(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0142406
(43) 공개일자 2024년09월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2023.01) *G01N 1/10* (2006.01)
G01N 1/40 (2006.01) *G01N 33/49* (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/5021 (2013.01)
G01N 1/10 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7019557
(22) 출원일자(국제) 2022년09월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년06월12일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2022/036449
(87) 국제공개번호 WO 2023/145137
국제공개일자 2023년08월03일
(30) 우선권주장
JP-P-2022-012202 2022년01월28일 일본(JP)

(71) 출원인
세키스이 메디칼 가부시키가이샤
일본국 도쿄토 츄오쿠 니혼바시 2쵸메 1방 3고
(72) 발명자
고마이, 구니야
일본 7460006 야마구치켄 슈난시 가이세이쵸 4560 도쿠야마 세키스이 고교 가부시키가이샤 내
호세인, 엠디 샤하다트
일본 7460006 야마구치켄 슈난시 가이세이쵸 4560 도쿠야마 세키스이 고교 가부시키가이샤 내
이노우에, 도모노리
일본 7460006 야마구치켄 슈난시 가이세이쵸 4560 도쿠야마 세키스이 고교 가부시키가이샤 내
(74) 대리인
장수길, 박보현

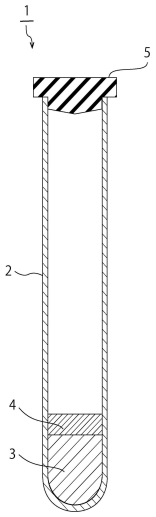
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 **혈액 채취 용기, 혈장의 분리 방법, 세포외 유리 핵산의 분리 방법 및 세포외 소포의 분리 방법**

(57) 요 약

검체 보존 중에 있어서의 혈장으로의 백혈구 유래 DNA의 혼입을 억제할 수 있는 혈액 채취 용기를 제공한다. 본 발명에 관한 혈액 채취 용기는, 혈액 채취 용기 본체와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 혈장 분리재와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 수용액을 구비하고, 상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중이 1.027 이상 1.060 이하이며, 상기 수용액이 항응고제를 포함하고, 또한 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물 또는 황산암모늄을 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 1/40 (2013.01)
G01N 33/491 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

혈액 채취 용기 본체와,

상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 혈장 분리재와,

상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 수용액을 구비하고,

상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중이 1.027 이상 1.060 이하이며,

상기 수용액이 항응고제를 포함하고, 또한 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물 또는 황산암모늄을 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 수용액이, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물을 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 수용액이 상기 황산암모늄을 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용액이, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물과, 상기 황산암모늄을 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물이, 덱스트란, 폴리에틸렌글리콜 또는 폴리비닐피롤리돈인, 혈액 채취 용기.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물이, 수평균 분자량이 2,000 이상 150,000 이하인 수용성 고분자 화합물인, 혈액 채취 용기.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용액이 트레할로오스를 더 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용액이 글루코오스, 아데닌 또는 이노시톨을 더 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용액이 아포토시스 저해제를 더 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 소정량의 혈액이 채취되는 혈액 채취 용기이며,

혈액 채취 용기에 채취되는 혈액의 소정량과 등량의 생리 식염수를 혈액 채취 용기 내에 채취하여, 상기 생리 식염수와 상기 수용액이 혼합된 혼합액을 얻었을 때, 상기 혼합액의 침투압이 300mOsm/L 이상인, 혈액 채취 용

기.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용액이 프로필렌글리콜을 더 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈장 분리재가 혈장 분리용 조성물인, 혈액 채취 용기.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 혈장 분리용 조성물이, 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분과, 무기 미분말을 포함하고,

상기 유기 성분이 수지를 포함하고,

상기 무기 미분말이 미분말 실리카를 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 미분말 실리카가 친수성 실리카를 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 혈장 분리용 조성물 100중량% 중, 상기 친수성 실리카의 함유량이 0.01중량% 이상 2.50중량% 이하인, 혈액 채취 용기.

청구항 16

제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 미분말 실리카가 친수성 실리카와 소수성 실리카를 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 17

제13항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중이 1.050 이상이며,

상기 무기 미분말이, 상기 미분말 실리카보다 비중이 큰 무기 미분말을 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 18

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수지가 석유 수지, 시클로펜타디엔계 수지, 폴리에스테르 수지 또는 (메트)아크릴계 수지를 포함하는, 혈액 채취 용기.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 혈액 중의 세포외 유리 핵산 또는 세포외 소포를 분리하기 위해 사용되는, 혈액 채취 용기.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 기재된 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과,

상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하는 공정을 구비하는, 혈장의 분리 방법.

청구항 21

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 기재된 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과,

상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하여, 혈액으로부터 혈장을 분리하는 공정과,

분리된 상기 혈장으로부터, 세포외 유리 핵산을 분리하는 공정을 구비하는, 세포외 유리 핵산의 분리 방법.

청구항 22

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 기재된 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과,

상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하여, 혈액으로부터 혈장을 분리하는 공정과,

분리된 상기 혈장으로부터, 세포외 소포를 분리하는 공정을 구비하는, 세포외 소포의 분리 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은, 혈액 채취 용기에 관한 것이다. 또한, 본 발명은, 상기 혈액 채취 용기를 사용한 혈장의 분리 방법, 세포외 유리 핵산의 분리 방법 및 세포외 소포의 분리 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 임상 검사에 있어서, 혈액을 채취하기 위해 체혈관 등의 혈액 채취 용기가 널리 사용되고 있다. 혈장 분리재가 수용된 혈액 채취 용기에 혈액을 채취한 후, 혈액 채취 용기를 원심 분리함으로써, 혈액을 혈장과 혈구로 분리할 수 있다. 이 때, 혈장은 혈장 분리재보다 상측에 위치하고, 혈구는 하측에 위치한다. 혈장 분리재가 수용된 혈액 채취 용기로서는, 수지 및 무기 분말을 포함하는 혈장 분리용 조성물이 수용된 혈액 채취 용기(예를 들어, 특허문헌 1)나, 혈장 분리용 지그가 수용된 혈액 채취 용기(예를 들어, 특허문헌 2)가 알려져 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0003] (특허문헌 0001) WO2010/053180A1

(특허문헌 0002) WO2010/132783A1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 혈장 분리재가 수용된 혈액 채취 용기를 사용하여 혈액으로부터 혈장을 분리한 경우, 분리된 혈장 중에 백혈구가 혼입되어 있는 경우가 있다.

[0005] 그런데, 분리된 혈장은 검사에 사용될 때까지, 동결시키지 않고 일정 기간 보관된다. 특허문헌 1, 2에 기재와 같은 종래의 혈액 채취 용기에서는, 혈장 중에 혼입되어 있는 백혈구가 사멸 등에 의해 경시적으로 파괴되어, 백혈구 중의 DNA가 혈장 중에 누출되는 경우가 있다. 백혈구 중의 DNA가 혈장 중에 누출되면, 검사 결과에 영향을 미치는 경우가 있다.

[0006] 예를 들어, 혈장 중의 세포외 유리 핵산(예를 들어 셀 프리(cell free) DNA)을 검출하는 검사에서는, 백혈구로부터 누출된 DNA에 의해, 검사 결과가 크게 변동된다.

[0007] 본 발명의 목적은, 검체 보존 중에 있어서의 혈장으로의 백혈구 유래 DNA의 혼입을 억제할 수 있는 혈액 채취 용기를 제공하는 것이다. 또한, 본 발명은, 상기 혈액 채취 용기를 사용한 혈장의 분리 방법, 세포외 유리 핵산의 분리 방법 및 세포외 소포의 분리 방법을 제공하는 것도 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 넓은 국면에 의하면, 혈액 채취 용기 본체와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 혈장 분리재와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 수용액을 구비하고, 상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중이 1.027 이상 1.060 이하이며, 상기 수용액이 항응고제를 포함하고, 또한 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물 또는 황산암모늄을 포함하는, 혈액 채취 용기가 제공된다.

[0009] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수용액이, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물을 포함한다.

[0010] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수용액이 상기 황산암모늄을 포함한다.

[0011] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수용액이, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물과, 상기 황산암모늄을 포함한다.

[0012] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물이, 덱스트란, 폴리에틸렌글리콜 또는 폴리비닐피롤리돈이다.

[0013] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물이, 수평균 분자량이 2,000 이상 150,000 이하인 수용성 고분자 화합물이다.

[0014] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수용액이 트레할로오스를 더 포함한다.

[0015] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수용액이 글루코오스, 아데닌 또는 이노시톨을 더 포함한다.

[0016] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수용액이 아포토시스 저해제를 더 포함한다.

[0017] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 혈액 채취 용기는, 소정량의 혈액이 채취되는 혈액 채취 용기이며, 혈액 채취 용기에 채취되는 혈액의 소정량과 등량의 생리 식염수를 혈액 채취 용기 내에 채취하여, 상기 생리 식염수와 상기 수용액이 혼합된 혼합액을 얻었을 때, 상기 혼합액의 침투압이 300mOsm/L 이상이다.

[0018] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수용액이 프로필렌글리콜을 더 포함한다.

[0019] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 혈장 분리재가 혈장 분리용 조성물이다.

[0020] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 혈장 분리용 조성물이, 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분과, 무기 미분말을 포함하고, 상기 유기 성분이 수지를 포함하고, 상기 무기 미분말이 미분말 실리카를 포함한다.

[0021] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 미분말 실리카가 친수성 실리카를 포함한다.

[0022] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 혈장 분리용 조성물 100중량% 중, 상기 친수성 실리카의 함유량이 0.01중량% 이상 2.50중량% 이하이다.

[0023] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 미분말 실리카가 친수성 실리카와 소수성 실리카를 포함한다.

[0024] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중이 1.050 이상이며, 상기 무기 미분말이 상기 미분말 실리카보다 비중이 큰 무기 미분말을 포함한다.

[0025] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 수지가 석유 수지, 시클로펜타디엔계 수지, 폴리에스테르 수지 또는 (메트)아크릴계 수지를 포함한다.

[0026] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 어느 특정한 국면에서는, 상기 혈액 채취 용기는 혈액 중의 세포외 유리 핵산 또는 세포외 소포를 분리하기 위해 사용된다.

[0027] 본 발명의 넓은 국면에 의하면, 상술한 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과, 상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하는 공정을 구비하는, 혈장의 분리 방법이 제공된다.

