

【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 7 年 4 月 16 日 (2025.4.16)

【国際公開番号】 WO2024/034371
【出願番号】 特願 2024-540350 (P2024-540350)
【国際特許分類】
G 0 1 N 3 3 / 5 3 (2 0 0 6 . 0 1)
G 0 1 N 3 3 / 5 4 3 (2 0 0 6 . 0 1)
【 F I 】
G 0 1 N 3 3 / 5 3 D
G 0 1 N 3 3 / 5 4 3 5 0 1 D

10

【手続補正書】
【提出日】 令和 7 年 2 月 3 日 (2025.2.3)
【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】

20

生体試料由来の試料に含まれる生体分子の測定方法であって、

第 1 粒子グループに属する粒子、および、第 2 粒子グループに属する粒子を準備するステップと、

前記第 1 粒子グループに対応する第 1 標識グループに属する標識、および、前記第 2 粒子グループに対応する第 2 標識グループに属する標識を準備するステップとを備え、

前記第 1 標識グループの標識および前記第 2 標識グループの標識は、互いに異なる標識特性を有し、

前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 1 標識グループの標識は、生体分子を介して結合し、

前記第 2 粒子グループの粒子および前記第 2 標識グループの標識は、生体分子を介して結合し、

前記各粒子グループは、複数の粒子サブグループを含み、

前記各粒子グループにおいて、複数の粒子サブグループは粒子サイズが互いに異なり、

前記第 1 粒子グループの複数の粒子サブグループの粒子および前記第 2 粒子グループの複数の粒子サブグループの粒子は、互いに異なる種類の生体分子と特異的に結合する第 1 結合部を有し、

前記測定方法は、さらに、

前記試料と、前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子グループの粒子と、前記第 1 標識グループの標識および前記第 2 標識グループの標識とを混合させるステップと、

前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子グループの粒子と、前記第 1 標識グループの標識および前記第 2 標識グループの標識とに生体分子を特異的に結合させるステップと、

前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子グループの粒子の各々を、粒子サイズに基づいて分離するステップと、

粒子サイズに基づいて分離した、前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子グループの粒子の各々に生体分子を介して結合している標識の標識特性を検出するステップと、

粒子サイズおよび標識特性に基づいて、前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒

50

子グループの粒子に結合している生体分子の種類を判定するステップとを備える、測定方法。

【請求項 2】

前記生体分子の種類を判定した結果に基づいて、生体分子の種類ごとの量を計測するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の測定方法。

【請求項 3】

生体分子の種類ごとの量に基づいて、疾患を診断する、または、治療効果を判定するステップをさらに備える、請求項 2 に記載の測定方法。

【請求項 4】

前記各粒子グループの粒子は、粒子本体をさらに含み、

10

前記各標識グループの標識は、標識部と、生体分子と特異的に結合する第 2 結合部とを含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

【請求項 5】

標識部は、蛍光物質、放射性同位体、所定の吸光度を示す物質の少なくとも 1 つを含む、請求項 4 に記載の測定方法。

【請求項 6】

生体分子はタンパク質を含み、

第 1 結合部は、前記タンパク質に結合する抗体を含み、

第 2 結合部は、前記タンパク質における、第 1 結合部の結合部位とは異なる部位に結合する抗体を含む、請求項 4 に記載の測定方法。

20

【請求項 7】

生体分子は、核酸および代謝物の少なくとも 1 つを含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

【請求項 8】

前記各粒子グループの粒子は、無機材料および樹脂材料の少なくとも 1 つを含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

【請求項 9】

前記無機材料は、金およびシリカの少なくとも 1 つを含む、請求項 8 に記載の測定方法。

【請求項 10】

30

前記樹脂材料は、ポリスチレンを含む、請求項 8 に記載の測定方法。

【請求項 11】

前記分離するステップは、遠心 F F F (Field Flow Fraction) 法、A F 4 (Asymmetrical Flow Field Flow Fraction) 法、および、サイズ排除クロマトグラフィーの少なくとも 1 つを用いて、粒子サイズに基づいて粒子を分離するステップを含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

【請求項 12】

前記標識特性を検出するステップは、複数の蛍光検出器または多波長蛍光検出器を用いる、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

【請求項 13】

40

前記標識特性を検出するステップは、キャリア中に混合された前記各粒子グループの粒子に励起光を照射するステップを含み、

前記粒子を準備するステップは、前記各粒子グループの粒子と前記キャリアとを準備するステップを含み、

前記各粒子グループの粒子と前記キャリアとを準備するステップは、前記各粒子グループの粒子の屈折率と、前記キャリアの屈折率との差が、所定の数値以下である、前記各粒子グループの粒子と前記キャリアとを準備するステップを含む、請求項 12 に記載の測定方法。

