

(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2008-527334

(P2008-527334A)

(43) 公表日 平成20年7月24日 (2008.7.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 21/27 (2006.01)	GO 1 N 21/27 C	2 G 0 5 9
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 9 5	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	

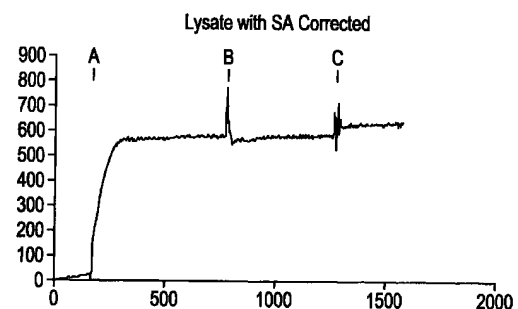
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2007-549681 (P2007-549681)	(71) 出願人	397068274
(86) (22) 出願日	平成17年12月29日 (2005.12.29)		コーニング インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成19年9月3日 (2007.9.3)		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 4 8
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/047564		3 1 コーニング リヴァーフロント プ
(87) 国際公開番号	W02006/072043		ラザ 1
(87) 国際公開日	平成18年7月6日 (2006.7.6)	(74) 代理人	100079119
(31) 優先権主張番号	11/026, 387		弁理士 藤村 元彦
(32) 優先日	平成16年12月30日 (2004.12.30)	(72) 発明者	アクリアン, マニックス ヴィー
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 4 8
			7 0 ペイネッテッド ポスト ウッドセッ
			ジ ドライヴ 2 2 4
		F ターム (参考)	2G059 AA01 AA05 AA06 BB12 BB13
			CC16 CC17 EE02 JJ12 JJ17
			KK01
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非精製検体のラベルフリー検出

(57) 【要約】

本発明は、エバネッセント場検出を利用して、未加工の試料中の非精製でラベルされていない検体を検出または評価することを特徴とする。被検体と結合する能力のある捕捉分子を、エバネッセント場センサの検出表面に固定化することが可能である。未加工の試料中の被検体と固定化された捕捉分子の間の相互作用によって、検出表面の屈折率を変化させ、それによって表面からの反射光中に検出可能なシグナルを生じさせる。本発明に従った未加工の試料としては、限定はしないが、細胞溶解物、組織抽出物、体液、または生物由来の試料が挙げられる。本発明に適したエバネッセント場センサには、限定はしないが、格子結合型導波路が含まれる。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

未加工の試料をエバネッセント場センサの検出表面と接触させる工程であって、ここで、前記未加工の試料が被検体を含み、前記検出表面が捕捉分子でコーティングされている工程、および

前記接触の後、前記検出表面における屈折率を検出する工程であって、ここで、比較対照の屈折率と比較した、前記屈折率における変化が、前記被検体が前記捕捉分子と相互作用するか否かを示すものである工程、
を有してなる分子間相互作用を評価する方法。

【請求項 2】

前記エバネッセント場センサが、少なくとも 1 つの格子結合型の導波路を備えていることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記格子結合型の導波路が、

1. 5 以下の屈折率を有する基材；
回折格子；および

前記検出表面を備え、かつ、前記基材よりも高い屈折率を有する導波路フィルム；
を備えていることを特徴とする請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

前記エバネッセント場センサが、複数のウェルを含んだマイクロプレートを備え、かつ、各前記ウェルが検出表面を含む格子結合型の導波路を含むまたは組み込むことを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

前記未加工の試料が、培養細胞の溶解物もしくは上清、体液試料、または組織抽出物であることを特徴とする請求項 1～4 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 6】

前記被検体が、タンパク質、脂質、多糖、または核酸であることを特徴とする請求項 1～5 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

未加工の試料を格子結合型の導波路の検出表面と接触させる工程であって、ここで、前記未加工の試料が被検体を含み、前記検出表面が捕捉分子でコーティングされる工程、

光線を前記格子結合型の導波路内に導き入れる工程であって、ここで、前記光線が回折して、前記検出表面を越えて広がるエバネッセント・テイルを生じさせる工程、

前記格子結合型の導波路から反射光を受信する工程、および

前記接触後の共振状態を検出する工程であって、比較対照の共振状態と比較した、前記共振状態における変化が、前記被検体が前記捕捉分子と相互作用するか否かを示す工程、
を有してなる分子間相互作用を評価する方法。

【請求項 8】

前記未加工の試料が、体液試料、組織抽出物、または、培養細胞の溶解物もしくは上清であることを特徴とする請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

未加工の試料をエバネッセント場センサの検出表面と接触させる工程であって、ここで、前記検出表面が前記被検体と結合する能力のある捕捉分子でコーティングされている工程、および

前記接触後の前記検出表面において屈折率を検出する工程であって、ここで、比較対照の屈折率と比較した、前記屈折率における変化が、前記未加工の試料中の前記被検体の存在または不在を示す工程、

を有してなる、未加工の試料中の被検体の存在または不在を検出する方法。

【請求項 10】

前記エバネッセント場センサが、少なくとも 1 つの格子結合型の導波路を備えているこ

10

20

30

40

50

とを特徴とする請求項 9 記載の方法。

【請求項 1 1】

前記格子結合型の導波路が、

1. 5 以下の屈折率を有する基材、
回折格子、および

前記検出表面を備え、かつ、前記基材よりも高い屈折率を有する導波路フィルム、
を備えていることを特徴とする請求項 1 0 記載の方法。

【請求項 1 2】

前記未加工の試料が、体液試料、組織抽出物、培養細胞の溶解物もしくは上清、食物もしくは飲料試料、または環境試料であることを特徴とする請求項 9～1 1 のいずれか 1 項記載の方法。 10

【請求項 1 3】

前記被検体が、タンパク質、脂質、多糖、核酸、または病原体もしくは毒物であることを特徴とする請求項 9～1 2 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 4】

未加工の試料を格子結合型の導波路の検出表面と接触させる工程であって、ここで、前記検出表面が前記被検体と結合する能力のある捕捉分子でコーティングされている工程、

光線を前記格子結合型の導波路内に導き入れる工程であって、ここで、前記光線が回折して、前記検出表面を越えて広がるエバネッセント・テイルを生じさせる工程、

前記格子結合型の導波路から反射光を受信する工程、および 20

前記接触後の共振状態を検出する工程であって、ここで、比較対照の共振状態と比較した、前記共振状態における変化が、未加工の試料中の前記被検体の存在または不在を示す工程、

