

(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2016-507057
(P2016-507057A)

(43) 公表日 平成28年3月7日(2016.3.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/569 (2006.01)	GO 1 N 33/569	H 4 B O 2 9
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	M
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2015-556018 (P2015-556018)	(71) 出願人	515210651 プライベート インコーポレイティド アメリカ合衆国, カリフォルニア 946 19, オークランド, スカイライン プール バード 14001
(86) (22) 出願日	平成26年1月30日 (2014.1.30)	(74) 代理人	100099759 弁理士 青木 篤
(85) 翻訳文提出日	平成27年9月30日 (2015.9.30)	(74) 代理人	100077517 弁理士 石田 敬
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/000015	(74) 代理人	100087871 弁理士 福本 積
(87) 国際公開番号	W02014/120379	(74) 代理人	100087413 弁理士 古賀 哲次
(87) 国際公開日	平成26年8月7日 (2014.8.7)	(74) 代理人	100117019 弁理士 渡辺 陽一
(31) 優先権主張番号	61/759,395		
(32) 優先日	平成25年1月31日 (2013.1.31)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 検査デバイス

(57) 【要約】

本発明は、実体の存在について個体を検査するためのデバイスである。実体は、病原体、毒素または薬物であってもよい。デバイスは、個体から検査されるべき生物学的試料を回収するように適合される。検査デバイスは、実体を検出するために、貴金属ナノ粒子（すなわち、金、銀、又は銅）を含む。検査結果は、デバイスの窓から読み込まれる。凝集した貴金属ナノ粒子を用いた現在の視覚限界は、約50 nm～約75 nmの範囲の直径を有する塊である。実体の特異的な1つ以上のリガンドは、2つ以上の金属ナノ粒子に付着される。各個々のナノ粒子は、約15 nm～約35 nmの範囲の直径を有する。ナノ粒子に付着し、実体に特異的なリガンドは、例えば、抗体、抗体断片、オリゴヌクレオチド、およびアプタマーであり得る。実体上の異なる部位に特異的な種々のリガンドは、標的の存在下でナノ粒子の凝集潜在性を高めるために使用されてもよい。検査は、試料回収後、デバイス内で行われる。アッセイの結果は、速やかに使用可能である。検査することができる条件は、例えば、ウイルス感染、細菌感染、毒素への曝露、および薬物使

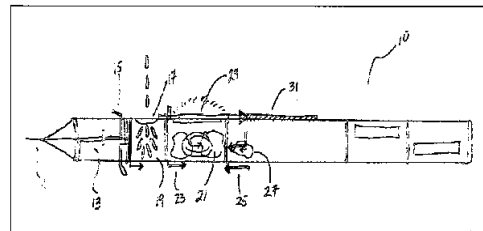


FIGURE 3

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者における病原体の存在を検査するための家庭用検査デバイスであって、生体物質の取り出し及び病原体についての該生体物質を検査するためのアッセイは単一デバイスで行われ、該デバイスは、生体物質を受けるためのユニットと、該物質中の生体分子を含む標的実体の存在について検査するためのチャンバーを含み、該生体分子の存在が該病原体の存在を確実にし、該チャンバーが生体分子を含む該標的実体の存在を検出することができるアッセイ分子を含む上記デバイス。

【請求項 2】

病原体が HIV である、請求項 1 に記載のデバイス。

10

【請求項 3】

生体分子を含む標的実体が HIV バイロンの成分である、請求項 1 に記載のデバイス。

【請求項 4】

アッセイ分子がナノ粒子である、請求項 1 に記載のデバイス。

【請求項 5】

ナノ粒子が貴金属ナノ粒子である、請求項 4 に記載のデバイス。

【請求項 6】

貴金属ナノ粒子が金である、請求項 5 に記載のデバイス。

【請求項 7】

チャンバーが、最近に感染した患者に存在する、ある量の HIV バイロン中の生体分子を含む十分な標的実体を検出するのに十分なアッセイ分子を含む、請求項 1 に記載のデバイス。

20

【請求項 8】

患者が、家庭用検査デバイスを用いて、家庭内検査を行う前の約 30 日以下に感染している、請求項 7 に記載のデバイス。

【請求項 9】

デバイスが、患者から採取した該生体物質中の数個の HIV バイロンに存在する複数の生体分子を含む複数の標的実体を検出することができる、請求項 7 に記載のデバイス。

【請求項 10】

患者からの生体分子を取り出した後、別の個体による生体分子の汚染を防ぐために安全閉鎖具をさらに含む、請求項 9 に記載のデバイス。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野は、生体試料における標的実体を回収し、検査し、及び検出を報告するデバイスである。

【背景技術】

【0002】

生体試料中の病原因子、毒素、および薬物の検出は、継続的に改善され、取り除かれる。家庭用検査キットは、妊娠及び性感染症 (STD) を含む、広範囲の状態を検査するために販売されている。多くの場合、家庭用検査から学んだ知識は、治療目的のために価値があり、他への感染性因子の感染のリスクを軽減するために価値がある。

40

【0003】

多数のウイルス、細菌、および病原体が存在するが、そのための簡単な検査方法はない。感染性因子との接触が疑われ、または感染の徴候がある個人は、医療施設で医療従事者からの診断を試みることが要求される。いくつかの状態である、特に HIV および他のウイルス感染では、標準的な検査様式は、早期発見を排除し、HIV の場合には、体液及び個体における HIV に対する抗体の存在について検査することは、感染が疑われる日後の約 6 ヶ月まで待たなければならない。したがって、個人は、多くの場合、待機中の要求に起因して、おそらくは検査が医療施設で行わなければならないという経費に起因して、診

50

断を求めることから落胆する。ほとんどのこれらの状態では、接触または感染後、迅速な治療が治療成功の可能性を増加させる。感染状態では、迅速な診断と治療が、他への状態の広がりを減らすことができる。

【0004】

具体的には、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染の検出は、予防と治療戦略の両方に重要である。しかしながら、パンデミックの開始から30年後でさえ、HIV感染に検査に利用できる実験室ツールは不完全であり、非常に少数の個人が、最近の感染後に診断及び治療を受ける。毎年、世界中で3340万人を超える人々が、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）を被り、一方、200万人が、後天性免疫不全症候群（AIDS）への進行により死亡している。発展途上国における600万人が、抗レトロウイルス治療が緊急に必要な

10

【0005】

生体試料中の検出可能な生物学的実体を検査する方法は、多数のグループによって探索されている。多くの研究グループが、主に、医療専門家が医療施設で使用するために、実験室および大規模な診断的使用に関する既存の技術の能力の最適化と増加に焦点を当てている。

【0006】

HIVを含むウイルス感染症に関して、いくつかのグループは、家庭用スクリーニング検査用の抗体検出を用いるキットを開発しているが、これらのキットは、抗体が、感染した個体に出現するために、約6ヶ月の待機期間が必要である。検出アッセイのための標的として、感染性因子に特異的な抗体を用いるという欠点は、ヒト生体は、感染から約4~6カ月後にのみ、多数の感染性因子に対する抗体を提示することである。したがって、感染性因子に特異的な抗体の検出は、個体が、感染後の少なくとも4~6ヶ月間は不可能である。状態は、それが早期に感染症を検出することが極めて望ましいであろう幼児では特に深刻である。幼児は、感染後の約1年まで、病原性の感染性因子に対する抗体を作製しない。

20

【0007】

病原性因子の早期発見は、早期治療と他へのそれらの因子の感染の減少の両方を容易にするために役立つ。ウイルス、および細菌性因子、毒素及び薬物を含むすべての病原因子の早期検出方法を提供することは、医学界において大きな利点になる。