【請求項 14】

前記標識特性を検出するステップは、前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子

50

グループの粒子の各々に結合する標識の標識特性の検出値を補正するステップをさらに含む、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の測定方法。

【請求項 15】

前記補正するステップは、

前記各粒子グループの複数の粒子サブグループの各々の粒子サイズに対応するサイズの第 1 補正用粒子を準備するステップと、

各粒子サイズについて、標識部を結合させていない状態の前記第 1 補正用粒子の標識特性を検出するステップと、

各粒子サイズについて、前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子グループの粒子に結合する標識部の標識特性の検出値を、前記第 1 補正用粒子の標識特性の検出値に基づいて補正するステップを含む、請求項 14 に記載の測定方法。

10

【請求項 16】

前記第 1 補正用粒子の標識特性を検出するステップは、

各粒子サイズについて、第 1 結合部を含む前記第 1 補正用粒子に対し、生体分子および第 2 結合部を結合させた状態で、標識特性を検出するステップとを含む、請求項 15 に記載の測定方法。

【請求項 17】

前記検出するステップは、

前記各粒子グループの複数の粒子サブグループの各々の粒子サイズと互いに異なる粒子サイズを有する第 2 補正用粒子について、標識部を結合させていない状態の標識特性を検出するステップを含み、

20

前記補正するステップは、

前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子グループの粒子に結合する標識の標識特性の検出値を、前記第 2 補正用粒子の標識特性の検出値に基づいて補正するステップとを含む、請求項 14 に記載の測定方法。

【請求項 18】

前記第 2 補正用粒子の標識特性の検出値に基づいて補正するステップは、

前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 2 粒子グループの粒子に結合する標識の標識特性の検出結果を、前記第 2 補正用粒子の標識特性のピーク面積を基に算出した補正係数を用いて補正するステップを含む、請求項 17 に記載の測定方法。

30

【請求項 19】

生体試料由来の試料に含まれる生体分子の測定方法であって、

第 3 粒子グループに属する粒子、および、第 4 粒子グループに属する粒子を準備するステップと、

前記第 3 粒子グループに対応する第 3 標識グループに属する標識、および、前記第 4 粒子グループに対応する第 4 標識グループに属する標識を準備するステップとを備え、

前記第 3 粒子グループに属する粒子および前記第 4 粒子グループの粒子は、互いに異なる粒子特性を有し、

前記第 3 粒子グループの粒子および前記第 3 標識グループの標識は、生体分子を介して結合し、

40

前記第 4 粒子グループの粒子および前記第 4 標識グループの標識は、生体分子を介して結合し、

前記各粒子グループは、複数の粒子サブグループを含み、

前記各粒子グループにおいて、複数の粒子サブグループは粒子サイズが互いに異なり、

前記第 3 粒子グループの複数の粒子サブグループの粒子および前記第 4 粒子グループの複数の粒子サブグループの粒子は、互いに異なる種類の生体分子と特異的に結合する第 3 結合部を有し、

前記測定方法は、さらに、

前記試料と、前記第 3 粒子グループの粒子および前記第 4 粒子グループの粒子と、前記第 3 標識グループの標識および前記第 4 標識グループの標識とを混合させるステップと、

50

前記第 3 粒子グループの粒子および前記第 4 粒子グループの粒子と、前記第 3 標識グループの標識および前記第 4 標識グループの標識とに生体分子を特異的に結合させるステップと、

前記第 3 粒子グループの粒子および前記第 4 粒子グループの粒子の各々を、粒子サイズに基づいて分離するステップと、

粒子サイズに基づいて分離した、前記第 3 粒子グループの粒子および前記第 4 粒子グループの粒子の各々について、粒子特性と、生体分子を介して結合している標識の標識特性とを検出するステップと、

粒子サイズ、粒子特性および標識特性に基づいて、前記第 3 粒子グループの粒子および前記第 4 粒子グループの粒子に結合している生体分子の種類を判定するステップとを備える、測定方法。

10

【請求項 20】

前記粒子特性は、蛍光スペクトルのパターン、放射性スペクトルのパターン、吸光度スペクトルのパターンの少なくとも 1 つを含む、請求項 19 に記載の測定方法。

【請求項 21】

前記検出するステップにおいて、前記第 3 粒子グループの粒子および前記第 4 粒子グループの粒子の各々について、粒子特性の検出値と、標識特性の検出値とは判別可能である、請求項 19 または 20 に記載の測定方法。

