

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2007 年 11 月 8 日 (08.11.2007)

PCT

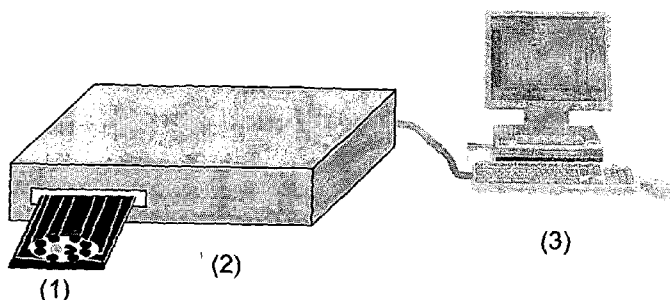
(10) 国际公布号
WO 2007/124669 A1

- (51) 国际专利分类号:
G01N 33/53 (2006.01) *G01N 27/26* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2007/001237
- (22) 国际申请日: 2007 年 4 月 16 日 (16.04.2007)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
200610040051.2
2006 年 4 月 30 日 (30.04.2006) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 南京大学
(NANJING UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市汉口路 22 号, Jiangsu 210093 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 鞠焜先(JU, Huangxian)
[CN/CN]; 中国江苏省南京市汉口路 22 号, Jiangsu 210093 (CN)。
- (74) 代理人: 南京知识律师事务所(NANJING LAW OFFICE OF INTELLECTUAL PROPERTIES); 中国江苏省南京市广州路 177 号 2 楼 B 座, Jiangsu 210024 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU,

[见续页]

(54) Title: APPARATUS FOR ELECTROCHEMICAL SCREENING AND EARLY DIAGNOSIS OF MALIGNANT TUMOR

(54) 发明名称: 恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪



(57) Abstract: An apparatus for electrochemical screening and early diagnosis of malignant tumor comprises an immunoassay chip (1), a time resolution multi-channel constant potential device (2), and a data processing and displaying system (3). The immunoassay chip (1) is connected with the time resolution multi-channel constant potential device (2) via an interface, and the time resolution multi-channel constant potential device (2) is connected with the data processing and display system (3) via an interface. The immunoassay chip

(1) comprises eight work electrodes fixed respectively with a different antigen molecule functional film, Ag wires (a), an Ag/AgCl reference electrode (b), a carbon counter electrode (c), and an insulating film (d). Some of the enzyme labelled antibodies are connected to the surfaces of the electrodes to acquire catalyzing current and acquire indirectly the quantities of the eight antigens to be measured in the solution, by means of the antigen molecules fixed on the electrode surfaces competing with the antigen molecules for the enzyme labelled antibodies in the warm culture solution. The assay results are processed by the software and displayed in visual image colors with legibility.

(57) 摘要:

一种恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪, 包括免疫测定芯片(1), 时间分辨多通道恒电位仪(2)和数据处理与显示系统(3)。免疫测定芯片(1)通过接口与时间分辨多通道恒电位仪(2)相连接, 时间分辨多通道恒电位仪(2)通过接口和数据处理与显示系统(3)相连接。免疫测定芯片(1)包括固定有不同抗原分子功能化膜的八个工作电极、Ag 导线(a)、Ag/AgCl 参比电极(b)、碳对电极(c)和绝缘膜(d)。利用电极表面固定的抗原分子与样品中的抗原分子竞争温育溶液中的酶标抗体, 使部分酶标抗体连接到电极表面, 获得催化电流, 间接获得溶液中待测的 8 种抗原的含量。通过软件处理, 以直观易读的图像颜色显示测定结果。

WO 2007/124669 A1



LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,

TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

— 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码及其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪

一、技术领域

本发明涉及一种医疗诊断仪器，具体地说是涉及一种肿瘤标志物的免疫测定及快速电化学筛查与早期诊断仪。

5 二、背景技术

免疫分析是利用抗原/抗体之间高特异性的反应实现对抗体、抗原或相关物质进行检测的一种高灵敏度、高选择性的方法，它为血清肿瘤标志物的临床免疫测定提供了有力手段。通常血清肿瘤标志物的临床免疫测定方法大多采用“双抗体夹心”法，如放射免疫分析法、酶标法、时间分辨荧光法、化学发光和电化学发光法等。

