

【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8月8日(2019.8.8)

【公表番号】特表2018-526029(P2018-526029A)

【公表日】平成30年9月13日(2018.9.13)

【年通号数】公開・登録公報2018-035

【出願番号】特願2018-530661(P2018-530661)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 M 1/00 (2006.01)

C 12 Q 1/6886 (2018.01)

C 12 Q 1/6809 (2018.01)

【F I】

C 12 N 15/09 Z

C 12 M 1/00 Z N A A

C 12 Q 1/6886 Z

C 12 Q 1/6809 Z

【手続補正書】

【提出日】令和1年6月25日(2019.6.25)

【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】

生物学的試料を特徴づけるための方法であって、

(a)ヒト個体の生物学的試料におけるELMO1、ARHGEF4、EMX1、SP9、CLEC11A、ST8SIA1、BMP3、KCNA3、DMRTA2、KCNK12、CD1D、PRKCB、CYP26C1、ZNF568、ABCBL1、ELOVL2、PKIA、SFMBT2(893)、PCBP3、MATK、GRN2D、NDRG4、DLX4、PPP2R5C、FGF14、ZNF132、CHST2(7890)、FLI1、c13orf18およびZNF569から選択される2つ以上の遺伝子についてCpG部位のメチル化レベルを、

上記生物学的試料におけるゲノムDNAを、バイスルファイトを用いて処理すること、

上記選択された上記2つ以上の遺伝子に対するプライマーの以下の組：

配列番号21および22からなる、ELMO1に対するプライマーの組、

配列番号23および24からなる、ARHGEF4に対するプライマーの組、

配列番号25および26からなる、EMX1に対するプライマーの組、

配列番号27および28からなる、SP9に対するプライマーの組、

配列番号29および30からなる、CLEC11Aに対するプライマーの組、

配列番号13および14からなる、ST8SIA1に対するプライマーの組、

配列番号31および32からなる、BMP3に対するプライマーの組、

配列番号33および34からなる、KCNA3に対するプライマーの組、

配列番号35および36からなる、DMRTA2に対するプライマーの組、

配列番号37および38からなる、KCNK12に対するプライマーの組、

配列番号39および40からなる、CD1Dに対するプライマーの組、

配列番号 4 1 および 4 2 からなる、 P R K C B に対するプライマーの組、
 配列番号 4 3 および 4 4 からなる、 C Y P 2 6 C 1 に対するプライマーの組、
 配列番号 4 5 および 4 6 からなる、 Z N F 5 6 8 に対するプライマーの組、
 配列番号 9 および 1 0 からなる、 A B C B 1 に対するプライマーの組、
 配列番号 4 7 および 4 8 からなる、 E L O V L 2 に対するプライマーの組、
 配列番号 4 9 および 5 0 からなる、 P K I A に対するプライマーの組、
 配列番号 5 および 6 からなる、 S F M B T 2 (8 9 3) に対するプライマーの組

、
 配列番号 5 1 および 5 2 からなる、 P C B P 3 に対するプライマーの組、
 配列番号 5 3 および 5 4 からなる、 M A T K に対するプライマーの組、
 配列番号 5 5 および 5 6 からなる、 G R N 2 D に対するプライマーの組、
 配列番号 5 7 および 5 8 からなる、 N D R G 4 に対するプライマーの組、
 配列番号 5 9 および 6 0 からなる、 D L X 4 に対するプライマーの組、
 配列番号 6 1 および 6 2 からなる、 P P P 2 R 5 C に対するプライマーの組、
 配列番号 6 3 および 6 4 からなる、 F G F 1 4 に対するプライマーの組、
 配列番号 6 5 および 6 6 からなる、 Z N F 1 3 2 に対するプライマーの組、
 配列番号 6 7 および 6 8 からなる、 C H S T 2 (7 8 9 0) に対するプライマーの組、

