

【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】平成23年12月15日(2011.12.15)

【公表番号】特表2010-508513(P2010-508513A)

【公表日】平成22年3月18日(2010.3.18)

【年通号数】公開・登録公報2010-011

【出願番号】特願2009-534711(P2009-534711)

【国際特許分類】

G 01 N 33/543 (2006.01)

G 01 N 33/53 (2006.01)

【F I】

G 01 N 33/543 5 2 5 U

G 01 N 33/53 U

G 01 N 33/543 5 2 5 E

【手続補正書】

【提出日】平成22年10月29日(2010.10.29)

【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】

a) 不飽和である結合表面を有する固相支持体；および

b) 少なくとも1つのリガンドであって、最大未満の該リガンドが該固相支持体に連結される、リガンド、

c) タンパク質またはポリマーを含み、該固相支持体上に共有結合的にかまたは非共有結合的に固定される少なくとも1つの支持体連結器であって、飽和量未満の該支持体連結器が該固相支持体に固定され、該リガンドは、該支持体連結器に共有結合的にかまたは非共有結合的に連結される、支持体連結器、および

d) 少なくとも2つの親水性テール基が隣接している疎水性頭部基を含むブロックコポリマーであって、該疎水性の頭部基が前記アッセイ支持体と接触する、ブロックコポリマ

二

を含む、親和性結合支持体。

【請求項2】

前記支持体がマイクロ粒子の形態であり、前記不飽和である結合表面が、前記アッセイ支持体1ミリグラムあたり $0.5 \times 10^{-4}$ から $10 \times 10^{-4}$ マイクロモルのリガンド、または該アッセイ支持体1平方メートルあたり $0.5 \times 10^{-2}$ から $2.0 \times 10^{-1}$ マイクロモルのリガンドを有し、好ましくは、該アッセイ支持体1ミリグラムあたり $1.0 \times 10^{-4}$ から $5.5 \times 10^{-4}$ マイクロモルのリガンド、または該アッセイ支持体1平方メートルあたり $1.0 \times 10^{-2}$ から $2.0 \times 10^{-1}$ マイクロモルのリガンドを有している、請求項1に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項3】

前記リガンドと結合した少なくとも1つのリガンド結合基がさらに含まれている、請求項1または2に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項4】

前記リガンド結合基が少なくとも2価であり、該2価のリガンド結合基に、 streptavidin、avidin、biotin、biotinylated streptavidin、streptavidin biotin complexの断片、avidin biotin complexの断片

、ニュートラアビジンの断片、またはそれらの組み合わせが含まれている、請求項<sub>3</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項5】

前記リガンド結合基と結合した捕捉部分がさらに含まれている、請求項<sub>4</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項6】

前記捕捉部分が、前記アッセイ支持体1平方メートルあたり $1.0 \times 10^{-4}$ マイクロモルから1平方メートルあたり $2.0 \times 10^{-2}$ マイクロモルまでの密度で該アッセイ支持体上に存在する、請求項<sub>5</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項7】

前記捕捉部分が前記アッセイ支持体に対して空間的配向性を持つか、または該アッセイ支持体に対して空間的配向性および物理的配向性を持つ、請求項<sub>6</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項8】

前記支持体連結器が、ウシ血清アルブミン、ウシ血清アルブミンの断片、オボアルブミン、オボアルブミンの断片、またはそれらの混合物のうちの少なくとも1つから選択されるタンパク質または融合タンパク質を含む、請求項<sub>1</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項9】

前記リガンドにビオチンが含まれている、請求項1～<sub>8</sub>のいずれか一項に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項10】

前記支持体連結器が、5：1未満または5：1に等しい、好ましくは、3：1未満または3：1に等しい、ビオチン対支持体連結器のモル取り込み比が得られるようにビオチン化されている、請求項<sub>1</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項11】