10 由于放射免疫分析法的放射性危害和试剂寿命的局限性，非放射性标记的免疫分析方法相继得到发展。这些方法极大地促进了临床免疫检测项目的推陈出新和检测手段的自动化、智能化和网络化。然而，这些方法需采用专用包被板(管)，检测过程需要较长时间的温育、多次洗板和专用仪器检测，检测周期长，操作步骤繁琐，成本
15 高。尽管已出现全自动免疫分析仪，但可同时检测标志物的数目有限，仪器和试剂也相当昂贵，难以推广使用，因而在恶性肿瘤的早期诊断、预后监测和大规模筛查方面的应用受到限制。

近年来，随着基因芯片和蛋白质芯片的发展，免疫芯片得到人们的关注。已有公司推出利用化学发光和 CCD 方法结合能同时检测 13 个肿瘤标志物的仪器，但该仪器价格十分昂贵，在定量检测方面也存在局限性，因而难以推广。如何简化操作
20 步骤，缩短分析时间，降低测定成本，发展新的免疫检测技术，提高检测手段的灵敏度、准确性，研制高通量的多肿瘤标志物检测仪以适应对恶性肿瘤的大规模筛查、早期诊断和预后监测的需要是亟待解决的问题。

电化学分析具有许多优越性，如测试探头可微型化，不受体系浊度和颜色影响，方法灵敏度高、速度快、花费低、危害小等。它还具有检测仪器简单、易于微型化
25 的特点，且其中的安培检测信号强度与待测物质的浓度有线性关系，线性范围宽、灵敏度高，因而在高通量多肿瘤标志物检测方面具有潜力，2005 年有可同时测定 2 种肿瘤标志物的电化学免疫分析方法的报道，这些作者在 2006 年又进一步提出了多标志物同时电化学免疫分析的方法。这些方法有一定实用性，但因不能直观地给出

浓度值，也不能提供在芯片分析中普遍实用的图像结果，更未突破肿瘤相关抗原特异性的缺陷，开发出检测仪器，并推广使用。

丝网印刷技术以其墨层厚覆盖力强、适合各种类型的油墨、印刷方式灵活多样、不受承印物大小和性状的限制等特点已广泛用于电化学传感器制备方面，所获得的一次性电极成本低，样品和试剂的消耗量少，相互间重复性好，结果准确、可靠，在 25°C 干燥条件下，传感器能获得很好的稳定性。利用该技术和电化学分析方法，本发明提出了能同时快速测定多种肿瘤标志物的多通道电化学检测芯片，并根据恶性肿瘤筛查与早期诊断的需要，通过实验和临床对照，设置阈值，将图像结果与联合诊断相结合，用该芯片进一步研制恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪。该仪器可将安培检测信号转变为直观的图像结果，以便于非专业人士使用。同时，可直观地报道与病程相关的多种肿瘤标志物的浓度值，以便进行病程监测。

该发明包括多通道电化学检测芯片和多通道电化学检测仪器，报告结果直观，检测成本低廉，自动化程度高，与联合诊断相结合克服了肿瘤相关抗原特异性的缺陷，可进行恶性肿瘤的早期发现、早期诊断和病程监测，实现检测的普及化和家庭化，以提高癌症防治资源的利用效率，对我国肿瘤防治事业的发展也非常有意义。

三、发明内容

1. 本发明目的是：提供一种以电化学分析技术为基础，可同时对多种肿瘤标志物进行测定的高通量免疫检测方法、测定仪器和直观显示电化学结果的恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪。

2. 技术方案

1) 恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪：

恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪如图 1 所示，由八通道免疫测定芯片（1），时间分辨多通道恒电位仪（2）和数据处理与显示系统（3）所组成；八通道免疫测定芯片（1）通过接口与时间分辨多通道恒电位仪（2）相连接，数据处理与显示系统（3）通过接口也与时间分辨多通道恒电位仪（2）相连接；

