

【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30年2月8日 (2018.2.8)

【公開番号】特開2017-108748(P2017-108748A)
 【公開日】平成29年6月22日 (2017.6.22)
 【年通号数】公開・登録公報2017-023
 【出願番号】特願2017-18800(P2017-18800)
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】
 【提出日】平成29年12月20日 (2017.12.20)
 【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】

被検体の遺伝子試料における遺伝的変異の検出方法であり、

第 1 標識プローブおよび第 1 タグプローブを含む第 1 プローブセット、ならびに第 2 標識プローブおよび第 2 タグプローブを含む第 2 プローブセットの少なくとも一部を、前記遺伝子試料のヌクレオチド分子における第 1 および第 2 対象核酸領域に、それぞれハイブリダイズさせる工程、

第 1 および第 2 ライゲーション生成物を形成するために、前記第 1 および第 2 プローブセットを、それぞれライゲーションする工程

前記第 1 および第 2 ライゲーション生成物を増幅する任意の工程、

前記第 1 および第 2 のライゲーション生成物を基板に固定化する工程であり、

前記第 1 および第 2 標識プローブおよび / またはこれらを増幅した増幅標識プローブが、1 以上の第 1 および第 2 標識をそれぞれ含み、

前記固定化されたライゲーション生成物における標識が、標識化されたライゲーション生成物単位で光学的に分解可能であり、

(i) 前記基板に固定化された前記第 1 および第 2 のライゲーション生成物における第 1 標識の個数である第 1 の個数および (i i) 前記基板に固定化された前記第 1 および第 2 のライゲーション生成物における第 2 標識の個数である第 2 の個数を計数する工程、ならびに

前記第 1 および第 2 の個数を比較し、前記遺伝子試料における遺伝的変異を判定する工程
を含む、遺伝的変異の検出方法。

【請求項 2】

前記ハイブリダイズ工程の前に、前記第 1 および第 2 標識プローブを、前記第 1 および第 2 標識でそれぞれ標識する工程をさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記ハイブリダイズ工程の前に、前記第 1 および第 2 タグプローブに、第 1 および第 2 タグをそれぞれ付加する工程をさらに含む、請求項 1 または 2 記載の方法。

【請求項 4】

前記方法が、前記ライゲーション生成物を増幅する工程を含み、前記増幅は、前記増幅中に、前記プローブの標識化を伴って、または伴わずに行われる、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記第 1 および第 2 標識プローブのそれぞれが、フォワードまたはリバースプライミング配列を含み、前記第 1 および第 2 タグプローブのそれぞれが、対応するリバースまたはフォワードプライミング配列と、タグであるタグヌクレオチド配列とを含み、

前記方法が、前記ライゲーション生成物を増幅する工程を含み、

前記増幅工程が、下記 (i) および (ii) を増幅することを含み、

(i) 前記ライゲーションされた第 1 標識プローブおよび第 1 タグプローブを含む第 1 ライゲーション生成物

前記フォワードおよびリバースプライミング配列に第 1 フォワードおよびリバースプライマーがそれぞれハイブリダイズしており、前記第 1 標識プローブにハイブリダイズした前記第 1 フォワードまたはリバースプライマーが、前記第 1 標識を含む

(ii) 前記ライゲーションされた第 2 標識プローブおよび第 2 タグプローブを含む第 2 ライゲーション生成物

前記フォワードおよびリバースプライミング配列に第 2 フォワードおよびリバースプライマーがそれぞれハイブリダイズしており、前記第 2 標識プローブにハイブリダイズした前記第 2 フォワードまたはリバースプライマーが、前記第 2 標識を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

前記第 1 および第 2 標識プローブのそれぞれが、リバースプライミング配列を含み、前記第 1 および第 2 タグプローブのそれぞれが、タグであるタグヌクレオチド配列を含み、

前記方法が、前記ライゲーション生成物を増幅する工程を含み、

前記増幅工程が、下記 (i) および (ii) を増幅することを含み、

(i) 前記ライゲーションされた第 1 標識プローブおよび第 1 タグプローブを含む第 1 ライゲーション生成物

前記第 1 標識プローブの第 1 リバースプライミング配列に第 1 リバースプライマーがハイブリダイズしており、前記第 1 リバースプライマーが、前記第 1 標識を含む

(ii) 前記ライゲーションされた第 2 標識プローブおよび第 2 タグプローブを含む第 2 ライゲーション生成物

前記第 2 標識プローブ第 2 リバースプライミング配列に第 2 リバースプライマーがハイブリダイズしており、前記第 2 リバースプライマーが、前記第 2 標識を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

前記ライゲーションされた第 1 および第 2 標識プローブが、前記第 1 および第 2 ライゲーション生成物の 3 ' 末端に位置し、前記第 1 および第 2 リバースプライマーにハイブリダイズした第 1 および第 2 リバースプライミング配列をそれぞれ含み、

前記第 1 および第 2 リバースプライマーが、前記第 1 および第 2 標識を含み、

前記ライゲーションされた第 1 および第 2 タグプローブが、前記第 1 および第 2 プローブセットの 5 ' 末端に位置する、請求項 5 または 6 記載の方法。

【請求項 8】

前記ライゲーションされた第 1 および第 2 標識プローブが、前記第 1 および第 2 ライゲーション生成物の 3 ' 末端に位置し、前記第 1 および第 2 リバースプライマーにハイブリダイズした第 1 および第 2 リバースプライミング配列をそれぞれ含み、

前記第 1 および第 2 リバースプライマーが、前記第 1 および第 2 標識を含み、

前記ライゲーションされた第 1 および第 2 タグプローブが、前記第 1 および第 2 ライゲーション生成物の 5 ' 末端に位置し、前記第 1 および第 2 フォワードプライマーにハイブリダイズした対応する第 1 および第 2 フォワードプライミング配列をそれぞれ含む、請求項

5 記載の方法。【請求項 9】

前記増幅工程が、前記増幅されたプローブにエキソヌクレアーゼを接触させること、および、5'末端に標識を有さない増幅されたライゲーション生成物の5'末端を分解することを含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 1 および第 2 標識は、相互に区別される、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

5'末端に標識を有する増幅されたライゲーション生成物の5'末端が、エキソヌクレアーゼ分解から保護される、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記判定された遺伝的変異が、前記被検体における癌の転移、有無、および/または危険度、薬物動態変動、薬物毒性、移植拒絶反応、または異数性を示す、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記被検体が妊娠中の被検体であり、
前記遺伝的変異が、前記妊娠中の被検体の胎児における 13 トリソミー、18 トリソミー、21 トリソミー、X の異数性、および Y の異数性からなる群から選択される、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記遺伝子試料が血漿であり、
前記方法が、前記被検体の血液試料から血漿を単離する工程をさらに含む、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法。