

【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4年4月11日(2022.4.11)

【国際公開番号】WO2019/195633
 【公表番号】特表2021-520779(P2021-520779A)
 【公表日】令和3年8月26日(2021.8.26)
 【出願番号】特願2020-554139(P2020-554139)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)

G 0 1 N 33/543(2006.01)

C 0 7 K 2/00(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 2 0 0

G 0 1 N 33/543 5 2 5 E

G 0 1 N 33/543 5 2 5 U

C 0 7 K 2/00 Z N A

10

【手続補正書】

【提出日】令和4年4月1日(2022.4.1)

20

【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】

単一のタンパク質を固体支持体上の結合部位に結合させる方法であって、

該方法が、

該単一のタンパク質を構造化核酸粒子(SNAP)に共有結合させる工程であって、該SNAP

30

の直径が少なくとも該結合部位の直径と同じ大きさである、工程；および

該結合部位が該単一のタンパク質に結合するように、該SNAPを該結合部位に結合させる工程

を含む、方法。

【請求項2】

前記固体支持体がガラス支持体、シリカ支持体、プラスチック支持体、シリコン支持体、金支持体、金属支持体、クロム支持体、チタン支持体、酸化チタン支持体、スズ支持体、または酸化スズ支持体である、請求項1記載の方法。

【請求項3】

前記固体支持体が光学的に不透明または透明である、請求項2記載の方法。

40

【請求項4】

前記固体支持体が、正電荷または負電荷を有するように修飾されている、請求項2記載の方法。

【請求項5】

前記固体支持体が、前記SNAPを前記結合部位に結合させる前に不動態化されている、請求項2記載の方法。

【請求項6】

前記固体支持体が結合部位のアレイを含む、請求項1記載の方法。

【請求項7】

各結合部位が、他の結合部位の各々から少なくとも70nmまたは少なくとも25nm離れて

50

いる、請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

任意の 2 つの結合部位の端部間の距離が、前記 SNAP の半径または直径よりも大きい、請求項 6 記載の方法。

【請求項 9】

前記 SNAP が、光切断可能な結合を含むように修飾されている、請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】

前記 SNAP がローリングサークル増幅によって形成される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 11】

前記 SNAP が核酸折り紙を含み、該核酸折り紙がデオキシリボ核酸 (DNA) またはリボデオキシリボ核酸 (RNA) を含んでもよい、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 12】

前記 SNAP がおよそ 100 nm またはおよそ 300 nm の直径を有する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 13】

前記 SNAP が約 10 nm ~ 500 μm の直径を有する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 14】

前記 SNAP が、静電相互作用を通じて前記固体支持体に付着する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 15】

前記 SNAP が、リンカーにより前記単一のタンパク質に共有結合されており、該リンカーが PEG、DNA、短いカルボキシル、炭素鎖、ペプトイド、スパーサー、グリセル (glycer) から選択されるものを含んでもよい、請求項 1 に記載の方法。

20

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0254

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0254】

本発明の好ましい態様を本明細書において表示および記載したが、そのような態様は単に例として提供されることが当業者には明らかであろう。多数の変化、変更および置換が、本発明から逸脱することなく、当業者には今は想到されるだろう。本明細書に記載されている本発明の態様の様々な代替物が、本発明の実施において用いられ得ることが理解されるべきである。以下の特許請求の範囲は本発明の範囲を定義し、この特許請求の範囲の範囲内の方法および構造体ならびにそれらの等価物はそれによって保護されることが、意図される。

30

一態様において、本発明は以下を提供する。

(項目 1)

タンパク質に共有結合している構造化核酸粒子 (structured nucleic acid particle) (SNAP) を含む、組成物。

(項目 2)

前記 SNAP が固体支持体に結合している、項目 1 記載の組成物。

40

(項目 3)

前記 SNAP が固体支持体に共有結合している、項目 2 記載の組成物。

(項目 4)

