

【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】令和 3 年 3 月 25 日 (2021.3.25)

【公表番号】特表 2020-510415 (P2020-510415A)

【公表日】令和 2 年 4 月 9 日 (2020.4.9)

【年通号数】公開・登録公報 2020-014

【出願番号】特願 2019-543091 (P2019-543091)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6848 (2018.01)

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 Z

G 0 1 N 37/00 1 0 2

C 1 2 Q 1/6848 Z

G 0 1 N 21/64 G

G 0 1 N 21/64 F

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 2 月 8 日 (2021.2.8)

【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】

均一な核酸検出アッセイを実施するための方法であって、

(a) 第 1 のプレートおよび第 2 のプレートを備える Q M A X デバイスを取得するステップであって、

前記第 1 のプレートおよび前記第 2 のプレートがそれぞれ、1 つ以上の標的核酸を含有する試料と接触するための試料接触領域を含み、

前記第 1 のプレートが、その試料接触領域上に、

(i) 表面増幅表面と、

(i i) 前記増幅表面上に固定されており、前記標的核酸の一部に特異的に結合する標的特異的核酸プローブと

を含む結合部位を含み、

前記第 2 のプレートが、前記標的核酸の別の部分に特異的に結合する標的特異的核酸検出剤を含む試薬貯蔵部位を含む試料接触領域を含む、ステップと、

(b) 前記プレートが開放構成にあるときに、前記プレート的一方または両方の上に前記試料を置くステップと、

(c) 前記プレートを閉じて閉鎖構成にするステップと、

(d) (c) の後、前記プレートを前記閉鎖構成のままにしながら、かつ任意の洗浄ステップなしで、読み取りデバイスで前記試料接触領域を読み取ることにより前記標的核酸を検出して、信号の画像を生成するステップと

を含み、

(i) 前記閉鎖構成での前記試料の厚さ、(i i) 前記閉鎖構成における前記試料に溶解した標識の濃度、および (i i i) 前記近接依存性増幅表面の増幅率は、標的核酸を介

して前記核酸プローブに間接的に結合している標識が、前記表面増幅表面に結合していない任意の生体物質または標識を洗い流すことなく可視化されるように構成され、

前記構成の1つは、前記2つのプレートの内側面の間の平均間隔が少なくとも200 μmである開放構成であり、

前記構成のうちの別の構成は、前記試料の少なくとも一部が前記2つのプレートの間にあり、かつ前記プレートの内側面の間の平均間隔が200 μm未満である、閉鎖構成である、方法。

【請求項2】

均一な試料を分析するためのデバイスであって、

第1のプレート、第2のプレート、および結合部位を備え、

(a) 前記第1のプレートおよび前記第2のプレートが、異なる構成になるように互いに対して移動可能であり、そのそれぞれの表面上に、標的分析物を含有する試料と接触するための試料接触領域を有し、

(b) 前記第1のプレート上の前記試料接触領域が、

(i) 近接依存性信号増幅層と、

(ii) 標的核酸の一部に結合する、前記近接依存性信号増幅層に付着した標的特異的核酸プローブと

を含む結合部位を有し、

(c) 前記第2のプレート上の前記試料接触領域が、前記標的核酸の別の部分に結合する標的特異的核酸検出剤を含む試薬貯蔵部位を含み、

前記構成の1つは開放構成であり、

前記構成のうちの別の構成は、前記試料の少なくとも一部が前記2つのプレートの間にある閉鎖構成であり、

前記閉鎖構成での前記試料の厚さ、前記閉鎖構成における前記試料に溶解した標識の濃度、および前記近接依存性信号増幅層の増幅率は、前記標的特異的核酸プローブに間接的に結合している標識のいずれもが、結合していない標識を洗い流すことなく可視化されるように構成されている、デバイス。

