

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成 18 年 1 月 5 日 (2006.1.5)

【公表番号】特表 2001-516589 (P2001-516589A)

【公表日】平成 13 年 10 月 2 日 (2001.10.2)

【出願番号】特願 2000-511896 (P2000-511896)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/28 (2006.01)

C 0 9 K 11/07 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/535 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 Q 1/28

C 0 9 K 11/07

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/535

【手続補正書】

【提出日】平成 17 年 8 月 1 日 (2005.8.1)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

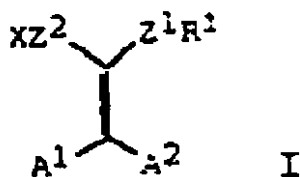
【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】ペルオキシダーゼ酵素と、過酸化物及び式 I

【化 1】



[式中、

X は、1 - 20 炭素原子の置換した又は未置換のアルキル、置換した又は未置換のアリール、置換した又は未置換のアラルキル基、1 - 20 炭素原子を有する置換した又は未置換のアルキル又はアリールカルボキシ基、トリ (C₁ - C₈ アルキル) シリル基、SO₃⁻ 基、グリコシル基及び式 - PO (OR') (OR'') (式中 R' と R'' は、1 - 20 炭素原子の置換した又は未置換のアルキル、置換した又は未置換のアリール及び置換した又は未置換のアラルキル基、トリアルキルシリル基、アルカリ金属カチオン及びアルカリ土類カチオンから独立して選択される) のホスホリル基から選択され、

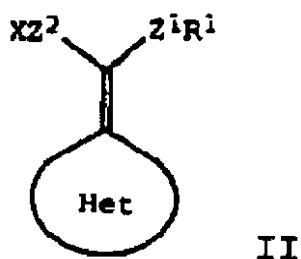
Z¹ と Z² は、O と S 原子から独立して選択され、

R¹ は、化学ルミネセンス及び式 A¹ A² C = O (式中、A¹ と A² は、少なくとも一つが水素ではなく且つ A¹ と A² が共に水素原子でない場合にヘテロサイクリック又はカルボサイクロック環と一緒に結合できるという条件で、水素、アルキル、置換したアルキル、アリール、置換したアリール、アラルキル、置換したアラルキル、ヘテロアリール、置換したヘテロアリール、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アリールオキシ、及びアルキルチオ基から独立して選択される) を有する電子励起状態化合物を生じるための C, N, O, S, P, Si 及びハロゲン原子から選択される 1 から 50 までの非水素原子を有する

有機基である]の少なくとも1の化合物
とを反応させることを含む、化学ルミネセンス生成方法。

【請求項2】 式Iの化合物が、式II

【化2】

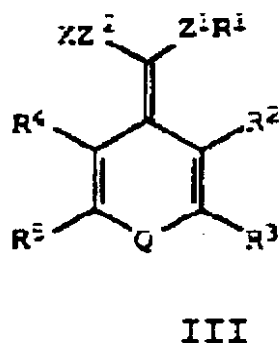


[A^1 と A^2 が、N、O及びS原子から選択される少なくとも1のヘテロ原子を含む、少なくとも1の5又は6員環を含むヘテロサイクリック環基Hetを形成するように一緒に結合される]

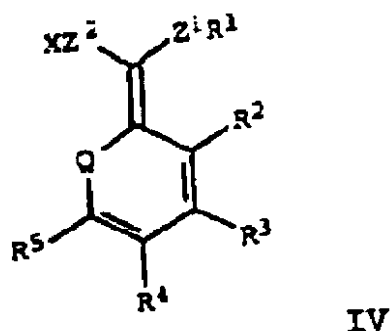
の化合物から選択される請求項1記載の方法。

【請求項3】 式IIの化合物が、式IIIの化合物と式IVの化合物：

【化3】



【化4】

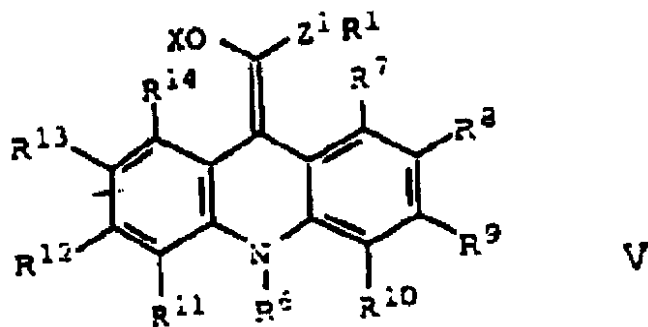


[式中、Qは、 NR^6 、O及びS原子から選択され、 R^2 から R^5 のそれぞれは、生成すべき化学ルミネセンスを与えるC、H、N、O、S、P及びハロゲン原子から選択される1から50までの原子を含む置換基であり、且つ隣接した基の対は少なくとも1の5又は6員環を含むカルボサイクリック又はヘテロサイクリック環系を形成するために一緒に結合でき、且つ R^6 はC、N、O、S、P、Si及びハロゲン原子から選択される1から50までの非水素原子を含む有機基である]