配列番号 6 9 および 7 0 からなる、 F L I 1 に対するプライマーの組、
 配列番号 1 9 および 2 0 からなる、 c 1 3 o r f 1 8 に対するプライマーの組、
 配列番号 1 1 および 1 2 からなる、 Z N F 5 6 9 に対するプライマーの組、

を用いて、上記バイスルファイト処理済のゲノム DNA を增幅すること、および
 メチル化特異的 PCR 、定量的なメチル化特異的 PCR 、メチル化感受性 DNA 制限
 酵素分析、定量的なバイスルファイトバイロシークエンシングまたはバイスルファイトゲ
 ノムシークエンシング PCR によって上記 CpG 部位の上記メチル化レベルを決定する
 こと

によって、測定すること；

(b) 上記メチル化レベルを、胃がんなしのコントロール試料における、遺伝子の対応
 する組のメチル化レベルと比較すること；ならびに

(c) 上記 2 つ以上の遺伝子において測定された上記メチル化レベルが、それぞれの上
 記コントロール試料において測定された上記メチル化レベルより高いときに、上記個体が
 胃がんを有していることを、決定することを含んでいる、

方法。

【請求項 2】

上記生物学的試料が糞便試料または組織試料である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

上記組織が胃部組織である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

上記 CpG 部位がコード領域または制御領域に存在する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

2 つ以上の遺伝子についての上記メチル化レベル CpG 部位を、上記測定することが
 、上記 CpG 部位のメチル化スコアを決定すること、および上記 CpG 部位のメチル化頻
 度を決定することからなる群から選択される決定を含んでいる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

血漿試料を特徴づけるための方法であって、

(a) ヒト個体の血漿試料における E L M O 1 、 Z N F 5 6 9 、 C 1 3 o r f 1 8 、 C
 D 1 D 、 A R H G E F 4 、 S F M B T 2 、 P P P 2 5 R C 、 C Y P 2 6 C 1 、 P K I A 、
 C L E C 1 1 A 、 L R R C 4 および S T 8 S I A 1 から選択される 2 つ以上の遺伝子につ
 いて CpG 部位のメチル化レベルを、

上記生物学的試料におけるゲノム DNA を、バイスルファイトを用いて処理すること

、 上記選択された 2 つ以上の遺伝子に対するプライマーの以下の組：

配列番号 8 0 および 8 1 からなる、 E L M O 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 8 6 および 8 7 からなる、 Z N F 5 6 9 に対するプライマーの対、
 配列番号 7 4 および 7 5 からなる、 C 1 3 o r f 1 8 に対するプライマーの対、
 配列番号 9 8 および 9 9 からなる、 C D 1 D に対するプライマーの対、
 配列番号 9 5 および 9 6 からなる、 A R H G E F 4 に対するプライマーの対、
 配列番号 8 3 および 8 4 からなる、 S F M B T 2 に対するプライマーの対、
 配列番号 9 2 および 9 3 からなる、 P P P 2 5 R C に対するプライマーの対、
 配列番号 1 0 4 および 1 0 5 からなる、 C Y P 2 6 C 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 7 1 および 7 2 からなる、 P K I A に対するプライマーの対、
 配列番号 7 7 および 7 8 からなる、 C L E C 1 1 A に対するプライマーの対、
 配列番号 1 0 7 および 1 0 8 からなる、 L R R C 4 に対するプライマーの対、
 配列番号 1 0 1 および 1 0 2 からなる、 S T 8 S I A 1 に対するプライマーの対

を用いて、上記バイスルファイト処理済のゲノム D N A を増幅すること、および

メチル化特異的 P C R 、定量的なメチル化特異的 P C R 、メチル化感受性 D N A 制限酵素分析、定量的なバイスルファイトバイロシークエンシングまたはバイスルファイトゲノムシークエンシング P C R によって上記 C p G 部位の上記メチル化レベルを決定すること

