

【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 29 年 5 月 18 日 (2017.5.18)

【公表番号】特表 2016-515827 (P2016-515827A)

【公表日】平成 28 年 6 月 2 日 (2016.6.2)

【年通号数】公開・登録公報 2016-034

【出願番号】特願 2016-506666 (P2016-506666)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 N 15/00 F

C 1 2 M 1/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 29 年 3 月 29 日 (2017.3.29)

【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】

試料における R N A を検出する方法であって、

(a) 該試料およびプローブアレイを接触させるステップであって、該プローブアレイが、1 種または複数のキメラプローブを含み、該キメラプローブが、D N A 領域および R N A 領域を含み、該 D N A 領域および該 R N A 領域が近接しており、該 D N A 領域が、該 R N A 領域の 5' にあり、該試料が、該キメラプローブのうち少なくとも 1 種のヌクレオチド配列と相補的な R N A 分子を含有する場合、該 R N A 分子が、該相補的キメラプローブとハイブリダイズするステップと、

(b) 該プローブアレイと R N A / D N A ハイブリッドに特異的なリボヌクレアーゼとを接触させるステップであって、該キメラプローブの該 D N A 領域にハイブリダイズした該 R N A 分子の部分が分解されるステップと、

(c) 該プローブアレイと、標識されたヌクレオチドと、D N A テンプレートを使用して R N A 鎖を伸長させることができ、該 R N A 鎖からの伸長中に該標識されたヌクレオチドを取り込むことができる核酸ポリメラーゼとを接触させるステップであって、該ハイブリダイズした R N A 分子が伸長して、伸長した核酸鎖を形成し、少なくとも 1 個の標識されたヌクレオチドが、該伸長した核酸鎖に取り込まれ、該標識されたヌクレオチドのそれぞれが、第 1 の標識を含むステップと、

(d) 該プローブアレイおよび標識コンジュゲートを接触させることにより、該伸長した核酸鎖中の該標識されたヌクレオチドを検出するステップであって、該標識コンジュゲートが、特異的結合分子および第 2 の標識を含み、該特異的結合分子が、該第 1 の標識に結合し、該伸長した核酸鎖中の該標識されたヌクレオチドが、該第 2 の標識を検出することにより検出され、該第 2 の標識が、該プローブアレイおよび検出コンジュゲートを接触させることにより検出され、該検出コンジュゲートが、凝集化因子を含み、該凝集化因子が、該標識コンジュゲート上の検出コンジュゲートの凝集を媒介するステップと

を含み、該伸長した核酸鎖中の該標識されたヌクレオチドの検出が、該試料中の該 R N A

分子の存在を示す方法。

【請求項 2】

検出コンジュゲートが、前記第 2 の標識と会合または結合する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 2 の標識が、前記標識コンジュゲート上のまたは該標識コンジュゲートにおける前記検出コンジュゲートの凝集を媒介または可能にする、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記検出コンジュゲートが、シグナルを含むまたはシグナルを生じる、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記検出コンジュゲートが、複数コピーの標識を含む、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

複数の検出コンジュゲートが、前記第 2 の標識と会合または結合する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記検出コンジュゲートが自己凝集する、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記第 1 の標識がビオチンを含み、前記特異的結合分子がストレプトアビジンを含み、前記第 2 の標識が金を含み、前記凝集化因子が銀を含む、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

ステップ (a)、(b) および (c) が、同時に行われる、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記標識コンジュゲートが、ストレプトアビジンにコンジュゲートされた金ナノ粒子を含む、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記検出コンジュゲートが、銀ナノ粒子を含む、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記リボヌクレアーゼが、R N a s e H であり、前記核酸ポリメラーゼが、DNA ポリメラーゼのクレノウ断片である、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記プローブアレイが、固体基材をさらに含み、前記キメラプローブが、該固体基材上に固定化されている、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記プローブアレイが、2 種以上のキメラプローブを含み、各キメラプローブが、前記固体基材の異なる位置に固定化されており、各キメラプローブが、異なるヌクレオチド配列を有し、各キメラプローブが、異なる RNA 分子に相補的であり、前記伸長した核酸鎖中の前記標識されたヌクレオチドが検出される該固体基材上の位置が、検出された RNA 分子の同一性を示す、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記キメラプローブが、安定化された核酸である、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記 RNA 領域が、2' - O - メチルヌクレオチドで構成される、請求項 15 に記載の

