

【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】令和1年10月31日(2019.10.31)

【公表番号】特表2018-534910(P2018-534910A)

【公表日】平成30年11月29日(2018.11.29)

【年通号数】公開・登録公報2018-046

【出願番号】特願2018-512289(P2018-512289)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6881 (2018.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 Q 1/6881 Z

C 1 2 N 15/09 Z

C 1 2 N 15/09 Z N A

【手続補正書】

【提出日】令和1年9月19日(2019.9.19)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

メバロン酸（ジホスホ）デカルボキシラーゼ（MVD）に対する哺乳動物の遺伝子領域における少なくとも1つのCpG位置のメチル化状態を分析することを含み、好ましくは、分析される該遺伝子領域が、配列番号1による単位複製配列に位置しており、非CD56+ NK細胞と比較した場合の該遺伝子領域の脱メチル化又はメチル化の欠失がCD56+NK細胞の指標となる、サンプルにおいてCD56+ NK細胞を同定する方法。

【請求項2】

前記少なくとも1つのCpG位置が、分析する前記遺伝子領域内の転写開始部位、プロモーター領域、5'又は3'非翻訳領域、エクソン、イントロン、エクソン/イントロン境界より上流の5'領域、及び/又は転写停止部位より下流の3'領域に存在する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記少なくとも1つのCpG位置が、配列番号1による単位複製配列におけるCpG位置1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、及び20から選択されるCpGから選択され、又は、配列番号2若しくは配列番号3によるバイサルファイト変換される配列による単位複製配列2674番のフラグメントにおけるCpG位置10、11、12、及び13から選択される、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

バイサルファイト転換性の分析がメチル化特異性酵素消化、バイサルファイトシーケンシングから選択される方法、プロモーターメチル化、CpGアイランドメチル化、MSP、HeavyMethyl、MethylLight、Ms-SNuPEから選択される分析、及び増幅DNAの検出に基づく他の方法を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

CD56+ NK細胞の相対量を、分析する領域におけるメチル化頻度の相対量と、GAPDHによ

って例示される対照遺伝子におけるメチル化頻度の相対量との比較に基づいて定量することを更に含む、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

前記サンプルがヒト血液サンプルを含む哺乳動物の体液、又は組織、器官若しくは細胞型の血液サンプル、血中リンパ球のサンプル若しくはその画分から選択される、請求項1~5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記CD56+ NK細胞と、濾胞性ヘルパーT細胞、B細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、単球、CD56++ (bright) NK細胞、及びヘルパーT細胞、並びに任意にNKT細胞から選択される細胞型の全て又は少なくとも1つとを区別することを更に含む、請求項1~6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

同定する前記細胞を、全血及び/又は非トリプシン処理組織を使用して精製及び/又は富化する工程なしに行われる、請求項1~7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

同定される前記CD56+ NK細胞に基づいて前記哺乳動物の免疫状態を決定する工程を更に含む、請求項1~8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

請求項5~9のいずれか一項に記載の方法を行うことと、さらに、同定された前記細胞の相対量を、同じ哺乳動物から先に又は並行して採取したサンプル及び/又は対照サンプルと比較することを含む、哺乳動物においてCD56+ NK細胞のレベルをモニタリングする方法。

【請求項11】

前記哺乳動物に与える化学物質及び/又は生物学的物質に応じて前記CD56+ NK細胞の量を測定及び/又はモニタリングすることを更に含む、請求項1~10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記哺乳動物が自己免疫疾患、移植片拒絶反応、感染性疾患、癌及び/又はアレルギーを患っているか、又はそれらを患う可能性がある、請求項1~11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

哺乳動物においてCD56+ NK細胞を、MVDの遺伝子領域のCpG位置のバイサルファイト接近性の分析に基づいて同定、定量及び/又はモニタリングするキットであって、請求項1~12のいずれか一項に記載の方法の実行用の成分を含む、又はa) バイサルファイト試薬、及びb) 配列番号1による領域のCpG位置から選択されるCpG位置のメチル化状態の分析用の材料、配列番号4~配列番号11による配列から選択されるオリゴマーを含む、キット。

【請求項14】

配列番号4~配列番号11のいずれかによるオリゴマー、又は配列番号1、配列番号2又は配列番号3による単位複製配列。

【請求項15】

哺乳動物においてCD56+ NK細胞の同定、定量及び/又はモニタリングをするための請求項13に記載のキット、又は請求項14に記載のオリゴマー若しくは単位複製配列を使用する方法。