

【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 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 A

C 12 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つて、

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 600E、V 600K および / または V 600D を含む B-Raf タンパク質をコードする BRAF 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とを含む核酸、

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 FRET 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 FRET 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 BRAF 遺伝子または BRAF 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 F R E T 対である第 2 の核酸、

または、

1) 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 F R E T 対である第 2 の核酸

をさらに含み、

前記第 2 の核酸が B R A F 遺伝子または B R A F 遺伝子の一部を含む、

請求項 9 から 1 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 3】

1 つ以上の B R A F 対立遺伝子、1 つ以上の B R A F 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 B R A F 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 1 2 のいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項 1 4】

B R A F 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 B R A F 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) B R A F 遺伝子または B R A F 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 1 5】

3) 第 2 の B R A F 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 1 4 に記載のキット。