

【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 6 年 7 月 23 日 (2024.7.23)

【公開番号】 特開 2024-54242 (P2024-54242A)
【公開日】 令和 6 年 4 月 16 日 (2024.4.16)
【年通号数】 公開公報 (特許) 2024-070
【出願番号】 特願 2024-17072 (P2024-17072)
【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6806(2018.01)

10

C 1 2 Q 1/6869(2018.01)

C 1 2 Q 1/6886(2018.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6806 Z

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 1 2 Q 1/6886 Z

【手続補正書】

【提出日】 令和 6 年 7 月 12 日 (2024.7.12)

【手続補正 1】

20

【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】

(a) (i) 対象の核酸試料に由来する核酸分子と、(ii) フィラー核酸分子とを含む混合物を生成することであって、前記フィラー核酸分子は外来性であって、前記対象の核酸試料由来ではないこと、及び

(b) 前記混合物を、前記核酸分子の一つ以上のメチル化領域を免疫沈降することによる濃縮に供することであって、前記フィラー核酸分子が、前記一つ以上のメチル化領域の濃縮速度を増加させること、

30

を含む対象の核酸試料を処理する方法であって、前記 (a) における混合物が、(i) 前記核酸分子を含む複数の核酸分子と、(ii) 前記フィラー核酸分子を含む複数の核酸分子とを含み、前記 (b) が、前記複数のフィラー核酸分子を用いて、前記複数の核酸分子の複数のメチル化領域を濃縮することを含む前記方法。

【請求項 2】

前記核酸分子がデオキシリボ核酸 (DNA) 分子である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記核酸試料が無細胞 DNA (cfDNA) 試料である、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 4】

前記メチル化領域が少なくとも 99% の特異性で濃縮される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記複数のフィラー核酸分子が、少なくとも 5% メチル化されたフィラーデオキシリボ核酸 (DNA) 分子を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記複数のフィラー核酸分子の一つのフィラー核酸分子が、50 塩基対 (bp) から 800 bp の長さを有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記長さが 100 bp から 600 bp である、請求項 6 に記載の方法。

50

【請求項 8】

前記長さが 200bp から 600bp である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

前記混合物が、少なくとも 50 ナノグラムの核酸分子を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 (b) が、前記複数の核酸分子の前記複数のメチル化領域の一つのメチル化領域の一つ以上のメチル化ヌクレオチドに結合する結合剤を用いることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記結合剤がメチル CpG 結合ドメインを含むタンパク質を含む、請求項 10 に記載の方法。

10

【請求項 12】

前記タンパク質が MBD2 タンパク質である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記結合剤が抗体を含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 14】

前記抗体が 5-MeC 抗体である、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記抗体が 5-ヒドロキシメチルシトシン抗体である、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 16】

前記結合剤が、前記複数の核酸分子の非メチル化ヌクレオチドに対して、低下したレベルの非特異的結合を示す、請求項 10 に記載の方法。

20

【請求項 17】

前記複数の核酸分子またはその派生物を分析し、前記核酸試料の少なくとも一つの差次的メチル化領域 (DMR) を同定することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

前記 DMR が高メチル化を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 DMR が低メチル化を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 20】

前記分析が前記複数の核酸分子またはその派生物を配列決定することを含む、請求項 17 に記載の方法。

30

【請求項 21】

前記 DMR を、健常対照の核酸試料の DMR で処理することをさらに含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 22】

前記対象が膵臓腺癌 (PDAC) を有する、または PDAC を有する疑いがある、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 23】

(a) (i) 対象の核酸試料を提供すること、及び

40

(b) 前記核酸試料に由来する一つ以上の核酸分子を、前記一つ以上の核酸分子の一つ以上のメチル化領域を少なくとも 2.8 の CpG 濃縮スコアで濃縮するのに十分な条件下で処理することであって、前記 2.8 の CpG 濃縮スコアは、前記一つ以上のメチル化領域の CpG 頻度を、前記対象のゲノムの CpG 頻度で除することで決定されることを含む対象の核酸試料を処理する方法。

【請求項 24】

前記核酸試料が無細胞 DNA (cfDNA) 試料である、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記 (b) が、(i) 前記一つ以上の核酸分子及び (ii) フィラー核酸分子を含む混合物を生成することを含む、請求項 24 に記載の方法。

50

【請求項 26】

前記濃縮が前記一つ以上のメチル化領域を免疫沈降することを含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】

前記 CpG 濃縮スコアが少なくとも 2.9 ～ 3.3 である、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 28】

前記 (b) が濃縮された試料を生成し、(b) に続いて当該濃縮された試料またはその派生物が、前記核酸試料の少なくとも一つの DMR を同定する分析に供される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 29】

前記分析が配列決定を含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記一つ以上のメチル化領域が少なくとも 99 % の特異性で濃縮される、請求項 23 に記載の発明。

10

20

30

40

50