

【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24年9月6日(2012.9.6)

【公開番号】特開2011-139718(P2011-139718A)

【公開日】平成23年7月21日(2011.7.21)

【年通号数】公開・登録公報2011-029

【出願番号】特願2011-96201(P2011-96201)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成24年7月18日(2012.7.18)

【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】

下記工程：

複数の配列相違がある 1 以上の標的ヌクレオチド配列を潜在的に含有するサンプルを準備する工程；

1 以上の 1 次オリゴヌクレオチドプライマーセットを準備する工程、

ここで各セットは、(a) 標的特異的部分および 5' 上流の 2 次プライマー特異的部分を有する第 1 のオリゴヌクレオチドプライマー、ならびに (b) 標的特異的部分および 5' 上流の 2 次プライマー特異的部分を有する第 2 のオリゴヌクレオチドプライマーを特徴とする；

該サンプル、該 1 次オリゴヌクレオチドプライマーおよびポリメラーゼを含む 1 次ポリメラーゼ連鎖反応混合物を、2 以上のポリメラーゼ連鎖反応サイクルに供して、1 次伸張産物を形成させる工程；

1 または複数の 2 次オリゴヌクレオチドプライマーセットを提供する工程、

ここで各セットは、(a) 第 1 の 1 次オリゴヌクレオチドプライマーの 5' 上流部分と同じ配列を含有する第 1 の 2 次プライマー、ならびに (b) 第 1 の 2 次プライマーにより含まれる第 1 の 1 次オリゴヌクレオチドプライマーと同じ 1 次オリゴヌクレオチドプライマーセットからの第 2 のオリゴヌクレオチドプライマーの 5' 上流部分と同じ配列を含有する第 2 のオリゴヌクレオチドプライマーを特徴とする；

該 1 次伸張産物、該 2 次オリゴヌクレオチドプライマーおよび該ポリメラーゼを含む 2 次ポリメラーゼ連鎖反応混合物を、2 以上のポリメラーゼ連鎖反応サイクルに供して、該 1 次伸張産物に相補的な 2 次伸張産物を形成させる工程；

を含む方法。

【請求項 2】

2 次伸張産物を配列決定することをさらに含む、請求項 1 の方法。

【請求項 3】

2 次伸張産物に標識を連結させること、および該 2 次伸張産物に連結した該標識を検出することをさらに含む、請求項 1 の方法。

【請求項 4】

検出が、1 以上の単一塩基の変更、挿入、欠失または転座により相違しているサンプル中

の 2 以上の複数の標的ヌクレオチド配列を区別することを含む、請求項 3 の方法。

【請求項 5】

検出が、2 次伸張産物を配列決定することを含む、請求項 3 の方法。

【請求項 6】

1 次プライマーセットの 1 次オリゴヌクレオチドプライマーの一つが、さらなる部分を含む、請求項 1 の方法。

【請求項 7】

1 次プライマーセット中の一つの 1 次プライマーのさらなる部分が、異なる 1 次プライマーセット中の 1 次プライマーのさらなる部分と相違している、請求項 6 の方法。

【請求項 8】

2 次伸張産物が固体支持物上に固定される、請求項 1 の方法。

【請求項 9】

下記工程：

1 以上の単一塩基の変更、挿入、欠失または転座により相違している 2 以上の複数の標的ヌクレオチド配列を潜在的に含有するサンプルを準備する工程；

ポリメラーゼ反応混合物において 1 以上の単一塩基の変更、挿入、欠失または転座により相違している 2 以上の複数の標的ヌクレオチド配列の各々に相補的な 1 次伸張産物を形成させる工程、

ここで該 1 次伸張産物の各々が、上流プライマー部分、標的特異的部分、および下流プライマー部分を含んでおり、ここで該上流プライマー部分および該下流プライマー部分が、該標的ヌクレオチド配列と同一または相補的ではない；および

2 次ポリメラーゼ反応混合物において該 1 次伸張産物の各々と相補的である 2 次伸張産物を形成させる工程；

を含む、方法。

【請求項 10】

2 次伸張産物を配列決定することをさらに含む、請求項 9 の方法。

【請求項 11】

2 次伸張産物各々が、上流プライマー部分、標的特異的部分、および下流標的特異的部分を含む、請求項 9 の方法。

【請求項 12】

2 次伸張産物に標識を連結させること、および

該 2 次伸張産物に連結した該標識を検出することをさらに含む、請求項 9 の方法。

【請求項 13】

1 以上の単一塩基の変更、挿入、欠失または転座により相違しているサンプル中の 2 以上の複数の標的ヌクレオチド配列を区別することを含む、請求項 12 の方法。

【請求項 14】

検出が、2 次伸張産物を配列決定することを含む、請求項 12 の方法。

【請求項 15】

1 次伸張産物が、さらなる部分を含む、請求項 9 の方法。

【請求項 16】

一つの 1 次伸張産物のさらなる部分が、異なる 1 次伸張産物のさらなる部分と相違する、請求項 15 の方法。

【請求項 17】

2 次伸張産物が固体支持物上に固定される、請求項 9 の方法。