

【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29年6月29日 (2017.6.29)

【公表番号】特表2016-518860(P2016-518860A)

【公表日】平成28年6月30日 (2016.6.30)

【年通号数】公開・登録公報2016-039

【出願番号】特願2016-515024(P2016-515024)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/078 (2010.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A Z

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 15/00 F

C 1 2 M 1/00 A

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 5/078

C 1 2 N 9/10

C 0 7 K 16/18

【手続補正書】

【提出日】平成29年5月17日 (2017.5.17)

【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】

クロマチンを分析するための方法であって、

( a ) 少なくとも 1 の細胞の核のクロマチンを挿入酵素複合体と接触させてゲノム D N A の複数のタグ付き断片を生成するステップと；

( b ) 複数のタグ付き断片に核酸アッセイを行って断片情報を得るステップと；

( c ) コンピュータ処理装置を用いて、前記断片情報を前記少なくとも 1 の細胞のゲノム領域にマッピングすることによって、ゲノム領域のエピジェネティックな特徴の表示を生成するステップと

を含む方法。

【請求項 2】

クロマチンを細胞の核内で挿入酵素複合体と接触させる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

断片情報が、タグ付き断片のサイズ、ゲノム領域におけるタグ付き断片の位置、タグ付き断片の切断部位、タグ付き断片の長さ、及びゲノム領域における規定の長さの範囲のタグ付き断片の位置、の 1 以上を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

タグ付き断片に核酸アッセイを行うことが、タグ付き断片を配列決定して断片情報を得ることを含み、断片情報が配列リードを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

エピジェネティックな特徴が、ゲノム領域に沿ったクロマチン到達性のプロファイル、ゲノム領域中の結合部位の DNA 結合タンパク質占有率、ゲノム領域中の無ヌクレオソーム DNA、ゲノム領域に沿ったヌクレオソームの位置付け、ゲノム領域に沿ったクロマチン状態のプロファイル、の 1 以上を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

断片情報が、

( i ) 挿入酵素複合体の切断部位、

( i i ) 配列リードのリード長、

( i i i ) ゲノム領域における規定の長さの範囲の配列リードの位置、

( i v ) 配列リード存在量

の 1 以上を含む、請求項 4 記載の方法。

【請求項 7】

切断部位がクロマチンの無ヌクレオソーム領域内である、請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

少なくとも 1 の細胞が複数の細胞である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】

複数の細胞が 500,000 個未満の細胞を含む、請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

DNA 結合タンパク質が転写因子である、請求項 5 記載の方法。

【請求項 11】

クロマチン状態が、CTCF 関連、転写開始部位、弱いエンハンサー、エンハンサー、プロモーター隣接、転写、及び抑圧、の 1 以上を含む、請求項 5 記載の方法。

【請求項 12】

ゲノム領域が調節領域を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 13】

挿入酵素複合体がトランスポザーゼ又は HIV インテグラーゼを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 14】

トランスポザーゼが、原核生物のトランスポザーゼ、Tn トランスポザーゼ、MuA トランスポザーゼ、Vibharto トランスポザーゼ、HERMES、Ac-Ds、Ascot-1、Bsl、Cin4、Copial、En/Spm、F 因子、hobo、Hsmar1、Hsmar2、IN(HIV)、IS1、IS2、IS3、IS4、IS5、IS6、IS10、IS21、IS30、IS50、IS51、IS150、IS256、IS407、IS427、IS630、IS903、IS911、IS982、IS1031、ISL2、L1、Mariner、P 因子、Tam3、Tc1、Tc3、Tel、THE-1、Tn/O、TnA、Tn3、Tn5、Tn7、Tn10、Tn552、Tn903、Tol1、Tol2、Tn10、Ty1 から選択される、請求項 13 記載の方法。

