

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-507491
(P2006-507491A)

(43) 公表日 平成18年3月2日(2006.3.2)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 27/416 (2006.01)	GO 1 N 27/46 3 3 6 B	2 GO 4 5
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 F	
GO 1 N 33/487 (2006.01)	GO 1 N 33/487	
GO 1 N 33/536 (2006.01)	GO 1 N 33/536 E	
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-552345 (P2004-552345)	(71) 出願人 503012199 キャピタル バイオチップ カンパニー リミテッド 中華人民共和国 ベイジン 102206 、チャンピン ディストリクト、ライ フ サイエンس パークウェイ 18
(86) (22) 出願日 平成15年5月6日(2003.5.6)	(71) 出願人 503379818 ツインファ・ユニバーシティ 中華人民共和国、ベイジン 100084 、ハイディアン・ディストリクト、キン ファ・ヤン (番地なし)
(85) 翻訳文提出日 平成17年6月16日(2005.6.16)	(74) 代理人 100078282 弁理士 山本 秀策
(86) 国際出願番号 PCT/CN2003/000327	(74) 代理人 100062409 弁理士 安村 高明
(87) 国際公開番号 W02004/046721	
(87) 国際公開日 平成16年6月3日(2004.6.3)	
(31) 優先権主張番号 02148800.2	
(32) 優先日 平成14年11月21日(2002.11.21)	
(33) 優先権主張国 中国 (CN)	

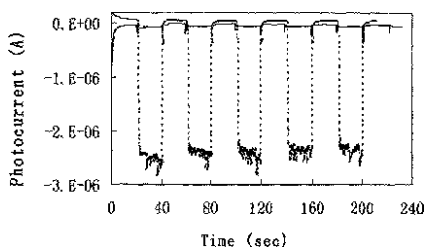
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光電気化学的標識を用いて分析物をアッセイするための装置および方法

(57) 【要約】

本発明は、標識として光電気化学的分子を用いて分析物をアッセイするための装置、キットおよび方法を提供する。具体的に、本発明は、分析物をアッセイするための方法を提供し、その方法は、a) 分析物を含むと思われるサンプルを、このサンプル中に存在する場合、分析物の反応物への結合を可能にする適切な条件下で、この分析物と結合および/または反応し得る反応物と接触させる工程；ならびに b) この分析物とこの反応物との間の結合および/または反応を評価し、このサンプル中における分析物の存在および/または量を決定する工程を包含し、ここで、この反応物、分析物、または付加的反応物もしくは付加的分析物または分析物のアナログは、光電気化学的活性分子を用いて標識される。

【化1】



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

分析物をアッセイする方法であって、以下：

a) 分析物を含むと思われるサンプルを、該分析物と結合および/または反応し得る反応物と、該サンプル中に存在する場合、該反応物への該分析物の結合を可能にする適切な条件下で、接触させる工程；ならびに

b) 該分析物と該反応物との間の結合および/または反応を評価し、該サンプル中の該分析物の存在および/または量を決定する工程であって、ここで、該反応物、該分析物、または付加的反応物もしくは付加的分析物または分析物のアナログが、光電気化学的活性分子を用いて標識され、そして工程 b) における該評価する工程が、電極の存在下で、光

10

を用いて該光電気化学的活性分子を励起状態に転換する工程、および該励起された光電子化学的活性分子と該電極との間の電子伝達によって生じる電流を評価する工程を包含する、工程

を包含する、方法。

【請求項 2】

前記分析物が、細胞、細胞内小器官、ウイルス、分子、およびそれらの凝集物または複合体からなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記細胞が、動物細胞、植物細胞、真菌細胞、細菌細胞、組み換え細胞、および培養細胞からなる群より選択される、請求項 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記細胞内小器官が、核、ミトコンドリア、葉緑体、リボソーム、小胞体、ゴルジ体、リソソーム、プロテアソーム、分泌小胞、液胞、およびミクロソームからなる群より選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記分子が、無機分子、有機分子、およびそれらの複合体からなる群より選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記有機分子が、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ビタミン、単糖、オリゴ糖、炭水化物、脂質、およびそれらの複合体からなる群より選択される、請求項 5 に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記分析物が、ホルモン、癌マーカー、ステロイド、ステロール、薬学的化合物、薬学的化合物の代謝産物、およびそれらの複合体からなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記サンプルが、哺乳動物のサンプルである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記哺乳動物が、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ウマ、ウサギ、モルモット、マウス、ヒト、ネコ、サル、イヌ、およびブタからなる群より選択される、請求項 8 に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記サンプルが、臨床サンプルである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記臨床サンプルが、血清、血漿、全血、痰、大脳脊髄液、羊水液、尿、胃腸内容物、毛髪、唾液、汗、歯肉擦過標本、および生検材料由来組織からなる群より選択される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記臨床サンプルが、ヒト臨床サンプルである、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

前記サンプルが、体液サンプルである、請求項 1 に記載の方法。

50

【請求項 14】

前記反応物が、前記分析物と特異的に結合および/または反応する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

前記反応物が、細胞、細胞内小器官、ウイルス、分子、およびそれらの凝集物または複合体からなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

前記反応物が、抗体である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

前記反応物が、核酸である、請求項 1 に記載の方法。

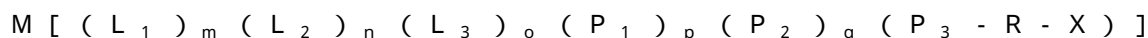
10

【請求項 18】

前記光電気化学的活性分子が、金属ポリピリジル複合体である、請求項 1 に記載の方法

【請求項 19】

前記光電気化学的活性分子が、一般式



を有し、ここで、M は金属イオンであり、 L_1 、 L_2 、 L_3 は、M の単座リガンドであり、 P_1 、 P_2 、 P_3 は、M の多座リガンドであり、R はスペーサーであり、X は、該光電気化学的活性分子を、反応物または分析物に結合させ得る反応性化学基であり、m、n、o、p および q はゼロまたは正の整数であり、そして全てのリガンドによって提供される結合の総数が M の配位数と等しい、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 20】

前記 M が、オスミウム、ルテニウム、亜鉛、マグネシウム、およびアルミニウムからなる群より選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

L_1 、 L_2 、または L_3 が、シアン化物またはチオシアン化物である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記 L_1 、 L_2 、 L_3 が、同じ基または異なる基である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

前記 P_1 、 P_2 、または P_3 が、窒素含有芳香族複素環である、請求項 19 に記載の方法。

30

【請求項 24】

前記窒素含有芳香族複素環が、ピピリジルシアニン、ピピラジルシアニン、テルピリジルシアニン、フェナントロリルシアニン、およびフタロシアニンからなる群より選択される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記ピピリジル基、ピピラジル基、テルピリジル基、およびフェナントロリル基が、置換されていないか、または置換されている、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記置換基が、アルキル、アリール、アラルキル、カルボキシレート、カルボキシアルデヒド、カルボキサミド、シアノ、アミノ、ヒドロキシカルボニル、ヒドロキシアミノ、アミノカルボニル、アミジン、グアニジウム、ウレイド、硫黄含有基、亜リン酸含有基、および N - ヒドロキシスクシンイミドのカルボン酸エステルからなる群より選択される、請求項 25 に記載の方法。

40

【請求項 27】

前記 R が、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキルまたはポリ(エチレングリコール)である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 28】

前記 R が、ポリ(エチレングリコール)である、請求項 19 に記載の方法。

50

【請求項 29】

前記 X が、N - ヒドロキシスクシンイミドエステル、スルフヒドリル、エポキシド、アルデヒド、無水マレイン酸、イミドエステル、アミノ、カルボキシル、イソチオシアネート、マレイミド、ハロアセチル、ヒドラジン、およびホスホロアミダイトからなる群より選択される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 30】

前記反応物または前記分析物が、光電気化学的活性分子を用いて標識される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 31】

競合アッセイ形式において実施される請求項 1 に記載の方法であって、ここで、前記サンプル由来の前記反応物および前記分析物が、標識されず、かつ光電気化学的活性分子を用いて標識された別々の分析物または分析物アナログが使用される、方法。

10

【請求項 32】

サンドイッチアッセイ形式において実施される請求項 1 に記載の方法であって、ここで、第 1 の反応物および前記サンプル由来の前記分析物が、標識されず、かつ光電気化学的活性分子を用いて標識された第 2 の反応物が使用される、方法。

【請求項 33】

前記分析物と前記反応物との間の前記結合または反応が、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA)、免疫プロット法、免疫沈降、ラジオイムノアッセイ (RIA)、免疫染色、ラテックス凝集、間接血球凝集アッセイ (IHA)、補体結合、間接免疫蛍光アッセイ (IFA)、比濁分析、フローサイトメトリーアッセイ、化学発光アッセイ、側方フローイムノアッセイ、 μ -捕獲アッセイ、阻害アッセイ、エネルギー転移アッセイ、アビディティアッセイ、濁度イムノアッセイ、および時間分解増幅クリプテート放出 (TRACE) アッセイからなる群より選択される形式によって評価される、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 34】

工程 b) における前記評価する工程が、電極および再生物質の存在下で、前記光電気化学的活性分子を、光を用いて励起状態に転換させる工程、ならびに、該励起された光電気化学的活性分子と該電極との間の電子伝達によって生じる電流を評価する工程を包含し、そして、該電子伝達から結果として生じる基底状態における酸化型光電気化学的活性分子または還元型光電気化学的活性分子が、該再生物質によって、光を用いて、再び励起され得る基底状態における還元型光電気化学的活性分子または酸化型光電気化学的活性分子へと、還元または酸化される、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 35】

