

【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 6 部門第 1 区分

【発行日】令和 3 年 8 月 26 日 (2021.8.26)

【公表番号】特表 2020-529593 (P2020-529593A)

【公表日】令和 2 年 10 月 8 日 (2020.10.8)

【年通号数】公開・登録公報 2020-041

【出願番号】特願 2020-504364 (P2020-504364)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/86 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

G 0 1 N 35/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/37 (2006.01)

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/86

G 0 1 N 37/00 1 0 1

G 0 1 N 35/10 A

C 1 2 Q 1/37

C 1 2 M 1/34 B

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 7 月 14 日 (2021.7.14)

【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】

血液試料中の凝固を評価する方法であって、

第 1 の凝固因子を血液試料の少なくとも 2 つのポーションに添加するステップであって、
それぞれのポーションが異なる濃度で第 1 の凝固因子を受け取るステップ；

第 2 の凝固因子を血液試料の少なくとも 2 つのさらなるポーションに添加するステップであって、それぞれのさらなるポーションが異なる濃度で第 2 の凝固因子を受け取り、ここで第 2 の凝固因子は凝固経路における第 1 の凝固因子の上流で作用する凝固因子であるステップ；および

血液試料のそれぞれのポーションおよびそれぞれのさらなるポーションについて、血塊形成を測定するステップ；および

血液試料のそれぞれのポーションおよびそれぞれのさらなるポーションについて測定された血塊形成に基づいて、血液試料が凝固経路における凝固阻害または凝固欠損を有するかどうかを決定するステップ

を含む方法。

【請求項 2】

血液試料が、全血または血漿である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

血液試料が、全血であり、血液試料のそれぞれのポーションおよびそれぞれのさらなるポーションが、約 1 m L 未満である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

第 1 の凝固因子が、内因性経路の因子、外因性経路の因子、および共通経路の因子から

選択され、第 2 の凝固因子が、内因性経路の因子、外因性経路の因子、および共通経路の因子から選択される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

第 1 および第 2 の凝固因子が、第 I 因子～第 X I I I 因子、およびそれらの活性型から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

第 1 の凝固因子が第 I I a 因子であり、第 2 の凝固因子が第 X a 因子である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

第 1 および第 2 の凝固因子の少なくとも 1 つが、フォン・ヴィレブランド因子、プレカリクレイン（フレッチャー因子）、高分子量キニノーゲン（H M W K）（フィッツジェラルド因子）、フィブロンクチン、アンチトロンビン I I I、ヘパリンコファクター I I、プロテイン C、プロテイン S、プロテイン Z、プロテイン Z 関連プロテアーゼ阻害剤（Z P I）、プラスミノーゲンもしくはその活性型、アルファ 2 - 抗プラスミン、組織プラスミノーゲン活性化因子（t P A）、ウロキナーゼ、プラスミノーゲン活性化因子阻害剤 - 1（P A I 1）、プラスミノーゲン活性化因子阻害剤 - 2（P A I 2）、組織因子経路阻害剤（T F P I）またはがんプロコアグラントである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

第 1 の凝固因子が、 $0.1 \text{ ng/mL} \sim 10 \mu\text{g/mL}$ の範囲の濃度で血液試料のそれぞれのポーシオンに添加される、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

第 1 の凝固因子の濃度が、血液試料のポーシオンの間で少なくとも 2 倍異なる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

血塊形成を測定するステップが、血塊形成時間を測定するステップを含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

血塊形成が：電気インピーダンス、ビーズの添加ならびにビーズの流量および／もしくは数の定量化、流速および／もしくは圧力の変化、トロンボエラストグラフィー、蛍光フィブリノーゲンを使用する蛍光検出、濁度、赤外分光法、画像センサー、光吸収、蛍光マーカー検出、音響センサーおよび／もしくはフォトリックセンサーを使用する検出、フローサイトメトリー、ならびに視覚的な凝固検出の 1 つまたは複数によって測定される、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

血塊形成時間を 1 つまたは複数の正常参照範囲および／または 1 つまたは複数の異常参照範囲と比較するステップをさらに含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

