【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30年11月29日(2018.11.29)

【公表番号】特表2018-500926(P2018-500926A)
【公表日】平成30年1月18日(2018.1.18)
【年通号数】公開・登録公報2018-002
【出願番号】特願2017-543321(P2017-543321)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｑ　1/06　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ１２Ｍ　1/34　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｑ　1/06　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ１２Ｍ　1/34　Ｃ

【手続補正書】
【提出日】平成30年10月18日(2018.10.18)
【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】
細菌の集団の第1部分からのターゲット分子を含む第1試料および該細菌の集団の第2部分からのターゲット分子を含む第2試料を用意する工程であって、第1部分が抗生物質で処理されており、かつ第2部分が抗生物質で処理されていない、該工程;
第1試料を複数の第1分析領域に分布させる工程;
第2試料を複数の第2分析領域に分布させる工程;
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出するための反応を行うために、第1分析領域および第2分析領域のそれぞれを試薬と接触させる工程;ならびに
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出する工程
を含む方法であって、
該反応後に、閾値数のターゲット分子が、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出され、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出されないように、分析領域への各試料の分布が達成される、該方法。
【請求項２】
方法が、細菌の集団における、抗生物質に対する耐性または感受性を決定する方法であり、検出の結果を分析して、細菌の集団における、抗生物質に対する耐性または感受性を決定する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。
【請求項３】
閾値数が0、1、2、3、4、または5より大きい、請求項1または2記載の方法。
【請求項４】
分析領域への各試料の分布が、分析領域の少なくとも一部はターゲット分子を有さず、分析領域の少なくとも一部は1つのターゲット分子しか有さないように達成される、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項５】
前記反応が核酸増幅を含む、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。
【請求項６】
核酸増幅が本質的に等温である、請求項5記載の方法。
【請求項７】
ターゲット分子が細菌染色体またはプラスミドのセグメントを含む、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。
【請求項８】
ターゲット分子がmRNAを含む、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。
【請求項９】
ターゲット分子がターゲット分子の配列に相補的なプライマーを含む増幅反応によって増幅される、請求項5～8のいずれか一項記載の方法。
【請求項１０】
前記試薬が複数の試薬領域に配置され、かつ接触させる工程が、該複数の試薬領域を第1または第2の複数の分析領域と流体連通状態に置くことによって達成される、請求項1～9のいずれか一項記載の方法。
【請求項１１】
接触させる工程が、試薬領域を含む基材と第1および第2の複数の分析領域を含む基材との間の相対的運動を達成する工程を含む、請求項10記載の方法。
【請求項１２】
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおける閾値数のターゲット分子の存在または非存在の検出が、抗生物質への第1試料の曝露の終了後、45分未満、30分未満、15分未満、または10分未満で行われる、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。
【請求項１３】
第1試料からの細菌が、2時間を超えない、1時間を超えない、45分を超えない、30分を超えない、15分を超えない、または10分を超えない期間にわたって抗生物質で処理されたものである、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。
【請求項１４】
第1の複数の分析領域および第2の複数の分析領域がそれぞれ少なくとも10、20、30、40、または50個の分析領域を含む、請求項1記載の方法。
【請求項１５】
細菌の集団を複数のクローン単離領域に分布させる工程であって、クローン単離領域の少なくとも一部がそれぞれ単一の単離された細菌を含有すると統計的に見積もられるように、該分布が達成される、該工程;
複数のクローン集団が生じるように、単一の単離された細菌のそれぞれを拡大する工程;
複数のクローン集団のそれぞれを、複数の処理領域からの少なくとも1つの処理領域および複数の対照領域からの少なくとも1つの対照領域に分布させる工程;
第1の複数の処理領域を抗生物質と接触させ、複数の対照領域は抗生物質と接触させない工程;
第1の複数の処理領域のそれぞれおよび複数の対照領域のそれぞれについて、各クローン集団からの1つまたは複数のターゲット分子を相異なる複数の分析領域に分布させる工程;
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出するための反応を行うために、分析領域のそれぞれを試薬と接触させる工程;ならびに
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出する工程
を含む、細菌の集団における、抗生物質に対する耐性または感受性を決定する方法であって、