によって測定すること；

(b) 上記メチル化レベルを、胃がんなしのコントロール試料における、遺伝子の対応する組のメチル化レベルと比較すること；ならびに

(c) 上記 2 つ以上の遺伝子において測定された上記メチル化レベルが、それぞれの上記コントロール試料において測定された上記メチル化レベルより高いときに、上記個体が胃がんを有していることを、決定することを含んでいる、方法。

【請求項 7】

上記 C p G 部位がコード領域または制御領域に存在する、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

2 つ以上の遺伝子についての上記メチル化レベル C p G 部位を、上記測定することが、上記 C p G 部位のメチル化スコアを決定すること、および上記 C p G 部位のメチル化頻度を決定することからなる群から選択される決定を含んでいる、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

生物学的試料を特徴づけるための方法であって、

ヒトの生物学的試料（当該生物学的試料が当該ヒト個体からの組織試料である）における E L M O 1 、 A R H G E F 4 、 E M X 1 、 S P 9 、 C L E C 1 1 A 、 S T 8 S I A 1 、 B M P 3 、 K C N A 3 、 D M R T A 2 、 K C N K 1 2 、 C D 1 D 、 P R K C B 、 C Y P 2 6 C 1 、 Z N F 5 6 8 、 A B C B 1 、 E L O V L 2 、 P K I A 、 S F M B T 2 (8 9 3) 、 P C B P 3 、 M A T K 、 G R N 2 D 、 N D R G 4 、 D L X 4 、 P P P 2 R 5 C 、 F G F 1 4 、 Z N F 1 3 2 、 C H S T 2 (7 8 9 0) 、 F L I 1 、 c 1 3 o r f 1 8 および Z N F 5 6 9 、または

ヒト個体の生物学的試料（当該生物学的試料が当該ヒト個体からの血漿試料である）における E L M O 1 、 Z N F 5 6 9 、 C 1 3 o r f 1 8 、 C D 1 D 、 A R H G E F 4 、 S F M B T 2 、 P P P 2 5 R C 、 C Y P 2 6 C 1 、 P K I A 、 C L E C 1 1 A 、 L R R C 4 および S T 8 S I A 1

、 いずれかから選択される 2 つ以上の遺伝子についての C p G 部位のメチル化レベルを

、 上記生物学的試料におけるゲノム D N A を、バイスルファイトを用いて処理すること；

上記選択された 2 つ以上の遺伝子に対するプライマーの組を用いて、上記バイスルファイト処理済のゲノム D N A を増幅すること；および

メチル化特異的 P C R、定量的なメチル化特異的 P C R、メチル化感受性 D N A 制限酵素分析、定量的なバイスルファイトパイロシークエンシングまたはバイスルファイトゲノムシークエンシング P C R によって、上記 C p G 部位の上記メチル化レベルを決定することによって、測定することを含んでいる、方法。

【請求項 10】

上記メチル化レベルを、胃がんなしのコントロール試料における遺伝子の対応する組のメチル化レベルと比較すること；ならびに

上記 2 つ以上の遺伝子において測定された上記メチル化レベルが、それぞれの上記コントロール試料において測定された上記メチル化レベルより高いときに、上記個体が胃がんを有していることを、決定することをさらに含んでいる、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

