

【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18年5月11日(2006.5.11)

【公表番号】特表2002-506984(P2002-506984A)

【公表日】平成14年3月5日(2002.3.5)

【出願番号】特願2000-536887(P2000-536887)

【国際特許分類】

**G 01 N 33/543 (2006.01)**  
**C 12 Q 1/68 (2006.01)**  
**G 01 N 33/50 (2006.01)**

【F I】

G 01 N	33/543	5 9 5
C 12 Q	1/68	Z N A A
G 01 N	33/50	P

【手続補正書】

【提出日】平成18年3月15日(2006.3.15)

【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】 2セットの試薬、すなわちラベリングセット及びキャップチャーセットを用いる標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、そしてここで光平面導波路を用い、該方法が

1) a) ラベル部分及び標的ポリヌクレオチドの同一又は異なる配列と相補的である、同一又は異なる配列L1(好ましくは約5~100ヌクレオチド(nt)長、より好ましくは約8~100nt長)を有する核酸領域(好ましくは1本鎖である)、及び場合により、標的ポリヌクレオチド又はキャップチャーエクステンダー若しくはキャップチャーブロープの配列のいずれにも相補的でない約500nt長未満であるラベル部分と配列L1との間の第2配列であって、ラベル部分は、エバネッセント性励起発光を包含する発光によって検出することができるシグナルを提供するラベルを含む第2配列、を各々に含む複数のラベルブロープ、又は

b) ラベル結合性核酸配列L2及び核酸配列L1、ここで、配列L1は、標的ポリヌクレオチドの核酸配列と相補的であり、そして配列L2は、ラベルブロープの核酸配列L3と相補的である、を各々に含む複数のラベルエクステンダーブロープ(b1)、及び場合により、L2の配列と相補的である核酸配列L3を含むラベルブロープ及びエバネッセント性励起発光を包含する発光によって検出可能であるシグナルを提供するラベルを含むラベル部分(b2)、

を含むラベリングセットの試薬を提供する工程、並びに

2) c) 標的ポリヌクレオチドの核酸配列と相補的である同一又は異なる核酸配列D1を含む複数のキャップチャーブロープ、ここで、核酸配列D1(好ましくは約10~100nt長)は、ラベルブロープ及びラベルエクステンダーブロープに含まれる配列L1、L2及びL3と相補的でなく、そしてキャップチャーブロープは直接的にか又は結合基を介して、導波路の導波層表面に結合しているか又は特異的に結合することができる、又は

d) 標的ポリヌクレオチドの配列と相補的である配列C1(好ましくは約10~100nt長)を有する核酸領域(好ましくは1本鎖)、及び場合により、標的ポリヌクレオチドの配列と相補的ではなく、そして好ましくは約500nt長未満である第2の領域を各々に含

み、そしてさらにキャプチャープローブ認識核酸配列 C 2 を含む複数のキャプチャーエクステンダープローブ ( d 1 )、及び配列 C 2 と相補的である核酸配列 D 2 を含むキャプチャープローブ ( d 2 )、ここで、配列 L 1 及び C 1 は同一でなく、非相補的配列である、を含む、キャプチャーリングセットの試薬を提供する工程、

3 ) 相補的配列の結合性条件下での水性媒質中で、標的ポリヌクレオチドの存在を測定すべきサンプル ( 標的ポリヌクレオチドが一本鎖形態で存在するために処理されていることができる ) と、

( a ) 組成物 1 a ) 及び 2 c )、若しくは、 1 a ) 及び 2 d )、又は ( b ) 組成物 1 b ) 及び 2 c )、若しくは、 1 b ) 及び 2 d )、又は ( c ) 組成物 1 a )、 1 b ) 及び 2 c )、若しくは、 1 a )、 1 b ) 及び 2 d )、又は ( c ) 組成物 1 b )、 2 c ) 及び 2 d ) 若しくは 1 b )、 2 c ) 及び 2 d )、又は ( d ) 組成物 1 a )、 1 b )、 2 c ) 及び 2 d ) とを結合させて複合物を形成する工程、

4 ) 工程 3 の複合物を、キャプチャープローブ ( キャプチャープローブは、工程 3 の複合物に結合する前に導波路に結合することができるか、又は工程 3 の複合物に結合した後に導波路に結合することができる ) の複数のコピーによって導波路に結合する工程、

