

【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19年2月15日(2007.2.15)

【公表番号】特表2005-533246(P2005-533246A)

【公表日】平成17年11月4日(2005.11.4)

【年通号数】公開・登録公報2005-043

【出願番号】特願2004-520851(P2004-520851)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 21/65 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/553 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/543 5 9 5

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 M 1/34 Z

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

G 0 1 N 21/65

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/553

G 0 1 N 33/566

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 15/00 F

【手続補正書】

【提出日】平成18年12月20日(2006.12.20)

【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】

標的分子の識別に使用する表面増強共鳴ラマン散乱(SERRS)活性ビーズであって、ポリマー・シェル内にカプセル化された凝集金属コロイドおよび少なくとも一つのSERRS活性染料を含むSERRS活性ビーズ。

【請求項2】

凝集コロイドおよびSERRS活性染料をカプセル化したビーズを形成することが可能な連鎖成長メカニズムおよび段階的成長メカニズムを介して重合するモノマーを含む広範な種類のモノマーおよび架橋剤からポリマー・シェルが形成される請求項1に記載のSERRS活性ビーズ。

【請求項3】

前記ポリマー・シェルまたはシェル群が次のいずれかおよびそれらの誘導体から形成される請求項1または2に記載のSERRS活性ビーズ：

アクリル酸およびその誘導体類（２－ブロモアクリル酸、アクリロイルクロライド、Ｎ－アクリロイルチロシン、Ｎ－アクリロイルピロリジノン）、アクリル酸エステル類（アクリル酸アルキルエステル類、アクリル酸アリルエステル類、アクリル酸ヒドロキシプロピルエステル）、メタクリル酸およびその誘導体類（イタコン酸、２－（トリフルオロメチル）プロペン酸）、メタクリル酸エステル類（メタクリル酸メチルエステル、メタクリル酸ヒドロキシエチルエステル、メタクリル酸３－スルホプロピルエステルナトリウム塩）、スチレン類（（２、３、および４）－アミノスチレン、スチレン－４－スルホン酸、３－ニトロスチレン）、ビニル類（ビニルクロロホルメート、４－ビニル安息香酸、４－ビニルベンズアルデヒド、ビニルイミダゾール、４－ビニルフェノール、４－ビニルアミン、アクロレイン）、ビニルピリジン類（（２、３、および４）－ビニルピリジン、３－ブテン１，２－ジオール）、ボロン酸類（４－ビニルボロン酸）、スルホン酸類（４－ビニルスルホン酸）、金属キレーター類（スチレンイミノ二酢酸）、アクリルアミド類およびその誘導体類（Ｎ－メチルアクリルアミド）、メタクリルアミド類およびその誘導体類（Ｎ，Ｎ－ジメチルアクリルアミド、Ｎ－（３－アミノプロピル）メタクリルアミド）、アルケン類（４－ペンテン酸、３－クロロ－１－フェニル－１－プロペン）、無水（メタ）アクリル酸およびその誘導体類（無水メタクリル酸）、シリコン含有モノマー類（（３－メタクリロキシプロピル）トリメトキシシラン、テトラメチルジシロキサン）、ポリエン類（イソプレン、３－ヒドロキシ－３，７，１１－トリメチル－１，６，１０－ドデカトリエン）、アジド類（４－アジド－２，３，５，６－テトラフルオロ安息香酸）、チオール類（アリルメルカプタン）。

【請求項４】

前記ポリマー・シェル（群）がアクリル酸エステル末端を有するか、または不飽和の、ウレタン類、炭酸エステル類およびエポキシ類、またはシリコン－ベースモノマー類から形成される請求項１または２に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項５】

前記ポリマー・シェル（群）が、ジー、トリ、テトラ、およびペンター官能性アクリル酸エステル類、メタクリル酸エステル類、アクリルアミド類、ビニル類、アリル類、およびスチレン類から選択される対象ポリマー化合物に堅さを与える架橋剤を含む先行するいずれかの請求項に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項６】

