



(12) **Gebrauchsmusterschrift**

(21) Aktenzeichen: **21 2013 000 295.5**
(22) Anmeldetag: **02.10.2013**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US2013/063114**
(87) PCT-Veröffentlichungstag: **13.11.2014**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2014/182330**
(47) Eintragungstag: **02.02.2016**
(45) Bekanntmachungstag im Patentblatt: **17.03.2016**

(51) Int Cl.: **B04B 3/00 (2006.01)**

(30) Unionspriorität:
US-61/820,110 06.05.2013 US

(74) Name und Wohnsitz des Vertreters:
**VOSSIUS & PARTNER Patentanwälte
Rechtsanwälte mbB, 81675 München, DE**

(73) Name und Wohnsitz des Inhabers:
**HITACHI CHEMICAL CO. AMERICA, LTD.,
Cupertino, Calif., US; HITACHI CHEMICAL
COMPANY, LTD., Tokyo, JP**

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Vorrichtungen zum Einfangen von Zielmolekülen**

(57) **Hauptanspruch:** Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:

(i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:

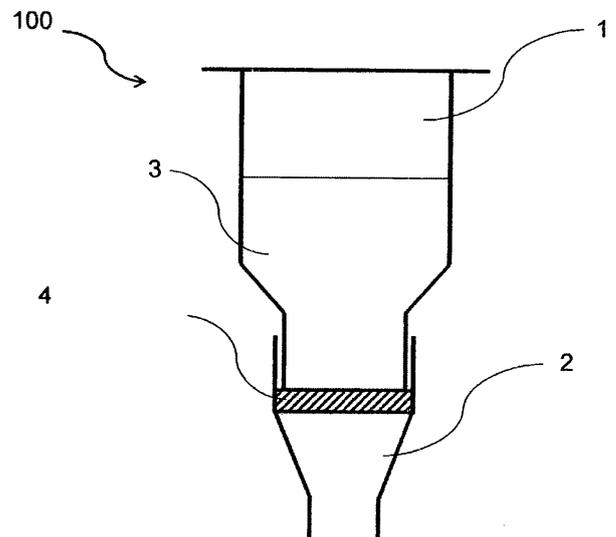
(a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;

(b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist,

wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind;

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und

wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde ist.



Beschreibung

VERWANDTE FÄLLE

[0001] Diese Anmeldung nimmt das Vorrecht der vorläufigen US-Anmeldung Nr. 61/820,110, eingereicht am 6. Mai 2013, in Anspruch, deren gesamte Offenbarung hierin durch die Bezugnahme eingeschlossen ist.

HINTERGRUND

Gebiet

[0002] Die vorliegende Offenbarung betrifft Systeme, Vorrichtungen und Verfahren für die erhöhte Effizienz des Einfangens von Agenzien von Interesse aus Fluidproben. Die Fluidproben sind in einigen Ausführungsformen biologische Fluidproben, während in anderen Ausführungsformen nicht biologische Fluidproben verwendet werden. Beispielsweise werden in mehreren Ausführungsformen Wasserproben aus der Umwelt durch die Vorrichtungen, wie sie hier offenbart werden, durchgeleitet, damit beispielsweise der Mineraliengehalt, Verschmutzungsgrade, Chemikalien- oder Toxingehalt, Vorhandensein von Pathogenen usw. bewertet wird.

Beschreibung des verwandten Fachgebiets

[0003] Es ist oft wünschenswert, bestimmte Komponenten aus einer Flüssigkeit zu extrahieren. Beispielsweise analysieren viele medizinische Tests Biomarker in einer Fluidprobe (z. B. Blut, Urin usw.), die von einem Subjekt genommen wurde. Diagnose oder Prognose können von der Identifikation eines Biomarkers oder eines biochemischen Musters abgeleitet werden, das bei gesunden nicht vorhanden ist oder sich gegenüber einer zuvor erhaltenen Probe des Subjekts verändert hat.

[0004] Häufig verdünnt die Verwendung von Körperflüssigkeiten, um einen Biomarker zu isolieren oder nachzuweisen, den Biomarker deutlich. Darüber hinaus werden die meisten Biomarker in Geweben und Körperflüssigkeiten in geringen oder sogar mäßigen Mengen hergestellt. Die Diagnose oder Prognose ist wahrscheinlich weniger genau, wenn die Verbindungen von Interesse in geringen Konzentrationen vorliegen.

ZUSAMMENFASSUNG

[0005] In mehreren Ausführungsformen werden Systeme und Verfahren für die effiziente Sammlung von Biomarkern aus Fluidproben, wie biologische Fluidproben, bereitgestellt. Beispielsweise wird in mehreren Ausführungsformen ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, bereitgestellt, umfassend (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind, (ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

[0006] In mehreren Ausführungsformen umfasst das System ferner (iii) eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse, die so konfiguriert sind, dass sie reversibel mit dem Auslass eines einzelnen zweiten Körpers wechselwirken. In einigen Ausführungsformen umfassen die Vertiefungen zur Analyse ein einzelnes Röhrchen, wie beispielsweise ein Mikrozentrifugenröhrchen. In mehreren Ausführungsformen umfassen jedoch die eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse eine Standard-6-, -12-, -48- oder -96-Vertiefungs-Mikroplatte. In einer Ausführungsform umfassen die eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse eine Standard-96-Vertiefungs-Mikroplatte.

[0007] Zusätzlich wird in mehreren Ausführungsformen ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, bereitgestellt, umfassend (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass,

einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind, wobei die Wechselwirkung das Einführen des Auslasses des ersten Körpers in den Einlass des zweiten Körpers umfasst, wobei der zweite Körper von dem ersten Körper getrennt wird, indem der Auslass des ersten Körpers aus dem Einlass des zweiten Körpers herausgezogen wird, wobei der Auslass des zweiten Körpers so dimensioniert ist, dass er in den Innendurchmesser einer Vertiefung einer 6-, 12-, 48- oder 96-Vertiefungs-Mikroplatte passt, wobei der zweite Körper einen eindeutigen Kennzeichner umfasst, der mit der Identität des Subjekts übereinstimmt; und (ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem Einlass, einem geschlossenen Ende gegenüber dem Einlass und einem inneren Hohlraum, wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

[0008] In mehreren Ausführungsformen liegt das innere Volumen des ersten Körpers im Bereich von etwa 2 bis etwa 10 mL. In mehreren Ausführungsformen liegt das innere Volumen des zweiten Körpers im Bereich von etwa 2 bis etwa 5 mL.

[0009] In mehreren Ausführungsformen umfasst die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine reibschlüssige Verbindung. In mehreren Ausführungsformen umfasst die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Luer-Lock-Verbindung. In mehreren Ausführungsformen umfasst die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Drehverbindung, bei der ein Stift an dem Auslass des zweiten Körpers in eine Nut an dem Einlass des zweiten Körpers passt. In mehreren Ausführungsformen umfasst die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Gewindeverbindung. In einigen Ausführungsformen umfasst der Einlass des zweiten Körpers ein Innengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers, das in ein Außengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt. In zusätzlichen Ausführungsformen umfasst der Einlass des zweiten Körpers ein Außengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers, das in ein Innengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt. In mehreren Ausführungsformen ist die Verbindung konfiguriert, um zu ermöglichen, dass der zweite Körper gekuppelt und später von dem ersten Körper abgekuppelt werden kann, ohne dass der zweite Körper durch das innere Volumen des ersten Körpers hindurchgehen muss.

[0010] In mehreren Ausführungsformen umfasst der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen RFID-Tag. In mehreren Ausführungsformen umfasst der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen 2-dimensionalen Strichcode. In mehreren Ausführungsformen umfasst der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen 3-dimensionalen Strichcode. In mehreren Ausführungsformen ist der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper von einer Position oberhalb des zweiten Körpers sichtbar und/oder lesbar, wenn der Auslass des zweiten Körpers in Verbindung mit Vertiefungen zur Analyse steht. In mehreren Ausführungsformen werden andere visuelle, elektronische oder magnetische eindeutige Kennzeichner für Patienten verwendet.

[0011] In mehreren Ausführungsformen weist der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes ein Volumen von etwa 50 mL auf. In mehreren Ausführungsformen weist der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes ein Volumen von etwa 100 mL auf.

[0012] In mehreren Ausführungsformen umfasst der erste Körper eine Lippe, die sich von einem Umfang des Einlasses des ersten Körpers aus erstreckt, und wobei die Lippe an einem Umfang des Einlasses des aufnehmenden Gefäßes anliegt und ermöglicht, dass das aufnehmende Gefäß die ersten und zweiten Körper umschließt, während die Entfernung der ersten und zweiten Körper aus dem aufnehmenden Gefäß ermöglicht wird. In mehreren Ausführungsformen hält die Lippe an dem ersten Körper den ersten und zweiten Körper in einer festen Position innerhalb des inneren Hohlraums des aufnehmenden Gefäßes. Vorteilhafterweise ist in mehreren Ausführungsformen die feste Position eine Position, in der der Auslass des zweiten Körpers nicht die biologische Fluidprobe kontaktiert, die aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial und in den inneren Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes geleitet wurde.

[0013] In mehreren Ausführungsformen besteht das aufnehmende Gefäß im Wesentlichen aus dem Einlass, dem geschlossenen Ende gegenüber dem Einlass und dem inneren Hohlraum (z. B. weist das aufnehmende Gefäß keine zusätzlichen Ports oder Öffnungen auf).

[0014] In mehreren Ausführungsformen wird Zentrifugation verwendet, um die biologische Fluidprobe aus dem Innenraum des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, aus dem Auslass des zweiten Körpers und in das innere Volumen des aufnehmenden Gefäßes zu leiten.

[0015] In mehreren Ausführungsformen umfasst das Filtermaterial eine Mehrzahl von Schichten aus einem oder mehr glasartigen Materialien, die so konfiguriert sind, dass sie Vesikel mit einem Durchmesser von etwa 0,6 Mikron bis etwa 1,5 Mikron Durchmesser zurückhalten.

[0016] In mehreren Ausführungsformen setzt das System keinen negativen oder positiven Druck ein, um die biologische Fluidprobe aus dem Innenraum des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, aus dem Auslass des zweiten Körpers und in das innere Volumen des aufnehmenden Gefäßes zu leiten.

[0017] Zusätzlich werden Verfahren zum Isolieren von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe bereitgestellt, wobei die Verfahren das Erhalten eines Systems, umfassend einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind, ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde, das Einbringen eines Volumens einer biologischen Fluidprobe in das innere Volumen des ersten Körpers über den Einlass des ersten Körpers, wobei der erste Körper reversibel mit dem zweiten Körper verbunden ist, das Einbringen der ersten und zweiten Körper in den inneren Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes, das Anlegen von einem oder mehr aus Gravitations- oder Zentrifugalkraft an das aufnehmende Gefäß, wodurch bewirkt wird, dass die biologische Probe aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial des zweiten Körpers, aus dem Auslass des zweiten Körpers und in den inneren Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes geleitet wird, wobei der Filter Vesikel aus der biologischen Fluidprobe einfängt, wodurch ein Vesikel aus der biologischen Fluidprobe isoliert wird, umfassen.

[0018] In mehreren Ausführungsformen umfasst das Verfahren ferner das Nachweisen der Expression eines Gens von Interesse aus der biologischen Fluidprobe, das Herausziehen der ersten und zweiten Körper aus dem aufnehmenden Gefäß; das voneinander Trennen des ersten und zweiten Körpers; das Einbringen des Auslasses des zweiten Körpers in Verbindung mit einer Vertiefung einer 96-Vertiefungs-Mikroplatte; das Einführen eines Elutionspuffers in den Einlass des zweiten Körpers, wobei der Elutionspuffer einen Puffer umfasst, der die Vesikel, die auf dem Filter des zweiten Körpers eingefangen wurden, lysiert, wodurch RNA aus dem Vesikel frei gesetzt wird; das Überführen der frei gesetzten RNA von dem Filter in die entsprechende Vertiefung der 96-Vertiefungs-Mikroplatte; und das Nachweisen der Expression des Gens von Interesse mit einem Verfahren, umfassend: (i) das Kontaktieren der RNA mit einer reversen Transkriptase, um komplementäre DNA (cDNA) zu erzeugen, und (ii) das Kontaktieren der cDNA mit Sense- und Antisense-Primern, die für das Gen von Interesse spezifisch sind, und einer DNA-Polymerase, um amplifizierte DNA zu erzeugen, wodurch die Expression des Gens von Interesse nachgewiesen wird. In zusätzlichen Ausführungsformen können auch andere Größen von Mikroplatten (oder einzelne Röhrchen oder Anordnungen von Röhrchen) verwendet werden.

[0019] Zusätzlich wird ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, bereitgestellt, umfassend (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend: (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass; (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers angebracht ist, einen eindeutigen Kennzeichner, umfassend einen patientenspezifischen RFID-Tag, aufweist und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper steht, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind; (ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers gelaufen ist.

[0020] Zusätzlich wird ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, bereitgestellt, umfassend: (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend: (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass; (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers angebracht ist, einen eindeutigen Kennzeichner, umfassend einen patientenspezifischen 2-dimensionalen Strichcode, aufweist und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper steht, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind; (ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

[0021] Zusätzlich wird ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, bereitgestellt, umfassend: (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend: (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass; (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers angebracht ist, einen eindeutigen Kennzeichner, umfassend einen patientenspezifischen 3-dimensionalen Strichcode, aufweist und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper steht, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind; (ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

[0022] Zusätzlich wird ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, bereitgestellt, umfassend: (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend: (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass; (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind, wobei die Wechselwirkung eine Wechselwirkung zwischen einem Innengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers, das in ein Außengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt, umfasst; (ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

[0023] Zusätzlich wird ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, bereitgestellt, umfassend: (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend: (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass; (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind, wobei die Wechselwirkung eine Wechselwirkung zwischen einem Außengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers, das in ein Innengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt, umfasst; (ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

[0024] In mehreren Ausführungsformen sind die reversiblen Verbindungen zwischen dem ersten und zweiten Körper so konfiguriert, dass sie die Trennung des zweiten Körpers von dem ersten Körper ermöglichen, ohne dass der zweite Körper durch das innere Volumen des ersten Körpers hindurchgeht.

[0025] In mehreren Ausführungsformen umfassen diese Systeme ferner (iii) eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse, die so konfiguriert sind, dass sie reversibel mit dem Auslass eines einzelnen zweiten Körpers wechselwirken.

[0026] In mehreren Ausführungsformen, bei denen eine Mikroplatte verwendet wird, wird ein Rahmen zwischen den zweiten Körper der Einfangvorrichtung für Vesikel angebracht, damit die Stabilität der Wechselwirkung zwischen dem zweiten Hohlkörper und der Mikroplatte verbessert wird. In mehreren Ausführungsformen wird nach dem Einbringen des zweiten Hohlkörpers in die Mikroplatte (z. B. durch den Rahmen) ein Lysepuffer zugegeben und bei 37°C 1–20 (z. B. 10) Minuten lang inkubiert, um mRNA aus den eingefangenen Exosomen frei zu setzen. In mehreren Ausführungsformen wurde der Rahmen dann auf eine Oligo(dT)-immobilisierte Platte aufgebracht und 1–10 (z. B. 5) Minuten lang bei ~2000 xg und ~4°C zentrifugiert. Die resultierende Oligo(dT)-immobilisierte Platte wurde über Nacht (z. B. 14 bis 24 Stunden lang) bei ~4°C für die Hybridisierung zwischen dem Poly(A)-Ende der mRNA und immobilisiertem Oligo(dT), wie zuvor beschrieben, gelagert. In mehreren Ausführungsformen werden Nicht-mRNA-Materialien durch Waschen entfernt und cDNA wird erzeugt, die für Real Time PCR (oder andere Analyseverfahren) verwendet werden kann. Dieser Prozess kann auch sowohl verwendet werden, wenn ein Format ohne Mikroplatte (z. B. Röhrchen oder Anordnung von Röhrchen) verwendet wird, als auch, wenn kein Mikroplattenrahmen verwendet wird. Darüber hinaus setzen zusätzliche Ausführungsformen unterschiedliche Reaktionsbedingungen und/oder -zeiten ein.

[0027] In Anbetracht der Tatsache, dass exakte Diagnose gestört (oder sogar unmöglich) sein kann, wenn eine Zielverbindung von Interesse in einer biologischen Probe in geringen Konzentrationen vorliegt, besteht ein Bedarf an Vorrichtungen und Verfahren zum Extrahieren von Biomarkern und anderen Komponenten von Interesse aus einer Fluidprobe eines Patienten, ohne die Konzentration des Zielbiomarkers unangemessen zu erniedrigen. Die Extraktion von Fluidkomponenten ist in vielen Kontexten nützlich, einschließlich, aber nicht begrenzt auf Filtration, Reinigung, Isolierung und Anreicherung.

[0028] Somit ermöglichen mehrere Ausführungsformen der Vorrichtungen und Verfahren die Extraktion von Zielkomponenten aus Flüssigkeiten. Insbesondere sind die Vorrichtungen und Verfahren, die hierin offenbart werden, zum Einfangen von Nukleinsäuren, Exosomen, Vesikeln und anderen zirkulierenden membrangebundenen, Nukleinsäure und/oder Protein enthaltenden Strukturen aus biologischen Fluiden nützlich. Jedoch, da die Vorrichtungen und Verfahren, die hierin offenbart werden, die Extraktion von organischen und nicht organischen Verbindungen erlauben, sind die Vorrichtungen und Verfahren, die hierin offenbart werden, auf Fluidproben von biologischem oder nicht biologischem Ursprung anwendbar.

[0029] Herkömmliche Verfahren der Vesikel- und Exosomextraktion sind oft mit Ultrazentrifugation verbunden, damit die Vesikel von anderen Material in einer biologischen Probe getrennt werden. Ultrazentrifugation wird durch die Verwendung von teurer und potenziell gefährlicher Ausrüstung erreicht. Darüber hinaus führt Ultrazentrifugation oft dazu, dass Proben in mehreren Röhrchen gesammelt werden. Folglich ist Ultrazentrifugation manchmal eine unpraktische oder unmögliche Technik für viele Laboratorien.

