

【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 19 年 6 月 7 日 (2007.6.7)

【公表番号】特表 2006-523463 (P2006-523463A)

【公表日】平成 18 年 10 月 19 日 (2006.10.19)

【年通号数】公開・登録公報 2006-041

【出願番号】特願 2006-513124 (P2006-513124)

【国際特許分類】

**C 1 2 N 15/09 (2006.01)**

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 19 年 4 月 12 日 (2007.4.12)

【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】

生物学的材料を溶解することによって放出した RNA を精製する固相法であって、該方法は、固体支持体に該放出した RNA を結合させる工程；不純物を洗浄する工程；および該精製された RNA を溶出する工程を包含し、リチウム塩を含む溶液が、該結合工程および洗浄工程において使用される、方法。

【請求項 2】

RNA を含む生物学的材料から、実質的に純粋および分解されていない RNA を精製するための、請求項 1 に記載の方法であって、以下の工程：

(a) 該生物学的材料と RNA 溶解 / 結合溶液とを混合する工程であって、該 RNA 溶解 / 結合溶液は、リチウム塩を含有し、約 7 より大きい pH で緩衝化される、工程；

(b) 該混合物と固体支持体を接触させる工程であって、その結果、該混合物中の実質的に分解されていない RNA を含む核酸が固体支持体と優先的に結合する、工程；

(c) 結合した実質的に分解されていない RNA を含む核酸以外の生物学的材料を除去するために、該固体支持体を一連の RNA 洗浄溶液で洗浄する工程であって、ここで該一連の洗浄溶液が、アルコールおよび濃度が少なくとも 1 M のリチウム塩を含む第一洗浄ならびにアルコール、緩衝剤および必要に応じたキレート剤を含む第二洗浄を含む、工程；ならびに

(d) 実質的に純粋および分解されていない RNA を得るために、RNA 溶出溶液を用いて、該結合した実質的に分解されていない RNA を該固体支持体から優先的に溶出する工程；

を包含する、方法。

【請求項 3】

RNA を含む生物学的材料から、実質的に純粋でありかつ分解されていない RNA を精製するための、請求項 1 に記載の方法であって、以下の工程：

(a) 該生物学的材料と RNA 溶解 / 結合溶液を混合する工程であって、該 RNA 溶解 / 結合溶液が、両親媒性試薬、およびリチウム塩を含む、工程；

(b) 該生物学的材料を該 RNA 溶解 / 結合溶液で溶解する工程であって、実質的に分解されていない RNA を含む核酸および非核酸生物学的物質を含む溶解物を形成する、工程；

(c) 該溶解物を固定化した固体支持体に接触させる工程であって、その結果、該溶解物中の実質的に分解されていないRNAを含む核酸が該固体支持体と優先的に結合する、工程；

(d) 実質的に分解されていないRNAを含む、結合した核酸以外の生物学的材料を除去するために、該固体支持体を一連のRNA洗浄溶液で洗浄する工程であって、ここで該一連の洗浄溶液が、アルコールおよび濃度が少なくとも1Mのリチウム塩を含む第一洗浄、ならびにアルコール、緩衝剤および必要に応じたキレート剤を含む第二洗浄を含む、工程；ならびに

(e) 実質的に純粋および分解されていないRNAを得るために、RNA溶出溶液を用いて、該結合した分解されていないRNAを該固体支持体から優先的に溶出する工程を包含する、方法。

【請求項4】

前記RNA溶解/結合溶液を前記固体支持体に直接的に適用し、その後、前記固体支持体上で乾燥させる、請求項2または3に記載の方法。

【請求項5】

各溶液中の前記リチウム塩は、塩化リチウムまたは臭化リチウムである、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記リチウム塩が、塩化リチウムである、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記リチウム塩が、4～10Mの範囲の濃度で各溶液に存在する、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】

前記固体支持体が、シリカベースの支持体である、請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

前記シリカベースの支持体が、ホウケイ酸塩である、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

請求項1～9のいずれか1項に記載される方法において使用するためのキットであって、該キットは、以下：

生物学的試料から実質的に純粋でありかつ分解されていないRNAを調製する指示手段、別個の溶液としてか、または、固体支持体上に前処理されたもののいずれかであるRNA溶解/結合溶液、RNA溶解/結合溶液で処理していないかまたは処理したかのいずれかである固体支持体、RNA洗浄溶液ならびにRNA溶出溶液を備える、キット。

【請求項11】

RNAを精製する固相法における処方物の使用であって、該処方物は、少なくとも1Mの濃度のリチウム塩、界面活性剤および緩衝液を含み、該固相法は、生物学的材料を溶解してRNAを放出する工程、固体支持体に該放出したRNAを結合させる工程；不純物を洗い流す工程；および該精製されたRNAを溶出する工程を包含し、該固体支持体は、シリカベースの支持体である、使用。

【請求項12】

前記シリカベースの支持体がホウケイ酸塩である、請求項11に記載の使用。

【請求項13】

核酸を単離および精製するための処方物であって、以下：

少なくとも約1Mの濃度であるリチウム塩、

洗浄剤、

緩衝剤、

キレート剤、ならびに

少なくとも1つの還元剤およびタングステン酸塩

を含む、処方物。