を有してなる、未加工の試料中の被検体の存在または不在を検出する方法。

【請求項 1 5】

前記未加工の試料が、体液試料、組織抽出物、培養細胞の溶解物もしくは上清、食物もしくは飲料試料、または環境試料であることを特徴とする請求項 1 4 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【関連出願との相互参照】

【0 0 0 1】

本出願は、引用することによりそのすべてが本明細書中に包含される、2 0 0 4 年 1 2 月 3 0 日に "Label-Independent Detection Of Unpurified Analytes" という発明の名称で出願された米国特許出願第 1 1 / 0 2 6 , 3 8 7 号明細書の利益を主張する。 30

【技術分野】

【0 0 0 2】

本発明は、ラベルされていない、非精製の被検体を検出または評価するためのエバネッセント場検出の利用方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

ハイスループット・スクリーニング環境における分子間相互作用の研究は、薬の発見と開発のプロセスにとって非常に重要である。 40

【0 0 0 4】

これらのスクリーニング方法の多くが、研究すべき分子の精製を必要とする。しかしながら、この処理は、多大な時間を費やし、また、多くの労働力を要する。さらには、一旦、分子が単離されてしまうと、種類の異なる分子間の相互作用をモニタするために、ラベルを必要とすることが多い。このラベリング処理もまた、費用が嵩み、あるいは、時間がかかるであろう。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 5】

したがって、精製および検出可能なラベルのどちらも要求されない、新しいスクリーニング方法が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、非精製のラベルされていない被検体を検出または評価するためのエバネッセント場検出技術の利用を特徴とする。被検体と結合する能力のある捕捉分子を、エバネッセント場センサの検出表面に固定することが可能である。非精製のラベルされていない検体の捕捉分子への結合は、検出表面の屈折率を変化させ、それによって表面からの反射光における検出可能なシグナルを生ずる。

【0007】

ある態様では、本発明は、非精製の検体と捕捉分子の間の相互作用を評価またはモニタするためのエバネッセント場検出の利用方法を提供する。これらの方法は、

未加工の試料をエバネッセント場センサの検出表面と接触させる工程であって、ここで、未加工の試料は検体を含み、検出表面は捕捉分子でコーティングされている工程；および、

検出表面で屈折率における変化を検出する工程、
を有してなる。屈折率の変化は、検体が捕捉分子と相互作用する能力があるか否かを示す。

【0008】

多くの実施態様において、本発明で用いられるエバネッセント場センサは、米国特許第 4, 815, 843 号明細書または米国特許出願 "Substrate Index Modification for Increasing the Sensitivity of Grating-Coupled Waveguides" (代理人整理番号: SP03-081 (WJT003-0036)) などに記載されている格子結合型の導波路 (grating-coupled waveguides) である。格子結合型の導波路の操作は、典型的には:

導波路に光線 (例えば、レーザー光) を導き入れて、捕捉分子でコーティングされた検出表面を越えて広がるエバネッセント・テイルを生じさせ、かつ

導波路から反射した光線を受信し、試料中の検体が固定化された捕捉分子と結合するか否かを示す共振状態を検出する、
各工程を含む。

【0009】

本発明に従った未加工の試料としては、限定はしないが、細胞溶解物、培養細胞の上清、体液、組織抽出物、食物または飲料試料、医薬品試料、臨床試料、もしくは他の実質的に精製されていない試料が挙げられる。ある例では、分析される未加工の試料は培養細胞の溶解物または上清であり、非検体は培養細胞によって発現される組み換えタンパクである。

【0010】

多くの場合、比較対照用の試料は、検出表面における屈折率変化のベースラインを検出するのに用いられる。被検体が検出表面に結合することに起因する屈折率の変化などの所望のシグナルは、目的とする未加工の試料によって生じる屈折率の変化をベースラインの屈折率変化と比較することにより、抽出できる。比較対照用の試料は、分析される未加工の試料と同じソースから調製されることが好ましい。ウシ血清アルブミンもしくは他のタンパクを含むブロッキングバッファーなどの他のタイプの比較対照用の試料もまた利用可能である。

【0011】

別の態様では、本発明は、マルチサンプル式のフォーマットにおける分子相互間作用を評価またはモニタする方法を特徴とする。これらの方法は:

複数の未加工試料をエバネッセント場センサの各検出表面と接触させる工程であって、ここで各未加工の試料は被検体を含み、各検出表面は捕捉分子でコーティングされている工程、および、

検出表面で屈折率における変化を検出する工程、

10

20

30

40

50

を有してなる。各検出表面における屈折率の変化は、その表面に固定化された捕捉分子が、対応する未加工の試料中の非検体と相互作用するか否かを示す。

【0012】

ある実施の態様では、エバネッセント場センサは、複数のウェルを包含するマイクロプレートからなる。各ウェルは、捕捉分子でコーティングされた検出表面を含む格子結合型の導波路を含むもしくは組み込んでいる。

【0013】

本発明は、また、未加工の試料中の被検体の存在または不在を検出する方法をも特徴とする。これらの方法は、

未加工の試料をエバネッセント場センサの検出表面と接触させる工程であって、ここで検出表面は、被検体と結合する能力のある捕捉分子でコーティングされている工程、および、

検出表面において屈折率の変化を検出する工程、
を有してなる。屈折率の変化は、未加工の試料中の被検体の存在または不在を示す。

【0014】

ある実施の態様では、未加工の試料は体液試料（例えば、血液、血清、唾液、涙液、汗、精液または尿）もしくは組織抽出物（例えば、脳または肺抽出物）であり、被検体は、病原体（ウイルスまたは細菌など）のエピトープに特異的な抗体である。固定化された捕捉分子は、病原体のエピトープを含み、ゆえに、被検体によって認識可能である。別の実施の態様では、被検体はガン細胞マーカーであり、固定化された捕捉分子は、ガン細胞マーカーに特異的な抗体である。

【0015】

本発明の他の特徴、目的、および利点は、後述の詳細な説明で明らかにする。しかしながら、詳細な説明は、本発明の好ましい実施態様を示すのと同様に、説明の目的でのみ与えられるものであり、限定されないことが、理解されるべきである。本発明の範囲内における様々な変更および修正が、詳細な説明から、当業者にとって明らかとなるであろう。

