

【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21年4月9日(2009.4.9)

【公表番号】特表2008-529541(P2008-529541A)

【公表日】平成20年8月7日(2008.8.7)

【年通号数】公開・登録公報2008-031

【出願番号】特願2007-555539(P2007-555539)

【国際特許分類】

C 12 M	1/10	(2006.01)
G 01 N	33/48	(2006.01)
G 01 N	33/574	(2006.01)
G 01 N	1/28	(2006.01)
C 12 N	5/06	(2006.01)

【F I】

C 12 M	1/10	
G 01 N	33/48	E
G 01 N	33/574	D
G 01 N	33/48	J
G 01 N	33/48	K
G 01 N	33/48	A
G 01 N	33/48	C
G 01 N	1/28	J
C 12 N	5/00	E

【手続補正書】

【提出日】平成21年2月18日(2009.2.18)

【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】

閉じられた端部と開放可能な端部(2、3)とを含む、生物学的試料から腫瘍細胞を分離するための容器(1)であって、下限値1.055 g/cm<sup>3</sup>から上限値1.070 g/cm<sup>3</sup>の範囲の固有密度を有するチキソトロープ物質(4)と、場合により、下限値1.055 g/cm<sup>3</sup>から上限値1.085 g/cm<sup>3</sup>の範囲の固有密度を有する密度勾配の形態での分離媒質(5)とを含む、前記容器。

【請求項2】

前記腫瘍細胞が播種性腫瘍細胞(9)である、請求項1に記載の容器(1)。

【請求項3】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の下限値が、1.057 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1に記載の容器(1)。

【請求項4】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の下限値が、1.060 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1に記載の容器(1)。

【請求項5】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の上限値が、1.069 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1記載の容器(1)。

【請求項6】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の下限値が、1.065 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1に記載の容器(1)。

**【請求項7】**

前記の分離媒質(5)の固有密度の下限値が、1.065 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1に記載の容器(1)。

**【請求項8】**

前記の分離媒質(5)の固有密度の下限値が、1.070 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1に記載の容器(1)。

**【請求項9】**

前記の分離媒質(5)の固有密度の上限値が、1.080 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1に記載の容器(1)。

**【請求項10】**

前記の分離媒質(5)の固有密度の上限値が、1.075 g/cm<sup>3</sup>である、請求項1に記載の容器(1)。

**【請求項11】**

排気可能である、請求項1に記載の容器(1)。

**【請求項12】**

遠心分離可能である、請求項1又は1\_1に記載の容器(1)。

**【請求項13】**

少なくとも1種の抗凝血性及び/又は凝集阻害性の物質を含む、請求項1～1\_2のいずれか1項に記載の容器(1)。

**【請求項14】**

前記チキソトロープ物質(4)が、ケイ酸、ベントナイト、ヘクトライト、カオリン、アルギン酸塩、及び/又はこれらの混合物を含む群の材料から選択される、請求項1～1\_3のいずれか1項に記載の容器(1)。

**【請求項15】**

前記分離媒質(5)が、少なくとも1種のポリマー及び/又は高分子炭水化物、もしくは同じ分離特性を有する媒質から成る水溶液である、請求項1～1\_4のいずれか1項に記載の容器(1)。

**【請求項16】**

前記ポリマー及び/又は高分子炭水化物が、ケイ酸塩を基剤とする、請求項15に記載の容器(1)。

**【請求項17】**

前記ポリマー及び/又は高分子炭水化物が、糖類又はジアトリゾエートである、請求項15に記載の容器(1)。

**【請求項18】**

前記糖類又はジアトリゾエートが、Percoll(登録商標)又はFicoll(登録商標)である、請求項15に記載の容器(1)。

**【請求項19】**

前記分離媒質(5)及び/又は前記チキソトロープ物質(4)が、1種又は2種以上の色素を含む、請求項1～1\_8のいずれか1項に記載の容器(1)。

**【請求項20】**

多孔質バリヤ(6)が配置されている、請求項1～1\_9のいずれか1項に記載の容器(1)。

**【請求項21】**

前記多孔質バリヤ(6)が、膜、ラップ、フリット、篩、及び/又はフィルタによって形成されている、請求項2\_0に記載の容器(1)。

**【請求項22】**

前記多孔質バリヤ(6)が運動可能である、請求項2\_0又は2\_1に記載の容器(1)。

**【請求項23】**

前記多孔質バリヤ(6)が、上限値15 mm～下限値0.1 mmの範囲の厚さを有する、請求項2

0 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の容器(1)。

【請求項 2 4】

前記多孔質バリヤ(6)が、上限値 $150\text{ }\mu\text{m}$  ~ 下限値 $1\text{ }\mu\text{m}$ の範囲の孔サイズを有する、請求項2 0 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の容器(1)。

【請求項 2 5】

前記多孔質バリヤ(6)が疎水性材料から成り、及び/又は疎水性被覆体を備えている、請求項2 0 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の容器(1)。

【請求項 2 6】

前記多孔質バリヤ(6)がエラストマーによって仕切られている、請求項2 0 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の容器(1)。

【請求項 2 7】

前記多孔質バリヤ(6)が、収容可能な閉鎖要素を備えている、請求項2 0 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載の容器(1)。

【請求項 2 8】

内側に、前記多孔質バリヤ(6)を終端位置に位置決めする突起が配置されている、請求項2 0 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の容器(1)。

【請求項 2 9】

生物学的試料から腫瘍細胞を分離するための、請求項 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の容器(1)の使用。

