

【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16年11月4日(2004.11.4)

【公表番号】特表2000-511776(P2000-511776A)

【公表日】平成12年9月12日(2000.9.12)

【出願番号】特願平10-500779

【国際特許分類第7版】

C 1 2 Q 1/68

C 1 2 N 15/09

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成15年11月25日(2003.11.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】



手続補正書

平成15年11月25日

(20,800円)



特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成10年特許願第500779号

2. 補正をする者

名 称 ザ ジョーンズ ホプキンス ユニバーシティー スクール
 オブ メディシン

3. 代 理 人

住 所 東京都港区虎ノ門1丁目17番1号
 虎ノ門5森ビル3階

電話番号 03 (3503) 8637

氏 名 (9109) 弁理士 平 木 祐 輔



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の内容

(1) 本願請求の範囲を別紙の通り補正する。

方 式 査 査
審 査



(別紙)

請求の範囲

1. メチル化されたCpG含有核酸を検出する方法であって、核酸含有検体を、非メチル化シトシンを修飾する試薬と接触させ、該検体中のCpG含有核酸をCpG特異的オリゴヌクレオチドプライマーにより増幅し、その際、該オリゴヌクレオチドプライマーは修飾された非メチル化核酸とメチル化核酸とを区別するものであり、そして、該増幅工程において生成される増幅産物の存在または不在に基づいてメチル化核酸を検出することを含んでなる方法。
2. 増幅工程がポリメラーゼ連鎖反応(PCR)である、請求項1に記載の方法。
3. 修飾試薬が重亜硫酸塩である、請求項1に記載の方法。
4. シトシンが修飾されてウラシルとなる、請求項1に記載の方法。
5. CpG含有核酸がプロモーター領域に存在する、請求項1に記載の方法。
6. 前記プロモーターが癌抑制遺伝子のプロモーターである、請求項5に記載の方法。
7. 癌抑制遺伝子がp16、p15、EカドヘリンおよびVHLよりなる群から選択される、請求項6に記載の方法。
8. CpG含有核酸がアンドロゲン受容体、エストロゲン受容体、TGF- β 1、TGF- β 2、p130、BRCA2、NF1、NF2、TSG101、MDGI、GST-pi、カルシトニン、HIC-1、エンドセリンB受容体、TIMP-2、O6-MGMT、MLH1、MSH2およびGFAPよりなる群から選択されるタンパク質をコードする、請求項1に記載の方法。
9. 前記検体が脳、結腸、尿生殖器、肺、腎臓、造血組織、乳房、胸腺、精巣、卵巣および子宮よりなる群から選択される組織に由来する、請求項1に記載の方法。
10. 前記検体が血清、尿、唾液、脳脊髄液、痰、射出精液、血液および糞便よりなる群から選択される、請求項1に記載の方法。
11. 前記核酸をメチル化感受性制限エンドヌクレアーゼと接触させることをさらに含む、請求項1に記載の方法。

12. 前記制限エンドヌクレアーゼがMspI、HpaII、BssHII、BstUIおよびNotIよりなる群から選択される、請求項11に記載の方法。
13. 前記検体におけるメチル化C p G含有核酸の存在が細胞増殖性疾患を示す、請求項1に記載の方法。
14. 前記疾患が低度星状細胞腫、未分化星状細胞腫、グリア芽細胞腫、髄芽細胞腫、結腸癌、肺癌、腎臓癌、白血病、乳癌、前立腺癌、子宮内膜癌および神経芽細胞腫よりなる群から選択される、請求項13に記載の方法。
15. 前記プライマーが配列番号1～104よりなる群から選択される配列を有する標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズする、請求項1に記載の方法。
16. 前記プライマーが配列番号105～208よりなる群から選択される、請求項1に記載の方法。
17. 非メチル化シトシンを修飾する試薬を含有する第1の容器を含む1個以上の容器を密着拘束状態で受容する区画化されている保持手段、およびC p G含有核酸の増幅用プライマーを含有する第2の容器を含んでなる、メチル化C p G含有核酸検出用キットであって、但し該プライマーが修飾されたメチル化核酸と非メチル化核酸とを区別するものである、前記キット。
18. 前記修飾試薬が重亜硫酸塩である、請求項17に記載のキット。
19. 前記試薬がシトシンを修飾してウラシルにするものである、請求項17に記載のキット。
20. 前記プライマーが配列番号1～104よりなる群から選択される配列を有する標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズする、請求項17に記載のキット。
21. 前記プライマーが配列番号105～208よりなる群から選択される、請求項17に記載のキット。
22. サンプルからメチル化C p G含有核酸を検出するためのキットであって、
- a) 非メチル化シトシンヌクレオチドを修飾する試薬、
 - b) 野生型の修飾されていない対照核酸、
 - c) 非メチル化C p G含有核酸の増幅用プライマー、
 - d) メチル化C p G含有核酸の増幅用プライマー、および
 - e) 修飾されていない対照核酸の増幅用プライマー、