[0028] 본 발명의 넓은 국면에 의하면, 상술한 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과, 상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하여, 혈액으로부터 혈장을 분리하는 공정과, 분리된 상기 혈장으로부터, 세포외 유리 핵산을 분리하는 공정을 구비하는, 세포외 유리 핵산의 분리 방법이 제공된다.

[0029] 본 발명의 넓은 국면에 의하면, 상술한 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과, 상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하여, 혈액으로부터 혈장을 분리하는 공정과, 분리된 상기 혈장으로부터, 세포외 소포를 분리하는 공정을 구비하는, 세포외 소포의 분리 방법이 제공된다.

발명의 효과

[0030] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기는, 혈액 채취 용기 본체와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 혈장 분리재

와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 수용액을 구비하고, 상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중이 1.027 이상 1.060 이하이다. 본 발명에 관한 혈액 채취 용기에서는, 상기 수용액이 항응고제를 포함하고, 또한 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물 또는 황산암모늄을 포함한다. 본 발명에 관한 혈액 채취 용기에서는, 상기 구성이 구비되어 있으므로, 검체 보존 중에 있어서의 혈장으로의 백혈구 유래 DNA의 혼입을 억제할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은, 본 발명의 일 실시 형태에 관한 혈액 채취 용기를 모식적으로 나타내는 정면 단면도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0033] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기는, 혈액 채취 용기 본체와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 혈장 분리재와, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 수용액을 구비하고, 상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중이 1.027 이상 1.060 이하이다. 본 발명에 관한 혈액 채취 용기에서는, 상기 수용액이 항응고제를 포함하고, 또한 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물 또는 황산암모늄을 포함한다.

[0034] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기에서는, 상기 구성이 구비되어 있으므로, 검체 보존 중에 있어서의 혈장으로의 백혈구 유래 DNA의 혼입을 억제할 수 있다.

[0035] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하면, 혈액과 상기 수용액이 혼합된다. 본 발명자들은, 상기 수용액에 포함되는 특정한 수용성 고분자 화합물 또는 황산암모늄에 의해, 분리된 혈장 중으로의 백혈구의 혼입을 억제할 수 있는 것을 알아내었다. 또한, 상기 수용액 중에 포함되는 특정한 수용성 고분자 화합물 또는 황산암모늄에 의해, 분리된 혈장에 혼입되어 있는 백혈구를 안정화시킬 수 있는 것도 알아내었다. 그 때문에, 본 발명에 관한 혈액 채취 용기에서는, 백혈구의 경시적인 파괴에 의한 백혈구로부터의 DNA 누출이 효과적으로 억제되어, 검체 보존 중에 있어서의 혈장 중의 DNA양의 증가를 억제할 수 있다. 또한, 본 발명에 관한 혈액 채취 용기에서는, 혈장에 혼입되어 있는 백혈구의 경시적인 파괴가 효과적으로 억제되므로, 해당 백혈구로부터의 단백질 등의 내용물의 누출도 효과적으로 억제할 수 있다.

[0036] 이하, 본 발명에 관한 혈액 채취 용기의 상세 등을 설명한다. 또한, 본 명세서에 있어서, 「(메트)아크릴」은 「아크릴」과 「메타크릴」 중 한쪽 또는 양쪽을 의미한다.

[0037] (혈장 분리재)

[0038] 상기 혈액 채취 용기는, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 혈장 분리재를 구비한다. 상기 혈장 분리재로서, 종래 공지된 혈장 분리재를 사용할 수 있다. 상기 혈장 분리재로서는, 혈장 분리용 조성물 및 혈장 분리용 지그 등을 들 수 있다. 혈장 분리재의 제작이 용이한 점에서, 상기 혈장 분리재는 상기 혈장 분리용 조성물인 것이 바람직하다.

[0039] 혈액으로부터 혈장을 양호하게 분리하는 관점에서, 상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중은 1.027 이상 1.060 이하이다.

[0040] 상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중은, 바람직하게는 1.029 이상, 보다 바람직하게는 1.030 이상, 더욱 바람직하게는 1.032 이상, 바람직하게는 1.055 이하, 보다 바람직하게는 1.050 이하이다. 상기 혈장 분리재의 25℃에서의 비중이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈액으로부터 혈장을 한층 더 양호하게 분리할 수 있고, 또한 혈장으로의 백혈구 및 적혈구의 혼입을 한층 더 효과적으로 억제할 수 있다.

[0041] 상기 혈장 분리재의 수용 개소는, 상기 혈액 채취 용기 본체 내라면 특별히 한정되지 않는다. 상기 혈장 분리재는 상기 혈액 채취 용기 본체의 저부에 배치되어 있어도 되고, 상기 혈액 채취 용기 본체의 내벽면 상에 배치되어 있어도 된다.

[0042] <혈장 분리용 조성물>

[0043] 상기 혈장 분리용 조성물은, 원심 분리 시에 혈장층과 혈구층 사이에 이동하여 격벽을 형성하는 조성물이다. 또한, 상기 혈장 분리용 조성물은, 원심 분리 후에 혈장층과 혈구층 사이의 성분 이행을 방지할 목적으로 사용된다. 상기 혈장 분리용 조성물은 틱소트로피성을 갖는 것이 바람직하다. 상기 혈장 분리용 조성물은, 상기 혈액 채취 용기 본체의 저부에 수용되어 있어도 되고, 내벽면 상에 배치되어 있어도 된다. 본 발명의 효과를

한층 더 효과적으로 발휘하는 관점에서, 상기 혈장 분리용 조성물은, 상기 혈액 채취 용기 본체의 저부에 수용되어 있는 것이 바람직하다.

[0044] 상기 혈장 분리용 조성물로서, 종래 공지된 혈장 분리용 조성물을 사용할 수 있다.

[0045] 상기 혈장 분리용 조성물은, 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분과, 무기 미분말을 포함하는 것이 바람직하다. 상기 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분 및 상기 무기 미분말은 각각, 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0046] 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분:

[0047] 상기 「25℃에서 유동성을 갖는」이란, 25℃에서의 점도가 500Pa·s 이하인 것을 의미한다.

[0048] 상기 유기 성분의 25℃에서의 점도는, 바람직하게는 10Pa·s 이상, 보다 바람직하게는 30Pa·s 이상, 바람직하게는 200Pa·s 이하, 보다 바람직하게는 100Pa·s 이하이다. 상기 점도가 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈장 분리용 조성물의 유동성이 높아지고, 원심 분리 조작에 의해 형성되는 격벽의 강도를 높일 수 있다.

[0049] 상기 유기 성분의 25℃에서의 점도는, E형 점도계(예를 들어, 도끼 산교사제 「TVE-35」)를 사용하여, 25℃ 및 전단 속도 1.0초$^{-1}$의 조건에서 측정된다.

[0050] 상기 유기 성분으로서는, 수지 및 수지와 가소제 등의 유기 화합물의 혼합물 등을 들 수 있다. 따라서, 상기 유기 성분은, 상기 수지를 포함하는 것이 바람직하고, 상기 수지와 상기 유기 화합물을 포함하는 것이 보다 바람직하다. 상기 유기 성분이 상기 수지와 상기 유기 화합물의 혼합물인 경우에, 해당 혼합물(상기 유기 성분)로서 유동성을 갖고 있으면 되고, 해당 수지 또는 해당 유기 화합물이 유동성을 갖지 않아도 된다. 상기 유기 성분이 상기 수지와 상기 유기 화합물의 혼합물인 경우에, 해당 수지는, 예를 들어 25℃에서 고체인 수지여도 된다. 상기 수지 및 상기 유기 화합물은 각각 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0051] 상기 수지로서는, 석유 수지, 시클로펜타디엔계 수지, 폴리에스테르 수지, 폴리우레탄 수지, (메트)아크릴계 수지, 실리콘 수지, α-올레핀-푸마르산에스테르 공중합체, 세바스산과 2,2-디메틸-1,3-프로판디올과 1,2-프로판디올의 공중합체, 폴리에테르폴리우레탄계 수지, 및 폴리에테르폴리에스테르계 수지 등을 들 수 있다. 상기 수지는 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0052] 상기 수지는, 석유 수지, 시클로펜타디엔계 수지, 폴리에스테르 수지 또는 (메트)아크릴계 수지를 포함하는 것이 바람직하다.

[0053] 상기 석유 수지의 시판품으로서는, 이스트만 케미컬사제 「리가라이트 S5090」 등을 들 수 있다.

[0054] 상기 시클로펜타디엔계 수지로서는, 시클로펜타디엔계 모노머의 중합체, 시클로펜타디엔계 모노머와 방향족계 모노머의 공중합체, 및 디시클로펜타디엔 수지 등을 들 수 있다. 상기 시클로펜타디엔계 수지는 수소 첨가되어 있어도 된다. 상기 시클로펜타디엔계 모노머의 중합체 및 상기 시클로펜타디엔계 모노머와 방향족계 모노머의 공중합체는, 올리고머여도 된다.

[0055] 상기 시클로펜타디엔계 모노머로서는, 시클로펜타디엔, 디시클로펜타디엔 및 시클로펜타디엔의 알킬 치환 유도체 등을 들 수 있다.

[0056] 상기 방향족계 모노머로서는, 스티렌, 메틸스티렌, 인덴 및 메틸인덴 등을 들 수 있다.

[0057] 상기 디시클로펜타디엔 수지의 시판품으로서는, 콜론사제 「스코렛츠 SU500」 및 「스코렛츠 SU90」 등을 들 수 있다.

[0058] 상기 폴리에스테르 수지로서는, 폴리알킬레텔레프탈레이트 수지 및 폴리알킬렌나프탈레이트 수지 등을 들 수 있다. 상기 폴리알킬레텔레프탈레이트 수지로서는, 폴리에틸렌테레프탈레이트, 폴리부틸렌테레프탈레이트 및 폴리-1,4-시클로헥산디메틸렌테레프탈레이트 등을 들 수 있다.

[0059] 상기 폴리우레탄 수지로서는, 폴리올 화합물과 이소시아네이트 화합물의 반응물 등을 들 수 있다.

[0060] 상기 (메트)아크릴계 수지로서는, 적어도 1종의 (메트)아크릴산에스테르 단량체를 중합함으로써 얻어지는 수지, 및 적어도 1종의 (메트)아크릴산에스테르 단량체와 적어도 1종의 해당 (메트)아크릴산에스테르 단량체 이외의 단량체를 중합함으로써 얻어지는 수지를 들 수 있다.

