

【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 2 年 4 月 23 日 (2020.4.23)

【公表番号】特表 2019-512274 (P2019-512274A)
 【公表日】令和 1 年 5 月 16 日 (2019.5.16)
 【年通号数】公開・登録公報 2019-018
 【出願番号】特願 2019-501754 (P2019-501754)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/10 (2006.01)
 C 1 2 N 5/07 (2010.01)
 C 1 2 Q 1/68 (2018.01)
 A 0 1 N 1/02 (2006.01)
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/10 1 0 0
 C 1 2 N 5/07
 C 1 2 Q 1/68
 A 0 1 N 1/02
 G 0 1 N 33/53 M
 G 0 1 N 33/53 D

【手続補正書】
 【提出日】令和 2 年 3 月 10 日 (2020.3.10)
 【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】

動物の組織試料由来の核酸、好ましくは DNA、およびタンパク質から選択される生体分子を溶解させるため、および、その後の

- a) 前記生体分子の保存、または
- b) 前記生体分子のさらなる処理

のための水性組成物の使用であって、前記使用は、以下：

- 規定の期間、動物の組織からサンプリングした組織試料を水性組成物と接触させることによって、前記試料を前記組成物に曝露するステップであって、前記曝露はサンプリング直後に実施され、前記組成物は、

- 25 において 7 ~ 9 の pH 範囲に緩衝化することが可能であり、任意選択で、酸性化剤またはアルカリ化剤などの pH 調整剤を含む、緩衝剤と、
- 界面活性剤と、
- 5 ~ 10 重量 % の濃度の塩と、
- キレート剤および水と

を含み、

- ここで、動物の前記組織は、組織サンプリングタグ、好ましくは耳札、または組織サンプリング生検針を使用してサンプリングされ、かつ前記試料は、前記試料を前記組成物中に導入することによって前記組成物と接触させられ、かつ前記試料を前記組成物に曝露することによって、前記組織試料由来の核酸およびタンパク質から選択される生体分子は、前記水性組成物中に溶解されて、生体分子溶液を生じる、ステップ、

- 前記生体分子の保存、または、前記生体分子のさらなる処理、例えば、病原体、例えば B V D V の検出、もしくは遺伝子型判定、シーケンシング、ハイブリダイゼーション解析、もしくは定量的リアルタイム P C R のために前記生体分子溶液を使用するステップ、あるいは、マーカータンパク質、またはマーカー核酸、薬物、ホルモン、または代謝産物の検出のために前記生体分子溶液を使用するステップ、

- 任意選択で、後に使用するために前記組織試料を貯蔵するために前記水性組成物を使用するステップを含む、使用。

【請求項 2】

前記塩が、1 M ~ 2 M、好ましくは 1 M ~ 1.5 M、より好ましくは 1.3 M ~ 1.5 M、よりいっそう好ましくは 1.4 M の濃度で存在する NaCl である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

前記水性組成物が、プロテイナーゼ K、好ましくはいかなるプロテイナーゼも含有しない、請求項 1 または 2 のいずれかに記載の使用。

【請求項 4】

前記組成物中の前記界面活性剤が、N - ラウロイルサルコシン、好ましくは N - ラウロイルサルコシンのナトリウム塩である、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の使用。

【請求項 5】

前記緩衝剤がトリスであり、かつ / または前記キレート剤が EDTA、好ましくは EDTA 二ナトリウム二水和物であり、かつ / または前記 pH 調整剤がアルカリ水酸化物、例えば NaOH もしくは KOH である、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の使用。

【請求項 6】

前記水性組成物が、以下の成分：

トリス 5 ~ 20 mM、好ましくは 10 ~ 15 mM

NaOH 5 ~ 20 mM、好ましくは 8 ~ 10 mM

N - ラウロイルサルコシンのナトリウム塩 2 ~ 15 mM、好ましくは 5 ~ 8 mM、より好ましくは 6 ~ 7 mM

EDTA · 2 Na · 2 H₂O 1 ~ 5 mM、好ましくは 1 ~ 3 mM NaCl 1 ~ 3 M、好ましくは 1 ~ 2 M、より好ましくは 1 ~ 1.5 M、より好ましくは 1.3 ~ 1.5 M 水

