



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21), (22) Заявка: 2004118490/15, 20.11.2002

(30) Приоритет: 20.11.2001 FR 01/15011

(43) Дата публикации заявки: 20.04.2005 Бюл. № 11

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 21.06.2004

(86) Заявка РСТ:
FR 02/03974 (20.11.2002)

(87) Публикация РСТ:
WO 03/04453 (30.05.2003)

Адрес для переписки:
103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент", пат.пов. А.П.Агурееву

(71) Заявитель(и):
ДИАГНОСТИКА СТАГО (FR),
БИБЕТТ Жером (FR)

(72) Автор(ы):
БИБЕТТ Жером (FR),
БОДРИ Жан (FR),
РУССО Алэн (FR)

(74) Патентный поверенный:
Агуреев Александр Павлович

(54) СПОСОБ ОБНАРУЖЕНИЯ АНАЛИЗИРУЕМОГО(ЫХ) ВЕЩЕСТВА(ВЕЩЕСТВ) ПРИ ПОМОЩИ КОЛЛОИДНЫХ МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ

Формула изобретения

1. Способ обнаружения и/или количественного определения, по меньшей мере, одного анализируемого вещества в жидкой среде, характеризующийся тем, что в нем используют магнитные коллоидные частицы, функционализированные по поверхности, по меньшей мере, одним специфическим лигандом подлежащего обнаружению и/или количественному определению анализируемого вещества, и тем, что он содержит следующие этапы:

1) соединение указанных частиц с указанной анализируемой средой;

2) воздействие на указанную среду магнитным полем, имеющим магнитную индукцию, достаточную для структурирования указанных магнитных частиц в виде цепочек;

3) поддержание воздействия этого магнитного поля в течение времени, достаточного для обеспечения связывания или взаимодействия рассматриваемого анализируемого вещества, по меньшей мере, с двумя специфическими лигандами, присутствующими соответственно на двух последовательных соседних частицах цепочки;

4) прекращение воздействия магнитным полем; и

5) определение присутствия и/или отсутствия указанного анализируемого вещества и, при необходимости, определение его концентрации в указанной жидкой среде через присутствие или отсутствие постоянной(ых) цепочки(чек) магнитных коллоидных частиц.

2. Способ по п.1, характеризующийся тем, что указанные частицы являются сверхпарамагнитными коллоидными частицами.

3. Способ по п.2, характеризующийся тем, что указанные сверхпарамагнитные коллоидные частицы получают путем совместного осаждения полимера с водной ферромагнитной жидкостью или путем эмульгирования с ферромагнитной жидкостью в органической фазе.

4. Способ по п.1, характеризующийся тем, что коллоидные магнитные частицы имеют размер, находящийся в пределах от 5 до 10000 нм и предпочтительно от 100 до 500 нм.

5. Способ по п.1, характеризующийся тем, что специфические лиганды закрепляют на поверхности частиц при помощи адсорбционных взаимодействий, ковалентных и/или обусловленных высокой степенью сродства.

6. Способ по п.5, характеризующийся тем, что закрепленный лиганд является одним из членов связи с высокой степенью сродства.

7. Способ по п.6, характеризующийся тем, что лиганд выбирают из членов пар (поли)углевод/электин, биотин или биотинсодержащие соединения/авидин или стрептавидин, рецептор протеинов и его специфический лиганд, и гаптен/антитело.

8. Способ по п.5, характеризующийся тем, что закрепленный лиганд является соединением, которое выбирают из группы, в которую входят пептиды, протеины, включая гликопротеины, липопротеины, и другие близкие к ним или производные от них структуры, в свободном виде или в комплексе, иммуноглобулины, нуклеиновые кислоты, такие как ДНК или РНК или их гомологи, сахараиды, такие как моносахариды или бисахаридаы, олигосахаридаы и полисахаридаы, липиды, гормоны, рецепторы, метаболиты или другие биологические вещества.

9. Способ по п.1, характеризующийся тем, что определенным веществом (мишенью) являются антигены, антитела, нуклеиновые кислоты и/или белки.

10. Способ по п.1, характеризующийся тем, что анализируемую среду сначала подвергают предварительной обработке для придания искомому анализируемому веществу способности реагировать, по меньшей мере, с двумя молекулами одного из специфических лигандов.

11. Способ по п.10, характеризующийся тем, что предварительная обработка включает в себя функционализацию анализируемого вещества одним из членов пары связи с высокой степенью сродства.

12. Способ по п.1 для обнаружения и/или количественного определения анализируемого(ых) вещества(веществ) типа антител, предназначенными для борьбы с патогенными возбудителями, такими как вирусы, бактерии или простейшие и другие возбудители инфекционных заболеваний, антител для борьбы с опухолями, антител для борьбы с аллергенами, или аутоиммунных антител.

13. Способ по п.1 для обнаружения и/или количественного определения антигенов, таких как свободные антигены, такие как протеины и факторы крови, такие как факторы свертывания крови, метаболиты, гормоны, медиаторы, или антигены, связанные с носителями, такие как поверхностные антигены микроорганизмов, мембранные рецепторы, антигены групп крови и главной системы гистологической совместимости.

14. Способ по п.1, характеризующийся тем, что коллоидные магнитные частицы дополнительно являются носителями вспомогательного маркера.

15. Способ по п.14, характеризующийся тем, что маркер может быть охарактеризован визуально, оптически, механически и/или электрически.

16. Способ по одному из п.14 или 15, характеризующийся тем, что маркер выбирают среди цветных пигментов и флуоресцентных или фосфоресцентных веществ.

17. Способ по п.1, характеризующийся тем, что используют несколько популяций магнитных коллоидных частиц, соответственно функционализированных, по меньшей мере, одним специфическим лигандом подлежащих обнаружению анализируемых веществ.

18. Способ по п.1, характеризующийся тем, что магнитное поле является постоянным.

19. Способ по п.18, характеризующийся тем, что постоянное магнитное поле имеет магнитную индукцию от 5 до 50 мТл, предпочтительно от 10 до 100 мТл.

20. Способ по п.1, характеризующийся тем, что магнитное поле является переменным.

21. Способ по п.1, характеризующийся тем, что характеризацию цепочек осуществляют непосредственно путем визуального наблюдения через микроскоп и/или, в случае необходимости, опосредованно при помощи любого оптического, механического или электрического способа.

22. Способ по п.21, характеризующийся тем, что характеризацию цепочек осуществляют

при помощи фотометрии или турбидиметрии.

23. Способ по п.21, характеризующийся тем, что характеризацию цепочек осуществляют при помощи обработки изображения.

24. Способ по п.23, характеризующийся тем, что для получения изображения используют цифровую камеру ССD.

25. Способ по одному из пп.21-24, характеризующийся тем, что в качестве источника света используют лазер.

26. Набор реактивов для обнаружения анализируемого вещества в жидкой среде, отличающийся тем, что включает в себя, по меньшей мере, магнитные коллоидные частицы, функционализированные по поверхности, по меньшей мере, одним специфическим лигандом вещества-мишени.

27. Применение способа по одному из пп.1-25 для обнаружения и/или количественного определения, по меньшей мере, одного анализируемого вещества в микрожидкостной системе.

RU 2004118490 A

RU 2004118490 A