

【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27年12月17日 (2015.12.17)

【公表番号】特表2014-533364(P2014-533364A)

【公表日】平成26年12月11日 (2014.12.11)

【年通号数】公開・登録公報2014-068

【出願番号】特願2014-541281(P2014-541281)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/53 N

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/543 5 7 5

G 0 1 N 33/543 5 4 1 A

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年10月23日 (2015.10.23)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 8】

別の実施態様では、本発明は、(a) 関心のある被検体を含むサンプルを、関心のある該被検体に結合する第 1 の結合領域を含む、それに固定された第 1 の結合試薬を含む固体表面と接触させること、ここで該第 1 の結合試薬は第 1 のオリゴヌクレオチド配列を含む第 1 の連結剤に連結され；(b) 工程 (a) で形成された混合物を関心のある上記被検体に結合する第 2 の結合領域を含む第 2 の結合試薬と接触させること、ここで該第 2 の結合試薬は第 2 のオリゴヌクレオチド配列を含む第 2 の連結剤に連結され、ここで該第 2 のオリゴヌクレオチド配列は上記第 1 のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含み；ここで該接触工程 (b) は、上記第 1 及び第 2 の結合領域が上記被検体に結合し、そして上記第 1 のオリゴヌクレオチド配列が上記第 2 のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び(c) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること：を含む結合アッセイを実施する方法を企図する。

【手続補正 2】

【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】

(a) 関心のある被検体を含むサンプルを、(i) 関心のある該被検体に結合する第 1 の結合領域を含む、それに固定された第 1 の結合試薬を含む固体表面、ここで該第 1 の結合試薬は第 1 のオリゴヌクレオチド配列を含む第 1 の連結剤に連結される及び (i i) 関心

のある上記被検体に結合する第２の結合領域を含む第２の結合試薬、ここで該第２の結合試薬は第２のオリゴヌクレオチド配列を含む第２の連結剤に連結され、ここで該第２のオリゴヌクレオチド配列は該第１のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む、と接触させること；ここで該接触工程は、該第１及び第２の結合領域が上記被検体に結合し、そして上記第１のオリゴヌクレオチド配列が上記第２のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施される；及び

(b) 該固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；  
を含んでなる結合アッセイを実施する方法。

【請求項２】

(a) 関心のある被検体を含むサンプルを、関心のある該被検体に結合する第１の結合領域を含む、それに固定された第１の結合試薬を含む固体表面と接触させること、ここで該第１の結合試薬は第１のオリゴヌクレオチド配列を含む第１の連結剤に連結され；

(b) 工程(a)で形成された混合物を、関心のある上記被検体に結合する第２の結合領域を含む第２の結合試薬と接触させること、ここで該第２の結合試薬は第２のオリゴヌクレオチド配列を含む第２の連結剤に連結され、ここで該第２のオリゴヌクレオチド配列は上記第１のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含み；ここで該接触工程(b)は、上記第１及び第２の結合領域が上記被検体に結合し、そして上記第１のオリゴヌクレオチド配列が上記第２のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(c) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；  
を含んでなる結合アッセイを実施する方法。

【請求項３】

(a) 関心のある被検体を含むサンプルを、(i) 関心のある該被検体に結合する第１の結合領域を含む、それに固定された第１の結合試薬を含む固体表面、ここで該第１の結合試薬は第１のオリゴヌクレオチド配列を含む第１の連結剤に連結される；(ii) 関心のある上記被検体に結合する第２の結合領域を含む第２の結合試薬、ここで該第２の結合試薬は第２のオリゴヌクレオチド配列を含む第２の連結剤に連結される、そして(iii) 該第１のオリゴヌクレオチド配列及び該第２のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む架橋オリゴヌクレオチド配列、と接触させること；ここで該接触工程は、該第１及び第２の結合領域が上記被検体に結合し、そして該架橋オリゴヌクレオチド配列が上記第１のオリゴヌクレオチド配列及び上記第２のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(b) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；  
を含んでなる結合アッセイを実施する方法。

