

【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7月13日(2017.7.13)

【公表番号】特表2016-525344(P2016-525344A)

【公表日】平成28年8月25日(2016.8.25)

【年通号数】公開・登録公報2016-051

【出願番号】特願2016-519541(P2016-519541)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
C 1 2 M	1/34	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
G 0 1 N	33/536	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/68	Z N A Z
C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 M	1/34	F
C 1 2 M	1/34	Z
C 1 2 M	1/34	A
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/53	M
G 0 1 N	33/53	B
G 0 1 N	33/536	D

【手続補正書】

【提出日】平成29年5月30日(2017.5.30)

【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】

a. サンプルを複数の標的プローブを含む組成物と接触させる工程であって、該複数のうちの各標的プローブが、

- i . 該サンプル中の別個の標的タンパク質分子に特異的に結合する標的結合分子、
- ii . 該標的結合分子を同定する同定ヌクレオチド配列、および
- iii . 該標的結合分子と該同定ヌクレオチド配列との間の開裂可能リンカー

を含む、工程；

b . 該サンプル中の複数の複合体から、結合していない標的プローブを分離する工程であって、各複合体は、標的タンパク質分子およびそれに結合した単一の標的プローブを有し、該複合体は、該標的タンパク質分子の異なる領域に結合する第二の標的プローブを有さない、工程；

c . 該複数の複合体から該同定ヌクレオチド配列を遊離させる工程；ならびに

d . 非ゲル電気泳動方法に基づいて、遊離された該同定ヌクレオチド配列からのシグナルを検出する工程であって、該シグナルが、該同定ヌクレオチド配列について識別可能であり、それによって、該対応する標的結合分子を同定して、該サンプル中の複数の異なる標的タンパク質分子を検出する、工程

を含む、サンプル中の複数の標的タンパク質分子を検出するための方法。

【請求項 2】

標的結合分子が抗体である、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

開裂可能なリンカーが開裂可能なハイブリダイズできないリンカーである、請求項1または2に記載の方法。

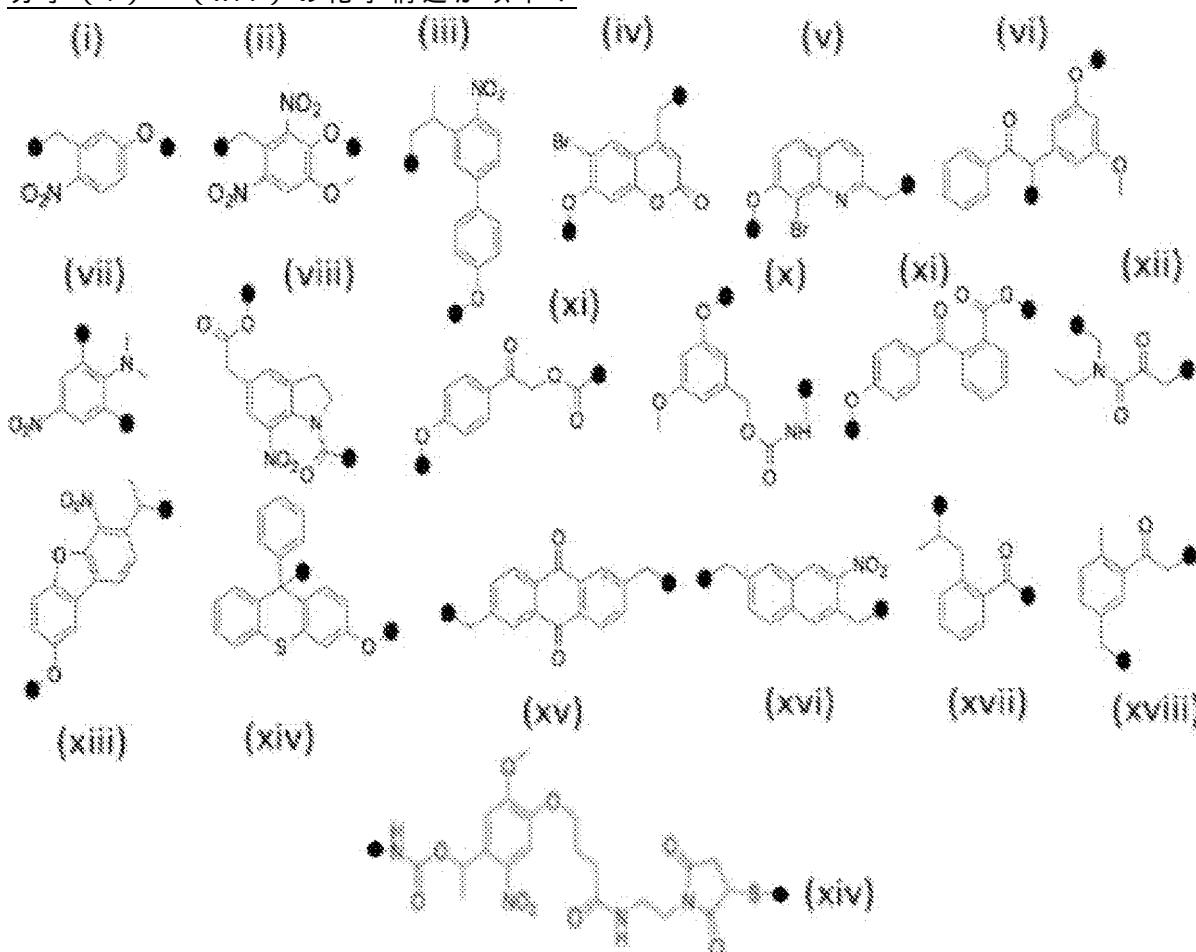
【請求項 4】

開裂可能なハイブリダイズできないリンカーが、酵素、pH、温度、光、剪断応力、音波処理、化学物質（例えば、ジチオトレイクトール）、またはそれらの任意の組み合わせに対し感受性である、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

