

【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31年2月14日(2019.2.14)

【公開番号】特開2018-196379(P2018-196379A)

【公開日】平成30年12月13日(2018.12.13)

【年通号数】公開・登録公報2018-048

【出願番号】特願2018-121829(P2018-121829)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/6827	(2018.01)
C 1 2 Q	1/686	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6816	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6886	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6851	(2018.01)
C 1 2 N	15/57	(2006.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/6827	Z N A Z
C 1 2 Q	1/686	Z
C 1 2 Q	1/6816	Z
C 1 2 Q	1/6886	Z
C 1 2 Q	1/6851	Z
C 1 2 N	15/57	
C 1 2 N	15/12	

【手続補正書】

【提出日】平成30年12月26日(2018.12.26)

【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】

ヒト由来の核酸の試料中の遺伝子のコドン中の複数の位置における複数の突然変異(X)を検出する方法であって、1つの位置につき1つの突然変異であり、ここで、突然変異の数は少なくとも2つであり、当該方法は、

a. 当該核酸の試料を用いて増幅反応を実施する段階であって、

i. 該増幅反応は、第1のプライマーを含み、当該プライマーの3'末端の最後の2個のヌクレオチドが第1の突然変異(X₁)をコードし、かつ3'末端から3番目のヌクレオチドがミスマッチ塩基を含有し、または、当該プライマーの3'末端の最後の3個のヌクレオチドが第1の突然変異(X₁)をコードし、かつ3'末端から4番目のヌクレオチドがミスマッチ塩基を含有し、ここで、第1の突然変異が存在する場合は、該プライマーは第1の突然変異にアニーリングし、

ii. 該増幅反応は、第2のプライマーを含み、当該プライマーの3'末端の最後の2個のヌクレオチドが第2の突然変異(X₂)をコードし、かつ3'末端から3番目のヌクレオチドがミスマッチ塩基を含有し、または、当該プライマーの3'末端の最後の3個のヌクレオチドが第2の突然変異(X₂)をコードし、かつ3'末端から4番目のヌクレオチドがミスマッチ塩基を含有し、ここで、第2の突然変異が存在する場合は、該プライマーは第2の突然変異にアニーリングし、

ここで、核酸の試料がmRNAである場合、段階(a)は、前記増幅反応を実施する前にmRNAから逆転写されたcDNAを得ることまたはmRNAからcDNAを逆転写することをさらに含み、

その結果、第1の突然変異が存在する場合は、該増幅反応は第1の突然変異を含有する増幅産物を生成し、第2の突然変異が存在する場合は、該増幅反応は第2の突然変異を含有する増幅産物を生成する段階と、

b. 第1の突然変異を含有する全ての増幅産物、および第2の突然変異を含有する全ての増幅産物を検出し、その結果、ヒト由来の核酸の試料中の遺伝子のコドン中の突然変異が検出される段階を含む、方法。

【請求項2】

前記増幅反応が、少なくとも1つのペプチド核酸(PNA)クランプをさらに含み、ここで該少なくとも1つのPNAクランプが野生型標的からの増幅をブロックし、前記増幅反応が1以上の他のPNAクランプを含む場合、前記PNAが、望ましくない標的に結合し、プライマーが望ましくない標的から増幅するのを妨げることによって検出可能オリゴヌクレオチドおよび/またはプライマーを捕捉する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記Xを含有する増幅産物を検出する段階が、標識プライマーを検出すること、または前記増幅産物を検出可能オリゴヌクレオチドと接触させ、かつ前記Xを含有する増幅産物への前記検出可能オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションを検出することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記増幅反応が内部対照プライマーをさらに含み、この場合前記増幅反応が前記内部対照を含有する増幅産物も生成し、この場合段階(b)が、前記内部対照を含有する増幅産物を検出することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記内部対照を含有する増幅産物を検出する段階が、標識プライマーを検出すること、または前記増幅産物を検出可能オリゴヌクレオチドと接触させ、前記内部対照を含有する増幅産物への前記検出可能オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションを検出することを含む、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

請求項1に記載の方法であって、前記方法が2以上のXを検出する段階を含む場合、前記方法が、各々のXについての核酸試料を用いた増幅反応を一緒にまたは別々に実施することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

いずれのXが核酸試料中に存在するかを決定する段階をさらに含む、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記第1および第2のプライマーが正プライマーおよび逆プライマーから選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

さらなる突然変異が存在する場合、増幅反応が各突然変異についてのプライマーを含む、請求項1に記載の方法。