

【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20年7月17日(2008.7.17)

【公表番号】特表2003-535599(P2003-535599A)
 【公表日】平成15年12月2日(2003.12.2)
 【出願番号】特願2002-502165(P2002-502165)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 F

【手続補正書】
 【提出日】平成20年6月2日(2008.6.2)
 【手続補正1】
 【補正対象書類名】明細書
 【補正対象項目名】特許請求の範囲
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【特許請求の範囲】

【請求項1】 標的核酸配列を含む分子にハイブリダイズさせるための単分子プローブであって、

(i)標的配列に相補的な第一の核酸配列、および、

(ii)第一の核酸配列の一部に相補的であり、かつ、規定された一組の条件下でそれにハイブリダイズして第一の分子内二本鎖を形成することができる第二の核酸配列を含み、

(iii)前記一組の条件下で、分子間二本鎖を形成するための、標的および第一の配列とのハイブリダイゼーションが起こる単分子プローブ。

【請求項2】 第二の核酸配列から離れた位置にあるプローブの一端に位置し、前記一組の条件下でハイブリダイズして第二の分子内二本鎖を含む第二のヘアピン構造を形成するように互いに相補的で、かつ、互いに連結している第三および第四の核酸配列をさらに含む、請求項1記載のプローブ。

【請求項3】 第二の核酸配列に相補的でない、第一の核酸配列の一部が、第二の核酸配列から離れた位置にあり、標的および第一の配列がハイブリダイズするための核形成部位として機能するために十分な長さを持ち、第二の分子内二本鎖に隣接した位置にある、請求項2記載のプローブ。

【請求項4】 分子間二本鎖が形成されると、分子間二本鎖と第二の分子内二本鎖とがニックされた二本鎖を形成するよう、標的分子の末端配列になっている標的核酸配列と組み合わされている、請求項2記載のプローブ。

【請求項5】 前記一組の条件下で、第一の分子内二本鎖が第二の分子内二本鎖よりも低い T_m 値をもつ、請求項2記載のプローブ。

【請求項6】 第一の分子内二本鎖が第二の分子内二本鎖よりも長くなく、第二の分子内二本鎖のG:C含量が、第一の分子内二本鎖のものよりも高い、請求項2～5のいずれか一項記載のプローブ。

【請求項7】 試料中に標的核酸を含む標的分子が存在するか否かを検出するための単分子プローブであって、A-B-C-D-E-F-GおよびD-E-F-Gからなる群より選択される分子を含み、ここで、

(i)A、C、D、E、およびGはそれぞれ核酸配列であり、

(ii)EおよびGが互いに相補的であって、Fによって互いに共有結合することにより、規定された一組の条件下で第一の分子内二本鎖を形成し、

(iii)(b)A-B-C-D-E-F-GおよびD-E-F-Gの分子のそれぞれについては、(1)Eの配列全体とDの少なくとも一部、または(2)Eの配列全体とDの少なくとも一部およびFの少なくとも一部とが一緒になって、標的分子の標的核酸配列に対して実質的に相補的な核酸配列を形成し、また、前記条件下でプローブと標的分子とが分子間二本鎖を形成するように、A-B-C-D-E-F-GおよびD-E-F-Gの分子のそれぞれと標的分子とが互いにハイブリダイズし、さらに、

(c)A-B-C-D-E-F-G分子のAおよびCが互いに相補的であって、Bによって互いに共有結合することにより、前記一組の条件下で第二の分子内二本鎖を形成する、プローブ。

【請求項 8】 分子A-B-C-D-E-F-GのA-B-CのAおよびCの配列が、分子A-B-C-D-E-F-GのE-F-Gによって形成されるヘアピンよりもより安定なヘアピンをA-B-Cが形成するように選択されている、請求項7記載のプローブ。

【請求項 9】 等式 $T_m = [(A+Tの個数) \times 2^{\circ}C + (G+Cの個数) \times 4^{\circ}C]$ によって計算すると、より安定なヘアピンの分子内二本鎖の T_m が、より安定でない二本鎖の分子内二本鎖よりも高くなる、請求項8記載のプローブ。

【請求項 10】 より安定なヘアピンの二本鎖の長さが、より安定でないヘアピンの二本鎖の長さよりも16個以上、14個以上、12個以上、10個以上、8個以上、または6個以上の核酸塩基対上回る、請求項8記載のプローブ。

