



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111527410 A

(43)申请公布日 2020.08.11

(21)申请号 201880084827.1

(22)申请日 2018.12.28

(30)优先权数据

2017-254386 2017.12.28 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.06.29

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2018/048398 2018.12.28

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/131984 JA 2019.07.04

(71)申请人 盐野义制药株式会社

地址 日本大阪府

(72)发明人 太田规央 增田景一

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51)Int.Cl.

G01N 33/74(2006.01)

G07K 14/575(2006.01)

权利要求书2页 说明书16页

序列表1页 附图11页

(54)发明名称

BNP测定用标准品

(57)摘要

包含多个含有BNP-32及proBNP的标准品的BNP测定用标准品套件,所述各标准品之间的BNP-32/proBNP(摩尔比)不同,若将摩尔比高的标准品与摩尔比低的标准品比较,则摩尔比高者与低者相比,BNP-32浓度与proBNP浓度的总量即BNP浓度更低。根据本发明,当利用某种BNP测定法获得的检测样品的BNP浓度测定值,并使用BNP测定用标准品套件将该测定值与利用其它BNP测定法获得的该检测样品的BNP浓度测定值进行校正时,相比于用现有的标准品对它们的测定值进行校正的情况而言,所述BNP测定用标准品套件使校正后的测定值更一致,并提供使用所述BNP测定用标准品套件对检测样品的BNP浓度测定值进行校正的方法。

1. BNP测定用标准品套件,其包含多个含有BNP-32及proBNP的标准品,所述各个标准品之间的BNP-32/proBNP(摩尔比)不同,若将摩尔比高的标准品与摩尔比低的标准品比较,则摩尔比高者与低者相比,BNP-32浓度与proBNP浓度的总量即BNP浓度更低。

2. 根据权利要求1所述的BNP测定用标准品套件,其含有至少2个标准品,第1标准品的摩尔比为40/60~60/40(BNP-32/proBNP),第2标准品的摩尔比为15/85~35/65(BNP-32/proBNP)。

3. 根据权利要求2所述的BNP测定用标准品套件,其中第1标准品的BNP浓度为20~75pg/mL,第2标准品的BNP浓度为150~300pg/mL。

4. BNP测定试剂盒,其含有根据权利要求1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件。

5. BNP测定试剂盒,其含有与使用根据权利要求1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件算出的校正系数相关的信息。

6. 测定检测样品的BNP浓度的方法,其特征在于使用权利要求1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件。

7. 对检测样品的BNP浓度测定值进行校正的方法,其特征在于使用权利要求1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件。

8. 根据权利要求7所述的方法,其包括以下的步骤(A)及(B):

(A) 使用所述多个标准品,对于利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值的每个范围,分别确定利用作为基准的BNP测定法获得的BNP浓度测定值与利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值之间的校正系数的步骤,及

(B) 使用所述校正系数,对利用作为校正对象的BNP测定法获得的检测样品的BNP浓度测定值进行校正的步骤。

9. 根据权利要求7所述的方法,其包括以下的步骤(1)~(3):

(1) 利用作为基准的BNP测定法及作为校正对象的BNP测定法两者,测定第1标准品及第2标准品两者的BNP浓度的步骤,

(2) 对于第1标准品及第2标准品,分别求出以下的比:

[利用作为基准的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]/[利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]

分别将对于第1标准品的所述比确定为第1校正系数,并将对于第2标准品的所述比确定为第2校正系数的步骤,及

(3) 基于所述第1校正系数及所述第2校正系数,将利用作为校正对象的BNP测定法测定的检测样品的BNP浓度测定值即实测值校正为以下的数值的步骤:

(i) 当所述实测值在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值以下时,校正为所述实测值乘以第1校正系数的数值,

(ii) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值、且在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值以下时,校正为所述实测值乘以由下式求出的校正系数的数值:

第1校正系数+[(第2校正系数-第1校正系数) / (利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值)] × (实测值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值),

及

(iii) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值时,校正为所述实测值乘以第2校正系数的数值。

BNP测定用标准品

技术领域

[0001] 本发明涉及BNP测定用标准品套件及使用该套件对检测样品的BNP浓度测定值进行校正的方法。

背景技术

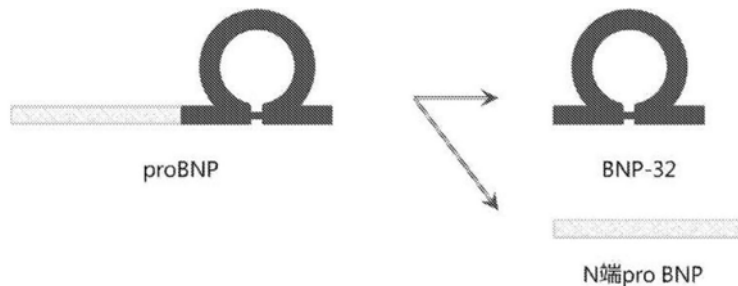
[0002] BNP(脑钠利尿肽)是具有血管扩张作用、利尿作用及钠利尿作用的激素,抑制交感神经系统及肾素-醛固酮系统。

[0003] BNP在心脏承受负荷时主要由心室分泌。健康正常人的血浆中BNP浓度(proBNP和BNP-32的总量)极低,但慢性及急性心力衰竭患者则随着重症程度显著增加,因此血浆中BNP浓度的测定可用于掌握包括心力衰竭在内的心脏疾病的疾病状态。

[0004] BNP自BNP基因作为preproBNP前体转录、翻译,将信号肽裂解以生成BNP-32的前体proBNP(proBNP1-108),然后被切割而产生N端proBNP(proBNP1-76)和具有生物学活性的BNP-32(proBNP77-108)。

[0005] proBNP和BNP-32在血中以一定的比例存在,用于心脏疾病诊断的BNP测定试剂盒测定proBNP和BNP-32的总量作为BNP浓度测定值,该测定试剂盒广泛用于心脏疾病等的诊断中。

[化学式1]



[0006] 据报道,利用多个BNP测定试剂盒测定同一试样时,血浆中BNP浓度可能在各BNP测定试剂盒之间存在偏差(非专利文献1及非专利文献2)。本来,希望同一试样的血浆中BNP浓度测定值在多个BNP测定试剂盒之间的偏差较小。例如,即使心脏疾病患者接受诊疗的医疗机构发生变化,在前和在后的医疗机构使用不同的BNP测定试剂盒的情况下,也期望能够正确把握心脏疾病的疾病状态的进展并判定治疗效果,且BNP测定试剂盒之间的血浆中BNP浓度的测定值不存在差异。

[0007] 一般的市售BNP测定试剂盒的用于制作标准曲线的标准品仅由BNP-32构成。非专利文献3中公开了使用proBNP作为BNP测定用标准品的方法。

[0008] 另外,专利文献1中,公开了使用proBNP及BNP-32的混合物作为BNP测定试剂盒之间的校准用标准品的方法,两者的单一混合比为6:4~4:6(摩尔比)。

现有技术文献

专利文献

[0009] [专利文献1]:日本专利第6008645号

非专利文献

[0010] [非专利文献1]:Clin Chem Lab Med (2009) 47 (6) :762-768

[非专利文献2]:Clinica Chimica Acta (2012) 414:112-119

[非专利文献3]:Clinical Biochemistry (2017) 50:181-185

[非专利文献4]:核医学技术 (1993) 13:2-7

发明内容

[发明要解决的课题]

[0011] 然而,向上述现有技术中的标准品中添加proBNP和BNP-32的比率不能正确反映实际的心脏疾病患者中的proBNP和BNP-32的存在比率。因此,即使使用现有技术所示的标准品,在BNP测定试剂盒之间实际检测样品的测定值也会出现偏差。

[0012] 本发明的课题是提供这样的BNP测定用标准品套件:当用该BNP测定用标准品套件对利用某种BNP测定法获得的检测样品的BNP浓度测定值以及利用其他BNP测定法获得的该检测样品的BNP浓度测定值进行校正时,相比于用现有的标准品对这些测定值进行的校正,该BNP测定用标准品套件能够使得校正后的测定值更一致,并提供使用所述BNP测定用标准品套件对检测样品的BNP浓度测定值进行校正的方法。

[用于解决课题的手段]

[0013] 本发明的发明人为了正确把握实际的心脏疾病患者中的proBNP和BNP-32的存在比率,对很多检测样品中的BNP浓度与proBNP的存在比率的关系进行了研究。结果发现,proBNP的存在比率因BNP浓度而不同。利用这一发现,使用含有以下的BNP测定用标准品套件完成了本发明:将包含BNP-32/proBNP的高摩尔比的标准品作为BNP浓度低的标准品,将包含低所述摩尔比的标准品作为BNP浓度高的标准品。

[0014] 即,本发明主要涉及:

1、BNP测定用标准品套件,其包含多个含有BNP-32及proBNP的标准品,所述各标准品之间的BNP-32/proBNP (摩尔比) 不同,若将摩尔比高的标准品与摩尔比低的标准品比较,则摩尔比高者与低者相比,BNP-32浓度与proBNP浓度的总量即BNP浓度更低。

2、根据项1所述的BNP测定用标准品套件,其含有至少2个标准品,第1标准品的摩尔比为40/60~60/40 (BNP-32/proBNP),第2标准品的摩尔比为5~35/65BNP-32/proBNP)。

3、根据项2所述的BNP测定用标准品套件,其中第1标准品的BNP浓度为20~75pg/mL,第2标准品的BNP浓度为150~300pg/mL。

4、BNP测定试剂盒,其含有根据项1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件。

5、BNP测定试剂盒,其含有与使用根据项1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件算出的校正系数相关的信息。

6、测定检测样品的BNP浓度的方法,其特征在于使用项1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件。

7、对检测样品的BNP浓度测定值进行校正的方法,其特征在于使用项1~3中任一项所述的BNP测定用标准品套件。

8、根据项7所述的方法,其包括以下的步骤(A)及(B):

(A) 使用所述多个标准品,对于利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值

的每个范围,分别确定利用作为基准的BNP测定法获得的BNP浓度测定值与利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值之间的校正系数的步骤,及

(B) 使用所述校正系数,对利用作为校正对象的BNP测定法获得的检测样品的BNP浓度测定值进行校正的步骤。

9、根据项7所述的方法,其包括以下的步骤(1)~(3):

(1) 利用作为基准的BNP测定法及作为校正对象的BNP测定法两者,测定第1标准品及第2标准品两者的BNP浓度的步骤,

(2) 对于第1标准品及第2标准品,分别求出以下的比:

[利用作为基准的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]/[利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]

分别将对于第1标准品的所述比确定为第1校正系数,并将对于第2标准品的所述比确定为第2校正系数的步骤,及

(3) 基于所述第1校正系数及所述第2校正系数,将利用作为校正对象的BNP测定法测定的检测样品的BNP浓度测定值即实测值校正为以下的数值的步骤:

(i) 当所述实测值在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值以下时,校正为该实测值乘以第1校正系数的数值,

(ii) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值、且在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值以下时,校正为所述实测值乘以由下式求出的校正系数的数值:

