

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014 年 1 月 30 日(30.01.2014)



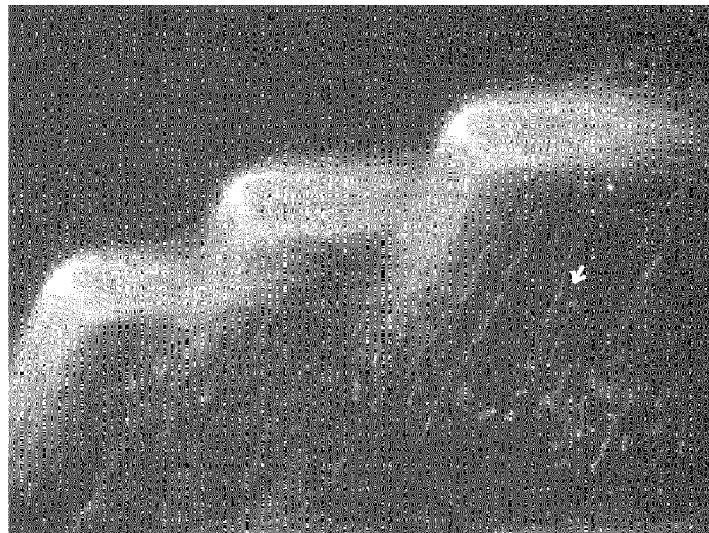
(10) 国際公開番号

WO 2014/017582 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/02 (2006.01) C12N 5/076 (2010.01)
G01N 27/447 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/070158
- (22) 国際出願日: 2013 年 7 月 25 日(25.07.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-166668 2012 年 7 月 27 日(27.07.2012) JP
- (71) 出願人: リプロバイオ株式会社(REPRO BIO. INC.) [JP/JP]; 〒1510053 東京都渋谷区代々木 1 丁目 10 番 1-203 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 兼子智(KANEKO, Satoru); 〒1510053 東京都渋谷区代々木 1 丁目 10 番 1-203 号 リプロバイオ株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 森本敏明(MORIMOTO, Toshiaki); 〒1070052 東京都港区赤坂 2-21-15 赤坂 OSビル 5 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: METHOD FOR DETECTING BREAKAGE OF NUCLEIC ACID CONTAINED IN SINGLE CELL

(54) 発明の名称: 単一細胞に含まれる核酸の切断を検出する方法



(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a novel method whereby it is possible to detect the early stages of DNA breakage. The aforementioned purpose is achieved by means of a method for detecting the breakage of a nucleic acid contained in one cell, the method involving the following steps (1 to 5): a step (1) for arranging one or multiple cells on a support body having an amino group on the surface; a step (2) for covering the aforementioned cell(s) with a mixture of a purified proteolytic enzyme having a mildly alkaline optimum pH and a weak acid solution containing a gelling agent; a step (3) for solidifying the weak acid solution; a step (4) for immersing the support body on which the weak acid solution is solidified into a mildly alkaline solution containing a condensed phosphoric acid compound, a surfactant, and a reducing agent; and a step (5) for separating the nucleic acid derived from the cell(s) on the support body immersed in the mildly alkaline solution by means of pulse-field electrophoresis using an electrophoresis solution containing a condensed phosphoric acid compound.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2014/017582 A1



DNA切断の初期段階を検出し得る新たな方法を提供することを目的とする。下記(1)～(5)の工程を含む、1つの細胞に含まれる核酸の切断を検出する方法によって、上記目的は達成される。(1) 1つ又は複数の細胞を、表面にアミノ基を有する支持体に配置する工程 (2) 至適pHが弱アルカリ性にある精製タンパク質分解酵素とゲル化剤を含む弱酸性溶液との混合物により前記細胞を覆う工程 (3) 前記弱酸性溶液を固化させる工程 (4) 前記弱酸性溶液を固化させた支持体を、縮合リン酸化合物と界面活性剤と還元剤とを含む弱アルカリ性溶液に浸漬させる工程 (5) 縮合リン酸化合物を含む電気泳動用溶液を用いたパルスフィールド電気泳動により、前記弱アルカリ性溶液に浸漬させた支持体上の細胞に由来する核酸を分離する工程