

【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3部門第2区分
 【発行日】平成24年1月5日(2012.1.5)

【公表番号】特表2011-503208(P2011-503208A)
 【公表日】平成23年1月27日(2011.1.27)
 【年通号数】公開・登録公報2011-004
 【出願番号】特願2010-534253(P2010-534253)
 【国際特許分類】

C 0 7 K 1/14 (2006.01)
 C 0 7 K 1/34 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/02 (2006.01)
 C 0 7 K 14/025 (2006.01)
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)
 G 0 1 N 33/543 (2006.01)
 G 0 1 N 33/553 (2006.01)
 G 0 1 N 33/577 (2006.01)
 G 0 1 N 33/569 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 1/14 Z N A
 C 0 7 K 1/34
 C 1 2 Q 1/02
 C 0 7 K 14/025
 G 0 1 N 33/53 D
 G 0 1 N 33/543 5 4 5 A
 G 0 1 N 33/543 5 2 1
 G 0 1 N 33/553
 G 0 1 N 33/543 5 7 5
 G 0 1 N 33/577 B
 G 0 1 N 33/569 L

【手続補正書】

【提出日】平成23年11月8日(2011.11.8)

【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】

(a) 固定細胞または未固定細胞を抽出試薬に接触させて、少なくともpH約10.0のpHを有する中間組成物を生成する工程；および

(b) 前記中間組成物を中和試薬に接触させて、前記中間組成物のpHを中和し、タンパク質抽出物を生成する工程

を含む、前記固定細胞または未固定細胞からタンパク質抽出物を生成するための方法であって、前記抽出試薬および前記中和試薬の一方または両方が、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、方法。

【請求項2】

(a) 前記細胞を抽出試薬に接触させて、少なくともpH約10.0のpHを有する中間組成物を生成する工程であって、抽出試薬がポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、工程

; および

(b) 前記中間組成物を中和試薬に接触させて、前記中間組成物のpHを中和し、約6~9のpHのタンパク質抽出物を生成する工程、を含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

(a) 前記細胞を抽出試薬に接触させて、少なくともpH約10.0のpHを有する中間組成物を生成する工程; および

(b) 前記中間組成物を中和試薬に接触させて、前記中間組成物のpHを中和し、約6~9のpHのタンパク質抽出物を生成する工程であって、該中和試薬がポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、工程を含む、請求項1記載の方法。

【請求項4】

ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、Brij (商標) 表面活性剤である、請求項1記載の方法。

【請求項5】

Brij (商標) 表面活性剤が、Brij (商標) 35である、請求項4記載の方法。

【請求項6】

抽出試薬中のBrij (商標) 35の濃度が、約2~6% (v/v) の範囲内である、請求項5記載の方法。

【請求項7】

抽出試薬が、約0.1 N NaOH、50 mM クエン酸3ナトリウムをさらに含み、かつ約12.5~12.9のpHを有する、請求項6記載の方法。

【請求項8】

抽出試薬が、Triton (商標) 界面活性剤もしくはTween (商標) 界面活性剤、またはそれらの混合物をさらに含む、請求項7記載の方法。

【請求項9】

Triton (商標) 界面活性剤の濃度もしくはTWEEN (商標) 界面活性剤の濃度、または両方の濃度が、約1~6% (v/v) の範囲内である、請求項8記載の方法。

【請求項10】

中和試薬が、Trisベースの緩衝剤である、請求項1記載の方法。

【請求項11】

抽出試薬の添加後、試料が少なくとも10分間インキュベートされるか、

抽出試薬の添加後、試料が10分間~30分間インキュベートされるか、

中和試薬の添加後、試料が少なくとも10分間インキュベートされるか、または

中和試薬の添加後、試料が10分間~30分間インキュベートされる、請求項1記載の方法

。

【請求項12】

Brij (商標) 表面活性剤が、Brij (商標) 35ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル、 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 23)$; Brij (商標) 30ポリオキシエチレン (4) ラウリルエーテル $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 4)$; Brij (商標) 52、ポリオキシエチレン (2) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 56ポリオキシエチレン (10) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 58、ポリオキシエチレン (20) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 72ポリオキシエチレン (2) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 76、ポリオキシエチレン (10) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 78ポリオキシエチレン (20) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 92、ポリオキシエチレン (2) オレイルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 93、ポリオキシエチレン (2) オレイルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 97、ポリオキシエチレン (10) オレイルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 98、ポリオキシエチレン (20) オ