【請求項3】

サーマルサイクラーおよび請求項2に記載のデバイスを備える、装置。

【請求項4】

サーマルサイクラー、請求項2に記載のデバイス、およびリアルタイムPCR用の読み取り器を備える、装置。

【請求項5】

迅速な核酸検出アッセイのための方法であって、

(a) 第1のプレートおよび第2のプレートを備えるQMAXデバイスを取得するステップであって、

前記第1のプレートおよび前記第2のプレートがそれぞれ、1つ以上の標的核酸を含有する試料と接触するための試料接触領域を含み、

前記第1のプレートが、その試料接触領域上に結合部位を含み、前記結合部位が、前記部位上に固定されておりかつ前記標的核酸の一部に特異的に結合する標的特異的核酸プローブを含み、

前記第2のプレートが、前記標的核酸の別の部分に特異的に結合する標的特異的核酸検出剤を含む試薬貯蔵部位を含む試料接触領域を含む、ステップと、

(b) 前記プレートが開放構成にあるときに、前記プレート的一方または両方の上に前記試料を置くステップと、

(c) 一定期間のインキュベーションのために前記プレートを閉じて閉鎖構成にするステップと、

(d) 前記プレートを開き、洗浄溶液を有する洗浄スポンジで一定期間にわたって前記プレートを再度押圧し、次いで前記洗浄スポンジを解放するステップと、

(e) (d)の後、読み取りデバイスで前記試料接触領域を読み取って、信号の画像を

生成するステップと  
を含み、

( i ) 前記閉鎖構成での前記試料の厚さ、( i i ) 前記閉鎖構成における前記試料に溶解した標識の濃度、および( i i i ) 前記近接依存性増幅表面の増幅率は、標的核酸を介して前記核酸プローブに間接的に結合している標識が、前記近接依存性増幅表面に結合していない任意の生体物質または標識を洗い流すことなく可視化されるように構成され、

前記構成の1つは、前記2つのプレートの内側面の間の平均間隔が少なくとも200 μmである開放構成であり、

前記構成のうちの別の構成は、前記試料の少なくとも一部が前記2つのプレートの間にあり、かつ前記プレートの内側面の間の平均間隔が200 μm未満である、閉鎖構成である、方法。

【請求項6】

前記閉鎖構成における前記第1のプレートと前記第2のプレートとの間の間隔が、前記標的分析物の捕捉剤への飽和結合時間が300秒以下になるように構成されている、前記請求項のいずれか一項に記載のデバイス、装置、または方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0004

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0004】

[本発明1001]

均一な核酸検出アッセイを実施するための方法であって、

( a ) 第1のプレートおよび第2のプレートを備えるQ M A X デバイスを取得するステップであって、

前記第1のプレートおよび前記第2のプレートがそれぞれ、1つ以上の標的核酸を含有する試料と接触するための試料接触領域を含み、

前記第1のプレートが、その試料接触領域上に、

( i ) 表面増幅表面と、

( i i ) 前記増幅表面上に固定されており、前記標的核酸の一部に特異的に結合する標的特異的核酸プローブと

を含む結合部位を含み、

前記第2のプレートが、前記標的核酸の別の部分に特異的に結合する標的特異的核酸検出剤を含む試薬貯蔵部位を含む試料接触領域を含む、ステップと、

( b ) 前記プレートが開放構成にあるときに、前記プレート的一方または両方の上に前記試料を置くステップと、

( c ) 前記プレートを閉じて閉鎖構成にするステップと、

( d ) ( c ) の後、前記プレートを前記閉鎖構成のままにしながら、かつ任意の洗浄ステップなしで、読み取りデバイスで前記試料接触領域を読み取ることにより前記標的核酸を検出して、信号の画像を生成するステップと

を含み、

( i ) 前記閉鎖構成での前記試料の厚さ、( i i ) 前記閉鎖構成における前記試料に溶解した標識の濃度、および( i i i ) 前記近接依存性増幅表面の増幅率は、標的核酸を介して前記核酸プローブに間接的に結合している標識が、前記表面増幅表面に結合していない任意の生体物質または標識を洗い流すことなく可視化されるように構成され、