凝集金属コロイドが、銀、金、銅または金属合金コロイド表面を含む先行するいずれかの請求項に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項７】

凝集金属コロイドが、露出金属または金属表面に金属酸化層を含む先行するいずれかの請求項に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項８】

凝集金属コロイドが、その収着（吸収吸着）容量を増強するクエン酸塩またはポリリジンもしくはポリフェノールポリマーの有機被覆を含む先行するいずれかの請求項に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項９】

凝集金属コロイドが、凝集金属コロイド粒子または粒子群の形態である先行するいずれかの請求項に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項１０】

凝集金属コロイド粒子群が約４～５０ｎｍ、または約２５～３６ｎｍの断面を有する請求項９に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項１１】

ＳＥＲＲＳ活性ビーズが１μｍより小さい断面を有する先行するいずれかの請求項に記載のＳＥＲＲＳ活性ビーズ。

【請求項１２】

ＳＥＲＲＳ活性ビーズが、多数のＳＥＲＲＳ活性ナノ粒子群を含み、前記ＳＥＲＲＳ活

性ナノ粒子群が凝集金属コロイドおよびそれに吸収された S E R R S 活性染料または染料群を含んでいて、前記ナノ粒子群の各々が実質的に同一の S E R R S 信号を発生するか、または異なった染料群または染料の組合せ群を備え区別することができる S E R R S 信号群を発生する先行するいずれかの請求項に記載の S E R R S 活性ビーズ。

【請求項 13】

最も外側のポリマー・シェルが、さらにカルボン酸類、カルボン酸類の活性エステル類、アルコール類、アミン類、エポキシイド類、クロロメチルスチリール基類、ビニル基類、チオール基類、マレイミドおよびサクシンイミドのいずれかから選ばれる官能基を含むか、またはさらに連結基もしくは連結基群によって誘導化されていて、標的分子群が反応してビーズ（群）の表面に結合するかまたは一部が反応してビーズ（群）の表面（その部分に前記標的分子が結合できる）に結合する、先行するいずれかの請求項に記載の S E R R S 活性ビーズ。

【請求項 14】

ビーズ群が、蛋白および抗体検出のための標識技術として使用される先行するいずれかの請求項に記載の S E R R S 活性ビーズ。

【請求項 15】

分子刷込法（molecular imprinting methods）が適用されて、鋳型手法によりポリマー・シェルに特異的な分子認識特性を付与する先行するいずれかの請求項に記載の S E R R S 活性ビーズ。

【請求項 16】

S E R R S 活性ビーズに磁気性を与える、ポリマービーズ内にカプセル化された磁気性粒子または粒子群をさらに含む先行するいずれかの請求項に記載の S E R R S 活性ビーズ。

【請求項 17】

各ビーズが見分けることができる S E R R S 信号を含み、その見分けることができる S E R R S 信号が S E R R S 活性染料群および／または各ビーズ内の染料群の相対濃度を変えることにより得られる先行するいずれかの請求項に記載の S E R R S 活性ビーズ。

【請求項 18】

次の工程を含む S E R R S 活性ビーズ群の調製方法：

- 1) 吸収された S E R R S 活性染料を含む凝集金属コロイドを形成する工程；
- 2) 適当な溶媒中で凝集金属コロイドとモノマーを混合する工程；および
- 3) 凝集金属コロイドをカプセル化するポリマービーズ群を形成するようモノマーを重合する工程。

【請求項 19】

次の工程を含む S E R R S 活性ビーズ群の調製方法：

- a) 適当な溶媒中にモノマーを供給する工程；
- b) ポリマービーズ群を形成するようモノマーを重合する工程；
- c) ポリマービーズ群を含む溶液に凝集金属コロイドを加える工程；および
- d) 凝集金属コロイドの取り込みが起これ、ポリマービーズ群によってカプセル化されるよう溶液を加熱する工程。

【請求項 20】

ポリマービーズ群をさらに反応させて、ビーズの外側表面に官能性または連結性の基群が付加し、それによって分子をビーズに付着させる請求項 18 または 19 に記載の方法。