30

【発明の概要】

【0008】

本発明は、生物学的試料中の標的実体の存在を検査する機会を個体に提供する、検査デバイス、キット、アッセイ及び方法である。検査デバイスは、個体から回収した生物学的試料を含むように適合される。検査デバイスは、目的の標的実体を検出するために、回収した生物学的試料をアッセイするための試薬を含む。アッセイは、検査デバイス上又は検査デバイス中の結果ウィンドウから視覚的に報告されるナノ粒子に基づく比色アッセイである。結果は、例えば、比色的または定量的であってもよい。アッセイが行われ、生物学的試料を採取した後に結果がすぐに報告される。感染症に関して、検査デバイスは、デバイスが、他を感染し得る生きた感染性実体を運搬しないように、中和作用を有することができる。

40

【0009】

アッセイは、生物学的試料中の標的実体を検出するための比色ナノ粒子のアプローチを採用する。アッセイを行う方法は、個体から生物学的試料を回収する工程を含む。試料を回収し、検査デバイス内のチャンパーに含有する。また、検査デバイス内に、比色ナノ粒子に基づく検出アッセイを行うために必要な試薬がある。使用することができる試薬は、それらの表面に結合させたりガンドを有する、複数の貴金属ナノ粒子を含む。リガンドは、試験される生物学的試料中の、標的実体、または標的実体の成分への結合に特異的である。試薬はまた、アッセイを行うための溶液および緩衝液、1つ以上のクラウディング剤

50

、必要に応じて、対照アッセイを形成するための試薬、および比色ナノ粒子に基づく検出アッセイを行うために必要な他の試薬を含む。生物学的試料を回収した後、回収チャンパーを閉じてよい。試料は、例えば、全血の他の成分から血漿を分離することによって、薬剤と混合する前に調製することができる。調製された試料は、デバイスにおける分析チャンパー内の試薬と直接混合することができる。分析が完了したとき、アッセイの結果は、デバイス上の結果ウィンドウに示される。比色アッセイは、肉眼で読まれる。結果を表示するためのオプションは、結果ウィンドウ内の色又は色変化を提示することを含む。定量は、色の強度、または色相の観点で測定することができ、所望であれば、数値読み出しをデジタル化することができる。比色アッセイの色は、例えば、センサーを用いて、数量若しくは色、又はそれらの両方として「読み取る」ことができる。定量化は、光の波長と強度の点の両方で、吸収された光又は反射された光を測定することを含むことができ、または標的実体に結合したナノ粒子の量を測定することを含むことができる。

10

【0010】

デバイスは、個人に、医療専門家の援助なしに、該方法のすべてのステップを行う機会を提供するように設計されている。したがって、個人は、試料を自身で回収し、検査デバイスに開口を有するチャンパーに該試料を入れ、チャンパーを密閉し、デバイス上及びデバイス中の成分を操作して、検出アッセイ用の試薬を含む溶液に試料を接触させ、デバイスのウィンドウ中の色、又はデジタル化された値若しくは定量値として表示された結果を読むことができる。アッセイの結果はまた、デジタル化された場合には、スマートフォンまたは他のスマートデバイスに通知することができる。デバイス及びキット成分の使用説明書は、デバイスと他の成分を含むボックスに含めることができる。説明書は、デバイスの結果ウィンドウに提示された色、又は標的実体の検出を示す数値をどのように解釈すべきかなどの詳細を記述する。一般的に、試料は、（例えば、金粒子が使用される場合には青色を示すように）特定の色がウィンドウに示される場合、標的実体について陽性であるとみなされる。数値とそれらの意味は、校正によって画定され、使用説明書に記載される。

20

【0011】

本発明の検査デバイス、キット、アッセイおよび方法は、全ての種類の病原体を検出するために用いることができ、ウイルス剤と細菌剤および毒素と薬物を含む。生物学的試料において検出可能な病原因子のすべての標的実体は、本明細書に記載される検査デバイス、キット及びアッセイの設計の基礎を形成することができる。標的実体から標的実体への変化するデバイスと発明の要素は、標的実体の性質、その実体を検出するために使用されるリガンド、その標的実体がアッセイされる生物学的流体又は組織、個人が生物学的試料を回収することができる、疑われた感染又は接触後の最適な時間、並びに検出される標的実体に固有の他の特異な詳細を取り扱わなければならない。

30

【0012】

比色検出アッセイは、少なくともナノ粒子の直径と同じくらいに近い、凝集する貴金属ナノ粒子が、結合していないナノ粒子、同一の大きさと材料の非凝集ナノ粒子とは異なるプラズモン共鳴周波数で共振するという原理に基づいている。したがって、標的実体（又は標的実体の成分）の結合に特異的なリガンドでタグ化されたナノ粒子を用いることにより、標的実体の検出を促進することができる。ナノ粒子コンジュゲートは、近接して一緒にになり、塊を形成する際に、色ずれが溶液中で起こる。色ずれは、試料中の標的実体の存在を示す。互いに近接したナノ粒子は、非凝集金属ナノ粒子が反映されることと比較して、可視光の異なる周波数を反映する。色ずれがない場合、金属ナノ粒子リガンドコンジュゲートは、任意の標的に結合していないままであり、従って、生物学的試料は標的実体について陰性である。

40

【0013】

個体から回収した生物学的試料は、流体又は非流体であり得る。典型的には、試料の回収は、検査デバイスにおける開口を有するリザーバーに、少量の個体の体液を入れることを伴う。個体から回収した体液は、例えば、血液、リンパ液、唾液、または尿であっても

50

よい。試料はまた、非流体材料、例えば、粘性または固体の材料であり得る。個人によって回収可能な非流体材料としては、例えば、皮膚、開放創からの組織、かさぶた、膿、毛髪、分泌物、粘液、または排泄物が挙げることができる。回収量は、アッセイを行うために必要な量であり、また、合理的に回収可能な量である。標的実体は、個体から回収した生物学的試料中に見出され、生物学的試料は、血液、精液、膣分泌物、母乳、羊水、またはリンパ液から選択することができる。生物学的試料中に見出される標的実体は、例えば、細胞、タンパク質、ペプチド、ホルモン、核酸、ウイルス、細菌、有機分子、タンパク質、ペプチド、核酸、脂質、脂肪酸、炭水化物、薬物、ホルモン、細胞、元素、毒素、化学物質、代謝物、または前述のいずれかの項目の2以上を含む複合体であってもよい。

【0014】

したがって、例えば、HIV感染の場合、HIVの非常に低いレベルは、感染から7～10日後の血液中に、50 μ lの血液あたり1HIVパイロンのオーダーで存在する場合がある。したがって、50 μ lの血液が回収される。血液の1滴の体積は、液滴の大きさに依存し、どこかで20 μ l～50 μ lであることが報告されている。血液の2滴がデバイスに回収された場合、回収された体積は、約40～約100 μ lの範囲である。異なる検査状況と異なる条件は、多かれ少なかれ生物学的試料の流体と質量が必要な場合がある。

【0015】

個体から回収した生物学的試料を検査するためのキットは、試料回収、検査、および検査結果を表示するための成分を有する検査デバイスを含むことができる。検査成分は、検出アッセイを行い、標的実体に特異的なリガンドに結合した、複数の貴金属ナノ粒子を含むための試薬を有する溶液を含むことができる。キットはまた、通常、使用するためのキット内容物用の容器と説明書を含む。検査デバイスは、個体からの生物学的試料を回収するためのチャンパーと、アッセイを行うための試薬が予め充填されたチャンパーを含むことができる。また、検査デバイスはまた、個人が検査結果を読み取ることができるウィンドウを含む。検査デバイスは、定量化を含むことができる。感染性病原体の場合、検査デバイスは、さらに、生きた病原体を中和又は不活性化し、試料回収の完了後に接触からそれを分離するためのシステム、試薬又は機械的特徴を含んでもよい。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】図1は、HIVパイロンのボンチ絵である。

【図2】図2は、時間対検出可能なHIVサブパートのチャートである。

【図3】図3は、検査デバイスの模式図である。

【発明を実施するための形態】

【0017】

検査デバイス、アッセイおよびキットは、個体から採取した試料中の実体を検出するためのものである。試験アッセイは、試験されるべき生物学的試料を提供する個体によって自己投与され得て、試料を回収若しくは調製するための実験室を必要とせず、又は検査結果を読み、及び解釈するための臨床医を必要としない。HIV検査に関して、検出アッセイの感受性は、疑われた接触後の5日以内にウイルスについて個体をする機会を提供する。

