

【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 1 2 N 15/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6844 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

【F I】

C 1 2 N 15/10 Z N A Z

C 1 2 Q 1/6844 Z

C 1 2 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 配列を鋳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。