

【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28年12月8日(2016.12.8)

【公表番号】特表2016-506716(P2016-506716A)

【公表日】平成28年3月7日(2016.3.7)

【年通号数】公開・登録公報2016-014

【出願番号】特願2015-538586(P2015-538586)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/115 (2010.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/704 (2006.01)

A 6 1 K 33/24 (2006.01)

A 6 1 K 31/282 (2006.01)

A 6 1 K 47/22 (2006.01)

A 6 1 K 31/4745 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/12 (2006.01)

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 P 17/06 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 33/06 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 25/24 (2006.01)

A 6 1 P 25/18 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

A 6 1 P 21/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/18 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

C 1 2 N 11/02 (2006.01)

C 1 2 N 11/14 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N	15/00	Z N A H
G 0 1 N	33/53	M
G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 Q	1/68	A
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 K	47/34	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	31/704	
A 6 1 K	33/24	
A 6 1 K	31/282	
A 6 1 K	47/22	
A 6 1 K	31/4745	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	9/12	
A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	33/06	
A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	25/24	
A 6 1 P	25/18	
A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	39/395	N
C 1 2 N	11/02	
C 1 2 N	11/14	

【手続補正書】

【提出日】平成28年10月20日(2016.10.20)

【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】**

(a) 微小胞を含む生物学的試験試料を、微小胞に結合するように選択された複数種のオリゴヌクレオチドと接触させる工程；

(b) 工程(a)で形成された、複数種のオリゴヌクレオチドのメンバーそれぞれと生物学的試験試料中の微小胞との間の複合体の存在またはレベルを検出する工程；および

(c) 工程(b)で検出された存在またはレベルを参照レベルと比較する工程であって、それによって癌を特徴決定する、工程を含む、癌を特徴決定する方法。

【請求項 2】

複数種のオリゴヌクレオチドが、少なくとも一段階のポジティブ選択および/またはネガティブ選択を通して事前に選択されており、ポジティブ選択が、試験試料に比べて実質的に類似した特徴を有する試料に対するオリゴヌクレオチドの選択を含み、かつネガティブ選択が、試験試料に比べて実質的に異なる特徴を有する試料に対するオリゴヌクレオチドの選択を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

工程(a)が複数種のオリゴヌクレオチドのメンバーの同定を含み、該同定がハイスループット配列決定、増幅またはハイブリダイゼーションによって実施される、請求項1または2記載の方法。

【請求項 4】

生物学的試験試料が、癌を有することが疑われる、または癌の素因を有する対象由来である、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項 5】

生物学的試験試料が、組織試料、細胞培養物、または生物学的流体を含む、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6】

生物学的流体が体液を含み、任意で該体液が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膈分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胚盤胞腔液、または臍帯血を含む、請求項5記載の方法。

【請求項 7】

生物学的試験試料を、微小胞の単離前に複数種のオリゴヌクレオチドと接触させる、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

生物学的試験試料が、単離された微小胞を含む、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

複数種のオリゴヌクレオチドの少なくとも1種のメンバーがポリペプチドまたはその断片に結合し、任意で該ポリペプチドまたはその断片が可溶性であるか膜結合性であり、かつ任意で該ポリペプチドまたはその断片が表3または表4のバイオマーカーを含む、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

複数種のオリゴヌクレオチドの少なくとも1種のメンバーが、微小胞表面抗原に結合する、請求項1～9のいずれか一項記載の方法。

【請求項 11】

癌が、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹神経膠腫；脳腫瘍（脳幹神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブド

イド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、髄上皮腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む)；乳癌；気管支腫瘍；パーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性疾患；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌膵島細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；鼻腔神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍(GIST)；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；膵島腫瘍；カボジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；髄上皮腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜肺芽腫；原発性中枢神経系(CNS)リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞(腎臓)癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽喉癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂尿管移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含む、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

複数種のオリゴヌクレオチドが少なくとも5種のオリゴヌクレオチドを含み、任意で複数種のオリゴヌクレオチドが少なくとも10種または少なくとも20種のオリゴヌクレオチドを含む、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

微小胞が、クロマトグラフィー法、ろ過法、限外ろ過法、遠心分離法、超遠心分離法、フローサイトメトリー法、アフィニティー捕捉法、および/またはマイクロ流体工学を使用して単離される、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

参照と比較した、微小胞との複合体を形成した複数種のオリゴヌクレオチドのいくつかまたは全ての存在またはレベルの変化が、試料が癌性であることまたは癌性の素因を有することを示す、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0110

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0110】

本発明はさらに、本発明の方法を実施するための1種または複数種の試薬のキットおよび使用を提供する。1種または複数種の試薬は、非限定的にアプタマーライブラリー、基体、たとえばマイクロビーズまたは平面アレイもしくはウェル、バイオマーカーおよび/または微小胞単離のための試薬、特定の標的に対するアプタマー、バイオマーカー/微小胞集団の検出を容易にするアプタマープール、試薬、たとえば核酸配列決定または増幅のためのプライマー、核酸ハイブリダイゼーションのためのアレイ、検出可能な標識、溶媒またはバッファなど、様々なリンカー、様々なアッセイ構成要素、ブロッカーなどを含む

、主題の方法を実施するための任意の有用な試薬を含み得る。1種または複数種の試薬はまた、本発明によって提供される様々な組成物を含んでもよい。

[本発明1001]

(a) 表18に記載される、SEQ ID NO: 230900 ~ 230903、230908、230913 ~ 230927、もしくは任意の上記配列の可変配列；または (b) 任意の上記配列の機能的断片のいずれかと、少なくとも50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99、または100パーセント相同である核酸配列を含む、微小胞に結合するアプタマー。

[本発明1002]

SEQ ID NO: 230900 ~ 230903、230908、230913 ~ 230927、またはそれらの機能的断片のいずれかを含む、本発明1001のアプタマー。

[本発明1003]

前記機能的断片が、表18に示される「可変配列」領域を含む、前記本発明のいずれかのアプタマー。

[本発明1004]

微小胞が前立腺癌細胞から流出したものである、前記本発明のいずれかのアプタマー。

[本発明1005]

(a) 表23に記載される、SEQ ID NO: 231018 ~ 231031もしくはそれらの可変配列；(b) 表24に記載される、SEQ ID NO: 231032 ~ 231051もしくはそれらの可変配列；(c) SEQ ID NO: 231032 ~ 241535；または (d) 任意の上記配列の機能的断片のいずれかと、少なくとも50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99、または100パーセント相同である核酸配列を含む、微小胞に結合するアプタマー。

[本発明1006]

SEQ ID NO: 231018 ~ 231031またはそれらの機能的断片のいずれかを含む、本発明1005のアプタマー。

[本発明1007]

SEQ ID NO: 231032 ~ 231051またはそれらの機能的断片のいずれかを含む、本発明1005のアプタマー。

[本発明1008]

前記機能的断片が、表23 ~ 24のいずれかに示される「可変配列」領域を含む、本発明1005 ~ 1007のいずれかのアプタマー。

[本発明1009]

微小胞が乳癌細胞から流出したものである、本発明1005 ~ 1008のいずれかのアプタマー。

[本発明1010]

(a) SEQ ID NO: 1 ~ 230810；(b) 表11、12、13、15に記載される、SEQ ID NO: 230822 ~ 230899、230904 ~ 230907、230909 ~ 230911、もしくは任意のそれらの可変配列；または (c) 任意の上記配列の機能的断片のいずれかと、少なくとも50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99、または100パーセント相同である核酸配列を含む、上皮細胞接着分子 (EpCAM) タンパク質に結合するアプタマー。

[本発明1011]

アプタマー4 (SEQ ID NO: 1)、オリゴ6 (SEQ ID NO: 230810)、オリゴ4B (SEQ ID NO: 183132)、CAR003 (SEQ ID NO: 230822またはSEQ ID NO: 230823)、CAR016 (SEQ ID NO: 230840)、またはそれらの機能的断片のいずれかを含む、本発明1010のアプタマー。

[本発明1012]

表5、6、7、8、11、12、13、15、16、またはそれらの機能的断片のいずれかに由来する、本発明1010のアプタマー。

[本発明1013]

前記機能的断片が、表11、12、13、15のいずれかに示される「可変配列」領域、またはそれらの機能的断片を含む、本発明1010 ~ 1012のいずれかのアプタマー。

[本発明1014]

インビトロでのEpCAMシグナル伝達を調節する、本発明1010～1013のいずれかのアプタマー。

[本発明1015]

(a) 表20に記載される、SEQ ID NO: 230932～230935もしくはそれらの可変配列；または(b) 任意の上記配列の機能的断片のいずれかと、少なくとも50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99、または100パーセント相同である核酸配列を含む、前立腺特異的膜抗原(PSMA)タンパク質に結合するアプタマー。

[本発明1016]

少なくとも1つの化学修飾を含むようにさらに改変されている、前記本発明のいずれかのアプタマー。

[本発明1017]

前記修飾が、核酸の、糖位置での化学的置換；リン酸位置での化学的置換；および塩基位置での化学的置換からなる群より選択される、本発明1016のアプタマー。

[本発明1018]

前記修飾が、ビオチン化、蛍光標識の取り込み、修飾ヌクレオチドの取り込み、3'キャッピング、アミンリンカーへの結合、高分子量の非免疫原性化合物への結合、親油性化合物への結合、薬物への結合、細胞傷害性部分への結合、および放射性同位体を用いた標識からなる群より選択される、本発明1016のアプタマー。

[本発明1019]

ビオチン化、蛍光標識、または細胞傷害性部分が、前記アプタマーの5'末端に結合している、本発明1018のアプタマー。

[本発明1020]

ビオチン化、蛍光標識、または細胞傷害性部分が、前記アプタマーの3'末端に結合している、本発明1018のアプタマー。

[本発明1021]

細胞傷害性部分がナノ粒子中に封入されている、本発明1018のアプタマー。

[本発明1022]

ナノ粒子が、リポソーム、デンドリマー、および樹形ポリマーからなる群より選択される、本発明1021のアプタマー。

[本発明1023]

細胞傷害性部分が小分子の細胞傷害性部分を含む、本発明1018のアプタマー。

[本発明1024]

小分子の細胞傷害性部分が、ビンブラスチンヒドラジド、カリチアマイシン、ビンカルカロイド、クリプトフィシン、ツブリシン、ドラスタチン-10、ドラスタチン-15、アウリスタチンE、リゾキシシン、エポチロンB、エポチロンD、タキソイド、メイタンシノイド、ならびにそれらの任意のパリアントおよび誘導体からなる群より選択される、本発明1023のアプタマー。

[本発明1025]

放射性同位体が、イットリウム-90、インジウム-111、ヨウ素-131、ルテチウム-177、銅-67、レニウム-186、レニウム-188、ビスマス-212、ビスマス-213、アスタチン-211、およびアクチニウム-225からなる群より選択される、本発明1018のアプタマー。

[本発明1026]

細胞傷害性部分がタンパク毒素である、本発明1018のアプタマー。

[本発明1027]

タンパク毒素が、ジフテリア毒素、リシン、アブリン、ゲロニン、およびシュードモナス外毒素Aからなる群より選択される、本発明1026のアプタマー。

[本発明1028]

非免疫原性の高分子量化合物がポリアルキレングリコールである、本発明1018のアプタマー。

[本発明1029]

ポリアルキレングリコールがポリエチレングリコールである、本発明1028のアプタマー

。

[本発明1030]

線放出放射性同位体によって標識されている、本発明1016のアプタマー。

[本発明1031]

