

【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18年4月27日(2006.4.27)

【公表番号】特表2006-508668(P2006-508668A)

【公表日】平成18年3月16日(2006.3.16)

【年通号数】公開・登録公報2006-011

【出願番号】特願2004-557741(P2004-557741)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/14 (2006.01)

C 1 2 N 1/16 (2006.01)

C 1 2 N 1/20 (2006.01)

C 1 2 N 7/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 1/14 A

C 1 2 N 1/16 G

C 1 2 N 1/20 A

C 1 2 N 7/02

C 1 2 N 5/00 D

【手続補正書】

【提出日】平成17年12月19日(2005.12.19)

【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】

サンプルから、標的細胞、標的細胞小器官または標的ウイルスを単離するためのプロセスであって、該プロセスは、以下：

a) 標的細胞、標的細胞小器官もしくは標的ウイルスを含むか、または含むと疑われるサンプルを、磁性マイクロビーズに接触させる工程であって、該磁性マイクロビーズは、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスに高特異的に結合する部分を含まない、工程；

b) 該サンプル中に存在する場合、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスを、該磁性マイクロビーズに非特異的または低特異的に結合させて、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスと該磁性マイクロビーズとの間で結合体を形成させる工程；ならびに

c) 該結合体を、磁力を介して他の望ましくない構成物から分離して、該サンプルから、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスを単離する工程、を包含する、プロセス。

【請求項2】

前記標的細胞が、動物細胞、植物細胞、真菌細胞、細菌細胞、組み換え細胞、および培養細胞からなる群より選択される、請求項1に記載のプロセス。

【請求項3】

前記標的細胞小器官が、核、ミトコンドリア、葉緑体、リボソーム、ER、ゴルジ装置、

リソソーム、プロテアソーム、分泌小胞、液胞、およびミクロソームからなる群より選択される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 4】

前記標的ウイルスが、真核生物細胞ウイルスまたはバクテリオファージである、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 5】

前記磁性マイクロビーズが、常磁性物質、強磁性物質、およびフェリ磁性物質からなる群より選択される、磁化可能な物質を含む、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 6】

前記磁化可能な物質が、金属成分を含む、請求項 5 に記載のプロセス。

【請求項 7】

前記金属成分が、遷移金属成分またはそれらの合金である、請求項 6 に記載のプロセス

。

【請求項 8】

前記遷移金属が、鉄、ニッケル、銅、コバルト、マンガン、タンタル、ジルコニウム、およびコバルト - タンタル - ジルコニウム (CoTaZr) 合金からなる群より選択される、請求項 7 に記載のプロセス。

【請求項 9】

前記金属成分が、 Fe_3O_4 である、請求項 6 に記載のプロセス。

【請求項 10】

前記磁性マイクロビーズが、約 5 ナノメートル ~ 約 50,000 ナノメートルの範囲の直径を有する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 11】

前記磁性マイクロビーズが、未処理であるか、または有機分子で改変されている、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 12】

前記磁性マイクロビーズが、改変されて、ヒドロキシル基、カルボキシル基またはエポキシ基を含む、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 13】

前記分離された結合体を洗浄して、望ましくない構成物を除去する工程をさらに包含する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 14】

前記分離された結合体から、前記標的細胞、前記標的細胞小器官または前記標的ウイルスを回収する工程をさらに包含する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 15】

前記標的細胞、前記標的細胞小器官または前記標的ウイルスが、適切な緩衝液によって、分離された結合体から該緩衝液中に放出され、前記磁性マイクロビーズが、磁力を介して該溶液から除去される、請求項 14 に記載のプロセス。

【請求項 16】

前記サンプルが、臨床サンプルである、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 17】

前記サンプルが、血清、血漿、全血、痰、脳脊髄液、羊水、尿、胃腸管内容物、毛髪、唾液、汗、歯肉擦過標本、骨髄、組織、および細胞培養物からなる群から選択される、請求項 16 に記載のプロセス。

【請求項 18】

前記単離された標的細胞、標的細胞小器官または標的ウイルスから生体物質を回収する工程をさらに包含する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 19】

前記生体物質が、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ビタミン、単糖類、オリゴ糖、炭水化物、脂質、およびそれら

の複合体からなる群から選択される、請求項 18 に記載のプロセス。

【請求項 20】

前記回収されたオリゴヌクレオチドまたは核酸を増幅する工程をさらに包含する、請求項 19 に記載のプロセス。

【請求項 21】

自動化されている、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 22】

約 1 分～約 20 分の範囲の時間内に完了する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 23】