[0030] Deshalb werden hierin Vorrichtungen und Verfahren zum Einfangen von Nukleinsäuren, Exosomen, Vesikeln und anderen zirkulierenden membrangebundenen, Nukleinsäure und/oder Protein enthaltenden Strukturen, die aus Zellen in biologische Fluide frei gesetzt werden, bereitgestellt. In mehreren Ausführungsformen stellen die Vorrichtungen und Verfahren, die hierin offenbart werden, mehrere Vorteile gegenüber den traditionellen Techniken zur Isolierung von Vesikeln, wie Ultrazentrifugation, bereit. Beispielsweise fangen die Vorrichtungen und Verfahren, die hierin offenbart werden, in einigen Ausführungsformen Vesikel, Exosomen und/oder Biomarker aus Proben ein und ermöglichen vorteilhafterweise mehrfache Filtrationen der Proben durch denselben Filter. Folglich können erhöhte Mengen an Vesikelmateriale einfach gesammelt werden, indem mehrfache Probenaliquote auf eine Vorrichtung aufgebracht werden. In einigen Ausführungsformen wird die Ausbeute an Vesikel erhöht, indem das Filtrat eines Probenaliquots erneut durch die Vorrichtung geleitet wird.

[0031] In mehreren Ausführungsformen wird ein Verfahren des Isolierens von Vesikeln aus biologischem Fluid bereitgestellt, umfassend: (a) das Erhalten einer biologischen Fluidprobe, umfassend die Vesikeln; (b) das Einstellen der Salzkonzentration der Fluidprobe auf zwischen etwa 10 mM und 800 mM; (c) das Einstellen des pH-Wertes der Fluidprobe auf zwischen etwa pH 6 und pH 9; und (d) das Leiten der biologischen Fluidprobe durch ein Einfangmaterial für Vesikel, wobei das Einfangmaterial für Vesikel glasartige Materialien umfasst,

wobei die Vesikel aus der biologischen Fluidprobe an oder in dem Einfangmaterial für Vesikel eingefangen werden.

[0032] In mehreren Ausführungsformen wird ein Probenaliquot der Zentrifugation unterzogen, bevor das Probenaliquot durch das Einfangmaterial für Vesikel geleitet wird. In einigen Ausführungsformen wird der Überstand, der durch die Zentrifugation erzeugt wird, verworfen, während er in anderen Ausführungsformen ein oder mehr zusätzliche Male durch die Einfangmaterialien geleitet wird, um die Ausbeute an Vesikeln zu erhöhen. In mehreren Ausführungsformen ist die Fluidprobe Urin. In mehreren Ausführungsformen wird die Salzkonzentration auf zwischen etwa 20 mM und 600 mM eingestellt. In mehreren Ausführungsformen beruht die Salzkonzentration auf der Konzentration der einwertigen Kationen in der Probe.

[0033] In mehreren Ausführungsformen wird das Einfangmaterial für Vesikel vorbehandelt, um ein Material zu entfernen, welches das Einfangen der Vesikel verhindert. In mehreren Ausführungsformen wird Albumin durch die Vorbehandlung entfernt. In mehreren Ausführungsformen wird das Material durch ein Verfahren, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Erhitzen, saures Bad, basisches Bad und Reinigung mit Ultraschall, vorbehandelt.

[0034] In mehreren Ausführungsformen umfasst das Einstellen das Titrieren der Fluidprobe mit einer konzentrierten Salz- und Pufferlösung, um die Salzkonzentration von zwischen etwa 10 mM und 800 mM und den pH-Wert von zwischen etwa pH 6 und etwa pH 9 zu erreichen.

[0035] In mehreren Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial für Vesikel glasartige Materialien. In mehreren Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial für Vesikel eine Mehrzahl von Schichten des Materials. In einigen Ausführungsformen ist die Retentionsrate des Einfangmaterials für Vesikel größer als 50%, 75%, 90% oder 99% für Vesikel mit einem Durchmesser von etwa 0,6 Mikron bis etwa 1,5 Mikron Durchmesser. In einer Ausführungsform fängt das Einfangmaterial für Vesikel Vesikel mit einer Größe von etwa 0,7 Mikron bis etwa 1,6 Mikron Durchmesser ein. In einer Ausführungsform fängt das Einfangmaterial für Vesikel Exosomen oder andere Vesikel mit einer Größe im Bereich von etwa 0,020 bis etwa 1,0 Mikron ein.

[0036] In mehreren Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial für Vesikel eine Mehrzahl von Schichten des Materials. In mehreren Ausführungsformen werden Kombinationen von Einfangmaterialien für Vesikel verwendet. In einigen Ausführungsformen wird eine Mehrzahl von glasartigen Materialien verwendet. In mehreren Ausführungsformen umfasst die Mehrzahl von Schichten des Einfangmaterials für Vesikel mindestens eine erste Schicht und eine zweite Schicht aus Glasfaser. In einigen Ausführungsformen wird das biologische Fluid durch eine erste Schicht aus Glasfaser geleitet, um Material aus der biologischen Probe einzufangen, das etwa 1,6 Mikron oder größer im Durchmesser ist. In einigen Ausführungsformen wird das biologische Fluid durch eine zweite Schicht aus Glasfaser geleitet, um Vesikel mit einer minimalen Größe von etwa 0,6 Mikron bis etwa 0,8 Mikron Durchmesser und mit einer maximalen Größe von weniger als 1,6 Mikron einzufangen. In mehreren Ausführungsformen werden Kombinationen von glasartigen und nicht glasartigen Materialien verwendet. In einer Ausführungsform wird ein nicht glasartiges Material, umfassend Nitrocellulose, in Kombination mit einem glasartigen Material verwendet.

[0037] In mehreren Ausführungsformen wird das Einfangmaterial für Vesikel modifiziert, damit es auf das Profil der Vesikel, die eingefangen werden, zugeschnitten wird. In einer Ausführungsform wird das Zeta-Potential des Materials als eine Grundlage für die Modifikation (z. B. elektrostatische Aufladung) des Materials verwendet. In mehreren Ausführungsformen erfordert das Material (auf der Grundlage seines Zeta-Potentials) keine Modifikation.

[0038] In mehreren Ausführungsformen umfassen die Verfahren, die hierin offenbart werden, ferner das Eluieren der Vesikel aus dem Einfangmaterial für Vesikel. In einigen Ausführungsformen ist das Einfangmaterial für Vesikel so optimiert, dass es die anziehende Natur des Einfangmaterials für Vesikel und die Fähigkeit des Einfangmaterials für Vesikel, eingefangene Vesikel frei zu setzen, im Gleichgewicht hält. In einigen Ausführungsformen werden Vesikel aus dem Einfangmaterial für Vesikel eluiert, indem ein chaotropes Reagens durch das Einfangmaterial für Vesikel geleitet wird. In einigen Ausführungsformen werden Vesikel aus dem Einfangmaterial für Vesikel eluiert, indem ein Lysepuffer durch das Einfangmaterial für Vesikel geleitet wird.

[0039] In mehreren Ausführungsformen ist die Einfangvorrichtung für Vesikel mit einer Vakuumquelle verbunden, damit das biologische Fluid von dem Probenbeladungsbereich durch das Einfangmaterial für Vesikel und in den Proben aufnehmenden Bereich geleitet wird. In einer Ausführungsform werden die Durchleitungen durch die Anwendung von Vakuumdruck auf die Vorrichtung vollbracht. In mehreren Ausführungsformen kann die

Einfangvorrichtung für Vesikel positiven Druck aufnehmen, damit das biologische Fluid von dem Probenbeladungsbereich durch das Einfangmaterial für Vesikel und in den Proben aufnehmenden Bereich geleitet wird. In einer Ausführungsform werden die Durchleitungen durch die Anwendung von positivem Druck auf die Vorrichtung vollbracht. In mehreren Ausführungsformen kann die Vorrichtung in eine Zentrifuge platziert werden, damit das biologische Fluid von dem Probenbeladungsbereich durch das Einfangmaterial für Vesikel und in den Proben aufnehmenden Bereich geleitet wird. In einer Ausführungsform werden die Durchleitungen durch Zentrifugation der Vorrichtung bei niedriger Geschwindigkeit vollbracht. In einigen Ausführungsformen wird die Durchleitung des biologischen Fluids in den Proben aufnehmenden Bereich durch Materialien vom Typ mit Dochtwirkung erreicht. In mehreren Ausführungsformen ist die Einfangvorrichtung für Vesikel in einem Mikroplattenformat konfiguriert.

[0040] Es wird hierin auch ein Verfahren zum Isolieren eines Biomarkers bereitgestellt, umfassend das Isolieren mindestens eines Biomarkers aus einem biologischen Fluid, indem das biologische Fluid durch ein Einfangmaterial für Vesikel geleitet wird, Nicht-Vesikel-Material von dem Einfangmaterial für Vesikel entfernt wird und die Vesikel in oder an dem Einfangmaterial für Vesikel mit einem Lysepuffer lysiert werden, wodurch ein Biomarker aus den Vesikeln isoliert wird.

[0041] In einigen Ausführungsformen wird der Biomarker aus der Gruppe, bestehend aus RNA, DNA, Protein, Exosomen, Vesikeln, anderen zirkulierenden membrangebundenen, Nukleinsäure und/oder Protein enthaltenden Strukturen und Kohlenhydrat, ausgewählt. In mehreren Ausführungsformen ist die RNA von einem Typ, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus mRNA, miRNA, rRNA, tRNA und vRNA.

[0042] Einige Ausführungsformen stellen eine Vorrichtung zur Sammlung von Vesikeln aus einem biologischen Fluid bereit, wobei die Vorrichtung (1) mindestens einen Probenbeladungsbereich; (2) mindestens ein entsprechendes Einfangmaterial für Vesikel und (3) mindestens einen entsprechenden Proben aufnehmenden Bereich umfasst, wobei die Durchleitung des biologischen Fluids von dem Probenbeladungsbereich durch das Einfangmaterial für Vesikel und in den Proben aufnehmenden Bereich zum Einfangen von Vesikeln in dem biologischen Fluid an oder in dem Einfangmaterial für Vesikel führt. In einigen Ausführungsformen, wobei das Einfangmaterial für Vesikel glasartige Materialien umfasst, die eine Struktur aufweisen, die im atomaren Maßstab ungeordnet oder „amorph“ ist, wie Kunststoff oder Glas. Glasartige Materialien schließen Glaskügelchen oder -fasern, Siliciumdioxidkügelchen (oder eine andere Konfiguration), Nitrocellulose, Nylon, Polyvinylidenfluorid (PVDF) oder andere ähnliche Polymere, Metall- oder Nano-Metallfasern, Polystyrol, Ethylvinylacetat oder andere Copolymere, natürliche Fasern (z. B. Seide), Alginatfaser oder Kombinationen davon ein, sind aber nicht darauf begrenzt. In bestimmten Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial für Vesikel gegebenenfalls eine Mehrzahl von Schichten des Einfangmaterials für Vesikel. In anderen Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial für Vesikel ferner Nitrocellulose. In einigen Ausführungsformen fängt das Einfangmaterial für Vesikel Exosomen mit einer Größe im Bereich von etwa 50 bis etwa 100 Nanometern ein.

[0043] Einige Ausführungsformen stellen ein Verfahren zum Isolieren von Vesikeln aus einem biologischen Fluid bereit, umfassend (1) das Erhalten einer biologischen Probe, umfassend Vesikel; (2) das Laden mindestens eines Teils der biologischen Probe in einen Probenbeladungsbereich einer Einfangvorrichtung für Vesikel; (3) das Durchleiten der biologischen Probe von dem Probenbeladungsbereich durch ein Einfangmaterial für Vesikel in die Einfangvorrichtung für Vesikel; und (4) das Durchleiten der biologischen Probe von dem Einfangmaterial für Vesikel in einen Proben aufnehmenden Bereich, wobei die Durchleitungen der biologischen Probe zum Einfangen der Vesikel in dem biologischen Fluid an oder in dem Einfangmaterial für Vesikel führen. In einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren ferner das Eluieren der Vesikel aus dem Einfangmaterial für Vesikel. In einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren ferner das Einfangen, Anreichern und/oder Kondensieren von Vesikeln, umfassend RNA; das Entfernen von Nicht-Vesikel-Material aus der Vorrichtung; und das Lysieren der Vesikel in oder an dem Einfangmaterial für Vesikel mit einem Lysepuffer, wodurch die mit den Vesikeln verbundene RNA von den Vesikeln isoliert wird.

[0044] Die Verfahren, die vorstehend zusammengefasst und nachstehend ausführlicher dargestellt werden, beschreiben bestimmte Tätigkeiten, die von einem Praktiker vorgenommen werden; jedoch versteht es sich, dass sie auch die Anweisung dieser Tätigkeiten durch einen Dritten einschließen können. Also schließen Tätigkeiten, wie „Verabreichung eines Bluttests“, „Anweisen der Verabreichung eines Bluttests“ ein.

KURZE BESCHREIBUNG DER FIGUREN

[0045] Fig. 1 ist eine Querschnittsansicht einer Ausführungsform einer Einfangvorrichtung, wie sie hierin offenbart wird.

[0046] Fig. 2 ist eine Querschnittsansicht einer Ausführungsform eines ersten Hohlkörpers, wie er hierin offenbart wird.

[0047] Fig. 3 ist eine Querschnittsansicht einer Ausführungsform eines zweiten Hohlkörpers, wie er hierin offenbart wird.

[0048] Fig. 4 ist eine Querschnittsansicht einer zusätzlichen Ausführungsform eines zweiten Hohlkörpers, wie er hierin offenbart wird.

[0049] Fig. 5 ist eine Querschnittsansicht eines Einfangsystems für Mikrovesikel, wie es hierin offenbart wird.

[0050] Fig. 6 stellt Daten dar, die mit der Effizienz des Einfangens von Exosomen nach dem Einstellen von Salz und pH von Urinproben in Verbindung stehen.

[0051] 4,5 mL des Urin-Überstands von den Subjekten Nr. 1 bis Nr. 4 wurden mit unterschiedlichen Volumina von konzentrierter Pufferlösung vor der Probenfiltration gemischt und verarbeitet. Die Pufferlösung verbesserte die Empfindlichkeit des Assays bei Subjekt Nr. 1 in großem Maße (angezeigt durch die Pfeile), störte aber nicht die Ergebnisse der anderen Subjekte.

[0052] Fig. 7 stellt Daten dar, die mit der Wirksamkeit des Einfangens von Exosomen mit den Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, im Vergleich zur Isolierung auf der Basis von Ultrazentrifugation in Verbindung stehen.

[0053] 0,1 bis 10 mL Urinproben wurden mit diesem Verfahren (o) oder dem Standardprotokoll (EMV-Sammlung durch Ultrazentrifugation, gefolgt von demselben Protokoll der mRNA-Isolierung und RT-qPCR) (□) (N = 2) verarbeitet. Beide Verfahren zeigten große Linearität und vergleichbare Empfindlichkeit.

[0054] Die Fig. 8-1 und Fig. 8-2 stellen Daten dar, die mit der Abweichung innerhalb des Assays, wenn die Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, verwendet werden, um Exosomen einzufangen, im Vergleich zur Isolierung auf der Basis von Ultrazentrifugation in Verbindung stehen.

[0055] 10 mL jeweils von 8 Urin-Aliquoten wurden mit diesem Verfahren oder dem Standard-Protokoll (EMV-Sammlung durch Ultrazentrifugation, gefolgt von demselben Protokoll der mRNA-Isolierung und RT-qPCR) verarbeitet. Unser Verfahren zeigte ähnliche Ct-Werte wie das Standardverfahren, jedoch bei viel geringerer Variabilität innerhalb des Assays.

[0056] Fig. 9 stellt den Vergleich eines RNA-Profiles, das nach dem Einfangen von Exosomen unter Verwendung der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, nachgewiesen wurde, im Vergleich zur Isolierung auf der Basis von Ultrazentrifugation dar.

[0057] Fig. 10A stellt Daten, die mit dem ähnlichen RNA-Profil in Verbindung stehen, das aus einer 12-Std.-Urinprobe nachgewiesen wurde, wenn sie nach dem Einfangen der Exosomen unter Verwendung der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, analysiert werden, im Vergleich zur Isolierung auf der Basis von Ultrazentrifugation dar.

[0058] Fig. 10B stellt Daten, die mit der Konsistenz des RNA-Nachweises im Verlauf eines Zeitraums von zwei Wochen in Verbindung stehen, wenn Exosomen unter Verwendung der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, erneut eingefangen werden.