【請求項 11】 プローブが固相支持体に結合している、前記請求項のいずれか一項記載のプローブ。

【請求項 12】 複数のプローブ集団を含むプローブのレパートリーであって、各集団の各プローブが、集団の他の各プローブと同じであり、かつ、請求項7~10のいずれか一項記載のプローブであり、各プローブについて、標的配列に相補的なプローブの核酸配列が、レパートリーの他のすべてのプローブと同じ長さである、プローブのレパートリー。

【請求項 13】 集団の各プローブについて、標的配列に相補的なプローブの核酸配列が、異なる集団のすべての他のプローブの前記配列と、2核酸以上、または3核酸以上、または4核酸以上、または5核酸以上、または6核酸以上異なる、請求項12記載のプローブのレパートリー。

【請求項 14】 前記請求項のいずれか一項に記載のプローブを複数含む、プローブのレパートリー。

【請求項 15】 各プローブの第一の核酸配列が、他の全てのプローブと長さにおいて同じである、請求項14記載のプローブのレパートリー。

【請求項 16】 複数の微粒子の混合物を含む組成物であって、レパートリー中の異なるプローブの実質的にすべてが、異なる微粒子に付着するように、各微粒子が請求項14または15記載のプローブのレパートリーから選択されたプローブを付着させている、組成物。

【請求項 17】 複数の微粒子の混合物を含む組成物であって、各微粒子が標的核酸配列を検出するためのプローブを付着させていて、各プローブが、

(i)標的配列に相補的な第一のタグ配列、および、

(ii)第一のタグ配列の一部に相補的であり、かつ、規定された一組の条件下でそれにハイブリダイズして第一の分子内二本鎖を形成することができる第二の核酸配列を含み、

(iii)前記一組の条件下で、分子間二本鎖を形成させるための、標的およびタグ配列とのハイブリダイゼーションが起こる単分子を含む、組成物。

【請求項 18】 各プローブが、前記請求項のいずれか一項に記載のプローブである、請求項17記載の組成物。

【請求項 19】 10個以上の異なる微粒子集団を含み、一つの集団の各微粒子が、別の集団とは異なるプローブを付着させていて、微粒子の各集団が、他の各集団の標的核酸

配列とは異なる標的核酸配列を検出するためのものである、請求項17または18記載の組成物。

【請求項20】 一つの集団の各プローブのタグ配列が、その微粒子に付着している他のすべてのプローブのタグ配列と同一である、請求項19記載の組成物。

【請求項21】 各集団の各タグ配列が10ヌクレオチド以上の長さであって、前記集団の各タグ配列の配列が、異なる集団の前記タグ配列の配列とは3塩基以上異なる、請求項17記載の組成物。

【請求項22】 オリゴヌクレオチドタグ相補配列のレパートリーであって、各相補配列が、類似相補配列集団に属し、かつ、

(i) 標的タグ配列に相補的な第一の相補配列、および、

(ii) 第一の相補配列の一部に相補的であり、かつ、規定された一組の条件下でそれにハイブリダイズして第一の分子内二本鎖を形成することができる第二の核酸配列を含み、

(iii) 上記一組の条件下で、分子間二本鎖を形成するための、相補配列とタグ配列とのハイブリダイゼーションが起こる単分子部分であり、

前記タグ相補配列集団が10以上あり、一つの集団の各タグが、レパートリー中の他の集団すべてにおけるタグの相補配列とは異なる前記相補配列をもつ、レパートリー。

【請求項23】 各相補配列が、前記請求項のいずれか一項に記載のプローブを含む、請求項22記載のレパートリー。

【請求項24】 ポリヌクレオチドを選別および同定するためのキットであって、共有結合した実質的に同一のプローブの均一な集団をそれぞれが含む空間的に隔離された一つ以上の領域をもつ固相支持体を含み、各プローブが、

(i) 同定しようとする前記ポリヌクレオチドの標的配列に相補的な第一のタグ配列、および、

(ii) 第一のタグ配列の一部に相補的であり、かつ、規定された一組の条件下でそれにハイブリダイズして第一の分子内二本鎖を形成することができる第二の核酸配列を含み、

(iii) 前記一組の条件下で、分子間二本鎖を形成させるための、標的およびタグ配列とのハイブリダイゼーションが起こる単分子部分である、キット。

【請求項25】 各プローブが、請求項1～6のいずれか一項記載のプローブである、請求項24記載のキット。

【請求項26】 一種類以上の固相支持体が平面状の基質であり、空間的に隔離された一つ以上の領域が、複数の空間的にアドレス可能な領域である、請求項24または25記載のキット。

【請求項27】 一種類以上の固相支持体の各々が微粒子である、請求項24または25記載のキット。