第1校正系数+[第2校正系数-第1校正系数]/(利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值)] \times (实测值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值),及

(iii) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值时,校正为所述实测值乘以第2校正系数的数值。

[发明的效果]

[0015] 根据本发明,可以提供这样的BNP测定用标准品套件:当使用该BNP测定用标准品套件对利用某种BNP测定法获得的检测样品的BNP浓度测定值与利用其它BNP测定法获得的该检测样品的BNP浓度测定值进行校正时,相比于用现有的标准品对这些测定值进行校正的情况,可以使校正后的测定值更一致。还可提供使用所述BNP测定用标准品套件对检测样品的BNP浓度测定值进行校正的方法。

附图说明

[0016] [图1(a)]:图1(a)显示在实施例1-1测定的整体测定范围中的BNP浓度测定值与proBNP的存在比率的关系。

[图1(b)]:图1(b)显示在实施例1-1测定的BNP浓度测定值为250pg/mL以下的范围中的BNP浓度的测定值与proBNP的存在比率的关系。

[图2]:图2显示在实施例1-1及实施例1-2测定的整体测定范围中的BNP浓度测定值与proBNP的存在比率的关系。

[图3]:图3显示适用于利用市售BNP测定试剂盒A获得的测定值的检测样品的测定值与校正系数的关系的一个实例。

[图4]:图4显示在利用本发明的校正方法进行校正前后,利用基准测定法获得的BNP浓度测定值与利用市售BNP测定试剂盒A获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图5]:图5显示在利用本发明的校正方法进行校正前后,利用基准测定法获得的BNP浓度测定值与利用市售BNP测定试剂盒B获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图6]:图6显示在利用本发明的校正方法进行校正前后,利用基准测定法获得的BNP浓度测定值与利用市售BNP测定试剂盒C获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图7]:图7显示在利用本发明的校正方法进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒A获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的百分率。

[图8]:图8显示在利用本发明的校正方法进行校正前后,用市售BNP测定试剂盒B获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的百分率。

[图9]:图9显示在利用本发明的校正方法进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒C获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的百分率。

[图10]:图10显示在使用低浓度及高浓度的proBNP的标准品两者而言,相对于使用该标准品校正前后利用基准测定法获得的BNP浓度测定值,利用市售BNP测定试剂盒A获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图11]:图11显示在使用低浓度及高浓度均仅添加proBNP的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒B获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图12]:图12显示在使用低浓度及高浓度均仅添加proBNP的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒C获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图13]:图13显示在使用低浓度及高浓度均仅添加BNP-32的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒A获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图14]:图14显示在使用低浓度及高浓度均仅添加BNP-32的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒B获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图15]:图15显示在使用低浓度及高浓度均仅添加BNP-32的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒C获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图16]:图16显示在使用低浓度及高浓度均以1/1的比率添加proBNP和BNP-32(proBNP/BNP-32)的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒A获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图17]:图17显示在使用低浓度及高浓度均以1/1的比率添加proBNP和BNP-32(proBNP/BNP-32)的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒B获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图18]:图18显示在使用低浓度及高浓度均以1/1的比率添加proBNP和BNP-32

(proBNP/BNP-32)的标准品进行校正前后,利用市售BNP测定试剂盒C获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的相关关系。

[图19]:图19显示在用低浓度及高浓度均仅添加proBNP的标准品校正前后,利用市售BNP测定试剂盒A获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的百分率。

[图20]:图20显示,在用低浓度及高浓度均仅添加proBNP的标准品校正前后,利用市售BNP测定试剂盒B获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的百分率。

[图21]:图21显示在用低浓度及高浓度均仅添加proBNP的标准品校正前后,利用市售BNP测定试剂盒C获得的BNP浓度测定值相对于利用基准测定法获得的BNP浓度测定值的百分率。

具体实施方式

[0017] 本发明提供包含多个含有BNP-32及proBNP的标准品的BNP测定用标准品套件。

[0018] BNP测定用标准品套件可用于校正利用BNP测定法获得的BNP浓度测定值。另外,利用BNP测定用标准品套件制作标准曲线,利用该标准曲线可测定检测样品的BNP浓度。

[0019] 在用于本说明书时,“proBNP”是指proBNP1-108,其由108个氨基酸残基构成(SEQ ID NO:1),具有约12KD的分子量。proBNP可根据已知的方法容易地制备,例如可以用大肠杆菌表达重组型proBNP。另外,“proBNP”可为糖基化proBNP。例如,可根据已知的方法利用HEK293细胞表达得到分子量约35KD的糖基化proBNP。此外,proBNP也可为合成产物。

[0020] 在用于本说明书时,“BNP-32”是指proBNP77-108,其由32个氨基酸残基构成(SEQ ID NO:2),具有约3.5KD的分子量。BNP-32可利用公知的方法容易地合成。此外,BNP-32可为重组体。

[0021] 在用于本说明书时,“多数”(或“多个”)是指2以上的整数,可为2、3、4、5、6、7或8,可为至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个或至少8个。

[0022] 在用于本说明书时,“标准品”是指构成所述BNP测定用标准品套件的各个标准品,可将多个标准品组合以用作所述BNP测定用标准品套件。标准品含有BNP-32及proBNP。标准品有时记载为第1标准品、第2标准品、第3标准品、第4标准品或者第5标准品等,或用于测定低浓度域的BNP的标准品或者用于测定高浓度域的BNP的标准品等。本说明书中,用第1标准品、第2标准品、第3标准品、第4标准品或者第5标准品等表示标准品时,随着数字的增大,表示BNP浓度变高。

[0023] 本发明中,所述各标准品之间的BNP-32/proBNP(摩尔比)不同。另外,在2个标准品之间,若将摩尔比高的标准品与低的标准品比较,则摩尔比高者与摩尔比低者相比,BNP浓度更低。所述摩尔比在第1标准品的情况下优选为40/60~60/40,更优选为45/55~55/45(均为BNP-32/proBNP),在第2标准品的情况下优选为15/85~35/65,更优选为20/80~30/70(均为BNP-32/proBNP)。

[0024] 第1标准品的BNP浓度优选为20~75pg/mL,更优选为25~60pg/mL,进一步优选为30~50pg/mL。另外,第2标准品的BNP浓度优选为150~300pg/mL,更优选为160~250pg/mL,进一步优选为180~220pg/mL。本说明书中,“BNP浓度”是指BNP-32浓度与proBNP浓度的总

量,在质量浓度的情况下,BNP浓度表示BNP-32浓度与proBNP换算为BNP-32的量的浓度的总量。

[0025] BNP测定用标准品套件中含有的各标准品,可通过各种方法制备。

在通过添加BNP-32及proBNP的纯化品来制备标准品的情况下,基于所添加的proBNP及BNP-32的物质的量(摩尔)来确定标准品的BNP浓度及BNP-32/proBNP(摩尔比)。在BNP-32及proBNP的纯化品的情况下,可使用氨基酸分析法、吸光度测定法、色素结合测定、色谱法、电泳法等测定proBNP及BNP-32的摩尔浓度,并基于所述摩尔比通过适当稀释制备标准品。

[0026] 优选地,标准品可通过以下使用:将按照上述的方式制备的BNP-32及proBNP混合,然后通过用适当的稀释液稀释,或通过浓缩,来适当调节BNP-32/proBNP的摩尔比及BNP浓度并使用。进一步地,对于按上述方式制备的BNP-32及proBNP,可以以冷冻干燥的形式提供,使用时通过添加稀释液的方式加以使用。

[0027] 作为标准品的稀释液,可例举健康正常人血浆、缓冲液(例如磷酸缓冲液、咪唑缓冲液、三乙醇胺盐酸、柠檬酸缓冲液及Good氏缓冲液等)等,也可含有蛋白质稳定化剂(例如牛血清白蛋白(BSA)等)、蛋白酶抑制剂(例如抑肽酶等)、氯化钠、及防腐剂(例如叠氮化钠、ProClin及抗生素等)等。作为稀释液优选使用健康正常人血浆,其中优选为不含有BNP(proBNP及BNP-32等)的血浆,例如,无心脏疾病的健康正常人的血浆通常基本上不含有BNP,因此是优选的。可使用经过去除BNP处理的人血浆作为稀释液。作为去除BNP的方法,可例举将缀合有识别proBNP和BNP-32的共有区域的抗体(例如BC203和KY-hBNP-II等)的聚苯乙烯珠子等与人血浆反应一定时间的方法。

[0028] 本发明的一个方面涉及BNP测定试剂盒,其含有所述BNP测定用标准品套件。

[0029] 在本发明的一个方面中,所述BNP测定试剂盒可包含BNP测定用标准品套件作为一个构成要素。在本说明书中,BNP测定试剂盒只要是能够测定BNP浓度者即可,可例举:利用免疫放射测定(IRMA)法的BNP测定试剂盒(非专利文献4),MI02 Shionogi BNP(盐野义制药)、ARCHITECT BNP-JP(Abbott Japan)、PATHFAST BNP(LSI Medience公司)、Determiner CL-BNP(Kyowa Medics)、ADVIA Centaur BNP分析(Siemens健康诊断)、Rapidchip BNP(SEKISUI医学公司)、E检测“TOSOH”II(BNP)(TOSOH公司)、Lumipulse BNP(FUJIREBIO公司)、Triage BNP检测(Alere)、及i-STAT BNP检测(Abbott POC)等。

[0030] 所述BNP测定试剂盒可用于心力衰竭的诊断辅助,心脏疾病的治疗效果的判定,或心脏疾病的筛查等。

[0031] 在本说明书中,“心脏疾病”以其在本领域中应用最广的含义使用,指以心力衰竭(指由于心脏压出充分血液量的功能不全而导致的综合征,是诸如心输出量减少和与之相伴随的静脉压力增加、以及由此导致的各种临床症状)、心律不齐(心房颤动及心室颤动等)、高血压症等疾病的总称。心力衰竭的原因包括,例如,瓣膜性心脏病、缺血性心脏病、先天性心脏病、扩张型心肌症、肥大型心肌症、心房间隔缺损症、心室间隔缺损症、及症状性心脏病等。

[0032] 在本说明书中,所用的“诊断辅助”是指将所述BNP测定试剂盒单独地或与其它测定法等组合使用,提供心脏疾病诊断用的信息。所述其它测定法等可例举:心电图检查、心超声检查、心脏导管插入检查、BNP以外的血液检查、血压测定、及问诊等。

[0033] 本发明的一个方面可提供测定检测样品的BNP浓度的方法,其特征在于使用所述

BNP测定用标准品套件。

[0034] 在用于本说明书的情况下，“BNP浓度测定值”是指利用BNP测定试剂盒获得的BNP浓度的测定值。关于“BNP浓度测定值”与“BNP浓度”（检测样品中实际中含有的BNP-32浓度与proBNP浓度的总量）之间的关系，尽管同一检测样品的“BNP浓度”相同，但各测定试剂盒对于同一检测样品的“BNP浓度测定值”由于各测定试剂盒对于BNP-32及proBNP的亲合性不同，各BNP测定试剂盒所用的标准品不同，proBNP和BNP-32的存在比率因检测样品而异等原因，数值可能有变化。