【0018】

本発明の検査デバイス、検査キット、アッセイおよび方法は、溶液ベースの貴金属ナノ粒子比色検出の使用を含む。ナノ粒子は、対象実体に特異的なリガンドに結合している。リガンドは、標的実体、または標的実体の成分に特異的であり得て、異なる特異性を有する、同一または異なるリガンドにコンジュゲートしたナノ粒子が存在してもよい。特定のアッセイのためのリガンドの設計では、目標は、複数のナノ粒子が（それらのコンジュゲートしたリガンドを介して）標的実体またはその成分に結合したときに発生する標的実体の存在下でナノ粒子の凝集を促進することである。金属ナノ粒子の凝集は、溶液において色ずれを生じ、例えば、金ナノ粒子を用いた場合、溶液は、非凝集粒子を有する溶液では

10

20

30

40

50

赤色であり、ナノ粒子が凝集したときは青色である。

【0019】

例えば、直径にして約10nm~約30nmの範囲の均一なサイズを有する金ナノ粒子の溶液は、いずれか1つのナノ粒子のいずれか1つの直径よりも大きな距離で溶液中で離間し、肉眼で赤色になる。溶液中のこれらのナノ粒子が強制的に凝集し、各ナノ粒子はが、1つ以上の他のナノ粒子に対するいずれか1つのナノ粒子の直径よりも近い場合に、他のナノ粒子と塊を形成するとき、溶液は青色に変化する。さらに、赤から青への色の変化の間に、塊の量を示す紫の色合いが、ある場合には観察することができる

【0020】

本発明のためのアッセイは、貴金属ナノ粒子と、溶液中及び凝集体としての貴金属ナノ粒子に適用するプラズモン共鳴の原理を用いて行われる。この技術を報告している最初のグループの1つについては、“Selective Colorimetric Detection of Polynucleotides Based on the Distance-Dependent Optical Properties of Gold Nanoparticles” Robert Elghanian, James J. Storhoff, Robert C. Mucic, Robert L. Letsinger, Chad A. Mirkin, Science 277, 1078 (1997); DOI: 10.1126/science.277.5329.1078を参照されたい。Mirkinは、メルカプトアルキルオリゴヌクレオチド修飾した金ナノ粒子プローブに基づく選択性の高い、比色ポリヌクレオチドの検出方法を報告している。最適化されていないシステムは、約10フェムトモルのオリゴヌクレオチドを検出することができる。アッセイを実施するための材料、試薬及び条件、並びに他の技術的詳細に関する更なる技術的詳細については、Chem. Rev. 2005, 105, 1547-1562 1547 “Nanostructures in Biodiagnostics” . Nathaniel L. Rosi and Chad A. Mirkinを参照されたい。Mirkinは、非常に特異的な金属配位を可能にするリガンド設計の継続的な改善が、ナノ構造化されたプローブを実装する、より選択的な金属イオン検出アッセイをもたらすと結論付けている。“Nanostructures in Biodiagnostics” Chemical Reviews, 2005, Vol. 105, No. 4 1555を参照されたい。Mirkinの参考文献は、全体として参照により本明細書に組み込まれる。

【0021】

溶液ベースのナノ粒子アッセイは、比色ナノ粒子のアプローチを使用し、測定可能な変化とナノ粒子表面プラズモン吸収バンドのシフトをもたらす、分析物が誘導された凝集事象を利用する。比色検出フォーマットの単純さは、多種多様の分析物を検出するため一般的な方法として、その使用に対して指摘された。Haes, A. J.; Van Duyne, R. P. J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 10596、及びRi boh, J. C; Haes, A. J.; McFarland, A. D.; Yonzon, C. R.; Van Duyne, R. P. J. Phys. Chem. B 2003, 107, 1772を参照されたい。Luiおよび共同研究者らは、100nM程度に低い濃度で、水性媒体中のPb(II)イオンと鉛含有の塗料試料を検出するための、オリゴヌクレオチドが会合したナノ粒子ネットワークを実施することによって、毒素について比色検出の例を提供した。Liu, J.; Lu, Y. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 6642を参照されたい。Luiのグループはまた、メルカプトカルボン酸などの適切に設計されたキレート基で官能化されたナノ粒子の凝集を誘導することによって検出された水銀毒素を使用した。金属イオンは、異なる金ナノ粒子のカルボキシレート部分を架橋し、赤から青への同時コロイド色の変化を生じさせた。Liu, J.; Lu, Y. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 6642を参照されたい。Van Duyne及びLuiの参考文献は、全体として参照により組み込まれる。

【0022】

10

20

30

40

50

貴金属ナノ粒子は、貴金属粒子のサイズに応じて可視光の吸収周波数の変化を決定するプラズモン共鳴の原理に基づいて、生物学的試料中の実体を検出するために使用されている。例えば、直径が約30nm未満の金ナノ粒子は、溶液中で赤く見える。粒子サイズが60nmを超えて増加すると、凝集体は、溶液の色を赤から青にシフトさせる。赤と青の間のシフトは、凝集しているナノ粒子の成長しているサイズに関連して、紫色の勾配が観察し得る。本発明は、貴金属ナノ粒子（即ち、金、銀又は銅）に、標的実体に特異的なリガンドを結合させることによって形成される分析物を使用する。例えば、溶液中の金ナノ粒子は、それぞれ約20~30nmの直径を有し、溶液中で赤色を示す。標的に特異的なリガンドでタグ化されたナノ粒子は、標的が検査されるべき生物学的試料に存在する場合、標的の周囲に凝集し、標的に特異的なリガンドがコンジュゲートしたナノ粒子全ての凝集体を形成する。サイズ範囲が約20nm~約30nmである2つ、3つ、またはそれを超えるナノ粒子の凝集体は、60nmよりも大きな塊を形成する。次に、金ナノ粒子のプラズモン共鳴は、反射された可視光の波長を青色にシフトさせ、溶液は肉眼で青色に見える。

10

20

30

40

50

【0023】

検査デバイスおよびアッセイの設計における具体的な考察事項は、ハイブリダイゼーションのシグナルが、高分子凝集体内のナノ粒子の間隔に部分的に依存する、ナノ粒子の光学的特性によって支配されるという事実などの詳細を含む。平均粒径よりも実質的に大きい粒子間距離を有するナノ粒子凝集体は赤色を示すが、これらの凝集体における粒子間距離は、およそ平均粒径未満に減少させるため、色は青になる。金の表面プラズモン共鳴（AU）に起因するこのシフトは、凝集体構造へのナノ粒子を編成するためのオリゴヌクレオチドと非オリゴヌクレオチドに基づく戦略で観察され、理論的に研究されている。直径が13nmである金粒子が使用され、これは、それらが、サイズの狂いが僅か（2nm）であり、容易に調製され得て、鋭いプラズモン吸収帯（波長520nmで最大吸光度）を示すためである。

【0024】

したがって、本発明のアッセイの要素と考察事項には、ナノ粒子の大きさや量、ナノ粒子の形状、ナノ粒子にコンジュゲートしたリガンドの性質と特徴、リガンドに対する標的結合パートナー、標的上の同一又は異なった部位への複数のナノ粒子の結合における立体的な考察事項、並びに検査デバイスのアッセイチャンバー内に回収された生物学的試料の体積及び質量を用いたアッセイを行うための実施可能性が含まれる。

【0025】

アッセイは、個体からの流体または非流体物質を含む試料を含む。試料は、流体であってもよく、流体は、血液、リンパ液、精液、腔液、母乳、唾液、尿、脳脊髄液、胸膜液、心膜流体、羊水、滑液、及び間質液から選択することができる。