該反応後に、閾値数のターゲット分子が、相異なる複数の分析領域の一部に検出され、相異なる複数の分析領域の一部には検出されないように、分析領域への各試料の分布が達成される、該方法。
【請求項１６】
前記複数のクローン集団の少なくとも一部における抗生物質に対する耐性または感受性を決定するために、検出の結果を分析する工程をさらに含む、請求項15記載の方法。
【請求項１７】
細胞の集団の第1部分からのターゲット分析物を含む第1試料および該細胞の集団の第2部分からのターゲット分析物を含む第2試料を用意する工程であって、第1部分が薬剤で処理されており、かつ第2部分が薬剤で処理されていない、該工程;
第1試料を複数の第1分析領域に分布させる工程;
第2試料を複数の第2分析領域に分布させる工程;
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分析物の存在または非存在を検出するための反応を行うために、第1分析領域および第2分析領域のそれぞれを試薬と接触させる工程;ならびに
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分析物の存在または非存在を検出する工程
を含む方法であって、
該反応後に、閾値数のターゲット分析物が、第1分析領域および第2分析領域の一部に検出され、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出されないように、分析領域への各試料の分布が達成される、該方法。
【請求項１８】
インキュベーションモジュール、試料調製モジュール、およびデジタル定量モジュールを含み、各モジュールを他のモジュールと流体連通状態に置くように構成することができる、試料を処理するためのデバイスであって、
インキュベーションモジュールが生物を薬剤と共にインキュベートするように構成されたインキュベーションチャンバーを含み、試料調製モジュールが該生物からターゲット分析物を抽出するように構成されており、デジタル定量モジュールが反応エリアにおける該ターゲット分析物の存在または非存在のデジタル検出を行うように構成された複数の反応エリアを含む、該デバイス。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２６】
インキュベーションモジュール、試料調製モジュール、およびデジタル定量モジュールを含み、各モジュールを他のモジュールと流体連通状態に置くように構成することができる、試料を処理するためのデバイスであって、インキュベーションモジュールは生物を薬剤と共にインキュベートするように構成されたインキュベーションチャンバーを含み、試料調製モジュールは該生物から核酸を抽出するように構成されており、デジタル定量モジュールは反応エリアにおける該核酸の存在または非存在のデジタル検出を行うように構成された複数の反応エリアを含むデバイスも、ここに提供する。
[本発明1001]
細菌の集団の第1部分からのターゲット分子を含む第1試料および該細菌の集団の第2部分からのターゲット分子を含む第2試料を用意する工程であって、第1部分が抗生物質で処理されており、かつ第2部分が抗生物質で処理されていない、該工程;
第1試料を複数の第1分析領域に分布させる工程;
第2試料を複数の第2分析領域に分布させる工程;
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在また

は非存在を検出するための反応を行うために、第1分析領域および第2分析領域のそれぞれを試薬と接触させる工程;ならびに
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出する工程
を含む方法であって、
該反応後に、閾値数のターゲット分子が、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出され、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出されないように、分析領域への各試料の分布が達成される、該方法。
[本発明1002]
閾値数が0、1、2、3、4、または5より大きい、本発明1001の方法。
[本発明1003]
分析領域への各試料の分布が、分析領域の少なくとも一部はターゲット分子を有さず、分析領域の少なくとも一部は1つのターゲット分子しか有さないように達成される、本発明1001の方法。
[本発明1004]
分析領域への各試料の分布が、分析領域のうちの少なくとも1つはターゲット分子を1つしか含有しないように達成される、本発明1001の方法。
[本発明1005]
第1試料が前記試薬を含み、複数の第1分析領域を該試薬と接触させる工程が第1試料を複数の第1分析領域に分布させる前記工程を構成する、本発明1001の方法。
[本発明1006]
第2試料が前記試薬を含み、複数の第2分析領域を該試薬と接触させる工程が第2試料を複数の第2分析領域に分布させる前記工程を構成する、本発明1001の方法。
[本発明1007]
前記反応が核酸増幅を含む、本発明1001の方法。
[本発明1008]
核酸増幅が本質的に等温である、本発明1007の方法。
[本発明1009]
核酸増幅がポリメラーゼ連鎖反応である、本発明1007の方法。
[本発明1010]
核酸増幅が、核酸配列ベース増幅（NASBA）、自家持続配列複製法（3SR）、ループ媒介等温増幅法（LAMP）、鎖置換増幅法（SDA）、全ゲノム増幅、多置換増幅法、鎖置換増幅法、ヘリカーゼ依存的増幅法、ニッキング酵素増幅反応、組換えポリメラーゼ増幅法、逆転写PCR、およびライゲーション媒介PCRからなる群より選択される、本発明1007の方法。
[本発明1011]
分析領域がウェルを含む、本発明1001の方法。
[本発明1012]
ターゲット分子が核酸である、本発明1001の方法。
[本発明1013]
前記試薬が核酸増幅試薬である、本発明1012の方法。
[本発明1014]
分析領域のそれぞれを核酸の増幅にとって有効な条件に曝露する工程をさらに含む、本発明1013の方法。
[本発明1015]
ターゲット分子が細菌染色体またはプラスミドのセグメントを含む、本発明1001の方法。
[本発明1016]
ターゲット分子が複製起点から50kDa未満、100kDa未満、200kDa未満、または400kDa未満にある、本発明1015の方法。
[本発明1017]

