

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公表特許公報(A) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 536660

(P2002 - 536660A)

(43)公表日 平成14年10月29日(2002.10.29)

(51) Int. Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コード (参考)
G 0 1 N 27/327		C 1 2 M 1/34	4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/34		C 1 2 Q 1/34	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/34		1/42	
	1/42	1/44	
	1/44	G 0 1 N 33/53	Z

審査請求 未請求 予備審査請求(全 43数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 598843(P2000 - 598843)

(86)(22)出願日 平成12年2月10日(2000.2.10)

(85)翻訳文提出日 平成13年8月13日(2001.8.13)

(86)国際出願番号 PCT/US00/03485

(87)国際公開番号 W000/47983

(87)国際公開日 平成12年8月17日(2000.8.17)

(31)優先権主張番号 09/249,532

(32)優先日 平成11年2月11日(1999.2.11)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ユニバーシティ・オブ・サザン・カリフォルニア

アメリカ合衆国90007 - 4344カリフォルニア州ロサンゼルス、サウス・ホープ・ストリート3716番、スウィート313

(72)発明者 ロバート・ディ・マクフィー  
アメリカ合衆国90033カリフォルニア州ロサンゼルス、ルーム109、アルカザー・ストリート2250番、ユニバーシティ・オブ・サザン・カリフォルニア・スクール・オブ・メディスン

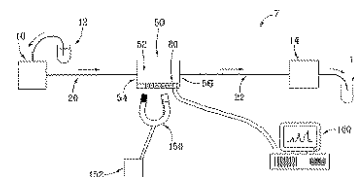
(74)代理人 弁理士 青山 葆 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 酵素結合の免疫磁気性電気化学的バイオセンサー

(57)【要約】

酵素結合の磁気サンドイッチ・アッセイ法に基づく電気化学的バイオセンサーシステムである。このアッセイ法において電極のデジタル間の配置に磁気ビドを誘引する磁石が装着される。磁気粒子は、分析物に結合し得る第1認識分子を担持する。サンドイッチ・アッセイがおこなわれるとき、基質が加えられる。基質の選択は、レドックス・リサイクルをなし得るレポーター分子において基質が酵素で分解されるようになされる。基質は分解されたとき、好ましくはp-アミノフェノールになる。



。

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 下記を含む電気化学的レポーター装置であって、

- (a) 磁気ビードを含有する分析反応を受けるための室；
- (b) 室内のセンサー、このセンサーは室内の電気化学的レポーター分子の検出用であり、そしてこのセンサーはレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子が室内でレドックス・リサイクルを受けるような立体配置を有し；
- (c) 室内に存在する磁気ビードがセンサーの位置する室の表面に誘引されるように、選択的に置かれた装置をつくる可動の磁場、を含む装置。

【請求項2】 センサーが、電極間距離約100 - 約800ナノメートルを有する電極のマイクロ電氣的デジタル間配置である、請求項1の電気化学的レポーターシステム。

【請求項3】 センサーが、電極間距離約300を有する電極のマイクロ電氣的デジタル間配置である、請求項2の電気化学的レポーターシステム。

【請求項4】 電気化学的レポーターシステムであって、

- (a) 磁気ビード；
- (b) 構造制限的に分析物に特異的に結合し得る第1認識分子、この分子は磁気ビードに結合し；
- (c) 酵素；
- (d) 酵素を認識分子/分析物複合体または分析物に特異性をもって結合せしめるための結合要素；
- (e) 酵素の存在においてレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子に分解し得る基質；
- (f) 電気化学的レポーター分子を検出するためのセンサー、該センサーはレポーター分子がレドックス・リサイクルを表示するような立体配置を有し；
- (g) 磁気ビードがセンサーの近辺に誘引され得るように位置される装置をつくる磁場、を含むシステム。

【請求項5】 センサーが、電極間距離約100 - 約800ナノメートルを

有する電極のマイクロ電氣的デジタル間配置である、請求項4の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項6】 センサーが、電極間距離約300を有する電極のマイクロ電氣的デジタル間配置である、請求項5の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項7】 酵素が基質の共有結合を開裂し得る、請求項4の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項8】 酵素が、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼ、 $\alpha$ -マノシダーゼ、 $\beta$ -マノシダーゼ、酸ホスファターゼ、アルカリホスファターゼ、ホスホジエステラーゼIIよりなる群から選ばれる、請求項7の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項9】 基質が、 $p$ -アミノフェニル- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド、 $p$ -アミノフェニル- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド、 $p$ -アミノフェニル- $\beta$ -D-グルコピラノシド、 $p$ -アミノフェニル- $\beta$ -D-グルコピラノシド、 $p$ -アミノフェニル- $\beta$ -D-マノピラノシド、 $p$ -アミノフェニル- $\beta$ -D-マノピラノシド、 $p$ -アミノフェニルホスフェート、 $p$ -アミノフェニルホスホリルコリンよりなる群から選ばれる、請求項4の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項10】 第1認識分子が、タンパク質、ポリペプチド、核酸、核酸類似体、ハプテン、免疫グロブリン、免疫グロブリンの断片、非免疫グロブリン結合タンパク質、細胞接着分子、受容体、非生物的結合分子、ホルモンよりなる群から選ばれる、請求項4の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項11】 結合要素が酵素に結合した第2認識分子を含み、第2結合分子がタンパク質、ポリペプチド、核酸、核酸類似体、ハプテン、免疫グロブリン、免疫グロブリンの断片、非免疫グロブリン結合タンパク質、細胞接着分子、受容体、非生物的結合分子、ホルモンよりなる群から選ばれる、請求項4の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項12】 基質が $p$ -アミノフェノールを含む少なくとも1つの成分に分裂され得る、請求項4の電氣化学的レポーターシステム。

【請求項13】 センサーが、幅約100 - 約800ナノメートルを有し、互いに幅約100 - 約800ナノメートル離れている電極のマイクロ電氣的デジタ

ル間配置である、請求項4の電気化学的レポーターシステム。

【請求項14】 サンプル中の特異的な分析物を検出または定量するためのアッセイ法であって、

a) 第1インキュベーション(分析物に特異的に結合する第1認識分子で被膜された磁気ビードがサンプルとともにインキュベートされる)；

b) 第2インキュベーション(磁気ビードが、酵素および分析物または分析物/認識分子複合体に特異的に結合する第2認識分子を含む結合物とともにインキュベートされる)；

c) レドックス・リサイクルを受け得る電気化学物のレドックス・リサイクルをつくり得るセンサー上で磁石でもって磁気ビードを捕捉し；

d) 基質を加え、酵素の存在で該基質はレドックス・リサイクルを受け得る電気化学物に分解され；

e) 該センサーで溶液中の電気化学物の存在を検出するか、またはその量を測定する、

ことを含むアッセイ法。

【請求項15】 第1インキュベーションが10分間以下続く、請求項14のアッセイ法。

【請求項16】 第2インキュベーションが10分間以下続く、請求項14のアッセイ法。

【請求項17】 第1認識分子が、タンパク質、ポリペプチド、核酸、核酸類似体、ハプテン、免疫グロブリン、免疫グロブリンの断片、非免疫グロブリン結合タンパク質、細胞接着分子、受容体、非生物的結合分子、ホルモンよりなる群から選ばれる、請求項14の電気化学的レポーターシステム。

【請求項18】 第2認識分子が、タンパク質、ポリペプチド、核酸、核酸類似体、ハプテン、免疫グロブリン、免疫グロブリンの断片、非免疫グロブリン結合タンパク質、細胞接着分子、受容体、非生物的結合分子、ホルモンよりなる群から選ばれる、請求項14の電気化学的レポーターシステム。

【請求項19】 酵素が基質の共有結合を開裂し得る、請求項14の電気化学的レポーターシステム。

【請求項20】 酵素が、 -ガラクトシダーゼ、 -ガラクトシダーゼ、 -グルコシダーゼ、 -グルコシダーゼ、 -マノシダーゼ、 -マノシダーゼ、 酸ホスファターゼ、 アルカリホスファターゼ、 ホスホジエステラーゼIIよりなる群から選ばれる、請求項19の電気化学的レポーターシステム。

【請求項21】 基質が、 p-アミノフェニル- -D-ガラクトピラノシド、 p-アミノフェニル- -D-ガラクトピラノシド、 p-アミノフェニル- -D-グルコピラノシド、 p-アミノフェニル- -D-グルコピラノシド、 p-アミノフェニル- -D-マノピラノシド、 p-アミノフェニル- -D-マノピラノシド、 p-アミノフェニルホスフェート、 p-アミノフェニルホスホリルコリンよりなる群から選ばれる、請求項14の電気化学的レポーターシステム。

【請求項22】 基質がp-アミノフェノールを含む少なくとも1つの成分に分裂され得る、請求項14の電気化学的レポーターシステム。

【請求項23】 センサーが、幅約100 - 約800ナノメートルを有し、互いに幅約100 - 約800ナノメートル離れている電極のマイクロ電氣的デジタル間配置である、請求項14の電気化学的レポーターシステム。

【請求項24】 サンプル中の分析物を検出するための電気化学的イムノアッセイ法であって、

(a) 磁気ビードに、抗原に結合した分析物に特異的な抗体を有する抗体を連結せしめ、抗体は酵素に結合しているか、酵素に特異的に結合するための結合要素を有し；

(b) 磁気ビード / 抗原 / 抗体 / 酵素複合体を分析すべきサンプルに接触せしめ；

(c) 磁気ビード / 抗原 / 抗体 / 酵素複合体を収集し；

(d) 磁気ビード / 抗原 / 抗体 / 酵素複合体をセンサーの近辺に誘引し；

(e) 基質を収集した磁気ビード / 抗原 / 抗体 / 酵素複合体に加え、酵素の存在で該基質はレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子に分解可能であり；

(f) センサーでもってレポーター分子の存在または量を測定し、センサーはレポーター分子のレドックス・リサイクルをつくり得る電極のデジタル間配置であ

る、

工程を含むアッセイ法。

【請求項25】 サンプル中の分析物を検出するための電気化学的イムノアッセイ法であって、

(a) 磁気ビードに認識分子を連結せしめ、該連結分子は構造制限的に分析物に特異的に結合し得、；

(b) 磁気ビードを分析すべきサンプルに接触せしめ；

(c) 特異性で酵素を認識分子または分析物に結合し；

(d) 磁気ビード / 認識分子 / 分析物 / 酵素結合物複合体をセンサーの近辺に磁場をつくり得る装置でもって誘引し；

(e) 基質を加え、酵素の存在で該基質はレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子に分解され；

