

【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1年8月29日(2019.8.29)

【公表番号】特表2018-524016(P2018-524016A)

【公表日】平成30年8月30日(2018.8.30)

【年通号数】公開・登録公報2018-033

【出願番号】特願2018-503555(P2018-503555)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/6806	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6844	(2018.01)
C 1 2 M	1/00	(2006.01)
C 1 2 M	1/26	(2006.01)
C 1 2 M	1/30	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6874	(2018.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)
C 1 2 Q	1/686	(2018.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/6806	Z
C 1 2 Q	1/6844	Z
C 1 2 M	1/00	A
C 1 2 M	1/26	
C 1 2 M	1/30	
C 1 2 Q	1/6874	Z
G 0 1 N	33/50	P
C 1 2 Q	1/686	Z
C 1 2 N	15/09	Z

【手続補正書】

【提出日】令和1年7月10日(2019.7.10)

【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】

細胞又は組織試料からの核酸の抽出のための溶解溶液であって、
 約300mM超の濃度のNaClと、
 前記溶液のpHを約pH6.8～約pH7.3の範囲のpHに維持するために十分な緩衝液と、
 キレート剤と、
 少なくとも2mMの、しかし、約50mM未満の濃度のMgCl₂と、
 界面活性剤と
 を含む、溶解溶液。

【請求項2】

消泡剤；又は、
 保存剤/殺生物剤

を含む、請求項1に記載の溶解溶液。

【請求項3】

前記緩衝液の濃度が、約10mM～最大約100mM、若しくは約20mM～最大約50mMの範囲であるか、若しくは、約50mMである、又は、

前記溶液のpHが、約6.8～約7.2の範囲である、又は、

前記NaClが、約300mM～約500mM、若しくは約350mM～最大約450mMの範囲の濃度であるか、若しくは、約400mMである、

請求項1又は2に記載の溶解溶液。

【請求項4】

前記キレート剤が、N-アセチル-L-システイン、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、エチレンジアミン-N,N'-ジコハク酸(EDDS)、1,2-ビス(0-アミノフェノキシ)エタン-N,N,N',N'-四酢酸(BAPTA)、及びホスホン酸塩キレート剤からなる群から選択される剤を含む、

前記界面活性剤が、イオン性界面活性剤、若しくは、非イオン性界面活性剤である、

前記消泡剤が、有機消泡エマルション、若しくは、シロキサン含有消泡エマルションを含む、又は、

前記殺生物剤が、アジ化ナトリウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム十水和物、及びエデト酸二ナトリウムからなる群から選択される1つ若しくは複数の剤を含む、

請求項1から3のいずれか一項に記載の溶解溶液。

【請求項5】

前記溶液中の前記キレート剤の濃度が、約5mM～約100mM、若しくは約10mM～約50mMの範囲であるか、若しくは、約25mMである、又は、

前記MgCl₂の濃度が、約2mM～最大約20mM、若しくは約5mM～最大約15mMの範囲であるか、若しくは、約10mMである、又は、

前記界面活性剤が、前記溶液の約0.1%～約2%、若しくは前記溶液の約0.5%～約1.5%、若しくは、前記溶液の約1%を構成する、

請求項1から4のいずれか一項に記載の溶解溶液。

【請求項6】

約400mM NaClと、

約50mM HEPESナトリウム塩(MW260.29)と、

約25mM EDTAと、

約10mM MgCl₂と、及び、

約1% Tween20と

を含む、請求項1に記載の溶解溶液。

【請求項7】

プロテアーゼを更に含む、請求項1から6のいずれか一項に記載の溶解溶液。

【請求項8】

細胞又は組織試料から核酸を抽出するための方法であって、

請求項1から7のいずれか一項に記載の溶解溶液中で1つ又は複数の細胞又は組織試料をインキュベートする工程であって、前記インキュベートする工程は、1つ又は複数の細胞又は組織試料から核酸が抽出された1つ又は複数の溶解試料を作製するように、約50～約100の範囲の温度であり、前記インキュベーションは、約10分間～最大約24時間の範囲の時間である、工程、及び、

場合により、前記溶解試料から前記核酸を回収する工程、
を含む、方法。

【請求項9】

前記温度が、約60～約90、若しくは約70～約90、若しくは約75～約85、又は約80である、あるいは、

前記インキュベートする工程が、約15分間～最大約12時間、若しくは約20分間～最大約8時間、若しくは約30分間～最大約6時間、若しくは約30分間～最大約4時間、若しくは約30分間～最大約2時間の範囲の時間、又は、約15分間、若しくは約30分間、若しくは約45分

間、若しくは約60分間、若しくは約90分間、若しくは約120分間である、

請求項8に記載の方法。

【請求項 1 0】

前記細胞又は組織試料が、組織生検、吸引液、細胞塗抹、ワイプ、スクレイピング、保管試料、固定組織切片、凍結切片、細胞ボタン、及び組織マイクロアレイからなる群から選択される、請求項8又は9に記載の方法。

【請求項 1 1】

更なる脱パラフィン工程、若しくは、追加の脱パラフィン用試薬を含まない、又は、
脱パラフィンのために有機溶媒を利用しない、又は、

前記インキュベートする工程が、有機溶媒の存在下ではない、

請求項8から10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

溶解した組織試料が、低級アルコールと混合され、保存される、請求項8から11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記溶解溶液中の核酸が、前記溶解溶液が、少なくとも6時間の期間にわたり、又は少なくとも1日間の期間にわたり、又は少なくとも2日間の期間にわたり、又は少なくとも4日間の期間にわたり、又は少なくとも1週間の期間にわたり、又は少なくとも2週間の期間にわたり、又は少なくとも1ヶ月間の期間にわたり、又は少なくとも2ヶ月間の期間にわたり、又は少なくとも3ヶ月間の期間にわたり、又は少なくとも6ヶ月間の期間にわたり、又は少なくとも1年間の期間にわたり、又は少なくとも2年間の期間にわたり、又は少なくとも5年間の期間にわたり保存された時に、保存後のRT-PCRによって測定されるように、安定である、請求項8から12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

核酸が、2以上の異なる時間に、溶解した試料から増幅される、請求項8から13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記2以上の異なる時間が、少なくとも6時間の期間にわたる、又は少なくとも1日間の期間にわたる、又は少なくとも2日間の期間にわたる、又は少なくとも4日間の期間にわたる、又は少なくとも1週間の期間にわたる、又は少なくとも2週間の期間にわたる、又は少なくとも1ヶ月間の期間にわたる、又は少なくとも2ヶ月間の期間にわたる、又は少なくとも3ヶ月間の期間にわたる、又は少なくとも6ヶ月間の期間にわたる、又は少なくとも1年間の期間にわたる、又は少なくとも2年間の期間にわたる、又は少なくとも5年間の期間にわたる、請求項14に記載の方法。