

【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1年9月5日(2019.9.5)

【公表番号】特表2018-524014(P2018-524014A)

【公表日】平成30年8月30日(2018.8.30)

【年通号数】公開・登録公報2018-033

【出願番号】特願2018-502674(P2018-502674)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/6869	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6806	(2018.01)
C 1 2 N	15/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/11	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6883	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6886	(2018.01)
C 1 2 M	1/34	(2006.01)
C 1 2 M	1/26	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6855	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6816	(2018.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/6869	Z
C 1 2 Q	1/6806	Z
C 1 2 N	15/10	1 1 0 Z
C 1 2 N	15/10	1 0 0 Z
C 1 2 N	15/11	Z
C 1 2 Q	1/6883	Z
C 1 2 Q	1/6886	Z
C 1 2 M	1/34	Z
C 1 2 M	1/26	
C 1 2 Q	1/6855	Z
C 1 2 Q	1/6816	Z

【手続補正書】

【提出日】令和1年7月22日(2019.7.22)

【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】

融合遺伝子の切断点断片を含む無細胞核酸分子を含有するかまたは前記融合遺伝子の前記切断点断片を含む無細胞核酸分子を含有することが疑われる生物学的試料から、融合遺伝子の切断点断片を捕捉するための方法であつて、

(a) 前記生物学的試料を、1つまたは複数のロックド核酸(LNA)スクレオチドを含むポリヌクレオチドプローブと、

i. 前記ポリヌクレオチドプローブと前記切断点断片との間のハイブリダイゼーションを可能にして、混合物中にプローブ捕捉ポリヌクレオチドを提供するのに十分な条件であつて、前記ポリヌクレオチドプローブが、前記切断点断片との配列相補性を有し；前記配列相補性を有し、かつ未改変スクレオチドのみを含有するポリヌクレオチドより大きい、

前記融合遺伝子に対する親和性を有する、条件、および

i i . 前記混合物からの前記プローブ捕捉ポリヌクレオチドの濃縮または単離を可能にするのに十分な条件であって、前記ポリヌクレオチドプローブが、前記切断点断片との配列相補性を有する、条件下で接触させるステップと

(b) 前記プローブ捕捉ポリヌクレオチドを溶出して、前記プローブから前記捕捉ポリヌクレオチドを単離するステップと、

(c) 前記溶出したポリヌクレオチドを直接配列決定するか、または前記溶出したポリヌクレオチドを使用して、配列決定ライブラリーを生成するステップと

を含む方法。

【請求項 2】

前記ポリヌクレオチドプローブが、複数の L N A ヌクレオチドを含み、前記 L N A ヌクレオチドのうちの少なくとも 2 つが、 3 0 ヌクレオチド以下の間隔を置いている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 L N A ヌクレオチドのうちの前記少なくとも 2 つが、 1 5 ヌクレオチド以下の間隔を置いている、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記ポリヌクレオチドプローブの内の少なくとも 9 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 5 0 %、少なくとも 2 0 %、少なくとも 1 0 %、少なくとも 5 %、または少なくとも 1 % のヌクレオチドが L N A ヌクレオチドである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記ポリヌクレオチドプローブが、未改変ヌクレオチドのみを含有する同じ配列のポリヌクレオチドと比較して、少なくとも 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 1 0 、 1 5 または 2 0 高い、ハイブリダイゼーション反応における融解温度を有する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記ポリヌクレオチドプローブが、がん融合遺伝子にハイブリダイズするように構成されている、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記がん融合遺伝子が、図 2 A ~ 図 2 B に存在するか、または図 3 から選択される 2 またはそれより多くの遺伝子間の融合遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記ポリヌクレオチドプローブが、前記融合遺伝子の切断点から 5 0 0 ヌクレオチド以内の配列に対して配列相補性を有する、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記ポリヌクレオチドプローブが、前記融合遺伝子の切断点の両側のいずれかの配列の一部に対して配列相補性を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記ポリヌクレオチドプローブが、最大約 5 0 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 4 5 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 4 2 5 ヌクレオチドの長さ、最大約 4 0 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 3 7 5 ヌクレオチドの長さ、最大約 3 5 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 3 2 5 ヌクレオチドの長さ、最大約 3 0 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 2 7 5 ヌクレオチドの長さ、最大約 2 5 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 2 2 5 ヌクレオチドの長さ、最大約 2 0 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 1 8 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 1 6 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 1 4 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 1 2 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 1 0 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 8 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 6 0 ヌクレオチドの長さ、最大約 4 0 ヌクレオチドの長さ、または最大約 2 0 ヌクレオチドの長さである、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記生物学的試料が、血液、血清、血漿、硝子体、痰、尿、涙液、汗、唾液、精液、粘膜排泄物、粘液、脊髄液、羊水、またはリンパ液である、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記無細胞核酸分子が、最大500ヌクレオチドの長さ、最大400ヌクレオチドの長さ、最大300ヌクレオチドの長さ、最大250ヌクレオチドの長さ、最大225ヌクレオチドの長さ、最大200ヌクレオチドの長さ、最大190ヌクレオチドの長さ、最大180ヌクレオチドの長さ、最大170ヌクレオチドの長さ、最大160ヌクレオチドの長さ、最大150ヌクレオチドの長さ、最大140ヌクレオチドの長さ、最大130ヌクレオチドの長さ、最大120ヌクレオチドの長さ、最大110ヌクレオチドの長さ、または最大100ヌクレオチドの長さである、請求項1～11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】0042