[0035] 在用于本说明书的情况下，“校正”是指将利用作为校正对象的BNP测定法获得的样品的BNP浓度测定值变换为与利用作为基准的BNP测定法获得的该检测样品的BNP浓度测定值同等的值，优选地，是指将利用作为校正对象的BNP测定法获得的样品的BNP浓度测定值乘以下文所述的校正系数。

[0036] 本发明的一个方面提供对检测样品的BNP浓度测定值进行校正的方法，其特征在于使用所述BNP测定用标准品套件。

[0037] 作为所述检测样品，可例举生物体试样（例如血液，血浆，血清，脑液，淋巴液，心包液，组织，细胞，或尿），优选为血液或血浆。检测样品优选来源于人。

[0038] 本发明的一个方面的方法可包括下述步骤(A)及(B)。

[0039] 在本发明的一个方面中，步骤(A)可为如下所述的步骤：使用所述多个标准品，对于利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值的每个范围，分别确定利用作为基准的BNP测定法获得的BNP浓度测定值与利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值之间的校正系数。

[0040] 关于“作为基准的BNP测定法”，只要是能够通过检测BNP-32、proBNP的共同区域来定量测定BNP-32、proBNP的两者的BNP测定方法即可，可为免疫放射测定(IRMA)法、荧光免疫测定(FIA)法、或化学发光酶免疫测定(CLEIA)法；在本说明书中，该方法有时被称为“基准测定法”。在本说明书中，作为基准的BNP测定法用于测定BNP浓度，通常将广泛认为是诊断、评价的精度高的测定方法作为基准方法。IRMA法的测定步骤、条件可以如非专利文献4中所述，而对于荧光免疫测定(FIA)法、化学发光酶免疫测定(CLEIA)法可使用公知的测定方法、条件。

[0041] 关于“作为校正对象的BNP测定法”，只要是能检出BNP-32、proBNP共同的区域并定量测定BNP-32、proBNP的两者的BNP测定法即可，没有特别限定，可例举化学发光酶免疫测定(CLEIA)法（例如，基于MI02 Shionogi BNP(盐野义制药)的测定法，基于PATHFAST BNP(LSI Medience公司)的测定法，基于Determiner CL-BNP(Kyowa Medics)的测定法，或基于Lumipulse BNP(FUJIREBIO公司)的测定法等），化学发光免疫测定(CLIA)法（例如，基于ARCHITECT BNP-JP(Abbott Japan)的测定法，或基于Chemilumi BNP(Siemens Healthcare Diagnostics)的测定法等），荧光酶免疫测定(FEIA)法（例如，基于E检测“TOSOH”II(BNP)(Tosoh)的测定法等），荧光免疫测定(FIA)法（例如，基于Triage BNP检测(Alere)的测定法等），免疫色谱法（例如，Rapid Chip BNP(Sekisui Medical)等），酶免疫测定(EIA)法（例如，根据i-STAT BNP检测(Abbott POC)的测定法等），电化学发光免疫测定(ECLIA)法，固相酶免疫测定(ELISA)法，放射免疫测定(RIA)法，免疫凝集法等。在本说明书中，作为校正对象的BNP测定法得到BNP浓度测定值。作为各测定法的测定步骤、条件，可使用已知的测定步

骤、条件,关于前述的试剂盒,可使用各试剂盒的附带的说明书中记载的测定步骤、条件。

[0042] 在用于本说明书时,“校正系数”是指用于将利用作为校正对象的BNP测定法获得的样品的BNP浓度测定值变换为与利用作为基准的BNP测定法获得的该检测样品的BNP浓度测定值同等的值的系数;优选是这样的系数:通过将利用作为校正对象的BNP测定法获得的样品的BNP浓度测定值与该校正系数相乘,可将该BNP浓度测定值变换为与利用作为基准的BNP测定法获得的该检测样品的BNP浓度测定值同等的值。

[0043] 各标准品而言的校正系数,是利用作为基准的BNP测定法及作为校正对象的BNP测定法两者测定各标准品的BNP浓度后,按下式求出的:

[利用作为基准的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]/[利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]。

[0044] 对于利用作为校正对象的BNP测定法测定的检测样品的BNP浓度测定值(实测值)而言的校正系数,可通过基于针对如下所述的两个标准品的校正系数及这些标准品的利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值进行线性插值而求出:这两个标准品是在利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值中,以最小的数值差将所述实测值夹在中间(包括浓度较高的标准品的BNP浓度测定值与实测值一致的情况)的两个标准品。另外,当该实测值在第1标准品的利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值以下时,针对第1标准品的校正系数为针对该实测值的校正系数;当该实测值大于BNP浓度最大的标准品的利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值时,针对该标准品的校正系数设定为对于该实测值的校正系数。

[0045] 关于“BNP浓度测定值的范围”,根据所述各标准品的利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值相应确定。例如,用第1标准品及第2标准品进行校正时,将上述每个标准品的BNP浓度测定值作为所述范围的边界值,可确定为以下各范围:0pg/mL~第1标准品的BNP浓度测定值,第1标准品的BNP浓度测定值~第2标准品的BNP浓度测定值,第2标准品的BNP浓度测定值~更高的BNP浓度测定值。优选地,所述每个标准品的BNP浓度可确定为该范围的边界值,可例举0~20pg/mL,20~150pg/mL,150~2000pg/mL,0~75pg/mL,75~300pg/mL,300~2000pg/mL,0~25pg/mL,25~160pg/mL,160~2000pg/mL,0~60pg/mL,60~240pg/mL,240~2000pg/mL,0~30pg/mL,30~180pg/mL,180~2000pg/mL,0~50pg/mL,50~220pg/mL,220~2000pg/mL,或0~40pg/mL,40~200pg/mL,200~2000pg/mL等。

[0046] 本发明的一个方面中,步骤(B)可为以下步骤:使用所述校正系数,利用作为校正对象的BNP测定法对检测样品的BNP浓度测定值进行校正。

[0047] 本发明的一个方面的方法可包括下述步骤(1)~(3)。

[0048] 本发明的一个方面中,步骤(1)可为以下步骤:利用作为基准的BNP测定法及作为校正对象的BNP测定法两者,测定第1标准品及第2标准品两者的BNP浓度。

[0049] 本发明的一个方面中,步骤(2)可为以下步骤:对第1标准品及第2标准品分别求出以下的比:

[利用作为基准的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]/[利用作为校正对象的BNP测定法获得的BNP浓度测定值]

分别将第1标准品的所述比确定为第1校正系数,第2标准品的所述比确定为第2校正系数。

[0050] 本发明的一个方面中,步骤(3)可为以下的步骤:基于所述第1校正系数及所述第2校正系数,将利用作为校正对象的BNP测定法测定的检测样品的BNP浓度测定值,即实测值,校正为以下数值:

(i) 当所述实测值在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值以下时,将其校正为所述实测值乘以第1校正系数的数值,

(ii) 所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值、且在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值以下时,

将其校正为所述实测值乘以通过下式求出的校正系数的数值:

第1校正系数+[第2校正系数-第1校正系数]/(利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值)] \times (实测值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值),
及

(iii) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值时,将其校正为所述实测值乘以第2校正系数的数值。

[0051] 在用于本说明书的情况下,“实测值”是指利用作为校正对象的BNP测定法测定的检测样品的BNP浓度测定值。

[0052] 可基于所述校正的数值制作标准曲线,使用所述标准曲线,可自检测样品的BNP浓度测定值获得检测样品中含有的BNP浓度。另外,所述标准曲线可包含在BNP测定试剂盒的附带说明书中。进一步地,由所述标准曲线获得的BNP浓度的信息可用于所述诊断的辅助。

[0053] 本发明的一个方面提供BNP测定试剂盒,其含有根据所述与使用BNP测定用标准品套件算出的校正系数相关的信息。

[0054] 本说明书中,“与使用BNP测定用标准品套件算出的校正系数相关的信息”是指包括下列各项的信息:使用上述BNP测定用标准品套件算出的校正系数;校正方法;基于所述校正的数值制成的标准曲线,等等。使用这些信息,可利用作为校正对象的BNP测定法测定的对检测样品的BNP浓度测定值进行校正,该信息可通过包含其的媒体提供,例如通过书面、电子媒体等提供,有时也通过条形码、二维码(注册商标)等识别码提供。

[0055] 本发明的一个方面的方法不仅可使用第1标准品及第2标准品,也可使用第3标准品、第4标准品及第5标准品等。在此情况下,除了第1校正系数及第2校正系数以外,也可使用分别与第3标准品、第4标准品及第5标准品等分别对应的第3校正系数、第4校正系数及第5校正系数等。

[0056] 例如,在使用第1标准品~第n标准品时(此处,n为3以上的整数),

所述步骤(3)为以下步骤:

(3) 基于所述第1校正系数~所述第n校正系数,将利用作为校正对象的BNP测定法测定的检测样品的BNP浓度测定值即实测值校正为以下的数值:

(i) 当所述实测值为利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值以下时,将其校正为所述实测值乘以第1校正系数的数值;

(ii) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值、且在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值以下时,将其校正为所述实测值乘以由下式求出的校正系数的数值:

(第1校正系数+[第2校正系数-第1校正系数)/(利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值)]×(实测值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第1标准品的BNP浓度测定值);

(iii) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值、且在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第3标准品的BNP浓度测定值以下时,将其校正为所述实测值乘以由下式求出的校正系数的数值:

(第2校正系数+[第3校正系数-第2校正系数)/(利用作为校正对象的BNP测定法获得的第3的标准品的BNP浓度测定值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值)]×(实测值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第2标准品的BNP浓度测定值);

• • •

(i×n) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第n-1标准品的BNP浓度测定值、且在利用作为校正对象的BNP测定法获得的第n标准品的BNP浓度测定值以下时,将其校正为所述实测值乘以由下式求出的校正系数的数值:

第n-1校正系数+[第n校正系数-第n-1校正系数)/(利用作为校正对象的BNP测定法获得的第n标准品的BNP浓度测定值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第n-1的标准品的BNP浓度测定值)]×(实测值-利用作为校正对象的BNP测定法获得的第n-1标准品的BNP浓度测定值);以及

(i×[n+1]) 当所述实测值大于利用作为校正对象的BNP测定法获得的第n标准品的BNP浓度测定值时,将其校正为所述实测值乘以第n校正系数的数值。

[0057] 本发明的一个方面中,所述步骤(1)及(2)可对应于所述步骤(A),所述步骤(3)可对应于所述步骤(B)。

[0058] 本发明的一个方面可包括本说明书及下述的实施例中列举的全部的一般方面及/或具体方面的所有组合。

实施例

[0059] 以下通过所举的实施例对本发明进行更详细的说明,但本发明不限于所述实施例。

[0060] 实施例1血浆检测样品中的proBNP的存在比率的研究

(实施例1-1)