[0061] 상기 (메트)아크릴산에스테르 단량체로서는, (메트)아크릴산알킬에스테르, (메트)아크릴산폴리알킬렌글리콜에스

테르, (메트)아크릴산알콕시알킬에스테르, (메트)아크릴산히드록시알킬에스테르, (메트)아크릴산글리시딜에스테르, (메트)아크릴산디알킬아미노알킬에스테르, (메트)아크릴산벤질에스테르, (메트)아크릴산페녹시알킬에스테르, (메트)아크릴산시클로헥실에스테르, (메트)아크릴산이소보르닐에스테르 및 (메트)아크릴산알콕시실릴알킬에스테르 등을 들 수 있다. 상기 (메트)아크릴산에스테르 단량체가 알킬기를 갖는 경우에, 해당 알킬기의 탄소수는, 바람직하게는 1 이상, 바람직하게는 20 이하이다. 상기 (메트)아크릴산알킬에스테르는, 탄소수가 1 이상 20 이하인 알킬기를 갖는 (메트)아크릴산알킬에스테르인 것이 바람직하다. 상기 (메트)아크릴산에스테르 단량체는 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0062] 상기 유기 화합물로서는, 벤젠폴리카르복실산알킬에스테르 유도체 등을 들 수 있다. 상기 유기 화합물은 벤젠폴리카르복실산알킬에스테르 유도체인 것이 바람직하다. 따라서, 상기 유기 성분은, 상기 수지와, 상기 벤젠폴리카르복실산알킬에스테르 유도체의 혼합물인 것이 바람직하다.

[0063] 상기 벤젠폴리카르복실산알킬에스테르 유도체로서는, 프탈산에스테르, 트리멜리트산에스테르 및 피로멜리트산에스테르 등을 들 수 있다. 상기 벤젠폴리카르복실산알킬에스테르 유도체는 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0064] 상기 트리멜리트산에스테르로서는, 트리멜리트산트리n-옥틸, 트리멜리트산트리이소옥틸 및 트리멜리트산트리이소데실 등을 들 수 있다.

[0065] 상기 피로멜리트산에스테르로서는, 피로멜리트산테트라이소옥틸 등을 들 수 있다.

[0066] 상기 트리멜리트산에스테르의 시판품으로서는, DIC사제 「모노사이저 W700」 및 「모노사이저 W-750」, 신니혼리카사제 「산소사이저 TOTM」 및 「산소사이저 TITM」 등을 들 수 있다.

[0067] 상기 피로멜리트산에스테르의 시판품으로서는, DIC사제 「모노사이저 W-7010」 등을 들 수 있다.

[0068] 상기 벤젠폴리카르복실산알킬에스테르 유도체는, 프탈산에스테르, 트리멜리트산에스테르 또는 피로멜리트산에스테르인 것이 바람직하고, 트리멜리트산에스테르인 것이 보다 바람직하다.

[0069] 상기 혈장 분리용 조성물 100중량% 중, 상기 유기 성분의 함유량은, 바람직하게는 80중량% 이상, 보다 바람직하게는 85중량% 이상, 더욱 바람직하게는 90중량% 이상, 바람직하게는 97중량% 이하이다.

[0070] 무기 미분말:

[0071] 상기 무기 미분말로서는, 미분말 실리카, 산화티타늄 분말, 탄산칼슘 분말, 산화아연 분말, 알루미나 분말, 유리 미분말, 탈크 분말, 카올린 분말, 벤토나이트 분말, 티타니아 분말 및 지르코늄 분말 등을 들 수 있다.

[0072] 혈장 분리용 조성물의 비중과 틱소트로피성의 양쪽을 모두 적합한 범위로 유지하는 관점에서는, 상기 무기 미분말은 미분말 실리카를 포함하는 것이 바람직하다. 25℃에서의 비중이 1.050 이상인 혈장 분리용 조성물을 얻는 경우에는, 상기 무기 미분말은, 미분말 실리카와, 미분말 실리카 이외의 무기 미분말(제2 무기 미분말)을 포함하는 것이 보다 바람직하다. 단, 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중이 1.050 이상인 경우에도, 상기 무기 미분말은 상기 제2 무기 미분말을 포함하고 있지 않아도 된다. 또한, 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중이 1.050 미만인 경우에도, 상기 무기 미분말은 상기 제2 무기 미분말을 포함하고 있어도 된다. 상기 무기 미분말, 상기 미분말 실리카 및 상기 제2 무기 미분말은 각각, 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0073] 상기 미분말 실리카로서는, 천연 실리카 및 합성 실리카를 들 수 있다. 합성 실리카로서는, 친수성 실리카 및 소수성 실리카를 들 수 있다. 친수성 실리카는, 예를 들어 입자 표면의 수산기끼리가 수소 결합함으로써, 혈장 분리용 조성물에 틱소트로피성을 부여함과 함께, 비중을 조정하는 작용을 갖는다. 한편, 소수성 실리카는 친수성 실리카에 비해 틱소트로피성의 부여 효과는 작다.

[0074] 혈장 분리용 조성물의 비중과 틱소트로피성의 양쪽을 모두 적합한 범위로 유지하는 관점에서는, 상기 미분말 실리카는 친수성 실리카를 포함하는 것이 바람직하고, 친수성 실리카와 소수성 실리카를 포함하는 것이 보다 바람직하다.

[0075] 상기 제2 무기 미분말은, 미분말 실리카보다 비중이 큰 무기 미분말인 것이 바람직하고, 산화아연 분말, 산화티타늄 분말, 알루미나 분말 등의 비중이 3 이상인 무기 미분말인 것이 보다 바람직하다.

[0076] 상기 제2 무기 미분말의 비중은, 바람직하게는 3 이상, 보다 바람직하게는 3.5 이상, 더욱 바람직하게는 4 이상

이다. 상기 제2 무기 미분말의 비중은 클수록 좋다. 상기 비중이 상기 하한 이상이면, 혈장 분리용 조성물의 비중을 효과적으로 크게 할 수 있다.

[0077] 상기 무기 미분말, 상기 미분말 실리카 및 상기 제2 무기 미분말의 평균 입자경은, 특별히 한정되지 않는다. 상기 무기 미분말, 상기 미분말 실리카 및 상기 제2 무기 미분말의 평균 입자경은, 1nm 이상이어도 되고, 10nm 이상이어도 되고,500nm 이하여도 되고, 100nm 이하여도 된다.

[0078] 상기 무기 미분말, 상기 미분말 실리카 및 상기 제2 무기 미분말의 평균 입자경은, 체적 기준으로 측정되는 평균 직경이며, 50%가 되는 메디안 직경(D50)의 값이다. 상기 체적 평균 입자경(D50)은 레이저 회절·산란법, 화상 해석법, 콜터법 및 원심 침강법 등에 의해 측정 가능하다. 상기 체적 평균 입자경(D50)은 레이저 회절·산란법 또는 화상 해석법에 의한 측정에 의해 구하는 것이 바람직하다.

[0079] 상기 미분말 실리카의 비표면적은 특별히 한정되지 않는다. 상기 미분말 실리카의 비표면적은 $20m^2/g$ 이상이어도 되고, $100m^2/g$ 이상이어도 되고, $500m^2/g$ 이하여도 되고, $300m^2/g$ 이하여도 된다.

[0080] 상기 미분말 실리카의 비표면적은 BET법에 의해 측정된다.

[0081] 상기 혈장 분리용 조성물 100중량% 중, 상기 친수성 실리카의 함유량은, 바람직하게는 0.01중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.10중량% 이상, 더욱 바람직하게는 0.30중량% 이상, 바람직하게는 2.50중량% 이하, 보다 바람직하게는 2.00중량% 이하이다. 상기 친수성 실리카의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈장 분리용 조성물의 비중과 틱소트로피성의 양쪽을 한층 더 적합한 범위로 유지할 수 있다.

[0082] 상기 혈장 분리용 조성물 100중량% 중, 상기 미분말 실리카의 함유량은, 바람직하게는 0.1중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.5중량% 이상, 바람직하게는 10중량% 이하, 보다 바람직하게는 7중량% 이하이다. 상기 미분말 실리카의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈장 분리용 조성물의 비중과 틱소트로피성의 양쪽을 한층 더 적합한 범위로 유지할 수 있다.

[0083] 상기 혈장 분리용 조성물 100중량% 중, 상기 제2 무기 미분말의 함유량은, 바람직하게는 0.01중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.1중량% 이상, 바람직하게는 10중량% 이하, 보다 바람직하게는 7중량% 이하이다. 상기 제2 무기 미분말의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈장 분리용 조성물의 비중을 효과적으로 크게 할 수 있다.

[0084] 상기 혈장 분리용 조성물 100중량% 중, 상기 무기 미분말의 함유량은, 바람직하게는 0.1중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.5중량% 이상, 바람직하게는 10중량% 이하, 보다 바람직하게는 7중량% 이하이다. 상기 무기 미분말의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈장 분리용 조성물의 비중을 효과적으로 크게 할 수 있다.

[0085] 기타 성분:

[0086] 상기 혈장 분리용 조성물은, 본 발명의 효과를 손상시키지 않는 한, 상술한 성분 이외의 기타 성분을 포함하고 있어도 된다. 상기 기타 성분으로서는, 유기 겔화제, 열가소성 엘라스토머, 폴리알킬렌글리콜, 실리콘 오일, 보조 용매, 산화 방지제, 착색제 및 물 등을 들 수 있다. 상기 기타 성분은 각각, 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0087] 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중은, 바람직하게는 1.027 이상, 보다 바람직하게는 1.029 이상, 더욱 바람직하게는 1.030 이상, 특히 바람직하게는 1.032 이상, 바람직하게는 1.060 이하, 보다 바람직하게는 1.055 이하, 더욱 바람직하게는 1.050 이하이다. 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈액으로부터 혈장을 양호하게 분리할 수 있고, 또한 혈장으로의 백혈구의 혼입을 효과적으로 억제할 수 있다. 또한, 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈장으로의 적혈구의 혼입도 효과적으로 억제할 수 있다. 단, 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중은 1.050 이상이어도 되고, 1.050을 초과하고 있어도 된다.

[0088] 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중은, 혈장 분리용 조성물 1방울을, 비중을 0.002의 간격으로 단계적으로 조정한 25℃의 식염수 중에 순차 적하하고, 식염수 중에 있어서의 부침(浮沈)에 의해 측정된다.