前記 SNAP が固体支持体に非共有結合している、項目 2 記載の組成物。

(項目 5)

生体分子に共有結合している核酸 SNAP を含む、組成物。

(項目 6)

前記 SNAP が固体支持体に結合している、項目 5 記載の組成物。

(項目 7)

前記 SNAP が固体支持体に共有結合している、項目 6 記載の組成物。

50

(項目 8)前記SNAPが固体支持体に非共有結合している、項目6記載の組成物。(項目 9)複数の構造化核酸粒子(SNAP)に結合している固体支持体を含む組成物であって、該複数のSNAPの各々が生体分子に結合している、組成物。(項目 10)前記複数のSNAPがアレイ状に配置されている、項目9記載の組成物。(項目 11)単一のタンパク質を固体支持体上の結合部位に結合させる方法であって、該結合部位が該タンパク質より大きく；該方法が、該タンパク質を構造化核酸粒子(SNAP)に共有結合させる工程であって、該SNAPの直径が少なくとも該結合部位の直径と同じ大きさである、工程；および該核酸SNAPを該結合部位に結合させる工程を含む、方法。(項目 12)各結合部位が単一のタンパク質に結合するように、複数の前記タンパク質の各々が前記固体支持体上の結合部位に結合する、項目11記載の方法。(項目 13)固体支持体に結合している複数の生体分子を含む生体分子アレイであって、該複数の生体分子の各生体分子がリンカーに共有結合しており、該リンカーが該固体支持体に結合しており、かつ各リンカーが該複数の生体分子のうちの一つの生体分子のみに結合しており、各リンカーが少なくとも50nmの直径を有する、生体分子アレイ。(項目 14)複数のタンパク質から空間的に分離されているタンパク質のアレイを製造する方法であって、該複数のタンパク質の各タンパク質を、構造化核酸粒子(SNAP)を構成する核酸分子の末端に共有結合させる工程、該SNAPを固体支持体に結合させる工程を含み、それによって空間的に分離されているタンパク質のアレイを製造する、方法。(項目 15)タンパク質、構造化核酸粒子(SNAP)、および固体支持体を含む組成物であって、該タンパク質が該SNAPに共有結合しており、かつ該タンパク質が該固体支持体に接触していない、組成物。(項目 16)空間的に分離されている生物学的または化学的実体のアレイを製造する方法であって、結合部位を有する固体支持体を得る工程、複数の生物学的または化学的実体を含むサンプルを得る工程、各々が官能基を有するシードを得る工程、該複数の生物学的または化学的実体の各生物学的または化学的実体を、該官能基を介して単一のシードに共有結合させる工程、結合した各シードを所望のサイズの構造化核酸粒子(SNAP)へと成長させる工程、該SNAPを該アレイの結合部位に結合させる工程を含み、それによって、空間的に分離されている生物学的または化学的実体のアレイを製造する、方法。(項目 17)前記固体支持体がガラス支持体である、項目16記載の方法。(項目 18)前記固体支持体がシリカ支持体である、項目16記載の方法。(項目 19)前記固体支持体がプラスチック支持体である、項目16記載の方法。

