

【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】平成24年10月18日 (2012.10.18)

【公表番号】特表2012-502642(P2012-502642A)

【公表日】平成24年2月2日 (2012.2.2)

【年通号数】公開・登録公報2012-005

【出願番号】特願2011-527310(P2011-527310)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 M 1/34

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成24年8月29日 (2012.8.29)

【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】

以下の工程を有する、試料における生体分子の含量を正規化するための方法：

- a) 容器表面が高塩条件下で生体分子を可逆的に結合できるように少なくとも定位置で官能化されている容器表面を有する反応容器を提供すること、
- b) 少なくとも 1 つの試料調製工程を実施すること、
- c) 高塩条件下で、調製された試料からの生体分子を容器表面に結合させること（「結合及び正規化の工程」）、
- d) 任意に洗浄すること（「洗浄工程」）、及び
- e) 少なくとも 1 つの後続の反応を実施すること。

【請求項 2】

前記容器表面が、シラノール基を含有し、及び / 又はヒドロキシル基を含有する金属酸化物若しくは半金属酸化物を含有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記生体分子が核酸であることを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記容器表面が当該容器の内部で官能化されている、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 つの試料調製工程が以下を含む群から選択されることを特徴とする、請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の方法：

- ・細胞溶解、
- ・細胞変性、
- ・生体分子の単離、

- ・生体分子の精製、
- ・DNAへのRNAの逆転写及び／又は
- ・酵素反応及び／又は試料の処理。

【請求項6】

前記少なくとも1つの後続の反応が以下を含む群から選択されることを特徴とする、請求項1から5のいずれか1項に記載の方法：

- ・増幅反応、
- ・酵素結合免疫アッセイ（ELISA）及び／又は
- ・ハイブリッド捕捉アッセイ。

【請求項7】

前記増幅反応が以下の群から選択される反応であることを特徴とする、請求項6に記載の方法：

- ・ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、
- ・逆転写（RT）、
- ・ループ介在型等温増幅（LAMP）、
- ・核酸配列に基づく増幅（NASBA）、
- ・ローリングサークル連鎖反応（RCCR）又はローリングサークル増幅（RCA）、
- ・転写介在型増幅（TMA）、
- ・リガーゼ連鎖反応（LCR）、
- ・ネストPCR及び／又は
- ・免疫PCR。

【請求項8】

a) 結合及び正規化の工程において結合バッファーが使用され、及び／又は

b) 洗浄工程において洗浄バッファーが使用される

ことを特徴とする、請求項1から7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

前記容器表面が、

b) 不飽和有機酸、及び／又は

c) カルボキシル基、スルホネート基若しくはそのほかの極性基

を含有することを特徴とする、請求項1から8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項10】

前記洗浄バッファーが、水、トリス、錯化剤、ポリオール、洗浄剤、並びにポリマー、コポリマー及び／又はターポリマーを含有することを特徴とする、請求項8又は9に記載の方法。

【請求項11】

前記結合バッファーがカオトロピック物質を含有することを特徴とする、請求項8から10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項12】

前記カオトロピック物質が以下を含む群から選択される少なくとも1つの物質であることを特徴とする、請求項11に記載の方法：

- ・塩酸グアニジン
- ・（イソ）チオシアン酸グアニジニウム
- ・ヨウ化ナトリウム
- ・ヨウ化カリウム
- ・（イソ）チオシアン酸ナトリウム及び／又は
- ・尿素

又はこれらの混合物。

【請求項13】

請求項1から12のいずれか1項に記載の方法の実施に用いるための反応容器であって、容器表面が高塩条件下で生体分子を可逆的に結合できるように、反応容器が少なくとも定

位置で官能化されている容器表面を有することを特徴とする、上記反応容器。

【請求項 14】

前記容器表面が、シラノール基を含有し、及び / 又はヒドロキシル基を含有する金属酸化物若しくは半金属酸化物を含有する、請求項 13 に記載の反応容器。

【請求項 15】

前記生体分子が核酸である、請求項 13 又は 14 に記載の反応容器。

【請求項 16】

前記容器表面が当該容器の内部で官能化されている、請求項 13 から 15 のいずれか 1 項に記載の反応容器。

【請求項 17】

前記容器表面が、

b) 不飽和有機酸、及び / 又は

c) カルボキシル基、スルホネート基若しくはそのほかの極性基、

を含有することを特徴とする、請求項 13 から 16 のいずれか 1 項に記載の反応容器。

【請求項 18】

請求項 14 又は 17 に記載の官能基が、

a) プラズマコーティングによって反応容器の物質に適用され、

b) 湿式化学法によって反応容器の物質に適用され、及び / 又は

c) 反応容器自体の物質の特性によって規定される

ことを特徴とする、請求項 14 から 17 のいずれか 1 項に記載の反応容器。

【請求項 19】

請求項 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の方法の実施に用いるためのキットであって、少なくとも

a) 結合バッファー、

b) 洗浄バッファー、

c) 試料調製工程を実施するための任意の試薬、

d) 後続の反応を実施するための任意の試薬、及び

e) 任意に請求項 13 から 18 のいずれか 1 項に記載の反応容器

を有する、上記キット。

【請求項 20】

前記試料調製工程が、逆転写 (RT) である、請求項 19 に記載のキット。

【請求項 21】

前記後続の反応が、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) である、請求項 19 又は 20 に記載のキット。

【請求項 22】

前記洗浄バッファーが、水、トリス、錯化剤、ポリオール、洗浄剤、並びにポリマー、コポリマー及び / 又はターポリマーを含有することを特徴とする、請求項 19 から 21 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 23】

前記結合バッファーがカオトロピック物質を含有することを特徴とする、請求項 19 から 22 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 24】

前記カオトロピック物質が以下を含む群から選択される少なくとも 1 つの物質であることを特徴とする、請求項 23 に記載のキット：

- ・ 塩酸グアニジン
- ・ (イソ)チオシアン酸グアニジニウム
- ・ ヨウ化ナトリウム
- ・ ヨウ化カリウム
- ・ (イソ)チオシアン酸ナトリウム及び / 又は
- ・ 尿素

又はこれらの混合物。

【請求項 25】

試料における生体分子の含量を正規化するための、請求項 13 から 18 のいずれか 1 項に記載の反応容器及び / 又は請求項 19 から 24 のいずれか 1 項に記載のキットの使用。

【請求項 26】

前記生体分子が、RNA からの逆転写 (RT) によって前記反応容器において作製されている cDNA であり、cDNA が次いでポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) に供される、請求項 25 に記載の使用。

【請求項 27】

前記 RNA が mRNA である、請求項 26 に記載の使用。

【請求項 28】

請求項 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の方法を実施することを含む、生体分子を検出するための方法。

【請求項 29】

前記生体分子が核酸である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記生体分子が RNA である、請求項 28 に記載の方法。