

【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27年12月10日(2015.12.10)

【公表番号】特表2014-531031(P2014-531031A)

【公表日】平成26年11月20日(2014.11.20)

【年通号数】公開・登録公報2014-064

【出願番号】特願2014-537362(P2014-537362)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/542 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/53 S

G 0 1 N 33/542 A

G 0 1 N 33/543 5 2 1

G 0 1 N 21/64 F

G 0 1 N 21/64 C

【手続補正書】

【提出日】平成27年10月21日(2015.10.21)

【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】

被験体からの生物学的サンプル中の分析物の量を定量的に測定するための非競合アッセイ方法であって：

a) 該生物学的サンプルを

(i) 結合剤であって、該分析物に選択的に結合して、該結合剤および該分析物の捕捉複合体を形成する結合剤、および

(ii) アプタマーであって、該捕捉複合体に結合した該分析物に選択的に結合して、該結合剤、アプタマーおよび分析物の複合体を形成するアプタマー、と反応させる工程、および

b) アプタマーが結合した複合体の量を測定する工程；を含み、該分析物が、2,000ダルトン未満の分子量を有し、複合体形成物の量が、該サンプル中の該分析物の量と直接関連する、方法。

【請求項2】

前記結合剤が抗体を含む、請求項1に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項3】

前記アプタマーが、前記捕捉複合体に選択的に結合する、核酸アプタマー、またはペプチドアプタマーである、請求項1～2のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項4】

前記結合剤が、第一の検出可能な標識と連結する、請求項1～3のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項5】

前記アプタマーが、第二の検出可能な標識と連結する、請求項1～4のいずれか一項に

記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 6】

前記第一の検出可能な標識および前記第二の検出可能な標識が、別々の励起波長および発光波長の組み合わせを有する蛍光分子である、請求項 5 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 7】

前記第一の検出可能な標識および前記第二の検出可能な標識が、蛍光共鳴エネルギー転移 (F R E T) ドナー - アクセプターペアを形成する、請求項 5 または 6 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 8】

前記核酸アプタマーの結合剤が、フルオロフォアおよび消光剤ペアを含み、前記複合体の形成が、結果として該フルオロフォアの検出可能な消光または非消光を生じさせる、請求項 4 ~ 7 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 9】

前記分析物が、ホルモン、薬物、または薬物代謝物である、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 10】

前記薬物が乱用薬物である、請求項 9 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 11】

前記薬物がオピオイドまたはオピオイド代謝物である、請求項 10 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 12】

前記オピオイドが、モルヒネ、コデイン、テバイン、ヘロイン、ヒドロモルフォン、ヒドロコドン、オキシコドン、オキシモルフィン、デソモルフィン、ニコモルフィン、プロポキシフェン、ジプロパノイルモルフィン、ベンジルモルフィン、エチルモルフィン、プレノルフィン、フェンタニル、ペチジン、メペリジン、メタドン、トラマドール、デキストロプロポキシフェン、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 11 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 13】

前記薬物が、オキシコドン、ヒドロコドン、またはそれらの組み合わせである、請求項 11 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 14】

前記薬物代謝物が、ノルオキシコドン、オキシモルフィン、ヒドロモルフォン、ノルヒドロコドン、またはそれらの組み合わせである、請求項 11 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 15】

前記分析物が T H C またはその代謝物である、請求項 10 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 16】

前記分析物がニコチンまたはその代謝物である、請求項 11 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 17】

