

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3632856号  
(P3632856)

(45) 発行日 平成17年3月23日(2005.3.23)

(24) 登録日 平成17年1月7日(2005.1.7)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I		
C 1 2 Q 1/00	C 1 2 Q 1/00	Z	
// C 1 2 Q 1/42	C 1 2 Q 1/42		
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68	Z	
GO 1 N 33/536	GO 1 N 33/536	C	
GO 1 N 33/543	GO 1 N 33/543	5 4 5 S	

請求項の数 22 (全 44 頁)

(21) 出願番号	特願平6-521100	(73) 特許権者	アプレーラ コーポレイション
(86) (22) 出願日	平成6年3月15日(1994.3.15)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01
(65) 公表番号	特表平8-507694		730 ベドフォード ウィギンス アヴ
(43) 公表日	平成8年8月20日(1996.8.20)		エニュー 35
(86) 国際出願番号	PCT/US1994/002549	(74) 代理人	弁理士 津国 肇
(87) 国際公開番号	W01994/021821		
(87) 国際公開日	平成6年9月29日(1994.9.29)	(72) 発明者	ブロンスタイン, イレーナ・ワイ
審査請求日	平成13年3月1日(2001.3.1)		アメリカ合衆国、マサチューセッツ 02
(31) 優先権主張番号	08/031, 471		158、ニュートン、アイバンホー・スト
(32) 優先日	平成5年3月15日(1993.3.15)		リート 11
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	エドワーズ, ブルックス
			アメリカ合衆国、マサチューセッツ 02
			138、ケンブリッジ、ヒューロン・アベ
			ニュー 269

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 化学発光の高められた改良検定法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

水性試料中の被検体の存在または濃度を決定する方法であって、該被検体と結合できる酵素複合体と該試料とを混合する工程、すべての未結合酵素複合体を除去する工程、処理された該試料に、該酵素と接触すると1,2-ジオキセタン類のオキシアニオン、および励起状態の光放射体を形成し、化学発光の放出とともに分解する1,2-ジオキセタン類を加える工程を含み、かつ化学発光の量をモニターして該被検体の存在または濃度を決定する方法において、

該水性試料に、試料の0.005～50重量/体積%のポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロリド(TBQ)を加える工程を含む改良された方法。

【請求項2】

該方法が、該1,2-ジオキセタン類のオキシアニオンおよびその分解生成物をその中に封鎖できる疎水性領域を該水性試料中に形成する該TBQの能力を改良する、該試料の0.005～50重量/体積%の増強添加物を該試料に加える工程を更に含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

1種類より多い該増強添加物を該試料に添加する、請求項2記載の方法。

【請求項4】

該増強添加物が、界面活性剤、溶剤および水溶性重合体からなる群から選ばれる、請求項2記載の方法。

【請求項5】

該ジオキセタン類がAMPPDまたはCSPDである、請求項1記載の方法。

【請求項6】

該増強添加物がZelec DPを含む、請求項1記載の方法。

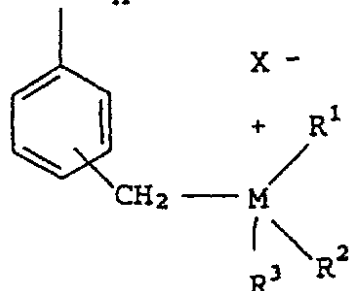
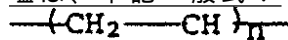
【請求項7】

水性試料中の被検体の存在または濃度を決定する方法であって、該被検体と安定的に結合できる酵素複合体と該試料とを混合する工程、すべての未結合酵素複合体を除去する工程、該試料に、該酵素と接触すると化学発光の放出とともに分解する1,2-ジオキセタン類を加える工程を含み、かつ化学発光の量をモニターして被検体の存在または濃度を決定する方法において、

該試料に、

(a) 該試料の0.005～50重量/体積%の量の水溶性重合第四級オニウム塩であって、該試料に添加すると、該1,2-ジオキセタン類の分解により、該水溶性重合第四級オニウム塩の不在下におけるよりも多量の化学発光を生成する該第四級オニウム塩を含む増強剤、および

(b) 該1,2-ジオキセタン類およびその化学発光性分解生成物をその中に封鎖できる疎水性領域を該水性試料中に形成する該重合第四級オニウム塩の能力を改良する、該試料の体積を基準にして0.005～50重量%の増強添加物、ここで、該水溶性重合第四級オニウム塩は、下記一般式：



(式中、Mは、窒素、リン又は硫黄原子であり、X<sup>-</sup>は、対イオンであり、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>は、ブチル基である)

によって示される反復単位を含む、  
を加える工程を含む方法。

【請求項8】

該増強剤が、第四級アンモニウム塩、第四級スルホニウム塩、第四級ホスホニウム塩、およびそれらの混合物からなる群から選ばれる単量体から調製される、請求項7記載の方法。

【請求項9】

該増強剤が、重合第四級アンモニウム塩、重合第四級スルホニウム塩、重合第四級ホスホニウム塩、またはそれらの共重合体である、請求項7記載の方法。

【請求項10】

該増強剤が、ポリ(ビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロリド)(TBQ)である、  
請求項9記載の方法。

【請求項11】

該方法が、洗剤である第二の増強添加物を添加する工程を更に含む、請求項7記載の方法。

【請求項12】

水性試料中の被検体の存在または濃度を検定する方法であって、  
混合すると該試料中の該被検体と安定的に結合する酵素複合体と、該試料とを混合する工程、

該混合後に、該試料中に存在する未結合酵素複合体を除去する工程、  
該試料の0.005～50重量/体積%のTBQを該試料に加える工程、

10

20

30

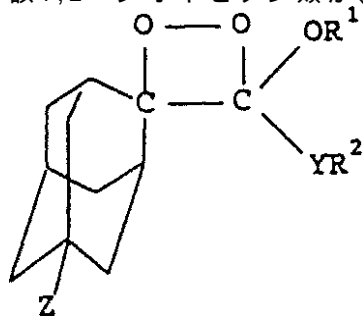
40

50

該酵素複合体の酵素によって、化学発光する分解生成物に分解される1,2-ジオキセタン類を該試料に加える工程、および得られる化学発光の量を測定する工程を含む方法。

【請求項13】

該1,2-ジオキセタン類が、式：



(式中、

Zは、H、Cl、その他のハロゲンまたはアルコキシ基；

R<sup>1</sup>は、C<sub>1</sub>~C<sub>20</sub>アルキル、またはC<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>アリールもしくはアラルキルであり；

Yは、フェニルまたはナフチルであり；

R<sup>2</sup>は、ジオキセタンに関してYにメタ置換されているかまたは共役的に結合していないOX (式中、Xは、開裂されるとジオキセタン類のフェノキシまたはナフトキシアニオンを残す、酵素で開裂できる基である)である)

で示される、請求項12記載の方法。

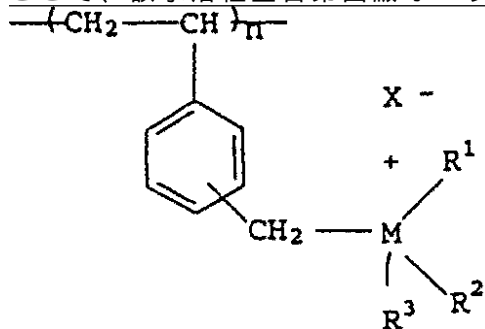
【請求項14】

水性試料中の被検体の存在または濃度を検定する方法であって、

混合すると該試料中の該被検体と安定的に結合する酵素複合体と、該試料とを混合し、該混合後に、未結合酵素複合体を該試料から除去し、該試料の体積を基準にして0.005~50重量%の水溶性重合第四級オニウム塩である増強剤と、該1,2-ジオキセタン類およびその分解生成物をその中に封鎖できる疎水性領域を該試料中に形成する該増強剤の能力を改良する、該試料の0.005~50重量/体積%の増強添加物とを、該増強剤と増強添加物との合計が試料の50重量/体積%を超えないように該試料に加える工程、

該酵素複合体の酵素によって、オキシアニオンを生成し、化学発光する分解生成物に分解される1,2-ジオキセタン類を該試料に加え、そして得られる化学発光の量(ここで、該増強添加物の存在下で観測される化学発光の量は、該増強添加物の不存在下で観測される化学発光の量より多い)を測定する工程、

ここで、該水溶性重合第四級オニウム塩は、下記一般式：



(式中、Mは、窒素、リン又は硫黄原子であり、X<sup>-</sup>は、対イオンであり、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>は、ブチル基である)

によって示される反復単位を含む、を含む方法。

【請求項15】

該増強剤が、第四級アンモニウム単量体、第四級ホスホニウム単量体、第四級スルホニウム単量体、およびそれらの混合物からなる群から選ばれる単量体から調製される、請求項

10

20

30

40

50

14記載の方法。

【請求項16】

該増強添加物が、界面活性剤、溶剤および水溶性重合体からなる群から選ばれる、請求項14記載の方法。

【請求項17】

該ジオキセタン類が、AMPPD、CSPD、またはそれらの混合物の2ナトリウム塩であり、該増強剤が、TBQ、BDMQ、TMQ、およびそれらの混合物からなる群から選ばれ、そして該増強添加物がZelec DPである、請求項14記載の方法。

【請求項18】

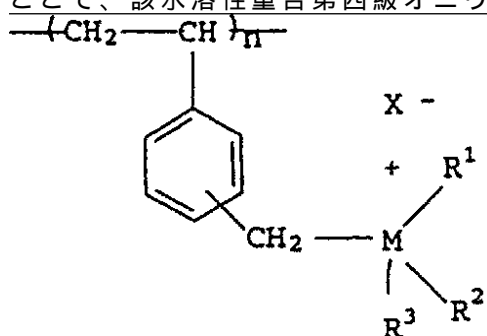
水性試料中の被検体の存在または濃度を生物検定するためのキットであって、  
試料と混合すると該試料中の該被検体と結合する酵素複合体、  
該酵素複合体の酵素と接触すると、化学発光する分解生成物に分解される1,2-ジオキセタン類、および  
TBQ  
を含むキット。

10

【請求項19】

試料中の被検体の存在または濃度を生物検定するためのキットであって、  
該試料と混合すると該被検体と結合する酵素複合体、  
該酵素複合体の酵素と接触すると、1,2-ジオキセタン類のオキシアニオン、および化学  
発光する分解生成物に分解される1,2-ジオキセタン類、  
重合第四級オニウム塩、および  
該1,2-ジオキセタン類のオキシアニオンおよびその分解生成物をその中に封鎖できる疎  
水性領域を該試料中に形成する該重合第四級オニウム塩の能力を改良する増強添加物、  
ここで、該水溶性重合第四級オニウム塩は、下記一般式：

20



30

(式中、Mは、窒素、リン又は硫黄原子であり、X<sup>-</sup>は、対イオンであり、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>は、ブチル基である)

