

【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)により產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)、シシン環外アミンにおける修飾、5-ブロモウラシルの置換、5-ブロモデオキシウリジンの置換、5-ブロモデオキシシチジンの置換、主鎖修飾、メチル化、3'キップ、および5'キ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30nM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30nM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】

アブ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30nM以下のK_dを含む、請求項15に記載のアブタマー。

【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ブタマー。

【請求項 18】

アブ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に記載のアブタマー。

【請求項 19】

アブ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30nM以下のK_dを含む、請求項18に記載のアブタマー。

【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ブタマー。

【請求項 21】

アブ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に記載のアブタマー。

【請求項 22】

アブ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30nM以下のK_dを含む、請求項21に記載のアブタマー。

【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項に記載のアブ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：

アブタマー-標的-抗体アッセイであり、その際、アブタマーを支持体に固定化し、固定化されたアブ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-アブ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、アブタマーを用いて検出する；および

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