【0026】

生物学的試料中で検出することができる病原因子は、例えば、ウイルスまたは細菌因子である。他のウイルス感染因子としては、例えば、インフルエンザ、肝炎、ヘルペス、パピローマ、アデノ随伴ウイルス、フラビウイルス、デング熱ウイルス、日本脳炎ウイルス、T細胞リンパ球向性ウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）、エプスタイン-バーウイルス、レオウイルス、ワクシニアウイルス、パルボウイルス、ネコ白血病ウイルス、カリフラワーモザイクウイルス、トマトブッシュスタントウイルスなど、並びに他のウイルスによって引き起こされまたはウイルスに関連した感染症が挙げられる。すべてのタイプの細菌感染を検出することができ、例えば、大腸菌感染、ウイルス感染後に発症することがあり、敗血症、破傷風、及び他の一般的な細菌又はあまり一般的でない細菌が挙げられ、ウイルス感染後に発症し得る二次感染が含まれる。さらに、本発明の検査デバイスおよびアッセイにおける標的実体の基礎とすることができる検出可能なマーカーを有する状態を検出することができる。このような状態には、例えば、変性疾患、アルツハイマー病および他の神経変性疾患、及び筋肉変性が関与する疾患、癌、および再狭窄などの増殖状態、例えば、自己免疫疾患、過敏性障害、及びアレルギーなどの炎症状態、糖尿病、及び

消火器疾患などの代謝状態、検出可能なマーカーを出現させる遺伝的状态が含まれ得る。生物学的病原体に加えて、本発明は、環境曝露からの毒素などの毒素、及び性能向上する薬物などの薬物を検出することができる。一般に、感染又は状態のためのマーカーとして、及びリガンドが、標的実体を検出するための基礎として開発及び使用され得るマーカーとして役立つ標的実体を有する任意の状態は、特定の検査デバイス、キット、アッセイ及び方法の基礎となり得る。

【0027】

個体は、検査されるべき状態に陽性である場合、標的実体は、個体から回収した生物学的試料中に存在する。このような標的実体は、例えば、状態のマーカーであってもよく、またはそれらは、求められる実際の毒素、薬物若しくは病原体であってもよい。したがって、標的実体（又は標的実体の成分）は、例えば、核酸、リボ核酸、ポリペプチド、炭水化物、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、アミノ酸、ホルモン、ステロイド、ビタミン、イオン、代謝産物、誘導體、類似体、多糖類、脂質、リボ多糖、糖タンパク質、リポタンパク質、核タンパク質、オリゴヌクレオチド、抗体、免疫グロブリン、凝固因子、ペプチドホルモン、タンパク質ホルモン、非ペプチドホルモン、インターロイキン、インターフェロン、サイトカイン、細胞、細胞表面分子、微生物、有機小分子、バイロン、細菌、毒素、薬物、細胞、細胞膜、膜画分、タンパク質複合体、抗原、ハプテン、受容体、巨大分子、または分子複合体であってもよい。

10

【0028】

他の標的実体はまた、アッセイで使用することも可能である。したがって、アッセイによる標的実体は、生物学的試料に見出され、求められる状態のマーカーとして考察されるに任意の実体であり得る。標的実体は、生物学的試料内に見出される1つ以上の分子、ペプチド、オリゴヌクレオチド、小分子、要素および他の実体であってもよく、貴金属ナノ粒子にコンジュゲートさせ得るリガンドが存在する。

20

【0029】

リガンドは、既知の結合技術を用いて、貴金属ナノ粒子にコンジュゲートされる。リガンドは、標的実体または標的実体の成分に結合する。標的実体の特定の結合部位または成分は、状態から状態に変化し得て、慎重に選択する必要がある。標的実体又は標的実体の成分の選択における考察事項は、タイミングを含むことができる：例えば、病原体または感染のライフサイクルにおいて、その標的実体が個体にいつ存在するかという質問を尋ねることができる。考察はまた場所を含むことができる：例えば、個体において、標的実体が見出され、検査デバイスに回収され得る生体試料の種類においてどこに存在するのかという質問を尋ねることができる。標的実体または標的実体の成分に特異的なリガンドは、例えば、抗体、抗原、受容体、アダプター、タンパク質、ポリペプチド、小分子、核酸、または標的実体又は標的実体の成分に結合することができる任意の結合実体であってもよい。リガンドは、標的上の結合メンバーと結合対を形成することができ、例えば、結合対は、抗原と抗体の特異的な対、ピオチンとアビジン対、炭水化物とレクチン対、相補的ヌクレオチド配列、相補的ペプチド配列、エフェクターと受容体分子、酵素補因子と酵素、または酵素阻害剤と酵素であってもよい。多くの異なるリガンドと結合対は、単一のアッセイにおいて標的を検出するために使用することができる。貴金属ナノ粒子にコンジュゲートされ、標的実体に結合するように設計された特異的なリガンド又は結合メンバーは、列挙された標的実体又は標的実体の成分のいずれかの結合及び検出に特異的なリガンドを含むことができ、また、遺伝子、コード配列、コドン、非コード配列、ミトコンドリアDNA、ウイルスRNA、ウイルスDNA、細菌DNA、真菌DNA、哺乳動物DNA、cDNA、mRNA、RNA断片、DNA断片、オリゴヌクレオチド、合成オリゴヌクレオチド、修飾オリゴヌクレオチド、一本鎖核酸、二本鎖核酸、相補的ヌクレオチド配列は、分枝DNA、核酸をコピーするための成分、アンプリコン、天然の核酸、合成核酸、転写因子、リガーゼ、酵素、及びこれらのいずれかのサブユニットが含まれる。

30

40

【0030】

検査デバイスから検査デバイスへ、及びアッセイからアッセイへ変更してもよい本発明

50

の態様は、本質的には、検出されるべき標的実体の性質によって特徴付けられ、以下：標的実体、標的実体に結合するリガンド、及びリガンドが結合し得る標的実体上の結合部位が挙げられる。

【0031】

他の考察事項は、標的実体に対して高親和性で結合するかどうか、及びその結合プロセスに何らかの立体障害又は結合競合問題が存在するかどうかを含むことができる。また、ナノ粒子にコンジュゲートされるリガンドの設計において、リガンドが、ナノ粒子が互いに近接するようになるように促進する方法で標的実体に結合し得るかかどうかという問題が懸念され、そのため、色ずれは、標的実体の存在に起こる。最後に、標的実体又は標的実体の異なる成分に結合する1を超える種類のリガンドが選択される場合、これらのリガンドは、アッセイにおいて所望の色ずれをもたらすように相乗作用するかどうかという質問が尋ねられる。

10

【0032】

金属ナノ粒子のサイズ、形状、および組成物は、材料を多重分析物の検出のために適したものに特定の放射、吸収、及び光散乱特性を有する材料を製造するように系統的に変えることができる；ナノワイヤー及びナノチューブの組成物はまた調節され得て、このようにして、標的の存在におけるそれらの導電特性を測定し、変化させることができる。金及び銀のナノ構造のプラズモン特性は、特定の生物学的用途のために設計されたナノ構造を可能にするために、それらのサイズ、形状、組成、及び媒体を介して金属ナノ粒子のプラズモン共鳴特性の独特な調整可能性を含む。ナノロッド、ナノシェル、およびナノ粒子の対を含む、既知のナノ構造体形状は、劇的に強化された、調整可能なプラズモン共鳴を示すことができ、それらを、検出および診断などのバイオ用途に非常に適したものにす。ナノ構造体形状（例えば、ナノプリズム、ナノロッド、またはナノシェル）を調整することは、生物学的試料と標的実体への局在化された表面プラズモン共鳴（LSPR）の感度を向上させる別の手段である。金属ナノ粒子対またはアセンブリーは、電界結合の結果として、距離に依存したプラズモン共鳴を示す。ユニバーサルスケリングモデルは、粒子サイズの点で粒子間距離にプラズモン共鳴周波数を関連付け、生物学的システム内の状態の診断に潜在的に有用となる。

