

【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4月16日(2015.4.16)

【公表番号】特表2012-529888(P2012-529888A)

【公表日】平成24年11月29日(2012.11.29)

【年通号数】公開・登録公報2012-050

【出願番号】特願2012-515132(P2012-515132)

【国際特許分類】

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 Q 1/68 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成27年2月24日(2015.2.24)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

分子的診断アッセイを実施するためのオンボード試薬を含有するマイクロ流体カートリッジであって、前記マイクロ流体カートリッジが、少なくとも1つのチャンバーまたはチャンネルを有するマイクロ流体工作物を封入したプラスチック製本体を含み、前記チャンバーまたはチャンネルが、試料注入ポートへと接続された上流の流体路と、ベントへと接続された下流の流体路を有し、

a) 第1の試薬を、プリントおよび安定化のための溶液と混合し、前記第1のプリントおよび安定化のための溶液の液滴を前記チャンバーまたはチャンネル内にプリントし、前記液滴を乾燥させ、これにより、前記チャンバーまたはチャンネル内に第1のゲル状試薬スポットを形成するステップであって、前記プリントおよび安定化のための溶液が、

i) 1.0% ~ 10% w/vの三糖と；

ii) 0.001% ~ 0.1% w/vの高分子量ポリエチレングリコールまたはポリヒドロキシル化合物と；

iii) 0.001% ~ 0.3%のフッ素系界面活性剤と；

iv) 0.1mg/ml ~ 10mg/mlのキャリアタンパク質と；

vi) 適合バッファと

を含む、ステップと；

b) 第2の試薬を、第2のプリントおよび安定化のための溶液と混合し、前記第2のプリントおよび安定化のための溶液の液滴を前記チャンバーまたはチャンネル内にプリントし、前記液滴を乾燥させ、これにより、その中に第2のゲル状試薬スポットを形成するステップと；

c) 複数のオンボードゲル状試薬スポットが前記チャンバーまたはチャンネル内にスポットされるまで、ステップbの操作を継続するステップと；

d) カバー(複数可)を積層させるか、接着するか、超音波溶接するか、または他の方法で接合することにより、前記チャンバーまたはチャンネルを、前記プラスチック製本体内に封入するステップと；

e) 次いで、ゲル状試薬スポット(複数可)を封入した前記マイクロ流体カートリッジ

を、乾燥剤と共に乾燥雰囲気下で気密パウチ内に密封するステップであって、前記乾燥剤が、保存期間中に、前記ゲル状試薬スポット（複数可）をさらにガラス化させ、前記マイクロ流体カートリッジが、凍結乾燥させる必要も凍結保存する必要もなしに、6カ月以上の安定保存期間を有し、前記マイクロ流体カートリッジが、分子診断アッセイに要求されるすべてのオンボード試薬を含有するステップと

により前記チャンバーまたはチャンネル内に作製された、少なくとも1つのガラス化したゲル状試薬スポットが、前記チャンバーまたはチャンネル内に封入されている、マイクロ流体カートリッジ。

【請求項2】

前記第1のゲル状試薬スポットが、T A Qポリメラーゼを含む、請求項1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項3】

前記第2のゲル状試薬スポットが、プライマー（複数可）を含む、請求項1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項4】

前記複数のゲル状試薬スポットが、プローブ（複数可）を含有するスポット、逆転写酵素を含有するスポット、RNAポリメラーゼを含有するスポット、ヌクレオチド三リン酸を含有するスポット、核酸鋳型を含有するスポット、またはバッファーを含有するスポットを含む、請求項1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項5】

前記マイクロ流体工作物が、前記試料注入ポートと、前記ベントとの間で平行するアッセイ経路のレイとして流体連絡される複数のチャンバーまたはチャンネルを含み、前記各アッセイ経路内に、前記チャンバーまたはチャンネル内にプリントされた少なくとも1つのガラス化したゲル状試薬スポットが存在する、請求項1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項6】

前記各アッセイ経路内に、少なくとも1つの固有のプライマー対を含むガラス化したゲル状試薬スポットが存在する、請求項5に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項7】

前記各アッセイ経路内に、少なくとも1つのプローブを含むガラス化したゲル状試薬スポットが存在する、請求項5に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項8】

前記各アッセイ経路が、安定化マトリックス中にT A Qポリメラーゼを有するガラス化したゲル状試薬スポットを含む、請求項5に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項9】