【請求項 21】

試料中の標的分子を検出する次の工程を含む方法：

- a) 特異的に識別できる S E R R S 信号を持つようにビーズを生成させ、その表面を修飾してそこに前記標的分子を結合させることができる部分を付けるようにした請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載の S E R R S 活性ビーズ（群）を供給する工程；
- b) 前記ビーズ（群）を前記試料と接触させ、試料中の前記標的分子を前記ビーズ（群）と結合させる工程；および

c) 前記標的分子に結合したビーズまたはビーズ群から得られる特異的に識別できる S E R R S 信号を検出する前記標的分子を検出する工程。

【請求項 2 2】

標的分子が、抗体、抗原、受容体、リガンド、または核酸分子である請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記標的分子を結合させることができる部分が、それぞれ抗原、抗体、リガンド、受容体または相補的な核酸である請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

ビーズ（群）が磁気性であり、ビーズ（群）が工程 b) 後に容易に分離され、および／または濃縮されるものである請求項 2 1～2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 5】

試料中の特異的な核酸を検出する次の工程を含む方法：

a) 特異的に識別できる S E R R S 信号を持つようにビーズを生成させ、その表面を修飾し、そこに前記標的分子を結合させることができる部分を付けるようにし、前記部分が標的核酸と特異的にハイブリダイズ可能なオリゴヌクレオチドである請求項 1～1 6 のいずれか 1 項に記載の S E R R S 活性ビーズ（群）を供給する工程；

b) 前記ビーズ（群）を試料と接触させ、試料中の前記標的核酸を前記ビーズ（群）と結合させる工程；

c) 前記標的結合ビーズをさらにラベルされた核酸と接触させ、前記さらにラベルされた核酸をそこに特異的にハイブリダイズする工程；

d) 所望により、増幅反応を遂行し、さらに所望により増幅反応が成功しているか否かを検出する工程；

e) 前記ラベルされハイブリダイズした核酸結合ビーズを前記ラベルされた部分を結合できる表面と接触させる工程；および

f) 前記基質に結合した前記ビーズ群から得られる特異的に識別できる S E R R S 信号を検出する前記標的分子の検出工程。

【請求項 2 6】

除去されるべき工程 b、c および／または e の未結合試薬類を除去する 1 または 2 以上の洗浄工程をさらに含む請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

試料中の標的分子を検出する次の工程を含む方法：

a) 特異的に識別できる S E R R S 信号を持つようにビーズを生成させ、その表面を修飾してそこに前記標的分子を結合させることができる部分を付けるようにした請求項 1～1 6 のいずれか 1 項に記載の S E R R S 活性ビーズ（群）を供給する工程；

b) 前記標的分子を結合させることができる部分を付けた磁性ビーズを供給する工程；

c) 前記 S E R R S 活性ビーズ（群）および磁性ビーズ（群）を試料と接触させ、試料中の前記標的分子のいずれかを前記ビーズ群と結合させる工程；および

d) 前記標的分子に結合した S E R R S 活性ビーズまたはビーズ群から得られる特異的に識別できる S E R R S 信号を検出する前記標的分子を検出する工程。

【請求項 2 8】

工程 c) がさらに、遠心分離または磁場により溶液からビーズ群を除去する工程を含む請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

請求項 1～1 6 のいずれか 1 項に記載の S E R R S 活性ビーズをサンドイッチ分析法における標識として用いた標識方法。

【請求項 3 0】

検出抗原が、表面に固定化された抗体および S E R R S 活性ビーズ上に被覆された抗体によって捕捉される請求項 2 9 に記載の標識方法。

【請求項 3 1】

前記表面が磁性ビーズの表面である請求項 30 に記載の標識方法。

【請求項 32】

ポリマー・シェル内にカプセル化された凝集金属コロイドおよび少なくとも 1 つの S E R R S 活性染料、ならびに磁性ビーズを含む S E R R S 活性ビーズによって捕捉された抗原。