20

【0033】

本明細書で提供される貴金属ナノ構造体の用途としては、プラズモンナノ材料が大きな範囲、汎用性、およびそれらの光学属性の体系的調整可能性を示すため、生物学および医学の他の領域に容易に一般化することができる。最近、ナノ構造化された材料の進歩によって大いに影響を受けている分野は、生物学、生物物理学、および医学である。ナノバイオロジーのツールキットは、貴金属ナノ構造によって強化され、これは、生物物理学的研究、貴金属ナノ構造の光学的特性を含むバイオ用途の範囲のために非常に多用途であり、調整可能な材料であることが証明され、それらのバイオ用途における細菌の研究進歩を検討している。

30

【0034】

金属ナノ粒子は、分子特異性を達成するための小分子または生体分子標的または認識リガンドとコンジュゲートさせることができる。各金属ナノ粒子は、最大百万個の色素分子に同等の光プローブと考えることができる。これは、プロービング感度を向上させるための大きなマージンを提供する。色素とは異なり、金属ナノ粒子は、光安定であり、光退色を受けず、より高い光励起エネルギー及びより長期のプロービング時間を可能にする。LSPRに関連した、ある範囲の拡張した放射と非放射性の属性がある。光学プロービング戦略は、このようにして、特定の生物学的用途に応じて選択することができる。別のストラテジーを組み合わせてもよい。LSPRの別の固有な特性は、それが、バイオ用途に適合するために、ナノ構造のサイズ、形状、組成、又は環境を変えることによって調整することができるということである。10nmのサイズ範囲の金ナノ粒子は、水中で約520nmに強い吸収極大を有する。これは、銀ナノ粒子については約390nmに発生する。

40

【0035】

50

キットは、標的実体の定量化のために凝集した貴金属ナノ粒子の対照量と比較して、生物学的試料の混合物中のプラズモン共鳴の量を測定するためのデバイスコンポーネントを含むことができる。実体が発見された事象において、デバイスはまた、試料中の実体の量の定量化を含むことができる。定量化は、典型的には、対照量と比較して、高量の実体の存在下で色の強度が増大することによって示される。定量化はまた、多くのナノ粒子がどのように標的に結合しているかを検出することによって達成されてもよい。デバイスが状態の進行または退行を監視するためである場合に定量化に有用である。典型的には、例えば、個人は、特定の治療が動作しているかどうかを学ぶことを望む場合がある。治療が動作しているかどうかは、測定される体液の体積あたりのウイルス粒子の力価の減少を検出することで知られ得る。対照溶液中の非凝集貴金属粒子のプラズモン共鳴周波数と比較して、凝集貴金属ナノ粒子のプラズモン共鳴周波数の指標を、デバイス中のウィンドウから同定することができ、ここで、試料と混合された粒子の凝集は、試料が実体に対して陽性であることを示す。さらに、アッセイは、試料中の実体の量を定量するために、非凝集粒子からのプラズモン共鳴の対照量と比較して、凝集からのプラズモン共鳴の量を測定することを含む。

10

20

30

40

50

【0036】

ハンドヘルドのデバイス内で行うアッセイは、個体から試験される試料を回収することができ、その試料内で実体の存在を検出することができる。アッセイは、それらの外表面に付着したリガンドを有する貴金属ナノ粒子の検出溶液でハンドヘルドのデバイスのチャンパーをあらかじめ装填することを含むことができる。リガンドの特徴は、それらがアッセイによって検出される実体上の部分に特異的であることを含む。試料は、個体から回収され、デバイスのリザーバー内に配置される。試料は、予め装填された検出溶液と混合され、実体は、標的実体上または標的実体内に特異的なリガンドを有する分析物ナノ粒子と接触させることができる。アッセイを実施する方法は、検査デバイスに血液試料を引き出すか、または血液が指刺しから回収チャンパーに滴下させることを含む得る。回収チャンパーから、血液は、デバイスに内蔵されたメンブレンを通して液体を通過させることによって過され、血漿が単離され得る。圧力および真空を用いて、回収チャンパーからアッセイチャンパーに血漿を移動させることができる。アッセイチャンパーにおいて、試料は、アッセイを行うために試薬と接触させることができる。

【0037】

全体として本発明を例示するために、検査デバイス、キット、アッセイおよび方法は、ヒトにおけるHIV感染を検出するために記載されている。後天性免疫不全症候群またはAIDSとして知られている生命を脅かす感染症は、ヒト免疫不全ウイルス又はHIVに感染によって引き起こされる。HIV感染の早期検出は、HIV感染の最初の10日以内中またはその間のエクリプス期直後に、ウイルス量を減少させることによって、HIV治療において大きな成功をもたらすことがある(図2参照)。本発明は、感染の最初の5~7日以内にヒト免疫不全ウイルスを検出する能力の多大な利点を提供する。HIVのための現在の検査方法は、感染後の約6ヶ月までにHIVを検出することはできない。さらに、HIVとの接触が疑われる乳児は、生後1年後まで抗体について検査することができない。したがって、HIVに関する現在の検査の不足が深刻である。現在の検査は、HIV感染を検出するための標的実体として、HIVに対する抗体を使用する。本発明は、感染からできるだけ約5日で、生物学的試料中のHIVの存在を示す、多数の異なる標的実体の数を使用するように適合される。HIVについて検査するためのアッセイの目的で、生物学的試料は、例えば、血液、精液、膿液、母乳、血液を含む他の体液であってもよい。HIVに感染したヒトからの特定の体液(血液、精液、膿分泌物、及び母乳)だけは、HIVを感染することができる。HIVは、血液、精液、膿分泌液、母乳、唾液、及び涙中の濃度または量が変化することが見出される。

【0038】

アッセイにおける標的実体として機能することができるHIVパイロンの成分としては、例えば、外被タンパク質gp120、RNAゲノムまたはHIV RNAの配列、また

はカプシドタンパク質 P 2 4 が挙げられる。例えば、本発明は、H I V 由来の R N A、H I V ゲノムのカプシド入れ子を形成する p 2 4 タンパク質を検出するためのリガンド、または H I V g p 1 2 0 の外被タンパク質の領域を認識し、結合するリガンドを使用することができる。他のタンパク質、酵素または材料などの H I V の他の標的実体はまた、H I V を検出するためのアッセイ用に標的実体として使用することができる。標的実体の異なる成分に対するリガンドを用いることができ、陽性シグナルの検出の可能性及び強度を増加させる。標的実体の異なる成分を結合する同じ標的実体に対する異なるリガンドを設計し、標的の検出を最適化するためのアッセイで一緒に使用することができる。H I V の場合、例えば、H I V バイロン又は H I V バイロンの成分は標的実体であり得る。したがって、H I V の R N A ゲノム、H I V バイロンの成分は、標的実体であってもよく、R N A ゲノムの領域への結合に特異的なリガンドは、ウイルスを検出するために使用することができる。あるいは、R N A ゲノムの異なる配列または領域への結合に特異的な異なるリガンドを使用することができる。また、例えば、H I V のバイロンの他の成分に特異的なリガンドをさらに使用することができる。例えば、カプシドタンパク質 p 2 4 に特異的なリガンド、及び g p 1 2 0 外被タンパク質に特異的なリガンドが挙げられ。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 9 】

標的実体のタイミングと選択の考察に関して、具体的には H I V の検出に関して、感染後約 5 日以内に、感染した個体の血液に存在する標的実体を用いるアッセイを行うことができる。H I V に対する従前及び現在利用可能な検査は、H I V に対する抗体を検出し、これらの抗体は、感染後の約 6 ヶ月まで、感染した個体には出現しない。H I V に対する抗体は、感染後の 1 2 ヶ月までに、感染した乳児に出現しない。従って、H I V を検出するためのアッセイにおいて使用することができる標的実体は、感染後の約 5 日以内に、感染した個体の血液中に非常に低レベルで存在する H I V バイロン又はバイロンの成分を含む。

