

【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7月12日(2012.7.12)

【公開番号】特開2011-200236(P2011-200236A)

【公開日】平成23年10月13日(2011.10.13)

【年通号数】公開・登録公報2011-041

【出願番号】特願2011-99231(P2011-99231)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/48 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/48 B

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 37/00 1 0 2

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成24年5月28日(2012.5.28)

【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】

白血球除去マトリックスで捕捉することにより全血から白血球を分画する段階；
 網状赤血球混入を減ずるために、分画された白血球を溶液で処理する段階；
 白血球へ浸透し、RNAの安定性を増大させる塩を含むRNA保存組成物で、分画された白血球を処理する段階；および

分画された白血球を溶解して溶解物を生じさせる段階
 を含む、RNAを含む白血球溶解物を得る方法であって、
 該白血球除去マトリックスが、使用中に血液がマトリックスを通過すること、および分画された白血球を該溶液および該RNA保存組成物で処理することを可能にするよう適合された担体中に含まれ、該担体が、シリンジに合うよう適合される、方法。

【請求項2】

白血球除去マトリックスがLK4 Leukosorbフィルターである、請求項1記載の方法。

【請求項3】

溶解時、白血球がマトリックス上に含まれる、請求項1記載の方法。

【請求項4】

溶解前に、白血球がマトリックスから流し出される、請求項1記載の方法。

【請求項5】

白血球の溶解前に、マトリックスを含む白血球がある期間保存される、請求項3記載の方法。

【請求項6】

分画された白血球が、溶解溶液と接触する、請求項1記載の方法。

【請求項 7】

溶解溶液が、Triton X-100、Tween-20、SDS(sodium dodecyl sulfate)、サルコシル(sarcosyl)、またはデオキシコール酸から選択される界面活性剤を含む、請求項6記載の方法。

【請求項 8】

溶解溶液がカオトロピック剤を含む、請求項6記載の方法。

【請求項 9】

溶解溶液がリボヌクレアーゼ阻害因子、プロテアーゼまたはそれらの組合せを含む、請求項6記載の方法。

【請求項 10】

溶解物からRNAまたはRNAおよびDNAを抽出する段階をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項 11】

RNAまたはRNAおよびDNAを抽出する段階が有機抽出によって行われる、請求項10記載の方法。

【請求項 12】

塩が硫酸塩である、請求項1記載の方法。

【請求項 13】

保存組成物中の最終塩濃度が、10 g/100 mlから飽和濃度の間である、請求項1記載の方法。

【請求項 14】

塩が、20 g/100 mlから塩の飽和濃度の間の最終濃度で保存組成物中に存在する、請求項1記載の方法。

【請求項 15】

塩が、20g/100 mlから100 g/100 mlの間の最終濃度で保存組成物中に存在する、請求項1記載の方法。

【請求項 16】

RNA保存組成物が、少なくとも2つの塩を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 17】

抽出されたRNAが、RNA保存組成物で処理されなかった分画された白血球から抽出されたRNAよりも少ないDNA混入物を有する、請求項1記載の方法。

【請求項 18】

溶液がRBC溶出緩衝剤である、請求項1記載の方法。

【請求項 19】

溶液がRBC溶解溶液である、請求項1記載の方法。

【請求項 20】

溶解物中の1つまたは複数のRNAの存在または量をアッセイする段階をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項 21】

アッセイする段階が、Northernプロット、RNAase保護アッセイ、ハイブリダイゼーション反応、マイクロアレイ解析、または逆転写ポリメラーゼ連鎖反応解析を含む、請求項18記載の方法。

【請求項 22】

アッセイする段階が、cDNAアレイ、スポットオリゴヌクレオチドアレイ(spotted oligo nucleotide array)、インサイチュー合成オリゴヌクレオチドアレイの使用を含むマイクロアレイ解析を含む、請求項21記載の方法。

【請求項 23】

以下を含む白血球から総RNAを抽出するためのキット：

使用中に血液がマトリックスを通過することを可能にするよう適合され、かつシリンジに合うように適合された担体中に含まれる、白血球除去マトリックス；

白血球溶解溶液；

RBC溶解溶液および/またはRBC溶出緩衝剤；

白血球に浸透しかつ白血球中のRNAの安定性を増大させる塩を含むRNA保存組成物；

有機抽出試薬；および

RNAの溶出前に、不純物を取り除くために該マトリックスを洗浄するための固相抽出マトリックスおよび試薬。

【請求項 2 4】

白血球除去マトリックスがLK4 Leukosorbフィルターである、請求項23記載のキット。

【請求項 2 5】

全血が密閉された容器からマトリックスを通り、白血球除去血としてさらに密閉された容器の中に移動することを可能にする様式での機能に適合されるとさらに定義される、請求項23記載のキット。