血液試料の少なくとも 2 つのポーシオンが、マイクロ流体デバイスの第 1 の系列のチャネルを流れ、血液試料のそれぞれのポーシオンが別個のチャネルを流れ、ここで第 1 の系列のチャネルが、血塊形成を引き起こし、および／または局所化させるように構成された、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

チャネルが、同一の形状を有するマイクロチャネルである、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

第 1 の系列のチャネルが、異なる量の第 1 の凝固因子でコーティングされているか、または異なる量の第 1 の凝固因子を含有する、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 16】

第 1 の系列のチャネルが、第 1 の系列のチャネルにわたる漸増量で第 1 の凝固因子でコーティングされているか、または第 1 の系列のチャネルの諸チャネルにわたる漸増量で第 1 の凝固因子を含有する、請求項 13 または 14 に記載の方法。

【請求項 17】

血液試料の少なくとも2つのさらなるポーションが、マイクロ流体デバイスの第2の系列のチャンネルを流れ、血液試料のそれぞれのさらなるポーションが別個のチャンネルを流れ、ここで第2の系列のチャンネルが、第2の系列のチャンネルにわたる漸増量で第2の凝固因子でコーティングされているか、または第2の系列のチャンネルにわたる漸増量で第2の凝固因子を含有し、ここで第1の系列のチャンネルのそれぞれおよび第2の系列のチャンネルのそれぞれが同一の形状を有する、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

第1の凝固因子が懸濁液もしくは溶液中にあるかまたは凍結乾燥されていて、第2の凝固因子が懸濁液もしくは溶液中にあるかまたは凍結乾燥されている、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

第1の系列のチャンネルのそれぞれにおける血塊形成の程度が、定められた時点（複数可）で測定される、請求項13～18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

血液試料が、抗凝固剤による治療を受けている対象からの血液試料である、請求項1～19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

抗凝固剤が、FXa阻害剤、FIIa阻害剤、FXI阻害剤、FXIa阻害剤、FXII阻害剤およびFXIIa阻害剤から選択される因子特異的阻害剤である、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】

抗凝固剤が、第IIa因子および/または第Xa因子の阻害をもたらす、請求項21に記載の方法。

【請求項 23】

血塊形成を測定するステップが、血塊形成時間を測定するステップを含み、血液試料の少なくとも2つのポーションに第1の凝固因子を添加することが正常化された血塊形成時間を達成しない場合、血液試料が、第1の凝固因子が凝固経路で作用するところの下流に凝固阻害もしくは凝固欠損を有すると決定されるか；または血液試料の少なくとも2つのポーションに第1の凝固因子を添加することが、第1の凝固因子の濃度依存性の様式で血塊形成時間を減少させる場合、血液試料が、第1の凝固因子が凝固経路で作用するところの上流もしくはその点において凝固阻害もしくは凝固欠損を有すると決定される、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

凝固阻害もしくは凝固欠損の下流またはその点で作用する選択された凝固因子の活性型を、血液試料の参照ポーションに添加するステップ、および、血液試料の参照ポーションについて血塊形成時間を測定するステップによって、正常化された血塊形成時間が決定される、請求項23に記載の方法。

【請求項 25】

血塊形成を測定するステップが、血塊形成時間を測定するステップを含み、血液試料の少なくとも2つのさらなるポーションに第2の凝固因子を添加することが正常化された血塊形成時間を達成せず、かつ、血液試料の少なくとも2つのポーションに第1の凝固因子を添加することが第1の凝固因子の濃度依存性の様式で血塊形成時間を減少させる場合に、血液試料が、第2の凝固因子が凝固経路で作用するところの下流および第1の凝固因子が凝固経路で作用する点である凝固阻害もしくは凝固欠損を有すると決定されるか；

血液試料の少なくとも2つのさらなるポーションに第2の凝固因子を添加することが、第2の凝固因子の濃度依存性の様式で血塊形成時間を減少させ、かつ血液試料の少なくとも2つのポーションに第1の凝固因子を添加することが正常化された血塊形成時間を達成

