

【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 3 月 30 日 (2017.3.30)

【公表番号】特表 2016-512041 (P2016-512041A)

【公表日】平成 28 年 4 月 25 日 (2016.4.25)

【年通号数】公開・登録公報 2016-025

【出願番号】特願 2016-502320 (P2016-502320)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 29 年 2 月 22 日 (2017.2.22)

【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】

サンプル中の核酸を検出する方法であって、

1) 核酸を含むサンプルを消光状態のプライマーと接触させることと、

2) a) 前記プライマーが前記核酸とハイブリッド形成するか、または

b) 前記プライマーが前記核酸とハイブリッド形成し、かつ前記プライマーがアンブリコン中に組み込まれる場合、

検出可能状態の前記プライマーからのシグナルを検出することと

を含み、

前記核酸が B R A F 遺伝子または B R A F 遺伝子の一部を含み、前記シグナルが検出されるとき、前記核酸が前記サンプル中で検出される、方法。

【請求項 2】

消光状態のプライマーが二重鎖重複領域を含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

プライマーがフルオロフォアを含み、前記プライマーが消光状態のとき、前記フルオロフォアがクエンチャーによって消光される請求項 1 から 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4】

消光状態のプライマーがポリメラーゼによって核酸鎖に組み込まれる請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

消光状態のプライマーが、

a) フルオロフォアおよびクエンチャーを含む 1 つのオリゴヌクレオチドからなるか、または

b) フルオロフォアを含む第 1 のオリゴヌクレオチドと、クエンチャーを含む第 2 のオリゴヌクレオチドとからなり、前記第 1 のオリゴヌクレオチドが前記第 2 のオリゴヌクレオチドとハイブリッド形成する、

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

プライマーがステムループプライマーまたは二重鎖直鎖状プライマーである請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

プライマーが、アミノ酸置換 V 6 0 0 E、V 6 0 0 K および / または V 6 0 0 D を含む B - R a f タンパク質をコードする B R A F における変異を検出するための対立遺伝子特異的プライマーである請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

3) 核酸を含むサンプルを消光状態の第 2 のプライマーと接触させることと、
4) a) 前記第 2 のプライマーが前記核酸とハイブリッド形成するか、または
b) 前記第 2 のプライマーが前記核酸とハイブリッド形成し、かつ前記第 2 のプライマーがアンプリコンに組み込まれる場合、
検出可能状態の前記第 2 のプライマーからの第 2 のシグナルを検出することと
をさらに含み、
前記第 2 のシグナルが検出されるとき、前記核酸が前記サンプル中で検出される、
請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

a) 検出可能プライマーとハイブリッド形成した核酸であって、前記検出可能プライマーがフルオロフォアおよびクエンチャーを含む核酸、
b) 検出可能プライマーを含む核酸であって、前記検出可能プライマーがフルオロフォアおよびクエンチャーを含む核酸、
c) 検出可能プライマーとハイブリッド形成した核酸であって、前記検出可能プライマーがフルオロフォアと、クエンチャーを含むクエンチャーオリゴヌクレオチドを含む核酸、
d) 検出可能プライマーを含む核酸であって、前記検出可能プライマーがフルオロフォアと、クエンチャーを含むクエンチャーオリゴヌクレオチドを含む核酸、
e) プライマーを含み、かつプローブとハイブリッド形成した核酸であって、前記プローブが第 1 のフルオロフォアおよびクエンチャーを含み、前記プライマーが第 2 のフルオロフォアを含み、前記第 1 のフルオロフォアおよび前記第 2 のフルオロフォアが F R E T 対である核酸、
または
f) プライマーを含み、かつプローブとハイブリッド形成した核酸であって、前記プローブが第 1 のフルオロフォアを含み、前記プライマーが第 2 のフルオロフォアを含み、前記第 1 のフルオロフォアおよび前記第 2 のフルオロフォアが F R E T 対であり、クエンチャーを含むクエンチャーオリゴヌクレオチドを含む核酸、
の 1 つを含む組成物であって、
前記核酸が B R A F 遺伝子または B R A F 遺伝子の一部を含む、
組成物。