【請求項 15】

挿入酵素複合体が 2 以上の酵素部分を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 16】

前記少なくとも 1 の細胞が血液試料由来である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 17】

挿入酵素複合体の配列挿入優先度に基づいて配列リード存在量を正規化することをさらに含む、請求項 6 記載の方法。

【請求項 18】

ステップ (a) の前に前記少なくとも 1 の細胞を透過処理するステップをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 19】**

ゲノム領域のエピジェネティックな特徴の表示を生成するキットであって、

(a) 細胞を透過処理又は溶解する少なくとも1の試薬、

(b) 挿入酵素複合体、及び

(c) (1) 当該キットの構成要素を細胞と組み合わせてゲノムDNAの複数のタグ付き断片を生成するステップと、(2) タグ付き断片を分析して前記表示を生成するステップを含む、エピジェネティックな特徴の表示の生成をするための指示書を含む、キット。

**【請求項 20】**

キットの構成要素が、少なくとも1の試薬及び挿入酵素複合体を細胞と組み合わせることが、(1) 細胞の透過処理又は溶解、及び、(2) ゲノムDNAの複数のタグ付き断片の生成の両方をもたらすように構成されている、請求項19記載のキット。

**【請求項 21】**

1以上の処理装置による実行の際に、前記表示を生成するコードを含むコンピュータ可読記憶媒体をさらに含む、請求項19記載のキット。

**【請求項 22】**

タグ付き断片の分析が少なくとも1の複数のタグ付き断片に核酸アッセイを行うことを含む、請求項19記載のキット。

**【請求項 23】**

挿入酵素複合体がトランスポザーゼ又はHIVインテグラーゼを含む、請求項19記載のキット。

**【請求項 24】**

トランスポザーゼが、原核生物のトランスポザーゼ、Tnトランスポザーゼ、MuAトランスポザーゼ、Vibharトランスポザーゼ、HERMES、Ac-Ds、Ascot-1、Bsl、Cin4、Copial、En/Spm、F因子、hobo、Hsmar1、Hsmar2、IN(HIV)、IS1、IS2、IS3、IS4、IS5、IS6、IS10、IS21、IS30、IS50、IS51、IS150、IS256、IS407、IS427、IS630、IS903、IS911、IS982、IS1031、ISL2、L1、Mariner、P因子、Tam3、Tc1、Tc3、Tel、THE-1、Tn/O、TnA、Tn3、Tn5、Tn7、Tn10、Tn552、Tn903、Tol1、Tol2、TnlO、Ty1から選択される、請求項23記載のキット。

**【請求項 25】**

トランスポザーゼ反応バッファーをさらに含む、請求項19記載のキット。

**【請求項 26】**

挿入酵素複合体が2以上の酵素部分を含む、請求項19記載のキット。

**【請求項 27】**

挿入酵素複合体が親和性タグを含む、請求項19記載のキット。

**【請求項 28】**

少なくとも1の試薬がNP40、ジギトニン、トゥイーン、ストレプトリシンおよびカチオン性脂質から選択される、請求項19記載のキット。

**【請求項 29】**

挿入酵素複合体に対するポリヌクレオチドの部位の到達性を判定する方法であって、

(a) ポリヌクレオチドを挿入酵素複合体と接触させて、分子タグでタグ付けされた少なくとも1の断片を生成するステップ、

(b) 前記少なくとも1の断片に核酸アッセイを行って挿入データを得るステップ、

(c) 挿入データを分析して、挿入酵素複合体に対するポリヌクレオチドの部位の到達性を判定するステップを含む、方法。

**【請求項 30】**

挿入データが、

( i ) ポリヌクレオチドにおける分子タグ挿入位置、及び

( i i ) 分子タグでタグ付けされた断片のサイズ

の 1 以上を含む、請求項 2 9 記載の方法。

【請求項 3 1】

分子タグが配列決定アダプターを含む、請求項 2 9 記載の方法。

【請求項 3 2】

ポリヌクレオチドが複数の会合分子に結合する、請求項 2 9 記載の方法。

【請求項 3 3】

挿入酵素がトランスポザーゼを含む、請求項 2 9 記載の方法。