[0059] 12-Stunden-Urin (20:00 bis 8:00 am nächsten Tag) wurde von einem gesunden Subjekt an Tag 0, 1, 8 und 15 gesammelt und analysiert (N = 3). Wie vorstehend gezeigt, wurden auf Nieren bezogene Gene erfolgreich nachgewiesen und ihre stabilen Expressionen im Verlauf des 2-wöchigen Untersuchungszeitraums bestätigt.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG

Allgemeines

[0060] Auf Grund der raschen Geschwindigkeit des Abbaus von Nukleinsäuren in der extrazellulären Umgebung legt herkömmliches Verständnis nahe, dass viele Gewebe nicht in der Lage sind, Nukleinsäure bereit-

zustellen, die als ein diagnostisches Ziel geeignet ist, da sich die Nukleinsäuren zersetzen, bevor sie als ein Templat für den Nachweis verwendet werden konnten. Jedoch ist extrazelluläre RNA (ebenso wie andere Biomarker, die hierin offenbart werden) oft mit einer oder mehr unterschiedlichen Arten von Membranteilchen (mit einer Größe im Bereich von 50–80 nm), Exosomen (mit einer Größe im Bereich von 50–100 nm), Exosomartigen Vesikeln (mit einer Größe im Bereich von 20–50 nm) und Mikrovesikeln (mit einer Größe im Bereich von 100–1000 nm) verbunden. Andere Vesikelarten können auch eingefangen werden, einschließlich, aber nicht begrenzt auf Nanovesikel, Vesikel, Dexosomen, Bläschen, Protasomen, Mikroteilchen, intraluminale Vesikel, endosomal-artige Vesikel oder exozytisierte Vesikel. Wie hierin verwendet, werden die Begriffe „Exosomen“ und „Vesikel“ in Übereinstimmung mit ihren jeweiligen gewöhnlichen Bedeutungen auf diesem Gebiet verwendet und sollen auch so gelesen werden, dass sie jedes abgestoßene membrangebundene Teilchen einschließen, das sich von entweder der Plasmamembran oder einer inneren Membran ableitet. Der Klarheit wegen sollen die Begriffe, die verschiedene Arten von Vesikeln beschreiben, sofern nicht ausdrücklich anders angegeben, allgemein als Vesikel oder Exosomen bezeichnet werden. Exosomen können auch von Zellen abgeleitete Strukturen einschließen, die von einer Lipiddoppelschichtmembran begrenzt werden, die aus sowohl Abtrennung durch herniatisierende Ausstülpung (z. B. Bläschenbildung) und Einschließen von Teilen der Plasmamembran als auch aus dem Export beliebiger intrazellulärer, von Membran begrenzter vesikulärer Struktur, die verschiedene, mit Membran verbundene Proteine mit Ursprung im Tumor enthalten, hervorgehen, einschließlich oberflächengebundener Moleküle, die sich aus der Wirtszirkulation ableiten, die selektiv an die vom Tumor abgeleiteten Proteine zusammen mit Molekülen, die im Exosomlumen enthalten sind, binden, einschließlich, aber nicht begrenzt auf vom Tumor abgeleitete MikroRNAs oder intrazelluläre Proteine. Exosomen können auch Membranfragmente einschließen. Zirkulierende, vom Tumor abgeleitete Exosomen (circulating tumor-derived exosomes: CTEs), wie sie hierin referenziert werden, sind Exosomen, die aus Tumorzellen in Zirkulation oder Körperflüssigkeiten abgestoßen werden. CTEs weisen, wie bei ursprungszellspezifischen Exosomen, typischerweise eindeutige Biomarker auf, die ihre Isolierung aus Körperflüssigkeiten in einer in hohem Maße spezifischen Weise erlauben. Wie mit mehreren Ausführungsformen, die hierin offenbart werden, erreicht, ermöglicht die selektive Isolierung jeder solchen Art von Vesikeln die Isolierung und Analyse ihrer RNA (wie mRNA, MikroRNA und siRNA), was bei Diagnose oder Prognose zahlreicher Krankheiten nützlich sein kann. Somit können Exosomen und Mikrovesikel (EMV) Biomarker für Krankheiten bereitstellen (einschließlich, aber nicht begrenzt auf die Isolierung von Vesikeln aus Urin zur Bewertung von Nierenkrankheiten). Zielverbindungen, die unter Verwendung der Vorrichtungen und Verfahren, die hierin offenbart werden, extrahiert werden können, schließen Protein, Lipide, Antikörper, Vitamine, Mineralien, Steroide, Hormone, Cholesterol, Aminosäuren, Vesikel, Exosomen und Nukleinsäuren ein.

[0061] In mehreren Ausführungsformen werden biologische Fluidproben verarbeitet. Wie hierin verwendet, soll einer „Körperfluid“ ihre gewöhnliche Bedeutung gegeben werden und soll sich auch auf eine Probe eines Fluids, die aus dem Körper des Subjekts gesammelt wurde, beziehen, einschließlich, aber nicht begrenzt auf beispielsweise Blut, Plasma, Serum, Urin, Sputum, Spinalfluid, Pleuralfluid, Nippel-Aspirate, Lymphfluid, Fluid aus den Atemwegen, den Darm- und Urogenital-Trakten, Tränenfluid, Speichel, Brustmilch, Fluid aus dem lymphatischen System, Sperma, Zerebrospinalfluid, Intraorgansystemfluid, Aszitesfluid, Tumorzystenfluid, Fruchtfliuid und Kombinationen davon.

[0062] In mehreren Ausführungsformen wird eine biologische Fluidprobe verarbeitet, indem ein System verwendet wird, das so konfiguriert ist, dass es ein Ziel von Interesse aus dem Fluid einfängt. Allgemein gesprochen umfassen mehrere Ausführungsformen des Systems einen ersten Fluidabschnitt mit einem ersten Volumen, wobei der erste Abschnitt so konfiguriert ist, dass er reversibel mit einem zweiten Fluidabschnitt, umfassend ein Einfangmaterial für Agenzien, verbunden ist, wobei sowohl der erste als auch der zweite Abschnitt so konfiguriert sind, dass sie in ein äußeres Gehäuse passen. In mehreren Ausführungsformen dient das äußere Gehäuse dazu, ein Eluat (z. B. die biologische Probe, aus dem das Ziel von Interesse abgereichert wurde) aufzunehmen.

[0063] In mehreren Ausführungsformen ist das System besonders dahin gehend von Vorteil, dass es ein hohes Ausmaß an Konzentration der Agenzien von Interesse erlaubt, die mit niedrigen Konzentrationen in einer Fluidprobe vorhanden sind.

[0064] Ein Gesichtspunkt der vorliegenden Offenbarung betrifft Vorrichtungen und Verfahren für die erhöhte Effizienz des Einfangens von Exosomen, Vesikeln und anderen zirkulierenden membrangebundenen, Nukleinsäure und/oder Protein enthaltenden Strukturen aus biologischen Fluiden. Diese Vorrichtungen und Verfahren können in vorteilhafter Weise selbst dann eingesetzt werden, wenn die einzelnen Proben verschiedenartige Eigenschaften haben. Die eingefangenen Exosomen, Vesikel und anderen zirkulierenden membrangebundenen, Nukleinsäure und/oder Protein enthaltenden Strukturen können eine Auswahl von unterschiedlichen spe-

zifischen Biomarkern enthalten, die in einer Auswahl von diagnostischen, prognostischen und therapeutischen und anderen medizin-bezogenen Verfahren und Verwendungen eingesetzt werden können.

[0065] Fig. 1 stellt eine Ausführungsform einer Einfangvorrichtung **100** dar. Die Ausführungsform der Einfangvorrichtung **100**, die Fig. 1 dargestellt ist, umfasst einen ersten Hohlkörper **1** in funktioneller Verbindung mit einem zweiten Hohlkörper **2**. Der „funktionellen Verbindung“ soll ihre gewöhnliche Bedeutung gegeben werden und soll sich auch auf die zwei Hohlkörper beziehen, die auf eine solche Weise gekuppelt sind, dass es möglich ist, eine angestrebte Verwendung der Vorrichtung durchzuführen. Direkte und indirekte Verbindungen sind innerhalb des Umfangs der Bedeutung von „funktioneller Verbindung“.

[0066] In mehreren Ausführungsformen wird eine Fluidprobe **3** in den ersten Hohlkörper **1** geladen und in den zweiten Hohlkörper **2** geleitet. In mehreren Ausführungsformen wird die Fluidprobe **3** durch ein Einfangmaterial **4** geleitet. Fluidprobe **3** kann eine Zielkomponente enthalten. In einigen Ausführungsformen hält, wenn die Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4** geleitet wird, das Einfangmaterial **4** mindestens etwas von der Zielkomponente, die in Fluidprobe **3** enthalten ist, zurück. In einigen Ausführungsformen umfasst eine Zielkomponente mindestens ein Exosom, auch wenn andere Komponenten, deren Isolierung oder Reinigung wünschenswert ist, auch als Zielkomponenten angesehen werden können.

[0067] In einigen Ausführungsformen befindet sich das Einfangmaterial **4** innerhalb des zweiten Hohlkörpers **2**. In mehreren Ausführungsformen wird, nachdem die Fluidprobe **3** durch Einfangmaterial **4** geleitet wurde, der zweite Hohlkörper **2** von dem ersten Hohlkörper **1** entfernt, und der zweite Hohlkörper **2** wird dann verarbeitet, um die Zielkomponenten, die im Einfangmaterial **4** zurückgehalten wurden, wiederzugewinnen. In mindestens einer Ausführungsform werden Exosomen, die vom Einfangmaterial **4** zurückgehalten wurden, nachfolgend aus dem Einfangmaterial **4** gewonnen, indem eine kleine Menge an Flüssigkeit (z. B. ein Lysepuffer) durch das Einfangmaterial **4** geleitet wird. In einigen Ausführungsformen wird gegebenenfalls eine andere Lösung (z. B. ein Waschpuffer) vor und/oder nach der Anwendung der Flüssigkeit, die verwendet wird, um die zurückgehaltenen Exosomen zu gewinnen, durch das Einfangmaterial **4** geleitet.

[0068] In einigen Ausführungsformen treibt die Gravitationskraft den Durchgang der Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4** an. In einigen Ausführungsformen treibt ein positiver Druck die Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4**. In einigen Ausführungsformen treibt ein negativer Druck die Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4**. In mehreren Ausführungsformen wird kein negativer oder positiver Druck verwendet. In einigen Ausführungsformen treibt die Zentrifugalkraft die Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4**. In einigen Ausführungsformen treibt Material vom Typ mit Dochtwirkung die Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4**. In einigen Ausführungsformen treibt die Kapillarwirkung die Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4**.

[0069] Fluidprobe **3** kann eine beliebige Flüssigkeit sein, was Körperfluids einschließt. „Körperfluid“ soll seine gewöhnliche Bedeutung gegeben werden und soll sich auch auf eine Probe eines Fluids beziehen, das von irgendwo im Körper des Subjekts isoliert wurde, einschließlich, aber nicht begrenzt auf beispielsweise Blut, Plasma, Serum, Urin, Sputum, Spinalfluid, Pleuralfuid, Nippel-Aspirate, Lymphfluid, Fluid aus den Atemwegen, den Darm- und Urogenital-Trakten, Tränenfluid, Speichel, Brustmilch, Fluid aus dem lymphatischen System, Sperma, Zerebrospinalfluid, Intraorgansystemfluid, Aszitesfluid, Tumorzystenfluid, Fruchtfuid und Kombinationen davon.

[0070] Fig. 2 stellt eine Ausführungsform des ersten Hohlkörpers **1** dar. In mehreren Ausführungsformen weist der erste Hohlkörper **1** eine Einlassöffnung **101**, eine Auslassöffnung **102**, eine äußere Oberfläche **130** und eine innere Oberfläche **140** auf. In einigen Ausführungsformen ist die Einlassöffnung **101** eine kreisförmige Öffnung mit einem Einlassdurchmesser **111**. In einigen Ausführungsformen ist die Auslassöffnung **102** eine kreisförmige Öffnung mit einem Auslassdurchmesser **112**. In mehreren Ausführungsformen sind Einlassöffnung **101** und Auslassöffnung **102** kreisförmige Öffnungen, die axial zueinander ausgerichtet sind, wobei der Auslassdurchmesser **112** kleiner als der Einlassdurchmesser **111** ist.

[0071] In einigen Ausführungsformen umfasst der erste Hohlkörper **1** einen oberen Bereich **132**, einen Zwischenbereich **134** und einen Endbereich **136**. In einigen Ausführungsformen sind der obere Bereich **132** und Endbereich **136** zylindrisch oder im Wesentlichen zylindrisch und ist der Zwischenbereich **134** verjüngt (z. B. konisch). In einigen Ausführungsformen ist die Verjüngung des Zwischenbereichs **134** so konfiguriert, dass sie den Durchgang der Fluidprobe **3** durch die Auslassöffnung **102** erleichtert. In einigen Ausführungsformen schließt der erste Hohlkörper **1** einen Kragen **105** ein, der sich über die äußere Oberfläche **130** eines angrenzenden Abschnitts des ersten Hohlkörpers **1** hinaus erstreckt. In einigen Ausführungsformen ist der Kragen

105 so konfiguriert, dass er den ersten Hohlkörper **1** trägt, wenn der erste Hohlkörper **1** in ein Lagergestell oder ein aufnehmendes Gefäß (nicht gezeigt) eingefügt wird.

[0072] Fig. 3 stellt eine Ausführungsform des zweiten Hohlkörpers **2** dar. In mehreren Ausführungsformen weist der zweite Hohlkörper **2** eine Einlassöffnung **201**, eine Auslassöffnung **202**, eine äußere Oberfläche **230** und eine innere Oberfläche **240** auf. In einigen Ausführungsformen ist die Einlassöffnung **201** eine kreisförmige Öffnung mit einem Einlassdurchmesser **211**. In einigen Ausführungsformen ist die Auslassöffnung **202** eine kreisförmige Öffnung mit einem Auslassdurchmesser **212**. In mehreren Ausführungsformen sind Einlassöffnung **201** und Auslassöffnung **202** kreisförmige Öffnungen, die axial zueinander ausgerichtet sind, wobei der Auslassdurchmesser **212** kleiner als der Einlassdurchmesser **211** ist.

[0073] In mehreren Ausführungsformen sind der erste Hohlkörper **1** und zweite Hohlkörper **2** aus Material gemacht, das eine niedrige Bindungsaffinität für Nukleinsäuren aufweist. Geeignete Materialien schließen unter anderem Kunststoffe, wie Polypropylen, Polystyrol und Polyethylen, ein, sind aber nicht darauf begrenzt. In einigen Ausführungsformen sind der erste Hohlkörper **1** und zweite Hohlkörper **2** aus Metall oder Verbundmaterial gemacht. In einigen Ausführungsformen sind die inneren Oberflächen **140**, **240** mit einer oder mehr Substanzen beschichtet, welche die Bindungsaffinität der Oberflächen für Nukleinsäuren erniedrigen.

[0074] In einigen Ausführungsformen umfasst der zweite Hohlkörper **2** einen oberen Bereich **232**, einen Zwischenbereich **234** und einen Endbereich **236**. In einigen Ausführungsformen ist der Endbereich **236** verjüngt. In mindestens einer Ausführungsform ist die Verjüngung des Endbereichs **236** so konfiguriert, dass sie den Durchgang der Fluidprobe **3** aus dem zweiten Hohlkörper **2** erleichtert.

[0075] In mehreren Ausführungsformen weist der zweite Hohlkörper **2** eine Lasche **260** auf, die sich von der äußeren Oberfläche **230** aus erstreckt. In einigen Ausführungsformen ist die Lasche **260** im oberen Bereich **232** angebracht. Die Lasche **260** hat eine obere Oberfläche **262**. In einigen Ausführungsformen ist die obere Oberfläche **262** im Wesentlichen koplanar mit der Einlassöffnung **201**. In mehreren Ausführungsformen ist die obere Oberfläche **262** ausreichend dimensioniert, so dass sie als eine Plattform zum Etikettieren des zweiten Hohlkörpers **2** dient. In mindestens einer Ausführungsform ist die obere Oberfläche **262** zwischen etwa 1 mm bis etwa 5 mm breit und etwa 1 mm bis etwa 5 mm lang. In einigen Ausführungsformen wird ein Etikett **264** an der oberen Oberfläche **262** angebracht. In mehreren Ausführungsformen wird die obere Oberfläche **262** mit beliebigen geeigneten Mitteln, einschließlich Tinte oder Ätzen, markiert. In mindestens einer Ausführungsform gibt das Etikett **264** oder die Markierung der oberen Oberfläche **262** die Identität (z. B. der Quellenpatient) der Fluidprobe **3**, die durch den zweiten Hohlkörper **2** geleitet wurde, an. In einigen Ausführungsformen zeigt das Etikett **264** oder die Markierung der oberen Oberfläche **262** einen Strichcode (z. B. einen 2D- oder 3D-Strichcode). In mehreren Ausführungsformen können RFID-Tags oder andere Kennzeichner verwendet werden, um die Identität des Patienten, von dem die Probe erhalten wurde, anzugeben.

[0076] In mehreren Ausführungsformen ist der obere Bereich **232** des zweiten Hohlkörpers **2** so konfiguriert, dass er funktionell mit dem Endbereich **136** des ersten Hohlkörpers **1** in Verbindung steht. Der erste Hohlkörper **1** und zweite Körper **2** können auf eine beliebige Anzahl von Arten funktionell in Verbindung stehen, einschließlich, aber nicht begrenzt auf ineinander passende Schraubgewinde, eine Presspassung und eine Klemmverbindung. In einigen Ausführungsformen ist der Endbereich **136** des ersten Hohlkörpers **1** so konfiguriert, dass er ins Innere des oberen Bereichs **232** des zweiten Hohlkörpers **2** passt. In einigen Ausführungsformen ist der obere Bereich **232** des zweiten Hohlkörpers **2** so konfiguriert, dass er ins Innere des Endbereichs **136** des ersten Hohlkörpers **1** passt. In einigen Ausführungsformen ist mindestens ein Teil der äußeren Oberfläche **130** von mindestens einem Teil einer inneren Oberfläche **240** umgeben. In einigen Ausführungsformen ist mindestens ein Teil der äußeren Oberfläche **230** von mindestens einem Teil einer inneren Oberfläche **140** umgeben. In einigen Ausführungsformen ist der Auslassdurchmesser **112** kleiner als der Einlassdurchmesser **211**.