前記再生物質が、ヒドロキノンである、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

分析物をアッセイするキットであって、ここで、

a) サンプル中に存在する場合、分析物の、反応物との結合を可能にする適切な条件下で、該分析物と結合および / または反応し得る該反応物 ; ならびに

b) 該分析物と該反応物との間の結合および / または反応を評価し、該サンプル中の該分析物の存在および / または量を決定するための手段を備え、ここで、該反応物、該分析物、または付加的反応物もしくは付加的な分析物または分析物のアナログを、光電気化学的活性分子を用いて、標識し、そして、工程 b) における該評価工程が、該光電気化学活性分子を、電極の存在下、光を用いて、励起状態に転換させる工程、および該励起された光電気化学的活性分子と該電極との間の電気伝達によって生じる電流を評価する工程を包含する、キット。

40

【請求項 37】

前記電子伝達から結果として生じる基底状態における前記酸化型光電気化学的活性分子または前記還元型光電気化学的活性分子を、光を用いて再び励起され得る基底状態における還元型光電気化学的活性分子または酸化型光電気化学的活性分子へと、還元または酸化させるための再生物質をさらに備える、請求項 36 に記載のキット。

50

【請求項 38】

前記分析物をアッセイするためのキットを使用するための指示書をさらに備える、請求項 36 に記載のキット。

【請求項 39】

分析物をアッセイするための装置であって、

a) サンプル中に存在する場合、該分析物の反応物への結合を可能にするための適切な条件下で、該分析物と結合および/または反応し得る反応物；

b) 反応物に結合した光電気化学的活性分子、分析物、または分析物のアナログ；

c) 励起された光電気化学的活性分子と電極との間の電気伝達によって生じる電流を評価するために適切な電極；

d) 酸化型光電気化学的活性分子または還元型光電子化学的活性分子を、光を用いて再び励起され得る基底状態へと、転換させるための再生物質；

e) 該光電気化学的活性分子を励起するスペクトルの光を通過させる壁を有する電気化学的電池；

f) 該光電気化学的活性分子を励起し得るスペクトルを有する光源、および、必要な場合、該スペクトルを隔離するための手段をさらに備える光手段；

を備え、ここで、該電極のエネルギーレベル、該再生物質の酸化還元電位、および該光電気化学的活性分子から該電極までの距離が、該励起された光電気化学的活性分子と該電極との間の電子伝達によって生じる電流の測定を保證するように調節される、装置。

10

【請求項 40】

前記光源が、ホローカソードランプ、キセノンランプ、水銀 - キセノンランプ、ハロゲン化金属ランプ、発光ダイオード、およびレーザーからなる群より選択される、請求項 39 に記載の装置。

20

【請求項 41】

他の電子伝達と、前記励起された光電気化学的活性分子と前記電極との間の前記電子伝達とを区別するための手段をさらに備える、請求項 39 に記載の装置。

【請求項 42】

他の電子伝達と、前記励起された光電気化学的活性分子と前記電極との間の前記電子伝達とを区別するための前記手段が、ライトビームチョッパー、フィルター、レンズ、およびロックイン増幅器を備える、請求項 41 に記載の装置。

30

【請求項 43】

他の電子伝達と、前記励起された光電気化学的活性分子と前記電極との間の前記電子伝達とを区別するための前記手段が、電流信号の差が、光の存在による信号であるように、前記光に露光される第 1 の作用電極および暗闇にある第 2 の作用電極を備える、請求項 41 に記載の装置。

【請求項 44】

f) における前記光手段がさらに、前記スペクトルを隔離するための手段を備える、請求項 39 に記載の装置。

【請求項 45】

前記スペクトルを隔離するための前記手段は、モノクロメーターまたは光学フィルター

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、分析物をアッセイするための装置および方法に関する。より具体的には、本発明は、光電気化学的標識を用いて、分析物をアッセイするための装置および方法に関する。

【背景技術】

【0002】

化学的物質、生化学的物質、および生物学的物質を検出および定量するための、速くて

50

、高い特異性がある方法に対する連続的かつ拡大する必要性が存在する。特に価値があるのは、少量の医薬品、代謝産物、微生物、および他の診断材料の値を、測定するための方法である。そのような材料の例としては、麻薬および毒物、治療目的のために投与される薬物、ホルモン、病原微生物、および病原ウイルス、抗体、代謝産物、酵素、ならびに核酸が挙げられる。

【0003】

これらの材料の存在は、多くの生化学系および生物学系を特徴付ける高い程度の特異性を利用する結合方法によってしばしば決定され得る。頻繁に使用される方法は、例えば、抗原-抗体系、核酸ハイブリダイゼーション技術、およびタンパク質-リガンド系に基づく。これらの方法では、診断値の複合体の存在は、代表的に、1つ以上の複合的材料に付着されている観察可能標識の存在または非存在によって示される。

10

【0004】

選択される特異的標識方法は、しばしば、目的の材料を検出するための特定の系の、有効性および汎用性を決定する。標識は、好ましくは、安価であり、安全であり、そして広範な種々の化学的材料、生化学的材料、および生物学的材料に、これらの材料の重要な結合特性を変化させることなく、効率的に付着され得る。さらに、この標識は、好ましくは、安定であり、そして高度に特徴的な信号を与える。この標識の検出は、好ましくは、高価でかつ専門的な設備または人員の必要がなく、迅速であり、感受性であり、および再現性がある。この標識の定量化は、好ましくは、相対的に、温度およびアッセイされる混合物の組成のような変数に、依存しない。

20

【0005】

広範な種々の標識が、開発されており、それぞれ特定の利点および不利益を有する。例えば、放射性標識は、汎用性であり、および非常に低濃度において検出され得るが、しかし、これらは、高価で、有害であり、そしてそれらの使用は、複雑な装置および訓練された人員が必要である。さらに、放射性標識は、同種の方法において使用され得ない。放射性廃棄物の処分はまた、公衆に対する潜在的な危険および放射性廃棄物の処分場所の不足の両方のために、関心が高まっている。放射性標識の使用はまた、時間がかかり、時々、放射性標識の検出のために、数日ほど必要とし得る。

【0006】

酵素標識および吸収ベースの検出機器（例えば、ELISA）は、安全だが、感度および長期間の保管に対する安定性が欠如する。さらに、ELISAのような酵素免疫アッセイには、多数の分析工程が含まれ、そして長い時間が、その反応に対して必要である。蛍光性有機分子または蛍光性無機分子は、安全かつ安定であるが、放射性同位元素標識と同じ程度の感度を提供しない。励起源としてのレーザーおよび複合的な光検出を有すると、機器の費用はまた、蛍光標識に対する主要な不利益である。化学発光および電気化学発光は、検出に対して高い感度を提供するが、また、光検出を利用し、比較的高額な機器費用を有する。

30

【0007】

イムノアッセイのための光電気化学標識は、以前に記載されている。例えば、米国特許第4,293,310号は、光電気化学標識された材料の存在を決定するために、消光剤および光手段を備える電気化学的フローセルを備える、装置および方法を述べる。光励起の際に、光電気化学的活性標識は、電子を消光剤分子に移す。この酸化された分子は、引き続き、適切な電位を有するフローセルの電極からの電子を用いて還元される。この電子は、光電流として測定される。この系における遊離の標識された分析物の量は、光電流信号によって決定される。光電気化学的検出方法は、発光ベースの検出方法において使用される撮像デバイス(imaging device)よりも安価であるが、この方法は、有限の検出範囲を有し、そしてまた、妨害を受ける。(Weberら, Clin. Chem, 29:1665-1672(1983)を参照のこと)。従って、安全で安定で効率的高かつ安価であり、ならびに広い検出範囲を提供する分析用組成物および方法に対して必要性が存在したままである。

40

50

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0008】

(発明の開示)

本発明は、標識として光電気化学的分子を用いて、分析物をアッセイするための方法を提供する。分析方法における光電気化学の適用は、いくつかの利点を有する。第1に、その励起源および検出信号は、別々の物理的なパラメータであり、結果として、この励起源からのバックグラウンドの干渉を最小にする。第2に、この光電気化学的プロセスは、光によって開始され、そして、化学発光とは違って、光源をつけたり消したりすることによって容易に制御され得る。光が消えている場合、光電気化学反応は起こらない。第3に、この光電気化学的プロセスのための励起源は、蛍光とは違って、単色光でなくてもよい。第4に、光電気化学的プロセスのための電気検出は、蛍光、化学発光、および電気化学発光のような、発光ベースの検出で利用される撮像デバイスより安価である。白色光励起および電気検出の組み合わせは、機器費用をかなり減少させる。本発明はまた、この光電流を生じる種が酸化された基底状態の標識分子である、他の光電気化学アッセイと比較して、優れた結果を提供する。

10

【0009】

1つの実施形態では、本発明は、分析物をアッセイするための方法を提供し、この方法は：a) 分析物を含むと思われるサンプルを、このサンプル中に存在する場合、この分析物と結合および/または結合し得る反応物と、この分析物のこの反応物への結合が可能になる適切な条件下で、接触させる工程；ならびにb) 上記分析物と上記反応物との間の結合および/または反応を評価し、上記サンプル中の上記分析物の存在および/または量を決定する工程；を包含し、ここで、上記反応物、上記分析物、または付加的反応物もしくは付加的な分析物または分析物のアナログが、光電気化学的活性分子を用いて標識され、そして工程b)における上記評価工程が、光を用いて、上記光電気化学的活性分子を、電極の存在下において励起状態へと転換させる工程、および、上記励起された光電気化学的活性分子と上記電極との間の電気伝達によって生じる電流を評価する工程を包含する。

