

明 細 書

発明の名称：

検体中に含まれる蛋白質を安定化する方法、検体中に含まれる蛋白質を安定化させるための溶液

技術分野

[0001] 本発明は、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を安定化する方法、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を安定化させるための安定化溶液、ならびに生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を検出するための方法およびキットに関する。

背景技術

[0002] 糞便、尿、唾液等の検体中に含まれる蛋白質の検出は、多くの疾患の診断に有用である。例えば糞便検体中の血液を検出する便潜血検査により、大腸癌をはじめとする消化器疾患の診断における重要な情報を得ることができる。糞便等の検体中に含まれる、ヘモグロビンやハプトグロビン、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体等の血液蛋白質などを検出する方法として、これらの蛋白質に対する抗体を用いて検出する免疫学的測定方法が知られている。

[0003] 潜血検査に用いる検体は、通常、被験者自身が保存溶液の入った保存容器に採取し、病院等の検査機関に輸送される。多くの場合、検体を含有する保存溶液（試料）の輸送には数日間を要し、輸送中の温度の管理は一般的に困難なために、保存上好ましくない温度条件にさらされることも多い。検体中に含まれる血液蛋白質等の蛋白質が、輸送時の温度条件等によって変性したり、検体中の細菌や酵素によって分解または修飾されたりすることで、エピトープまたはその近傍の構造が変化すると、抗体がこれらの糞便中に含まれる蛋白質を認識できなくなり、免疫学的測定法による正確な測定ができなくなる。特にヘモグロビンは溶液中で不安定であり、高温条件下では特に変性または分解しやすい。

- [0004] 保存溶液中のヘモグロビンを安定化する技術としては、例えば、チメロサル、クロルヘキシジン等の抗菌剤を添加する方法（例えば、特許文献1）、プロテアーゼ阻害物質を添加する方法（例えば、特許文献2）、グリコシダーゼ型溶菌酵素を添加する方法（例えば、特許文献3）、ヘモグロビンの酵素分解産物を添加する方法（例えば、特許文献4）、リンゴ酸等の有機酸を添加する方法（例えば、特許文献5）、イミノカルボン酸を添加する方法（例えば、特許文献6）、ハロアルカンスルホン酸を添加する方法（例えば、特許文献7）等の様々な方法が提案されている。
- [0005] さらに、ヘモグロビンを安定化するために、ハプトグロビンを添加する方法も知られている（例えば、特許文献8）。ハプトグロビンは、幅広い動物の血液中に存在し、ヘモグロビンと速やかに結合し、安定なヘモグロビン-ハプトグロビン複合体（Hb-Hp複合体）を形成することが知られている。糞便等の検体を保存する保存溶液等にあらかじめハプトグロビンを添加しておくことで、糞便等の検体を加えた際に、生体に由来する検体に含まれるヘモグロビンを、安定なヘモグロビン-ハプトグロビン複合体にすることができる。
- [0006] しかしながら、ヘモグロビンは非常に不安定であることから、これらのヘモグロビンの安定化方法であっても、その変性あるいは分解を十分に防ぐには至っていない。そのため、便潜血を検出する方法として、ヘモグロビンよりも安定性にすぐれたトランスフェリンを測定する方法も知られている（例えば、特許文献9）が、血液中のトランスフェリンは、ヘモグロビンの1/60程度しか存在しないため、感度が低いという問題がある。

先行技術文献

特許文献

- [0007] 特許文献1：特開昭63-271160号公報
特許文献2：特開平3-279859号公報
特許文献3：特開昭63-246667号公報
特許文献4：特開平11-218533号公報

特許文献5：特開2003-14768号公報

特許文献6：特開2009-097956号公報

特許文献7：特開2016-191580号公報

特許文献8：特開平10-132824号公報

特許文献9：特開昭63-246668号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 糞便、尿、唾液等の生体由来の検体、特に糞便中には、ヘモグロビン等の蛋白質の分解や修飾を引き起こす細菌や酵素が多く存在するため、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体のような比較的安定性の高い蛋白質であっても、分解や修飾されてしまう場合があった。

そこで、本発明は、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、分解や変性等の起こりやすい好ましくない温度条件においても安定性を高める方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] [1] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を安定化する方法であって、

前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、アリールボロン酸と共存させる工程を含み、

前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、方法。

[2] アリールボロン酸が、フェニルボロン酸およびその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、[1]に記載の方法。

[3] アリールボロン酸が、フェニルボロン酸、ヒドロキシフェニルボロン酸、カルボキシフェニルボロン酸、アミノフェニルボロン酸およびこれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも一種である、[1][2]に記載の方法。

〔４〕 前記工程は、前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、前記アリアルボロン酸を含む溶液中に分散させる工程であり、

前記アリアルボロン酸の前記溶液中の濃度が、 0.1 mmol/L 以上である、〔１〕～〔３〕に記載の方法。

〔５〕 前記工程は、前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、前記アリアルボロン酸および糖と共存させる工程である、〔１〕～〔４〕に記載の方法。

〔６〕 前記糖が、糖アルコール、単糖および二糖からなる群から選ばれる少なくとも一種である、〔５〕に記載の方法。

〔７〕 前記糖が、ソルビトール、グルコース、マンニトール、フルクトース、キシリトール、エリトリトール、スクロース、トレハロース、ラクトース、およびマルトースからなる群から選ばれる少なくとも一種である、〔５〕〔６〕に記載の方法。

〔８〕 前記工程は、前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、前記アリアルボロン酸および前記糖を含む溶液中に分散させる工程であり、

前記糖の前記溶液中の濃度が、 5 mmol/L 以上である、〔５〕～〔７〕に記載の方法。

〔９〕 前記生体に由来する検体は、ヘモグロビンを少なくとも含み、

前記方法は、当該ヘモグロビンと、ハプトグロビンとを接触させ、ヘモグロビンとハプトグロビンとの複合体を形成させる工程を含む、〔１〕～〔８〕に記載の方法。

〔１０〕 前記生体に由来する検体が、糞便、唾液、または尿である、〔１〕～〔９〕に記載の方法。

[0010] 〔１１〕 生体に由来する検体に含まれる蛋白質を安定化させるための溶液であって、

アリアルボロン酸を含み、

前記生体に由来する検体に含まれる蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン－ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる

少なくとも一種である、安定化溶液。

〔１２〕 前記アリールボロン酸が、フェニルボロン酸およびその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、〔１１〕に記載の安定化溶液。

〔１３〕 前記アリールボロン酸が、フェニルボロン酸、ヒドロキシフェニルボロン酸、カルボキシフェニルボロン酸、アミノフェニルボロン酸およびこれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも一種である、〔１１〕〔１２〕に記載の安定化溶液。

〔１４〕 糖を含む、〔１１〕～〔１３〕に記載の安定化溶液。

〔１５〕 糖が、ソルビトール、グルコース、マンニトール、フルクトース、キシリトール、エリトリトール、スクロース、トレハロース、ラクトース、およびマルトースからなる群から選ばれる少なくとも一種である、〔１４〕に記載の安定化溶液。

〔１６〕 ハプトグロビンを含む、〔１１〕～〔１５〕に記載の安定化溶液。

〔１７〕 前記検体が糞便、唾液、または尿である、〔１１〕～〔１６〕に記載の安定化溶液。

〔１８〕 前記生体に由来する検体を保存するための溶液である、〔１１〕～〔１７〕に記載の安定化溶液。

[0011] 〔１９〕 生体に由来する検体中の蛋白質を検出する方法であって、

〔１１〕～〔１８〕に記載の安定化溶液に、前記生体に由来する検体を添加して当該検体を含有する試料を得る工程と、

試料中の前記蛋白質を免疫学的測定方法により検出する工程と、
を備え、

前記生体に由来する検体中の蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン－ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、方法。

〔２０〕 前記生体に由来する検体は、ヘモグロビンを少なくとも含み、

前記試料中の前記ヘモグロビンはハプトグロビンと複合体を形成している、〔１９〕に記載の方法。

〔２１〕 前記安定化溶液は、〔１６〕に記載の安定化溶液である、〔２０〕に記載の方法。

[0012] 〔２２〕 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を検出するためのキットであって、

〔１１〕～〔１８〕に記載の安定化溶液と、

前記蛋白質を認識する抗体を含む試薬と、

を含み、

前記蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、キット。

発明の効果

[0013] 本発明によれば、生体に由来する検体中に含まれる血液蛋白質等の蛋白質を安定化することができる。いいかえれば、本発明によれば、生体に由来する検体中に含まれる血液蛋白質等の蛋白質の変性、分解や修飾を防ぐことができる。よって、本発明によれば、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を免疫学的測定方法により正確に測定することが可能となる。

発明を実施するための形態

[0014] 以下、本発明の好適な実施形態について説明する。

[0015] 〔生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定化方法、蛋白質の安定化溶液〕

本発明の一実施形態に係る、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定化方法は、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、アリアルボロン酸と共存させる工程を含む。本実施形態において、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質は、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種であってよい。

