

【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26年9月4日(2014.9.4)

【公開番号】特開2013-46615(P2013-46615A)

【公開日】平成25年3月7日(2013.3.7)

【年通号数】公開・登録公報2013-012

【出願番号】特願2012-196103(P2012-196103)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	19/02	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
A 6 1 P	7/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	17/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/74	(2006.01)
A 6 1 P	17/10	(2006.01)
A 6 1 P	17/06	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/02	Z N A
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/50	Z
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	35/74	A
A 6 1 P	17/10	
A 6 1 P	17/06	
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成26年7月16日(2014.7.16)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0089

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0089】

NF - B のコンセンサス結合配列 (5' - A G T T G A G G G G A C T T T C C C A G G C - 3') 或いは AP - 1 のコンセンサス結合配列 (5' - C G C T T G A T G A G T C A G C C G G A A - 3') (配列表等については、明細書の [SEQUENCE LISTING] を参照) を含む一本鎖 32 P 標識オリゴヌクレオチドプローブと共に核抽出物をインキュベートし、電気泳動によって分離し、オートラジオグラフィーによって可視化した。特異的 NF - B サブユニット抗体を用いて EMSA スーパーシフトを行った。EMSA、ウェスタンブロッティング (タンパク質及びリンタンパク質)、プロモーター特異的レポーター解析及び標的遺伝子発現 (例えば、fos 及び jun) によって、NF B 及び AP - 1 のシグナル伝達に対する B . テタイオタオミクロンの作用を測定した。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0109

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0109】

QIA amp DNA Stool Mini Kit (キアゲン社、英国、クローリー) を用いて DNA を抽出、精製した。PCR はテング (Teng) らの方法 (2000 年) に基づいた。テング (Teng) ら (2000 年) によって同定されたプライマー対、即ち、5' - T G G A G T T T T A C T T T G A A T G G A C - 3' (BTH - F) 及び 5' - C T G C C C T T T T A C A A T G G G - 3' (BTH - R) (配列表等については、明細書の [SEQUENCE LISTING] を参照) はシグマジェノシス社 (英国、ケンブリッジ) から購入した。Taq PCR Core Kit (キアゲン社、英国、クローリー) から入手した試薬に基づく反応混合物 (50 µl) には、上記 2 種類のプライマー (50 pmol)、dNTP 混合物 (10 nmol)、10X Qiagen PCR バッファー (5 µl)、5X Q 溶液 (10 µl)、サンプル (10 µl) 及び Taq DNA ポリメラーゼ (1.25 U) が含まれていた。ホットスタート PCR プログラムを用いた。Taq DNA ポリメラーゼを含まない反応混合物を 94 で 15 秒間加熱した後、(94 × 10 秒、55 × 30 秒、74 × 1 分) のサイクルを 35 回行って加熱し、更にその後 (74 × 2 分、45 × 2 秒) のサイクルを 1 回行って加熱した。アンプリコンを臭化エチジウム (1 µg / ml ゲル) を含むアガロースゲル (10 g / l) で分離した。糞便及び B . テタイオタオミクロンから DNA と共に単一アンプリコン (721 bp) を得た。これらのアンプリコンの配列は互いに一致しており、また公表された配列 (テング (Teng) ら、2000 年) と一致することが分かった。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2013046615000001.app