20

【0010】

この分析物は、細胞、細胞内小器官、ウイルス、これらの凝集物および複合体のような、任意の生物学的分析物であり得る。この細胞は、動物細胞、植物細胞、真菌細胞、細菌細胞、組み換え細胞、または培養細胞のような、任意の細胞であり得る。この細胞内小器官は、核、ミトコンドリア、葉緑体、リボソーム、小胞体、ゴルジ体、リソソーム、プロテアソーム、分泌小胞、液胞、またはミクロソームのような、任意の細胞内小器官であり得る。この分析物はまた、ホルモン、癌マーカー(cancer marker)、ステロイド、ステロール、薬学的化合物、薬学的化合物の代謝産物、およびこれらの複合体であり得る。

30

【0011】

この分析物はまた、分子、無機分子、有機分子、またはこれらの複合体のような、任意の化学的分析物であり得る。この有機分子は、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ビタミン、単糖、オリゴ糖、炭水化物、脂質、またはこれらの複合体であり得る。

40

【0012】

1つの実施形態では、このサンプルは、哺乳動物サンプルであり得る。この哺乳動物は、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ウマ、ウサギ、モルモット、マウス、ヒト、ネコ、サル、イヌ、またはブタであり得る。このサンプルはまた、血清、血漿、全血、痰、大脳脊髄液(cerebral spinal fluid)、羊水液、尿、胃腸内容物、毛髪、唾液、汗、歯肉擦過標本、または生検組織のような、臨床サンプルであり得る。この臨床サンプルは、ヒト臨床サンプルであり得る。別の実施形態では、このサンプルは、体液サンプルである。

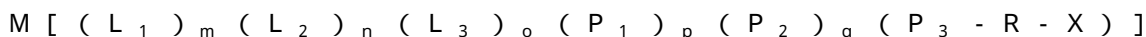
【0013】

50

好ましくは、この反応物は、この分析物と特異的に結合および/または反応する。反応物の非限定的な例としては、細胞、細胞内小器官、ウイルス、分子、およびこれらの凝集物または複合体が挙げられる。1つの実施形態では、この反応物は、抗体である。別の実施形態では、この反応物は、核酸である。

【0014】

この反応物またはこの分析物は、光電気化学的活性分子を用いて標識され得る。1つの実施形態では、この光電気化学的活性分子は、金属ポリピリジル複合体である。あるいは、この光電気化学的活性分子は、以下の式：



を有し、

ここで、Mは金属イオンであり、

L_1 、 L_2 、 L_3 は、Mの単座リガンドであり、

P_1 、 P_2 、 P_3 は、Mの多座リガンド(poly-dentate)であり、

Rは、スペーサーであり、

Xは、この光電気化学的活性分子と、別の一部分(例えば、反応物または分析物)とを結合し得る反応性化学基であり、

m、n、o、pおよびqは、ゼロまたは正の整数のどちらかであり、そして、

全てのリガンドによって提供される結合の総数がMの配位数と等しい。

【0015】

任意の適切な金属イオンが、求められ得る。例えば、この金属イオンは、オスミウム、ルテニウム、亜鉛、マグネシウム、またはアルミニウムであり得る。この L_1 、 L_2 、または L_3 部分は、同一であっても異なってもよい。1つの実施形態では、この L_1 、 L_2 、 L_3 は、シアン化物またはチオシアン化物である。別の実施形態では、このR基は、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキルまたはポリ(エチレングリコール)である。なおさらなる別の実施形態では、このX基は、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、スルフヒドリル、エポキシド、アルデヒド、無水マレイン酸、イミドエステル、アミノ、カルボキシル、イソチオシアネート、マレイミド、ハロアセチル、ヒドラジン、およびホスホロアミダイトである。

【0016】

この P_1 、 P_2 、または P_3 部分は、窒素含有芳香族複素環であり得る。窒素含有芳香族複素環の非限定的な例としては、ピピリジルシアニン、ピピラジルシアニン、テルピリジルシアニン、フェナントロリルシアニン、またはフタロシアニンが挙げられる。ピピリジルシアニン基、ピピラジルシアニン基、テルピリジルシアニン基、フェナントロリルシアニン基、またはフタロシアニン基は、置換されていても置換されていなくてもよい。置換基の非限定的な例としては、アルキル、アリール、アラルキル、カルボキシレート、カルボキシアルデヒド、カルボキサミド、シアノ、アミノ、ヒドロキシカルボニル、ヒドロキシアミノ、アミノカルボニル、アミジン、グアニジウム、ウレイド、硫黄含有基、亜リン酸含有基、およびN-ヒドロキシスクシンイミドのカルボン酸エステルが挙げられる。

【0017】

本発明の方法は、任意の適切なアッセイ形式において実施され得る。例えば、本発明の方法は、競合アッセイ形式において実施され得る。競合アッセイでは、反応物およびこのサンプル由来の分析物は標識されず、そして光電気化学的活性分子を用いて標識された別々の分析物または分析物アナログが使用される。本発明の方法はまた、サンドイッチアッセイ形式において実施され得る。サンドイッチアッセイでは、第1の反応物およびこのサンプル由来の分析物は標識されず、そして光電気化学的活性分子を用いて標識された第2の反応物が使用される。

【0018】

1つの実施形態では、この分析物とこの反応物との間の結合または反応は、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、免疫プロット法、免疫沈降、ラジオイムノアッセイ(RIA)、免疫染色、ラテックス凝集、間接血球凝集アッセイ(IHA)、補体結合、間接

10

20

30

40

50

免疫蛍光アッセイ (I F A)、比濁分析、フローサイトメトリーアッセイ、化学発光アッセイ、側方フロー免疫アッセイ (l a t e r a l f l o w i m m u n o a s s a y)、 μ -捕獲アッセイ (μ -c a p t u r e a s s a y)、阻害アッセイ、エネルギー転移アッセイ (e n e r g y t r a n s f e r a s s a y)、アビディティアッセイ (a v i d i t y a s s a y)、濁度免疫アッセイ (t u r b i d o m e t r i c i m m u n o a s s a y)、または時間分解増幅クリプテート放出 (t i m e r e s o l v e d a m p l i f i e d c r y p t a t e e m i s s i o n) (T R A C E) アッセイからなる群より選択される形式によって評価される。

【 0 0 1 9 】

別の実施形態では、この評価工程は、さらに、この光電気化学的活性分子を、光を用いて、電極および再生 (還元するまたは酸化するのいずれか) 物質の存在下で、励起状態へと転換させる工程、そしてこの励起された光電気化学的活性分子とこの電極との間の電子伝達によって生じる電流を評価する工程を包含し、そして、この電子伝達から生じる基底状態におけるこの酸化型光電気化学的活性分子または還元型光電気化学的活性分子は、この再生物質によって、光を用いて再び励起され得る基底状態における還元型光電気化学的活性分子または酸化型光電気化学的活性分子へと、還元または酸化される。任意の適切な再生物質が、本発明の方法において使用され得る。例えば、この再生物質は、ヒドロキノン溶液であり得る。

10

【 0 0 2 0 】

本発明はまた、分析物をアッセイするためのキットを提供する。1つの実施形態では、このキットは：a) サンプル中に存在する場合、分析物の反応物への結合を可能にする適切な条件下で、上記分析物と結合および/または反応し得る反応物；ならびに、b) 上記分析物と上記反応物との間の結合および/または反応を評価し、上記サンプル中における上記分析物の存在および/または量を決定するための手段を備え、ここで、上記反応物、上記分析物、または付加的な反応物もしくは付加的な分析物または分析物のアナログは、光電気化学的活性分子を用いて標識され、そして、工程 b) における上記評価工程は、上記光電気化学的活性分子を、光を用いて、電極の存在下で励起状態へと転換する工程、および、上記励起された光電気化学的活性分子と上記電極との間の電気伝達によって生じる電流を評価する工程を包含する。

20

【 0 0 2 1 】

このキットは、さらに、この電気伝達から生じる基底状態におけるこの酸化型光電気化学的活性分子または還元型光電気化学的活性分子を、光を用いて再び励起され得る基底状態における還元型光電気化学的活性分子または酸化型光電気化学的活性分子へと、還元または酸化するための再生物質を備え得る。このキットはまた、この分析物をアッセイするためのキットを使用するための指示書を備え得る。

30

【 0 0 2 2 】

さらに、本発明は、分析物をアッセイするための装置を提供する。1つの実施形態では、この装置は a) サンプル中に存在する場合、分析物の反応物への結合を可能にするための適切な条件下で、上記分析物と結合および/または反応し得る反応物； b) 反応物、分析物または分析物のアナログに付着した光電気化学的活性分子； c) 励起された光電気化学的活性分子と電極との間の電気伝達によって生じる電流を評価するための適切な電極； d) 酸化型光電気化学的活性分子または還元型光電気化学的活性分子を、光を用いて再び励起され得る基底状態へと、転換するための再生物質； e) 上記光電気化学的活性分子を励起するスペクトルの光を通過させる壁を有する電気化学的電池；ならびに f) 上記光電気化学的活性分子を励起し得るスペクトルを有する光源、および必要な場合、上記スペクトルを隔離するための手段をさらに備える光手段を備え、ここで、上記電極のエネルギーレベル、上記再生物質の酸化還元電位、および上記光電気化学的活性分子から上記電極までの距離が、上記励起された光電気化学的活性分子と上記電極との間の電子伝達によって生じる電流の測定を保証するように調節される。

40

【 0 0 2 3 】

50

任意の適切な光源が使用され得る。例えば、この光源は、ホローカソードランプ、Xeアークランプ、Xe-Hgランプ、ハロゲン化金属ランプ、発光ダイオード、またはレーザーであり得る。