[0077] In einigen Ausführungsformen weist der erste Hohlkörper **1** mindestens einen Stift **150** auf, der aus der äußeren Oberfläche **130** des Endbereichs **136** hervorsticht, und der zweite Hohlkörper **2** weist mindestens einen Kanal **250** im oberen Bereich **232** des zweiten Hohlkörpers **2** auf (siehe z. B. Fig. 3). In mindestens einer Ausführungsform ist der Stift **150** so konfiguriert, dass er reversibel mit dem Kanal **250** zusammenwirkt. Der Kanal **250** weist einen longitudinalen Teil **252**, einen transversalen Teil **254** und einen rückläufigen Teil **256** auf. In einigen Ausführungsformen wird der erste Hohlkörper **1** mit dem zweiten Hohlkörper **2** gekuppelt, indem der Stift **150** in den longitudinalen Teil **252** von Kanal **250** gleitet. Der erste Hohlkörper **1** und zweite Hohlkörper **2** sind so positioniert, dass es dem Stift **150** ermöglicht wird, den transversalen Teil **254** von Kanal **250** zu erreichen. Der zweite Hohlkörper **2** wird dann gedreht, um den Stift **150** in den transversalen Teil **254** zu bringen, bis der Stift **150** mit dem rückläufigen Teil **256** von Kanal **250** in einer Linie steht. Die zusammendrückende

Kraft zwischen dem ersten Hohlkörper **1** und zweiten Hohlkörper **2** wird dann verringert, was es dem Stift **150** ermöglicht, in den rückläufigen Teil **256** zu gleiten, wodurch eine Kupplung zwischen dem ersten Hohlkörper **1** und zweiten Hohlkörper **2** gesichert wird. In einigen Ausführungsformen wird der zweite Hohlkörper **2** von dem ersten Hohlkörper **1** getrennt, indem die zwei Hohlkörper zusammengedrückt werden und es dem Stift **150** ermöglicht wird, auf demselben Weg aus Kanal **250** zu gleiten.

[0078] In einigen Ausführungsformen umfasst der mindestens eine Kanal **250** im oberen Bereich **232** des zweiten Hohlkörpers **2** einen longitudinalen Teil **252** und einen transversalen Teil **254**. In einigen Ausführungsformen wird der erste Hohlkörper **1** mit dem zweiten Hohlkörper **2** gekuppelt, indem der Stift **150** in den longitudinalen Teil **252** von Kanal **250** gleitet. Der erste Hohlkörper **1** und zweite Hohlkörper **2** sind so positioniert, dass es dem Stift **150** ermöglicht wird, den transversalen Teil **254** von Kanal **250** zu erreichen. Der zweite Hohlkörper **2** wird dann gedreht, um den Stift **150** in den transversalen Teil **254** zu bringen, wodurch eine Kupplung zwischen dem ersten Hohlkörper **1** und zweiten Hohlkörper **2** gesichert wird. Nach der Verarbeitung wird der zweite Hohlkörper **2** von dem ersten Hohlkörper **1** entfernt, indem die zwei Hohlkörper in die entgegengesetzte Richtung gedreht werden und es dem Stift **150** ermöglicht wird, auf demselben Weg aus Kanal **250** zu gleiten, wodurch ermöglicht wird, dass sich die ersten und zweiten Hohlkörper entkuppeln. In mehreren Ausführungsformen sind der erste und zweite Hohlkörper so konfiguriert, dass sie reversibel auf eine Weise wechselwirken, die es ermöglicht, dass ihre Entkuppelung eintritt, ohne zu erfordern, dass der zweite Hohlkörper erneut durch das Innere des ersten Hohlkörpers geleitet wird. Das heißt, bestimmte Vorrichtungen können die Wechselwirkung der ersten und zweiten Körper auf Grund der Tatsache, dass der zweite Hohlkörper in und teilweise durch den ersten Hohlkörper eingeschoben wird (z. B. ist der zweite Körper im Inneren des ersten Körpers untergebracht), ermöglichen. Während dies einige Vorteile bereitstellt (z. B. die Sicherheit der Wechselwirkung während der Zentrifugation oder anderer Handhabung), erfordert dies dann, dass der zweite Hohlkörper seinen Weg (z. B. einen Weg nach oben) durch den ersten Hohlkörper zurücknimmt, um die zwei zu entkuppeln. Dies stellt ein potenzielles Problem im Hinblick auf Kreuz-Kontamination dar. Vorteilhafterweise kann in mehreren Ausführungsformen der zweite Hohlkörper der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, von dem ersten Hohlkörper abgekuppelt werden, ohne zu erfordern, dass der zweite Hohlkörper durch den ersten Hohlkörper geleitet wird. In mehreren Ausführungsformen verringert dies in großem Maße das Risiko für Kontamination des zweiten Hohlkörpers, aber die reversible Wechselwirkung zwischen den zwei Körpern reicht aus, um eine sichere Wechselwirkung während der Zentrifugation (oder anderer Handhabung) aufrecht zu erhalten.

[0079] In mehreren Ausführungsformen ist das Einfangmaterial **4** aus beliebigem geeigneten Material gemacht, das die Zielkomponente, die aus der Fluidprobe **3** extrahiert wird, zurückhalten kann. In mehreren Ausführungsformen ist das Material, das für das Einfangmaterial **4** verwendet wird, so optimiert, dass es die anziehende Natur des Materials für die Zielkomponente und die Fähigkeit des Materials, die Zielkomponente unter passenden Bedingungen frei zu setzen, im Gleichgewicht hält.

[0080] In einigen Ausführungsformen wird das Einfangmaterial **4** gegebenenfalls modifiziert, um es auf das Profil der Zielkomponenten zu zuschneiden, die vom Einfangmaterial **4** zurückgehalten werden. In einigen Ausführungsformen ist das Einfangmaterial **4** elektrisch geladen (z. B. elektrostatisch aufgeladen), mit hydrophilen oder hydrophoben Materialien beschichtet, chemisch modifiziert und/oder biologisch modifiziert. In mehreren Ausführungsformen wird das Zeta-Potential des Einfangmaterials **4** als eine Grundlage für die Modifikation (z. B. elektrostatische Aufladung) des Materials verwendet. In einigen Ausführungsformen erfordert das Einfangmaterial **4** (auf der Grundlage seines Zeta-Potentials) keine Modifikation. In einigen Ausführungsformen wird das Einfangmaterial **4** modifiziert, indem eine Nukleotidsequenz an der Oberfläche des Einfangmaterials **4** angebracht wird. In einigen Ausführungsformen wird ein Protein an der Oberfläche des Einfangmaterials **4** angebracht. In einigen Ausführungsformen wird Biotin oder Streptavidin an der Oberfläche des Einfangmaterials **4** angebracht. In einigen Ausführungsformen wird ein Antikörper oder Antikörperfragment an dem Einfangmaterial **4** angebracht. Beliebige solcher Ausführungsformen können eingesetzt werden, um in vorteilhafter Weise die Effizienz des Einfangens eines Ziels zu erhöhen.

[0081] In einigen Ausführungsformen wird selektives Einfangen von Vesikeln auf der Grundlage der Oberflächenexpression von Proteinmarkern und einem komplementären Agens an Einfangmaterial **4**, das den Marker identifiziert (z. B. ein Antikörper, der ein Antigen an einem speziellen Vesikel erkennt), erreicht. In einigen Ausführungsformen sind die Marker eindeutige Vesikelproteine oder -peptide. Bei einigen Krankheitszuständen können die Marker auch bestimmte Vesikelmodifikationen umfassen, die in einigen Ausführungsformen verwendet werden, um spezielle Vesikel zu isolieren. In solchen Ausführungsformen kann das Einfangmaterial **4** auf eine Weise konfiguriert sein, welche die spezifische Erkennung der Vesikelmodifikation ermöglicht. Die Modifikation der Vesikel kann die Zugabe von Lipiden, Kohlenhydraten und anderen Molekülen, wie acyliert,

formyliert, lipoyliert, myristoyliert, palmitoyliert, alkylisiert, methyliert, isoprenyliert, prenyliert, amidiert, glycosyliert, hydroxyliert, iodiniert, adenyliert, phosphoryliert, sulfatiert und selenoyliert, ubiquitiniert, einschließen, ist aber nicht darauf begrenzt. In einigen Ausführungsformen ist das Einfangmaterial **4** so konfiguriert, dass es Vesikelmarker, umfassend Nicht-Proteine, wie Lipide, Kohlenhydrate, Nukleinsäuren, RNA, mRNA, siRNA, MikroRNA, DNA usw., erkennt.

[0082] In einigen Ausführungsformen beruhen die Wechselwirkungen zwischen den Vesikeln und dem Einfangmaterial **4** auf elektrostatischer Wechselwirkung, hydrophober Wechselwirkung, Van-der-Waals-Kräften oder einer Kombination dieser Wechselwirkungen. Somit kann die biochemische Zusammensetzung der Probe, umfassend die Vesikel, diese Kräfte möglicherweise in einem Ausmaß verändern, das die Effizienz des Einfangens deutlich stört.

[0083] In mehreren Ausführungsformen umfasst ein Zielbereich für die Bedingungen beim Einfangen, denen die Vesikel ausgesetzt sind, wenn sie über/durch Einfangmaterialien geleitet werden, zwischen etwa 1 mM und etwa 1000 mM einwertiges Kation (z. B. Natrium und/oder Kalium), einschließlich Bereichen mit einer niedrigeren Konzentration von etwa 10 mM, etwa 20 mM, etwa 30 mM, etwa 40 mM, etwa 50 mM, etwa 60 mM, etwa 70 mM, etwa 80 mM, etwa 90 mM oder etwa 100 mM, etwa 110 mM, etwa 120 mM, etwa 130 mM, etwa 140 mM, etwa 150 mM, etwa 160 mM, etwa 170 mM, etwa 180 mM, etwa 190 mM, etwa 200 mM (und jede Konzentration dazwischen) und obere Konzentrationen von etwa 500 mM, etwa 600 mM, etwa 700 mM, etwa 800 mM und etwa 900 mM (und jede Konzentration dazwischen). Somit liegen in mehreren Ausführungsformen die Konzentrationsbereiche bei von etwa 20 mM bis etwa 900 mM, von etwa 20 mM bis etwa 800 mM, von etwa 30 mM bis etwa 700 mM und von etwa 40 mM bis etwa 600 mM und überlappenden Bereichen davon. In Verbindung mit diesen Bedingungen wird der pH-Wert in mehreren Ausführungsformen auf von etwa 4, etwa 5 oder etwa 6 bis etwa 9 oder etwa 10 (oder pH-Werte zwischen den aufgeführten) eingestellt. Somit schließen in Abhängigkeit von der Ausführungsform die pH-Bereiche von etwa 4 bis etwa 10, von etwa 5 bis etwa 9 und von etwa 6 bis etwa 9 ein.

[0084] In einigen Ausführungsformen umfassen die Materialien, die für das Einfangmaterial **4** verwendet werden, Materialien, die das Einfangen der Vesikel hindern. Somit wird in mehreren Ausführungsformen das Einfangmaterial **4** vorbehandelt, um solche hindernden Materialien vor der Verwendung des Einfangmaterials, um die Vesikel einzufangen, zu entfernen. Beispielsweise können hohe Konzentrationen von Proteinen, wie Albumin, die Effizienz des Einfangens beim Einfangen von Vesikeln erniedrigen. In solchen Fällen kann Albumin mit verschiedenen Techniken, wie beispielsweise Leiten von Materialien oder Lösungen durch oder über das Einfangmaterial **4**, entfernt werden, wobei die Materialien oder Lösungen eine Verbindung (z. B. Blue Trisacryl M Harz) mit einer größeren Affinität für das Albumin als sie das Albumin für Einfangmaterial **4** aufweist umfassen. Die Techniken, die verwendet werden, um Kontaminanten zu entfernen, können auch Erhitzen, saures Bad, basisches Bad, Reinigung mit Ultraschall und dergleichen einschließen.

[0085] In mehreren Ausführungsformen ist es vorteilhaft, die biochemischen Eigenschaften der Fluidprobe **3** auf bevorzugte Bereiche (z. B. Salzkonzentration, pH-Wert usw.) vor dem Versuch, die Vesikel einzufangen, einzustellen. In mehreren Ausführungsformen wird eine Pufferlösung, wie Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS) oder HEPES-Puffer, verwendet. In mehreren Ausführungsformen liegt der pH-Wert solcher Puffer in Bereichen von einem pH-Wert von etwa 6 bis etwa 9. In mehreren Ausführungsformen ist die Konzentration an einwertigen Kationen, wie Natrium und Kalium, größer als etwa 50 mM, größer als etwa 60 mM, größer als etwa 70 mM, größer als etwa 80 mM, größer als etwa 90 mM, größer als etwa 100 mM, größer als etwa 200 mM und kann manchmal in Abhängigkeit von der Ausführungsform noch größere Konzentrationen erfordern. In mehreren Ausführungsformen liegt das Endergebnis der Mischung des Urins und der Pufferlösung zwischen etwa 20 mM und etwa 600 mM einwertiges Kation, wie Natrium und Kalium, und zwischen etwa pH 6 und etwa pH 9. Das Einfangen der Vesikel kann dann durchgeführt werden, wie nachstehend ausführlicher beschrieben, und Analyse durchgeführt werden, wie nachstehend beschrieben.

[0086] In mehreren Ausführungsformen ist das Einfangmaterial **4** aus glasartigem Material gemacht. In einigen Ausführungsformen schließt die Einfangvorrichtung **100** ein Filtermaterial **5** (gezeigt in **Fig. 2**) ein, das so konfiguriert ist, dass es Fluidprobe **3** filtriert, bevor Fluidprobe **3** durch Einfangmaterial **4** geleitet wird. In einigen Ausführungsformen wird Filtermaterial **5** im zweiten Hohlkörper **2** zwischen Einfangmaterial **4** und Einlassöffnung **201** platziert. In einigen Ausführungsformen wird Filtermaterial **5** im ersten Hohlkörper **1** zwischen dem Zwischenbereich **136** und Auslassöffnung **102** platziert. In mehreren Ausführungsformen wird jedoch kein Filtermaterial verwendet.

[0087] In mehreren Ausführungsformen werden Kombinationen aus Filtermaterial **5** und Einfangmaterial **4** verwendet. In einigen Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial **4** eine Mehrzahl von Schichten von Material. In mehreren Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial **4** mindestens eine erste Schicht und eine zweite Schicht aus Glasfaser. In einigen Ausführungsformen wird die Fluidprobe **3** durch Filtermaterial **5** geleitet, um Komponenten einzufangen, die etwa 1,6 Mikron oder größer im Durchmesser sind. In einigen Ausführungsformen wird die Fluidprobe **3** durch Einfangmaterial **4** geleitet, um so Vesikel mit einer minimalen Größe von etwa 0,6 Mikron bis etwa 0,8 Mikron Durchmesser und mit einer maximalen Größe von weniger als etwa 1,6 Mikron einzufangen. In mehreren Ausführungsformen ist die Retentionsrate des Einfangmaterials **4** größer als etwa 50%, etwa 75%, etwa 90% oder etwa 99% für Vesikel mit einem Durchmesser von etwa 0,6 Mikron bis etwa 1,5 Mikron Durchmesser. In mindestens einer Ausführungsform fängt das Einfangmaterial **4** Vesikel mit einer Größe von etwa 0,7 Mikron bis etwa 1,6 Mikron Durchmesser ein. In mindestens einer Ausführungsform fängt das Einfangmaterial **4** Exosomen oder andere Vesikel mit einer Größe im Bereich von etwa 0,020 Mikron bis etwa 1,0 Mikron ein.

[0088] In mehreren Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial **4** Kombinationen von glasartigen und nicht glasartigen Materialien. Beispielsweise wird in einer Ausführungsform ein nicht glasartiges Material, umfassend Nitrocellulose, verwendet. In einigen Ausführungsformen umfasst das Einfangmaterial **4** glasartige Materialien, die eine Struktur aufweisen, die im atomaren Maßstab ungeordnet oder „amorph“ ist, wie Kunststoff oder Glas. Glasartige Materialien schließen Glaskügelchen oder -fasern, Siliciumdioxidkügelchen (oder andere Konfigurationen), Nitrocellulose, Nylon, Polyvinylidenfluorid (PVDF) oder andere ähnliche Polymere, Metall- oder Nano-Metallfasern, Polystyrol, Ethylenvinylacetat oder andere Copolymere, natürliche Fasern (z. B. Seide), Alginatfaser oder Kombinationen davon ein, sind aber nicht darauf begrenzt. Andere geeignete Materialien für das Einfangmaterial **4** schließen Zeolith, Metalloxide oder gemischte Metalloxide, Aluminiumoxid, Hafniumoxid, Zirkoniumoxid oder Kombinationen davon ein.

[0089] In einigen Ausführungsformen werden die Vesikel im Einfangmaterial **4** auf Grund der Tatsache zurückgehalten, dass das Vesikel physikalische Abmessungen aufweist, die verhindern, dass das Vesikel durch die Zwischenräume des Einfangmaterials **4** geleitet wird (z. B. physikalische Retention auf Grundlage der Größe). In einigen Ausführungsformen werden die Vesikel im Einfangmaterial **4** durch Bindungskräfte zwischen dem Vesikel und Einfangmaterial **4** zurückgehalten. In einigen Ausführungsformen bilden die Vesikel Antigen-Antikörper-Bindungen mit dem Einfangmaterial **4**. In mehreren Ausführungsformen bilden die Vesikel Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Einfangmaterial **4**. In einigen Ausführungsformen bilden sich Van-der-Waals-Kräfte zwischen dem Vesikel und Einfangmaterial **4**. In einigen Ausführungsformen binden die Nukleotidsequenzen des Vesikels an Nukleotidsequenzen, am Einfangmaterial **4** angebracht sind.

[0090] In mehreren Ausführungsformen wird die Einfangvorrichtung **100** in Verbindung mit einem aufnehmenden Gefäß **500** (siehe Fig. 5) verwendet, das Fluidprobe **3** in einem aufnehmenden Abschnitt **600** aufnimmt, nachdem Fluidprobe **3** durch Einfangvorrichtung **100** geleitet wurde. In einigen Ausführungsformen schließt das aufnehmende Gefäß auch einen Deckel **700** ein, um die Einfangvorrichtung **100** innerhalb des aufnehmenden Gefäßes **500** während der Verarbeitung zu sichern. In mehreren Ausführungsformen ist der Deckel ein Pressdeckel, während der Deckel in anderen Ausführungsformen einen Schraubdeckel umfasst. In mehreren Ausführungsformen umfasst das aufnehmende Gefäß ein Zentrifugenröhrchen, somit sind in einigen Ausführungsformen der erste Hohlkörper **1** und zweite Hohlkörper **2** so groß, dass sie in das Innere eines aufnehmenden Gefäßes/Zentrifugenröhrchens passen. In einigen Ausführungsformen dient der Kragen **105** als ein Mittel zum Halten der Einfangvorrichtung **100** in einer festen Position relativ zum aufnehmenden Gefäß. In mehreren Ausführungsformen sind die Einfangvorrichtung **100** und der Kragen **105** so groß, dass sie die Verwendung der Einfangvorrichtung **100** mit einem aufnehmenden Gefäß, wie ein Zentrifugenröhrchen mit 10 mL, 12 mL, 15 mL, 30 mL, 50 mL, 175 mL oder 225 mL, erlauben, auch wenn Zentrifugenröhrchen mit anderen Größen und Fassungsvermögen auch in Betracht gezogen werden. In einigen solchen Ausführungsformen ist der Kragen **105** so groß, dass er über die Öffnung des Zentrifugenröhrchens passt, ohne die Funktion des Gewindedeckels des Zentrifugenröhrchens zu behindern. In mehreren Ausführungsformen wird die Einfangvorrichtung **100** ins Innere eines Zentrifugenröhrchens platziert, und eine Zentrifugalkraft wird angewendet, um die Fluidprobe **3** aus dem ersten Hohlkörper **1** durch das Einfangmaterial **4** und in den zweiten Hohlkörper **2** zu treiben.

