

【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27年11月12日(2015.11.12)

【公開番号】特開2015-91251(P2015-91251A)

【公開日】平成27年5月14日(2015.5.14)

【年通号数】公開・登録公報2015-032

【出願番号】特願2014-261849(P2014-261849)

【国際特許分類】

C 12 Q	1/68	(2006.01)
G 01 N	33/48	(2006.01)
G 01 N	33/50	(2006.01)
G 01 N	37/00	(2006.01)
G 01 N	33/53	(2006.01)
C 12 Q	1/04	(2006.01)
C 12 Q	1/37	(2006.01)
C 12 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 12 Q	1/68	Z N A A
G 01 N	33/48	S
G 01 N	33/50	P
G 01 N	37/00	1 0 2
G 01 N	33/53	M
C 12 Q	1/04	
C 12 Q	1/37	
C 12 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成27年9月25日(2015.9.25)

【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】

以下の段階を含む、対象における疾患または他の医学的状態の診断、モニタリングおよび/または評価を助ける、対象におけるマイクロベシクル(microvesicle)に含まれるバイオマーカーの存在を検出する方法：

(a) ヒトから得た体液からマイクロベシクルを単離する段階；

ここで、該体液は、尿、血清または血漿であり、且つ該単離する段階は、以下の段階を含む：

(i) 該マイクロベシクルを処理して、タンパク質、脂質、死細胞からの残渣、およびその他の混入物を除去する段階；

(ii) 超遠心またはナノ膜限外濾過濃縮器を用いて該マイクロベシクルを精製する段階；および

(iii) 該マイクロベシクルを洗浄する段階；

(b) 該マイクロベシクルからRNAを抽出する段階；および

(c) マイクロベシクル画分内のバイオマーカーの有無について該抽出されたRNAを分析する段階であって、該バイオマーカーが、遺伝子異状であり、および該バイオマーカーが

疾患または他の医学的状態と関連している段階。

【請求項 2】

該遺伝子異状が、

- (i) ある種の核酸；
- (ii) 核酸の発現レベル；
- (iii) 核酸変異体；または
- (iv) それらの組み合わせ、

である、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

該核酸が、RNAである、請求項1または2記載の方法。

【請求項 4】

該RNAが、メッセンジャーRNA、マイクロRNA、siRNAまたはshRNAである、請求項3記載の方法。

【請求項 5】

該マイクロベシクルを処理して、タンパク質、脂質、死細胞からの残渣、およびその他の混入物を除去する段階が、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心法、分画遠心法、ナノ膜限外濾過、免疫吸着捕捉 (immunoabsorbent capture)、アフィニティー精製、マイクロ流体分離 (microfluidic separation)、またはそれらの組み合わせによって行われる、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6】

分析する段階(c)が、マイクロアレイ分析、PCR、アレル特異的プローブとのハイブリダイゼーション、酵素的突然変異検出、ライゲーション連鎖反応 (LCR)、オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ (OLA)、フローサイトメトリー・ヘテロ二重鎖分析、ミスマッチ化学切断法、質量分析、リボ核酸 (RNA) シークエンシング、一本鎖高次構造多型 (SSCP)、変性勾配ゲル電気泳動 (DGGE)、温度勾配ゲル電気泳動 (TGGE)、制限断片多型、遺伝子発現連続分析 (serial analysis of gene expression) (SAGE)、またはそれらの組み合わせによって行われる、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

段階 (c) のマイクロベシクルのバイオマーカーのプロファイルを対照のプロファイルと比較する段階、および該マイクロベシクルのバイオマーカーのプロファイルと該対照のプロファイルとの間の1つまたは複数の相違に基づいて潜在する新たなバイオマーカーを選択する段階をさらに含む、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

該マイクロベシクルを処理して、タンパク質、脂質、死細胞からの残渣、およびその他の混入物を除去する段階が、0.8 μmフィルターを通す濾過によるものである、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

該0.8 μmフィルターを通す濾過の後に、限外濾過がなされる、請求項8記載の方法。

【請求項 10】

該マイクロベシクルを処理して、タンパク質、脂質、死細胞からの残渣、およびその他の混入物を除去する段階が、遠心によるものである、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 11】

該体液が、血清または血漿である、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項 12】

該体液が、尿である、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。