活性物質が前記アプタマーに結合している、本発明1016のアプタマー。

[本発明1032]

活性物質が治療物質または診断物質を含む、本発明1031のアプタマー。

[本発明1033]

治療物質または診断物質が、チロシンキナーゼ阻害剤、キナーゼ阻害剤、生物学的活性物質、生物学的分子、放射性核種、アドリマイシン、アンサマイシン系抗生物質、アスパラギナーゼ、ブレオマイシン、ブスルファン、シスプラチン、カルボプラチン、カルムスチン、カペシタビン、クロラムブチル、シタラビン、シクロホスファミド、カンプトセシン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキソルビシン、エトポシド、エポチロン、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、イダルビシン、イホスファミド、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルカプトプリン、メルファラン、メトトレキサート、ラパマイシン(シロリムス)、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、ニトロソ尿素、パクリタクセル、パミドロナート、ペントスタチン、プリカマイシン、プロカルバジン、リツキシマブ、ストレプトゾシン、テニポシド、チオグアニン、チオテパ、タキサン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビノレルビン、タキソール、コンブレタスタチン、ディスコデルモリド、トランスプラチナ(transplatinum)、抗血管内皮成長因子化合物(「抗VEGF」)、抗上皮細胞成長因子受容体化合物(「抗EGFR」)、5-フルオロウラシルおよび誘導体、放射性核種、ポリペプチド毒素、アポトーシス誘導物質、治療増感物質、酵素またはその活性断片、ならびにこれらの組み合わせからなる群より選択される治療物質である、本発明1031～1032のいずれかの方法。

[本発明1034]

治療的有効量の本発明1001～1033のいずれかのアプタマーまたはその塩、および薬学的に許容される担体または希釈剤を含む、薬学的組成物。

[本発明1035]

それを必要とする対象に本発明1034の組成物を投与する工程を含む、疾患または障害を治療するかまたは寛解させる方法。

[本発明1036]

対象に治療的有効量の前記組成物を投与する工程が以下をもたらず、本発明1035の方法

：

(a) 活性物質単独の送達と比較した、疾患部位への活性物質の送達の増大；または(b) 微小胞クリアランスの増大による、アプタマーの標的となる微小胞の血中濃度の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、もしくは90%の低下；または(c) 該アプタマーの標的となる微小胞の生物活性の、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、もしくは90%の低下。

[本発明1037]

微小胞の生物活性が、免疫抑制または遺伝情報の伝達を含む、本発明1036の方法。

[本発明1038]

疾患または障害が、新生物性の、増殖性の、または炎症性の疾患または障害を含む、本発明1035～1037のいずれかの方法。

[本発明1039]

治療的有効量の本発明1026のアプタマーまたはその塩、および薬学的に許容される担体または希釈剤を含む、薬学的組成物。

[本発明1040]

前記本発明のいずれかのアプタマーまたはその薬学的組成物を含む、キット。

[本発明1041]

本発明1001～1033のいずれかのアプタマーを生物学的試料と接触させる工程および該生物学的試料中の微小胞に対する該アプタマーの結合の有無を検出する工程を含む、方法。

[本発明1042]

生物学的試料が血液または血液成分を含む、本発明1041の方法。

[本発明1043]

アプタマーが、生物学的試料と接触させる工程の前に基体に結合している、本発明1041の方法。

[本発明1044]

基体がビーズを含む、本発明1043の方法。

[本発明1045]

アプタマーが、検出可能な標識に結合している、本発明1041の方法。

[本発明1046]

微小胞集団を含有することが疑われる生物学的試料中の該微小胞集団の存在またはレベルを検出する方法であって、該生物学的試料を、微小胞集団に特異的な1種または複数種の結合物質および本発明1001～1033のいずれかの1種または複数種のアプタマーと接触させる工程、ならびに、該1種または複数種の結合物質および該1種または複数種のアプタマーの両方によって認識された微小胞を検出する工程であって、それによって該生物学的試料中の該微小胞集団の存在またはレベルを検出する、工程を含む、方法。

[本発明1047]

生物学的試料が、組織試料、細胞培養物、または体液を含む、本発明1046の方法。

[本発明1048]

体液が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液（CSF）、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、体毛、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膺分泌液、粘膜分泌液、水便、脾液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胚盤胞腔液、または臍帯血を含む、本発明1047の方法。

[本発明1049]

体液が、血液、血清、または血漿を含む、本発明1047の方法。

[本発明1050]

1種または複数種の結合物質が、表3、表4、およびそれらの組み合わせから選択される微小胞表面抗原に対する抗体またはアプタマーを含む、本発明1046の方法。

[本発明1051]

1種または複数種の結合物質が、表26中の標的から選択される微小胞表面抗原に対する抗体またはアプタマーを含む、本発明1046の方法。

[本発明1052]

1種または複数種の結合物質が、EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAP、KLK2、SSX2、SSX4、PBP、SPDEF、EGFR、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される微小胞表面抗原に対する抗体またはアプタマーを含む、本発明1046の方法。

[本発明1053]

1種または複数種の結合物質が、EGFR、PBP、EpCAM、KLK2、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される微小胞表面抗原に対する抗体またはアプタマーを含む、本発明1046の方法。

[本発明1054]

1種または複数種の結合物質が、生物学的試料と接触させる工程の前に基体に結合している、本発明1046の方法。

[本発明1055]

1種または複数種のアプタマーが、検出可能な標識に結合している、本発明1054の方法

。

[本発明1056]

1種または複数種の結合物質が、検出可能な標識に結合している、本発明1046の方法。

[本発明1057]

1種または複数種のアプタマーが、生物学的試料と接触させる工程の前に基体に結合している、本発明1056の方法。

[本発明1058]

1種または複数種のアプタマーが、生物学的試料と接触させる工程の前に基体に結合している、本発明1046の方法。

[本発明1059]

1種または複数種のアプタマーが、検出可能な標識に結合している、本発明1046の方法

。

[本発明1060]

生物学的試料中の微小胞集団の存在またはレベルを検出する工程が、疾患の診断、予後判定、またはセラノーシス (theranosis) を提供する、本発明1046～1059のいずれかの方法。

[本発明1061]

疾患が癌を含む、本発明1060の方法。

[本発明1062]

癌が、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫瘍/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹神経膠腫；脳腫瘍（脳幹神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫瘍/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、髄上皮腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；パーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫瘍/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性疾患；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌膵島細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；鼻腔神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍 (GIST)；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；膵島腫瘍；カボジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；髄上皮腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜肺芽腫；原発性中枢神経系 (CNS) リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞 (腎臓) 癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽喉癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂尿管移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含む、本発明1061の方法。

[本発明1063]

癌が前立腺癌を含む、本発明1061の方法。

[本発明1064]

癌が乳癌を含む、本発明1061の方法。

[本発明1065]

(a) 生物学的試験試料を、本発明1001～1033のいずれかの1種または複数種のアプタマーと接触させる工程；

(b) 工程(a)で形成された、該生物学的試験試料における1種または複数種のアプタマーと該1種または複数種のアプタマーに結合された標的との間の複合体の存在またはレベルを検出する工程；および

(c) 工程(b)で検出された存在またはレベルを、生物学的対照試料に由来する参照レベルと比較する工程であって、それによって疾患または障害を特徴決定する、工程を含む、疾患または障害を特徴決定する方法。

[本発明1066]

生物学的試験試料および生物学的対照試料がそれぞれ、組織試料、細胞培養物、または生物学的流体を含む、本発明1065の方法。

[本発明1067]

生物学的流体が体液を含む、本発明1066の方法。

[本発明1068]

体液が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、体毛、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膺分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胚盤胞腔液、または臍帯血を含む、本発明1067の方法。

[本発明1069]

体液が、血液、血清、または血漿を含む、本発明1067の方法。

[本発明1070]

生物学的流体が微小胞を含む、本発明1066の方法。

[本発明1071]

1種または複数種のアプタマーがポリペプチドまたはその断片に結合する、本発明1065の方法。

[本発明1072]

ポリペプチドまたはその断片が可溶性であるか膜結合性である、本発明1065の方法。

[本発明1073]

ポリペプチドまたはその断片が表3または表4のバイオマーカーを含む、本発明1065の方法。

[本発明1074]

1種または複数種のアプタマーが、生物学的試料中の微小胞表面抗原に結合する、本発明1065または1070の方法。

[本発明1075]

特徴決定が、疾患または障害の診断、予後判定、またはセラノーシスを含む、本発明1065～1074のいずれかの方法。

[本発明1076]

疾患または障害が、癌、前癌状態、炎症性疾患、免疫疾患、自己免疫疾患もしくは障害、心血管疾患もしくは障害、神経疾患もしくは障害、感染症、および/または疼痛を含む、本発明1075の方法。

[本発明1077]

疾患または障害が癌を含む、本発明1075の方法。

[本発明1078]

癌が、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹神経膠腫；脳腫瘍（脳幹神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブド

イド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、髄上皮種、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；パーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性疾患；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌膵島細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；鼻腔神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍（GIST）；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；膵島腫瘍；カボジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；髄上皮種；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜肺芽腫；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽喉癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂尿管移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含む、本発明1077の方法。

[本発明1079]

癌が前立腺癌を含む、本発明1077の方法。

[本発明1080]

癌が乳癌を含む、本発明1077の方法。

[本発明1081]

本発明1041～1080のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキット。

[本発明1082]

本発明1041～1080のいずれかの方法を実施するための試薬の使用。

[本発明1083]

試薬が本発明1001～1033のいずれかのアダマーを含む、本発明1081のキットまたは本発明1082の使用。

[本発明1084]

生物学的試料中に存在する複数の標的に結合することが可能な、SEQ ID NO: 1～230810、230811～230899、230900～230927、または231018～241535から選択される複数種のオリゴヌクレオチドを含む、組成物。

[本発明1085]

SEQ ID NO: 1～230810、230811～230899、230900～230927、または231018～241535から選択されるオリゴヌクレオチドを含む、組成物。

[本発明1086]

SEQ ID NO: 231018～241535に列挙されるオリゴヌクレオチドの少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000個、または全てを含む、本発明1084または1085の組成物。

[本発明1087]

SEQ ID NO: 1 ~ 230810に列挙されるオリゴヌクレオチドの少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000個、または全てを含む、本発明1084または1085の組成物。

[本発明1088]

生物学的試料中に存在する複数の標的に結合することが可能な、表23~24のいずれかに記載される1種または複数種のオリゴヌクレオチドを含む、組成物。

[本発明1089]

表23~24のいずれかに列挙される1種または複数種のオリゴヌクレオチドを含む、組成物。

[本発明1090]

表23または表24に列挙される1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20種のオリゴヌクレオチドを含む、本発明1088または1089の組成物。

[本発明1091]

微小胞試料を、該微小胞試料中に存在する1種または複数種の標的に結合することが可能な複数種のオリゴヌクレオチドと接触させる工程、該試料の状態を特徴決定することが事前に確認されている、該試料との複合体を形成するオリゴヌクレオチドセットを特定する工程であって、それによって試料の状態を特徴決定する、工程を含む、試験試料の状態を特徴決定するための方法。

[本発明1092]

(a) 微小胞試料を複数種のオリゴヌクレオチドと接触させ、該微小胞試料との複合体を形成するオリゴヌクレオチドのセットを単離する工程、

(b) 工程(a)で微小胞試料との複合体を形成したオリゴヌクレオチドそれぞれの配列および/またはコピー数を決定する工程であって、それによって試験試料に結合したオリゴヌクレオチドのセットを特定する、工程
を含む、試験試料に結合したオリゴヌクレオチドのセットを特定するための方法。