方法。

【請求項 17】

前記キメラプローブのうち 1 種または複数が、ウイルス、細菌または微生物に特徴的なヌクレオチド配列に相補的である、請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記キメラプローブのうち 1 種または複数が、第 2 の DNA 領域をさらに含み、前記第 2 の DNA 領域が、前記 RNA 領域の 3' にある、請求項 1 から 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記 DNA 領域および前記 RNA 領域が近接している、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記キメラプローブが、3'-連結基をさらに含み、該 3'-連結基が、該キメラプローブの固定化を媒介する、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記 3'-連結基が、アミノ基である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

プローブアレイ、標識されたヌクレオチド、標識コンジュゲートおよび検出コンジュゲートを含むキットであって、

該プローブアレイが、1 種または複数のキメラプローブを含み、該キメラプローブが、DNA 領域および RNA 領域を含み、該 DNA 領域および該 RNA 領域が近接しており、該 DNA 領域が、該 RNA 領域の 5' にあり、該キメラプローブのヌクレオチド配列が、目的の RNA 分子のヌクレオチド配列に相補的であり、

該標識されたヌクレオチドのそれぞれが、第 1 の標識を含み、該標識コンジュゲートが、特異的結合分子および第 2 の標識を含み、該特異的結合分子が、該第 1 の標識に結合し、

該検出コンジュゲートが、凝集化因子を含み、該凝集化因子が、該標識コンジュゲート上の検出コンジュゲートの凝集を媒介するキット。

【請求項 23】

検出コンジュゲートが、前記第 2 の標識と会合または結合することができる、請求項 22 に記載のキット。

【請求項 24】

前記第 2 の標識が、前記標識コンジュゲート上のおよび該標識コンジュゲートにおける前記検出コンジュゲートの凝集を媒介または可能にすることができる、請求項 22 または 23 に記載のキット。

【請求項 25】

前記検出コンジュゲートが、シグナルを含むまたはシグナルを生じることができる、請求項 22 から 24 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 26】

前記検出コンジュゲートが、複数コピーの標識を含む、請求項 22 から 25 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 27】

複数の検出コンジュゲートが、前記第 2 の標識と会合または結合することができる、請求項 22 から 26 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 28】

前記検出コンジュゲートが、自己凝集することができる、請求項 22 から 27 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 29】

前記プローブアレイが、固体基材をさらに含み、前記キメラプローブが、該固体基材上に固定化されている、請求項 22 から 28 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 30】

前記プローブアレイが、2種以上のキメラプローブを含み、各キメラプローブが、前記固体基材の異なる位置に固定化されており、各キメラプローブが、異なるヌクレオチド配列を有し、各キメラプローブが、異なるRNA分子に相補的である、請求項29に記載のキット。

【請求項31】

前記キメラプローブが、安定化された核酸である、請求項22から30のいずれか一項に記載のキット。

【請求項32】

前記RNA領域が、2'-O-メチルヌクレオチドで構成される、請求項31に記載のキット。

【請求項33】

前記キメラプローブのうち1種または複数が、ウイルス、細菌または微生物に特徴的なヌクレオチド配列に相補的である、請求項22から32のいずれか一項に記載のキット。

【請求項34】

前記キメラプローブのうち1種または複数が、第2のDNA領域をさらに含み、該第2のDNA領域が、前記RNA領域の3'にある、請求項33に記載のキット。

【請求項35】

前記DNA領域および前記RNA領域が近接している、請求項34に記載のキット。

【請求項36】

前記キメラプローブが、3'-連結基をさらに含み、該3'-連結基が、該キメラプローブの固定化を媒介する、請求項22から35のいずれか一項に記載のキット。

【請求項37】

前記3'-連結基が、アミノ基である、請求項36に記載のキット。

【請求項38】

1種または複数のキメラプローブを含むプローブアレイであって、該キメラプローブが、DNA領域およびRNA領域を含み、該DNA領域および該RNA領域が近接しており、該DNA領域が、該RNA領域の5'にあり、該キメラプローブのヌクレオチド配列が、目的のRNA分子のヌクレオチド配列に相補的であるプローブアレイ。