【請求項４】

(a) 関心のある被検体を含むサンプルを、(i) 関心のある該被検体に結合する第１の結合領域を含む、それに固定された第１の結合試薬を含む固体表面、ここで該第１の結合試薬は第１のオリゴヌクレオチド配列を含む第１の連結剤に連結される；そして(ii) 関心のある上記被検体に結合する第２の結合領域を含む第２の結合試薬、ここで該第２の結合試薬は第２のオリゴヌクレオチド配列を含む第２の連結剤に連結される、と接触させること、ここで該接触工程(a)は上記第１及び第２の結合領域が上記被検体に結合する条件下で実施され；

(b) 工程(b)で形成された混合物を、該第１のオリゴヌクレオチド配列及び該第２のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む架橋オリゴヌクレオチド配列と接触させること；ここで該接触工程(b)は、該架橋オリゴヌクレオチド配列が上記第１のオリゴヌクレオチド配列及び上記第２のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(c) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；  
を含んでなる結合アッセイを実施する方法。

【請求項５】

(a) 関心のある被検体を含むサンプルを、関心のある該被検体に結合する第1の結合領域を含む、それに固定された第1の結合試薬を含む固体表面と接触させること、ここで該第1の結合試薬は第1のオリゴヌクレオチド配列を含む第1の連結剤に連結され、ここで該接触工程(a)は該第1の結合領域が上記被検体に結合する条件下で実施され；

(b) 工程(a)で形成された混合物を、関心のある上記被検体に結合する第2の結合領域を含む第2の結合試薬と接触させること、ここで該第2の結合試薬は第2のオリゴヌクレオチド配列を含む第2の連結剤に連結され、ここで該接触工程(b)は該第2の結合領域が上記被検体に結合する条件下で実施され；

(c) 工程(b)で形成された混合物を、該第1のオリゴヌクレオチド配列及び該第2のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む架橋オリゴヌクレオチド配列と接触させること；ここで該接触工程(c)は、該架橋オリゴヌクレオチド配列が上記第1のオリゴヌクレオチド配列及び上記第2のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(d) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；  
を含んでなる結合アッセイを実施する方法。

【請求項6】

(a) 複数の被検体を含むサンプルを、(i) それに固定された1つ又はそれ以上の第1の結合試薬を含む固体表面、ここで1つ又はそれ以上の該第1の結合試薬は各々、該被検体の1つ又はそれ以上に結合する第1の結合領域を含み、そして1つ又はそれ以上の上記第1の結合試薬の各々は、第1のオリゴヌクレオチド配列を含む1つ又はそれ以上の第1の連結剤各々に連結される；そして(ii) 上記被検体の1つ又はそれ以上に結合する第2の結合領域を含む1つ又はそれ以上の第2の結合試薬各々、ここで1つ又はそれ以上の該第2の結合試薬の各々は、第2のオリゴヌクレオチド配列を含む1つ又はそれ以上の第2の連結剤各々に連結され、ここで該第2のオリゴヌクレオチド配列は該第1のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む、と接触させること；ここで該接触工程は、該第1及び第2の結合領域が上記被検体に結合し、そして上記第1のオリゴヌクレオチド配列が上記第2のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(b) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；  
を含んでなる複数の被検体の結合アッセイを実施する方法。

【請求項7】

(a) 複数の被検体を含むサンプルを、それに固定された1つ又はそれ以上の第1の結合試薬を含む固体表面、ここで1つ又はそれ以上の該第1の結合試薬は各々、該被検体の1つ又はそれ以上に結合する第1の結合領域を含み、そして1つ又はそれ以上の上記第1の結合試薬の各々は第1のオリゴヌクレオチド配列を含む1つ又はそれ以上の第1の連結剤各々に連結される、と接触させること；

