

【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】令和4年8月23日(2022.8.23)

【国際公開番号】WO2020/037262

【公表番号】特表2021-533778(P2021-533778A)

【公表日】令和3年12月9日(2021.12.9)

【出願番号】特願2021-507751(P2021-507751)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/10(2006.01)

C 1 2 Q 1/686(2018.01)

C 1 2 M 1/00(2006.01)

B 0 1 J 20/34(2006.01)

B 0 1 J 20/24(2006.01)

B 0 1 D 15/38(2006.01)

G 0 1 N 33/50(2006.01)

G 0 1 N 33/53(2006.01)

G 0 1 N 33/531(2006.01)

G 0 1 N 33/569(2006.01)

C 1 2 N 15/36(2006.01)

10

20

【F I】

C 1 2 N 15/10 1 1 2 Z

C 1 2 Q 1/686 Z

C 1 2 M 1/00 A

B 0 1 J 20/34 G

B 0 1 J 20/24 C

B 0 1 D 15/38

G 0 1 N 33/50 P

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/531 B

G 0 1 N 33/569

G 0 1 N 33/569 G

C 1 2 N 15/36

30

【手続補正書】

【提出日】令和4年8月15日(2022.8.15)

【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】

40

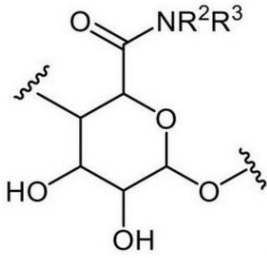
【特許請求の範囲】

【請求項1】

固体支持体に共有結合している複数の修飾ペクチン分子を含む、固体支持体であって、前記修飾ペクチンが複数のアミノ基を含むか、又は前記修飾ペクチンが式

50

【化 4】



又は異性体、塩、互変異性体、又はそれらの組み合わせで表される1以上の単位を含む、
アミド化ペクチンを含む、

ここで、 R^2 及び R^3 は、H、任意に置換された C_1 - C_6 アルキル、任意に置換された C_3 - C_6 シクロアルキル、及び任意に置換された C_2 - C_{20} ヘテロアルキルから独立して選択される