[0091] In einigen Ausführungsformen ist die Einfangvorrichtung **100** so groß, dass die Auslassöffnung **202** des zweiten Hohlkörpers **2** nicht die Fluidprobe **3** kontaktiert, nachdem die Fluidprobe **3** durch die Einfangvorrichtung **100** geleitet wurde und sich in dem aufnehmenden Gefäß angesammelt hat. In einigen Ausführungsformen ist das Volumenaufnahmevermögen des aufnehmenden Gefäßes um das etwa 2-Fache, um das etwa 3-Fache, um das etwa 4-Fache oder um das etwa 5-Fache größer als das Volumenaufnahmevermögen der Einfangvorrichtung **100**.

[0092] In einigen Ausführungsformen weist die Einfangvorrichtung **100** ein Volumen auf, das ausreicht, um die gesamte Fluidprobe **3** und andere Reagenzien, um die Bindung von Nukleinsäuren an das Einfangmaterial **4** zu erleichtern, aufzunehmen. In einigen Ausführungsformen ist die Einfangvorrichtung **100** so groß, dass sie ein Volumen von zwischen etwa 1 mL und 1000 mL, einschließlich zwischen etwa 1 mL und 100 mL, zwischen etwa 5 mL und 50 mL, zwischen etwa 10 mL und 20 mL und alle Volumina zwischen diesen Bereichen aufnehmen kann. In einigen Ausführungsformen nimmt die Einfangvorrichtung **100** ein Volumen von etwa 15 mL auf.

[0093] In einigen Ausführungsformen ist das Fassungsvermögen des ersten Hohlkörpers **1** um das etwa 100-Fache oder um das etwa 50-Fache oder um das etwa 20-Fache oder um das etwa 10-Fache oder um das etwa 5-Fache größer als das Fassungsvermögen des zweiten Körpers **2**. In einigen Ausführungsformen ist das Fassungsvermögen des ersten Hohlkörpers **1** etwa dasselbe wie das Fassungsvermögen des zweiten Hohlkörpers **2**.

[0094] In vielen Ausführungsformen sind die Abmessungen des Einfangmaterials **4** so optimiert, dass sie das ausreichende Vorhalten von Einfangmaterial **4**, um in angemessener Weise ein Ziel aus Probe **3** einzufangen, und auch das Zulassen, dass ein geringes Volumen an Flüssigkeit (z. B. Mikroliter-Maßstab) verwendet wird, um die gebundenen Zielkomponenten zu eluieren, im Gleichgewicht hält. Das Verringern des Volumens der Flüssigkeit zur Wiedergewinnung ermöglicht in bestimmten vorteilhaften Ausführungsformen, dass die Zielkomponenten mit höheren Konzentrationen extrahiert werden. In einigen Ausführungsformen ist das Volumen der Einfangvorrichtung **100** um das etwa 1000-Fache, um das etwa 500-Fache, um das etwa 300-Fache oder um das etwa 100-Fache größer als das Volumen des Einfangmaterials **4**. In Ausführungsformen, wo das Material des Einfangmaterials **4** Zwischenräume einschließt, soll die Bedeutung des Begriffs „Volumen des Einfangmaterials **4**“ so genommen werden, dass sie das Volumen dieser Zwischenräume einschließt. In mehreren Ausführungsformen liegt das Elutionsvolumen im Bereich von etwa 5 bis etwa 500 Mikroliter, einschließlich etwa 5 Mikroliter bis etwa 10 Mikroliter, etwa 10 Mikroliter bis etwa 20 Mikroliter, etwa 20 Mikroliter bis etwa 50 Mikroliter, etwa 50 Mikroliter bis etwa 100 Mikroliter, etwa 100 Mikroliter bis etwa 150 Mikroliter, etwa 150 Mikroliter bis etwa 200 Mikroliter, etwa 200 Mikroliter bis etwa 300 Mikroliter, etwa 300 Mikroliter bis etwa 400 Mikroliter, etwa 400 Mikroliter bis etwa 500 Mikroliter und überlappender Bereiche dazwischen.

[0095] In einigen Ausführungsformen ist das Einfangmaterial **4** annähernd quaderförmig. In einigen Ausführungsformen ist das Einfangmaterial **4** wafer-förmig, kugelförmig oder eine Kombination davon. In einigen Ausführungsformen weist das Einfangmaterial **4** ein Verhältnis der Oberfläche zur Dicke von etwa 50:1, etwa 25:1, etwa 10:1, etwa 5:1 oder etwa 3:1 auf. In einigen Ausführungsformen ist das Einfangmaterial **4** ein zylindrischer Wafer mit einem Verhältnis von Durchmesser zu Länge von etwa 20:1, etwa 10:1, etwa 5:1 oder etwa 2:1. In mindestens einer Ausführungsform ist das Einfangmaterial **4** zylindrisch und weist einen Durchmesser von etwa 9 mm und eine Dicke von etwa 1 mm auf.

[0096] In einigen Ausführungsformen wird eine Fluidprobe mittels Anlegen eines positiven Drucks durch die Vorrichtung geleitet. Beispielsweise ist in einigen Ausführungsformen der erste Hohlkörper **1** so konfiguriert, dass er den Kolben einer Spritze aufnimmt, der, wenn er in Richtung des zweiten Hohlkörpers niedergedrückt wird, einen positiven Druck bereitstellt, der die Fluidprobe **3** durch die Einfangvorrichtung **100** treibt. In einigen Ausführungsformen wird eine Fluidprobe mittels Anlegen eines negativen Drucks durch die Vorrichtung geleitet.

[0097] Beispielsweise ist in einigen Ausführungsformen der zweite Hohlkörper so angepasst, dass er reversibel mit einer Vakuumquelle, wie eine Vakuumleitung, verbunden ist, wodurch das Anlegen eines negativen Drucks ermöglicht wird, der die Fluidprobe **3** durch die Einfangvorrichtung **100** treibt. In einigen Ausführungsformen, die ein aufnehmendes Gefäß einsetzen, ist das aufnehmende Gefäß so konfiguriert, dass es einen negativen (oder positiven, in Abhängigkeit von der Ausführungsform) Druck an die Einfangvorrichtung weiter gibt, wodurch ermöglicht wird, dass die Fluidprobe durch die Einfangvorrichtung geleitet wird. Jedoch wird in mehreren Ausführungsformen kein spezifischer positiver oder negativer Druck angelegt. Beispielsweise werden in mehreren Ausführungsformen Zentrifugalkräfte angewendet, um die Fluidprobe **3** durch die Einfangvorrichtung **100** zu treiben. Gravitatives Fließen kann auch in mehreren Ausführungsformen verwendet werden.

[0098] In einigen Ausführungsformen ist der Endbereich **236** des zweiten Hohlkörpers **2** so groß, dass er in das Innere einer Vertiefung einer Standard-Multivertiefungsplatte passt. In mehreren Ausführungsformen ist der Endbereich **236** so groß, dass er in das Innere einer Vertiefung einer Standard-6-Vertiefungs-Platte oder einer Standard-12-Vertiefungs-Platte oder einer Standard-24-Vertiefungs-Platte oder einer Standard-96-Vertiefungs-Platte oder einer Standard-384-Vertiefungs-Platte oder einer Standard-1536-Vertiefungs-Platte usw. passt. Solche Platten sind im Handel von verschiedenen Herstellern erhältlich, einschließlich, aber nicht be-

grenzt auf Corning, Nunc, Fisher, BD Biosciences usw. In mehreren Ausführungsformen weisen die Platten Abmessungen der Vertiefungen auf, die in Tabelle 1 aufgeführt sind.

Tabelle 1 – Beispiel für Abmessungen von Mikroplatten zur Verwendung mit Einfangsystemen

Anzahl der Vertiefungen	Plattenlänge (mm)	Plattenbreite (mm)	Vertiefungs-Durchmesser (mm, oben am Well)
6	127,76	85,47	35,43
12	127,89	85,6	22,73
24	127,89	85,6	16,26
48	127,89	85,6	11,56
96	127,8	85,5	6,86

[0099] In einigen Ausführungsformen erstreckt sich die Lasche **260** des zweiten Hohlkörpers **2** über mindestens einen Teil einer angrenzenden Vertiefung einer Multivertiefungsplatte, wenn der zweite Hohlkörper **2** mit einer ersten Vertiefung der Multivertiefungsplatte wechselwirkt. In mindestens einer Ausführungsform ist die Lasche **260** so konfiguriert, dass sie ermöglicht, dass die Hälfte der Vertiefung einer Multivertiefungsplatte zu einem Zeitpunkt von zweiten Hohlkörpern **2** belegt ist, ohne dass die Laschen **260** miteinander überlappen. In einigen Ausführungsformen weist der zweite Hohlkörper **2** einen Vorsprung **270** auf, der mit einer Wand einer Vertiefung Multivertiefungsplatte wechselwirkt und den zweiten Hohlkörper **2** an der Vertiefung der Multivertiefungsplatte sichert. In mehreren Ausführungsformen ist die Lasche **260** so dimensioniert, dass jede Vertiefung einer Multivertiefungsplatte verwendet werden kann, um eine Probe aufzunehmen.

[0100] In mehreren Ausführungsformen umfasst ein Verfahren zum Isolieren eines Biomarkers das Nehmen einer Fluidprobe **3** von einem Subjekt, das Leiten der Fluidprobe **3** durch das Einfangmaterial **4**, das Entfernen von Nicht-Vesikel-Material aus dem Einfangmaterial **4** und das Lysieren der Vesikel in oder an dem Einfangmaterial **4** mit einem Lysepuffer, wodurch ein Biomarker aus den Vesikeln isoliert wird. In einigen Ausführungsformen wird der Biomarker ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus RNA, DNA, Protein und Kohlenhydrat. In mehreren Ausführungsformen ist die RNA von einem Typ, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus mRNA, miRNA, rRNA, tRNA und vRNA.

[0101] In einigen Ausführungsformen wird die Einfangvorrichtung **100** ins Innere eines Zentrifugenröhrchens platziert und der Kragen **105** hält die Einfangvorrichtung **100** in einer festen Position relativ zum Zentrifugenröhrchen. Die Fluidprobe **3** wird in die Einfangvorrichtung **100** geladen, bevor oder nachdem die Einfangvorrichtung **100** ins Innere des Zentrifugenröhrchens platziert wurde. Die Einfangvorrichtung **100** wird der Zentrifugation unterzogen. Das Zentrifugenröhrchen dient als ein aufnehmendes Gefäß und nimmt die Fluidprobe **3** auf, nachdem sie durch die Einfangvorrichtung **100** geleitet wurde. In einigen Ausführungsformen wird Zentrifugation bei niedriger Geschwindigkeit verwendet, um die Fluidprobe **3** durch die Einfangvorrichtung **100** zu treiben.

[0102] In einigen Ausführungsformen wird ein Kit zum Extrahieren von Zielkomponenten aus der Fluidprobe **3** bereitgestellt. Kits ermöglichen oft eine bessere Handhabung der Qualitätskontrolle und eine bessere Konsistenz der Ergebnisse. In einigen Ausführungsformen umfasst ein Kit eine Einfangvorrichtung **100** und zusätzliche Dinge, die verwendbar sind, um die Verfahren durchzuführen, die hierin offenbart werden. In einigen Ausführungsformen umfasst ein Kit Reagenzien, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Lysepuffern, chaotropen Reagenzien, Waschpuffern, Alkohol, Detergens oder Kombinationen davon. In einigen Ausführungsformen werden die Kitreagenzien einzeln oder in Lagerungsbehältern bereitgestellt. In mehreren Ausführungsformen werden die Kitreagenzien gebrauchsfertig bereitgestellt. In einigen Ausführungsformen werden die Kitreagenzien in Form von Vorratslösungen bereitgestellt, die vor der Verwendung verdünnt werden. In einigen Ausführungsformen umfasst ein Kit Kunststoffteile, die verwendbar sind, um die Verfahren durchzuführen, die hierin offenbart werden. In einigen Ausführungsformen umfasst ein Kit Kunststoffteile, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Gestellen, Zentrifugenröhrchen, Vakuumleitungen und Multivertiefungsplatten. Die Anweisungen zur Verwendung werden auch in mehreren Ausführungsformen bereitgestellt.

BEISPIELE

Beispiel 1 – Wirkung von pH-Wert/Salzkonzentration auf das Einfangen von Exosomen

[0103] Die Auswirkungen verschiedener Eigenschaften einer biologischen Probe wurden im Hinblick auf die Effizienz des Einfangens von Exosomen bewertet. Urinproben, die von vier gesunden Spender gesammelt wurden, wurden 15 min lang bei 800 xg zentrifugiert und die überstehenden Lösungen wurden gesammelt. 4, 5 mL des Urin-Überstands von jedem Subjekt wurde mit unterschiedlichen Volumina von konzentrierter Pufferlösung vor der Verarbeitung gemischt. Die Proben wurden mit der Sammelvorrichtung, die hierin offenbart wird, verarbeitet. Kurz gesagt wurden die Proben zu dem ersten Körper gegeben, der mit dem zweiten Körper verbunden war. Die ersten und zweiten Körper wurden in das Innere eines konischen 50-mL-Zentrifugenröhrchens (aufnehmendes Gefäß) platziert und 10 min lang bei 2.000 xg zentrifugiert, um Exosomen und Mikrovesikel (EMV) auf einem Einfangfilter im Inneren des zweiten Körpers einzufangen. Danach wurden die ersten und zweiten Körper aus dem aufnehmenden Gefäß entfernt und der zweite Körper wurde vom ersten Körper entkuppelt. Der zweite Körper wurde mit seinem Auslassteil in einer Vertiefung einer Multivertiefungsplatte platziert. Nach dem Lysieren der eingefangenen EMV mit einem Lysepuffer (37°C 10 min) wurden die Lysate auf eine Oligo(dT)-immobilisierte Mikroplatte (Hitachi Chemical Research Center, Inc.) zur Isolierung der mRNA überführt. Mehrere, auf Nieren bezogene Gene, einschließlich Housekeeping-mRNAs, wurden durch Echtzeit-RT-PCR quantifiziert. Zum Protokollvergleich wurde ein Standard-Ultrazentrifugationsprotokoll zur Isolierung von Exosomen verwendet. Die bei 800 xg überstehenden Lösungen wurden 1 Stunde lang bei 100.000 xg zentrifugiert und die EMV-Pellets wurden gesammelt. Nach dem Lysieren der EMV mit einem Lysepuffer wurden die Lysate auf eine Oligo(dT)-immobilisierte Mikroplatte überführt und zur Isolierung von mRNA und Echtzeit-RT-PCR verarbeitet.

[0104] Wie in **Fig. 6** gezeigt, verbessert die Zugabe einer Pufferlösung, um den pH-Wert und die Salzkonzentration der Urinprobe einzustellen, die Effizienz des Einfangens von Exosomen unter Verwendung der Vorrichtung, die hierin offenbart wird. **Fig. 6**, wie durch die Pfeile dargestellt, verbessert die Empfindlichkeit des Assays von Urinproben, die von Subjekt Nr. 1 gesammelt wurden (auf der Grundlage der Expression von GAPDH- und RPLPO-Housekeepinggenen), beeinflusst aber nicht nachteilig die Empfindlichkeit der Proben von anderen Patienten.

Beispiel 2 – Einfangen von Exosomen auf der Grundlage
von Filtern im Vergleich zu Standard-Ultrazentrifugation

[0105] Viele üblicherweise verwendete Protokolle setzen Ultrazentrifugation ein, um Exosomen aus biologischen Fluiden einzufangen. Jedoch kann, wie vorstehend diskutiert, die Ultrazentrifugation kostenintensiv sein. Eine Einfangvorrichtung für Exosomen, wie sie hierin offenbart wird, wurde verwendet, um 0,1 bis 10 mL Urinproben zu verarbeiten. Die Urinproben wurden auch unter Verwendung anerkannter Ultrazentrifugationsverfahren verarbeitet, um Exosomen einzufangen. Dann wurden identische mRNA-Isolierungs- und PCR-Protokolle verwendet.

[0106] **Fig. 7** zeigt die Ergebnisse der PCR-Anwendung auf drei Housekeepinggene (Beta-Aktin, GAPDH und RPLPO) auf der Grundlage der Isolierung unter Verwendung der offenbarten Einfangvorrichtung für Exosomen (offene Kreise) oder Ultrazentrifugation (offene Quadrate). Ein hohes Maß der Korrelation wurde zwischen den beiden Verfahren nachgewiesen, wodurch angezeigt wird, dass die Einfangvorrichtungen für Exosomen, die hierin offenbart werden, beim Einfangen von Exosomen und Erhalten der mRNA im Inneren dieser Exosomen wirksam sind.