開裂可能なハイブリダイズできないリンカーが、分子(i)～(xiv)およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される光開裂可能なリンカーを含む、請求項3または4に記載の方法であって、

分子(i)～(xiv)の化学構造が以下：



に示され、式中、各分子中の黒点の各々が、標的結合分子または同定ヌクレオチド配列に直接的または間接的に接続する接続点またはカップリング点を表す、方法。

【請求項 6】

結合した標的プローブから同定ヌクレオチド配列を遊離させる工程が、該結合した標的プローブを紫外線に曝露する工程を含む、請求項5に記載の方法。

【請求項 7】

検出する工程(d)の前に、遊離させる工程(c)からの遊離された同定ヌクレオチド配列を複数のレポータープローブを含む検出組成物にカップリングさせる工程をさらに含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法であって、該複数のうちの各レポータープローブは、該同定ヌクレオチド配列の第一の部分に結合することができる第一の標的プローブ

特異的領域；および該レポータープローブを同定する検出可能ラベルを含む、方法。

【請求項 8】

検出する工程が、

遊離された同定ヌクレオチド配列にカップリングされたレポータープローブのそれぞれの検出可能ラベルからのシグナルを検出する工程であって、該シグナルが、該同定ヌクレオチド配列に結合した該それぞれのレポータープローブについて識別可能であり、それによつて、対応する標的結合分子を同定して、該サンプル中の複数の標的タンパク質分子を検出する、工程

を含む、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

検出組成物が複数の捕捉プローブをさらに含む、請求項7または8に記載の方法であつて、各捕捉プローブが、(i) 同定ヌクレオチド配列の第二の部分に結合することができる第二の標的プローブ特異的領域；および(ii) アフィニティータグを含み、該捕捉プローブのアフィニティータグが、検出組成物へのカップリング時における、遊離された同定ヌクレオチド配列の固体基板上への固定化を可能にする、方法。

【請求項 10】

検出する工程(d)が、遊離された同定ヌクレオチド配列の増幅を含まない、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

同定ヌクレオチド配列が、ヒトゲノムと交差反応しないように選択される、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法であつて、同定ヌクレオチド配列がジャガイモゲノムに由来する、方法。

【請求項 12】

同定ヌクレオチド配列が、

- i) 約30～100ヌクレオチド長を有する、
- ii) 約70ヌクレオチド長を有する、または
- iii) 約70ヌクレオチド長を有し、かつ、表2から選択される配列(SEQ ID NO: 1～SEQ ID NO: 110)を有する、

請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

i) サンプルが500個未満の細胞を含み、または
ii) 細胞が血中循環腫瘍細胞、胎児細胞、幹細胞、免疫細胞、クローン細胞、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される希少細胞である、

請求項1～12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記組成物が複数の対照プローブをさらに含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の方法であつて、

該複数のうちの各対照プローブが、

- i. サンプル中の1個の対照タンパク質分子に特異的に結合する対照結合分子；
- ii. 該対照結合分子を同定する同定対照配列；および
- iii. 該対照結合分子と該同定対照配列との間の開裂可能リンクを含み、

対照プローブに関連するシグナルにより標的プローブに関連するシグナルを正規化することによって、シグナルを定量化する工程をさらに含む、方法。

【請求項 15】

同じサンプルから核酸分子を抽出する工程、および、核酸分子を核酸解析に供する工程をさらに含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の方法であつて、それによって同じサンプルからタンパク質および核酸分子を検出する、方法。

【請求項 16】

サンプルが単一細胞サンプルである、請求項1～15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

サンプルが500個未満の細胞を含む、請求項1～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

サンプルが、穿刺吸引物から単離された細胞を含む、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

a . 複数の標的プローブであって、該複数のうちの各標的プローブが、

i . サンプル中の別個の標的分子に特異的に結合する標的結合分子、

ii . 該標的結合分子を同定する同定ヌクレオチド配列、および

iii . 該標的結合分子と該同定ヌクレオチド配列との間の開裂可能なハイブリダイズできないリンカー

を含む、複数の標的プローブ；ならびに

b . 複数のレポータープローブであって、各レポータープローブが、

i . 前記同定ヌクレオチド配列の第一の部分に結合することができる第一の標的プローブ特異的領域、および

ii . 該レポータープローブを同定する検出可能ラベル

を含む、複数のレポータープローブ

を含む、サンプルからの複数の異なる標的分子のマルチプレックス検出のためのキット。