【0016】

本特許もしくは特許出願は、少なくとも1枚の着色された図面を含むものである。着色された図面を伴った本特許もしくは特許出願公開の公報が、申請および所定の手数料の納付の上で、特許庁から提供されるであろう。図面は説明のためのものであり、限定されるものではない。

【0017】

本発明は、未加工の試料中の非精製のラベルされていない検体を検出または評価するためのエバネッセント場検出の利用を特徴とする。被検体と結合する能力のある捕捉分子を、エバネッセント場センサの検出表面に固定化することができる。未加工の試料中の被検体および固定化された捕捉分子の間の相互作用は、検出表面における屈折率を変化させる、言い換えれば、表面からの反射光に検出可能なシグナルを生ずる。本発明に従った未加工の試料としては、限定はしないが、細胞溶解物、組織抽出物、体液、もしくは他の生物由来の試料が挙げられる。細菌試料、食物／飲料試料、もしくは、実質的に精製されていない他の加工されていない試料もまた、本発明に従って分析可能である。非特異結合に対するエバネッセント場検出表面の検出感度の理由から、エバネッセント場検出による未加工の試料中のラベルされていない検体を検出する能力は、予想外のことである。従って、本発明は、ラベルフリー検出の分野における飛躍的な進歩を意味する。

【0018】

エバネッセント場検出は、生物学的事象についてのラベルフリーの光学モニタを可能にする。光が表面に沿って導かれるか、もしくは、薄層に捕捉される場合、結合電磁場は、表面から離れた短い距離（典型的には、約100～1,000nm）を貫通し、いわゆるエバネッセント電磁場を生ずる。この電磁場は、表面に付着した分子と相互作用可能である。エバネッセント電磁場の表面付着分子との相互作用は、試料中の検体が、表面に固定化された分子と結合する際に起こる、表面上の屈折率変化の検出に利用可能である。

【0019】

多くの実施の態様において、本発明で用いるエバネッセント場センサは、格子結合型の導波路である。格子結合型の導波路の限定されない例には、引用することにより本明細書中に完全に包含される、米国特許第4,815,843号明細書または米国特許出願 "Substrate Index Modification for Increasing the Sensitivity of Grating-Coupled Waveguides" (代理人整理番号: SP03-081 (WJT003-0036)) に記載されているものが含まれる。格子結合型の導波路は、典型的には、基材、回折格子、および導波路フィルムを含む。回折格子は、直接、導波路フィルムまたは基材に組み立てることができる。回折格子は、また、導波路フィルムの光学的近接して、もしくは、導波路フィルム自身にさえも設置可能である。光線(例えば、干渉レーザー光)は、基材の底表面から導波路へ導入可能であり、回折格子および導波路フィルムと相互作用し、導波路フィルムより上部にある検出領域内へと広がる、エバネッセント・テイルを生じる。導波路から反射する光を受信および分析し、導波路フィルムの上にある検出領域において被検体の存在または不在を示す共振状態を検出する。

10

【0020】

ある実施の態様では、米国特許出願 "Substrate Index Modification for Increasing the Sensitivity of Grating-Coupled Waveguides" (代理人整理番号: SP03-081 (WJT003-0036)) に記載される格子結合型の導波路は、未加工の試料中のラベルされていない検体の検出に用いられる。これらの格子結合型の導波路は、屈折率が1.5未満の基材、および基材よりも高い屈折率を有する導波路フィルムを含む。低屈折率の基材は、センサ表面から広がるエバネッセント・テイルの磁界の強さを増し、それゆえに、導波路の検出感度を飛躍的に向上させる。低屈折率の基材の作製に適した材料としては、限定はしないが、フッ化ビニリデン、ポリメチルペンテン、フッ化ビニリデン/ポリメタクリル酸メチルの混合物、またはフッ素重合体(例えば、フルオロアクリレート)などの熱可塑性プラスチック材料が挙げられる。

20

【0021】

1.5よりも大きい屈折率を持つ材料もまた、本発明に用いられる格子結合型の導波路の基材の調製に利用可能である。さらには、ガラス、 SiO_2 、石英、ポリカーボネート(PC)、ポリ(メチルメタクリレート)(PMMA)、ポリイミド(PI)、ポリスチレン(PS)、ポリエチレン(PE)、ポリエチレン・テレフタレート(PET)、ポリウレタン(PU)、または他の材料も格子結合型の導波路の基材の作製に利用可能である。

30

【0022】

別の実施の態様では、アレイ式の格子結合型の導波路(多セル型フォーマット(multi-cell format)など)が、未加工の試料のラベルされていない検体の検出に用いられる。多くの方法がマルチウェル・フォーマットに格子結合型の導波路を作製するために利用可能である。例えば、米国特許出願 "Substrate Index Modification for Increasing the Sensitivity of Grating-Coupled Waveguides" (代理人整理番号: SP03-081 (WJT003-0036)) を参照。ある例では、格子結合型の導波路は、まず、低屈折率の紫外線硬化可能な材料に回折格子を調製し、次に、低屈折率の材料をウェル内に移動し、続いて、ウェルを紫外線に曝露して低屈折率の基材を形成することにより、マイクロプレート・ウェルに内蔵される。低屈折率の基材は、実質的に導波路フィルムでコーティング可能である。

40

【0023】

表面プラズモン共鳴もしくは共振ミラーなどの他のエバネッセント場検出方式もまた、未加工の試料のラベルされていない検体の検出に利用可能である。表面プラズモン共鳴(SPR)は、光線のエバネッセント場から、ある材料における電子と光子の連成振動(electron-photon coupled oscillation)への電磁エネルギーの共鳴移動に基づく。幅広く展開されるSPR技術は、プリズムを利用し、その一表面に全反射を生じさせている。この表面は、表面プラズモン波(SPW)をサポートする薄い金属膜でコーティングされており、SPWの伝搬速度は、材料表面に近接している媒質の屈折率によって、ほぼ決定される