【 0 0 4 0 】

検査デバイス内に回収された個体からの生物学的試料中の H I V を検出するための検査デバイス、検査キットは、アッセイ及び方法の課題に対処するために、H I V の構造、活性、および生物学の態様を理解し、考慮すべきである。ヒトにおける H I V 感染の構造及び挙動性を理解するために有益であって、診断及び治療に影響を及ぼし得る態様の理解において、H I V の病期分類に関して、論文「Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection」, Fiebig et al., AIDS 2003, 17: 1871 - 1879 を参照されたい。ここでは、初回 H I V 感染中の装填濃度が分析及び検討される。F e i b i g らは、その全体が参考として援用される。

【 0 0 4 1 】

体内の H I V の生物学は、ここで関連性がある。放出された H I V 粒子は、ある広範囲の直径を示すが、1 2 0 ~ 2 0 0 n m に伸長する。H I V におけるバイロンの大多数は単一のコアを有する。H I V バイロンオンは、ウイルス表面への g p 4 1 タンパク質とともに固定された g p 1 2 0 の三量体タンパク質のアセンブリーの 7 2 個のスパイクで被覆されている (図 1)。ウイルスコア (またはカプシド) は、タンパク質 p 2 4 から作られる。コア内部には、逆転写酵素、インテグラーゼおよびプロテアーゼと呼ばれる H I V 複製のために必要な 3 つの酵素がある。また、コア内には、H I V の遺伝物質が保持され、これは、R N A の 2 つの同一の鎖からなる。H I V はレトロウイルスであり、その遺伝子は、R N A (リボ核酸) から構成されている。H I V は、9 個の遺伝子 : g a g、p o l、e n v、t a t、r e v、n e f、v i f、v p r、及び v p u を有する。約 1 5 0 n m 径のバイロンは、7 2 個のスパイクを常駐する約 7 0 , 6 8 5 n m² の球状表面積を有する。g p 1 2 0 および P 2 4、ならびに H I V R N A 配列を含む、H I V の多数の可能なマーカーが存在する。本発明の R N A ベースの H I V の検出検査は、疑われた接触後の

約5日以内にHIV感染を検出するために、血液1滴あたりHIVの約1コピーのおよその感度を有する。現在、血漿ベースの非常に低いバイロンアッセイは、HIV-1感染の診断にFDA承認されておらず、感染から15日目以降に可能であり得る任意の初期検査は、医療施設を除いて可能ではない。

【0042】

HIVを検出するための溶液において、HIVバイロン上の1つの標的実体は、バイロンがgp120タンパク質で被覆されているため、gp120であってもよい。バイロン表面上のgp120タンパク質の部分に特異的な抗体は、金ナノ粒子にコンジュゲートさせ得る。表面積 = $4 \pi r^2$ (ここで、 $r =$ 約150nmの直径の1/2又は $r =$ 約75nm)を有するHIVバイロンは、表面積 = 約 $4 \times 3.14 \times 75^2 = 70685 \text{ nm}^2$ である。ナノ粒子の表面積は、例えば、15nm径 = $4 \times 3.14 \times 7.5^2 = 706.5 \text{ nm}^2$ である。15nm径のナノ粒子の表面積でバイロンの表面積を割ることは、バイロン表面上の100個のナノ粒子用に結合空間を提供するものと考えられる。72個のgp120スパイクが存在するため、3個のgp120タンパク質を有するスパイクは、立体的な問題を予測するために保存的なアプローチなどを採用すると、およそ20~60ナノ粒子であり、可視光スペクトルにおける赤色から青色へのシフトを明確に示す大規模なナノ粒子クラスターを作製する単一のHIVバイロンを結合することができた。ナノ粒子間の距離は、いずれか1つのナノ粒子の直径よりも小さい場合、可視スペクトルで示されるプラズモンシフトが起こる。したがって、ナノ粒子がより小さくなると、それらは、色ずれを促進するために、それらの標的に結合するときに互いにより近接しなければならない。プラズモン共鳴および色づれの原理は、ナノ粒子の凝集に依存し、標的分析物の低いレベルは、ナノ粒子がナノ粒子の直径より互いに近くなるように、バイロンの豊富な標的への適切な直径のコンジュゲートの十分なナノ粒子を確認することによって補うことができる。また、アッセイの感度に影響を与える追加の要因は、多数のリガンドがどのようにして各ナノ粒子にコンジュゲートされるかということである。ナノ粒子は、HIVバイロンの成分への結合を促進するために、十分であるが、過剰ではない結合リガンドで被覆される。最後に、貴金属ナノ粒子コンジュゲートを用いた検出は、「混み合い(crowding)」と呼ばれるアッセイ技術を用いて最適化することができる。混み合いは、溶液中の実体間の空間を生み出し、また、溶液中の実体を互いにより密接に移動させるための溶液にバルク分子を添加することである。従って、検出の最適化は、8キロダルトン(8K)のポリエチレングリコール(PEG)、PEG20K、PEG35K、Ficoll70、Ficoll400、デキストラン70K、デキストラン500K、デキストラン2000K、及び他の同様の試薬などの既知の巨大分子の添加を用いて、アッセイにおいて達成することができる。BMC Biotechnology 2011, 11:50 doi:10.1186/1472-6750-11-50を参照されたい。同様に、Hill CS: Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. Expert Rev Mol Diagn 2001, 1(4):445-455を参照されたい。両方の参考文献は、その全体が本出願に援用される。

【0043】

HIVを検出することは、最初、生物学的試料と、バイロン及びウイルスカプシドを溶解させるための溶解剤を接触させることによって達成させ得る。溶解剤としては、例えば、グアニジンチオシアネートであってもよい。溶解剤はまた、カプシド由来のmRNA、またカプシドp24を形成するタンパク質を放出する。次に、HIVゲノムの相補性配列を含むリガンドにコンジュゲートされたナノ粒子は、RNAの長さに沿ってHIV RNA(コンジュゲートされたりガンドを介して)に結合することができ、潜在的に、2つのRNA鎖を有する単一のバイロンは、比色ナノ粒子ベースの検出を用いて検出される。少なくとも60nm径の凝集体、好ましくは、複数のこのような凝集体は、HIV RNAで形成し、溶液の赤色を青色にシフトさせる。最適には、全体のRNA長が溶液中でナノ粒子によって標的化するために使用されるため、ナノ粒子は、溶液中で一緒になるナノ粒

10

20

30

40

50

子の数を増加させるために、RNAゲノム上の配列に相補的な異なる配列にコンジュゲートさせることができる。比色ナノ粒子検出に基づくアッセイにおいて、パイロンに結合する相補的リガンドを形成するために使用され得るHIVパイロン内の潜在的な標的配列に関する詳細については、Moore MD, Nikolaitchik OA, Chen J, Hammarskjold M-L, Rekosh D, et al. (2009) Probing the HIV-1 Genomic RNA Trafficking Pathway and Dimerization by Genetic Recombination and Single Virion Analyses. PLoS Pathog 5(10): e1000627. doi: 10.1371/journal.ppat.1000627を参照されたい。 Mooreらの参考文献は、その全体が本明細書に援用される。個体から採取された血漿検体を溶解することができ、RNAを安定化させ、ウイルスRNAに相補的なポリ(dT)オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドを含む磁性粒子上に捕捉することができます。

10

20

30

40

50

【0044】

感染性因子を検出するための検査デバイスおよびキットは、生きたウイルスが不活性化であることを確認するための手段または成分を有することができる。HIVの場合、生きた細胞内に伝達されていないとき、個体を感染する能力が非常に貧弱～全くないことが知られ、宿主の生体外に見出されるパイロンを用いた感染は不可能である。しかしながら、検査デバイスの設計は、アッセイの完了後に生きたウイルスを中和する機能を含むことができる。HIVは、アルカリ性又は酸性の変化に非常に感受性であり、したがって、7未満又は8を超えるpHレベルはHIVの長期生存に適さないため、ウイルスに関する簡単な不活性化戦略は、酸又は塩基の添加によって、アッセイ前、後または最中に達成することができる。溶媒/界面活性剤(S/D)不活性化は、New York Blood Centerによって開発され、これまでに最も広く使用されているウイルス不活性化である。これは、主に、血漿業界で使用されているが、プロセスは、脂質被膜に包まれたウイルスに対してのみ有効である。この方法で使用される界面活性剤は、ウイルスの脂質被覆中の分子間の相互作用を中断する。大部分の包まれたウイルスは、それらの脂質被覆なしには生きられないため、これらの界面活性剤に晒されたときに死に至る。他のウイルスはなおも生きてもよいが、それらは繁殖することはできず、非感染性のままである。溶媒は、脂質被覆と界面活性剤の間での凝集反応がより迅速に起こる環境を作る。典型的には、使用される界面活性剤は、Triton-X 100である。