[本発明1093]

微小胞試料を、非癌試料に由来する微小胞と比較して癌試料に由来する微小胞との複合体を優先的に形成することが事前に確認されている複数種のオリゴヌクレオチドと接触させる工程を含む、癌性であるとしてまたは癌性になりやすいとして試料を診断する方法。

[本発明1094]

特定する工程が、全てもしくは一部のオリゴヌクレオチドの配列決定、全てもしくは一部のオリゴヌクレオチドの増幅、および/またはアレイに対する全てもしくは一部のオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションを実施することを含む、本発明1091の方法。

[本発明1095]

一段階または複数段階のポジティブ選択またはネガティブ選択を通して複数種のオリゴヌクレオチドが事前に選択され、ポジティブ選択が、試験試料と比較して実質的に類似した特徴を有する試料に対するオリゴヌクレオチドの選択を含み、ネガティブ選択が、試験試料と比較して実質的に異なる特徴を有する試料に対するオリゴヌクレオチドの選択を含む、本発明1092または1093の方法。

[本発明1096]

工程(b)が、ハイスループット配列決定、増幅、またはアレイに対するハイブリダイゼーションを実施することを含む、本発明1092の方法。

[本発明1097]

試料が、癌を有することまたは有しやすいことが疑われる対象に由来する、本発明1092の方法。

[本発明1098]

(a) 生物学的試験試料を複数種のオリゴヌクレオチドと接触させる工程；

(b) 工程(a)で形成された、複数種のオリゴヌクレオチドのメンバーそれぞれと生物

学的試験試料との間の複合体の存在またはレベルを検出する工程；および

(c) 工程(b)で検出された存在またはレベルを参照レベルと比較する工程であって、それによって疾患または障害を特徴決定する、工程を含む、疾患または障害を特徴決定する方法。

[本発明1099]

生物学的試験試料および生物学的対照試料がそれぞれ、組織試料、細胞培養物、または生物学的流体を含む、本発明1098の方法。

[本発明1100]

生物学的流体が体液を含む、本発明1099の方法。

[本発明1101]

体液が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、体毛、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膺分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胚盤胞腔液、または臍帯血を含む、本発明1100の方法。

[本発明1102]

体液が、血液、血清、または血漿を含む、本発明1100の方法。

[本発明1103]

生物学的流体が微小胞を含む、本発明1099の方法。

[本発明1104]

生物学的試験試料を、微小胞の単離前に複数種のオリゴヌクレオチドと接触させる、本発明1103の方法。

[本発明1105]

生物学的試験試料が、単離された微小胞を含む、本発明1103の方法。

[本発明1106]

1種または複数種のアプタマーがポリペプチドまたはその断片に結合する、本発明1098の方法。

[本発明1107]

ポリペプチドまたはその断片が可溶性であるか膜結合性である、本発明1098の方法。

[本発明1108]

ポリペプチドまたはその断片が表3または表4のバイオマーカーを含む、本発明1098の方法。

[本発明1109]

1種または複数種のアプタマーが、生物学的試料中の微小胞表面抗原に結合する、本発明1098または1108の方法。

[本発明1110]

特徴決定が、疾患または障害の診断、予後判定、またはセラノーシスを含む、本発明1098～1109のいずれかの方法。

[本発明1111]

疾患または障害が、癌、前癌状態、炎症性疾患、免疫疾患、自己免疫疾患もしくは障害、心血管疾患もしくは障害、神経疾患もしくは障害、感染症、または疼痛を含む、本発明1110の方法。

[本発明1112]

状態が疾患または障害である、本発明1091の方法。

[本発明1113]

状態が、癌、前癌状態、炎症性疾患、免疫疾患、自己免疫疾患もしくは障害、心血管疾患もしくは障害、神経疾患もしくは障害、感染症、および/または疼痛を含む、本発明1091の方法。

[本発明1114]

複数種のオリゴヌクレオチドが、正常細胞から流出した微小胞よりも、罹患細胞から流出した微小胞に優先的に結合することが可能である、本発明1092の方法。

[本発明1115]

罹患細胞が、癌、前癌状態、炎症性疾患、免疫疾患、自己免疫疾患もしくは障害、心血管疾患もしくは障害、神経疾患もしくは障害、感染症、または疼痛に関連する、本発明1114の方法。

[本発明1116]

癌が、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹神経膠腫；脳腫瘍（脳幹神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、髄上皮腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；パーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性疾患；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌膵島細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；鼻腔神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍（GIST）；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；膵島腫瘍；カボジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；髄上皮腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜肺芽腫；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽喉癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂尿管移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含む、本発明1097、1111、1113、または1115の方法。

[本発明1117]

前癌状態がバレット食道を含む、本発明1111、1113、または1115の方法。

[本発明1118]

自己免疫疾患が、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病（CD）、潰瘍性大腸炎（UC）、骨盤炎症、血管炎、乾癬、糖尿病、自己免疫性肝炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I型糖尿病、関節リウマチ、乾癬、全身性エリテマトーデス（SLE）、橋本甲状腺炎、グレーブズ病、強直性脊椎炎、シェーグレン病、CREST症候群、強皮症、リウマチ性疾患、臓器拒絶反応、原発性硬化性胆管炎、または敗血症を含む、本発明1111、1113、または1115の方法。

[本発明1119]

心血管疾患が、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、不安定ブランク、脳卒中、虚血、高血圧症、狭窄症、血管閉塞、または血栓性事象を含む、本発明1111、1113、または1115の方法。

[本発明1120]

神経疾患が、多発性硬化症（MS）、パーキンソン病（PD）、アルツハイマー病（AD）、

統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉症、プリオン病、ピック病、認知症、ハンチントン病（HD）、ダウン症候群、脳血管疾患、ラズムッセン脳炎、ウイルス性髄膜炎、神経精神全身性エリテマトーデス（NPSLE）、筋萎縮性側索硬化症、クロイツフェルト-ヤコブ病、ゲルストマン-ストロイスラー-シャインカー病、伝達性海綿状脳症、虚血再灌流傷害（例えば脳卒中）、脳損傷、微生物感染、または慢性疲労症候群を含む、本発明1111、1113、または1115の方法。

[本発明1121]

疼痛が、線維筋痛症、慢性神経因性疼痛、または末梢性神経因性疼痛を含む、本発明1111、1113、または1115の方法。

[本発明1122]

感染症が、細菌感染、ウイルス感染、酵母菌感染、ウィップル病、プリオン病、肝硬変、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、HIV、HCV、肝炎、梅毒、髄膜炎、マラリア、結核、インフルエンザを含む、本発明1111、1113、または1115の方法。

[本発明1123]

複数種のオリゴヌクレオチドが本発明1084～1090のいずれかの組成物を含む、本発明1091～1122のいずれかの方法。

[本発明1124]

（a）微小胞試料を用いて、複数種のオリゴヌクレオチドの少なくとも1回の（i）ネガティブ選択または（ii）1回のポジティブ選択を実施する工程；

（b）複数種のオリゴヌクレオチドのネガティブ結合物質サブセットまたはポジティブ結合物質サブセットを提供するために、オリゴヌクレオチドのセットを取得する工程であって、複数種のオリゴヌクレオチドのネガティブ結合物質サブセットが微小胞試料に結合せず、かつ複数種のオリゴヌクレオチドのポジティブ結合物質サブセットが微小胞試料に結合する、工程；

（c）ネガティブ結合物質サブセットまたはポジティブ結合物質サブセットを試験試料と接触させる工程；

（d）複数種の溶離オリゴヌクレオチドを提供するために、該試験試料に結合したオリゴヌクレオチドを溶離する工程；および

（e）該複数種の溶離オリゴヌクレオチドのメンバーの配列および/またはコピー数を特定するために、該複数種の溶離オリゴヌクレオチドのハイスループット配列決定を実施する工程

を含む、ハイスループット配列決定を実施する方法。

[本発明1125]

（a）標的試料との複合体を形成することが事前に確認されているオリゴヌクレオチドのセットを提供するために、試料用の複数種のオリゴヌクレオチドを富化する工程；

（b）オリゴヌクレオチドと試験試料との複合体を形成させるために、工程（a）の複数種を試験試料と接触させる工程；

（c）オリゴヌクレオチドの回収されたサブセットを提供するために、工程（b）で複合体を形成したオリゴヌクレオチドを回収する工程；および

（d）ハイスループット配列決定、増幅、またはハイブリダイゼーションによって、該オリゴヌクレオチドの回収されたサブセットのプロファイリングを行う工程であって、それによって試験試料に特異的なオリゴヌクレオチドを特定する、工程

を含む、試験試料に特異的なオリゴヌクレオチドを特定するための方法。

[本発明1126]

試験試料が複数種の微小胞を含む、本発明1125の方法。

[本発明1127]

オリゴヌクレオチドが、RNA、DNA、または両方を含む、本発明1125の方法。

[本発明1128]

少なくとも90%の配列同一性を含むオリゴヌクレオチドのサブセットを特定するためにインフォマティクス解析を実施する工程をさらに含む、本発明1125の方法。

[本 発 明 1129]

本発明1091～1128のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキット。

[本 発 明 1130]

本発明1091～1080のいずれかの方法を実施するための試薬の使用。

[本 発 明 1131]

試薬が本発明1084～1090のいずれかのアダマーを含む、本発明1129のキットまたは本発明1130の使用。

[本 発 明 1132]

生物学的試験試料をアダマー分子のプールと接触させる工程、該プールを対照生物学的試料または参照生物学的試料に接触させる工程、該試験試料中の成分に結合するが対照試料にも参照試料にも結合しない1種または複数種のアダマーを特定する工程であって、それによって生物学的試験試料についてのアダマープロファイルを特定する、工程を含む、生物学的試料についての標的特異的アダマープロファイルを特定する方法。

[本 発 明 1133]

(a) 生物学的対照試料をオリゴヌクレオチドのプールと接触させる工程；

(b) 該生物学的対照試料に結合しない、該オリゴヌクレオチドのプールの第1のサブセットを単離する工程；

(c) 生物学的試験試料を、該オリゴヌクレオチドのプールの第1のサブセットと接触させる工程；および

(d) 該生物学的試験試料に結合する、該オリゴヌクレオチドのプールの第2のサブセットを単離する工程であって、それによってアダマーのプールを選択する、工程を含む、アダマーのプールを選択する方法。

[本 発 明 1134]

オリゴヌクレオチドのプールが少なくとも 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 、 10^{14} 、 10^{15} 、 10^{16} 、 10^{17} 、または少なくとも 10^{18} 種類のオリゴヌクレオチドを含む、本発明1133の方法。

[本 発 明 1135]

工程(a)～(d)が少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19回、または少なくとも20回繰り返され、各反復において、工程(d)で選択されたアダマーのプールが工程(a)でのオリゴヌクレオチドのプールとして使用される、本発明1133の方法。

[本 発 明 1136]

生物学的試験試料および生物学的対照試料が微小胞を含む、本発明1133の方法。

[本 発 明 1137]

生物学的試験試料および任意で生物学的対照試料が体液を含む、本発明1133の方法。

[本 発 明 1138]

体液が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髓、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液、尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、体毛、涙液、囊胞液、胸膜液、腹膜液、悪性体液(malignant fluid)、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膺分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、または他の洗浄液を含む、本発明1137の方法。

[本 発 明 1139]