2) 八通道免疫测定芯片，包括分别固定不同肿瘤相关抗原的功能化膜和这些功能化膜修饰的八个工作电极（M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8）、Ag/AgCl 参比电极（b）和碳对电极（c），银导线（a）、绝缘膜（d），如图 2 所示。该芯片（1）通过接口直接插时间分辨多通道恒电位仪（2）上进行测量。

3) 恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪的电化学检测原理：基于竞争反应模式，将样品（抗原）和特定浓度的多种酶标抗体溶液的混合液作为温育液，利用免疫芯片上固定的不同抗原和样品抗原竞争反应温育液中相对应的辣根过氧化物酶标记的酶标抗体，从而使辣根过氧化物酶固定在电极表面，催化 H_2O_2 与电子传递媒介体的反应，通过催化电流的大小间接检测待测抗原的含量。

4) 这一过程通过研制的时间分辨多通道恒电位仪（图 1 中第 2 个部件）实现。通常的恒电位仪一次操作只能检测 1 个样品，而已商品化的多通道恒电位仪包括多个恒电位系统，成本较高，而且同时检测对象的数目直接取决于恒电位系统数，不利于提高实用性。本发明设计的时间分辨多通道恒电位仪，使用单个恒电位仪系统，通过设计控制系统，在较短时间内改变检测芯片上工作电极的顺序，获得“同时”获得多个对象（多种肿瘤标志物）含量的信息，并以峰形曲线图像显示将检测到的样品中的各种肿瘤标志物含量的峰形曲线与其相应的阈值相比，通过软件处理后最后以图像的形式显示定性和定量结果，如图 3 所示。

通常的恒电位仪显示出图 3 中峰形结果，通过自动处理，可给出峰电流值，利用工作曲线，检测者可获得检测对象的浓度。

5) 数据处理与显示系统：本发明根据恶性肿瘤筛查与早期诊断的需要，通过实验和临床对照，设置阈值，将多通道电化学检测芯片得到的电化学免疫安培检测信号进行图像显示。将峰信号超过阈值 15% 的样品设置为黑色 ●，表示阳性；峰信号在阈值附近 15% 的样品设置为半黑色 ○，表示可疑；峰信号低于阈值 15% 的样品设置为白色 ○，表示阴性，并以图像的形式显示定性和定量结果（见图 3）。

6) 进一步将联合诊断概念引入结果显示，自动分析多种肿瘤标志物的检测结果，提出筛查结果，进行早期诊断。同时利用定量结果进行病程监测。提出的恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪克服了肿瘤相关抗原特异性的缺陷，检测成本低，可便于非专业人士使用。

3. 有益效果

1) 本发明结合竞争免疫分析方法，利用免疫芯片上固定的抗原和样品抗原竞争反应温育液中的辣根过氧化物酶标记的酶标抗体，从而使辣根过氧化物酶反应到电极表面，从而催化 H_2O_2 与电子传递媒介体的反应，通过催化电流的大小间接检测待测抗原的含量。该方法无需专用仪器检测，检测周期短，操作步骤简单，易于自动化、智能化，便于非专业人士使用。

2) 本发明结合化学修饰、微加工和丝网印刷等技术发展了可批量制备的一次性多肿瘤标志物同时快速测定的免疫芯片, 不仅将样品和试剂的耗量降至微升, 缩短温育时间, 减少样品消耗, 且可以一次完成多种肿瘤标志物的测定, 降低测定成本, 提高检测速度和效率。

5 3) 本发明提出了电化学检测时间分辨的概念, 研制出时间分辨多通道恒电位仪多通道恒电位仪, 通过顺序检测, 获得芯片上不同检测电极上样品的信号, 得到“同时”获得多个对象(多种肿瘤标志物)含量的信息。

