【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11月25日(2021.11.25)

【公表番号】特表2021-500077(P2021-500077A)
【公表日】令和3年1月7日(2021.1.7)
【年通号数】公開・登録公報2021-001
【出願番号】特願2020-542707(P2020-542707)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｑ　1/6806　(2018.01)
Ｃ１２Ｎ　15/10　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/6809　(2018.01)
Ｃ１２Ｑ　1/6844　(2018.01)
Ｃ１２Ｑ　1/6869　(2018.01)
Ｃ１２Ｎ　15/11　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｑ　1/6806　Ｚ
Ｃ１２Ｎ　15/10　ＺＮＡＺ
Ｃ１２Ｑ　1/6809　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/6844　Ｚ
Ｃ１２Ｑ　1/6869　Ｚ
Ｃ１２Ｎ　15/11　Ｚ

【手続補正書】
【提出日】令和3年10月15日(2021.10.15)
【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】
第１の集団と第２の集団を含むＤＮＡの混合試料の増幅によってＤＮＡの集団を富化するための改善された方法であって、前記改善が、
（ａ）前記ＤＮＡの混合試料を、ＤＮＡの前記第１の集団における複数のオリゴヌクレオチド配列に特異的に結合する複数のブロッキングオリゴヌクレオチドと接触させること；および
（ｂ）前記ＤＮＡの混合試料に対して増幅を行い、増幅されたＤＮＡの混合試料を生成すること；
を含み、
前記ブロッキングオリゴヌクレオチドが、ＤＮＡの前記第１の集団の増幅を抑制し、それにより、前記増幅された混合試料中のＤＮＡの前記第１の集団と比較して、ＤＮＡの前記第２の集団を富化する、方法。
【請求項２】
（ｉ）（ａ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも５０のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有する６～５０のヌクレオチドの配列を含み、そして
（ｂ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも２のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有する少なくとも６～２５のヌクレオチドの３’配列を含む、かつ／または

（ｉｉ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも６、７、８、９又は１０のヌクレオチドの配列を含むか、または
（ｉｉｉ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、５０、４５、４０、３５、３０又は２５より少ないヌクレオチドの配列を含むか、または
（ｉｖ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれの３’配列が、少なくとも６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４又は１５のオリゴヌクレオチドを含むか、または
（ｖ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれの３’配列が、２５、２０、１５、１４、１３、１２、１１又は１０より少ないオリゴヌクレオチドを含むか、または
（ｖｉ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも７５、１００、１５０、２００又は２５０のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有するか、または
（ｖｉｉ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれの３’配列が、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９又は１０のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有する、
請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドが、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、７５又は１００の異なるブロッキングオリゴヌクレオチドを含む、請求項１～２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４】
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドが、少なくとも10^3、10^4、10^5、10^6、10^7又は10^8の異なるブロッキングオリゴヌクレオチドを含む、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
ブロッキングオリゴヌクレオチドの前記第１の集団に相補的なゲノム配列間の最大距離が、２Ｇ／Ｎ、３Ｇ／Ｎ、４Ｇ／Ｎ又は５Ｇ／Ｎであって、Ｇは前記第１の集団に対応するゲノムＤＮＡのサイズであり、Ｎは、前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチド中の異なるブロッキングオリゴヌクレオチドの数である、かつ／または
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、前記ブロッキングオリゴヌクレオチドをＤＮＡの前記第１の集団に架橋させる鎖間架橋剤をさらに含み、必要に応じて、ａ）前記架橋剤が光活性化されている、かつ／または、ｂ）前記架橋剤がソラレンである、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
（ａ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、３’末端にスペーサーを含み、これにより、ＤＮＡポリメラーゼがテンプレート依存のＤＮＡ合成によって前記オリゴヌクレオチドを伸長するのを防ぎ、必要に応じて
（ｂ）各スペーサーが、対応する前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの３’ＯＨに結合した脂肪族分子を含むか、または
（ｃ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、ウイング付きブロッカーであり、好ましくは、前記ウイング付きブロッカーが、ＤＮＡの前記第１の集団における配列に相補的である４０～６０ヌクレオチドの相補的オリゴヌクレオチド配列を含み、さらに必要に応じて、前記ウイング付きブロッカーが、前記相補的ヌクレオチド配列の各末端に１０～１００ヌクレオチドのウイングオリゴヌクレオチド配列を含み、前記ウイングオリゴヌクレオチド配列が、ＤＮＡの前記第１の集団における隣接配列に相補的ではない、
請求項１～５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
前記増幅が鎖置換型ポリメラーゼを使用して行われ、好ましくは、前記増幅がｐｈｉ２９