【請求項39】

前記プローブアレイが、固体基材をさらに含み、前記キメラプローブが、該固体基材上に固定化されている、請求項38に記載のプローブアレイ。

【請求項40】

前記プローブアレイが、2種以上のキメラプローブを含み、各キメラプローブが、前記固体基材の異なる位置に固定化されており、各キメラプローブが、異なるヌクレオチド配列を有し、各キメラプローブが、異なるRNA分子に相補的である、請求項38または39に記載のプローブアレイ。

【請求項41】

前記キメラプローブが、安定化された核酸である、請求項38から40のいずれか一項に記載のプローブアレイ。

【請求項42】

前記RNA領域が、2'-O-メチルヌクレオチドで構成される、請求項41に記載のプローブアレイ。

【請求項43】

前記キメラプローブのうち1種または複数が、ウイルス、細菌または微生物に特徴的なヌクレオチド配列に相補的である、請求項38から42のいずれか一項に記載のプローブアレイ。

【請求項44】

前記キメラプローブのうち1種または複数が、第2のDNA領域をさらに含み、該第2のDNA領域が、前記RNA領域の3'にある、請求項43に記載のプローブアレイ。

【請求項45】

前記DNA領域および前記RNA領域が近接している、請求項44に記載のプロブアレイ。

【請求項46】

前記キメラプロブが、3'-連結基をさらに含み、該3'-連結基が、該キメラプロブの固定化を媒介する、請求項38から45のいずれか一項に記載のプロブアレイ。

【請求項47】

前記3'-連結基が、アミノ基である、請求項46に記載のプロブアレイ。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

開示される方法および組成物の追加的な利点は、一部には、以下の記載において説明され、一部には、この記載から理解され、あるいは開示される方法および組成物の実施により知ることができる。開示される方法および組成物の利点は、添付の特許請求の範囲において特に指摘される要素および組合せによって実現および達成される。前述の概要および後述の詳細な説明の両方が、単に例示的かつ説明的なものであり、請求されている発明を制約するものではないことを理解されたい。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

試料におけるRNAを検出する方法であって、

(a) 該試料およびプロブアレイを接触させるステップであって、該プロブアレイが、1種または複数のキメラプロブを含み、該キメラプロブが、DNA領域およびRNA領域を含み、該DNA領域および該RNA領域が近接しており、該DNA領域が、該RNA領域の5'にあり、該試料が、該キメラプロブのうち少なくとも1種のヌクレオチド配列と相補的なRNA分子を含有する場合、該RNA分子が、該相補的キメラプロブとハイブリダイズするステップと、

(b) 該プロブアレイとRNA/DNAハイブリッドに特異的なリボヌクレアーゼとを接触させるステップであって、該キメラプロブの該DNA領域にハイブリダイズした該RNA分子の部分が分解されるステップと、

(c) 該プロブアレイと、標識されたヌクレオチドと、DNAテンプレートを使用してRNA鎖を伸長させることができ、該RNA鎖からの伸長中に該標識されたヌクレオチドを取り込むことができる核酸ポリメラーゼとを接触させるステップであって、該ハイブリダイズしたRNA分子が伸長して、伸長した核酸鎖を形成し、少なくとも1個の標識されたヌクレオチドが、該伸長した核酸鎖に取り込まれ、該標識されたヌクレオチドのそれぞれが、第1の標識を含むステップと、

(d) 該プロブアレイおよび標識コンジュゲートを接触させることにより、該伸長した核酸鎖中の該標識されたヌクレオチドを検出するステップであって、該標識コンジュゲートが、特異的結合分子および第2の標識を含み、該特異的結合分子が、該第1の標識に結合し、該伸長した核酸鎖中の該標識されたヌクレオチドが、該第2の標識を検出することにより検出され、該第2の標識が、該プロブアレイおよび検出コンジュゲートを接触させることにより検出され、該検出コンジュゲートが、凝集化因子を含み、該凝集化因子が、該標識コンジュゲート上の検出コンジュゲートの凝集を媒介するステップとを含み、該伸長した核酸鎖中の該標識されたヌクレオチドの検出が、該試料中の該RNA分子の存在を示す方法。

