

【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6部門第1区分

【発行日】平成24年9月27日(2012.9.27)

【公表番号】特表2010-534836(P2010-534836A)

【公表日】平成22年11月11日(2010.11.11)

【年通号数】公開・登録公報2010-045

【出願番号】特願2010-518318(P2010-518318)

【国際特許分類】

G 01 N 33/53 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

G 01 N 33/53 M

C 12 Q 1/68 Z N A A

G 01 N 33/53 D

【手続補正書】

【提出日】平成23年7月21日(2011.7.21)

【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】

サンプル中の生物学的標的の存在および/または量を判定する方法であって：

(a) (1) (i) 前記生物学的標的に対して結合親和性を有する第一の結合性部分と、(ii) 第一のオリゴヌクレオチド配列と、(iii) 前記第一のオリゴヌクレオチド配列と結合した第一の生成物前駆体とを含んでなる第一のプローブと、(2) (i) 前記生物学的標的に対して結合親和力を有する第二の結合性部分と、(ii) 前記第一のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズできる第二のオリゴヌクレオチド配列と、(iii) 前記第二のオリゴヌクレオチド配列と結合した第二の生成物前駆体とを含んでなる第二のプローブと、前記サンプルとを合わせることであって、前記生物学的標的が前記サンプル中に存在する場合、前記第一および第二の結合性部分の双方を前記生物学的標的に結合させ、その際、前記第一および第二のオリゴヌクレオチド配列が互いにハイブリダイズして、前記第一および第二の生成物前駆体を互いに反応性に近接させ、完全エピトープ、酵素基質、酵素活性化物質、およびリガンドよりなる群から選択される反応生成物を生成させる条件下で、前記サンプルを前記第一および第二のプローブと合わせること；

(b) ステップ(a)の反応生成物が存在する場合、複数の検出可能な部分を生成させる条件下で增幅成分と検出成分とを含んでなる検出システムに前記反応生成物を曝露させること；および

(c) ステップ(b)において生成した検出可能な部分の存在および/または量を判定し、それによってサンプル中の生物学的標的の存在および/または量を判定すること、を含んでなる方法。

【請求項2】

ステップ(a)において、前記第一の結合性部分が、前記第一のオリゴヌクレオチド配列に共有結合している請求項1に記載の方法。

【請求項3】

ステップ(a)において、前記第二の結合性部分が、前記第二のオリゴヌクレオチド配列に共有結合している請求項2に記載の方法。

**【請求項 4】**

ステップ( a )において、前記第一の結合性部分が、前記第一のオリゴヌクレオチド配列に非共有結合している請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

アンチジップコード配列にハイブリダイズしたジップコード配列を介して、前記第一の結合性部分が、前記第一のオリゴヌクレオチド配列に非共有結合している請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

ステップ( a )において、前記第二の結合性部分が、前記第二のオリゴヌクレオチド配列に非共有結合している請求項 4 または 5 に記載の方法。

**【請求項 7】**

アンチジップコード配列にハイブリダイズしたジップコード配列を介して、前記第二の結合性部分が、前記第二のオリゴヌクレオチド配列に非共有結合している請求項 6 に記載の方法。

**【請求項 8】**

サンプル中の生物学的標的の存在および／または量を判定する方法であって：

( a ) ( i ) 前記生物学的標的に対して結合親和性を有する第一の結合性部分と、( ii ) 第一のオリゴヌクレオチドのジップコード配列と、を含んでなる第一の標的結合性成分を提供すること；

( b ) ( i ) 前記生物学的標的に対して結合親和性を有する第二の結合性部分と、( ii ) 第二のオリゴヌクレオチドのジップコード配列と、を含んでなる第二の標的結合性成分を提供すること；

( c ) ( i ) 前記第一のオリゴヌクレオチドのジップコード配列にハイブリダイズできる第一のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列と、( ii ) 第一のレポーターオリゴヌクレオチドと、( iii ) 前記第一のレポーターオリゴヌクレオチドと結合した第一の生成物前駆体と、を含んでなる第一のレポーター成分を提供すること；

( d ) ( i ) 前記第二のオリゴヌクレオチドのジップコード配列にハイブリダイズできる第二のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列と、( ii ) 前記第一のレポーターオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズできる第二のレポーターオリゴヌクレオチドと、( iii ) 前記第二のレポーターオリゴヌクレオチド配列と結合しており、前記第一の生成物前駆体と反応性に近接させると、前記第一の生成物前駆体と反応できる第二の生成物前駆体と、を含んでなる第二のレポーター成分を提供すること；

