

【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】令和3年9月30日(2021.9.30)

【公開番号】特開2020-202830(P2020-202830A)

【公開日】令和2年12月24日(2020.12.24)

【年通号数】公開・登録公報2020-052

【出願番号】特願2020-117947(P2020-117947)

【国際特許分類】

C 12 N 15/10 (2006.01)

C 12 Q 1/6844 (2018.01)

C 12 Q 1/6869 (2018.01)

【F I】

C 12 N 15/10 Z N A Z

C 12 Q 1/6844 Z

C 12 Q 1/6869 Z

【手続補正書】

【提出日】令和3年8月20日(2021.8.20)

【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】

生物学的試料における遺伝子発現量の相対的な関係を保持している増幅産物を含む核酸集団を調製する方法であって、

(a) センス鎖とアンチセンス鎖とからなる第1の2重鎖DNAであって、該センス鎖は、(1)任意の配列からなる付加核酸配列X、(2)生物学的試料から単離したmRNA配列を鑄型として使用して調製されたcDNAを含む2重鎖DNAのセンス鎖配列、および、(3)付加核酸配列Xとは異なる任意の配列からなる付加核酸配列Yを、5'から3'の方向にこの順序で含む、第1の2重鎖DNAを得る工程、

(b) 前記工程(a)で得た2重鎖DNAを断片化する工程、

(c) 前記工程(b)により断片化された2重鎖DNAのセンス鎖の5'末端に、付加核酸配列XおよびYとは異なる任意の配列からなる付加核酸配列Vを含む、第2の2重鎖DNAを得る工程、および、

(d) 前記付加核酸配列Vを含むプライマーと、前記付加核酸配列Yの相補配列Y'を含むプライマーとの対を用いて、前記工程(c)により得られた第2の2重鎖DNAを増幅することにより、センス鎖とアンチセンス鎖とからなる第3の2重鎖DNAであって、該センス鎖は、(1')付加核酸配列V、(2')前記(2)のcDNAのセンス鎖配列の断片化された一部、および、(3)前記付加核酸配列Yを、5'から3'の方向にこの順序で含み、前記付加核酸配列Xを含まず、前記(2')のcDNAのセンス鎖配列の断片化された一部は前記mRNA配列の3'末端側に相当する部分のみを含む、第3の2重鎖DNAを得る工程

を含む方法。

【請求項2】

前記工程(b)における断片化が、超音波処理で行われる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記工程(b)の断片化は、DNA断片化酵素により実行される、請求項1に記載の方

法。

【請求項 4】

前記工程(b)により得られた断片化2重鎖DNAの少なくとも1本のDNA鎖の5'
末端はリン酸化されている、請求項1または3に記載の方法。