1.1.1用于测定血浆检测样品中的proBNP的存在比率的分析试剂盒

使用不测定BNP-32而特异性地仅测定proBNP的试剂盒A,以及测定BNP-32和proBNP两者的试剂盒B,分别对同一检测样品进行测定,求出检测样品中的proBNP的存在比率。上述的分析试剂盒A和B均采用2步的夹心测定的原理。向固定有链霉亲和素(NACALAI TESQUE公司)的Nunc C8 MaxiSorp板(美国Thermo Fisher Scientific公司)中加入生物素标记的识别BNP-32及proBNP共有的C末端部分结构的捕获抗体BC203(FERM BP-3515),使得捕获抗体结合在板上。然后添加检测样品,捕获检测样品中的BNP-32及proBNP。洗净并除去未反应物后,对于特异性地仅测定proBNP的试剂盒A,添加ALP标记的识别proBNP的氨基酸序列13-20位附近的抗体18H5(芬兰HyTest公司);对于同时测定BNP-32及proBNP的试剂盒B,添加ALP

标记的识别BNP-32及proBNP共有的环状部分结构的抗体KY-hBNP-II (FERM BP-2863)。ALP使用市售品(Kikkoman公司)。洗净后加入发光基质溶液CDP/E(美国Applied Biosystems公司),通过测定发光强度,试剂盒A仅定量proBNP,试剂盒B定量BNP-32及proBNP的总量,利用两个定量值求出各血浆检测样品中的proBNP的存在比率。

[0061] 1.1.2用于测定血浆检测样品中的BNP浓度的基于免疫放射测定(IRMA)法的BNP测定试剂盒

使用非专利文献4中记载的BNP测定试剂盒。本试剂盒也可用于检测proBNP及BNP-32两者的测定法中,由于利用本试剂盒的方法是血浆中BNP浓度测定的基准测定法,各检测样品的血浆中BNP浓度本身也是由本试剂盒测定的。需要说明,在本实施例中,BNP浓度测定值均以BNP-32换算值,即BNP-32浓度与proBNP的BNP-32换算量浓度的总量来表示。

[0062] 1.1.3检测样品

使用自患有心脏疾病的患者及无心脏疾病的患者采集的共计58份血浆检测样品。

[0063] 1.1.4血浆检测样品中的相对于血浆中BNP浓度而言的proBNP的存在比率的测定

依据非专利文献4的记载,利用免疫放射测定法用BNP测定试剂盒测定血浆检测样品(血浆中BNP浓度的测定),按照前述1.1.1中的记载,使用测定分析试剂盒(试剂盒A及B)测定proBNP的存在比率。将血浆中BNP浓度的测定值作为横轴,将proBNP的存在比率作为纵轴作图,结果如图1(a)及图1(b)所示。当血浆中BNP浓度的测定值在低于20pg/mL、25~60pg/mL、75~150pg/mL、160~250pg/mL及300pg/mL以上等各个范围时,proBNP的存在比率分别为38%~58%(平均47%),34%~81%(平均50%),42%~74%(平均57%),44%~81%(平均61%)及62%~78%(平均69%),显示出血浆中BNP浓度的测定值越大则proBNP的存在比率越高的倾向。由该结果可知,根据BNP浓度不同,需要proBNP的存在比率不同的标准品。

[0064] (实施例1-2)

采用与实施例1-1相同的方法,进一步使用从患有心脏疾病的患者及无心脏疾病的患者采集的54份血浆检测样品,测定血浆中BNP浓度及proBNP的存在比率。以由实施例1-1及实施例1-2得到的合计112人的血浆中BNP浓度的测定值为横轴,proBNP的存在比率作为纵轴作图,结果如图2所示。与实施例1-1一样,显示出血浆中BNP浓度的测定值越大,proBNP的存在比率越高的倾向。

[0065] 实施例2利用BNP标准品的校正效果的研究

2.1检测样品

使用自患有心脏疾病的患者及无心脏疾病的患者采集的合计10人的血浆检测样品。

[0066] 2.2本发明的标准品套件的制备

对于市售健康正常人血浆进行除去BNP的处理后,按下述添加市售的糖基化proBNP(芬兰HyTest公司)及合成BNP-32(日本肽研究所),制备本发明的标准品套件。对于用于测定低浓度域的BNP的标准品(以下亦称为“低浓度标准品”),在所述处理完毕后血浆中加入糖基化proBNP和合成BNP-32,使得BNP浓度达到40pg/mL(BNP-32换算值)、糖基化proBNP/BNP-32的摩尔比达到1/1(proBNP存在比率50%)。对于用于测定高浓度域的BNP的标准品(以下亦称为“高浓度标准品”),在所述处理完毕后血浆中加入糖基化proBNP和合成BNP-32,使得BNP浓度达到200pg/mL(BNP-32换算值)、糖基化proBNP/BNP-32的摩尔比达到3/1(proBNP存

在比率75%)。以上两者合称本发明的标准品套件或本发明品。使用氨基酸分析确定通过本实施例添加的proBNP及BNP-32的物质的量(摩尔),再用其确定各标准品的BNP浓度。

[0067] 2.3现有技术的标准品套件的制备

另一方面,作为现有技术的标准品套件,通过对市售健康正常人血浆实施除去BNP的处理后,仅添加糖基化proBNP、仅添加BNP-32、或以1/1的摩尔比添加糖基化proBNP和BNP-32(proBNP/BNP-32),分别制备用于测定低浓度域的BNP的标准品(40pg/mL,BNP-32换算值)及用于测定高浓度域的BNP的标准品(200pg/mL,BNP-32换算值)。

[0068] 2.4检测样品及各标准品套件的各标准品的测定

使用基于免疫放射测定法(BNP的基准测定法)的BNP测定试剂盒,以及“市售BNP测定试剂盒A”,“市售BNP测定试剂盒B”及“市售BNP测定试剂盒C”等三种市售BNP测定试剂盒,测定了血浆检测样品及各标准品套件的各标准品的BNP浓度测定值。关于使用这些BNP测定试剂盒的测定,IRMA法按照非专利文献4所记载来进行,市售BNP测定试剂盒则按照各试剂盒的附带说明书进行。需要说明,市售BNP测定试剂盒A使用化学发光酶免疫测定法(CLEIA),市售BNP测定试剂盒B及市售BNP测定试剂盒C均使用根据化学发光免疫测定法(CLIA)的测定方法。以下,可以用“各BNP测定试剂盒”来指称这三种BNP测定试剂盒的每一种。

[0069] 2.5校正系数的计算及测定值的校正

将使用各BNP测定试剂盒获得的各标准品的测定值,与使用基于免疫放射测定法(基准测定法)的BNP测定试剂盒获得的该标准品的测定值进行比较,对于每一种标准品套件分别计算出低浓度标准品及高浓度标准品的测定值的比,即“利用基准测定法获得的测定值/利用各BNP测定试剂盒获得的测定值”。然后,使用针对各BNP测定试剂盒的所述比,按照以下对利用该BNP测定试剂盒获得的各检测样品的测定值进行校正。

(i) 对于检测样品的测定值(实测值)在利用该BNP测定试剂盒获得的低浓度标准品的测定值以下的检测样品,将检测样品的测定值乘以对于低浓度标准品算出的比。

(ii) 对于检测样品的测定值大于利用该BNP测定试剂盒获得的低浓度标准品的测定值、且在利用该BNP测定试剂盒获得的高浓度标准品的测定值以下的检测样品,将检测样品的测定值乘以从分别由低浓度标准品及高浓度标准品算出的比按照下式计算的系数:

对于低浓度标准品算出的比+[(对于高浓度标准品算出的比-对于低浓度标准品算出的比) / (利用该BNP测定试剂盒获得的高浓度标准品的测定值-利用该BNP测定试剂盒获得的低浓度标准品的测定值)] × (检测样品的测定值-利用该BNP测定试剂盒获得的低浓度标准品的测定值)。

(iii) 对于检测样品的测定值大于利用该BNP测定试剂盒获得的高浓度标准品的测定值的检测样品,将检测样品的测定值乘以对于高浓度标准品算出的比。

图3显示基于利用市售BNP测定试剂盒A获得的本发明的低浓度标准品及高浓度标准品的测定值,检测样品的测定值与校正系数的关系的一个实例。

[0070] 2.6测定值校正的效果

(1) 利用各BNP测定试剂盒获得的血浆检测样品的测定结果

利用所述基准测定法及各BNP测定试剂盒获得的血浆检测样品及各标准品的测定值分别示于表1及表2中。

[表1]

表1

检测样品 编号	免疫放射测定法 (基准测定法) pg/mL	市售BNP测定试 剂盒A pg/mL	市售BNP测定试 剂盒B pg/mL	市售BNP测定试 剂盒C pg/mL
1	22.8	17.4	24.4	17.7
2	39.9	31.1	43.5	28.4
3	57.6	43.8	62.9	33.6
4	60.2	62.2	79.1	52.3
5	91.9	73.1	99.2	56.7
6	130.9	95.4	121.0	79.6
7	145.2	147.4	165.2	108.6
8	212.9	178.4	208.7	128.3
9	351.7	277.6	345.9	218.3
10	450.5	359.3	419.7	310.2

[表2]

表2

标准品		免疫放射测定分 析法 (基准测定法) pg/mL	市售BNP测定试 剂盒A pg/mL	市售BNP测定试 剂盒B pg/mL	市售BNP测定试 剂盒C pg/mL
本 发 明 品	低浓度标准品 (proBNP 50%)	37.7	28.0	42.9	23.6
	高浓度标准品 (proBNP 75%)	158.9	138.1	156.0	103.3
现 有 技 术	低浓度标准品 (仅proBNP)	36.4	36.6	41.6	26.6
	高浓度标准品 (仅proBNP)	181.8	197.5	164.6	126.8
	低浓度标准品 (仅BNP-32)	35.8	37.6	53.6	22.9
	高浓度标准品 (仅BNP-32)	181.5	187.8	238.8	85.2
	低浓度标准品 (proBNP/BNP-32 1:1)	37.8	36.9	45.9	22.9
	高浓度标准品 (proBNP/BNP-32 1:1)	186.0	203.8	205.4	108.5

对于利用基准测定法测定的血浆检测样品的测定值,利用各BNP测定试剂盒获得的该血浆检测样品的测定值的相关如下:

市售BNP测定试剂盒A: $y=0.791x+4.859$ (图4),

市售BNP测定试剂盒B: $y=0.924x+12.423$ (图5),

市售BNP测定试剂盒C: $y=0.656x+0.763$ (图6)。

这三个相关式的斜率的平均值为0.790,变异系数(CV%)为17.0%。

需要说明,在本实施例中,各BNP测定试剂盒的相关性全部是采用最小二乘法进行直线一次回归而求出的。

[0071] (2) 本发明的各标准品的校正系数的算出

用利用基准测定法获得的本发明的各标准品的测定值除以利用各BNP测定试剂盒获得的该标准品的测定值计算出校正系数,示于表3中。

[表3]

表3

标准品	免疫放射测定法 (基准测定法) (pg/mL)	市售BNP测定试剂 盒A 校正系数	市售BNP测定试剂 盒B 校正系数	市售BNP测定试剂 盒C 校正系数
低浓度标准品 (proBNP 50%)	37.7	1.35	0.88	1.60
高浓度标准品 (proBNP 75%)	158.9	1.15	1.02	1.54