によって示される反復単位を含む、  
を含むキット。

【請求項20】

該増強添加物が、界面活性剤、溶剤および水溶性重合体からなる群から選ばれる、請求項19記載の方法。

40

【請求項21】

該水溶性重合第四級オニウム塩が、ポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロリド (TBQ) である、請求項14記載の方法。

【請求項22】

該水溶性重合第四級オニウム塩が、ポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロリド (TBQ) である、請求項19記載のキット。

【発明の詳細な説明】

本願は、それ自体米国特許第5,112,960号として発行された米国特許出願第07/574,786号の分割出願である、米国特許出願第07/806,928号の部分継続出願である。米国特許第5,112,960号の開示全体は、参照によってここに組み込まれる。本願は、現在係属中の米国特

50

許出願第07/959,531号の部分継続出願でもあり、その開示全体が参照によってここに組み込まれる。

[ 技術分野 ]

本発明は、酵素で標識された標的またはプローブに対する化学発光性基質として1,2-ジオキセタン類を用いることによって、試料中の、一般的には生体試料中の被検体について、化学発光検定する方法の増強に関する。ジオキセタンリポーター分子の化学発光は、水溶性重合第四級塩の添加によって増強される。該水溶性重合体によって形成される疎水性領域内にジオキセタンを封鎖し、それによって、水で誘発される消光反応を抑制または回避できる。そしてその水溶性重合第四級塩の能力を改良する添加物を更に試料に含ませることによって、一層の増強が達成できる。

10

[ 背景となる技術 ]

試料中の、一般的には生体試料中の被検体の存在または濃度を検出するための化学発光検定法は、迅速で、感度が高く、容易に読み取れる生物検定の方法として、近年ますます関心が増大している。そのような検定では、化学発光性化合物をリポーター分子として用いるが、このリポーター分子は、疑わしい被検体の存否に応じて化学発光とする。

リポーター分子として用いる、非常に多様な化学発光性化合物が知られている。特別な関心を受けている化合物の一群は、1,2-ジオキセタン類である。1,2-ジオキセタン類は、ジオキセタン環の炭素原子のうち少なくとも1個に安定化基が付加されていることによって安定化することができる。実例となる安定化基は、スピロ結合したアダマンタンである。そのようなジオキセタン類は、他方の炭素の位置にアリール基、好ましくはフェニルまたはナフチルが更に置換しているが、このアリール基に酸素が置換し、更にそれを酵素に不安定な基に結合させる。この不安定な基を開裂できる酵素が接触すると、ジオキセタンのオキシアニオンが形成されてジオキセタンの分解および自発的な化学発光へと導かれる。米国特許第5,112,960号明細書には、非常に多様なそのようなジオキセタン類が開示されている。この特許は、アダマンチルという安定化基に置換基、例えばハロゲン置換基、アルキル基、アルコキシ基等を有するジオキセタン類に的が絞られている。そのようなジオキセタン類は、早くから認識されていたジオキセタン類、例えば3-(4-メトキシスピロ[1,2-ジオキセタン-3,2'-トリシクロ[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]デカン]-4-イル)フェニルホスフェート、および、特にAMPPDとして一般的に特定されているそのナトリウム塩を凌ぐ進歩を示す。塩素で置換された相当物は、アダマンチルという安定化基を、分解反応を進行させる受動的な基から、より速やかなジオキセタンアニオンへの分解、より大きいシグナル対ノイズ比、およびより良好な感度によって増強された化学発光シグナルを発生する能動的な基に転換され、CSPDと呼ばれる。その他のジオキセタン類、例えばフェニルオキシ-D-ガラクトピラノシド(AMPGD)も周知であり、リポーター分子として用いることができる。これらのジオキセタン類、およびそれらの調製は、それ自体はここでは本発明の主題を構成するものではない。

20

30

これらのジオキセタン類を用いる検定法は、慣用の検定法、例えばサザン、ノーザンおよびウエスタン-プロット検定法、DNA配列決定法、ELISA法はもとより、他の液相および混合相検定法に適用できる。一般に、その検定法は、もし試料中にその標的が存在する場合、その標的を、ジオキセタン類の酵素不安定基を開裂できる酵素を有する複合体と結合させることからなる。DNA検定法では、DNAプローブを用い、共有結合でそれに結合している酵素に標的を結合させ、膜に固定化した試料とプローブとを混合して、ハイブリッド形成させる。その後、過剰な酵素複合体を除去し、ハイブリッド形成させた試料にジオキセタンを加える。ハイブリッド形成が生じているならば、結合された酵素によってそのジオキセタンが影響されて、ジオキセタン類の分解および化学発光へと導くことになる。液相検定法では、標的被検体に応答する抗体と酵素とを結合させるか、または複合させることが多く、未結合複合体を除去し、ジオキセタン類を加え、存在する酵素の量によって影響されるジオキセタンの分解によって、化学発光を生起する。酵素それ自体が標的被検体である場合は、ジオキセタン類を試料に加えることが必要なだけである。非常に多様な検定様式が開発されていて、それは米国特許第5,112,960号明細書はもとより、米国特許第4

40

50

,978,614号明細書にも開示されているとおりである。

ジオキセタン分解をプロトン性溶媒中で、例えば水中で進行させるならば、消光反応が生じることは周知である。問題の被検体を含むか、含まないか疑わしい試料は、概して生体試料であるから、これらの検定法は、一般的には、水性環境中で実施される。したがって、消光反応が、ジオキセタン類の分解によって実際に観測される化学発光を実質的に減少させることがある。特定の被検体、例えば核酸、ウイルス抗体およびその他の蛋白質、特に溶液または溶液 - 固相系中で調製されたそれらの低レベルの検出が必要である検定法では、不可避的なバックグラウンドシグナルと合わせて、観測される減少した化学発光が検定法の感度を低下させるため、極めて低レベルのものを検出できないことがある。この問題を扱う一つの方法は、米国特許第5,145,772号明細書に詳細に開示されているよ

10

うな、天然および合成分子の双方を包含している水溶性高分子の添加である。この特許の開示は、ここに組み込まれ参照される。同様な効果に関し、米国特許第4,978,614号明細書には、試料への各種の水溶性「増強」剤の添加を扱っているが、該特許は、固体状態での検定法における非特異的結合を抑える問題に言及している。米国特許第5,112,960号明細書では、非特異的結合の抑制によって化学発光を増強する水溶性重合第四級アンモニウム塩として、ポリ(ビニルベンジルトリメチルアンモニウムクロリド)(TMQ)、ポリ(ビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロリド)(TBQ)およびポリ(ビニルベンジルジメチルベンジルアンモニウムクロリド)(BDMQ)のような好適な水溶性重合第四級アンモニウム塩が開示されている。

20

[ 発明の開示 ]

本発明は、上記の目標のため2つの実施態様を扱っている。上記のとおり、水性試料への水溶性重合アンモニウム塩の添加が、1,2-ジオキセタン類の化学発光を改良または増強することは既に知られている。出願人は、この増強が、ジオキセタン類のオキシアニオン

30

をその中に封鎖する疎水性領域を形成することによって、少なくとも部分的には達成されることを発見した。これらの疎水性領域での分解は、水に基づく消光反応が抑制されるので、化学発光が増強する。用いられる公知の第四級水溶性重合体の塩の中でもTBQは、この疎水性領域を形成することによって、予想外に優れた増強を与える。水溶性重合第四級塩の添加によって達成される化学発光の増強は、水性試料中に、ジオキセタン類のオキシアニオンと、結果的に生じる励起状態の光放射体であるリポーター分子とを疎水性領域内に封鎖するような重合第四級塩の能力を改良する添加物を含ませることによって、更に改良できる。すなわち、重合第四級塩と添加物との併用は、重合第四級塩、または、界面活性剤もしくは水溶性重合体それ自体であるときは限られた程度にしか化学発光を増強し得ない添加物の添加によって、個別に生起されるそれをはるかに超える増

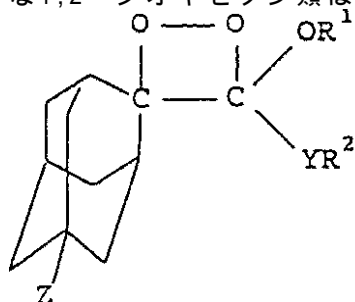
40

[ 発明の簡単な説明 ]

本発明の検定法およびキットは、水溶性の化学発光性1,2-ジオキセタン類を用いる。上

50

記のとおり、これらのジオキセタン類は当該技術において充分確立されており、それらの構造および調製は、それ自体は本発明の新規な主題を構成しない。一般に、検定法を実施するのに十分なほど水中で安定性を示し、酵素との相互作用、および該酵素による分解を誘導する酵素不安定基の開裂によって分解され、そして化学発光し得るいかなる化学発光性ジオキセタン類も、本発明に関連して用いることができる。典型的には、本発明で有効な1,2-ジオキセタン類は、一般式：



(式中、

R<sup>1</sup>は、C<sub>1</sub> ~ C<sub>20</sub>アルキル、またはC<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub>アリールもしくはアラルキルであり；

Yは、フェニルまたはナフチルであり；

R<sup>2</sup>は、ジオキセタンに関してYにメタ置換されているか、または共役的に結合していないOX(式中、Xは、酵素で開裂されるとジオキセタンのフェノキシまたはナフトキシアニオンを残す基である)であり；

Zは、H、Cl、その他のハロゲンまたはアルコキシ基である)

を有するであろう。

好ましいジオキセタン類は、AMPPD、特にその2ナトリウム塩はもとより、CSPDおよびその2ナトリウム塩も包含する。これらのジオキセタン類を調製する方法は、上記に参照した譲受人を同じくする特許はもとより、例えば、ウエイン州立大学に譲渡された米国特許第4,962,162号明細書に開示されている。ジオキセタン類の調製、精製および単離は、それ自体は、ここに開示かつ請求される本発明の新規な主題を構成しない。

試料中に標的被検体が存在する場合、その被検体と結合するか、または相互作用する酵素複合体を既に混合した試料に、ジオキセタン類を加える。したがって、ジオキセタン類は酵素に対する基質であって、ジオキセタン類の本体から基質の不安定基の酵素触媒による開裂は、不安定なオキシアニオンおよびそれに続くジオキセタン類の分解を招く。標的被検体が酵素自体である場合は、濁度を低下させるための予備的精製の後または分離の際のいずれかにおいて、ジオキセタン類を試料に直接加える。標的被検体が、酵素以外である場合は、試料中に存在するすべての標的被検体と結合するように、その酵素を結合部分、例えばDNAプローブや抗体と複合させる。検出される化学発光の量は、試料中の被検体、および試料中の被検体の量の双方に応答するであろう。

化学発光シグナルを増強し、シグナル/ノイズ比を改良して、バックグラウンドシグナルと標的に応答する肯定的シグナルとの非常に低レベルでの区別を可能にするには、ジオキセタンの導入に先立って、または同時に、水溶性増強剤を試料に加える。