[0016] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、アリアルボロン酸と共存させ

ることにより、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定性を高めることができる。蛋白質を含む生体に由来する検体は、糞便、唾液、または尿であってよく、糞便であってよい。

[0017] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、アリールボロン酸と共存させる方法は特に限定されないが、アリールボロン酸を含む溶液中に、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を分散させる方法が挙げられる。ここで、「分散」には溶解および懸濁が含まれる。

アリールボロン酸を含む溶液としては、生体に由来する検体を保存するための保存溶液、検体を保存溶液に分散させた試料をさらに希釈するための希釈溶液、検体中の蛋白質を検出するためのキット等における反応溶液などが挙げられる。特に、本実施形態によれば、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定性を顕著に向上させることができるため、検体の保存溶液を好適に用いることができる。

[0018] アリールボロン酸は、公知のものから適宜選択することができる。アリールボロン酸は、フェニルボロン酸およびその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも一種であってよく、フェニルボロン酸、ヒドロキシフェニルボロン酸、カルボキシフェニルボロン酸、アミノフェニルボロン酸およびこれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも一種であってよく、フェニルボロン酸、3-ヒドロキシフェニルボロン酸、2-カルボキシフェニルボロン酸、3-カルボキシフェニルボロン酸、4-カルボキシフェニルボロン酸、3-アミノフェニルボロン酸およびこれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも一種であってよく、特に、フェニルボロン酸、3-ヒドロキシフェニルボロン酸、3-カルボキシフェニルボロン酸、3-アミノフェニルボロン酸およびこれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも一種であってよい。

[0019] 上記溶液中のアリールボロン酸の濃度は、下限値が0.1 mmol/L以上、0.2 mmol/L以上、または0.5 mmol/L以上であることが好ましい。アリールボロン酸の濃度が上記下限値以上であると、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定化効果がより優れたものとなる。

また、上記溶液中のアリールボロン酸の濃度は、上限値が100 mmol/L以下、50 mmol/L以下、または30 mmol/L以下であることが好ましい。アリールボロン酸の濃度が高くなりすぎると、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を免疫学的測定法にて測定したときに、見かけ上の回収率が低下することがある。これは、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定化効果が下がるのではなく、高濃度のアリールボロン酸が免疫学的測定に悪影響を与えているものと考えられる。しかし、アリールボロン酸の濃度が上記上限値以下であると、免疫学的測定法への悪影響が抑えられ、より正確に測定することができる。

ただし、溶液中に高濃度のアリールボロン酸が含まれる場合であっても、後述する高濃度の糖と共存する場合には、アリールボロン酸と糖とが複合体を形成することで、高濃度のアリールボロン酸による免疫学的測定方法への悪影響が抑制される。そのため、高濃度の糖と共存する場合には、アリールボロン酸の濃度が50 mmol/L程度、さらには100 mmol/L程度であっても、免疫学的測定法による正確な測定が確保される。

[0020] 本実施形態のより具体的な態様として、アリールボロン酸は、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を安定化させるための溶液（安定化溶液）に含有させることができる。例えば、安定化溶液が後述するハプトグロビンを含まない場合、アリールボロン酸の安定化溶液中の濃度は、下限値が0.1 mmol/L以上、0.2 mmol/L以上、または0.5 mmol/L以上とすることができる。また、アリールボロン酸の安定化溶液中の濃度は、上限値が20 mmol/L以下、10 mmol/L以下、または5 mmol/L以下とすることができる。

[0021] 上記工程は、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、上記アリールボロン酸とともに、さらに糖と共存させる工程とすることができる。アリールボロン酸に加え、さらに糖と共存させることにより、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定性をさらに高めることができる。生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、糖と共存させる方法は、例えば、上記アリールボ

ロン酸を含む溶液に、糖をさらに含有させる方法が挙げられる。

[0022] 糖は、公知のものから適宜選択することができ、例えば、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリトリトール等の糖アルコール；グルコース、フルクトース、マンノース、ガラクトース等の単糖；スクロース、トレハロース、ラクトース、マルトース等の二糖；オリゴ糖；などが挙げられる。

糖は、糖アルコール、単糖および二糖からなる群から選ばれる少なくとも一種であってよく、ソルビトール、グルコース、マンニトール、フルクトース、キシリトール、エリトリトール、スクロース、トレハロース、ラクトース、およびマルトースからなる群から選ばれる少なくとも一種であってよく、ソルビトール、マンニトール、フルクトース、およびスクロースからなる群から選ばれる少なくとも一種であってよい。

[0023] しかしながら、グルコースやフルクトース等の、溶液中でアルデヒド基やケトン基を形成する糖（還元糖）は、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質やこれら蛋白質の安定化剤として溶液に添加されるアルブミン等と反応して（メイラード反応）蛋白質を修飾し、褐色物質（メラノイジン）を生成するため、蛋白質と反応しない糖が好ましい。生体に由来する検体中に含まれる蛋白質のエピトープまたはその近傍が還元糖により修飾され構造が変化すると、抗体によっては、これらの生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を認識できなくなり、免疫学的測定法による正確な測定ができなくなることがある。そのため、本実施形態のより具体的な一態様としては、蛋白質と反応しない非還元糖を用いることがより好ましい。非還元糖は、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリトリトール、トレハロース、スクロース、およびラクトースからなる群から選ばれる少なくとも一種であってよく、ソルビトール、マンニトールおよびスクロースからなる群から選ばれる少なくとも一種であってよい。

[0024] 糖の濃度は、下限値が5 mmol/L以上、10 mmol/L以上、または25 mmol/L以上であることが好ましい。糖の濃度が上記下限値以上

であると、アリールボロン酸と相乗的に作用し、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定化効果がより一層優れたものとなる。

糖の濃度の上限値は、糖アルコールおよび単糖では、 1000 mmol/L 以下、 500 mmol/L 以下、または 100 mmol/L 以下であってよく、二糖では、 500 mmol/L 以下、 250 mmol/L 以下、または 100 mmol/L 以下であってよい。糖の濃度が上記上限値以下であると、安定化溶液の粘度が高くなりすぎないため測定に支障が生じ難い。

[0025] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を保存するための安定化溶液は、 pH を $5\sim 10$ 、好ましくは $6\sim 8$ にたもてる緩衝液であればよく、2-モルホリノエタンスルホン酸 (MES)、ヒドロキシエチルピペラジーン-2-エタンスルホン酸 (HEPES)、ピペラジーン-ビス (2-エタンスルホン酸) (PIPES) 等のグッド緩衝液を含む緩衝液であってよく、リン酸緩衝液、トリス緩衝液またはグリシン緩衝液であってもよい。

[0026] 安定化溶液は、抗菌剤、 pH 調整剤、イオン強度を調節するために塩類、界面活性剤、凝集促進剤、蛋白質の保存時に使用される公知の安定化剤等の添加剤をさらに含んでもよい。抗菌剤は、アジ化ナトリウム、抗生物質、溶菌酵素を含む。添加剤としては、ヒスチジン、リジン等のアミノ酸、アルブミン、プロテアーゼ阻害剤、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 等のキレート剤など、蛋白質を安定化する作用を持つことが知られている公知の物質が含まれる。

[0027] 上述の安定化方法又は安定化溶液によれば、アリールボロン酸の作用により、またはアリールボロン酸と糖との相乗作用により、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の安定性を高めることができる。いいかえれば、上記の安定化方法又は安定化溶液によれば、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の変性、分解または修飾を防ぐことができ、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質のエピトープ及びその周辺部位の構造を維持することができる。そのため、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を免疫学的測定方法により検出する場合、検出の正確性の向上が期待できる。

- [0028] 本実施形態のより具体的な一態様は、ヘモグロビンを少なくとも含む生体に由来する検体を、ハプトグロビンと接触させることにより、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体を形成させる工程を含んでもよい。この場合において、ヘモグロビンを含む生体に由来する検体は、糞便、唾液、または尿であってよく、糞便であってよい。糞便中には、ヘモグロビンの分解や修飾を引き起こす細菌や酵素が特に多く存在するため、本実施形態の方法が特に有用である。
- [0029] ヘモグロビンを含む生体に由来する検体とハプトグロビンとはどのように接触させてもよいが、ハプトグロビンを含む前記保存溶液中に、ヘモグロビンを含む生体に由来する検体を添加するのが好ましい。生体に由来する検体中に含まれるヘモグロビンは、保存溶液中のハプトグロビンと速やかに反応し、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体を形成する。そして、生体に由来する検体を添加した保存溶液をそのまま保存することで、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体を安定的に保存することができる。なお、ヘモグロビンとハプトグロビンとの複合体形成では、ヘモグロビンは、 α 鎖と β 鎖が二つずつ会合した4量体($\alpha_2\beta_2$)から二つの2量体($\alpha\beta$)に乖離するが、この現象は、本明細書における「分解」または「変性」には該当しない。
- [0030] 本実施形態に係る、ヘモグロビンを含む生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を安定化させるための安定化溶液は、アリールボロン酸、またはアリールボロン酸および糖を含む上述の安定化溶液に、ハプトグロビンをさらに添加したものであることが好ましい。安定化溶液中のハプトグロビンの濃度は、生体に由来する検体の量にもよるが、例えば、0.05単位/L~50単位/L、0.1単位/L~10単位/L、または、0.2単位/L~2単位/Lである。ここで、1単位は、1mgのヘモグロビンに結合するハプトグロビンの量を表す。上記範囲のハプトグロビン濃度は、生体に由来する検体中の全てのヘモグロビンを、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体にするのに十分な濃度である。
- [0031] ここで、安定化溶液が後述するハプトグロビンを含む場合、上記アリール