から選択される請求項2記載の方法。

【請求項4】 式IIIの化合物において、Qが NR^6 基であり、 Z^2 がO原子と式V：

【化5】



[式中、 R^7 から R^{14} は、C、H、N、O、S、P、Si 及びハロゲン原子から選択される 1 から 50 までの原子を含むことができ且つ生成すべき化学ルミネセンスを与える独立的な置換基である]

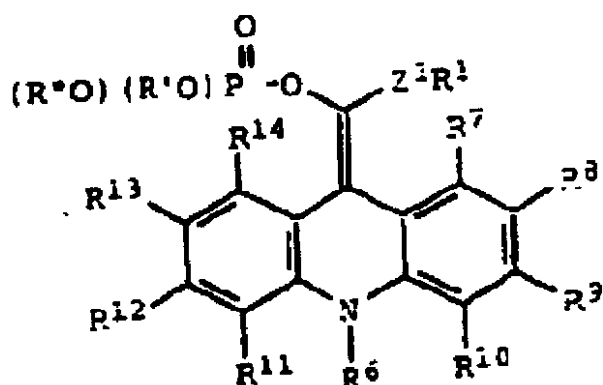
を有する請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】 R^7 から R^{14} の少なくとも 1 つがハロゲン又はアルコキシ基であり、 R^7 から R^{14} の残りが水素である請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】 R^6 が、置換した又は未置換の $C_1 - C_4$ アルキル、置換した又は未置換のベンジル、アルコキシアルキル及びカルボキシアルキル基から選択される請求項 4 記載の方法。

【請求項 7】 式 V の化合物が、式：

【化 6】



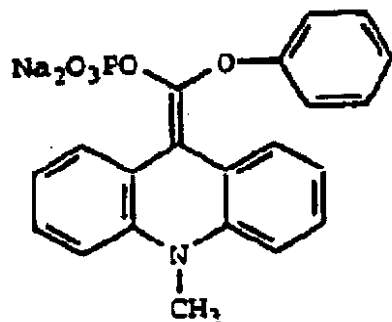
[式中、 R と R'' は、1 - 20 炭素原子の置換した又は未置換のアルキル、置換した又は未置換のアリール、置換した又は未置換のアラルキル基、トリアルキルシリル基、アルカリ金属カチオンとアルカリ土類カチオンから独立して選択される]

を有する請求項 4 から 6 のいずれかに記載の方法。

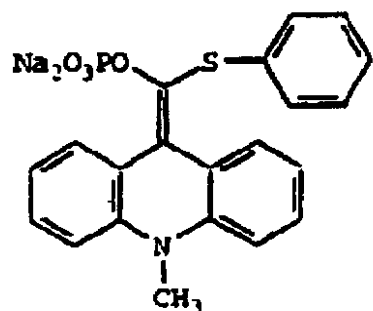
【請求項 8】 R と R'' がアルカリ金属カチオンである請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】 式 V の化合物が、