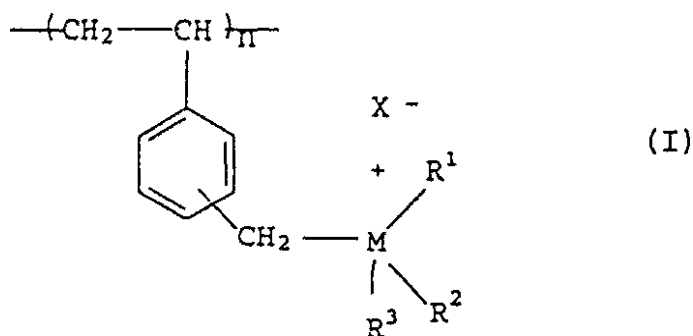
本発明の増強剤は、一般的には、重合オニウム塩、特に、ホスホニウム、スルホニウム、および、好ましくはアンモニウム部分が第四級塩になったものである。それら重合体は、下記に示す一般式(I)：

10

20

30

40



(式中、 $R^1$ 、 $R^2$ および $R^3$ は、それぞれ、1～20個の炭素原子を有する直鎖状もしくは分岐鎖状非置換アルキル基、例えばメチル、エチル、*n*-ブチル、*t*-ブチル、ヘキシル等；1個またはそれ以上のヒドロキシル、アルコキシ（例えばメトキシ、エトキシ、ベンジルオキシもしくはポリオキシエチルエトキシ）、アリーロキシ（例えばフェノキシ）、アミノもしくは置換アミノ（例えばメチルアミノ）、アミド（例えばアセトアミド）またはウレイド（例えばフェニルウレイド）で置換された1～20個の炭素原子を有する直鎖状もしくは分岐鎖状アルキル基；あるいはフルオロアルカンまたはフルオロアリール（例えばヘプタフルオロブチル）、3～12個の環炭素原子を有する非置換モノシクロアルキル基（例えばシクロヘキシルまたはシクロオクチル）、1個以上のアルキル、アルコキシもしくは縮合ベンゾ基で置換された3～12個の環炭素原子を有する置換モノシクロアルキル基（例えばメトキシシクロヘキシルもしくは1,2,3,4-テトラヒドロナフチル）、それぞれが5～12個の炭素原子を有する2個以上の縮合環を有する、非置換であるか、または1個以上のアルキル、アルコキシもしくはアリール基で置換されたポリシクロアルキル基（例えば1-アダマンチルまたは3-フェニル-1-アダマンチル）、非置換であるか、または1個以上のアルキル、アリール、フッ素もしくはヒドロキシル基で置換された、少なくとも1個の環および全部で6～20個の炭素原子を有するアリール、アルカールまたはアラルキル基（例えばフェニル、ナフチル、ペンタフルオロフェニル、エチルフェニル、ベンジル、ヒドロキシベンジル、フェニルベンジルもしくはデヒドロアビエチル）であることができ、 $R^1$ 、 $R^2$ および $R^3$ のうち少なくとも2個は、それらが結合している第四級原子とともに、飽和または不飽和の、3～5個の炭素原子および1～3個のヘテロ原子を有し、かつベンゼン環が縮合していてもよい窒素、リンまたは硫黄を含有する非置換であるか、または置換された環（例えば1-ピリジニウム、1-(3-アルキルもしくはアラルキル)イミダゾリウム、モルホリノ、アルキルモルホリニウム、アルキルピペリジニウム、*N*-アシルピペリジニウム、ピペリジノもしくはアシルピペリジノ、ベンゾオキサゾリウム、ベンズチアゾリウムまたはベンズアミダゾリウム）を形成し得る）で示される。

記号 $X^-$ は、単独に、または合わさって、ハロゲンイオン、すなわちフッ素イオン、塩素イオン、臭素イオンまたはヨウ素イオン、硫酸イオン、アルキルスルホン酸イオン、例えばメチルスルホン酸イオン、アリールスルホン酸イオン、例えば

-トルエンスルホン酸イオン、置換アリールスルホン酸イオン、例えばアニリノナフチレンスルホン酸イオン（各種の異性体）、ジフェニルアントラセンスルホン酸イオン、過塩素酸イオン、アルカン酸イオン、例えば酢酸イオン、アリールカルボン酸イオン、例えばフルオレセインまたはフルオレセイン誘導体、ベンゼン複素環式アリールカルボン酸イオン、例えば7-ジエチルアミノ-4-シアノクマリン-3-カルボン酸イオンのような部分を包含できる対イオンを表す。*p*-テレフタル酸イオンなどの有機ジアニオン類も $X^-$ によって表されてよい。

記号*n*は、そのようなポリ（ビニルベンジル第四級塩）の分子量が、固有粘度またはLALLS法を用いて測定して約500～約500,000（平均分子量）、好ましくは約20,000～約70,000の範囲にわたる数を表す。

Mが窒素であるこれらの重合体、関連共重合体および関連出発材料を調製する方法は、G. D. Jonesら：Journal of Polymer Science、第25巻201ページ（1958年）、米国特許第2,780,604号、第3,178,396号、第3,770,439号、4,308,335号、第4,340,522号、第4,424,326号明細書、およびドイツ国公開特許第2,447,611号公報に開示されている。

10

20

30

40

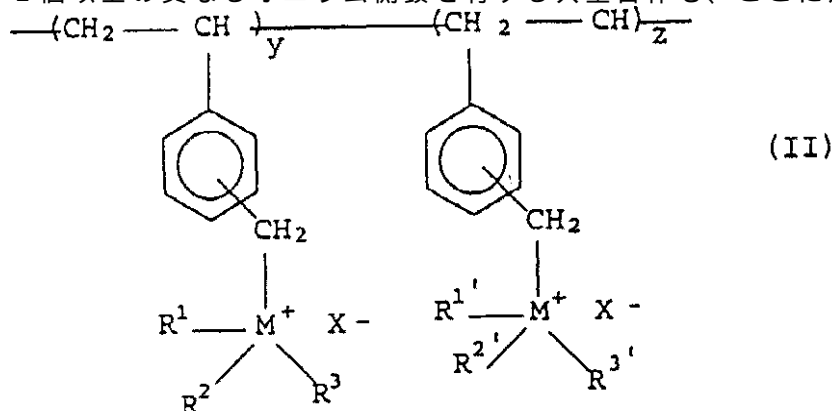
50



記号Mは、リンまたは硫黄を表してもよく、ここで、対応するスルホニウムまたはホスホニウム重合体は先行技術に記載されている（米国特許第3,236,820号および第3,065,272号明細書）。

本発明のこれら重合体の調製法は、参照された米国特許はもとより、米国特許出願第07/811,620号明細書でも説明されており、それ自体は本発明のいかなる主題も構成しない。

2個以上の異なるオニウム側鎖を有する共重合体も、ここに述べた本発明で利用できる。



10

記号X、M'、R<sup>1'</sup>、R<sup>2'</sup>およびR<sup>3'</sup>は、X、M、R<sup>1</sup>~R<sup>3</sup>として上記で説明したものと同様である。記号YおよびZは、共重合体を構成する個々の単量体のモル分率を表す。したがって、記号YおよびZは、合計は常に1に等しく、個別的には0.01から0.99まで変動してよい。

20

好適な部分として、MはNまたはPであり、R<sup>1</sup>~R<sup>3</sup>は、それぞれ独立して、1~20個の炭素原子を有する、非置換であるか、またはヒドロキシル、アミノ、アミド、ウレイドで更に置換されたアルキル、シクロアルキル、ポリシクロアルキル（例えばアダマンタン）、アラルキルもしくはアリールであるか、あるいは併せて、M原子とのスピロ結合を介して複素環式の（場合により他のN、SまたはOのヘテロ原子を含む芳香族、脂肪族もしくは混合の）オニウム基を形成する。

出願人は、ポリビニルベンジルトリブチルアンモニウムクロリドが、単独で、上記のとおり、1,2-ジオキセタン類リポーター分子の使用に基づく化学発光検定法と組合せると、予想外に優れた増強を与えることを発見した。実際に、TBQの単独での添加によって得られる化学発光シグナルの改良は、概して、次善の増強剤であるBDMQの添加から得られる改良の少なくとも2倍のオーダーであった。完璧を目的として、単独でのTBQを、当技術に認められたもう一つの増強剤である臭化セチルトリメチルアンモニウムとも対比して評価した。

30

#### 増強剤としての単独でのTBQの評価

各種のエンハンサーの評価のためのプロトコール

0.1Mのジエタノールアミン、1mMのMgCl<sub>2</sub>、pH9.5の緩衝液とした貯蔵溶液からエンハンサー試料を調製した。CSPDまたはAMPPDをエンハンサー液0.5mlに加えた（最終ジオキセタン濃度は0.4mM）。ジオキセタン添加の10分および60分後に、バックグラウンドをBertholdの952Tというルミノメータ中で室温で記録した。次いで、アルカリ性ホスファターゼを加え（最終酵素濃度は9.35 × 10<sup>-14</sup>M）、化学発光シグナルを10、30、および60分（全試料は実施せず）に5秒間の積分として測定した。

40

#### 1mMのMgCl<sub>2</sub>に含まれる全緩衝剤

\*\* 下記のとおり、プラトー（平坦域）までの半値時間を決定した：

所望の緩衝液中で0.4mMのAMPPDを37 または30 で前温置し、次いで、アルカリ性ホスファターゼを各試験管に加えた（最終濃度、4.1 × 10<sup>-13</sup>M）。その試験管を、Turnerのモデル20-Eというルミノメータに挿入し、定常状態の発光までの半値時間を算出した。

表 1

AMPPDの半寿命  
CTAB, TBQ, BDMQ, pHおよび温度の影響

30°C, 0.1M 炭酸ナトリウム

プラトーまでの半値時間**				
pH	緩衝剤のみ	+CTAB	+TBQ	+BDMQ
9.0	3.66	17.5	3.48	4.50
9.6	2.07	9.8	2.79	2.62
10.0	1.62	7.4	2.17	2.15

10

30°C, 0.75M 炭酸ナトリウム

プラトーまでの半値時間**				
pH	緩衝剤のみ	+CTAB	+TBQ	+BDMQ
9.0	4.19	33.5	6.03	4.84
9.6	2.12	19.3	4.15	2.82
10.0	1.67	13.3	2.84	2.27

20

37°C, 0.1M 炭酸ナトリウム

プラトーまでの半値時間**				
pH	緩衝剤のみ	+CTAB	+TBQ	+BDMQ
9.0	2.37	10.1	2.53	2.52
9.6	1.34	5.36	1.65	1.48
10.0	1.06	4.06	1.29	1.28

30

37°C, 0.75M 炭酸ナトリウム

プラトーまでの半値時間**				
pH	緩衝剤のみ	+CTAB	+TBQ	+BDMQ
9.0	2.37	22.0	3.33	2.81
9.6	1.29	9.6	2.29	1.62
10.0	0.95	6.5	1.61	1.33