ポリメラーゼを使用して行われる、請求項１～６（ａ）のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
前記混合試料が、ヒト及び／又は他の真核生物起源の、血液、痰、尿、粘液、唾液、組織膿瘍、創部ドレナージ、便、リンパ、洗浄液、脳脊髄液、又は流体吸引物若しくは組織抽出物から得られるか、又はそれらに由来し、好ましくは、前記混合試料が、ヒト対象から得られるか、またはヒト対象に由来する、請求項１～７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
前記第１の集団が哺乳類のＤＮＡを含むか、または前記第１の集団がヒトＤＮＡを含む、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記第２の集団が微生物ＤＮＡを含み、必要に応じて、
（ａ）前記微生物ＤＮＡが、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃａｌｉｓ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃｉｕｍ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、又は菌血症に関連する任意の他の細菌種からのＤＮＡを含むか、または
（ｂ）前記混合試料中の前記微生物ＤＮＡが１０未満の微生物ゲノムに対応するか、または
（ｃ）前記第１の集団が哺乳類ＤＮＡを含み、前記第２の集団が微生物ＤＮＡを含み、哺乳類ＤＮＡ対微生物ＤＮＡの比が、少なくとも10^{2}、10^{3}、10^{4}、10^{5}、10^{6}、10^{7}又は10^{8}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】
前記第１の集団が第１のタイプの微生物ＤＮＡを含み、前記第２の集団が第２のタイプの微生物ＤＮＡを含み、必要に応じて、前記微生物ＤＮＡが、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃａｌｉｓ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃｉｕｍ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、又は菌血症に関連する任意の他の細菌種からのＤＮＡを含む、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
（ａ）前記増幅された試料中の微生物ＤＮＡが、前記混合試料と比較して１０倍～１００倍富化されるか、または
（ｂ）前記混合試料中の前記哺乳類ＤＮＡが、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、または９９％低減されるか、または
（ｃ）ＤＮＡの前記第１の集団が哺乳類のミトコンドリアＤＮＡを含み、前記第２の集団が微生物ＤＮＡを含み、好ましくは、
前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの少なくとも１つが、配列番号１～配列番号１６から選択されるか、または前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの少なくとも１つが、配列番号１７～配列番号３２から選択される配列に結合する、
請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
（ｉ）（ａ）各ブロッキングヌクレオチドが、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９又は１０の細菌ＤＮＡの試料と比較した哺乳類ＤＮＡの試料内における相対出現率を有する配列に相補的である少なくとも６～２５の連続したヌクレオチドを含み、そして
（ｂ）各ブロッキングヌクレオチドが、相補的配列に架橋する少なくとも１つの修飾ヌクレオチドを含み、そして、必要に応じて、
（ｉｉ）哺乳類ＤＮＡの前記試料が哺乳類核ＤＮＡであるか、または
（ｉｉｉ）哺乳類ＤＮＡの前記試料が哺乳類ミトコンドリアＤＮＡである、
複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。