【請求項 3 0】

前記腫瘍細胞が播種性腫瘍細胞(9)である、請求項 1 7 に記載の容器(1)の使用。

【請求項 3 1】

腫瘍細胞の検出方法であって、以下のステップ：

- (a) 請求項 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の容器(1)を用意し；
  - (b) 該容器(1)内に生物学的試料を添加し；
  - (c) 該生物学的試料を少なくとも下側及び上側の区画(7、8)に分割するために該容器(1)を遠心分離し；並びに
  - (d) 該遠心分離後にチキソトロープ物質及び/又は多孔質バリヤ(6)の上方の区画内に位置する、該生物学的試料の腫瘍細胞を用いて分子生物学的診断、免疫学的診断、及び/又は細胞診断を行うこと、
- を含む、前記方法。

【請求項 3 2】

前記生物学的試料として、血液及び骨髄、尿、唾液、リンパ液、浸出液、濾液、髄液、精液、もしくは分散組織、及び/又は天然又は非天然体腔の液体を含む群に由来する体液が使用される、請求項3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

(1)(i) 上皮腫瘍及び(ii) 非上皮腫瘍を含む固形腫瘍、並びに(2)血液腫瘍の群に由来する転移性の腫瘍及び/又は新生組織の腫瘍細胞が検出される、請求項3 1 又は3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記生物学的試料が希釈される、請求項3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 5】

血液が凝結阻害物質中で採取される、請求項3 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記生物学的試料には、腫瘍細胞における血小板の凝集を回避するための少なくとも1種の凝集阻害物質が添加される、請求項3 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記遠心分離が、下限値 $500\text{ g}$  ~ 上限値 $2500\text{ g}$ の範囲のグラム数で実施される、請求項3 1 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記生物学的試料が、上限値60分～下限値5分の時間にわたって遠心分離される、請求項3\_1～3\_7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項40】

前記容器が4で冷却され、(i)チキソトロープ物質及び場合によっては(ii)分離媒質の密度は、この温度に合わせて調節されている、請求項3\_1～3\_8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項41】

前記容器(1)が、遠心分離後、そして、腫瘍細胞で富化された区画の取出し前に冷却される、請求項3\_1～3\_9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項42】

前記腫瘍細胞が、血漿区画内及び/又は血漿区画の下の区画から得られる、請求項3\_1～3\_9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項43】

前記播種性腫瘍細胞(9)が、上側の区画(7)から、手動、半自動、及び/又は自動で取出される、請求項3\_1～4\_1のいずれか1項に記載の方法。

【請求項44】

診断のために、免疫細胞化学的着色、PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)、RT-PCR(逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応)、細胞培養、FISH(蛍光インサイチュハイブリダイゼーション)、及び/又はFACS(蛍光活性化細胞分別機)を含む群のうちの少なくとも1つの方法が選択される、請求項3\_1～4\_3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項45】

閉じられた端部と開放可能な端部(2、3)とを備えた容器(1)内の、種々異なる固有密度の生物学的試料、及び腫瘍細胞を分離するための少なくとも1種の分離媒質の区画の配置関係であって、初めに、閉じられた端部(2)の領域に、下限値1.060 g/cm<sup>3</sup>～上限値1.085 g/cm<sup>3</sup>の範囲の固有密度を有する密度勾配の形態の分離媒質(5)と、場合により続いて、下限値1.055 g/cm<sup>3</sup>～上限値1.070 g/cm<sup>3</sup>の範囲の固有密度を有するチキソトロープ物質(4)とが提供され、開放可能な端部(3)の領域内に、該生物学的試料の収容のための十分な容積を有する自由空間が配置されており、そして遠心分離後には、(i)該容器(1)の下端部(2)の領域内の赤血球で始まって、(ii)続いて、白血球、リンパ球、单球から成る区画、及び場合により(iii)分離媒質(5)の一部、更に続いて(iv)該チキソトロープ物質(4)、これに続いて(v)希釈分離媒質(5)の区画、続いて(vi)血小板及び腫瘍細胞を有する血漿から成る区画、及び場合により(vii)自由空間が配置されている、前記の配置関係。

【請求項46】

前記腫瘍細胞が播種性腫瘍細胞(9)である、請求項45に記載の配置関係。

【請求項47】

前記の分離媒質(5)の固有密度の下限値が、1.065 g/cm<sup>3</sup>である、請求項45に記載の配置関係。

【請求項48】

前記の分離媒質(5)の固有密度の下限値が、1.070 g/cm<sup>3</sup>である、請求項45に記載の配置関係。

【請求項49】

前記の分離媒質(5)の固有密度の上限値が、1.080 g/cm<sup>3</sup>である、請求項45に記載の配置関係。

【請求項50】

前記の分離媒質(5)の固有密度の上限値が、1.075 g/cm<sup>3</sup>である、請求項45に記載の配置関係。

【請求項51】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の下限値が、1.057 g/cm<sup>3</sup>である、請求項4\_5に記載の配置関係。

【請求項5\_2】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の下限値が、1.060 g/cm<sup>3</sup>である、請求項4\_5に記載の配置関係。

【請求項5\_3】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の上限値が、1.069 g/cm<sup>3</sup>である、請求項4\_5に記載の配置関係。

【請求項5\_4】

前記のチキソトロープ物質(4)の固有密度の下限値が、1.065 g/cm<sup>3</sup>である、請求項4\_5に記載の配置関係。

【請求項5\_5】

請求項1～2\_8のいずれか1項に記載の容器(1)を含む、試験キット。

【請求項5\_6】

場合により濃縮形態の洗浄緩衝剤を有する、少なくとも1つの容器(1)を含む、請求項5\_5に記載の試験キット。

【請求項5\_7】

試料用容器を更に含む、請求項5\_5又は5\_6に記載の試験キット。