( e ) 前記生物学的標的がサンプル中に存在する場合、前記第一および第二の結合性部分が前記生物学的標的に結合し、その際( i ) 前記第一のジップコード配列が、前記第一のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列にハイブリダイズし、( ii ) 前記第二のオリゴヌクレオチドのジップコード配列が、前記第二のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列にハイブリダイズし、( iii ) 前記第二のレポーターオリゴヌクレオチドを、前記第一のレポーターオリゴヌクレオチドにハイブリダイズして、前記第一および第二の生成物前駆体を反応性に近接させて反応生成物を生成させるような条件下で、前記第一の標的結合性成分と、前記第二の標的結合性成分と、前記第一のレポーター成分と、前記第二のレポーター成分とを前記サンプルと合わせること；

( f ) ステップ( e )の反応生成物が存在する場合、複数の検出可能な部分を生成させる条件下で增幅成分と検出成分とを含んでなる検出システムに前記反応生成物を曝露させること；および

( g ) 検出可能な部分の存在および／または量を判定し、それによって前記サンプル中の生物学的標的の存在および／または量を判定すること；  
を含んでなる方法。

**【請求項 9】**

ステップ( e )において、前記第一の標的結合性成分と、前記第二の標的結合性成分と、前記第一のレポーター成分と、前記第二のレポーター成分とを、全て同時に前記サンプ

ルと合わせる請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

ステップ (e) において、前記第一のレポーター成分および前記第二のレポーター成分の前に、前記第一の標的結合性成分と前記第二の標的結合性成分とを前記サンプルに加える請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

前記反応生成物が、ペプチドまたはタンパク質である請求項 1 から 1\_0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記反応生成物が、図 15 に掲げられたペプチド類から選択されるペプチジル配列を含んでなる請求項 1\_1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記反応生成物が小型分子である請求項 1 から 1\_0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記反応生成物が、色素、抗生物質、酵素補因子、酵素阻害剤、殺虫剤、薬物、毒素、蛍光体、発色団、ホルモン、炭水化物または脂質である請求項 1 から 1\_0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記第一の生成物前駆体および前記第二の生成物前駆体が、追加の試薬の存在下で互いに反応する請求項 1 から 1\_4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

サンプル中の生物学的標的の存在および / または量を判定する方法であって：

(a) (1) (i) 前記生物学的標的に対して結合親和性を有する第一の結合性部分と、(i i) 第一のオリゴヌクレオチド配列と、(i i i) 前記第一のオリゴヌクレオチド配列と結合した第一のマスク化生成物前駆体とを含んでなる第一のプローブと、(2) (i) 前記生物学的標的に対して結合親和力を有する第二の結合性部分と、(i i) 前記第一のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズできる第二のオリゴヌクレオチド配列と、(i i i) 前記第二のオリゴヌクレオチド配列と結合した非マスク性基とを含んでなる第二のプローブと前記サンプルとを合わせることであって、前記生物学的標的が前記サンプル中に存在する場合、前記第一および第二の結合性部分を前記生物学的標的に結合させ、前記第一および第二のオリゴヌクレオチド配列が互いにハイブリダイズして、前記非マスク性基と前記マスク化生成物前駆体とを反応性に近接させて、非マスク化反応生成物を生成させる条件下で、前記サンプルを前記第一および第二のプローブと合わせること；

(b) ステップ (a) の反応生成物が存在する場合、複数の検出可能な部分を生成させる条件下で增幅成分と検出成分とを含んでなる検出システムに前記反応生成物を曝露すること；および

(c) 検出可能な部分の存在および / または量を判定し、それによってサンプル中の生物学的標的の存在および / または量を判定すること、  
を含んでなる方法。

【請求項 17】

前記マスク化生成物前駆体が、マスク化エピトープ、マスク化酵素基質、マスク化酵素活性化物質、またはマスク化リガンドである請求項 1\_6 に記載の方法。

【請求項 18】

前記非マスク化反応生成物が、ペプチドまたはタンパク質である請求項 1\_6 または 1\_7 に記載の方法。

【請求項 19】

前記生物学的標的が、タンパク質、ペプチド、免疫グロブリン、成長因子、または酵素である請求項 1 から 1\_8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記生物学的標的が、ホモ二量体タンパク質である請求項 1 から 1\_8 のいずれか一項に

記載の方法。

【請求項 2 1】

前記生物学的標的が、ヘテロ二量体タンパク質である請求項1から18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記生物学的標的が、B c r - A b 1 のヘテロ二量体、E r b B ファミリーのホモ二量体、E r b B ファミリーのヘテロ二量体、およびP D G F よりなる群から選択される請求項1から18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記生物学的標的が核酸である請求項1から18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記第一の結合性部分、前記第二の結合性部分、または前記第一の結合性部分および前記第二の結合性部分の各々が、抗体である請求項1から23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記第一および第二の結合性部分の各々が、前記生物学的標的により規定された別個の結合部位に結合する請求項1から24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記増幅成分が、前記検出可能な部分の生成を触媒する酵素を含んでなる請求項1から25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記増幅成分が、反応生成物 1 分子当り少なくとも 10 分子の前記検出可能な部分を生成させることができる請求項1から26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記酵素が、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、リボヌクレアーゼ、または乳酸デヒドロゲナーゼである請求項26に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記サンプルが、組織サンプルまたは体液サンプルである請求項1から28のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