ボロン酸の安定化溶液中の濃度は、下限値が0.1 mmol/L以上、0.2 mmol/L以上、0.5 mmol/L以上、1 mmol/L以上、または5 mmol/L以上とすることができる。アリールボロン酸の濃度が上記下限値以上であると、生体に由来する検体中に含まれるヘモグロビンのアリールボロン酸による安定化効果が、ハプトグロビンによる安定化効果と相まって、より顕著なものとなる。

また、アリールボロン酸の安定化溶液中の濃度は、上限値が100 mmol/L以下、50 mmol/L以下、または30 mmol/L以下とすることができる。アリールボロン酸の濃度が上記上限値以下であると、免疫学的測定法への悪影響が抑えられ、より正確な測定が可能となる。

[0032] 上述の一態様に係る安定化方法または安定化溶液によれば、生体に由来する検体中に含まれるヘモグロビンを、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体の形で、安定的に保存することができる。いいかえれば、上述の安定化方法または安定化溶液によれば、生体に由来する検体中に含まれるヘモグロビンの変性、分解または修飾を防ぐことができ、ヘモグロビンのエピトープおよびその周辺部位の構造を保持することができる。したがって、生体に由来する検体中に含まれるヘモグロビンを免疫学的測定方法により測定する場合、検出の正確性の向上が期待できる。

[0033] [生体に由来する検体中に含まれる蛋白質の検出方法、検出キット]

本発明の一実施形態により提供される、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を検出する方法は、当該蛋白質を安定化させるための上述の安定化溶液に生体に由来する検体を添加して、生体に由来する検体を含む試料を得る工程と、試料中の蛋白質を免疫学的測定方法により検出する工程と、を備える。

また、本発明の他の一実施形態により提供される、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を検出するためのキットは、上述の安定化溶液と、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を認識する抗体を含む試薬と、を含む。

上記検出方法または検出キットにおいて、生体に由来する検体中に含まれ

る蛋白質は、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体から選ばれる少なくとも一種であってよい。

- [0034] 本実施形態で用いられる安定化溶液としては、生体に由来する検体を保存するための保存溶液、検体を保存溶液に分散させた試料をさらに希釈するための希釈溶液、検体中の蛋白質を検出するためのキット等における反応溶液などが挙げられる。キット等における反応溶液としては、後述する免疫学的測定方法における抗体を含有する溶液のほか、試料と混合し測定環境を調整するための溶液などが含まれる。

免疫学的測定方法は、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質に対する抗体を利用する方法であり、公知の免疫学的測定手法を使用することができる。免疫学的測定方法は、例えば、ラテックス凝集法や金コロイド凝集法等の免疫凝集法、イムノクロマトグラフ法、またはELISA法であってよい。

- [0035] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質に対する抗体に制限はなく、ポリクローナル抗体であっても、モノクローナル抗体であってもよく、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を認識可能な、生体に由来する検体中に含まれる蛋白質に対する抗体の断片であってもよい。

生体に由来する検体中に含まれる蛋白質に対する抗体は、測定対象となる蛋白質を認識するものであればよく、抗ヘモグロビン抗体、抗ハプトグロビン抗体、抗ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体抗体であってよい。これらの抗体は、常法により製造することができる。

- [0036] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質、例えばヘモグロビンの検出は、一例として、次のように行うことができる。まず、保存溶液の入った容器に検体を添加し、試料とする。容器内で検体を任意の時間保存してもよく、また検体を含有する保存溶液をろ過して試料としてもよい。次いで、試料中のヘモグロビンを、免疫学的測定方法、例えばラテックス凝集法により検出する。より具体的には、抗ヘモグロビン抗体を表面に担持させたラテックス粒子を含む試薬を、試料に加える。ラテックス粒子を含む試薬を加える前に、試料を希釈液により希釈してもよく、また反応溶液を添加してもよい。本態

様において、アリールボロン酸を含む上述した安定化溶液は、保存溶液、希釈液、反応溶液のいずれであってもよい。保存溶液が、上述した安定化溶液であると、特に好ましく、この場合において、希釈液および／または反応溶液は、アリールボロン酸を含んでも含まなくてもよい。

ヘモグロビンは、生体に由来する検体中において、検体中のハプトグロビンと複合体を形成しているものもあれば、遊離したヘモグロビンとして存在しているものもある。そのため、ヘモグロビンの検出に用いる抗ヘモグロビン抗体は、遊離したヘモグロビンのエピトープを認識可能であるとともに、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体におけるヘモグロビンのエピトープをも認識可能であり、かつ、ハプトグロビンと交差反応を起こさないことが好ましい。

試料中にヘモグロビンが存在する場合、抗ヘモグロビン抗体がヘモグロビンを認識し、抗体を担持しているラテックス粒子が凝集する。凝集による濁度の変化を測定し、濃度既知のヘモグロビンを含むキャリブレーション用試料を作成した検量線により、試料中のヘモグロビン濃度を求める。また、キャリブレーション用試料のヘモグロビンの濃度に基づいて作成した検量線により、試料中のヘモグロビンの濃度を求めることもできる。

[0037] 上記安定化溶液がハプトグロビンを含む場合においては、ヘモグロビンの検出は、例えば、次のように行うことができる。まず、保存溶液の入った容器に検体を添加し、試料とする。容器内で検体を任意の時間保存してもよく、また、検体を含有する保存溶液をろ過して試料としてもよい。次いで、試料中のヘモグロビンを、免疫学的測定方法、例えばラテックス凝集法により検出する。より具体的には、抗ヘモグロビン抗体を表面に担持させたラテックス粒子を含む試薬を、試料に加える。ラテックス粒子を含む試薬を加える前に、試料を希釈液により希釈してもよく、また反応溶液を添加してもよい。

本態様において、アリールボロン酸およびハプトグロビンを含む安定化溶液は、保存溶液、希釈液、反応溶液のいずれであってもよい。

保存溶液が、アリールボロン酸およびハプトグロビンを含む安定化溶液であると、特に好ましく、この場合において、希釈液および／または反応溶液は、ハプトグロビンを含んでも含まなくてもよく、さらには、アリールボロン酸を含んでも含まなくてもよい。

本態様においては、検体中にヘモグロビンが存在する場合、ヘモグロビンは、安定化溶液に含まれるハプトグロビンと反応し、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体を形成する。検体中の全てのヘモグロビンが複合体を形成する必要はなく、検体を含有する安定化溶液（試料）には、ハプトグロビンと複合体を形成していないヘモグロビンが存在してもよいが、検体中の全てのヘモグロビンがハプトグロビンと複合体を形成していることが好ましい。

抗ヘモグロビン抗体は、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体におけるヘモグロビンのエピトープを認識可能であり、かつ、ハプトグロビンと交差反応を起こさないことが好ましい。

試料中にヘモグロビンが存在する場合、抗ヘモグロビン抗体がヘモグロビン（ハプトグロビンと複合体を形成したヘモグロビンを含む）を認識し、抗体を担持しているラテックス粒子が凝集する。凝集による濁度の変化を測定し、ヘモグロビン濃度既知のヘモグロビン-ハプトグロビン複合体を含むキャリブレーションプレートを用いて作成した検量線により、試料中のヘモグロビン濃度を求める。また、キャリブレーションプレートのヘモグロビン-ハプトグロビン複合体の濃度に基づいて作成した検量線により、試料中のヘモグロビン-ハプトグロビン複合体の濃度を求めることもできる。

[0038] 以上説明した実施形態は、本発明の理解を容易にするために記載されたものであって、本発明を限定するために記載されたものではない。したがって、上記実施形態に開示された各要素は、本発明の技術的範囲に属する全ての設計変更や均等物をも含む趣旨である。

実施例

[0039] 実施例 1

40 mm o l / L の H E P E S (p H 6 . 8) 、 0 . 1 % の B S A 、 0 .