(b) 工程(a)で形成された混合物を、上記被検体の1つ又はそれ以上に結合する第2の結合領域を含む1つ又はそれ以上の第2の結合試薬各々と接触させること、ここで1つ又はそれ以上の該第2の結合試薬の各々は、第2のオリゴヌクレオチド配列を含む1つ又はそれ以上の第2の連結剤各々に連結され、ここで該第2のオリゴヌクレオチド配列は該第1のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む；ここで該接触工程(b)は、該第1及び第2の結合領域が上記被検体に結合し、そして上記第1のオリゴヌクレオチド配列が上記第2のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(c) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；  
を含んでなる複数の被検体の結合アッセイを実施する方法。

【請求項8】

(a) 複数の被検体を含むサンプルを、(i) それに固定された1つ又はそれ以上の第1の結合試薬を含む固体表面、ここで1つ又はそれ以上の該第1の結合試薬は各々該被検体に結合する第1の結合領域を含み、そして1つ又はそれ以上の上記第1の結合試薬の各

々は第1のオリゴヌクレオチド配列を含む第1の連結剤に連結され；(i i) 関心のある上記被検体に結合する第2の結合領域を含む1つ又はそれ以上の第2の結合試薬各々、ここで該第2の結合試薬は第2のオリゴヌクレオチド配列を含む第2の連結剤に連結される、そして(i i i) 上記第1のオリゴヌクレオチド配列及び上記第2のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む1つ又はそれ以上の架橋オリゴヌクレオチド配列各々、と接触させること；ここで該接触工程は、該第1及び第2の結合領域が上記被検体に結合し、そして該架橋オリゴヌクレオチド配列が該第1のオリゴヌクレオチド配列及び該第2のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(b) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；

を含んでなる複数の被検体の結合アッセイを実施する方法。

【請求項9】

(a) 複数の被検体を含むサンプルを、(i) それに固定された1つ又はそれ以上の第1の結合試薬を含む固体表面、ここで1つ又はそれ以上の第1の該結合試薬は各々該被検体に結合する第1の結合領域を含み、ここで上記第1の結合試薬の各々は第1のオリゴヌクレオチド配列を含む第1の連結剤に連結される；そして(i i) 関心のある上記被検体に結合する第2の結合領域を含む1つ又はそれ以上の第2の結合試薬各々と接触させること、ここで1つ又はそれ以上の該第2の結合試薬の各々は第2のオリゴヌクレオチド配列を含む第2の連結剤に連結され、ここで該接触工程(a)は該第1及び第2の結合領域が上記被検体に結合する条件下で実施され；

(b) 工程(b)で形成された混合物を、該第1のオリゴヌクレオチド配列及び該第2のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む1つ又はそれ以上の架橋オリゴヌクレオチド配列各々と接触させること；ここで該接触工程(b)は、該架橋オリゴヌクレオチド配列が上記第1のオリゴヌクレオチド配列及び上記第2のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施され；及び

(c) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；

を含んでなる複数の被検体の結合アッセイを実施する方法。

【請求項10】

(a) 複数の被検体を含むサンプルを、それに固定された1つ又はそれ以上の第1の結合試薬を含む固体表面と接触させること、ここで1つ又はそれ以上の第1の該結合試薬は各々、該被検体に結合する第1の結合領域を含み、ここで該第1の結合試薬の各々は第1のオリゴヌクレオチド配列を含む第1の連結剤に連結され、ここで該接触工程(a)は該第1の結合領域が上記被検体に結合する条件下で実施される；

(b) 工程(a)で形成された混合物を、上記被検体に結合する第2の結合領域を含む1つ又はそれ以上の第2の結合試薬各々と接触させること、ここで1つ又はそれ以上の該第2の結合試薬の該各々は第2のオリゴヌクレオチド配列を含む第2の連結剤に連結され、ここで該接触工程(b)は該第2の結合領域が上記被検体に結合する条件下で実施される；