40

表 2

AMPPDの化学発光  
 信号およびバックグラウンド  
 CTAB, TBQ, BDMQ, pH および温度の影響

30°C, 0.1M 炭酸ナトリウム

緩衝剤のみ				+ CTAB		
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	2.0	55.6 (31.6)	27.7	1.7	175.9 (93.0)	105.9
9.6	2.0	50.7 (12.5)	25.0	1.6	114.1 (61.5)	69.6
10.0	2.0	30.3 (10.8)	15.5	1.6	61.2 (42.4)	37.3

+ TBQ				+ BDMQ		
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	2.7	1110.8 (22.0)	405.4	2.4	875.0 (32.0)	372.3
9.6	2.8	1106.3 (33.8)	294.9	2.1	559.0 (15.0)	267.4
10.0	2.4	671.2 (18.0)	283.2	2.3	282.8 (14.3)	123.0

10

20

## 30°C, 0.75M 炭酸ナトリウム

緩衝剤のみ				+ CTAB		
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	1.9	26.6 (30.7)	12.6	1.7	79.1 (88.5)	46.5
9.6	2.0	17.6 (15.6)	8.8	1.7	42.7 (115.3)	25.7
10.0	2.0	12.6 (8.8)	6.4	1.7	29.2 (80.3)	17.7

10

+ TBQ			+ BDMQ			
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	2.0	254.6 (43.7)	127.3	2.1	191.5 (27.0)	93.0
9.6	2.1	264.2 (29.7)	124.6	2.0	138.1 (18.6)	70.8
10.0	2.1	272.8 (19.3)	128.7	2.1	117.6 (12.9)	57.1

20

## 37°C, 0.1M 炭酸ナトリウム

緩衝剤のみ				+ CTAB		
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	4.1	70.1 (17.2)	16.9	3.4	105.5 (53.7)	57.5
9.6	4.2	61.6 (9.0)	14.7	3.3	132.2 (30.7)	40.1
10.0	4.1	41.0 (6.9)	10.0	3.3	76.6 (22.0)	23.2

30

+ TBQ			+ BDMQ			
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	4.5	1687.4 (21.0)	371.7	4.4	900.0 (14.2)	204.5
9.6	4.4	1379.3 (11.4)	314.2	4.6	578.3 (8.7)	125.4
10.0	4.7	824.3 (7.8)	176.9	4.3	305.8 (6.5)	71.0

40

## 37℃, 0.75M 炭酸ナトリウム

緩衝剤のみ				+ CTAB		
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	4.1	27.3 (14.8)	6.6	3.5	93.4 (109.5)	26.6
9.5	4.2	19.8 (8.2)	4.8	3.4	51.7 (56.3)	15.2
10.0	4.3	15.0 (5.6)	3.5	3.4	30.3 (37.1)	9.0

10

+ TBQ				+ BDMQ		
pH	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N	バックグラウンド* TLU	+アルカリ性 ホスファターゼ* TLU(最大までの時間)	S/N
9.0	4.2	110.7 (25.0)	97.3	4.3	293.1 (18.6)	68.8
9.5	4.4	116.0 (15.2)	94.8	4.3	230.8 (9.0)	53.9
10.0	4.2	102.2 (10.4)	95.8	4.2	173.5 (6.9)	41.4

20

前述の増強分析から理解できるとおり、TBQは、単独でのジオキセタン類、または当技術に認められた他の増強剤と比較して、化学発光増強の鮮明な改良、上昇したS/Nを与える。すなわち、試料へのTBQの添加のみで、得られる化学発光シグナルおよびS/N値の実質的増強をもたらす。実際に、出願人は、その試料の体積を基準にして0.005重量%未満から0.001重量%までという少量のTBQの添加が、いかなるエンハンサーも伴わずにジオキセタン類から得られたシグナルを4~5倍上回る化学発光シグナルの増強を招くことを発見した。

#### 増強剤および増強添加物の添加

本発明の増強剤を構成する重合第四級塩は、プロトン性の環境下で、オキシアニオンとして酵素から結果的に生じたジオキセタン部分と、続いて形成された励起状態のものをその中に封鎖する疎水性領域を形成することによって、化学発光を増強する。疎水性領域を与えることによって、消光性の水との反応が低下するか、または全く回避されて、化学発光の全般的改良が得られる。出願人は、本発明の重合第四級塩である増強剤の添加に加えての増強添加物の使用は、観測される化学発光シグナルを増強し、S/N値を改善することを発見した。本発明の増強添加物は、増強剤と併せると、非常に低いレベルで顕著な改良を示す。試料の体積を基準にして0.005重量%もの増強添加物の添加は、増強剤の使用によって得られる化学発光シグナルの強さを一層改良するが、バックグラウンドのレベルは上昇させない。増強剤によるのと同様に、この添加物は、実用上役立つ限り多量に用いることができる。一般に、試料を基準にして50重量%を上回る量は検定の性能を阻害する。したがって、増強剤と増強添加物との双方を、試料の体積を基準にして、それぞれ0.005重量%から、試料の体積を基準にして両者併せて全部で50重量%以下の量で含ませることが、本発明の範囲内である。増強剤および増強添加物の合計は50%を超えるべきではない。

30

40

増強添加物の役割は、ジオキセタン類のオキシアニオン、および結果的に得られるその光放射体をその中に封鎖できる疎水性領域を形成する増強剤の能力を改良して、水の不存在下での分解および化学発光を可能にし、そのため、それによって生起される消光反応を低下させることである。増強添加物は、非常に多様な化合物のいずれからでも選択できる。概して、増強添加物は、本発明の増強剤程には強くはないにしても、得られる化学発光シグナルを増強するが、必ずしもその必要はない。したがって、慣用の界面活性剤、主として洗剤類の添加は、比較的安定である疎水性領域を形成して増強剤の能力を改良する。これ

50

らの界面活性剤は、陽イオン性、陰イオン性、両イオン性または中性であってよい。非常に低い濃度でも活性である他の一群の増強添加物は、非常に多様なアルコール類をはじめとする慣用の溶剤である。もう一つの慣用の溶剤であるテルペンも役立つ。

増強添加物の第四の効果的な群は、第四級塩でない水溶性重合体、例えばポリ(2-エチル-2-オキサゾリン)(PolyOx)である。これらの重合体は、それ自体が、バックグラウンドノイズの増大なしに、化学発光シグナルの限定された増強を誘導し得るが、本発明の重合第四級オニウム塩の増強剤と併せて添加されると、観測される化学発光シグナルの鮮明な増強が得られる。

増強剤への増強添加物の添加によって得られる改良を立証するために、緩衝化したジオキセタン類溶液に、TBQとともに、界面活性剤のドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ポリ(2-エチル-2-オキサゾリン)およびオクチル-β-D-グルコシドを与えた。下記の表3および4に示した結果が、表示のとおり、CSPDおよびエンハンサー組成物を用いて得られた。

表中に用いた略号

TBQ:ポリビニルベンジルトリブチル第四級アンモニウムクロリド

SDBS:ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム

PolyOx:ポリ(2-エチル-2-オキサゾリン)、分子量500,000

OcGluc:オクチル-β-D-グルコシド

表 3

	TBQ, mg/ml	SDBS, mg/ml	ノイズ 10 min	S/N 10*	S/N 30*	S/N 60	S/N 10*	S/N30*	S/N 60*
1	0.00	0.00	248	13829	14699	14007	56	59	57
2	2.50	0.00	342	804466	1030372	952221	2352	3013	2784
3	1.00	0.00	369	870920	1069979	1037251	2360	2900	2811
4	0.50	0.00	327	632661	751145	691749	1935	2297	2115
5	2.50	0.25	391	701661	1761807	2490243	1795	4506	6369
6	1.00	0.10	403	956822	2332764	3060310	2374	5788	7594
7	0.50	0.05	399	577058	1410546	2000811	1446	3535	5015
8	2.50	0.50	431	854086	2118583	3826962	1982	5148	8879
9	1.00	0.20	416	932155	2245043	3513769	2241	5397	8447
10	0.50	0.10	413	797925	1861389	2834250	1932	4507	6863
11	1.00	0.360	424	752188	1908633	3161797	1774	4501	7457
12	0.50	0.15	401	847070	2109424	3392238	2112	5260	8459
13	1.00	0.40	575	829578	2217335	3785597	1443	3856	6584
14	0.50	0.20	418	722581	1879004	3094497	1729	44985	7403
15	1.00	0.50	512	886708	2310338	3885348	1732	4512	7589
16	0.50	0.25	518	827050	2144813	3579020	1597	4141	6909
17	0.75	0.50	492	707556	2012165	3549864	1438	4090	7215
18	0.75	0.25	524	732565	1858120	2959896	1398	3546	5649
19	0.75	0.10	489	859610	1968977	2895076	1758	4027	5920
20	0.75	0.05	458	873340	1855213	2364623	1915	4068	5186
21	0.50	0.50	254	9493	30130	56946	37	119	224
22	0.50	0.25	531	667565	1959811	3045419	1257	3691	5735
23	0.50	0.10	463	860156	2123923	3023727	1858	4587	6531
24	0.50	0.05	421	863325	1873370	2390762	2051	4451	5679

10

20

30

表 4

Polyox洗剤		ノイズ2回実行					
TBQ, mg/ml		信号10'	信号30'	信号60'	S/N 10'	S/N 30'	S/N 60'
0.00		14796	14981	15106	63	64	64
1.00		707879	846358	822417	2282	2704	2628
0.50		734263	830370	797345	2532	2863	2749
0.00	20 mg/ml PolyOx	35039	39538	39795	118	133	134
1.00	20 mg/ml PolyOx	1302110	1708716	1710707	2228	2913	2910
0.50		1430199	1692120	1851088	2652	3511	3432
0.50	50 mg/ml OcGluc	872728	882412	883895	1262	1818	1821
0.50	25 mg/ml OcGluc	804130	1083682	1047405	2070	2508	2425
0.50	10 mg/ml OcGluc	1244639	1583235	1503440	2085	2655	2519
0.50	0.5 mg/ml OcGluc	1333745	1679422	1607788	2479	3122	2968
0.50	40 mg/ml OcGluc	18008	45080	8438	43	177	331
0.50	2.5 mg/ml OcGluc	689124	1676678	2761411	1299	3258	3362
0.50	1.0 mg/ml OcGluc	965179	3072592	2826307	1099	2361	3218
0.50	0.5 mg/ml OcGluc	914367	1918571	2278342	1190	2362	2959
1.00	0.5 mg/ml OcGluc	1145360	2693579	4486223	1712	4028	6678
1.00	0.25 mg/ml SDBS	1087146	2341814	3439391	1587	3419	5021
1.00	0.1 mg/ml SDBS	1457360	2768643	3541193	3529	6704	8574
1.00	0.05 mg/ml SDBS	1001917	1889501	2266804	2410	4171	5004
	1 mg/ml Tween20						