(項目2)

検出コンジュゲートが、前記第2の標識と会合または結合する、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記第2の標識が、前記標識コンジュゲート上のまたは該標識コンジュゲートにおける前

記検出コンジュゲートの凝集を媒介または可能にする、項目 1 または 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記検出コンジュゲートが、シグナルを含むまたはシグナルを生じる、項目 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5)

前記検出コンジュゲートが、複数コピーの標識を含む、項目 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6)

複数の検出コンジュゲートが、前記第 2 の標識と会合または結合する、項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7)

前記検出コンジュゲートが自己凝集する、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8)

前記第 1 の標識がビオチンを含み、前記特異的結合分子がストレプトアビジンを含み、前記第 2 の標識が金を含み、前記凝集化因子が銀を含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9)

ステップ (a)、(b) および (c) が、同時に行われる、項目 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 0)

前記標識コンジュゲートが、ストレプトアビジンにコンジュゲートされた金ナノ粒子を含む、項目 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 1)

前記検出コンジュゲートが、銀ナノ粒子を含む、項目 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2)

前記リボヌクレアーゼが、R N a s e H であり、前記核酸ポリメラーゼが、D N A ポリメラーゼのクレノウ断片である、項目 1 から 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3)

前記プローブアレイが、固体基材をさらに含み、前記キメラプローブが、該固体基材上に固定化されている、項目 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4)

前記プローブアレイが、2 種以上のキメラプローブを含み、各キメラプローブが、前記固体基材の異なる位置に固定化されており、各キメラプローブが、異なるヌクレオチド配列を有し、各キメラプローブが、異なる R N A 分子に相補的であり、前記伸長した核酸鎖中の前記標識されたヌクレオチドが検出される該固体基材上の位置が、検出された R N A 分子の同一性を示す、項目 1 3 に記載の方法。

(項目 1 5)

前記キメラプローブが、安定化された核酸である、項目 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6)

前記 R N A 領域が、2 ' - O - メチルヌクレオチドで構成される、項目 1 5 に記載の方法。

(項目 1 7)

前記キメラプローブのうち 1 種または複数が、ウイルス、細菌または微生物に特徴的なヌクレオチド配列に相補的である、項目 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8)

前記キメラプローブのうち 1 種または複数が、第 2 の D N A 領域をさらに含み、前記第 2 の D N A 領域が、前記 R N A 領域の 3 ' にある、項目 1 から 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9)

前記 DNA 領域および前記 RNA 領域が近接している、項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記キメラプローブが、3' - 連結基をさらに含み、該連結基が、該キメラプローブの固定化を媒介する、項目 1 から 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 1)

前記 3' - 連結基が、アミノ基である、項目 2 0 に記載の方法。

(項目 2 2)

プローブアレイ、標識されたヌクレオチド、標識コンジュゲートおよび検出コンジュゲートを含むキットであって、

該プローブアレイが、1 種または複数のキメラプローブを含み、該キメラプローブが、DNA 領域および RNA 領域を含み、該 DNA 領域および該 RNA 領域が近接しており、該 DNA 領域が、該 RNA 領域の 5' にあり、該キメラプローブのヌクレオチド配列が、目的の RNA 分子のヌクレオチド配列に相補的であり、

該標識されたヌクレオチドのそれぞれが、第 1 の標識を含み、該標識コンジュゲートが、特異的結合分子および第 2 の標識を含み、該特異的結合分子が、該第 1 の標識に結合し、

該検出コンジュゲートが、凝集化因子を含み、該凝集化因子が、前記標識コンジュゲート上の検出コンジュゲートの凝集を媒介するキット。

(項目 2 3)

検出コンジュゲートが、前記第 2 の標識と会合または結合することができる、項目 2 2 に記載のキット。

(項目 2 4)

