

【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23年2月24日(2011.2.24)

【公表番号】特表2010-515449(P2010-515449A)

【公表日】平成22年5月13日(2010.5.13)

【年通号数】公開・登録公報2010-019

【出願番号】特願2009-545253(P2009-545253)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/68	Z N A A
C 1 2 Q	1/68	Z
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成23年1月6日(2011.1.6)

【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】

関心のある1以上のヌクレオチド配列(例えば、1以上のゲノム遺伝子座)との2以上の標的ヌクレオチド配列の相互作用の頻度を分析するための方法であって、

- (a) 架橋されたDNAのサンプルを準備し、
- (b) 該架橋DNAを一次制限酵素で消化し、
- (c) 該架橋ヌクレオチド配列を連結し、
- (d) 該架橋を逆転させ、
- (e) 場合によっては、該ヌクレオチド配列を二次制限酵素で消化し、
- (f) 場合によっては、既知ヌクレオチド組成の1以上のDNA配列を、関心のある1以上のヌクレオチド配列に隣接する利用可能な二次制限酵素消化部位に連結し、
- (g) 関心のあるヌクレオチド配列に隣接するDNA配列に各プライマーがハイブリダイズする少なくとも2つのオリゴヌクレオチドプライマーを使用して、多重PCRにより関心のある1以上のヌクレオチド配列を増幅し、
- (h) 該増幅配列をアレイにハイブリダイズさせ、
- (i) 該DNA配列間の相互作用の頻度を決定する工程を含んでなる、上記方法。

【請求項2】

工程(c)または(f)における連結反応がDNA環の形成をもたらす、請求項1記載の方法。

【請求項3】

工程(h)が、配列決定(例えば、ハイスループット配列決定)による、標的配列と関心のある架橋配列との間の連結産物の分析を含む、請求項1または請求項2記載の方法。

【請求項4】

工程(g)における標的配列のそれぞれから得られたPCR産物の一部または全部のプール、およびそれに続く、それらのDNA相互作用の同時分析を含む、関心のある1以上のヌクレオチド配列との2以上の標的ヌクレオチド配列の相互作用の頻度を分析するための、請求項1～3のいずれか1項記載の方法。

**【請求項 5】**

2以上の増幅された配列を、プールおよびアレイへのハイブリダイゼーションによる分析の前に示差的に標識する、請求項4記載の方法。

**【請求項 6】**

異なる染色体上に配列が存在する場合には、2以上の増幅された配列を同一に標識し、アレイへのハイブリダイゼーションにより分析する、請求項4または請求項5記載の方法。

**【請求項 7】**

DNA-DNA相互作用シグナル間の重複が最小になるのに十分な程度に遠い距離を隔てて同一染色体上に配列が存在する場合には、2以上の増幅配列を同一に標識する、請求項4記載の方法。

**【請求項 8】**

標的配列と関心のある捕捉配列との間で形成された連結接合部を分析するために、ハイスループット配列決定を用いる、請求項1～7のいずれか1項記載の方法。

**【請求項 9】**

配列決定が、増幅配列の末端への、配列決定に必要なアダプター配列の付加により、標的配列と関心のある捕捉配列との間で形成された連結接合部に向けられる、請求項8記載の方法。

**【請求項 10】**

配列決定が、関心のある1以上のヌクレオチド配列を増幅するために使用されるオリゴヌクレオチドプライマーへの、5'突出部としての配列決定に必要なアダプター配列の全部または一部の付加により、標的配列と関心のある捕捉配列との間で形成された連結接合部に向けられる、請求項9記載の方法。

**【請求項 11】**

配列決定が、関心のある1以上のヌクレオチド配列を増幅するために使用されるオリゴヌクレオチドプライマーへのビオチン基質または他の部分の結合、およびそれに続く、該PCR増幅物の、ストレプトアビジンまたはその他により媒介される精製により、標的配列と関心のある捕捉配列との間で形成された連結接合部に向けられる、請求項9記載の方法。

**【請求項 12】**

配列決定が、分析される一次および/または二次制限酵素認識部位から400、300、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1ヌクレオチド以内の関心のある1以上のヌクレオチド配列を増幅するために使用されるオリゴヌクレオチドプライマーを設計することにより、標的配列と関心のある捕捉配列との間の連結接合部に向けられる、請求項8～11のいずれか1項記載の方法。

