

【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 19 年 9 月 13 日 (2007.9.13)

【公表番号】特表 2003-505694 (P2003-505694A)

【公表日】平成 15 年 2 月 12 日 (2003.2.12)

【出願番号】特願 2001-512292 (P2001-512292)

【国際特許分類】

**G 0 1 N 33/48 (2006.01)**

**C 1 2 M 1/00 (2006.01)**

**C 1 2 M 1/34 (2006.01)**

**C 1 2 Q 1/02 (2006.01)**

**C 1 2 Q 1/68 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/483 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/53 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/543 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/566 (2006.01)**

**G 0 1 N 27/447 (2006.01)**

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

【F I】

G 0 1 N 33/48 M

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 M 1/34 Z

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/483 F

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/543 5 2 1

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 27/26 3 1 5 Z

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 19 年 7 月 26 日 (2007.7.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下の段階を含む、生物標本を分析する方法：

生物標本に由来する種々の生物分子と相互作用する種々の同定分子を含む 1 つまたはそれ以上の異なる捕捉領域を持つ基質に該生物標本を置く段階；および

基質の異なる捕捉領域が層であり、生物標本の成分が基質の異なる捕捉領域内の種々の同定分子と相互作用して生物分子の同定に関する情報となるパターンが生成することを許容する条件下で、該生物標本の成分を 1 つまたはそれ以上の異なる捕捉領域を通して移送させる段階。

【請求項 2】 生物標本が細胞標本である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】 層が隣接しており、かつ細胞標本の成分が基質の毛管現象によって基

質の異なる層を通して移送される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】 層状化された基質が、細胞標本に毛管圧を与える隣接した多孔性の層を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】 細胞標本の成分が、電気泳動によって基質の異なる層を通して移送される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】 成分が基質の層を通して移送される際に、該成分が標本の細胞構築を維持する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 7】 種々の同定分子と細胞標本の成分との間の相互作用を標本の細胞構築と関連させることをさらに含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】 複数の異なった個別の細胞標本を基質の表面に置くことをさらに含み、該複数の個別の細胞標本と移送される特定の成分との相関が維持される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 9】 基質の表面に少なくとも 20 の異なる細胞標本が置かれる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】 細胞標本が組織標本の切片である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 11】 細胞標本が腫瘍の切片である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】 基質の異なる層における種々の同定分子の相互作用のパターンと同定済みの成分とを関連させることをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 13】 基質の層が少なくとも 10 である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 14】 基質の層が少なくとも 100 である、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】 基質の層の厚さが少なくとも約 25  $\mu\text{m}$  である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 16】 同定分子が細胞標本の成分と相互作用する抗体である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 17】 同定分子が細胞標本の異なる細胞領域と相互作用し、かつ該同定分子の相互作用が該細胞標本の領域と関連される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 18】 細胞標本の成分を基質を通して移送する前に、層状化された基質の表面に該細胞標本が置かれる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 19】 層を通して細胞標本の成分を選択的に移送するために、該細胞標本の成分を該層を通して移送する前に該標本が処理される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 20】 標本がゲル中の層状化した基質の表面に置かれ、かつ種々の分子サイズの成分を選択的に移送するため、該ゲルの濃度が変化をつけられる、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】 比較的小さい分子サイズのタンパク質を選択的に移送するため、高濃度のゲルが用いられる、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】 標本の成分がどの同定分子と相互作用するかを特定することによって、該成分を同定することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 23】 同定済みの成分を第二の同定分子と反応させて、該同定済みの成分が他の成分と会合しているか否かを決定することをさらに含む、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】 細胞標本が腫瘍標本であり、かつ同定済み成分が無処置のタンパク質であり、かつ第二のタンパク質が該腫瘍中の該タンパク質と会合しているか否かを決定するために他の成分の同定が行われる、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】 複数の腫瘍標本が基質に置かれ、かつ該複数の腫瘍標本の成分が同時に個別に基質を通して移送される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】 複数の腫瘍標本が、様々な腫瘍進行期における特定の種類の腫瘍の標本である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】 複数の腫瘍標本が、様々な腫瘍進行期における特定の被験者由来の腫瘍の標本である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】 細胞標本が、関心対象の細胞集団をより大きな細胞集団から採取す

ることによって得られる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 29】 関心対象の細胞集団の採取が、細胞集団をレーザーキャプチャーマイクロダイセクションすることを含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】 細胞標本が、関心対象の細胞集団に由来する細胞溶解産物を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 31】 1 つまたはそれ以上の層が導電性の層である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 32】 層が分離可能であり、分離された各層の中に保持された細胞標本の成分を個別に同定するため、該細胞標本の成分を移送させた後に分離される、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】 各層が高濃度アガロースゲル、低濃度アガロースゲル、高濃度ポリアクリルアミドゲル、低濃度ポリアクリルアミドゲル、および膜からなる群より選択される、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 34】 同定分子が抗体、核酸、ペプチド、受容体、およびリガンドからなる群より選択される分子である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 35】 同定分子が細胞標本の成分を層の中に保持する捕捉分子を含む方法であって、該捕捉分子と試料の該成分との組合せと会合する検出分子、または該同定分子により認識される領域とは異なる該成分の領域と会合する検出分子に該同定分子を暴露することをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 36】 成分がタンパク質であり、同定分子がタンパク質の第一のドメインを認識し、かつ検出分子がタンパク質の別の領域を認識する、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】 検出分子が抗体、核酸、ペプチド、受容体、リガンド、および染料からなる群より選択される、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】 同定分子が、移送される成分を細胞標本中の成分の量に比例する量で捕捉し、かつ該同定分子が該細胞標本中の該成分の比例量の量的指標を提供する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 39】 細胞標本が組織切片、培養細胞、および細胞診断試料からなる群より選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 40】 種々の同定分子と相互作用する移送される成分が、基質の異なる層を通して移送される前に、タンパク質分解反応または核酸分解反応に供されていない無処置のタンパク質または無処置の核酸分子を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 41】 細胞標本成分のある成分を捕捉すること、および質量分析シーケンシングを行って該捕捉成分を同定すること、をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 42】 細胞標本が置かれる基質の表面が細胞合着の 2 次元マトリックスを提供し、かつ異なる層を通して細胞標本の成分を移動することで第三の次元を提供し、細胞合着の該 2 次元マトリックス中の細胞標本の成分の位置と 3 次元マトリックス中の移送された成分の位置との間に同定可能な相関がある、層状化した基質を通した該細胞標本の成分の移送によって 3 次元マトリックスを生成する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 43】 請求項 42 に記載の 3 次元マトリックスを伴う基質。