1%の NaN_3 、1単位/Lのハプトグロビン、および0~100 mmol/Lのフェニルボロン酸を添加した保存溶液を調製した。ヘモグロビンを添加した糞便検体を、糞便濃度が0.5%となるように保存溶液に加えた試料を、37℃で、0、7、14および21日保存した。なお、糞便検体には、試料中のヘモグロビン濃度が約300 $\mu\text{g/L}$ となる量のヘモグロビンを添加した。ヘモグロビンを添加した糞便検体に代えて、試料中のヘモグロビン濃度が300 $\mu\text{g/L}$ となるようにヘモグロビンを保存溶液に添加した、糞便検体を含まない試料を、同様に保存した。保存した試料中のヘモグロビン（Hb）濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）を、ラテックス凝集法により測定した。

[0040] ヘモグロビンの濃度は、測定試薬として「OC-ヘモディア（登録商標）オートIII「栄研」」（栄研化学株式会社製）、測定装置として「OC-センサーDIANA」（栄研化学株式会社製）を用いて測定した。上記測定試薬は、抗ヒトヘモグロビンウサギポリクローナル抗体を担持させたラテックス粒子を含む。

[0041] 測定したヘモグロビンの濃度から、糞便検体を保存溶液に加えた直後のヘモグロビン濃度（すなわち、糞便検体を加えてから0日後の濃度）に対する回収率（%）を算出した。結果を表1に示す。表1から明らかなように、糞便1、糞便2および糞便3のいずれの試料においても、フェニルボロン酸を0.5 mmol/L以上の濃度で添加することにより、試料中のヘモグロビンの回収率が向上した。ヘモグロビンの回収率はフェニルボロン酸濃度に依存して向上し、フェニルボロン酸濃度15 mmol/Lで最大となり、50 mmol/L以上の添加では見かけ上の回収率が低下した。糞便検体を含まない試料においては、フェニルボロン酸の添加による回収率の向上は見られない。これらの結果は、フェニルボロン酸が、糞便を含む試料中のヘモグロビンを安定化することを示している。なお、試料中のヘモグロビンは、保存溶液中に含まれるハプトグロビンと結合したヘモグロビン-ハプトグロビン複合体として存在するため、上記結果は、フェニルボロン酸が、ヘモグロビン-ハプトグロビン複合体を安定化したことを意味する。

[0042] [表1]

	フェニル ボロン酸 (mmol/L)	Hb濃度 (μ g/L)				0日後のHb濃度に対する回収率 (%)			
		37℃での保存日数				37℃での保存日数			
		0日	7日	14日	21日	0日	7日	14日	21日
糞便1	0	282	135	99	71	100	48	35	25
	0.5	279	181	147	129	100	65	53	46
	1	275	182	148	125	100	66	54	45
	2.5	289	207	175	152	100	72	61	53
	15	302	243	239	224	100	80	79	74
	50	290	230	204	185	100	79	70	64
糞便2	0	271	111	68	50	100	38	23	17
	0.5	271	147	113	91	100	54	42	34
	1	284	166	136	116	100	58	48	41
	2.5	288	195	159	139	100	68	55	48
	15	283	249	214	191	100	88	76	67
	50	269	214	174	149	100	80	65	55
糞便3	0	286	93	60	51	100	33	21	18
	0.5	283	133	104	93	100	47	37	33
	1	281	159	131	115	100	57	47	41
	2.5	290	189	160	145	100	65	55	50
	15	288	224	200	185	100	78	69	64
	50	274	204	176	158	100	74	64	58
糞便なし	0	247	156	88	53	100	63	36	21
	0.5	268	243	238	239	100	91	89	89
	0.5	257	248	243	246	100	96	95	96
	1	265	244	241	244	100	92	91	92
	2.5	272	249	244	258	100	92	90	95
	15	286	262	253	264	100	92	88	92
	50	260	242	228	235	100	93	88	90
	100	239	198	183	178	100	83	77	74

[0043] 実施例 2

実施例 1 の保存溶液のフェニルボロン酸に替えて、2-カルボキシフェニルボロン酸 (2-C P B A)、3-カルボキシフェニルボロン酸 (3-C P B A)、4-カルボキシフェニルボロン酸 (4-C P B A)、3-ヒドロキシフェニルボロン酸 (3-H P B A) および 3-アミノフェニルボロン酸 (3-A P B A) をそれぞれ 15 mmol/L ずつ添加した保存溶液を調製し、実施例 1 と同様に試験した。比較例として、アリールボロン酸を添加しない保存溶液を調製して、同様に試験した。結果を表 2 に示す。表 2 から明らかなように、他のアリールボロン酸を用いた場合であっても、アリールボロン酸を添加しない比較例と比べて、糞便 1、糞便 2 および糞便 3 のいずれの糞便検体においても、試料中のヘモグロビンの回収率が向上した。

[0044]

[表2]

	アリール ボロン酸 (15mmol/L)	Hb濃度 ($\mu\text{g/L}$)			0日後のHbに対する回収率 (%)		
		37℃での保存日数			37℃での保存日数		
		0日	7日	14日	0日	7日	14日
糞便1	無添加	315	154	119	100	49	38
	2C-PBA	315	196	150	100	62	48
	3C-PBA	309	249	239	100	81	77
	4C-PBA	312	252	234	100	81	75
	3H-PBA	327	269	268	100	82	82
	3A-PBA	339	275	260	100	81	77
糞便2	無添加	313	108	78	100	34	25
	2C-PBA	311	157	103	100	50	33
	3C-PBA	309	264	240	100	85	78
	4C-PBA	315	239	227	100	76	72
	3H-PBA	326	277	264	100	85	81
	3A-PBA	330	287	261	100	87	79
糞便3	無添加	304	90	63	100	30	21
	2C-PBA	300	124	76	100	41	25
	3C-PBA	300	213	200	100	71	67
	4C-PBA	300	219	194	100	73	65
	3H-PBA	313	213	206	100	68	66
	3A-PBA	324	227	209	100	70	64
糞便なし	無添加	295	276	267	100	94	91
	2C-PBA	292	272	264	100	93	90
	3C-PBA	293	281	276	100	96	94
	4C-PBA	279	275	271	100	98	97
	3H-PBA	303	294	296	100	97	98
	3A-PBA	278	275	272	100	99	98

[0045] 実施例3

実施例1の保存溶液のフェニルボロン酸の濃度を15mmol/Lに固定して、50mmol/Lもしくは100mmol/Lの糖（ソルビトール、スクロース、トレハロース、グルコース、フルクトース、またはマンニトール）をさらに添加した保存溶液、または糖を添加しない保存溶液を調製し、実施例1と同様に試験した。比較例として、フェニルボロン酸および糖を添加しない保存溶液を調製して、同様に試験した。結果を表3に示す。表3から明らかなように、フェニルボロン酸に、ソルビトール、マンニトール、スクロース、またはフルクトースをさらに添加した場合、糞便1、糞便2および糞便3のいずれの糞便検体においても、試料中のヘモグロビンの回収率がさらに向上し、特にソルビトールおよびマンニトールで顕著に回収率が向上した。しかし、トレハロース、またはグルコースでは、回収率の向上が見られない糞便検体（糞便3）も認められた。これらの結果は、フェニルボロン酸に、糖をさらに添加することで、糞便を含む試料中のヘモグロビンの安定性を、さらに向上することができるが、添加する糖の種類により、効果に差異があることを示している。ソルビトール、スクロース、トレハロース、グルコース、フルクトース、またはマンニトールの中では、ソルビトールおよびマンニトールの効果が顕著であり、特にソルビトールは糞便検体（糞便1）

において回収率の低下がまったく見られなかった。

[0046] [表3]