4) 电化学结果的图像显示。通过临床对照, 获得相应的阈值, 利用阈值与信号对比, 以图像的形式显示定性和定量结果。

10 5) 本发明将联合诊断概念引入结果显示, 将多通道电化学检测芯片得到的检测结果进行分析处理, 提出筛查结果, 进行早期诊断, 突破肿瘤相关抗原特异性的缺陷。

该诊断仪成本低廉, 可微型化, 智能化, 以推进免疫检测技术和恶性肿瘤早期诊断普及化和室外化, 在大规模筛查和预后监测方面具有广阔的应用前景。

15 四、附图说明

图 1. 恶性肿瘤电化学筛选与早期诊断仪结构示意图

(1) —八通道免疫测定芯片, (2) —时间分辨多通道恒电位仪, (3) —数据处理与显示系统

图 2. 八通道免疫测定芯片的结构示意图

20 (a) —Ag 导线, (b) —Ag/AgCl 参比电极, (c) 碳对电极, (d) —绝缘膜, M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8 分别表示固定有不同抗原功能化膜的八个工作电极。

图 3. 恶性肿瘤电化学筛选与早期诊断仪的分析检测过程示意图

●—阳性(警告)、○—可疑、○—阴性(排除)。C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8 分别表示测得的八个肿瘤标志物的浓度。

25 五、具体实施方式

1. 八通道免疫测定芯片的制备

利用丝网印刷技术在的 PVC 薄膜上印刷整合有 Ag/AgCl 参比电极、碳对电极和多个(8 个)碳工作电极的基片, 电极的制作是先在 PVC 薄膜上印刷银导电层, 然后在参比电极的部位上印刷上 Ag/AgCl 浆形成 Ag/AgCl 参比电极(b), 在工作电极

和碳对电极的部位上印刷上碳浆形成 8 个碳工作电极 M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8 和碳对电极 (c)，最后印刷上绿油绝缘膜 (d)。绿油绝缘膜 (d) 既可以保护银导电层 (a)，也可以控制反应的体积。

2. 抗原分子功能化膜的制备

5 将壳聚糖粉末在 1% 的醋酸溶液中超声溶解配制成 1% 的壳聚糖溶液，将一定浓度的标准待测肿瘤标志物 (抗原) 溶液与该 1% 的壳聚糖溶液以一定比例混合均匀并在 4 °C 下放置 12 小时，吸取 1 μL 该混合溶液滴涂于工作电极表面，获得包含固定不同肿瘤相关抗原分子功能化膜修饰的八个工作电极。

3. 肿瘤标志物的测定

10 3.1 测定原理

该恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪利用安培分析法，结合竞争免疫分析方法，对肿瘤标志物进行快速免分离测定。当温育液中只存在适量辣根过氧化物酶标记肿瘤标志物抗体 (酶标抗体) 时，温育后酶标抗体与电极表面固定的抗原分子功能化膜上的抗原分子发生免疫反应使其连接到电极表面。此时固定化的 HRP 能催化溶液中 H₂O₂ 与电子传递媒介体反应，从而可以在工作电极上获得催化 H₂O₂ 氧化的催化电流，并且该催化电流与溶液中待测抗原含量成反比。通过催化电流的响应值可以间接获得溶液中待测抗原的含量。

3.2 测定过程

(1) 交叉干扰反应实验。在本全自动恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪中用了八通道的免疫检测芯片。为了防止各个电极之间可能发生的交叉干扰反应，设计一系列工作电极间距离不同的免疫检测芯片，选择出在检测中不产生交叉干扰的最小电极间距。

(2) 免疫测定条件的优化，包括温育时间、温育温度、pH 值、测定溶液中 H₂O₂ 和电子传递媒介体的浓度和反应溶液中酶标抗体的量。

25 (3) 配制一系列含不同浓度的待测抗原标准溶液和固定量酶标记抗体的温育液，在最佳测定条件下，分别测定出标记酶催化 H₂O₂ 与电子传递媒介体的反应的催化电流，得到该待测抗原的测定标准曲线。