(c) 工程(b)で形成された混合物を、該第1のオリゴヌクレオチド配列及び該第2のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む1つ又はそれ以上の架橋オリゴヌクレオチド配列と接触させること、ここで該接触工程(c)は、1つ又はそれ以上の該架橋オリゴヌクレオチド配列が上記第1のオリゴヌクレオチド配列及び上記第2のオリゴヌクレオチド配列にハイブリダイズする条件下で実施される；及び

(d) 前記固体支持体に結合された上記被検体の量を測定すること；

を含んでなる複数の被検体の結合アッセイを実施する方法。

【請求項11】

前記方法は前記接触工程(b)に先立って工程(a)で形成された前記混合物を洗浄することを更に含む、請求項2、4、5、7、9、及び10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項12】

前記方法は前記接触工程(c)に先立って工程(b)で形成された前記混合物を洗浄することを更に含む、請求項5又は10に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記第1の結合領域及び／又は前記第2の結合領域は関心のある前記被検体に対して特異的である、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記第1の連結剤及び／又は前記第2の連結試薬は更に高分子ユニットを含む、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記高分子ユニットはエチレングリコールを含む、請求項14に記載の方法。

**【請求項 16】**

前記第1の結合試薬及び／又は前記第2の結合試薬は抗体である、請求項1～15のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記測定工程は、吸光度、蛍光、リン光、化学ルミネセンス、光散乱又は磁気を測定することを含む、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記第2の結合試薬は検出可能標識を含む、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記架橋オリゴヌクレオチド配列は検出可能標識を含む、請求項3～5及び8～10のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 20】**

前記検出可能標識はECL標識であり、そして前記測定工程はECLシグナルを測定すること及び該シグナルを前記サンプル中の被検体の量と相関させることを含む、請求項19に記載の方法。

**【請求項 21】**

前記固体支持体は電極であり、そして前記測定工程は更にECLを生成するために電圧波形を該電極に印加することを含む、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 22】**

前記第1のオリゴヌクレオチド配列は約5～15塩基、又は約6～12塩基、又は約6～8塩基を含み、

前記第2のオリゴヌクレオチド配列は約5～15塩基、又は約6～12塩基、又は約6～8塩基を含む、  
請求項1～21のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 23】**

前記第1のオリゴヌクレオチド配列及び前記第2のオリゴヌクレオチド配列は各々約4～8塩基長の相補的結合配列を含む、請求項1～22のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 24】**

(i) 関心のある前記被検体に結合する第1の結合領域を含む、それに固定された第1の結合試薬を含む固体表面、ここで該第1の結合試薬は第1のオリゴヌクレオチド配列を含む第1の連結剤に連結される；及び

(ii) 関心のある前記被検体に結合する第2の結合領域を含む第2の結合試薬、ここで該第2の結合試薬は第2のオリゴヌクレオチド配列を含む第2の連結剤に連結され、ここで該第2のオリゴヌクレオチド配列は該第1のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む、  
を含んでなる結合アッセイの実施のためのキット。

**【請求項 25】**

(i) 関心のある前記被検体に結合する第1の結合領域を含む、それに固定された第1の結合試薬、ここで該第1の結合試薬は第1のオリゴヌクレオチド配列を含む第1の連結剤に連結され；

(ii) 関心のある上記被検体に結合する第2の結合領域を含む第2の結合試薬、ここ

で該第 2 の結合試薬は第 2 のオリゴヌクレオチド配列を含む第 2 の連結剤に連結され、及び

( i i i ) 該第 1 のオリゴヌクレオチド配列及び該第 2 のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む架橋オリゴヌクレオチド配列、を含む固体表面を含んでなる結合アッセイを実施するキット。