[0089] 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 점도는, 바람직하게는 50Pa·s 이상, 보다 바람직하게는 70Pa·s 이상, 바람직하게는 500Pa·s 이하, 보다 바람직하게는 400Pa·s 이하이다. 상기 점도가 상기 하한 이상 및 상기 상

한 이하이면, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다.

[0090] 상기 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 점도는, E형 점도계(예를 들어, 도끼 산교사제 「TVE-35」)를 사용하여, 25℃ 및 전단 속도 1.0초$^{-1}$의 조건에서 측정된다.

[0091] <혈장 분리용 지그>

[0092] 상기 혈장 분리용 지그는, 원심 분리 시에 혈장층과 혈구층 사이에 이동하여 격벽을 형성하는 지그이다. 또한, 상기 혈장 분리용 지그는, 혈장층과 혈구층 사이의 성분 이행을 방지할 목적으로 사용된다.

[0093] 상기 혈장 분리용 지그로서, 종래 공지된 혈장 분리용 지그를 사용할 수 있다. 상기 혈장 분리용 지그로서는, 예를 들어 WO2010/132783A1 등에 기재된 기계적 세퍼레이터(혈장 분리용 지그) 등을 들 수 있다.

[0094] 상기 혈장 분리용 지그의 재료로서는, 예를 들어 엘라스토머 등을 들 수 있다.

[0095] (수용액)

[0096] 상기 혈액 채취 용기는, 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용된 수용액을 구비한다. 상기 수용액은, 항응고제와 물을 포함하는 것이 바람직하다. 상기 수용액은, 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물(이하, 수용성 고분자 화합물 (X)라 기재하는 경우가 있음) 또는 황산암모늄을 포함한다. 상기 수용액에 포함되는 용질은, 항응고제를 포함한다. 상기 수용액에 포함되는 용질은, 수용성 고분자 화합물 (X) 또는 황산암모늄을 포함한다. 상기 수용액은 수용성 고분자 화합물 (X)와 황산암모늄을 포함하고 있어도 된다.

[0097] <항응고제>

[0098] 상기 수용액은 항응고제를 포함한다. 상기 항응고제로서, 종래 공지된 항응고제를 사용할 수 있다. 상기 항응고제는 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0099] 상기 항응고제로서는, 헤파린, 헤파린의 금속염, 에틸렌디아민4아세트산(EDTA), EDTA의 금속염, 시트르산 및 시트르산나트륨 등을 들 수 있다.

[0100] 항응고 성능을 양호하게 발휘시키는 관점에서, 상기 항응고제는, EDTA, EDTA의 금속염, 헤파린, 헤파린의 금속염 또는 시트르산나트륨인 것이 바람직하다.

[0101] 상기 수용액에 있어서의 상기 항응고제의 농도는, 바람직하게는 2mM 이상, 보다 바람직하게는 5mM 이상, 더욱 바람직하게는 10mM 이상, 바람직하게는 2000mM 이하, 보다 바람직하게는 1000mM 이하, 한층 더 바람직하게는 500mM 이하, 더욱 바람직하게는 250mM 이하, 더욱 한층 더 바람직하게는 100mM 이하, 특히 바람직하게는 50mM 이하이다. 상기 항응고제의 농도가 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 항응고 성능을 양호하게 발휘시킬 수 있다.

[0102] <수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하인 수용성 고분자 화합물(수용성 고분자 화합물 (X))>

[0103] 상기 수용액은, 수평균 분자량이 500 이상 180,000 이하(500 이상 18만 이하)인 수용성 고분자 화합물(수용성 고분자 화합물 (X))을 포함하는 것이 바람직하다. 수용성 고분자 화합물 (X)를 사용함으로써, 분리된 혈장 중으로의 백혈구의 혼입을 억제할 수 있는 이유는, 수용성 고분자 화합물 (X)가 혈액의 점도를 양호하게 유지함으로써, 원심 분리 시의 백혈구의 이동이 보다 원활하게 행해지기 때문이라고 추정되지만, 이것에 한정되지 않는다. 또한, 수용성 고분자 화합물 (X)를 사용함으로써, 혈장에 혼입되어 있는 백혈구로부터의 DNA의 누출이 억제되는 이유는, 수용성 고분자 화합물 (X)가 백혈구의 세포막을 효과적으로 보호함으로써, 백혈구를 안정화시키기 위함이라고 추정되지만, 이것에 한정되지 않는다. 또한, 수용성 고분자 화합물 (X)에 있어서의 수용성이란, 25℃의 물 100g에, 0.1g 이상 용해되는 것을 의미한다. 수용성 고분자 화합물 (X)는 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0104] 본 발명의 효과를 발휘시키는 관점에서, 수용성 고분자 화합물 (X)의 수평균 분자량은 500 이상 180,000 이하이다.

[0105] 수용성 고분자 화합물 (X)의 수평균 분자량은, 바람직하게는 1,000 이상, 보다 바람직하게는 1,500 이상, 더욱 바람직하게는 2,000 이상, 특히 바람직하게는 2,500 이상, 바람직하게는 170,000 이하, 보다 바람직하게는 150,000 이하, 더욱 바람직하게는 120,000 이하, 특히 바람직하게는 100,000 이하이다. 수용성 고분자 화합물 (X)의 수평균 분자량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 분리된 혈장 중으로의 백혈구의 혼입을 한층 더 억제할 수 있고, 또한 백혈구를 한층 더 안정화시킬 수 있어, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬

수 있다.

[0106] 수용성 고분자 화합물 (X)의 수평균 분자량은, 겔 투과 크로마토그래피(GPC)에 의해 측정되는 표준 폴리에틸렌글리콜 환산에 의한 수평균 분자량이다.

[0107] 수용성 고분자 화합물 (X)로서는, 덱스트란, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐알코올, 메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스 및 옥수수 전분 등을 들 수 있다.

[0108] 수용성 고분자 화합물 (X)는 덱스트란, 폴리에틸렌글리콜 또는 폴리비닐피롤리돈인 것이 바람직하다. 이 경우에는, 백혈구를 한층 더 안정화시킬 수 있어, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다.

[0109] 상기 수용액 100중량% 중, 수용성 고분자 화합물 (X)의 각 함유량은, 바람직하게는 0.1중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.5중량% 이상, 더욱 바람직하게는 1중량% 이상, 바람직하게는 15중량% 이하, 보다 바람직하게는 10중량% 이하, 더욱 바람직하게는 7중량% 이하이다. 수용성 고분자 화합물 (X)의 각 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 백혈구를 한층 더 안정화시킬 수 있어, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다. 또한, 수용성 고분자 화합물 (X)의 각 함유량이 상기 하한 이상이면, 채취한 혈액과 상기 수용액이 혼합된 혼합액의 침투압을 효과적으로 크게 할 수 있으므로, 혈장으로의 백혈구의 혼입량을 한층 더 적게 할 수 있다. 또한, 상기 「수용성 고분자 화합물 (X)의 각 함유량」이란, 상기 수용액이 1종류의 수용성 고분자 화합물 (X)를 포함하는 경우에, 해당 수용성 고분자 화합물 (X)의 함유량을 의미하고, 상기 수용액이 2종류 이상의 수용성 고분자 화합물 (X)를 포함하는 경우에, 수용성 고분자 화합물 (X) 각각의 함유량을 의미한다.

[0110] 상기 수용액 100중량% 중, 수용성 고분자 화합물 (X)의 함유량은, 바람직하게는 0.1중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.5중량% 이상, 더욱 바람직하게는 1중량% 이상, 바람직하게는 20중량% 이하, 보다 바람직하게는 15중량% 이하, 더욱 바람직하게는 10중량% 이하이다. 수용성 고분자 화합물 (X)의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 백혈구를 한층 더 안정화시킬 수 있어, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다. 또한, 수용성 고분자 화합물 (X)의 함유량이 상기 하한 이상이면, 채취한 혈액과 상기 수용액이 혼합된 혼합액의 침투압을 효과적으로 크게 할 수 있으므로, 혈장으로의 백혈구의 혼입량을 한층 더 적게 할 수 있다.

[0111] <황산암모늄>

[0112] 상기 수용액은 황산암모늄을 포함하는 것이 바람직하다. 본 발명자들은, 황산암모늄을 사용함으로써, 분리된 혈장 중으로의 백혈구의 혼입을 한층 더 억제할 수 있고, 또한 혈장에 혼입되어 있는 백혈구로부터의 DNA의 누출이 억제되는 것을 알아내었다. 또한, 상기 수용액이 수용성 고분자 화합물 (X)와 황산암모늄을 포함하는 경우에는, 본 발명의 효과가 한층 더 효과적으로 발휘된다.

[0113] 상기 수용액 100중량% 중, 황산암모늄의 함유량은, 바람직하게는 0.5중량% 이상, 보다 바람직하게는 1중량% 이상, 더욱 바람직하게는 4중량% 이상, 바람직하게는 20중량% 이하, 보다 바람직하게는 15중량% 이하, 더욱 바람직하게는 10중량% 이하이다. 상기 황산암모늄의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 분리된 혈장 중으로의 백혈구의 혼입을 한층 더 억제할 수 있고, 또한 백혈구를 한층 더 안정화시킬 수 있어, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다. 또한, 상기 황산암모늄의 함유량이 상기 하한 이상이면, 채취한 혈액과 상기 수용액이 혼합된 혼합액의 침투압을 효과적으로 크게 할 수 있으므로, 혈장으로의 백혈구의 혼입량을 한층 더 적게 할 수 있다.

[0114] <트레할로오스>

[0115] 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘하는 관점에서는, 상기 수용액은 트레할로오스를 포함하는 것이 바람직하다. 상기 수용액에 포함되는 용질은, 트레할로오스를 포함하는 것이 바람직하다. 트레할로오스를 사용함으로써, 백혈구의 세포막이 효과적으로 보호되어, 백혈구를 안정화시킬 수 있고, 그 결과, 혈장에 혼입되어 있는 백혈구로부터의 DNA의 누출을 한층 더 억제할 수 있다.