レイルエーテル、 $(C_{18}H_{35}(OCH_2CH_2)_nOH, n \sim 20)$; Brij (商標) 700、ポリオキシエチレン (100) ステアリルエーテル、 $(C_{18}H_{37}(OCH_2CH_2)_{21}OH, n \sim 100)$; もしくは Brij (商標) 721、ポリオキシエチレン (21) ステアリルエーテル、 $(C_{18}H_{37}(OCH_2CH_2)_nOH, n \sim 21)$ の一つまたは複数である、請求項4記載の方法。

【請求項13】

工程(a)に先立ち固定細胞または未固定細胞を含む細胞試料を個人から得る工程であって、該細胞試料が、標的タンパク質を含むか、または含むと考えられる工程をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項14】

細胞が、固定した子宮頸部細胞であり、かつ標的タンパク質がヒトパピローマウイルス (HPV) E6タンパク質である、請求項13記載の方法。

【請求項15】

pHが、pH約11.0～pH約13.0の範囲である、請求項1記載の方法。

【請求項16】

抽出試薬が、変性剤をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項17】

フィルターによってタンパク質抽出物を濾過する工程をさらに含む方法であって、フィルターが、0.1 μ m～50.0 μ mの孔径を有するか、または、フィルターが、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ(4-メチルブテン)、ポリスチレン、ポリメタクリル酸、ポリ(エチレンテレフタレート)、レーヨン、ナイロン、ポリ(ビニル酪酸)、ポリフッ化ビニリデン(PVDF)、シリコン、ポリホルムアルデヒド、セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース、ガラス繊維濾紙、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル、酢酸ビニルおよび塩化ビニルのコポリマー、ポリアミド、ポリカーボネート、オーロン、ポリエステル、ポリスチレンまたはそれらの任意の組み合わせから構成される、請求項1記載の方法。

【請求項18】

タンパク質抽出物中の標的タンパク質の存在について検査する工程をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項19】

検査する工程に、標的タンパク質に対する捕捉剤、サイトメトリーピースアレイ(CBA)、マルチプレックスピースアッセイ、または免疫アッセイを利用する、請求項18記載の方法。

【請求項20】

検査が、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)、免疫クロマトグラフィーアッセイ、またはラテラルフロー(LF)アッセイである、請求項1記載の方法。

【請求項21】

検査する工程に、化学発光粒子、有色/染色ラテックス粒子、SERSラマン粒子、様々なレポーター色素を有するシリカ被覆された金核、レポーター色素を有するシリカ被覆された銀核、モノクローナル抗体が結合した金粒子、または蛍光標識されたモノクローナル抗体を利用する、請求項18記載の方法。

【請求項22】

前記接触させる工程(a)に先立ち、固定細胞または未固定細胞を遠隔地から受け入れる、請求項1記載の方法。

【請求項23】

(d)検査の結果を遠隔地に伝達する工程、
をさらに含む、請求項18記載の方法。

【請求項24】

標的ウイルスタンパク質が存在するか、または存在すると考えられる細胞を含む細胞試料から標的ウイルスタンパク質を抽出するための方法である、請求項1～23のいずれか一項記載の方法。

【請求項25】

細胞試料中の細胞が、化学固定剤で固定される、請求項24記載の方法。

【請求項26】

化学固定剤が、アルコール、アルデヒド、ケトン、四酸化オスミウム、酢酸、ピクリン酸、重金属イオン塩、およびプロピレングリコールからなる群より選択される、請求項25記載の方法。

【請求項27】

アルコールが、メタノールまたはエタノールであり；アルデヒドがグルタルアルデヒドまたはホルムアルデヒドであり；かつケトンがアセトンである、請求項26記載の方法。

【請求項28】

標的ウイルスタンパク質が、病原性ウイルスによってコードされる、請求項24記載の方法。

【請求項29】

病原性ウイルスが、HIV、エボラウイルス、マールブルグウイルス、肝炎ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス(RSV)、単純ヘルペスウイルス(HSV)、およびヒトパピローマウイルス(HPV)からなる群より選択される、請求項28記載の方法。

