出した化学発光値から試料中の C A R F 濃度を算出した。

〔0075〕 6－4 結果

表 5 に結果を示す。C A R F 濃度が低い試料 2 5 を含むすべての試料を測定した際の変動係数（C. V. ）が、標準 R 1 に非イオン性界面活性剤を添

加した実施例 1 4、1 5 で良好であった。比較例 1 1 では C A R F 濃度が低い試料 2 5 を測定した際に測定値のばらつきが大きかった。

これらの結果から、本発明に係る実施例にあっては、非イオン性界面活性剤の添加による非特異吸着抑制により、測定値の同時再現性の向上効果が得られることが分かった。

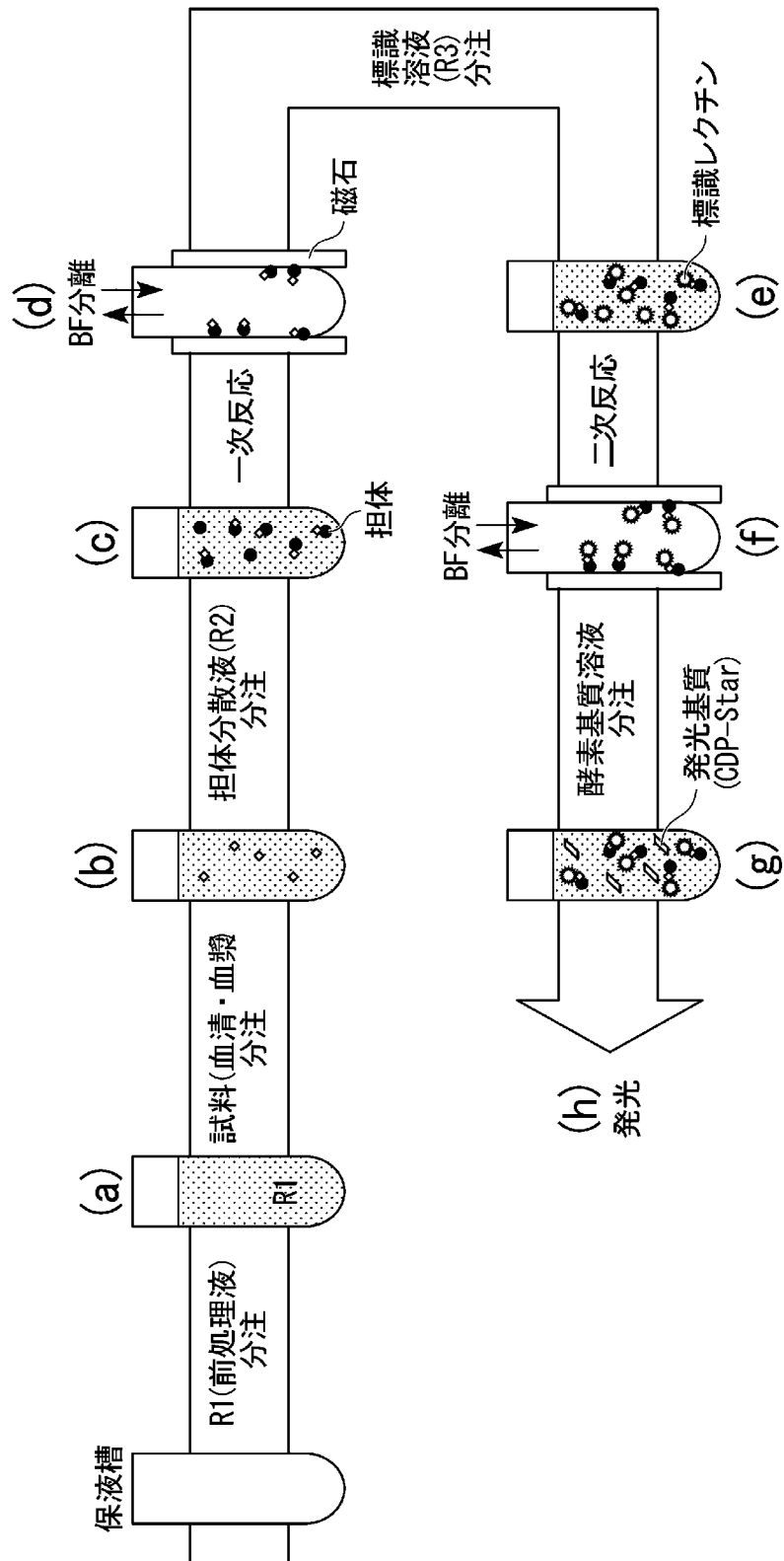
[0076] [表5]

