

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第1部門第1区分  
 【発行日】平成20年1月24日(2008.1.24)

【公表番号】特表2007-520209(P2007-520209A)  
 【公表日】平成19年7月26日(2007.7.26)  
 【年通号数】公開・登録公報2007-028  
 【出願番号】特願2006-541900(P2006-541900)  
 【国際特許分類】

**C 1 2 Q 1/68 (2006.01)**  
**C 1 2 Q 1/02 (2006.01)**  
**C 1 2 N 15/09 (2006.01)**  
**A 6 1 K 49/00 (2006.01)**  
**G 0 1 N 33/15 (2006.01)**  
**G 0 1 N 33/50 (2006.01)**  
**G 0 1 N 33/53 (2006.01)**

【F I】

|         |       |   |
|---------|-------|---|
| C 1 2 Q | 1/68  | A |
| C 1 2 Q | 1/02  |   |
| C 1 2 N | 15/00 | A |
| A 6 1 K | 49/00 | A |
| G 0 1 N | 33/15 | Z |
| G 0 1 N | 33/50 | Z |
| G 0 1 N | 33/53 | D |

【手続補正書】  
 【提出日】平成19年11月27日(2007.11.27)  
 【手続補正1】  
 【補正対象書類名】明細書  
 【補正対象項目名】0002  
 【補正方法】変更  
 【補正の内容】  
 【0002】

慢性同種移植片拒絶反応は、長期移植片生存の失敗の主要な原因である。処置可能な急性拒絶反応事象とは対照的に、慢性拒絶反応は、組織学的に検出されたとき今日までいかなる処置によっても可逆的ではなく、いかなる免疫抑制性レジメンでも予防できると証明されておらず、そしてその病因は免疫学的ならびに非免疫学的要因を含む以外、完全には理解されていない。全ての固形臓器移植片における慢性拒絶反応で特徴的なことは、血管リモデリングによる同心性動脈内膜肥厚である。慢性拒絶反応を有する腎臓同種移植片は、加えて著しい実質の線維症および糸球体硬化症を示す：臨床的に、慢性拒絶反応(CR)は、タンパク尿および高血圧を伴う腎臓機能の進行的低下により顕在化する。

【手続補正2】  
 【補正対象書類名】明細書  
 【補正対象項目名】0006  
 【補正方法】変更  
 【補正の内容】  
 【0006】

該バイオマーカー遺伝子は正常組織で低レベルで発現され、拒絶反応中発現される。CRをARと区別するために、好ましくは2個またはそれ以上の遺伝子を使用する。該バイオマーカーは移植片の状態の指標および病理学的変化の発症の指標である。それらは、臨

床的検出の観点で血清クレアチニンおよびウレアの上昇(低下した糸球体濾過率)として解釈される機能の著しい損失に至る前に、より感受性の検出手段として使用できる。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0034】

細胞の転写状態は、当分野で既知の他の遺伝子発現技術により測定し得る。いくつかのこのような技術は、二重制限酵素消化と位相プライマー(例えばEP-A1-0534858)を組み合わせた方法、または定義されたmRNA末端に最も近い部位で制限フラグメントを選択する方法(例えばPrashar et al, Proc. Nat. Acad. Sci., 93, 659-663, 1996)のような、電気泳動的分析のための限られた複雑さの制限フラグメントのプールを産生する。他の方法は、cDNAプールを、各多数のcDNAにおいて、各cDNAを同定するために十分な塩基(例えば20-50塩基)を配列決定することにより、または定義されたmRNA末端に対して既知の位置で産生される短タグ(例えば9-10塩基)(例えばVelculescu, Science, 270, 484-487, 1995)経路パターンにより統計学的にサンプルする。

。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0060

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0060】

AB着色剤(300  $\mu$ l):

【表6】

|                |                                                           |
|----------------|-----------------------------------------------------------|
| 150 $\mu$ l    | 2X MESハイブリダイゼーション緩衝液                                      |
| 146.25 $\mu$ l | 水                                                         |
| 3 $\mu$ l      | BSA(50mg/ml)                                              |
| 0.75 $\mu$ l   | ビオチニル化抗体(500 $\mu$ g/ml)(Vector laboratories, P/NBA-0500) |

カートリッジを37℃で30分インキュベートし、AB着色剤を200  $\mu$ l 1X MESハイブリダイゼーション緩衝液で置き換え、流体学的洗浄を行う。洗浄工程後、SSPE-T溶液を除去し、チャンバーをSAPE着色剤で満たし、37℃で15分インキュベートする。SAPE着色剤を200  $\mu$ l 1X MESハイブリダイゼーション緩衝液で置き換え、流体学的洗浄を行う。中隔をテー部でカバーし、緩衝液滲出を防止する。

マイクロアレイをAffymetrix GeneArray(登録商標)スキャナーでスキャンする。生データセットを、生のデータセットは、200の目標強度に対して各チップの全プローブセットの75%分位に縮小することにより標準化する。