取外し可能なマイクロ流体カートリッジのモザイク物を含み、前記モザイク物のうちの前記取外し可能なカートリッジの各々が、前記取外し可能なカートリッジの各々の中に作製された、少なくとも1つのガラス化したゲル状試薬スポットと共に形成される、工程中間体としての、請求項1または5に記載のマイクロ流体カートリッジのシート。

【請求項10】

前記取外し可能なマイクロ流体カートリッジの各々に、特定の分子診断アッセイまたはアッセイセットのために形成されたガラス化したゲル状試薬スポットのパターンがプリントされている、請求項9に記載のマイクロ流体カートリッジのシート。

【請求項11】

各シートが、複数の診断アッセイまたはアッセイセットのために形成された、取外し可能なマイクロ流体カートリッジを含む、請求項10に記載のマイクロ流体カートリッジのシート。

【請求項12】

前記少なくとも1つのガラス化したゲル状試薬スポットが、室温でガラスを形成するように選択されるPCR増強剤をさらに含む、請求項1または5に記載のマイクロ流体カー

トリッジ。

【請求項 13】

前記 PCR 増強剤が、ベタイン、n - ホルミルモルホリン、 ϵ - バレロラクタム (2 - ピペリドン)、 ϵ - カプロラクタム、1, 2 - シクロペンタンジオール、PVP - 10、PVP - 40、またはこれらの混合物である、請求項 12 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 14】

前記少なくとも 1 つのガラス化したゲル状試薬スポットが、イヌリン、セルロース、誘導体化セルロース、ポリビニルピロリドン、リジン、アルギニン、またはメイラード反応阻害剤をさらに含む、請求項 1 または 5 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 15】

乾燥剤と共に乾燥雰囲気下で気密パウチ内に個別包装され、表示ならびに使用のための指示書を含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載のマイクロ流体カートリッジを含むキット。

【請求項 16】

核酸アッセイ試薬を、マイクロ流体デバイスのチャンバーまたはチャンネル内で凍結乾燥させることなく、水の凍結温度を超える温度のゲル様ガラス内で安定化させて保存する方法であって、

a) 前記核酸アッセイ試薬を、

i) 1.0% ~ 10% w/v の二糖または三糖と；

ii) 0.001% ~ 0.1% w/v の高分子量ポリエチレングリコールと；

iii) 0.001% ~ 0.3% のフッ素系界面活性剤と；

iv) 0.1 mg/ml ~ 10 mg/ml のキャリアタンパク質と；

v) 適合バッファーと

からなる水溶液と混合して、これにより複合体ガラス前駆体溶液を形成するステップと；

b) 前記アッセイに有効な量の前記核酸アッセイ試薬を含有する、前記複合体ガラス前駆体溶液の液滴を、前記マイクロ流体デバイス内に沈着させるステップと；

c) 前記液滴を、制御された室温、または 20 で乾燥させて、前記表面上にゲル状スポットを形成するステップと；

d) 次いで、前記マイクロ流体カートリッジ内の前記ゲル状スポットを、乾燥剤と共に乾燥雰囲気下で気密パウチ内に密閉および密封するステップであって、前記乾燥剤が、保存期間中に、前記ゲル状スポットをさらにガラス化させるステップとを含む方法。

【請求項 17】

前記二糖がトレハロースから選択され、前記三糖がメレチトースまたはラフィノースから選択される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記高分子量ポリエチレングリコールが、0.1 ~ 5 MDa の分子量を有し、直鎖状のポリオキシエチレングリコールまたは分岐鎖状のポリオキシエチレングリコールである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 19】

前記キャリアタンパク質が、ウシ血清アルブミンまたは魚類ゼラチンである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 20】

前記フッ素系界面活性剤が、非イオン性フルオロアルキル系界面活性剤であり、短鎖のアルキル側鎖を有することが好ましい、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】

前記フッ素系界面活性剤が、フッ素系界面活性剤 FC - 4430 である、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 22】

前記チャンバーまたはチャンネルを不動態化してから、前記液滴を沈着させるステップをさらに含む、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 3】

分子的診断アッセイを実施するためのオンボード試薬を含有するマイクロ流体カートリッジであって、前記マイクロ流体カートリッジが、少なくとも 1 つのチャンバーまたはチャンネルを有するマイクロ流体工作物を封入した本体を含み、前記チャンバーまたはチャンネルが、試料注入ポートへと接続された上流の流体路と、ベントへと接続された下流の流体路を有し、少なくとも 1 つのゲル試薬スポットが前記チャンバーまたはチャンネルに封入され、前記ゲル試薬スポットは、