【0024】

この装置は、さらに、この励起された光電気化学的活性分子とこの電極との間の電気伝達と、他の電気伝達とを区別するための手段を備え得る。この励起された光電気化学的活性分子とこの電極との間の電気伝達と、他の電気伝達を区別するための手段は、さらに、ライトビームチョッパー(light beam chopper)、フィルター、レンズ、またはロックイン増幅器を含み得る。この励起された光電気化学的活性分子とこの電極との間の電気伝達と、他の電気伝達とを区別するための手段はまた、さらに、電流信号の差が、この光の存在による信号であるように、光に露光される第1の作用電極および暗闇にある第2の作用電極を含み得る。

10

【0025】

1つの実施形態では、このスペクトルを隔離するための手段は、さらに、モノクロメーターを含む。別の実施形態では、このスペクトルを隔離するための手段は、さらに、光学フィルターを含む。この隔離されたスペクトルは、400nm~800nmの間の範囲を有し得る。

【発明を実施するための最良の形態】

【0026】

(本発明を実施する様式)

20

限定のためではなく、開示を明確にするために、本発明の詳細な説明は、以下の小節に分けられる。

【0027】

A. 定義

他に定義されない限り、本明細書で使用される全ての科学技術用語は、この発明が属する分野の当業者によって慣用に理解される意味と同様の意味を有する。本明細書に引用される全ての特許、出願、公開された出願および他の公開物は、それらの全体が参考として援用される。この小節で示される定義が、参考として本明細書中に援用される特許、出願、公開された出願、および他の公開物の中で示された定義と反対または別の方法で相反する場合、この小節で示される定義は、参考として本明細書中に援用される定義よりも優先される。

30

【0028】

本明細書で使用される場合、「a」または「an」は、「少なくとも1つ」または「1つ以上」を意味する。

【0029】

本明細書で使用される場合、「光電気化学的活性分子」は、溶液中で電極において電流が発生する場合の分子を称する。

【0030】

本明細書で使用される場合、「光電流」とは、光電気化学的活性分子によって発生する電流を称する。

40

【0031】

本明細書で使用される場合、「リガンド」とは、任意のイオン、分子、分子基、または、より大きい複合体を形成するために別の要素と結合する他の物質を称する。リガンドの例としては、ペプチド、炭水化物、核酸(例えば、DNAおよびRNA)、抗体、またはレセプターに結合する任意の分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【0032】

本明細書に使用される場合、「単座リガンド」は、別の要素と結合するための1個の部分を含むリガンドを称する。

【0033】

本明細書に使用される場合、「多座リガンド」は、別の要素と結合するための1個より

50

多い部分を有するリガンドを称する。

【0034】

本明細書に使用される場合、「標識」とは、検出可能な信号を提供するために使用され得る任意の原子、分子、または部分を称する。

【0035】

本明細書に使用される場合、「抗体」は、免疫グロブリンの特定の型、すなわち、Ig A、Ig D、Ig E、Ig G (例えば、Ig G₁、Ig G₂、Ig G₃ および Ig G₄) ならびに Ig M を称する。抗体は、任意の適切な形で存在し得、そして任意の適切なフラグメントまたは誘導体を包含し得る。例示的抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、Fab フラグメント、Fab' フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、Fv フラグメント、二重特異性抗体 (diabody)、抗体フラグメントから形成される単鎖抗体および多重特異性抗体 (multi-specific antibody) が挙げられる。

10

【0036】

本明細書で使用される場合、「核酸」は、分子 (DNA、RNA、または PNA が挙げられるが、これらに限定されない) を含む任意の核酸を称する。この用語は、任意の公知の、DNA および RNA の塩基アナログを含む配列を包含し、その塩基アナログとしては、4 - アセチルシトシン、8 - ヒドロキシー-N6 - メチルアデノシン、アジリジニルシトシン、シュードイソシトシン、5 - (カルボキシヒドロキシルメチル) ウラシル、5 - フルオロウラシル、5 - プロモウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチル-2 - チオウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、N6 - イソペンテニルアデノシン、1 - メチルアデノシン、1 - メチルシュードウラシル、1 - メチルグアニン、1 - メチルイノシン、2, 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N6 - メチルアデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノメチル-2 - チオウラシル、- D - マンノシルケオシン (queosine)、5' - メトキシカルボニルメチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸、オキシブトキソシン (oxybutoxosine)、シュードウラシル、ケオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、N - ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸、シュードウラシル、ケオシン、2 - チオシトシン、および 2, 6 - ジアミノプリンが挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0037】

本明細書で使用される場合、「植物」は、特徴的に、胚を生産し、葉緑体を含み、セルロース細胞壁を有し、および移動運動を欠く、任意の種々の、植物界の光合成を行う真核細胞の多細胞生物を称する。

【0038】

本明細書で使用される場合、「動物」は、移動運動能力、非光合成代謝、刺激に対する顕著な応答、制限された成長、および固定された身体的構造によって特徴付けられる、動物界の多細胞生物を称する。動物の非限定的な例としては、ニワトリのような鳥類、魚のような脊椎動物、ならびにマウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、雌ウシ、雄ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、サル、および他の非ヒト霊長類のような哺乳動物が挙げられる。

40

【0039】

本明細書で使用される場合、「細菌 (bacteria)」および「細菌 (bacterium)」は、原核生物界における全ての門内の原核生物を含む、全ての原核生物を称する。この用語は、マイコプラズマ属、クラミジア属、アクチノミセス属、ストレプトミセス属、およびリケッチア属を含む、細菌であると考えられる全ての微生物を包含する。細菌の全ての形態は、球菌、パチルス属、スピロヘータ、スフェロプラスト、プロトプラストなどを含む、この定義内に含まれる。

50

【0040】

本明細書で使用される場合、「ウイルス」は、特定の例外を除き、光学顕微鏡によって観察できず、独立した代謝を欠き、および生きている宿主細胞内のみで複製し得る、微細な感染因子を称する。この個々の粒子（すなわち、ビリオン）は、核酸、およびタンパク質外皮またはタンパク質被膜からなる。いくつかのビリオンはまた、脂質含有膜を有する。用語「ウイルス」は、動物、植物、ファージ、および他のウイルスを含む、全ての型のウイルスを包含する。

【0041】

本明細書で使用される場合、「真菌」は、根、茎、または葉のない、変則的な集団で育てられ、およびクロロフィルまたは光合成し得る他の色素がまったくない真核生物の区分を称する。それぞれの生物体（葉状体）は、糸状の単細胞であり、ならびに、グルカンもしくはキチンまたは両方を含み；かつ真核（true nuclei）を含む細胞壁で囲まれた分岐状体細胞構造（菌糸）を有する。

10

【0042】

本明細書で使用される場合、「サンプル」は、本発明の方法および/またはデバイスを用いて、アッセイされるための分析物を含み得るあらゆるものを称する。このサンプルは、生物学的流体または生物学的組織のような、生物学的サンプルであり得る。生物学的流体の例としては、尿、血液、血漿、血清、唾液、精液、糞、痰、大脳脊髄液、涙液、粘液、羊水などが挙げられる。生物学的組織は、細胞の凝集物であり、通常、ヒトの構造、動物の構造、植物の構造、細菌の構造、真菌の構造またはウイルスの構造の構造的材料の1つを形成するそれらの細胞内物質とともに特定の種類が存在し、それらは結合組織、上皮組織、筋肉組織、および神経組織を含む。生物学的組織の例としてはまた、器官、腫瘍、リンパ節、動脈、および個々の細胞が挙げられる。生物学的組織は、細胞懸濁液サンプルを得るために加工処理され得る。このサンプルはまた、インビトロで調製された細胞の混合物であり得る。このサンプルはまた、培養細胞懸濁液であり得る。この生物学的サンプルの場合では、このサンプルは、最初のサンプルについて種々に加工処理または調製した後得られた粗サンプルまたは加工処理されたサンプルであり得る。例えば、種々の細胞分離方法（例えば、磁気によって活性化される細胞分類）は、血液のような体液サンプルから標的細胞を分離または濃縮するために適用され得る。本発明のために使用されるサンプルは、このような標的細胞の濃縮細胞調製物を含む。

20

30

【0043】

本明細書に使用される場合、「分析物」は、分析されるべき任意の材料を称する。このような材料としては、イオン、分子、抗原、細菌、化合物、ウイルス、細胞、抗体、および細胞部分などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0044】

本明細書に使用される場合、「抗原」は、少なくとも1つの抗体によって認識される任意の分子または分子基を称する。定義によって、抗原は、エピトープ（すなわち、この抗体によって認識され得る特定の生化学的単位）を含む。用語「免疫原」は、抗体の産生を誘導する任意の分子、化合物、または凝集物を称する。定義によって、免疫原は、エピトープ（すなわち、免疫応答を引き起こし得る特定の生化学的単位）を含む。

40

【0045】

本明細書に使用される場合、「特異的結合」は、部分的な分子構造の存在に依存する様式での、1つの材料の別の材料への結合を称する。例えば、レセプターは、リガンド結合部位と相補的な化学構造を含むリガンドと、選択的に結合する。対照的に、「非特異的結合」は、任意であり、およびこの分子の構造的適合性に基づかない相互作用を称する。

【0046】

本明細書に使用される場合、「特異的結合対」は、他の物質の排除に比べて、このリガンドに対する特異的結合親和性を有する、任意の物質または物質のクラスを称する。1つの実施形態では、この特異的結合対は、このサンプルリガンドと相互作用する特異的結合アッセイ試薬、または、免疫化学的手法においてこのリガンドに対するこのサンプルの結