	フェニル ボロン酸 (mmol/L)	糖 (mmol/L)	Hb濃度 (μg/L)				0日後のHb濃度に対する回収率 (%)			
			37℃での保存日数				37℃での保存日数			
			0日	7日	14日	21日	0日	7日	14日	21日
糞便1	無添加	無添加	282	135	99	71	100	48	35	25
		無添加	302	243	239	224	100	80	79	74
		ソルビトール	50	291	300	296	100	103	103	102
		100	287	292	294	290	100	102	102	101
		スクロース	50	291	281	274	100	97	94	92
		100	286	272	270	258	100	95	94	90
		トレハロース	50	299	261	247	100	87	83	81
		100	291	249	238	230	100	86	82	79
		グルコース	50	283	255	242	100	90	86	84
		100	291	251	236	230	100	86	81	79
糞便2	無添加	無添加	50	297	294	285	100	99	96	94
		100	287	276	247	228	100	96	86	79
		マンニトール	50	288	278	270	—	100	96	94
		100	281	279	276	—	100	99	98	—
		無添加	292	111	68	50	100	38	23	17
		無添加	283	249	214	191	100	88	76	67
		ソルビトール	50	281	280	252	100	100	90	79
		100	274	276	246	219	100	101	90	80
		スクロース	50	273	266	232	100	97	85	78
		100	267	257	236	219	100	96	88	82
糞便3	無添加	無添加	50	284	257	223	100	90	79	71
		100	269	251	227	206	100	93	84	77
		グルコース	50	275	260	230	100	95	84	75
		100	281	246	223	203	100	88	79	72
		フルクトース	50	270	275	243	100	102	90	82
		100	280	264	235	212	100	94	84	76
		マンニトール	50	296	291	280	—	100	98	95
		100	290	290	286	—	100	100	99	—
		無添加	286	93	60	51	100	33	21	18
		無添加	288	224	200	185	100	78	69	64
糞便なし	無添加	無添加	50	283	250	235	100	88	83	79
		100	278	244	226	219	100	88	81	79
		スクロース	50	286	234	209	100	82	73	68
		100	272	230	201	187	100	85	74	69
		トレハロース	50	282	221	197	100	78	70	63
		100	281	213	192	179	100	76	68	64
		グルコース	50	285	217	196	100	76	69	65
		100	278	210	188	174	100	76	68	63
		フルクトース	50	272	238	218	100	88	80	75
		100	275	244	222	204	100	88	80	74
糞便なし	無添加	無添加	50	293	247	238	—	100	84	81
		100	286	243	240	—	100	85	84	—
		無添加	268	243	238	239	100	91	89	89
		無添加	286	262	253	264	100	92	88	92
		ソルビトール	50	281	261	251	100	93	89	94
		100	276	252	244	255	100	91	88	92
		スクロース	50	271	253	246	100	93	91	95
		100	267	247	241	260	100	93	90	97
		トレハロース	50	268	253	255	100	94	95	96
		100	269	248	251	251	100	92	93	93
糞便なし	無添加	無添加	50	282	254	263	100	90	93	92
		100	266	251	253	257	100	94	95	97
		グルコース	50	286	255	261	100	89	91	96
		100	281	245	251	262	100	87	89	93
		フルクトース	50	270	263	254	—	100	98	94
		100	269	260	252	—	100	97	94	—
		マンニトール	50	270	263	254	—	100	98	94
		100	269	260	252	—	100	97	94	—
		無添加	286	243	238	239	100	91	89	89
		無添加	286	262	253	264	100	92	88	92

[0047] 実施例4

フェニルボロン酸を含まない実施例1の保存溶液に、100mmol/Lの、ソルビトール、スクロース、トレハロース、グルコース、フルクトース、またはマンニトールを添加した保存溶液を調製し、実施例1と同様に試験した。比較のため、これらの糖を添加しないで、同様に試験した。結果を表4に示す。表4から明らかなように、フェニルボロン酸を含まない保存溶液に、ソルビトール、スクロース、トレハロース、グルコース、またはフルク

トースを添加しても、糞便検体を含む試料中のヘモグロビンの回収率は向上しない。この結果は、ソルビトール、スクロース、トレハロース、グルコース、またはフルクトース等の糖単独では、糞便を含む試料中のヘモグロビンを安定化しないことを示しており、フェニルボロン酸と糖がともに存在する必要があることを示している。

[0048] [表4]

	フェニル ボロン酸	糖 (100mmol/L)	Hb濃度 ($\mu\text{g/L}$) 37°Cでの保存日数				0日後のHb濃度に対する回収率 (%) 37°Cでの保存日数			
			0日	7日	14日	21日	0日	7日	14日	21日
			0日	7日	14日	21日	0日	7日	14日	21日
糞便1	無添加	無添加	282	135	99	71	100	48	35	25
		ソルビトール	283	143	102	97	100	51	36	34
		スクロース	264	115	70	80	100	44	27	30
		トレハロース	266	121	80	44	100	45	30	17
		グルコース	276	135	99	59	100	49	36	21
		フルクトース	285	127	85	81	100	45	30	28
糞便2	無添加	マンニトール	276	156	130	—	100	57	47	—
		無添加	292	111	68	59	100	38	23	20
		ソルビトール	277	113	77	51	100	41	28	18
		スクロース	270	96	49	31	100	36	18	11
		トレハロース	264	106	61	41	100	40	23	16
		グルコース	276	105	54	37	100	38	20	13
糞便3	無添加	フルクトース	273	100	56	35	100	37	21	13
		マンニトール	284	97	81	—	100	34	28	—
		無添加	286	93	60	51	100	33	21	18
		ソルビトール	278	98	62	56	100	35	22	20
		スクロース	267	89	55	40	100	33	21	15
		トレハロース	267	91	56	47	100	34	21	18
糞便なし	無添加	グルコース	272	93	55	46	100	34	20	17
		フルクトース	265	83	41	39	100	31	15	15
		マンニトール	282	93	78	—	100	33	28	—
		無添加	268	243	238	239	100	91	89	89
		ソルビトール	255	239	235	236	100	94	92	93
		スクロース	245	228	223	222	100	93	91	91
		トレハロース	243	229	225	222	100	94	93	91
		グルコース	245	231	223	223	100	94	91	91
		フルクトース	250	215	196	177	100	86	78	71
		マンニトール	261	251	244	—	100	96	93	—

[0049] 実施例5

実施例1の保存溶液のフェニルボロン酸を15mmol/Lに固定して、10～500mmol/Lのソルビトール、もしくは10～250mmol/Lのスクロースを添加した保存溶液、または糖を添加しない保存溶液を調製し、実施例1と同様に試験した。比較例として、フェニルボロン酸および糖を添加しない保存溶液を調製して、同様に試験した。結果を表5に示す。表5から明らかなように、糞便1、糞便2および糞便3のいずれの試料においても、ソルビトール、またはスクロースの添加濃度に依存して、糞便を含む試料中のヘモグロビンの回収率は向上し、25mmol/L以上の添加で一定化した。

[0050]

[表5]

	フェニル ボロン酸 (mmol/L)	糖 (mmol/L)	Hb濃度 ($\mu\text{g/L}$)				0日後のHb濃度に対する回収率 (%)			
			37℃での保存日数				37℃での保存日数			
			0日	7日	14日	21日	0日	7日	14日	21日
糞便1	15	無添加	282	135	99	71	100	48	35	25
		無添加	302	243	239	224	100	80	79	74
		ソルビトール	10	305	280	269	100	92	88	85
		25	301	288	289	276	100	96	96	92
		50	291	300	300	296	100	103	103	102
		100	287	292	294	290	100	102	102	101
		500	251	251	256	251	100	100	102	100
		スクロース	10	304	273	264	100	90	87	82
		25	287	281	266	261	100	98	93	91
		50	291	281	274	268	100	97	94	92
		100	286	272	270	258	100	95	94	90
		250	258	250	241	232	100	97	93	90
糞便2	15	無添加	292	111	68	50	100	38	23	17
		無添加	283	249	214	191	100	88	75	67
		ソルビトール	10	289	262	225	100	91	78	68
		25	283	277	245	213	100	98	87	75
		50	281	280	252	222	100	100	90	79
		100	274	276	246	219	100	101	90	80
		500	256	250	226	204	100	98	88	80
		スクロース	10	286	270	237	100	94	83	74
		25	287	274	241	223	100	95	84	78
		50	273	266	232	212	100	97	85	78
		100	267	257	236	219	100	96	88	82
		250	245	235	216	193	100	96	88	79
糞便3	15	無添加	286	93	60	51	100	33	21	18
		無添加	288	224	200	185	100	78	69	64
		ソルビトール	10	279	233	210	100	84	75	72
		25	285	240	225	213	100	84	79	75
		50	283	250	235	223	100	88	83	79
		100	278	244	226	219	100	88	81	79
		500	246	221	203	199	100	90	83	81
		スクロース	10	286	227	205	100	79	72	68
		25	272	228	203	192	100	84	75	71
		50	286	234	209	195	100	82	73	68
		100	272	230	201	187	100	85	74	69
		250	248	213	189	176	100	86	76	71
糞便なし	15	無添加	268	243	238	239	100	91	89	89
		無添加	286	262	253	264	100	92	88	92
		ソルビトール	10	284	261	249	100	92	88	90
		25	287	261	250	265	100	91	87	92
		50	281	261	251	265	100	93	89	94
		100	276	252	244	255	100	91	88	92
		500	242	227	218	230	100	94	90	95
		スクロース	10	274	258	251	100	94	92	98
		25	277	262	252	268	100	95	91	97
		50	271	253	246	257	100	93	91	95
		100	267	247	241	260	100	93	90	97
		250	238	227	221	235	100	95	93	99

