

【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1部門第1区分

【発行日】平成18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2002-542794(P2002-542794A)

【公表日】平成14年12月17日(2002.12.17)

【出願番号】特願2000-614433(P2000-614433)

【国際特許分類】

C 12 N	15/09	(2006.01)
C 07 K	1/113	(2006.01)
C 12 M	1/00	(2006.01)
C 12 Q	1/68	(2006.01)
G 01 N	33/483	(2006.01)
G 01 N	33/53	(2006.01)
G 01 N	33/543	(2006.01)
G 01 N	33/547	(2006.01)
G 01 N	33/553	(2006.01)
G 01 N	33/566	(2006.01)

【F I】

C 12 N	15/00	A
C 07 K	1/113	
C 12 M	1/00	A
C 12 Q	1/68	A
G 01 N	33/483	F
G 01 N	33/53	M
G 01 N	33/543	5 9 3
G 01 N	33/547	
G 01 N	33/553	
G 01 N	33/566	

【手続補正書】

【提出日】平成17年9月27日(2005.9.27)

【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】

(a)伝導性作用面を上に有する支持体と、

(b)前記伝導性作用面上の非伝導性の自己集合単層と、ここで、最小限少なくとも1つのホスホネート基および少なくとも1つのR₁基を有するホスホネート分子を含み、前記R₁基が結合対の構成要素に共有結合しており、その単層を介して、遷移金属錯体が、前記単層上に固定された反応物から前記伝導性作用面に自由に移動して、電子を前記伝導性作用面に移動させることができる、

を含み、前記伝導性作用面がITO表面を含むことを特徴とする電極。

【請求項2】

有機スペーサー基であるR₂が、前記ホスホネート基とR₁基との間に位置している請求項1に記載の電極。

【請求項3】

R_2 が $(CH_2)_{11}$ を含む請求項 2 に記載の電極。

【請求項 4】

前記ホスホネート分子が、カルボキシアルキルホスホネートを含む請求項 1 の電極。

【請求項 5】

前記カルボキシアルキルホスホネートが、11-カルボキシウンデカンホスホン酸である請求項 4 の電極。

【請求項 6】

自己集合単層の形成前に、前記 R_1 基が、結合対の構成要素に結合された、請求項 1 に記載の電極。

【請求項 7】

前記結合対の構成要素がオリゴヌクレオチドプローブを含む、請求項 1 に記載の電極。

【請求項 8】

前記結合対の構成要素がタンパク質結合性物質を含む、請求項 1 に記載の電極。

【請求項 9】

前記タンパク質結合性物質がタンパク質を含む、請求項 8 に記載の電極。

【請求項 10】

前記 R_1 基が、カップリング剤で活性化されている、請求項 1 に記載の電極。

【請求項 11】

前記カップリング剤がカルボジイミドを含む、請求項 10 に記載の電極。

【請求項 12】

前記支持体が金属支持体および非金属支持体からなる群から選択される、請求項 1 に記載の電極。

【請求項 13】

電極上の自己集合単層を作成する方法であって、

(a) 伝導性作用面を有する支持体を準備するステップと、

(b) 最小限少なくとも1つのホスホネート基および結合対の構成要素に共有結合できる少なくとも1つの R_1 基を有するホスホネート分子を準備するステップと、ここで、自己集合単層は非伝導性であり、遷移金属錯体は、前記単層を介して、前記単層上に固定された反応物から前記伝導性作用面に自由に移動して、電子を前記伝導性作用面に移動させることができ、

(c) 前記支持体を前記ホスホネート分子に接触させて、自己集合単層を形成するステップと、

を含み、前記伝導性作用面がITO表面を含むことを特徴とする、方法。

【請求項 14】

有機スペーサー基である R_2 が、前記ホスホネート基と R_1 基との間に位置している請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

R_2 が $(CH_2)_{11}$ を含む請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記ホスホネート分子が、カルボキシアルキルホスホネートを含む請求項 13 に記載の方法。

【請求項 17】

前記カルボキシアルキルホスホネートが、11-カルボキシウンデカンホスホン酸である請求項 16 の方法。

【請求項 18】

自己集合単層の形成前に、前記 R_1 基が、結合対の構成要素に結合された、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 19】

