

【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1年5月23日(2019.5.23)

【公表番号】特表2018-512862(P2018-512862A)

【公表日】平成30年5月24日(2018.5.24)

【年通号数】公開・登録公報2018-019

【出願番号】特願2017-554311(P2017-554311)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/68	(2018.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 4 0 B	10/00	(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 A
C 1 2 N	15/00	A
C 4 0 B	10/00	
G 0 1 N	33/53	N
G 0 1 N	33/536	E

【手続補正書】

【提出日】平成31年4月11日(2019.4.11)

【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】

サンプル中の多価の抗原結合物質の検出方法であって、

a) 前記サンプルを、第1のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた、多価の抗原である第1の分子、及び第2のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた、多価の抗原である第2の分子に、多価の抗原である前記第1の分子と前記第2の分子に結合した前記多価の抗原結合物質を含む凝集複合体を形成させるのに十分な条件で、接触させる工程であって、

前記凝集複合体が、多価の抗原結合物質である少なくとも2つの分子を含む、前記工程と、

b) アンブリコンとして機能し得る連続的なポリヌクレオチドを形成させるために、架橋ポリヌクレオチドを前記凝集複合体の前記第1のポリヌクレオチド及び前記第2のポリヌクレオチドにハイブリダイズさせて、前記第1のポリヌクレオチド及び第2のポリヌクレオチドをライゲーションさせる工程と、

c) 増幅産物を生成するために、前記連続的なポリヌクレオチドを増幅する工程と、

d) 前記増幅産物を検出する工程であって、前記増幅産物の検出によって、前記多価の抗原結合物質の検出を可能にする、前記工程と

を含む前記方法。

【請求項2】

前記第1の分子の前記多価の抗原と前記第2の分子の前記多価の抗原が同じである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記多価の抗原結合物質が抗体である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記サンプルをスプリントポリヌクレオチドと接触させる工程をさらに含み、前記第1のポリヌクレオチド及び前記第2のポリヌクレオチドをライゲーションさせる工程が、スプリントポリヌクレオチドを前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドの両方にライゲーションすることを含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項5】

前記ライゲーション工程後に、前記架橋ポリヌクレオチドを特異的に分解する工程を含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記架橋ポリヌクレオチドが、デオキシリボウラシルを任意で含む1つ以上のヌクレオシドアナログを含み、前記分解工程が、前記サンプルを、グリコシラーゼを任意で含む1つ以上の塩基除去試薬と接触させることを介して、前記1つ以上のヌクレオシドアナログの塩基を除去することを含む、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記増幅工程が、ポリメラーゼ連鎖反応（P C R）による増幅または等温増幅を含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】

前記検出工程が、前記増幅産物の定量に基づいて、前記サンプル中の前記多価の抗原結合物質の量を測定することを含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

15ng/m1未満、任意で100pg/m1未満の濃度の、前記サンプル中の前記多価の抗原結合物質の存在を検出する、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項10】

抗ポリヌクレオチド抗体、ある状態、またはこれらの両方を有する疑いのある対象から前記サンプルが入手される方法であって、前記状態が感染、自己免疫障害、炎症性障害、新生物に対する免疫応答、腫瘍随伴症候群、または代謝性疾患である、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項11】

前記サンプルが組織サンプル、血液サンプル、または排出体液である、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項12】

前記サンプルが、前記多価の抗原結合物質を産生するように構成された細胞またはヒト以外の動物に由来する、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項13】

前記接触工程が、前記サンプルを遊離D N Aと接触させることをさらに含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

a) 第1のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた第1の多価の抗原であって、前記多価の抗原結合物質の第1の抗原結合部位で、前記多価の抗原結合物質に特異的に結合する、前記第1の多価の抗原と、

b) 第2のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた第2の多価の抗原であって、前記多価の抗原結合物質の第2の抗原結合部位で、前記多価の抗原結合物質に特異的に結合する、前記第2の多価の抗原と