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0042】

本開示の別の態様は、1つまたは複数のコンピュータプロセッサ、およびそれらにカッティングされた非一時的なコンピュータ可読媒体を含むシステムを提供する。非一時的なコンピュータ可読媒体が、1つまたは複数のコンピュータプロセッサにより実行されると、上記または本明細書の他の箇所の方法のうちのいずれかを実行する、機械により実行可能なコードを含む。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

がんを有するかまたはがんを有することが疑われる対象に診断または治療の介入を提供するための方法であって、

(a) 対象からの無細胞核酸分子を含む生物学的試料を提供するステップと、
(b) プローブ捕捉ポリヌクレオチドを生成するのに十分なハイブリダイゼーション条件下、前記生物学的試料からの前記無細胞核酸分子をプローブセットと接触させるステップであって、前記プローブセットが複数のポリヌクレオチドプローブを含み、前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、(i) 融合遺伝子との配列相補性、および(ii) 前記融合遺伝子と相補的な配列を有し、かつ未改変ヌクレオチドのみを含有するポリヌクレオチドより大きい、前記融合遺伝子に対する親和性を有する、ステップと、
(c) 混合物から前記プローブ捕捉ポリヌクレオチドを単離して、前記融合遺伝子の切断点断片を含む単離ポリヌクレオチドが濃縮された試料を生成するステップと、
(d) 前記単離ポリヌクレオチドを配列決定して、配列を生成するステップと、
(e) 前記配列に基づいて、融合遺伝子の切断点を含むポリヌクレオチドを検出するステップと、
(f) 切断点断片の前記検出に基づいて、前記診断または治療の介入を提供するステップと
を含む方法。

(項目2)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、1つまたは複数のロッド核酸(LNA)ヌクレオチドを含む、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、複数のLNAヌクレオチドを含み、前記LNAヌクレオチドのうちの少なくとも2つが、30ヌクレオチド以下の間隔を置いている、項目2に記載の方法。

(項目4)

前記LNAヌクレオチドのうちの前記少なくとも2つが、15ヌクレオチド以下の間隔を置いている、項目3に記載の方法。

(項目5)

前記複数のポリヌクレオチドプローブの少なくともサブセットのそれぞれのヌクレオチドのうちの少なくとも50%が、ロックド核酸(LNA)ヌクレオチドである、項目1に記載の方法。

(項目6)

前記複数のポリヌクレオチドプローブの少なくともサブセットのそれぞれのヌクレオチドのうちの少なくとも75%が、ロックド核酸(LNA)ヌクレオチドである、項目5に記載の方法。