測定	実施例14				実施例15				比較例11			
	試料25	試料26	試料27	試料28	試料25	試料26	試料27	試料28	試料25	試料26	試料27	試料28
1回目	2.3	3.4	102.1	372.2	1.7	3.1	107.2	355.9	2.7	4.0	92.1	336.3
2回目	2.3	3.5	112.3	376.1	2.1	3.0	119.8	330.8	4.2	4.6	94.8	357.7
3回目	2.3	3.7	118.5	352.8	1.7	3.0	110.2	339.7	3.7	4.1	107.5	362.8
4回目	2.2	3.4	104.3	363.3	2.1	3.0	104.7	326.6	3.9	4.4	97.3	336.4
5回目	2.3	3.2	113.6	374.3	1.8	3.4	104.3	338.4	3.4	4.4	102.7	332.8
6回目	2.4	3.4	109.0	359.3	1.9	3.0	103.2	391.9	3.5	3.7	106.1	337.0
7回目	2.2	3.5	106.3	409.4	1.9	3.1	110.8	351.7	3.2	3.7	101.6	347.6
8回目	2.2	3.4	112.5	353.2	1.9	3.3	111.0	372.7	3.4	3.9	95.8	363.0
9回目	2.1	3.6	107.2	359.3	2.0	3.1	108.7	349.8	3.4	4.1	105.1	345.8
10回目	2.2	3.5	104.2	333.8	2.0	3.1	101.6	332.1	3.1	3.8	106.7	307.2
平均値	2.3	3.5	109.0	365.4	1.9	3.1	108.2	349.0	3.5	4.1	101.0	342.7
C. V.	3.8%	3.9%	4.7%	5.4%	7.6%	4.4%	4.9%	5.9%	12.2%	7.7%	5.5%	4.9%

