

【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否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1mL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XIII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IIa因子であり、第2の凝固因子が第Xa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(HMWK)(フィッツジェラルド因子)、フィプロネクチン、アンチトロンビンIII、ヘパリンコファクターII、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(PAI1)、プラスミノーゲン活性化因子阻害剤-2(PAI2)、組織因子経路阻害剤(TFPI)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、0.1ng/mL～10μg/mLの範囲の濃度で血液試料のそれぞれのポーションに添加される、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、血液試料のポーショ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／もしくはフォトニ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考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つのポーションが、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ョ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增量で第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增量で第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ネルを流れ、ここで第2の系列のチャネルが、第2の系列のチャ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の系列のチャネルのそれおよび第2の系列のチャネルのそれら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、FIIfa阻害剤、FXIfa阻害剤、FXIfa阻害剤、FXIfa阻害剤およびFXIIIfa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IIIfa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し、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Xa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Xa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のポーションに第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の凝固因子が、凝固経路における第Xa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のポーションに第Xa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のポーションが異なる濃度で第Xa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、それぞれの第2のポーション、およびそれぞれの第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、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Xa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1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3のポーションについて測定された血塊形成時間が、第Xa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Xa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Xa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Xa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のポーションに第Xa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Xa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Xa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Xa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Xa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 2 8 に記載の方法。**【請求項 3 0】**

血液試料において第Ⅱa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Ⅱa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Ⅱa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Ⅱa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Ⅱa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 3 1】

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Ⅱa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Ⅱa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 3 2】

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Ⅱa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Ⅱa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 3 3】

血液試料において第Xa因子の機能および第Ⅱa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Xa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Xa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Ⅱa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Ⅱa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Xa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Ⅱa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 3 4】

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Xa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Xa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 3 5】

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Xa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Ⅱa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Ⅱa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 の系列のチャネルを含み、それぞれの第 1 の系列のチャネルが、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（H M W K）（フィツツジエラルド因子）、フィブロネクチン、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 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 / もしくはフォトニ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 の系列のチャネルをさらに含み、それぞれの第 2 の系列のチャネルが、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 の系列のチャネルが同じ形状を有し、

ここで第 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の系列のチャネルが、第2の系列のチャ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38～44のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項46】

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45に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項47】

第2の凝固因子の量が、第2の系列のチャネルの間で少なくとも2倍異なる、請求項45または46に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項48】

前記マイクロ流体デバイスが、第2の系列のチャ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45～47のいずれか一項に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項49】

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／もしくはフォトニ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48に記載のマイクロ流体デバイス。

【請求項50】

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ネルを含み、それぞれのチャネルが、血塊の形成を引き起こし、および／または局在化す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】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

[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9～13を参照のこと。