

【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 19 年 11 月 8 日 (2007.11.8)

【公表番号】特表 2007-504831 (P2007-504831A)

【公表日】平成 19 年 3 月 8 日 (2007.3.8)

【年通号数】公開・登録公報 2007-009

【出願番号】特願 2006-526353 (P2006-526353)

【国際特許分類】

**C 1 2 Q 1/68 (2006.01)**

**C 1 2 N 15/09 (2006.01)**

**G 0 1 N 33/53 (2006.01)**

**G 0 1 N 37/00 (2006.01)**

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 A

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 37/00 1 0 2

【手続補正書】

【提出日】平成 19 年 9 月 10 日 (2007.9.10)

【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】

遺伝子発現プロファイルを決定する方法において、

a) R N A 試料を提供するステップ；

b) 逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 ( r t P C R ) により R N A 試料のメンバーサブセットを選択的に増幅し、かつ P C R 産物セットを生成するステップであって、 r t P C R が、少なくとも 1 つの遺伝子特異的プライマ対を含む反応混合物で実施され、該遺伝子特異的プライマがさらに少なくとも 1 つの汎用プライミング配列を含むステップ；

c) 複数の遺伝子発現産物に対応する核酸メンバーセットを含むアレイを提供するステップであって、前記セットの前記核酸メンバーが前記アレイ内の目立たない物理的場所に位置づけられ、前記セットの少なくとも 1 つのメンバーが前記 P C R 産物セットのメンバーの少なくとも 1 つの部分に相補的であるステップ；

d) 前記アレイの相補的メンバー核酸に対しメンバー P C R 産物をハイブリッド形成するステップ；

e) 前記アレイ内の目立たない物理的場所においてハイブリッド形成されたメンバー P C R 産物を検出し、かくして遺伝子発現プロファイルを決定するステップ、  
を含んで成る方法。

【請求項 2】

前記 R N A 試料を提供するステップが、細胞培養又は患者からの組織試料から R N A を得るステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 R N A 試料を提供するステップがさらに対照 R N A 配列を提供するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 R N A 試料を増幅させるステップが、メンバーリボ核酸の全体的増幅又はメンバーリボ核酸のサブセットの選択的増幅を実施するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 つの汎用プライミング配列を含む前記少なくとも 1 つのプライマがさらに検出可能な部分を含み、かくして検出可能な P C R 産物セットを生成する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記汎用プライマが前記 P C R 産物セットの生成に先立って又は前記 P C R 産物セットを生成した後に標識される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記遺伝子特異的プライマがさらに少なくとも 1 つのバーコード配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

汎用プライミング配列を含む第 1 の遺伝子特異的プライマ対がさらに第 1 のバーコード配列を含み、汎用プライミング配列を含む第 2 の遺伝子特異的プライマ対がさらに第 2 のバーコード配列を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記 R N A 試料を増幅させるステップがさらに、2 つ以上の P C R 産物対をプールするステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記アレイがマイクロアレイ、ドットプロットアレイ又は規則配列アレイを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記アレイを提供するステップが、核酸の 2 次元アレイ 又は核酸の 3 次元アレイを提供するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記 R N A 試料を提供するステップが、第 1 の生物学的供給源からの第 1 の R N A 試料及び第 2 の生物学的供給源からの第 2 の R N A 試料を提供するステップを含み、前記アレイの相補的メンバー核酸に対しメンバー P C R 産物をハイブリッド形成するステップが競合的ハイブリダイゼーションを実施するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記第 1 の R N A 試料、前記第 2 の R N A 試料、又は前記第 1 及び第 2 の R N A 試料の両方から生成されたメンバー P C R 産物が標識される、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 14】

汎用プライミング配列を含む少なくとも 1 つのプライマが蛍光標識を含み、前記ハイブリッド形成されたメンバー P C R 産物を検出するステップが蛍光標識の強度を判定するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

前記ハイブリッド形成されたメンバー P C R 産物を検出するステップが、前記ハイブリッド形成されたメンバー P C R 産物の相対的量を定量化するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。