

【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 12 月 16 日 (2021.12.16)

【公表番号】特表 2021-510541 (P2021-510541A)

【公表日】令和 3 年 4 月 30 日 (2021.4.30)

【年通号数】公開・登録公報 2021-020

【出願番号】特願 2020-558864 (P2020-558864)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/686 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6855 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6858 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/686 Z

C 1 2 Q 1/6855 Z

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 1 2 Q 1/6858 Z

C 1 2 Q 1/6851 Z

C 1 2 N 15/10 Z N A Z

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 11 月 8 日 (2021.11.8)

【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】

プライマー含有の組成物であって、前記プライマーが、以下：

(a) 標的特異的セクションと、アダプターセクションと、ステム形成セクションとを含むループ可能プライマーであって、前記ステム形成セクションが、ステム構造を形成するために、前記標的特異的セクションの一部に対しハイブリダイズ可能である、前記ループ可能プライマー、または

(b) 第 1 の標的特異的セクションと、第 2 の標的特異的セクションと、前記第 1 の標的特異的セクションと前記第 2 の標的特異的セクションとの間に位置するアダプターセクションとを備える、スプリットプライマー、または

(c) 第 1 の標的特異的セクションと、第 2 の標的特異的セクションと、前記第 1 の標的特異的セクションと前記第 2 の標的特異的セクションとの間に位置するステム形成セクションと、アダプターセクションとを含むか、または、第 1 のアダプターセクションと、第 2 のアダプターセクションと、前記第 1 のアダプターセクションと前記第 2 のアダプターセクションとの間に位置するステム形成セクションと、標的特異的セクションとを備える、スプリットループ可能プライマー、

のうちのいずれかのプライマーである、組成物。

【請求項 2】

前記プライマーがループ可能プライマーであり、

ここで任意により、前記組成物が少なくとも、増幅用の同じ対象の遺伝子座を標的とした

、順方向スプリットループ可能プライマー及び逆方向スプリットループ可能プライマーとを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記アダプターセクションが、前記標的特異的セクションと前記ステム形成セクションとの間に位置し、前記ステム形成セクションと前記標的特異的セクションの一部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記アダプターセクションを含むループが形成され

、ここで任意により、前記アダプターセクションが、前記標的特異的セクションの 5' 側および前記ステム形成セクションの 3' 側に位置する、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記プライマーが、分子インデクシング配列含有の分子インデクシングセクションを更に含み、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記標的特異的セクションと前記アダプターセクションとの間に位置し、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記標的特異的セクションの 5' 側および前記アダプターセクションの 3' 側に位置し、前記ステム形成セクションと前記標的特異的セクションの前記一部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記アダプターセクションと前記分子インデクシングセクションとを含むループが形成される、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記標的特異的セクションが 5' 部分と 3' 部分とを含み、前記ステム形成セクションが、前記標的特異的セクションの前記 3' 部分に対しハイブリダイズ可能であり、

ここで任意により、前記ステム形成セクションと前記標的特異的セクションの前記 3' 部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記アダプターセクションと前記標的特異的セクションの前記 5' 部分とを含むループが形成され、

ここで任意により、前記ループ可能プライマーが、前記標的特異的セクションの 3' 末端に、1 つ以上の不適合ヌクレオチドで、前記ステム形成セクションに対しハイブリダイズ不可能なものを更に含む、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記標的特異的セクションが 5' 部分と 3' 部分とを含み、前記ステム形成セクションが、前記標的特異的セクションの 5' 部分に対しハイブリダイズ可能であり、

ここで任意により、前記ステム形成セクションと前記標的特異的セクションの前記 5' 部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記アダプターセクションを含み但し前記標的特異的セクションの前記 3' 端部分を含まないループが形成される

ここで任意により、前記ループ可能プライマーが、前記標的特異的セクションの前記 5' 側に位置する 1 つ以上の G または C ヌクレオチドを更に含み、任意で、前記ステム形成セクションの前記 3' 側に位置する 1 つ以上の相補的な G または C ヌクレオチドにより前記ステム構造を安定化させる、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記プライマーがスプリットプライマーであり、

ここで任意により、前記組成物が少なくとも、増幅用の同じ対象の遺伝子座を標的とした、順方向スプリットループ可能プライマー及び逆方向スプリットループ可能プライマーとを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記プライマーが、分子インデクシング配列含有の分子インデクシングセクションを更に含み、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記アダプターセクションと前記標的特異的セクションのうちの 1 つとの間に位置し、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記アダプターセクションの 3' 側に位置する、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記プライマーが、第 1 の標的特異的セクションと、第 2 の標的特異的セクションと、前記第 1 の標的特異的セクションと前記第 2 の標的特異的セクションとの間に位置するステム形成セクションと、アダプターセクションとを備える、スプリットループ可能プライマーであり、

ここで任意により、前記組成物が少なくとも、増幅用の同じ対象の遺伝子座を標的とした、順方向スプリットループ可能プライマー及び逆方向スプリットループ可能プライマーとを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記アダプターセクションが、前記ステム形成セクションと前記第 2 の標的特異的セクションとの間に位置し、前記ステム形成セクションと前記第 2 の標的特異的セクションの一部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記アダプターセクションを含むループが形成され、

ここで任意により、前記アダプターセクションが、前記第 2 の標的特異的セクションの 5 ' 側および前記ステム形成セクションの 3 ' 側に位置し、

ここで任意により、前記スプリットループ可能プライマーが、前記第 2 の標的特異的セクションの 3 ' 末端に、1 つ以上の不適合ヌクレオチドで、前記ステム形成セクションに対しハイブリダイズ不可能なものを更に含む、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