[0107] **Fig. 8** zeigt zusätzliche Daten, die mit der Abweichung innerhalb des Assays verknüpft sind, wenn das Einfangen von Exosomen unter Verwendung der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, mit Verfahren auf der Grundlage von Ultrazentrifugation verglichen wurde. Wie in **Fig. 8** und Tabelle 2 gezeigt, wurde unter Verwendung von beiden Verfahren in hohem Maße ähnliche mRNA-Expressionsprofile nachgewiesen, womit angezeigt wird, dass das Einfangen von Exosomen unter Verwendung der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, reproduzierbare und genaue mRNA-Ergebnisse bereitstellt. Darüber hinaus zeigen diese Daten deutlich verringerte Abweichung innerhalb des Assays, wenn die Einfangvorrichtungen für Exosomen, die hierin offenbart werden, verwendet werden. Als solche kann eine Analyse der Genexpression unter Verwendung dieser Vorrichtungen höhere Grade der Genauigkeit erreichen und das Risiko für falsch positive Ergebnisse auf der Grundlage der Veränderlichkeit der Daten verringern.

Tabelle 2 – Abweichung innerhalb des Assays unter Verwendung der Einfangvorrichtungen für Exosomen

Gen	Verfahren	Ver- such 1	Ver- such 2	Ver- such 3	Ver- such 4	Ver- such 5	Ver- such 6	Ver- such 7	Ver- such 8	Durch- schn.	Std.- Abw.	CV (%)
Beta-Aktin	Vorrichtung	26,2	26,3	25,9	25,9	26,4	25,9	25,9	25,9	26,0	0,2	0,9
	Ultra	27,3	24,9	27,0	24,9	26,4	27,0	25,5	27,9	26,4	1,1	4,3
GAPDH	Vorrichtung	23,9	24,4	24,2	23,7	24,3	24,1	24,3	23,9	24,1	0,2	1,0
	Ultra	25,5	23,1	25,5	22,7	24,2	25,2	23,7	25,2	24,4	1,1	4,6
RPLP0	Vorrichtung	23,4	23,6	23,6	23,4	23,5	23,4	23,9	23,4	23,5	0,2	0,8
	Ultra	24,9	22,3	25,0	22,1	23,4	24,1	22,9	24,7	23,7	1,2	4,9
PDCN	Vorrichtung	30,3	32,0	33,3	31,9	33,4	20,6	32,4	31,6	31,9	1,1	3,5
	Ultra	33,9	31,2	40,0	31,8	32,5	40,0	33,2	40,0	35,3	4,0	11,2
SLC12A1	Vorrichtung	27,1	27,7	26,4	26,9	27,1	26,8	27,6	26,9	27,1	0,4	1,5
	Ultra	29,8	26,5	28,6	26,4	27,5	29,2	27,5	29,6	28,1	1,4	4,8
ALB	Vorrichtung	25,9	26,2	24,9	25,5	25,9	25,7	26,2	25,5	25,7	0,4	1,7
	Ultra	28,9	25,9	30,6	25,4	27,1	28,5	27,2	28,3	27,7	1,7	6,1
Uromodulin	Vorrichtung	29,3	29,5	28,8	29,5	28,6	28,7	29,6	29,6	29,2	0,4	1,4
	Ultra	30,8	28,4	33,1	29,1	30,2	30,6	30,9	31,6	30,6	1,5	4,8
AQP2	Vorrichtung	30,4	31,7	29,8	29,3	31,5	29,7	29,1	29,9	29,9	1,0	3,2
	Ultra	40,0	30,1	32,5	29,0	30,6	40,0	29,9	40,0	40,0	5,1	14,9

[0108] Ein zusätzliches Experiment wurde durchgeführt, um die Ähnlichkeit des mRNA-Profiles zu bestimmen, wenn Exosomen unter Verwendung der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, oder unter Verwendung von Protokollen auf der Grundlage von Ultrazentrifugation eingefangen wurden. Bestimmte, auf Nieren bezogene Gene ebenso wie eine Mehrzahl von Housekeepinggenen wurden aus Urinproben (10 mL) verstärkt, die durch die Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, oder durch Ultrazentrifugation verarbeitet wurden. Wie in Fig. 9 gezeigt, resultierten sehr ähnliche Expressionsprofile unabhängig vom eingesetzten Verfahren. Diese

Daten in Verbindung mit den vorstehenden Daten, die sich auf die verringerte Variabilität innerhalb des Assays beziehen, zeigen an, dass die Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, zu in hohem Maße genauen mRNA-Expressionsdaten führen können.

Beispiel 3 – Überwachung von Exosomen im Urin

[0109] Die Einfangvorrichtungen für Exosomen, die hierin offenbart werden, werden verwendet, um die Genexpression in Urinproben (12 Stunden Sammlung) zu beurteilen, die von einem Subjekt vier Mal im Verlauf eines Zeitraums von zwei Wochen gesammelt wurden. **Fig. 10A** stellt diese Genexpressionsdaten dar und besonders der Grad der Genexpression (innerhalb jedes getesteten Gens) ist in hohem Maße ähnlich in dem gesamten zweiwöchigen experimentellen Zeitraum. **Fig. 10B** stellt die Daten für drei Housekeepinggene im Verlauf der Zeit dar. Von Bedeutung ist ein in hohem Maße stabiles Genexpressionsprofil für jedes dieser Gene, wodurch die Genauigkeit der mRNA-Expressionsprofilierung bestätigt wird, wenn Exosomen unter Verwendung der Vorrichtungen, die hierin offenbart werden, eingefangen werden.

[0110] Es wird in Erwägung gezogen, dass verschiedene Kombinationen oder Unterkombinationen der spezifischen Merkmale und Gesichtspunkte der Ausführungsformen, die vorstehend offenbart wurden, gemacht werden können und immer noch innerhalb eine oder mehr der Erfindungen fallen. Ferner kann hierin die Offenbarung jedes speziellen Merkmals, Gesichtspunkts, Verfahrens, Eigenschaft, Charakterikums, Qualität, Attribut, Element oder dergleichen in Verbindung mit einer Ausführungsform in allen anderen Ausführungsformen, die hier dargestellt werden, verwendet werden. Demgemäß versteht es sich, dass verschiedene Merkmale und Gesichtspunkte der offenbarten Ausführungsformen miteinander kombiniert oder gegeneinander ausgetauscht werden können, damit unterschiedliche Modi der offenbarten Erfindungen gebildet werden. Somit ist es beabsichtigt, dass der Umfang der vorliegenden Erfindungen, die hierin offenbart werden, nicht durch die speziellen offenbarten Ausführungsformen, die vorstehend beschrieben werden, begrenzt sein soll. Darüber hinaus werden, während die Erfindung für verschiedene Modifikationen und alternative Formen zugänglich ist, spezielle Beispiele davon in den Zeichnungen gezeigt und werden hierin ausführlich beschrieben. Es versteht sich jedoch, dass die Erfindung nicht auf die speziellen Formen oder Verfahren, die offenbart wurden, begrenzt werden soll, sondern im Gegenteil soll die Erfindung alle Modifikation, Äquivalente und Alternativen abdecken, die innerhalb des Geistes und Umfangs der verschiedenen Ausführungsformen, die beschrieben wurden, und der angefügten Ansprüche fallen. Alle Verfahren, die hierin offenbart wurden, müssen nicht in der angeführten Reihenfolge durchgeführt werden. Die Verfahren, die hierin offenbart werden, schließen bestimmte Tätigkeiten, die von einem Praktiker vorgenommen werden, ein; jedoch können sie auch Anweisungen von Dritten für diese Tätigkeiten einschließen, entweder ausdrücklich oder implizit. Beispielsweise schließen Tätigkeiten, wie „Verabreichung eines Bluttests“, „Anweisen der Verabreichung eines Bluttests“ ein. Die Bereiche, die hierin offenbart werden, umfassen auch jede und alle Überlappung, Unterbereiche und Kombinationen davon. Formulierungen, wie „bis zu“, „mindestens“, „größer als“, „weniger als“, „zwischen“ und dergleichen schließen die angeführte Zahl ein. Zahlen, denen ein Begriff, wie „etwa“ oder „ungefähr“ vorausgeht, schließen die angeführten Zahlen ein. Beispielsweise schließt „etwa 3 mm“ „3 mm“ ein.

Schutzansprüche

1. Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:

(i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:

(a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;

(b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist,

wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind;

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und

wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde ist.

2. Das System von Anspruch 1, ferner umfassend (iii) eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse, die so konfiguriert sind, dass sie reversibel mit dem Auslass eines einzelnen zweiten Körpers wechselwirken.

3. Das System von Anspruch 2, wobei die eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse eine Standard-6-, -12-, -48- oder -96-Vertiefungs-Mikroplatte umfassen.
4. Das System von Anspruch 2, wobei die eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse eine Standard-96-Vertiefungs-Mikroplatte umfassen.
5. Das System von Anspruch 1, wobei das innere Volumen des ersten Körpers im Bereich von etwa 2 bis etwa 10 mL liegt.
6. Das System von Anspruch 1, wobei das innere Volumen des zweiten Körpers im Bereich von etwa 2 bis etwa 5 mL liegt.
7. Das System von Anspruch 1, wobei die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine reibschlüssige Verbindung umfasst.
8. Das System von Anspruch 1, wobei die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Luer-Lock-Verbindung umfasst.
9. Das System von Anspruch 1, wobei die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Drehverbindung umfasst, bei der ein Stift an dem Auslass des zweiten Körpers in eine Nut an dem Einlass des zweiten Körpers passt.
10. Das System von Anspruch 1, wobei die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Gewindeverbindung umfasst.
11. Das System von Anspruch 10, wobei der Einlass des zweiten Körpers ein Innengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers umfasst, das in ein Außengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt.
12. Das System von Anspruch 10, wobei der Einlass des zweiten Körpers ein Außengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers umfasst, das in ein Innengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt.
13. Das System von Anspruch 1, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen RFID-Tag umfasst.
14. Das System von Anspruch 1, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen 2-dimensionalen Strichcode umfasst.
15. Das System von Anspruch 1, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen 3-dimensionalen Strichcode umfasst.
16. Das System von Anspruch 1, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper von einer Position oberhalb des zweiten Körpers sichtbar und/oder lesbar ist, wenn der Auslass des zweiten Körpers in Verbindung mit den Vertiefungen der Mikroplatte steht.
17. Das System von Anspruch 1, wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes ein Volumen von etwa 50 mL aufweist.
18. Das System von Anspruch 1, wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes ein Volumen von etwa 100 mL aufweist.
19. Das System von Anspruch 1, wobei der erste Körper eine Lippe umfasst, die sich von einem Umfang des Einlasses des ersten Körpers erstreckt, und wobei die Lippe an einem Umfang des Einlasses des aufnehmenden Gefäßes anliegt und ermöglicht, dass das aufnehmende Gefäß die ersten und zweiten Körper umschließt, während die Entfernung der ersten und zweiten Körper aus dem aufnehmenden Gefäß ermöglicht wird.
20. Das System von Anspruch 19, wobei die Lippe an dem ersten Körper den ersten und zweiten Körper in einer festen Position innerhalb des inneren Hohlraums des aufnehmenden Gefäßes hält.

21. Das System von Anspruch 20, wobei die feste Position eine Position ist, in der der Auslass des zweiten Körpers nicht die biologische Fluidprobe kontaktiert, die aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial und in den inneren Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes geleitet wurde.

22. Das System von Anspruch 1, wobei das aufnehmende Gefäß im Wesentlichen aus dem Einlass, dem geschlossenen Ende gegenüber dem Einlass und dem inneren Hohlraum besteht.

23. Das System von Anspruch 1, wobei Zentrifugation verwendet wird, um die biologische Fluidprobe aus dem Innenraum des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, aus dem Auslass des zweiten Körpers und in das innere Volumen des aufnehmenden Gefäßes zu leiten.

24. Das System von Anspruch 1, wobei das Filtermaterial eine Mehrzahl von Schichten aus einem oder mehr glasartigen Materialien umfasst, die so konfiguriert sind, dass sie Vesikel mit einem Durchmesser von etwa 0,6 Mikron bis etwa 1,5 Mikron Durchmesser zurückhalten.

25. Das System von Anspruch 1, wobei das System keinen negativen oder positiven Druck einsetzt, um die biologische Fluidprobe aus dem Innenraum des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, aus dem Auslass des zweiten Körpers und in das innere Volumen des aufnehmenden Gefäßes zu leiten.

26. Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:

(i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:

(a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;

(b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist,

wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind,

wobei die Wechselwirkung das Einführen des Auslasses des ersten Körpers in den Einlass des zweiten Körpers umfasst,

wobei der zweite Körper von dem ersten Körper getrennt wird, indem der Auslass des ersten Körpers aus dem Einlass des zweiten Körpers herausgezogen wird,

wobei der Auslass des zweiten Körpers so dimensioniert ist, dass er in den Innendurchmesser einer 6-, 12-, 48- oder 96-Vertiefungs-Mikroplatte passt,

wobei der zweite Körper einen eindeutigen Kennzeichner umfasst, der mit der Identität des Subjekts übereinstimmt; und

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem Einlass, einem geschlossenen Ende gegenüber dem Einlass und einem inneren Hohlraum,

wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

27. Das System von Anspruch 26, wobei das innere Volumen des ersten Körpers im Bereich von etwa 2 bis etwa 10 mL liegt.

28. Das System von Anspruch 26, wobei das innere Volumen des zweiten Körpers im Bereich von etwa 2 bis etwa 5 mL liegt.

29. Das System von Anspruch 26, wobei die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine reibschlüssige Verbindung umfasst.

30. Das System von Anspruch 26, wobei die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Drehverbindung umfasst, bei der ein Stift an dem Auslass des zweiten Körpers in eine Nut an dem Einlass des zweiten Körpers passt.

31. Das System von Anspruch 25, wobei die reversible Verbindung zwischen dem Einlass des zweiten Körpers und dem Auslass des ersten Körpers eine Gewindeverbindung umfasst.

32. Das System von Anspruch 31, wobei der Einlass des zweiten Körpers ein Innengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers umfasst, das in ein Außengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt.
33. Das System von Anspruch 31, wobei der Einlass des zweiten Körpers ein Außengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers umfasst, das in ein Innengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt.
34. Das System von Anspruch 26, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen RFID-Tag umfasst.
35. Das System von Anspruch 26, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen 2-dimensionalen Strichcode umfasst.
36. Das System von Anspruch 26, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper einen patientenspezifischen 3-dimensionalen Strichcode umfasst.
37. Das System von Anspruch 26, wobei der eindeutige Kennzeichner an dem zweiten Körper von einer Position oberhalb des zweiten Körpers sichtbar und/oder lesbar ist, wenn der Auslass des zweiten Körpers in Verbindung mit den Vertiefungen der Mikroplatte steht.
38. Das System von Anspruch 26, wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes ein Volumen von etwa 50 mL aufweist.
39. Das System von Anspruch 26, wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes ein Volumen von etwa 100 mL aufweist.
40. Das System von Anspruch 26, wobei der erste Körper eine Lippe umfasst, die sich von einem Umfang des Einlasses des ersten Körpers aus erstreckt, und wobei die Lippe an einem Umfang des Einlasses des aufnehmenden Gefäßes anliegt und ermöglicht, dass das aufnehmende Gefäß die ersten und zweiten Körper umschließt, während die Entfernung der ersten und zweiten Körper aus dem aufnehmenden Gefäß ermöglicht wird.
41. Das System von Anspruch 40, wobei die Lippe an dem ersten Körper den ersten und zweiten Körper in einer festen Position innerhalb des inneren Hohlraums des aufnehmenden Gefäßes hält.
42. Das System von Anspruch 41, wobei die feste Position eine Position ist, in der der Auslass des zweiten Körpers nicht die biologische Fluidprobe kontaktiert, die aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial und in den inneren Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes geleitet wurde.
43. Das System von Anspruch 26, wobei das aufnehmende Gefäß im Wesentlichen aus dem Einlass, dem geschlossenen Ende gegenüber dem Einlass und dem inneren Hohlraum besteht.
44. Das System von Anspruch 43, wobei Zentrifugation verwendet wird, um die biologische Fluidprobe aus dem Innenraum des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, aus dem Auslass des zweiten Körpers und in das innere Volumen des aufnehmenden Gefäßes zu leiten.
45. Das System von Anspruch 26, wobei das Filtermaterial eine Mehrzahl von Schichten aus einem oder mehr glasartigen Materialien umfasst, die so konfiguriert sind, dass sie Vesikel mit einem Durchmesser von etwa 0,6 Mikron bis etwa 1,5 Mikron Durchmesser zurückhalten.
46. Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:
- (i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:
 - (a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;
 - (b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers angebracht ist, einen eindeutigen Kennzeichner, umfassend einen patientenspezifischen RFID-Tag, aufweist und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper steht, wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind;

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

47. Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:

(i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:

(a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;

(b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers angebracht ist, einen eindeutigen Kennzeichner, umfassend einen patientenspezifischen 2-dimensionalen Strichcode, aufweist und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper steht,

wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind;

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und

wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

48. Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:

(i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:

(a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;

(b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers angebracht ist, einen eindeutigen Kennzeichner, umfassend einen patientenspezifischen 3-dimensionalen Strichcode, aufweist und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper steht,

wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind;

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und

wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

49. Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:

(i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:

(a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;

(b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist,

wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind, wobei die Wechselwirkung eine Wechselwirkung zwischen einem Innengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers, das in ein Außengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt, umfasst;

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und

wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

50. Ein System zum Einfangen von Vesikeln aus einer biologischen Fluidprobe, die von einem Subjekt erhalten wurde, umfassend:

(i) eine Einfangvorrichtung für Vesikel, umfassend:

(a) einen ersten Körper mit einem Einlass, einem Auslass und einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass;

(b) einen zweiten Körper mit einem Einlass, einem Auslass, einem inneren Volumen zwischen dem Einlass und dem Auslass, einem Filtermaterial, das innerhalb des inneren Volumens des zweiten Körpers und in Fluidverbindung mit dem ersten Körper angebracht ist,

wobei der erste Körper und der zweite Körper durch eine Wechselwirkung des Einlasses des zweiten Körpers mit dem Auslass des ersten Körpers reversibel verbunden sind, wobei die Wechselwirkung eine Wechselwirkung zwischen einem Außengewinde an dem Einlass des zweiten Körpers, das in ein Innengewinde an dem Auslass des ersten Körpers passt, umfasst;

(ii) ein aufnehmendes Gefäß mit einem inneren Hohlraum, und

wobei der innere Hohlraum des aufnehmenden Gefäßes so dimensioniert ist, dass er reversibel sowohl den ersten als auch den zweiten Körper umschließt und die biologische Fluidprobe aufnimmt, nachdem sie aus dem inneren Volumen des ersten Körpers, durch das Filtermaterial, durch den inneren Hohlraum des zweiten Körpers und aus dem Auslass des zweiten Körpers geleitet wurde.

