

【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 12 Q 1/68 (2018.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 Z N A A

C 12 N 15/00 A

【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、前記遺伝子試料の又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(ii)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】

前記增幅工程が、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。