(項目7)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子と相補的な配列を有し、かつ未改変ヌクレオチドのみを含有する前記ポリヌクレオチドよりも少なくとも約1%高い融解温度を有する、項目1に記載の方法。

(項目8)

前記融解温度が、少なくとも約10%より高い、項目7に記載の方法。

(項目9)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子と相補的な配列を有し、かつ未改変ヌクレオチドのみを含有する前記ポリヌクレオチドよりも少なくとも約2%高い融解温度を有する、項目1に記載の方法。

(項目10)

前記融解温度が、少なくとも約10%より高い、項目9に記載の方法。

(項目11)

前記融合遺伝子が、がん融合遺伝子である、項目1に記載の方法。

(項目12)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、図2A～図2Bの融合遺伝子の対の遺伝子または図3から選択される2つもしくはそれよりも多くの遺伝子間の融合遺伝子との配列相補性を有する、項目1に記載の方法。

(項目13)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子の切断点から50ヌクレオチド以下で離れた切断点領域との配列相補性を有する、項目1に記載の方法。

(項目14)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子中の切断点にわたる配列との配列相補性を有する、項目1に記載の方法。

(項目15)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、約500ヌクレオチド未満の長さを有する、項目1に記載の方法。

(項目16)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、約20～約200ヌクレオチドの間の長さを有する、項目1に記載の方法。

(項目17)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、約80～約160ヌクレオチドの間の長さを有する、項目1に記載の方法。

(項目18)

前記切断点断片のそれぞれが、約140～180ヌクレオチドの間の長さを有する、項目1に記載の方法。

(項目19)

前記複数のポリヌクレオチドプローブが、固体支持体にカップリングされている、項目1に記載の方法。

(項目20)

前記プローブセットが、1つまたは複数の天然のポリヌクレオチドプローブを含む、項目1に記載の方法。

(項目21)

前記複数のポリヌクレオチドプローブが、前記融合遺伝子中に含まれる核酸配列の切断点領域にハイブリダイズする少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブ、および前記融合遺伝子中に含まれる前記核酸配列の非切断点領域にハイブリダイズする少なくとも1つの天然のポリヌクレオチドプローブを含む、項目1に記載の方法。

(項目22)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子中に含まれる核酸配列の切断点領域の少なくとも50%のカバレッジを提供する、項目1に記載の方法。

(項目23)

ステップ(d)が、前記単離ポリヌクレオチドに、明確に異なるバーコード配列を有するバーコードを含むタグを付着させ、タグ付き親ポリヌクレオチドを作り出すことを含む、項目1に記載の方法。

(項目24)

前記タグ付き親ポリヌクレオチドを増幅して、タグ付き子孫ポリヌクレオチドを生成するステップをさらに含む、項目23に記載の方法。

(項目25)

(i) 前記タグ付き子孫ポリヌクレオチドを配列決定して、配列リードを生成するステップであって、各配列リードが、バーコード配列と、前記単離ポリヌクレオチドのうちの所与の1つから誘導された配列とを含む、ステップと、(ii) 少なくとも前記バーコード配列に基づいて、前記配列リードをファミリーにグループ分けするステップとをさらに含む、項目24に記載の方法。

(項目26)

各ファミリー内にグループ分けされた前記配列リードを比較して、各ファミリーについてのコンセンサス配列を決定するステップであって、前記コンセンサス配列のそれぞれが、前記タグ付き親ポリヌクレオチド間で固有なポリヌクレオチドに対応する、ステップをさらに含む、項目25に記載の方法。

(項目27)

融合遺伝子の切断点断片を捕捉するための方法であって、

(a) 前記融合遺伝子の前記切断点断片を含む無細胞核酸分子を含有するかまたは前記融合遺伝子の前記切断点断片を含む無細胞核酸分子を含有することが疑われる生物学的試料を提供するステップと、