**【請求項 13】**

配列決定が、関心のある1以上のヌクレオチド配列を増幅するために使用されるオリゴヌクレオチドプライマーを設計して、それらが、分析される一次および/または二次制限酵素認識部位に部分的または完全に重複するようにすることにより、標的配列と関心のある捕捉配列との間の連結接合部に向けられる、請求項8～11のいずれか1項記載の方法。

**【請求項 14】**

多重化またはプール化PCRサンプルを分析する場合、各標的配列および関心のある各捕捉配列を明らかに特定するために、連結接合部の各側において十分な配列情報（例えば、12ヌクレオチド以上）が得られるよう、配列を連結接合部を越えて読み取る、請求項8～13のいずれか1項記載の方法。

**【請求項 15】**

標的ヌクレオチド配列が、ゲノム再編成、プロモーター、エンハンサー、サイレンサー、絶縁体、マトリックス結合領域、遺伝子座制御領域、転写単位、複製起点、組換えホットスポット、転座切断点、動原体、テロメア、遺伝子密集領域、遺伝子過疎領域、反復要

素、転写因子結合部位および(ウイルス)組込み部位よりなる群から選ばれる、請求項1～14のいずれか1項記載の方法。

【請求項16】

標的ヌクレオチド配列が、疾患に関連している若しくは疾患を引き起こすヌクレオチド配列、または疾患に関連している若しくは疾患を引き起こす遺伝子座から線状DNA鑄型上の15Mbまで若しくはそれ以降に位置するヌクレオチド配列である、請求項1～15のいずれか1項記載の方法。

【請求項17】

標的ヌクレオチド配列が、AML1、MLL、MYC、BCL、BCR、ABL1、IGH、LYL1、TAL1、TAL2、LMO2、TCR / 、TCR およびHOX、または“Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberrations in Man” 2nd edition. Albert Schinzel. Berlin: Walter de Gruyter, 2001.

ISBN 3-11-011607-3に記載されているとおりの疾患に関連している他の遺伝子座よりなる群から選ばれる、請求項1～16のいずれか1項記載の方法。

【請求項18】

標的配列が、相互作用性配列が全染色体またはゲノムをカバーするよう、線状ゲノム鑄型に沿って分布している、請求項1～17のいずれか1項記載の方法。

【請求項19】

請求項1～18のいずれか1項記載の工程(a)～(i)を行う工程を含んでなる、特定の病態を示す1以上のDNA-DNA相互作用を特定するための方法であって、工程(a)において、罹患細胞および非罹患細胞から架橋DNAのサンプルを準備し、該罹患細胞および非罹患細胞からのDNA配列間の相互作用の頻度における相違が、該染色体鑄型の線状構成における相違(例えば、ゲノム再編成)を示し、これが特定の形質または病態を示す、上記方法。

【請求項20】

請求項1～18のいずれか1項記載の工程(a)～(i)を行う工程を含んでなる、DNA-DNA相互作用における変化により引き起こされる又は該変化に関連した疾患または症候群の診断または予後判定の方法であって、工程(a)が、被験者から架橋DNAのサンプルを準備することを含み、工程(i)が、該DNA配列間の相互作用の頻度を非罹患対照のものと比較することを含み、該対照から得た値と該被験者から得た値との相違が、該被験者が該疾患もしくは症候群に罹患していることを示す又は該被験者が該疾患もしくは症候群に罹患することになることを示す、上記方法。

【請求項21】

平衡および/または非平衡再編成、転座、逆位、欠失、重複または挿入の検出のための、請求項1～20のいずれか1項記載の方法。

【請求項22】

1以上のヌクレオチド配列(例えば、1以上のゲノム遺伝子座)との標的ヌクレオチド配列の相互作用の頻度を分析するための方法であって、

- (a) 架橋されたDNAのサンプルを準備し、
- (b) 該架橋DNAを一次制限酵素で消化し、
- (c) 該架橋ヌクレオチド配列を連結し、
- (d) 該架橋を逆転させ、
- (e) 場合によっては、該ヌクレオチド配列を二次制限酵素で消化し、
- (f) 該ヌクレオチド配列を環化し、
- (g) 該標的ヌクレオチド配列に連結された1以上のヌクレオチド配列を増幅し、
- (h) 配列決定(例えば、ハイスクループット配列決定)により該増幅配列を分析し、
- (i) 該DNA配列間の相互作用の頻度を決定することを含んでなる、上記方法。

【請求項23】

アレイハイブリダイゼーション工程の代わりに配列決定工程を行う、請求項1～21のいずれか1項記載の方法。