(f) センサーでもってレポーター分子の存在または量を測定する（センサーは電気化学物のレドックス・リサイクルをつくり得る電極のデジタル間配置である）、

工程を含むアッセイ法。

【請求項26】 サンプル中の分析物を検出または測定するキットであって、

i) 分析物に特異的な第1認識分子で予め被膜された磁気ビード；

ii) 分析物または第1認識分子 / 分析物複合体に特異的な第2認識分子、第2認識分子は酵素に結合している；

iii) 酵素の存在でレドックス・リサイクル可能な電気化学物をつくる基質、を含むキット。

【請求項27】 さらに、

iv) 信号使用電気化学的センサーモジュール、

を含む、請求項26のキット。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(発明の分野)**

本発明は、サンプル中の特定の分析物を検出および定量するための装置および方法に関する。

**【0002】****(発明の背景)**

サンプル中の特定の分析物を検出および定量することは、環境、健康、生物技術、工業的化学などの分野で非常に重要である。そのアッセイは、高度の情報量スクリーニング、機能的遺伝子分析分野の少数検体のスクリーニング、組み合わされた化学的スクリーニング、あるいは他の分野で有用である。検出または定量される分析物は、特異的認識分子が存在するいかなる所望の化合物でもあり得る。周知の認識分子には、受容体、免疫グロブリンなどのタンパク質、核酸やその類似物、ハプテン、ホルモン、ポリペプチド、ある種の薬剤などの分子がある。

**【0003】**

分析物を検出するための装置および技術は、この分野でよく知られている。それには、ELISA、RIA、PCRなどがある。これらの技術は非常に強力で、効果的で、価値があるが、欠点もある。

**【0004】**

分析物の検出に現在使用されている大部分の装置および技術は、比較的長い反応時間、複雑な過程および試験室での条件を要する。例えば、室温を越える温度、30分以上の反応時間、厳密な時間制限がある。他の欠点は、試薬や分析物の自己蛍光があり、特に、組み合わせた化学分野において、光学的方法を用いてペプチド検体をスクリーニングするときに、認められる。

**【0005】**

精度、感度、信頼性、用量依存性を保持しながらアッセイをなすのに必要な時間を短縮することは、従来の方法に大きい経済的利点を与え、検査室での患者に便宜をもたらす。光学センサーよりも電気化学的センサーを使用すると、自己蛍光および混乱による問題を回避できる。

## 【0006】

本発明の第1の独立的態様において、電気化学的センサーが、実質的に誘電性基質上の電極のデジタル間配置および電極のデジタル配置の表面の試薬を濃縮するための手段を有する。

## 【0007】

本発明の第2の独立的態様において、電気化学的レポーターシステムが下記のものを含む：磁気ビードに連結した第1認識分子（第1認識分子は分析物に特異的に結合できる）；酵素に連結した第2認識分子（酵素を分析物または第1認識分子/分析物複合体に特異性をもって結合させるために）；酵素の存在下でレドックス・リサイクル可能の電気化学的レポーター分子に分解される基質；電気化学的レポーター分子を検出するためのセンサー（この分子中で、センサーは、電気化学的レポーター分子が存在すればレドックス・リサイクルを表示するような立体配置を有する）；磁場が磁気ビードをセンサー表面にセンサー上の溶液中で誘引するように装置をつくる磁場。

## 【0008】

本発明の第3の独立的態様において、電気化学的レポーター装置が下記のものを含む：磁気ビードを含有する分析反応を受けるための室；室の表面上のセンサー（このセンサーは室内の電気化学的レポーター分子の検出用であり、そしてこのセンサーはレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子が室内でレドックス・リサイクルを受けるような立体配置を有する）；室内に存在する磁気ビードをセンサー上に誘引する磁場をつくり得る装置をつくる磁場。

## 【0009】

本発明の第4の独立的態様において、電気化学的レポーターシステムが下記のものを含む：磁気ビード；分析物に特異的に結合し得る第1認識分子（第1認識分子は磁気ビードに連結している）；酵素；結合要素すなわち第2認識分子（酵素を分析物または第1認識分子/分析物複合体に特異性をもって結合せしめるため）；酵素の存在においてレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子に分解し得る基質；電気化学的レポーター分子を検出するためのセンサー（センサーはレポーター分子がレドックス・リサイクルを表示するような立体配置を有

する)；磁気ビードがセンサーの近辺に誘引され得るように位置される装置をつくる磁場。

#### 【0010】

本発明の第5の独立的態様において、サンプル中の特異的な分析物を検出または定量するためのアッセイが下記の工程を含む：第1インキュベーション（分析物に特異的に結合する第1認識分子で被膜された磁気ビードがサンプルとともにインキュベートされる）；第2インキュベーション（磁気ビードが、酵素および分析物または分析物／認識分子複合体に特異的に結合する認識分子を含む結合物とともにインキュベートされる）；レドックス・リサイクルを受け得る電気化学物のレドックス・リサイクルをつくり得るセンサー上で磁石でもって磁気ビードを捕捉し；基質を加え、酵素の存在で該基質はレドックス・リサイクルを受け得る電気化学物に分解され；該センサーで溶液中の電気化学物の存在を検出するか、またはその量を測定すること。

#### 【0011】

本発明の第6の独立的態様において、サンプル中の特異的な分析物を検出または定量するための電気化学的免疫アッセイが、磁気ビードに連結した抗原、および抗原に結合分析物に特異的な抗体を提供する下記の工程を含む：抗体が、酵素に結合しているか、酵素に特異的に結合できるような結合要素を有し；磁気ビード／抗原／抗体／酵素複合体を分析すべきサンプルに接触せしめ；磁気ビード／抗原／抗体／酵素複合体をセンサーの近辺に誘引し；基質を収集した磁気ビード／抗原／抗体／酵素複合体に加え（酵素の存在で該基質はレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子に分解可能である）；センサーでもってレポーター分子の存在または量を測定する（センサーはレポーター分子のレドックス・リサイクルをつくり得る電極のデジタル間配置である）。

#### 【0012】

本発明の第7の独立的態様において、サンプル中の特異的な分析物を検出または定量するための電気化学的免疫アッセイが、磁気ビードに連結した認識分子を提供する下記の工程を含む（認識分子は分析物に特異的に結合し得る）：磁気ビードを分析すべきサンプルに接触せしめ；酵素を分析物または認識分子／分析物

複合体に特異性をもって結合せしめ；磁気ビード／認識分子／分析物／結合因子-酵素複合体をセンサーの近辺に、磁場をつくり得る装置でもって誘引し；基質を加え（酵素の存在で該基質はレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子に分解可能である）；センサーでもってレポーター分子の存在または量を測定する（センサーは電気化学的レポーター分子のレドックス・リサイクルをつくり得る電極のデジタル間配置である）。

#### 【0013】

本発明の第8の独立的態様において、電気化学的レポーターシステムが下記のものを含む：磁気ビード；分析物に特異的に結合し得る認識分子（認識分子は磁気ビードに連結している）；酵素；結合要素（酵素を分析物または認識分子／分析物複合体に特異性をもって結合せしめるため）；酵素の存在においてレドックス・リサイクルを表示し得るレポーター分子に分解し得る基質；電気化学的レポーター分子を検出するためのセンサー（センサーはレポーター分子がレドックス・リサイクルを表示するような立体配置を有する）；磁気ビードがセンサーの近辺に誘引され得るように位置される装置をつくる磁場。

#### 【0014】

（図面の簡単な説明）

図1は、サンプル中の特定の分析物を検出および／または定量するための本発明の装置の概略図である。

図2は、低、中、高レベルの抗p24を有する血清サンプルを本発明でアッセイしたときに測定された電流変化をグラフで図示したものである。

図3は、サンプル中に含まれるHBsErgの調整濃度（mIU/ml）に対し、動的測定で得られた値（nA/s）の傾斜をグラフにプロットしたものである。

図4は、本発明に従って電気化学的測定により得られた用量応答曲線を示したものである。

図5は、本発明の磁気ビードと磁石を使用しない装置で電気化学的測定により異なる濃度を測定したものである。

図6は、サンプルあたり異なる数の磁気ビードを用いたアッセイ値を比較したものである。

図7は、本発明に対応する方法と装置の流れ図を示したものである。

【0015】

(好ましい実施態様の詳細な説明)

図面に戻り詳細を説明する。図1は、サンプル中の特定の分析物を検出および/または定量するための本発明に対応する装置7の概略図である。

【0016】

第1ポンプ10は、処理されたサンプル12を流入チューブ、あるいは第1チューブ部分20を通して電気化学的検出モジュール50に注入する。第1ポンプ装置10はチューブ部分を通して微粒子、あるいは泥状懸濁液を含む液体を移動させうる装置であればよい。望ましくは、第1ポンプ装置10は速度調整の出来る蠕動ポンプである。

【0017】

第1のチューブ部分20は、管を詰まらせない微粒子を含む液体を通しうるあるいは液状泥状懸濁液を輸送しうるチューブであればいずれでもよい。そのチューブは不活性な素材から作られている事が望ましい。即ち、チューブの中を流れる液体やサンプルと相互作用し、害を及ぼさない素材である。最も望ましくは、第1チューブ部分にはTYGONチューブを用いることである。

【0018】

第1チューブ部分20の直径は望まれる流速に依存する。第1ポンプ装置10が蠕動ポンプであれば、チューブ20を通過する液体の流速は広い内径を有するチューブを用いることにより増加させうるし、あるいは蠕動ポンプのスピードを増加させることにより高めることが出来る。逆に、低い流速は小さい直径を持つチューブを用いることにより、あるいは蠕動ポンプのスピードを減少させることにより達成させることが出来る。望ましくは、第1チューブ部分は特定のポンプで適切な流速が得られるような内径を有することである。用いられるチューブの直径はビードのサイズと流される液体との関数でもある。

【0019】

電気化学的検出モジュール50は、流入口オリフィス54、サンプルを保持する室52、流出口オリフィス56およびセンサー80からなるものである。流出

口56は流出チューブ、あるいは第2チューブ部分22に接続されている。第2チューブ部分22は、その一方の端が第2ポンプ(図面)装置14(図示)に接続される。あるいは代りになるべきものとして第1ポンプ装置10はこの目的のためにもまた用いられる。その場合、このシステムは密封系としてシールされていることが望ましい。