を含むキットであって、

前記第1のポリヌクレオチド及び前記第2のポリヌクレオチドがそれぞれ、架橋ポリヌクレオチドに対して相補的な領域を含む、

請求項1～13のいずれか1項に記載の方法を実施するためのキット。

【請求項15】

前記第1のポリヌクレオチド及び前記第2のポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイ

ズする架橋ポリヌクレオチドをさらに含む、請求項1-4に記載のキット。

【請求項1-6】

多価の抗原結合物質の多重化された検出のためのライブラリーであって、

a) 特有のプライマー結合部位を含むポリヌクレオチドにそれぞれコンジュゲートされた2つの同じ多価の抗原を各多価の抗原対が含む、多価の抗原結合物質にそれぞれ特異的な複数の多価の抗原対と、

b) 多価の抗原対の特有のプライマー結合部位に対する相補的な配列を各プライマー対が含む、複数のプライマー対であって、前記多価の抗原対が多価の抗原結合物質に結合して凝集複合体を形成すると、前記多価の抗原対の前記ポリヌクレオチドが、ポリヌクレオチドのライゲーションを可能にする架橋ポリヌクレオチドを介して、前記プライマー対によって特異的に増幅できるアンプリコンとして機能し得る連続的なポリヌクレオチドを形成し、それによって、前記抗原結合物質の多重化された検出を可能にする、前記複数のプライマー対と

を含む前記ライブラリー。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

本開示の態様は、抗原結合物質の多重化された検出のためのライブラリーであって、a) 特有のプライマー結合部位を含むポリヌクレオチドにそれぞれコンジュゲートされた2つの同じ抗原を各抗原対が含む、複数の抗原対と、b) 抗原対の特有のプライマー結合部位に対して相補的な配列を各プライマー対が含む、複数のプライマー対とを含むライブラリーであり、抗原対が抗原結合物質に結合すると、抗原対のポリヌクレオチドが、プライマー対によって特異的に増幅できるアンプリコンを形成させ、それによって、抗原結合物質の多重化された検出を可能にする、ライブラリーを含む。いくつかのケースでは、複数の抗原対の抗原は、自己免疫疾患抗原を含む。いくつかのケースでは、複数の抗原対の抗原は、がん抗原を含む。いくつかのケースでは、複数の抗原対の抗原は、病原体抗原を含む。いくつかのケースでは、各抗原対のポリヌクレオチドは、互いにに対して相補的な配列を含む。いくつかのケースでは、各抗原対のポリヌクレオチドはそれぞれ、架橋ポリヌクレオチドに対して相補的な配列を含む。いくつかのケースでは、複数の抗原対は、単一の容器内にある。いくつかのケースでは、複数のプライマー対の各プライマー対は、別々の容器またはマルチウェルプレートの別々のウェルに存在する。

[本発明1001]

サンプル中の抗原結合物質の検出方法であって、

a) 前記サンプルを、第1のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた、抗原である第1の分子、及び第2のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた、抗原である第2の分子に、前記第1の分子と前記第2の分子に結合した前記抗原結合物質を含む複合体を形成させるのに十分な条件で、接触させる工程と、

b) アンプリコンを形成させるために、前記複合体の前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドを結合させる工程と、

c) 増幅産物を生成するために、前記アンプリコンを増幅する工程と、

d) 前記増幅産物を検出する工程であって、前記増幅産物の検出によって、前記抗原結合物質の検出を可能にする、前記工程と

を含む前記方法。

[本発明1002]

前記第1の分子の前記抗原と前記第2の分子の前記抗原と同じである、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記抗原結合物質が抗体である、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1004]

前記抗体が、免疫グロブリンA（IgA）、免疫グロブリンD（IgD）、免疫グロブリンE（IgE）、免疫グロブリンG（IgG）または免疫グロブリンM（IgM）である、本発明1003の方法。

[本発明1005]

前記抗原がポリペプチドである、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1006]

前記結合工程が、架橋ポリヌクレオチドを前記第1のポリヌクレオチド及び前記第2のポリヌクレオチドにハイブリダイズさせることを含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1007]

前記結合工程が、前記第1のポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を前記第2のポリヌクレオチドの相補的なヌクレオチド配列にハイブリダイズさせることを含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1008]

前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドの前記相補的なヌクレオチド配列が、少なくとも6ヌクレオチド長である、本発明1007の方法。