固体支持体。

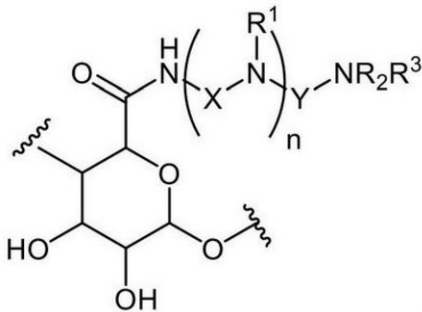
【請求項 2】

複数のアミノ基を含む前記修飾ペクチンがアミド化ペクチンである、請求項1の固体支持体。

【請求項 3】

前記アミド化ペクチンが、式

【化 1】



異性体、塩、互変異性体、又はそれらの組み合わせで表される1つ以上の単位を含み、
ここで、 n は、0~3であり、

R^1 は、H又は C_1 - C_3 アルキルであり、

X は、各出現において、独立して、 C_2 - C_4 アルキレン又は C_4 - C_6 ヘテロアルキレンであり、

Y は、 C_2 - C_3 アルキレン又は C_4 - C_6 ヘテロアルキレンであり、及び

R^2 及び R^3 は、独立して、H又は C_1 - C_3 アルキルである、請求項2の固体支持体。

【請求項 4】

前記アミド化ペクチンが、 C_4 - C_{20} ポリアミンでアミド化されたペクチンである、請求項2の固体支持体。

【請求項 5】

前記ポリアミンが、エチレンジアミン、プトレスシン、カダベリン、スペルミン、又はスペルミジンである、請求項4の固体支持体。

【請求項 6】

前記アミド化ペクチンが、構造

10

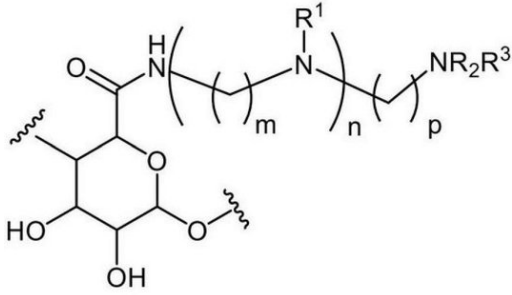
20

30

40

50

【化 2】



10

異性体、塩、互変異性体、又はそれらの組み合わせを有する1つ以上の単位を含み、
ここでnは、0、1、2、又は3であり、

mは、2、3、又は4であり、

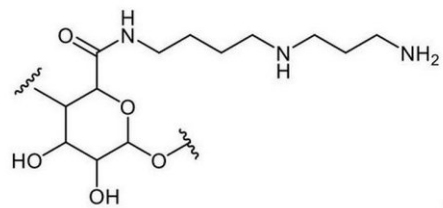
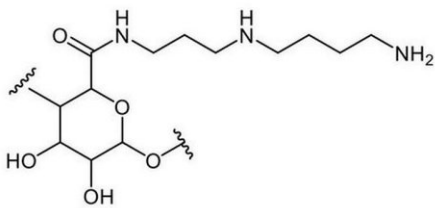
pは、2、3、又は4であり、及び

R1、R2、及びR3は、独立して、H又はC₁-C₃アルキルである、請求項2の固体支持体

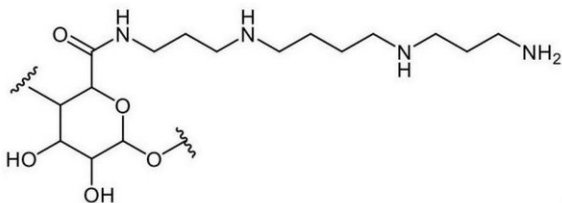
【請求項 7】

前記アミド化ペクチンが、構造

【化 3】



20



30

、又は

それらの異性体、塩、又は互変異性体を有する1つ以上の単位を含む、請求項2の固体支持体。

【請求項 8】

前記アミド化ペクチンが、アミド化シトラスペクチン又はアミド化リンゴペクチンである。請求項2の固体支持体。

【請求項 9】

前記アミド化ペクチンが、約4,000Daと約500,000Daの間、約5,000Daと約300,000Daの間、約100,000Daと約300,000Daの間、又は約50,000Daと約200,000Daの間の分子量を有する、請求項2の固体支持体。

40

【請求項 10】

前記固体支持体が、ポリスチレン、ガラス、セラミック、ポリプロピレン、ポリエチレン、シリカ、ジルコニア、チタニア、アルミナ、ポリカーボネート、ラテックス、PMM A、ゼオライト、ポリエーテルスルホン、カルボキシメチルセルロース、及びセルロースから選択される材料を含む、請求項1の固体支持体。

【請求項 11】

前記固体支持体が、磁性ビーズ、ガラスビーズ、ポリスチレンビーズ、ポリスチレンフィルター、ポリカーボネートフィルター、ポリエーテルスルホン、又はガラスフィルターである、請求項1の固体支持体。

50

- 【請求項 1 2】
 核酸含有サンプルから核酸を単離する方法であって、
 (a)前記サンプルを請求項1～11のいずれか1項の固体支持体と接触させ、それにより前記核酸を前記固体支持体に結合させる工程、
 (b)任意に、前記固体支持体に結合した前記核酸を洗浄する工程、及び
 (c)溶出剤を用いて前記固体支持体から前記核酸を溶出する工程、
 を含む、方法。
- 【請求項 1 3】
 前記溶出剤がアンモニア又はアルカリ金属水酸化物を含む、請求項12の方法。
- 【請求項 1 4】 10
 前記溶出剤が、約9を超えるpH、約10を超えるpH、又は約11を超えるpHを有する、請求項12に記載の方法。
- 【請求項 1 5】
 前記溶出剤が、約9と約12の間、約9.5と約12の間、約10と約12の間、又は約9と約11の間のpHを有する、請求項12の方法。
- 【請求項 1 6】
 前記溶出剤がポリアニオンを含む、請求項12に記載の方法。
- 【請求項 1 7】
 前記ポリアニオンがカラギーナンである、請求項16の方法。
- 【請求項 1 8】 20
 前記ポリアニオンがキャリア核酸である、請求項16に記載の方法。
- 【請求項 1 9】
 前記溶出剤がカラギーナン及びKOHを含む、請求項12に記載の方法。
- 【請求項 2 0】
 前記サンプルを前記固体支持体と接触させる前に、前記サンプルを溶解液と接触させ、それによって核酸を溶液中に放出する工程を含む、請求項12～19のいずれかの方法。
- 【請求項 2 1】
 前記溶解液がカオトロピック剤を含む、請求項20に記載の方法。
- 【請求項 2 2】
 前記カオトロピック剤が、グアニジニウムチオシアネート、グアニジニウムヒドロクロリド、過塩素酸アルカリ、ヨウ化アルカリ、尿素、ホルムアミド、又はそれらの組み合わせから選択される、請求項21に記載の方法。
- 【請求項 2 3】
 前記カオトロピック剤が、グアニジニウムチオシアネート又はグアニジニウムヒドロクロリドである、請求項21に記載の方法。
- 【請求項 2 4】
 前記溶解液が塩を含む、請求項20に記載の方法。
- 【請求項 2 5】
 前記塩が塩化ナトリウム又は塩化カルシウムである、請求項24に記載の方法。
- 【請求項 2 6】 40
 前記溶解液がカオトロピック剤を含まない、請求項20に記載の方法。
- 【請求項 2 7】
 前記溶解液が緩衝剤を含む、請求項10に記載の方法。
- 【請求項 2 8】
 前記緩衝剤がトリスである、請求項27に記載の方法。
- 【請求項 2 9】
 前記溶解液がサーファクタントを含む、請求項20に記載の方法。
- 【請求項 3 0】
 前記溶解液が消泡剤を含む、請求項20に記載の方法。
- 【請求項 3 1】 50