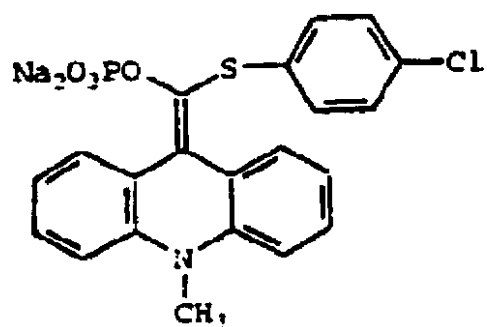
【化 7】



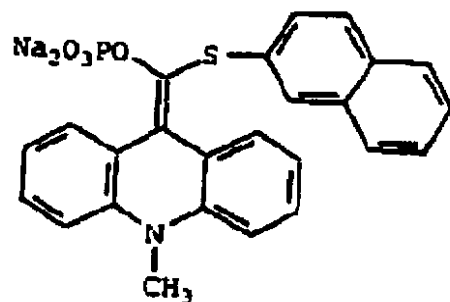
【化 8】



【化 9】



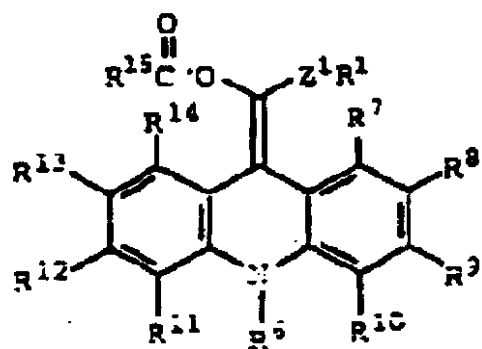
【化 10】



から選択される請求項 4 記載の方法。

【請求項 10】 式 V の化合物が、式：

【化 11】



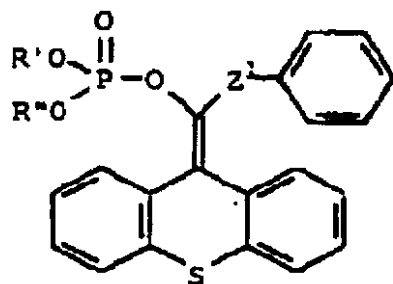
[式中、 R^{15} は 1 - 20 炭素原子を有する置換した又は未置換のアルキル又は置換した又は未置換のアリール基である]

を有する請求項 4 記載の方法。

【請求項 11】 R^7 から R^{14} のそれぞれが水素原子である請求項 10 記載の方法。

【請求項 1 2】 式 I I I の化合物において、Q が S 原子であり、 Z^2 が O 原子であり、 R^1 がフェニル基であり且つ X がホスホリル基であり且つ式：

【化 1 2】



[式中、R と R " は、1 - 20 炭素原子の置換した又は未置換のアルキル、置換した又は未置換のアリール、置換した又は未置換のアラルキル基、トリアルキルシリル基、アルカリ金属カチオンとアルカリ土類カチオンから独立して選択される]

を有する請求項 3 記載の方法。

【請求項 1 3】 A^1 と A^2 の一方が置換した又は未置換のアリール基であり、他方が水素、置換した又は未置換のアルキル、アルコキシ、アルキルチオ及びアリール基から選択される請求項 1 記載の方法。

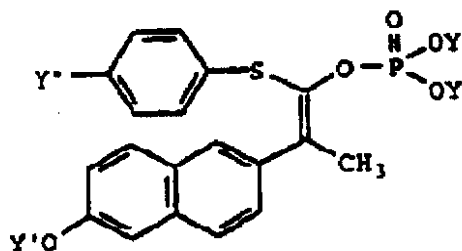
【請求項 1 4】 A^1 と A^2 の少なくとも 1 つが、1 - 4 縮合カルボサイクリック又はヘテロサイクリック 5 又は 6 員環を含むアリール基である請求項 1 記載の方法。

【請求項 1 5】 前記アリール基が、非水素置換体によって置換できるフェニル、ナフチル、アントリル及びピレニル基から選択される請求項 1 4 記載の方法。

【請求項 1 6】 前記非水素置換体が、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ及び OY^1 (ここで Y^1 は水素又はアルカリ金属イオンである) から選択される請求項 1 5 記載の方法。

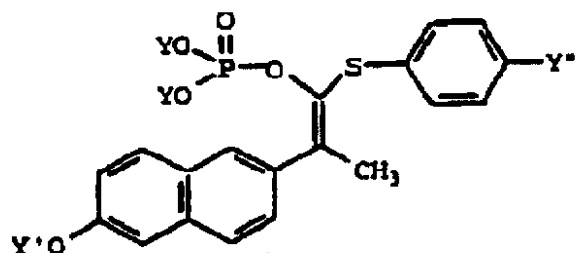
【請求項 1 7】 式 1 の化合物が、構造

【化 1 3】



又は

【化 1 4】



[式中、Y は、水素、アルカリ金属イオン又は置換した又は未置換のアルキル、置換した又は未置換のアリール、置換した又は未置換のアラルキル及びトリアルキルシリル基から選択され、Y は水素、アルカリ金属イオン、アルキルカルボキシエステル、アリールカルボキシエステル、置換した又は未置換のアルキル、置換した又は未置換のアリール、置

換した又は未置換のアラルキル基及びトリアルキルシリル基から選択され且つ Y " が水素とハロゲンから選択される]

を有する請求項 14 から 16 のいずれかに記載の方法。

【請求項 18】 Y が水素又はアルカリ金属イオンである請求項 17 記載の方法。

【請求項 19】 Y " がクロリンである請求項 17 または 18 記載の方法。

【請求項 20】 ペルオキシダーゼ酵素が、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼ、ミエロペルオキシダーゼ、ハロペルオキシダーゼ、バナジウムブロモペルオキシダーゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、真菌ペルオキシダーゼ、ダイズペルオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ模倣化合物及びペルオキシダーゼ接合体から選択される請求項 1 から 19 のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】 ペルオキシダーゼ酵素がホースラディッシュペルオキシダーゼである請求項 20 の方法。

【請求項 22】 ペルオキシダーゼ接合体が、ハプテン、抗体、タンパク質、核酸及びオリゴヌクレオチドからなる群から選択される生物学的分子に結合したペルオキシダーゼを含む請求項 20 または 21 記載の方法。