および、任意選択で、生体分子、好ましくは核酸の存在を指し示す色素を含み、好ましくは前記成分からなる、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の使用。

【請求項 7】

前記水性組成物が、以下の成分：

トリス 13 mM

NaOH 8.5 ~ 8.6 mM、好ましくは 8.55 mM

EDTA · 2 Na · 2 H₂O 1.9 ~ 2.1 mM、好ましくは 1.99 ~ 2 mM

N - ラウロイルサルコシンのナトリウム塩 6 ~ 7 mM、好ましくは 6.7 ~ 6.9 mM、より好ましくは 6.8 mM

NaCl 1.35 ~ 1.45 M、好ましくは 1.38 ~ 1.42 M、および水

を含み、好ましくは前記成分からなる、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の使用。

【請求項 8】

前記生体分子溶液が、前記生体分子のさらなる処理のために使用され、前記さらなる処理は、前記生体分子溶液中、したがって前記組織試料中の B V D V の検出であり、好ましくは、B V D V の前記検出は、核酸増幅および増幅された前記核酸の検出を介して、または、B V D V タンパク質の ELISA などの B V D V タンパク質の抗体に基づく検出を介して為される、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の使用。

【請求項 9】

動物の組織試料を、その後の

- a) 前記組織の遺伝子型判定、
 - b) 前記組織中の病原体の検出、または
 - c) 後に使用するための前記組織試料の貯蔵および保存
- のために調製するためのシステムであって、

前記システムは、組織サンプリングタグ、好ましくは組織サンプリング耳札、または組織サンプリング生検針、および動物の組織試料由来の生体分子を溶解させるための水性組成物を含み、前記組成物は容器中に含有されており、前記組成物は、請求項 1～7 のいずれかにおいて記載されるものである、システム。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0034】

本発明の一実施形態によれば、前記水性組成物の使用は、動物の組織試料中の病原体、特に BVDV の検出用である。そのような検出は、前記組織試料から得られた生体分子溶液に対して任意の好適な手段を使用して、ハイブリダイゼーション実験、定量的リアルタイム PCR、適切な核酸プローブが固定化されたマイクロアレイまたはチップまたはビーズ上でのハイブリダイゼーション、フローサイトメトリー、免疫組織化学、およびその他の好適な方法論などの任意の好適な増幅/検出方法論をそれに対して実施することによって、実施され得る。好適な組織サンプリングタグまたは組織サンプリングユニット/生検針は、本出願人である Allflex Europe S.A. を含む様々な製造業者から市販されている。本発明による水性組成物は、好適な容器中に含まれ得、得られた任意の組織試料は、そのような好適な容器中のそのような水性組成物に曝露される。一実施形態では、そのような好適な容器は、組織サンプリングタグもしくは組織サンプリング生検針または組織サンプリングシステムと作動可能に連結され得る。例えば、容器は、前記組織サンプリングタグもしくは組織サンプリング生検針または組織サンプリングシステムの取り外し可能な一部分であり得、そのような容器は、組織試料を取得/サンプリングした後にそれを前記容器に直ちに導入することを可能とし、次いで、前記組織試料のその後のさらなる処理もしくは取扱いまたは貯蔵のために、前記組織サンプリングタグもしくは組織サンプリング生検針または前記システムからその容器を取り外し、またはその接続を解除し、または解放し、または除去し得る。水性組成物の使用の際、上記に概要を述べたように、サンプリング後に直ちに組織試料を前記水性組成物に曝露する。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

動物の組織試料由来の核酸、好ましくは DNA、およびタンパク質から選択される生体分子を溶解させるため、および、その後の

- a) 前記生体分子の保存、または
- b) 前記生体分子のさらなる処理

のための水性組成物の使用であって、前記使用は、以下：

- 動物の組織をサンプリングして、前記動物の組織試料を作製するステップ、
- サンプリング後に直ちに、規定の期間、前記組織試料を水性組成物と接触させること
によって、前記試料を前記組成物に曝露するステップであって、前記組成物は、
 - 25 において 7～9 の pH 範囲に緩衝化することが可能であり、任意選択で、
酸性化剤またはアルカリ化剤などの pH 調整剤を含む、緩衝剤と、
 - 界面活性剤と、
 - 5～10 重量%の濃度の塩と、
 - キレート剤および水と