[0116] 상기 수용액 100중량% 중, 트레할로오스의 함유량은, 바람직하게는 0.5중량% 이상, 보다 바람직하게는 1중량% 이상, 더욱 바람직하게는 2중량% 이상, 바람직하게는 10중량% 이하, 보다 바람직하게는 7중량% 이하, 더욱 바람직하게는 5중량% 이하이다. 상기 트레할로오스의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 백혈구를 한층 더 안정화시킬 수 있어, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다. 또한, 상기 트레할로오스의 함유량이 상기 하한 이상이면, 채취한 혈액과 상기 수용액이 혼합된 혼합액의 침투압을 효과적으로 크게 할 수 있으므로, 혈장으로의 백혈구의 혼입량을 한층 더 적게 할 수 있다.

[0117] <글루코오스, 아데닌, 이노시톨>

[0118] 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘하는 관점에서는, 상기 수용액은 글루코오스, 아데닌 또는 이노시톨을 포함하는 것이 바람직하다. 상기 수용액에 포함되는 용질은, 글루코오스, 아데닌 또는 이노시톨을 포함하는 것이 바람직하다. 이 경우에, 상기 수용액은 글루코오스, 아데닌 및 이노시톨 중 1종만을 포함하고 있어도 되고, 2종 이상을 포함하고 있어도 된다. 이들 화합물을 사용함으로써, 백혈구에 영양원이 공급되므로, 백혈구의 생존율을 높일 수 있고, 그 결과, 혈장에 혼입되어 있는 백혈구로부터의 DNA의 누출을 한층 더 억제할 수 있다.

[0119] 상기 수용액이 글루코오스를 포함하는 경우에, 상기 수용액 100중량% 중, 글루코오스의 함유량은, 바람직하게는 0.1중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.3중량% 이상, 바람직하게는 10중량% 이하, 보다 바람직하게는 5중량% 이하이다. 상기 글루코오스의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다. 또한, 상기 글루코오스의 함유량이 상기 하한 이상이면, 채취한 혈액과 상기 수용액이 혼합된 혼합액의 침투압을 효과적으로 크게 할 수 있으므로, 혈장으로의 백혈구의 혼입량을 한층 더 적게 할 수 있다.

[0120] 상기 수용액이 아데닌을 포함하는 경우에, 상기 수용액 100중량% 중, 아데닌의 함유량은, 바람직하게는 0.01중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.05중량% 이상, 바람직하게는 2중량% 이하, 보다 바람직하게는 1중량% 이하이다. 상기 아데닌의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다. 또한, 상기 아데닌의 함유량이 상기 하한 이상이면, 채취한 혈액과 상기 수용액이 혼합된 혼합액의 침투압을 효과적으로 크게 할 수 있으므로, 혈장으로의 백혈구의 혼입량을 한층 더 적게 할 수 있다.

[0121] 상기 수용액이 이노시톨을 포함하는 경우에, 상기 수용액 100중량% 중, 이노시톨의 함유량은, 바람직하게는 0.01중량% 이상, 보다 바람직하게는 0.05중량% 이상, 바람직하게는 2중량% 이하, 보다 바람직하게는 1중량% 이하이다. 상기 이노시톨의 함유량이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다. 또한, 상기 이노시톨의 함유량이 상기 하한 이상이면, 채취한 혈액과 상기 수용액이 혼합된 혼합액의 침투압을 효과적으로 크게 할 수 있으므로, 혈장으로의 백혈구의 혼입량을 한층 더 적게 할 수 있다.

[0122] <아포토시스 저해제>

[0123] 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘하는 관점에서는, 상기 수용액은 아포토시스 저해제를 포함하는 것이 바람직하다. 상기 수용액에 포함되는 용질은, 아포토시스 저해제를 포함하는 것이 바람직하다. 아포토시스 저해제를 사용함으로써, 검체 보존 중의 백혈구의 세포사가 효과적으로 억제되고, 그 결과, 혈장에 혼입되어 있는 백혈구로부터의 DNA의 누출을 한층 더 억제할 수 있다. 상기 아포토시스 저해제는 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0124] 상기 아포토시스 저해제로서는, Q-VD-Oph 및 Z-VAD-FMK 등을 들 수 있다.

[0125] 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘하는 관점에서는, 상기 아포토시스 저해제는 카스파아제 저해제인 것이 바람직하고, Q-VD-Oph인 것이 보다 바람직하다. 상기 수용액은 카스파아제 저해제를 포함하는 것이 바람직하고, Q-VD-Oph를 포함하는 것이 보다 바람직하다.

[0126] 상기 수용액에 있어서의 아포토시스 저해제의 농도는, 바람직하게는 1nM 이상, 보다 바람직하게는 20nM 이상, 바람직하게는 10μM 이하, 보다 바람직하게는 5μM 이하이다. 상기 아포토시스 저해제의 농도가 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘할 수 있다.

[0127] <프로필렌글리콜>

[0128] 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘하는 관점에서는, 상기 수용액은 프로필렌글리콜을 포함하는 것이 바람직하다. 상기 수용액에 포함되는 용질은, 프로필렌글리콜을 포함하는 것이 바람직하다.

[0129] 상기 수용액 100중량% 중, 프로필렌글리콜의 함유량은, 바람직하게는 1중량% 이상, 보다 바람직하게는 5중량% 이상, 바람직하게는 50중량% 이하, 보다 바람직하게는 30중량% 이하이다.

[0130] <기타 성분>

[0131] 상기 수용액은, 상술한 성분(항응고제, 수용성 고분자 화합물 (X), 황산암모늄, 트레할로오스, 글루코오스, 아데닌, 이노시톨, 아포토시스 저해제 및 프로필렌글리콜) 이외의 기타 성분을 포함하고 있어도 된다.

[0132] 상기 기타 성분으로서는, 무기염, 당류 및 당알코올 등을 들 수 있다. 상기 기타 성분은 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0133] 상기 무기염으로서는, 염화나트륨 및 인산수소나트륨 등의 나트륨염, 그리고 염화칼륨 및 탄산수소칼륨 등의 칼륨염 등을 들 수 있다.

[0134] 상기 당류로서는, 디히드록시아세톤, 프룩토오스, 갈락토오스, 수크로오스, 말토오스, 락툴로오스 및 수용성 고분자 화합물 (X)에 상당하지 않는 다당류 등을 들 수 있다.

[0135] 상기 당알코올로서는, D-만니톨 및 D-소르비톨 등을 들 수 있다.

[0136] 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용되어 있는 수용액의 양은, 혈액 채취 용기 본체의 사이즈, 및 채취되는 혈액량 등에 의해 적절히 변경된다. 상기 혈액 채취 용기 본체 내에 수용되어 있는 수용액의 양은, 바람직하게는 0.1mL 이상, 보다 바람직하게는 0.5mL 이상, 더욱 바람직하게는 0.7mL 이상, 바람직하게는 5mL 이하, 보다 바람직하게는 3mL 이하, 더욱 바람직하게는 2.5mL 이하이다. 상기 수용액의 양이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 혈액이 과도하게 희석되지 않아, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘할 수 있다.

[0137] (혈액 채취 용기 본체)

[0138] 상기 혈액 채취 용기 본체의 형상은 특별히 한정되지 않는다. 상기 혈액 채취 용기 본체는 바닥이 있는 관상 용기인 것이 바람직하다.

[0139] 상기 혈액 채취 용기 본체의 소재는 특별히 한정되지 않는다. 상기 혈액 채취 용기 본체의 소재로서는, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리에틸렌테레프탈레이트, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리아크릴로니트릴 등의 열가소성 수지; 불포화 폴리에스테르 수지, 에폭시 수지, 에폭시-아크릴레이트 수지 등의 열경화성 수지; 아세트산셀룰로오스, 프로피온산셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 에틸키틴 등의 변성 천연 수지; 소다 석회 유리, 인규산 유리, 붕규산 유리 등의 규산염 유리, 석영 유리 등의 유리를 들 수 있다. 상기 혈액 채취 용기 본체의 소재는 1종만이 사용되어도 되고, 2종 이상이 병용되어도 된다.

[0140] (마개)

[0141] 상기 혈액 채취 용기는 마개를 구비하는 것이 바람직하다. 상기 마개는 혈액 채취 용기 본체의 개구에 설치되어 있는 것이 바람직하다. 상기 마개로서, 종래 공지된 마개를 사용할 수 있다. 상기 마개는 혈액 채취 용기 본체의 개구에, 기밀적이면서 또한 액밀적으로 설치하는 것이 가능한 소재, 형상을 포함하는 마개인 것이 바람직하다. 상기 마개는, 채혈 바늘이 찔러 통과될 수 있도록 구성되어 있는 것이 바람직하다.

[0142] 상기 마개로서는, 혈액 채취 용기 본체의 개구에 감합하는 형상을 갖는 마개, 시트상의 시일 마개 등을 들 수 있다.

[0143] 또한, 상기 마개는, 고무 마개 등의 마개 본체와, 플라스틱 등으로 구성된 캡 부재를 구비하는 마개여도 된다. 이 경우에는, 혈액 채취 후에, 혈액 채취 용기 본체의 개구로부터 마개를 인발할 때, 혈액이 인체와 접촉할 리스크를 억제할 수 있다.

[0144] 상기 마개(또는 상기 마개 본체)의 재료로서는, 예를 들어 합성 수지, 엘라스토머, 고무, 금속박 등을 들 수 있다. 상기 고무로서는, 부틸 고무 및 할로겐화부틸 고무 등을 들 수 있다. 상기 금속박으로서는, 알루미늄박 등을 들 수 있다. 밀봉성을 높이는 관점에서는, 상기 마개의 재료는 부틸 고무인 것이 바람직하다. 상기 마개(또는 상기 마개 본체)는 부틸 고무 마개인 것이 바람직하다.

[0145] (혈액 채취 용기의 기타 상세)

[0146] 상기 혈액 채취 용기는, 소정량의 혈액이 채취되는 혈액 채취 용기이다. 상기 혈액의 상기 소정량은, 혈액 채취 용기의 사이즈 및 내압 등에 의해 적절히 변경된다. 상기 혈액의 상기 소정량은 1mL 이상이어도 되고, 2mL 이상이어도 되고, 4mL 이상이어도 되고, 12mL 이하여도 되고, 11mL 이하여도 되고, 10mL 이하여도 된다.