[0051] 実施例 6

実施例 1 の保存溶液のフェニルボロン酸に替えて、3-カルボキシフェニルボロン酸 (3-CPBA)、3-ヒドロキシフェニルボロン酸 (3-HPBA) および 3-アミノフェニルボロン酸 (3-APBA) をそれぞれ 15 mmol/L ずつ添加し、100 mmol/L の、ソルビトール、スクロース、またはマンニトールを添加した保存溶液を調製し、実施例 1 と同様に試験した。比較例として、アリールボロン酸を添加しない保存溶液を調製して、同様に試験した。結果を表 6 に示す。表 6 から明らかなように、他のアリールボロン酸を用いた場合であっても、ソルビトール、スクロース、またはマンニトールをさらに添加した場合、糞便 1、糞便 2 および糞便 3 のいずれの糞便検体においても、試料中のヘモグロビンの回収率がさらに向上し、糞

便を含む試料中のヘモグロビンの安定性を相乗的に高めることができると認められた。

[0052] [表6]

	アリール ボロン酸 (15mmol/L)	糖 (100mmol/L)	Hb濃度 ($\mu\text{g/L}$)			0日後のHbに対する回収率 (%)		
			37°Cでの保存日数			37°Cでの保存日数		
			0日	7日	14日	0日	7日	14日
糞便1	無添加	無添加	315	154	119	100	49	38
	3C-PBA	無添加	309	249	239	100	81	77
	3C-PBA	ソルビトール	305	299	305	100	98	100
	3C-PBA	スクロース	285	260	268	100	91	94
	3C-PBA	マンニトール	301	280	306	100	93	102
	3H-PBA	無添加	327	269	268	100	82	82
	3H-PBA	ソルビトール	310	309	303	100	100	98
	3H-PBA	スクロース	311	267	278	100	86	89
	3H-PBA	マンニトール	314	302	298	100	96	95
	3A-PBA	無添加	339	275	260	100	81	77
	3A-PBA	ソルビトール	327	316	310	100	97	95
	3A-PBA	スクロース	313	108	78	100	34	25
糞便2	3C-PBA	無添加	309	264	240	100	85	78
	3C-PBA	ソルビトール	302	283	260	100	94	86
	3C-PBA	スクロース	286	260	240	100	91	84
	3C-PBA	マンニトール	304	290	282	100	95	93
	3H-PBA	無添加	326	277	264	100	85	81
	3H-PBA	ソルビトール	313	304	288	100	97	92
	3H-PBA	スクロース	310	272	262	100	88	84
	3H-PBA	マンニトール	315	300	297	100	95	94
	3A-PBA	無添加	330	287	261	100	87	79
	3A-PBA	ソルビトール	315	295	277	100	94	88
	3A-PBA	スクロース	304	90	63	100	30	21
	3A-PBA	マンニトール	300	213	200	100	71	67
糞便3	3C-PBA	無添加	293	251	239	100	85	81
	3C-PBA	スクロース	283	226	214	100	80	76
	3C-PBA	マンニトール	294	241	234	100	82	80
	3H-PBA	無添加	313	213	206	100	68	66
	3H-PBA	ソルビトール	295	241	229	100	82	78
	3H-PBA	スクロース	289	226	210	100	78	73
	3H-PBA	マンニトール	299	248	241	100	83	81
	3A-PBA	無添加	324	227	209	100	70	64
	3A-PBA	ソルビトール	313	258	246	100	82	79
	3A-PBA	スクロース	295	276	267	100	94	91
	3A-PBA	マンニトール	293	281	276	100	96	94
	3A-PBA	スクロース	288	280	271	100	97	94
糞便なし	3C-PBA	スクロース	271	263	257	100	97	95
	3C-PBA	マンニトール	285	271	267	100	95	94
	3H-PBA	無添加	303	294	296	100	97	98
	3H-PBA	ソルビトール	300	292	291	100	97	97
	3H-PBA	スクロース	283	279	278	100	99	98
	3H-PBA	マンニトール	296	289	288	100	98	97
	3A-PBA	無添加	278	275	272	100	99	98
	3A-PBA	ソルビトール	278	275	272	100	99	98

[0053] 実施例 7

実施例 1 の保存溶液のフェニルボロン酸を $0 \sim 50 \text{ mmol/L}$ とし、 100 mmol/L の、ソルビトール、またはマンニトールを添加した保存溶液を調製し、実施例 1 と同様に試験した。結果を表 7 に示す。表 7 から明らかのように、糖を添加した保存溶液においては、フェニルボロン酸を 50 mmol/L 添加しても見かけ上の回収率の低下が見られない。この理由は、アリールボロン酸は（高濃度において）免疫凝集反応を阻害する性質を有しているものの、高濃度のアリールボロン酸が存在すると免疫学的測定方法に悪影響を与え見かけ上の回収率が低下する一方で、さらに高濃度の糖が共存

する場合には、アリールボロン酸と糖とが複合体を形成することで、高濃度のアリールボロン酸による免疫学的測定方法への悪影響が抑制されるものと考えられる。

[0054] [表7]

	フェニル ボロン酸 (mmol/L)	糖 (100mmol/L)	Hb濃度 (μ g/L)			0日後のHbに対する回収率 (%)		
			37℃での保存日数			37℃での保存日数		
			0日	7日	14日	0日	7日	14日
糞便1	無添加	無添加	315	154	119	100	49	38
	0.5	無添加	310	206	178	100	66	57
	15	ソルビトール	301	297	295	100	99	98
	50	ソルビトール	281	274	275	100	98	98
	15	マンニトール	301	288	287	100	96	95
	50	マンニトール	270	257	255	100	95	95
糞便2	無添加	無添加	313	108	78	100	34	25
	0.5	無添加	301	173	154	100	57	51
	15	ソルビトール	299	300	298	100	100	100
	50	ソルビトール	275	279	284	100	101	103
	15	マンニトール	298	284	284	100	95	95
	50	マンニトール	268	263	274	100	98	102
糞便3	無添加	無添加	304	90	63	100	30	21
	0.5	無添加	294	163	145	100	55	49
	15	ソルビトール	292	246	233	100	84	80
	50	ソルビトール	273	247	230	100	90	84
	15	マンニトール	288	231	220	100	80	76
	50	マンニトール	254	233	226	100	92	89
糞便なし	無添加	無添加	295	276	267	100	94	91
	0.5	無添加	291	277	273	100	95	94
	15	ソルビトール	288	274	268	100	95	93
	50	ソルビトール	290	295	293	100	102	101
	15	マンニトール	287	272	269	100	95	94
	50	マンニトール	254	242	241	100	95	95

[0055] 実施例 8

40 mmol/LのHEPES (pH 6.8)、0.1%のBSA、0.1%のNaN₃、および0~2.5 mmol/Lのフェニルボロン酸を添加した保存溶液を調製した。また、フェニルボロン酸に替えて、3-カルボキシフェニルボロン酸 (3-CPBA)、3-ヒドロキシフェニルボロン酸 (3-HPBA) および3-アミノフェニルボロン酸 (3-APBA) をそれぞれ0.5 mmol/Lずつ添加した保存溶液を合わせて調製した。ヘモグロビンを添加した糞便検体を、糞便濃度が0.5%となるように保存溶液に加えた試料を、37℃で、0、16、38および62時間保存した。なお、糞便検体には、試料中のヘモグロビン濃度が約300 μ g/Lとなる量のヘモグロビンを添加した。ヘモグロビンを添加した糞便検体に代えて、試料中のヘモグロビン濃度が300 μ g/Lとなるようにヘモグロビンを保存溶液に添加した、糞便検体を含まない試料を、同様に保存した。保存した試料中のヘモグロビン (Hb) 濃度 (μ g/L) を、実施例1と同じ測定試薬および測定装置を用い、ラテックス凝集法により測定した。

[0056] 本実施例では、保存溶液にハプトグロビンが含まれていないため、実施例 1～7 と比べるとヘモグロビンは早く分解してしまうが、アリールボロン酸によるヘモグロビンの安定化効果は、本実施例においても認められた。すなわち、表 8 から明らかなように、糞便 1、糞便 2 および糞便 3 のいずれの試料においても、アリールボロン酸を 0.25 mmol/L 以上の濃度で添加することにより、試料中のヘモグロビンの回収率が向上した。なお、実施例 1～7 と異なり保存溶液中にハプトグロビンが含まれていないため、試料中のヘモグロビンの大半はハプトグロビンと複合体を形成せずに存在していると認められる。そのため、上記結果は、アリールボロン酸が、ハプトグロビンと複合体を形成していないヘモグロビンについても安定化したことを意味する。

[0057] [表8]