- a) DNA ポリメラーゼ、
- b) 1 種以上の賦形剤、および
- c) フッ素系界面活性剤

を含む、マイクロ流体カートリッジ。

【請求項 2 4】

前記 DNA ポリメラーゼが、TAQ ポリメラーゼである、請求項 2 3 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 2 5】

前記 1 種以上の賦形剤が、二糖または三糖を含む、請求項 2 3 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 2 6】

前記二糖がトレハロースである、請求項 2 5 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 2 7】

前記三糖がメレチトースまたはラフィノースである、請求項 2 5 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 2 8】

前記 1 種以上の賦形剤が高分子量ポリエチレングリコールを含む、請求項 2 3 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 2 9】

前記高分子量ポリエチレングリコールは、0.1 MDa ~ 5 MDa (両端を含む) の範囲の分子量を有する、請求項 2 8 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 3 0】

前記高分子量ポリエチレングリコールは、直鎖状のポリオキシエチレングリコールである、請求項 2 8 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 3 1】

前記 1 種以上の賦形剤はアミノ酸を含む、請求項 2 3 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 3 2】

前記 1 種以上の賦形剤はキャリアタンパク質を含む、請求項 2 3 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 3 3】

前記キャリアタンパク質は、ウシ血清アルブミンまたは魚類ゼラチンである、請求項 3 2 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 3 4】

前記フッ素系界面活性剤が、非イオン性フルオロアルキル系界面活性剤である、請求項 2 3 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 3 5】

前記フッ素系界面活性剤が、フッ素系界面活性剤 FC - 4 4 3 0 である、請求項 2 3 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 3 6】

プライマー (複数可) を含む第 2 のゲル状試薬スポットをさらに含む、請求項 2 3 に記

載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 37】

1 種以上のさらなるゲル状試薬スポットをさらに含む、請求項 23 に記載のマイクロ流体カートリッジであって、前記 1 種以上のさらなるゲル状試薬スポットが、独立して、プローブ（複数可）、逆転写酵素、RNA ポリメラーゼ、ヌクレオチド三リン酸、核酸鋳型、またはバッファーを含む、マイクロ流体カートリッジ。

【請求項 38】

前記マイクロ流体工作物が、前記試料注入ポートと、前記ベントとの間で平行するアッセイ経路のアレイとして流体連絡される複数のチャンバーまたはチャンネルを含み、前記各アッセイ経路内に、少なくとも 1 つのゲル状試薬スポットが含まれる、請求項 23 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 39】

各アッセイ経路が、少なくとも 1 つの固有のプライマー対を含むゲル状試薬スポットを含む、請求項 38 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 40】

各アッセイ経路が、少なくとも 1 つのプローブを含むゲル状試薬スポットを含む、請求項 38 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 41】

各アッセイ経路が、DNA ポリメラーゼとフッ素系界面活性剤とを含むゲル状試薬スポットを含む、請求項 38 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 42】

前記ゲル状試薬スポットが、室温でガラスを形成するように選択される PCR 増強剤をさらに含む、請求項 23 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 43】

前記 PCR 増強剤が、ベタイン、n - ホルミルモルホリン、 - バレロラクタム（2 - ピペリドン）、 - カプロラクタム、1, 2 - シクロペンタンジオール、PVP - 10、PVP - 40、またはこれらの混合物である、請求項 42 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 44】

前記ゲル状試薬スポットが、イヌリン、セルロース、誘導体化セルロース、ポリビニルピロリドン、リジン、アルギニン、またはメイラード反応阻害剤をさらに含む、請求項 23 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【請求項 45】

前記ゲル状試薬スポットがガラス化されている、請求項 23 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】 明細書

【訂正対象項目名】 0030

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【0030】

本発明の教示は、付属の図面および特許請求の範囲と共に、以下の詳細な記載を考え合わせるにより、よりよく理解することができる。

本発明はまた、以下の項目を提供する。

（項目 1）

分子的診断アッセイを実施するためのオンボード試薬を含有するマイクロ流体カートリッジであって、前記マイクロ流体カートリッジが、少なくとも 1 つのチャンバーまたはチャンネルを有するマイクロ流体工作物を封入したプラスチック製本体を含み、前記チャンバーまたはチャンネルが、試料注入ポートへと接続された上流の流体路と、ベントへと接続さ