50

合能力を含む。例えば、試薬および/もしくはこのサンプルリガンド、またはこのリガンドに対するこのサンプルの結合能力との間の、抗原 - 抗体関係、またはハプテン - 抗体関係がある。さらに、このリガンドとこの結合パートナーとの間の他の結合相互作用が、特異的結合アッセイの基盤として役立つことが、当該分野でよく理解され、これらとしては、ホルモン、ビタミン、代謝産物、および薬理的因子と、これらのそれぞれのレセプターおよび結合物質との間の結合相互作用が挙げられる。(Langanaら(編)、Ligand Assay, pp. 211 et seq., Masson Publishing U.S.A. Inc., New York, 1981を参照のこと)。

【0047】

本明細書で使用される場合、「血漿」は、凝固後に得られる血清とは区別される液体(血液の非細胞性部分)を称する。

10

【0048】

本明細書で使用される場合、「血清」は、循環血液における血漿とは区別されるフィブリン血塊(fibrin clot)および血液細胞の除去後に得られる血液の液体部分を称する。

【0049】

本明細書で使用される場合、「流体」は、流れ得る任意の組成物を称する。従って、流体は、半固体(semi-solid)、ペースト、溶液、水溶性混合物、ゲル、ローション、クリーム、および他のこのような組成物の形態の組成物を包含する。

【0050】

本明細書で使用される場合、「アルキル」は、必要に応じて1つ以上の置換基を用いて置換されるアルキル基を含む、直鎖または分枝のアルキル基を包含する。例えば、このアルキル基は、必要に応じて、ヒドロキシ、ハロゲン、アリール、アルコキシ、アシル、または当該分野で公知の他の置換基を用いて、置換され得る。このアルキル基のより多数の炭素原子のうちの一つはまた、必要に応じて、1つ以上のヘテロ原子によって置き換えられ得る。

20

【0051】

本明細書で使用される場合、「置換する」は、置換基を有する化合物における水素原子の置き換えを称する。

【0052】

本明細書で使用される場合、「電極」は、それらを通して電流が培地に入るまたは培地を出るような電気導体または半導体を称する。この培地は、電解質溶液、固体、溶融塊、ガス、または真空であり得る。

30

【0053】

本明細書で使用される場合、「電気化学的流動電池」または「電気化学的電池」は、全体の酸化 - 還元反応が、起電力を発生させるために並べられた、二つ以上の電極の組み合わせを称する。非限定的な例としては、乾電池、湿電池、標準電池、燃料電池、固体電解質電池(solid-electrolyte cell)、および保存型電池(reserve cell)が挙げられる。

【0054】

本明細書で使用される場合、「還元剤」は、酸素を除去し、水素を付与または電子を付与する任意の試薬を称する。この還元剤は、還元プロセスにおいて酸化される。還元剤の相対的な強さは、それらの標準電極電位から推測され得る。慣習によって、この標準電極電位は、還元電位であるかまたは還元される傾向がある。従って、最も強い還元剤は、大きい負の電極電位を有する。(例えば、Bard and Faulkner, Electrochemical Methods, Wiley, New York, 1980を参照のこと)。

40

【0055】

本明細書で使用される場合、「酸化剤」は、酸素を付与し、水素を引き抜き、または電子を引く抜く任意の因子を称する。この酸化剤は、酸化プロセスで還元される。酸化剤の

50

相対的な強さは、それらの標準電極電位から推測され得る。慣習によって、最も強い酸化剤は、大きな正の電極電位を有する。(例えば、Bard and Faulkner, *Electrochemical Methods*, Wiley, New York, 1980を参照のこと)。

【0056】

B. 光電気化学を用いて分析物をアッセイするための方法

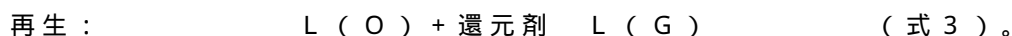
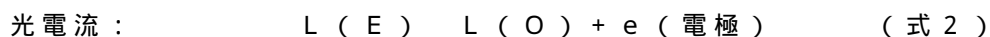
本発明は、光電気化学を用いて分析物をアッセイするための方法を提供する。本発明は、化学的親和性反応および化学的親和性分析物ならびに生物学的親和性反応および生物学的親和性分析物(特定の反応または分析物に限定されない)の検出のために使用され得る。

10

【0057】

光電気化学(PEC)は、光励起によって開始される電気化学現象を称する。PECは、異なる様式を有し得る。1つの例では、光電気化学的活性分子は、光を用いて照射される場合、基底状態にある電子は光エネルギーを吸収し、そして基底状態L(G)から励起状態L(E)へと移動する(式1)。この励起された電子は、より高い反応性を有し、そして容易に失われ得る。例えば、この励起された電子は、この励起された分子から、低いエネルギーレベルを有する半導体電極へと移動して、光電流を生じ得る(式2)。この励起された電子がこの分子を出ると、この分子は酸化型L(O)になる。還元剤が、溶液中に存在する場合、この分子は最初の状態へ戻り得、そして再び光電気化学的反応に関与し得る(式3)。従って、この光電流は持続される

20



【0058】

1つの側面では、本発明は、分析物をアッセイするための方法を提供し、その方法は、a)分析物を含むと思われるサンプルを、サンプル中に存在する場合、分析物の反応物への結合を可能にする適切な条件下で、この分析物と結合および/または反応し得る反応物と接触させる工程;ならびにb)この分析物とこの反応物との間の結合および/または反応を評価し、このサンプル中における分析物の存在および/または量を決定する工程を包含する。特に、この反応物、分析物、または付加的反応物もしくは付加的分析物または分析物のアナログは、光電気化学的活性分子を用いて標識される。この評価工程はまた、電極の存在下で、光を用いて上記光電気化学的活性分子を励起状態へ転換する工程、そして上記励起された光電気化学的活性分子と上記電極との間の電気伝達によって生じる電流を評価する工程を包含する。

30

【0059】

1つの実施形態では、特異的結合対の一員は、電極表面に存在する捕獲試薬(capture reagent)として固定される。他の特異的結合対員は、光電気化学的活性分子を用いて標識される。サンプルの添加および特異的結合反応後、この光電気化学標識された分子は、この分析物の濃度に関連する量で、この電極表面上に蓄積する。この反応を検出するために、光線が、還元剤含有液体と接触している電極へ指向され、そしてこの結果生じる光電流が測定される。

40

【0060】

本発明はまた、サンドイッチイムノアッセイにおいて使用され得る。例えば、その一次抗体が、光電流検出のための捕獲抗体(capture antibody)として電極上に固定される。二次抗体は、光電気化学的活性分子を用いて標識される。この電極および二次抗体は、検出されるべき抗原を含むサンプルと接触させられる。この電極表面上の免疫学的反応の完了後、この電極は、還元剤含有溶液と接触させられる。光線は、電極へ指向され、そしてその結果生じる光電流は、電子デバイスを用いて測定される。

【0061】

好ましくは、この反応物および分析物または分析物のアナログは、特異的結合対の一員

50

である。当該分野で公知の任意の特異的結合対が、本発明を実施するために使用され得る。特異的結合対の非限定的な例としては、抗原およびそれに対する抗体；ハプテンおよびそれに対する抗体；ゲスト (g u e s t) およびホスト (h o s t) 結合対；DNA および DNA 結合対；DNA およびオリゴヌクレオチド結合対；ならびにリガンドおよびレセプター結合対が挙げられる。リガンドおよびレセプター結合対の非限定的な例としては、ペプチド、タンパク質、炭水化物、糖タンパク質、ステロイド、ホルモン、ビタミン、代謝産物、薬理学的因子、または他の有機分子、ならびにそれらのレセプターおよび結合物質が挙げられる。

【0062】

当該分野で公知の任意の光電気化学的 (「 P E C 」) 活性標識が、本発明において使用され得る。この P E C 活性標識は、好ましくは、以下の特徴を有する。第 1 に、この P E C 標識は、可視領域において強い吸収を有する。第 2 に、この P E C 標識の励起状態のエネルギーレベルは、電極のエネルギーレベルよりも高く、そのために電子伝達が生じ得る。第 3 に、P E C 標識の励起状態は、電子伝達のために十分長い寿命 (蛍光より勝る) を有する。最後に、この P E C 標識の還元型形態および酸化型形態は、安定である。

10

【0063】

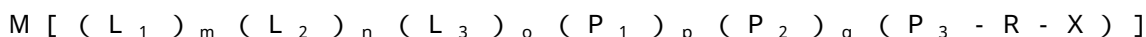
P E C 標識の非限定的な例としては、有機染料、金属ポルフィリン、金属フタロシアニンおよび金属ポリ - ピリジンが挙げられる。好ましくは、この P E C 標識は、金属ポリピリジル複合体である。金属の非限定的な例としては、マグネシウム、アルミニウム、またはオスニウム、ルテニウムもしくは亜鉛のような遷移金属が挙げられる。遷移金属複合体の非限定的な例としては、ルテニウムトリスジピリジルカチオン、 $Ru(ジピリジル)_2(NCS)_2$ のようなルテニウムジピリジルカチオンで置換されたリガンド、またはこのジピリジル部分が、4, 4' - ジカルボキシル - 2, 2' - バイピリジル (b y p y r i d y l)、4, 4' - ジカルボキシル - 2, 2' - バイピラジル (b y p y r a d y l) 誘導体、4, 4' - ジカルボキシル - 2, 2' - ターピリジル (t e r p y r i d y l) 誘導体、4, 4' - ジカルボキシル - 2, 2' - フェナントロリン誘導体および他の誘導体のような置換されたジピリジル誘導体によって置き換えられた他の対応する複合体が挙げられる。