を含み、

- ここで、動物の前記組織は、組織サンプリングタグ、好ましくは耳札、または組織サンプリング生検針を使用してサンプリングされ、かつ前記試料は、前記試料を前記組成物中に導入することによって前記組成物と接触させられ、かつ前記試料を前記組成物に曝露することによって、前記組織試料由来の核酸およびタンパク質から選択される生体分子は、前記水性組成物中に溶解されて、生体分子溶液を生じる、ステップ、

- 前記生体分子の保存、または、前記生体分子のさらなる処理、例えば、病原体、例えばBVDVの検出、もしくは遺伝子型判定、シーケンシング、ハイブリダイゼーション解析、もしくは定量的リアルタイムPCRのために前記生体分子溶液を使用するステップ、あるいは、マーカータンパク質、またはマーカー核酸、薬物、ホルモン、または代謝産物の検出のために前記生体分子溶液を使用するステップ、

- 任意選択で、後に使用するために前記組織試料を貯蔵するために前記水性組成物を使用するステップ

を含む、使用。

(項目2)

前記塩が、1M~2M、好ましくは1M~1.5M、より好ましくは1.3M~1.5M、よりいっそう好ましくは1.4Mの濃度で存在するNaClである、項目1に記載の使用。

(項目3)

前記水性組成物が、プロテイナーゼK、好ましくはいかなるプロテイナーゼも含有しない、項目1または2のいずれかに記載の使用。

(項目4)

前記組成物中の前記界面活性剤が、N-ラウロイルサルコシン、好ましくはN-ラウロイルサルコシンのナトリウム塩である、上記項目のいずれかに記載の使用。

(項目5)

前記緩衝剤がトリスであり、かつ/または前記キレート剤がEDTA、好ましくはEDTA二ナトリウム二水和物であり、かつ/または前記pH調整剤がアルカリ水酸化物、例えばNaOHもしくはKOHである、上記項目のいずれかに記載の使用。

(項目6)

前記水性組成物が、以下の成分：

トリス 5~20mM、好ましくは10~15mM

NaOH 5~20mM、好ましくは8~10mM

N-ラウロイルサルコシンのナトリウム塩 2~15mM、好ましくは5~8mM、より好ましくは6~7mM

EDTA・2Na・2H₂O 1~5mM、好ましくは1~3mM NaCl 1~3M、好ましくは1~2M、より好ましくは1~1.5M、より好ましくは1.3~1.5M

水

および、任意選択で、生体分子、好ましくは核酸の存在を指し示す色素

を含み、好ましくは前記成分からなる、上記項目のいずれかに記載の使用。

(項目7)

前記水性組成物が、以下の成分：

トリス 13mM

NaOH 8.5~8.6mM、好ましくは8.55mM

EDTA・2Na・2H₂O 1.9~2.1mM、好ましくは1.99~2mM

N-ラウロイルサルコシンのナトリウム塩 6~7mM、好ましくは6.7~6.9mM、より好ましくは6.8mM

NaCl 1.35~1.45M、好ましくは1.38~1.42M、および

水

を含み、好ましくは前記成分からなる、上記項目のいずれかに記載の使用。

(項目8)

前記生体分子溶液が、前記生体分子のさらなる処理のために使用され、前記さらなる処理は、前記生体分子溶液中、したがって前記組織試料中のBVDVの検出であり、好ましくは、BVDVの前記検出は、核酸増幅および増幅された前記核酸の検出を介して、または、BVDVタンパク質のELISAなどのBVDVタンパク質の抗体に基づく検出を介して為される、上記項目のいずれかに記載の使用。

(項目9)

動物の組織試料を、その後の

a) 前記組織の遺伝子型判定、

b) 前記組織中の病原体の検出、または

c) 後に使用するための前記組織試料の貯蔵および保存のために調製するためのシステムであって、

前記システムは、組織サンプリングタグ、好ましくは組織サンプリング耳札、または組織サンプリング生検針、および動物の組織試料由来の生体分子を溶解させるための水性組成物を含み、前記組成物は容器中に含有されており、前記組成物は、項目1～7のいずれかにおいて記載されるものである、システム。

さらに、以下の図面を参照する。