

【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11月12日(2015.11.12)

【公表番号】特表2014-527831(P2014-527831A)

【公表日】平成26年10月23日(2014.10.23)

【年通号数】公開・登録公報2014-058

【出願番号】特願2014-532073(P2014-532073)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年9月18日(2015.9.18)

【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】

ヒト対象由来の生物学的試料から決定された免疫グロブリンアイソタイププロファイルが疾患状態を示すかどうか決定する方法であって、

(a) 免疫グロブリン定常領域配列を含むアンプリコンを生成するために、生物学的試料から複数のRNA核酸を単離および増幅する工程であって、該RNAが免疫グロブリンアイソタイプ定常領域配列を含み、該生物学的試料が少なくとも10,000個のB細胞を含む複数の異なる細胞型を含む、工程、

(b) 1ラン当たり少なくとも10,000配列リードを生成する配列決定技術を用いる大規模並列配列決定反応においてアンプリコンを配列決定する工程、

(c) 各アイソタイプに特徴的な免疫グロブリン定常領域配列を抽出し、各アイソタイプのアイソタイプ配列の数を比較することによって工程 (b) 由来の配列データを分析し、それによって免疫グロブリンアイソタイププロファイルを決定する工程、および

(d) 免疫グロブリンアイソタイププロファイルが疾患状態に特徴的なものであるかどうかを決定する工程であって、該疾患状態が、自己免疫疾患、感染性疾患または癌である、工程、

を含む、方法。

【請求項2】

疾患状態が全身性エリテマトーデス (SLE) である、請求項1記載の方法。

【請求項3】

増幅する工程が、工程 (b) の前にRNAからcDNAを入手する工程を含む、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

SLEを有する対象に特徴的な免疫グロブリンアイソタイププロファイルが、健常成人に特徴的な免疫グロブリンアイソタイププロファイルと比較しての、IgGアイソタイプおよびIgAアイソタイプの増加、ならびにIgMアイソタイプおよびIgDアイソタイプの減少である、請求項2記載の方法。

【請求項5】

工程 (a) の増幅する工程が、免疫グロブリン定常領域配列にハイブリダイズする1~10の数のプライマーおよび免疫グロブリン可変領域配列にハイブリダイズする10~60の数の

プライマーを用いる多重増幅反応を含む、請求項1～4のいずれか1項記載の方法。

【請求項6】

生物学的試料が血液またはその画分である、請求項1～5のいずれか1項記載の方法。

【請求項7】

血液生物学的試料のサイズが100uL以下である、請求項6記載の方法。

【請求項8】

血液が末梢全血である、請求項6または7記載の方法。

【請求項9】

生物学的試料が末梢血単核細胞を含む血液画分である、請求項6または7記載の方法。

【請求項10】

大規模並列配列決定反応がシーケンシングバイシンセシス(sequencing-by-synthesis)反応である、請求項1～9のいずれか1項記載の方法。

【請求項11】

シーケンシングバイシンセシス反応が一分子配列決定を含む、請求項10記載の方法。

【請求項12】

アンプリコンが免疫グロブリンVDJ領域を含む、請求項1～11のいずれか1項記載の方法

。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

本発明の方法によって生成された免疫系のプロファイルは、疾患および障害の診断のため、そして疾患および障害の状態の診断のため、使用され得る。本発明の方法は、疾患および障害のモニタリング、ならびに疾患および障害の処置の査定において使用され得る。提供された発明の方法が適用され得る疾患および障害には、全身性エリテマトーデス(SEL)、多発性硬化症(MS)、関節リウマチ(RA)、および強直性脊椎炎を含む自己免疫疾患が含まれる。提供された発明の方法は、移植片拒絶および免疫老化の診断、モニタリング、および処置にも適用され得る。さらに、提供された発明の免疫プロファイル決定の方法は、癌および感染性疾患を含む、免疫系に関係するその他の疾患の診断、モニタリング、および処置のために使用され得る。

[本発明1001]

全血試料の免疫グロブリンアイソタイプを決定する方法であって、

(a) 対象から入手された複数の細胞型を含む生物学的試料から複数の核酸を単離する工程、

(b) 複数の核酸の中の免疫グロブリンの定常領域に特異的な配列を検出し、それによつて、免疫グロブリンアイソタイプを決定する工程を含む、方法。

[本発明1002]

核酸がRNAである、本発明1001の方法。

[本発明1003]

工程(b)の前にRNAからcDNAを入手する工程をさらに含む、本発明1002の方法。

[本発明1004]

全血試料サイズが100uL以下である、本発明1001の方法。

[本発明1005]

対象の生物学的状態を示す免疫グロブリンアイソタイププロファイルを決定する方法であつて、

(a) 対象から入手された複数の細胞型を含む生物学的試料から複数の核酸を単離する工程、

(b) 複数の核酸の中の免疫グロブリンの1個または複数の領域に特異的な配列を検出する工程；および

(c) 免疫グロブリンアイソタイプのプロファイルを生成するため、異なる配列のレベルを比較する工程
を含む、方法。

[本発明1006]

生物学的試料が、血液、血液画分、唾液、痰、尿、精液、経膣(transvaginal)液、脳脊髄液、便、細胞、または組織生検材料からなる群より選択される、本発明1001の方法。

[本発明1007]

生物学的試料が血液またはその画分である、本発明1006の方法。

[本発明1008]

血液が末梢全血である、本発明1007の方法。

[本発明1009]

全血試料サイズが100ul以下である、本発明1008の方法。

[本発明1010]

血液画分が末梢血単核細胞を含む、本発明1006の方法。

[本発明1011]

核酸がDNAである、本発明1005の方法。

[本発明1012]

DNAがcDNAである、本発明1011の方法。

[本発明1013]

核酸がRNAである、本発明1005の方法。

[本発明1014]

工程(b)の前にRNAからcDNAを入手する工程をさらに含む、本発明1013の方法。

[本発明1015]

検出工程がハイブリッドキャプチャーを使用して実施される、本発明1005の方法。

[本発明1016]

検出工程が配列決定テクノロジーを使用して実施される、本発明1005の方法。

[本発明1017]

配列決定テクノロジーがシーケンシングバイシンセシス(sequencing-by-synthesis)テクノロジーである、本発明1016の方法。

[本発明1018]

シーケンシングバイシンセシステクノロジーが一分子配列決定である、本発明1017の方法。

[本発明1019]

シーケンシングバイシンセシステクノロジーが大規模並列配列決定である、本発明1016の方法。

[本発明1020]

1個または複数の免疫グロブリン領域が免疫グロブリンVDJ領域を含む、本発明1005の方法。

[本発明1021]

1個または複数の免疫グロブリン領域がIg定常領域を含む、本発明1005の方法。

[本発明1022]

免疫グロブリンアイソタイププロファイルが正常な健常状態を示す、本発明1005の方法。
。

[本発明1023]

免疫グロブリンアイソタイププロファイルが疾患状態を示す、本発明1005の方法。

[本発明1024]

疾患状態が、自己免疫疾患、癌、および感染性疾患からなる群より選択される、本発明1023の方法。

[本発明1025]

自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデス（SLE）、多発性硬化症（MS）、関節リウマチ（RA）、および強直性脊椎炎からなる群より選択される、本発明1024の方法。

[本発明1026]

自己免疫疾患が全身性エリテマトーデス（SLE）である、本発明1025の方法。

[本発明1027]

免疫グロブリンアイソタイププロファイルが移植片拒絶または免疫老化を示す、本発明1005の方法。