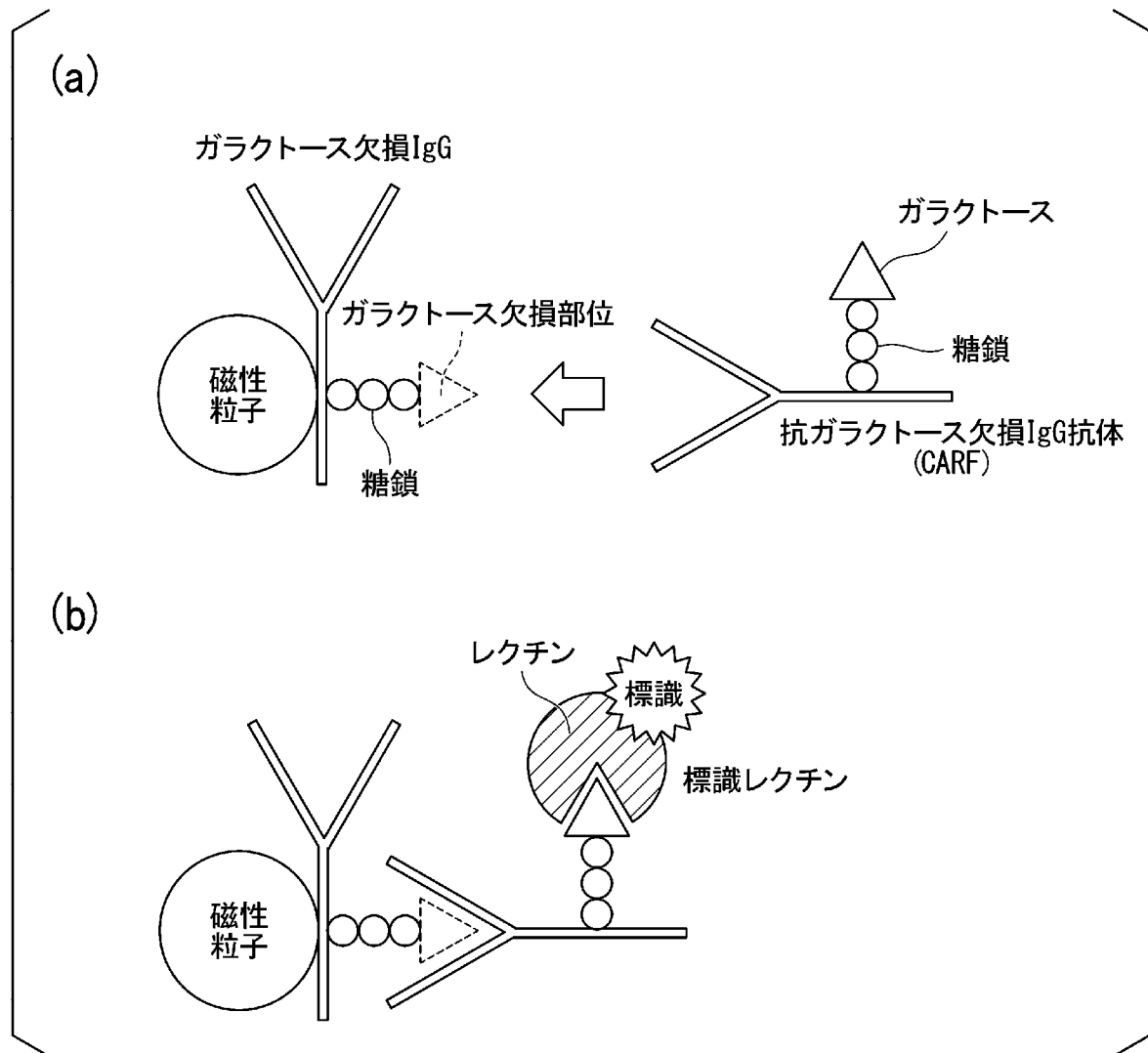
請求の範囲

- [請求項1] 試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するための処理方法であって、
- 容器の反応槽と検出槽とを兼ねる保液槽に非イオン性界面活性剤を含む前処理溶液を分注する工程と、
- 前記保液槽に試料を分注する工程と、
- 前記保液槽に標識レクチンを含む標識溶液を分注する工程と、をこの順番で含む処理方法。
- [請求項2] 前記保液槽に、前記測定対象物質に結合する物質を固定化した不溶性担体を含む担体溶液を分注する工程を含む請求項1に記載の処理方法。
- [請求項3] 前記試料が、前記測定対象物質とは異なり、かつ、前記標識レクチンに結合可能な夾雑物質を含む請求項1に記載の処理方法。
- [請求項4] 前記標識レクチンが、レクチンを酵素標識した物質である請求項1に記載の処理方法。
- [請求項5] 前記非イオン性界面活性剤がポリオキシエチレンアルキルエーテルである請求項1に記載の処理方法。
- [請求項6] 試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するための処理方法であって、
- 容器の反応槽と検出槽とを兼ねる保液槽に非イオン性界面活性剤を含む試料を分注する工程と、
- 前記保液槽に標識レクチンを含む標識溶液を分注する工程と、をこの順番で含む処理方法。
- [請求項7] 試料中のレクチン結合性の測定対象物質をヘテロジニアス法で光学的に検出するために使用されるキットであって、試料処理試薬、不溶性担体試薬、及び標識レクチン試薬を含み、前記試料処理試薬が非イオン性界面活性剤を含むキット。

[図1]



[図2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/009991

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/531(2006.01)i; **C12Q 1/28**(2006.01)i; **C12Q 1/42**(2006.01)i; **G01N 33/483**(2006.01)i; **G01N 33/536**(2006.01)i
FI: G01N33/531 B; G01N33/536 C; G01N33/483 C; C12Q1/28; C12Q1/42