50

。例えば、米国特許第 5, 991, 488 号および同第 4, 889, 427 号の各明細書を参照のこと。表面の屈折率変化は、共鳴が起こる角度を変化させる。表面は、被検体に対して強い親和力を有する捕捉分子の固定化層であらかじめコーティング可能である。これらの捕捉分子は、被検体を表面と結合させ、それによって、表面における屈折率が変更され、SPR 曲線または産出光度における検出可能なシフトを生じる。

【0024】

本発明は、タンパク質、脂質、多糖、核酸、もしくは対象となる他の化合物など、いずれのタイプの検体をも検出または評価することを意図する。本発明に従う検体の具体例としては、限定はしないが、抗原（細菌またはウイルス抗原など）、抗体（感染またはアレルギー反応を引き起こすものなど）、癌マーカー、増殖因子、キナーゼ、ホスファターゼ、プロテアーゼ、代謝酵素、補酵素、Gタンパク質結合受容体、ホスホリパーゼ、ホルモン受容体、Gタンパク質制御因子、成長因子受容体、サイトカイン、栄養因子、シグナル伝達因子(signaling effectors)、神経伝達物質、イオンチャネル、ステロイド、ホルモン、コレステロール、リポ蛋白、ペプチド阻害剤、ペプチド模倣体、治療化合物、非合法ドラッグ、毒物、キレート剤、mRNA、cDNA、cRNA、遺伝子配列片、オリゴヌクレオチド、発現配列標識、細胞片、細胞基盤(cellular substructures)、シナプス、細胞小器官、ガン細胞、組織サンプル、ウイルス、細菌、原生動物、もしくは他の伝染体または病原体などが挙げられる。被検体の分子量は、いずれの範囲でも良い。多くの場合、検出される検体は、少なくとも 10 kDa、20 kDa、30 kDa、40 kDa、50 kDa、60 kDa、70 kDa、80 kDa、90 kDa、100 kDa またはそれ以上の分子量を有する。10 kDa 未満の分子量を持つ検体も、本発明に従って評価することができる。

【0025】

ある実施の態様では、被検体はウイルス性または細菌性抗原、もしくはそれらに対する抗体である。ウイルス性抗原の限定されない例としては、ヒト免疫不全ウイルス（例えば、HIV-1 および HIV-2）、インフルエンザウイルス（例えば、インフルエンザ A、B および C 型ウイルス）、コロナウイルス（例えば、ヒト呼吸器コロナウイルス）、肝炎ウイルス（例えば、肝炎ウイルス A~G）、またはヘルペス・ウイルス（例えば、HSV 1~9）に由来するものが挙げられる。細菌性抗原の限定されない例としては、バチルス属（例えば、炭素菌またはセレウス菌）、エシェリキア属（例えば、大腸菌）、ヘモフィルス属（例えば、インフルエンザ菌またはヘモフィルス・パラインフルエンザ菌）、リステリア菌（例えば、リステリア・モノサイトゲネス菌）、ナイセリア菌（淋菌または髄膜炎菌）、ノカルジア菌（例えば、ノカルジア・アステロイデス）、サルモネラ菌（例えば、チフス菌またはネズミチフス菌）、スタヒロコッカス属（例えば、黄色ブドウ球菌、腐生ブドウ球菌、または表皮ブドウ球菌）、もしくは連鎖球菌（例えば、化膿連鎖球菌または肺炎連鎖球菌）に由来するものが挙げられる。ウイルス抗原または細菌性の抗原としては、例えば、タンパク質、脂質、多糖、または核酸の可能性がある。

【0026】

別の実施の態様では、被検体は癌マーカーである。ガン細胞における多くの遺伝子が過剰発現をする。したがって、これらの遺伝子の発現産物は、関連する癌の診断用のバイオマーカーとして利用可能である。癌マーカーの例としては、限定はしないが、CA125（卵巣癌）、CA15-3 および 27-29（乳癌）、CA19-9（膵臓、結腸、胃癌）、癌胎児性抗原（卵巣、肺、乳、膵臓、および消化管の癌）、 α -フェトプロテイン（肝臓および睾丸癌）、 β -HCG（睾丸癌）、カルシトニンまたはサイログロブリン（甲状腺癌）、および PSA（前立腺癌）が挙げられる。

【0027】

さらに別の実施の態様では、被検体はシグナル伝達経路の成分、またはそれらの結合相手（例えば、阻害剤、刺激剤、アゴニスト、またはアンタゴニスト）である。本発明に従ったシグナル伝達経路の限定されない例としては、アポトーシス経路（カスパーゼカスケード、p53 シグナル伝達経路、ATM/p53 シグナル伝達経路、または Fas シグナ

ル伝達経路)、サイトカイン、増殖因子またはホルモン(E G F受容体シグナル伝達経路、T N Fシグナル伝達経路、インスリン経路、または糖質コルチコイド受容体シグナル伝達)を含む経路、J A K / S T A Tシグナル伝達経路、S T A T 3シグナル伝達経路、P P A Rシグナル伝達経路、T細胞受容体シグナル伝達、B細胞受容体シグナル伝達、イノシトール・リン脂質シグナル伝達、ユビキチンプロテアソーム経路、A k tシグナル伝達、マイトジェン活性化プロテインキナーゼカスケード、酸化的ストレス経路、脂質媒介細胞シグナル伝達(lipid-mediated cell signaling)、およびノルアドレナリン、ドーパミンまたはセロトニン経路などが挙げられる。

【0028】

本発明は、未加工の試料中のラベルされていない検体の検出を特徴とする。本明細書中では、未加工の試料とは、実質的に精製されていない試料のことをいう。これらの試料としては、限定はしないが、血液、血清、唾液、唾、涙液、汗、精液、尿、糞、脳脊髄液、間質液、細胞抽出物、組織抽出物または他の分泌、排泄、または生物由来の液もしくは試料が挙げられる。細菌試料、食物／飲料試料、医薬品試料、臨床試料、土壌試料、もしくは、複合的な組成を有する他の自然発生または人工的な試料もまた、本発明に従って分析可能である。さらには、部分的に精製された試料中の検体も本発明に従って検出可能である。多くの場合、未加工の試料中の調査する検体の量は、試料中の他の有機成分に比べて(例えば、重量%またはモル%による)、少量である。一例を挙げれば、調査する検体は、試料中の総タンパク質含量(または核酸含量)の1重量%、0.5重量%、0.1重量%、または0.01重量%未満の要素となるタンパク質(または核酸)である。別の例では、未加工または部分的に精製された試料は、従来式のゲル電気泳動またはクロマトグラフィー(例えば、タンパク質用のS D S - P A G E、DNA/RNA用のアガロース・ゲル、および脂質または多糖用の薄層クロマトグラフィー)による検体の検出を妨げる、大量の他のタンパク質、核酸、多糖もしくは脂質を含んでいる。