[0072] (3) 利用本发明的校正方法对各BNP测定试剂盒的测定值的校正依据所述2.5所示的校正方法,对利用各BNP测定试剂盒获得的血浆检测样品的测定值进行了校正,结果,相对于利用基准测定法获得的血浆检测样品的测定值,利用各BNP测定试剂盒获得的该血浆检测样品的测定值的相关如下:

市售BNP测定试剂盒A: $y=0.891x+12.724$ (图4),

市售BNP测定试剂盒B: $y=0.960x+6.306$ (图5),

市售BNP测定试剂盒C: $y=1.006x+2.894$ (图6)。

这三个相关式的斜率的平均值为0.952,比校正前的斜率更接近于1,

变异系数为6.1%,仅为校正前(17.0%)的36%,各BNP测定试剂盒之间的斜率之差也缩小了。由此可知,通过本发明的校正方法显著减小了各BNP测定试剂盒之间的测定值的偏差。进一步地,利用各BNP测定试剂盒获得的各个BNP浓度测定值在校正后相对于基准测定法的比率也接近100% (图7~图9)。

[0073] 在校正前后对于基准测定法的各BNP测定试剂盒的相关图如图4~图6所示。另外,校正前后利用各BNP测定试剂盒获得的BNP浓度测定值相对于基准测定法的百分比的图如图7~图9所示。在图4~图9中,横轴为利用基准测定法获得的BNP浓度测定值,图4~图6的纵轴为利用各BNP测定试剂盒获得的BNP浓度测定值,图7~图9的纵轴表示利用各BNP测定试剂盒获得的BNP浓度测定值相对于基准测定法的百分比,校正前用白色空心菱形记号(\diamond)表示,校正后用实心菱型记号(\blacklozenge)表示。

[0074] (4) 使用现有技术的BNP标准品的比较例

另一方面,将利用基准测定法获得的现有技术的各标准品的测定值除以利用各BNP测定试剂盒的该标准品的测定值计算出校正系数,示于表4中。

[表4]

表4

标准品	免疫放射测定法 (基准测定法) (pg/mL)	市售BNP测定试剂 盒A 校正系数	市售BNP测定试剂 盒B 校正系数	市售BNP测定试剂 盒C 校正系数
低浓度标准品 (仅proBNP)	36.4	0.99	0.88	1.37
高浓度标准品 (仅proBNP)	181.8	0.92	1.10	1.43
低浓度标准品 (仅BNP-32)	35.8	0.95	0.67	1.56
高浓度标准品 (仅BNP-32)	181.5	0.97	0.76	2.13
低浓度标准品 (proBNP/BNP-32 1:1)	37.8	1.02	0.82	1.65
高浓度标准品 (proBNP/BNP-32 1:1)	186.0	0.91	0.91	1.71

与使用本发明的标准品套件进行的校正相同,基于现有技术的各标准品的测定值,对利用各BNP测定试剂盒对血浆检测样品的测定值进行校正,其结果如以下所示。

(i) 在用仅有糖基化proBNP的标准品进行校正时,相对于根据基准测定法获得的血浆检测样品的测定值,利用各BNP测定试剂盒获得的该血浆检测样品的测定值的相关如下:

市售BNP测定试剂盒A: $y=0.720x+7.930$ (图10),

市售BNP测定试剂盒B: $y=1.045x+3.379$ (图11),

市售BNP测定试剂盒C: $y=0.944x-1.012$ (图12)。

这三个相关式的斜率的平均值为0.903,变异系数为18.4%,是利用本发明的校正方法获得的校正后的变异系数(6.1%)的约3.0倍。另外,对于校正后的利用各BNP测定试剂盒获得的各BNP浓度测定值,在某些检测样品中,观察到校正反而导致相对于基准测定法的比率偏离100%的实例(图19~图21)。

(ii) 在用仅有BNP-32的标准品进行校正时,相对于利用基准测定法获得的血浆检测样品的测定值,利用各BNP测定试剂盒获得的该血浆检测样品的测定值的相关如下:

市售BNP测定试剂盒A: $y=0.770x+3.756$ (图13),

市售BNP测定试剂盒B: $y=0.716x+3.391$ (图14),

市售BNP测定试剂盒C: $y=1.437x-12.054$ (图15)

这三个相关式的斜率的平均值为0.974,变异系数为41.2%,是本发明的校正方法获得的校正后的变异系数(6.1%)的约6.8倍。

(iii) 在用以1/1的比率同时添加低浓度及高浓度的糖基化proBNP和BNP-32 (proBNP/BNP-32)的标准品进行校正时,相对于利用基准测定法获得的血浆检测样品的测定值,利用各BNP测定试剂盒获得的该血浆检测样品的测定值的相关如下:

市售BNP测定试剂盒A: $y=0.708x+9.983$ (图16),

市售BNP测定试剂盒B: $y=0.854x+6.063$ (图17),

市售BNP测定试剂盒C: $y=1.127x-0.456$ (图18)。

这三个相关式的斜率的平均值为0.895,变异系数为23.7%,是本发明的校正方法获得的校正后的变异系数(6.1%)的约3.9倍。

[0075] 利用上述(i)、(ii)及(iii)的各个标准品套件分别进行校正时,各BNP测定试剂盒对于基准测定法的相关图如图10~图18所示。另外,利用各BNP测定试剂盒获得的BNP浓度

测定值在使用上述(i)的标准品套件——其校正效果与本发明的校正最接近——校正前后相对于基准测定法的百分比的图如图19~图21所示。图10~图21中,横轴为根据基准测定法的测定值,图10~图18的纵轴为利用各BNP测定试剂盒的测定值,图19~图21的纵轴显示利用各BNP测定试剂盒获得的BNP浓度测定值相对于基准测定法的百分比,校正前用白色空心菱形记号(\diamond)表示,校正后用实心菱形记号(\blacklozenge)表示。

[0076] 如上所述,若用相关式的斜率的变异系数来表示各BNP测定试剂盒的测定值的偏差,根据现有技术进行校正时,该变异系数是本发明的校正方法的校正大3倍以上。

工业上的可利用性

[0077] 通过使用包含多个含有BNP-32及proBNP的标准品的BNP测定用标准品套件,可校正不同的BNP测定试剂盒的BNP浓度测定值,相比于用现有的BNP测定用标准品套件对这些BNP测定试剂盒的BNP浓度测定值进行的校正,所述BNP测定用标准品套件使得校正后的BNP测定试剂盒的测定值之间更一致。

序列表

<110> 盐野义制药株式会社

<120> BNP测定用标准品

<130> 18-023-PCTJP

<160> 2

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly
 1 5 10 15
 Leu Gln Glu Gln Arg Asn His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln
 20 25 30
 Val Glu Gln Thr Ser Leu Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr
 35 40 45
 Gly Val Trp Lys Ser Arg Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His
 50 55 60
 Arg Lys Met Val Leu Tyr Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ser Pro Lys Met
 65 70 75 80
 Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser
 85 90 95
 Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His
 100 105

<210> 2

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp
 1 5 10 15
 Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His
 20 25 30