する場合に、血液試料が、第 2 の凝固因子が凝固経路で作用する点である凝固阻害もしくは凝固欠損を有すると決定されるか；または

血液試料の少なくとも 2 つのさらなるポーシオンに第 2 の凝固因子を添加することが正常化された血塊形成時間を達成し、かつ血液試料の少なくとも 2 つのポーシオンに第 1 の凝固因子を添加することが正常化された血塊形成時間を達成する場合に、血液試料が、第 2 の凝固因子が凝固経路で作用するところの上流である凝固阻害もしくは凝固欠損を有すると決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 26】

血液試料において第 X a 因子の機能を評価する方法であって、以下のステップを含む方法：

血液試料の複数の第 1 のポーシオンに第 1 の凝固因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 1 のポーシオンが異なる濃度で第 1 の凝固因子を受け取り、ここで第 1 の凝固因子が、凝固経路における第 X a 因子の下流である点において作用する、ステップ；

血液試料の複数の第 2 のポーシオンに第 2 の凝固因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 2 のポーシオンが異なる濃度で第 2 の凝固因子を受け取り、ここで第 2 の凝固因子が、凝固経路における第 X a 因子の上流である点において作用する、ステップ；

血液試料の複数の第 3 のポーシオンに第 X a 因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 3 のポーシオンが異なる濃度で第 X a 因子を受け取るステップ；

血液試料のそれぞれの第 1 のポーシオン、それぞれの第 2 のポーシオン、およびそれぞれの第 3 のポーシオンにおいて血塊形成時間を測定するステップ、および凝固因子が提供されていなかった血液試料の第 4 のポーシオンにおいて血塊形成時間を測定するステップ；ならびに

血液試料が第 X a 因子の機能の阻害または欠損を有するか否かを検出するステップ。

【請求項 27】

血液試料の少なくとも 1 つの第 2 のポーシオンについて測定された血塊形成時間が、血液試料の少なくとも 1 つの第 1 のポーシオンについて測定された血塊形成時間より長く、かつ血液試料の第 3 のポーシオンについて測定された血塊形成時間が、第 X a 因子の濃度依存性の様式で減少する場合に、血液試料が第 X a 因子の機能の阻害または欠損を有すると検出される、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

血液試料において第 X a 因子の機能を評価する方法であって、以下のステップを含む方法：

血液試料の複数の第 1 のポーシオンに第 1 の凝固因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 1 のポーシオンが異なる濃度で第 1 の凝固因子を受け取り、ここで第 1 の凝固因子が、凝固経路における第 X a 因子の下流である点において作用する、ステップ；

血液試料の複数の第 2 のポーシオンに第 X a 因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 2 のポーシオンが異なる濃度で第 X a 因子を受け取る、ステップ；

血液試料のそれぞれの第 1 のポーシオンにおいて、および血液試料のそれぞれの第 2 のポーシオンにおいて、血塊形成時間を測定するステップ、および凝固因子が提供されていなかった血液試料の第 3 のポーシオンにおいて血塊形成時間を測定するステップ；ならびに

血液試料が第 X a 因子の機能の阻害または欠損を有するか否かを検出するステップ。

【請求項 29】

血液試料の少なくとも 1 つの第 1 のポーシオンについて測定された血塊形成時間が、血液試料の第 3 のポーシオンについて測定された血塊形成時間より短く、かつ血液試料の第 2 のポーシオンについて測定された血塊形成時間が、第 X a 因子の濃度依存性の様式で減少する場合に、血液試料が第 X a 因子の機能の阻害または欠損を有すると検出される、請

求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

血液試料において第 I I a 因子の機能を評価する方法であって、以下のステップを含む方法：

血液試料の複数の第 1 のポーションに第 1 の凝固因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 1 のポーションが異なる濃度で第 1 の凝固因子を受け取り、ここで第 1 の凝固因子が、凝固経路における第 I I a 因子の上流である点において作用する、ステップ；

血液試料の複数の第 2 のポーションに第 I I a 因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 2 のポーションが異なる濃度で第 I I a 因子を受け取る、ステップ；

血液試料のそれぞれの第 1 のポーションにおいて、および血液試料のそれぞれの第 2 のポーションにおいて血塊形成時間を測定するステップ、および、凝固因子が提供されていなかった血液試料の第 3 のポーションにおいて血塊形成時間を測定するステップ；ならびに、