【0029】

さらに別の例では、未加工の試料は培養細胞の溶解物または上清であり、調査する検体は、培養細胞から発現される組み換えタンパクである。本目的に適した宿主細胞としては、真核細胞(例えば、哺乳類細胞、昆虫細胞または酵母)または原核細胞(例えば、細菌)が挙げられる。適切な真核宿主細胞の限定されない例としては、チャイニーズハムスター卵巣細胞(C H O)、ヒーラ細胞、C O S細胞、293細胞、またはC V - I細胞が挙げられる。適切な真核宿主細胞の限定されない例としては、大腸菌(例えば、H B 101、M C 1061)または枯草菌が挙げられる。

【0030】

ある実施の態様では、調査する検体は、宿主細胞中の細胞または膜タンパク質として発現される。宿主細胞の溶解物を、直接、エバネッセント場検出表面に適用し、検体および表面に固定化された捕捉分子の間の相互作用を検出する。他の実施の態様では、調査する検体は分泌タンパク質として発現されるものであり、宿主細胞の溶解物を検出表面に適用して、分泌された検体および表面に固定化された捕捉分子の間の相互作用を検出する。

【0031】

いずれのタイプの捕捉分子も、エバネッセント場検出表面に固定化可能である。これら捕捉分子の限定されない例としては、抗体、擬似抗体、高親和性結合剤、抗原、ペプチド、タンパク質、脂質、多糖、オリゴヌクレオチド、核酸(例えば、c D N A、c R N A、m R N A)、タンパク質-結合リガンド、受容体、小分子、化合物、細胞片、細胞基質、シナプス、細胞小器官、ガン細胞、組織サンプル、ウイルス、細菌、または他の微生物が挙げられる。本発明に適した抗体としては、限定はしないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、合成した抗体、F a bフラグメント、またはF a b発現ライブラリーから産生されるフラグメントが挙げられる。被検体に特異的な抗体の調製方法は、本技術分野において周知である。多くの実施態様において、固定化された捕捉分子のそれぞれの検体に対する結合親和性は、少なくとも 10^{-4} M^{-1} 、 10^{-5} M^{-1} 、 10^{-6} M^{-1} 、 10^{-7} M^{-1} 、 10^{-8} M^{-1} 、もしくは、さらに大きい。

【0032】

非常に多くの方法が、捕捉分子をエバネッセント場検出表面に固定化するのに用いられている。多くの実施態様では、捕捉分子を、接着促進層(adhesion promoting layer)を介して検出表面に付着させる。この層を形成可能な、様々な方法がある。1つは、検出表面をシラン化処理してシラン分子の層を形成する方法であり、もう1つは、自己組織化単層膜(SAM)を利用する方法である。捕捉分子を固定化するさらなる方法としては、

検出表面を反応性基で化学修飾し、また、捕捉分子を適切なリンカーで化学修飾する(Maskos and Southern, NUCLEIC ACIDS RESEARCH, 20: 1679-84 (1992))、

検出表面および捕捉分子を光反応性リンカー／官能基で化学修飾する(国際公開第98/27430号パンフレットおよび国際公開第91/16425号パンフレット)、

クーロン力の相互作用を介して固定化する(欧州特許出願公開第EP0472990A2号明細書)、または、

キレート反応におけるタグを介してカップリングする、などの方法がある。

【0033】

一例を挙げれば、検出表面は、3-(グリシジルオキシプロピル)トリメトキシシラン、(3-アミノプロピル)トリメトキシシラン、またはメルカプトメチルジメチルエトキシシランなどの化合物でシラン化処理される。複数のアミノ基を含むタンパク質(たとえば、抗体)は、シランのエポキシ官能基と反応可能である。このことにより、これらのタンパク質はシラン処理された表面と共有結合することができる。核酸または他の捕捉分子は、アミノ基で修飾可能であり、それによってこれらの分子をシラン化処理した表面に固定化できる。

【0034】

別の例では、検出表面はアビジンでコーティングされ、捕捉分子はビオチン部分と共役する。ビオチンとアビジンの間の高親和性結合によって、捕捉分子が検出表面に安定に付着可能である。

【0035】

接着促進層を、さらに、化学的に修飾し、表面特性を変化させることも可能である。例えば、シラン化処理された表面を、官能性の飽和または不飽和の、有機／ヘテロ有機／無機の分子または誘導体と反応させ、表面の疎水性／親水性バランスを操作することが可能である。さらには、イオンまたは潜在的イオン化合物を用いて、表面における正電荷または負電荷を生成することが可能である。ある例では、3-アミノ-1-プロパノールが、シラン処理された表面特性の改質に用いられている。表面に導入された窒素(アミン基)は、陽子によって四級化され、それゆえに、DNA、RNA、または他の種類の核酸分子などの負電荷を帯びた分子と相互作用するための正電荷を提供する。別の例では、ポリエチレングリコール(PEG)またはその誘導体を用いて、検出表面を、タンパク質が表面に非特異的に吸収されることを防ぐことが可能な親水性にする。

【0036】

反応性または光反応性の基もまた、エバネッセント場検出表面に付着させることができる。これらの基は、捕捉分子が表面に安定的にカップリングするためのアンカー基として機能することができる。ある例では、シラン化処理された検出表面は、エチレンジアミン基に由来するPEGでコーティングされる。エチレンジアミン基は、酸化されたタンパク質(例えば、抗体)中のチオール基と反応し、タンパク質をシラン化処理された表面に共役結合させる。

【0037】

SAMは、例えば、検出表面を両親媒性のアルキルリン酸エステル(例えばリン酸ステアрил)で処理することにより、入手可能である。リン酸の頭部は表面でヒドロキシル基と反応し、両親媒性のアルキルリン酸エステルの秩序のある(ordered)単層を形成する。疎水性のアルキル鎖は、表面を疎水性に変え、よって、抗体または他のタンパク質の物理吸着を可能にする。SAMは、また、例えば、DNA、RNAまたはPNAなどの他の捕

