

【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26年7月3日(2014.7.3)

【公表番号】特表2013-501514(P2013-501514A)

【公表日】平成25年1月17日(2013.1.17)

【年通号数】公開・登録公報2013-003

【出願番号】特願2012-524268(P2012-524268)

【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 A

C 12 N 15/00 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成26年5月16日(2014.5.16)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0006

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0006】

本発明は、妊婦が担持している胎児の染色体異数性を検出するための方法を提供する。該方法は、(a)妊婦から採取された生体サンプル中の胎児由来のメチル化マーカーの量を決定する工程であって、ここでメチル化マーカーは染色体異数性に関連する染色体上、または染色体異数性に関連する染色体の部位内に位置し、かつ胎児由来のメチル化マーカーは、差次的なDNAメチル化によって、母体由来のその対応物から区別される工程；(b)サンプル中の胎児由来の遺伝マーカーの量を決定する工程であって、ここで遺伝マーカーは参照染色体上にみられ、かつ胎児由来の遺伝マーカーは、ポリヌクレオチド配列における相違によって、サンプル中の母体由来のその対応物から区別されるか、あるいは遺伝マーカーは母体ゲノムに存在しない、工程；(c)(a)および(b)から得られた量の比率を決定する工程；および(d)標準コントロールとの比率を比較する工程であって、ここで比率が標準コントロールよりも高いかまたは低い場合に、胎児における染色体異数性の存在が示される工程を含む。標準コントロール値は、検出方法に用いられる特定の方法論に依存してわずかな変動がみられ得るが、典型的には、ヒトゲノムにおいて予測される遺伝子、または染色体量、または比率に近い。例えば正倍数体の雄性ゲノムでは、第21染色体は2コピー、Y染色体は1コピーある。従って、第21染色体上のエピジェネティックマーカーの、Y染色体上の遺伝マーカーに対する量の比率はおよそ2となるであろう。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0014

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0014】

幾つかの場合には、染色体異数性に関連する染色体は、第13、第18、第21、またはX染色体である。データ解釈の目的で、場合によって、比率が標準コントロールより少なくとも1標準偏差高いかまたは低い場合に、胎児に染色体異数性のあることが示されるが、比率が標準コントロールより少なくとも2または3標準偏差高いかまたは低い際であ

っても、胎児に染色体異数性のあることが示される場合もある。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記工程を含む、妊婦に担持されている胎児の染色体異数性を検出するための方法：

(a) 妊婦から採取された生体サンプル中の胎児由来のメチル化マーカーの量を決定する工程であって、前記メチル化マーカーは染色体異数性に関連する染色体上、または染色体異数性に関連する染色体の部位内に位置し、かつ前記胎児由来のメチル化マーカーは、差次的なDNAメチル化によって、母体由来のその対応物から区別される、工程；

(b) 前記サンプル中の胎児由来の遺伝マーカーの量を決定する工程であって、前記遺伝マーカーは参照染色体上に位置し、かつ前記胎児由来の遺伝マーカーは、ポリヌクレオチド配列における相違によって、前記サンプル中の母体由来のその対応物から区別されるか、あるいは前記遺伝マーカーは母体ゲノムに存在しない、工程；

(c) (a) および (b) から得られた量の比率を決定する工程；および

(d) 前記比率を標準コントロールと比較する工程であって、前記比率が標準コントロールよりも高いかまたは低い場合に、胎児における染色体異数性の存在が示唆される、工程。

【請求項 2】

前記胎児由来のメチル化マーカーが胎盤に由来する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記母体由来の対応物が妊婦の血液細胞に由来する、請求項 1 または請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記胎児由来のメチル化マーカーが母体由来のその対応物よりも高度にメチル化されているか、前記胎児由来のメチル化マーカーが母体由来のその対応物よりも低度にメチル化されている、請求項 1 ~ 請求項 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記サンプルが母体の全血、血清、血漿、尿、羊水、生殖器洗浄液、胎盤組織サンプル、絨毛膜絨毛サンプルであるか、または母体血から分離された胎児の細胞を含むサンプルである、請求項 1 ~ 請求項 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記サンプルが胎児の核酸を含む、請求項 1 ~ 請求項 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記メチル化マーカーがホロカルボキシラーゼ合成酵素 (HLCs) 遺伝子の一部であるか、ホロカルボキシラーゼ合成酵素 (HLCs) 遺伝子に近接するか、HLCs 遺伝子の推定プロモーターであるか、または、マーカー 18A もしくはマーカー 13A である、請求項 1 ~ 請求項 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記工程 (a) が、メチル化DNAと非メチル化DNAとを差次的に修飾する試薬で前記サンプルを処理することを含み、

前記試薬が、

(i) 亜硫酸水素塩、またはメチル化状態に基づいてDNAに結合するタンパク質もしくは化学物質、

(ii) メチル化DNAを優先的に切断する酵素、または

(iii) 非メチル化DNAを優先的に切断する酵素、

を含む、請求項 1 ~ 請求項 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

- (i) 前記遺伝マーカーが、母体ゲノムに存在しない、
- (i i) 前記遺伝マーカーが、Y染色体上に位置する、
- (i i i) 前記遺伝マーカーが、Y連鎖ジンクフィンガータンパク質（ZFY）遺伝子である、
- (i v) 前記胎児由来の遺伝マーカーが、遺伝的多型性によって母体由来の遺伝マーカーから区別される、
- (v) 前記胎児由来の遺伝マーカーが、一塩基多型（SNP）、単純タンデムリピート多型、または挿入-欠失多型を含む遺伝的多型性によって母体由来の遺伝マーカーから区別される、または
- (v i) 前記遺伝マーカーが、T MED 8 遺伝子内の SNP rs6636 を含む、
請求項 1 ~ 請求項 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

複数のメチル化マーカーまたは遺伝マーカーが用いられる、請求項 1 ~ 請求項 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

- 前記工程（a）または（b）が、
- (i) ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、
 - (i i) 核酸配列特異的增幅、または
 - (i i i) メチル化特異的ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）
による前記メチル化マーカーもしくは遺伝マーカーの增幅を含む、
請求項 1 ~ 請求項 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

- 前記工程（a）または（b）が、
- (i) 分子計数により行われる、
 - (i i) デジタルポリメラーゼ連鎖反応、リアルタイム定量ポリメラーゼ連鎖反応、アレイキャプチャー、核酸配列に基づく検出、大量に平行して行うゲノムシークエンシング、単一分子のシークエンシング、またはカラーコードプローブ対によるポリヌクレオチドの多重検出を含む、または、
 - (i i i) マススペクトロメトリー、またはマイクロアレイ、蛍光プローブ、もしくは分子標識へのハイブリダイゼーションを含む、
請求項 1 ~ 請求項 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記染色体異数性に関連する染色体が、第 13 染色体、第 18 染色体、第 21 染色体、または X 染色体である、請求項 1 ~ 請求項 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

- 前記比率が、
 標準コントロールより少なくとも 1 標準偏差高いもしくは低いこと、標準コントロールより少なくとも 2 標準偏差高いもしくは低いこと、または標準コントロールより少なくとも 3 標準偏差高いもしくは低いことが、胎児に染色体異数性のあることを示す、請求項 1 ~ 請求項 13 のいずれか一項に記載の方法。