側方流動イムノアッセイを含む、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 18】

請求項 17 に記載の非競合アッセイ方法であって、

a) 必要に応じて、結合剤を前記生物学的サンプルに加える工程；

b) 該生物学的サンプルを、適用ポイント、任意選択のコンジュゲートゾーン、捕捉ゾーン、および吸収ゾーンを含む膜小片に適用する工程であって、該コンジュゲートゾーンが該結合剤を含み、該捕捉ゾーンが、該膜小片内、または該膜小片上に固定化された前記アプタマーを含み、該生物学的サンプルを該適用ポイントに適用する、工程；

c) 必要に応じて、該生物学的サンプル中に存在する分析物が、毛管作用によって該膜小片を通り、該コンジュゲートゾーンまで移動することを可能にし、かつ該分析物に対する該結合剤の結合が、捕捉複合体を形成することを可能にする条件下で、該膜小片を維持する工程；

d) 該捕捉複合体が、毛管作用によって該膜小片を通り、該捕捉ゾーンまで移動することを可能にし、かつ該アプタマーに対する該捕捉複合体の結合が、複合体を形成することを可能にする条件下で、該膜小片を維持する工程；

e) さらに、該捕捉ゾーンに固定化されていない結合剤の該吸収ゾーンへの移動を可能にする条件下で、該膜小片を維持する工程；および

f) 該捕捉ゾーンの複合体の量を決定する工程、を含み、

該サンプル中の分析物の量が、該捕捉ゾーンに存在する複合体の量と直接関連する、方法。

【請求項 19】

前記膜小片が、セルロース、硝酸セルロース、酢酸セルロース、グラスファイバー、ナイロン、高分子電解質、アクリルコポリマー、ポリエーテルスルホンからなる群から選択される材料を含む、請求項 18 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 20】

前記膜小片が単層融合マトリクス材料を含む、請求項 18 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 21】

前記複合体の量が、前記捕捉ゾーンで検出される第一の検出可能な標識の量の、該捕捉ゾーンで検出されるコントロールの検出可能な標識の量に対する比として決定される、請求項 18 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記アプタマーを、前記膜小片内に捕捉されている粒子に結合体化する、請求項 18 ~ 20 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 23】

前記コントロールの検出可能な標識が、前記粒子内または前記粒子上にある、請求項 22 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 24】

前記アプタマーが、前記捕捉ゾーン内の捕捉ラインに存在する、請求項 18 ~ 23 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 25】

前記捕捉ラインで検出される結合剤の量が、コントロール捕捉ラインで検出されるコントロール分析物と特異的に結合する結合剤の量に対して正規化される、請求項 24 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 26】

前記コントロール分析物が、前記生物学的サンプルを前記膜小片の前記適用ポイントへ投与する前に、該サンプルに加えられる、請求項 25 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 27】

前記生物学的サンプル中の分析物の量が、複数の標準分析物から計算し、かつ内部コントロールを用いて調整した応答曲面に対して、検出される結合剤の量をプロットすることによって、決定される、請求項 18 ~ 26 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 28】

前記応答曲面が内部コントロールを用いて調整される、請求項 27 に記載の非競合アッセイ方法。

【請求項 29】

2,000 ダルトン未満の分子量を有する、ホルモン、薬物、または薬物代謝物からなる群から選択される分析物のための、請求項 1 ~ 28 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法を行うためのキットであって、

該キットが、適用ポイント、捕捉ゾーン、および吸収ゾーンを含む膜小片を含み、該捕捉ゾーンが、結合剤 - 分析物複合体に選択的に結合するが、フリーの分析物には結合しない、該膜小片内、または該膜小片上に固定化されたアプタマーを含む、キット。

【請求項 30】

前記膜小片が、さらにコンジュゲートゾーンを含み、該コンジュゲートゾーンが前記結合剤を含み、該結合剤が、該膜小片内、または該膜小片上に固定化された抗体を含む、請求項 29 に記載のキット。

【請求項 31】

前記捕捉ゾーンが固定化されたコントロール分析物を含む、請求項 29 に記載のキット。

【請求項 32】

さらにサンプル採取器具を含み、該サンプル採取器具が、前記分析物に選択的に結合する結合剤を含む、請求項 29 に記載のキット。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0023】

開示される側方流動イムノアッセイは、即時に結果を提供するために、採取の場所で、生物学的サンプル中の小分析物（例えば薬物、薬物代謝物、重金属、またはホルモン）の量の迅速および正確な決定を提供する。

本発明は、例えば、以下の項目も提供する。

(項目 1)

