

【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 3 年 4 月 1 日 (2021.4.1)

【公表番号】特表 2020-511629 (P2020-511629A)

【公表日】令和 2 年 4 月 16 日 (2020.4.16)

【年通号数】公開・登録公報 2020-015

【出願番号】特願 2019-543321 (P2019-543321)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/536 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)

C 1 2 Q 1/686 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6839 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6876 (2018.01)

C 1 2 Q 1/25 (2006.01)

C 1 2 Q 1/44 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 N 9/00 (2006.01)

【 F I 】

G 0 1 N 33/536 Z N A E

G 0 1 N 33/53 M

C 1 2 Q 1/68

C 0 7 K 16/18

C 1 2 Q 1/6851 Z

C 1 2 Q 1/686 Z

C 1 2 Q 1/6839 Z

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 1 2 Q 1/6876 Z

C 1 2 Q 1/25

C 1 2 Q 1/44

C 1 2 N 15/09 2 0 0

C 1 2 N 9/16 Z

C 1 2 N 9/00

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 2 月 16 日 (2021.2.16)

【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】

試料分析のための方法であって、

(a) 標的分析物を含む試料を、

(i) 結合剤および第 1 のスプリントオリゴヌクレオチドを含む第 1 のコンジュゲート、ならびに

(i i) 結合剤および第 2 のスプリントオリゴヌクレオチドを含む第 2 のコンジュゲートと共に、

前記第 1 および第 2 のコンジュゲートの前記結合剤の前記標的分析物への結合に好適な条件下でインキュベートし、生成物を生成することであって、

前記第 1 および第 2 のコンジュゲートが、親和性精製され、第 1 の部分および第 2 の部分に分割され、前記第 1 のスプリントオリゴヌクレオチドおよび前記第 2 のスプリントオリゴヌクレオチドにそれぞれコンジュゲートされたポリクローナル抗体であることと、

(b) ステップ (a) の前記生成物の少なくとも一部を、

(i) プローブが前記第 1 および第 2 のスプリントオリゴヌクレオチドにハイブリダイズした場合にのみライゲーション可能な環を生成する前記プローブのセット、ならびに

(i i) リガーゼと共にインキュベートし、

共有結合性閉環状分子を含む反応混合物を生成することと、

(c) ステップ (b) の前記反応混合物の少なくとも一部をエキソヌクレアーゼで処理して、前記ライゲーションを終了し、共有結合性閉環状分子ではないいずれの核酸も分解することと、

(d) ステップ (c) の後、ステップ (b) で生成された共有結合性閉環状分子の量を定量化することと、を含む、方法。

【請求項 2】

前記定量化ステップ (d) が、定量的 P C R、デジタル P C R、マイクロアレイへのハイブリダイゼーション、またはシーケンシングによって行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記定量的 P C R に使用されるプライマーが、(d) の前記共有結合性閉環状分子の前記ライゲーションの接合部を標的とする、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

ステップ (d) が、ローリングサークル増幅 (R C A) により前記共有結合性閉環状分子を増幅して R C A 生成物を生成することを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記方法が、前記 R C A 生成物を計数することを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ (a) ~ (c) の前記反応が、同じ容器中で行われる、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

ステップ (b) が、ステップ (a) の前記生成物を含む前記容器に前記プローブのセットおよびリガーゼを添加することを含み、ステップ (c) が、ステップ (b) の前記ライゲーションの生成物を含む前記容器に 1 つ以上のエキソヌクレアーゼを添加することを含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

(i) 前記試料が、複数の標的分析物を含み、

(i i) ステップ (a) が、前記試料を複数の対の前記第 1 および第 2 のコンジュゲートと共にインキュベートすることを含み、各コンジュゲートの対が異なる標的分析物に結合し、

(i i i) ステップ (d) が、各標的分析物に対応する共有結合性閉環状分子の数を定量化することを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記試料が体液からのものである、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記体液が、血漿、唾液、または尿である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記標的分析物が、タンパク質である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

(i) 結合剤および第 1 のスプリントオリゴヌクレオチドを含む第 1 のコンジュゲートと、

(i i) 結合剤および第 2 のスプリントオリゴヌクレオチドを含む第 2 のコンジュゲートと、

(i i i) プローブが前記第 1 および第 2 のスプリントオリゴヌクレオチドにハイブリダイズした場合にのみライゲーション可能な環を生成する前記プローブのセットと、

(i v) 1 つ以上のエキソヌクレアーゼと、を含むキットであって、

前記第 1 および第 2 のコンジュゲートが、親和性精製され、第 1 の部分および第 2 の部分に分割され、前記第 1 のスプリントオリゴヌクレオチドおよび前記第 2 のスプリントオリゴヌクレオチドにそれぞれコンジュゲートされたポリクローマル抗体である、キット。

【請求項 1 3】

リガーゼをさらに含む、請求項 1 2 に記載のキット。

【請求項 1 4】

定量的 P C R (q P C R) 分析を行うためのプライマーをさらに含む、請求項 1 2 または 1 3 に記載のキット。