(b) 前記生物学的試料を、ポリヌクレオチドプローブと、

i. 前記ポリヌクレオチドプローブと前記切断点断片との間のハイブリダイゼーションを可能にして、混合物中にプローブ捕捉ポリヌクレオチドを提供するのに十分な条件であって、前記ポリヌクレオチドプローブが、前記切断点断片との配列相補性を有し；前記融合遺伝子と相補的な配列を有し、かつ未変換ヌクレオチドのみを含有するポリヌクレオチドより大きい、前記融合遺伝子に対する親和性を有する、条件、および

ii. 前記混合物からの前記プローブ捕捉ポリヌクレオチドの濃縮または単離を可能にするのに十分な条件であって、前記ポリヌクレオチドプローブが、前記切断点断片との配列相補性を有する、条件下で接触させるステップとを含む方法。

(項目28)

前記ポリヌクレオチドプローブが、1つまたは複数のロックド核酸(LNA)ヌクレオチドを含む、項目27に記載の方法。

(項目29)

前記ポリヌクレオチドプローブが、複数のLNAヌクレオチドを含み、前記LNAヌクレオチドのうちの少なくとも2つが、30ヌクレオチド以下の間隔を置いている、項目2

8 に記載の方法。(項目 3 0)

前記 LNA ヌクレオチドのうちの前記少なくとも 2 つが、 15 ヌクレオチド以下の間隔を置いている、項目 29 に記載の方法。

(項目 3 1)

複数のポリヌクレオチドプローブを含むプローブセットであって、前記ポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、(i) 無細胞核酸分子の一部としての融合遺伝子との配列相補性、および(ii) 前記融合遺伝子と相補的な配列を有し、かつ未改変ヌクレオチドのみを含有するポリヌクレオチドより大きい、前記融合遺伝子に対する親和性を有する、プローブセット。

(項目 3 2)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、 1 つまたは複数のロッド核酸又クレオチドを含む、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 3 3)

1 つまたは複数の天然のポリヌクレオチドプローブをさらに含む、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 3 4)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子中に含まれる核酸配列の切断点領域にハイブリダイズする少なくとも 1 つのポリヌクレオチドプローブ、および前記融合遺伝子中に含まれる前記核酸配列の非切断点領域にハイブリダイズする少なくとも 1 つの天然のポリヌクレオチドプローブを含む、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 3 5)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子中に含まれる核酸配列の切断点領域の少なくとも 50 % のカバレッジを提供する、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 3 6)

前記複数のポリヌクレオチドプローブが、前記融合遺伝子中の異なる遺伝子の一方または両方の部分にハイブリダイズする、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 3 7)

固体支持体をさらに含み、前記複数のポリヌクレオチドプローブが、前記固体支持体にカップリングされている、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 3 8)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子と相補的な配列を有し、かつ未改変ヌクレオチドのみを含有する前記ポリヌクレオチドよりも少なくとも約 1 % 高い融解温度を有する、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 3 9)

前記融解温度が、少なくとも約 10 % より高い、項目 38 に記載のプローブセット。

(項目 4 0)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、前記融合遺伝子と相補的な配列を有し、かつ未改変ヌクレオチドのみを含有する前記ポリヌクレオチドよりも少なくとも約 2 % 高い融解温度を有する、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 4 1)

前記融解温度が、少なくとも約 10 % より高い、項目 40 に記載のプローブセット。

(項目 4 2)

前記融合遺伝子が、がん融合遺伝子である、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目 4 3)

前記複数のポリヌクレオチドプローブのそれぞれが、図 2A ~ 図 2B の融合遺伝子の対の遺伝子または図 3 から選択される 2 つもしくはそれよりも多くの遺伝子間の融合遺伝子との配列相補性を有する、項目 31 に記載のプローブセット。

(項目44)

無細胞核酸分子中の融合遺伝子と関連がある核酸配列に特異的にハイブリダイズするように構成されている配列を含む、高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目45)

融合遺伝子に特異的にハイブリダイズするように構成されている、高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目46)

1つまたは複数のロッド核酸ヌクレオチドを含む、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目47)

天然のヌクレオチドのみを含む、同じ配列を有するポリヌクレオチドよりも少なくとも1高い融解温度を有する、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目48)