51. Das System von einem der Ansprüche 49 bis 50, wobei die reversible Verbindung zwischen dem ersten und zweiten Körper so konfiguriert ist, dass sie die Trennung des zweiten Körpers von dem ersten Körper ermöglicht, ohne dass der zweite Körper durch das innere Volumen des ersten Körpers hindurchgeht.

52. Das System von einem der Ansprüche 46 bis 51, wobei das System ferner (iii) eine oder mehrere Vertiefung(en) zur Analyse umfasst, die so konfiguriert sind, dass sie reversibel mit dem Auslass eines einzelnen zweiten Körpers wechselwirken.

Es folgen 12 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

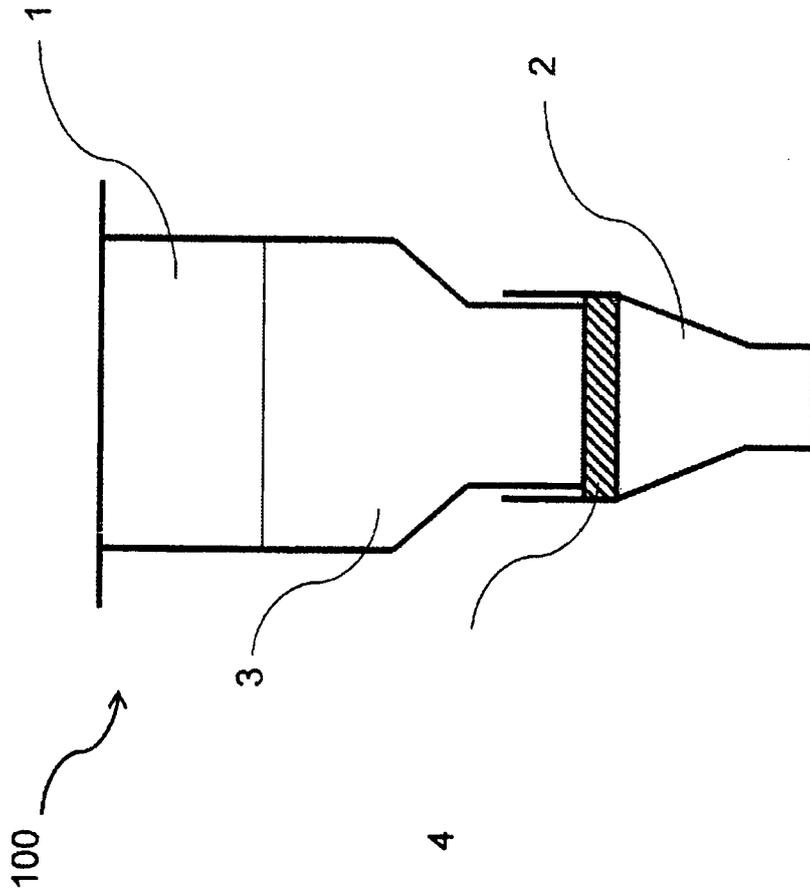
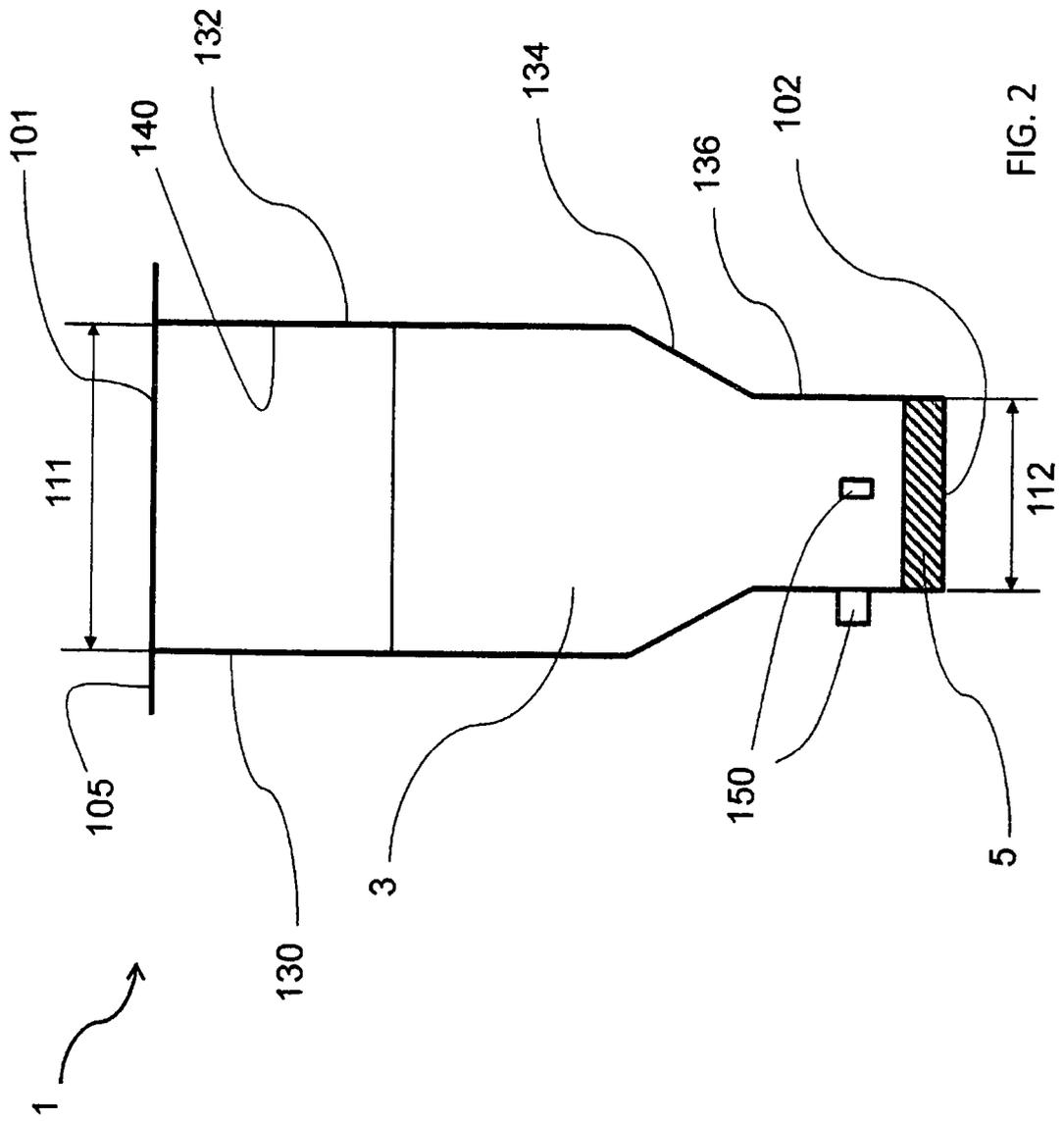


