

【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 17 年 4 月 7 日 (2005.4.7)

【公開番号】特開 2003-185668 (P2003-185668A)

【公開日】平成 15 年 7 月 3 日 (2003.7.3)

【出願番号】特願 2002-298010 (P2002-298010)

【国際特許分類第 7 版】

G 0 1 N 33/569

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 Q 1/70

G 0 1 N 21/78

【F I】

G 0 1 N 33/569 B

G 0 1 N 33/569 A

G 0 1 N 33/569 G

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 Q 1/70

G 0 1 N 21/78 C

【手続補正書】

【提出日】平成 16 年 5 月 20 日 (2004.5.20)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生物学的分析対象物の分類学的同定のための方法であって、

(a) 分析対象物を含有する溶液を、光安定なリンカーで少なくとも 15 離して基材表面に共有結合的にテザーした、所望の前記分析対象物に対する特異的リガンドに曝露して微生物を捕捉するステップと、

(b) 結合した分析対象物を、前記分析対象物を含有する溶液中の非結合成分から物理的分離、洗浄、あるいはその両者によって分離するステップと、

(c) リガンドがテザーしている基材表面を分析対象物の結合に関して調べるステップとを含む方法。

【請求項 2】

請求項 1 記載の方法であって、生物学的分析対象物が、

(a) 細菌と、

(b) ウイルスと、

(c) リケッチアと、

(d) 原生動物と、

(e) 菌類とから成る群から選択される方法。

【請求項 3】

請求項 1 記載の方法であって、前記リガンドがヘム化合物である方法。

【請求項 4】

請求項 1 記載の方法であって、前記リガンドがシデロフォアである方法。

【請求項 5】

請求項 1 記載の方法であって、前記リガンドが多糖類である方法。

**【請求項 6】**

請求項 1 記載の方法であって、前記リガンドが外膜タンパク質に特異的なペプチドである方法。

**【請求項 7】**

請求項 1 記載の方法であって、前記リガンドがコンジュゲート脂質に特異的なペプチドである方法。

**【請求項 8】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が顕微鏡法によって達成される方法。

**【請求項 9】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が標的の内因性蛍光によって達成される方法。

**【請求項 10】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの蛍光によって達成される方法。

**【請求項 11】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの蛍光によって達成される方法。

**【請求項 12】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された化学反応性放射性化合物の放射能によって達成される方法。

**【請求項 13】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された化学反応性放射性化合物の放射能によって達成される方法。

**【請求項 14】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートのルミネッセンスによって達成される方法。

**【請求項 15】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートのルミネッセンスによって達成される方法。

**【請求項 16】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの燐光によって達成される方法。

**【請求項 17】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの燐光によって達成される方法。

**【請求項 18】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの光学吸光度によって達成される方法。

**【請求項 19】**

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表

面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの光学吸光度によって達成される方法。

【請求項 20】

請求項 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、分析対象物の結合の際におこる、蛍光物質がテザーされたリガンド表面の蛍光消光によって達成される方法。