前記スプリットループ可能プライマーが、分子インデクシング配列含有の分子インデクシングセクションを更に含み、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記アダプターセクションと前記第 2 の標的特異的セクションとの間に位置し、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記第 2 の標的特異的セクションの 5 ' 側および前記アダプターセクションの 3 ' 側に位置し、前記ステム形成セクションと前記第 2 の標的特異的セクションの一部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記アダプターセクションと前記分子インデクシングセクションとを含むループが形成される、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 12】

前記プライマーが、第 1 のアダプターセクションと、第 2 のアダプターセクションと、前記第 1 のアダプターセクションと前記第 2 のアダプターセクションとの間に位置するステム形成セクションと、標的特異的セクションとを備える、スプリットループ可能プライマーであり、

ここで任意により、前記組成物が少なくとも、増幅用の同じ対象の遺伝子座を標的とした、順方向スプリットループ可能プライマー及び逆方向スプリットループ可能プライマーとを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記第 2 のアダプターセクションが、前記ステム形成セクションと前記標的特異的セクションとの間に位置し、前記ステム形成セクションと前記標的特異的セクションの一部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記第 2 のアダプターセクションを含むループが形成され、

ここで任意により、前記第 2 のアダプターセクションが、前記標的特異的セクションの 5 ' 側および前記ステム形成セクションの 3 ' 側に位置する、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記スプリットループ可能プライマーが、分子インデクシング配列含有の分子インデクシングセクションを更に含み、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記第 2 のアダプターセクションと前記標的特異的セクションとの間に位置し、また、

ここで任意により、前記分子インデクシングセクションが、前記標的特異的セクションの 5 ' 側および前記第 2 のアダプターセクションの 3 ' 側に位置し、前記ステム形成セクシ

ョンと前記標的特異的セクションの一部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記第2のアダプターセクションと前記分子インデクシングセクションとを含むループが形成される、請求項12に記載の組成物。

【請求項15】

前記標的特異的セクションが5'部分と3'部分とを含み、前記ステム形成セクションが、前記標的特異的セクションの前記3'部分に対しハイブリダイズ可能であって、前記ステム形成セクションと前記標的特異的セクションの前記3'部分との間のハイブリダイゼーションによって、前記第2のアダプターセクションと前記標的特異的セクションの前記5'部分とを含むループが形成され、

ここで任意により、前記スプリットループ可能プライマーが、前記標的特異的セクションの3'末端に、1つ以上の不適合ヌクレオチドで、前記ステム形成セクションに対しハイブリダイズ不可能なものを更に含む、請求項12に記載の組成物。

【請求項16】

前記アダプターセクションがPCR増幅および/または配列決定用の、ユニバーサルアダプター配列を含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項17】

少なくとも50個の異なるプライマーを含み、前記プライマーの各々が異なるステム形成セクション及び/又は異なる分子インデクシング配列を含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項18】

少なくとも2,500個の異なるプライマーを含み、前記プライマーの各々が前記ステム形成セクションと前記分子インデクシング配列との異なる組み合わせを含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項19】

少なくとも2回の予備増幅サイクルを含む、鋳型DNAから対象の標的遺伝子座を増幅する方法であって、その際、以下：

(a) 標的特異的セクションと、アダプターセクションと、ステム形成セクションとを備えるループ可能プライマーであって、前記ステム形成セクションが、ステム構造を形成するために前記標的特異的セクションの一部分に対しハイブリダイズ可能である、前記ループ可能プライマー、または

(b) 第1の標的特異的セクションと、第2の標的特異的セクションと、前記第1の標的特異的セクションと前記第2の標的特異的セクションとの間に位置するアダプターセクションとを備える、スプリットプライマー、または

(c) 第1の標的特異的セクションと、第2の標的特異的セクションと、前記第1の標的特異的セクションと前記第2の標的特異的セクションとの間に位置するステム形成セクションとを含むか、または、第1のアダプターセクションと、第2のアダプターセクションと、前記第1のアダプターセクションと前記第2のアダプターセクションとの間に位置するステム形成セクションとを備える、スプリットループ可能プライマー、

のうちのいずれかのプライマーを使用する、前記方法において、

各予備増幅サイクルが、前記プライマーを前記鋳型DNAまたはその予備増幅産物にアニーリングし、前記アニーリングされたプライマーを伸長することを含む、増幅方法。

【請求項20】

対象の標的遺伝子座を増幅するためのキットであって、以下のプライマー：

(a) 標的特異的セクションと、アダプターセクションと、ステム形成セクションとを備える、ループ可能プライマーであって、前記ステム形成セクションが、ステム構造を形成するために、前記標的特異的セクションの一部分に対しハイブリダイズ可能である、前記ループ可能プライマー、または

(b) 第1の標的特異的セクションと、第2の標的特異的セクションと、前記第1の標的特異的セクションと前記第2の標的特異的セクションとの間に位置するアダプターセクションとを備える、スプリットプライマー、または

(c) 第 1 の標的特異的セクションと、第 2 の標的特異的セクションと、前記第 1 の標的特異的セクションと前記第 2 の標的特異的セクションとの間に位置するステム形成セクションとを含むか、または、第 1 のアダプターセクションと、第 2 のアダプターセクションと、前記第 1 のアダプターセクションと前記第 2 のアダプターセクションとの間に位置するステム形成セクションとを備える、スプリットループ可能プライマー、
のうちのいずれかのプライマーを具備する、キット。