【請求項１４】
細菌ＤＮＡの前記試料が、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃａｌｉｓ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃｉｕｍ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、及びＫｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎａｉｅのゲノムＤＮＡからなる群から選択されるゲノムＤＮＡであり、好ましくは、各ブロッキングオリゴヌクレオチドが、前記ブロッキングオリゴヌクレオチドをＤＮＡの前記第１の集団に架橋させる鎖間架橋剤をさらに含み、
さらに好ましくは、前記架橋剤が光活性化されてもあり、必要に応じて、ソラレンである、請求項１３に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
【請求項１５】
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、３’末端にスペーサーを含み、これにより、ＤＮＡポリメラーゼがテンプレート依存のＤＮＡ合成によって前記オリゴヌクレオチドを伸長するのを防ぎ、
必要に応じて、各スペーサーが、対応する前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの３’ＯＨに結合した脂肪族分子を含む、請求項１３または１４に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
【請求項１６】
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、ウイング付きブロッカーであり、好ましくは、
前記ウイング付きブロッカーが、ＤＮＡの前記第１の集団における配列に相補的である４０～６０のヌクレオチドの相補的オリゴヌクレオチド配列を含むか、または
前記ウイング付きブロッカーが、前記相補的ヌクレオチド配列の各末端に１０～１００のヌクレオチドのウイングオリゴヌクレオチド配列を含み、前記ウイングオリゴヌクレオチド配列は、ＤＮＡの前記第１の集団における隣接配列に相補的ではない、請求項１３に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
【請求項１７】
請求項１３～１６のいずれか一項に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド、及び鎖置換型ポリメラーゼ
を含み、好ましくは、前記鎖置換型ポリメラーゼがｐｈｉ２９ポリメラーゼである、キット。
【請求項１８】
前記ＤＮＡの混合試料が、全ゲノム増幅（ＷＧＡ）または鎖置換増幅（ＳＤＡ）を用いて増幅される、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。

【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３２】
いくつかの態様において、本発明は、組成物及び鎖置換ポリメラーゼを含むキットを提供する。いくつかの実施形態において、鎖置換型ポリメラーゼはｐｈｉ２９ポリメラーゼである。
本発明は、例えば以下の項目を提供する。
（項目１）
第１の集団と第２の集団を含むＤＮＡの混合試料の増幅によってＤＮＡの集団を富化するための改善された方法であって、前記改善が、
（ａ）前記ＤＮＡの混合試料を、ＤＮＡの前記第１の集団における複数のオリゴヌクレオチド配列に特異的に結合する複数のブロッキングオリゴヌクレオチドと接触させること

；および
（ｂ）前記ＤＮＡの混合試料に対して増幅を行い、増幅されたＤＮＡの混合試料を生成すること；
を含み、
前記ブロッキングオリゴヌクレオチドが、ＤＮＡの前記第１の集団の増幅を抑制し、それにより、前記増幅された混合試料中のＤＮＡの前記第１の集団と比較して、ＤＮＡの前記第２の集団を富化する、方法。
（項目２）
（ａ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも５０のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有する６～５０のヌクレオチドの配列を含み、そして
（ｂ）前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも２のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有する少なくとも６～２５のヌクレオチドの３’配列を含む、
項目１に記載の方法。
（項目３）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも６、７、８、９又は１０のヌクレオチドの配列を含む、項目１～２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、５０、４５、４０、３５、３０又は２５より少ないヌクレオチドの配列を含む、項目１～２のいずれか一項に記載の方法。
（項目５）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれの３’配列が、少なくとも６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４又は１５のオリゴヌクレオチドを含む、項目１～２のいずれか一項に記載の方法。
（項目６）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれの３’配列が、２５、２０、１５、１４、１３、１２、１１又は１０より少ないオリゴヌクレオチドを含む、項目１～２のいずれか一項に記載の方法。
（項目７）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、少なくとも７５、１００、１５０、２００又は２５０のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有する、項目１～２のいずれか一項に記載の方法。
（項目８）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれの３’配列が、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９又は１０のＤＮＡの前記第２の集団に対するＤＮＡの前記第１の集団における相対出現率を有する、項目１～２のいずれか一項に記載の方法。
（項目９）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドが、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、７５又は１００の異なるブロッキングオリゴヌクレオチドを含む、項目１～８のいずれか一項に記載の方法。
（項目１０）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドが、少なくとも10^3、10^4、10^5、10^6、10^7又は10^8の異なるブロッキングオリゴヌクレオチドを含む、項目９に記載の方法。
（項目１１）
ブロッキングオリゴヌクレオチドの前記第１の集団に相補的なゲノム配列間の最大距離が、２Ｇ／Ｎ、３Ｇ／Ｎ、４Ｇ／Ｎ又は５Ｇ／Ｎであって、Ｇは前記第１の集団に対応するゲノムＤＮＡのサイズであり、Ｎは、前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチド中の異

