

【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9月19日(2019.9.19)

【公表番号】特表2018-532373(P2018-532373A)

【公表日】平成30年11月8日(2018.11.8)

【年通号数】公開・登録公報2018-043

【出願番号】特願2018-506840(P2018-506840)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 4 0 B	40/06	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6869	(2018.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
C 1 2 Q	1/48	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
G 0 1 N	33/574	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/09	Z N A Z
C 4 0 B	40/06	
C 1 2 Q	1/6869	Z
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 Q	1/48	Z
G 0 1 N	33/53	M
G 0 1 N	33/574	D
G 0 1 N	33/50	P

【手続補正書】

【提出日】令和1年8月9日(2019.8.9)

【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】

シーケンスライブラリーの調製方法であって、

- (a) 核酸を含む試料へのクロマチン結合剤の添加；
- (b) 前記剤が結合したクロマチンの単離；
- (c) 工程(b)の単離クロマチンへのトランスポザーゼの添加；
- (d) クロマチンからの核酸の単離；および
- (e) シーケンスライブラリーの入手、

を含む方法。

【請求項2】

核酸を含む分子間の相互作用のマッピング方法であって、

- (a) 核酸を含む試料へのクロマチン結合剤の添加；
- (b) 前記剤が結合したクロマチンの単離；
- (c) 工程(b)の単離クロマチンへのトランスポザーゼの添加；
- (d) クロマチンからの核酸の単離；
- (e) 核酸の増幅；

(f) 増幅された核酸の配列決定；および

(g) 分子間相互作用の特定、

を含む方法。

【請求項 3】

結合剤が抗体である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

核酸を含む試料が、

(i) 細胞の培養および回収；

(i i) 細胞の固定；

(i i i) 細胞の溶解およびそれによる核酸を含む第一試料の入手；並びに

(i v) 第一試料の超音波処理およびそれによる、第 1 項または第 2 項に記載の方法で使用されるべき、核酸を含む第二試料の入手、

によって調製された、請求項 1 ~ 3 に記載の方法。

【請求項 5】

細胞固定中に導入された架橋結合を外す工程をさらに含む、請求項 1 ~ 4 に記載の方法。

【請求項 6】

核酸が、DNA である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

細胞が、核酸 - タンパク質複合体を含む、請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

細胞が、ヒト細胞、動物細胞、細菌細胞、酵母細胞、古細菌細胞、植物細胞またはウイルスである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

ヒト細胞または動物細胞が、疾患細胞もしくは非疾患細胞、または疾患組織由来細胞もしくは非疾患組織由来細胞である、および / または、ヒト細胞または動物細胞が、がん細胞、免疫細胞、血液細胞または幹細胞である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

がんが、固形がんまたは血液がんであり、好ましくは、前記血液がんが、白血病であるか、または、固形がんが、腫瘍である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

工程 (i i) が、化学物質の添加および / または物理的手段を含む、および / または、工程 (i v) が、核酸断片の大部分が 20 ~ 5000 塩基対長、好ましくは 200 ~ 300 塩基対長になるまでの超音波処理を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 12】

抗体が、ヒストン、転写因子、またはヒストンおよび / もしくは転写因子に結合しているタンパク質に特異的に結合する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 13】

ヒストンおよび / または転写因子に結合しているタンパク質が、核酸リモーデリングタンパク質またはクロマチン修飾酵素であり、好ましくは、ヒストンが、H3.3、H2A.Z、CENP-A、H3.2、H3.3A、H3.3B、H4 または H3.1 であり、好ましくは、ヒストンが、修飾ヒストンであり、修飾がメチル化、アセチル化、プロピオニル化、ブチリル化、クロトニル化、2 - ヒドロキシイソブチリル化、マロニル化、サクシニル化および / またはリボシル化であり、好ましくは、修飾ヒストンが、H3K4me1 / 2 / 3、H2BK5me1、H3K27me1 / 2 / 3、H3K9me1 / 2 / 3、H4K20me1、H3K79me1、H3K36me3、H2AK5ac、H2AK9ac、H2BK5ac、H2BK12ac、H2BK20ac、H2BK120ac、H3K4ac、H3K9ac、H3K14ac、H3K18ac、H3K23ac、H3K27ac、H3K36ac、H4K5ac、H4K8ac、H4K12ac、H4K16ac、H4K91ac、H2Aub または H2Bub である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

結合剤が、化学物質であり、好ましくは、化学物質が、薬剤またはツール化合物（tool compound）であり、好ましくは、化学物質が、ビオチン化されている、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 1 5】

トランスポザーゼが、ランダムDNA配列タグまたは所定DNA配列タグを含み、好ましくは、トランスポザーゼが、Tn5トランスポザーゼである、請求項1または2に記載の方法。