20

【0064】

1 つの実施形態では、この光電気化学標識は以下の式を有し：

30



ここで、M は金属イオンであり、

L_1 、 L_2 、 L_3 は、M の単座リガンドであり、

P_1 、 P_2 、 P_3 は、M の多座リガンドであり、

R は、スペーサーであり、

X は、反応物または分析物のような部分と結合し得る、この光電気化学的活性分子の反応性化学基であり、

m、n、p、および q は、ゼロか正の整数のいずれかであり、そして、

全てのリガンドによって提供される結合の総数が M の配位数と等しい。

【0065】

40

この複合体の組成物は、光が励起されると、光電流が発生するような組成物である。複合体に配位する金属 M は、好ましくは、オスミウムまたはルテニウムである。この単座リガンドは、好ましくは、シアン化物またはチオシアン化物である。この多座リガンドは、好ましくは、必要に応じて置換され得る、ピピリジル、バイピラジル、ターピリジル、およびフェナントロリンのような窒素含有芳香族複素環である。この置換基は、アルキル、アリール、アラールキル、カルボキシレート、カルボキシアルデヒド、カルボキサミド、シアノ、アミノ、ヒドロキシカルボニル、ヒドロキシアミノ、アミノカルボニル、アミジン、グアニジウム、ウレイド、硫黄含有基、亜リン酸含有基、および N - ヒドロキシスクシンイミドのカルボン酸エステルであり得る。

【0066】

50

このX基は、好ましくは、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、スルフヒドリル、エポキシド、アルデヒド、無水マレイン酸、イミドエステル、アミノ、カルボキシル、イソチオシアネート、マレイミド、ハロアセチル、ヒドラジン、およびホスホロアミダイトである。このR基は、好ましくは、必要に応じて他の置換基で置換され得るC₂~C₁₂アルキル鎖またはポリ(エチレングリコール)鎖である。これらの置換基は、ハロゲン、ヒドロキシ、アルコキシ、ニトロ、シアノ、カルボン酸、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、チオール、アミノ、アシル、カルボキシレート、アリール、カルバミン酸塩、カルボキサミド、スルホンアミド、複素環基、または当該分野で公知の任意の適切な置換基であり得る。

【0067】

当該分野で公知の任意の電極が、本発明において使用され得る。例えば、光電気化学的太陽電池における使用のための任意の電極が、本発明において使用され得る。電流を発生し得る任意の半導体材料がまた、使用され得る。非限定的な例としては、狭帯域半導体電極および広帯域半導体電極が挙げられる。この電極は、純粋な半導体か不純物が入った半導体のいずれかであり得る。さらに、この電極は、1つの半導体または複数の半導体の混合物から構成され得る。1つの実施形態では、この電極材料は、伝導性ガラス上に単一分散されたナノ結晶性TiO₂フィルムを含む。

【0068】

任意の公知の酸化剤または還元剤が、本発明で使用され得る。酸化剤または還元剤の相対的な強さは、酸化剤または還元剤の標準電子電位(standard electron potential)から推測され得る。1つの実施形態では、この還元剤は、水溶性電解質中にヒドロキノンを含む。

【0069】

本発明は、生物学的分析物および化学的分析物を検出するために使用され得る。非限定的な例としては、細胞；細胞内小器官；ウイルス；分子；インスリン、絨毛膜刺激ホルモン、サイロキシン、トリヨードサイロニン、小胞刺激性ホルモン、黄体形成ホルモン、甲状腺刺激性ホルモンおよびエストリオールのようなホルモン；フェリチン、ブラジキニン、プロスタグランジン、および腫瘍特異的抗原のような抗原およびハプテン；ピオチン、ビタミンB₁₂、葉酸、ビタミンE、ビタミンA、およびアスコルビン酸のようなビタミン；3',5'-アデノシンーリン酸塩および3',5'-グアノシンーリン酸塩のような代謝産物；アミノグリコシド抗生物質(例えば、ゲンタマイシン、アミカシン、シソマイシン)のような薬理学的因子もしくは薬物、またはアヘンアルカロイド誘導体および麦角アルカロイド誘導体のような乱用薬；ミクロソームの抗体ならびに肝炎に対する抗体およびアレルゲンに対する抗体のような抗体；ならびにチロキシン結合グロブリン、アビジン、内因子およびトランスコバラミンのような特異的結合レセプターが挙げられる。

【0070】

C. 光電気化学を用いて分析物をアッセイするための装置およびキット

本発明はまた、光電気化学を用いて分析物をアッセイするための分析用装置を提供する。具体的には、本発明の装置は、a) サンプル中に存在する場合、分析物の反応物への結合を可能にするための適切な条件下で、上記分析物と結合および/または反応し得る反応物；b) 反応物、分析物または分析物のアナログに付着した光電気化学的活性分子；c) 励起された光電気化学的活性分子と電極との間の電気伝達によって生じる電流を評価するために適切な電極；d) 酸化型光電気化学的活性分子または還元型光電気化学的活性分子を、光を用いて再び励起され得る基底状態へと転換するための再生物質；e) 上記光電気化学的活性分子を励起するスペクトルの光を通過させる壁を有する電気化学的電池；ならびにf) 上記光電気化学的活性分子を励起し得るスペクトルを有する光源、および必要な場合、上記スペクトルを隔離するための手段をさらに備える光手段を備え、ここで、上記電極のエネルギーレベル、上記再生物質の酸化還元電位、および上記光電気化学的活性分子から上記電極までの距離が、上記励起された光電気化学的活性分子と上記電極との間の電子伝達によって生じる電流の測定を保証するように調節される。

10

20

30

40

50

【0071】

好ましくは、この反応物および分析物または分析物のアナログは、特異的結合対の構成員である。先に記載されたような、当該分野で公知の任意の特異的結合対が、この装置において使用され得る。先に記載されたような、当該分野で公知の任意の光電気化学的活性標識が、この装置において使用され得る。先に記載されるような、当該分野において公知の任意の電極が、この装置において使用され得る。

【0072】

当該分野で公知の電極の標準的なセットを有する任意の電気化学フローセルが、この装置において使用され得る。(米国特許第4,293,310号を参照のこと)。1つの実施形態では、この電池は、この光電気化学的活性種を励起し得る波長を有する光を通過させる壁を有する。この光電気化学的活性分子からこの電極までの距離は、好ましくは、この光電気化学的活性分子からこの電極への電子伝達によって生じる電流の測定を保證するように調節される。

10

【0073】

この光手段源は、色素レーザー(dye laser)のアルゴンイオンレーザーのような、レーザーであり得る。1つの実施形態では、このレーザーは、ルテニウム種を励起するために適切である。他の光手段源としては、ホローカソードランプ、Xeランプ、Xe-Hgランプ、ハロゲン化金属ランプ、発光ダイオードが挙げられる。1つの実施形態では、この光手段は、光電気化学的活性分子を励起し得、そして好ましくは、400nm~800nmの間のスペクトル範囲を有する。この光手段はまた、必要な場合、モノクロメーターまたは光学フィルターのようなスペクトルを隔離するための手段を備え得る。

20

【0074】

1つの実施形態では、本発明の装置は、さらに、励起された光電気化学的活性分子からこの電極までの間の電子伝達と、他の電気伝達とを区別するための手段を備え得る。例えば、この識別する手段は、光によって引き起こされる電気化学信号と、光によって引き起こされない電気化学信号との間を区別し得る。1つの実施形態では、1個の電極は、補助電極(auxiliary electrode)であり、1個は、暗闇中におかれる作用電極であり、もう1個は、光の中でおかれる作用電極である。後者の2個の電極の電流信号における違いは、光の存在による信号として受け取られる。あるいは、同期検波(synchronous detection)が、光電気化学信号と非光電気化学信号との間を識別する手段として使用され得る。例えば、調節された信号を生じる調節された光源は、ロックイン増幅器を用いて検出され得る。

30

【0075】

本発明はまた、分析物をアッセイするためのキットを提供する。1つの実施形態では、このキットは、a) サンプル中に存在する場合、分析物の反応物への結合を可能にする適切な条件下で、分析物と結合および/または反応し得る反応物；ならびにb) この分析物とこの反応物との間の結合および/または反応を評価し、このサンプル中のこの分析物の存在および/または量を決定するための手段を備える。この反応物、分析物、または付加的反応物もしくは付加的分析物または分析物のアナログは、光電気化学的活性分子を用いて標識される。この分析物とこの反応物との間の結合および/または反応を評価するための手段は、さらに、光を用いて、この光電気化学的活性分子を、電極の存在下で励起状態へと転換するための手段、そしてこの励起された光電気化学的活性分子とこの電極との間の電子伝達によって生じる電流を評価するための手段を包含する。

40

【0076】

好ましくは、この反応物および分析物または分析物のアナログは、特異的結合対の構成員である。先に上述されたような、当該分野で公知の任意の特異的結合対が、このキットにおいて使用され得る。先に上述されたような、当該分野で公知の任意の光電気化学的活性標識が、このキットにおいて使用され得る。この励起された光伝記化学的活性分子からこの電極への電子伝達によって生じる電流を評価するための、当該分野で公知の任意の手段が、このキットにおいて使用され得る。

50

【実施例】

【0077】

D. 実施例

(実施例 I)

(ナノ結晶性チタン二酸化物ペーストの調製)

テトラブチルチタン酸を、攪拌しながら(硝酸を用いて調節された) pH 1 の水へ 1 滴ずつ (dropwise) 加え、黄色の溶液を得た。この溶液を、全てのテトラブチルチタン酸を加えた後、さらに攪拌した。その温度を 80 °C まで上げ、そして一定に保った。この溶液は、乳白色に変化した。この溶液の 50 mL を取り出し、石英ビーカーへ入れ、そして 12 時間、230 °C でオートクレーブした。上で生成したチタン二酸化物 (TiO₂) ナノ粒子を、超音波処理によって分散させ、そして 24 時間、40% のカーボンワックス (carbon wax) と混合して、TiO₂ ペーストを得た。