なるブロッキングオリゴヌクレオチドの数である、項目１～９のいずれか一項に記載の方法。
（項目１２）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、前記ブロッキングオリゴヌクレオチドをＤＮＡの前記第１の集団に架橋させる鎖間架橋剤をさらに含む、項目１～１１のいずれか一項に記載の方法。
（項目１３）
前記架橋剤が光活性化されている、項目１２に記載の方法。
（項目１４）
前記架橋剤がソラレンである、項目１２に記載の方法。
（項目１５）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、３’末端にスペーサーを含み、これにより、ＤＮＡポリメラーゼがテンプレート依存のＤＮＡ合成によって前記オリゴヌクレオチドを伸長するのを防ぐ、項目１～１４のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６）
各スペーサーが、対応する前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの３’ＯＨに結合した脂肪族分子を含む、項目１５に記載の方法。
（項目１７）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、ウイング付きブロッカーである、項目１５に記載の方法。
（項目１８）
前記ウイング付きブロッカーが、ＤＮＡの前記第１の集団における配列に相補的である４０～６０ヌクレオチドの相補的オリゴヌクレオチド配列を含む、項目１７に記載の方法。
（項目１９）
前記ウイング付きブロッカーが、前記相補的ヌクレオチド配列の各末端に１０～１００ヌクレオチドのウイングオリゴヌクレオチド配列を含み、前記ウイングオリゴヌクレオチド配列が、ＤＮＡの前記第１の集団における隣接配列に相補的ではない、項目１８に記載の方法。
（項目２０）
前記増幅が鎖置換型ポリメラーゼを使用して行われる、項目１～１６のいずれか一項に記載の方法。
（項目２１）
前記増幅がｐｈｉ２９ポリメラーゼを使用して行われる、項目２０に記載の方法。
（項目２２）
前記混合試料が、ヒト及び／又は他の真核生物起源の、血液、痰、尿、粘液、唾液、組織膿瘍、創部ドレナージ、便、リンパ、洗浄液、脳脊髄液、又は流体吸引物若しくは組織抽出物から得られるか、又はそれらに由来する、項目１～２１のいずれか一項に記載の方法。
（項目２３）
前記混合試料が、ヒト対象から得られるか、またはヒト対象に由来する、項目２２に記載の方法。
（項目２４）
前記第１の集団が哺乳類のＤＮＡを含む、項目１～２３のいずれか一項に記載の方法。
（項目２５）
前記第１の集団がヒトＤＮＡを含む、項目１～２３のいずれか一項に記載の方法。
（項目２６）
前記第２の集団が微生物ＤＮＡを含む、項目１～２５のいずれか一項に記載の方法。
（項目２７）
前記第１の集団が第１のタイプの微生物ＤＮＡを含み、前記第２の集団が第２のタイプの微生物ＤＮＡを含む、項目１～２３のいずれか一項に記載の方法。