【請求項 22】

前記第 3 標識グループの標識特性の検出値と、前記第 4 標識グループの標識特性の検出値とは同等である、請求項 19 または 20 に記載の測定方法。

20

【請求項 23】

生体試料由来の試料に含まれる生体分子の測定方法であって、

第 1 粒子グループに属する粒子を準備するステップと、

前記第 1 粒子グループに対応する第 1 標識グループに属する標識を準備するステップとを備え、

前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 1 標識グループの標識は、生体分子を介して結合し、

前記第 1 粒子グループは、複数の粒子サブグループを含み、

前記第 1 粒子グループにおいて、複数の粒子サブグループは粒子サイズが互いに異なり

30

、
前記第 1 粒子グループの複数の粒子サブグループの粒子は、互いに異なる種類の生体分子と特異的に結合する第 1 結合部を有し、

前記測定方法は、さらに、

前記試料と、前記第 1 粒子グループの粒子および前記第 1 標識グループの標識とを混合することにより、生体分子に前記第 1 粒子グループの粒子と前記第 1 標識グループの標識とを特異的に結合させるステップと、

前記第 1 粒子グループの粒子の各々を、粒子サイズに基づいて分離するステップと、

粒子サイズに基づいて分離した、前記第 1 粒子グループの粒子の各々に生体分子を介して結合している標識の標識特性を検出するステップと、

40

粒子サイズおよび標識特性に基づいて、前記第 1 粒子グループの粒子に結合している生体分子の種類を判定するステップとを備える、測定方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

本開示による測定方法によれば、複数の種類の生体分子を一度に測定する技術を提供することができる。

50

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0045

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0045】

上記したような、ナノスケールのサイズを有する金粒子およびシリカ粒子を、以下、それぞれ「金ナノ粒子」および「シリカナノ粒子」とも称する。以下、金ナノ粒子およびシリカナノ粒子を粒子本体 11 に用いるメリットを説明する。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0047

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0047】

シリカナノ粒子については、シリカは屈折率が金よりも水に近いいため、検出時に影響しうる粒子表面での散乱光が、金ナノ粒子に比べて少ない。さらに、金と異なり、特定の波長に対して高い吸光度も示さない。これにより、粒子本体 11 としてシリカナノ粒子を用いた場合、蛍光強度および吸光度に関する測定精度が高くなる。これにより、バイオマーカ 3 の定量精度が高くなる。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0064

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0064】

第 2 結合部 22 は、標識部 21 に結合される。第 2 結合部 22 は、標識 2 における、所定の種類のバイオマーカ 3 と特異的に結合するための結合部位である。これにより、標識 2 はバイオマーカ 3 に対する結合特異性を有する。なお、第 2 結合部 22 は、バイオマーカ 3 における、第 1 結合部 12 の結合部位とは異なる部位に結合する。これにより、バイオマーカ 3 に粒子 1 が結合した状態で、標識 2 も結合可能である。一実施例において、バイオマーカ 3 が所定の種類のタンパク質である場合、第 2 結合部 22 は典型的には当該所定の種類のタンパク質に結合する抗体を含む。他の実施例において、バイオマーカ 3 が所定の配列を有する核酸である場合、第 2 結合部 22 は典型的には当該所定の配列の一部である第 2 配列に対して相補的な配列を有する核酸を含む。なお、当該第 2 配列は、第 1 結合部 12 が結合する第 1 配列とは異なる配列である。さらに他の実施例において、バイオマーカ 3 が所定の種類の代謝物である場合、第 2 結合部 22 は典型的には当該所定の種類の代謝物の特定部位と特異的に結合する。当該特定部位は、当該所定の種類の代謝物の、第 1 結合部 12 に結合される部位以外の部位である。以上より、本実施形態に係る測定方法は、タンパク質、核酸および代謝物のいずれの分類に属するバイオマーカ 3 であっても、測定対象とすることができる。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0068

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0068】

本実施形態に係る測定方法においては、図 3 で詳述するように、異なるサイズの粒子本体 11 を用いる。より具体的には、分離部 8 で分級可能な複数のサイズを有する複数の粒子本体 11 を用いる。なお、本明細書において、物体の「サイズ」とは、物体の大きさ、

10

20

30

40

50

および／または、質量を示す値である。物体の大きさは、たとえば、外形の最大寸法（球状の場合は直径）、および／または、体積で表すことができる。一実施例においては、粒子本体 1 1 のサイズによらず、粒子本体 1 1 の組成は略同等であり、粒子本体 1 1 の比重も略同等である。この場合、粒子本体 1 1 の直径、体積および／または質量は各々相関する。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0086