捉分子の固定化にも利用可能である。これらの場合には、両親媒性のリン酸エステル、またはアミンまたはエポキシ基で修飾されたリン酸エステルが利用可能である。

【0038】

接着促進層もまた、例えば、所望の疎水性、接触角または電荷密度などの望ましい表面特性を作り出すため、複数の層を含むことが可能である。中間接着促進層としては、化学結合分子または光化学結合分子の利用もまた、考えられる。こういった層または分子の様々な官能性を調整された組合せによって、個々の分子とは異なる官能性を提供する、超分子構造を創り出すことが可能である。

【0039】

さらには、接着促進は、微小孔層またはゲルをエバネッセント場検出表面に堆積させることによって達成可能である。微小孔層またはゲルの利用は、捕捉分子の表面付着を増進できる。また、被検体の検出感度をも向上させることができる。微小孔層の作製に適した材料としては、限定はしないが、重合体、ガラス、石英、セラミック、または石英ガラスが挙げられる。

【0040】

検出表面に固定化する捕捉分子の濃度は、約 $1 \sim 10$ 分子/ cm^2 、約 $10 \sim 10^2$ 分子/ cm^2 、約 $10^2 \sim 10^3$ 分子/ cm^2 、約 $10^3 \sim 10^4$ 分子/ cm^2 、約 $10^4 \sim 10^5$ 分子/ cm^2 、約 $10^5 \sim 10^6$ 分子/ cm^2 、約 $10^6 \sim 10^7$ 分子/ cm^2 、またはさらに高いなど、いずれかの望ましい範囲であってよい。捕捉分子は、検出表面に無作為に分散されるか、あるいは、所定のパターン（規則正しく間隔を空いた配列など）に組織化されていてもよい。各検出表面は、1種類の捕捉分子のみを含んでもよい。また、2種類以上の捕捉分子を含めることも可能である。

【0041】

本発明は、エバネッセント場検出を利用して未加工または部分的に精製された試料中のラベルされていない検体を検出することの特徴とする。未加工または部分的に精製された試料は、エバネッセント場検出表面に直接適用可能である。試料中の検体と固定化された捕捉分子の間の相互作用は表面の屈折率を変化させる、言い換えれば、共振波長または共振角のシフトを生ずる。これらの共振状態は、関連する屈折率変化を検出する目的で、反射光を観察することにより調べることができる。多くの方法がこの目的のために利用可能である。例えば、格子結合型の導波路が用いられる場所では、屈折率変化はスペクトル調査または角度の調査のいずれかによってモニタ可能である。スペクトルの調査では、わずかに平行になった広帯域光を格子結合型の導波路内に送り、反射光を回収し、スペクトロメータでモニタする。共振波長（ピーク）のスペクトル位置の観察により、エバネッセント場検出表面上または近くで、結合もしくは屈折率変化をモニタ可能である。角度の調査では、公称で単一波長が集中して、一連の照射角を生じ、格子結合型の導波路内に導かれる。反射光は、CCDカメラまたは他の光検知器でモニタ可能である。格子結合型の導波路によって反射された共振角の位置をモニタすることによっても、エバネッセント場検出表面上または近くの結合もしくは屈折率変化をモニタ可能である。

【0042】

多くの実施態様において、エバネッセント場検出はラベルされていない非精製の検体を、 10^{-7} M未満の濃度で検出可能である。場合によっては、エバネッセント場検出は、ラベルされていない非精製の検体を、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M未満などの 10^{-8} M未満の濃度で検出可能である。

【0043】

被検体の所望のシグナルを、非特異的なシグナルを排除することによって、増強することが可能である。これは、検出表面との弱いまたは非特異的な相互作用を分離または減じることにより達成可能である。界面活性剤、塩、もしくは他の添加剤を加えることによってなど、本技術分野で既知のいずれの方法も、本目的のために利用可能である。検出表面もまた、前処理して非特異的結合部位を遮断することができる。さらには、比較対照サンプルも利用可能である。これらの比較対照用の試料で観察される屈折率変化は、ベースラ

イン変化として利用可能であり、目的の試料で観察される屈折率変化から差し引くことによって非特異的結合の寄与を排除または減じることができる。

【0044】

未加工または部分的に精製された試料を用いたエバネッセント場検出は、多様な用途に利用可能である。これらの用途の限定されない例としては、診断（例えば、血液または他の体液中の病原体またはそれらの抗体の検出）、バイオテロの検知または防止（例えば、食物または環境試料中の炭素菌または天然痘の検出）、癌スクリーニング（例えば、組織試料からの癌マーカーの検出）、分子間相互作用（例えば、タンパク質-タンパク質、タンパク質-核酸、タンパク質-脂質、タンパク質-炭水化物、タンパク質-小分子、核酸-核酸、核酸-小分子、または脂質-小分子相互作用の検出）、ハイスループット・スクリーニング（例えば、キナーゼ、ホスファターゼ、イオン・チャネル、Gタンパク質結合受容体、プロテアーゼ、または他の薬剤ターゲット）、トキシコプロテオミクス、遺伝子発現、スプライシング変異体の検出、単一ヌクレオチド多型、または結合活性の速度パラメータの決定（例えば、親和定数）が挙げられる。これらの用途は、一般に、未加工の試料をエバネッセント場検出表面に適用し、表面の屈折率変化をモニタして、試料中の検体と固定化された捕捉分子の間の相互関係を決定することを包含する。分子間相互作用の検出または評価を含む他の用途もまた、本発明に従って行うことが可能である。

10

【0045】

非精製のラベルされていない検体の検出は、定性または定量のいずれかで行うことが可能である。定量分析では、被検体の既知の濃度からなる試料を参照として用いて、検出表面における濃度に依存した屈折率変化を決定することができる。次に、テスト試料中の被検体の濃度を、参照試料と比較することにより決定可能である。

20

【0046】

上記の実施態様および下記の実施例は説明のために用いるのであって、限定するものではないことが、理解されるべきである。本発明の範囲内での様々な変更および修正は、本明細書から、当業者にとって明らかとなるであろう。