れた下流の流体路を有し、

a) 第1の試薬を、プリントおよび安定化のための溶液と混合し、前記第1のプリントおよび安定化のための溶液の液滴を前記チャンバーまたはチャンネル内にプリントし、前記液滴を乾燥させ、これにより、前記チャンバーまたはチャンネル内に第1のゲル状試薬スポットを形成するステップと；

b) 必要に応じて、第2の試薬を、第2のプリントおよび安定化のための溶液と混合し、前記第2のプリントおよび安定化のための溶液の液滴を前記チャンバーまたはチャンネル内にプリントし、前記液滴を乾燥させ、これにより、その中に第2のゲル状試薬スポットを形成するステップと；

c) 必要に応じて、複数のオンボードゲル状試薬スポットが前記チャンバーまたはチャンネル内にスポットされるまで、ステップbの操作を継続するステップと；

d) カバー（複数可）を積層させるか、接着するか、超音波溶接するか、または他の方法で接合することにより、前記チャンバーまたはチャンネルを、前記プラスチック製本体内に封入するステップと；

e) 次いで、ゲル状試薬スポット（複数可）を封入した前記マイクロ流体カートリッジを、乾燥剤と共に乾燥雰囲気下で気密パウチ内に密封するステップであって、前記乾燥剤が、保存期間中に、前記ゲル状試薬スポット（複数可）をさらにガラス化させ、前記マイクロ流体カートリッジの保管寿命が、凍結乾燥させる必要も凍結保存する必要もなしに延長され、前記マイクロ流体カートリッジが、分子診断アッセイに要求されるすべてのオンボード試薬を含有するステップと

により前記チャンバーまたはチャンネル内に作製された、少なくとも1つのガラス化したゲル状試薬スポットが、前記チャンバーまたはチャンネル内に封入されている、マイクロ流体カートリッジ。

（項目2）

前記第1のガラス化したゲル状試薬スポットが、T A Qポリメラーゼを含む、項目1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

（項目3）

前記第1のガラス化したゲル状試薬スポットが、

i) 約1.0% ~ 10% w/vの三糖と；

i i) 必要に応じて、約0.001% ~ 0.1% w/vの高分子量ポリエチレングリコールまたはポリヒドロキシル化合物と；

i i i) 必要に応じて、約0.001% ~ 0.3%のフッ素系界面活性剤と；

i v) 必要に応じて、アミノ官能基またはアミド官能基を有する非タンパク質の化合物と；

v) 約0.1% ~ 10%のキャリアタンパク質と；

v i) 適合バッファート

を含む安定化マトリックス中にT A Qポリメラーゼを含む、項目1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

（項目4）

前記第2のガラス化したゲル状試薬スポットが、プライマー（複数可）を含む、項目1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

（項目5）

前記複数のガラス化したゲル状試薬スポットが、プローブ（複数可）を含有するスポット、逆転写酵素を含有するスポット、RNAポリメラーゼを含有するスポット、ヌクレオチド三リン酸を含有するスポット、核酸鋳型を含有するスポット、またはバッファートを含有するスポットを含む、項目1に記載のマイクロ流体カートリッジ。

（項目6）

前記マイクロ流体工作物が、前記試料注入ポートと、前記ベントとの間で平行するアッセイ経路のレイとして流体連絡される複数のチャンバーまたはチャンネルを含み、前記各アッセイ経路内に、前記チャンバーまたはチャンネル内にプリントされた少なくとも1つの

ガラス化したゲル状試薬スポットが存在する、項目 1 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

(項目 7)

前記各アッセイ経路内に、少なくとも 1 つの固有のプライマー対を含むガラス化したゲル状試薬スポットが存在する、項目 6 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

(項目 8)

前記各アッセイ経路内に、少なくとも 1 つのプローブを含むガラス化したゲル状試薬スポットが存在する、項目 6 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

(項目 9)

前記各アッセイ経路が、安定化マトリックス中に T A Q ポリメラーゼを有するガラス化したゲル状試薬スポットを含む、項目 6 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

(項目 10)

取外し可能なマイクロ流体カートリッジのモザイク物を含み、前記モザイク物のうちの前記取外し可能なカートリッジの各々が、前記取外し可能なカートリッジの各々の中に作製された、少なくとも 1 つのガラス化したゲル状試薬スポットと共に形成される、工程中間体としての、項目 1 または 6 に記載のマイクロ流体カートリッジのシート。

(項目 11)