【請求項30】

標的ウイルスタンパク質が、HPVのE6タンパク質またはE7タンパク質である、請求項24記載の方法。

【請求項31】

HPVが、HPV 26、HPV 53、HPV 66、HPV 73、HPV 82、HPV 16、HPV 18、HPV 31、HPV 35、HPV 30、HPV 39、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 56、HPV 59、HPV 58、HPV 33、HPV 68、HPV 69およびHPV 82からなる群より選択される発癌性HPV株である、請求項30記載の方法。

【請求項32】

標的タンパク質が、ヒトパピローマウイルスのE6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、E6タンパク質に対する抗体であるか、

標的タンパク質が、ヒトパピローマウイルスのE6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、PDZドメインを含むポリペプチドを含むか、または

標的タンパク質が、ヒトパピローマウイルスのE6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、BPペプチドまたはAPペプチドを含む、

請求項19記載の方法。

【請求項33】

PDZドメインが、MAGI-1の第二ドメインであるか、またはDLGもしくはTIP1のPDZドメインである、請求項32記載の方法。

【請求項34】

- (a) 固定細胞または未固定細胞を含む細胞試料、
- (b) 少なくともpH約10.0のpHを有する抽出試薬、および
- (c) 中和試薬

を含む、請求項1~4のいずれか一項記載の方法に従ってタンパク質抽出物を生成するためのシステムであって、前記抽出試薬および前記中和試薬の一方または両方が、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、システム。

【請求項35】

タンパク質抽出物中の標的タンパク質を検出するための試薬をさらに含む、および/または請求項17記載のフィルターをさらに含む、請求項34記載のシステム。

【請求項36】

ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、Brij(商標)表面活性剤である、請求項34記載のシステム。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0006】

細胞からタンパク質抽出物を生成するための方法が提供される。全般的に、本方法は、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（例えば、Brij（商標）35）を含む高いpH（少なくともpH約10）の抽出試薬に細胞試料を接触させて、中間組成物を生成する工程、および続いて、中和試薬の存在下で、前記中間組成物のpHを、例えば約6～9のpH値、任意で7～8.5のpH値へと中和させて、タンパク質抽出物を生成する工程を含む。特定の態様において、抽出試薬および中和試薬の一方または両方は、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む。細胞は、固定または未固定の剥離された子宮頸部細胞であってもよい。特定の態様において、本方法は、HPV E6タンパク質等の標的ウイルスタンパク質を、細胞試料から抽出する工程を含む。本発明はまた、上に記載の方法に従い、固定細胞または未固定細胞からタンパク質抽出物を生成する工程、および該タンパク質抽出物中のタンパク質の存在に関して検査する工程を含む、標的ウイルスタンパク質等のタンパク質の存在を検出するための方法を提供する。さらに、本発明は、（a）固定細胞または未固定細胞を含む細胞試料、（b）少なくともpH約10.0のpHを有する抽出試薬、および（c）中和試薬を含む、タンパク質抽出物を生成するためのシステムであって、抽出試薬および中和試薬の一方または両方がポリオキシエチレンアルキルエーテルを含み、かつ結合アッセイにおいての使用に適するタンパク質抽出物を生成するために、抽出試薬および中和剤が上に記載される方法で利用され得る、システムを提供する。さらに、本発明は、固定細胞または未固定細胞からタンパク質抽出物を生成するためのキットを提供する。本キットは、タンパク質抽出物中の標的タンパク質を検出するための要素、および/または試薬をさらに含み得る。

[本発明1001]

（a）固定細胞または未固定細胞を抽出試薬に接触させて、少なくともpH約10.0のpHを有する中間組成物を生成する工程；および

（b）前記中間組成物を中和試薬に接触させて、前記中間組成物のpHを中和し、タンパク質抽出物を生成する工程

を含む、前記固定細胞または未固定細胞からタンパク質抽出物を生成するための方法であって、前記抽出試薬および前記中和試薬の一方または両方が、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、方法。

[本発明1002]

（a）前記細胞を抽出試薬に接触させて、少なくともpH約10.0のpHを有する中間組成物を生成する工程であって、抽出試薬がポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、工程；および

（b）前記中間組成物を中和試薬に接触させて、前記中間組成物のpHを中和し、約6～9のpHのタンパク質抽出物を生成する工程、

を含む、本発明1001の方法。

[本発明1003]

