

Title (en)
Vitamin B12 assay.

Title (de)
Vitamin B12-Test.

Title (fr)
Titration de la vitamine B12.

Publication
EP 0413001 A1 19910220 (EN)

Application
EP 89907437 A 19890519

Priority
US 20713988 A 19880615

Abstract (en)
[origin: WO8912826A1] A competitive binding assay for vitamin B12 in a test sample gives a steep dose-response curve in the clinically significant concentration regions, yielding great accuracy. The assay uses immobilized vitamin B12 to compete with the vitamin B12 in the test sample for a binding partner. The quantity of the binding partner bound to the immobilized vitamin B12 can be measured and is inversely proportional to the concentration of free vitamin B12 in the test sample. The binding partner is typically biotinylated intrinsic factor prepared so that substantially all the molecules of intrinsic factor are biotinylated and the binding activity of the intrinsic factor for vitamin B12 is not diminished. The bound biotinylated intrinsic factor can then be determined by reacting it with avidin coupled to a reporter group. The reporter group is typically an enzyme such as horseradish peroxidase, but can be another detectable label. The immobilized vitamin B12 is typically bound to a solid support such as diazotized amine-derivatized beads, and can be bound through a protein linker. Other binding partners such as anti-vitamin B12 antibody are also usable. The binding partner can be labeled directly with the reporter group. The method is adaptable to the assay of serum, and methods of inactivating endogenous vitamin B12-binding proteins in serum are described.

Abstract (fr)
Un titrage compétitif de fixation pour la vitamine B12, dans un échantillon d'analyse, donne une courbe dose-réponse à forte pente dans les zones de concentration cliniquement significatives, fournissant une grande précision. L'analyse utilise la vitamine B12 immobilisée en vue de concurrencer la vitamine B12 dans l'échantillon d'analyse pour un partenaire de fixation. La quantité de partenaire de fixation liée à la vitamine B12 immobilisée peut être mesurée et est inversement proportionnelle à la concentration de vitamine B12 libre, dans l'échantillon d'analyse. Le partenaire de fixation est un facteur intrinsèque biotynilé de façon type, préparé de telle façon que la quasi-totalité des molécules du facteur intrinsèque soit biotynylée et que l'activité de liaison du facteur intrinsèque pour la vitamine B12 ne soit pas réduite. Le facteur intrinsèque biotynilé lié peut alors être déterminé en le faisant réagir avec l'avidine couplée à un groupe relationnel. Le groupe relationnel est généralement une enzyme, telle que la peroxydase du raifort, mais peut être un autre composé marqué détectable. La vitamine B12 immobilisée est liée, de façon générale, à un support solide, tel que des perles diazotées dérivées d'amines, la liaison pouvant se faire par l'intermédiaire d'un élément liant protéinique. D'autres partenaires de fixation tels qu'un anticorps antivitamin B12 sont également utilisables. Le partenaire de fixation peut être marqué directement avec le groupe relationnel. La méthode peut être adaptée au titrage du sérum; des méthodes d'inactivation de protéines endogènes fixant la vitamine B12 dans le sérum sont décrites.

IPC 1-7
G01N 33/543; G01N 33/547; G01N 33/58; G01N 33/82

IPC 8 full level
G01N 33/82 (2006.01)

CPC (source: EP)
G01N 33/82 (2013.01)

Citation (search report)
See references of WO 8912826A1

Designated contracting state (EPC)
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

DOCDB simple family (publication)
WO 8912826 A1 19891228; EP 0413001 A1 19910220; JP H03500003 U 19910606

DOCDB simple family (application)
US 8902193 W 19890519; EP 89907437 A 19890519; JP 60002290 U 19890519