前記構成の1つは、前記2つのプレートの内側面の間の平均間隔が少なくとも200 μmである開放構成であり、

前記構成のうちの別の構成は、前記試料の少なくとも一部が前記2つのプレートの間にあり、かつ前記プレートの内側面の間の平均間隔が200 μm未満である、閉鎖構成である、方法。

[本発明1002]

均一な試料を分析するためのデバイスであって、

第1のプレート、第2のプレート、および結合部位を備え、

(a) 前記第1のプレートおよび前記第2のプレートが、異なる構成になるように互いに対して移動可能であり、そのそれぞれの表面上に、標的分析物を含有する試料と接触するための試料接触領域を有し、

(b) 前記第1のプレート上の前記試料接触領域が、

(i) 近接依存性信号増幅層と、

(i i) 標的核酸の一部に結合する、前記近接依存性信号増幅層に付着した標的特異的核酸プローブと

を含む結合部位を有し、

(c) 前記第2のプレート上の前記試料接触領域が、前記標的核酸の別の部分に結合する標的特異的核酸検出剤を含む試薬貯蔵部位を含み、

前記構成の1つは開放構成であり、

前記構成のうちの別の構成は、前記試料の少なくとも一部が前記2つのプレートの間にある閉鎖構成であり、

前記閉鎖構成での前記試料の厚さ、前記閉鎖構成における前記試料に溶解した標識の濃度、および前記近接依存性信号増幅層の増幅率は、前記標的特異的核酸プローブに間接的に結合している標識のいずれもが、結合していない標識を洗い流すことなく可視化されるように構成されている、デバイス。

[本発明1003]

サーマルサイクラーおよび本発明1002のデバイスを備える、装置。

[本発明1004]

サーマルサイクラー、本発明1002のデバイス、およびリアルタイムPCR用の読み取り器を備える、装置。

[本発明1005]

迅速な核酸検出アッセイのための方法であって、

(a) 第1のプレートおよび第2のプレートを備えるQMAXデバイスを取得するステップであって、

前記第1のプレートおよび前記第2のプレートがそれぞれ、1つ以上の標的核酸を含有する試料と接触するための試料接触領域を含み、

前記第1のプレートが、その試料接触領域上に結合部位を含み、前記結合部位が、前記部位上に固定されておりかつ前記標的核酸の一部に特異的に結合する標的特異的核酸プローブを含み、

前記第2のプレートが、前記標的核酸の別の部分に特異的に結合する標的特異的核酸検出剤を含む試薬貯蔵部位を含む試料接触領域を含む、ステップと、

(b) 前記プレートが開放構成にあるときに、前記プレートの一方または両方の上に前記試料を置くステップと、

(c) 一定期間のインキュベーションのために前記プレートを閉じて閉鎖構成にするステップと、

(d) 前記プレートを開き、洗浄溶液を有する洗浄スポンジで一定期間にわたって前記プレートを再度押圧し、次いで前記洗浄スポンジを解放するステップと、

(e) (d)の後、読み取りデバイスで前記試料接触領域を読み取って、信号の画像を生成するステップと

を含み、

(i) 前記閉鎖構成での前記試料の厚さ、(i i) 前記閉鎖構成における前記試料に溶解した標識の濃度、および(i i i) 前記近接依存性増幅表面の増幅率は、標的核酸を介して前記核酸プローブに間接的に結合している標識が、前記近接依存性増幅表面に結合していない任意の生体物質または標識を洗い流すことなく可視化されるように構成され、

前記構成の1つは、前記2つのプレートの内側面の間の平均間隔が少なくとも200  $\mu\text{m}$ で

ある開放構成であり、

前記構成のうちの別の構成は、前記試料の少なくとも一部が前記2つのプレートの間にあり、かつ前記プレートの内側面の間の平均間隔が200  $\mu$ m未満である、閉鎖構成である、方法。