（a）前記細胞を抽出試薬に接触させて、少なくともpH約10.0のpHを有する中間組成物を生成する工程；および

（b）前記中間組成物を中和試薬に接触させて、前記中間組成物のpHを中和し、約6～9のpHのタンパク質抽出物を生成する工程であって、該中和試薬がポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、工程

を含む、本発明1001の方法。

[本発明1004]

ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、Brij（商標）表面活性剤である、本発明1001の方法。

[本発明1005]

Brij（商標）表面活性剤が、Brij（商標）35である、本発明1004の方法。

[本発明1006]

抽出試薬中のBrij (商標) 35の濃度が、約2~6% (v/v) の範囲内である、本発明1005の方法。

[本発明1007]

抽出試薬が、約0.1 N NaOH、50 mM クエン酸3ナトリウムをさらに含み、かつ約12.5~12.9のpHを有する、本発明1006の方法。

[本発明1008]

抽出試薬が、Triton (商標) 界面活性剤もしくはTween (商標) 界面活性剤、またはそれらの混合物をさらに含む、本発明1007の方法。

[本発明1009]

抽出試薬が、Triton (商標) X-100界面活性剤もしくはTween (商標) -20界面活性剤、またはそれらの混合物をさらに含む、本発明1007の方法。

[本発明1010]

Triton (商標) X-100界面活性剤の濃度もしくはTWEEN-20 (商標) 界面活性剤の濃度、または両方の濃度が、約1~6% (v/v) の範囲内である、本発明1009の方法。

[本発明1011]

中和試薬が、Trisベースの緩衝剤である、本発明1001の方法。

[本発明1012]

抽出試薬の添加後、試料が少なくとも10分間インキュベートされる、本発明1001の方法。

[本発明1013]

抽出試薬の添加後、試料が10分間~30分間インキュベートされる、本発明1001の方法。

[本発明1014]

中和試薬の添加後、試料が少なくとも10分間インキュベートされる、本発明1001の方法。

[本発明1015]

中和試薬の添加後、試料が10分間~30分間インキュベートされる、本発明1001の方法。

[本発明1016]

Brij (商標) 表面活性剤が、Brij (商標) 35ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル、 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 23)$; Brij (商標) 30ポリオキシエチレン (4) ラウリルエーテル $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 4)$; Brij (商標) 52、ポリオキシエチレン (2) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 56ポリオキシエチレン (10) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 58、ポリオキシエチレン (20) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 72ポリオキシエチレン (2) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 76、ポリオキシエチレン (10) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 78ポリオキシエチレン (20) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 92、ポリオキシエチレン (2) オレイルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 93、ポリオキシエチレン (2) オレイルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 97、ポリオキシエチレン (10) オレイルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 98、ポリオキシエチレン (20) オレイルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 700、ポリオキシエチレン (100) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{21}\text{OH}, n \sim 100)$; もしくはBrij (商標) 721、ポリオキシエチレン (21) ステアリルエーテル、 $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 21)$ の一つまたは複数である、本発明1004の方法。

[本発明1017]

工程 (a) に先立ち固定細胞または未固定細胞を含む細胞試料を得る工程であって、該細胞試料が、標的タンパク質を含むか、または含むと考えられる工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1018]

細胞が、固定した子宮頸部細胞であり、かつ標的タンパク質がヒトパピローマウイルス

(HPV) E6タンパク質である、本発明1017の方法。

[本発明1019]

固定細胞がSUREPATH(商標)、CYTOLYT(商標)、THINPREP(商標)またはPRESERVCYT(商標)輸送液中に存在する、本発明1018の方法。

[本発明1020]

細胞が、未固定の子宮頸部細胞であり、かつ標的タンパク質がヒトパピローマウイルス(HPV) E6タンパク質である、本発明1017の方法。

[本発明1021]

細胞試料が個人から得られる、本発明1017の方法。

[本発明1022]

pHが、pH約11.0~pH約13.0の範囲である、本発明1001の方法。

[本発明1023]

抽出試薬が、変性剤をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1024]

変性剤が、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、尿素、またはサルコシルである、本発明1023の方法。

[本発明1025]

フィルターによってタンパク質抽出物を濾過する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1026]

フィルターが、0.1 μ m~50.0 μ mの孔径を有する、本発明1025の方法。

[本発明1027]