を含んでなり、但し該非メチル化C p G含有核酸の増幅用プライマーと該メチル化C p G含有核酸の増幅用プライマーとが修飾されたメチル化核酸と非メチル化核酸とを区別するものである、前記キット。

23. 核酸増幅緩衝液をさらに含む、請求項22に記載のキット。

24. 非メチル化シトシンを修飾する試薬が重亜硫酸塩である、請求項22に記載のキット。

25. 前記プライマーが配列番号1～104よりなる群から選択される配列を有する標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズする、請求項22に記載のキット。

26. 前記プライマーが配列番号105～208よりなる群から選択される、請求項22に記載のキット。

27. メチル化C p G含有核酸を検出するための単離されたオリゴヌクレオチドプライマーであって、配列番号1～104よりなる群から選択される配列を有する標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするプライマー。

28. 前記プライマーの対が配列番号順で対にした配列番号105～208である、請求項27に記載のプライマー。

29. メチル化されたC p G含有核酸を検出する方法であって、

核酸含有検体を重亜硫酸塩と接触させて非メチル化シトシンを修飾し、

該検体中のC p G含有核酸をC p G特異的オリゴヌクレオチドプライマーにより増幅し、その際、該オリゴヌクレオチドプライマーは修飾された非メチル化核酸とメチル化核酸とを区別するものであり、および

前記増幅工程において生成される増幅産物の存在または不在に基づいてメチル化核酸を検出すること

を含んでなる、上記方法。

30. 被験者におけるT I M P－2核酸中のC p G島のメチル化と関連した細胞増殖性疾患を検出する方法であって、

被験者由来の組織または生物学的液体である検体中の標的核酸を、該標的核酸であるT I M P－2のメチル化を検出する試薬と接触させ、そして

T I M P－2標的核酸を検出すること

を含んでなり、その際、標的核酸である標的T I M P－2の高メチル化が、T

IMP-2と関連した細胞増殖性疾患を示す、上記方法。

31. メチル化を検出する前記試薬が制限エンドヌクレアーゼである、請求項30に記載の方法。

32. 前記制限エンドヌクレアーゼがメチル化感受性である、請求項31に記載の方法。

33. 前記制限エンドヌクレアーゼがMspI、HpaIIおよびBssHIIよりなる群から選択される、請求項32に記載の方法。

34. 前記検体が血清、尿、唾液、脳脊髄膜、痰、射出精液、血液および糞便よりなる群から選択される、請求項30に記載の方法。

35. 前記検体が脳、結腸、尿生殖器、肺、腎臓、造血組織、乳房、胸腺、精巣、卵巣および子宮よりなる群から選択される組織に由来する、請求項30に記載の方法。

36. 核酸配列の5'調節領域中のメチル化されたCpGを検出する方法であって、核酸含有検体を、非メチル化シトシンを修飾する試薬と接触させ、該検体中のCpG含有核酸をCpG特異的オリゴヌクレオチドプライマーにより増幅し、その際、該オリゴヌクレオチドプライマーは該5'調節領域中の修飾された非メチル化核酸とメチル化核酸とを区別するものであり、そして、前記増幅工程において生成される増幅産物の存在または不在に基づいてメチル化核酸を検出することを含んでなる、上記方法。

37. 前記試薬が重亜硫酸塩である、請求項36に記載の方法。

38. 増幅工程がポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によるものである、請求項36に記載の方法。

39. シトシンが修飾されてウラシルとなる、請求項36に記載の方法。

40. 5'調節領域がプロモーター領域内に存在する、請求項36に記載の方法。

41. 前記プロモーターが癌抑制遺伝子のプロモーターである、請求項40に記載の方法。

42. 癌抑制遺伝子がp16、p15、EカドヘリンおよびVHLよりなる群から選択される、請求項41に記載の方法。

43. 前記検体が脳、結腸、尿生殖器、肺、腎臓、造血組織、乳房、胸腺、精巣、
卵巣および子宮よりなる群から選択される組織に由来する、請求項36に記載
の方法。
44. 前記核酸をメチル化感受性制限エンドヌクレアーゼと接触させることをさら
に含む、請求項36に記載の方法。
45. 前記制限エンドヌクレアーゼがMspI、HpaII、BssHII、BstUIおよびNotIより
なる群から選択される、請求項44に記載の方法。
46. 前記5'調節領域におけるメチル化CpGの存在が細胞増殖性疾患を示す、
請求項36に記載の方法。
47. 前記疾患が低度星状細胞腫、未分化星状細胞腫、グリア芽細胞腫、髄芽細胞
腫、結腸癌、肺癌、腎臓癌、白血病、乳癌、前立腺癌、子宮内膜癌および神
経芽細胞腫よりなる群から選択される、請求項46に記載の方法。
48. 前記プライマーが配列番号1～104よりなる群から選択される配列を有する
標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズする、請求項36に記載の方法。
49. 前記プライマーが配列番号105～208よりなる群から選択される、請求項36に
記載の方法。