【請求項 2 6】

( i ) それに固定された 1 つ又はそれ以上の第 1 の結合試薬を含む固体表面、ここで 1 つ又はそれ以上の該第 1 の結合試薬は各々、前記被検体の 1 つ又はそれ以上に結合する第 1 の結合領域を含み、そして 1 つ又はそれ以上の上記第 1 の結合試薬の各々は第 1 のオリゴヌクレオチド配列を含む 1 つ又はそれ以上の第 1 の連結剤各々に連結される；及び

( i i ) 前記被検体の 1 つ又はそれ以上に結合する第 2 の結合領域を含む 1 つ又はそれ以上の第 2 の結合試薬各々、ここで 1 つ又はそれ以上の該第 2 の結合試薬の各々は第 2 のオリゴヌクレオチド配列を含む 1 つ又はそれ以上の第 2 の連結剤各々に連結され、ここで該第 2 のオリゴヌクレオチド配列は該第 1 のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む、を含んでなる複数の被検体の結合アッセイを実施するキット。

【請求項 2 7】

( i ) それに固定された 1 つ又はそれ以上の第 1 の結合試薬を含む固体表面、ここで 1 つ又はそれ以上の該第 1 の結合試薬は各々、前記被検体に結合する第 1 の結合領域を含み、そして 1 つ又はそれ以上の上記第 1 の結合試薬の各々は第 1 のオリゴヌクレオチド配列を含む第 1 の連結剤に連結され；

( i i ) 関心のある前記被検体に結合する第 2 の結合領域を含む 1 つ又はそれ以上の第 2 の結合試薬各々、ここで該第 2 の結合試薬は第 2 のオリゴヌクレオチド配列を含む第 2 の連結剤に連結され、及び

( i i i ) 該第 1 のオリゴヌクレオチド配列及び該第 2 のオリゴヌクレオチド配列の少なくとも一部分に相補的な配列を含む 1 つ又はそれ以上の架橋オリゴヌクレオチド配列各々、を含んでなる複数の被検体の結合アッセイを実施するキット。

【請求項 2 8】

前記第 1 の結合領域及び / 又は前記第 2 の結合領域は関心のある前記被検体に特異的である、請求項 2 4 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 2 9】

前記第 1 の連結剤及び / 又は前記第 2 の連結試薬は更に高分子ユニットを含む、請求項 2 4 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 3 0】

前記高分子ユニットはエチレングリコールを含む、請求項 2 4 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 3 1】

前記第 1 の結合試薬及び / 又は前記第 2 の結合試薬は抗体である、請求項 2 4 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 3 2】

前記第 2 の結合試薬は検出可能標識を含む、請求項 2 4 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 3 3】

前記架橋オリゴヌクレオチド配列は検出可能標識を含む、請求項 2 5 又は 2 7 に記載のキット。

【請求項 3 4】

前記検出可能標識は E C L 標識であり、そして前記測定工程は E C L シグナルを測定すること及び該シグナルを前記サンプル中の被検体の量と相関させることを含む、請求項 3 3 に記載のキット。

**【請求項 35】**

前記固体支持体は電極であり、そして前記測定工程は更に、ECLを生成するために電圧波形を上記電極に印加することを含む、請求項24～27のいずれか1項に記載のキット。

**【請求項 36】**

前記第1のオリゴヌクレオチド配列は約5～20塩基長、又は約8～15塩基長、又は約8～12塩基長であり

前記第2のオリゴヌクレオチド配列は約5～20塩基長、又は約8～15塩基長、又は約8～12塩基長である、

請求項24～27のいずれか1項に記載のキット。

**【請求項 37】**

前記第1のオリゴヌクレオチド配列及び前記第2のオリゴヌクレオチド配列は各々約4～8塩基長の相補的結合配列を含む、請求項24～27のいずれか1項に記載のキット。

**【請求項 38】**

前記第1の連結剤及び/又は前記第2の連結試薬は更に高分子ユニットを含む、請求項24～27のいずれか1項に記載のキット。