

【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】

N F - 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 A P - 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 3 2 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 N F - 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 、ウェスタンプロットティング ( 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 ( 例えは、 f o s 及び j u n ) によって、 N F - B 及び A P - 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】

Q I A a m p D N A S t o o l M i n i K i t ( キアゲン社、英国、クローリー ) を用いて D N A を抽出、精製した。 P C R はテング ( Teng ) らの方法 ( 2 0 0 0 年 ) に基づいた。テング ( Teng ) ら ( 2 0 0 0 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 A C T T T G A A T G G A C - 3 ' ( B T H - F ) 及び 5 ' - C T G C C C T T T T A C A A T G G G - 3 ' ( B T H - R ) ( 配列表等については、明細書の [ SEQUENCE LISTING ] を参照 ) はシグマジエノシス社 ( 英国、ケンブリッジ ) から購入した。 T a q P C R C o r e K i t ( 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 ( 5 0  $\mu$  l ) には、上記 2 種類のプライマー ( 5 0 p m o l ) 、 d N T P 混合物 ( 1 0 n m o l ) 、 1 0 X Q i a g e n P C R バッファー ( 5  $\mu$  l ) 、 5 X Q 溶液 ( 1 0  $\mu$  l ) 、サンプル ( 1 0  $\mu$  l ) 及び T a q D N A ポリメラーゼ ( 1 . 2 5 U ) が含まれていた。ホットスタート P C R プログラムを用いた。 T a q D N A ポリメラーゼを含まない反応混合物を 9 4 度 1 5 秒間加熱した後、 ( 9 4  $\times$  1 0 秒、 5 5  $\times$  3 0 秒、 7 4  $\times$  1 分 ) のサイクルを 3 5 回行って加熱し、更にその後 ( 7 4  $\times$  2 分、 4 5  $\times$  2 秒 ) のサイクルを 1 回行って加熱した。アンブリコンを臭化エチジウム ( 1  $\mu$  g / m l ゲル ) を含むアガロースゲル ( 1 0 g / l ) で分離した。糞便及び B . テタイオタオミクロンから D N A と共に単一アンブリコン ( 7 2 1 b p ) を得た。これらのアンブ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、 2 0 0 0 年 ) とも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