

【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29年6月29日 (2017.6.29)

【公表番号】特表2016-535589(P2016-535589A)

【公表日】平成28年11月17日 (2016.11.17)

【年通号数】公開・登録公報2016-064

【出願番号】特願2016-524578(P2016-524578)

【国際特許分類】

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

G 0 1 N 27/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 M 1/34 B

G 0 1 N 27/00 Z

【手続補正書】

【提出日】平成29年5月18日 (2017.5.18)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ナノ気孔検知装置で使用するための脂質二重層を形成するための方法であって、

(a) 各々が検知電極を含む複数のウェルと流体連通している流体流路を含み、前記検知電極が対電極と対にされる、ブライミングされたチップを提供することと、

(b) 脂質溶液を前記流体流路中に流入することと、

(c) 前記流体流路上に少なくとも 1 つの気泡を流入し、それにより、前記検知電極に隣接して脂質二重層を形成することと、を含み、前記気泡が、前記複数の検知電極にまたがる、前記方法。

【請求項 2】

前記気泡が、少なくとも約 5 ミリ秒間にわたって前記検知電極に隣接する、請求項 1 に記載の前記方法。

【請求項 3】

前記気泡が、少なくとも約 30 秒間にわたって前記検知電極に隣接する、請求項 1 に記載の前記方法。

【請求項 4】

前記気泡が、最大でも約 5 分間にわたって前記検知電極に隣接する、請求項 1 に記載の前記方法。

【請求項 5】

脂質二重層が、前記検知電極の少なくとも 25 % にわたって形成される、請求項 1 に記載の前記方法。

【請求項 6】

ナノ気孔を前記検知電極の各々に隣接する前記脂質二重層に挿入することを更に含む、請求項 1 に記載の前記方法。

【請求項 7】

ナノ気孔検知装置で使用するための脂質二重層を形成するための方法であって、

(a) 各々が検知電極を含む複数のウェルと流体連通している流体流路を含み、前記検知電極が対電極と対にされる、ブライミングされたチップを提供することと、

(b) 気泡が前記複数の検知電極にまたがるように、少なくとも1つの気泡を前記流体流路中に、かつ前記複数の検知電極に隣接して流入することと、

(c) 前記気泡の周辺部を脂質に接触させ、前記脂質が前記気泡の下及び前記流体流路の上に拡散し、それにより前記検知電極に隣接して脂質二重層を形成することと、を含む、前記方法。

【請求項 8】

前記気泡が、少なくとも約5ミリ秒間～約10分間にわたって前記脂質と接触させられる、請求項7に記載の前記方法。

【請求項 9】

脂質二重層が、前記検知電極の少なくとも50%にわたって形成される、請求項7に記載の前記方法。

【請求項 10】

ナノ気孔を前記検知電極の各々に隣接する前記脂質二重層に挿入することを更に含む、請求項7に記載の前記方法。

【請求項 11】

前記ナノ気孔が、マイコバクテリウム・スメグマチスポリンA(MspA)、溶血素、MspAもしくは溶血素のうちの少なくとも1つと少なくとも70%の相同性を有する任意のタンパク質、またはそれらの任意の組み合わせである、請求項1または6に記載の前記方法。

【請求項 12】

前記ナノ気孔を挿入することが、順次増大する電気刺激を、前記電極を通して適用して、前記脂質二重層内の前記ナノ気孔の前記挿入を促進することを含む、請求項6または10に記載の前記方法。

【請求項 13】

前記脂質二重層は、約1GΩを超える抵抗を呈する、請求項1または7に記載の前記方法。

【請求項 14】

前記脂質二重層及び前記ナノ気孔タンパク質がともに、約1GΩ以下の抵抗を呈する、請求項6または10に記載の前記方法。

【請求項 15】

前記脂質が、有機溶媒を含む、請求項1または7に記載の前記方法。

【請求項 16】

前記気泡が、蒸気気泡である、請求項1または7に記載の前記方法。

【請求項 17】

前記脂質が、ジフィタノイル-ホスファチジルコリン(DPhPC)、1,2-ジフィタノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、1,2-ジ-O-フィタニル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DOPhPC)、パルミトイル-オレオイル-ホスファチジルコリン(POPC)、ジオレオイル-ホスファチジル-メチルエステル(DOPME)、ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)、ホスファチジルコリン、ホスファチジリエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、スフィンゴミエリン、1,2-ジ-O-フィタニル-sn-グリセロール; 1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-350]、1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-550]; 1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-750]、1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-1000]、1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-2000]、1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-ラクトシル; GM1

ガングリオシド、リゾホスファチジルコリン（ＬＰＧ）、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項１または７に記載の前記方法。

【請求項１８】

ナノ気孔検知システムであって、

（ａ）各々が検知電極を含む複数のウェルと流体連通している流体流路を含み、前記検知電極が対電極と対にされ、前記検知電極の各々が、核酸取り込みまたは捕捉事象時のイオン電流、または抵抗、コンダクタンス、電荷、もしくは電圧の変化を検出するように構成される、チップと、

（ｂ）前記チップに連結される制御システムであって、

i．前記チップを横断してイオン溶液を流入して、続いて、脂質溶液を前記流体流路中に流入する、

ii．少なくとも１つの気泡を前記流体流路中に、かつ少なくとも約０．５秒間の期間にわたって前記検知電極に隣接して流入する、ようにプログラムされる、制御システムと、を備え、前記気泡が前記複数の検知電極にまたがり、前記気泡の前記流体流路中への前記流入が、前記検知電極に隣接して脂質二重層を形成する、前記ナノ気孔検知システム。

【請求項１９】

前記制御システムが、前記チップの外側にある、請求項１８に記載の前記システム。

【請求項２０】

前記制御システムが、コンピュータプロセッサを備える、請求項１８に記載の前記システム。

【請求項２１】

前記制御システム及び前記チップに動作可能に連結される流体流動システムを更に備え、前記流体流動システムが、前記脂質溶液及び前記気泡の流れを方向付けるように構成される、請求項１８に記載の前記システム。