【補正方法】変更

【補正の内容】

10

【0086】

また、図 3 の例においては、2 パターンの粒子サイズおよび 2 パターンの標識特性をマトリクス状に組み合わせた 4 パターンの粒子－標識サブグループを形成しているが、当然ながら粒子サイズおよび標識特性は必ずしもマトリクス状に組み合わせられる必要は無い。たとえば、第 1 粒子グループの粒子サブグループの粒子サイズのパターンと、第 2 粒子グループの粒子サブグループの粒子サイズの組み合わせは異なってもよい。ただし、粒子サイズのパターンと標識特性のパターンをマトリクス状に組み合わせて粒子－標識サブグループを構成した場合、全ての粒子－標識サブグループを形成するために必要な粒子サイズのパターンの数および標識特性のパターンの数を最小化できるというメリットがある。これにより、分離部 8 の粒子サイズの分離能、および、検出部 9 における標識特性の検出値の分離能を最大限利用して、最大数の粒子－標識サブグループを構成できる。すなわち、判別可能なバイオマーカの種類の数を最大にすることができる。

20

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0141

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0141】

図 10 における下段の「波長 λ_c に対する蛍光強度のグラフ」においては、第 2 補正用粒子 1 r に対応して、ピーク面積 S_r のピークが検出されている。また、標識部 2 1 c および粒子 1 c を含む標識複合体、および、標識部 2 1 c および粒子 1 d を含む標識複合体に対する、標識特性の検出結果が、ピーク面積 S_c のピークおよびピーク面積 S_d のピークとして示されている。ピーク面積 $S_a \sim S_d$ は、「補正前検出値」の一例に対応する。

30

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0160

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0160】

40

各粒子グループにおいて、複数の粒子サブグループは粒子サイズが互いに異なる。図 12 を参照して、第 3 粒子グループにおいて、粒子サブグループ a z の粒子 1 a z の粒子本体 1 1 a z の直径は、粒子サブグループ b z の粒子 1 b z の粒子本体 1 1 b z の直径よりも大きい。第 4 粒子グループにおいて、粒子サブグループ c z の粒子 1 c z の粒子本体 1 1 c z の直径は、粒子サブグループ d z の粒子 1 d z の粒子本体 1 1 d z の直径よりも大きい。これにより、各粒子グループにおける粒子サブグループは粒子サイズにより区別できる。なお、一実施例において、粒子本体 1 1 a z の直径と粒子本体 1 1 c z の直径とは同等である。また、粒子本体 1 1 b z の直径と粒子本体 1 1 d z の直径とは同等である。

【手続補正 10】

【補正対象書類名】明細書

50

【補正対象項目名】 0 1 6 4

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 1 6 4 】

これにより、変形例 2 においては、各標識サブグループの標識 2 z の標識特性は同じであってもよい。より具体的には、第 3 標識グループの標識特性の検出値と、第 4 標識グループの標識特性の検出値とは同等であってもよい。図 1 2 の例では、標識部 2 1 a z と標識部 2 1 c z は同一の検出値を示す物体であってもよく、より特定のには、同一の物体であってもよい。このように、全ての標識部において標識特性を同等に構成すると、標識部を準備するときの煩雑さが低減できる。

10

【手続補正 1 1】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 2 1 1

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 2 1 1 】

（第 1 8 項）第 1 7 項に記載の測定方法において、第 2 補正用粒子の標識特性の検出値に基づいて補正するステップは、第 1 粒子グループの粒子および第 2 粒子グループの粒子に結合する標識の標識特性の検出結果を、第 2 補正用粒子の標識特性のピーク面積を基に算出した補正係数を用いて補正するステップを含む。

20

【手続補正 1 2】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 2 2 7

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 2 2 7 】

1, 1 a ~ 1 d, 1 z, 1 a z ~ 1 d z 粒子、1 a r, 1 b r 第 1 補正用粒子、1 r 第 2 補正用粒子、2, 2 a ~ 2 d, 2 z, 2 a z ~ 2 d z 標識、3, 3 a ~ 3 d バイオマーカー、4 制御装置、5 測定装置、6 送液部、8 分離部、9 検出部、1 1, 1 1 a, 1 1 b, 1 1 a z ~ 1 1 d z 粒子本体、1 2, 1 2 a ~ 1 2 d, 1 2 z, 1 2 a z ~ 1 2 d z 第 1 結合部、2 1, 2 1 a, 2 1 c, 2 1 a z, 2 1 c z 標識部、2 2, 2 2 a ~ 2 2 d 第 2 結合部、4 0 プロセッサ、4 1 メモリ、4 2 入力部、4 3 表示部、5 1, 5 2 分析流路、6 1 容器、6 2 ポンプ、7 1 前処理部、7 2 注入部、1 0 0 測定システム。

30

40

50