	アリール ボロン酸 (mmol/L)	Hb濃度 (μ g/L)				0日後のHbに対する回収率 (%)			
		37℃での保存時間				37℃での保存時間			
		0 h	16 h	38 h	62 h	0 h	16 h	38 h	62 h
糞便 1	無添加	309	146	39	2	100	47	13	1
	PBA 0.25	295	172	74	24	100	58	25	8
	0.5	300	174	74	17	100	58	25	6
	1	298	182	92	30	100	61	31	10
	2.5	294	177	80	23	100	60	27	8
	3-CPBA 0.5	296	163	68	20	100	55	23	7
	3-HPBA 0.5	298	171	79	25	100	57	26	8
	3-APBA 0.5	318	178	92	31	100	56	29	10
糞便 2	無添加	282	54	0	0	100	19	0	0
	PBA 0.25	298	103	10	0	100	35	3	0
	0.5	299	103	10	0	100	34	3	0
	1	299	119	17	0	100	40	6	0
	2.5	299	124	18	0	100	41	6	0
	3-CPBA 0.5	288	90	8	0	100	31	3	0
	3-HPBA 0.5	295	95	11	0	100	32	4	0
	3-APBA 0.5	303	89	4	0	100	29	1	0
糞便 3	無添加	277	36	0	0	100	13	0	0
	PBA 0.25	284	92	8	0	100	32	3	0
	0.5	289	92	8	0	100	32	3	0
	1	287	112	14	0	100	39	5	0
	2.5	293	119	18	0	100	41	6	0
	3-CPBA 0.5	281	95	5	0	100	34	2	0
	3-HPBA 0.5	295	106	9	0	100	36	3	0
	3-APBA 0.5	298	94	4	0	100	31	1	0
糞便なし	無添加	303	274	252	240	100	91	83	79
	PBA 0.25	303	281	263	265	100	93	87	88
	0.5	295	284	270	263	100	96	91	89
	1	292	276	261	259	100	95	90	89
	2.5	291	273	257	259	100	94	88	89
	3-CPBA 0.5	299	279	264	266	100	94	88	89
	3-HPBA 0.5	306	282	263	264	100	92	86	86
	3-APBA 0.5	312	291	274	274	100	93	88	88

[0058] 実施例 9

実施例 8 の保存溶液のフェニルボロン酸の濃度を 0.5 mmol/L に固定して、10～250 mmol/L のソルビトールもしくはスクロース、ま

たは50～100mmol/Lのトレハロース、グルコース、フルクトースもしくはマンニトールをさらに添加した保存溶液を調製し、実施例8と同様に試験した。また、フェニルボロン酸を添加し糖を添加しない保存溶液、さらに比較例として、フェニルボロン酸および糖を添加しない保存溶液を調製して、同様に試験した。結果を表9Aおよび9Bに示す。表9Aおよび9Bから明らかなように、ハプトグロビンを含まない保存溶液であっても、フェニルボロン酸に、ソルビトール、スクロース、トレハロース、グルコース、フルクトースまたはマンニトールをさらに添加した場合、糞便1、糞便2および糞便3のいずれの糞便検体においても、試料中のヘモグロビンの回収率がさらに向上した。また、フェニルボロン酸を含まない保存溶液に糖を添加しても、糞便検体を含む試料中のヘモグロビンの回収率は向上しない。これらの結果は、ハプトグロビンを含まない保存溶液であっても、実施例2～7と同様にフェニルボロン酸と各種糖との相乗効果が得られることを示している。

[0059]

[表9A]

	フェニル ボロン酸 (mmol/L)	糖 (mmol/L)	Hb濃度 (μ g/L)				0日後のHbに対する回収率 (%)			
			37℃での保存時間				37℃での保存時間			
			0 h	16 h	38 h	62 h	0 h	16 h	38 h	62 h
糞便1	無添加	無添加	309	146	39	2	100	47	13	1
	0.5	無添加	300	174	74	17	100	58	25	6
	0.5	ソルビトール 10	300	179	81	20	100	60	27	7
	0.5	50	290	175	81	21	100	61	28	7
	0.5	100	289	177	90	28	100	61	31	10
	0.5	250	277	182	105	45	100	65	38	16
	無添加	100	290	146	39	1	100	50	13	0
	0.5	スクロース 10	294	169	79	28	100	57	27	9
	0.5	50	284	173	92	34	100	61	33	12
	0.5	100	273	166	88	31	100	61	32	11
	0.5	250	249	167	97	43	100	67	39	17
	無添加	100	271	137	45	10	100	51	16	4
	0.5	トレハロース 50	285	168	81	26	100	59	28	9
	0.5	100	272	164	78	27	100	61	29	10
	無添加	100	268	133	41	8	100	50	15	3
	0.5	グルコース 50	282	176	84	27	100	63	30	10
	0.5	100	278	178	92	32	100	64	33	12
	無添加	100	281	136	32	0	100	49	12	0
	0.5	フルクトース 50	286	182	102	41	100	64	36	14
	0.5	100	290	185	105	46	100	64	36	16
	無添加	100	281	134	35	0	100	48	12	0
糞便2	0.5	マンニトール 50	279	176	90	34	100	63	32	12
	0.5	100	277	173	91	32	100	62	33	12
	無添加	100	276	131	29	1	100	48	10	0
	無添加	無添加	282	54	0	0	100	19	0	0
	0.5	無添加	299	103	10	0	100	34	3	0
	0.5	ソルビトール 10	299	102	8	0	100	34	3	0
	0.5	50	292	107	10	0	100	37	4	0
	0.5	100	288	110	15	0	100	38	5	0
	0.5	250	275	117	20	0	100	43	7	0
	無添加	100	275	61	0	0	100	22	0	0
	0.5	スクロース 10	297	100	15	0	100	34	5	0
	0.5	50	282	106	17	0	100	38	6	0
	0.5	100	276	107	19	0	100	39	7	0
	0.5	250	249	107	23	0	100	43	9	0
	無添加	100	255	57	3	0	100	22	1	0
	0.5	トレハロース 50	278	97	14	0	100	35	5	0
	0.5	100	267	102	15	0	100	38	6	0
	無添加	100	254	54	1	0	100	21	0	0
	0.5	グルコース 50	281	102	10	0	100	36	4	0
	0.5	100	278	105	8	0	100	38	3	0
	無添加	100	256	54	0	0	100	21	0	0
	0.5	フルクトース 50	290	114	20	0	100	39	7	0
	0.5	100	283	116	21	0	100	41	7	0
	無添加	100	268	60	1	0	100	22	0	0
	0.5	マンニトール 50	287	115	21	0	100	40	7	0
	0.5	100	284	116	23	0	100	41	8	0
	無添加	100	266	55	1	0	100	21	0	0

[0060]

[表9B]

	フェニル ボロン酸 (mmol/L)	糖 (mmol/L)	Hb濃度 (μg/L)				0日後のHbに対する回収率 (%)			
			37℃での保存時間				37℃での保存時間			
			0 h	16 h	38 h	62 h	0 h	16 h	38 h	62 h
糞便3	無添加	無添加	277	36	0	0	100	13	0	0
	0.5	無添加	289	92	8	0	100	32	3	0
	0.5	ソルビトール 10	294	105	12	0	100	36	4	0
	0.5	50	296	111	15	0	100	38	5	0
	0.5	100	285	124	19	1	100	43	7	0
	0.5	250	274	134	25	2	100	49	9	1
	無添加	100	277	49	1	0	100	18	0	0
	0.5	スクロース 10	294	114	13	0	100	39	4	0
	0.5	50	286	110	11	0	100	38	4	0
	0.5	100	268	102	9	0	100	38	3	0
	0.5	250	244	114	17	0	100	47	7	0
	無添加	100	257	67	0	0	100	26	0	0
	0.5	トレハロース 50	279	96	8	0	100	34	3	0
	0.5	100	264	91	7	0	100	35	3	0
	無添加	100	260	48	0	0	100	19	0	0
	0.5	グルコース 50	285	112	15	0	100	39	5	0
	0.5	100	276	110	16	0	100	40	6	0
	無添加	100	270	46	1	0	100	17	0	0
	0.5	フルクトース 50	286	119	16	0	100	42	6	0
	0.5	100	288	130	22	0	100	45	8	0
	無添加	100	263	51	0	0	100	19	0	0
糞便なし	0.5	マンニトール 50	287	80	3	0	100	28	1	0
	0.5	100	288	96	6	0	100	33	2	0
	無添加	100	269	57	0	0	100	21	0	0
	無添加	無添加	303	274	252	240	100	91	83	79
	0.5	無添加	295	284	270	263	100	96	91	89
	0.5	ソルビトール 10	296	277	263	259	100	94	89	87
	0.5	50	290	273	250	252	100	94	86	87
	0.5	100	289	266	247	255	100	92	86	88
	0.5	250	276	262	245	245	100	95	89	89
	無添加	100	300	263	245	235	100	88	82	79
	0.5	スクロース 10	304	271	255	258	100	89	84	85
	0.5	50	293	272	251	251	100	93	86	86
	0.5	100	278	260	244	249	100	93	88	89
	0.5	250	258	241	228	226	100	93	88	88
	無添加	100	278	245	229	224	100	88	83	81
	0.5	トレハロース 50	284	260	249	253	100	91	88	89
	0.5	100	276	254	246	242	100	92	89	88
	無添加	100	280	241	228	219	100	86	81	78
	0.5	グルコース 50	292	272	260	257	100	93	89	88
	0.5	100	287	267	256	254	100	93	89	89
	無添加	100	283	256	230	218	100	90	81	77
	0.5	フルクトース 50	296	271	254	256	100	91	86	86
	0.5	100	292	265	254	262	100	91	87	90
	無添加	100	284	246	233	230	100	86	82	81
	0.5	マンニトール 50	292	273	255	259	100	94	87	89
	0.5	100	285	266	250	259	100	93	87	91
	無添加	100	281	254	237	235	100	91	84	84