10

20

30

40

50

- (項目 2 0)
前記固体支持体がシリコン支持体である、項目16記載の方法。
- (項目 2 1)
前記固体支持体が金支持体である、項目16記載の方法。
- (項目 2 2)
前記固体支持体が金属支持体である、項目16記載の方法。
- (項目 2 3)
前記固体支持体がクロム支持体である、項目16記載の方法。
- (項目 2 4)
前記固体支持体がチタン支持体である、項目16記載の方法。 10
- (項目 2 5)
前記固体支持体が酸化チタン支持体である、項目16記載の方法。
- (項目 2 6)
前記固体支持体がスズ支持体である、項目16記載の方法。
- (項目 2 7)
前記固体支持体が酸化スズ支持体である、項目16記載の方法。
- (項目 2 8)
前記固体支持体が光学的に不透明である、項目16記載の方法。
- (項目 2 9)
前記固体支持体が光学的に透明である、項目16記載の方法。 20
- (項目 3 0)
前記固体支持体が、正電荷を有するように修飾されている、項目16記載の方法。
- (項目 3 1)
前記固体支持体が、負電荷を有するように修飾されている、項目16記載の方法。
- (項目 3 2)
前記固体支持体が、前記SNAPに結合し得る官能基を有するように修飾されている、項目16記載の方法。
- (項目 3 3)
前記固体支持体が、周囲の表面とは異なるように修飾されている結合部位を含む、項目16記載の方法。 30
- (項目 3 4)
前記固体支持体が結合部位のアレイを含む、項目27記載の方法。
- (項目 3 5)
各結合部位が、他の結合部位の各々から少なくとも70nm離れている、項目34記載の方法。
- (項目 3 6)
各結合部位が、他の結合部位の各々から少なくとも25nm離れている、項目34記載の方法。
- (項目 3 7)
任意の2つの結合部位の端部間の距離が、使用される前記SNAPの半径よりも大きい、項目34記載の方法。 40
- (項目 3 8)
任意の2つの結合部位の端部間の距離が、使用される前記SNAPの直径よりも大きい、項目34記載の方法。
- (項目 3 9)
前記分子がタンパク質である、項目16記載の方法。
- (項目 4 0)
前記シードがオリゴヌクレオチドである、項目16記載の方法。
- (項目 4 1)
前記オリゴヌクレオチドの3'末端が官能基で修飾されている、項目40記載の方法。 50

(項目 4 2)

前記オリゴヌクレオチドの5'末端が官能基で修飾されている、項目40記載の方法。

(項目 4 3)

前記官能基が、アミン、チオール、カルボン酸、三重結合、二重結合、エポキシド、アルキン、アルケン、シクロアルキン、アジド、シクロオクチン、シクロアルキン、ノルボルネン、テトラジン、シクロオクタン、エポキシド、およびヒドロキシルからなる群より選択される、項目41または42のいずれか一項記載の方法。

(項目 4 4)

前記オリゴヌクレオチドが、光切断可能な結合を含むように修飾されている、項目40記載の方法。

(項目 4 5)

前記SNAPがローリングサークル増幅によって形成される、項目16記載の方法。

(項目 4 6)

前記SNAPがデンドリマーである、項目16記載の方法。

(項目 4 7)

前記デンドリマーが正に帯電している、項目46記載の方法。

(項目 4 8)

前記アレイ上の結合部位が負に帯電している、項目47記載の方法。

(項目 4 9)

前記デンドリマーが負に帯電している、項目46記載の方法。

(項目 5 0)

前記アレイ上の結合部位が正に帯電している、項目49記載の方法。

(項目 5 1)

前記SNAPがおおよそ100nmの直径を有する、項目50記載の方法。

(項目 5 2)

前記SNAPがおおよそ300nmの直径を有する、項目45記載の方法。

(項目 5 3)

前記SNAPが約10nm~500 μ mの直径を有する、項目45記載の方法。

(項目 5 4)

前記SNAPが約10nm~50 μ mの直径を有する、項目45記載の方法。

(項目 5 5)

前記SNAPが約10nm~5 μ mの直径を有する、項目45記載の方法。

(項目 5 6)

前記SNAPが約100nm~500nmの直径を有する、項目45記載の方法。

(項目 5 7)

前記SNAPが、静電相互作用を通じて前記固体支持体に付着する、項目45記載の方法。

(項目 5 8)

分子の空間的分離を達成する方法であって、

複数の分子を得る工程、

各々が官能基を有するシードを得る工程、

該複数の分子の各々を、該官能基を介して単一のシードに共有結合させる工程、

結合した各シードを、所望のサイズの構造化核酸粒子(SNAP)へと成長させる工程、

該SNAPを固体支持体に結合させる工程

を含み、

それによって単一分子の空間的分離を達成する、方法。

(項目 5 9)