#### 【0020】

第2チューブ部分22は、廃液容器16、集水室あるいはそれと同種類のもの  
で終わらせる。流出チューブ22の素材の性質は、上で記述した様に流入チューブ20と同じものであることが望ましい。もし、二つのポンプを使用する場合、曲がりにくい、より不活性な素材が、例えばTEFLONを含め、あるいはそれと同種類のものがチューブとして用いることが出来る。

#### 【0021】

電気化学的検出モジュール50は、使い捨てで、単回使用のユニットである。その場合、モジュール50は簡単に取りかえられるよう装置7でスライドおよび/またはスナップ式で出し入れするよううまく調整されている。決められた場所にスライドおよび/またはスナップさせて入れるために、電気化学的検出モジュール50は流入チューブ20と流入口オリフィス50の間に、そして流出口オリフィス56と流出チューブ22の間にしっかりしたシールが形成されるように調整されている。

#### 【0022】

流入および/または流出チューブ20、22は、検出モジュール50の部品であり、それぞれの使用後廃棄されそして取り替えられる。廃液容器16、集水室あるいはそれと同種類のものも廃棄可能な検出モジュール50の部品である。IDAのための電氣的接続はモジュールが決められた場所にスライドさせたりスナップさせたりする際、コントローラ100および/または電源にプラグイン出来る形式となっている。

#### 【0023】

センサー80は、レドックス・リサイクルを受けた電気化学的信号を検出および/または測定できる装置であり、その一方で電気化学的信号をレドックス・リ

サイクルに供せられるものである。例えば、WO 99/07879および米国特許5,670,031参照。好ましいのは、電極間が約800 $\mu$ m以下を有する電極のデジタル間配置(IDA)である。最も望ましいものは電極間が約200 $\mu$ mから約400 $\mu$ mを有する電極の配置であり、例えば、電極間が約300 $\mu$ mを有する電極の配置である。

#### 【0024】

センサー80は、1以上のIDAを有するものである。より多くのIDAはより高い感度を提供するものであるが、アッセイ内容により必ずしも欠かせないものではない。1以上の配置が存在する場合、(即ち、“組み揃えられた”IDAセンサー)その配置は直列もしくは並列に繋がれる。独立した組み合わせも使用される。

#### 【0025】

センサー80は、マルチ電位差測定装置を含むシステムコントローラー100に繋がれ、その装置は一つのIDAもしくは複数のIDAに固有の電圧値を供給し、そしてIDAに近接した電気化学的信号を出す分子のレドックス・リサイクルから生じた投与量依存の電流値を測定する。代わるべきものの情報は走査型電位測定法、あるいはそれと同種類のものでも得られる。システムコントローラーは、この様にしてIDA中での電圧および/または電流変化を測定出来るし記録することも出来る。もし一つ以上のIDAが直列的であればシステムコントローラー100は、それぞれ独立したIDAで起こる変化をあるいはその様な変化の総和をうまく測定したり記録することが出来る。そのシステムコントローラーはコンピューターネットワークの1部にうまく取り入れれば、処理や結果を指示、モニター、制御、検索および/または遠隔操作による解析も可能である。

#### 【0026】

磁場発生装置150、それと同種類のもの、電気化学的検出モジュール50と関連して設置され、そして磁気ビードを有する液体が室52の中で循環された時、所望の分析物の検出もしくは定量に十分な磁気ビードの量がセンサー80の表面上に誘引される様な強さの磁場を発生させることが出来るものである。

#### 【0027】

磁場発生装置150は、オン/オフスイッチ152により、あるいはそれと同種類のものにより作動/停止が行われる。スイッチングはシステムコントローラ100、あるいはそれと同種類のものの下で制御される。

【0028】

代わりになるべきものとして、磁場発生装置150は永久磁石でもよい。その場合、その磁石は少なくとも発生する最初の磁場の位置で室52の中で磁気粒子に作用するように、即ち磁気ビードがセンサー80の表面上に引きつけられるように可動のものである。それから磁石が二番目の位置に移動された時、磁場は室52の中の磁気粒子にはあまり影響を与えない。そうすると磁気ビードは最早センサー80の表面上に引きつけられなくなり、分析物の検出および/または定量が終了したのちのセンサーの磁気ビードを洗浄するのを容易にする。活性化/不活性化できる磁場発生装置が使用されるが、単回使用/廃棄可能な電気化学的検出モジュール50が使用される場合はそれは必ずしも必要としない。

【0029】

使用に際し、緩衝液はシステムを通してポンプで送られ、そしてベースラインを確定するためにセンサー80の上に供給される。その緩衝液はある効果的な速度で、ゆっくりした速度(0.2 mL/min)が望ましいが、センサー80の上に流される。いずれの効果的な緩衝液が使用されてもよいが、下記するように酵素基質緩衝液(ESB)がより望ましい。

【0030】

センサー80の下にある磁石150は、152により作動される。また、磁石はいかなる時でもセンサーの上に置かれた磁気ビードを含むサンプルを流す前にセンサー80の下に設置される。磁石150は磁気ビードの適当量が誘引され、そしてセンサー80の表面に捕捉されるような作動磁場を発生できる。

【0031】

次いで、試験されるために処理されたサンプル12はセンサー80の上で循環される。その処理されたサンプルは効果的ないずれかの方法で調製される。処理されたサンプルを調製する一つの方法を以下の項により詳細に記述する。一般的に、処理されたサンプルは磁気ビードを、あるいはそれと同種類のものを、含む

ものであり、分析物、認識分子あるいは認識分子 / 分析物複合体として磁気ビードに非直接的に結合された酵素を含む。

#### 【0032】

処理されたサンプルは、ある効果的な時間の間センサー80の表面上で循環される。望ましくは、ビードの適当量がセンサー80の表面上に磁石150により捕捉されるまでである。望ましくは、ビード溶液は早い流速に対し中ぐらいで(約0.38 mL/min)約2分間循環する。磁石150と流速の効果はビードの適当な濃度がセンサー80上で捕捉されるようなものがある。

#### 【0033】

それから、基質はセンサー80上で循環される。その基質はいかなる有効な速度でも循環されるが、低い流速(0.2 mL/min)が望ましい。流れは基質溶液がセンサー上にある間に停止し、そして流れのない状態で、望ましい時間の間にシステムコントローラー100でシグナルを測定および / または記録される。

#### 【0034】

シグナルは適当ないずれかの時間の中に測定される。一般的には、シグナルは使用可能なデータの約90秒から約100秒の間または約60秒の間で測定される。もし必要なら、長いめのまたは短めの測定も用いられる。最適の時間の長さを決めるために、当技術分野で測定は所定の条件とサンプルで行われる。

#### 【0035】

基質は酵素と使用される条件に依存する。いかなる有効な基質でも使用される。本発明に従って使用される酵素 / 基質ペアの非排他的リストは、WO 99 / 07879に明らかにされている。いかなる有効な基質濃度でも使用される。望ましい基質溶液の調製は以下の項により詳細に記述されている。

#### 【0036】

サンプルをアッセイし終わったら、ビードは、152の使用を止めること、あるいはセンサー80に近接する磁石150を外すことおよびセンサー80の上を充分な速さの流速で新しい緩衝液を循環させることによりセンサー80の表面からきれいにされる。

## 【0037】

また、もし廃棄可能なセンサーが使用されるとすると、サンプルをアッセイし終えたら検出モジュール50は取り外し、そして廃棄される。

## 【0038】

磁気ビードがセンサーからきれいにされる場合には、いかなる有効な緩衝液でも使用されるが、ESBが望ましい。流速は約0.43 mL/minが望ましい。緩衝液の流れへの気泡の添加はビードの清浄化を助けることが判った。洗浄緩衝液は有効ないずれの時間の間でも使用されるが、通常約45秒から約60秒の間であれば充分であることがわかっている。ビードを洗い終わると、新しい緩衝液はベースラインが再び平衡に達するまでセンサー80上で再循環される。このステップは通常約30秒要する。そしてセンサー80は新しいサンプルに対し準備される。

## 【0039】

本発明の別の態様は、サンプル中の分析物を測定し、定量するのに迅速で信頼性のあるアッセイ法である。その方法は本発明の装置が用いられたときに、特に有効である。

## 【0040】

検出または定量される分析物は、特定の認識分子が存在する所望のいかなる化合物も含む。よく知られている認識分子は、受容体のような蛋白質、免疫グロブリンおよびそれと同種類のもの；核酸、その類縁物およびそれと同種類のもの；ハプテン；ホルモン；ポリペプチド；ある種の薬物；そしてほかのその様な分子を含むものである。

## 【0041】

一般的に、アッセイは磁気ビードあるいはそれと同種類の物を使用し、それらは購入可能なものである。有効な磁気ビードはいずれでも使用されるが、トシル活性化DYNABEADSM-450 (DYNAL Inc, 5 Delaware Drive, Lake Success, NY 11042 Prod No. 140.03, 140.04) またはそれと同種類のものが望ましい。磁気ビードは磁場を有するチップ表面に捕捉されうるサイズであればいずれでもよい。

## 【0042】

磁気ビードは通常、検出または定量される分析物に対し特異性と高い親和性で結合している認識分子で被膜されている。特定の認識分子で磁気ビードを被膜する方法は技術的にはよく知られている。磁気ビードは通常、被膜物質をカーボネート緩衝液 (pH 9.6、0.2 M) あるいはそれと同種類のものに溶解させることにより、あるいは他のよく知られた技術手法により被膜される。

## 【0043】

DYNABEADSについては、メーカーにより提供される使用説明書を使用する。簡単に記述すると、初めに磁気ビードを懸濁し、ボルテックスミキサーあるいはそれと同種類のもので均一化する。そして、望まれるビードの数に対応する量を試験管に分注する。磁気ビードを磁石を用いて濃縮し、その上澄み液をピペットで取り去り、磁気ビードを動かさないで設置しておく。

## 【0044】

それから、ビードを、必要を満たすに充分量 (元の量より多い目が望ましい) の有効ないずれかの緩衝液に再懸濁する。使用される認識分子に対する最も有効的な緩衝液を決めることは、当技術分野で知られている。使用される緩衝液は、例えばモル濃度で0.1モルから0.5モルの間のリン酸緩衝液pH7.4、ホウ酸緩衝液pH9.5あるいは酢酸緩衝液pH4.0を含むものである。

## 【0045】

ビードを有効な時間、最終被膜溶液でゆっくり攪拌する。一般的には、ビードを約2分間、最終被膜溶液で攪拌する。

## 【0046】

磁気ビードを磁石で再度濃縮し、その上澄み液をピペットで取り去り、磁気ビードを動かさないで設置しておく。それからビードを有効ないずれかの緩衝液の適当量に再懸濁する。有効な緩衝液としては、他にもいくつかあるが、リン酸緩衝液pH7.4、ホウ酸緩衝液pH9.5、あるいは酢酸緩衝液pH4.0がある。これでビードは被膜する準備が整えられる。

