

【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 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6886 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6809 (2018.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 Z

C 1 2 M 1/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/6886 Z

C 1 2 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 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 から選択される 2 つ以上の遺伝子について 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 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 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組、

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組、

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組、

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組、

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組、

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組、

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組、

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組、

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組、

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組、

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 DNA 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；

(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 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 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 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 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 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 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80および81からなる、ELMO1に対するプライマーの対、
配列番号86および87からなる、ZNF569に対するプライマーの対、
配列番号74および75からなる、C13orf18に対するプライマーの対、
配列番号98および99からなる、CD1Dに対するプライマーの対、
配列番号95および96からなる、ARHGEF4に対するプライマーの対、
配列番号83および84からなる、SFMBT2に対するプライマーの対、
配列番号92および93からなる、PPP25RCに対するプライマーの対、
配列番号104および105からなる、CYP26C1に対するプライマーの対、
配列番号71および72からなる、PKIAに対するプライマーの対、
配列番号77および78からなる、CLEC11Aに対するプライマーの対、
配列番号107および108からなる、LRRC4に対するプライマーの対、
配列番号101および102からなる、ST8SIA1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DNAを増幅すること、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パイロシーケンシングまたはバイスルファイトゲノムシーケンシング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7】

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 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ELMO1、ARHGEF4、EMX1、SP9、CLEC11A、ST8SIA1、BMP3、KCNA3、DMRTA2、KCNK12、CD1D、PRKCB、CYP26C1、ZNF568、ABCB1、ELOVL2、PKIA、SFMBT2（893）、PCBP3、MATK、GRN2D、NDRG4、DLX4、PPP2R5C、FGF14、ZNF132、CHST2（7890）、FLI1、c13orf18およびZNF569、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ELMO1、ZNF569、C13orf18、CD1D、ARHGEF4、SFMBT2、PPP25RC、CYP26C1、PKIA、CLEC11A、LRRC4およびST8SIA1

いずれかから選択される2つ以上の遺伝子についての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組を用いて、上記バイスルファイト処理済のゲノムDNA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ケンシングまたはバイスルファイトゲノムシーケンシング 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 1 0】

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 1 1】

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 1 2】

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。