

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2004-501054(P2004-501054A)
 【公表日】平成16年1月15日(2004.1.15)
 【年通号数】公開・登録公報2004-002
 【出願番号】特願2000-524296(P2000-524296)
 【国際特許分類】

C 0 7 H 21/04 (2006.01)

C 0 7 H 1/08 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 0 7 H 21/04 A

C 0 7 H 1/08

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成17年6月3日(2005.6.3)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 核酸を含む生物学的材料由来の核酸を抽出する方法であって、ここで該方法は：

該生物学的材料を第1のpHにおいて固相と接触する工程であって、該pHで、該固相が、該核酸が該生物学的材料中の汚染物に優先して該固相に結合するような正電荷を有する工程；

該固相のpKaを超える、第2のより高いpHで核酸を放出し、該正電荷を逆転するかまたは中性化し、該固相から該結合した核酸を放出する工程、を包含し、ここで、該固相が、制御された細孔のガラス、ポリサッカライド、セラミック材料、多孔性のプラスチック材料、プラスチック材料、ポリスチレンビーズ、常磁性ビーズ、または単一の成形部分もしくは容器中の挿入物である多孔性のプラスチックプラグであり；そして、

ここで、該核酸が低塩緩衝液を用いて放出される、方法。

【請求項2】前記プラスチック材料が、ピペットチップ、ウェルプレートまたは深いウェルのプレート、またはPCRチューブの形態である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】前記溶出された核酸が、さらなる精製の必要性なくして分析またはPCRを用いる増幅される、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】前記低塩緩衝液が、pH 8.5の10mM Tris HClである、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項5】前記核酸が、6より小さいpHで前記固相に結合し、そして8より大きいpHで該固相から放出される、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】前記核酸が、実質的に中性のpHで前記固相に結合し、そして10より大きいpHで該固相から放出される、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】前記固相が、核酸に対する天然の親和性を有する材料から形成される、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】前記固相が、正電荷を導入し核酸をそれに結合させるか、または核酸に対するその親和性を増加する試薬で処理されたその表面を有する、請求項1～6のいずれ

か 1 項に記載の方法。

【請求項 9】前記核酸を結合し得る固相が、その pH をその pKa の上に変化することによって反転または中性化され得る、正電荷を有する電荷が切替え可能なイオン交換樹脂である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】前記イオン交換樹脂が、ヌクレオチド、ポリアミドまたはイミダゾール部分を含む化合物を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】前記固体材料の表面が、ヒスチジンまたはポリヒスチジンで処理される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】前記固相が、官能基を含むために修飾されたプラスチック表面を含有する、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】前記プラスチック材料がポリプロピレンである、請求項 11 または 12 に記載の方法。

【請求項 14】前記ポリプロピレン表面が、カルボキシル化された表面を作製するために酸化剤を用いて該表面を酸化することによって修飾される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】前記カルボキシル基が、アニオン交換基と共有結合的にカップリングすることによってさらに修飾され、電荷相互作用による核酸の結合を可能にする、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】前記アニオン交換基が、イミダゾール、ポリヒスチジンまたは強イオン交換体もしくは弱イオン交換体である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】前記固相が、少量の核酸を単離および固定化し、それによって次の PCR または他の遺伝子分析および操作のための鋳型を生成する、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】前記固相が多重ウェルプレートであり、それによって異なるサンプル由来の核酸の一連の抽出が実質的に同時に行われる、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 19】前記固相が、血液サンプルと、混合 / 攪拌デバイス中の前記固体材料と混合することによるか、該血液サンプルを、該固相上を通過することによるか、あるいは、該固相が磁化可能な支持体上で操作されて接触される、請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】前記固相がカラム中にあり、そして前記血液サンプルが該カラムを通して適用される圧力差によって該カラムを通して吸い上げられる、請求項 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】前記血液サンプルが、空気を用いて吸い上げられ、そして前記顆粒状固相流動化されるようになる、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】前記サンプルが、血液サンプルである、請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】前記血液中の細胞が溶解されて核酸を放出する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】前記細胞が、イオン性界面活性剤もしくは非イオン性界面活性剤、塩の低張溶液、タンパク質分解酵素、カオトロピック剤と接触することによってか、または pH 変化もしくは熱を使用することによって溶解される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】前記血液サンプルを、処理および注入をより容易にするために、水または他の希釈剤で希釈する工程を包含する、請求項 23 または 24 に記載の方法。