前述の結果に明瞭に反映されたとおり、TBQという増強剤への多様な増強添加物の様々な量での添加は、化学発光シグナルおよびS/Nを実質的に改良する。

2種類以上の添加物を組合せることによって、化学発光シグナルおよびS/Nの一層の改良を得ることができる。

前述の結果(表4)に反映されたとおり、PolyOxは、TBQと併用する増強添加物として、増強されるシグナルはごくわずかではあるが、改良された結果が得られた。これらの結果

10

20

30

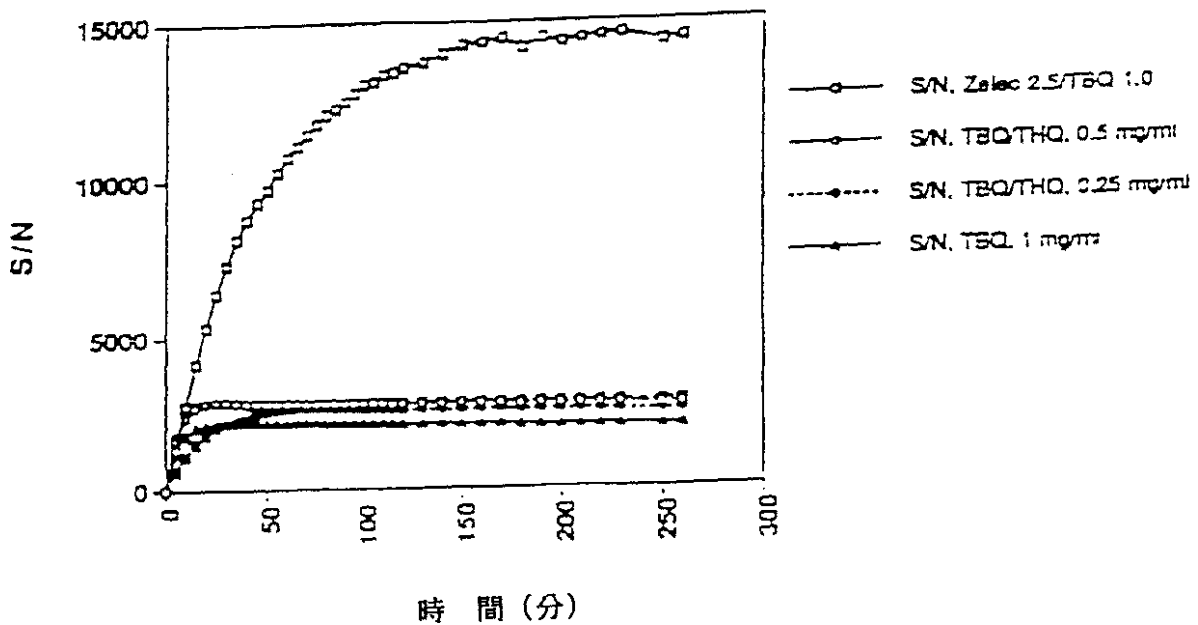
40

50

は、ジオキセタン類としてAMPPDを用い、TBQの評価に関して上記に述べたプロトコールに従って得られたことに注目すべきである。

増強の改良は、ジオキセタン類が上記のような用途に適した化学発光性種であることを条件として、ジオキセタン類の構造とは無関係に、TBQを単独で、または特に増強添加物とともに加えることによって得られる。したがって、TBQは、CSPDとAMPPDとの双方と共に、所望の効果をあげるように用いられる。更に、認識されたように、増強添加物をTBQと共に用いて、シグナルの強さとS/N値との双方を一層改良できる。TBQとCSPDを併用して優れた結果を与える一つの特定の増強添加物は、登録商標「Zelec」として帯電防止剤として販売されており、DuPont社から入手できる。Zelecの組成は、企業秘密として保守されているものと思われるが、テレピン、N - オクチルアルコール、水、イソプロピルアルコール、酢酸ナトリウム、オレイル硫酸ナトリウム、およびニュージャージー州企業秘密登録番号 (NJ Trade Secret Registry Number) 第00850201001 - 5400P号として特定されるTSという化合物または化合物類を含有する。Zelecという帯電防止剤に関する材料安全データシートは、第5909PP号によって特定される。ここで下記に説明のとおり、ZelecとTBQ、またはTBQの共重合体との組合せは、実質的な改良および結果を与える。単独でのAMPPDおよびCSPDはもとより、増強剤としてのBDMQと併用し、それらまたはそれに代えて、増強剤を添加しないZelecも、比較を目的として包含した。