被験体からの生物学的サンプル中の分析物の量を定量的に測定するための非競合アッセイ方法であって：

a) 該生物学的サンプルを

(i) 結合剤であって、該分析物に選択的に結合して、該結合剤および該分析物の捕捉複合体を形成する結合剤、および

(ii) 捕捉剤であって、該捕捉複合体に選択的に結合するが、フリーの分析物には結合せず、該結合剤、捕捉剤および分析物のサンドイッチ複合体を形成する捕捉剤、と反応させる工程、および

b) サンドイッチ複合体形成物を測定する工程；を含み、該サンドイッチ複合体形成物の量が、該サンプル中の該分析物の量と直接関連する、方法。

(項目 2)

被験体からの生物学的サンプル中の分析物の量を定量的に測定するための非競合アッセイ方法であって：

a) 該分析物に集団で選択的に結合して、結合剤、捕捉剤および分析物のサンドイッチ複合体を形成する該結合剤および該捕捉剤と、該生物学的サンプルを反応させる工程、および

b) サンドイッチ複合体形成物を測定する工程、を含み、該サンドイッチ複合体形成物の量が、該サンプル中の該分析物の量と直接関連する、方法。

(項目 3)

前記結合剤が、分析物に選択的に結合する、抗体、核酸アプタマー、またはペプチドアプタマーを含む、項目 1 または 2 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 4)

前記捕捉剤が、前記捕捉複合体に選択的に結合する、抗体、核酸アプタマー、またはペ

プチドアプタマーを含む、項目 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 5)

前記結合剤が、第一の検出可能な標識と連結する、項目 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 6)

前記捕捉剤が、第二の検出可能な標識と連結する、項目 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 7)

前記第一の検出可能な標識および前記第二の検出可能な標識が、別々の励起波長および発光波長の組み合わせを有する蛍光分子である、項目 6 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 8)

前記第一の検出可能な標識および前記第二の検出可能な標識が、蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) ドナー - アクセプターペアを形成する、項目 6 または 7 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 9)

前記核酸アプタマーの結合剤または捕捉剤が、フルオロフォアおよび消光剤ペアを含み、前記サンドイッチ複合体の形成が、結果として該フルオロフォアの検出可能な消光または非消光が生じる、項目 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 10)

前記分析物が、2,000 ダルトン未満の分子量を有する、ホルモン、薬物、または薬物代謝物である、項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 11)

前記薬物が乱用薬物である、項目 10 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 12)

前記薬物がオピオイドまたはオピオイド代謝物である、項目 11 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 13)

前記オピオイドが、モルヒネ、コデイン、テバイン、ヘロイン、ヒドロモルフォン、ヒドロコドン、オキシコドン、オキシモルフォン、デソモルフィン、ニコモルフィン、プロポキシフェン、ジプロパノイルモルフィン、ベンジルモルフィン、エチルモルフィン、ブプレノルフィン、フェンタニル、ペチジン、メペリジン、メタドン、トラマドール、デキストロプロポキシフェン、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、項目 12 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 14)

前記薬物が、オキシコドン、ヒドロコドン、またはそれらの組み合わせである、項目 12 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 15)

前記薬物代謝物が、ノルオキシコドン、オキシモルフォン、ヒドロモルフォン、ノルヒドロコドン、またはそれらの組み合わせである、項目 12 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 16)

前記分析物が THC またはその代謝物である、項目 11 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 17)

前記分析物がニコチンまたはその代謝物である、項目 10 に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 18)

側方流動イムノアッセイを含む、項目 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目 19)