FIG. 1



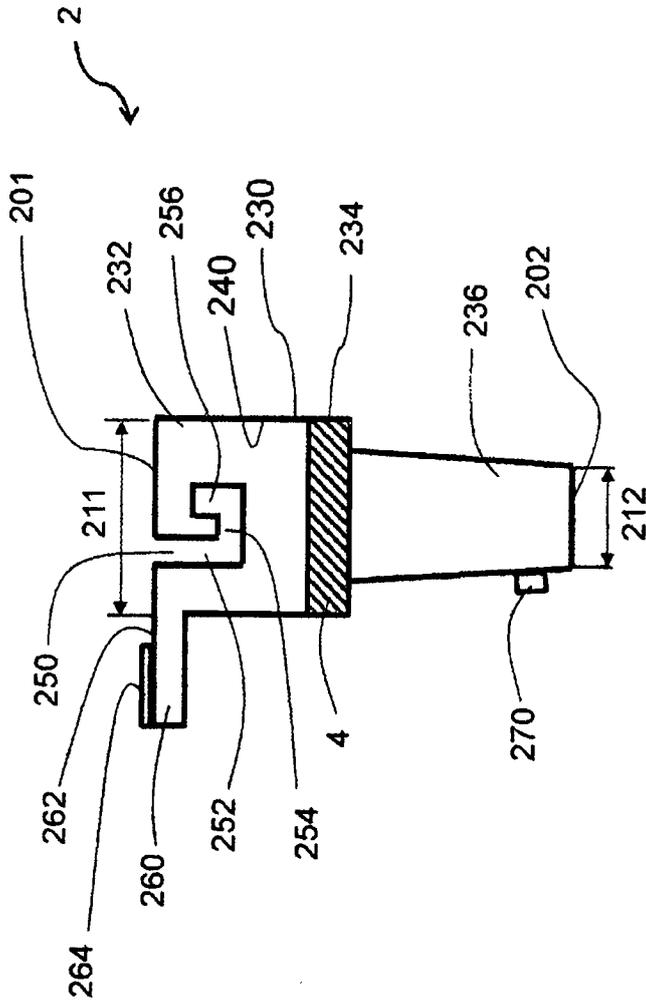


FIG. 3

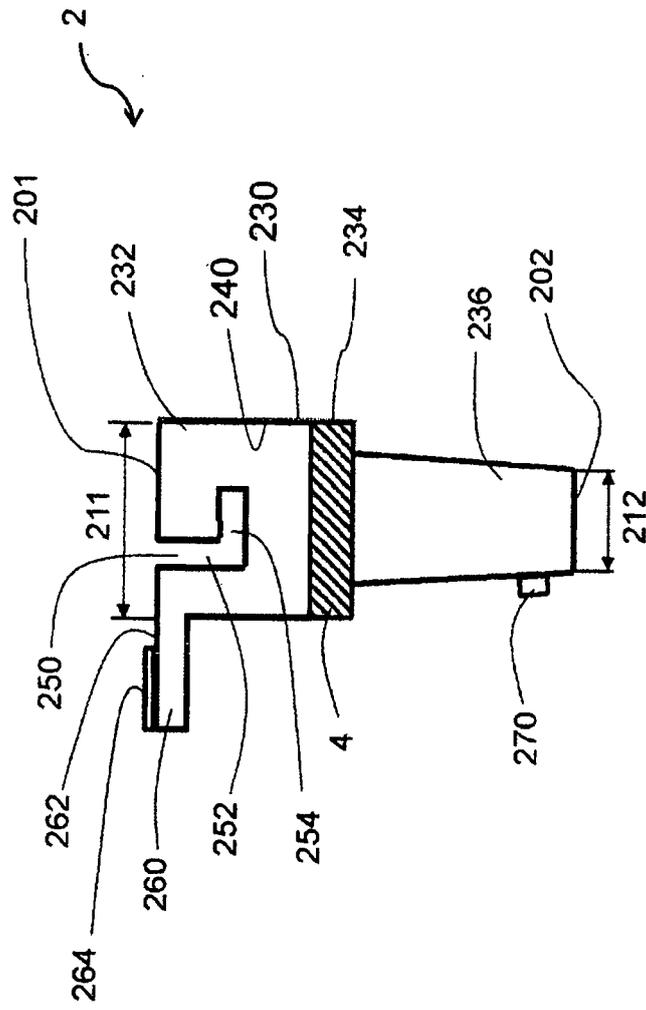


FIG. 4

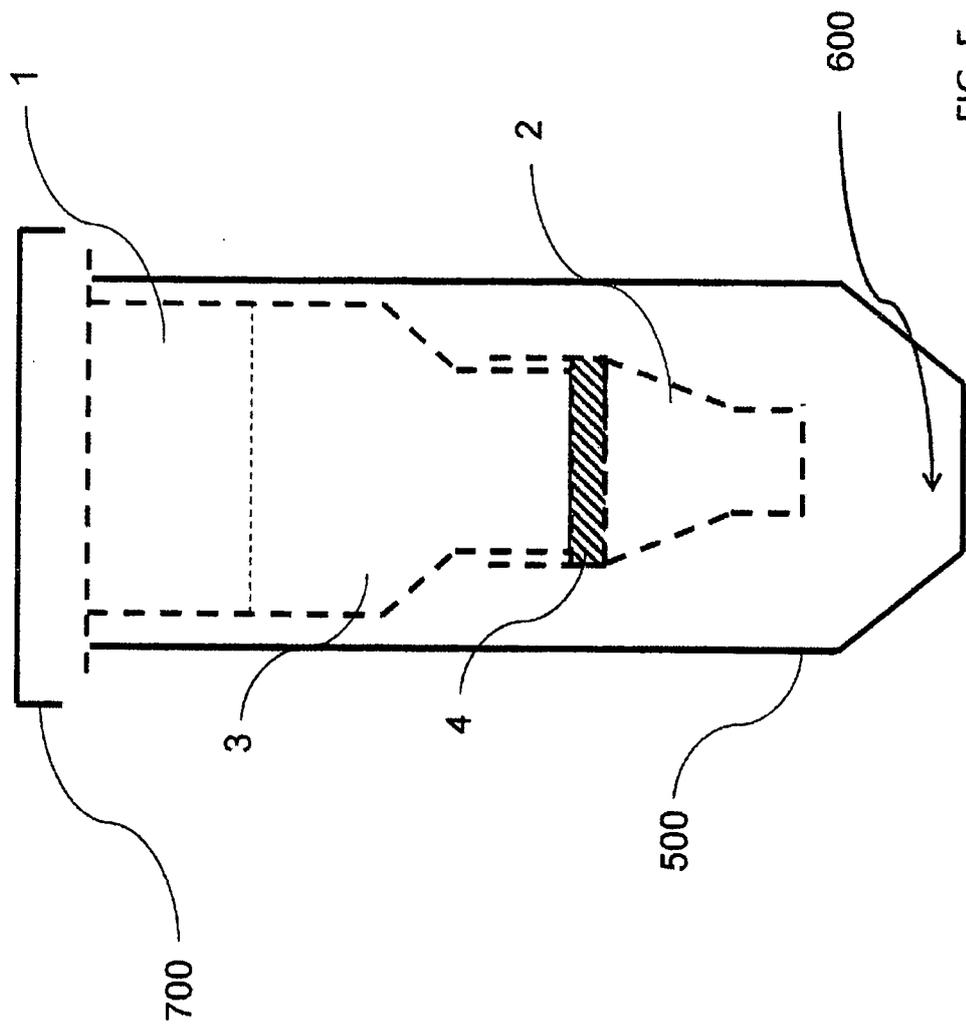


FIG. 5

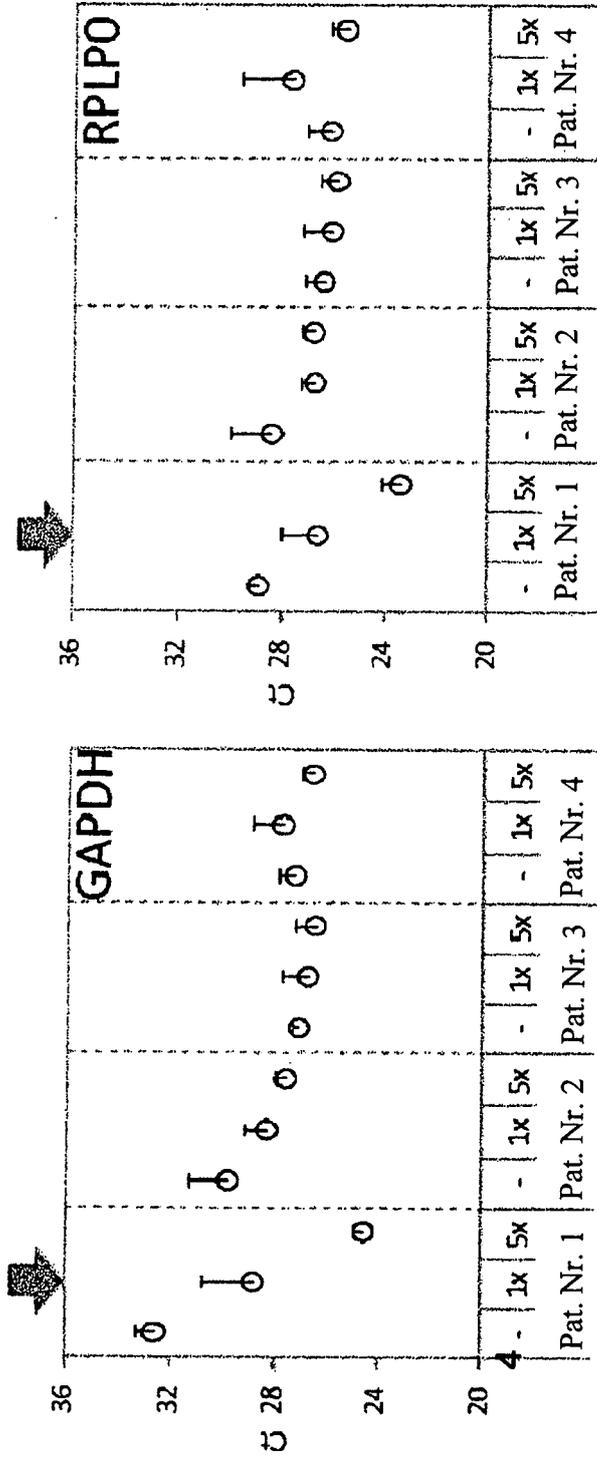


FIG. 6

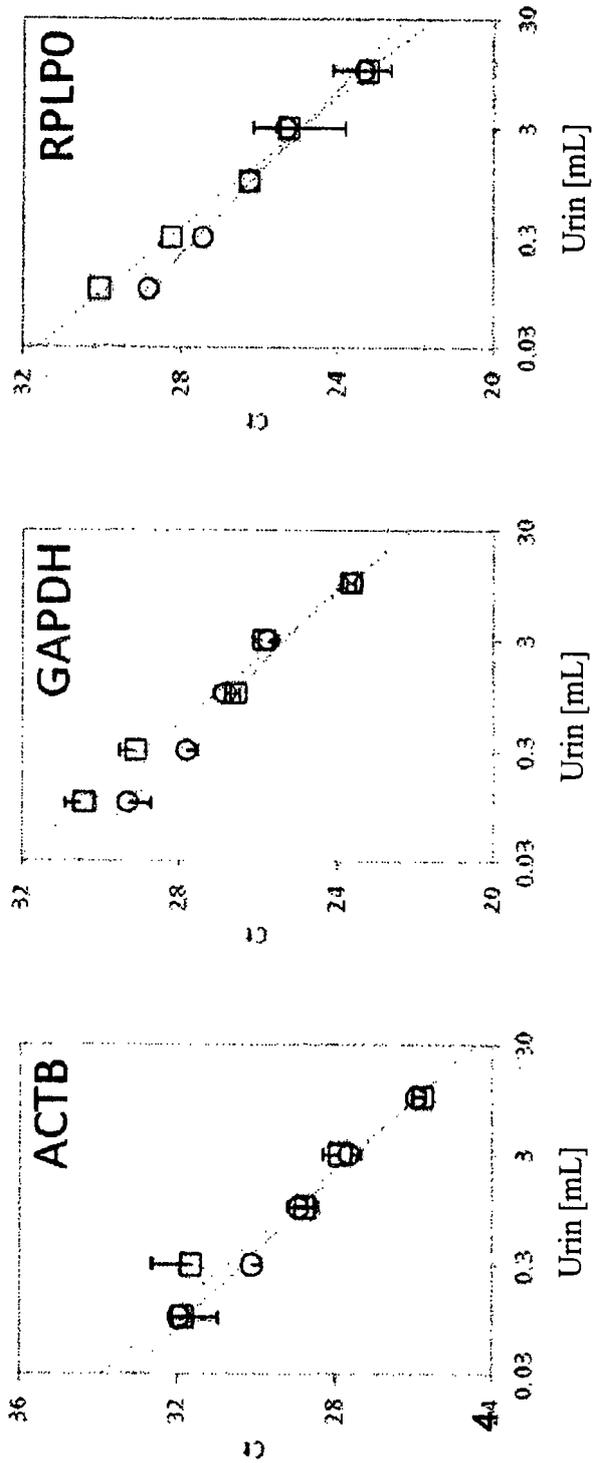
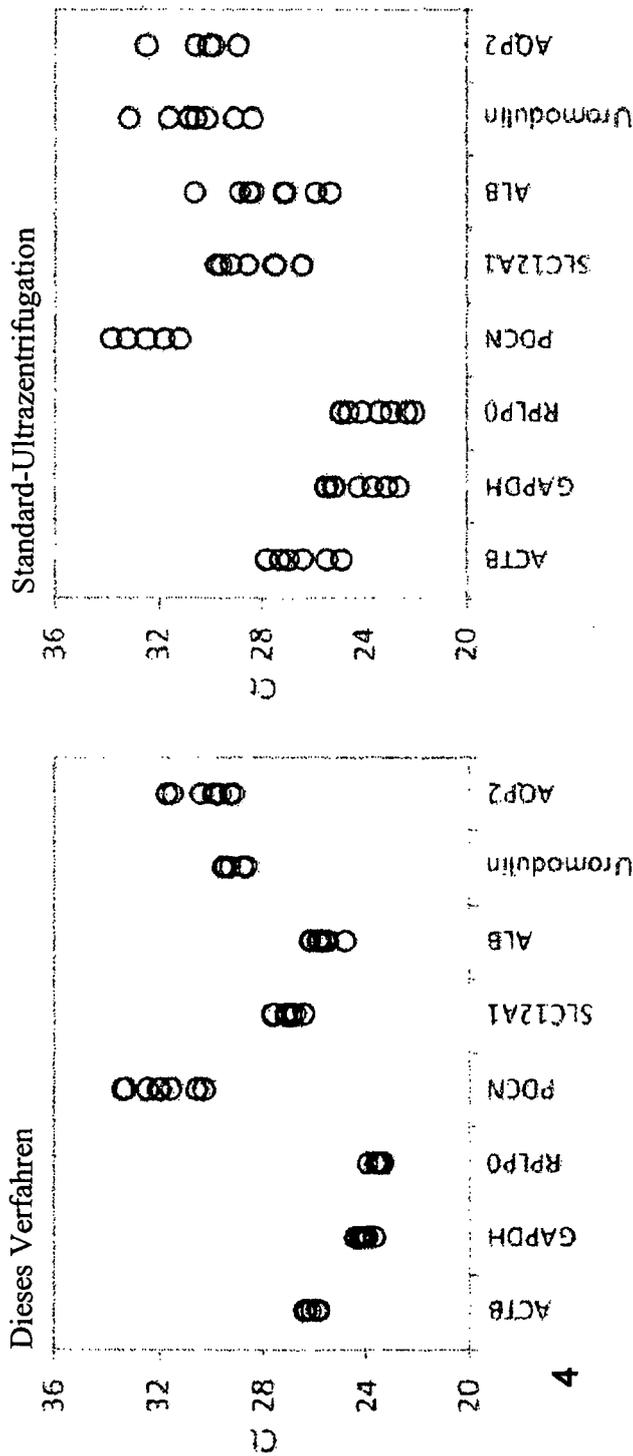


FIG. 7



	1	2	3	4	5	6	7	8	Mw	Std	CV
ACTB	Dieses Verfahren	26.2	26.3	25.9	25.9	26.4	25.9	25.9	26.0	0.2	0.9%
	Ultrazentrifuge	27.3	24.9	27.0	24.9	26.4	27.0	25.5	26.4	1.1	4.3%
GAPDH	Dieses Verfahren	23.9	24.4	24.2	23.7	24.3	24.1	24.3	24.1	0.2	1.0%
	Ultrazentrifuge	25.5	23.1	25.5	22.7	24.2	25.2	23.7	24.4	1.1	4.6%
RPLP0	Dieses Verfahren	23.4	23.6	23.6	23.4	23.5	23.4	23.9	23.5	0.2	0.8%
	Ultrazentrifuge	24.9	22.3	25.0	22.1	23.4	24.1	22.9	23.7	1.2	4.9%

FIG. 8-1

PDCN	Dieses Verfahren	30.3	32.0	33.3	31.9	33.4	30.6	32.4	31.6	31.9	1.1	3.5%
	Ultrazentrifuge	33.9	31.2	40.0	31.8	32.5	40.0	33.2	40.0	35.3	4.0	11.2%
SLC12A1	Dieses Verfahren	27.1	27.7	26.4	26.9	27.1	26.8	27.6	26.9	27.1	0.4	1.5%
	Ultrazentrifuge	29.8	26.5	28.6	26.4	27.5	29.2	27.5	29.6	28.1	1.4	4.8%
ALB	Dieses Verfahren	25.9	26.2	24.9	25.5	25.9	25.7	26.2	25.5	25.7	0.4	1.7%
	Ultrazentrifuge	28.9	25.9	30.6	25.4	27.1	28.5	27.2	28.3	27.7	1.7	6.1%
Uromodulin	Dieses Verfahren	29.3	29.5	28.8	29.5	28.6	28.7	29.6	29.6	29.2	0.4	1.4%
	Ultrazentrifuge	30.8	28.4	33.1	29.1	30.2	30.6	30.9	31.6	30.6	1.5	4.8%
AQP2	Dieses Verfahren	30.4	31.7	29.8	29.3	31.5	29.7	29.1	29.9	30.2	1.0	3.2%
	4 Ultrazentrifuge	40.0	30.1	32.5	29.0	30.6	40.0	29.9	40.0	34.0	5.1	14.9%

FIG. 8-2

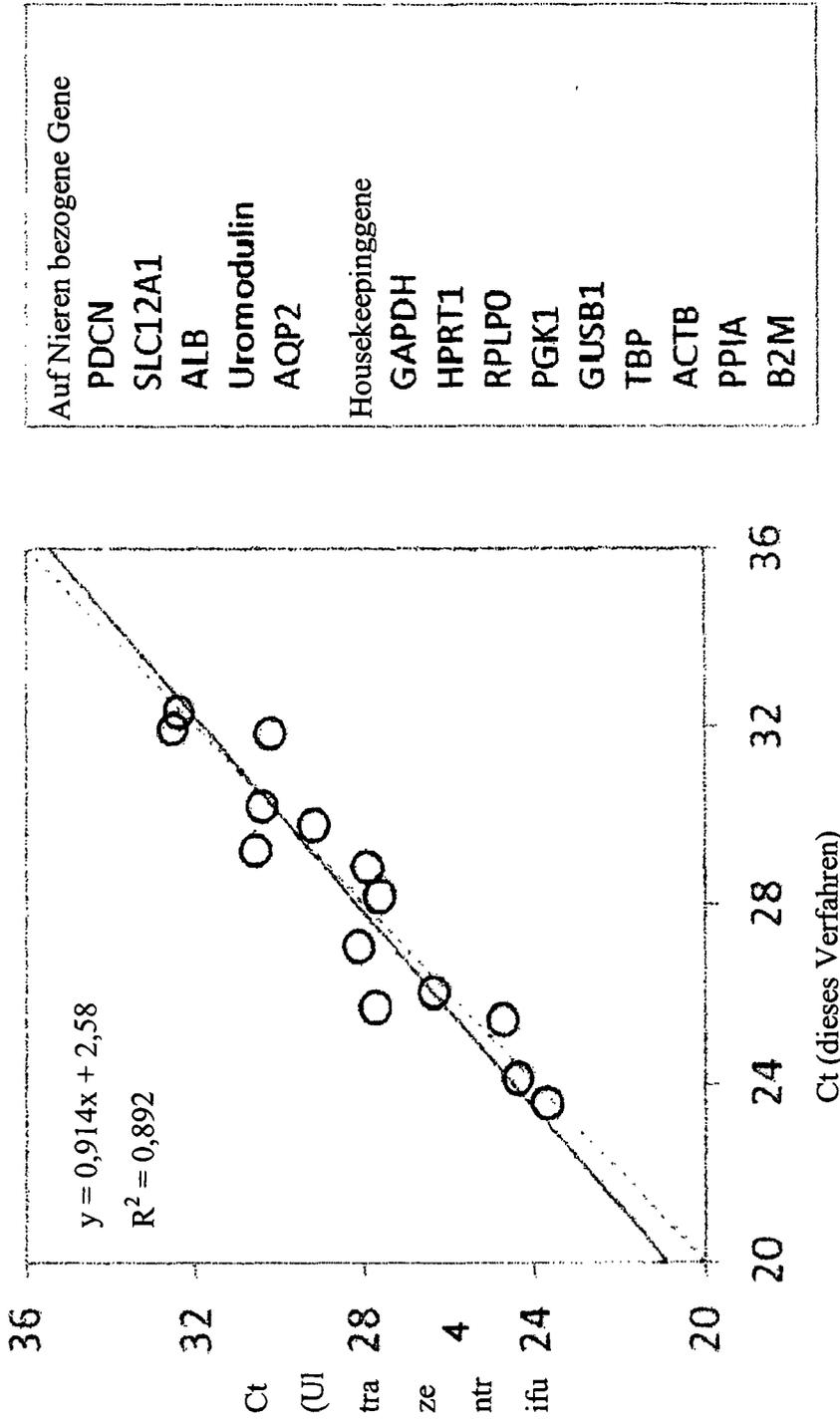


FIG. 9

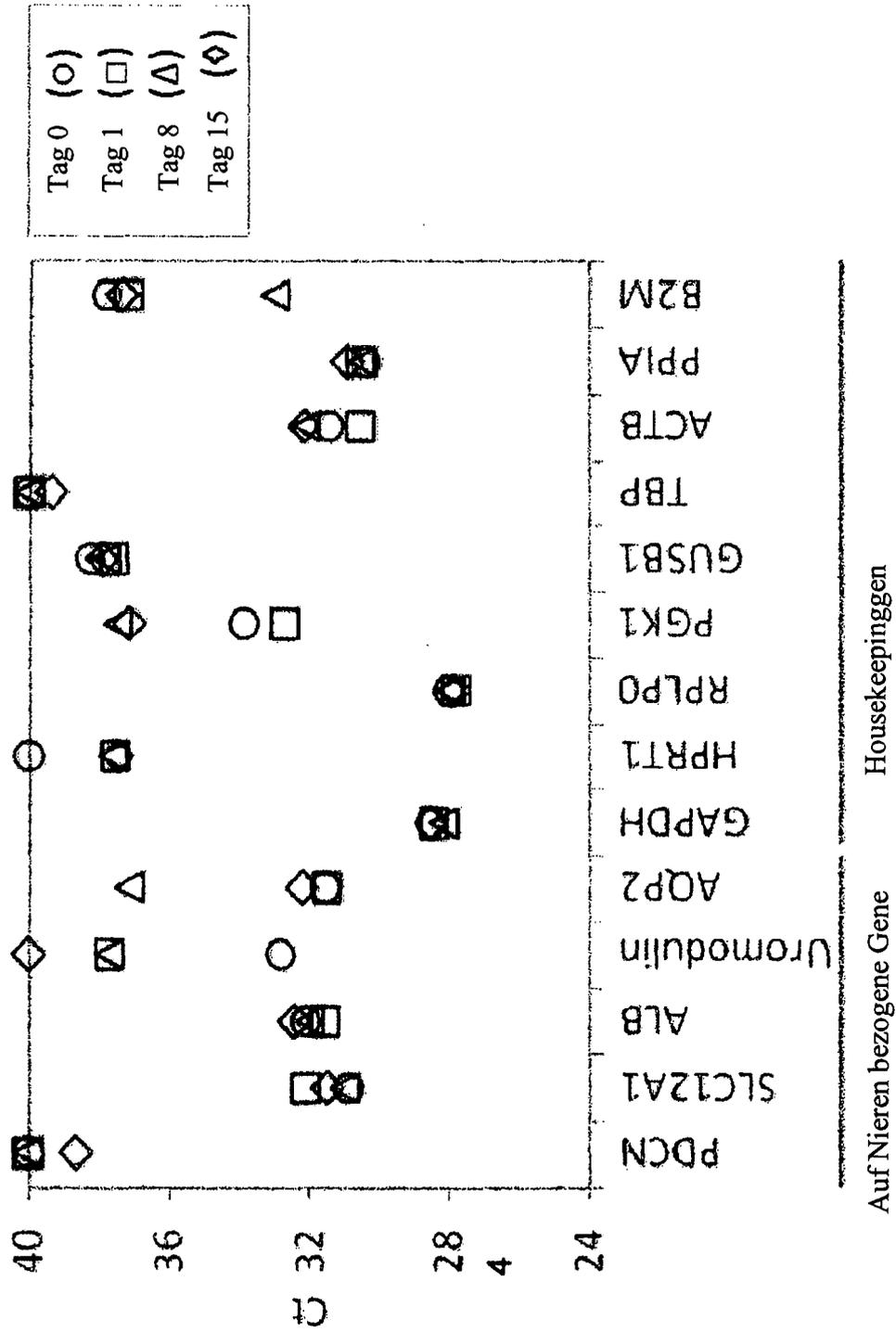


FIG. 10A

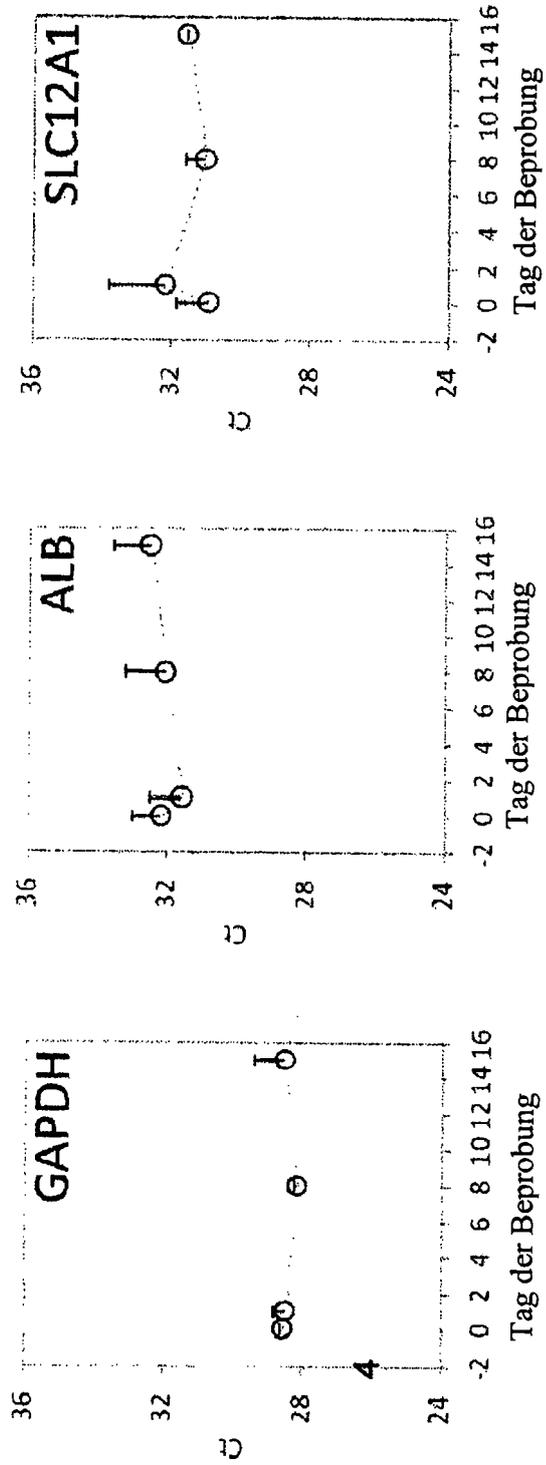


FIG. 10B