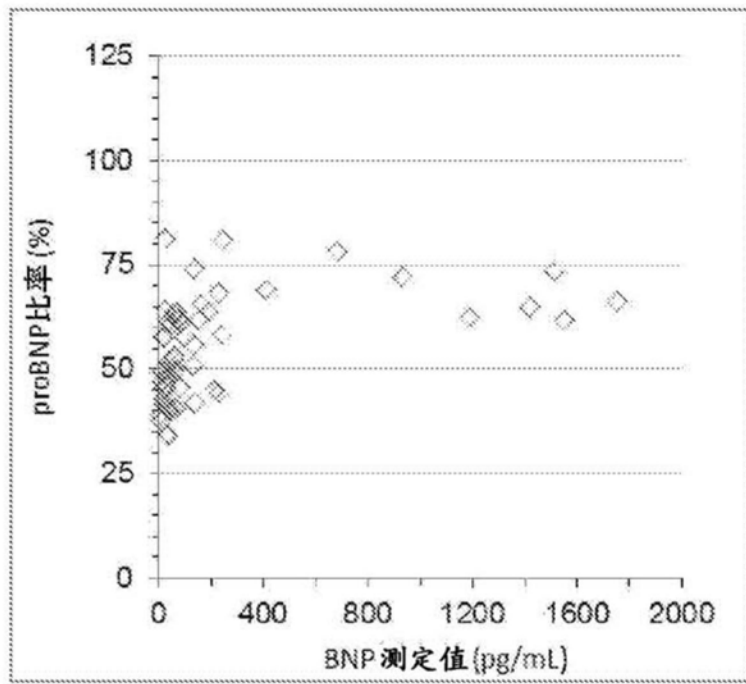


图1a

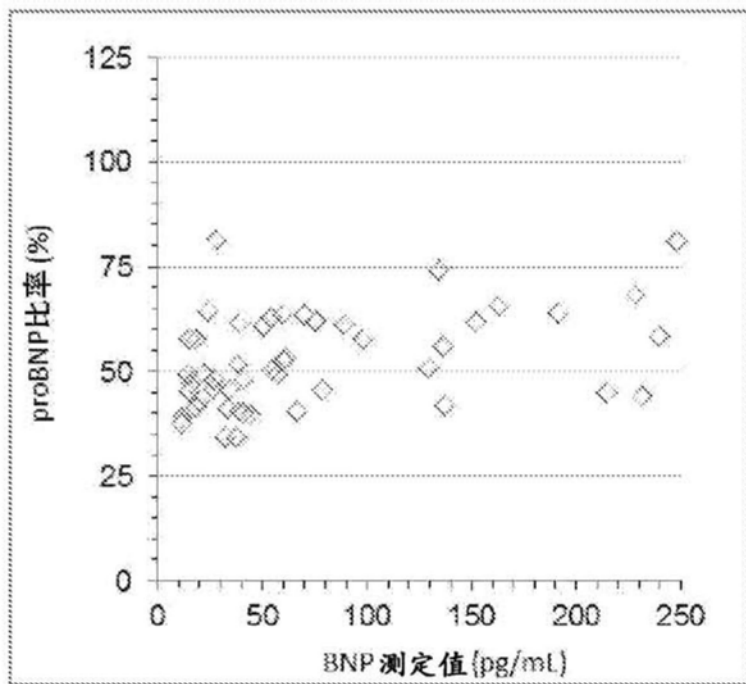


图1b

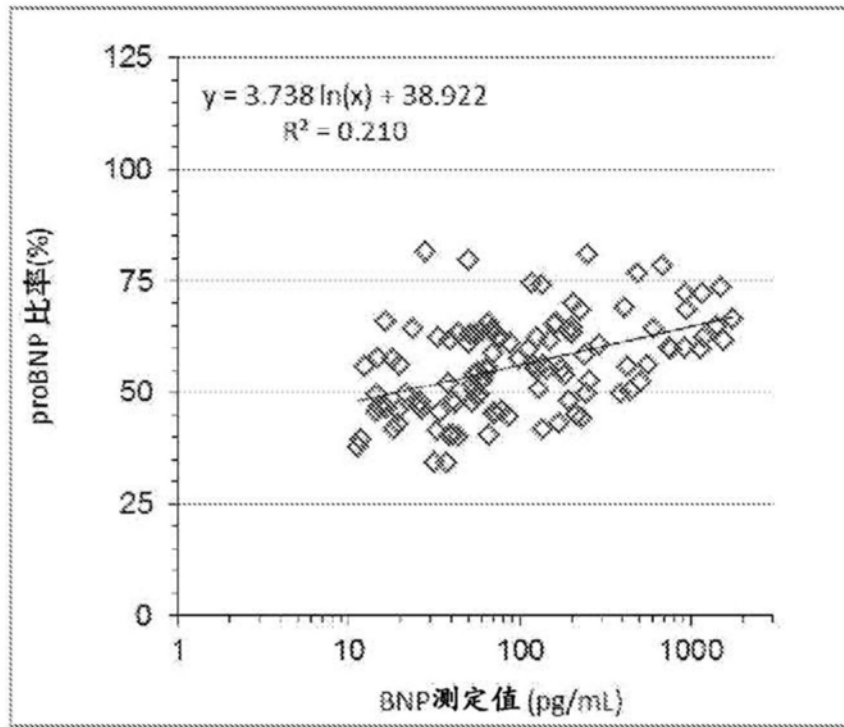


图2

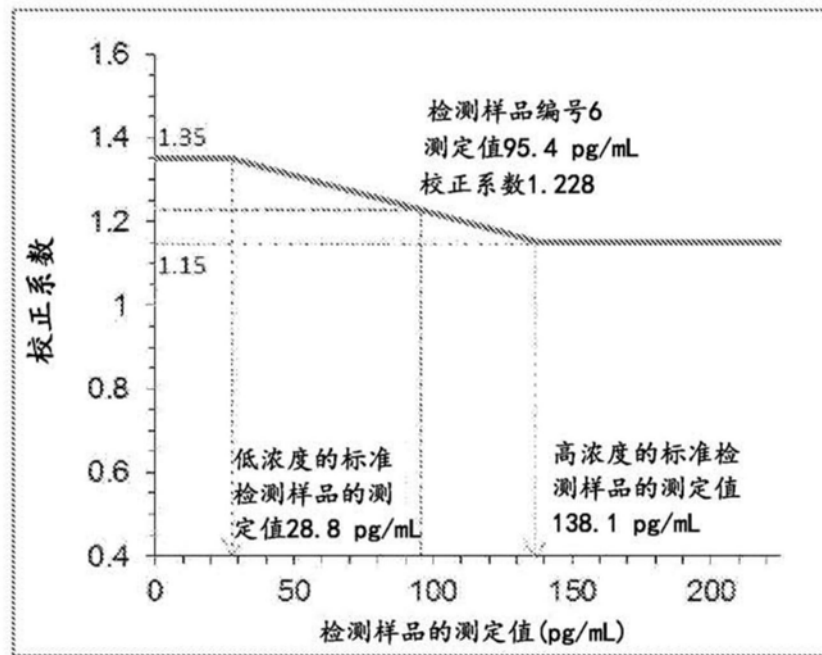


图3

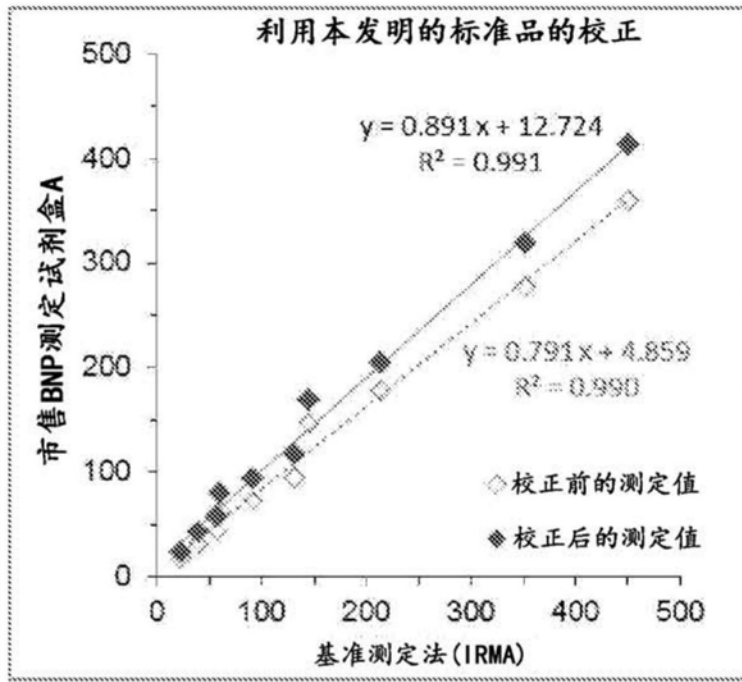


图4

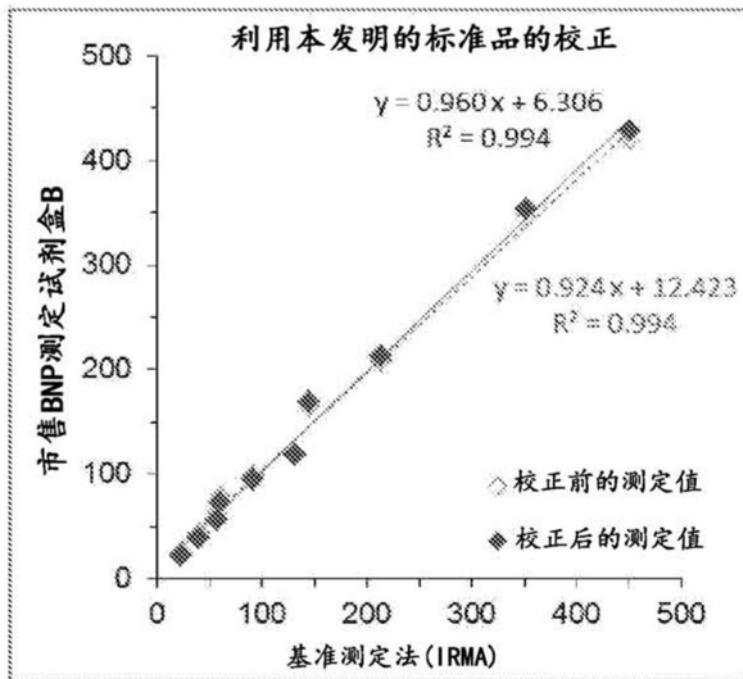


图5

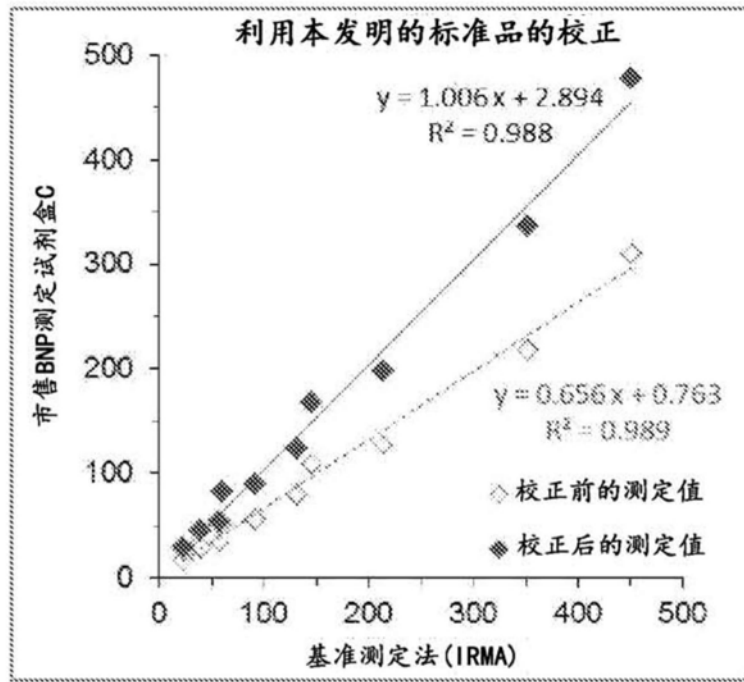


图6