血液試料が第 I I a 因子の機能の阻害または欠損を有するか否かを検出するステップ。

【請求項 31】

血液試料の少なくとも 1 つの第 1 のポーションについて測定された血塊形成時間が、血液試料の少なくとも 1 つの第 2 のポーションについて測定された血塊形成時間より長く、かつ血液試料の第 2 のポーションについて測定された血塊形成時間が、第 I I a 因子の濃度依存性の様式で減少する場合に、血液試料が第 I I a 因子の機能の阻害または欠損を有すると検出される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

血液試料の少なくとも 1 つの第 2 のポーションについて測定された血塊形成時間が、血液試料の第 3 のポーションについて測定された血塊形成時間より短く、かつ血液試料の第 2 のポーションについて測定された血塊形成時間が、第 I I a 因子の濃度依存性の様式で減少する場合に、血液試料が第 I I a 因子の機能の阻害または欠損を有すると検出される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 33】

血液試料において第 X a 因子の機能および第 I I a 因子の機能を評価する方法であって、以下のステップを含む方法：

血液試料の複数の第 1 のポーションに第 X a 因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 1 のポーションが異なる濃度で第 X a 因子を受け取る、ステップ；

血液試料の複数の第 2 のポーションに第 I I a 因子を提供するステップであって、血液試料のそれぞれの第 2 のポーションが異なる濃度で第 I I a 因子を受け取る、ステップ；

血液試料のそれぞれの第 1 のポーションにおいて、および血液試料のそれぞれの第 2 のポーションにおいて血塊形成時間を測定するステップ、および凝固因子が提供されていなかった血液試料の第 3 のポーションにおいて血塊形成時間を測定するステップ；

血液試料が第 X a 因子の機能の阻害または欠損を有するか否かを検出するステップ；ならびに

血液試料が第 I I a 因子の機能の阻害または欠損を有するか否かを検出するステップ。

【請求項 34】

血液試料の少なくとも 1 つの第 2 のポーションについて測定された血塊形成時間が、血液試料の第 3 のポーションについて測定された血塊形成時間より短く、かつ血液試料の第 1 のポーションについて測定された血塊形成時間が、第 X a 因子の濃度依存性の様式で減少する場合に、血液試料が第 X a 因子の機能の阻害または欠損を有すると検出される、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

血液試料の第 1 のポーションについて測定された血塊形成時間が、第 X a 因子の濃度依存性の様式で減少せず、血液試料の第 2 のポーションについて測定された血塊形成時間が、第 I I a 因子の濃度依存性の様式で減少する場合に、血液試料が第 I I a 因子の機能の

阻害または欠損を有すると検出される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 6】

血塊形成時間を測定するステップが、定められた時間（複数可）で血塊形成時間を測定するステップを含む、請求項 2 6 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

凝固を検出するためのマイクロ流体デバイスであって、
基材に形成された第 1 の系列のチャンネルを含み、それぞれの第 1 の系列のチャンネルが、血塊の形成を引き起こし、および / または局在化させるように構成された形状を有する血塊形成区域を含み、
ここで第 1 の系列のチャンネルが、同じ形状を有する、
マイクロ流体デバイス。

【請求項 3 8】

第 1 の系列のチャンネルが、異なる量の第 1 の凝固因子でコーティングされているか、または異なる量の第 1 の凝固因子を含有する、請求項 3 7 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 3 9】

第 1 の凝固因子が、内因性経路の因子、外因性経路の因子および共通経路の因子から選択される、請求項 3 8 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 0】

第 1 の凝固因子が、フォン・ヴィレブランド因子、プレカリクレイン（フレッチャー因子）、高分子量キニノーゲン（HMWK）（フィッツジェラルド因子）、フィブロンectin、アンチトロンビン I I I、ヘパリンコファクター I I、プロテイン C、プロテイン S、プロテイン Z、プロテイン Z 関連プロテアーゼ阻害剤（ZPI）、プラスミノーゲンもしくはその活性化型、アルファ 2 - 抗プラスミン、組織プラスミノーゲン活性化因子（tPA）、ウロキナーゼ、プラスミノーゲン活性化因子阻害剤 - 1（PAI 1）、プラスミノーゲン活性化因子阻害剤 - 2（PAI 2）、組織因子経路阻害剤（TFPI）またはがんプロコアグulantである、請求項 3 8 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 1】

