

【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27年2月5日(2015.2.5)

【公表番号】特表2014-519310(P2014-519310A)

【公表日】平成26年8月14日(2014.8.14)

【年通号数】公開・登録公報2014-043

【出願番号】特願2013-552632(P2013-552632)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 Z N A Z

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成26年12月11日(2014.12.11)

【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】

メチル化が腺腫または癌を示す、マーカー核酸におけるC p G遺伝子座の定義された組を選択する方法であって、

a) 複数の正常試料に由来するマーカー核酸の複数の個々のコピーのそれぞれにおける複数のC p G遺伝子座のメチル化状態を決定することと、

b) 複数の腺腫試料または複数の癌試料に由来する前記マーカー核酸の複数の個々のコピーのそれぞれにおける前記複数のC p G遺伝子座のメチル化状態を決定することと、

c) 前記マーカー核酸における前記複数の前記C p G遺伝子座のそれぞれの遺伝子座に対するメチル化比を決定することと、

d) 前記マーカー核酸におけるC p G遺伝子座の定義された組を選択することであって、C p G遺伝子座の前記定義された組は、腺腫または癌と相關する有利なメチル化比を有する複数のC p G遺伝子座を含む、選択することと、

を含む、方法。

【請求項2】

前記メチル化比の前記決定は、前記正常試料における前記複数のC p G遺伝子座のそれにおける平均メチル化と、前記複数の腺腫試料または前記複数の癌試料における前記複数のC p G遺伝子座中の各対応するC p G遺伝子座における平均メチル化との比率を決定することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記正常、腺腫、または癌試料において分析されるマーカー核酸の前記複数の個々のコピーは、少なくとも100のコピーを含む、請求項1または請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記正常、腺腫、または癌試料において分析されるマーカー核酸の前記複数の個々のコピーは、少なくとも1000のコピーを含む、請求項1または請求項2に記載の方法。

【請求項5】

前記複数の正常、腺腫、または癌試料は、少なくとも10の試料を含む、請求項1から4の何れか1項に記載の方法。

【請求項 6】

C p G 遺伝子座の前記定義された組は、少なくとも 3 つの C p G 遺伝子座を含む、請求項 1 から 5 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記複数の C p G 遺伝子座のメチル化状態の前記決定は、前記試料に由来する D N A を重亜硫酸塩で処理することを含む、請求項 1 から 6 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記複数の C p G 遺伝子座のメチル化状態の前記決定は、前記マーカー核酸における前記複数の C p G 遺伝子座のデジタル分析を含む、請求項 1 から 7 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記デジタル分析は、デジタル配列決定およびデジタル P C Rの少なくとも一方を含む、請求項 8に記載の方法。

【請求項 10】

前記腺腫試料または前記癌試料は、結腸直腸試料を含む、請求項 1 から 9 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

試料中の癌または腺腫を検出する方法であって、少なくとも 1 つの癌または腺腫マーカー核酸分子における C p G 遺伝子座の定義されたサブセット中のそれぞれの C p G 遺伝子座のメチル化状態を決定することを含み、前記癌または腺腫マーカー核酸分子における C p G 遺伝子座の前記定義されたサブセット中の前記 C p G 遺伝子座のそれぞれにおけるメチル化は、前記試料中の癌または腺腫を示す、方法。

【請求項 12】

C p G 遺伝子座の前記定義されたサブセットは、少なくとも 3 つの C p G 遺伝子座を含む、請求項 1 1に記載の方法。

【請求項 13】

前記決定は、単一の核酸検出アッセイにおいて前記 C p G 遺伝子座のそれぞれのメチル化状態を決定するように構成される核酸検出アッセイにおける前記 C p G 遺伝子座の分析を含む、請求項 1 1に記載の方法。

【請求項 14】

前記決定は、単一の反応混合物において前記 C p G 遺伝子座のそれぞれのメチル化状態を決定するように構成される核酸検出アッセイにおける前記 C p G 遺伝子座の分析を含む、請求項 1 1に記載の方法。

【請求項 15】

前記核酸検出アッセイは、プライマー伸長アッセイ、核酸増幅アッセイ、核酸配列決定アッセイ、構造特異的切断アッセイ、5' ヌクレアーゼ切断アッセイ、侵襲的切断アッセイおよびライゲーションアッセイを含む群から選択される少なくとも 1 つのアッセイを含む請求項 1 3に記載の方法。

【請求項 16】

少なくとも 1 つの前記癌または前記腺腫マーカー核酸分子は、ビメンチン、B M P 3、セプチン 9、T F P I 2、L R A T の 2 つの領域、および E Y A 4 核酸分子からなる群から選択される、請求項 1 1に記載の方法。

【請求項 17】

前記 C p G 遺伝子座の前記定義されたサブセットは、
ビメンチン核酸分子における遺伝子座 3 7、4 0、および 4 5 と、
B M P 3 核酸分子における遺伝子座 3 4、5 3、および 6 1 と、
セプチン 9 核酸分子における遺伝子座 5 9、6 1、6 8、および 7 0 と、
T F P I 2 核酸分子における遺伝子座 5 5、5 9、6 3、および 6 7 と、
E Y A 4 核酸分子における遺伝子座 3 1、3 4、3 7、および 4 4 と
を含む群から選択された少なくとも 1 つの定義されたサブセットを含む請求項 1 1に記載

の方法。