生物学的試験試料および任意で生物学的対照試料が細胞培地を含む、本発明1133の方法。

[本 発 明 1140]

生物学的試験試料が罹患試料を含み、かつ生物学的対照試料が非罹患試料を含む、本発明1133の方法。

[本 発 明 1141]

(a) アダマーのプールを第1の試料由来の微小胞の集団に接触させる工程；

(b) 第1の試料由来の微小胞の集団に対する親和性を示すアプタマーのサブプールを富化する工程；

(c) 該サブプールを第2の試料由来の微小胞の第2の集団に接触させる工程；および

(d) 第2の試料由来の微小胞の第2の集団に対する親和性を示すアプタマーの第2のサブプールを枯渇させる工程であって、それによって第1の試料由来の微小胞の集団に対する優先的親和性を有するアプタマーの群を選択する、工程を含む、アプタマーの群を選択する方法。

[本発明1142]

第1の試料および/または第2の試料が生物学的流体を含み、任意で、該生物学的流体が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液（CSF）、痰、唾液、骨髓、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液、尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、体毛、涙液、囊胞液、胸膜液、腹膜液、悪性体液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膺分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、または他の洗浄液を含む、本発明1141の方法。

[本発明1143]

第1の試料および/または第2の試料それぞれが、プールされた試料を含む、本発明1141の方法。

[本発明1144]

工程（a）～（d）が少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20回繰り返され、各反復において、工程（d）で選択されたアプタマーの群が工程（a）でのアプタマーのプールとして使用される、本発明1141の方法。

[本発明1145]

第1の試料および/または第2の試料が、工程（a）～（d）の繰り返しの前に別の試料と置き換えられる、本発明1141の方法。

[本発明1146]

選択されたアプタマーの群のメンバーを特定する工程をさらに含み、任意で、該特定する工程がハイスループット配列決定によって実施される、本発明1141の方法。

[本発明1147]

第1の試料が罹患試料を含み、かつ第2の試料が対照試料を含み、任意で、該対照試料が非罹患試料である、本発明1141の方法。

[本発明1148]

（a）アプタマー候補のプールを、標的分子を含む試料に接触させる工程；

（b）結合していないアプタマー候補を取り除く工程；

（c）該試料を、該標的分子に対するリガンドと接触させる工程；および

（d）該リガンドとの競合によって該標的分子から分離したアプタマー候補を単離する工程であって、それによって該リガンドと同じ標的に結合するアプタマーの群を選択する、工程を含む、アプタマーの群を選択する方法。

[本発明1149]

標的分子がタンパク質を含む、本発明1148の方法。

[本発明1150]

タンパク質が微小胞表面抗原である、本発明1149の方法。

[本発明1151]

標的分子が基体につながれている、本発明1148の方法。

[本発明1152]

標的分子が微小胞の表面抗原であり、かつ該微小胞が基体につながれている、本発明1148の方法。

[本発明1153]

リガンドが小分子またはタンパク質を含む、本発明1148の方法。

[本発明1154]

リガンドが抗体を含む、本発明1153の方法。

[本発明1155]

工程(a)～(d)が少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20回繰り返され、各反復において、工程(d)で単離されたアプタマー候補が工程(a)に投入されるアプタマー候補のプールとして使用される、本発明1148の方法。

[本発明1156]

選択されたアプタマーの群のメンバーを特定する工程をさらに含み、任意で、該特定する工程がハイスループット配列決定によって実施される、本発明1148の方法。

[本発明1157]

第1の試料が罹患試料を含み、かつ第2の試料が対照試料を含み、任意で、該対照試料が非罹患試料である、本発明1148の方法。

[本発明1158]

関心対象の標的に結合する1種または複数種のアプタマーを選択する方法であって、
(a) 標的枯渇生物学的試料を形成するために、標的を第1の生物学的試料から分離する工程；

(b) 分離した標的を基体につなげる工程；

(c) つながれた標的を、干渉生物学的試料と混合する工程；

(d) (c)からの混合物を出発アプタマーライブラリーと接触させる工程；および

(e) 該つながれた標的に優先的に結合するアプタマーライブラリーのメンバーを回収する工程であって、それによって、該標的に結合する1種または複数種のアプタマーを選択する、工程を含む、方法。

[本発明1159]

基体がビーズまたは平面を含む、本発明1158の方法。

[本発明1160]

干渉生物学的試料が、(a)からの標的枯渇生物学的試料を含む、本発明1158の方法。

[本発明1161]

標的が微小胞を含む、本発明1158の方法。

[本発明1162]

標的が関心対象の微小胞を含み、干渉生物学的試料が非標的微小胞を含む、本発明1158の方法。

[本発明1163]

工程(c)の前に、非標的微小胞が、標的微小胞と異なる基体につながれている、本発明1158の方法。

[本発明1164]

基体が磁気ビーズを含み、かつ異なる基体が非磁気ビーズを含むか、または基体が非磁気ビーズを含み、かつ異なる基体が磁気ビーズを含む、本発明1158の方法。

[本発明1165]

第1の生物学的試料および/または干渉生物学的試料が体液を含み、任意で、生物学的流体が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髓、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液、尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、体毛、涙液、囊胞液、胸膜液、腹膜液、悪性体液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膺分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、または他の洗浄液を含む、本発明1158の方法。

[本発明1166]

第1の生物学的試料が罹患試料を含み、かつ干渉生物学的試料が非罹患試料を含む、本

発明1158の方法。

[本発明1167]

第1の生物学的試料が非罹患試料を含み、かつ干渉生物学的試料が罹患試料を含む、本発明1158の方法。

[本発明1168]

(a) 参照微小胞集団を、1種または複数種の微小胞表面マーカーに結合することが可能な複数種のリガンドと接触させる工程；

(b) 該参照微小胞集団に対する親和性を有しない複数種のリガンドのサブセットを含む複数種の参照リガンドを単離する工程；

(c) 1種または複数種の試験微小胞を、該複数種の参照リガンドと接触させる工程；および

(d) 該複数種の参照リガンドから、該1種または複数種の試験微小胞上の表面マーカーとの複合体を形成するリガンドのサブセットを特定する工程であって、それによって該複数種の標的リガンドを特定する、工程

を含む、複数種の標的リガンドを特定するための方法。

[本発明1169]

標的微小胞の表面マーカーを特定する工程をさらに含む、本発明1168の方法。

[本発明1170]

複数種のリガンドがアプタマーおよび/または抗体を含む、本発明1168の方法。

[本発明1171]

(a) 候補アプタマーのプールを、関心対象の標的を含まない1種または複数種のアッセイ成分と接触させる工程；

(b) (a) で1種または複数種のアッセイ成分に結合しない該候補アプタマーのプールのメンバーを回収する工程；

(c) 1種または複数種の交絡する (confounding) 標的の存在下で、工程 (b) で回収された候補アプタマーのプールのメンバーを関心対象の標的と接触させる工程；および

(d) 工程 (c) で関心対象の標的に結合する候補アプタマーを回収する工程であって、それによって関心対象の標的に特異的なアプタマーを特定する、工程

を含む、関心対象の標的に特異的なアプタマーを特定する方法。

[本発明1172]

工程 (c) が実施される前に、工程 (a) ~ (b) が少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19回、または少なくとも20回繰り返される、本発明1171の方法。

[本発明1173]

関心対象の標的に特異的なアプタマーを特定する工程の前に、工程 (c) ~ (d) が少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19回、または少なくとも20回繰り返される、本発明1171の方法。

[本発明1174]

候補アプタマーのプールが少なくとも 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 、 10^{14} 、 10^{15} 、 10^{16} 、 10^{17} 、または少なくとも 10^{18} 種の核酸配列を含む、本発明1171の方法

。

[本発明1175]

1種または複数種のアッセイ成分が、基体、ビーズ、平面アレイ、カラム、チューブ、ウェル、またはフィルタの1つまたは複数を含む、本発明1171の方法。

[本発明1176]

関心対象の標的および1種または複数種の交絡する標的がタンパク質を含む、本発明1171の方法。

[本発明1177]

関心対象の標的および1種または複数種の交絡する標的が微小胞を含む、本発明1171の方法。

[本発明1178]

関心対象の標的および1種または複数種の交絡する標的が1種または複数種の微小胞表面抗原を含む、本発明1171の方法。

[本発明1179]

1種または複数種の微小胞表面抗原が、表3、4、および26から選択される、本発明1178の方法。

[本発明1180]

関心対象の標的が、SSX4、SSX2、PBP、KLK2、SPDEFからなる群より選択されたタンパク質であり、1種または複数種の交絡する標的が該群の他のメンバーを含む、本発明1171の方法。

[本発明1181]

1種または複数種の微小胞表面抗原が疾患または障害のバイオマーカーである、本発明1178の方法。

[本発明1182]

疾患が、癌、前癌状態、炎症性疾患、免疫疾患、自己免疫疾患もしくは障害、心血管疾患もしくは障害、神経疾患もしくは障害、感染症、または疼痛を含む、本発明1140、1147、1157、1166、1167、または1178の方法。

[本発明1183]

癌が、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹神経膠腫；脳腫瘍（脳幹神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、髄上皮腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；パーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性疾患；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌膵島細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；鼻腔神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍（GIST）；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；膵島腫瘍；カボジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；髄上皮腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜肺芽腫；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽喉癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂尿管移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含む、本発明1182の方法。

[本発明1184]

前癌状態がバレット食道を含む、本発明1182の方法。

[本発明1185]

自己免疫疾患が、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病（CD）、潰瘍性大腸炎（UC）、骨

盤炎症、血管炎、乾癬、糖尿病、自己免疫性肝炎、多発性硬化症、重症筋無力症、Ⅰ型糖尿病、関節リウマチ、乾癬、全身性エリテマトーデス（SLE）、橋本甲状腺炎、グレーブズ病、強直性脊椎炎、シェーグレン病、CREST症候群、強皮症、リウマチ性疾患、臓器拒絶反応、原発性硬化性胆管炎、または敗血症を含む、本発明1182の方法。

[本発明1186]

心血管疾患が、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、不安定プラーク、脳卒中、虚血、高血圧症、狭窄症、血管閉塞、または血栓性事象を含む、本発明1182の方法。

[本発明1187]

神経疾患が、多発性硬化症（MS）、パーキンソン病（PD）、アルツハイマー病（AD）、統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉症、プリオン病、ピック病、認知症、ハンチントン病（HD）、ダウン症候群、脳血管疾患、ラズムッセン脳炎、ウイルス性髄膜炎、神経精神全身性エリテマトーデス（NPSLE）、筋萎縮性側索硬化症、クロイツフェルト-ヤコブ病、ゲルストマン-ストロイスラーシャインカー病、伝達性海綿状脳症、虚血再灌流傷害（例えば脳卒中）、脳損傷、微生物感染、または慢性疲労症候群を含む、本発明1182の方法

。

[本発明1188]

疼痛が、線維筋痛症、慢性神経因性疼痛、または末梢性神経因性疼痛を含む、本発明1182の方法。

[本発明1189]

感染症が、細菌感染、ウイルス感染、酵母菌感染、ウィップル病、プリオン病、肝硬変、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、HIV、HCV、肝炎、梅毒、髄膜炎、マラリア、結核、インフルエンザを含む、本発明1182の方法。

[本発明1190]

複数種の細胞外微小胞を、ランダムに生成された結合物質のライブラリーと接触させる工程、細胞外微小胞の1種または複数種の成分に対する親和性を有する結合物質のライブラリーのサブセットを特定する工程を含む、結合物質を特定するための方法。