前記リガンドがビオチンであり、前記リガンド結合基が少なくとも2価であり、該少なくとも2価のリガンド結合基に、ストレプトアビジン、アビジン、ニュートラアビジン、ストレプトアビジンの断片、アビジンの断片、ニュートラアビジンの断片、またはそれらの組み合わせが含まれ、前記捕捉部分がビオチン化され、かつ少なくとも1つの抗体、抗体の結合断片、受容体、受容体のリガンド、ホルモン、ホルモンの受容体、酵素、酵素の基質、1本鎖のオリゴヌクレオチド、2本鎖のオリゴヌクレオチド、1本鎖のポリヌクレオチド、2本鎖のポリヌクレオチド、抗原、ペプチド、およびタンパク質からなる群より選択される、請求項<sub>5</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項12】

前記ビオチン化された捕捉部分にスペーサーが含まれている、請求項<sub>11</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項13】

前記固相支持体に、マイクロ粒子、ビーズ、マイクロタイタープレート、コーティングされたチューブ、マイラーが裏打ちされたニトロセルロース支持体、ナイロン支持体、微小管、ナノ粒子、ナノチューブ、または常磁性もしくは超常磁性物質が含まれる、請求項1～<sub>12</sub>のいずれか一項に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項14】

前記リガンド結合基と結合した少なくとも1つの第2の捕捉部分がさらに含まれている、請求項<sub>4</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項15】

前記リガンド結合基が、前記アッセイ支持体1平方メートルあたり $1.0 \times 10^{-2} \sim 5.0 \times 10^{-2}$ マイクロモルの密度で該アッセイ支持体上に存在する、請求項<sub>3</sub>に記載の不飽和である親和性結合支持体。

【請求項16】

前記少なくとも 1 つの支持体連結器が、前記アッセイ支持体 1 平方メートルあたり  $1.2 \times 10^{-2}$  マイクロモルから 1 平方メートルあたり  $7.5 \times 10^{-2}$  マイクロモルの密度で該アッセイ支持体上に存在する、請求項1に記載の不飽和である親和性結合支持体。

#### 【請求項 17】

前記リガンドがビオチンまたはその誘導体であり、該ビオチンまたはその誘導体が、前記アッセイ支持体 1 平方メートルあたり  $1.6 \times 10^{-2}$  から  $2.0 \times 10^{-1}$  マイクロモルの密度で存在する、請求項1に記載の不飽和である親和性結合支持体。

#### 【請求項 18】

前記支持体連結器が、前記支持体と共有結合したビオチン化タンパク質またはビオチン化融合タンパク質であって、ここで、タンパク質または融合タンパク質 1 モルあたり 5 モル未満のビオチンが結合し、さらに：

a ) 該ビオチンと結合したビオチン結合部分であって、該ビオチン結合部分は少なくとも 2 倍である、ビオチン結合部分；

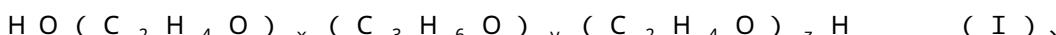
b ) 該ビオチン結合部分と結合したビオチン化された捕捉部分；および

c ) 該支持体と接触するブロックコポリマーであって、該ブロックコポリマーには、少なくとも 2 つのポリエチレンオキサイドテール基が隣接しているポリプロピレンオキサイド頭部基が含まれており、該ポリプロピレンオキサイド頭部基は該支持体と接触する、ブロックコポリマー

が含まれている、請求項 2 に記載の不飽和であり配向性を持つ親和性結合支持体。

#### 【請求項 19】

前記ブロックコポリマー中の 2 つ以上の親水性テールの長さが、それぞれ独立して、前記疎水性頭部基の長さの約 2 倍から約 2.5 倍であり得、好ましくは、式 I :



の構造が含まれ、式中、 $x$  は約 100 から約 135 であり、 $y$  は約 40 から約 75 であり、そして  $z$  は約 100 から約 135 であり、該ブロックコポリマーが約 9,000 ダルトンから約 18,000 ダルトンの平均分子量を有している、請求項8に記載の親和性結合支持体。

