

【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】令和2年8月20日(2020.8.20)

【公表番号】特表2019-523419(P2019-523419A)

【公表日】令和1年8月22日(2019.8.22)

【年通号数】公開・登録公報2019-034

【出願番号】特願2019-504728(P2019-504728)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/543 5 2 1

G 0 1 N 33/543 5 4 1

【手続補正書】

【提出日】令和2年7月9日(2020.7.9)

【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】

少なくとも1つの検体を潜在的に含有するサンプルのデジタル計数分析方法であって、サンプルは、複数の個別の捕獲部位を有する固相と接触しており、各部位は、少なくとも1つの検体を捕獲可能であり、

該方法は、同じ検体が標識剤で標識化または再標識化される少なくとも2つの検出サイクルを含み、各検出サイクルは、

a) 捕獲され標識化または再標識化された検体からの信号を起動するステップと、

b) 捕獲され標識化または再標識化された検体からの信号を示す、捕獲部位の数および位置の記録ステップと、

c) 追加の検出サイクルが行われる前に、信号を非活性化するステップと、を含み、

該信号の非活性化ステップは、

i) 捕獲された検体から標識剤を分離して除去するステップ、

i i) 標識剤が信号を促進する能力を非活性化させるステップ、または

i i i) (i) および (i i) の組合せ、から選択される、方法。

【請求項2】

サンプルおよび複数の個別の捕獲部位を有する固相は、少なくとも1つの検体の捕獲前または捕獲中に区画化される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

捕獲された検体および標識剤は、少なくとも1つの検体の標識化の前または標識化の間に区画化される、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

検体は、ステップa)の前に各検出サイクルにおける標識化ステップにおいて標識剤を添加することによって、標識化される、請求項1~3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

固相上の検体の捕獲前または捕獲中に標識化ステップにおいて標識剤を添加することによって、捕獲された検体が標識化され、ステップc)は、追加の検出サイクルが行われる前に行われ、続いて再標識化ステップが行われ、捕獲された検体は標識剤を添加することによって標識化される、請求項1~4のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

捕獲され標識化された検体は、区画化され、少なくとも1つの検体を含む液体区画を生成する、請求項1～5のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

サンプルは、ターゲット検体および非ターゲット化合物を含み、または潜在的に含み、ターゲット検体は、捕獲部位によって捕獲効率 C_1 で捕獲され、非ターゲット化合物は、捕獲部位によって捕獲効率 C_2 ($C_1 < C_2$) で捕獲され、ターゲット検体は、第1標識剤によって標識効率 L_1 で標識化され、非ターゲット化合物は、第1標識剤によって標識効率 L_2 ($L_1 < L_2$) で標識化され、検出サイクル数 N_c は、下記の式で示す比 α が、

【数1】

$$\alpha = \frac{C_1 L_1^{N_c}}{C_2 L_2^{N_c}}$$

1～10の間、好ましくは10～100の間、好ましくは100～1000の間、好ましくは1000～10000の間、好ましくは1000～10000の間、好ましくは1000～10000の間、好ましくは1000～10000の間、好ましくは1000～10000より大きいように調整され、そして各検出サイクルは、標識化ステップにおいて第1標識剤を適用する、請求項1～6のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

該方法は、偽ポジティブ検出サイクルを含み、標識化ステップにおいて第1標識剤の代わりに第2標識剤が適用され、非ターゲット化合物は、標識効率 L_1 で第2標識剤によって標識化され、ターゲット検体は、第2標識剤によって標識効率 L_2 ($L_1 < L_2$) で標識化される、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

該方法は、偽ポジティブ検出サイクルを含み、該偽ポジティブ検出サイクルは、いずれの標識化ステップを含まない、請求項1～8のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

サンプルから少なくとも1つの検体の捕獲は、検体に特異的な1つ以上の捕獲プローブを使用することによるものであり、捕獲プローブは固相に付着されている、請求項1～9のいずれかに記載の方法。

【請求項 11】

標識剤は、捕獲された検体からの分離によって非活性化され、洗浄によって除去される、請求項1～10のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

捕獲した検体は、捕獲に続いて、捕獲プローブと共有結合する、請求項1～11のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

サンプルの単一分子デジタル計数分析において偽ポジティブ検出及び/又はバックグラウンドノイズの低減のための、請求項1～12のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

請求項1～13のいずれかに記載の方法における、複数の個別の捕獲部位を有する固相の使用であって、各部位は、少なくとも1つの検体を捕獲可能である、使用。

【請求項 15】

請求項1～13のいずれかに記載の方法における、複数の個別の捕獲部位を有する固相の使用であって、各部位は、デジタル計数分析における計数誤差を減少させるために、例えば、偽ポジティブ検出及び/又はバックグラウンドノイズの低減のために、少なくとも1つの検体を捕獲可能である、使用。