

【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29年8月31日(2017.8.31)

【公表番号】特表2016-524917(P2016-524917A)

【公表日】平成28年8月22日(2016.8.22)

【年通号数】公開・登録公報2016-050

【出願番号】特願2016-527125(P2016-527125)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 Q 1/48 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 Q 1/68 A

C 12 Q 1/48 Z

【手続補正書】

【提出日】平成29年7月18日(2017.7.18)

【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】

標的核酸および偽標的核酸のプールを、(a)プライミングドメインに連結された特異性ドメインおよび(b)競合性ドメインを含む操作されたプライマーであって、前記特異性ドメインは、前記標的核酸上の特異性ドメイン結合部位に結合し、前記プライミングドメインは、前記特異性ドメイン結合部位の下流にある前記標的核酸上のプライミングドメイン結合部位に結合し、かつ前記競合性ドメインは、特異性ドメインに相補的であるか、部分的に相補的であるか、同一であるか、または類似する、前記操作されたプライマーと、接触させることと、

前記操作されたプライマーを、その3'末端で、前記標的核酸から前記操作されたプライマーの前記特異性ドメインを置換するポリメラーゼの存在下で標的に相補的な方式で伸長させることと、

を含む、方法。

【請求項2】

前記ポリメラーゼは、DNAポリメラーゼまたは逆転写酵素である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記操作されたプライマーは、デオキシリボ核酸(DNA)、リボ核酸(RNA)、ロツクド核酸(LNA)、ペプチド核酸(PNA)、および/またはモルフォリノを含む、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

前記特異性ドメインおよび前記プライミングドメインは、5' - 3'連結を介して相互に連結されている、または、前記特異性ドメインおよび前記プライミングドメインは、5' - 5'連結を介して相互に連結されている、請求項1~3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記特異性ドメインの3'末端が、ブロッキング部分を含む、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記プライマーは、前記特異性ドメインと前記プライミングドメインとの間に、天然に存在しないヌクレオチドおよびジデオキシヌクレオチドから選択される伸長不可能なヌクレオチドが位置する、連続した配列である、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記特異性ドメインおよび前記プライミングドメインは、化学的リンクを介して連結されている、相互に化学的にコンジュゲートしている、または、一本鎖オリゴヌクレオチドへのハイブリダイゼーションによりもしくは相互のハイブリダイゼーションにより、相互に連結されている、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

前記化学的リンクは、ポリエチレンギリコール、アルキルスペーサー、PNA、またはLNAである、あるいは、前記特異性ドメインおよび前記プライミングドメインは、アジド-アルキンヒュスゲン環化付加によって相互に化学的にコンジュゲートしている、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記プライミングドメインは、前記特異性ドメインよりも短い、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記特異性ドメインは、ヘアピン構造を形成する、または、部分的に二本鎖である、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記標的核酸は、一本鎖である、DNAもしくはRNAである、單一コピーもしくは低コピーで存在する、その野生型の対応物の核酸に比べて少なくとも1つの変異を含む、および/または、一塩基多型(SNP)を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記操作されたプライマーに結合した前記核酸をポリメラーゼ連鎖反応によって増幅することをさらに含む、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

標的核酸および偽標的核酸のプールを、

(a) 前記標的核酸に結合する無差別プライマー、ならびに

(b) 第1および第2の核酸鎖を含む操作された部分的に二本鎖の核酸であって、第1および第2の核酸鎖は、

(i) 1つの二本鎖偽標的非特異性ドメイン、

(ii) 1つの二本鎖偽標的特異性ドメイン、および

(iii) 前記第1の核酸鎖に付与された1つの一本鎖偽標的特異性ドメイン、で構成されており、前記二本鎖偽標的非特異性ドメインは、前記偽標的核酸に結合している前記一本鎖偽標的特異性ドメインに対する標準自由エネルギーによよそ等しい標準自由エネルギーを有し、前記第1の核酸鎖の3'末端および前記第2の核酸鎖の3'末端は伸長不可能である、部分的に二本鎖の核酸と、接触させることと、

(a) の前記無差別プライマーをその3'末端で、ポリメラーゼの存在下で標的に相補的な方式で伸長させることと

を含む、方法。

【請求項14】

前記第1の核酸鎖および/または前記第2の核酸鎖は、その3'末端に天然に存在しないヌクレオチドまたはジデオキシヌクレオチドから選択される伸長不可能なヌクレオチドを含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

(a) の前記無差別プライマーは、長さが約4～35ヌクレオチドである、請求項13

または 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

( b ) の前記二本鎖偽標的非特異性ドメインは、長さが約 4 ~ 2 1 ヌクレオチドである、および / または、( b ) の前記一本鎖偽標的特異性ドメインは、長さが約 4 ~ 2 0 ヌクレオチドである、請求項 1 3 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記第 1 および第 2 の核酸鎖は、デオキシリボ核酸 ( D N A ) 、リボ核酸 ( R N A ) 、ロックド核酸 ( L N A ) 、ペプチド核酸 ( P N A ) 、および / またはモルフォリノを含む、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記標的核酸は、單一コピーまたは低コピーで存在する、野生型の対応物に比べて少なくとも 1 つの変異を含む、および / または、一塩基多型 ( S N P ) を含む、請求項 1 3 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

( a ) の前記操作された一本鎖プライマーが結合した前記標的核酸をポリメラーゼ連鎖反応によって増幅することをさらに含む、請求項 1 3 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記第 1 および第 2 の核酸鎖は、相互に結合してミスマッチ、バルジ、および / または内部ループによって中断される不完全な二重鎖を形成している、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記操作された部分的に二本鎖の核酸は、前記第 1 の核酸鎖を前記第 2 の核酸鎖に接続するヘアピンドメインを含む、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 2 2】

( a ) プライミングドメインに連結された特異性ドメインおよび ( b ) 競合性ドメインを含む操作されたプライマーであって、前記特異性ドメインは、前記標的核酸上の特異性ドメイン結合部位に結合し、前記プライミングドメインは、前記特異性ドメイン結合部位の下流にある前記標的核酸上のプライミングドメイン結合部位に結合し、かつ前記競合性ドメインは、前記特異性ドメインに相補的であるか、部分的に相補的であるか、同一であるか、または類似する、前記操作されたプライマーを含む、組成物。

【請求項 2 3】

プライミングドメインと、第 1 のシグナル調節部分が付着した第 1 のハイブリダイゼーションドメインとを含む第 1 の核酸鎖、および

特異性ドメインと、前記第 1 のハイブリダイゼーションドメインに相補的であり、シグナル産生部分が付着した第 2 のハイブリダイゼーションドメインと、を含む第 2 の核酸鎖であって、前記シグナル産生部分と前記特異性ドメインとの間に位置する第 2 のシグナル調節部分を含む、第 2 の核酸鎖

を含む、組成物。

【請求項 2 4】

前記特異性ドメインに相補的であるか、部分的に相補的であるか、同一であるか、または類似する競合性ドメインを含む核酸鎖をさらに含む、請求項 2 3 に記載の組成物。

【請求項 2 5】

前記シグナル産生部分は、フルオロフォアである、ならびに / または、前記第 1 および / もしくは第 2 のシグナル調節部分は、クエンチャーである、請求項 2 3 または 2 4 に記載の組成物。

【請求項 2 6】

標的核酸および偽標的核酸のプールを、請求項 2 3 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、方法。