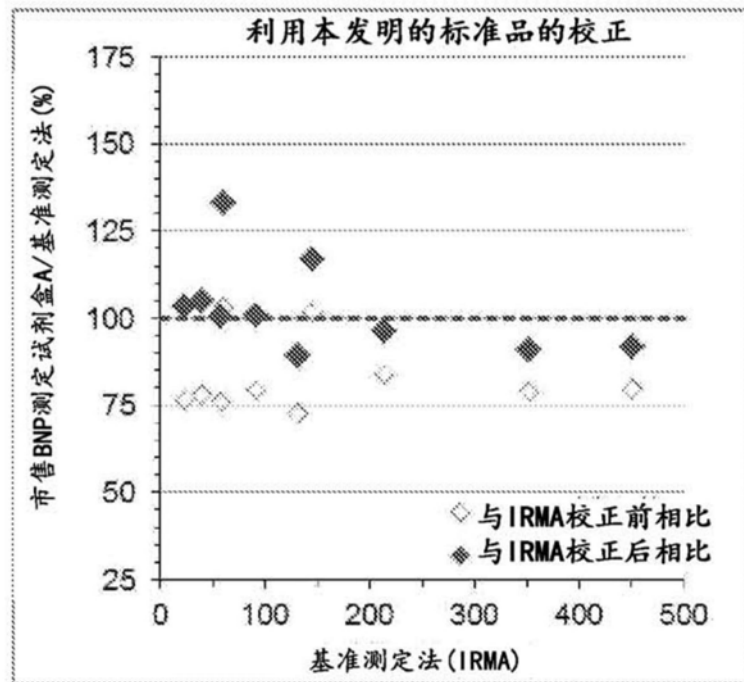


图7

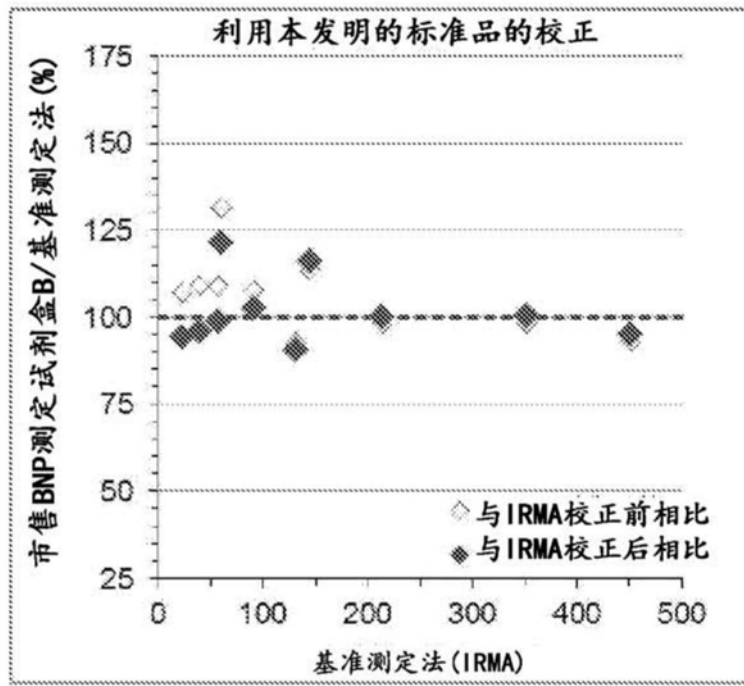


图8

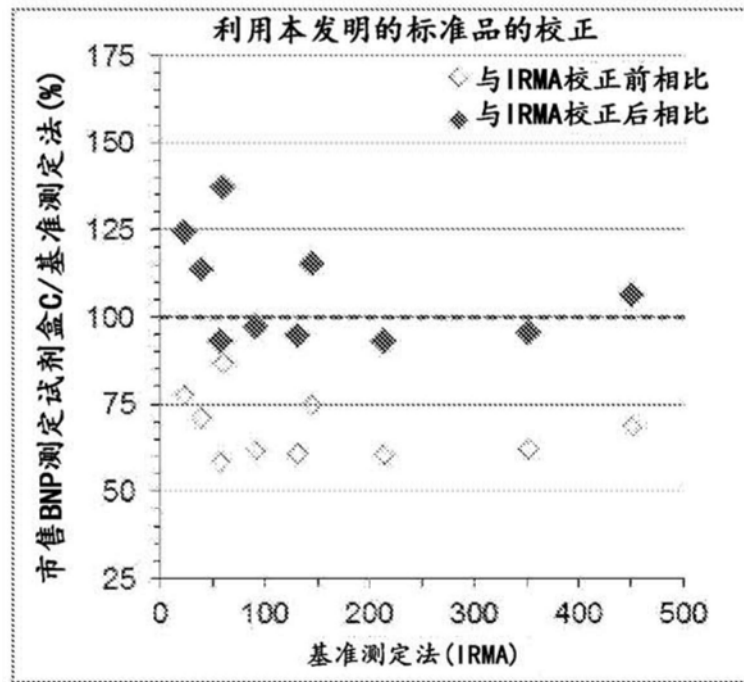


图9

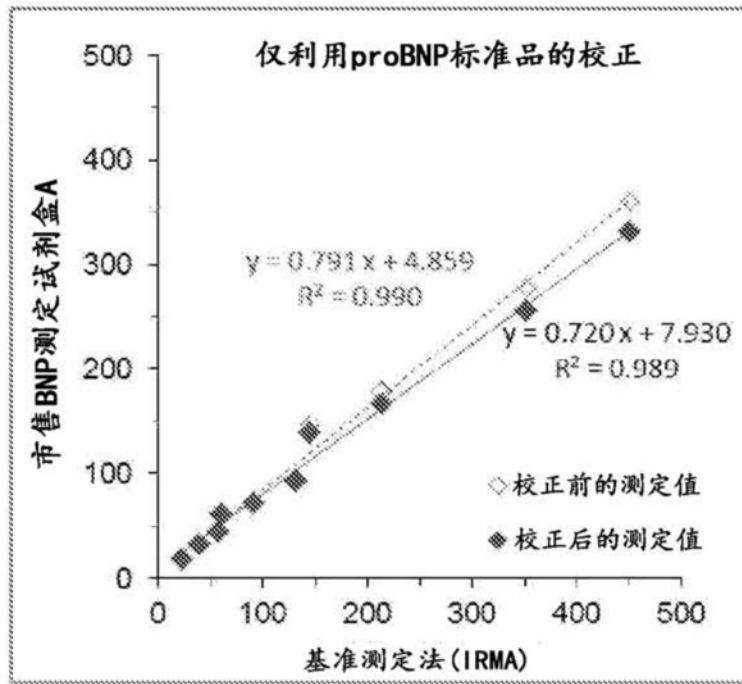


图10

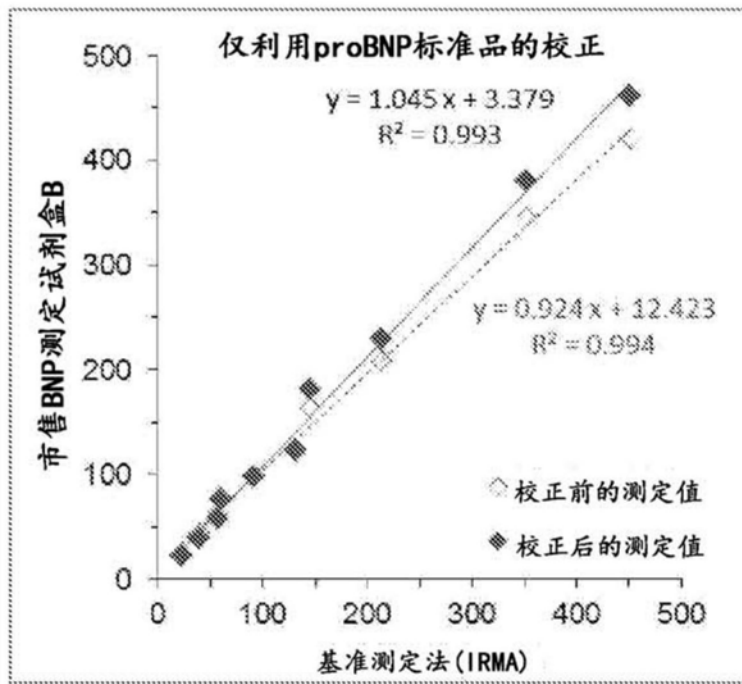


图11

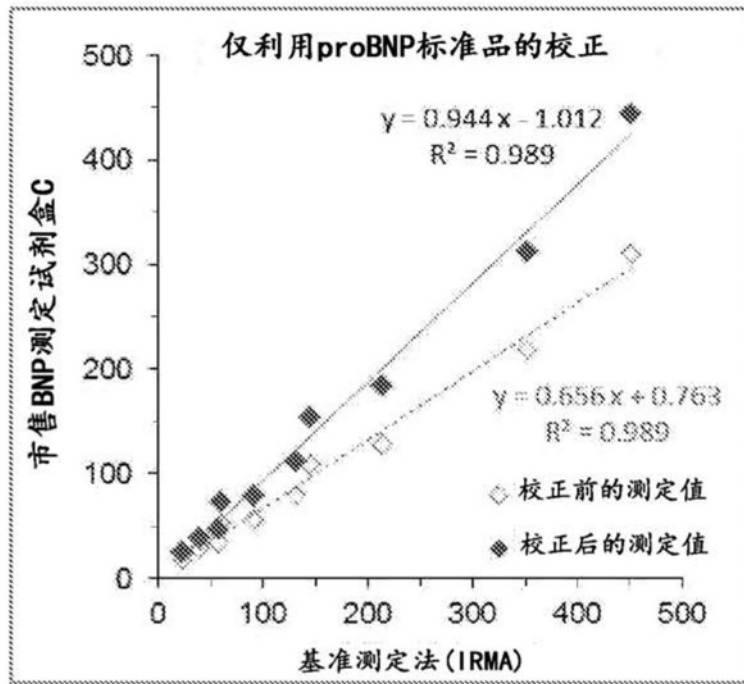


图12

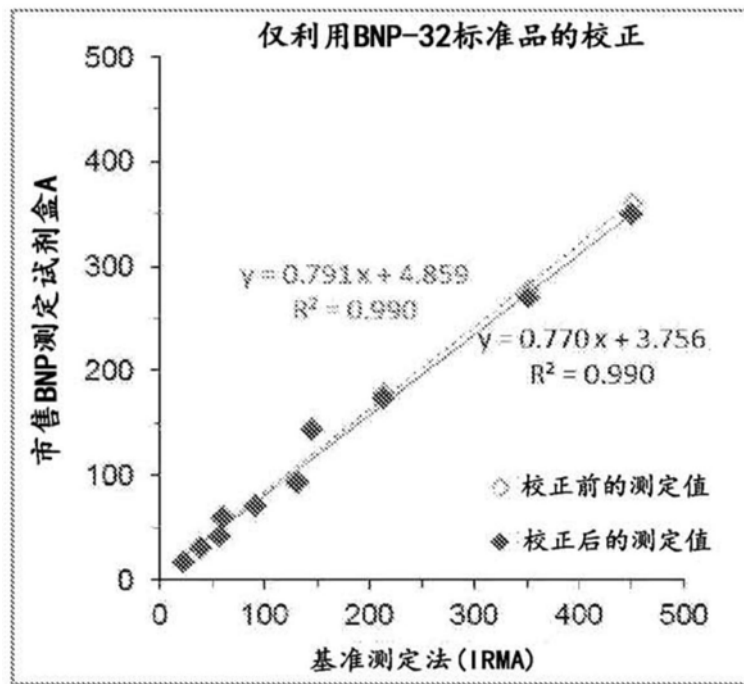


图13

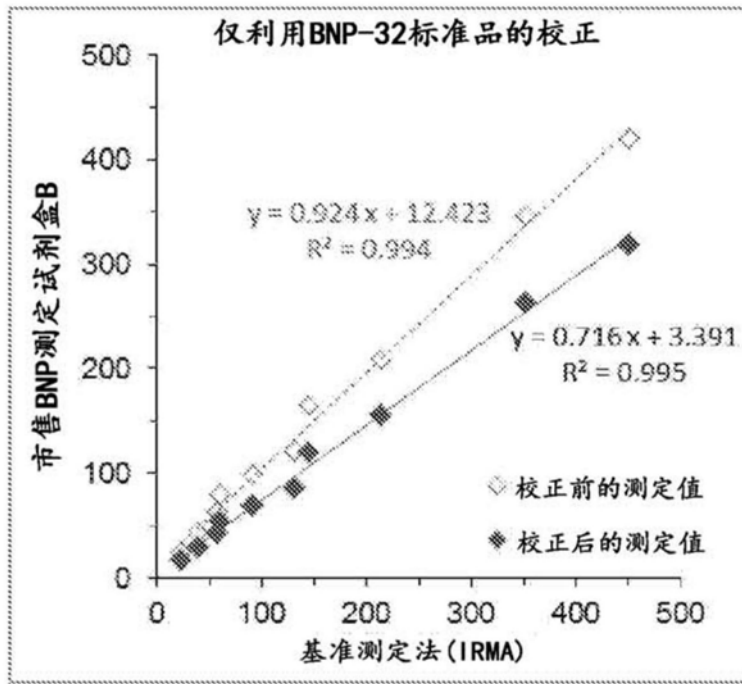