【請求項 44】 以下の段階を含む、細胞標本を分析する方法：

隣接する面をもつ多数の異なる層を含み、各層が細胞標本の成分と相互作用しこれを捕捉することができる対応する捕捉分子を含む、基質を提供する段階；

細胞標本を該基質の表面に接触させ、かつ標本の無処置の成分をマトリックスの異なる層の隣接表面を通して移送する段階；

該標本の無処置の成分を該捕捉分子と反応させる段階；および

異なる層の中の捕捉パターンを該細胞標本に関する情報と相関させる段階。

【請求項 45】 細胞標本中の成分の量と相関する量の成分を捕捉分子が捕捉する、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】 無処置の成分が、タンパク質分解反応または核酸分解反応の処理段階に供されていない 1 つまたはそれ以上のタンパク質または核酸を含む、請求項 44 に記

載の方法。

【請求項 4 7】 基質の表面への細胞基質の接触が、基質の表面に複数の異なる細胞標本を接触させることを含む、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 8】 捕捉パターンが 3 次元マトリックスを含み、これは基質の表面に接触する細胞標本のパターンが細胞合着の 2 次元マトリックスを形成し、異なる層における捕捉パターンが第三の次元を形成し、細胞合着の該 2 次元マトリックスと該第三の次元との間に相関があり、これにより該捕捉パターンを細胞標本中の特定の細胞構築と相関させることができる、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 9】 標本の無処置の成分の移送が、多数の異なる層を横断して電流が流れるように基質の隣接面に電流を流すことを含む、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 5 0】 多数の異なる層が多数の隣接した導電性ゲルを含み、電流が該導電性ゲルを通過する、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】 標本の無処置の成分の移送が毛管現象による移送を含む、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 5 2】 多数の異なる層が、細胞標本に毛管圧を与える隣接したニトロセルロース層を含む、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】 細胞標本を接触させることができ、かつ細胞合着的に維持することができる表面を有する層状化された基質を含む装置であって、該基質の連続層が、該細胞標本の対応する無処置の成分と相互作用することができ、かつ該対応する無処置の成分を保持することができる種々の同定分子を含み、

該層が互いに隣接し導電性であり、かつ基質の表面上の位置と成分の移送先である基質中の位置との相関を維持したまま該細胞標本の無処置の成分を該層を通して通過させることができる層を含む、細胞標本を分析するための装置。

【請求項 5 4】 層状化された基質が、成分を該基質に通過させるための毛管圧を細胞標本に与える能力を持つ、請求項 5 3 に記載の装置。

【請求項 5 5】 層状化された基質が多孔性のニトロセルロース層である、請求項 5 4 に記載の装置。

【請求項 5 6】 層状化された基質が導電性である、請求項 5 3 に記載の装置。

【請求項 5 7】 基質の表面を通して該基質の異なる層に電流を流すため、該基質に対して位置決めされた電極をさらに含む、請求項 5 6 に記載の装置。

【請求項 5 8】 基質の表面上の細胞標本をさらに含む、請求項 5 7 に記載の装置。

【請求項 5 9】 細胞標本の無処置の成分が層を通して移送されて 3 次元マトリックスが確立され、該 3 次元マトリックス中において表面上の細胞構築が複数の層中の固有の成分と相関する、請求項 5 8 に記載の装置。

【請求項 6 0】 連続層が実質的に平行である、請求項 5 3 に記載の装置。

【請求項 6 1】 電流が層を実質的に横断する方向に流れる、請求項 5 7 に記載の装置。

【請求項 6 2】 以下のものを含む、生物試料の分子分析のためのシステム：

面と面とを合わせて重ねられた多数の分離マトリックスを通して試料から該試料の成分を移動させるあいだ、該試料を保持することのできる試料支持体；

面と面とを合わせて重ねられて隣接し、各々が該試料の 1 つまたはそれ以上の成分とハイブリダイズできる捕捉分子を含む、複数の分離マトリックス；

該試料支持体から面を通して該分離マトリックスの中へ、該試料の少なくとも 1 つの成分を移動させるための移送手段；

試料成分の移動中、複数の該分離マトリックスを面と面とを合わせた配置で保持し、しかし以後の分析が行えるよう複数の該分離マトリックスを互いに分離することを許容するハウジング；および

該捕捉分子と該試料の成分との間のハイブリッド形成をその中でさらに分析できる第二のハウジング。

【請求項 6 3】 移送手段が、マトリックスの面を通して電流が流れるように位置決

めされた 1 組の電極を含む、請求項 6 2 に記載のシステム。

【請求項 6 4】 移送手段が支持体の多孔性構造を含み、分離マトリックスを通して成分を移動させるための毛管圧が該多孔性構造により作成される、請求項 6 2 に記載のシステム。