項目 18 に記載の非競合アッセイ方法であって、

a) 必要に応じて、結合剤を前記生物学的サンプルに加える工程；

b) 該生物学的サンプルを、適用ポイント、任意選択のコンジュゲートゾーン、捕捉ゾーン、および吸収ゾーンを含む膜小片に適用する工程であって、該コンジュゲートゾーンが該結合剤を含み、該捕捉ゾーンが、該膜小片内、または該膜小片上に固定化された前記捕捉剤を含み、該生物学的サンプルを該適用ポイントに適用する、工程；

c) 必要に応じて、該生物学的サンプル中に存在する分析物が、毛管作用によって該膜小片を通り、該コンジュゲートゾーンまで移動することを可能にし、かつ該分析物に対する該結合剤の結合が、捕捉複合体を形成することを可能にする条件下で、該膜小片を維持する工程；

d) 該捕捉複合体が、毛管作用によって該膜小片を通り、該捕捉ゾーンまで移動することを可能にし、かつ該捕捉複合体に対する該捕捉剤の結合が、サンドイッチ複合体を形成することを可能にする条件下で、該膜小片を維持する工程；

e) さらに、該捕捉ゾーンに固定化されていない結合剤の該吸収ゾーンへの移動を可能にする条件下で、該膜小片を維持する工程；および

f) 該捕捉ゾーンのサンドイッチ複合体の量を決定する工程、を含み、
該サンプル中の分析物の量が、該捕捉ゾーンに存在するサンドイッチ複合体の量と直接関連する、方法。

(項目20)

前記膜小片が、セルロース、硝酸セルロース、酢酸セルロース、グラスファイバー、ナイロン、高分子電解質、アクリルコポリマー、ポリエーテルスルホンからなる群から選択される材料を含む、項目19に記載の非競合アッセイ方法。

(項目21)

前記膜小片が単層融合マトリクス材料を含む、項目19に記載の非競合アッセイ方法。

(項目22)

前記サンドイッチ複合体の量が、前記捕捉ゾーンで検出される第一の検出可能な標識の量の、該捕捉ゾーンで検出されるコントロールの検出可能な標識の量に対する比として決定される、項目19～21のいずれか一項に記載の方法。

(項目23)

前記捕捉剤を、前記膜小片内に捕捉されている粒子に結合体化する、項目19～21のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目24)

前記コントロールの検出可能な標識が、前記粒子内または前記粒子上にある、項目23に記載の非競合アッセイ方法。

(項目25)

前記捕捉剤が、前記捕捉ゾーン内の捕捉ラインに存在する、項目19～24のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目26)

前記捕捉ラインで検出される結合剤の量が、コントロール捕捉ラインで検出されるコントロール分析物と特異的に結合する結合剤の量に対して正規化される、項目25に記載の非競合アッセイ方法。

(項目27)

前記コントロール分析物が、前記生物学的サンプルを前記膜小片の前記適用ポイントへ投与する前に、該サンプルに加えられる、項目26に記載の非競合アッセイ方法。

(項目28)

前記生物学的サンプル中の分析物の量が、複数の標準分析物から計算し、かつ内部コントロールを用いて調整した応答曲面に対して、検出される結合剤の量をプロットすることによって、決定される、項目19～27のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法。

(項目29)

前記応答曲面が内部コントロールを用いて調整される、項目28に記載の非競合アッセイ方法。

(項目30)

2,000ダルトン未満の分子量を有する、ホルモン、薬物、または薬物代謝物からなる群から選択される分析物のための、項目1～29のいずれか一項に記載の非競合アッセイ方法を行うためのキットであって、

該キットが、適用ポイント、捕捉ゾーン、および吸収ゾーンを含む膜小片を含み、

該捕捉ゾーンが、結合剤-分析物複合体に選択的に結合するが、フリーの分析物には結合しない、該膜小片内、または該膜小片上に固定化された捕捉剤を含み、

該捕捉剤が、抗体、核酸アプタマー、またはペプチドアプタマーを含む、キット。

(項目31)

前記膜小片が、さらにコンジュゲートゾーンを含み、該コンジュゲートゾーンが、該膜小片内、または該膜小片上に固定化された、抗体、核酸アプタマー、またはペプチドアプタマーからなる群から選択される結合剤を含む、項目30に記載のキット。

(項目32)

前記捕捉ゾーンが固定化されたコントロール分析物を含む、項目30に記載のキット。

(項目33)

さらにサンプル採取器具を含み、該サンプル採取器具が、前記分析物に選択的に結合する結合剤を含む、項目30に記載のキット。