

【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6部門第1区分

【発行日】平成26年11月13日(2014.11.13)

【公表番号】特表2013-539860(P2013-539860A)

【公表日】平成25年10月28日(2013.10.28)

【年通号数】公開・登録公報2013-059

【出願番号】特願2013-530331(P2013-530331)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/533 (2006.01)

G 0 1 N 33/536 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/533

G 0 1 N 33/536 D

G 0 1 N 33/53 U

G 0 1 N 21/64 F

【手続補正書】

【提出日】平成26年9月26日(2014.9.26)

【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】

デキストラン成分にコンジュゲートした結合部を含む検出可能試薬。

【請求項2】

デキストラン成分が検出可能実体に結合されている、請求項1に記載の検出可能試薬。

【請求項3】

デキストラン成分が約2～約10のデキストラン、約4～約8のデキストランまたは約6のデキストランを含む、請求項1に記載の検出可能試薬。

【請求項4】

各デキストランが約10kDa～約200kDaの分子量、約30kDa～約100kDaの分子量、または約50kDa～約70kDaの分子量である、請求項1に記載の検出可能試薬。

【請求項5】

デキストランが約70kDaの分子量である、請求項1に記載の検出可能試薬。

【請求項6】

デキストラン成分が2つ以上のデキストランを含み、各デキストランが実質的に同じ分子量を有する、請求項1に記載の検出可能試薬。

【請求項7】

デキストラン成分が2つ以上のデキストランを含み、少なくとも1つのデキストランが別のデキストランとは異なる分子量を有する、請求項1に記載の検出可能試薬。

【請求項8】

検出対象実体がフルオロフォアである、請求項2に記載の検出可能試薬。

【請求項9】

フルオロフォアが緑色蛍光、オレンジ色蛍光、赤色蛍光、および遠赤外蛍光を有するフ

ルオロフォアから選択される、請求項 8 に記載の検出可能試薬。

【請求項 10】

フルオロフォアが約 350 nm ~ 775 nm の範囲の励起および発光スペクトルを有するフルオロフォアから選択される、請求項 8 に記載の検出可能試薬。

【請求項 11】

フルオロフォアが約 346 nm / 446 nm、約 494 nm / 519 nm、約 554 nm / 570 nm、約 555 nm / 572 nm、約 590 nm / 617 nm、約 651 nm / 672 nm、約 679 nm / 702 nm または約 749 nm / 775 nm の励起および発光スペクトルを有するフルオロフォアから選択される、請求項 10 に記載の検出可能試薬。

【請求項 12】

結合部がアビジン、ストレプトアビジン、ビオチン、ジゴキシゲニン、免疫試薬、オリゴヌクレオチド、ペプチド核酸、タンパク質 A およびタンパク質 G からなる群より選択される、請求項 1 に記載の検出可能試薬。

【請求項 13】

デキストラン成分を提供し、  
デキストラン - 結合部複合体を形成するために、デキストラン成分を結合部とコンジュゲートさせ、および  
検出可能実体をデキストラン - 結合部複合体に結合させること、  
を含む、検出試薬を作ること。

【請求項 14】

少なくとも 1 つのコアデキストランにコンジュゲートされた結合部を含むコアデキストラン - 結合部を形成するために、結合部をデキストランにコンジュゲートさせ、  
コアデキストランにコンジュゲートした複数のデキストランを含むデキストラン - 結合部複合体を形成するために、コアデキストラン - 結合部を 1 つ以上のデキストランとコンジュゲートさせ、および  
検出可能実体をデキストラン - 結合部複合体に結合させること、  
を含む、検出試薬を作ること。

【請求項 15】

結合部がアビジンまたはストレプトアビジンである、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

請求項 2 に記載の検出可能試薬と標的分子を含むと疑われる試料を接触させ、そこに結合部が標的分子に結合でき、および

デキストラン成分に結合した検出可能実体のシグナルを検出し、それにより、標的分子を検出または定量することを含む、標的分子を検出または定量する方法。

【請求項 17】

複数の相互連結デキストランを含む試薬であって、少なくとも 2 つのデキストランを含む試薬。

【請求項 18】

デキストランの合計分子量が少なくとも 500 kDa である、請求項 17 に記載の試薬。

【請求項 19】

複数の相互連結デキストランが層状配置または分岐配置に構成されている、請求項 17 に記載の試薬。

【請求項 20】

複数の相互連結デキストランが検出可能実体に結合されている、請求項 17 に記載の試薬。

【請求項 21】

検出可能試薬が、結合部当たり約 4 ~ 約 8 のデキストランを有する、請求項 1 に記載の検出可能試薬。

**【請求項 2 2】**

検出可能試薬が、結合部当たり約 6 のデキストランを有する、請求項 2 1 に記載の検出可能試薬。

**【請求項 2 3】**

結合部がアビジンまたはストレプトアビジンである、請求項 1 2 に記載の検出可能試薬。

**【請求項 2 4】**

少なくとも 1 つのデキストランが、結合部にコンジュゲートされたコアデキストランであり、少なくとも 1 つの他のデキストランがコアデキストランにコンジュゲートされているが結合部にはコンジュゲートされていない、請求項 2 1 に記載の検出可能試薬。

