

【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】平成17年4月7日(2005.4.7)

【公表番号】特表2000-515977(P2000-515977A)

【公表日】平成12年11月28日(2000.11.28)

【出願番号】特願平10-508970

【国際特許分類第7版】

G 0 1 N 33/48

G 0 1 N 33/15

G 0 1 N 33/50

G 0 1 N 33/53

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/98

【F I】

G 0 1 N 33/48 P

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/53 K

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/98

【手続補正書】

【提出日】平成16年7月23日(2004.7.23)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】補正の内容のとおり

【補正方法】変更

【補正の内容】

手 続 補 正 書

平成16年7月23日

特許庁長官 小 川 洋 殿

1. 事件の表示

平成10年特許願第508970号

2. 補正をする者

名称 ガロ クリニック アンド リサーチ センター

3. 代 理 人

住所 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル

青和特許法律事務所 電話 03-5470-1900

氏名 弁理士(7751) 石 田 敬



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の内容

請求の範囲を別紙の通り補正する。

7. 添付書類の目録

請求の範囲

1 通

万 式
審 査

請求の範囲

1. 複数の細胞サブ領域を有する少なくとも1個の細胞を含む試料のエタノールに対する曝露を決定するための方法であって：

(a) 前記試料にエタノール表示タンパク質に対する特異的結合親和力を有する染料を適用する；

(b) 前記染料を含む前記細胞の細胞サブ領域を同定する；

(c) エタノールに曝露していないコントロール細胞と比較して前記細胞の前記細胞サブ領域について、染料の分布に従って前記試料を分類する、ここで前記コントロール細胞と比較しての染色の前記分布の変化はエタノールに対する前記試料の事前曝露の指標である；

工程を含んで成る方法。

2. 前記複数の細胞サブ領域が第一及び第二の所定の細胞サブ領域を含み、そしてここで前記細胞は、前記染料が前記第一所定細胞サブ領域に主に存在しているなら第一のタイプと、そして前記染料が前記第二所定細胞サブ領域に主に存在しているなら第二のタイプとして分類される、請求項1記載の方法。

3. 前記細胞が核及びゴルジ装置を有し、前記第一細胞サブ領域が核を含んで成り、そして前記第二細胞サブ領域が細胞のゴルジ装置を含んで成る、請求項2記載の方法。

4. 前記第一タイプがエタノールにより実質的に影響される細胞に相当し、そして前記第二タイプがコントロール細胞に相当する、請求項3記載の方法。

5. 前記エタノール指標タンパク質が PKAのC α である、請求項4記載の方法。

6. 前記細胞が核、核周囲及びゴルジ装置を有し、前記第一細胞サブ領域が核及び核周囲を含んで成り、そして前記第二細胞サブ領域が細胞のゴルジ装置を含んで成る、請求項2記載の方法。

7. 前記第一タイプがエタノールにより実質的に影響される細胞に相当し、そして前記第二タイプがコントロール細胞に相当する、請求項6記載の方法。

8. 前記エタノール表示タンパク質が δ PKC である、請求項7記載の方法。

9. 前記細胞が核周囲及び細胞質を有し、前記第一細胞サブ領域が細胞質を含

んで成り、そして前記第二細胞サブ領域が細胞の核周囲を含んで成る、請求項2記載の方法。

10. 前記第一タイプがエタノールにより実質的に影響される細胞に相当し、そして前記第二タイプがコントロール細胞に相当する、請求項9記載の方法。

11. 前記エタノール表示タンパク質が ϵ PKC である、請求項10記載の方法。

12. 前記分類が顕微鏡を利用する前記細胞のイメージングを含んで成る、請求項2記載の方法。

13. 前記試料が複数種の細胞を含み、前記方法が当該複数種の細胞の数について前記分類を繰り返し、そして各タイプの細胞の数と分類した細胞の総数とに依存するエタノールに対する前記試料の曝露の数値尺度を得ることを更に含んで成る、請求項2記載の方法。

14. 前記染料が検出可能な成分と、PKA $C\alpha$, δ PKC 及び ϵ PKCから成る群より選ばれるものに対する特異的結合親和とを含んで成る、請求項2記載の方法。

15. 前記検出可能な成分がフルオレセインと第二抗体とを含んで成る、請求項14記載の方法。

16. 前記細胞が神経組織に由来する、請求項2記載の方法。

17. 前記細胞が顆粒球及びリンパ球から成る群より選ばれる、請求項2記載の方法。

18. 前記工程 (a) の適用の前に、前記試料を治療剤の存在下でエタノールに曝露しておき、そしてここで前記工程 (c) の分類結果をエタノールには曝露しておいたが当該治療剤には曝露していない試料コントロールを分類する結果と比較し、これによりエタノール媒介細胞作用に対する当該治療剤の当該作用の指標を供する、請求項2記載の方法。

