

【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つて、

(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PCR、デジタルPCR、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PCR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增幅(RCA)により前記共有結合性閉環状分子を增幅してRCA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RCA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 ~ 10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ナル抗体である、キット。

【請求項 1 3】

リガーゼをさらに含む、請求項 12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 12または 13に記載のキット。