**【請求項 2 5】**

検出可能試薬を作る方法であって、  
デキストラン - アミンを誘導体化してマレイミド官能基を生成すること、  
結合部を誘導体化して、チオール官能基を生成すること、  
誘導体化された結合部をモル比率の 1 つまたは複数の誘導体化デキストラン - アミン分子と反応させることであって、ここで、誘導体化された結合部を誘導体化されたデキストラン - アミンとの反応によりデキストラン - 結合部を生じる、こと

デキストラン - 結合部を誘導体化させて、デキストラン当たり 1 つまたは複数のチオール基を生成すること、

誘導体化デキストラン - 結合部をモル比率の 1 つまたは複数のマレイミド - 誘導体化デキストラン - アミン分子を反応させることであって、ここで、誘導体化デキストラン - 結合部とマレイミド - 誘導体化デキストラン - アミンの間の反応により、相互連結デキストラン - 結合部複合体が生じる、こと、および

相互連結デキストラン - 結合部複合体をモル比率の 1 つまたは複数の検出対象実体と反応させることであって、ここで、相互連結デキストラン - 結合部複合体と検出対象実体との反応が検出可能試薬を作る、こと  
を含む、方法。

**【請求項 2 6】**

結合部がアビジンまたはストレプトアビジンである、請求項 2 5 に記載の方法。

**【手続補正 2】**

**【補正対象書類名】**明細書

**【補正対象項目名】**0 0 1 5

**【補正方法】**変更

**【補正の内容】**

**【0 0 1 5】**

本発明は複数の相互連結デキストランを含む試薬であって、この試薬は少なくとも 2 つのデキストランを含むことを特徴とする試薬を提供する。ある実施形態では、合計分子量は少なくとも 5 0 0 kDa である。ある実施形態では、複数の相互連結デキストランは層状配置または分岐配置として構成される。ある実施形態では、複数の相互連結デキストランは検出対象実体に結合される。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

デキストラン成分にコンジュゲートした結合部を含む検出可能試薬。

(項目 2)

デキストラン成分が検出可能実体に結合されている、項目 1 に記載の検出可能試薬。

(項目 3)

デキストラン成分が約 2 ~ 約 10 のデキストラン、約 4 ~ 約 8 のデキストランまたは約 6 のデキストランを含む、項目 1 に記載の検出可能試薬。

(項目 4)

各デキストランが約 10 kDa ~ 約 200 kDa の分子量、約 30 kDa ~ 約 100 k

Daの分子量、または約50kDa～約70kDaの分子量である、項目1に記載の検出可能試薬。

(項目5)

デキストランが約70kDaの分子量である、項目1に記載の検出可能試薬。

(項目6)

デキストラン成分が2つ以上のデキストランを含み、各デキストランが実質的に同じ分子量を有する、項目1に記載の検出可能試薬。

(項目7)

デキストラン成分が2つ以上のデキストランを含み、少なくとも1つのデキストランが別のデキストランとは異なる分子量を有する、項目1に記載の検出可能試薬。

(項目8)

検出対象実体がフルオロフォアである、項目2に記載の検出可能試薬。

(項目9)

フルオロフォアが緑色蛍光、オレンジ色蛍光、赤色蛍光、および遠赤外蛍光を有するフルオロフォアから選択される、項目8に記載の検出可能試薬。

(項目10)

フルオロフォアが約350nm～775nmの範囲の励起および発光スペクトルを有するフルオロフォアから選択される、項目8に記載の検出可能試薬。

(項目11)

フルオロフォアが約346nm/446nm、約494nm/519nm、約554nm/570nm、約555nm/572nm、約590nm/617nm、約651nm/672nm、約679nm/702nmまたは約749nm/775nmの励起および発光スペクトルを有するフルオロフォアから選択される、項目10に記載の検出可能試薬。

(項目12)

結合部がアビシン、ストレプトアビシン、ビオチン、ジゴキシゲニン、免疫試薬、オリゴヌクレオチド、ペプチド核酸、タンパク質Aおよびタンパク質Gからなる群より選択される、項目1に記載の検出可能試薬。

(項目13)

デキストラン成分を提供し、

デキストラン-結合部複合体を形成するために、デキストラン成分を結合部とコンジュゲートさせ、および

検出可能実体をデキストラン-結合部複合体に結合させること、  
を含む、検出試薬を作る。

(項目14)

コアデキストラン-結合部を形成するために、結合部をデキストランにコンジュゲートさせ、

デキストラン-結合部複合体を形成するために、コアデキストラン-結合部をデキストランと反応させ、および

検出可能実体をデキストラン-結合部複合体に結合させること、  
を含む、検出試薬を作る方法。

(項目15)

結合部がアビシンである、項目14に記載の方法。

(項目16)

項目2に記載の検出可能試薬と標的分子を含むと疑われる試料を接触させ、そこに結合部が標的分子に結合でき、および

デキストラン成分に結合した検出可能実体のシグナルを検出し、それにより、標的分子を検出または定量することを含む、標的分子を検出または定量する方法。

(項目17)

複数の相互連結デキストランを含む試薬であって、少なくとも2つのデキストランを含む試薬。

(項目18)

デキストランの合計分子量が少なくとも500kDaである、項目17に記載の試薬。

(項目19)

複数の相互連結デキストランが層状配置または分岐配置に構成されている、項目17に記載の試薬。

(項目20)

複数の相互連結デキストランが検出可能実体に結合されている、項目17に記載の試薬。