上記選択された 2 つ以上の遺伝子に対するプライマーの以下の対：

配列番号 2 1 および 2 2 からなる、 E L M O 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 2 3 および 2 4 からなる、 A R H G E F 4 に対するプライマーの対、
 配列番号 2 5 および 2 6 からなる、 E M X 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 2 7 および 2 8 からなる、 S P 9 に対するプライマーの対、
 配列番号 2 9 および 3 0 からなる、 C L E C 1 1 A に対するプライマーの対、
 配列番号 1 3 および 1 4 からなる、 S T 8 S I A 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 3 1 および 3 2 からなる、 B M P 3 に対するプライマーの対、
 配列番号 3 3 および 3 4 からなる、 K C N A 3 に対するプライマーの対、
 配列番号 3 5 および 3 6 からなる、 D M R T A 2 に対するプライマーの対、
 配列番号 3 7 および 3 8 からなる、 K C N K 1 2 に対するプライマーの対、
 配列番号 3 9 および 4 0 からなる、 C D 1 D に対するプライマーの対、
 配列番号 4 1 および 4 2 からなる、 P R K C B に対するプライマーの対、
 配列番号 4 3 および 4 4 からなる、 C Y P 2 6 C 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 4 5 および 4 6 からなる、 Z N F 5 6 8 に対するプライマーの対、
 配列番号 9 および 1 0 からなる、 A B C B 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 4 7 および 4 8 からなる、 E L O V L 2 に対するプライマーの対、
 配列番号 4 9 および 5 0 からなる、 P K I A に対するプライマーの対、
 配列番号 5 および 6 からなる、 S F M B T 2 (8 9 3) に対するプライマーの対
 、
 配列番号 5 1 および 5 2 からなる、 P C B P 3 に対するプライマーの対、
 配列番号 5 3 および 5 4 からなる、 M A T K に対するプライマーの対、
 配列番号 5 5 および 5 6 からなる、 G R N 2 D に対するプライマーの対、
 配列番号 5 7 および 5 8 からなる、 N D R G 4 に対するプライマーの対、
 配列番号 5 9 および 6 0 からなる、 D L X 4 に対するプライマーの対、
 配列番号 6 1 および 6 2 からなる、 P P P 2 R 5 C に対するプライマーの対、
 配列番号 6 3 および 6 4 からなる、 F G F 1 4 に対するプライマーの対、
 配列番号 6 5 および 6 6 からなる、 Z N F 1 3 2 に対するプライマーの対、
 配列番号 6 7 および 6 8 からなる、 C H S T 2 (7 8 9 0) に対するプライマーの対、
 配列番号 6 9 および 7 0 からなる、 F L I 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 1 9 および 2 0 からなる、 c 1 3 o r f 1 8 に対するプライマーの対、
 配列番号 1 1 および 1 2 からなる、 Z N F 5 6 9 に対するプライマーの対
 は、上記生物学的試料が組織試料である場合に使用される、請求項9に記載の方法。

【請求項 12】

上記選択された 2 つ以上の遺伝子に対するプライマーの以下の組：

配列番号 8 0 および 8 1 からなる、 E L M O 1 に対するプライマーの対、
 配列番号 8 6 および 8 7 からなる、 Z N F 5 6 9 に対するプライマーの対、
 配列番号 7 4 および 7 5 からなる、 C 1 3 o r f 1 8 に対するプライマーの対、

配列番号 9 8 および 9 9 からなる、C D 1 D に対するプライマーの対、
配列番号 9 5 および 9 6 からなる、A R H G E F 4 に対するプライマーの対、
配列番号 8 3 および 8 4 からなる、S F M B T 2 に対するプライマーの対、
配列番号 9 2 および 9 3 からなる、P P P 2 5 R C に対するプライマーの対、
配列番号 1 0 4 および 1 0 5 からなる、C Y P 2 6 C 1 に対するプライマーの対、
配列番号 7 1 および 7 2 からなる、P K I A に対するプライマーの対、
配列番号 7 7 および 7 8 からなる、C L E C 1 1 A に対するプライマーの対、
配列番号 1 0 7 および 1 0 8 からなる、L R R C 4 に対するプライマーの対、
配列番号 1 0 1 および 1 0 2 からなる、S T 8 S I A 1 に対するプライマーの対
は、上記生物学的試料が組織試料であると場合に使用される、請求項9に記載の方法。

【請求項 1 3】

上記組織試料が胃部組織試料である、請求項9に記載の方法。

【請求項 1 4】

上記 C p G 部位がコード領域または制御領域に存在する、請求項9に記載の方法。

【請求項 1 5】

2つ以上の遺伝子について上記メチル化レベル C p G 部位を上記測定することが、上記 C p G 部位のメチル化スコアを決定すること、および上記 C p G 部位のメチル化頻度を決定することからなる群から選択される決定を含んでいる、請求項9に記載の方法。