

【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7月11日(2019.7.11)

【公表番号】特表2018-524978(P2018-524978A)

【公表日】平成30年9月6日(2018.9.6)

【年通号数】公開・登録公報2018-034

【出願番号】特願2017-564901(P2017-564901)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6876	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6844	(2018.01)
C 1 2 N	15/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/11	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6869	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6851	(2018.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/09	Z N A Z
C 1 2 Q	1/6876	Z
C 1 2 Q	1/6844	Z
C 1 2 N	15/10	1 1 2 Z
C 1 2 N	15/11	Z
C 1 2 N	15/10	1 1 0 Z
C 1 2 Q	1/6869	C
C 1 2 Q	1/6851	Z
G 0 1 N	33/50	P

【手続補正書】

【提出日】令和1年6月10日(2019.6.10)

【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】

第1のマトリックス材料を含むカラム、試料受けチャンバー、温度制御チャネル又はチャンバー、試薬及び/又は緩衝液を含有する複数のチャンバーを含み、使用中は前記チャンバーのうちの少なくとも1つが亜硫酸水素塩試薬を含有しており、前記チャンバーのうちの少なくとも1つが脱スルホン化/溶出緩衝液を含有しており、第2のマトリックス材料を含む第2のカラムを任意選択で含む、核酸のメチル化状態を決定するためのカートリッジ。

【請求項2】

使用中は、グアニジニウムチオシアネートエタノール(GTC-EtOH)を含む試薬を含有するチャンバーを含む、請求項1に記載のカートリッジ。

【請求項3】

前記第2のカラムが存在しない、請求項1又は2に記載のカートリッジ。

【請求項4】

前記温度制御チャネル又はチャンバーが熱サイクルチャネル又はチャンバーである、請

求項1から3のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 5】

前記亜硫酸水素塩試薬が、亜硫酸水素アンモニウム、メタ亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸水素カリウム、亜硫酸水素セシウム、及びDABSOからなる群から選択される化合物を含む、請求項1から4のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 6】

前記カートリッジが、メチル化特異的PCRプライマー、メチル化特異的PCRプローブ、PCR酵素、及びPCR反応緩衝液からなる群から選択される1つ又は複数の試薬を含有する1つ又は複数のチャンバーを含む、請求項1から5のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 7】

メチル化特異的PCRプライマー、メチル化特異的PCRプローブ、PCR酵素、及びPCR反応緩衝液からなる群から選択される1つ又は複数の試薬を含有する少なくとも2つのチャンバーを含有する、請求項6に記載のカートリッジ。

【請求項 8】

変換されたDNAのフォワード鎖のメチル化を検出するためのプライマー及びプローブを含有する少なくとも1つのチャンバーを含有する、並びに/又は

変換されたDNAのリバース鎖のメチル化を検出するためのプライマー及びプローブを含有する少なくとも1つのチャンバーを含有する、

請求項1から7のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 9】

前記PCRプライマー、及び/又はプローブ、及び/又は酵素をビーズとして提供する、請求項6から8のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 10】

前記試料受けチャンバー、前記カラム、前記複数のチャンバー、及び前記温度制御加熱チャネル又はチャンバーが、選択的に流体連結している、請求項1から9のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 11】

前記試料受けチャンバー、前記カラム、前記複数のチャンバー、及び前記温度制御チャネル又はチャンバーが、マイクロ流体チャネル及び弁によって選択的に流体連結している、請求項10に記載のカートリッジ。

【請求項 12】

前記試料受けチャンバー、前記カラム、前記複数のチャンバー、及び前記温度制御チャネル若しくはチャンバー又は前記温度制御チャネル若しくはチャンバー内へのポートが、中央弁の周りに配置されており、前記中央弁内のチャネルと選択的に流体連結しており、前記中央弁が、前記中央弁と流体連結しているチャンバーから流体を出し入れすることができるプランジャーを収容するように構成されている、請求項10に記載のカートリッジ。

【請求項 13】

使用中は、前記カートリッジが、
試料を含有する第1のチャンバーと、
グアニジニウムチオスルフェート-エタノール(GTC-EtOH)溶液を含有する第2のチャンバーと、
亜硫酸水素塩試薬を含有する第3のチャンバーと、
緩衝液を含有する第4のチャンバーと、
すぎ溶液を含有する第5のチャンバーと、
溶出/脱スルホン化試薬を含有する第6のチャンバーと
を含むように構成されている、請求項1から12のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 14】

前記第1のチャンバーがGTC-EtOH-Tween抽出/沈殿試薬中の前記試料を含有する、請求項13に記載のカートリッジ。

【請求項 15】

試料をカートリッジ内に入れる時点若しくはその間近に亜硫酸水素塩試薬をカートリッジに加えるように構成されている、及び/又は

試料をカートリッジ内に入れる時点若しくはその間近にGTC-ETOH-Tween緩衝液を加えるように構成されている、

請求項1から14のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 16】

亜硫酸水素塩試薬をカートリッジの成分として提供する、及び/又は
GTC-ETOH-Tween緩衝液をカートリッジの成分として提供する、
請求項1から14のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 17】

前記カートリッジが、PCRプライマー及び/又はプローブ及び/又はPCR酵素を含有する第7のチャンバーを含む、請求項1から16のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 18】

亜硫酸水素塩変換された、メチル化された、及び/又はメチル化されていない配列に特異的なプライマーを含有する1つ又は複数のチャンバーを含む、並びに/或いは

TaqMan PCR反応の試薬を含有する1つ又は複数のチャンバーを含む、並びに/或いは
増幅されたメチル化された配列のマーカーである1つ若しくは複数の蛍光プローブ及び/又は増幅されたメチル化されていない配列のマーカーである1つ若しくは複数の蛍光プローブを含有する、1つ又は複数のチャンバーを含む、

請求項1から17のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 19】

前記プローブが蛍光レポーター色素及び消光色素を含み、プローブが、Taq DNAポリメラーゼの5'から3'のヌクレアーゼ活性による切断の際にシグナルをもたらす、請求項18に記載のカートリッジ。

【請求項 20】

増幅された目的領域中の異なるメチル化された領域にそれぞれ特異的な複数のプローブを含む、又は

増幅された目的領域中の同じメチル化された領域にそれぞれ特異的な複数のプローブを含む、又は

増幅された目的領域中のメチル化された領域に特異的な単一のプローブを含む、
請求項18又は19に記載のカートリッジ。

【請求項 21】

MGMT、RASSF1A、ADAMTS1、BNC1、HIST1H3C、HOXB4、RASGRF2、TM6SF1、及びAKR1B1からなる群から選択される遺伝子のプロモーター領域のメチル化を決定するためのプライマー及び/又はプローブを含有する、並びに/或いは

表5(Table 5)、9(Table 9)、若しくは10(Table 10)に示す1つ若しくは複数のプライマー、及び/又は表5(Table 5)、9(Table 9)、若しくは10(Table 10)に示す1つ若しくは複数のプローブを含有する、

請求項1から20のいずれか一項に記載のカートリッジ。

【請求項 22】

メチルトランスフェラーゼについてのRNAの発現レベルを決定するために構成されている、請求項1から21のいずれか一項に記載のカートリッジ。