【0045】

また、デバイスは、アッセイの結果を読み取るために、生物学的試料を保持するチャンパーが密閉され、遮断シールしなければならないように設計されてもよい。これは、回収チャンパーを密閉し、シールするためにスライドされる結果ウィンドウ全体に配置されたカバーを有すること、及び同時に結果ウィンドウを表示することによって達成され得る。図3を参照すると、概略図は、指先の皮膚を開くためのチップと可能なランセット11を有する検査デバイス10を示す。対照バー13は、ハンドル15を用いて、針又はランセット11を押し出すことができる。開口部17を有する回収チャンパーは、試料の回収のために提供する。フィルター及び取り出し機構23は、アッセイチャンパー29中で分析物21と染色し、混合されるフィルター23を介して試料を引く。場合により、カバー29は、不活性化溶液27が任意の生きたウイルスを不活性化するためのアッセイチャンパーに入れられた後、位置31にスライドされ得る。カバー29は、(図中の)右にスライドされ、不活性化溶液は、アッセイチャンパーに移され、カバー29の下の結果ウィンドウは、アッセイの結果を表示するために開かれる。

【0046】

実験室研究で使用されるHIV濃度は、実際に血液または他の標本に見られるものよりはるかに高いため、HIVに感染したヒトの血液または他の体液を乾燥させることは、観察された - 本質的にゼロである - 環境伝播の理論的な危険性を減少する。さらに、HIVは、(適切な条件下でそうしてもよい多数の細菌又は真菌とは異なる)その生きた宿主外

で再生することができない；したがって、HIVは、その宿主外で伝播し、感染性を維持することはない。しかしながら、予防策として、HIV検査キットおよび検査デバイスについて、生物学的試料中の任意のなおも活性な生きたウイルスを不活性化するための化学的または物理的手段があってもよい。

【0047】

アッセイを実施するための詳細の他の態様は、使用するための最良の試薬、溶液中のこれらの試薬の最良の濃度、ナノ粒子へのリガンドのコンジュゲートの仕方、適切なリガンドの選択、ナノ粒子に関するサイズ考察、アッセイを行う溶質の最適な体積、結果ウィンドウにおいて十分に強く、視認性のある発色における考察、及び他のこのような詳細を含み、以下のジャーナル論文の1つ以上に見出されてもよい。Fox, Matthew. 「Accuracy of the Elisa HIV May 2010. Web. <<http://www.livestrong.com/article/133176-accuracy-elisa-hiv-test>>. , Shah, I., et al. 2006. Efficacy of HIV PCR Techniques to Diaerspective. JAPI 54:197-199, 「What Kinds of HIV Screening Tests Are Available in the United States?」HIV InSite. UCSF, 3 Aug. 2011. Web. <http://hivinsite.ucsf.edu/insite?page=basics-01-01>, Xu, J., et al. 2010. Highly soluble PEGylated pyrene-gold nanoparticles dyads for sensitive turn-on fluorescent detection of biothiols. Analyst 135:2323-2327, Lee, H., et al. 2009. Modeling sequence evolution in acute HIV-1 infection. Elsevier 261:341-360, Kim, Y., et al. 2009. Quantum dot-based HIV capture and imaging in a microfluidic channel. Biosens Bioelectron 25:253-258, Wang, S., et al. 2010. Advances in developing HIV-1 viral load assays for resource-limited settings. Biotechnology Advances 28:770-781, Ahn, Chong H. January 2004. Disposable smart lab on a chip for point-of-care diagnostics. IEEE, Vol 92, No. 1, Fend, Yanying. June 2003. Passive valves based on hydrophobic microfluidics. Mems Laboratory, Rosina, J. Temperature Dependence of Blood Surface Tension. Physiological Research Pre-Press Article, Bush, Valeria and Richmond Cohen. 2009. The Evolution of Evacuated Blood Collection Tubes. LabNotes. Volume 19, No. 1, Winter, Jessica. 「Gold Nanoparticle Biosensor.」 Ohio State University. 23 May 2007. Web http://www.nsec.ohiostate.edu/teacher_workshop/Gold_Nanoparticles.pdf, Stowell, Dan. 「The Molecules of HIV: gp120.」www.mclld.co.uk. 2006. Web. <<http://www.mclld.co.uk/hiv/?q=gp120>>. 上記に引用された論文は、個体からの試料の回収後、検査デバイスに含まれる生物学的試料に対するアッセイを実施するための詳細を支持する際に使用するため、本明細書にその全体が参考として援用される。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 8 】

本発明の範囲は、ここで説明された言語および詳細の最も広い解釈によって提供される。ここに提示された詳細は、本発明を例示するためであって、それを限定するものではないことが意図される。