10

【0078】

(実施例 II)

(ポリ-ピリジンルテニウムを吸収させたチタン二酸化物電極の調製)

TiO₂ 層を、ドクターブレード (doctor blade) 技術によって、ITO 伝導ガラス上に散布させた。乾燥後、このフィルムを、30 分間、450 °C で空気中にて加熱し、次いで 80 °C に冷却した。この電極を、すぐに無水エタノール中の 1 mM ポリ-ピリジンルテニウム溶液中に浸し、そして暗闇で 10 時間浸漬させた。過剰のポリ-ピリジンルテニウムを、エタノールを用いて洗い落とした。

20

【0079】

(実施例 III)

(光電流測定)

光電流を、時間ベースの様式を用いて、CHI 800 電気化学分析器上で測定した。この光源は、500 W Xe ランプおよびモノクロメーターから構成された。この長方形の光電気化学電池は、磨いたガラスで作製し、白金フラッグカウンター電極 (Pt flag counter electrode) および Ag / AgCl 参照電極を備えた。光線は、このセルに、セルの壁に対して垂直に入り、そしてその裏にある TiO₂ 電極に当たる。光は、所望の波長と 800 nm の間を、手動で波長を合わせる波長セレクターによって、ついたり消えたりし、その波長では、ポリ-ピリジンは、光を吸収しなかった。

30

【0080】

図 1 では、トリス-(4,4'-ジカルボキシル-2,2'-ビピリジン)ルテニウムを用いて吸収させた TiO₂ フィルム電極を、10 mM ヒドロキノン/リン酸緩衝液を含む光電気化学的電池の中に置いた。モノクロメーターセレクターを、一秒ごとにつき 20 回、470 nm に、1 秒ごとにつき 40 回、800 nm に波長を合わせた。その破線は、トリス-(4,4'-ジカルボキシル-2,2'-ビピリジン)ルテニウムを用いて吸収させた電極についてであり、それに対して実線はコートされていない電極についてである。

【0081】

図 2 では、トリス-(4,4'-ジカルボキシル-2,2'-ジピリジン)ルテニウムを用いて吸収させた TiO₂ フィルム電極を、10 mM ヒドロキノン/リン酸緩衝液を含む光電気化学的電池中に置いた。モノクロメーターセレクターを、700 nm と 380 nm の間の波長に合わせ、そしてそれに対応する光電流を測定した。従って、得られた活動的なスペクトルは、トリス(4,4'-ジカルボニル-2,2'-ジピリジン)ルテニウムの吸収スペクトルと同様に見え、このことは、光電流が、金属複合体によって生じたことを示す。

40

【0082】

(実施例 IV)

(ビオチン標識化ウシ血清アルブミン (BT-BSA) の調製)

4.9 mg のビオチン-NHS を、0.25 mL DMSO 中に溶解し、100 mM リ

50

ン酸ナトリウム (pH 7.5) 中の 5 mL の 2.5% ウシ血清アルブミン (BSA) へ 1 滴ずつ加えた。この溶液を、2 時間室温で攪拌した。反応していないビオチン-NHS を 10 K カットオフチューブ (cut off tube) を用いて遠心分離によって除去した。BSA 濃度は、280 nm における BSA の吸収から決定した。

【0083】

(実施例 V)

(ルテニウム複合体標識化アビジン (Ru-アビジン) の調製)

N-ヒドロキシスクシンイミド (23 mg) および 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド (156 mg) を、無水 DMF 中に溶解し、そして氷浴中で 2 分間攪拌した。ビス(2,2'-ビピリジン)(4,4'-ジカルボキシル-2,2'-ビピリジン)ルテニウム (9 mg) を加え、そして氷浴中で 5 時間混合した。0.5 mL の活性化ルテニウム複合体を、5.3 mL の PBS (pH 7.95) 中の 10 mg のアビジンへ加えた。この溶液を、室温で 1 時間、穏やかに攪拌した。小さな分子は、10 K カットオフチューブを用いて超遠心分離によって、標識したタンパク質から除去した。この標識率を、紫外-可視吸収によって決定した。

10

【0084】

(実施例 VI)

(光電気化学によるビオチン-アビジンの検出 (I))

TiO₂ 電極を、室温で 2 時間、このタンパク質溶液 (1.4 mg/mL、pH 5.4) 中で浸漬させることによって、ビオチン-BSA または BSA を用いてコートした。(ビオチンがついていない) BSA を用いてコートした 1 個の電極を、この光電気化学的電池中に置き、そしてこの光電流を、実施例 III に記載の手順に従って測定した。この測定は、バックグラウンドの光電流を生じた。次いで、ビオチン-BSA または BSA を用いてコートされた他の電極を、Ru-アビジン溶液 (1 μM、0.1 M リン酸緩衝液、pH 7.5) 中で 1 時間、室温でインキュベートした。リン酸緩衝液を用いて洗浄後、この電極を、上述されるような光電流測定のために使用した。BSA を用いてコートした電極は、この電極に非特異的に結合した Ru-アビジン由来の電流を生じ、それに対してビオチン-BSA を用いてコートした電極は、Ru-アビジンへ特異的な結合および非特異的な結合の両方に由来する電流を生じた。この特異的な信号 (図 3 の中の破線) は、非特異的な信号より約 6 倍高かった。

20

30

【0085】

(実施例 VII)

(ビオチンおよびルテニウム化合物の両方を用いて標識された BSA (BT-BSA-Ru) の調製)

N-ヒドロキシスクシンイミド (23 mg) および 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド (156 mg) を、無水 DMF 中で溶解し、そして氷浴中で 2 分間攪拌した。ビス(2,2'-ビピリジン)(4,4'-ジカルボキシル-2,2'-ビピリジン)ルテニウム (9 mg) を加え、そして氷浴中で 5 時間混合した。0.5 mL のこの活性化ルテニウム混合体を、5.3 mL PBS (pH 7.95) 中の 10 mg BSA へ加えた。この溶液を、室温で 1 時間穏やかに攪拌した。4.9 mg のビオチン-NHS を、0.25 mL DMSO 中で溶解し、そして上記の BSA 溶液へ 1 滴ずつ加えた。この溶液を、室温で 1 時間混合した。小さな分子は、10 K カットオフチューブを用いて超遠心分離によって、標識したタンパク質から除去した。この標識率は、紫外-可視吸収によって決定した。

40

【0086】

(実施例 VIII)

(光電気化学によって結合したビオチン-アビジンの検出 (II))

TiO₂ 電極を、室温で 30 分間、このタンパク質溶液 (0.5 mg/mL、20 mM リン酸塩、pH = 7.5) 中で浸漬させることによって、アビジンまたは BSA を用いてコートした。アビジンを用いてコートした 1 個の電極を、光電気化学電池中に置き、そ

50

して、実施例 I I I に記載の手順に従って光電流を測定した。この測定は、バックグラウンドの光電流を生じた。

【0087】

次いで、アビジンまたは B S A を用いてコートした他の電極を、室温で 1 時間、一連の B T - B S A - R u 溶液 (2 0 m M リン酸緩衝液 (p H = 7 . 5) 中に 0 . 1 m g / m l ; 2 0 m M リン酸緩衝液 (p H = 7 . 5) 中に 0 . 0 3 m g / m l ; 2 0 m M リン酸緩衝液 (p H = 7 . 5) 中に 0 . 0 1 m g / m l ; 2 0 m M リン酸緩衝液 (p H = 7 . 5) 中に 0 . 0 0 3 m g / m l ; 2 0 m M リン酸緩衝液 (p H = 7 . 5) 中に 0 . 0 0 1 m g / m l) を用いてインキュベートした。0 . 1 % T w e e n 含有リン酸緩衝液を用いてリンスした後、この電極を上記の光電流測定のために使用した。

10

【0088】

B S A を用いて最初にコートした電極は、この電極への B T - B S A - R u の非特異的結合に対する光電流を生じ、それに対して、アビジンを用いて最初にコートされた電極は、B T - B S A - R u の特異的な結合および非特異的な結合の両方に対する光電流を生じた。

【0089】

非特異的に結合した B T - B S A - R u に対する信号は、あまりタンパク質の濃度と共に変化しなかった。それに対して、特異的に結合した B T - B S A - R u に対する信号は、最初に、タンパク質の濃度と共に直線的に増加し、次いで、より高いタンパク質濃度になると、横ばい状態になった (図 4) 。

20

【0090】

上記の実施例は、例示の目的のためだけに含まれ、本発明の範囲を限定することを意図されない。上記の実施例についての多数の変更が可能である。上記の実施例についての改変または変更は、当業者に明らかであるので、本発明は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定されることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【0091】

【図 1】図 1 は、T i O ₂ フィルム電極上に吸収された、トリス (4 , 4 ' - ジカルボキシル - 2 , 2 ' - ピピリジン) ルテニウムの光電流を図示する。

【図 2】図 2 は、T i O ₂ フィルム電極上に吸収された、トリス (4 , 4 ' - ジカルボキシル - 2 , 2 ' - ピピリジン) ルテニウムの活動的なスペクトルを図示する。

30

【図 3】図 3 は、ピオチン - B S A コートされた T i O ₂ 電極 (黒色) ; 標識されたアビジンと接触した、ピオチン - B S A コートされた電極 (赤色) ; および標識されたアビジンと接触した、B S A コートされた電極 (緑色) の光電流応答を図示する。

【図 4】図 4 は、ピオチンを用いて二重標識された B S A の一連の濃度の光電流応答、ならびに、B S A コートされた T i O ₂ 電極との接触後のルテニウム化合物 (三角形のドット) ; およびアビジンコートされた電極との接触後のルテニウム化合物 (四角形のドット) を図示する。