( a ) ( i ) 生物学的標的に対して結合親和性を有する第一の結合性部分と、( i i ) 前記第一の結合性部分と結合した第一のレポーターオリゴヌクレオチド配列と、( i i i ) 前記第一のレポーターオリゴヌクレオチド配列と結合した第一の生成物前駆体と、を含んでなる第一のプローブと、

( b ) ( i ) 前記生物学的標的に対して結合親和性を有する第二の結合性部分と、( i i ) 前記第二の結合性部分と結合した第二のレポーターオリゴヌクレオチド配列と、( i i i ) 前記第二のレポーターオリゴヌクレオチド配列と結合した第二の生成物前駆体と、を含んでなり、

前記生物学的標的に対する前記第一および第二の結合性部分の結合の際に、前記第一および第二のレポーターオリゴヌクレオチド配列が、互いにハイブリダイズでき、前記第一および第二の生成物前駆体が互いに反応して、完全エピトープ、酵素基質、酵素活性化物質、およびリガンドよりなる群から選択される反応生成物を生成させることができる第二のプローブと；

( c ) 複数の検出可能な部分を生成させることができる増幅成分と検出成分とを含んでなる検出システムと；

( d ) 生物学的標的の検出用キットを使用するための取扱説明書と、を含んでなるキット。

【請求項 3 1】

第一のプローブが、第一のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列にハイブリダイズした第一のオリゴヌクレオチドのジップコード配列をさらに含んでなり、第二のプロ

ープが、第二のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列にハイブリダイズした第二のオリゴヌクレオチドのジップコード配列をさらに含んでなる請求項3\_0に記載のキット。

#### 【請求項 3\_2】

( a ) ( i ) 前記生物学的標的に対して結合親和性を有する第一の結合性部分と、( i ) 前記第一の結合性部分と結合した第一のオリゴヌクレオチドのジップコード配列と、を含んでなる第一の標的結合性成分と、

( b ) ( i ) 前記生物学的標的に対して結合親和性を有する第二の結合性部分と、( i ) 前記第二の結合性部分と結合した第二のオリゴヌクレオチドのジップコード配列と、を含んでなる第二の標的結合性成分と、

( c ) ( i ) 前記第一のオリゴヌクレオチドのジップコード配列にハイブリダイズできる第一のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列と、( ii ) 前記第一のオリゴヌクレオチドのジップコード配列と結合した第一のレポーターオリゴヌクレオチド配列と、( iii ) 前記第一のレポーターオリゴヌクレオチド配列と結合した第一の生成物前駆体と、を含んでなる第一のレポーター成分と、

( d ) ( i ) 前記第二のオリゴヌクレオチドのジップコード配列にハイブリダイズできる第二のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列と、( ii ) 前記第二のオリゴヌクレオチドのジップコード配列と結合しており、前記第一のレポーターオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズできる第二のレポーターオリゴヌクレオチドと、( iii ) 前記第二のレポーターオリゴヌクレオチド配列と結合した第二の生成物前駆体と、を含んでなり、

前記生物学的標的に対する前記第一および第二の結合性部分の結合、前記第一のジップコードのオリゴヌクレオチド配列とアンチジップコードのオリゴヌクレオチド配列とのハイブリダイゼーション、および前記第二のジップコードのオリゴヌクレオチド配列とアンチジップコードのオリゴヌクレオチド配列とのハイブリダイゼーションの際に、前記第一および第二のレポーターオリゴヌクレオチド配列が、互いにハイブリダイズして、前記第一および第二の生成物前駆体を反応性に近接させ、完全エピトープ、酵素基質、酵素活性化物質、およびリガンドよりなる群から選択される反応生成物を生成させる第二のレポーター成分と；

( e ) 複数の検出可能な部分を生成させることができる增幅成分と検出成分とを含んでなる検出システムと；

( f ) 生物学的標的の検出用キットを使用するための取扱説明書と、を含んでなるキット。

#### 【請求項 3\_3】

直接にまたはペプチドリンカーを介して、またはオリゴヌクレオチドリンカーを介して、前記第一の結合性部分が、前記第一のオリゴヌクレオチドのジップコード配列に共有結合しており；

直接にまたはペプチドリンカーを介して、またはオリゴヌクレオチドリンカーを介して、前記第一のレポーターオリゴヌクレオチドが、前記第一のオリゴヌクレオチドのアンチジップコード配列に共有結合している請求項3\_1または3\_2に記載のキット。