前記取外し可能なマイクロ流体カートリッジの各々に、特定の分子診断アッセイまたはアッセイセットのために形成されたガラス化したゲル状試薬スポットのパターンがプリントされている、項目 10 に記載のマイクロ流体カートリッジのシート。

(項目 12)

各シートが、複数の診断アッセイまたはアッセイセットのために形成された、取外し可能なマイクロ流体カートリッジを含む、項目 11 に記載のマイクロ流体カートリッジのシート。

(項目 13)

前記少なくとも 1 つのガラス化したゲル状試薬スポットが、室温でガラスを形成するように選択される P C R 増強剤をさらに含む、項目 1 または 6 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

(項目 14)

前記 P C R 増強剤が、ベタイン、n - ホルミルホルリン、 - バレロラクタム (2 - ピペリドン)、 - カプロラクタム、1, 2 - シクロペンタンジオール、P V P - 10、P V P - 40、またはこれらの混合物である、項目 13 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

(項目 15)

前記少なくとも 1 つのガラス化したゲル状試薬スポットが、イヌリン、セルロース、誘導体化セルロース、ポリビニルピロリドン、リジン、アルギニン、またはメイラード反応阻害剤をさらに含む、項目 1 または 6 に記載のマイクロ流体カートリッジ。

(項目 16)

乾燥剤と共に乾燥雰囲気下で気密パウチ内に個別包装され、表示ならびに使用のための指示書を含む、項目 1 ~ 15 のいずれか一項に記載のマイクロ流体カートリッジを含むキット。

(項目 17)

核酸アッセイ試薬を、マイクロ流体デバイスのチャンバーまたはチャンネル内で凍結乾燥させることなく、水の凍結温度を超える温度のゲル様ガラス内で安定化させて保存する方法であって、

a) 前記核酸アッセイ試薬を、

i) 約 1 . 0 % ~ 10 % w / v の二糖または三糖と；

i i) 必要に応じて、約 0 . 001 % ~ 0 . 1 % w / v の高分子量ポリエチレングリコールと；

i i i) 必要に応じて、約 0 . 001 % ~ 0 . 3 % のフッ素系界面活性剤と；

i v) 必要に応じて、約 0.001% ~ 約 1.0% のアミノ酸と；

i v) 必要に応じて、約 0.1% ~ 10% のキャリアタンパク質と；

v) 必要に応じて、適合バッファーと

からなる水溶液と混合して、これにより複合体ガラス前駆体溶液を形成するステップと；

b) 前記アッセイに有効な量の前記核酸アッセイ試薬を含有する、前記複合体ガラス前駆体溶液の液滴を、前記マイクロ流体デバイス内に沈着させるステップと；

c) 前記液滴を、制御された室温、または約 20 で乾燥させて、前記表面上にゲル状スポットを形成するステップと；

d) 次いで、前記マイクロ流体カートリッジ内の前記ゲル状スポットを、乾燥剤と共に乾燥雰囲気下で気密パウチ内に密閉および密封するステップであって、前記乾燥剤が、保存期間中に、前記ゲル状スポットをさらにガラス化させるステップと

を含む方法。

(項目 18)

前記二糖がトレハロースから選択され、前記三糖がメレチトースまたはラフィノースから選択される、項目 17 に記載の方法。

(項目 19)

前記高分子量ポリエチレングリコールが、0.1 ~ 5 MDa の分子量を有し、直鎖状のポリオキシエチレングリコールまたは分岐鎖状のポリオキシエチレングリコールである、項目 17 に記載の方法。

(項目 20)

前記キャリアタンパク質が、ウシ血清アルブミンまたは魚類ゼラチンである、項目 17 に記載の方法。

(項目 21)

前記フッ素系界面活性剤が、非イオン性フルオロアルキル系界面活性剤であり、短鎖のアルキル側鎖を有することが好ましい、項目 17 に記載の方法。

(項目 22)

前記フッ素系界面活性剤が、フッ素系界面活性剤 FC - 4430 である、項目 17 に記載の方法。

(項目 23)

前記チャンバーまたはチャンネルを不動態化してから、前記液滴を沈着させるステップをさらに含む、項目 17 に記載の方法。

(項目 24)

本特許請求の範囲で個別にもしくは集合的に開示されるか、または本出願の明細書で個別にもしくは集合的に示されるステップ、特色、整数、組成物、および/または化合物、ならびに前記ステップ、特色、整数、組成物、および/または化合物のうちの 2 つ以上の任意のおよび全ての組合せ。