第 1 の凝固因子の量が、第 1 の系列のチャンネルの間で少なくとも 2 倍異なる、請求項 3 8 ～ 4 0 のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 2】

いかなる凝固因子でもコーティングされておらず、いかなる凝固因子も含有しない少なくとも 1 つのチャンネルをさらに含む、請求項 3 8 ～ 4 1 のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 3】

マイクロ流体デバイスが、第 1 の系列のチャンネルのそれぞれにおける血塊形成を、定められた時点（複数可）で測定するように構成される、請求項 3 8 ～ 4 2 のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 4】

前記マイクロ流体デバイスが、電気インピーダンス、ビーズの添加およびビーズの流量および / もしくは数の定量化、流速および / もしくは圧力の変化、トロンボエラストグラフィ、蛍光フィブリノーゲンを使用する蛍光検出、濁度、赤外分光法、画像センサー、光吸収、蛍光マーカー検出、音響センサーおよび / もしくはフォトリックセンサーを使用する検出、フローサイトメトリー、ならびに視覚的な凝固検出の 1 つまたは複数によって、第 1 の系列のチャンネルにおいて血塊形成を測定するように構成される、請求項 4 3 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 5】

基材中に形成された第 2 の系列のチャンネルをさらに含み、それぞれの第 2 の系列のチャンネルが、血塊の形成を引き起こしおよび / または局在化させるように構成された形状を有する血塊形成区域を含み、第 2 の系列のチャンネルが同じ形状を有し、

ここで第 1 の系列のチャンネルが、第 1 の系列のチャンネルにわたる漸増量の第 1 の凝固因

子でコーティングされているかまたは第 1 の系列のチャンネルにわたる漸増量の第 1 の凝固因子を含有し、

第 2 の系列のチャンネルが、第 2 の系列のチャンネルにわたる漸増量の第 2 の凝固因子でコーティングされているかまたは第 2 の系列のチャンネルにわたる漸増量の第 2 の凝固因子を含有する、

請求項 3 8 ~ 4 4 のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 6】

第 1 の凝固因子が第 I I a 因子であり、第 2 の凝固因子が第 X a 因子である、請求項 4 5 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 7】

第 2 の凝固因子の量が、第 2 の系列のチャンネルの間で少なくとも 2 倍異なる、請求項 4 5 または 4 6 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 8】

前記マイクロ流体デバイスが、第 2 の系列のチャンネルのそれぞれにおける血塊形成を、定められた時点（複数可）で測定するように構成される、請求項 4 5 ~ 4 7 のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 4 9】

前記マイクロ流体デバイスが、電気インピーダンス、ビーズの添加およびビーズの流量および / もしくは数の定量化、流速および / もしくは圧力の変化、トロンボエラストグラフィ、蛍光フィブリノーゲンを使用する蛍光検出、濁度、赤外分光法、画像センサー、光吸収、蛍光マーカー検出、音響センサーおよび / もしくはフォトリックセンサーを使用する検出、フローサイトメトリー、ならびに視覚的な凝固検出の 1 つまたは複数によって、第 2 の系列のチャンネルにおいて血塊形成を測定するように構成される、請求項 4 8 に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項 5 0】

凝固を検出するためのマイクロ流体デバイスであって、
基材に形成された複数のチャンネルを含み、それぞれのチャンネルが、血塊の形成を引き起こし、および / または局在化させるように構成された形状を有する血塊形成区域を含み、
複数のチャンネルが、異なる量の凝固因子でコーティングされているか、または異なる量の凝固因子を含有する、
マイクロ流体デバイス。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 0】

[0011] 外因的に添加された凝固因子の濃度の増加に対して血塊形成（例えば、血塊形成時間）を測定することによって、治療剤の存在および / または治療剤による阻害点を決定することができる。例えば、凝固阻害剤に対して陽性である試料は、阻害剤の標的である凝固因子が試料に添加されるにつれて、凝固時間の濃度依存性の減少を示す。その一方で、阻害点の上流の凝固因子が添加されると（漸増量で）、凝固時間は、阻害点の下流の凝固因子の添加の際の凝固時間と比較して、長くなる。図 9 ~ 1 3 を参照のこと。