[本発明1006]

前記閉鎖構成における前記第1のプレートと前記第2のプレートとの間の間隔が、前記標的分析物の捕捉剤への飽和結合時間が300秒以下になるように構成されている、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1007]

前記閉鎖構成における前記第1のプレートと前記第2のプレートとの間の間隔が、前記標的分析物の捕捉剤への飽和結合時間が300秒以下になるように構成されている、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1008]

前記閉鎖構成における前記第1のプレートと前記第2のプレートとの間の間隔が、前記標的分析物の捕捉剤への飽和結合時間が60秒以下になるように構成されている、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1009]

前記標的核酸が、ゲノムDNA、cfDNA、cDNA、ctDNA、mRNA、およびmiRNAを含む、DNAまたはRNAである、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1010]

ステップ(b)から結果を得るまでの時間が10分未満である、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1011]

前記閉鎖構成での前記試料の厚さ、前記閉鎖構成における前記試料に溶解した前記標識の濃度、および前記表面増幅層の増幅率は、前記プローブに直接的または間接的に結合している標識のいずれもが、結合していない標識を洗い流すことなく、前記閉鎖構成において可視化されるように構成されている、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1012]

前記近接依存性増幅表面に結合した前記標識が、60秒未満で可視化される、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1013]

前記近接依存性増幅表面に結合した前記標識が、60秒未満で可視化される、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1014]

前記貯蔵部位が、前記閉鎖構成において前記第1のプレート上の前記結合部位のほぼ上方にある、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1015]

前記標的特異的核酸プローブおよび前記標的特異的核酸検出剤が、前記標識を含むサンドイッチを形成する、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1016]

前記信号が、前記増幅表面に結合していない任意の生体物質または標識を除去するための洗浄ステップを使用せずに読み取られる、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1017]

前記増幅表面に結合した前記標識が、個々の結合事象を計数することにより読み取られる、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1018]

前記増幅表面に結合した前記標識が、一括読み取り法によって読み取られる、前記本発

明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1019]

前記アッセイが、 $0.1\text{ nM}$ 以下の検出感度を有する、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1020]

前記アッセイが、スポンジを使用して、前記増幅表面に結合していない生体物質または標識を除去することを含む、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1021]

前記信号増幅層がD2PAを含む、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1022]

前記信号増幅層が金属材料層を含む、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1023]

前記信号増幅層が、金、銀、銅、アルミニウム、それらの合金、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される材料で作られた連続金属フィルムを含む、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1024]

異なる金属層が、光信号を増強するために、局所的に増強するかもしくは反射体として機能するかまたはその両方である、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1025]

前記信号増幅層が、金属材料層、および前記金属材料層の上部の誘電材料を含み、前記捕捉剤が前記誘電材料上にある、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1026]

前記金属材料層が、均一な金属層、ナノ構造金属層、または組み合わせである、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1027]

プラズモン増強により信号を増幅する、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1028]

アッセイが、ラマン散乱により前記標識を検出することを含む、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1029]

前記第1のプレートの前記試料接触領域が、前記近接依存性増幅表面を含むが前記標的特定の核酸プローブを含まない部位をさらに含む、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1030]

前記アッセイが、前記近接依存性増幅表面を含むが前記標的特定の核酸プローブを含まない前記部位を読み取ることによりバックグラウンド信号を計算することを含む、前記本発明のいずれかのデバイス、装置、または方法。

[本発明1031]

前記デバイスが、前記プレートの1つの上に固定されたスペーサーをさらに備え、前記スペーサーが、前記閉鎖構成における前記第1のプレートと前記第2のプレートとの間の間隔を調節する、前記本発明のいずれかのデバイスまたは方法。

[本発明1032]

前記表面増幅層の前記増幅率が、前記捕捉剤に直接的または間接的に結合した単一の標識からの前記光信号を可視化するように調整される、前記本発明のいずれかのデバイスまたは方法。