19. 哺乳動物細胞におけるエタノールの作用を検査物質が改変するかどうかを決定するためのスクリーニング方法であって：

- (a) 複数種の哺乳動物細胞を含む試料を用意する；
- (b) エタノールを含む培養培地を用意する；
- (c) 前記検査物質を前記培養培地に含ませる；
- (d) 前記細胞を前記培養培地に所定時間曝露する；

(e) 前記細胞をエタノール表示タンパク質に対する特異的結合親和力を有する染料で染色する；

(f) 各細胞を当該細胞内の染料の分布に従って分類する；そして

(g) 前記分類の結果を前記検査物質に曝露していないコントロール中での染料の分布と比較する；ここで前記コントロールと比較しての染料の当該分布の変化は哺乳動物細胞におけるエタノールの作用に対する検査物質の効果の指標である；

ことを含んで成る方法。

20. 前記細胞を少なくとも2つのカテゴリーのうちの1つに分類し、そしてここで所定のカテゴリーに分類した細胞の比率に依存した数値結果が得られ、そしてこの数値結果をコントロール細胞の分類から得られた数値結果と比較する、請求項19記載のスクリーニング方法。

21. 前記細胞をエタノールに少なくとも12時間曝露する、請求項19記載のスクリーニング方法。

22. 前記細胞をエタノールに約2日間曝露する、請求項19記載のスクリーニング方法。

23. 前記細胞が神経組織に由来し、それぞれが核、核周囲及びゴルジ装置を有し、そしてここで細胞は前記染料が核又は核周囲の中に主に存在しているならエタノールにより実質的に影響されるものと分類する、請求項21記載のスクリーニング方法。

24. 前記エタノール指標タンパク質が PKAのC α 及び δ PKC である、請求項23記載のスクリーニング方法。

25. 前記細胞がNG 108-15神経芽腫Xグリオマ細胞である、請求項24記載のスクリーニング方法。

26. 前記エタノールを約 100mM以上の濃度で供与する、請求項25記載のスクリーニング方法。

27. 前記細胞が核、核周囲及び細胞質を有し、そしてここで前記細胞は前記染料が細胞質の中に主に存在しているならエタノールに実質的に影響されるものと分類する、請求項19記載のスクリーニング方法。

28. 前記エタノール指標タンパク質が ϵ PKC である、請求項27記載のスクリーニング方法。

29. 前記エタノールを約 200mM以上の濃度で供与する、請求項28記載のスクリーニング方法。

30. 少なくとも1個の細胞を含む試料のエタノールに対する曝露を決定するための方法であって：

(a) 前記細胞中に存在するエタノール表示タンパク質の量を決定する；そして

(b) 前記試料を、エタノールに曝露していないコントロール細胞と比較しての前記細胞の中の前記エタノール表示タンパク質の量を基準に分類する；

ことを含んで成る方法。

31. 前記エタノール表示タンパク質がPKA RI, α PKC, δ PKC及び ϵ PKC から成る群より選ばれる、請求項30記載の方法。

32. 前記エタノール表示タンパク質をウェスタンブロット分析により決定する、請求項31記載の方法。

33. エタノールに対する被検体の曝露を決定するための方法であって：

(a) 前記被検体から少なくとも1個の細胞を含む試料を用意する；

(b) 前記試料をエタノール表示タンパク質に対する特異的結合親和力を有する染料で染色する；

(c) 前記試料を、エタノールに対して曝露していないコントロールと比較しての当該細胞内の染料の分布に従って分類し、ここで当該コントロールと比較しての染料の当該分布の変化はエタノールに対する前記試料の事前曝露の指標である、

ことを含んで成る方法。

34. 前記試料が顆粒球及びリンパ球を含む血液試料を含んで成る、請求項33記載の方法。

35. 前記コントロールが、(1) 同被検体から採取した初期試料、(2) エタノールに対する曝露が決定された別の被検体、及び(3) in vitro培養された細胞を含んで成り、且つエタノールに対する曝露が既知である試料から成る群より

選ばれる、請求項33記載の方法。

36. 複数の細胞成分を有する少なくとも1個の細胞を含む試料のエタノールに対する曝露を決定するための方法であって：

(a) 細胞成分の特性を決定する、ここで当該特性は(1)局在、(2)量及び(3)活性のうちの少なくとも一種を含んで成るエタノールに対する細胞の曝露に依存する特性である；そして

(b) 当該試料を当該決定を基準に分類する；

ことを含んで成る方法。

37. 前記細胞成分がタンパク質である、請求項36記載の方法。