【実施例】

【0047】

ラベルされていないストレプトアビジンおよび固定化されたビオチンの間の相互関係の評価には、コーニング・インコーポレイテッド社によって開発されたラベルフリー検出（LID）系を利用した。このLID方式は、マルチウェル光学式読取装置および使い捨てのマイクロプレート（例えば、96-または384-ウェルマイクロプレート）からなる。マイクロプレートの各ウェルは、エバネッセント場検出のための格子結合型導波路を含む。検出表面は、第1級アミン基を含む分子を付着させる界面化学層（surface chemistry layer）を有する（例えば、ビオチン-アミン）。ストレプトアビジンまたは他の被検体は検出表面と結合するため、表面における屈折率が変化する。光学モードは検出表面に近接した屈折率変化を伝播し、察知する。「共鳴する」光のみが強く反射し、共鳴の正確な波長は、センサ表面の屈折率の感度関数である。

30

【0048】

典型的な処理においては、マイクロプレートのベースラインの読み取りを、まず最初に行う。結合相手を加えることにより、ベースラインからのピコメーター（pm）のシフトとして表示される、検出表面の屈折率の変化が起こる。各マイクロプレートは、結合相手の添加前、添加中および添加後に、光学式読取装置で読み取られる。共振波長のシフト（「応答（pm）」）を時間関数としてプロットする。

40

【0049】

細胞溶解物は、2 mg/mlのストックを100 μm/mlの最終濃度まで希釈して調製した。コーニング社製の96-ウェル透明ポリスチレン未処理平底プレート（コーニング社カタログ#3370）をソースプレートの調製に用いた。LID機器のマルチチャネル・ロボット式ピペッター（multi-channel robotic pipettor）によって試料溶液の効率的なピックアップを容易にするため、ソースプレートの各ウェルに余分の溶液（extra solut

50

ion)を含めた。1 Xリン酸緩衝生理食塩水 (PBS; 1 mMの KH_2PO_4 、10 mMの Na_2HPO_4 、137 mMの NaCl 、および2.7 mMの KCl)の溶液を、ベースライン測定用の最初の追加工程として用いた。1 XのPBSを溶媒とした200 nM (12 $\mu\text{g}/\text{ml}$)のストレプトアビジン (シグマ社カタログ#S-4762)溶液を、ストレプトアビジンのみのソースウェルに用いた。細胞溶解物を同一濃度で調製し、ソースプレートにおける最終濃度が等しくなるようにした。

【0050】

ソースプレートを以下のようにセットした：PBSを、ソースプレートのカラム1および2のウェルA~Hに加えた (図1)。ストレプトアビジンを含む細胞溶解物 (STR + lys) を、ソースプレートのカラム7および8のウェルA、B、およびCに加えた。細胞溶解物のみ (lys) をカラム7および8のウェルC、D、およびGに加えた。ストレプトアビジンのみ (STR) をカラム7および8のウェルEおよびHに加えた。

【0051】

ソースプレート上の試料を選択し、調査用のLIDマイクロプレートに移した。マイクロプレートを以下のようにセットした：ビオチン-アミンを、150 mMのホウ酸緩衝液 (pH 9.2) を溶媒とした10 μM (3.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$) のビオチン-アミン (Pierce社カタログ#21346) 溶液を用いて調製した。150 mMのホウ酸緩衝液 (pH 9.2) を溶媒とした200 mMのエタノールアミン (EA) 溶液も調製した。固定化は、75 μl のビオチン-アミン溶液 (「BIOTIN」)、または、75 μl のエタノールアミン (EA) 溶液 (「EA」) を関連するウェルに添加して行い、続いて、室温で30分培養した (図1)。

【0052】

精製されたストレプトアビジンおよび固定化されたビオチンの間の相互作用を、最初に評価した (図2)。ビオチンを、ターゲットとしてマイクロプレートに固定化した。PBSを加えて、ベースラインの読み取りを行った (A点以前)。精製されたストレプトアビジンを次に加え、固定化されたビオチンへの結合によって、バルク率の増加 (ベースラインからのピコメーターシフト、すなわち、「応答 (pm)」として表示される) を生じさせた (A点-B点間)。ホウ酸緩衝液 (pH 9) を溶媒としたエタノールアミンを加えることにより、バルクシフトさせ (B点以降)、PBS緩衝液で洗浄して除去した (C点以降)。応答曲線A~Eは、固定化されたビオチンに加えられた、精製されたストレプトアビジンの複製であり；応答曲線F~Gは、固定化されたデキストランに加えられた精製されたストレプトアビジンであり (ターゲット陰性のコントロール)；および、応答曲線Hは、固定化されたエタノールアミンに加えられた、精製されたストレプトアビジンである (別のターゲット陰性の比較対照)。

【0053】

図3は、精製されたストレプトアビジンと固定化されたビオチンとの結合に起因する、バルク率のシフトを示す、補正されたLID応答曲線を描いている。図2の応答曲線F~Hを平均し、次に応答曲線A~Eの平均から差し引いた。得られた曲線 (図3) は、ストレプトアビジンのビオチンへの結合に起因する、バルク率のシフトを示している (A点以降)。ホウ酸緩衝液を溶媒としたエタノールアミン (B点-C点間) は、ターゲット領域と結合していないように見え、また、洗浄に相当する位置 (C点以降) では、ストレプトアビジンのビオチンへの結合は壊れていなかった。

【0054】

図4は、非精製のストレプトアビジンと固定化されたビオチンを用いた試験結果を示している。図2に示されるストレプトアビジンの濃度と同一のヒール細胞の全細胞溶解物をLIDマイクロプレートに加えた。応答曲線A~Bは、固定化されたビオチンに加えられたストレプトアビジンを含む細胞溶解物の複製であり；応答曲線C~Dは、固定化されたビオチンに加えられたストレプトアビジンを含む細胞溶解物の複製であり (シグナル応答における溶解物の影響を測定するため)；応答曲線Eは、固定化されたビオチンに加えられた、精製されたストレプトアビジン (陽性の比較対照として)；応答曲線Fは、デキス

トラン上のストレプトアビジンを含む細胞溶解物であり（非特異的結合を測定するための陰性比較対照）；および、応答曲線 G は、デキストラン上のストレプトアビジンを含まない細胞溶解物である（非特異的結合を測定するための別の陰性比較対照）。図 2 のように、PBS を加えてベースラインの読み取りを行った（図 4 における A 点以前）。細胞溶解物試料またはコントロールを加え、固定化されたビオチンとの相互作用に起因したバルク率のシフトを生じさせた（図 4 における A 点－B 点間）。ホウ酸緩衝液を溶媒としたエタノールアミンを次に加え（B 点以降）、PBS 緩衝液で洗浄して除去した（C 点以降）。