ターゲット分子が細菌染色体またはプラスミド上の遺伝子の配列を含む、本発明1015の方法。
[本発明1018]
ターゲット分子がmRNAを含む、本発明1001の方法。
[本発明1019]
ターゲット分子がターゲット分子の配列に相補的なプライマーを含む増幅反応によって増幅される、本発明1001の方法。
[本発明1020]
mRNAがrecAまたはlexAをコードする、本発明1018の方法。
[本発明1021]
前記試薬が複数の試薬領域に配置される、本発明1001の方法。
[本発明1022]
接触させる工程が、複数の試薬領域を第1または第2の複数の分析領域と流体連通状態に置くことによって達成される、本発明1018の方法。
[本発明1023]
接触させる工程が、試薬領域を含む基材と第1および第2の複数の分析領域を含む基材との間の相対的運動を達成する工程を含む、本発明1022の方法。
[本発明1024]
細菌の集団における、抗生物質に対する耐性または感受性を決定するために、各複数の分析領域における閾値数のターゲット分子の存在または非存在の検出を分析する工程をさらに含む、本発明1001の方法。
[本発明1025]
ターゲット分子が第1試料中の細菌から取り出されたものであり、抗生物質への細菌の最初の曝露とターゲット分子の取り出しとの間の時間が、増殖期中の細菌の平均倍加時間未満である、本発明1001の方法。
[本発明1026]
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおける閾値数のターゲット分子の存在または非存在の検出が、抗生物質への第1試料の曝露の終了後、3時間未満、2時間未満、または1時間未満で行われる、本発明1001の方法。
[本発明1027]
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおける閾値数のターゲット分子の存在または非存在の検出が、抗生物質への第1試料の曝露の終了後、45分未満、30分未満、15分未満、または10分未満で行われる、本発明1026の方法。
[本発明1028]
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおける閾値数のターゲット分子の存在または非存在の検出が、抗生物質への第1試料の曝露の終了後、3時間未満、2時間未満、または1時間未満で行われる、本発明1001の方法。
[本発明1029]
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおける閾値数のターゲット分子の存在または非存在の検出が、抗生物質への第1試料の曝露の終了後、45分未満、30分未満、15分未満、または10分未満で行われる、本発明1028の方法。
[本発明1030]
第1試料からの細菌が、2時間を超えない、1時間を超えない、45分を超えない、30分を超えない、15分を超えない、または10分を超えない期間にわたって抗生物質で処理されたものである、本発明1001の方法。
[本発明1031]
抗生物質への第1試料からの細菌の最初の曝露から検出工程までの時間が、3時間未満、2時間未満、1時間未満、45分未満、または30分未満である、本発明1001の方法。
[本発明1032]
第1の複数の分析領域が少なくとも10、20、30、40、または50個の分析領域を含む、本

発明1001の方法。
[本発明1033]
第2の複数の分析領域が少なくとも10、20、30、40、または50個の分析領域を含む、本発明1001の方法。
[本発明1034]
第1および第2の複数の分析領域への第1試料および第2試料の分布が並行して行われる、本発明1001の方法。
[本発明1035]
第1試料または第2試料が、10,000、5,000、1,000、500、200、100、50、20、または10個未満のターゲット分子を含む、本発明1001の方法。
[本発明1036]
細菌の集団の第1部分からのターゲット分子を含む第1試料および該細菌の集団の第2部分からのターゲット分子を含む第2試料を用意する工程であって、第1部分が抗生物質で処理されており、かつ第2部分が抗生物質で処理されていない、該工程;
第1試料を複数の第1分析領域に分布させる工程;
第2試料を複数の第2分析領域に分布させる工程;
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出するための反応を行うために、第1分析領域および第2分析領域のそれぞれを試薬と接触させる工程;
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出する工程であって、該反応後に、閾値数のターゲット分子が、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出され、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出されないように、分析領域への各試料の分布が達成される、該工程; ならびに
細菌の集団における該抗生物質に対する耐性または感受性を決定するために、検出の結果を分析する工程
を含む、細菌の集団における、抗生物質に対する耐性または感受性を決定する方法。
[本発明1037]
細菌の集団を複数のクローン単離領域に分布させる工程であって、クローン単離領域の少なくとも一部がそれぞれ単一の単離された細菌を含有すると統計的に見積もられるように、該分布が達成される、該工程;
複数のクローン集団が生じるように、単一の単離された細菌のそれぞれを拡大する工程;
複数のクローン集団のそれぞれを、複数の処理領域からの少なくとも1つの処理領域および複数の対照領域からの少なくとも1つの対照領域に分布させる工程;
第1の複数の処理領域を抗生物質と接触させ、複数の対照領域は抗生物質と接触させない工程;
第1の複数の処理領域のそれぞれおよび複数の対照領域のそれぞれについて、各クローン集団からの1つまたは複数のターゲット分子を相異なる複数の分析領域に分布させる工程;
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出するための反応を行うために、分析領域のそれぞれを試薬と接触させる工程;ならびに
第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分子の存在または非存在を検出する工程
を含む、細菌の集団における、抗生物質に対する耐性または感受性を決定する方法であって、
該反応後に、閾値数のターゲット分子が、相異なる複数の分析領域の一部に検出され、相異なる複数の分析領域の一部には検出されないように、分析領域への各試料の分布が達成される、該方法。
[本発明1038]