[0147] 상기 혈액 채취 용기에 채취되는 혈액의 소정량과 등량의 생리 식염수를 상기 혈액 채취 용기 내에 채취하여, 상기 생리 식염수와 상기 수용액이 혼합된 혼합액을 얻는다. 예를 들어, 5mL의 혈액이 채취되는 혈액 채취 용기에서는, 5mL의 생리 식염수를 해당 혈액 채취 용기 내에 채취하여, 전도 혼화하거나 하여, 상기 생리 식염수와 상기 수용액을 혼합하여, 혼합액을 얻는다. 상기 생리 식염수와 상기 수용액이 혼합된 상기 혼합액의 침투압은, 바람직하게는 300mOsm/L 이상, 보다 바람직하게는 330mOsm/L 이상, 더욱 바람직하게는 350mOsm/L 이상,

바람직하게는 1300mOsm/L 이하, 보다 바람직하게는 1000mOsm/L 이하, 더욱 바람직하게는 800mOsm/L 이하이다. 상기 혼합액의 침투압이 상기 하한 이상이면, 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취했을 때, 혈액과 상기 수용액이 혼합되어, 혈액의 침투압이 커진다. 그 때문에, 백혈구내의 수분 및 적혈구 내의 수분이 혈구 외로 이동하고, 백혈구 및 적혈구의 비중이 커진다. 비중이 커진 백혈구 및 적혈구는, 혈액 채취 용기를 원심 분리함으로써, 혈장 분리재보다도 하방으로 양호하게 이동한다. 그 결과, 혈장 중으로의 백혈구 및 적혈구의 혼입을 효과적으로 억제할 수 있다. 또한, 상기 혼합액의 침투압이 상기 하한 이상 및 상기 상한 이하이면, 백혈구에 대한 과도한 스트레스가 억제되어, 백혈구를 한층 더 안정화시킬 수 있으므로, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘시킬 수 있다.

[0148] 상기 혼합액의 침투압은, 침투압계(예를 들어, 아크레이사제 「OM-6060」)를 사용하여, 빙점 강하법에 의해 측정된다.

[0149] 상기 혈액 채취 용기에서는, 수용되어 있는 상기 수용액 1mL에 대하여, 혈액이 3mL 이상 채취되는 것이 바람직하고, 4mL 이상 채취되는 것이 보다 바람직하고, 11mL 이하 채취되는 것이 바람직하고, 10mL 이하 채취되는 것이 보다 바람직하다. 이 경우에는, 혈액이 과도하게 희석되지 않아, 본 발명의 효과를 한층 더 효과적으로 발휘할 수 있다.

[0150] 상기 혈액 채취 용기는 체혈관인 것이 바람직하다. 상기 혈액 채취 용기 본체는 체혈관 본체인 것이 바람직하다.

[0151] 상기 혈액 채취 용기는, 혈액으로부터 혈장을 분리하기 위해 사용되는 것이 바람직하다. 또한, 상기 혈액 채취 용기는, 혈액 중의 세포외 유리 핵산 또는 세포외 소포를 분리하기 위해 사용되는 것이 바람직하고, 혈액 중의 세포외 유리 핵산 또는 세포외 소포를 단리하기 위해 사용되는 것이 바람직하다.

[0152] 상기 혈액 채취 용기는, 예를 들어 이하와 같이 하여 제조할 수 있다.

[0153] 항응고제와, 수용성 고분자 화합물 (X) 또는 황산암모늄을 물에 용해시켜 수용액을 얻는다. 또한, 필요에 따라서 이들 이외의 성분(트레할로오스, 글루코오스, 아데닌, 이노시톨, 아포토시스 저해제, 프로필렌글리콜 또는 상기 기타 성분 등)도 물에 용해시켜 수용액을 얻는다. 얻어진 수용액을 혈액 채취 용기 본체 내에 첨가한다. 수용액을 첨가하기 전 또는 첨가한 후에, 혈액 채취 용기 본체 내에 혈장 분리재를 수용한다.

[0154] 도 1은, 본 발명의 일 실시 형태에 관한 혈액 채취 용기를 모식적으로 나타내는 정면 단면도이다.

[0155] 도 1에 나타내는 혈액 채취 용기(1)는, 혈액 채취 용기 본체(2)와, 혈장 분리용 조성물(3)과, 수용액(4)과, 마개(5)를 구비한다. 혈액 채취 용기 본체(2)는 일단부에 개구를 갖고, 타단부에 폐쇄되어 있는 저부를 갖는다. 혈장 분리용 조성물(3)은 혈액 채취 용기 본체(2)의 저부에 수용되어 있다. 수용액(4)은 항응고제를 포함하며, 또한 수용성 고분자 화합물 (X) 또는 황산암모늄을 포함한다. 마개(5)는 혈액 채취 용기 본체(2)의 개구에 삽입되어 있다.

[0156] 수용액(4)은 혈장 분리용 조성물(3)의 표면 상에 배치되어 있고, 보다 구체적으로는, 혈장 분리용 조성물(3)의 상면(일단부측의 표면)에 배치되어 있다. 수용액(4)은 혈액 채취 용기(1)를 정립 상태로 했을 때, 혈장 분리용 조성물(3)의 표면 상에 배치되어 있다.

[0157] 본 발명에 관한 혈액 채취 용기에서는, 상기 혈장 분리용 조성물이 상기 혈액 채취 용기 본체의 측벽면 상에 배치되어 있고, 또한 상기 수용액이 혈액 채취 용기를 정립 상태로 했을 때, 혈액 채취 용기 본체의 저부에 배치되어 있어도 된다. 또한, 상기 혈장 분리용 조성물 대신에 상기 혈장 분리용 지그가 사용되어도 된다.

[0158] 상기 혈액 채취 용기의 내압은 특별히 한정되지 않는다. 상기 혈액 채취 용기는, 내부가 배기된 후에, 상기 마개에 의해 밀폐된 진공 체혈관으로서 사용할 수도 있다. 진공 체혈관인 경우, 채혈자의 기술차에 구애받지 않고 일정량의 혈액 채취를 간편하게 행할 수 있다.

[0159] 세균 감염을 방지하는 관점에서, 혈액 채취 용기의 내부는 ISO 또는 JIS의 기준에 준하여 멸균되어 있는 것이 바람직하다.

[0160] (혈장의 분리 방법)

[0161] 상기 혈액 채취 용기를 사용하여, 혈액으로부터 혈장을 분리할 수 있다. 본 발명에 관한 혈장의 분리 방법은, 상술한 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과, 상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하는 공정을 구비한다.

[0162] 본 발명에 관한 혈장의 분리 방법에서는, 상기 혈액을 채취하는 공정과 상기 원심 분리하는 공정 사이에, 채취된 혈액과, 상기 수용액을 혼합하는 공정을 구비하는 것이 바람직하다. 채취된 혈액과 상기 수용액을 혼합하는 방법으로서는, 전도 혼화 등을 들 수 있다.

[0163] 상기 원심 분리하는 공정에서의 원심 분리 조건은, 상기 혈장 분리재에 의해 격벽을 형성시켜, 혈장과 혈구를 분리시킬 수 있는 한, 특별히 한정되지 않는다. 상기 원심 분리 조건으로서는, 예를 들어 400G 이상 4000G 이하에서 10분간 이상 120분간 이하로 원심 분리하는 조건 등을 들 수 있다.

[0164] (세포외 유리 핵산의 분리 방법 및 세포외 소포의 분리 방법)

[0165] 본 발명에 관한 세포외 유리 핵산의 분리 방법은, 상술한 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과, 상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하여, 혈액으로부터 혈장을 분리하는 공정과, 분리된 상기 혈장으로부터, 세포외 유리 핵산을 분리하는 공정을 구비한다.

[0166] 본 발명에 관한 세포외 소포의 분리 방법은, 상술한 혈액 채취 용기 내에 혈액을 채취하는 공정과, 상기 혈액이 채취된 상기 혈액 채취 용기를 원심 분리하여, 혈액으로부터 혈장을 분리하는 공정과, 분리된 상기 혈장으로부터, 세포외 소포를 분리하는 공정을 구비한다.

[0167] 본 발명에 관한 세포외 유리 핵산의 분리 방법 및 세포외 소포의 분리 방법에서는, 상기 혈액을 채취하는 공정과 상기 원심 분리하는 공정 사이에, 채취된 혈액과, 상기 수용액을 혼합하는 공정을 구비하는 것이 바람직하다. 채취된 혈액과 상기 수용액을 혼합하는 방법으로서는, 전도 혼화 등을 들 수 있다.

[0168] 상기 원심 분리하는 공정에서의 원심 분리 조건은, 상기 혈장 분리재에 의해 격벽을 형성시켜, 혈장과 혈구를 분리시킬 수 있는 한, 특별히 한정되지 않는다. 상기 원심 분리 조건으로서는, 예를 들어 400G 이상 4000G 이하에서 10분간 이상 120분간 이하로 원심 분리하는 조건 등을 들 수 있다.

[0169] 상기 세포외 유리 핵산을 분리하는 공정에서는, 종래 공지된 방법을 사용하여, 혈장으로부터 세포외 유리 핵산을 분리할 수 있다. 상기 세포외 유리 핵산으로서는, 셀 프리 DNA(cfDNA), 셀 프리 RNA(cfRNA) 등을 들 수 있다. 상기 혈장으로부터 세포외 유리 핵산을 분리하는 방법으로서는, 시판되는 핵산 정제 키트를 사용하는 방법 등을 들 수 있다. 시판되고 있는 핵산 정제 키트를 사용함으로써, 혈장으로부터 세포외 유리 핵산을 간편하게 분리할 수 있다. 핵산 정제 키트의 시판품으로서는, QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit(QIAGEN사제), QIAamp MinElute ccfDNA Kits(QIAGEN사제) 및 MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit(Applied biosystems사제) 등을 들 수 있다.

[0170] 상기 세포외 소포를 분리하는 공정에서는, 종래 공지된 방법을 사용하여, 혈장으로부터 세포외 소포를 분리할 수 있다.

[0171] 이하, 실시예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 본 발명이 이하의 실시예에만 한정되지 않는다.

[0172] 혈장 분리용 조성물의 재료로서, 이하를 준비하였다.

[0173] (25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분의 재료)

[0174] (메트)아크릴계 수지 1:

[0175] 아크릴산-2-에틸헥실과 아크릴산부틸을 아조계 중합 개시제의 존재 하에서 용액 중합법에 의해 라디칼 중합시켜, 25℃에서 유동성을 갖는 (메트)아크릴산에스테르계 중합체((메트)아크릴계 수지 1)를 얻었다. 또한, (메트)아크릴계 수지 1의 25℃에서의 비중은 1.034였다.