【0055】

図 4 の反応曲線 A および H は、ノイズが多かったため、除外した。反応曲線 C～D の値を平均し、この値を反応曲線 B から除去し、次に、F～G の平均についての補正を行い、図 5 に示すストレプトアビジンのビオチンへの結合の、補正された応答を得た。

10

【0056】

本発明の上述の説明は、実例および説明を提供するものであり、本発明を、完全なものとして、または開示された内容のみに厳格に限定されることを意図するものではない。上述の技術と調和する修正および変化が、本発明を実践することによって得られるであろう。ゆえに、本発明の範囲が、特許請求の範囲およびその均等物によって定義されることを意味する。

【図面の簡単な説明】

【0057】

【図 1】本発明に用いられるソースプレートおよびラベルフリー検出（L I D）試験プレートの配置を示す表。

20

【図 2】精製されたストレプトアビジンと固定化されたビオチンの間の相互作用の L I D 検査。

【図 3】精製されたストレプトアビジンと固定化されたビオチンの間の相互作用に起因するバルク率のシフトを示す補正後の L I D 応答曲線。

【図 4】細胞溶解物中のストレプトアビジンと固定化されたビオチンの間の相互作用の L I D 検査の実証。

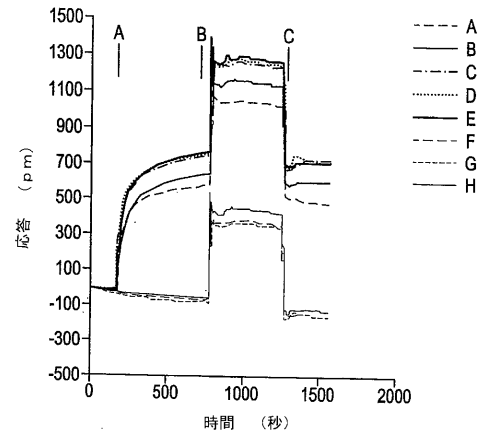
【図 5】細胞溶解物中のストレプトアビジンと固定化されたビオチンの間の相互作用に起因するバルク率のシフトを示す補正後の L I D 応答曲線。

【図 1】

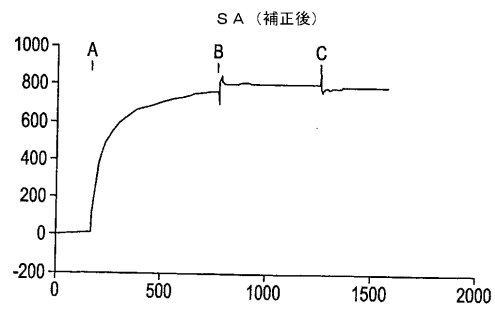
LID試験プレート											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN					
B		BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN					
C		BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN					
D		BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN					
E		BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN	BIOTIN					
F		DEX	DEX	DEX	DEX	DEX					
G		DEX	DEX	DEX	DEX	DEX					
H		EA	EA	EA	EA	EA					

ソース											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PBS					STR+lys	STR+lys		EA	EA	
B	PBS					STR+lys	STR+lys		EA	EA	
C	PBS					lys	lys		EA	EA	
D	PBS					lys	lys		EA	EA	
E	PBS					STR	STR		EA	EA	
F	PBS					STR+lys	STR+lys		EA	EA	
G	PBS					lys	lys		EA	EA	
H	PBS					STR	STR		EA	EA	

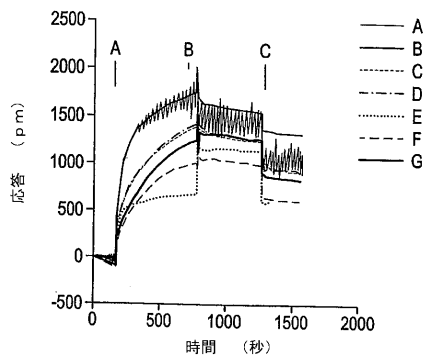
【図 2】



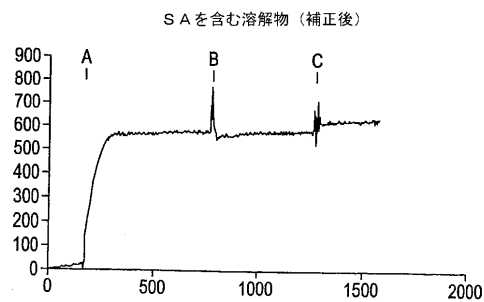
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2005/047564
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/543		
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		
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, BIOSIS, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2004/191765 A1 (MOZDY ERIC J ET AL) 30 September 2004 (2004-09-30) abstract page 1, paragraph 3 page 4, last paragraph	1-26
P, X	WO 2005/012886 A (CORNING INCORPORATED; YUEN, PO, KI; QUAN, FREDERIC, J., Y; MOZDY, ERIC) 10 February 2005 (2005-02-10) abstract page 2, paragraph 2 page 5, lines 26-28	1-26
A	WO 02/35214 A (RISØE NATIONAL LABORATORY; HORVATH, ROBERT; PEDERSEN, HENRIK, CHRESTEN) 2 May 2002 (2002-05-02) the whole document	1-26
----- -/--		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.		☒ 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 "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 June 2006		Date of mailing of the international search report 06/07/2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Weijland, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/047564

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 2005/033680 A (CORNING INCORPORATED; MOZDY, ERIC J; GOLLIER, JACQUES; PIECH, GARRETT) 14 April 2005 (2005-04-14) abstract . -----	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family membersInternational application No
PCT/US2005/047564

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004191765 A1	30-09-2004	NONE	
WO 2005012886 A	10-02-2005	EP 1616169 A1	18-01-2006
WO 0235214 A	02-05-2002	AU 1698202 A	06-05-2002
WO 2005033680 A	14-04-2005	US 2005070027 A1	31-03-2005

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, 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, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, 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, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA05 QQ03 QQ15 QQ16 QQ42 QQ52 QR55 QR82 QS32
QS36 QX01