图14

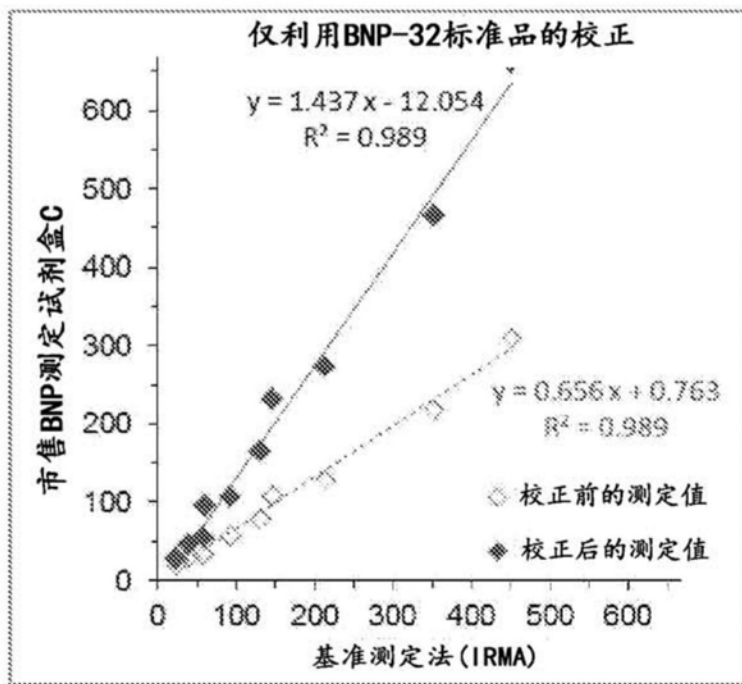


图15

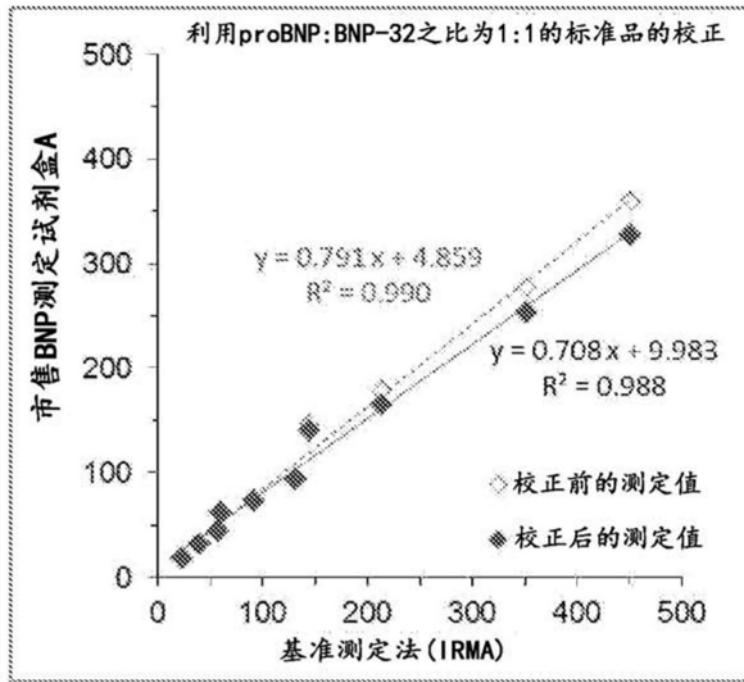


图16

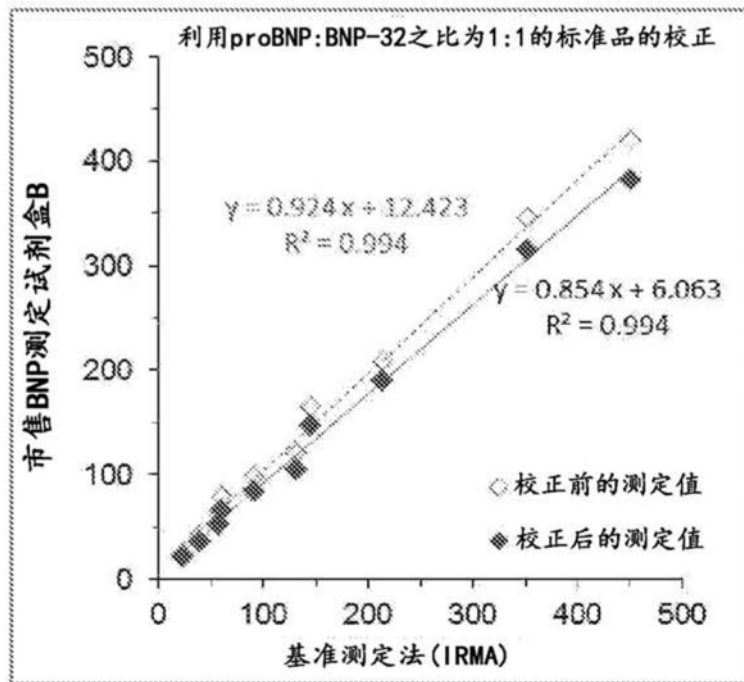


图17

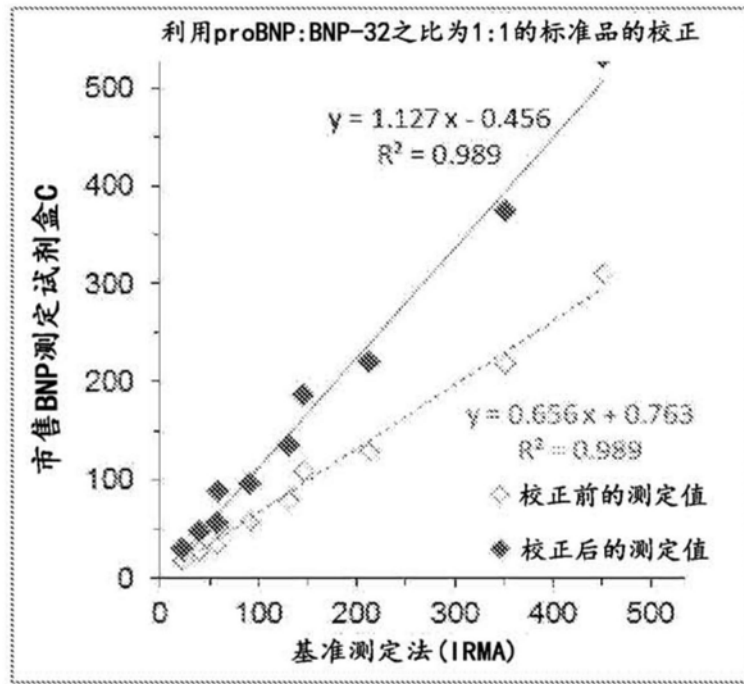


图18

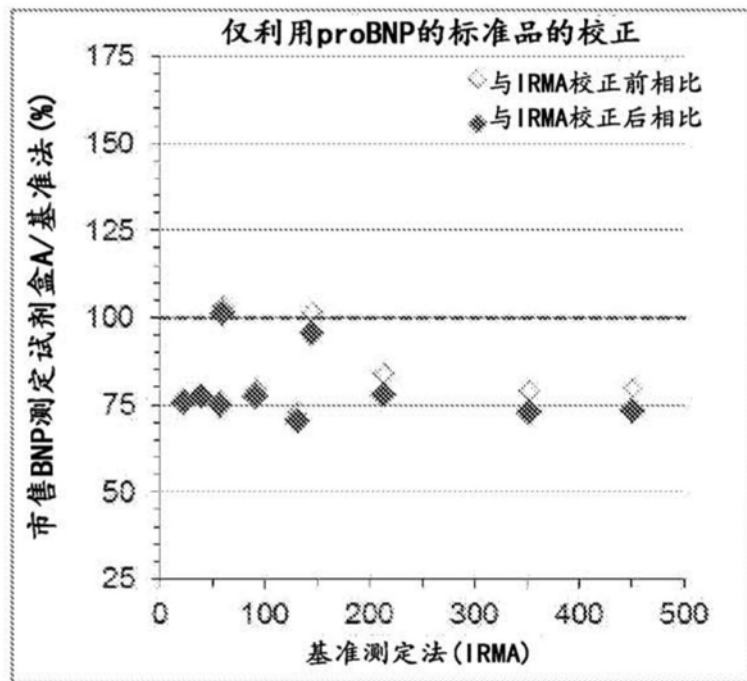


图19

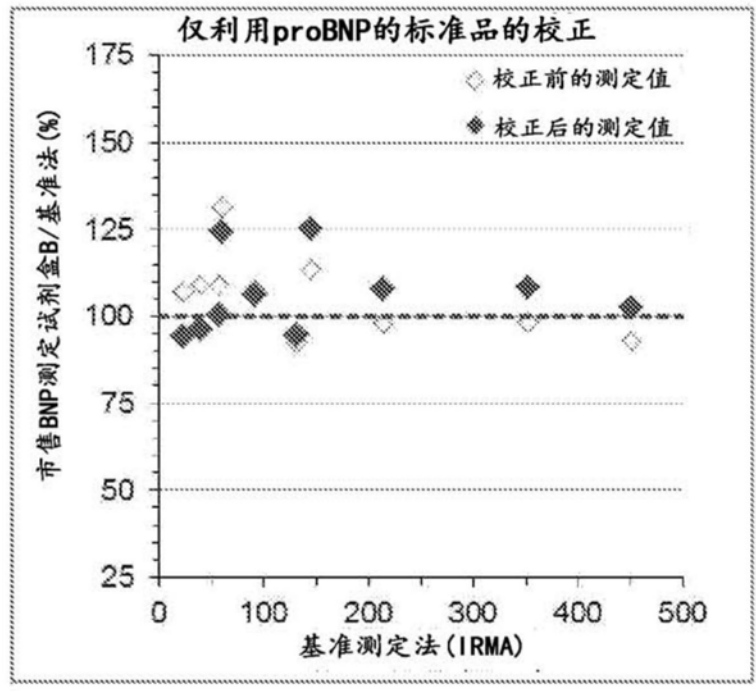


图20

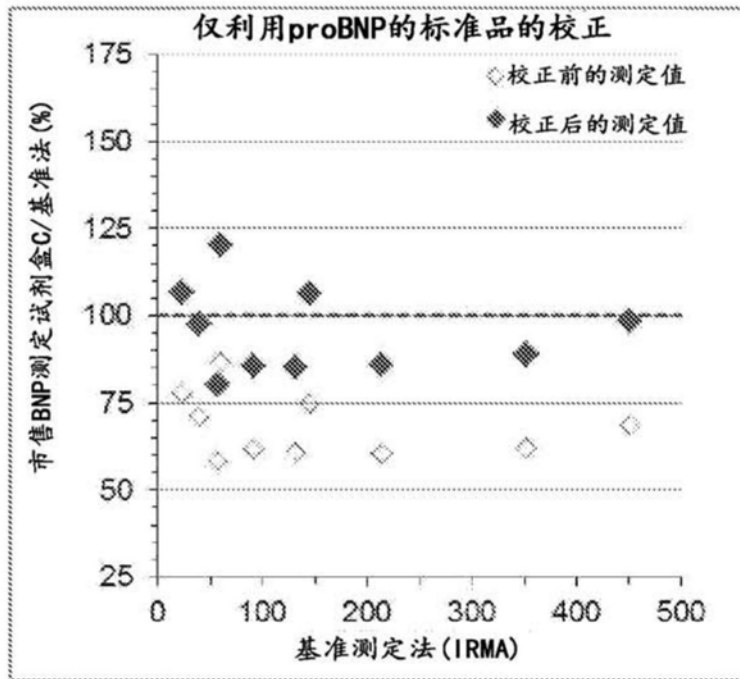


图21