[本発明1009]

前記結合工程が、前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドをライゲーションすることを含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1010]

前記サンプルをスプリントポリヌクレオチドと接触させる工程をさらに含み、前記結合工程が、前記スプリットポリヌクレオチドを前記第1のポリヌクレオチドもしくは前記第2のポリヌクレオチド、または前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドの両方にライゲーションすることを含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1011]

前記第1のポリヌクレオチドと、前記第2のポリヌクレオチドと、前記架橋ポリヌクレオチドが、DNAポリヌクレオチドであり、前記ライゲーションが、前記サンプルをDNAリガーゼと接触させることを含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1012]

架橋ポリヌクレオチドを前記第1のポリヌクレオチド及び前記第2のポリヌクレオチドにハイブリダイズさせる工程と、前記ハイブリダイズ工程後に、前記第1のポリヌクレオチドと前記第2のポリヌクレオチドをライゲーションする工程と、前記ライゲーション工程後に、前記架橋ポリヌクレオチドを特異的に分解する工程とを含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1013]

前記架橋ポリヌクレオチドが、1つ以上のヌクレオシドアナログを含み、前記分解工程が、前記サンプルを1つ以上の塩基除去試薬と接触させることを介して、前記1つ以上のヌクレオシドアナログの塩基を除去することを含む、本発明1012の方法。

[本発明1014]

前記1つ以上の塩基除去試薬が、グリコシラーゼ、エンドヌクレアーゼまたはこれらを組み合わせたものを含む、本発明1013の方法。

[本発明1015]

前記1つ以上のヌクレオシドアナログが、デオキシリボウラシルを含む、本発明1014の方法。

[本発明1016]

前記増幅工程が、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）による増幅を含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1017]

前記増幅工程が、等温増幅を含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1018]

前記検出工程が、前記増幅産物の定量に基づいて、前記サンプル中の前記抗原結合物質の量を測定することを含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1019]

前記増幅工程が、定量P C Rを含む、本発明1018の方法。

[本発明1020]

15n g / m l未満の濃度の、前記サンプル中の前記抗原結合物質の存在を検出する、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1021]

100p g / m l未満の濃度の、前記サンプル中の前記抗原結合物質の存在を検出する、本発明1020の方法。

[本発明1022]

抗ポリヌクレオチド抗体を有する疑いのある対象から前記サンプルが入手される、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1023]

ある状態を有する疑いのある対象から前記サンプルが入手される、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1024]

前記状態が感染を含む、本発明1023の方法。

[本発明1025]

前記状態が、自己免疫障害または炎症性障害を含む、本発明1023の方法。

[本発明1026]

前記状態が、新生物に対する免疫応答である、本発明1023の方法。

[本発明1027]

前記状態が、腫瘍隨伴症候群である、本発明1022の方法。

[本発明1028]

前記新生物が、前立腺がん、乳がん、肺がん、大腸がん、胃がん、肝臓がん及び甲状腺がんからなる群から選択されるがんである、本発明1026の方法。

[本発明1029]

前記状態が代謝性疾患を含む、本発明1022の方法。

[本発明1030]

前記代謝性疾患が糖尿病である、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記サンプルが組織サンプルである、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1032]

前記組織サンプルが血液サンプルである、本発明1031の方法。

[本発明1033]

前記血液サンプルが血清サンプルである、本発明1032の方法。

[本発明1034]

前記サンプルが、排出体液または半固体である、本発明1001～1030のいずれかの方法。

[本発明1035]

前記排出体液または半固体が、尿、唾液、涙、汗、膿及び糞便からなる群から選択される、本発明1034の方法。

[本発明1036]

前記サンプルが、前記抗原結合物質を産生するように構成された細胞に由来する、本発明1001～1021のいずれかの方法。

[本発明1037]

前記細胞が、ハイブリドーマであり、前記抗原結合物質が、前記ハイブリドーマによって産生される抗体である、本発明1036の方法。

[本発明1038]

前記サンプルが、前記抗原結合物質を產生するように構成された実験動物に由来する、本発明1001～1021のいずれかの方法。

[本発明1039]

前記サンプルが血液サンプルである、本発明1038の方法。

[本発明1040]