信号とノイズレベルの比較



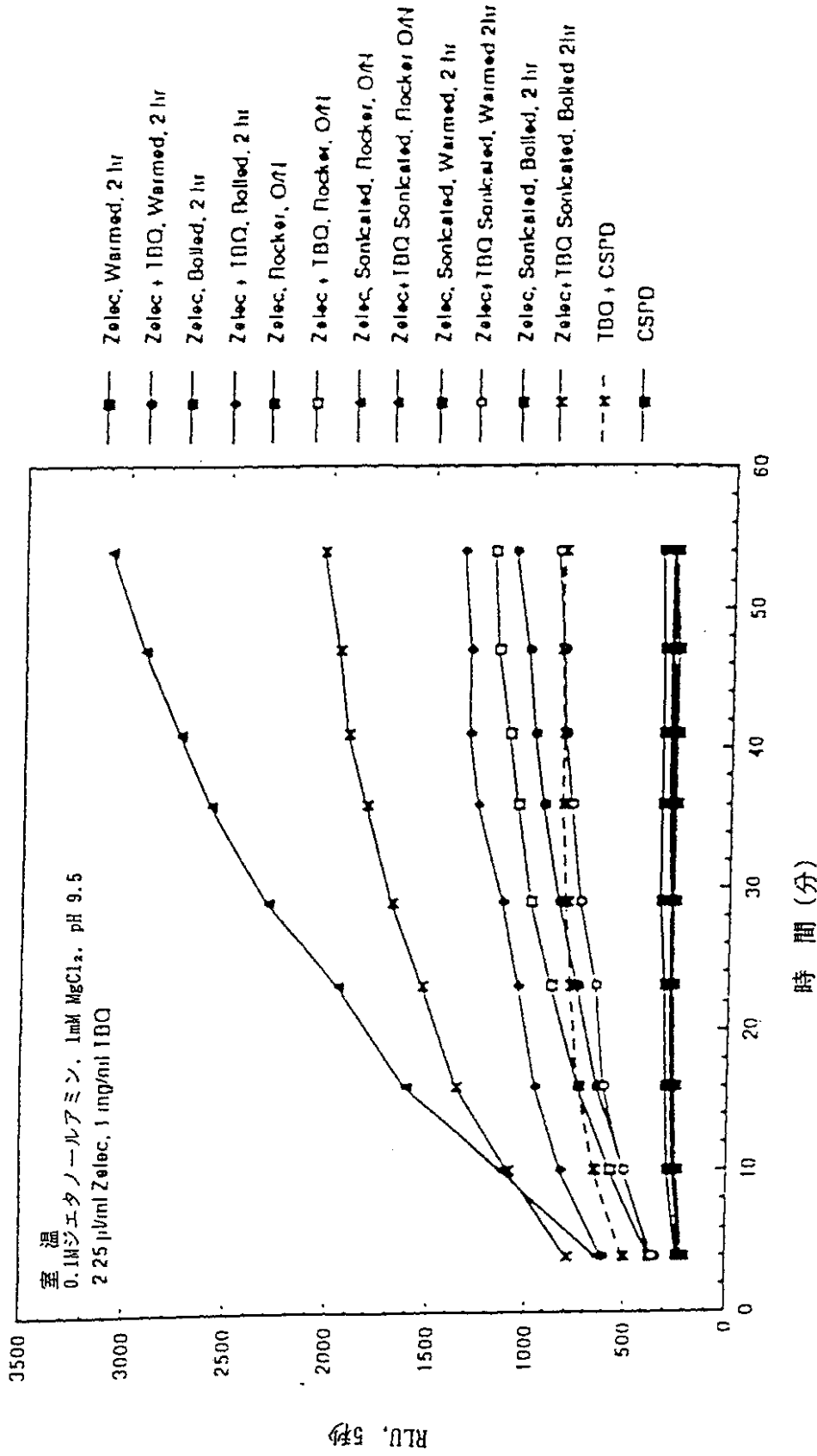
10

20

30



ZELEC/TBQ 混合物におけるCSPDバックグラウンド動力学



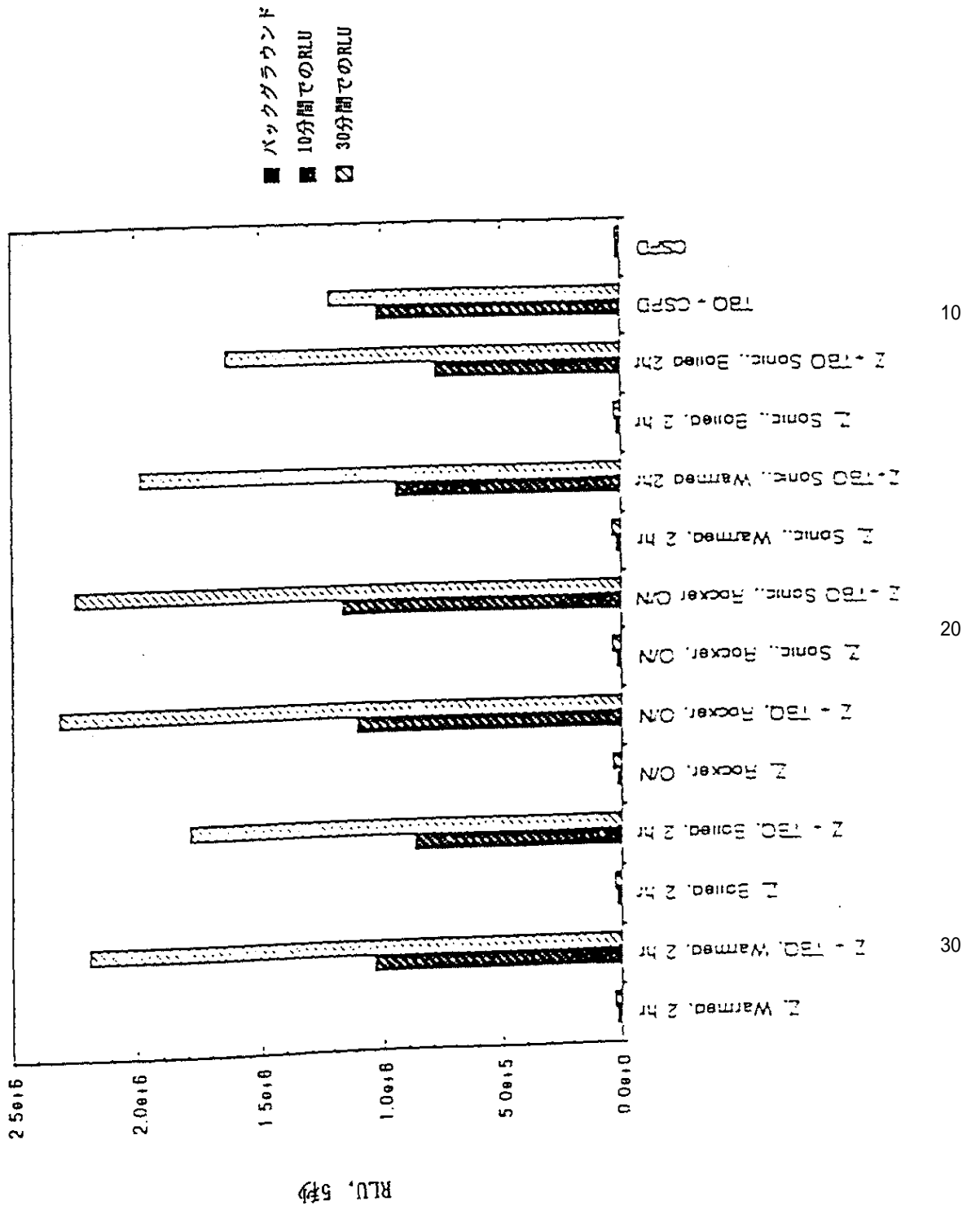
10

20

30

40

ZELEC/TBQ 混合物におけるCSPDからの化学発光



ZELEC/TBQ 混合物におけるCSPD S/N

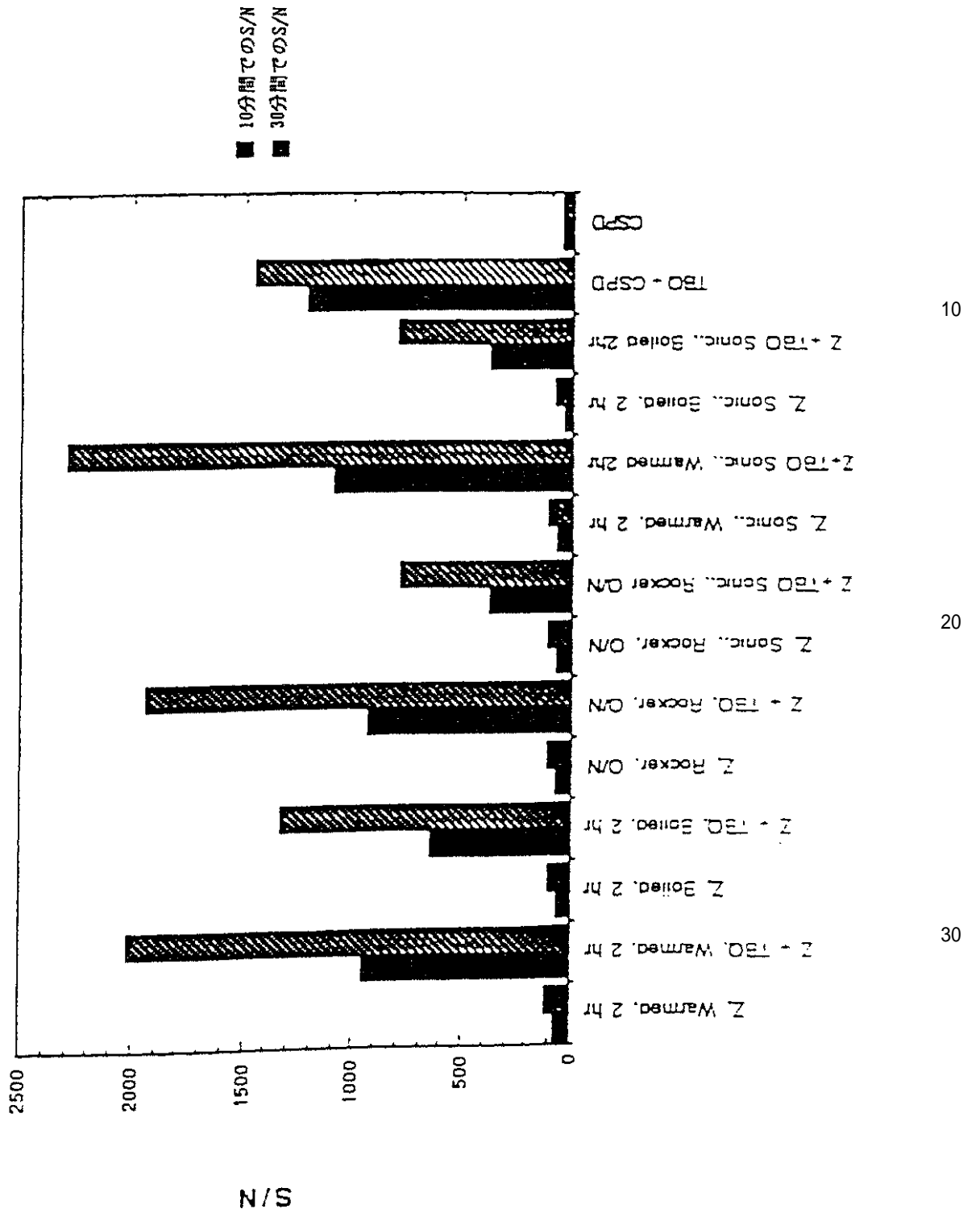


表 5

ジオキセタン、重合体	ノイズ	酵素処理10分後		酵素処理30分後	
		信号	S/N	信号	S/N
AMPPD	424	108,203	26	15,173	36
CSPD	281	16,350	58	16,581	59
AMPPD, BDMQ (1 mg/ml)	334	148,273	444	273,770	820
CSPD, TBQ (1 mg/ml)	431	757,552	1,758	970,097	2,251
AMPPD, Zelec DP (1 mg/ml)	529	12,596	24	26,622	50
AMPPD, Zelec DP (2.5 mg/ml)	494	11,275	23	27,775	56
CSPD, Zelec DP (2.5 mg/ml)	273	16,687	61	31,172	114
AMPPD, BDMQ (1 mg/ml), Zelec DP (1 mg/ml)	725	363,815	502	834,997	1,152
AMPPD, BDMQ (1 mg/ml), Zelec DP (2.5 mg/ml)	900	469,637	522	1,334,310	1,483
AMPPD, TBQ (1 mg/ml), Zelec DP (2.5 mg/ml)	1,077	431,674	401	1,311,966	1,218
CSPD, BDMQ (1 mg/ml), Zelec DP (2.5 mg/ml)	428	1,119,735	2,616	2,560,207	5,982
CSPD, TBQ (1 mg/ml), Zelec DP (2.5 mg/ml)	508	1,563,198	3,077	3,836,680	7,553

緩衝剤：0.1 M ジエタノールアミン, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, PH 9.5

ジオキセタン濃度：0.4 mM

アルカリ性ホスファターゼ濃度：9.35×10<sup>-14</sup> M

ルミノメーター：Beithold 952T

データ：5秒 RLU

増強剤と増強添加物との併用

前述のとおり、TBQは単独で、観測される化学発光に印象的な改良を与える。化学発光性のジオキセタン種をその中に封鎖する疎水性領域を形成するTBQの能力を改良する増強添加物と併用したTBQは、化学発光シグナルの増強とS/N比との双方を一層改良する。言うまでもなく、ノイズとともに増大するならば、シグナルの強さを改良することは、より望ましくないことであろう。前述のデータは、米国マサチューセッツ州BedfordのTropix社か

ら入手できる商業的に入手できるジオキセタン類を用いると、ノイズは低レベルに維持されることを明瞭に証明している。この改良は、TBQのみの添加、または増強添加物のみの添加を理由として予測できるであろうそれをはるかに超えるが、その添加物は、本発明の重合第四級オニウム塩の増強剤の不存在下では、ときには多少の、しかし一般的にはわずかな増強効果を有する。

本発明の重合第四級オニウム塩による増強剤を、化学発光性の種をその中に封鎖する疎水性領域を形成する増強剤の能力を改良できる増強添加物と併用することによって、得られる改良を更に立証するため、増強剤と1種以上の増強添加物との非常に多様な組合せを調製し、化学発光について評価した。これらの増強剤は、界面活性剤、慣用の溶剤、および水溶性重合体を包含する非常に多様な化合物群から選択されるものである。結果は以下の

10

ページに反映される。  
様々なエンハンサー系を評価するために、下記の方法を用いた。おのおののエンハンサー配合物試料(0.5ml)は、濃縮した貯蔵溶液から調製した。用いた緩衝液は、0.1Mのジエタノールアミン、1mMのMgCl<sub>2</sub>、pH9.5であった。エンハンサー配合物を調製した後、CSPDを加えた(最終ジオキセタン濃度、0.04mM)。次いで、基質の添加の約10分後および1時間後にBertholdの952TLミノメータ中で、バックグラウンドを室温で測定した。次に、アルカリ性ホスファターゼを加え(最終濃度、 $9.35 \times 10^{-14}$ M)、10、30および60分(時折り)に、化学発光シグナル(5秒間、RLU)を測定した。



表 6

CSPD

添加物	濃度	ノイズ	信 号			S/N	
			10分	30分	60分	10分	30分
1. 何もなし		282	17417	17705	62	63	
2. BDMQ	1 mg/ml	536	369711	419173	690	782	
3. TBQ	1 mg/ml	662	873852	1116942	1320	1687	
4. Zelec DP TBQ	2.5 µl/ml 1 mg/ml	508	1563198	3836680	3077	7552	
5. 赤ビニールコート TBQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	539	1004417	1281062	1863	2377	
6. 白ビニール TBQ	1 mg/ml 1 mg/ml	574	962628	1271409	1677	2215	
7. 2-材料 TBQ	10 mg/ml 1 mg/ml	568	1036203	1362463	1822	2399	
8. Zelec DP SDS TBQ	2.5 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	927	837481	2586843	903	1860	
9. Zelec DP SDS BDMQ	2.5 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	726	735959	2118539	1014	2918	
10. Zelec DP Tween-20 TBQ	2.5 µl/ml 5 mg/ml 1 mg/ml	853	594827	1586672	697	1860	
11. Zelec DP Tween-20 BDMQ	2.5 µl/ml 0.01 mg/ml 1 mg/ml	1129	545747	1289720	483	1142	

表 6  
続 き

12. Zelec DP Tween-20 BDMQ	2.5 µl/ml 0.05 mg/ml 1 mg/ml	1112	545295	1222221	490	1099
13. Zelec DP Tween-20 TBQ	2.5 µl/ml 0.01 mg/ml 1 mg/ml	1338	957409	2375419	716	1775
14. Zelec DP Tween-20 TBQ	2.5 µl/ml 0.05 mg/ml 1 mg/ml	1097	969399	2345374	884	2138
15. TBQ/THQ (35モル% THQ) CTAB	1 mg/ml 0.05 mg/ml	9997	5429086	8543357	543	855
16. γ-グルチノール BDMQ	10 mg/ml 1 mg/ml	340	435740	533074	1282	1568
17. 2-チロシン BDMQ	10 mg/ml 1 mg/ml	365	405753	510671	1112	1399
18. Zelec DP TBQ/THQ (35モル%THQ)	3 µl/ml 1 mg/ml	10851	5605794	9637819	517	888
19. AMPA-8 BDMQ	0.5 µl/ml 1 mg/ml	385	297926	400787	774	1041
20. AMPA-8 TBQ	0.5 µl/ml 1 mg/ml	677	790317	1109404	1167	1639
21. AMPA-5 BDMQ	0.5 µl/ml 1 mg/ml	398	530827	624527	1336	1569
22. AMPA-5 TBQ	0.5 µl/ml 1 mg/ml	859	1006579	1289099	1172	1501