[0176] (메트)아크릴계 수지 2:

[0177] 아크릴산-2-에틸헥실과 아크릴산부틸의 배합비를 변경한 것 이외에는, (메트)아크릴계 수지 1의 제작 방법과 마찬가지로 하여, 25℃에서 유동성을 갖는 (메트)아크릴산에스테르계 중합체((메트)아크릴계 수지 2)를 얻었다. 또한, (메트)아크릴계 수지 2의 25℃에서의 비중은 1.015였다.

[0178] 기타 수지:

[0179] 석유 수지(이스트만 케미컬사제 「리가라이트 S5090」)

[0180] 디시클로펜타디엔 수지 1(콜론사제 「스코렛츠 SU500」)

[0181] 디시클로펜타디엔 수지 2(콜론사제 「스코렛츠 SU90」)

[0182] 유기 화합물:

[0183] 트리멜리트산에스테르(벤젠폴리카르복실산알킬에스테르 유도체, DIC사제 「모노사이저 W700」)

[0184] (무기 미분말)

[0185] 친수성 실리카(미분말 실리카, 닛본 에어로실사제 「200CF」)

[0186] 소수성 실리카(미분말 실리카, 닛본 에어로실사제 「R974」)

[0187] 산화티타늄 분말(이시하라 산교사제 「A-100」)

[0188] (기타 성분)

[0189] 실리콘 오일(도레이 다우코닝사제 「SF8410」)

[0190] 유기 겔화제(신니혼 리카사제 「겔올 D」)

[0191] 1-메틸-2-피롤리돈(보조 용매)

[0192] 혈장 분리용 조성물 A, B, D의 제작:

[0193] 표 1에 기재된 배합 비율로, 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분과 무기 미분말과 기타 성분을 혼합하여, 혈장 분리용 조성물 A, B, D를 제작하였다.

[0194] 혈장 분리용 조성물 C의 제작:

[0195] 표 1에 기재된 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분의 재료를 배합하여, 130℃에서 가열 용해시키고, 혼합하여, 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분을 제작하였다. 이어서, 표 1에 기재된 배합 비율로, 25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분과 무기 미분말과 기타 성분을 혼합하여, 혈장 분리용 조성물 C를 제작하였다.

표 1

		혈장 분리용 조성물 A	혈장 분리용 조성물 B	혈장 분리용 조성물 C	혈장 분리용 조성물 D
25℃에서 유동성을 갖는 유기 성분	(메트)아크릴계 수지 1 중량%	-	-	-	-
	(메트)아크릴계 수지 2 중량%	-	-	-	96.70
	석유 수지 중량%	-	-	7.83	-
	디시클로펜타디엔 수지 1 중량%	-	-	11.33	-
	디시클로펜타디엔 수지 2 중량%	-	-	13.03	-
	트리멜리트산에스테르 중량%	-	-	64.90	-
무기 미분말	미분말 실리카 친수성 실리카 중량%	1.00	1.00	0.70	2.00
	미분말 실리카 소수성 실리카 중량%	0.85	0.85	1.80	1.00
	산화티타늄 분말 중량%	-	0.80	-	-
기타 성분	실리콘 오일 중량%	0.30	0.30	-	0.30
	유기 결합체 중량%	-	-	0.06	-
	1-메틸-2-피롤리돈 중량%	-	-	0.34	-
합계 중량%		100	100	100	100

[0196]

[0197] 얻어진 혈장 분리용 조성물 1방울을, 비중을 0.002의 간격으로 단계적으로 조정한 25℃의 식염수 중에 순차 적하하고, 식염수 중에 있어서의 부침에 의해 비중을 측정하였다. 얻어진 혈장 분리용 조성물의 25℃에서의 비중은 표 2 내지 5에 나타냈다.

[0198] 수용액의 용질로서, 이하를 준비하였다.

[0199] (항응고제)

[0200] 에틸렌디아민4아세트산2칼륨2수화물(EDTA2K · $2H_2O$)

[0201] (수용성 고분자 화합물 (X))

[0202] 덱스트란(수평균 분자량: 40,000)

[0203] 덱스트란(수평균 분자량: 70,000)

[0204] 폴리에틸렌글리콜(수평균 분자량: 3,000)

[0205] 폴리에틸렌글리콜(수평균 분자량: 20,000)

[0206] 폴리비닐피롤리돈(수평균 분자량: 10,000)

[0207] 폴리비닐피롤리돈(수평균 분자량: 58,000)

[0208] (수용성 고분자 화합물 (X)에 상당하지 않는 수용성 고분자 화합물)

[0209] 덱스트란(수평균 분자량: 200,000)

[0210] 폴리에틸렌글리콜(수평균 분자량: 500,000)

[0211] 황산암모늄

[0212] 트레할로오스

[0213] 글루코오스

[0214] 아데닌

[0215] myo-이노시톨

[0216] 아포토시스 저해제(Q-VD-Oph)

[0217] 프로필렌글리콜

[0218] (기타 성분)

[0219] 염화나트륨(침투압 조정제)

[0220] 혈액 채취 용기 본체로서, 이하를 준비하였다.

[0221] 길이 100mm, 개구부의 내경 14mm의 PET 바닥이 있는 관(폴리에틸렌테레프탈레이트관)

[0222] (실시예 1)

[0223] 표 2에 나타내는 성분을 물에 용해시켜 수용액을 얻었다. 얻어진 수용액 중의 성분의 종류 및 농도를 표 2에 나타낸다.

[0224] 1.2g의 혈장 분리용 조성물 A를, 혈액 채취 용기 본체의 저부에 수용하였다. 또한, 얻어진 수용액 1mL를 혈장 분리용 조성물 A의 표면 상에 첨가하였다. 혈액 채취 용기 내부를, 혈액 채취량이 8mL가 되도록 감압하고, 부틸 고무 마개에 의해 밀봉하였다. 이와 같이 하여 혈액 채취 용기를 제작하였다.

[0225] (실시예 2 내지 12 및 비교예 2, 3)

[0226] 혈장 분리용 조성물의 종류 및 수용액의 조성을 표 2 내지 5와 같이 변경하였다. 이들 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈액 채취 용기를 제작하였다.

[0227] (비교예 1)

[0228] 항응고제 24중량부를, 물 76중량부에 용해시켜, 혼합액을 얻었다. 1.2g의 혈장 분리용 조성물 A를, 혈액 채취 용기 본체의 저부에 수용하였다. 또한, 얻어진 혼합액 60mg을, 혈액 채취 용기 본체의 내벽면에 도포하여 건조시켰다. 혈액 채취 용기 내부를, 혈액 채취량이 8mL가 되도록 감압하고, 부틸 고무 마개에 의해 밀봉하였다. 이와 같이 하여 혈액 채취 용기를 제작하였다.

[0229] (평가)

[0230] (1) 혼합액의 침투압

[0231] 얻어진 혈액 채취 용기에 생리 식염수 8mL를 채취하였다. 생리 식염수를 채취한 후, 전도 혼화하여, 생리 식염수와 혈액 채취 용기 내에 수용된 수용액(실시예 1 내지 12 및 비교예 2, 3) 또는 수용 성분(비교예 1)을 혼합

하여, 혼합액을 얻었다. 얻어진 혼합액의 침투압을, 침투압계(아크레이사제 「OM-6060」)를 사용하여, 빙점 강하법에 의해 측정하였다.

[0232] (2) 백혈구의 잔존량

[0233] 3명의 혈액을 준비하고, 각각에 대하여 이하의 조작을 행하였다. 혈액 채취 용기를 각 1개 준비하고, 각각에 혈액 8mL를 채취하였다. 혈액을 채취한 후, 전도 혼화하여, 혈액과 혈액 채취 용기 내에 수용된 수용액(실시예 1 내지 12 및 비교예 2, 3) 또는 수용 성분(비교예 1)을 혼합하였다. 이어서, 혈액 채취 용기를 1500G로 15분간 원심 분리하였다. 원심 분리 후, 혈장 분리용 조성물에 의해 형성된 격벽보다도 상방에 혈장이 위치하고 있었다. 상기 격벽보다도 상방에 위치하는 혈장을 피펫팅에 의해 교반하고, 해당 격벽 상에 퇴적하고 잔존한 혈구를 현탁시키고 나서, 혈장을 회수하였다. 다항째 자동 혈구 분석 장치(시스멕스사제 「XE5000」)를 사용하여, 회수한 혈장을 분석함으로써, 혈장 중의 백혈구수를 측정하였다. 또한, 준비한 혈액(전혈 샘플)에 대해서도, 마찬가지로 하여, 전혈 샘플 중의 백혈구수를 측정하였다. 또한, 상기 백혈구수는, 준비한 3명의 혈액에서 평가하여 얻어진 결과의 평균값이다. 하기 식에 의해, 백혈구의 잔존율을 산출하였다.

[0234] 백혈구의 잔존율(%)=(분리한 혈장 중에 포함되는 백혈구의 수(cells))/(전혈 샘플에 포함되는 백혈구의 수(cells))×100

[0235] <백혈구의 잔존량의 판정 기준>

[0236] ○: 백혈구의 잔존율이 10% 미만

[0237] ×: 백혈구의 잔존율이 10% 이상

[0238] (3) cfDNA의 회수량

[0239] 3명의 혈액을 준비하고, 각각에 대하여 이하의 조작을 행하였다. 혈액 채취 용기를 각 2개 준비하고, 각각에 혈액 8mL를 채취하였다. 혈액을 채취한 후, 전도 혼화하여, 혈액과 혈액 채취 용기 내에 수용된 수용액(실시예 1 내지 12 및 비교예 2, 3) 또는 수용 성분(비교예 1)을 혼합하였다. 이어서, 혈액 채취 용기를 1500G로 15분간 원심 분리하였다. 원심 분리 후, 혈장 분리용 조성물에 의해 형성된 격벽보다도 상방에 혈장이 위치하고 있었다.

[0240] 혈장 분리 후의 혈액 채취 용기 2개 중 1개에 대해서는, 혈액을 채취한 당일에 혈액 채취 용기로부터 혈장을 회수하였다. 또한, 혈장 분리 후의 혈액 채취 용기 2개 중 나머지 1개에 대해서는, 혈장이 분리된 상태의 혈액 채취 용기를 실온(25℃)에서 7일간 보관한 후, 혈액 채취 용기로부터 혈장을 회수하였다.

[0241] cfDNA 정제 키트(QIAGEN사제 「QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit」)를 사용하여, 회수한 혈장에 포함되는 DNA를 정제하였다. 또한, DNA의 정제 조작은, 혈액 채취 용기로부터 혈장을 회수한 날에 실시하였다.