5 ) もし組成物 1 b ) が、ラベルプローブを含まず、そしてラベルが、工程 3 に含まれず該複合物をラベルするときには、工程 4 の結合している複合物と該ラベルとを結合する工程、並びに

6 ) 導波路のエバネッセント場で励起する発光を測定することによってか、又は導波路の場近辺で生成する発光を測定することによって標的ポリヌクレオチドに結合しているラベルを検出する工程

を含む方法。

【請求項 2】 1 ) 表面に付着し、そして表面から伸長する複数のキャプチャープローブを有する表面を提供する工程、

2 ) i ) 標的ポリヌクレオチドの特異的領域に結合するように適合されている標的部分及び ii ) 該キャプチャープローブに結合するように適合されているキャプチャー部分の各々を有する複数のキャプチャーエクステンダープローブを提供する工程、

3 ) キャプチャーエクステンダープローブをサンプルに暴露し、もしサンプル中に存在すれば、標的ポリヌクレオチドを、キャプチャーエクステンダープローブに結合させる工程、

4 ) こうして結合した標的ポリヌクレオチドを、表面に付着している該キャプチャープローブに暴露し、キャプチャーエクステンダープローブをキャプチャープローブに結合させる工程、

5 ) 該標的ポリヌクレオチドを、 i ) 標的ポリヌクレオチドの領域を特異的に結合させるように適合されている標的部分及び ii ) 光学的に検出可能なラベルで構成されるか、又はそれと結合するように適合されているラベル部分を各々有する複数のラベルエクステンダープローブに暴露させる工程であって、該ラベルエクステンダープローブは、本アッセイの条件下では、キャプチャープローブを結合することができない、及び

6 ) ラベルを検出する工程

を含む、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出するための方法であって、表面が光平面導波路の導波層であり、そしてラベルをラベル発光団の励起によって検出することを特徴とする方法。

【請求項 3】 工程 4 より前に工程 3 及び 5 を実施する、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】 固形の支持体が光平面導波路であり、そしてラベルを導波路のエバネッセント場内で励起する発光、又は導波路の場近辺で発生する発光を測定することによって検出する、溶液相核酸サンドイッチアッセイを用いる、請求項 1 ~ 3 記載の標的ポリヌクレオチドを検出する方法。

【請求項 5】 標的ポリヌクレオチドを 2 クラスの結合性相互作用 ( 第 1 のクラスの結合性相互作用は、少なくとも 1 個のキャプチャーエクステンダープローブであり、そして第 2 のクラスの結合性相互作用は、平面導波路の導波層の表面に結合しているか又は結合することができ、そして実質的に結合している、少なくとも 1 個の該キャプチャーエク

ステンダープローブと少なくとも1個の複合性キャプチャープローブとの間である)によって導波路上に固定化する、請求項1～4に記載の光平面導波路を用いる標的ポリヌクレオチドを検出する方法。

【請求項6】 結合したラベルの測定前に、結合したラベルを結合していないラベルと分離しない、請求項1～5のいずれか1項記載の方法。

【請求項7】 サンプル中で、1を越えるタイプの標的ポリヌクレオチドを検出する、請求項1～6のいずれか1項記載の方法。

【請求項8】 標的ポリヌクレオチドが病原性生物からの配列であるか又は疾患若しくは生体の他の応答に関連する配列を含むポリヌクレオチドである、請求項1～7のいずれか1項記載の方法。

【請求項9】 標的ポリヌクレオチドに関連する疾患の研究又は診断のための、請求項1～8のいずれか1項記載の方法の使用。

【請求項10】 a) 上記2c)によって定義されるような複数のキャプチャープローブ、又は上記請求項1の2d)によって定義されるような複数のキャプチャーエクステンダープローブ及びキャプチャープローブ；

b) キャプチャープローブ又はキャプチャーエクステンダープローブに結合している標的ポリヌクレオチド；及び

c) 標的ポリヌクレオチドに結合している上記請求項1の1a)によって定義されるような複数のラベルプローブ、又は標的ポリヌクレオチドと結合している上記請求項1の1b)によって定義されるような複数のラベルプローブエクステンダー及び該ラベルプローブエクステンダーに結合している上記請求項1の1b)によって定義されるようなラベルプローブ

を平面導波路の導波層の表面に結合している光平面導波路。