フィルターが、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ(4-メチルブテン)、ポリスチレン、ポリメタクリル酸、ポリ(エチレンテレフタレート)、レーヨン、ナイロン、ポリ(ビニル酪酸)、ポリフッ化ビニリデン(PVDF)、シリコン、ポリホルムアルデヒド、セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース、ガラス繊維濾紙、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル、酢酸ビニルおよび塩化ビニルのコポリマー、ポリアミド、ポリカーボネート、オーロン、ポリエステル、ポリスチレンまたはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1025の方法。

[本発明1028]

以下の工程を含む、すでに公知であるか、またはそうでなければすでに特徴づけられている標的タンパク質を検出するための方法：

(a) 本発明1001の方法に従って、固定細胞または未固定細胞からタンパク質抽出物を生成する工程；および

(b) 前記タンパク質抽出物中の前記タンパク質の存在について検査する工程。

[本発明1029]

検査する工程に、標的タンパク質に対する捕捉剤を利用する、本発明1028の方法。

[本発明1030]

検査する工程が、免疫アッセイを包含する、本発明1028の方法。

[本発明1031]

アッセイが、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)である、本発明1030の方法。

[本発明1032]

アッセイが、免疫クロマトグラフィーアッセイまたはラテラルフロー(LF)アッセイである、本発明1030の方法。

[本発明1033]

アッセイに、モノクローナル抗体が結合した金粒子を利用する、本発明1032の方法。

[本発明1034]

アッセイに、蛍光標識されたモノクローナル抗体を利用する、本発明1030の方法。

[本発明1035]

アッセイに、化学発光粒子、有色/染色ラテックス粒子、SERSラマン粒子、様々なレポ

ーター色素を有するシリカ被覆された金核、またはレポーター色素を有するシリカ被覆された銀核を利用する、本発明1030の方法。

[本発明1036]

アッセイに、一つまたは複数のモノクローナル抗体の連続的な使用を利用する、本発明1030の方法。

[本発明1037]

検査する工程に、サイトメトリービーズアレイ（CBA）またはマルチプレックスビーズアッセイを利用する、本発明1028の方法。

[本発明1038]

標的タンパク質に、ヒトパピローマウイルス（HPV）タンパク質であり、かつ検査する工程に、HPV E6タンパク質に結合するPDZドメインポリペプチドを利用する、本発明1028の方法。

[本発明1039]

未固定細胞が、剥離された子宮頸部細胞である、本発明1028の方法。

[本発明1040]

固定細胞が、剥離された子宮頸部細胞である、本発明1028の方法。

[本発明1041]

前記接触させる工程（a）に先立ち、固定細胞または未固定細胞を遠隔地から受け入れる、本発明1028の方法。

[本発明1042]

（d）検査の結果を遠隔地に伝達する工程、
をさらに含む、本発明1028の方法。

[本発明1043]

（a）固定細胞または未固定細胞を含む細胞試料、
（b）少なくともpH約10.0のpHを有する抽出試薬、および
（c）中和試薬
を含む、本発明1001の方法に従ってタンパク質抽出物を生成するためのシステムであって、前記抽出試薬および前記中和試薬の一方または両方が、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、システム。

[本発明1044]

ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、Brij（商標）界面活性剤である、本発明1043のシステム。

[本発明1045]

Brij（商標）界面活性剤が、Brij（商標）35である、本発明1044のシステム。

[本発明1046]

タンパク質抽出物中の標的タンパク質を検出するための試薬をさらに含む、本発明1043のシステム。

[本発明1047]

フィルターをさらに含む、本発明1043のシステム。

[本発明1048]

フィルターが、0.1 μm ~ 50.0 μmの孔径を有する、本発明1047のシステム。

[本発明1049]

フィルターが、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ（4-メチルブテン）、ポリスチレン、ポリメタクリル酸、ポリ（エチレンテレフタレート）、レーヨン、ナイロン、ポリ（ビニル酪酸）、ポリフッ化ビニリデン（PVDF）、シリコン、ポリホルムアルデヒド、セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース、ガラス繊維濾紙、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル、酢酸ビニルおよび塩化ビニルのコポリマー、ポリアミド、ポリカーボネート、オーロン、ポリエステル、ポリスチレンまたはそれらの任意の組み合わせを含む、本発明1047のシステム。