[0242] 정제 후의 추출액 중의 DNA 농도를, Qubit dsDNA HS Assay kit(Invitrogen사제)를 사용하여 측정하였다. 이어서, 이하의 식에 따라서, cfDNA 농도(혈장 1mL당에 포함되는 cfDNA의 함량)를 산출하였다.

[0243] cfDNA 농도(ng/혈장1mL)=[A]×[B]/[C]

[0244] [A]: 정제 후의 추출액 중의 DNA 농도의 측정값(ng/mL)

[0245] [B]: 정제 후의 추출액의 전용량(mL)

[0246] [C]: DNA 정제에 사용한 혈장의 용량(mL)

[0247] 혈액 채취 당일의 혈장으로부터 회수한 cfDNA의 농도의 평균값을 「cfDNA 농도(채취 당일)」로 하고, 7일간 보관 후의 혈장으로부터 회수한 cfDNA의 농도의 평균값을 「cfDNA 농도(7일 보관)」로 하였다. 또한, cfDNA 농도(7일 보관)와 cfDNA 농도(채취 당일)의 차를 「cfDNA 농도의 증가량」으로 하였다. 또한, 상기 cfDNA의 농도의 평균값이란, 3명의 혈액을 사용한 결과의 평균값이다.

[0248] cfDNA의 회수량을 이하의 기준으로 판정하였다. 또한, 보관 중에, 혈장에 혼입되어 있는 백혈구가 파괴될수록 cfDNA 농도의 증가량이 커진다. 따라서, cfDNA 농도의 증가량이 작을수록, 혈장에 혼입되어 있는 백혈구로부터의 DNA의 누출이 억제되어 있으며, 검체 보존 중에 있어서의 혈장으로의 백혈구 유래 DNA의 혼입이 억제되어 있다.

[0249] <cfDNA의 회수량의 판정 기준>

[0250] ○○: cfDNA 농도의 증가량이 10ng/혈장 1mL 미만이다

[0251] ○: cfDNA 농도의 증가량이 10ng/혈장 1mL 이상 70ng/혈장 1mL 미만이다

[0252] ×: cfDNA 농도의 증가량이 70ng/혈장 1mL 이상이다

[0253] 구성 및 결과를 하기 표 2 내지 5에 나타낸다. 또한, 표 중, 항응고제의 농도는, EDTA2K · $2H_2O$의 농도가 아니라, EDTA2K의 농도를 의미한다.

표 2

					실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4
수용액	항응고제	EDTA2K·$2H_2O$		mM	20	20	20	20
	수용성 고분자 화합물 (X)	덱스트란 (Mn:40,000)		중량%	-	-	-	-
		덱스트란 (Mn:70,000)		중량%	5.0	5.0	5.0	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:3,000)		중량%	3.0	-	7.0	1.0
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:20,000)		중량%	-	-	-	-
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:10,000)		중량%	-	1.0	-	-
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:58,000)		중량%	-	-	-	-
	수용성 고분자 화합물 (X)에 상당하지 않는 수용성 고분자 화합물	덱스트란 (Mn:200,000)		중량%	-	-	-	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:500,000)		중량%	-	-	-	-
	황산암모늄			중량%	-	-	-	-
	침투압 조정제	염화나트륨		중량%	2.6	1.4	2.0	4.9
	트레할로오스			중량%	-	-	5.0	-
	글루코오스			중량%	-	-	-	-
	아데닌			중량%	-	-	-	-
	myo-이노시톨			중량%	-	-	-	-
	아포토시스 저해제	Q-VD-Oph		μM	-	-	-	-
	프로필렌글리콜			중량%	-	-	-	20
혈액 채취 용기에 수용되어 있는 수용액의 양				mL	1	1	1	1
혈장 분리용 조성물		종류		-	A	C	A	C
		25℃에서의 비중		-	1.045	1.035	1.045	1.035
채취된 혈액량				mL	8	8	8	8
평가	혼합액의 침투압			mOsm/L	353	310	348	726
	백혈구의 잔존량			%	4	2	3	1
				판정	○	○	○	○
	cfDNA 의 회수량	cfDNA 농도(채취 당일)		ng/혈장 1mL	19	19	15	20
		cfDNA 농도(7일 보관)		ng/혈장 1mL	50	37	30	27
		cfDNA 농도의 증가량		ng/혈장 1mL	31	18	15	7
				판정	○	○	○	○○

[0254]

표 3

				실시예 5	실시예 6	실시예 7	실시예 8
수용액	항응고제	EDTA2K·2H_2O	mM	20	40	20	10
	수용성 고분자 화합물 (X)	덱스트란 (Mn:40,000)	중량%	-	5.0	-	5.0
		덱스트란 (Mn:70,000)	중량%	-	-	-	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:3,000)	중량%	-	-	-	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:20,000)	중량%	-	-	1.0	7.0
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:10,000)	중량%	5.0	-	-	-
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:58,000)	중량%	-	1.0	-	-
	수용성 고분자 화합물 (X)에 상당하지 않는 수용성 고분자 화합물	덱스트란 (Mn:200,000)	중량%	-	-	-	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:500,000)	중량%	-	-	-	-
	황산암모늄		중량%	-	-	-	-
	침투압 조정제	염화나트륨	중량%	5.0	1.4	4.9	2.0
	트레할로오스		중량%	-	-	-	5.0
	글루코오스		중량%	0.5	-	-	-
	아데닌		중량%	0.1	-	-	-
	myo-이노시톨		중량%	0.2	-	-	-
	아포토시스 저해제	Q-VD-Oph	μM	-	-	-	0.5
	프로필렌글리콜		중량%	-	-	20	-
혈액 채취 용기에 수용되어 있는 수용액의 양			mL	1	1	1	1
혈장 분리용 조성물		종류	—	A	D	C	A
		25℃에서의 비중	—	1.045	1.032	1.035	1.045
채취된 혈액량			mL	8	8	8	8
평가	혼합액의 침투압		mOsm/L	442	315	722	345
	백혈구의 잔존량		%	1	1	1	3
			판정	○	○	○	○
	cfDNA 의 회수량	cfDNA 농도(채취 당일)	ng/혈장1mL	17	19	18	18
		cfDNA 농도(7일 보관)	ng/혈장1mL	25	30	24	20
		cfDNA 농도의 증가량	ng/혈장1mL	8	11	6	2
			판정	○○	○	○○	○○

[0255]

표 4

[0256]

				실시예 9	실시예 10	실시예 11	실시예 12
수용액	항응고제	EDTA2K·2H_2O	mM	20	20	20	20
	수용성 고분자 화합물 (X)	덱스트란 (Mn:40,000)	중량%	-	-	-	-
		덱스트란 (Mn:70,000)	중량%	-	-	5.0	5.0
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:3,000)	중량%	-	-	7.0	7.0
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:20,000)	중량%	-	-	-	-
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:10,000)	중량%	-	-	-	-
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:58,000)	중량%	-	-	-	-
	수용성 고분자 화합물 (X)에 상당하지 않는 수용성 고분자 화합물	덱스트란 (Mn:200,000)	중량%	-	-	-	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:500,000)	중량%	-	-	-	-
	황산암모늄		중량%	2.0	5.0	5.0	5.0
	침투압 조정제	염화나트륨	중량%	1	-	-	-
	트레할로오스		중량%	-	-	3.0	3.0
	글루코오스		중량%	-	-	-	-
	아데닌		중량%	-	-	-	-
	myo-이노시톨		중량%	-	-	-	-
	아포토시스 저해제	Q-VD-Oph	μM	-	-	-	-
	프로필렌글리콜		중량%	-	-	-	-
혈액 채취 용기에 수용되어 있는 수용액의 양			mL	1	1	1	1
혈장 분리용 조성물		종류	—	A	A	A	B
		25℃에서의 비중	—	1.045	1.045	1.045	1.055
채취된 혈액량			mL	8	8	8	8
평가	혼합액의 침투압		mOsm/L	356	386	396	398
	백혈구의 잔존량		%	1	0.5	0.5	0.5
			판정	○	○	○	○
	cfDNA 의 회수량	cfDNA 농도(채취 당일)	ng/혈장1mL	17	19	16	17
		cfDNA 농도(7일 보관)	ng/혈장1mL	30	27	19	26
		cfDNA 농도의 증가량	ng/혈장1mL	13	8	3	9
			판정	○	○○	○○	○○

표 5

[0257]

				비교예 1	비교예 2	비교예 3
수용액	항응고제	EDTA2K·2H_2O	mM		20	20
	수용성 고분자 화합물 (X)	덱스트란 (Mn:40,000)	중량%		-	-
		덱스트란 (Mn:70,000)	중량%		-	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:3,000)	중량%		-	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:20,000)	중량%		-	-
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:10,000)	중량%		-	-
		폴리비닐피롤리돈 (Mn:58,000)	중량%		-	-
	수용성 고분자 화합물 (X)에 상당하지 않는 수용성 고분자 화합물	덱스트란 (Mn:200,000)	중량%		5.0	-
		폴리에틸렌글리콜 (Mn:500,000)	중량%		-	7.0
	황산암모늄		중량%		-	-
	침투압 조정제	염화나트륨	중량%		2.2	2.3
	트레할로오스		중량%		-	-
	글루코오스		중량%		-	-
	아데닌		중량%		-	-
	myo-이노시톨		중량%		-	-
	아포토시스 저해제	Q-VD-Oph	μM		-	-
	프로필렌글리콜		중량%		-	-
혈액 채취 용기에 수용되어 있는 수용액의 양			mL		1	1
혈장 분리용 조성물		종류	-	A	A	C
		25℃에서의 비중	-	1.045	1.045	1.035
채취된 혈액량			mL	8	8	8
평가	혼합액의 침투압		mOsm/L	288	338	341
	백혈구의 잔존량		%	20	12	11
			판정	×	×	×
	cfDNA 의 회수량	cfDNA 농도(채취 당일)	ng/혈장1mL	18	19	18
		cfDNA 농도(7일 보관)	ng/혈장1mL	523	147	121
		cfDNA 농도의 증가량	ng/혈장1mL	505	128	103
			판정	×	×	×

부호의 설명

[0258] 1: 혈액 채취 용기

2: 혈액 채취 용기 본체

3: 혈장 분리용 조성물

4: 수용액

5: 마개

도면

도면1