[本発明1191]

結合物質がアプタマーおよび/または抗体を含む、本発明1190の方法。

[本発明1192]

試験生物学的試料を、本発明1158に従属する本発明1158～1189のいずれかの標的に結合する1種または複数種のアプタマーと接触させる工程を含む、表現型を特徴決定する方法

。

[本発明1193]

表現型の特徴決定が、本発明1182～1189のいずれかの疾患または障害を検出する工程を含む、本発明1192の方法。

[本発明1194]

選択されたアプタマーの1種または複数種の標的を特定する工程をさらに含む、本発明1132～1191のいずれかの方法。

[本発明1195]

本発明1132～1194のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキット。

[本発明1196]

本発明1132～1194のいずれかの方法を実施するための試薬の使用。

[本発明1197]

（a）微小胞の表面抗原を含む標的を結合物質と結合させるために、結合物質を該標的と接触させる工程；

（b）標的と結合物質との結合を分断しない条件下で、微小胞を分断する工程；

（c）標的と結合物質との間の複合体を単離する工程；および

（d）結合物質に結合された標的を特定する工程

を含む、結合物質の標的を特定する方法。

[本発明1198]

結合物質が本発明1132～1194のいずれかの方法によって特定されたアプタマーを含む、本発明1197の方法。

[本発明1199]

結合物質が本発明1190の方法によって特定される、本発明1197の方法。

[本発明1200]

結合物質が本発明1168～1170のいずれかの方法によって特定されたりガンドを含む、本発明1197の方法。

[本発明1201]

標的が、タンパク質、核酸、脂質、または糖質を含む、本発明1197の方法。

[本発明1202]

工程(b)の前に標的が結合物質に架橋している、本発明1197の方法。

[本発明1203]

架橋が、光架橋、イミドエステル架橋剤、ジメチルスベリミダート、N-ヒドロキシスクシンイミド-エステル架橋剤、ビススルホスクシンイミジルスベラート(BS3)、アルデヒド、アクロレイン、クロトンアルデヒド、ホルムアルデヒド、カルボジイミド架橋剤、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DDC)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)、1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミド塩酸塩(EDCまたはEDAC)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート(SMCC)およびスルホスクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート(Sulfo-SMCC)、スルホ-N-ヒドロキシスクシンイミジル-2-(6-[ビオチンアミド]-2-(p-アジドベンズアミド)-ヘキサノアミド)エチル-1,3'-ジチオプロプリオナート(Sulfo-SBED)、2-[N2-(4-アジド-2,3,5,6-テトラフルオロベンゾイル)-N6-(6-ビオチン-アミドカプロイル)-L-リシニル]エチルメタンチオスルホナート(Mts-Atf-Biotin)、2-{N2-[N6-(4-アジド-2,3,5,6-テトラフルオロベンゾイル)-6-アミノ-カプロイル]-N6-(6-ビオチンアミドカプロイル)-L-リシニルアミド}エチルメタンチオスルホナート(Mts-Atf-LC-Biotin)、光反応性アミノ酸、L-Photo-Leucine、L-Photo-Methionine、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)架橋剤、NHS-アジド試薬、NHS-アジド、NHS-PEG4-アジド、NHS-PEG12-アジド、NHS-ホスフィン試薬、NHS-ホスフィン、スルホ-NHS-ホスフィン、またはこれらの任意の組み合わせもしくは修飾を含む、本発明1202の方法。

[本発明1204]

工程(b)での微小胞の分断が、洗浄剤、界面活性剤、溶解剤、酵素、機械的せん断、ビーズミリング、ホモジネーション、マイクロ流体化、音波処理、フレンチプレス、衝突、コロイドミル、減圧、浸透圧性ショック、熱分解、凍結融解、および乾燥の1つまたは複数の使用を含む、本発明1197の方法。

[本発明1205]

酵素が、リゾチーム、リソスタフィン、ザイモラーゼ、セルラーゼ、ムタノリシン、グリカナーゼ、プロテアーゼ、およびマンナーゼの1つまたは複数を含む、本発明1204の方法。

[本発明1206]

洗浄剤が、オクチルチオグルコシド(OTG)、オクチル-グルコシド(OG)、非イオン性洗浄剤、Triton X、Tween 20、脂肪アルコール、セチルアルコール、ステアリルアルコール、セトステアリルアルコール、オレイルアルコール、ポリオキシエチレングリコールアルキルエーテル(Brij)、オクタエチレングリコールモノデシルエーテル、ペンタエチレングリコールモノデシルエーテル、ポリオキシプロピレングリコールアルキルエーテル、グルコシドアルキルエーテル、デシルグルコシド、ラウリルグルコシド、オクチルグルコシド、ポリオキシエチレングリコールオクチルフェノールエーテル、ポリオキシエチレングリコールアルキルフェノールエーテル、ノノキシノール-9、グリセロールアルキルエステル、グリセリルラウラート、ポリオキシエチレングリコールソルビタンアルキルエステル、ポリソルベート、ソルビタンアルキルエステル、ココミドMEA、ココミドDEA、ドデシルジメチルアミンオキシド、ポリエチレングリコールとポリプロピレングリコール

とのブロックコポリマー、ポロキサマー、ポリエトキシシロ化タローアミン（POEA）、両性イオン性洗剤、3-[(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-1-プロパンスルホナート（CHAPS）、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（LAS）、アルキルフェノールエトキシラート（APE）、コカミドプロピルヒドロキシスルタイン、ベタイン、コカミドプロピルベタイン、レシチン、イオン性洗剤、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）、臭化セトリモニウム（CTAB）、塩化セチルトリメチルアンモニウム（CTAC）、オクテニジン二塩酸塩、塩化セチルピリジニウム（CPC）、塩化ベンザルコニウム（BAC）、塩化ベンゼトニウム（BZT）、5-プロモ-5-ニトロ-1,3-ジオキサン、ジメチルジオクタデシルアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムプロミド（DODAB）、デオキシコール酸ナトリウム、ノニルフェノキシポリエトキシシロエタノール（TergitolタイプNP-40；NP-40）、ラウリル硫酸アンモニウム、ラウレス硫酸ナトリウム（ラウリルエーテル硫酸ナトリウム（SLES））、ミレス硫酸ナトリウム、アルキルカルボン酸塩、ステアリン酸ナトリウム、ナトリウムラウロイルサルコシナート、カルボン酸塩をベースにしたフッ素系界面活性剤、ペルフルオロノナン酸、ペルフルオロオクタノ酸（PFOAまたはPFO）、および生物系界面活性剤の1つまたは複数を含む、本発明1204の方法。

[本発明1207]

結合物質が基体につながれている、本発明1197の方法。

[本発明1208]

基体がミクロスフェアを含む、本発明1207の方法。

[本発明1209]

基体が平面の基体を含む、本発明1207の方法。

[本発明1210]

結合物質が標識されている、本発明1197の方法。

[本発明1211]

標的と結合物質との間の複合体を単離する工程が、該標識を介して結合物質を捕捉することを含む、本発明1210の方法。

[本発明1212]

標識がビオチン標識を含む、本発明1210の方法。

[本発明1213]

標的がタンパク質を含み、かつ該標的を特定する工程が、質量分析（MS）、ペプチドマスフィンガープリンティング（PMF；タンパク質フィンガープリンティング）、配列決定、N末端アミノ酸解析、C末端アミノ酸解析、エドマン分解、クロマトグラフィー、電気泳動、二次元ゲル電気泳動（2Dゲル）、抗体アレイ、およびイムノアッセイの使用を含む、本発明1197の方法。

[本発明1214]

本発明1197～1213のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキット。

[本発明1215]

1種または複数種の試薬が、本発明1132～1194のいずれかの方法によって特定されたアプタマーを含む、本発明1214のキット。

[本発明1216]

SEQ ID NO: 230938～231008のいずれかからなる群より選択された配列に対して少なくとも50、60、70、75、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%相同である配列を含む、核酸。

[本発明1217]

SEQ ID NO: 230938～231008のいずれかからなる群より選択された配列を含む、核酸。

[本発明1218]

SEQ ID NO: 230938～231008のいずれかからなる群より選択された配列に対して少なくとも50、60、70、75、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%相同である配列を含む、単離された核酸。

[本発明1219]

SEQ ID NO: 230938 ~ 231008のいずれかからなる群より選択された配列を含む、単離された核酸。

[本発明1220]

少なくとも1つの化学修飾を含むようにさらに改変されている、本発明1216 ~ 1219のいずれかの核酸。

[本発明1221]

前記修飾が、核酸の、糖位置での化学的置換；リン酸位置での化学的置換；および塩基位置での化学的置換からなる群より選択される、本発明1220の核酸。

[本発明1222]

前記修飾が、修飾されたヌクレオチドの取込み、3'のキャッピング、ビオチン化、アミンリンカーへの結合、高分子量の非免疫原性化合物への結合、親油性化合物への結合からなる群より選択される、本発明1220の核酸。

[本発明1223]

非免疫原性の高分子量化合物がポリアルキレングリコールである、本発明1222の核酸。

[本発明1224]

ポリアルキレングリコールがポリエチレングリコールである、本発明1223の核酸。

[本発明1225]

本発明1216 ~ 1224のいずれかの核酸を含む組成物。

[本発明1226]

本発明1216 ~ 1225のいずれかの核酸または組成物を含む、キット。

[本発明1227]

基体に結合した非標的結合核酸を含む陰性対照組成物。

[本発明1228]

非標的結合核酸が基体に共有結合している、本発明1227の陰性対照組成物。

[本発明1229]

非標的結合核酸が基体に非共有結合的に結合している、本発明1227の陰性対照組成物。

[本発明1230]

非標的結合核酸が、本発明1216 ~ 1224のいずれかから選択される核酸を含む、本発明1227の陰性対照組成物。

[本発明1231]

非標的結合核酸が、スクランブルされたSEQ ID NO: 1 ~ 241535のいずれかの配列またはこれらの機能的断片を含む、本発明1227の陰性対照組成物。

[本発明1232]

生物学的実体を含むことが疑われる生物学的試料中の該生物学的実体の存在またはレベルを検出する方法であって、

(a) 基体および本発明1227 ~ 1230のいずれかの陰性対照組成物を含む組成物を提供する工程であって、該基体が、生物学的実体に対する1種または複数種の結合物質を含む、工程；

(b) 生物学的試料を、工程(a)で提供された組成物と接触させる工程；

(c) 工程(b)において1種または複数種の結合物質によって認識された生物学的実体の量に対応する標的シグナルを検出する工程；ならびに

(d) 工程(c)で検出された標的シグナルを、陰性対照組成物によって生じたシグナルの量に対応する対照シグナルに対して正規化する工程であって、それによって該生物学的試料中の該生物学的実体の存在またはレベルを検出する、工程を含む、方法。

[本発明1233]

標的シグナルの正規化が、標的シグナルから対照シグナルを差し引くことを含む、本発明1232の方法。

[本発明1234]

1種または複数種の結合物質が抗体またはアプタマーを含む、本発明1232の方法。

[本発明1235]

生物学の実体がタンパク質を含む、本発明1232の方法。

[本発明1236]

生物学の実体が微小胞を含む、本発明1232の方法。

[本発明1237]

1種または複数種の結合物質が微小胞表面抗原に特異的である、本発明1236の方法。

[本発明1238]

微小胞表面抗原が、表3～4、または26から選択される、本発明1237の方法。

[本発明1239]

微小胞表面抗原が疾患または障害のバイオマーカーである、本発明1237の方法。

[本発明1240]