(4) 在最佳测定条件下，温育含待测抗原和固定量酶标记抗体，测定标记酶催化 H₂O₂ 与电子传递媒介体反应的催化电流，在该抗原测定的标准曲线上查出相应的浓度。

(5) 把测得的实际样品中的肿瘤标志物的浓度与其相应的阈值相比较, 设计处理软件, 将峰信号超过阈值 15% 的样品设置为红色, 表示阳性; 峰信号在阈值附近 15% 的样品设置为橙色, 表示可疑; 峰信号低于阈值 15% 的样品设置为蓝色, 表示阴性。以图像的形式显示定性和定量结果。

5 (6) 将催化电流信号和阈值信号对比, 以图像颜色显示定性检测结果。

(7) 将联合诊断概念引入结果显示, 将多通道电化学检测芯片得到的检测结果进行分析处理, 提出筛查结果。

3.3 具体实施例:

以癌胚抗原 (CEA)、甲胎蛋白 (AFP)、卵巢癌相关抗原 (CA125)、乳腺癌相关
10 抗原 (CA153)、胰胃肠癌标志物 (CA199)、癌症标志物 (CA50)、消化系统癌症标志物 (CA242)、前列腺癌特异抗原 (PSA) 为例说明恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪的应用。

1) 恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断仪的检测芯片的制备

将壳聚糖粉末在 1% 的醋酸溶液中超声溶解配制成 1% 的壳聚糖溶液。CEA、AFP、
15 CA125、CA153、CA199、CA50、CA242、PSA 标准溶液分别与该 1% 的壳聚糖溶液以 1:1 (V:V) 混合均匀并在 4 °C 下放置 12 小时。上述混合溶液各取 1 μ L 分别滴涂于八个工作电极表面, 室温下干燥 5-6 小时。4 °C 干燥的情况下保存待用。

2) CEA、AFP、CA125、CA153、CA199、CA50、CA242、PSA 的测定

(1) 测定条件的优化: 分别改变温育时间、温育温度、pH 值、测定溶液中 H_2O_2
20 和硫堇的浓度以及反应溶液中各种酶标抗体的量, 选择最大电流响应时相应的量作为最佳测定条件。

(2) CEA、AFP、CA125、CA153、CA199、CA50、CA242、PSA 的测定: 在优化的
实验条件下, 分别将一系列标准 CEA、AFP、CA125、CA153、CA199、CA50、CA242、
PSA 抗原和固定量酶标抗体的温育液, 加入全自动恶性肿瘤电化学筛查与早期诊断
25 仪的免疫检测芯片中进行温育, 温育完后测定标记 HRP 催化氧化 H_2O_2 的催化电流, 分别获得 CEA、AFP、CA125、CA153、CA199、CA50、CA242、PSA 测定的标准曲线, 从而测定样品中 CEA、AFP、CA125、CA153、CA199、CA50、CA242、PSA 各种抗原的浓度。

(3) 把测定的样品中的 CEA、AFP、CA125、CA153、CA199、CA50、CA242、PSA
30 抗原的浓度分别与它们各自的阈值相比, 通过软件处理, 直接将检测信号转换为浓

