

【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 12 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、T n 5 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。