## 【0047】

被膜するに際し、磁気ビードを有効な緩衝液で入念に再懸濁する。有効な緩衝

液としては、他にもいくつかあるが、リン酸緩衝液 pH 7.4、ホウ酸緩衝液 pH 9.5、あるいは酢酸緩衝液 pH 4.0 がある。認識分子が蛋白質、ポリペプチドまたはそれと同種類のものであれば、磁気ビード  $10^7$  あたり純度の高い認識分子の約  $1\ \mu\text{g}$  から約  $10\ \mu\text{g}$  を磁気ビード / 緩衝液に添加する。望ましくは、認識分子が蛋白質、ポリペプチドまたはそれと同種類のものであれば、磁気ビード  $10^7$  あたり純度の高い認識分子の約  $5\ \mu\text{g}$  を磁気ビード / 緩衝液に添加する。それからその溶液を 1 - 2 分間ボルテックスミキサーにかける。DYNABEADS のメーカーは、最終被膜溶液（抗体または他の認識分子を含む） $1\ \text{ml}$  あたり DYNABEADS  $4 - 10 \times 10^8$  の濃度を推奨している。

#### 【0048】

最終被膜溶液中の塩濃度は、約  $0.05\ \text{M}$  より高いことが望ましい。より高い pH および / またはより高い温度は化学結合をより速く形成させる。pH と温度の上限は磁気ビードを被膜するのに使用された認識分子に基づいて決められる。

#### 【0049】

それから、磁気ビード / 認識分子溶液をゆっくりと傾けて回転させながら 37 で 16 - 24 時間保温する。あるいはそれと同様のことをする。温度感の高い認識分子に対しては、より低い温度が用いられる。安定な認識分子に対しては、より高い温度とより短いインキュベーション時間が用いられる。磁気ビードをインキュベーション期間中は設置しないのが望ましい。

#### 【0050】

リン緩衝液 pH 7.4 ( $0.1\ \text{M}$ ) は、 $2.62\ \text{g}\ \text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  (MW 137.99) と  $14.42\ \text{g}\ \text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  (MW 177.99) を蒸留水に溶かし、容量を  $1000\ \text{ml}$  に合わせて調製する。

#### 【0051】

ホウ酸緩衝液 pH 9.5 ( $0.1\ \text{M}$ ) は、 $6.183\ \text{g}\ \text{H}_3\text{BO}_3$  (MW 61.83) を  $800\ \text{ml}$  の蒸留水に溶かし、 $5\ \text{M}$  の  $\text{NaOH}$  を用いて pH を 9.5 に合わせ、それから蒸留水で容量を  $1000\ \text{ml}$  に合わせ調製する。

#### 【0052】

酢酸緩衝液 pH 4.0 ( $0.1\ \text{M}$ ) は、 $2.86\ \text{ml}$  の酢酸 ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )

)を900mlの蒸留水に溶かし、5MのNaOHを用いてpHを4.0に合わせ、そして蒸留水で容量を1000mlに合わせて調製する。

#### 【0053】

これらの緩衝液は、トシルで活性化されたDYNABEADSM-450の前洗浄と被膜するのに使用される。これらの緩衝液に添加される蛋白質、糖、あるいはそれと同種類のものがないことが望ましい。

#### 【0054】

蛋白質またはポリペプチド以外の認識分子も、磁気ビードを被膜するのに直接的あるいは間接的に使用される。例えば、核酸およびそれらの類縁物質をアビジンビオチン結合、またはそれと同種類のもの；核酸または類縁物質をアルブミンのような蛋白質、またはそれと同種類のものに結合させることにより、これは磁気ビードを被膜するのに使用される；あるいは技術的によく知られた他の方法により、磁気ビードに付けることが出来る。ホルモン、ハプテン、糖、ポリペプチドおよびそれらと同種類のものを含む他の認識分子は、同様に技術的なこれらの技法によりよく知られたストラテジーを用い磁気ビードに結合される。

#### 【0055】

被膜溶液を保温した後、磁気ビードは磁石を用いて濃縮し、そして上澄み液をピペットで除去する。それから被膜されたビードを洗浄する。望ましくは全体で4回。緩衝液D中4 で5分間を2回、緩衝液E中20 で24時間または37 で4時間を1回、そして緩衝液D中4 で5分間を一回である。そのビードは被膜され、そしてこの処理の後使用するのに準備される。ビードに結合した特定の認識分子の量は、放射活性ラベル法、免疫蛍光法、分光アッセイ法または技術的に知られている他のいずれかの方法により確定される。

#### 【0056】

ビードは緩衝液D中4 で保存する。固定された物質の安定性に依存するが、通常数ヶ月間保存できる。もし、ビードが2週間以上保存されているなら、それらは使用に先立ちPBS/BSA中で5分間2回洗浄されることが望ましい。

#### 【0057】

緩衝液Dは、一般的に0.1% w/vのウシ血清アルブミン(BSA)また

はヒト血清アルブミン (HSA) を有する PBS pH 7.4 から成っている。それは 0.01 M Na-リン酸液 pH 7.4 の 80 ml に 0.88 g NaCl (MW 58.4) と 0.1% (w/v) BSA または HSA とを溶かして作られる。溶液を入念に混合し、そして容量を 0.01 M Na-リン酸液 pH 7.4 で 100 ml に合わせる。

#### 【0058】

緩衝液 D は、一般的に事前に被膜されている DYNABEADS を洗浄するのに使用される。メーカーによれば、この緩衝液または蛋白質あるいはアミノ基 (グリシン, Tris 等) を含むいずれの緩衝液も トシル活性化 DYNABEADS M-450 の前洗浄または被膜処理に使用しない方が望ましい。

#### 【0059】

もし防腐剤が被膜された製品に必要とされるならば、アジ化ナトリウム (NaN<sub>3</sub>) の有効量を緩衝液 D に加える。望ましい最終濃度は 0.02% (w/v) である。この防腐剤は細胞障害性があり、使用前には洗浄により注意深く除去すべきである。必要とされる安全な予防措置がこの物質を取り扱う際には取られるべきである。

#### 【0060】

緩衝液 E : 0.1% (w/v) の BSA (HSA) を有する 0.2 M Tris 液 pH 8.5 は 2.42 g の Tris を蒸留水 80 ml に溶かし、そして 1 M HCl を用いて pH を 8.5 に合わせ、そして 0.1% BSA/HSA を溶かし、容量を 100 ml に合わせて作られる。全ての試薬は分析級のものが望ましい。

#### 【0061】

分析物の存在または定量のためサンプルを試験するために、分析物が検出され、定量されるサンプルを被膜されたビードと合わせ第 1 のインキュベーションとする。第 1 インキュベーションは、一般的に第 1 の認識分子で予め被膜された磁気ビードにアッセイされるサンプルを添加することからなる。一般的に、第 1 インキュベーションが実施される容量は、使用されるビードの数と反応が起こる最終容積とに依存する。

## 【0062】

容量あたりビードの有効な数は第1インキュベーションで使用される。適当な認識分子で被膜されたビードの望ましい数はピペットで取られ、そして修正された緩衝液E(MBE)の中で洗浄される。MBEは1.0%(w/v)BSAを有する0.2M Tris緩衝液pH8.5からなる。それからMBEの望ましい容量で再懸濁される。一般的には、20 $\mu$ l中約4-5 $\times 10^4$ と約4-5 $\times 10^{10}$ の間のビードが最終容量40 $\mu$ lのアッセイに用いられる。望ましくは、20 $\mu$ l中約4-5 $\times 10^5$ と約4-5 $\times 10^7$ の間のビードが最終容量40 $\mu$ lのアッセイに用いられる。最も望ましいのは、最終容量40 $\mu$ lのアッセイには20 $\mu$ l中約4-5 $\times 10^6$ と約4-5 $\times 10^7$ のビードの使用である。

## 【0063】

従来の技法を用いて一般的に試験されるサンプルは、本発明の方法と装置を用いても試験される。サンプルはもし必要ならMBE中に希釈される。一般的に、例えば、血清サンプルは、もし分析物が十分な濃度であれば、1:2または1:4に、あるいはそれ以上で希釈され得ることがわかっている。サンプルを希釈することはバックグラウンドを減少させることもわかっている。

## 【0064】

サンプルとビードは通常1:1(v/v)の割合で混ぜられる。望ましくは、ビード20 $\mu$ lとサンプル20 $\mu$ lが全体の反応容量40 $\mu$ lに混ぜられる。

## 【0065】

幾つかの実験を行い、その中で第1インキュベーション時間を約30秒から約30分にわたるインキュベーション時間間隔で調べた。長いめのインキュベーションは、より感度の高い結果が得られることが判ったけれども、約10分かそれ以下の第1インキュベーションで通常高い感度の結果が得られることが判った。約5分かそれ以下の第1インキュベーションも高い感度の結果が得られることが判った。最も望ましいのは、約1分から約2分の間の第1インキュベーションである。

## 【0066】

第1インキュベーション後、ビードはMBE(第1インキュベーションで使わ

れた40 $\mu$ lあたり100 $\mu$ l)で2回洗浄されることが望ましい。

#### 【0067】

結合物、通常分析物(または第1認識分子/分析物複合体)に特定に結合し、酵素に結合されるか結合されるかもしれない第2認識分子で、第2インキュベーションが実施される。他の方法、例えば、ベータガラクトシデースのポリペプチド断片の補集合体、またはそれと同種類のものもまた使用される。結合体または第2認識分子の有効ないずれかの量と濃度が使われる。しかしながら、望ましくは第2インキュベーションを第1インキュベーションと同じ量で行うことである。結合体は必要な時M B Eで希釈される。

#### 【0068】

第2インキュベーションを約30秒から30分にわたる時間で試みた。長いめのインキュベーションはより感度の高い結果が得られことが判ったけれども、通常約10分かそれ以下の第2インキュベーションで高い感度の結果が得られることが判った。約5分以下の第2インキュベーションもまた高い感度の結果が得られることが判った。最も望ましいのは約1分と約2分の間のインキュベーションである。溶液は反応成分の混合が確実に行われる間ゆっくりと振っておくことが望ましい。

#### 【0069】

本発明のシステムと方法が使用される時、第1および第2インキュベーションは室温(17 - 25 )で実施され、優れた結果が得られることが判った。より高いまたはより低い温度が適当に使われる。