前記サンプルを前記固体支持体と接触させる工程が、カオトロピック試薬の存在なしに行われる、請求項1.2に記載の方法。

【請求項3.2】

前記サンプルが、血液、血漿、血清、精液、組織生検、尿、便、唾液、塗抹標本、細菌培養物、細胞培養物、ウイルス培養物、PCR反応混合物、又はインビトロ核酸修飾反応混合物から選択される、請求項1.2に記載の方法。

【請求項3.3】

前記組織生検がパラフィン包埋組織である、請求項3.2に記載の方法。

【請求項3.4】

前記核酸がゲノムDNAを含む、請求項1.2に記載の方法。

10

【請求項3.5】

前記核酸が総RNAを含む、請求項1.2に記載の方法。

【請求項3.6】

前記核酸が微生物核酸又はウイルス核酸を含む、請求項1.2に記載の方法。

【請求項3.7】

前記ウイルス核酸がHBV DNAである、請求項3.6に記載の方法。

【請求項3.8】

前記核酸が循環核酸である、請求項1.2に記載の方法。

【請求項3.9】

前記方法が自動化カートリッジ内で行われる、請求項1.2～3.8のいずれか1項の方法。

20

【請求項4.0】

サンプル中の核酸を検出する方法であって、

(a)核酸含有サンプルを請求項1～1.1のいずれか1項の固体支持体と接触させ、それにより前記核酸を前記固体支持体に結合させる工程、

(b)任意に、前記固体支持体に結合した前記核酸を洗浄する工程、

(c)前記核酸を溶出する工程、及び

(d)前記核酸を検出する工程、

を含む、方法。

【請求項4.1】

前記核酸を検出する工程が、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による核酸の増幅を含む、請求項4.0に記載の方法。

30

【請求項4.2】

前記ポリメラーゼ連鎖反応が、ネステッドPCR、アイソサーマルPCR、又はRT-PCRである、請求項4.1に記載の方法。

【請求項4.3】

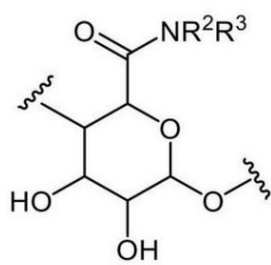
アミド化ペクチンが化学的に結合した固体支持体を含む、クロマトグラフィー用分離材料。

【請求項4.4】

前記アミド化ペクチンが、式

【化4】

40



異性体、塩、互変異性体、又はそれらの組み合わせで表される1以上の単位を含み、ここで、R²及びR³は、H、任意に置換されたC₁-C₆アルキル、任意に置換されたC₃-

50

C₆シクロアルキル、及び任意に置換されたC₂-C₂₀ヘテロアルキルから独立して選択される、請求項43に記載の分離材料。

【請求項45】

前記固体支持体が、シリカ、アルミナ、チタニア、ジルコニア、又はハイブリッドシリカ材料である、請求項43又は44の分離材料。

10

20

30

40

50