#### 【請求項 20】

請求項1に記載の不飽和である親和性結合支持体を調製する方法であって、該方法は、

a ) 支持体連結器とリガンドを、リガンド：：支持体連結器複合体の混合物が得られるように選択されたリガンド対支持体連結器の比で共有結合的にかもしくは非共有結合的に連結する工程；および

b ) リガンド：：支持体連結器複合体の不飽和である密度が生じるように、該リガンド：：支持体連結器複合体を該固相支持体に共有結合させる工程を包含する、方法。

#### 【請求項 21】

前記リガンド：：支持体連結器複合体を前記アッセイ支持体と共有結合させた後に、該アッセイ支持体に、アッセイ支持体 1 平方メートルあたり約  $1.0 \times 10^{-2}$  マイクロモルのリガンドからアッセイ支持体 1 平方メートル当たり約  $2.0 \times 10^{-1}$  マイクロモルのリガンドが含まれる、請求項 20 に記載の方法。

#### 【請求項 22】

前記支持体連結器が、ウシ血清アルブミン、ウシ血清アルブミンの断片、オボアルブミン、オボアルブミンの断片、またはそれらの混合物であり、そして前記リガンドがビオチンであり、そして該ウシ血清アルブミン、ウシ血清アルブミンの断片、オボアルブミン、オボアルブミンの断片、またはそれらの混合物が、5 : 1 未満または 5 : 1 に等しいビオチン：：支持体連結器のモル取り込み比が得られるようにビオチン化される、請求項 21 に記載の方法。

#### 【請求項 23】

a ) 前記固相支持体を複数のブロックコポリマー分子と接触させる工程であって、該ブロックコポリマー分子には、少なくとも 2 つの親水性テール基が隣接している疎水性頭部

基が含まれる、工程、ならびに

b ) 該親和性結合支持体をリガンド結合基で、該親和性結合支持体を前記リガンド：：支持体連結器複合体の該リガンドと結合するリガンド結合基に曝露させることによってコーティングする工程

による、不飽和であり配向性を持つ親和性結合支持体を調製する工程をさらに包含する、請求項 2\_0 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記親和性結合支持体が、コーティングされ、分散したマイクロ粒子の集団を含む、請求項 2\_3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

請求項 1 に記載の不飽和である親和性結合支持体を調製する方法であって、該方法は、

a ) リガンド：：支持体連結器複合体、およびリガンドを欠く支持体連結器を含む空間充填部分を含む、分析物に結合する部分の混合物を調製する工程であって、該分析物に結合する部分は、目的の分析物と直接または間接的のいずれかで結合し、該空間充填部分は、目的の分析物とは直接または間接的のいずれでも結合しない、工程；ならびに

b ) 該分析物に結合する部分と該空間充填部分がアッセイ支持体と結合して、該アッセイ支持体と結合した分析物に結合する部分の量と比較して飽和していない、不飽和であるアッセイ結合表面を形成するように、該混合物を該アッセイ支持体に曝露させる工程、を包含する、方法。

【請求項 2 6】

前記不飽和であるアッセイ結合表面にロックコポリマーがさらに含まれており、該ロックコポリマーには、少なくとも 2 つの親水性テール基が隣接している疎水性の頭部基が含まれている、請求項 2\_5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

分析物の親和性アッセイにおける請求項 5 に記載の不飽和であるアッセイ結合支持体の使用であって、該親和性アッセイは、

該不飽和である親和性結合支持体を該分析物と接触させる工程であって、捕捉部分が特異的に該分析物に結合する、工程、ならびに、

該分析物の不飽和であるアッセイ結合表面との結合を検出する工程、を包含する、使用。

【請求項 2 8】

分析物特異的な前記捕捉部分がビオチン化される、請求項 2\_7 に記載の使用。

【請求項 2 9】

前記親和性アッセイが免疫測定法である、請求項 2\_8 に記載の使用。