エッペンドルフ（登録商標）チューブ内で行われる、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 24】

沈殿手順なしで行われる、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 25】

有毒な薬剤なしで行われる、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 26】

約 0 ～約 35 の範囲の周囲温度で行われる、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 27】

分離した白血球 - 磁性マイクロビーズ結合体を形成することによって、全血、骨髄またはリンパから白血球を単離するために使用される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 28】

前記全血、骨髄またはリンパが、新鮮であるか、または低温保存された全血、骨髄またはリンパである、請求項 27 に記載のプロセス。

【請求項 29】

以下の特徴：

- a) 約 3 ～約 7 の範囲の pH ; および / または
- b) 適切な濃度の抗凝血剤、

を有する適切な化学環境において、前記白血球および前記マイクロビーズが、前記分離した白血球 - 磁性マイクロビーズ結合体を形成する、請求項 27 に記載のプロセス。

【請求項 30】

前記抗凝血剤が、酸性クエン酸デキストロース (ACD)、クエン酸ナトリウム、およびヘパリンナトリウムからなる群から選択される、請求項 29 に記載のプロセス。

【請求項 31】

前記分離した白血球 - 磁性マイクロビーズ結合体を、洗浄緩衝液を用いて洗浄し、望ましくない構成物を除去する工程をさらに包含する、請求項 27 に記載のプロセス。

【請求項 32】

前記洗浄緩衝液が、約 6.5 の pH を有する生理的食塩水であるか、または約 6.5 の pH を有するリン酸緩衝液 (PBS) である、請求項 31 に記載のプロセス。

【請求項 33】

前記白血球が、適切な分離用緩衝液によって、前記分離した白血球 - 磁性マイクロビーズ結合体から該緩衝液中に放出され、該磁性マイクロビーズが、磁力を介して該溶液から除去される、請求項 27 に記載のプロセス。

【請求項 34】

唾液、尿および組織培養物から、標的細胞、標的細胞小器官または標的ウイルスを単離するために使用される、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 35】

前記標的細胞が、上皮の脱落細胞または細菌細胞である、請求項 34 に記載のプロセス。

【請求項 36】

前記唾液、尿および組織培養物が、新鮮であるか、または低温保存された唾液、尿および組織培養物である、請求項 34 に記載のプロセス。

【請求項 37】

前記標的細胞、前記標的細胞小器官または前記標的ウイルスが、約3～約7の範囲のpHを有する適切な化学環境において、分離された結合体を前記磁性マイクロビーズと形成する、請求項34に記載のプロセス。

【請求項 38】

前記標的細胞、前記標的細胞小器官または前記標的ウイルスと前記磁性マイクロビーズとの間の、前記分離した結合体を、洗浄緩衝液で洗浄して、望ましくない構成物を除去する工程をさらに包含する、請求項34に記載のプロセス。

【請求項 39】

前記洗浄緩衝液が、約6.5のpHを有する生理的食塩水であるか、または約6.5のpHを有するリン酸緩衝液(PBS)である、請求項39に記載のプロセス。

【請求項 40】

前記標的細胞、前記標的細胞小器官または前記標的ウイルスが、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスと前記磁性マイクロビーズとの間の、前記分離した結合体から、適切な分離用緩衝液によって、該緩衝液中に放出され、そして該磁性マイクロビーズが、磁力を介して該溶液から除去される、請求項34に記載のプロセス。

【請求項 41】

前記分離用緩衝液が、約6.5～約8の範囲のpHおよび約1%(w/w)未満の濃度の界面活性剤を有するTris-EDTA緩衝液である、請求項40に記載のプロセス。

【請求項 42】

サンプルから標的細胞、標的細胞小器官または標的ウイルスを単離するためのキットであって、該キットは、同じもしくは異なる容器内に、以下：

a) 標的細胞、標的細胞小器官もしくは標的ウイルスを含むか、または含むと疑われるサンプルと接触するための磁性マイクロビーズであって、該磁性マイクロビーズは、該標的細胞、該標的細胞小器官もしくは該標的ウイルスに高特異的に結合する部分を含まない、マイクロビーズ；

b) 該サンプル中に存在する場合、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスを、該磁性マイクロビーズに非特異的または低特異的に結合させて、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスと該磁性マイクロビーズとの間で結合体を形成させるための、手段；ならびに

c) 該結合体を、磁力を介して他の望ましくない構成物から分離して、該サンプルから、該標的細胞、該標的細胞小器官または該標的ウイルスを単離するための手段、を含む、キット。