#### 【0070】

第2インキュベーションの後、液相は捨てられ、そして反応物を洗浄する。通常、反応物は0.05% T W E E N 20を含むP B Sで3回洗浄する。装置に注入する前に、反応物は酵素基質緩衝液(E S B : 0.1 M リン酸塩、0.1 M N a C l )で洗浄される。一般的に、上で記述した装置を用いる場合反応物は200 $\mu$ lに再懸濁される。

#### 【0071】

使用される基質は結合物中の酵素に依存する。一般的に、もし酵素がベータガ

ラクトシダーゼであれば、有効な基質はP-アミノフェニル-β-D-ガラクトピラノシド(PAPG)である。2 mMの濃度が望ましい。酵素と基質の非排他的なリストはWO 99/07879に明らかにされている。

#### 【0072】

技術的に知られている他のアッセイ方法もまた本発明とあわせて使用するのに適合するものである。例えば、WO 99/07879参照。

#### 【0073】

さらに、本発明のもう一つの実施態様は、本発明のアッセイを実施するための試薬を含むキットである。そのキットはアッセイを実施するために使用される試薬にいかなる組み合わせも含むものである。例えば、所望の分析物に対し認識分子で前被膜された磁気ビード保持するバイアルまたはそれと同種類のもの；第2認識分子を保持する第2バイアルまたはそれと同種類のもの、それは第1認識分子/分析物複合体に対し特定のもであり、第2認識分子は酵素と結合するか結合可能なものである；基質、それは酵素の存在下でレドックス・リサイクルの電気化学的能力を生じる。キットはまた単回使用の電気化学的検出モジュールを含む。キットはまたアッセイに使用する緩衝液、陽性対照液、陰性対照液および他の試薬を含む。

#### 【0074】

(実施例)

実験は、レドックス・リサイクル受ける電気化学的能力が正比例すること、およびレドックス・リサイクルを受け易いような構造を有するIDAを用いて電気化学的量の測定に基づいて分析物を検出し、そして定量するための速い感度の高い装置と方法を評価するために行った。

#### 【0075】

別に特定しない限り、以下の物質が使用された。M450 トシル活性化磁気ビード(Dynal, Product No.140.04)。被膜緩衝液、0.1 M リン酸緩衝食塩水(PBS)、pH 7.4。後被膜洗浄緩衝液 PBS、pH 7.4、0.1% (w/v) ウシ血清アルブミン(BSA) (1x crystallized, Sigma, cat # A-4378)を含む。保存緩衝液、PBS、pH 7.4、0.1% (w/v) BSA

と0.02% (w/v) アジ化ナトリウムを含む。トシル阻止緩衝液、0.2 M Tris Buffer、pH8.5、0.1% (w/v) BSAを含む。組換え体 HIV-1 p24 抗原 (Devaron, inc, cat#301-8-2, clone#Ar-DEV)。B型肝炎表面から取り出されたヒト血清、抗体ADサブタイプ (adHBsAg) (Genzyme Diagnostics, cat# ABH0707, Lot#M-22975)。組換え体 HBsAg (ayw サブタイプ) (Genzyme Diagnostics, cat#ABH0705, Lot#M-22756)。ベータガラクトシダーゼ (American Qualex, cat# A110GN, lot# GG-017) に結合されたヤギ抗ヒト結合体 (IgG H+L-specific)。P-アミノフェニル-D-ガラクトピラノシド (Sigma, cat# A-9545)、酵素基質緩衝液 (0.1 M リン酸塩、0.1 M NaCl、pH6.8) 中2 mM。

#### 【0076】

修正された緩衝液E (MBE) は、結合していない、活性のあるトシル基を阻害するために被膜する際に使用される。緩衝液は1.0% (w/v) BSAを含み、0.2 M Tris Buffer、pH8.5である。BSAを含むTris Bufferを使用することにより、アッセイは非特異的な結合を生成しにくいことがわかっている。

#### 【0077】

実験は以下のような陽性と陰性の対照を用いて行った。p24に対する抗体を持つヒト血清：陰性の - p24 (98-058-08445)、0の近似力価；low+ - p24 (98-053-01456)、261の近似力価；medium+ - p24 (98-062-07940)、1,515の近似力価；およびhigh+ - p24 (98-058-077537)、104,186の近似力価。HBsAgに対する抗体を持つヒト血清：high+ - HBsAg (98-306-04981)、4742 mIU/mlの近似濃度；陰性 - HBsAg (98-306-05415)。陰性血清を有するhigh+ - HBsAg希釈は、より低い - HBsAg力価を持つサンプルを作るのに使用された。

#### 【0078】

比色アッセイを比較目的で幾つかのサンプルについて行った。この比色アッセ

イは非電気化学低検出技術として広く利用されている。比色ビード光学的終点アッセイに対し、ペルオキシダーゼ-アフィニピュールF ( a b ) 断片マウス抗ヒト I g G F c ( g a m m a ) 特異的断片 ( Jackson Immunoresearch , c o d e 2 0 9 - 0 3 6 - 0 9 8 , l o t 2 5 2 0 6 ) が使用された。そしてOPD はA b b o t t のキット製品を入手した ( O P D t a b l e t s n o . 7 1 8 1 E , O P D d i l u e n t n o . 5 6 9 5 ) 。

( 実施例 1 )

【 0 0 7 9 】

ビードの望ましい数をMBEで洗浄し、そしてMBEの望ましい量で再懸濁した。特に、 $4 - 5 \times 10^6$ の磁気ビードを電気化学的反応に使用し、一方 $1 \times 10^6$ のビードを光学的反応に使用した。

【 0 0 8 0 】

第1インキュベーションは通常認識分子で前被膜されたビード (  $20 \mu\text{l}$  ) にアッセイされるサンプルを添加することから成っている。下に示した試験のために、血清サンプルを全反応容量 $40 \mu\text{l}$ に対しMBE ( ウエルあたり $20 \mu\text{l}$  ) で1 : 4に希釈した。

【 0 0 8 1 】

幾つかの実験を行い、その中で第1インキュベーション時間を約30秒から約30分までの時間間隔で調べた。より長い時間のインキュベーションは、より感度の高い結果が得られることが判ったけれども、通常1 - 2分の第1インキュベーションは高い感度が得られることが判った。

【 0 0 8 2 】

反応物をそれからMBE (  $100 \mu\text{l}$  ) で2回洗浄し、そしてビードをヤギ抗ヒト ガラクトシダーゼ結合体 ( ウエルあたり $40 \mu\text{l}$ 、MBEで1 : 1000希釈 ) の中で保温 ( 第2インキュベーション ) した。約30秒から約30分間の範囲でインキュベーションを試みた。より長い時間の第2インキュベーションはより感度の高い結果が得られることが判った。一般的には、しかしながら、1 - 2分のインキュベーションは高い感度が得られることが判った。溶液は反応成分の攪拌を確実にする間振ることが望ましい。

## 【0083】

本発明のシステムと方法が使われる時、第1および第2インキュベーションは室温(17 - 25)で優れた結果を示すことが判った。

## 【0084】

第2インキュベーション後、液相を捨て、そして反応物を0.05% TWEEN 20 (PBST)を含むPBSで三回(100 $\mu$ l)洗浄した。反応物はそれからESBで一回(100 $\mu$ l)で洗浄し、ESB(200 $\mu$ l)中に再懸濁した。

## 【0085】

センサー(電極の互いに組み合わせられた配置の単一配置、米国特許5,670,031に記述されている)を活性化し、そしてベースラインが安定するまでESMをゆっくりした速さ(約0.2ml/min)でセンサーの上に流した。それから磁石をセンサーのすぐ下に置いた。磁石はセンサーの表面で磁気ビードを捕捉するに十分な磁場を出すような位置に設置した。

## 【0086】

処理されたサンプルをセンサーの上で循環した。ビード溶液を速い流速に対して中位(約0.38ml/min)で約2分間循環した。磁石により、ビードの高い濃度がセンサー表面上に捕捉された。

## 【0087】

基質(2mM PAPG、100 $\mu$ l)を低速(約0.2ml/min)でセンサー上で循環した。それから流れを止めた。その間基質溶液はセンサー上におかれ、そして信号が望まれる時間に対し流れのない状態で測定された。信号は使用可能なデータの60秒に対し約90秒から約100秒の間測定された。

## 【0088】

ビードは、センサーの近くから磁石を取り外すことにより、またセンサー上を高い流速(約0.43ml/min)で新しいESBを循環させることによりセンサーからきれいにされる。ESBの流れへ気泡を添加すれば、ビードの清浄化を助けることが判った。洗浄段階は通常約45秒から60秒の間の時間を要した。ビードが洗い終わったら、新しいESBをベースラインが平衡に成るまでセン

サー上で再循環した。この段階には通常約30秒要した。そしてセンサーは新しいサンプルに対しての準備が整えられた。

#### 【0089】

磁気ビードをp24で被膜した後、ビードは試験される血清で1分間インキュベーションされ(第1インキュベーション)、洗浄され、ヤギ抗ヒトガラクトシダーゼIgGで1分間インキュベーションし(第2インキュベーション)、洗浄した。上で記述した手順はセンサー上のビードを濃縮するのに用いた。そして基質を添加した。

#### 【0090】

図2は、時間に対し電圧における測定変化をグラフで表示したものである。最初のピークは、低力価血清における抗p24の測定に対応している。そのピークは約t11900に始まり、約t12500に終わる。二番目のピークは、中力価血清における抗p24の測定に対応している。そのピークは約t12500に始まり、約t12800に終わる。三番目のピークは、高力価血清における抗p24の測定に対応している。そのピークは約t13200に始まり、約t13500に終わる。

#### 【0091】

平均傾斜は測定の20番目の秒から100番目の秒にわたって求められたデータポイントに対するデータグラフ( $nAmp = y - axis ; time (seconds) = x - axis$ )から計算された。データは1秒あたり2点の割合で取り、そしてデータ取得プログラム(Origin Software)により広幅シートに記録した。低力価血清に対しての平均傾斜は0.061と見積もられ、中力価血清に対しての平均傾斜は0.112と見積もられ、そして高力価血清に対しての平均傾斜は0.344と見積もられた。これらの値は市販のキットを使用して得られた光学的測定と比較され得る。光学的測定は低、中および高力価血清に対して、それぞれ0.147、0.291および0.495の値を示した。従って、本発明を使用して得られた結果と市販のシステムを使用して得られた結果の間には、都合よく確かな相関が見られた。しかし、本発明を使用して得られた結果は、市販のシステムや方法で必要とされる時間の一部しか必要としなかった。