[0061] 実施例8の保存溶液のフェニルボロン酸の濃度を0.5 mmol/Lに固定し、またフェニルボロン酸に替えて、3-カルボキシフェニルボロン酸（3-CPBA）、3-ヒドロキシフェニルボロン酸（3-HPBA）および3-アミノフェニルボロン酸（3-APBA）をそれぞれ0.5 mmol/Lずつ添加し、100 mmol/Lのソルビトールまたはスクロースを添加した保存溶液を調製し、実施例8と同様に試験した。比較例として、アリールボロン酸を添加しない保存溶液を調製して、同様に試験した。結果を表10に示す。表10から明らかなように、ハプトグロビンを含まない保存溶液

であっても、各種のアリールボロン酸と糖との併用により試料中のヘモグロビンの回収率がさらに向上し、糞便を含む試料中のヘモグロビンの安定性を相乗的に高めることができると認められた。

[0062] [表10]

	アリール ボロン酸 (0.5mmol/L)	糖 (100mmol/L)	Hb濃度 (μg/L)				0日後のHbに対する回収率 (%)			
			37℃での保存時間				37℃での保存時間			
			0 h	16 h	38 h	62 h	0 h	16 h	38 h	62 h
糞便1	無添加 PBA	無添加	309	146	39	2	100	47	13	1
		無添加	300	174	74	17	100	58	25	6
		ソルビトール	289	177	90	28	100	61	31	10
	3-CPBA	スクロース	273	166	88	31	100	61	32	11
		無添加	296	163	68	20	100	55	23	7
		ソルビトール	290	173	89	31	100	59	30	11
	3-HPBA	スクロース	274	160	64	15	100	58	23	6
		無添加	298	171	79	25	100	57	26	8
		ソルビトール	295	195	118	56	100	66	40	19
	3-APBA	スクロース	278	170	86	28	100	61	31	10
		無添加	318	178	92	31	100	56	29	10
		ソルビトール	293	177	97	36	100	60	33	12
糞便2	無添加 PBA	スクロース	277	168	75	21	100	61	27	8
		無添加	282	54	0	0	100	19	0	0
		無添加	299	103	10	0	100	34	3	0
	3-CPBA	ソルビトール	288	110	15	0	100	38	5	0
		スクロース	276	107	19	0	100	39	7	0
		無添加	288	90	8	0	100	31	3	0
	3-HPBA	ソルビトール	283	99	13	0	100	35	4	0
		スクロース	265	86	6	0	100	32	2	0
		無添加	295	95	11	0	100	32	4	0
	3-APBA	ソルビトール	288	100	14	0	100	35	5	0
		スクロース	262	95	9	0	100	36	3	0
		無添加	303	89	4	0	100	29	1	0
糞便3	無添加 PBA	ソルビトール	286	103	14	0	100	36	5	0
		スクロース	270	91	9	0	100	34	3	0
		無添加	277	36	0	0	100	13	0	0
	3-CPBA	無添加	289	92	8	0	100	32	3	0
		ソルビトール	285	124	19	1	100	43	7	0
		スクロース	268	102	9	0	100	38	3	0
	3-HPBA	無添加	281	95	5	0	100	34	2	0
		ソルビトール	283	117	15	0	100	41	5	0
		スクロース	267	92	9	0	100	34	4	0
	3-APBA	無添加	295	106	9	0	100	36	3	0
		ソルビトール	287	113	12	0	100	39	4	0
		スクロース	266	94	8	0	100	35	3	0
糞便なし	無添加 PBA	無添加	298	94	4	0	100	31	1	0
		ソルビトール	284	116	10	0	100	41	4	0
		スクロース	273	99	13	0	100	36	5	0
	3-CPBA	無添加	303	274	252	240	100	91	83	79
		ソルビトール	295	284	270	263	100	96	91	89
		スクロース	289	266	247	255	100	92	86	88
	3-HPBA	スクロース	278	260	244	249	100	93	88	89
		無添加	299	279	264	266	100	94	88	89
		ソルビトール	287	271	253	254	100	94	88	89
	3-APBA	スクロース	281	254	246	247	100	91	88	88
		無添加	306	282	263	264	100	92	86	86
		ソルビトール	294	273	259	259	100	93	88	88
		スクロース	276	261	248	248	100	95	90	90
	無添加	無添加	312	291	274	274	100	93	88	88
		ソルビトール	300	279	265	268	100	93	88	89
		スクロース	293	277	261	257	100	94	89	88

請求の範囲

- [請求項1] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を安定化する方法であって、
- 前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、アリールボロン酸と共存させる工程を含み、
- 前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、方法。
- [請求項2] アリールボロン酸が、フェニルボロン酸およびその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] アリールボロン酸が、フェニルボロン酸、ヒドロキシフェニルボロン酸、カルボキシフェニルボロン酸、アミノフェニルボロン酸およびこれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項1または2に記載の方法。
- [請求項4] 前記工程は、前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、前記アリールボロン酸を含む溶液中に分散させる工程であり、
- 前記アリールボロン酸の前記溶液中の濃度が、 0.1 mmol/L 以上である、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項5] 前記工程は、前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、前記アリールボロン酸および糖と共存させる工程である、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項6] 前記糖が、糖アルコール、単糖および二糖からなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項5に記載の方法。
- [請求項7] 前記糖が、ソルビトール、グルコース、マンニトール、フルクトース、キシリトール、エリトリトール、スクロース、トレハロース、ラクトース、およびマルトースからなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項5または6に記載の方法。
- [請求項8] 前記工程は、前記生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を、前記

アリールボロン酸および前記糖を含む溶液中に分散させる工程であり、

前記糖の前記溶液中の濃度が、 5 mmol/L 以上である、請求項5～7のいずれか一項に記載の方法。

[請求項9] 前記生体に由来する検体は、ヘモグロビンを少なくとも含み、
前記方法は、当該ヘモグロビンと、ハプトグロビンとを接触させ、ヘモグロビンとハプトグロビンとの複合体を形成させる工程を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

[請求項10] 前記生体に由来する検体が、糞便、唾液、または尿である、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

[請求項11] 生体に由来する検体に含まれる蛋白質を安定化させるための溶液であって、
アリールボロン酸を含み、
前記生体に由来する検体に含まれる蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、安定化溶液。

[請求項12] 前記アリールボロン酸が、フェニルボロン酸およびその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項11に記載の安定化溶液。

[請求項13] 前記アリールボロン酸が、フェニルボロン酸、ヒドロキシフェニルボロン酸、カルボキシフェニルボロン酸、アミノフェニルボロン酸およびこれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項11または12に記載の安定化溶液。

[請求項14] 糖を含む、請求項11～13のいずれか一項に記載の安定化溶液。

[請求項15] 糖が、ソルビトール、グルコース、マンニトール、フルクトース、キシリトール、エリトリトール、スクロース、トレハロース、ラクトース、およびマルトースからなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項14に記載の安定化溶液。

- [請求項16] ハプトグロビンを含む、請求項 1 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の安定化溶液。
- [請求項17] 前記検体が糞便、唾液、または尿である、請求項 1 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の安定化溶液。
- [請求項18] 前記生体に由来する検体を保存するための溶液である、請求項 1 1 ～ 1 7 のいずれか一項に記載の安定化溶液。
- [請求項19] 生体に由来する検体中の蛋白質を検出する方法であって、
請求項 1 1 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の安定化溶液に、前記生体に由来する検体を添加して当該検体を含有する試料を得る工程と、
試料中の前記蛋白質を免疫学的測定方法により検出する工程と、
を備え、
前記生体に由来する検体中の蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、方法。
- [請求項20] 前記生体に由来する検体は、ヘモグロビンを少なくとも含み、
前記試料中の前記ヘモグロビンはハプトグロビンと複合体を形成している、請求項 1 9 に記載の方法。
- [請求項21] 前記安定化溶液は、請求項 1 6 に記載の安定化溶液である、請求項 2 0 に記載の方法。
- [請求項22] 生体に由来する検体中に含まれる蛋白質を検出するためのキットであって、
請求項 1 1 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の安定化溶液と、
前記蛋白質を認識する抗体を含む試薬と、
を含み、
前記蛋白質が、ヘモグロビン、ハプトグロビン、およびヘモグロビン-ハプトグロビン複合体からなる群から選ばれる少なくとも一種である、キット。