【請求項 43】

サンプルから標的細胞、標的細胞小器官または標的ウイルスを単離するために前記キットを使用するための、使用説明書をさらに含む、請求項42に記載のキット。

【請求項 44】

サンプルからウイルスまたはバクテリオファージを単離するためのプロセスであって、該プロセスは、以下：

a) 標的ウイルスまたは標的バクテリオファージを含むか、または含むと疑われるサンプルから、細胞を除去する工程；

b) 該細胞を含まないサンプルを磁性マイクロビーズと接触させる工程であって、該磁性マイクロビーズは、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージに高特異的に結合する部分を含まない、工程；

c) 該サンプル中に存在する場合、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージを、該磁性マイクロビーズに非特異的または低特異的に結合させて、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージと該磁性マイクロビーズとの間で結合体を形成させる工程；ならびに

d) 該結合体を、磁力を介して他の望ましくない構成物から分離して、該サンプルから、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージを単離する工程、

を包含する、プロセス。

【請求項 4 5】

前記サンプルが、唾液、尿、または血清である、請求項 4 4 に記載のプロセス。

【請求項 4 6】

前記唾液、尿、または血清が、新鮮であるか、または低温保存された唾液、尿、または血清である、請求項 4 5 に記載のプロセス。

【請求項 4 7】

前記ウイルスまたは前記バクテリオファージが、以下：

a) 約 10% (v/v) ~ 約 100% (v/v) の範囲の濃度の、十分な濃度の高水和性有機化合物；および/または

b) 約 2.5 M ~ 約 5.0 M の範囲の濃度の塩、

の存在下で、分離された結合体を前記磁性マイクロビーズと形成する、請求項 4 4 に記載のプロセス。

【請求項 4 8】

前記高水和性有機化合物が、エタノール、アセトン、およびポリエチレングリコールからなる群から選択される、請求項 4 7 に記載のプロセス。

【請求項 4 9】

前記塩が、塩化ナトリウムである、請求項 4 7 に記載のプロセス。

【請求項 5 0】

前記細胞が、上皮の脱落細胞または細菌細胞である、請求項 4 4 に記載のプロセス。

【請求項 5 1】

前記標的ウイルスまたは前記標的バクテリオファージと前記磁性マイクロビーズとの間の、前記分離した結合体を、洗浄緩衝液によって洗浄して、望ましくない構成物を除去する工程をさらに包含する、請求項 4 4 に記載のプロセス。

【請求項 5 2】

前記洗浄緩衝液が、約 6.5 の pH を有する生理的食塩水であるか、または約 6.5 の pH を有するリン酸緩衝液 (PBS) である、請求項 5 1 に記載のプロセス。

【請求項 5 3】

前記標的ウイルスまたは前記標的バクテリオファージが、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージと前記磁性マイクロビーズとの間の、前記分離した結合体から、適切な分離用緩衝液によって、該緩衝液中に放出され、そして該磁性マイクロビーズが、磁力を介して該溶液から除去される、請求項 4 4 に記載のプロセス。

【請求項 5 4】

前記細胞が、遠心分離によって前記サンプルから除去される、請求項 5 3 に記載のプロセス。

【請求項 5 5】

サンプルからウイルスまたはバクテリオファージを単離するためのキットであって、該キットは、同じもしくは異なる容器内に、以下：

a) 標的ウイルスまたは標的バクテリオファージを含むか、または含むと疑われるサンプルから、細胞を除去するための手段；

b) 該細胞を含まないサンプルと接触するための磁性マイクロビーズであって、該磁性マイクロビーズは、該標的ウイルスまたはバクテリオファージに高特異的に結合する部分を含まない、マイクロビーズ；

c) 該細胞を含まないサンプル中に存在する場合、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージを、該磁性マイクロビーズに非特異的または低特異的に結合させて、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージと該磁性マイクロビーズとの間で結合体を形成させるための手段；ならびに

d) 該結合体を、磁力を介して他の望ましくない構成物から分離して、該サンプルから、該標的ウイルスまたは該標的バクテリオファージを単離するための手段、を含む、キット。