前記結合対の構成要素がオリゴヌクレオチドプローブを含む、請求項 13 に記載の方法。

。

【請求項 20】

前記結合対の構成要素がタンパク質結合性物質を含む、請求項13に記載の方法

【請求項 21】

前記タンパク質結合性物質がタンパク質を含む、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】

前記R₁基が、カップリング剤で活性化されている、請求項13に記載の方法。

【請求項 23】

前記カップリング剤がカルボジイミドを含む、請求項22に記載の方法。

【請求項 24】

(a) 非伝導性の自己集合単層と、

(b) 前記非伝導性の自己集合単層に共有結合した第1のオリゴヌクレオチドプローブと、

(c) 前記第1のプローブと、標的核酸と、遷移金属錯体メディエーターに反応すると酸化を受けることができる合成ヌクレオチド塩基を含む第2のオリゴヌクレオチドプローブとを含むサンドイッチハイブリッド複合体と

を含む一つの電極を備えた支持体であって、前記遷移金属錯体メディエーターは、前記ハイブリッド複合体から前記電極に自由に移動することができる、支持体。

【請求項 25】

(a) 非伝導性の自己集合単層と、

(b) 前記非伝導性の自己集合単層に共有結合した第1のオリゴヌクレオチドプローブと、

(c) 前記第1のプローブと、標的核酸と、遷移金属錯体メディエーターに反応すると酸化を受けることができる合成ヌクレオチド塩基を含む第2のオリゴヌクレオチドプローブとを含むサンドイッチハイブリッド複合体と

をそれぞれが含む複数の電極を備えた支持体であって、前記遷移金属錯体メディエーターは、前記ハイブリッド複合体から前記電極に自由に移動することができる、支持体。

【請求項 26】

(a) 非伝導性の自己集合単層と、

(b) 前記非伝導性の自己集合単層に共有結合したオリゴヌクレオチドプローブと、

(c) 前記プローブと、遷移金属錯体メディエーターに反応すると酸化を受けることができる合成ヌクレオチド塩基を含む標的核酸とを含むハイブリッド複合体と

を含む電極を備えた支持体であって、前記遷移金属錯体メディエーターは、前記ハイブリッド複合体から前記電極に自由に移動することができる、支持体。

【請求項 27】

前記合成ヌクレオチド塩基が、合成グアニン塩基である請求項24、25または26に記載の支持体。

【請求項 28】

前記合成グアニン塩基が、8-オキソ-グアニンである請求項27に記載の支持体。

【請求項 29】

前記単層が、混合単層である請求項24、25または26に記載の支持体。

【請求項 30】

(a) 遷移金属錯体メディエーターを請求項24、25または26の支持体に添加して、前記合成塩基を酸化し、電子を前記メディエーターに移動させるステップであって、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(b) 前記酸化還元反応を標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含む、サンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項 31】

(a) 遷移金属錯体メディエーターを請求項24、25または26の支持体に添加して、前記合成塩基を酸化し、電子を前記メディエーターに移動させるステップであって、そ

の結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(b) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含み、前記ハイブリッドの形成に先立って、前記標的核酸が増幅され、増幅核酸を形成する、サンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項32】

前記増幅核酸が、前記合成塩基を含む請求項31の方法。

【請求項33】

前記増幅方法が、PCR、LCR及びSDAからなる群から選択される請求項31に記載の方法。

【請求項34】

(a) 遷移金属錯体メディエーターを請求項25の支持体に添加して、前記合成塩基を酸化し、電子を前記メディエーターに移動させるステップであって、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(b) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含む、サンプル中の複数の標的核酸の存在の検出方法。

【請求項35】

(a) a. 非伝導性の自己集合単層と、

b. 前記自己集合単層に共有結合したオリゴヌクレオチドプローブとを含む電極を備えた支持体を準備するステップと、

(b) 前記プローブを標的核酸とハイブリダイズさせて、予め選択された塩基を含むハイブリダイズした核酸を形成するステップと、

(c) 前記ハイブリダイゼーション複合体をメディエーターに接触させて、前記塩基を酸化させ、電子を前記メディエーターに移動させ、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(d) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含む、サンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項36】

(a) i) 非伝導性の混合自己集合単層と、

i i) 前記自己集合単層形成種に共有結合したオリゴヌクレオチドプローブとを含む電極を備えた支持体を準備するステップと、

(b) 前記プローブを標的核酸とハイブリダイズさせて、合成塩基を含むハイブリダイズした核酸を形成するステップと、

(c) 前記ハイブリダイズした核酸をメディエーターに接触させて、前記合成塩基を酸化させ、電子を前記メディエーターに移動させ、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(d) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含むサンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項37】

