

【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 19 年 2 月 22 日 (2007.2.22)

【公表番号】特表 2002-543835 (P2002-543835A)  
 【公表日】平成 14 年 12 月 24 日 (2002.12.24)  
 【出願番号】特願 2000-618446 (P2000-618446)  
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/24 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/24

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 18 年 12 月 25 日 (2006.12.25)

【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】 磁性粒子を用いて細胞を収集する方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 細胞が磁性粒子に選択的に直接吸着して複合体を形成する条件下で該細胞と該磁性粒子を混ぜる工程であって、前記磁性粒子が、(1) pH 依存性イオン交換粒子及び(2) 水和シリカ酸化物吸着表面を有するシリカ酸化物を被覆した磁性コアから本質的になるシリカ磁性粒子からなる群から選ばれたものであり、; 及び

(b) 磁力を適用して、前記複合体を前記溶液から単離する工程。

【請求項 2】 中に細胞が含まれる前記溶液が、その中で懸濁された細菌を培養している増殖培地である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】 前記細胞が、血液細胞である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】 前記細胞が哺乳類の白血球であり、かつ中に細胞が含まれる前記溶液が全血である請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】 前記磁性粒子が、シリカ磁性粒子である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】 前記磁性粒子が、pH 依存性イオン交換磁性粒子である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】 前記 pH 依存性イオン交換磁性粒子が、グリシジル - ヒスチジン修飾シリカ磁性粒子、及びグリシジル - アラニン修飾シリカ磁性粒子からなる群より選択される請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】 破壊された生体物質の溶液を清澄化する方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 破壊された生体物質を含有する溶液を供給する工程；

(b) 前記溶液を、第 2 の磁性粒子と混ぜる工程であって、前記破壊された生体物質が該磁性粒子に選択的に直接吸着して複合体を形成する条件下で混ぜ、前記磁性粒子が、(1) pH 依存性イオン交換粒子及び(2) 水和シリカ酸化物吸着表面を有するシリカ酸化物を被覆した磁性コアから本質的になるシリカ磁性粒子からなる群から選ばれたものであり； 及び

(c) 磁力を適用して、前記複合体を前記溶液から分離する工程。

【請求項 9】 前記破壊された生体物質が、細菌細胞ライセートである請求項 8 に記

載の方法。

【請求項 10】 前記破壊された生体物質が、哺乳類組織のホモジネートである請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】 前記破壊された生体物質が、血液のライセートである請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】 前記破壊された生体物質が、全血から単離された哺乳類の白血球のライセートである請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】 前記第 2 の磁性粒子が、シリカ磁性粒子である請求項 8 に記載の方法。

【請求項 14】 前記第 2 の磁性粒子が、第 2 の pH 依存性イオン交換磁性粒子である請求項 8 に記載の方法。

【請求項 15】 前記第 2 の pH 依存性イオン交換磁性粒子が、グリシジル - ヒスチジン修飾シリカ磁性粒子、及びグリシジル - アラニン修飾シリカ磁性粒子からなる群より選択される請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】 さらに、以下の工程に従い、工程 (a) で供給される前記破壊された生体物質を生成する工程を含む請求項 8 に記載の方法：

中に細胞が含まれる溶液を、第 1 の磁性粒子と混ぜる工程であって、前記細胞が前記第 1 の磁性粒子と複合体を形成する条件下で混ぜる工程；

磁力を適用して、前記複合体を前記溶液から単離する工程；及び

前記細胞を破壊する工程。

【請求項 17】 前記第 1 の磁性粒子が、シリカ磁性粒子である請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】 前記第 1 の磁性粒子が、第 1 の pH 依存性イオン交換磁性粒子である請求項 16 に記載の方法。

【請求項 19】 前記第 1 の pH 依存性イオン交換磁性粒子が、グリシジル - ヒスチジン修飾シリカ磁性粒子、及びグリシジル - アラニン修飾シリカ磁性粒子からなる群より選択される請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】 前記第 1 の磁性粒子が、前記第 2 の磁性粒子と同一である請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】 標的核酸を、該標的核酸と、第 1 の非標的物質と、第 2 の非標的物質とを含有する破壊された生体物質から単離する方法であって、以下の工程を含む方法：

(a) 前記破壊された生体物質の溶液を、第 1 の磁性粒子と混ぜる工程であって、前記第 1 の非標的物質が、該磁性粒子に選択的に直接吸着して第 1 の複合体を形成する条件下で混ぜ、前記磁性粒子が、(1) pH 依存性イオン交換粒子及び (2) 水和シリカ酸化物吸着表面を有するシリカ酸化物を被覆した磁性コアから本質的になるシリカ磁性粒子からなる群から選ばれたものであり；

(b) 磁力を適用して、前記第 1 の複合体を前記破壊された生体物質の溶液から分離し、前記標的核酸と前記第 2 の非標的物質とを含有する清澄化溶液を生成する工程；

(c) 前記清澄化溶液を、第 2 の磁性粒子と混ぜる工程であって、前記標的核酸が、前記第 2 の磁性粒子に吸着して、第 2 の複合体を形成する条件下で混ぜる工程；

(d) 前記第 2 の複合体を、前記清澄化溶液から単離する工程；

(e) 前記第 2 の複合体を洗浄溶液と混ぜ、かつ磁力を適用して前記第 2 の複合体を前記洗浄溶液から分離することによって、前記第 2 の複合体を洗浄する工程；及び

(f) 前記洗浄された第 2 の複合体を、溶出液と混ぜる工程であって、前記標的物質が前記第 2 の磁性粒子から脱着される条件下で混ぜる工程。

【請求項 22】 前記破壊された生体物質が、細菌細胞のライセート、血液細胞のライセート、及び組織のホモジネートからなる群より選択される請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】 前記標的核酸が、プラスミド DNA である請求項 21 に記載の方法。

【請求項 24】 前記標的核酸が、ゲノム DNA である請求項 21 に記載の方法。

【請求項 2 5】 前記標的核酸が、RNAである請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 6】 前記第 2 の磁性粒子が、シリカ磁性粒子、及び pH 依存性イオン交換磁性粒子からなる群より選択される請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 7】 前記第 1 の非標的物質が、細胞デブリ又はホモジネート組織と、沈殿物であって、タンパク質、非標的核酸、及び脂質からなる群より選択される物質の沈殿物とを含む請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 8】 工程 (c) で前記標的核酸が前記第 2 の磁性粒子に吸着されるとき、前記第 2 の非標的物質が溶液中に残存している請求項 2 1 に記載の方法。