疾患または障害の診断、予後判定、またはセラノースを提供する、本発明1239の方法。

[本発明1241]

本発明1232～1240のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキット。

[本発明1242]

1種または複数種の試薬が、1種または複数種のアプタマーおよび基体を含む、本発明1241のキット。

[本発明1243]

非標的結合核酸を含む、ブロッキング組成物。

[本発明1244]

非標的結合核酸が本発明1216～1224のいずれかから選択される核酸を含む、本発明1243のブロッキング組成物。

[本発明1245]

ウシ血清アルブミン（BSA）、カゼイン、peptidase、非イオン性界面活性剤、Tween（登録商標）20、Triton（登録商標）X-100、非反応性抗体またはその断片、FSG（魚皮ゼラチン）、純粋なゼラチン、ゼラチンヒドロラーゼ、ポリエチレングリコール（PEG）、非反応性血清、および非反応性タンパク質からなる群より選択される1種または複数種の成分をさらに含む、本発明1243のブロッキング組成物。

[本発明1246]

生物学の実体を含むことが疑われる生物学の試料中の該生物学の実体の存在またはレベルを検出する方法であって、

（a）基体を、本発明1243～1245のいずれかのブロッキング組成物と接触させる工程であって、該基体が、生物学の実体に対する1種または複数種の結合物質を含む、工程；

（b）生物学の試料を、工程（a）で提供されたブロッキングされた基体と接触させる工程；および

（c）工程（b）で生物学の実体が1種または複数種の結合物質によって認識されたかどうかを検出する工程であって、それによって該生物学の試料中の該生物学の実体の存在またはレベルを検出する、工程

を含む、方法。

[本発明1247]

1種または複数種の結合物質が抗体またはアプタマーを含む、本発明1246の方法。

[本発明1248]

生物学の実体がタンパク質を含む、本発明1246の方法。

[本発明1249]

生物学の実体が微小胞を含む、本発明1246の方法。

[本発明1250]

1種または複数種の結合物質が微小胞表面抗原に特異的である、本発明1249の方法。

[本発明1251]

微小胞表面抗原が、表3、4、または26から選択される、本発明1250の方法。

[本 発 明1252]

微小胞表面抗原が疾患または障害のバイオマーカーである、本発明1250の方法。

[本 発 明1253]

疾患または障害の診断、予後判定、またはセラノースを提供する、本発明1252の方法。

[本 発 明1254]

本発明1246～1253のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキット。

[本 発 明1255]

1種または複数種の試薬が、1種または複数種のアプタマーおよび基体を含む、本発明1254のキット。

[本 発 明1256]

官能基に特異的に結合するアプタマー。

[本 発 明1257]

官能基が、炭化水素、ハロゲン、酸素を含む基（すなわちC-O結合）、窒素を含む基、硫黄を含む基、リンを含む基、またはホウ素を含む基からなる群より選択される、本発明1256のアプタマー。

[本 発 明1258]

炭化水素が、アルカン、アルケン、アルキン、ベンゼン誘導体、トルエン誘導体、分枝または環状アルカン、カルボカチオン、およびカルボアニオンからなる群より選択される、本発明1257のアプタマー。

[本 発 明1259]

ハロゲンが、ハロアルカン、フルオロアルカン、クロロアルカン、プロモアルカン、およびヨードアルカンからなる群より選択される、本発明1257のアプタマー。

[本 発 明1260]

酸素を含む基が、アルコール、ケトン、アルデヒド、ハロゲン化アシル、カルボナート、カルボキシラート、カルボン酸、エステル、ヒドロペルオキシド、エーテル、ヘミアセタール、ヘミケタール、アセタール、ケタール、オルトエステル、およびオルトカルボナートからなる群より選択される、本発明1257のアプタマー。

[本 発 明1261]

窒素を含む基が、アミド、アミン、イミン、イミド、アジド、アゾ化合物、シアナート、ニトラート、ニトリル、ニトライト、ニトロ化合物、ニトロソ化合物、およびピリジン誘導体からなる群より選択される、本発明1257のアプタマー。

[本 発 明1262]

硫黄を含む基が、チオール、スルフィド、ジスルフィド、スルホキシド、スルホン、硫酸、スルホン酸、チオシアナート、イソシアナート、チオン、およびチアールからなる群より選択される、本発明1257のアプタマー。

[本 発 明1263]

リンを含む基が、ホスフィン、ホスファン、ホスホン酸、ホスファート、およびホスホジエステルからなる群より選択される、本発明1257のアプタマー。

[本 発 明1264]

ホウ素を含む基が、ボロン酸、ボロン酸エステル、ボリン酸、およびボリン酸エステルからなる群より選択される、本発明1257のアプタマー。

[本 発 明1265]

官能基が、アセタール、アシル基、ハロゲン化アシル、アルケニル基、アルコキシド、アルコキシ基、アルキニル基、アミド、アミノキシド、アミン、カルボジイミド、カルボキシミダート、カルボン酸、シアナミド、シアナート、ジチオカルバマート、エノール、エステル、エーテル、ヒドラジン、ヒドラゾン、ヒドロキサム酸、イミド、イソシアナート、イソシアニド、イソチオシアナート、ケタール、ケテン、ケトン、脱離基、ニトリル、有機ハロゲン化物、有機リン、オルトエステル、オキシム、ホスホノフルオリダート、ホスホノチオアート、ホスホルアミドチオアート、ホスホロジチオアート、ホスホロフ

ルオリダート、ホスホロチオアート、保護基、ピロホスファート、セミカルバジド、セミカルバゾン、スルファマート、スルホン酸エステル、スルホン、スルホン酸、スルホニル基、スルホキシミン、スルフリル化合物、チオアミド、チオシアナート、チオエステル、チオラート、チオン、チオホスホリル化合物、およびチオスルフィナートからなる群より選択される、本発明1256のアプタマー。

[本発明1266]

官能基が、アセタール、アセトキシ基、アセチリド、酸無水物、活性化基、塩化アシル、ハロゲン化アシル、アシラール、アシロイン、アシルシラン、アルコール、アルデヒド、アルジミン、アルカン、アルケン、アルコキシド、アルキルシクロアルカン、亜硝酸アルキル、アルキン、アレン、アミド、アミジン、アミナール、アミノオキシド、アジド、アジン、アジリジン、アゾキシ、二官能性、ビスチオセミカルバゾン、ビウレット、ボロン酸、カルバマート、カルバミノ、カルバジド、カルベン、カルビノール、炭酸エステル、カルボニル、カルボキサミド、カルボキシミダート、カルボン酸、クロロホルマート、クムレン、シアノ酸エステル、シアニミド、シアノヒドリン、不活性化基、デブシド、ジアゾ、ジオール、ジチオカルバマート、エナミン、エンジン、エノール、エノールエーテル、エノン、エニン、エピスルフィド、エポキシド、エステル、エーテル、フルオロスルホナート、ハロヒドリン、ハロケトン、ヘミアセタール、ヘミアミナール、ヘミチオアセタール、ヒドラジド、ヒドラゾン、ヒドロキサム酸、ヒドロキシル、ヒドロキシルアミン、イミン、イミニウム、イソチオウロニウム、ケテン、ケテンイミン、ケトン、ケチル、ラクタム、ラクツール、ラクトン、メチン、メチル基、ニトラート、ニトリルイリド、ニトリルイミン、ニトロ化合物、ニトロアミン、ニトロナート、ニトロニウムイオン、ニトロソアミン、ニトロソ、オルトエステル、オサゾン、オキサジリジン、オキシム、n-オキソアンモニウム塩、ペルオキシド、ペルオキシ酸、パーシステントカルベン、フェノール、ホスファアルケン、ホスファアルキン、ホスファート、ホスフィナート、ホスフィン、ホスフィンオキシド、ホスフィニト、ホスホナート、ホスホニト、ホスホニウム、ホスホラン、s-ニトロソチオール、シッフ塩基、セレノール、セレノン酸、セロン、セミカルバジド、セミカルバゾン、シリルエノールエーテル、シリルエーテル、スルフェンアミド、スルフェン酸、塩化スルフェニル、スルフィド、スルフィリイミン、スルフィンアミド、スルフィン酸、亜硫酸エステル、スルホンアミド、スルホンアニリド、スルホナート、スルホニル、ハロゲン化スルホニル、スルホキシド、スルフリル、スルトン、テルロール、チアール、チオアセタール、チオアミド、チオカルバマート、チオカルボキシ、チオシアナート、チオエステル、チオエーテル、チオケタール、チオケトン、チオール、チオラクトン、チオ尿素、トシルヒドラゾン、トリアゼン、トリオール、尿素、バニリル、キサントート、イリド、およびイノラートからなる群より選択される、本発明1256のアプタマー。

[本発明1267]

官能基が、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシル基、ヒドラジド基、および/またはクロロメチル基を含む、本発明1256のアプタマー。

[本発明1268]

官能基がカルボキシル基を含む、本発明1256のアプタマー。

[本発明1269]

本発明1216～1224のいずれかから選択される核酸を含む、本発明1256～1267のアプタマー。

[本発明1270]

本発明1256～1269のいずれかのアプタマーおよび基体を含む、組成物。

[本発明1271]

基体が平面の基体を含む、本発明1270の組成物。

[本発明1272]

基体がミクロスフェアを含む、本発明1270の組成物。

[本発明1273]

基体が、カルボキシル修飾、アミノ修飾、ヒドロキシル修飾、ヒドラジド修飾、クロロメチル修飾、およびこれらの組み合わせからなる群より選択される1つまたは複数の修飾を含む、本発明1270の組成物。

[本発明1274]

基体がカルボキシル基を含む、本発明1270の組成物。

[本発明1275]

アプタマーがカルボキシル基に結合している、本発明1273の組成物。

[本発明1276]

基体が結合物質を含む、本発明1270の組成物。

[本発明1277]

結合物質が抗体またはアプタマーを含む、本発明1276の組成物。

[本発明1278]

微小胞をさらに含む、本発明1270の組成物。

[本発明1279]

本発明1256～1278のいずれかのアプタマーまたは組成物を含む、キット。

[本発明1280]

本発明1256～1269のいずれかのアプタマーを基体と接触させる工程を含む、方法。

[本発明1281]

基体が平面の基体である、本発明1280の方法。

[本発明1282]

基体がマイクロスフェアである、本発明1280の方法。

[本発明1283]

基体が、カルボキシル修飾、アミノ修飾、ヒドロキシル修飾、ヒドラジド修飾、クロロメチル修飾、およびこれらの組み合わせからなる群より選択される1つまたは複数の修飾を含む、本発明1280の方法。

[本発明1284]

基体がカルボキシル基を含む、本発明1280の方法。

[本発明1285]

アプタマーがカルボキシル基に結合している、本発明1283の方法。

[本発明1286]

基体が結合物質を含む、本発明1280の方法。

[本発明1287]

結合物質が抗体またはアプタマーを含む、本発明1286の方法。

[本発明1288]

基体を結合物質の標的と接触させる工程をさらに含む、本発明1286の方法。

[本発明1289]

本発明1280～1288のいずれかの方法を実施するための試薬を含み、任意で、1種または複数種のアプタマーおよび基体を含む、キット。

[本発明1290]

生物学的実体を含むことが疑われる生物学的試料中の該生物学的実体の存在またはレベルを検出する方法であって、

(a) カルボキシル化された基体に付着した生物学的実体に特異的な1種または複数種の結合物質を含む組成物を提供する工程であって、該カルボキシル化された基体が、本発明1256～1269のいずれかのアプタマーと結合している、工程；