単一分子のアレイであって、各単一分子が所望のサイズの構造化核酸粒子(SNAP)に結合しており、該SNAPが該結合部位を介してアレイに結合している、単一分子のアレイ。

(項目 6 0)

単一分子のアレイを製造するためのキットであって、

10

20

30

40

50

結合部位を有するアレイ、

各シードが単一の結合部位を有する、シード、および
該シードを構造化核酸粒子(SNAP)へと成長させるための試薬
を含む、キット。

(項目61)

固体支持体；および

該固体支持体に直接結合しているポリマーベースの分子であって、該ポリマーベースの
分子が、実質的に該固体支持体の反対側に配置されているタンパク質部分を含み、かつ、
該タンパク質部分が親和性試薬にアクセス可能である、ポリマーベースの分子
を含む、組成物。

10

(項目62)

アレイ上で生物学的または化学的実体を隔離する方法であって、

複数の構造化核酸粒子(SNAP)を作製する工程；

単一の生物学的または化学的実体を該複数のSNAPの各々にカップリングさせる工程；

該複数のSNAPをアレイに結合させる工程であって、該生物学的または化学的実体が実
質的に該アレイの反対側にある、工程

を含み、

それによって、該複数のSNAPの各々の各生物学的または化学的実体を、該複数のSNA
Pの各SNAPのサイズに基づく距離だけ隔離する、方法。

(項目63)

20

分子を分離する方法であって、各分子をより大きな荷電分子に変換する工程を含む、方
法。

(項目64)

各分子をより大きな荷電分子に変換する工程が、所望のサイズへと成長することができる
バイオポリマーに該分子をコンジュゲートさせることを含む、項目63記載の方法。

(項目65)

各分子をより大きな荷電分子に変換する工程が、各分子を10倍大きい分子に変換する
ことを含む、項目63記載の方法。

(項目66)

各分子をより大きな荷電分子に変換する工程が、各分子をより大きな荷電分子にコンジ
ュゲートさせることを含む、項目63記載の方法。

30

(項目67)

空間的に分離されている生物学的または化学的実体のアレイを製造する方法であって、
結合部位を有する固体支持体を得る工程、

複数の生物学的または化学的実体を含むサンプルを得る工程、

各々が官能基を有する構造化核酸粒子(SNAP)を得る工程、

該複数の生物学的または化学的実体の各生物学的または化学的実体を単一のSNAPに共
有結合させる工程、

該SNAPを該アレイの該結合部位に結合させる工程、

を含み、

40

それによって、空間的に分離されている生物学的または化学的実体のアレイを製造する
方法。

(項目68)

前記SNAPがローリングサークル増幅産物である、前記項目のいずれか一項記載の組成
物。

(項目69)

前記SNAPがプラスミドである、前記項目のいずれか一項記載の組成物。

(項目70)

前記SNAPがDNA折り紙分子である、前記項目のいずれか一項記載の組成物。

(項目71)

50

前記SNAPが核酸クラスターである、前記項目のいずれか一項記載の方法。

(項目72)

前記SNAPがローリングサークル増幅産物である、前記項目のいずれか一項記載の方法。

(項目73)

前記SNAPがプラスミドである、前記項目のいずれか一項記載の方法。

(項目74)

前記SNAPがDNA折り紙分子である、前記項目のいずれか一項記載の方法。

(項目75)

前記SNAPが核酸クラスターである、前記項目のいずれか一項記載の方法。

(項目76)

前記SNAPがローリングサークル増幅産物である、前記項目のいずれか一項記載のキット。

(項目77)

前記SNAPがプラスミドである、前記項目のいずれか一項記載のキット。

(項目78)

前記SNAPがDNA折り紙分子である、前記項目のいずれか一項記載のキット。

(項目79)

前記SNAPが核酸クラスターである、前記項目のいずれか一項記載のキット。

10

20

30

40

50