前記第 2 の標識が、前記標識コンジュゲート上のおよび該標識コンジュゲートにおける前記検出コンジュゲートの凝集を媒介または可能にすることができる、項目 2 2 または 2 3 に記載のキット。

(項目 2 5)

前記検出コンジュゲートが、シグナルを含むまたはシグナルを生じることができる、項目 2 2 から 2 4 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 2 6)

前記検出コンジュゲートが、複数コピーの標識を含む、項目 2 2 から 2 5 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 2 7)

複数の検出コンジュゲートが、前記第 2 の標識と会合または結合することができる、項目 2 2 から 2 6 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 2 8)

前記検出コンジュゲートが、自己凝集することができる、項目 2 2 から 2 7 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 2 9)

前記プローブアレイが、固体基材をさらに含み、前記キメラプローブが、該固体基材上に固定化されている、項目 2 2 から 2 8 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 3 0)

前記プローブアレイが、2 種以上のキメラプローブを含み、各キメラプローブが、前記固体基材の異なる位置に固定化されており、各キメラプローブが、異なるヌクレオチド配列を有し、各キメラプローブが、異なる RNA 分子に相補的である、項目 2 2 から 2 9 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 3 1)

前記キメラプローブが、安定化された核酸である、項目 2 2 から 3 0 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 3 2)

前記RNA領域が、2'-O-メチルヌクレオチドで構成される、項目31に記載のキット。

(項目33)

前記キメラプローブのうち1種または複数が、ウイルス、細菌または微生物に特徴的なヌクレオチド配列に相補的である、項目22から32のいずれか一項に記載のキット。

(項目34)

前記キメラプローブのうち1種または複数が、第2のDNA領域をさらに含み、該第2のDNA領域が、前記RNA領域の3'にある、項目33のいずれか一項に記載のキット。

(項目35)

前記DNA領域および前記RNA領域が近接している、項目34に記載のキット。

(項目36)

前記キメラプローブが、3'-連結基をさらに含み、該連結基が、該キメラプローブの固定化を媒介する、項目22から35のいずれか一項に記載のキット。

(項目37)

前記3'-連結基が、アミノ基である、項目36に記載の方法。

(項目38)

1種または複数のキメラプローブを含むプローブアレイであって、該キメラプローブが、DNA領域およびRNA領域を含み、該DNA領域および該RNA領域が近接しており、該DNA領域が、該RNA領域の5'にあり、該キメラプローブのヌクレオチド配列が、目的のRNA分子のヌクレオチド配列に相補的であるプローブアレイ。

(項目39)

前記プローブアレイが、固体基材をさらに含み、前記キメラプローブが、該固体基材上に固定化されている、項目38に記載のプローブアレイ。

(項目40)

前記プローブアレイが、2種以上のキメラプローブを含み、各キメラプローブが、前記固体基材の異なる位置に固定化されており、各キメラプローブが、異なるヌクレオチド配列を有し、各キメラプローブが、異なるRNA分子に相補的である、項目38または39に記載のプローブアレイ。

(項目41)

前記キメラプローブが、安定化された核酸である、項目38から40のいずれか一項に記載のプローブアレイ。

(項目42)

前記RNA領域が、2'-O-メチルヌクレオチドで構成される、項目41に記載のプローブアレイ。

(項目43)

前記キメラプローブのうち1種または複数が、ウイルス、細菌または微生物に特徴的なヌクレオチド配列に相補的である、項目38から42のいずれか一項に記載のプローブアレイ。

(項目44)

前記キメラプローブのうち1種または複数が、第2のDNA領域をさらに含み、該第2のDNA領域が、前記RNA領域の3'にある、項目43のいずれか一項に記載のプローブアレイ。

(項目45)

前記DNA領域および前記RNA領域が近接している、項目44に記載のプローブアレイ。

(項目46)

前記キメラプローブが、3'-連結基をさらに含み、該連結基が、該キメラプローブの固定化を媒介する、項目38から45のいずれか一項に記載のプローブアレイ。

(項目47)

前記 3' - 連結基が、アミノ基である、項目 46 に記載のプロープアレイ。