## 【0092】

## (実施例2)

実験は下に記述するような条件の下で本発明のシステムと方法の感度を見出すために行った。0、15、50、100、200、400、800 mIU/ml と同等の濃度を有するヒト血清を連続希釈し、抗HBsAgを調製した。予めHBsAgで被膜された磁気ビード(DYNABEADS M450)を洗浄し、そしてMBEの中に再懸濁した。

## 【0093】

第1インキュベーションのため、血清サンプルをMBEで1:1に希釈し、そしてそれぞれの希釈サンプルの25  $\mu$ lをマイクロ滴定プレートウエルに分配した。MBE 25  $\mu$ l中 $5 \times 10^6$ 被膜されたビードを各々のウエルに添加した。サンプルは室温でゆっくり振りながら2分間インキュベーションした。それからサンプルはMBEで2回洗浄した。

## 【0094】

第2インキュベーションのために、MBE中の抗ヒト ガラクトシダーゼ結合体の1:1000希釈の50  $\mu$ lを各々のウエルに添加した。サンプルは室温でゆっくり振りながら2分間インキュベーションした。それからサンプルをMBEで2回、PBSTで2回、ESBで1回洗浄し、そして250  $\mu$ lの中に再懸濁した。サンプルは個別的にチップ上に載せた。ESBの中のPAPG 2mMをシステムに添加し、そしてセンサーの電圧を記録した。

## 【0095】

図3はサンプル中のHBsAgの元の濃度に対して動的測定(nA/s)の傾斜をプロットしたグラフである。その結果は0.8626に等しい $R^2$ を持つ相関を示している。これらの条件の下で、半定量的結果が50 mIU/mlまたはそれ以上の濃度で得られていることと合わせ、定性的な結果は少なくとも15 mIU/mlと同じ低さの濃度に対しても得られうる。下の図4に示す様に、より感度の高い結果は条件を僅かに変えることにより得られる。

## 【0096】

## (実施例3)

実験のこの組みの中で、ヒト血清中のB型肝炎表面抗体(HBsAg)レベルを測定した。0、15、50、100、200、400、800mIU/mlの相当する希釈液の測定は全ての試薬に対し並べたものに適合した条件を用いて行った。本発明に対応する方法と装置とWO 99/07879に明らかにされている装置と方法との間の感度を直接比較した。それらは、市販の比色アッセイと少なくとも同じ感度と信頼性のあるものである。本発明の新しい態様の有無でのシステムと方法について直接比較を得るために行った。

#### 【0097】

DYNABEADS(M450)( $4 \times 10^8$ )を実施例1でp24に使用したのと同じプロトコールに従って、850 $\mu$ lの反応容量の中でHBsAgの200 $\mu$ g(ヒトプラズマから得られたadサブタイプの100 $\mu$ gとayw組換え体HBsAgの100 $\mu$ g)で予め被膜した。平行して、マイクロ滴定プレートの実質上同じ表面も同様に被膜した。

#### 【0098】

マイクロビードとマイクロ滴定プレートウエルのセットは室温で2分間HBsAg血清サンプルの異なる溶解液でインキュベーションされる(第1インキュベーション)。2分後にサンプルを除去し、マイクロビードとマイクロ滴定プレートのウエルのセットを洗浄した。マイクロビードとマイクロ滴定プレートウエルは、それから抗ヒトガラクトシダーゼを2分間インキュベーションに供せられた。そして結合体は除去され、過剰の結合体は洗い出された。

#### 【0099】

サンプルの異なる希釈液に相当するマイクロビードは、センサー上のマイクロビードを捕捉することにより、基質溶液を添加することにより、また60秒以上にわたって電圧変化を測ることにより個別に測定された。図4は得られた結果をグラフで示したものである。

#### 【0100】

同様に、マイクロ滴定プレートで測られた組の対は、2分後に反応を止め、そして従来の方法で生じた電気化学定値を測定して評価された。図5は得られた結果をグラフで示したものである。

## 【0101】

図4と図5を比較すると判るように、本発明の方法と装置はこれらの条件の下で直線的な用量応答を示している。この応答は、抗HBsAgの800mIU/mlまでは直線的な用量応答であり、二つの不確実な標準偏差で低い200mIU/ml程度を検出できる。一方、従来法を用いて得られた結果では二つのサンプル間の統計的有意差が見られなかった。すなわち、これらの条件の下での従来法は、電気化学的に測定可能な投与依存の増加を示さないし、実際にこれらの条件の下での従来法は800mIU/ml以下の濃度で分析物を定性的に検出できなかった。

## 【0102】

この方法と装置の感度と信頼性は、特に室温で短い時間の第1および第2インキュベーションを用いて得られた結果により示されたように、期待した以上に大きかった。本発明の方法と装置のこれらの特徴は、これらがサンプルの速い安価な煩わしさの少ないアッセイを可能にするので価値がある。

## 【0103】

(実施例4)

本発明のシステムと方法の意外で価値のある性質を明らかにしたが、実験はその手順を最適にするために行った。この実験では、アッセイされるサンプルあたりの磁気ビードの濃度の効果を評価した。

## 【0104】

実験は通常、実施例2と同じように準備した。HBsAgの3濃度(100mIU/ml、500mIU/ml、2000mIU/ml)を有する血清サンプルを、実施例2で示したようにサンプルあたり800,000ビードまたは血清サンプルあたり5,000,000のいずれかを試験した。データは実施例2と同じようにして求め、図6にグラフとして示した。

## 【0105】

実験からのデータは、装置と方法の感度はサンプルの容量あたり磁気ビードの数を増加させることによりさらに大きく高められ得ることを示している。これは反応が起こる表面積を増加させれば、従来法以上に優れることを示している。図

6から判るように、100 mIU/mlの濃度は簡単に多量のビードを用いることにより検出する。より低い濃度は試験しなかったが、応答の直線性は15 mIU/mlと同じ低さの濃度でビードの数を増やすことで容易に得られた。

#### 【0106】

図7に示すように、発明の別の実施態様は、導管中に直線的に並べられた別々の溶液区分を形成することを含む。それぞれの溶液区分は、予め決められたポイントでキャリアー液中に、ガスバブルのようなセパレーターを挿入することにより仕切られる。この方法で、キャリアー液は溶液の区分に分割され、その各々は導管中で二つの対峙するガスバブルの間に形成またはサンドイッチされる。不活性な管などの導管は、地面に対し平行、地面に対し垂直、地面に対して斜めである。望ましくは、導管は地面に対し垂直に位置する。

#### 【0107】

各々の溶液区分は異なる組成の物質、例えばサンプルまたは結合体を含むものである。その場合、サンプル用液区分または結合体区分にそれぞれ限定される。少なくとも、溶液区分の一つは、被膜されたビード溶液区分に限定すべき認識分子を持つ誘引され得る被膜されたビードを含む。

#### 【0108】

操作の際、溶液区分は、蠕動ポンプまたはそれと同種類のものを通して、導管中を図7に見られるように左から右に規定時間外にも移動される。誘引装置は、例えば磁石、電磁石、またはそれと同種類のものであり、導管の周りに配置される。誘引装置は、それが作動した時、処理中/試験中の間に1以上の誘引され得るビードを誘引することが出来る。誘引装置はセンサーを、または以前に詳しく記述したようなIDAチップを含むことが望ましい。センサーは、導管を通して運ばれた後および/または個別の溶液区分の“コンベアーベルト”に供せられた後、操作および処理されたビードを測定することが出来る。

#### 【0109】

都合が良いことに、各々の溶液区分が導管内を運ばれる際、誘引装置の設置により、導管中の少なくとも幾つかの誘引され得るビードを選択的に保持することが出来る。この方法において、誘引されたビードはキャリアー液から効果的に分

離される。キャリアー液が導管を通して続けて流れるとき、直線的に配列された次の液体区分は一時的に制止されたビードを扱うことが出来る。例えば、もし次ぎの直線の溶液区分が洗浄溶液を含んでいると、一時的に制止されていたビードが洗浄される。同様に、もし洗浄溶液区分に先立つ溶液区分が基質/キャリアー液を含んでいると、浸されたおよび一時的に制止されていたビードは導管の中の基質/キャリアー液に供することが出来る。

#### 【0110】

当業者に明らかなように、そのような導管の配列は分かれている処理ステップを、アッセイにもよるが操作できるエンドレスの順序に実行するのを可能にする。溶液区分の望ましい直線的順序は、図7のイラストに示すように、左から右で次ぎのようなものである：基質/キャリアー液区分、結合体/キャリアー液区分、サンプル/キャリアー液区分、そしてビード区分である。最も望ましくは、洗浄溶液区分は四つの同定される物質を含む溶液区分のそれぞれから分離していることである。複数の誘引装置も改良された処理技術を容易にするためにうまく使用されることである。

#### 【0111】

要するに、本発明のこの実施態様の好ましい操作工程は、図7に示すように、以下のものである：(1)被膜されたビード溶液を可動の誘引装置を持つ最初の分離ステーションの移動させること；(2)被膜されたビード溶液区分の中の幾つかの被膜ビードを誘引するために誘引装置を動かすこと。そのような場合、幾つかの被膜ビードは最初の分離ステーションの中に一時的に制止されているし、キャリアー液から分離されている；(3)洗浄溶液区分を最初の分離ステーションに流し入れること；(4)サンプル/キャリアー液溶液区分を誘引されたビードの上から流すこと；(5)一時的に制止されているビードをサンプル用液区分に解放するために誘引装置を動かすこと；(6)サンプル/ビード混合物を最初の分離ステーションから可動な誘引装置を有する二番目の分離ステーションに流すこと；(7)幾つかの被膜されたビードが二番目の分離ステーションの中で一時的に制止されるように、幾つかの被膜されているビードを誘引されるために、二番目の誘引装置を動かすこと；(8)洗浄溶液区分を二番目の分離ステーション

に流すこと；(9) 結合体/キャリアー液溶液区分を誘引されたビードの上から流すこと；(10) 一時的に制止されているビードを結合体/キャリアー液溶液区分に解放するために、二番目の誘引装置を動かすこと；(11) 結合体/ビード混合物を二番目の分離ステーションから三番目の分離ステーションに流すこと。三番目の分離ステーションはセンサーを有し、三番目の可動な誘引装置を持つことが望ましい；(12) センサーの近くに幾つかのビードを、またはより特定なもの、即ち幾つかのビード/抗原/抗体/酵素複合体を誘引する三番目の可動な誘引装置で動かすこと；(13) 洗浄溶液区分を三番目の分離ステーションに流すこと(14) 基質/キャリアー液溶液区分を誘引されたビードの上に流すこと、そのビードは酵素の存在の下で、レドックス・リサイクルを示すことが出来るレポーター分子に分解していくこと、および(15) センサーで電気化学物質の存在と量を測定すること、そこではセンサーが電気化学物質のレドックス・リサイクルを起こしている。