(b) 生物学的試料を、工程(a)で提供された組成物と接触させる工程；および

(c) 工程(b)で生物学的実体が1種または複数種の結合物質によって認識されたかどうかを検出する工程であって、それによって該生物学的試料中の該生物学的実体の存在またはレベルを検出する、工程を含む、方法。

[本発明1291]

1種または複数種の結合物質が抗体またはアプタマーを含む、本発明1290の方法。

[本発明1292]

生物学的実体がタンパク質を含む、本発明1290の方法。

[本発明1293]

生物学的実体が微小胞を含む、本発明1290の方法。

[本発明1294]

1種または複数種の結合物質が微小胞表面抗原に特異的である、本発明1290の方法。

[本発明1295]

微小胞表面抗原が、表3、4、または26から選択される、本発明1294の方法。

[本発明1296]

微小胞表面抗原が疾患または障害のバイオマーカーである、本発明1294の方法。

[本発明1297]

疾患または障害の診断、予後判定、またはセラノーシスを提供する、本発明1295の方法。

[本発明1298]

本発明1290～1297のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキットであって、任意で、1種または複数種の該試薬が1種または複数種のアプタマーおよび基体を含む、キット。

[本発明1299]

(a) 基体を、カルボキシル基に結合することが可能なアプタマーと接触させる工程であって、該基体が、1種または複数種の選択された核酸またはポリペプチド分子も含む、工程；および(b) 基体を、該核酸またはポリペプチド分子に結合することが可能な結合物質と接触させる工程であって、それによって、カルボキシル基に結合したアプタマーが、該核酸またはポリペプチド分子に対する結合物質の結合を増強する、工程を含む、結合を増強するための方法。

[本発明1300]

アプタマーが、本発明1256～1269のいずれかのアプタマーである、本発明1299の方法。

[本発明1301]

基体が平面の基体である、本発明1299の方法。

[本発明1302]

基体がマイクロスフェアである、本発明1299の方法。

[本発明1303]

核酸またはポリペプチドが、アミド結合を介してカルボキシル基に共有結合している、本発明1299の方法。

[本発明1304]

基体が結合物質を含む、本発明1299の方法。

[本発明1305]

本発明1299～1304のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキットであって、任意で、1種または複数種の該試薬が1種または複数種のアプタマーおよび基体を含む、キット。

[本発明1306]

(a) 基体-生物学的試料複合体を形成させるために、基体を生物学的試料と接触させる工程；

(b) 基体-生物学的試料複合体を複数種の候補結合物質と接触させる工程；および

(c) 基体-生物学的試料複合体と結合する複数種の候補結合物質の1つまたは複数のメンバーを特定する工程であって、それによって1種または複数種の結合物質を選択する、工程

を含む、1種または複数種の結合物質を選択する方法。

[本発明1307]

1種または複数種の結合物質が、核酸、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体複合体、抗体断

片、アプタマー、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸（PNA）、ロックド核酸（LNA）、レクチン、ポリペプチド、ペプチド、デンドリマー、膜タンパク質標識剤、化学物質、またはこれらの組み合わせを含む、本発明1306の方法。

[本発明1308]

生物学的試料が組織試料または細胞培養物試料を含む、本発明1306の方法。

[本発明1309]

生物学的試料が体液を含み、任意で、体液が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液（CSF）、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー腺液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、体毛、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、腔分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胚盤胞腔液、臍帯血、またはこれらのいずれかの派生物を含む、本発明1306の方法。

[本発明1310]

生物学的試料が、濃縮血漿試料、血清試料、浄化血清試料、または浄化血漿試料を含む、本発明1306の方法。

[本発明1311]

生物学的試料が異種微小胞集団または同種微小胞集団を含む、本発明1306～1310のいずれかの方法。

[本発明1312]

浄化血清または浄化血漿試料が、非浄化対照試料と比較して低下したレベルの、1種または複数種の高存在量タンパク質を有する、本発明1311の方法。

[本発明1313]

1種または複数種の高存在量タンパク質が血液タンパク質を含む、本発明1312の方法。

[本発明1314]

1種または複数種の高存在量タンパク質が、1種または複数種のアльブミン、IgG、トランスフェリン、フィブリノーゲン、フィブリン、IgA、2-マクログロブリン、IgM、1-抗トリプシン、補体C3、ハプトグロブリン、アポリポタンパク質A1、A3、およびB；1-酸性糖タンパク質、セルロプラスミン、補体C4、C1q、IgD、プレアルブミン（トランスチレチン）、プラスミノーゲン、これらのいずれかの誘導体、およびこれらの組み合わせを含み、1種または複数種の高存在量タンパク質が、1種または複数種のアльブミン、免疫グロブリン、フィブリノーゲン、プレアルブミン、1抗トリプシン、1酸性糖タンパク質、1フェトプロテイン、ハプトグロビン、2マクログロブリン、セルロプラスミン、トランスフェリン、補体タンパク質C3およびC4、2ミクログロブリン、リポタンパク質、グロブリンタンパク質、C反応性タンパク質（CRP）、リポタンパク質（カイロミクロン、VLDL、LDL、HDL）、他のグロブリン（ 、 、および 型）、プロトロンビン、マンノース結合レクチン（MBL）、これらのいずれかの誘導体、およびこれらの組み合わせを含み得る、本発明1312の方法。

[本発明1315]

1種または複数種の高存在量タンパク質が、クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、免疫親和性、沈殿、またはこれらの組み合わせによって浄化血清または浄化血漿試料から全体的または部分的に分離される、本発明1312の方法。

[本発明1316]

1種または複数種の高存在量タンパク質が、生物学的試料をトロンボプラスチンと接触させる工程の後に浄化血清または浄化血漿試料から分離される、本発明1312の方法。

[本発明1317]

非浄化対照試料と比較して、1種または複数種の高存在量タンパク質の少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%が浄化血清または浄化血漿試料から分離され

る、本発明1312の方法。

[本発明1318]

基体-生物学的試料複合体が、基体と生物学的試料の成分との間の架橋を含み、任意で、該架橋が、光架橋、イミドエステル架橋剤、ジメチルスベリミダート、脂質架橋剤、N-ヒドロキシスクシンイミド-エステル架橋剤、ビススルホスクシンイミジルスベラート (BS3)、アルデヒド、アクロレイン、クロトンアルデヒド、ホルムアルデヒド、カルボジイミド架橋剤、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DDC)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド (DIC)、1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミド塩酸塩 (EDCまたはEDAC)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート (SMCC)、スルホスクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート (Sulfo-SMCC)、スルホ-N-ヒドロキシスクシンイミジル-2-(6-[ビオチンアミド]-2-(p-アジドベンズアミド)-ヘキサノアミド)エチル-1,3'-ジチオプロプリオナート (Sulfo-SBED)、2-[N2-(4-アジド-2,3,5,6-テトラフルオロベンゾイル)-N6-(6-ビオチンアミドカプロイル)-L-リシニル]エチルメタンチオスルホナート (Mts-Atf-Biotin)、2-{N2-[N6-(4-アジド-2,3,5,6-テトラフルオロベンゾイル-6-アミノ-カプロイル)-N6-(6-ビオチンアミドカプロイル)-L-リシニルアミド]}エチルメタンチオスルホナート (Mts-Atf-LC-Biotin)、光反応性アミノ酸、L-Photo-Leucine、L-Photo-Methionine、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 架橋剤、NHS-アジド試薬、NHS-アジド、NHS-PEG4-アジド、NH₂-PEG12-アジド、NHS-ホスフィン試薬、NHS-ホスフィン、スルホ-NHS-ホスフィン、またはこれらの任意の組み合わせもしくは修飾を含む、本発明1306の方法。

[本発明1319]

基体が、生物学的試料の成分に直接架橋されている、本発明1318の方法。

[本発明1320]

基体が、リンカーを介して生物学的試料の成分に架橋されている、本発明1318の方法。

[本発明1321]

生物学的試料の成分が微小胞を含む、本発明1319または1320の方法。

[本発明1322]

リンカーが微小胞膜中に埋め込まれている、本発明1320に従属する本発明1321の方法。

[本発明1323]

リンカーが、官能化脂質を含み、任意で、該官能化脂質が、16:0ビオチニルPE 1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-(ビオチニル) (ナトリウム塩)、18:1ビオチニルPE 1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-(ビオチニル) (ナトリウム塩)、16:0ビオチニルキャップPE 1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-(キャップビオチニル) (ナトリウム塩)、18:1ビオチニルキャップPE 1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-(キャップビオチニル) (ナトリウム塩)、またはこれらの組み合わせを含む、本発明1322の方法。

[本発明1324]

リンカーが、ジアシルグリセロール、ジアシルホスホグリセロール (リン脂質) もしくはステロール、ジアルキルグリセロール、ジアルキル-もしくはジアシル-1-アミノ-2,3-ジヒドロキシプロパン、長鎖アルキルもしくはアシル、スフィンゴ脂質、セラミド、リン脂質、グリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) 膜アンカー配列、糖リン脂質膜アンカー、膜受容体断片、タンパク質結合受容体、金属キレート受容体、免疫グロブリンFc結合受容体、サイトカインもしくは成長因子結合受容体、薬物結合受容体、脂質模倣 (lipid mimicking) 受容体、膜貫通受容体、合成タンパク質結合受容体、合成金属キレート受容体、合成免疫グロブリンFc結合受容体、合成サイトカインもしくは成長因子結合受容体、合成薬物結合受容体、合成脂質模倣受容体、合成膜貫通受容体、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、スフィンゴ脂質、ステロイド、コレステロール、ジヒドロコレステロール、エルゴステロール、ブラシカステロール、コレステリルアミン、ジヒドロコレステリルアミン、エルゴステリルアミン、ブラシカステリルアミン、3-コレステリルアミン、3-ジヒドロコレステリルアミン、3-エルゴステリルアミン、3-ブラシカステリルアミン

3-コレステリルアミン、3-ジヒドロコレステリルアミン、3-エルゴステリルアミン、3-ブラシカステリルアミン、またはこれらのいずれかの機能的断片もしくは誘導体を含む、本発明1322の方法。

[本発明1325]

基体が、生物学的試料の成分に対する結合物質と結合している、本発明1318の方法。

[本発明1326]

結合物質が、抗体、アプタマー、またはレクチンを含み、任意で、該レクチンがコンカナバリンA (ConA) を含む、本発明1325の方法。

[本発明1327]

生物学的試料の成分が微小胞を含み、任意で、結合物質が微小胞表面抗原に対する結合物質を含む、本発明1325または1326の方法。

[本発明1328]

1種または複数種の結合物質を特定する工程をさらに含む、本発明1306の方法。

[本発明1329]

基体-微小胞複合体を含み、該基体が合成基体を含む、組成物。

[本発明1330]

基体が、ビーズ、ウェル、または平面の基体を含み、任意で、該ビーズが磁気ビーズ、またはポリスチレンビーズを含む、本発明1329の組成物。

[本発明1331]

本発明1306～1328のいずれかの方法を実施するための1種または複数種の試薬を含むキットであって、任意で、該1種または複数種の試薬が1種または複数種の基体-微小胞複合体およびリンカー物質を含む、キット。

[本発明1332]

安定した基体-微小胞複合体を作製する方法であって、基体を微小胞と接触させる工程を含み、該基体が、該微小胞の表面上に存在する少なくとも1つの成分に直接結合することが可能な化学基によって官能化されている、方法。