[本発明1050]

(a) 少なくともpH約10.0のpHを有する抽出試薬、

(b) 中和試薬、ならびに

(c) 前記抽出試薬および前記中和試薬を使用して本発明1001の方法を実施するための使用説明書

を含む、固定細胞または未固定細胞からタンパク質抽出物を生成するためのキットであって、前記抽出試薬および前記中和試薬の一方または両方が、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、キット。

[本発明1051]

ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、Brij (商標) 界面活性剤である、本発明1050のキット。

[本発明1052]

Brij (商標) 界面活性剤が、Brij (商標) 35である、本発明1051のキット。

[本発明1053]

タンパク質抽出物中の標的タンパク質を検出するための試薬をさらに含む、本発明1050のキット。

[本発明1054]

試薬が、標的タンパク質に対する捕捉剤を包含する、本発明1053のキット。

[本発明1055]

標的タンパク質が、HPV E6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、HPV E6タンパク質に対するモノクローナル抗体、またはHPV E6タンパク質に結合するPDZドメインポリペプチドである、本発明1054のキット。

[本発明1056]

(a) 標的ウイルスタンパク質が存在するか、または存在すると考えられる細胞を含む細胞試料を抽出試薬に接触させて、少なくともpH約10.0のpHを有する中間組成物を生成する工程；および

(b) 前記中間組成物を中和試薬に接触させて、前記中間組成物のpHを中和し、標的ウイルスタンパク質の抽出物を生成する工程

を含む、細胞試料から標的ウイルスタンパク質を抽出するための方法であって、前記抽出試薬および前記中和試薬の一方または両方が、ポリオキシエチレンアルキルエーテルを含む、方法。

[本発明1057]

ポリオキシエチレンアルキルエーテルが、Brij (商標) 表面活性剤である、本発明1056の方法。

[本発明1058]

Brij (商標) 表面活性剤が、約2~6% (v/v) の濃度で抽出試薬に含まれるBrij (商標) 35である、本発明1057の方法。

[本発明1059]

抽出試薬が、約0.1 N NaOH、50 mMクエン酸3ナトリウム、および12.5~12.9のpHをさらに含む、本発明1058の方法。

[本発明1060]

抽出試薬が、Triton (商標) 界面活性剤もしくはTween (商標) 界面活性剤、またはそれらの混合物をさらに含む、本発明1059の方法。

[本発明1061]

抽出試薬が、Triton (商標) X - 100界面活性剤もしくはTween (商標) - 20界面活性剤、またはそれらの混合物をさらに含む、本発明1060の方法。

[本発明1062]

Triton (商標) X - 100界面活性剤の濃度もしくはTWEEN - 20 (商標) 界面活性剤の濃度、または両方の濃度が、約2~6% (v/v) の範囲内である、本発明1061の方法。

[本発明1063]

中和試薬が、Trisベースの緩衝剤である、本発明1056の方法。

[本発明1064]

抽出試薬の添加後、試料が10分間～30分間インキュベートされる、本発明1056の方法。

[本発明1065]

中和試薬の添加後、試料が10分間～30分間インキュベートされる、本発明1056の方法。

[本発明1066]

Brij (商標) 表面活性剤が、Brij (商標) 35ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル、 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 23)$; Brij (商標) 30ポリオキシエチレン (4) ラウリルエーテル $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 4)$; Brij (商標) 52、ポリオキシエチレン (2) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 56ポリオキシエチレン (10) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 58、ポリオキシエチレン (20) セチルエーテル $(\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 72、ポリオキシエチレン (2) ステアリルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 76、ポリオキシエチレン (10) ステアリルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 78、ポリオキシエチレン (20) ステアリルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 92、ポリオキシエチレン (2) オレイルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 93、ポリオキシエチレン (2) オレイルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 2)$; Brij (商標) 97、ポリオキシエチレン (10) オレイルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 10)$; Brij (商標) 98、ポリオキシエチレン (20) オレイルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 20)$; Brij (商標) 700、ポリオキシエチレン (100) ステアリルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{21}\text{OH}, n \sim 100)$; もしくはBrij (商標) 721、ポリオキシエチレン (21) ステアリルエーテル $(\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}, n \sim 21)$ の一つまたは複数である、本発明1057の方法。

[本発明1067]