#### 【0112】

このように、サンプル中の分析物を検出し、定量する装置および方法を開示した。本発明の実施態様および応用を示し、記述してきたが、多くの改良はこの中の創意に富む概念から外れることなく可能であることは明らかである。従って、本発明は、請求項の精神を外れて制限されるものではない。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、サンプル中の特定の分析物を検出および/または定量するための本発明の装置の概略図である。

【図2】 図2は、低、中、高レベルの抗p24を有する血清サンプルを本発明でアッセイしたときに測定された電流変化をグラフで図示したものである。

【図3】 図3は、サンプル中に含まれるHBsErgの調整濃度(mIU/ml)に対し、動的測定で得られた値(nA/s)の傾斜をグラフにプロットしたものである。

【図4】 図4は、本発明に従って電気化学的測定により得られた用量応答曲線を示したものである。

【図5】 図5は、本発明の磁気ビードと磁石を使用しない装置で電気化学

的測定により異なる濃度を測定したものである。

【図6】 図6は、サンプルあたり異なる数の磁気ビードを用いたアッセイ値を比較したものである。

【図7】 図7は、本発明に対応する方法と装置の流れ図を示したものである。

【図1】

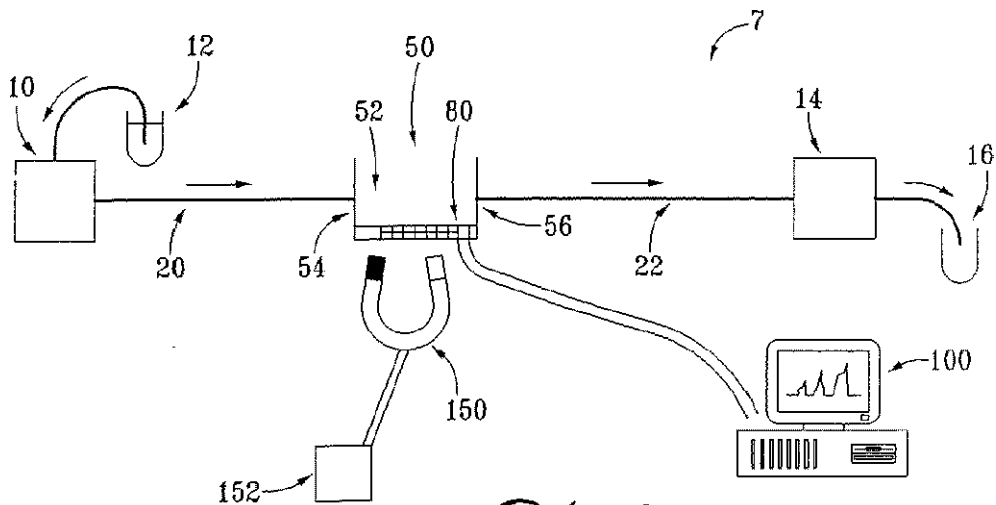


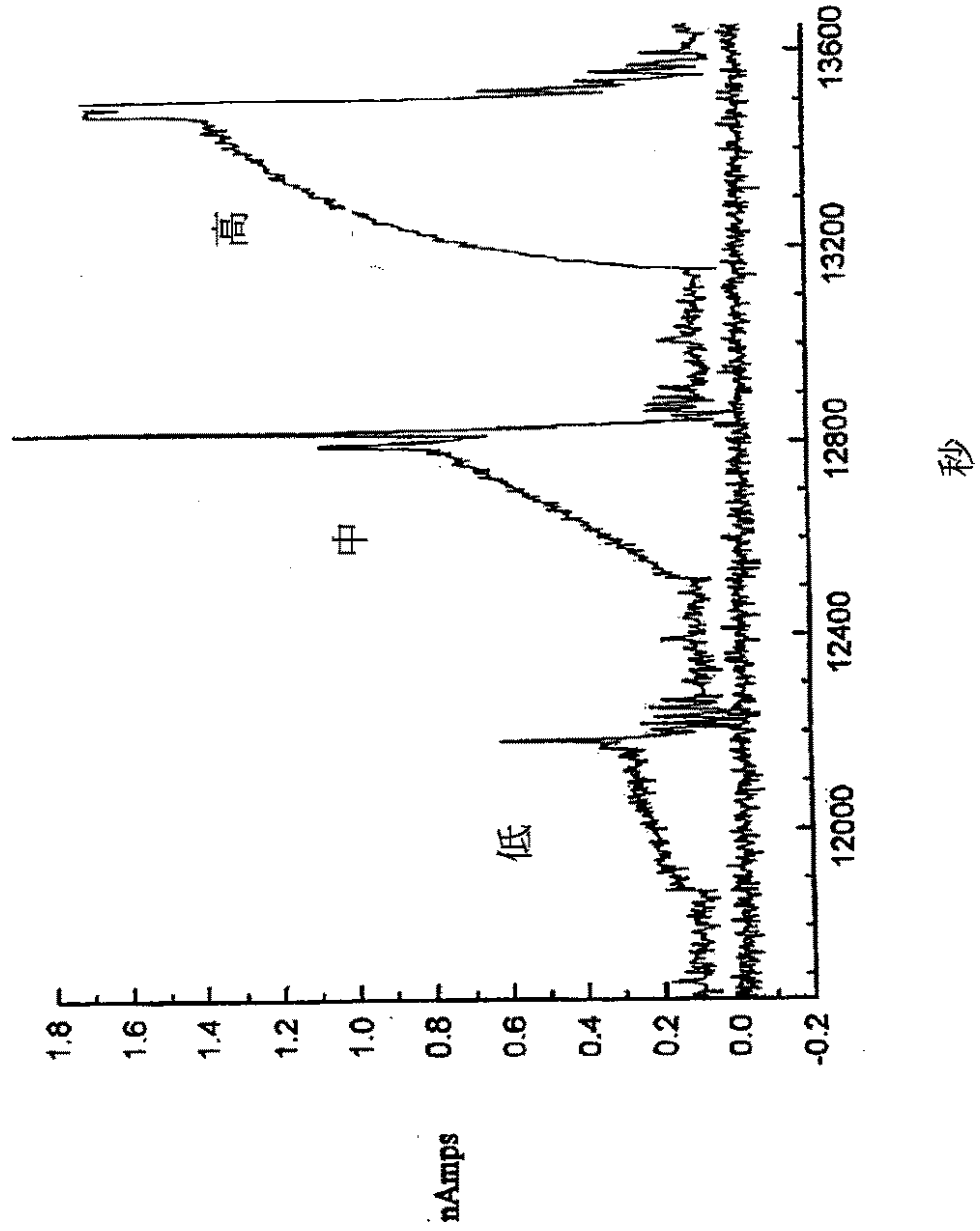
FIG. 1

【図2】

皮膚磁気ビード 1分間インキュベーション

270/122

Fig 2.



【図3】

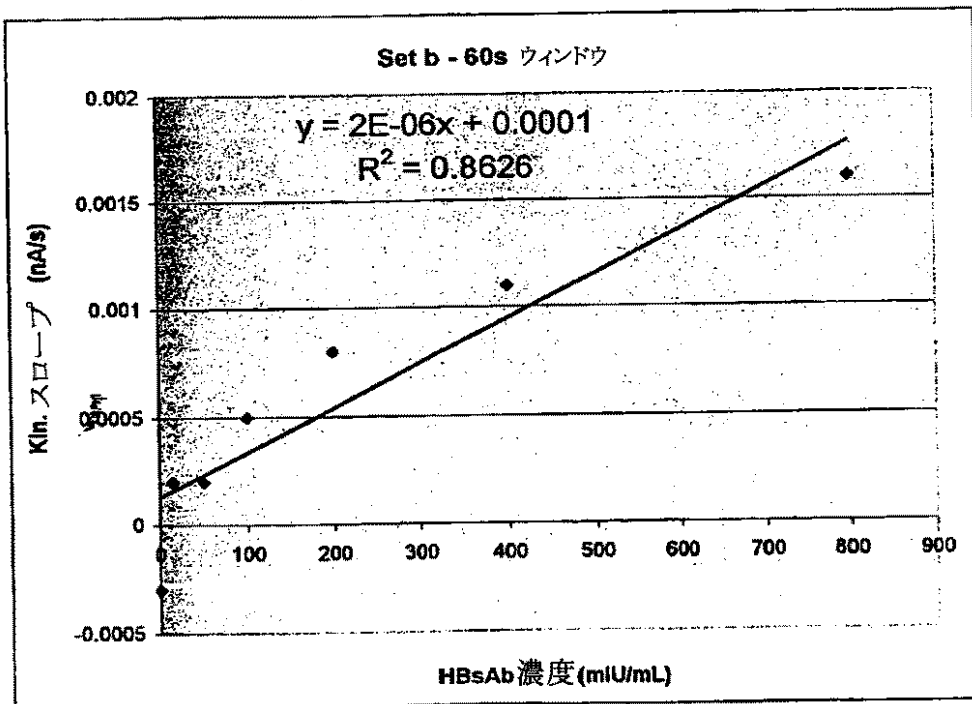
Fig 3.

試験 (mIU/mL)	+20から+80秒 ウィンドウ/スロープ (nA/sec)	曲線の+20秒までの スロープ (nA/sec)
----------------	-------------------------------------	--------------------------------

SENSITIVITY - TO 15 mIU/mL  
FOR QUALITATIVE RESULT.