表 6  
続 き

23. AMPA-3 BDMC	0.5 µl/ml 1 mg/ml	564	194022	251987	344	447
24. AMPA-3 TBQ	0.5 µl/ml 1 mg/ml	796	757153	1021267	951	1283
25. TPP/TBQ	2.5 mg/ml	407	9440	183054	232	450
26. TPP/BMQ	2.5 mg/ml	361	164641	201410	456	558
27. TBQ/THQ Tween-20	1 mg/ml 5 mg/ml	4436	1501695	3853047	339	869
28. Zelec DP TBQ/THQ (35%トルソル)	2.5 µl/ml 1 mg/ml	8332	6693311	10215623	803	1226
	Tween-20					
29. Zelec DP Tween-20 TBQ/THQ (35%トルソル)	2.5 µl/ml 2.5 mg/ml 1 mg/ml	729	138425	332143	190	456
	CTAB					
	0.25 mg/ml					
30. Zelec DP TritonX100 TBQ	2.5 µl/ml 0.625 mg/ml 1 mg/ml	402	633521	1675565	1576	4168
31. Zelec DP Tween-80 TBQ	2.5 µl/ml 1.25 mg/ml 1 mg/ml	381	673881	1714914	1769	4501
32. Benz-PEI	1 mg/ml	715	616720	1770606	863	2630
33. Lanoquat	1 mg/ml	495	56981	121737	115	246

表 6  
続 き

34. TBO/THQ (21モル%THQ)	0.5 mg/ml	1574	5084709	6077275	3230	3861
35. Benz-PEI BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	504	667698	151051	1325	3006
36. Lanoquat BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	401	222433	359929	555	898
37. Benz-PEI TBQ	1 mg/ml 1 mg/ml	858	745446	1774863	869	2069
38. Lanoquat TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	570	600923	878859	1054	1542
39. Hipolix DDD BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	418	346956	402685	830	963
40. Hipolix DDD TBQ	2.5 mg/ml 1 mg/ml	1040	760173	859718	731	822
41. Hipolix DD-NF BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	343	345329	390776	1007	1139
42. Hipolix DD-NF BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	493	713154	854962	1447	1734
43. Hipolix 491 BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	395	155086	199658	393	505
44. Hipolix 491 TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	684	291815	366201	427	535
45. Aerotex M-3 BDMQ	2.5 mg/ml 1 mg/ml	449	197957	233053	441	519
46. Aerotex M-3 TBQ	5 mg/ml 1 mg/ml	791	492405	527229	623	723

表 6  
続 き

47. PVEE (lo mw) 1 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	568	2372633	378368	418	666
48. PVEE (lo mw) 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	655	730024	1151041	1115	1757
49. Polyox (mw 50K) 1 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	574	342402	422461	597	740
50. Polyox (mw 50K) 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	699	1284452	1587003	1838	2270
51. PVME 1.25 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	917	309446	371819	337	405
52. PVME 1.25 mg/ml TBQ 1 mg/ml	834	663814	839470	796	1007
53. PTHF (mw 250) 2.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	700	265174	352224	379	503
54. PTHF (mw 250) 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	758	634639	851396	837	1123
55. Polyox (mw 500K) 0.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	699	316630	385553	453	552
56. Polyox (mw 500K) 5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	889	628735	822133	707	925
57. PEO 1 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	670	220386	257387	329	384
58. PEO 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	776	541518	695872	698	897

(27)

JP 3632856 B2 2005.3.23

表 6  
続 き

59. CelquatH100 0.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	406	284794	353576	701	871
60. CelquatH100 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	719	734280	970599	1021	1350
61. Celquat L200 0.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	499	268280	326627	537	655
62. Celquat L200 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	969	722551	920806	746	959
63. CelquatSC240 0.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	530	317199	382101	598	721
64. CelquatSC240 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	804	811714	1030836	1010	1282
65. Pluronic122 0.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	608	47854	117319	79	193
66. Pluronic122 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	746	66504	181603	89	244
67. Pluronic123 0.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	648	69686	150161	108	232
68. Pluronic123 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	1453	178632	386930	123	266
69. Pluronic150R1 0.5 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	896	156254	173414	174	194
70. Pluronic150R1 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	1996	205940	324257	143	162
71. CIIAPS 0.5 mg/ml	210	14320	42519	68	202

表 6  
続 き

72. CHIAPSO	0.5 mg/ml	218	15119	42489	69	195
73. Zolec DP CHAPS BDMQ	2.25 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	638	741248	1616666	1162	2534
74. Zolec DP CHAPS TBQ	2.25 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	858	1146672	2754178	1336	3210
75. Zolec DP CHAPSO BDMQ	2.25 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	555	718553	1530910	1295	2758
76. Zolec DP CHAPSO TBQ	2.25 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	900	1090555	2453191	1212	2726
77. Polybrene CHAPS	5 mg/ml 5 mg/ml	413	19740	24261	48	59
78. Polybrene CHAPS BDMQ	5 mg/ml 5 mg/ml 1 mg/ml	2853	486059	705032	170	247
79. Polybrene CHAPS BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	5982	683646	839733	114	140
80. Polybrene CHAPSO BDMQ	5 mg/ml 5 mg/ml 1 mg/ml	6348	832574	1239584	131	195
81. Polybrene CHAPSO BDMQ	0.5 mg/ml 0.5 mg/ml 1 mg/ml	6441	736510	897356	114	139
82. BenzethoniumCl	0.5 mg/ml	692	34183	81211	49	117

(29)

JP 3632856 B2 2005.3.23

表 6  
続 き

83. BDMQ/TBQ (20% BDMQ)	1 mg/ml	568	742480	859880	1307	1514
84. BDMQ/TBQ (10% BDMQ)	1 mg/ml	740	927108	1113083	1253	1504
85. Zelec DP BDMQ/TBQ (20% BDMQ)	2.5 µl/ml 1 mg/ml	1910	899187	1768511	471	926
86. Zelec DP BDMQ/TBQ (10% BDMQ)	2.5 µl/ml 1 mg/ml	8392	1057422	2177684	126	259
87. Avitex ML BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	1051	142640	298297	136	284
88. Avitex ML TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	1318	466655	866897	354	658
89. Polyox(500K) CTAB TBQ	0.5 mg/ml 0.01 mg/ml 1 mg/ml	1730	862023	1239458	498	716
90. Polyox(50K) CTAB TBQ	0.5 mg/ml 0.01 mg/ml 1 mg/ml	952	872307	1183521	916	1243
91. Agelloc B50 TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	952	872307	1183521	1961	2262
92. Agelloc B50 BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	574	300582	347312	538	605
93. Agelloc A50 TBQ	1 mg/ml 1 mg/ml	689	1015523	1225260	1474	1778

(30)

JP 3632856 B2 2005.3.23

表 6  
続 き

94. Agelloc A50 TBC	0.5 mg/ml 1 mg/ml	693	309616	355165	447	513
95. Agelloc A50HV TBC	0.5 mg/ml 1 mg/ml	1265	1190551	1343823	941	1062
96. Agelloc A50HV TBC	0.5 mg/ml 1 mg/ml	769	284170	325540	370	423
97. SDBS Tween-20 BDMQ	0.5 mg/ml 20 mg/ml 1 mg/ml	725	758078	2071149	1046	2857
98. SDBS Triton X-100 BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	668	638270	1763156	955	2639
99. SDBS CHAPS BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	1337	1021526	2582544	764	1932
100. SDBS CHAPSO BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	1476	940142	2282165	637	1546
101. SDBS CTAB BDMQ	0.5 mg/ml 0.05 mg/ml 1 mg/ml	1329	883203	2195667	665	1652
102. DAXAD TBC	1 mg/ml 1 mg/ml	866	1059832	1225160	1224	1415
103. DAXAD BDMQ/TBC (20% BDMQ)	0.5 mg/ml 1 mg/ml	802	771273	833134	962	1039
104. DAXAD BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	510	301223	351656	591	690

(31)

JP 3632856 B2 2005.3.23

表 6  
続 き

105. DextranSul BDMQ	0.5 mg/ml 0.1 mg/ml	306	37132	39345	121	129
106. SDS Tween-20 TBQ	0.6 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	961	772634	2258788	804	2350
107. SDS Trilon X-100 TBQ	0.6 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	1100	867025	2581024	788	2346
108. SDS Tween-20 BDMQ	0.6 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	721	592457	1575837	822	2186
109. SDS Trilon X-100 BDMQ	0.6 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	697	412432	1143747	592	1641
110. SDBS Tween-20 オキカル-オキカル TBQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	2097	957195	2016212	456	962
111. SDBS Trilon X-100 オキカル-オキカル TBQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	2276	924169	2002195	406	880
112. SDBS Tween-20 CIAB TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	288	22720	56363	79	196



表 6  
続き

113. SDBS Triton-X-100 CTAB TBC	0.5 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	291	17291	43494	59	149
114. SDBS Tween-20 BDMC/CAC TBC	0.5 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	231	34158	101381	148	439
115. SDBS Triton X-100 BDMC/CAC TBC	0.5 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	233	31723	90256	136	387
116. SDBS Tween-20 CTAB TBC	0.1 mg/ml 1 mg/ml 0.1 mg/ml 1 mg/ml	878	1052025	2086077	1198	2376
117. SDBS Tween-20 CTAB TBC	0.1 mg/ml 1 mg/ml 0.01 mg/ml 1 mg/ml	1009	1358360	2551569	1346	2529
118. CTAB Triton X-100 TBC	0.1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	412	395868	714210	961	1734
119. CTAB Triton X-100 TBC	0.01 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	632	727582	1089538	1151	1724
120. 非イオン界面活性剤 TBC	1 mg/ml 1 mg/ml	586	726013	836153	1239	1427
121. Tween-20 TBC	1 mg/ml 1 mg/ml	550	371246	620097	675	1128