細胞試料中の細胞が、化学固定剤で固定される、本発明1056の方法。

[本発明1068]

化学固定剤が、アルコール、アルデヒド、ケトン、四酸化オスミウム、酢酸、ピクリン酸、重金属イオン塩、およびプロピレングリコールからなる群より選択される、本発明1067の方法。

[本発明1069]

アルコールが、メタノールまたはエタノールであり; アルデヒドがグルタルアルデヒドまたはホルムアルデヒドであり; かつケトンがアセトンである、本発明1068の方法。

[本発明1070]

固定された細胞が、SUREPATH (商標)、CYTOLYT (商標)、THINPREP (商標) またはPRESERVCYT (商標) 輸送液中に存在する、本発明1067の方法。

[本発明1071]

工程 (a) に先立ち、細胞試料を受け入れる工程をさらに含む、本発明1056の方法。

[本発明1072]

標的ウイルスタンパク質が、病原性ウイルスによってコードされる、本発明1056の方法。

[本発明1073]

病原性ウイルスが、HIV、エボラウイルス、マールブルグウイルス、肝炎ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス (RSV)、単純ヘルペスウイルス (HSV)、およびヒトパピローマウイルス (HPV) からなる群より選択される、本発明1072の方法。

[本発明1074]

標的ウイルスタンパク質が、HPVのE6タンパク質またはE7タンパク質である、本発明1056の方法。

[本発明1075]

HPVが、HPV株4、6、11、20、24、28、36、48、50、16、18、31、35、30、39、45、51、52、56、59、58、33、66、68、69、26、53、73または82である、本発明1074の方法。

[本発明1076]

HPVが、HPV 26、HPV 53、HPV 66、HPV 73、HPV 82、HPV 16、HPV 18、HPV 31、HPV 35、HPV 30、HPV 39、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 56、HPV 59、HPV 58、HPV 33、HPV 68、HPV 69およびHPV 82からなる群より選択される発癌性HPV株である、本発明1074の方法。

[本発明1077]

抽出物中の標的ウイルスタンパク質の存在を検出する工程をさらに含む、本発明1056の方法。

[本発明1078]

検出する工程に、標的ウイルスタンパク質に対する捕捉剤を利用する、本発明1077の方法。

[本発明1079]

ウイルスタンパク質が、HPVのE6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、E6タンパク質に対する抗体である、本発明1078の方法。

[本発明1080]

ウイルスタンパク質が、HPVのE6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、PDZドメインを含むポリペプチドを含む、本発明1078の方法。

[本発明1081]

ウイルスタンパク質が、HPVのE6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、E6タンパク質に対する抗体とPDZドメインを含むポリペプチドとの両方を含む、本発明1078の方法。

[本発明1082]

ウイルスタンパク質が、HPVのE6タンパク質であり、かつ捕捉剤が、BPペプチドまたはA Pペプチドを含む、本発明1078の方法。

[本発明1083]

PDZドメインが、MAGI - 1の第二ドメインであるか、またはDLGもしくはTIP1のPDZドメインである、本発明1078の方法。

[本発明1084]

細胞試料が、粘液、血液または痰をさらに含む、本発明1056の方法。

[本発明1085]

細胞試料が、剥離された子宮頸部細胞を含む、本発明1056の方法。

[本発明1086]

検出する工程が、免疫アッセイを含む、本発明1077の方法。

[本発明1087]

アッセイが、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）である、本発明1086の方法。

[本発明1088]

アッセイが、免疫クロマトグラフィーアッセイまたはラテラルフロー（LF）アッセイである、本発明1086の方法。

[本発明1089]

アッセイに、モノクローナル抗体が結合した金粒子を利用する、本発明1086の方法。

[本発明1090]

アッセイに、蛍光標識されたモノクローナル抗体を利用する、本発明1086の方法。

[本発明1091]

アッセイに、化学発光粒子、有色/染色ラテックス粒子、SERSラマン粒子、またはレポーター色素を有するシリカ被覆された金核もしくは銀核を利用する、本発明1086の方法。

[本発明1092]

アッセイに、一つまたは複数のモノクローナル抗体の連続的な利用を利用する、本発明1086の方法。

[本発明1093]

検出する工程に、サイトメトリービーズアレイ（CBA）またはマルチプレックスビーズアッセイを利用する、本発明1077の方法。