(a) 標的核酸を増幅させ、増幅した核酸を形成するステップと、

(b) i) 非伝導性の自己集合単層と、

i i) 前記自己集合単層に共有結合した少なくとも第一のオリゴヌクレオチドプローブとを含む電極を備えた支持体を準備するステップと、

(c) 前記第1のプローブと前記増幅した核酸とをハイブリダイズさせ、ハイブリダイズした核酸を形成するステップと、

(d) 前記ハイブリダイズした核酸をメディエーターに接触させて、塩基を酸化させ、電子を前記メディエーターに移動させ、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(e) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップと

を含むサンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項 3 8】

(a) 標的核酸を増幅させ、少なくとも一つの修飾塩基を含む増幅した核酸を形成するステップと、

(b) i) 非伝導性の自己集合単層と、

i i) 前記自己集合単層に共有結合した少なくともオリゴヌクレオチドプローブと

を含む電極を備えた支持体を準備するステップと、

(c) 前記プローブと前記増幅した核酸とをハイブリダイズさせ、ハイブリダイズした核酸複合体を形成するステップと、

(d) 前記ハイブリダイズした核酸複合体をメディエーターに接触させて、修飾塩基を酸化させ、電子を前記メディエーターに移動させ、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(e) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含む、サンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項 3 9】

(a) i) 非伝導性の自己集合単層と、

i i) 前記自己集合単層に共有結合したオリゴヌクレオチドプローブとをそれぞれ含む、複数の電極を備えた支持体を準備するステップと、

(b) 標的核酸と前記プローブとをハイブリダイズさせ、ハイブリダイゼーション複合体を形成するステップと、

(c) 前記ハイブリダイゼーション複合体をメディエーターに接触させて、塩基を酸化させ、電子を前記メディエーターに移動させ、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(d) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含む、標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項 4 0】

(a) i) 非伝導性の自己集合単層と、

i i) 前記自己集合単層に共有結合したオリゴヌクレオチドプローブとを含む電極を備えた支持体を準備するステップと、

(b) 前記プローブと、標的核酸と、少なくとも一つの予め選択された塩基を含むシグナルプローブとを含むハイブリッドを形成するステップと、

(c) 前記ハイブリッドをメディエーターに接触させて、前記塩基を酸化させ、電子を前記メディエーターに移動させ、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(d) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含む、サンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項 4 1】

(a) 標的核酸を増幅させて少なくとも 1 つの修飾塩基を含む増幅した核酸を形成するステップと、

(b) i) 非伝導性の自己集合単層と、

i i) 前記自己集合単層に共有結合したオリゴヌクレオチドプローブとを含む電極を備えた支持体を準備するステップと、

(c) 前記プローブと、前記標的核酸と、少なくとも一つの予め選択された塩基を含むシグナルプローブとを含むハイブリッドを形成するステップと、

(d) 前記ハイブリッドをメディエーターに接触させて、修飾塩基を酸化させ、電子を前記メディエーターに移動させ、その結果、酸化還元反応の触媒サイクルの一部としてメディエーターの還元型の再生となるステップと、

(d) 前記酸化還元反応を前記標的核酸の存在の指標として検出するステップとを含む、サンプル中の標的核酸の存在を検出する方法。

【請求項 4 2】

(a) サンプルを入れるためのサンプル容器と、

(b) i) 伝導性作用面を上に有する支持体と

i i) 前記伝導性作用面上の非伝導性の自己集合単層と、ここで、その単層を介して、遷移金属錯体が、前記単層上に固定された反応物から前記伝導性作用面に自由に移動して、電子を前記伝導性作用面に移動させることができる、

i i i) 前記単層に共有結合した第1のオリゴヌクレオチドプローブと
を含む電極と、

(c) 遷移金属錯体を含むメディエーターと

(d) メディエーターに反応すると、酸化を受ける少なくとも1つの合成ヌクレオチド塩基を含む第2のオリゴヌクレオチドプローブと
を含む、サンプル中の標的核酸の検出のための装置。

【請求項 4 3】

前記合成ヌクレオチド塩基が合成グアニン塩基である請求項4 2の装置。

【請求項 4 4】

前記合成グアニン塩基が、8-オキソ-グアニンである請求項4 3の装置。

【請求項 4 5】

前記装置が前記電極の一つをそれぞれ含む、複数のサンプル容器を含む請求項4 2の装置。

【請求項 4 6】

前記複数のサンプル容器がマイクロタイタープレートである請求項4 5の装置。