度值和筛查结果显示。

(4) 分析不同肿瘤标志物的浓度，利用联合诊断提出筛查结果。

5

10

15

20

25

30

权 利 要 求

1. 一种恶性肿瘤电化学筛选查与早期诊断仪，其特征是它由八通道免疫测定芯片（1），时间分辨多通道恒电位仪（2）和数据处理与显示系统（3）所组成；八通道免疫测定芯片（1）通过接口与时间分辨多通道恒电位仪（2）相连接，时间分辨多通道恒电位仪（2）通过接口与数据处理与显示系统（3）相连接；八通道免疫测定芯片（1），包括分别固定不同肿瘤相关抗原的功能化膜修饰的八个工作电极（M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8）、Ag/AgCl 参比电极（b）和碳对电极（c），银导线（a）、绝缘膜（d），该芯片（1）通过接口直接插入时间分辨多通道恒电位仪（2）上进行测量，并由数据处理与显示系统（3）以图像颜色显示定性检测结果。
2. 根据权利要求 1 所述的恶性肿瘤电化学筛选查与早期诊断仪，其特征在于所述的时间分辨多通道恒电位仪，使用单个恒电位仪系统，通过设计控制系统，在较短时间内改变检测芯片上工作电极的顺序，获得“同时”获得多个对象（多种肿瘤标志物）含量的信息。
3. 根据权利要求 1 所述的恶性肿瘤电化学筛选查与早期诊断仪，其特征在于所述的八通道免疫测定芯片（1）是在 PVC 薄膜上印刷银导电层，然后在参比电极部位上印刷上 Ag/AgCl 浆形成 Ag/AgCl 参比电极（b），再在工作电极和碳对电极位置上印刷上碳浆形成 8 个碳工作电极 M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8 和碳对电极（c）、最后印刷上绿油绝缘膜（d）。
4. 根据权利要求 1 所述的恶性肿瘤电化学筛选查与早期诊断仪，特征在于利用图像颜色显示电化学定性检测结果，它通过与阈值相比较，设计处理软件，将峰信号超过阈值 15% 的样品设置为红色（●），表示阳性；峰信号在阈值附近 15% 的样品设置为橙色（○），表示可疑；峰信号低于阈值 15% 的样品设置为蓝色（○），表示阴性。并可获得定量结果。
5. 根据权利要求 1 所述的恶性肿瘤电化学筛选查与早期诊断仪，其特征在于所述的功能膜修饰的工作电极是将壳聚糖粉末在 1% 的醋酸溶液中超声溶解配制成 1% 的壳聚糖溶液；将标准待测肿瘤标志物即抗原溶液与 1% 的壳聚糖溶液以 1:1 (V/V) 混合均匀在 4℃ 下放置 12 小时，吸 1 μL 该混合液滴涂于工作电极表面，获得包含固定不同肿瘤相关抗原分子功能化膜修饰的八个工作电极。