（項目２８）
前記微生物ＤＮＡが、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃａｌｉｓ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃｉｕｍ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、又は菌血症に関連する任意の他の細菌種からのＤＮＡを含む、項目２６～２７のいずれか一項に記載の方法。
（項目２９）
前記混合試料中の前記微生物ＤＮＡが１０未満の微生物ゲノムに対応する、項目２６に記載の方法。
（項目３０）
前記第１の集団が哺乳類ＤＮＡを含み、前記第２の集団が微生物ＤＮＡを含み、哺乳類ＤＮＡ対微生物ＤＮＡの比が、少なくとも10^{2}、10^{3}、10^{4}、10^{5}、10^{6}、10^{7}又は10^{8}である、項目２６に記載の方法。
（項目３１）
前記増幅された試料中の微生物ＤＮＡが、前記混合試料と比較して１０倍～１００倍富化される、項目１～３０のいずれか一項に記載の方法。
（項目３２）
前記混合試料中の前記哺乳類ＤＮＡが、によって低減される、項目１～３０のいずれか一項に記載の方法。
（項目３３）
ＤＮＡの前記第１の集団が哺乳類のミトコンドリアＤＮＡを含み、前記第２の集団が微生物ＤＮＡを含む、項目１～３０のいずれか一項に記載の方法。
（項目３４）
前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの少なくとも１つが、配列番号１～配列番号１６から選択される、項目３３に記載の方法。
（項目３５）
前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの少なくとも１つが、配列番号１７～配列番号３２から選択される配列に結合する、項目３３に記載の方法。
（項目３６）
（ａ）各ブロッキングヌクレオチドが、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９又は１０の細菌ＤＮＡの試料と比較した哺乳類ＤＮＡの試料内における相対出現率を有する配列に相補的である少なくとも６～２５の連続したヌクレオチドを含み、そして
（ｂ）それぞれが、相補的配列に架橋する少なくとも１つの修飾ヌクレオチドをブロックする、
複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目３７）
哺乳類ＤＮＡの前記試料が哺乳類核ＤＮＡである、項目３６に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目３８）
哺乳類ＤＮＡの前記試料が哺乳類ミトコンドリアＤＮＡである、項目３６記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目３９）
細菌ＤＮＡの前記試料が、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃａｌｉｓ、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃｉｕｍ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、及びＫｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎａｉｅのゲノムＤＮＡからなる群から選択されるゲノムＤＮＡである、項目３６～３８のいずれか一項に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４０）

各ブロッキングオリゴヌクレオチドが、前記ブロッキングオリゴヌクレオチドをＤＮＡの前記第１の集団に架橋させる鎖間架橋剤をさらに含む、項目３６～３９のいずれか一項に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４１）
前記架橋剤が光活性化されている、項目４０に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４２）
前記架橋剤がソラレンである、項目４１に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４３）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、３’末端にスペーサーを含み、これにより、ＤＮＡポリメラーゼがテンプレート依存のＤＮＡ合成によって前記オリゴヌクレオチドを伸長するのを防ぐ、項目３６～４２のいずれか一項に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４４）
各スペーサーが、対応する前記ブロッキングオリゴヌクレオチドの３’ＯＨに結合した脂肪族分子を含む、項目４３に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４５）
前記複数のブロッキングオリゴヌクレオチドのそれぞれが、ウイング付きブロッカーである、項目３６～３９のいずれか一項に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４６）
前記ウイング付きブロッカーが、ＤＮＡの前記第１の集団における配列に相補的である４０～６０のヌクレオチドの相補的オリゴヌクレオチド配列を含む、項目４５に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４７）
前記ウイング付きブロッカーが、前記相補的ヌクレオチド配列の各末端に１０～１００のヌクレオチドのウイングオリゴヌクレオチド配列を含み、前記ウイングオリゴヌクレオチド配列は、ＤＮＡの前記第１の集団における隣接配列に相補的ではない、項目４５に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド。
（項目４８）
項目３６～４７のいずれか一項に記載の複数のブロッキングオリゴヌクレオチド、及び
鎖置換型ポリメラーゼ
を含むキット。
（項目４９）
前記鎖置換型ポリメラーゼがｐｈｉ２９ポリメラーゼである、項目４８に記載のキット。