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)

G01N33/531; C12Q1/28; C12Q1/42; G01N33/483; G01N33/536

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 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2021/045065 A1 (FUJIREBIO INC.) 11 March 2021 (2021-03-11) paragraphs [0019]-[0025], [0028]-[0030], [0034], [0038], [0039], [0041]-[0046], [0056], [0069]-[0076]	1-7
Y	WO 2015/068772 A1 (JSR CORPORATION) 14 May 2015 (2015-05-14) paragraphs [0019]-[0042], [0058]	1-7
Y	WO 2013/002193 A1 (KONICA MINOLTA, INC.) 03 January 2013 (2013-01-03) paragraphs [0018]-[0021]	1-7
A	WO 2017/183711 A1 (FUJIREBIO INC.) 26 October 2017 (2017-10-26) paragraphs [0018], [0022], [0025], [0029]	1-7
A	JP 2018-191636 A (HIROSHIMA UNIV.) 06 December 2018 (2018-12-06) paragraphs [0007]-[0008], [0034]-[0036]	1-7



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
“D” document cited by the applicant in the international application
“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

02 May 2024

Date of mailing of the international search report

21 May 2024

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/JP2024/009991

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2021/045065	A1	11 March 2021	US	2022/0326246	A1	
				abstract, paragraphs [0007]- [0008]			
				EP	4027142	A1	
				CN	114303063	A	
WO	2015/068772	A1	14 May 2015	US	2016/0349246	A1	
				abstract, paragraphs [0036]- [0048]			
				CN	105723221	A	
WO	2013/002193	A1	03 January 2013	(Family: none)			
WO	2017/183711	A1	26 October 2017	(Family: none)			
JP	2018-191636	A	06 December 2018	US	2020/0116714	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	3623809	A1	

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; C12Q 1/28(2006.01)i; C12Q 1/42(2006.01)i; G01N 33/483(2006.01)i;
G01N 33/536(2006.01)i
FI: G01N33/531 B; G01N33/536 C; G01N33/483 C; C12Q1/28; C12Q1/42

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））
G01N33/531; C12Q1/28; C12Q1/42; G01N33/483; G01N33/536

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 1971-2024年
日本国実用新案登録公報 1996-2024年
日本国登録実用新案公報 1994-2024年

国際調査で利用した電子データベース（データベースの名称、調査に利用した用語）
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

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
Y	WO 2021/045065 A1 (富士レボ株式会社) 11.03.2021 (2021-03-11) [0019]-[0025], [0028]-[0030], [0034], [0038]-[0039], [0041]-[0046], [0056], [0069]-[0076]	1-7
Y	WO 2015/068772 A1 (JSR株式会社) 14.05.2015 (2015-05-14) [0019]-[0042], [0058]	1-7
Y	WO 2013/002193 A1 (コニカミノルタ株式会社) 03.01.2013 (2013-01-03) [0018]-[0021]	1-7
A	WO 2017/183711 A1 (富士レボ株式会社) 26.10.2017 (2017-10-26) [0018], [0022], [0025], [0029]	1-7
A	JP 2018-191636 A (国立大学法人広島大学) 06.12.2018 (2018-12-06) [0007]-[0008], [0034]-[0036]	1-7

☐ 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、一般の技術水準を示すもの

“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献

“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

02.05.2024

国際調査報告の発送日

21.05.2024

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）

中村 直子 2J 4406

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

様式 PCT/ISA/210（第2ページ）（2022年7月）

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/009991

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2021/045065	A1	11.03.2021	US	2022/0326246	A1	
				abstract, [0007]-[0008]			
				EP	4027142	A1	
				CN	114303063	A	
WO	2015/068772	A1	14.05.2015	US	2016/0349246	A1	
				abstract, [0036]-[0048]			
				CN	105723221	A	
WO	2013/002193	A1	03.01.2013	(ファミリーなし)			
WO	2017/183711	A1	26.10.2017	(ファミリーなし)			
JP	2018-191636	A	06.12.2018	US	2020/0116714	A1	
				全文全図			
				EP	3623809	A1	