表 6  
続き

122. Tilon X-100 TBQ	1 mg/ml 1 mg/ml	636	329832	570539	519	897
123. CTAB TBQ	1 mg/ml 1 mg/ml	227	15217	26636	67	117
124. Polyox(50K) CTAB	20 mg/ml 0.25 mg/ml	154	26179	47219	170	307
125. Polyox(50K) CTAB TBQ	20 mg/ml 0.25 mg/ml 1 mg/ml	243	495112	723580	2037	2978
126. Polyox(50K) CTAB TBQ	20 mg/ml 0.025 mg/ml 1 mg/ml	607	768812	930826	1267	1533
127. Polyox(50K) CTAB TBQ	20 mg/ml 0.0025 mg/ml 1 mg/ml	402	832297	962123	2070	2393
128. Polyox(50K) TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	391	970406	1102900	2482	2821
129. Polyox(500K) CTAB	20 mg/ml 0.25 mg/ml	283	42628	77784	151	275
130. Polyox(500K) CTAB	20 mg/ml 0.025 mg/ml	275	36981	44021	134	160
131. Polyox(500K) CTAB	20 mg/ml 0.0025 mg/ml	250	40563	45500	162	182
132. Polyox(500K) CTAB TBQ	1 mg/ml 0.05 mg/ml 1 mg/ml	397	1527695	1781760	3848	4488

表 6  
続き

133. Polyox(500K) 1 mg/ml CTAB 0.005 mg/ml TBQ 1 mg/ml	455	1629253	1834806	3581	4033
134. Polyox(500K) 1 mg/ml CTAB 0.0005 mg/ml TBQ 1 mg/ml	514	1635987	1823578	3183	3548
135. Polyox(500K) 20 mg/ml TBQ 1 mg/ml	623	2505788	3072392	4022	4931
136. Polyox(500K) 20 mg/ml BDMQ 1 mg/ml	432	528833	653731	1224	1513
137. Polyox(500K) 20 mg/ml Zelac DP 2.5 µl/ml Tween-20 0.625 mg/ml TBQ 1 mg/ml	17614	2047954	4050329	116	230
138. Polyox(500K) 20 mg/ml SDBS 0.5mg/ml CTAB 0.75 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	562	76352	229205	136	408
139. Polyox(500K) 20 mg/ml SDBS 0.5 mg/ml CTAB 0.5 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	2689	474537	1267603	176	471
140. Polyox(500K) 20 mg/ml SDBS 0.25 mg/ml CTAB 0.3 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	5476	675082	1535300	123	280

表 6  
続 き

141. Polyox(500K) 20 mg/ml DEA中の1 M NaCl TBQ 1 mg/ml	729	393791	507399	540	696
142. Polyox(500K) 20 mg/ml DEA中の0.5 M NaCl TBQ 1mg/ml	714	444112	545624	622	764
143. Polyox(500K) 20 mg/ml 1 M NaCl (DEA なし) TBQ 1mg/ml	803	271814	311794	338	388
144. Polyox(500K) 20 mg/ml 0.5 M NaCl (DEA なし) TBQ 1 mg/ml	723	316032	342073	437	473
145. Polyox(500K) 20 mg/ml SDBS 0.1 mg/ml Chaps 1 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	810	1255809	2567260	1550	2388
146. Polyox(500K) 20 mg/ml SDBS 0.1 mg/ml Chapso 1 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	858	1529784	3035681	1783	2575
147. Polyox(500K) 20 mg/ml SDBS 0.1 mg/ml Chaps 1 mg/ml Triton-X100 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	1309	1581194	3072325	1208	1674

表 6  
続 き

148.	Polyox(500K) 20 mg/ml SDBS 0.05 mg/ml Chapso 0.5 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBQ 1 mg/ml	2593	1240847	2249328	479	591
149.	Polybrene 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	425	979550	1210591	2305	2848
150.	Polyox(500K) 20 mg/ml Polybrene 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	506	1106515	1378277	2187	2724
151.	Polyox(500K) 20 mg/ml CHAPS 0.5 mg/ml Polybrene 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	765	995361	1202025	1301	1571
152.	Polyox(500K) 20 mg/ml CHAPSO 0.5 mg/ml Polybrene 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	2024	1149546	1385744	568	685
153.	Polybrene 0.5 mg/ml CHAPS 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	567	1144898	1337605	2019	2358
154.	Polybrene 0.5 mg/ml CHAPSO 0.5 mg/ml TBQ 1 mg/ml	665	1240889	1442628	1866	2169
155.	Polyox(500K) 20 mg/ml DEA/Carb緩衝剤9.5 TBQ 1 mg/ml	573	766172	942897	1337	1646
156.	TBQ 1 mg/ml DEA/Carb緩衝剤9.5	466	320952	371408	689	797

表 6  
続 き

157. Polyox(500K) 20 mg/ml TBC 0.5 mg/ml	531 1996396 2509803	3760	4727
158. Polyox(500K) 20 mg/ml オクチル-β-D-グルコシド 1 mg/ml TBC 1 mg/ml	482 1649504 2021238	3422	4193
159. Polyox(500K) 20 mg/ml オクチル-β-D-グルコシド 5 mg/ml	262 35061 36818	134	141
160. Polyox(500K) 20 mg/ml 7-ε-N-β-D-グルコシド 5 mg/ml TBC 1 mg/ml	604 1729994 2149082	2864	3558
161. Polyox(500K) 20 mg/ml 7-ε-N-β-D-グルコシド 5 mg/ml	268 30705 33366	150	124
162. Polyox(500K) 20 mg/ml オクチル-β-D-グルコシド 2.5 mg/ml SDBS 0.25 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBC 1 mg/ml	562 1372766 2935468	2443	5223
163. Polyox(500K) 20 mg/ml 7-ε-N-β-D-グルコシド 2.5 mg/ml SDBS 0.25 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBC 1 mg/ml	632 1197951 2459440	1895	3892
164. SDBS 0.1 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBC 1 mg/ml	413 1457360 2768643 3541193	3529	6704 8574
165. SDBS 0.1 mg/ml Tween-20 1 mg/ml TBC 0.5 mg/ml	414 1353062 2649803 3601796	3268	6400 8700

表 6 (終り)

166. SBS BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	318	405862	478723	473862	1276	1505	1490
167. SBS TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	341	950755	1115291	1107561	2788	3271	3248

10

20

30

表 7

AMPPD	添加物	濃度	ノイズ	信 号			S/N			
				10分	30分	60分	10分	30分	60分	
1.	何もなし		601	15434	22361			26	37	
2.	BDMQ	1 mg/ml	1021	239457	392753			250	410	
3.	TBQ	1 mg/ml	1940	529838	953548			311	819	
4.	TBQ/THQ	1 mg/ml	10112	3909328	7854723			387	777	
5.	BDMCAC	0.5 mg/ml	539	19978	59936			39	118	
6.	THQ 単量体	5 mg/ml	611	38535	92199			58	140	
7.	Andogen464	1 mg/ml	1019	232240	713917			253	779	
8.	Andogen464 Trilon X-100	5 mg/ml 10 mg/ml	447	19223	63303			43	214	
9.	Andogen464 Trilon X-100	5 mg/ml 1 mg/ml	784	49888	167538			64	214	
10.	Andogen464 Tween-20	5 mg/ml 10 mg/ml	493	32050	107977			65	219	
11.	Andogen464 Tween-20	1 mg/ml 1 mg/ml	718	39265	131675			55	183	
12.	BDMTDAC BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1213	94008	210047			78	173	
13.	BDMDAB BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1366	156795	273187			115	200	



表 7  
続 き

14. Zonyl Surf. BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1597	170683	283296	107	177
15. BDMTDAC TBQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	752	186443	432829	248	576
16. BDMDAB TBQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1000	379583	717087	380	717
17. Zonyl Surf. TBQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1108	393546	734506	355	663
18. 抄林-ノルニゾ BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1474	167319	316876	35	68
19. 7xニ-ノルニゾ BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1663	168296	31431	101	189
20. 抄林-ノルニゾ BDMDAB BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	359	16800	41762	47	116
21. 抄林-ノルニゾ TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	1000	339007	648072	339	648
22. 7xニ-ノルニゾ TBQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	1221	269016	545848	220	439
23. HDTBPB	0.5 mg/ml	1412	36919	102172	26	72
24. Andogen464 7xニ-ノルニゾ	1 mg/ml 1 mg/ml	3919	223888	682817	57	174
25. HDTBPB 7xニ-ノルニゾ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	640	40379	124470	63	195
26. Nonidel P-400 BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	1143	112668	252316	99	221

表 7  
続 ぎ

27. Tween-80 BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	844	87136	165285	103	196
28. PO23LE BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1980	130369	261388	66	132
29. Ipegal BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	822	116303	231011	142	281
30. HDTBPB BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	1167	35861	90738	31	78
31. $\beta$ -cyclodex. BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	451	46605	101249	103	224
32. FC-135 BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	420	66390	133292	158	317
33. BOP BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	3327	464178	1059036	140	318
34. PPG BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	803	25376	411277	316	512
35. PEI BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	771	265606	446988	345	580
36. P-DMDMPC BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	1031	286017	489468	277	475
37. Avitex DN	5 mg/ml	372	33046	67404	59	181
38. Avitex DN BDMQ	0.1 mg/ml 1 mg/ml	687	251317	418395	366	609
39. Avitex E BDMQ	0.5 mg/ml 1 mg/ml	674	273361	442352	406	656

表 7 (終り)

40. DMQ-TEQ	5 mg/ml	826	198197	445457	240	539
41. TBO/THQ (35モル%THQ) BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	20254	2910352	6446798	144	318
42. DMQ-TEQ BDMQ	5 mg/ml 1 mg/ml	706	226048	502481	320	712
43. TBO/THQ (35モル%THQ) TBO	1 mg/ml 1 mg/ml	20339	2415719	5398310	119	265
44. DMQ-TEQ TBO	1 mg/ml 1 mg/ml	893	370453	735995	415	824
45. Zelec DP 7-エチル-グアニジン BDMQ	2.5 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	1916	340564	8009917	178	423
46. Zelec DP 7-エチル-グアニジン TBO	2.5 µl/ml 1 mg/ml 1 mg/ml	2244	386368	1068947	172	476
47. PVA BDMQ	1 mg/ml 1 mg/ml	365	395636	476147	1084	1305

出願人は、可能な組合せの広範な実施態様によって、その発明を例示するために努力した。にもかかわらず、可能な組合せは無限であり、網羅的には具体化できないことが認識される。上記の教示を前提として、当業者は、前述の出願中に特定して例示されてはいない増強剤および増強添加物に到達するものと思われる。実施例は、限定的であるとは解釈されず、その他の組合せの特定は、前述の開示を前提として、適当な実験を伴うことなく本技術を実施する者の技量の十分な範囲内にある。そのような組合せは、以下に述べる請求項によって明白に限定または排除されるようなものを除いて、本発明の範囲内にあると解釈される。

---

フロントページの続き

(72)発明者 ヴォイタ, ジョン・シー  
アメリカ合衆国、マサチューセッツ 01864、ノース・リーディング、ウイリアムズ・ロード  
20

審査官 斎藤 真由美

(56)参考文献 特開平05 - 187042 (JP, A)  
米国特許第05112960 (US, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, DB名)

C12Q 1/00 - 70

G01N 33/00 - 98

C12N 1/00 - 9/99

PubMed, MEDLINE (STN)

BIOSIS/WPI (DIALOG)