

【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6年10月22日(2024.10.22)

【国際公開番号】WO2022/080343
 【出願番号】特願2022-556986(P2022-556986)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68(2018.01)

C 1 2 M 1/00(2006.01)

C 1 2 M 1/34(2006.01)

C 1 2 N 15/11(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 M 1/34 Z

C 1 2 N 15/11 Z

【手続補正書】

【提出日】令和6年10月11日(2024.10.11)

【手続補正1】

20

【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】

標的核酸を含有する試料、エフェクタータンパク質、前記標的核酸に結合する c r R N A、レポーター分子、およびアミノ化合物を複数の個別独立分離区画に分配する分配部と；

前記 c r R N A の前記標的核酸への結合によって前記エフェクタータンパク質を活性化する活性化部と；

活性化された前記エフェクタータンパク質によって前記レポーター分子を改変して蛍光を生成する蛍光生成部と；

前記蛍光を検出する蛍光検出部と；

前記蛍光検出部で得られた検出結果に基づいて、前記個別独立分離区画の蛍光強度を決定し、所定の閾値を超えた蛍光強度を有する個別独立分離区画を特定する特定部と；

を有することを特徴とする核酸検出装置。

30

【請求項2】

前記蛍光検出部は、前記個別独立分離区画を含む画像を取得する画像取得部である請求項1に記載の核酸検出装置。

40

【請求項3】

前記特定部は、前記画像取得部で取得された前記画像を処理することにより、前記所定の閾値を超えた蛍光強度を有する個別独立分離区画を特定する請求項2に記載の核酸検出装置。

【請求項4】

前記エフェクタータンパク質が C a s 1 2 または C a s 1 3 のいずれかである請求項1乃至3のいずれか1項に記載の核酸検出装置。

【請求項5】

前記アミノ化合物が、- N H ₂ を有する請求項1乃至4のいずれか1項に記載の核酸検出装置。

50

- 【請求項 6】
前記アミノ化合物が、 $-NH_2$ と $-NH-$ とを各々1つ以上有する請求項5に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 7】
前記アミノ化合物が、スベルミンである請求項6に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 8】
前記エフェクタータンパク質は、粒子と結合している請求項1乃至7のいずれか1項に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 9】
前記エフェクタータンパク質と、前記粒子との結合部は、前記粒子と結合したカルボキシ基に由来する構造を有する、請求項8に記載の核酸検出装置。 10
- 【請求項 10】
前記エフェクタータンパク質が、前記エフェクタータンパク質のN末端を介して前記粒子と結合している請求項8または9に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 11】
前記エフェクタータンパク質と、前記粒子とは、アミド結合を介して結合している請求項8乃至10のいずれか1項に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 12】
前記エフェクタータンパク質と、前記粒子とは、リンカーを介して結合している請求項8乃至11のいずれか1項に記載の核酸検出装置。 20
- 【請求項 13】
前記リンカーは、6個以上11個以下のヒスチジンが連続してなるペプチドを有する請求項12に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 14】
前記リンカーは、前記ペプチドと抗原抗体反応によって結合する抗体を有する請求項13に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 15】
前記リンカーは、前記ペプチドと結合する金属錯体を有する請求項13に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 16】
前記金属錯体は、ニトリロトリ酢酸またはイミノジ酢酸と、二価のニッケルイオンとの錯体である請求項15に記載の核酸検出装置。 30
- 【請求項 17】
前記リンカーはポリエチレングリコールを有する請求項12に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 18】
前記リンカーはビオチンとアビジンとの複合体を有する請求項12に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 19】
前記粒子の粒径は $1\mu m$ 以上 $10\mu m$ 以下である請求項8乃至18のいずれか1項に記載の核酸検出装置。 40
- 【請求項 20】
前記分配部は、回収部を有し、
前記回収部は、前記粒子と結合した前記エフェクタータンパク質と、前記c r R N Aと、が結合して形成された複合粒子を用いて前記標的核酸を回収する、請求項8乃至19のいずれか1項に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 21】
前記個別独立分離区画が液滴である請求項1乃至20のいずれか1項に記載の核酸検出装置。
- 【請求項 22】
前記個別独立分離区画がウェルである請求項1乃至20のいずれか1項に記載の核酸検 50

出装置。

【請求項 23】

前記個別独立分離区画の体積が 0.1 fL 以上 1000 fL 以下である請求項 1 乃至 2.2 のいずれか 1 項に記載の核酸検出装置。

【請求項 24】

前記個別独立分離区画の体積が、0.5 fL 以上 400 fL 以下である請求項 1 乃至 2.3 のいずれか 1 項に記載の核酸検出装置。

【請求項 25】

前記特定部は、基準区画における蛍光強度と、前記個別独立分離区画における蛍光強度との比に基づいて、前記所定の閾値を超えた蛍光強度を有する個別独立分離区画を特定するように構成されている請求項 1 乃至 2.4 のいずれか 1 項に記載の核酸検出装置。 10

【請求項 26】

前記基準区画における蛍光強度は、前記標的核酸を含まない試料、前記エフェクタータンパク質、前記標的核酸に結合する crRNA、前記レポーター分子、および前記アミノ化合物を用いて取得された蛍光強度である請求項 2.5 に記載の核酸検出装置。

【請求項 27】

標的核酸を含有する試料、エフェクタータンパク質、前記標的核酸に結合する crRNA、およびレポーター分子を複数の個別独立分離区画に分配する分配部と；

前記 crRNA の前記標的核酸への結合によって前記エフェクタータンパク質を活性化する活性化部と； 20

活性化された前記エフェクタータンパク質によって前記レポーター分子を改変して蛍光を生成する蛍光生成部と；

前記蛍光を検出する蛍光検出部と；

前記蛍光検出部で得られた検出結果に基づいて、前記個別独立分離区画の蛍光強度を決定し、所定の閾値を超えた蛍光強度を有する個別独立分離区画を特定する特定部と；

を有し、

前記エフェクタータンパク質は、リンカーを介して粒子と結合しており、前記リンカーは、6 個以上 11 個以下のヒスチジンが連続してなるペプチドを有することを特徴とする核酸検出装置。 30

【請求項 28】

標的核酸を含有する試料、エフェクタータンパク質、前記標的核酸に結合する crRNA、レポーター分子、およびアミノ化合物を複数の個別独立分離区画に分配する分配工程と；

前記 crRNA の前記標的核酸への結合によって前記エフェクタータンパク質を活性化する活性化工程と；

活性化された前記エフェクタータンパク質によって前記レポーター分子を改変して蛍光を生成する蛍光生成工程と；

前記蛍光を検出する蛍光検出工程と；

前記蛍光を検出する工程で得られた検出結果に基づいて、前記個別独立分離区画の蛍光強度を決定し、所定の閾値を超えた蛍光強度を有する個別独立分離区画を特定する特定工程と、 40

を有することを特徴とする核酸の検出方法。

【請求項 29】

前記エフェクタータンパク質は、粒子と結合しており、

前記分配工程は、前記粒子と結合した前記エフェクタータンパク質と、前記 crRNA と、が結合して形成された複合粒子を用いて前記標的核酸を回収する回収工程を含む、請求項 28 に記載の核酸の検出方法。

【請求項 30】

請求項 28 または 29 に記載の核酸の検出方法を核酸検出装置に実行させるために、前記核酸検出装置が有するコンピュータに実行させるためのプログラム。 50