

【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27年3月12日 (2015.3.12)

【公表番号】特表2014-513929(P2014-513929A)

【公表日】平成26年6月19日 (2014.6.19)

【年通号数】公開・登録公報2014-032

【出願番号】特願2013-557932(P2013-557932)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/115 (2010.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

G 0 1 N 33/569 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A H

C 1 2 Q 1/68 Z

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/543 5 0 1 D

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/569 F

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/15 Z

【手続補正書】

【提出日】平成27年1月22日 (2015.1.22)

【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】

クロストリジウム・ディフィシレ(C. difficile)により産生されるトキシンに結合するアプタマーであって、トキシンがトキシン A、トキシン B、バイナリートキシン A 鎖、およびバイナリートキシン B 鎖から選択されるアプタマー。

【請求項 2】

C - 5 位において修飾した少なくとも 1 つのピリミジンを含む、請求項 1 に記載のアプタマー。

【請求項 3】

C - 5 位において修飾した少なくとも 1 つのピリミジンが、独立して図 9 に示す少なくとも 1 つの修飾から選択される C - 5 修飾を含む、請求項 2 に記載のアプタマー。

【請求項 4】

C - 5 位において修飾した少なくとも 1 つのピリミジンが、独立してベンジルカルボキシアミド、ナフチルメチルカルボキシアミド、トリプタミノカルボキシアミド、チロシルカルボキシアミド、2 - ナフチルメチルカルボキシアミドおよびフェネチル - 1 - カルボ

キシアミドから選択される C - 5 修飾を含む、請求項 2 に記載のアプタマー。

【請求項 5】

アプタマーがさらに少なくとも 1 つの追加の化学修飾を含み、その少なくとも 1 つの追加の化学修飾が、独立してリボース位置、デオキシリボース位置、ホスフェート位置、および塩基位置からなる群から選択される 1 以上の位置における化学置換である、請求項 2 に記載のアプタマー。

【請求項 6】

少なくとも 1 つの追加の化学修飾が、独立して、2' - 位の糖修飾、2' - アミノ (2' - NH₂)、2' - フルオロ (2' - F)、2' - O - メチル (2' - OMe)、シトシン環外アミンにおける修飾、5 - プロモウラシルの置換、5 - プロモデオキシウリジンの置換、5 - プロモデオキシシチジンの置換、主鎖修飾、メチル化、3' キャップ、および 5' キャップからなる群から選択される、請求項 5 に記載のアプタマー。

【請求項 7】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ (C. difficile) トキシン A、トキシン B、バイナリートキシン A 鎖、または バイナリートキシン B 鎖 に対して 30 nM 以下の K_d を含む、請求項 4 に記載のアプタマー。

【請求項 8】

被験試料中のクロストリジウム・ディフィシレ (C. difficile) トキシンの存在を検出する方法であって、被験試料を 請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のアプタマー と接触させることを含む方法。

【請求項 9】

検出方法がブルダウンアッセイ、ドットプロットアッセイ、PCR アッセイ、またはサンドイッチアッセイから選択される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

以下のいずれかの配列を含むアプタマー：

SEQ ID NO : 1 ~ 4、6 ~ 10、12 ~ 14、16 ~ 22、24 ~ 27 もしくは 29 ~ 31 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列；

SEQ ID NO : 33 ~ 46、48 ~ 65、67 ~ 74、76 ~ 82、84 ~ 89、91 ~ 94、96 ~ 97 もしくは 99 ~ 108 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列；

SEQ ID NO : 109、111 ~ 123、126 ~ 133、135 ~ 138、140 ~ 144 もしくは 146 ~ 150 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列；および

SEQ ID NO : 153 ~ 156、158 ~ 162 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列。

【請求項 11】

SEQ ID NO : 5、11、15、23 および 28 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列を含むアプタマー。

【請求項 12】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ (C. difficile) トキシン A に結合する、請求項 11 に記載のアプタマー。

【請求項 13】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ (C. difficile) トキシン A に対して 30 nM 以下の K_d を含む、請求項 12 に記載のアプタマー。

【請求項 14】

SEQ ID NO : 32、47、66、75、83、90、95 および 98 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列を含むアプタマー。

【請求項 15】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ (C. difficile) トキシン B に結合する、請求項 14 に記載のアプタマー。

【請求項 16】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ(C. difficile)トキシン B に対して 30 nM 以下の K_d を含む、請求項 15 に記載のアプタマー。

【請求項 17】

SEQ ID NO: 110、124～125、134、139 および 145 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列を含むアプタマー。

【請求項 18】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ(C. difficile)バイナリートキシン A 鎖に結合する、請求項 17 に記載のアプタマー。

【請求項 19】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ(C. difficile)バイナリートキシン A 鎖に対して 30 nM 以下の K_d を含む、請求項 18 に記載のアプタマー。

【請求項 20】

SEQ ID NO: 151～152 および 157 またはそのフラグメントからなる群から選択される配列を含むアプタマー。

【請求項 21】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ(C. difficile)バイナリートキシン B 鎖に結合する、請求項 20 に記載のアプタマー。

【請求項 22】

アプタマーがクロストリジウム・ディフィシレ(C. difficile)バイナリートキシン B 鎖に対して 30 nM 以下の K_d を含む、請求項 21 に記載のアプタマー。

【請求項 23】

被験試料中のクロストリジウム・ディフィシレ(C. difficile)トキシンの存在を検出する方法であって、被験試料を請求項 11、14、17 または 20 のいずれか 1 項に記載のアプタマーと接触させることを含む方法。

【請求項 24】

検出方法がプルダウンアッセイ、ドットプロットアッセイ、PCR アッセイ、またはサンドイッチアッセイから選択される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

サンドイッチアッセイが以下のいずれかである、請求項 24 に記載の方法：

アプタマー - 標的 - 抗体アッセイであり、その際、アプタマーを支持体に固定化し、固定化されたアプタマーに結合した標的を、抗体を用いて検出する；

抗体 - 標的 - アプタマーアッセイであり、その際、抗体を支持体に固定化し、固定化された抗体に結合した標的を、アプタマーを用いて検出する；および

アプタマー - 標的 - アプタマーアッセイであり、その際、第 1 アプタマーを支持体に固定化し、固定化された第 1 アプタマーに結合した標的を、第 2 アプタマーを用いて検出する。