【請求項 23】 過酸化物が、過酸化水素、尿素過酸化物、ペルオキシホウ酸塩及びアルキルヒドロペルオキシドから選択される請求項 1 から 22 のいずれかに記載の方法。

【請求項 24】 化学ルミネセンスを増大する有効量で少なくとも 1 のエンハンサー化合物を更に含み、エンハンサー化合物が、好ましくは、フェノール化合物、芳香族アミン及びアリールホウ酸化合物から選択される請求項 1 から 23 のいずれかに記載の方法。

【請求項 25】 非イオン性又はカチオン性界面活性剤を更に含む請求項 1 から 24 のいずれかに記載の方法。

【請求項 26】 ルミネセントエネルギー転移剤を更に含む請求項 1 から 25 のいずれかに記載の方法。

【請求項 27】 (a) 過酸化物及びペルオキシダーゼ酵素と、少なくとも 1 つの請求項 1 から 19 のいずれかに記載の式 I の化合物とを反応させること；及び

(b) 過酸化物又はペルオキシダーゼのいずれか一方である分析物の存在又は量に、生成した化学ルミネセンスの量を関係付けること、
を含む、請求項 1 に記載の化学ルミネセンス反応による測定方法中の分析物の存在又は量の検出方法。

【請求項 28】 分析物が過酸化物またはペルオキシダーゼ酵素である請求項 27 記載の方法。

【請求項 29】 (a) 過酸化物及び特異的結合パートナーに結合したペルオキシダーゼ酵素を含むペルオキシダーゼ接合体と、少なくとも 1 つの請求項 1 から 19 のいずれかに記載の式 I の化合物とを反応させること；及び

(b) 過酸化物又はペルオキシダーゼのいずれか一方である分析物の存在又は量に、生成した化学ルミネセンスの量を関係付けること、
を含む、請求項 1 に記載の化学ルミネセンス反応による測定方法中の分析物の存在又は量の検出方法。

【請求項 30】 特異的結合パートナーが、ハプテン、抗原、抗体、核酸及びオリゴヌクレオチドからなる群から選択される請求項 29 記載の方法。

【請求項 31】 ペルオキシダーゼ接合体が分析物または第 2 の特異的結合パートナーに結合し且つ該第 2 の特異的結合パートナーが分析物に結合する請求項 29 記載の方法。

【請求項 32】 好ましくは、サンドイッチアッセイ、核酸ハイブリダイゼーションアッセイ、ウェスタンブロットアッセイ、サザンブロットアッセイ、及び、ノーザンブロットアッセイからなる群から選択される免疫アッセイで用いられる請求項 29 記載の方法。

【請求項 33】 前記サンドイッチアッセイが競合アッセイである、請求項 32 記載の方法。

【請求項 34】 (a) オキシダーゼ酵素とそれによって過酸化水素を生成するための基質とを反応させること；

(b) 該過酸化水素と、ペルオキシダーゼ酵素及び請求項 1 から 15 のいずれかに記載の式 I の化合物とを反応させること；及び

(c) 分析物の存在又は量に生成した化学ルミネセンスの量を関係付けること、を含む、請求項 1 に記載の化学ルミネセント反応による測定法におけるオキシダーゼ酵素又は該オキシダーゼ酵素の基質から選択される分析物の測定方法。

【請求項 35】 水溶液中に：

a) 請求項 1 から 19 のいずれかに記載の式 I の化合物、及び

b) 過酸化物、

を含む、ペルオキシダーゼ酵素の存在中で請求項 1 に記載の化学ルミネセンスを生じる試薬組成物。

【請求項 36】 フェノール化合物、芳香族アミン及びアリールホウ酸化合物から選択される少なくとも 1 のエンハンサーを、化学ルミネセンスを増大するための有効量で更に含む請求項 35 記載の組成物。

【請求項 37】 少なくとも 1 のエンハンサーが、p - フェニルフェノール、p - ヨードフェノール、p - プロモフェノール、p - ヒドロキシケイ皮酸、p - イミダゾリルフェノール、アセトアミノフェン、2, 4 - ジクロロフェノール、2 - ナフトール及び 6 - プロモ - 2 - ナフトールから選択される請求項 36 記載の組成物。

【請求項 38】 ポリオキシエチレン化アルキルフェノール、ポリオキシエチレン化アルコール、ポリオキシエチレン化エーテル及びポリオキシエチレン化ソルビトールエステルから選択される少なくとも 1 の非イオン性界面活性剤を更に含む請求項 36 記載の組成物。

【請求項 39】 カチオン性界面活性剤を更に含む請求項 36 から 38 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 40】 ルミネセンスエネルギー転移剤を更に含む請求項 36 から 39 のいずれかに記載の組成物。