前記血液サンプルが血清サンプルである、本発明1039の方法。

[本発明1041]

前記サンプルが、排出体液または半固体である、本発明1040の方法。

[本発明1042]

前記排出体液または半固体が、尿、唾液、涙、汗、膿及び糞便からなる群から選択される、本発明1041の方法。

[本発明1043]

前記接触工程が、前記サンプルを遊離DNAと接触させることをさらに含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1044]

抗原である前記第1の分子と前記第1のポリヌクレオチド、及び抗原である前記第2の分子と前記第2のポリヌクレオチドがどちらも、抗原：ポリヌクレオチドが1:1～1:4であるモル比でコンジュゲートされている、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1045]

抗原結合物質を検出するためのキットであって、

a) 第1のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた第1の抗原であって、前記抗原結合物質の第1の抗原結合部位で、前記抗原結合物質に特異的に結合する、前記第1の抗原と、

b) 第2のポリヌクレオチドにコンジュゲートされた第2の抗原であって、前記抗原結合物質の第2の抗原結合部位で、前記抗原結合物質に特異的に結合する、前記第2の抗原と、

を含む前記キット。

[本発明1046]

前記第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする架橋ポリヌクレオチドをさらに含む、本発明1045のキット。

[本発明1047]

前記第1のポリヌクレオチドが、前記第2のポリヌクレオチドのヌクレオチド配列に相補的であるヌクレオチド配列を含む、本発明1045～1046のいずれかのキット。

[本発明1048]

前記第1のポリヌクレオチド、前記第2のポリヌクレオチドまたは前記架橋ポリヌクレオチドのうちの1つ以上に特異的にハイブリダイズするスプリントポリヌクレオチドをさらに含む、本発明1045～1047のいずれかのキット。

[本発明1049]

前記第1の抗原と前記第2の抗原が同じである、本発明1045～1048のいずれかのキット。

[本発明1050]

リガーゼをさらに含む、本発明1045～1049のいずれかのキット。

[本発明1051]

1つ以上の増幅試薬をさらに含む、本発明1045～1050のいずれかのキット。

[本発明1052]

キットの構成要素a)及びb)が単一の容器に存在する、本発明1045～1051のいずれかのキット。

[本発明1053]

キットの構成要素a)及びb)が別々の容器に存在する、本発明1045～1051のいずれかのキット。

[本発明1054]

抗原結合物質の多重化された検出のためのライブラリーであって、

a) 特有のプライマー結合部位を含むポリヌクレオチドにそれぞれコンジュゲートされ

た2つの同じ抗原を各抗原対が含む、複数の抗原対と、

b) 抗原対の特有のプライマー結合部位に対する相補的な配列を各プライマー対が含む、複数のプライマー対であって、前記抗原対が抗原結合物質に結合すると、前記抗原対の前記ポリヌクレオチドが、前記プライマー対によって特異的に増幅できるアンプリコンを形成し、それによって、前記抗原結合物質の多重化された検出を可能にする、前記複数のプライマー対と

を含む前記ライブラリー。

[本発明1055]

前記複数の抗原対の抗原が、自己免疫疾患抗原を含む、本発明1054のライブラリー。

[本発明1056]

前記複数の抗原対の抗原が、がん抗原を含む、本発明1054～1055のいずれかのライブラリー。

[本発明1057]

前記複数の抗原対の抗原が、病原体抗原を含む、本発明1054～1056のいずれかのライブラリー。

[本発明1058]

各抗原対の前記ポリヌクレオチドが、互いに対して相補的な配列を含む、本発明1054～1057のいずれかのライブラリー。

[本発明1059]

各抗原対の前記ポリヌクレオチドがそれぞれ、架橋ポリヌクレオチドに対して相補的な配列を含む、本発明1054～1057のいずれかのライブラリー。

[本発明1060]

前記複数の抗原対が、单一の容器内にある、本発明1054～1059のいずれかのライブラリー。

[本発明1061]

前記複数のプライマー対の各プライマー対が、別々の容器またはマルチウェルプレートの別々のウェルに存在する、本発明1054～1059のいずれかのライブラリー。