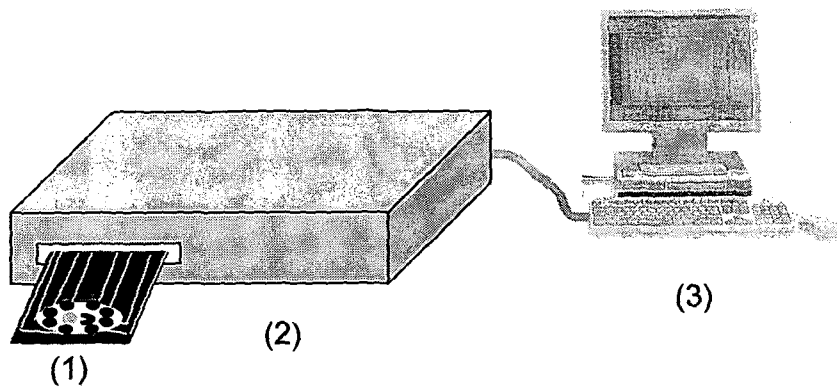


图 1

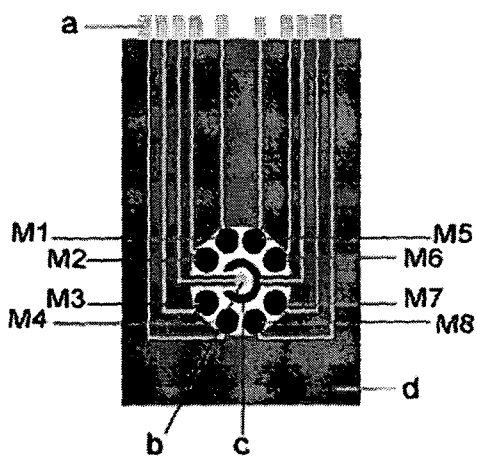


图 2

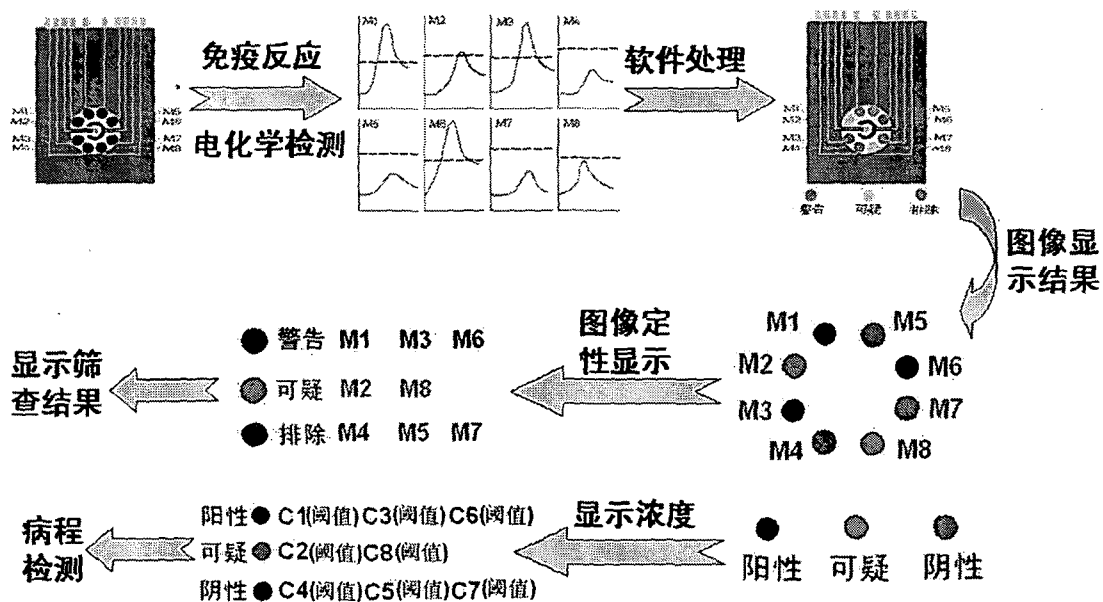


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2007/001237

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

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 G01N27 G01N33

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)

CNPAT WPI EPODOC PAJ

immune+ electrochemi+ electrode? sensor? antigen tumor cancer knob malignancy

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN1614405A (NANJING UNIVERSITY et al) 11 May 2005 (11.05.2005) the whole document	1-5
A	CN1588078A (NANJING UNIVERSITY) 02 Mar.2005 (02.03.2005) the whole document	1-5
A	US2004072263A (Baylor College of Medicine) 15 Apr.2004 (15.04.2004) the whole document	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&"document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 11 Jun.2007 (11.06.2007)	Date of mailing of the international search report 12 Jul. 2007 (12.07.2007)
Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer ZHOU, Dongli Telephone No. (86-10)62085817

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2007/001237

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/53 (2006.01) i

G01N27/26 (2006.01) i

International application No.
PCT/CN2007/001237

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2007)

国际检索报告

 国际申请号
PCT/CN2007/001237
A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC G01N27 G01N33

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNPAT WPI EPODOC PAJ

免疫 电化学 电极 肿瘤 immune+ electrochemi+ electrode? sensor? antigen tumor cancer knob malignancy

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN1614405A (南京大学 等) 11.5 月 2005 (11.05.2005) 全文	1-5
A	CN1588078A (南京大学) 02.3 月 2005 (02.03.2005) 全文	1-5
A	US2004072263A (Baylor College of Medicine) 15.4 月 2004 (15.04.2004) 全文	1-5

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

11.6 月 2007 (11.06.2007)

国际检索报告邮寄日期

12.7 月 2007 (12.07.2007)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员

周东莉电话号码: (86-10) **62085817**

主题的分类

G01N33/53 (2006.01) i

G01N27/26 (2006.01) i

国际申请号 PCT/CN2007/001237

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2007 年 4 月)