前記複数のクローン集団の少なくとも一部における抗生物質に対する耐性または感受性を決定するために、検出の結果を分析する工程をさらに含む、本発明1037の方法。

[本発明1039]

細胞の集団の第1部分からのターゲット分析物を含む第1試料および該細胞の集団の第2部分からのターゲット分析物を含む第2試料を用意する工程であって、第1部分が薬剤で処理されており、かつ第2部分が薬剤で処理されていない、該工程;

第1試料を複数の第1分析領域に分布させる工程;

第2試料を複数の第2分析領域に分布させる工程;

第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分析物の存在または非存在を検出するための反応を行うために、第1分析領域および第2分析領域のそれぞれを試薬と接触させる工程;ならびに

第1分析領域および第2分析領域のそれぞれにおいて閾値数のターゲット分析物の存在または非存在を検出する工程

を含む方法であって、

該反応後に、閾値数のターゲット分析物が、第1分析領域および第2分析領域の一部に検出され、第1分析領域および第2分析領域の一部には検出されないように、分析領域への各試料の分布が達成される、該方法。

[本発明1040]

複数の分析領域、

核酸増幅のコンポーネントを含む複数の試薬領域

を含む容器であって、複数の分析領域と複数の試薬領域とが互いに隔離されている第1位置と、複数の分析領域の少なくとも一部が複数の試薬領域の少なくとも一部と流体連通状態にある第2位置との間で、他方に対して動くように構成された第1層および第2層を含む、該容器;ならびに

細菌の集団における、抗生物質に対する耐性または感受性を決定するための使用説明書を含む、キット。

[本発明1041]

核酸増幅のコンポーネントがrecA mRNAまたはlexA mRNAを増幅するためのプライマーを含む、本発明1039のキット。

[本発明1042]

核酸増幅のコンポーネントが、複製起点から50kDa未満、100kDa未満、200kDa未満、または400kDa未満にある細菌染色体またはプラスミド上の核酸ターゲットを増幅するためのプライマーを含む、本発明1039のキット。

[本発明1043]

前記容器が少なくとも10、20、30、40、または50個の分析領域を含む、本発明1039のキット。

[本発明1044]

前記容器が少なくとも10、20、30、40、または50個の試薬領域を含む、本発明1039のキット。

[本発明1045]

抗生物質が、アミノグリコシド、セファロスポリン、テトラサイクリン、スルホンアミド、マクロライド、バンコマイシン、およびβ-ラクタムからなる群より選択される、本発明1039のキット。

[本発明1046]

前記抗生物質で処理していない細菌の集団の一部分と比較したときの、前記抗生物質で処理した細菌の集団の一部分における核酸ターゲット検出の減少が、その細菌の集団がその抗生物質に対して感受性であることを示すことを、説明書が示す、本発明1045のキット。

[本発明1047]

抗生物質が、HPUra、ヒドロキシ尿素、トリメトプリム、シプロフロキサシン、およびM

MCからなる群より選択される、本発明1039のキット。
[本発明1048]
前記抗生物質で処理していない細菌の集団の一部分と比較したときの、前記抗生物質で処理した細菌の集団の一部分における核酸ターゲット検出の増加が、その細菌の集団がその抗生物質に対して感受性であることを示すことを、説明書が示す、本発明1047のキット。
[本発明1049]
インキュベーションモジュール、試料調製モジュール、およびデジタル定量モジュールを含み、各モジュールを他のモジュールと流体連通状態に置くように構成することができる、試料を処理するためのデバイスであって、
インキュベーションモジュールが生物を薬剤と共にインキュベートするように構成されたインキュベーションチャンバーを含み、試料調製モジュールが該生物からターゲット分析物を抽出するように構成されており、デジタル定量モジュールが反応エリアにおける該ターゲット分析物の存在または非存在のデジタル検出を行うように構成された複数の反応エリアを含む、該デバイス。