【請求項 10】

組成物が反応混合物である請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

ポリメラーゼおよび / またはヌクレオチドをさらに含む請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 12】

g) 第 2 の検出可能プライマーとハイブリッド形成した第 2 の核酸であって、前記第 2 の検出可能プライマーが、第 2 のフルオロフォアと、クエンチャーもしくは第 2 のクエンチャーとを含む第 2 の核酸、
h) 第 2 の検出可能プライマーを含む第 2 の核酸であって、前記第 2 の検出可能プライマーが、第 2 のフルオロフォアと、前記クエンチャーもしくは第 2 のクエンチャーとを含む第 2 の核酸、
i) 第 2 の検出可能プライマーとハイブリッド形成した第 2 の核酸であって、前記第 2 の検出可能プライマーが第 2 のフルオロフォアを含む第 2 の核酸、

j) 第2の検出可能プライマーを含む第2の核酸であって、前記第2の検出可能プライマーが第2のフルオロフォアを含む第2の核酸、

k) 第2のプライマーを含み、かつプローブとハイブリッド形成した第2の核酸であって、前記プローブが第1のフルオロフォアおよびクエンチャーを含み、前記第2のプライマーが第3のフルオロフォアを含み、前記第1のフルオロフォアおよび前記第3フルオロフォアがFRET対である第2の核酸、

または、

l) 第2のプライマーを含み、かつ前記プローブとハイブリッド形成した第2の核酸であって、前記プローブが前記第1のフルオロフォアを含み、前記第2のプライマーが第3のフルオロフォアを含み、前記第1のフルオロフォアおよび前記第3のフルオロフォアがFRET対である第2の核酸

をさらに含み、

前記第2の核酸がBRAF遺伝子またはBRAF遺伝子の一部を含む、

請求項9から11のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項13】

1つ以上のBRAF対立遺伝子、1つ以上のBRAF一塩基多型を検出するための、または同一サンプル中の1つ以上のBRAF対立遺伝子を多重アッセイで検出するための、請求項9から12のいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項14】

BRAF対立遺伝子を検出するためのキットであって、

1) 1つ以上のBRAF対立遺伝子を検出するための検出試薬であって、

a) フルオロフォアおよびクエンチャーを含むステムループプライマー、

b) フルオロフォアおよび相補的クエンチングオリゴヌクレオチドを含む対立遺伝子特異的一本鎖プライマーを含む二重鎖直鎖状プライマー、

c) フルオロフォアおよび相補的オリゴヌクレオチドを含む対立遺伝子特異的一本鎖プライマーを含む二重鎖直鎖状プライマー、

d) フルオロフォアと、第2のフルオロフォアおよびクエンチャーオリゴヌクレオチドを含むプローブ鎖を含む二重鎖プローブとを含む対立遺伝子特異的プライマー、

e) フルオロフォアと、第2のフルオロフォアを含むプローブ鎖を含む二重鎖プローブとを含む対立遺伝子特異的プライマー、

f) フルオロフォアと、第2のフルオロフォアを含む一本鎖プローブとを含む対立遺伝子特異的プライマー、

または

g) フルオロフォアと、第2のフルオロフォアおよびクエンチャーを含むステムループプローブとを含む対立遺伝子特異的プライマー、

の1つを含む前記検出試薬と、

2) BRAF遺伝子またはBRAF遺伝子の一部を含むコントロール核酸とを含むキット。

【請求項15】

3) 第2のBRAF対立遺伝子を検出するための第2の検出試薬であって、

a) 第2のフルオロフォアと、クエンチャーもしくは第2のクエンチャーとを含む第2のステムループプライマー、

b) 第2のフルオロフォアと、相補的クエンチングオリゴヌクレオチドもしくは第2の相補的クエンチングオリゴヌクレオチドとを含む第2の対立遺伝子特異的一本鎖プライマーを含む第2の二重鎖直鎖状プライマー、

または

c) 第3のフルオロフォアを含む第2の対立遺伝子特異的プライマーを含む前記検出試薬をさらに含む、請求項14に記載のキット。