【 図 3 】

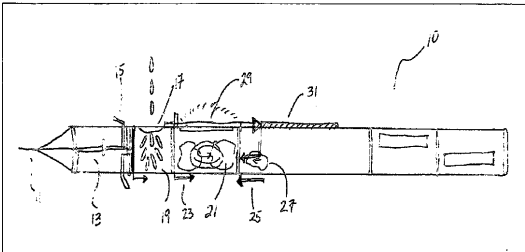


FIGURE 3

【 図 1 】

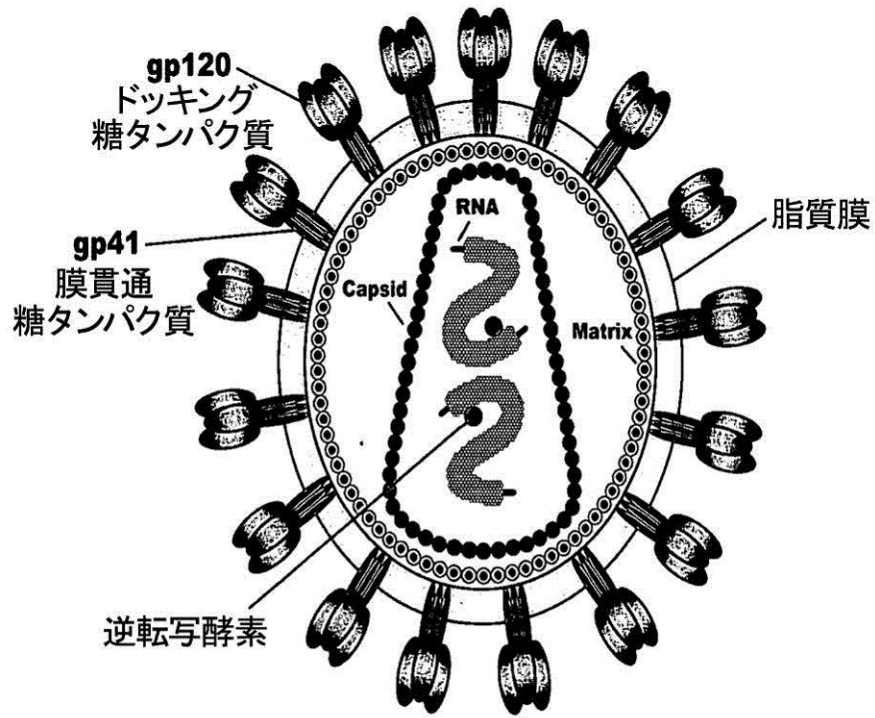


FIGURE 1

【 図 2 】

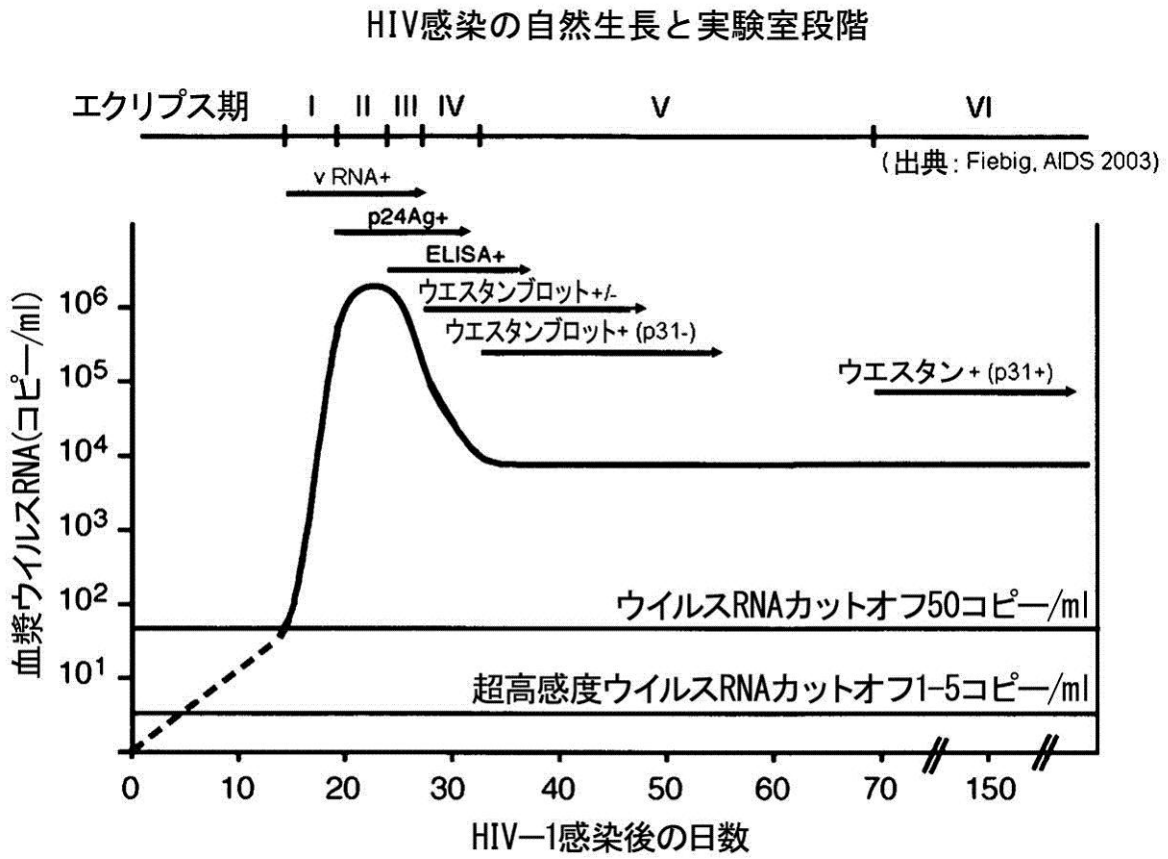


FIGURE 2

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 2014/000015
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>G01N 33/53 (2006.01)</i> <i>G01N 33/543 (2006.01)</i> <i>A61B 5/151 (2006.01)</i> 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) G01N 33/53, 33/543, A61B 5/151, 5/145, C12M 3/00 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 practicable, search terms used) CIPO, DEPATISNET, DWPI, EAPATIS, EMBL, EPO-Internal, ESP@CENET, PAJ, PubMed, SCIENCE DIRECT, SIPO, USPTO, WIPO, PatSearch.(RUPTO internal)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 201212890 Y (YICAI MA) 25.03.2009, abstract, fig.1-2	1-3, 7-10
X	WO 2009/139632 A1 (MEDAVINCI DEVELOPMENT B. V. et al) 19.11.2009, p.31, lines 23-29, claims	1, 4-6
X	US 2008/0260581 A1 (ORION DIAGNOSTICA OY) 23.10.2008, paragraphs [0025], [0026], fig.2, claims	1, 4-6
X	US 6612111 B1 (LIFESCAN INC) 02.09.2003, col. 1, lines 47-51, col. 2, lines 12, 25-37, col. 3, lines 9-29, col. 7, lines 20-33, col. 9, lines 29-46, 56-63, fig.1, claims	1
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 "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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 May 2014 (15.05.2014)		Date of mailing of the international search report 19 June 2014 (19.06.2014)
Name and mailing address of the ISA/ FIPS Russia, 123995, Moscow, G-59, GSP-5, Berezhkovskaya nab., 30-1 Facsimile No. +7 (499) 243-33-37		Authorized officer S.I'chenko Telephone No. 495 531 65 15

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100141977
弁理士 中島 勝

(74)代理人 100150810
弁理士 武居 良太郎

(72)発明者 クリストファー エイトジェカ
アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 6 1 9 , オークランド, スカイライン プールバード 1
4 0 0 1

(72)発明者 アンワール アル - ジリーニ
アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 4 5 3 1 - 9 3 1 1 , アンティオック, シェットランド コ
ート 4 7 0 1

Fターム(参考) 4B029 AA07 BB01 BB13 FA01 GA08 GB05 GB06

【要約の続き】

用を含む。ヒト免疫不全ウイルス(HIV)の検出は、実施例に記載されている。

专利名称(译)	检查装置		
公开(公告)号	JP2016507057A	公开(公告)日	2016-03-07
申请号	JP2015556018	申请日	2014-01-30
[标]申请(专利权)人(译)	普瑞威尔公司		
申请(专利权)人(译)	私人乐团雷开球德		
[标]发明人	クリストファーエイトジェカ アンワールアルジリーニ		
发明人	クリストファー エイトジェカ アンワール アル-ジリーニ		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/53 C12M1/34		
CPC分类号	G01N33/56988 A61B5/14546 A61B5/150022 A61B5/150358 A61B5/150824 A61B5/151 C12Q1/703 G01N21/78 G01N33/54346 G01N2333/162		
FI分类号	G01N33/569.H G01N33/53.M C12M1/34.B		
F-TERM分类号	4B029/AA07 4B029/BB01 4B029/BB13 4B029/FA01 4B029/GA08 4B029/GB05 4B029/GB06		
代理人(译)	青木 篤 石田 敬 渡边洋一 中岛胜 武井良太郎		
优先权	61/759395 2013-01-31 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
 本发明是一种用于测试个体是否存在实体的设备。该实体可以是病原体，毒素或药物。该装置适于从个体收集待测试的生物样品。该检查装置包括贵金属纳米颗粒（即金，银或铜）以检测该实体。从设备窗口中读取测试结果。团聚的贵金属纳米颗粒的当前视觉极限是块状体，其直径为约50nm至约75nm。实体的一个或多个特定配体连接到两个或多个金属纳米粒子。每个单独的纳米颗粒的直径在约15nm至约35nm的范围内。附着于纳米颗粒的实体特异性配体可以是例如抗体，抗体片段，寡核苷酸和适体。实体上不同位点具有特异性的各种配体可用于在靶标存在下增强纳米颗粒的聚集潜力。样品收集后在设备中执行检查。测定结果准备就绪。可以测试的条件包括，例如病毒感染，细菌感染，接触毒素和吸毒。实施例中描述了人免疫缺陷病毒（HIV）的检测。

(21) 出願番号	特願2015-556018 (P2015-556018)	(71) 出願人	515210651
(86) (22) 出願日	平成26年1月30日 (2014.1.30)		
(85) 翻訳文提出日	平成27年9月30日 (2015.9.30)		
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/000015		
(87) 国際公開番号	W02014/120379		
(87) 国際公開日	平成26年8月7日 (2014.8.7)	(74) 代理人	100099759
(31) 優先権主張番号	61/759,395		弁理士 青木 篤
(32) 優先日	平成25年1月31日 (2013.1.31)	(74) 代理人	100077517
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 石田 敬
		(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100087413
			弁理士 古賀 哲次
		(74) 代理人	100117019
			弁理士 渡辺 陽一