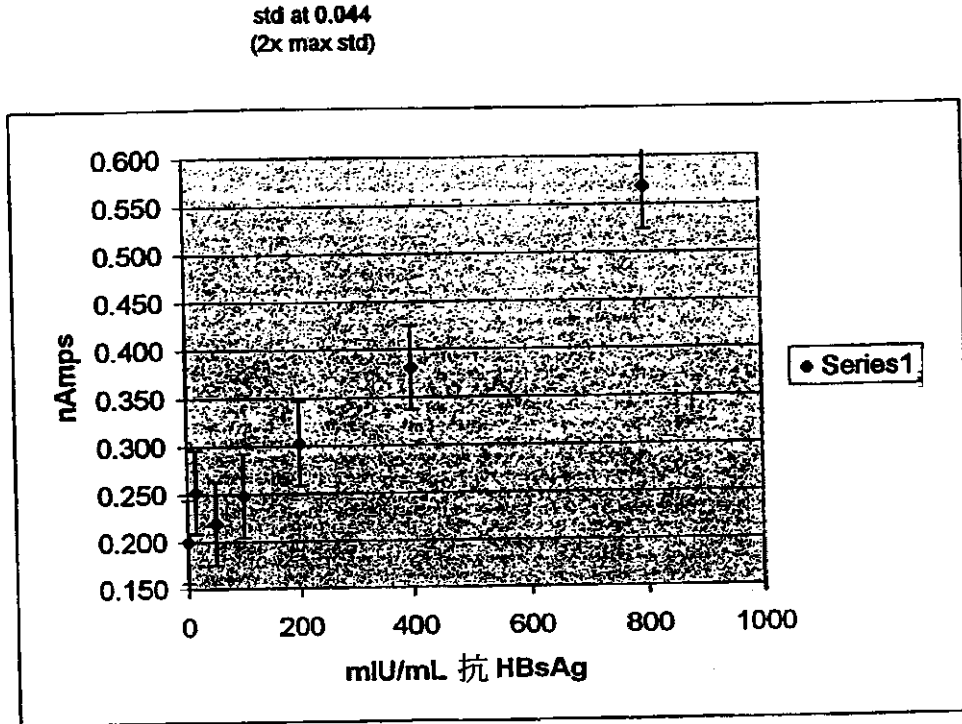
TO 50 mIU/mL FOR  
SEMI-QUANTITATIVE RESULT.

set b	0	-0.0003	na
	15	0.0002	0.0001
	50	0.0002	0.0002
	100	0.0005	0.0002
	200	0.0008	0.0004
	400	0.0011	0.0007
	800	0.0016	0.0012



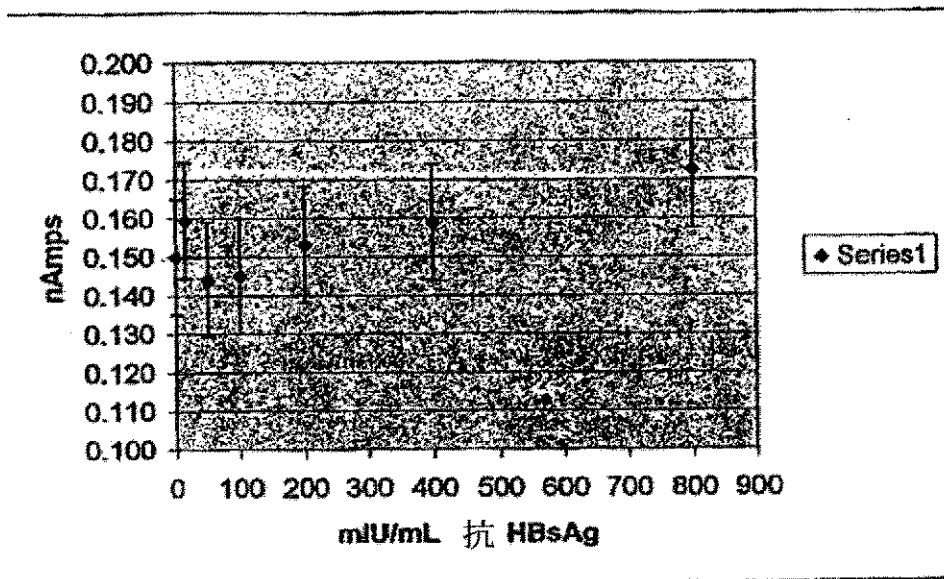
【图4】

Fig 4.



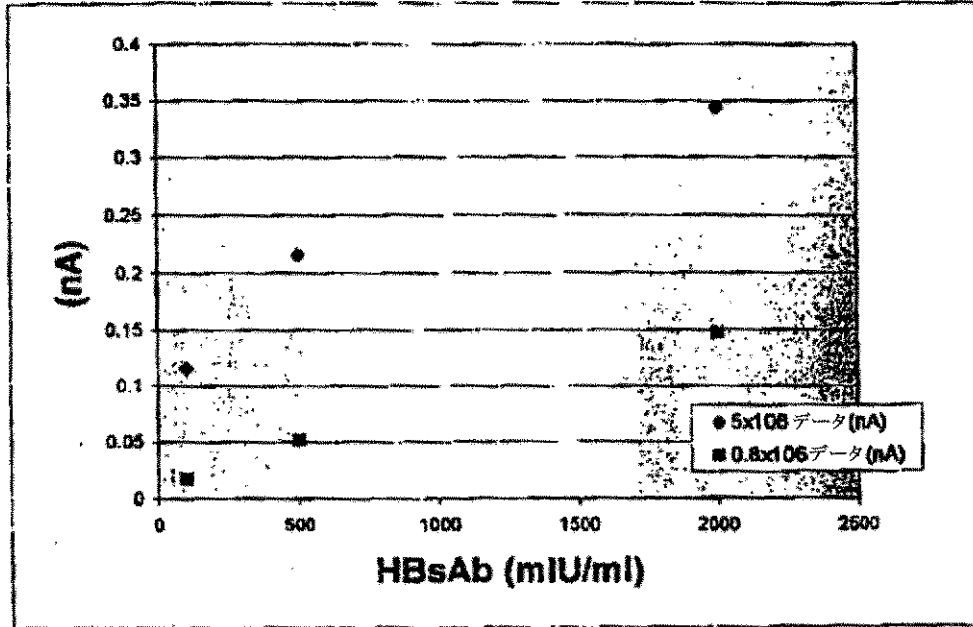
【图5】

STD | ERROR BARS @ 0.015



【図6】

HBsAb (mIU/ml)	$5 \times 10^6$ データ (nA)	$0.8 \times 10^6$ データ (nA)
2000	0.3439	0.1472
500	0.2158	0.052
100	0.116	0.0177





## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/US 00/03485
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N27/327 G01N33/543 C12Q1/00		
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		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, COMPENDEX, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, MEDLINE, INSPEC		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GEHRING A G ET AL: "Enzyme-linked immunomagnetic electrochemical detection of Salmonella typhimurium" JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, NL, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, vol. 195, no. 1, 9 September 1996 (1996-09-09), pages 15-25, XP004021249 ISSN: 0022-1759	1,4, 7-12, 14-22, 26,27
Y	page 16, column 1, paragraph 1 -page 16, column 2, paragraph 2 figure 2 --- -/--	24,25
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "S" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 5 July 2000		Date of mailing of the international search report 13/07/2000
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epe nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Muñoz, M

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 00/03485

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>O NIWA ET AL: "Small-volume voltammetric detection of 4-aminophenol with interdigitated array electrodes and its application to electrochemical enzyme immunoassay"  ANALYTICAL CHEMISTRY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLUMBUS,  vol. 65, no. 11,  1 January 1993 (1993-01-01), pages  1559-1563, XP002082750  ISSN: 0003-2700  abstract  page 1560, column 1, paragraph 2</p>	24,25
X	<p>WEETALL H H ET AL: "A SIMPLE INEXPENSIVE DISPOSABLE ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR CLINICAL AND IMMUNO-ASSAY"  BIOSENSORS,  vol. 3, no. 1, 1987, pages 57-64,  XP000922945  ISSN: 0265-928X  page 61, paragraph 2 -page 62, paragraph 1  figure 1</p>	1,4,7,8, 10,11, 14-20, 24-27
X	<p>SANTANDREU M ET AL: "Development of electrochemical immunosensing systems with renewable surfaces"  BIOSENSORS &amp; BIOELECTRONICS, 1 JAN. 1998,  ELSEVIER, UK,  vol. 13, no. 1, pages 7-17, XP000922856  ISSN: 0956-5663  page 11 -page 12  figure 4</p>	1,4,7, 10,11, 14-19, 26,27
X	<p>EP 0 859 229 A (GIST BROCADES BV)  19 August 1998 (1998-08-19)</p> <p>page 4, line 18 - line 28  page 4, line 49 - line 57  examples 4,5</p>	1,4,7,8, 10,11, 14-20, 26,27
X	<p>WO 86 05815 A (GENETICS INT INC)  9 October 1986 (1986-10-09)</p> <p>claim 21</p>	1,4,10, 11, 14-18, 26,27

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

information on patent family members

International Application No  
PCT/US 00/03485

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0859229 A	19-08-1998	AU 5301598 A	13-08-1998
WO 8605815 A	09-10-1986	AU 5667186 A	23-10-1986
		EP 0216844 A	08-04-1987

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-ト' (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 27/30	3 5 3 Z 3 5 3 R
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, 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, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		
Fターム(参考)	4B029 AA07 BB15 BB16 BB17 BB20 CC03 FA01 FA12 4B063 QA01 QA18 QQ41 QQ79 QQ94 QQ96 QR10 QR12 QR13 QR15 QR48 QR58 QS35 QS39 QX04		

专利名称(译)	酶结合免疫磁性电化学生物传感器		
公开(公告)号	<a href="#">JP2002536660A</a>	公开(公告)日	2002-10-29
申请号	JP2000598843	申请日	2000-02-10
[标]申请(专利权)人(译)	南加利福尼亚大学		
申请(专利权)人(译)	南加州大学		
[标]发明人	ロバートデイクフィー		
发明人	ロバート・ディ・マクフィー		
IPC分类号	G01N33/53 C12M1/34 C12Q1/34 C12Q1/42 C12Q1/44 G01N27/327 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/5438 G01N33/54333		
FI分类号	C12M1/34 C12Q1/34 C12Q1/42 C12Q1/44 G01N33/53.Z G01N27/30.353.Z G01N27/30.353.R		
F-TERM分类号	4B029/AA07 4B029/BB15 4B029/BB16 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/FA01 4B029/FA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ41 4B063/QQ79 4B063/QQ94 4B063/QQ96 4B063/QR10 4B063/QR12 4B063/QR13 4B063/QR15 4B063/QR48 4B063/QR58 4B063/QS35 4B063/QS39 4B063/QX04		
优先权	09/249532 1999-02-11 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

基于酶联磁夹心法的电化学生物传感器系统。在该测定中，附有磁体，这些磁体将磁珠吸引到电极的数字位置。磁性粒子带有可以与分析物结合的第一识别分子。进行夹心分析时添加底物。底物的选择使得底物在能够氧化还原循环的报告分子中被酶降解。降解时，底物优选是对氨基苯酚。