【図 5】図 5 は、光電気化学反応を図示する。

【 図 1 】

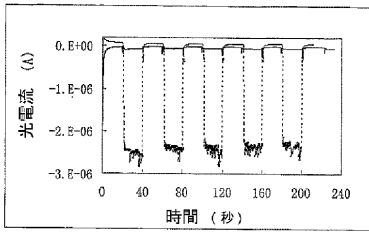


Figure 1

【 図 3 】

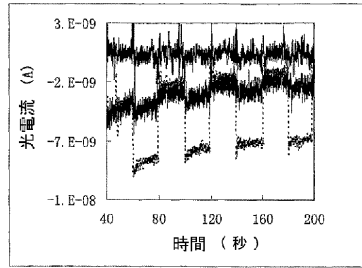


Figure 3

【 図 2 】

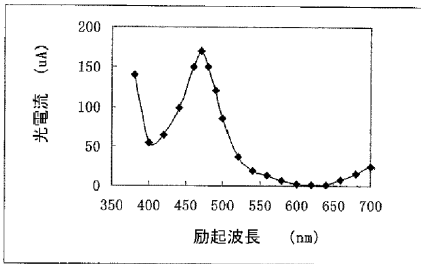


Figure 2

【 図 4 】

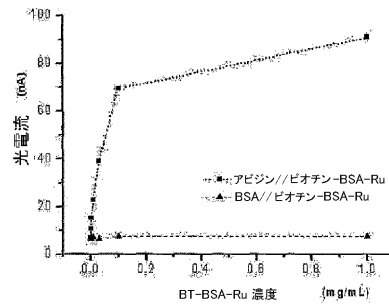


Figure 4

【 図 5 】

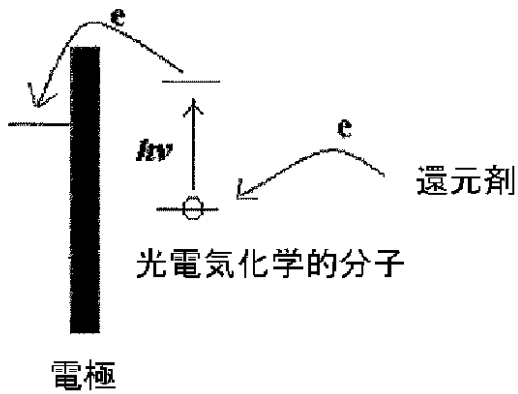


Figure 5

【 国际调查报告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN03/00327
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC ⁷ G01N33/543, G01N27/327, C12Q1/68		
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)		
IPC ⁷ G01N, C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Chinese Patent Document (1985~)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
WPI, EPOCOD, PAJ, CNPAT		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN, A, 1325490(SENSOR-TECH LIMITED), 05. December 2001(05.12.01), entire document	1-45
A	CN, A, 1249815(THE UNIVERSITY OF NORTH CAROLINA AT CHAPEL HILL), 05. April 2000(05. 04. 00), entire document	1-45
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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	"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
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 11. August 2003(11.08.03)	Date of mailing of the international search report 21 AUG 2003 (21.08.03)	
Name and mailing address of the ISA/CN 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, 100088 Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer Telephone No. 86-10-6209391	

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/CN03/00327

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US,4,293,310 (University of Pittsburgh), 06. October 1981(06. 10. 81), entire document	1-45
A	US,6,140,138 (IGEN International Inc.), 31. October 2000(31.10.00), entire document	1-45
A	US,6,066,448 (Meso Sclae Technologies, LLC.), 23. May 2000(23.05.00), entire document	1-45

INTERNATION SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/CN03/00327	
Patent document cited in search report	Publication data	Patent family member(s)	Publication data
CN, A, 1249815	05.04.00	WO,A,9835232 US, A, 2002012943 AU,A,6651798 EP,A,0970375 NO,A,993764 NZ,A,336910 AU,B,729118 JP,T,2002524021	13.08.98 31.01.02 26.08.98 12.01.00 28.09.99 28.09.01 25.01.01 30.07.02
CN, A, 1325490	05.12.01	WO,A,0011473 EP,A,1108213 JP,T,2002523746 AU,A,5437999 GB,AB,2347223 RU,C,2161653	02.03.00 20.06.01 30.07.02 14.03.00 30.08.00 10.01.01
US,6,066,448	23.05.00	CA,A,2213854 WO,A,9628538 AU,A,5420596 ZA,A,9601925 BR,A,9607193 EP,A,0821726 CZ,A,9702844 HU,A,9801679 JP,T,11502617 NZ,A,306051 CN,A,1186513 AU,B,720625 US,A,6090545 US,A,6140045 EA,B,1198 US,B,6207369 US,A,2001021534	19.09.96 19.09.96 02.10.96 05.08.97 11.11.97 04.02.98 14.10.98 28.10.98 02.03.99 29.11.99 01.07.98 08.06.00 18.07.00 31.10.00 25.12.00 27.03.01 13.09.01
US,6,140,138	31.10.00	WO,A,8602734 AU,A,5020085 EP,AB,0199804 JP,T,62500663	09.05.86 15.05.86 05.11.86 19.03.87

From PCT/ISA/210(patent family annex)(July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/CN03/00327	
Patent document cited in search report	Publication data	Patent family member(s)	Publication data
		US,A,5221605	22.06.93
		US,A,5238808	24.08.93
		EP,AB,0580979	02.02.94
		JP,A,6065271	08.03.94
		JP,B,2710534	10.02.98
		AT,T,104057	15.04.94
		US,A,5310687	10.05.94
		DE,D,3587793	11.05.94
		DE,T,3587793	18.08.94
		JP,A,7173185	11.07.95
		JP,B,2702075	21.01.98
		US,A,5453356	26.09.95
		JP,B,8026054	13.03.96
		JP,A,9110890	28.04.97
		JP,B,2706650	28.01.98
		US,A,5714089	03.02.98
		US,A,5731147	24.03.98
		CA,A,1339835	21.04.98
		HK,A,1007349	09.04.99
		IL,A,76872	06.12.00
		AT,T,230114	15.01.03
		DE,D,3588243	30.01.03
US,4,293,310	06.10.81	None	

From PCT/ISA/210(patent family annex)(July 1998)

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
G 0 1 N 27/46 U

(81) 指定国 AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72) 発明者 グオ, リアンホン

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベージン, ハイディアン ディストリクト, シンファ ユニ
バーシティ

(72) 発明者 ドン, ドン

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベージン, ハイディアン ディストリクト, シンファ ユニ
バーシティ

(72) 発明者 シェン, ドン

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベージン, ハイディアン ディストリクト, シンファ ユニ
バーシティ

(72) 発明者 ワン, フクァン

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベージン, ハイディアン ディストリクト, シンファ ユニ
バーシティ

(72) 発明者 ヤン, シクィアン

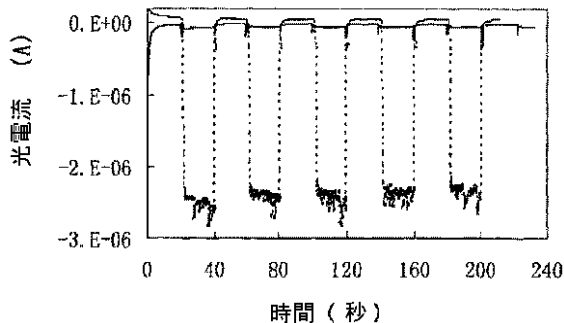
中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベージン, ハイディアン ディストリクト, シンファ ユニ
バーシティ

(72) 発明者 チェン, ジン

中華人民共和国 1 0 0 0 8 4 ベージン, ハイディアン ディストリクト, シンファ ユニ
バーシティ

F ターム (参考) 2G045 CA25 CA26 CB01 CB03 CB08 CB21 DA12 DA13 DA14 DA30
DA35 DA36 DA60 FB05

【要約の続き】



专利名称(译)	使用光电化学标记测定分析物的装置和方法		
公开(公告)号	JP2006507491A	公开(公告)日	2006-03-02
申请号	JP2004552345	申请日	2003-05-06
[标]申请(专利权)人(译)	博奥生物芯片有限责任公司 清华大学		
申请(专利权)人(译)	博奥生物芯片有限责任公司 Tsuinfa大学		
[标]发明人	グオリアンホン ドン シエンドン ワンフクアン ヤンシクイアン チェンジン		
发明人	グオ, リアンホン ドン, ドン シエン, ドン ワン, フクアン ヤン, シクイアン チェン, ジン		
IPC分类号	G01N27/416 G01N33/483 G01N33/487 G01N33/536 G01N33/68 C12Q1/68 G01N33/58		
CPC分类号	G01N33/582 C12Q1/6816 G01N2458/30		
FI分类号	G01N27/46.336.B G01N33/483.F G01N33/487 G01N33/536.E G01N33/68 G01N27/46.U		
F-TERM分类号	2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/CB08 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA30 2G045/DA35 2G045/DA36 2G045/DA60 2G045/FB05		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	02148800.2 2002-11-21 CN		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了使用光电化学分子作为标记分析分析物的装置，试剂盒和方法。特别地，本发明提供了一种用于分析物分析的方法，包括以下步骤：a) 将怀疑含有分析物的样品（如果存在于样品中）提供给分析物的反应物使用能够在合适条件下与分析物结合和/或反应的反应物，使分析物结合；b) 评估分析物和反应物之间的结合和/或反应，并确定样品中分析物的存在和/或量，其中反应物，分析物或另外的反应物或另外的分析物或分析物的类似物用光电化学活性分子标记。