[本発明1333]

基体が、ビーズ、ウェル、マトリックス、または平面の基体を含む、本発明1332の方法。

[本発明1334]

化学基が、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸 (PNA)、ロックド核酸 (LNA)、レクチン、ペプチド/ポリペプチド、デンドリマー、膜タンパク質標識剤、化学物質、光架橋、イミドエステル架橋剤、ジメチルスベリミダート、脂質架橋剤、N-ヒドロキシスクシンイミド-エステル架橋剤、ビススルホスクシンイミジルスベラート (BS3)、アルデヒド、アクロレイン、クロトンアルデヒド、ホルムアルデヒド、カルボジイミド架橋剤、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DDC)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド (DIC)、1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミド塩酸塩 (EDCまたはEDAC)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート (SMCC)、スルホスクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート (Sulfo-SMCC)、スルホ-N-ヒドロキシスクシンイミジル-2-(6-[ビオチンアミド]-2-(p-アジドベンズアミド)-ヘキサノアミド)エチル-1,3'-ジチオプロプリオナート (Sulfo-SBED)、2-[N2-(4-アジド-2,3,5,6-テトラフルオロベンゾイル)-N6-(6-ビオチン-アミドカプロイル)-L-リシニル]エチルメタンチオスルホナート (Mts-Atf-Biotin)、2-{N2-[N6-(4-アジド-2,3,5,6-テトラフルオロベンゾイル)-6-アミノ-カプロイル)-N6-(6-ビオチンアミドカプロイル)-L-リシニルアミド]}エチルメタンチオスルホナート (Mts-Atf-LC-Biotin)、光反応性アミノ酸、L-Photo-Leucine、L-Photo-Methionine、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) 架橋剤、NHS-アジド試薬、NHS-アジド、NHS-PEG4-アジド、NHS-PEG12-アジド、NHS-ホスフィン試薬、NHS-ホスフィン、スルホ-NHS-ホスフィン、またはこれらの組み合わせを含む、本発明1332の方法。

[本発明1335]

化学基が、炭化水素、ハロゲン、酸素を含む基（すなわちC-O結合）、窒素を含む基、硫黄を含む基、リンを含む基、ホウ素を含む基、またはこれらの組み合わせを含む、本発明1332の方法。

[本発明1336]

炭化水素が、アルカン、アルケン、アルキン、ベンゼン誘導体、トルエン誘導体、分枝または環状アルカン、カルボカチオン、およびカルボアニオンからなる群より選択される、本発明1335の方法。

[本発明1337]

ハロゲンが、ハロアルカン、フルオロアルカン、クロロアルカン、ブロモアルカン、およびヨードアルカンからなる群より選択される、本発明1335の方法。

[本発明1338]

酸素を含む基が、アルコール、ケトン、アルデヒド、ハロゲン化アシル、カルボナート、カルボキシラート、カルボン酸、エステル、ヒドロペルオキシド、エーテル、ヘミアセタール、ヘミケタール、アセタール、ケタール、オルトエステル、およびオルトカルボナートからなる群より選択される、本発明1335の方法。

[本発明1339]

窒素を含む基が、アミド、アミン、イミン、イミド、アジド、アゾ化合物、シアナート、ニトラート、ニトリル、ニトライト、ニトロ化合物、ニトロソ化合物、およびピリジン誘導体からなる群より選択される、本発明1335の方法。

[本発明1340]

硫黄を含む基が、チオール、スルフィド、ジスルフィド、スルホキシド、スルホン、硫酸、スルホン酸、チオシアナート、イソシアナート、チオン、およびチアールからなる群より選択される、本発明1335の方法。

[本発明1341]

リンを含む基が、ホスフィン、ホスファン、ホスホン酸、ホスファート、およびホスホジエステルからなる群より選択される、本発明1335の方法。

[本発明1342]

ホウ素を含む基が、ボロン酸、ボロン酸エステル、ボリン酸、およびボリン酸エステルからなる群より選択される、本発明1335の方法。

[本発明1343]

化学基が、アセタール、アシル基、ハロゲン化アシル、アルケニル基、アルコキシド、アルコキシ基、アルキニル基、アミド、アミンオキシド、アミン、カルボジイミド、カルボキシミダート、カルボン酸、シアナミド、シアナート、ジチオカルバマート、エノール、エステル、エーテル、ヒドラジン、ヒドラゾン、ヒドロキサム酸、イミド、イソシアナート、イソシアニド、イソチオシアナート、ケタール、ケテン、ケトン、脱離基、ニトリル、有機ハロゲン化物、有機リン、オルトエステル、オキシム、ホスホノフルオリダート、ホスホノチオアート、ホスホルアミドチオアート、ホスホロジチオアート、ホスホロフルオリダート、ホスホロチオアート、保護基、ピロホスファート、セミカルバジド、セミカルバゾン、スルファマート、スルホン酸エステル、スルホン、スルホン酸、スルホニル基、スルホキシイミン、スルフル化合物、チオアミド、チオシアナート、チオエステル、チオラート、チオン、チオホスホリル化合物、および/またはチオスルフィナートを含む、本発明1332の方法。

[本発明1344]

化学基が、アセタール、アセトキシ基、アセチリド、酸無水物、活性化基、塩化アシル、ハロゲン化アシル、アシラール、アシロイン、アシルシラン、アルコール、アルデヒド、アルジミン、アルカン、アルケン、アルコキシド、アルキルシクロアルカン、亜硝酸アルキル、アルキン、アレン、アミド、アミジン、アミナール、アミンオキシド、アジド、アジン、アジリジン、アゾキシ、二官能性、ビスチオセミカルバゾン、ビウレット、ボロン酸、カルバマート、カルバミノ、カルバジド、カルベン、カルビノール、炭酸エステル、カルボニル、カルボキサミド、カルボキシミダート、カルボン酸、クロロホルマート、

クムレン、シアン酸エステル、シアニミド、シアノヒドリン、不活性化基、デブシド、ジアゾ、ジオール、ジチオカルバマート、エナミン、エンジン、エノール、エノールエーテル、エノン、エニン、エピスルフィド、エポキシド、エステル、エーテル、フルオロスルホナート、ハロヒドリン、ハロケトン、ヘミアセタール、ヘミアミナール、ヘミチオアセタール、ヒドラジド、ヒドラゾン、ヒドロキサム酸、ヒドロキシル、ヒドロキシルアミン、イミン、イミニウム、イソチオウロニウム、ケテン、ケテンイミン、ケトン、ケチル、ラクタム、ラクツール、ラクトン、メチン、メチル基、ニトラート、ニトリルイリド、ニトリルイミン、ニトロ化合物、ニトロアミン、ニトロナート、ニトロソ、ニトロニウムイオン、ニトロソアミン、ニトロソ、オルトエステル、オサゾン、オキサジリジン、オキシム、n-オキソアンモニウム塩、ペルオキシド、ペルオキシ酸、パーシステントカルベン、フェノール、ホスファアルケン、ホスファアルキン、ホスファート、ホスフィナート、ホスフィン、ホスフィンオキシド、ホスフィニト、ホスホナート、ホスホニト、ホスホニウム、ホスホラン、s-ニトロソチオール、シッフ塩基、セレノール、セレノン酸、セロン、セミカルバジド、セミカルバゾン、シリルエノールエーテル、シリルエーテル、スルフェンアミド、スルフェン酸、塩化スルフェニル、スルフィド、スルフィリイミン、スルフィンアミド、スルフィン酸、亜硫酸エステル、スルホンアミド、スルホンアニリド、スルホナート、スルホニル、ハロゲン化スルホニル、スルホキシド、スルフリル、スルトン、テルロール、チアール、チオアセタール、チオアミド、チオカルバマート、チオカルボキシ、チオシアナート、チオエステル、チオエーテル、チオケタール、チオケトン、チオール、チオラクトン、チオ尿素、トシルヒドラゾン、トリアゼン、トリオール、尿素、バニリル、キサントート、イリド、およびイノラートからなる群より選択される、本発明1332の方法。

[本発明1345]

化学基が、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシル基、ヒドラジド基、および/またはクロロメチル基を含む、本発明1332の方法。

[本発明1346]

化学基がカルボキシル基を含む、本発明1332の方法。

[本発明1347]

少なくとも1つの成分が、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、脂質、糖質、これらの誘導体、またはこれらの組み合わせを含む、本発明1332の方法。

[本発明1348]

基体-微小胞複合体を含み、該基体が合成基体を含む、組成物。

[本発明1349]

不活性基体に直接結合した微小胞を含む、安定化した微小胞組成物。

[本発明1350]

基体が、ビーズ、ウェル、マトリックス、または平面の基体を含み、任意で、該ビーズが磁気ビーズ、またはポリスチレンビーズを含む、本発明1348または1349の組成物。

[本発明1351]

本発明1332～1347のいずれかの方法を実施するための1種または複数種の試薬を含むキットであって、任意で、該1種または複数種の試薬が1種または複数種の基体-微小胞複合体およびリンカー物質を含む、キット。

[本発明1352]

(a) 微小胞を、微小胞抗原に対する結合物質と接触させる工程であって、該結合物質が標識を含む、工程；

(b) 走査型電子顕微鏡 (SEM) の基体に、該接触させた微小胞を固定する工程；

(c) 固定された微小胞をスパッターコーティングする工程；および

(d) SEMを使用して微小胞および標識を可視化する工程

を含む、微小胞を可視化する方法。

[本発明1353]

微小胞が、工程 (a) の前に基体に付着している、本発明1352の方法。

[本 発 明 1354]

微小胞が、共有結合を介して基体に付着している、本発明1353の方法。

[本 発 明 1355]

微小胞が、免疫親和性結合を介して基体に付着している、本発明1353の方法。

[本 発 明 1356]

結合物質が直接標識されている、本発明1352の方法。

[本 発 明 1357]

結合物質が間接的に標識されている、本発明1352の方法。

[本 発 明 1358]

結合物質が、抗体、機能的抗体断片、またはアプタマーを含む、本発明1352の方法。

[本 発 明 1359]

間接的な標識が、微小胞抗原に対する結合物質との複合体を形成する標識された結合物質を含む、本発明1357の方法。

[本 発 明 1360]

微小胞抗原が、表3、表4、または表26から選択される、本発明1352の方法。

[本 発 明 1361]

微小胞抗原が、テトラスパニン、CD9、CD63、CD81、またはこれらの任意の組み合わせである、本発明1352の方法。

[本 発 明 1362]

スパッターコーティングが金および/またはパラジウムコーティングを含む、本発明1352の方法。

[本 発 明 1363]

スパッターコーティングが炭素コーティングを含む、本発明1352の方法。

[本 発 明 1364]

SEMが、微小胞を可視化するための二次電子（SE）モード、および/または標識を可視化するための後方散乱電子（BSE）モードを含む、本発明1352の方法。

[本 発 明 1365]

標識が金を含む、本発明1352～1364のいずれかの方法。

[本 発 明 1366]

- i. 微小胞が、工程（a）の前に共有結合を介して基体に付着しており；
 - ii. 微小胞抗原に対する結合物質が、間接的に標識された抗体であり、該間接的な標識が、微小胞抗原に対する抗体と複合体を形成する金標識抗体を含み；
 - iii. 微小胞抗原がCD9であり；
 - iv. スパッターコーティングが炭素コーティングを含み；かつ
 - v. SEMが、微小胞を可視化するための二次電子（SE）モード、および/または標識を可視化するための後方散乱電子（BSE）モードを含む
- 、本発明1352の方法。