【請求項 21】

生物学的分析対象物の分類学的同定のための方法であって、

(a) 分析対象物を含有する溶液を、基材表面に共有結合的にテザーされた種々のリガンドのアレイに曝露するステップと、

(b) リガンドアレイ上の結合した分析対象物を、溶液中の非結合成分から物理的分離、洗浄、あるいはその両者によって分離するステップと、

(c) リガンドにテザーされた基材表面を分析対象物の結合に関して調べるステップとを含む方法。

【請求項 22】

請求項 21 記載の方法であって、前記アレイで利用されるリガンドが微生物捕捉のための基材表面から少なくとも 15 の距離で光安定なリンカーとテザーされる方法。

【請求項 23】

請求項 21 記載の方法であって、生物学的分析対象物が、

(a) 細菌と、

(b) ウイルスと、

(c) タンパク質トキシンと、

(d) リケッチアと、

(e) 原生動物と、

(f) 菌類と、

(g) 細胞質タンパク質とから成る群から選択される方法。

【請求項 24】

請求項 21 記載の方法であって、前記リガンドがヘム化合物である方法。

【請求項 25】

請求項 21 記載の方法であって、一以上の前記リガンドがシデロフォアである方法。

【請求項 26】

請求項 21 記載の方法であって、一以上の前記リガンドが多糖類である方法。

【請求項 27】

請求項 21 記載の方法であって、一以上の前記リガンドが外膜タンパク質に特異的なペプチドである方法。

【請求項 28】

請求項 21 記載の方法であって、一以上の前記リガンドがコンジュゲート脂質に特異的なペプチドである方法。

【請求項 29】

請求項 21 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が顕微鏡法によって達成される方法。

【請求項 30】

請求項 21 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が標的の内因性蛍光によって達成される方法。

【請求項 31】

請求項 21 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの蛍光によって達成される方法。

【請求項 32】

請求項 21 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの蛍光

によって達成される方法。

【請求項 3 3】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された化学反応性放射性化合物の放射能によって達成される方法。

【請求項 3 4】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された化学反応性放射性化合物の放射能によって達成される方法。

【請求項 3 5】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートのルミネッセンスによって達成される方法。

【請求項 3 6】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートのルミネッセンスによって達成される方法。

【請求項 3 7】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの燐光によって達成される方法。

【請求項 3 8】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの燐光によって達成される方法。

【請求項 3 9】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉に先だって試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの光学吸光度によって達成される方法。

【請求項 4 0】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、テザーされたリガンドの表面による分析対象物の捕捉の後に試料に曝露された反応性ダイ・コンジュゲートの光学吸光度によって達成される方法。

【請求項 4 1】

請求項 2 1 記載の方法であって、捕捉した分析対象物の検出が、分析対象物の結合の際に起こる、蛍光物質がテザーされたリガンド表面の蛍光消光によって達成される方法。

【請求項 4 2】

リガンドを基材表面にリンカーによってテザーするための方法であって、  
(a) シラン化合物  $[Si(R_1 R_2 R_3 R_4)]$  を酸化された(ヒドロキシ化)基材表面と反応させるステップであって、前記置換基中の一種がリガンドと反応可能な官能基を有するリンカーを含むものであるステップと、  
(b) リガンドを、リガンドが基材表面から少なくとも 15 離れて好適にテザーされるようにリンカーが選択される共有結合的に付着されたシランリンカーの官能基と反応させるステップとを含む方法。

【請求項 4 3】

請求項 4 2 記載の方法であって、 $R_1 \sim R_4$  が水素、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基、炭素数 6 ~ 12 のアリール基及び炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ基より成る群から各々選択され、 $R_1$ 、 $R_2$  及び / 又は  $R_3$  の少なくとも一種がアルコキシ基である方法。

【請求項 4 4】

請求項 4 2 記載の方法であって、 $R_4$  が少なくとも 3 個の炭素原子を含み、またリガンド

と反応可能な官能基を有する長いリンカーも含む有機基である方法。

【請求項 4 5】

請求項 4 2 記載の方法であって、リンカーを有する有機基がポリアミン、ポリエーテル、及びポリ(グリシン)を含む方法。

【請求項 4 6】

請求項 4 2 記載の方法であって、リンカー( $R_4$ )のカップリング剤官能基がエポキシ基、アミノ基、不飽和官能基、ヒドロキシル基、及びチオール基を含む方法。

【請求項 4 7】

請求項 4 2 記載の方法であって、リガンドが官能基と、好適にはオルガノシラン化合物の末端官能基と、反応する一方で、ケイ素原子に直接結合する易加水分解性アルコキシ基が基材の表面と直接反応する能力を有している方法。

【請求項 4 8】

請求項 4 2 記載の方法であって、最初に親シラン $[Si(R_1R_2R_3R_4)]$ をリガンドと反応させ、続いてアルコキシシランを基材表面と反応させることによりリガンドテザーが *in situ* で構築される方法。