天然のヌクレオチドのみを含む、同じ配列を有するポリヌクレオチドよりも少なくとも2%高い融解温度を有する、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目49)

がん融合遺伝子に特異的にハイブリダイズするように構成されている、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目50)

図2A～図2Bの融合遺伝子の対の遺伝子または図3から選択される2つもしくはそれよりも多くの遺伝子間の融合遺伝子に特異的にハイブリダイズするように構成されている、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目51)

前記融合遺伝子の切断点から500ヌクレオチド以下で離れた切断点領域内でハイブリダイズするように構成されている、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目52)

前記融合遺伝子中の切断点にわたりハイブリダイズするように構成されている、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目53)

約500ヌクレオチド未満の長さを有する、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目54)

複数のロッド核酸(LNA)ヌクレオチドをさらに含み、前記LNAヌクレオチドのうちの少なくとも2つが、30ヌクレオチド以下の間隔を置いている、項目46に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目55)

前記ポリヌクレオチド中の前記ヌクレオチドのうちの少なくとも1%が、ロッド核酸ヌクレオチドである、項目46に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目56)

前記融合遺伝子のヌクレオチド配列に完全または実質的に相補的なヌクレオチド配列を有する、項目45に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目57)

融合遺伝子に特異的にハイブリダイズするように構成されている、高い親和性のポリヌクレオチドを含む、高い親和性のポリヌクレオチドプローブ。

(項目58)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、1つまたは複数のロッド核酸ヌクレオチドを含む、項目57に記載のプローブ。

(項目59)

検出可能な標識、結合性部分または固体支持体から選択される機能性をさらに含む、項目57に記載のプローブ。

(項目60)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、融合遺伝子の切断点断片にハイブリダイズするように構成されている、項目57に記載のプローブ。

(項目61)

前記切断点断片が、約140～約180ヌクレオチドの間の長さを有する、項目60に記載のプローブ。

(項目62)

前記切断点断片が、無細胞DNAまたはゲノムDNAである、項目60に記載のプローブ。

(項目63)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、固体支持体に結合している、項目57に記載のプローブ。

(項目64)

複数のポリヌクレオチドプローブを含むプローブセットであって、各プローブが、融合遺伝子に特異的にハイブリダイズするように構成されており、1つまたは複数の高い親和性のポリヌクレオチドプローブを含む、プローブセット。

(項目65)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、1つまたは複数のロッド核酸ヌクレオチドを含む、項目64に記載のプローブセット。

(項目66)

1つまたは複数の天然のポリヌクレオチドプローブを含む、項目64に記載のプローブセット。

(項目67)

前記融合遺伝子に関する遺伝子の切断点領域に特異的にハイブリダイズする、少なくとも1つの高い親和性のポリヌクレオチドプローブ、および前記融合遺伝子に関する前記遺伝子の非切断点領域にハイブリダイズする、少なくとも1つの天然のポリヌクレオチドプローブをさらに含む、項目64に記載のプローブセット。

(項目68)

前記プローブセット中の前記1つまたは複数の高い親和性のポリヌクレオチドプローブが、前記融合遺伝子に関する遺伝子の切断点領域の少なくとも50%（少なくとも0.5×～5×）のカバレッジを提供する、項目64に記載のプローブセット。

(項目69)

前記ポリヌクレオチドプローブが、前記融合遺伝子中の異なる遺伝子の一方または両方の部分にハイブリダイズする、項目64に記載のプローブセット。

(項目70)

オリゴヌクレオチドのチップとして構成されている、項目64に記載のプローブセット。

(項目71)

標的配列が、高い親和性のポリヌクレオチドプローブおよび標準的な親和性のポリヌクレオチドプローブの両方により標的にされる、項目64に記載のプローブセット。

(項目72)

複数のプローブセットを含むキットであって、各プローブセットが、異なる遺伝子に特異的にハイブリダイズし、前記プローブセットのうちの少なくとも1つが、項目64に記載のプローブセットである、キット。

(項目73)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、1つまたは複数のロッド核酸ヌクレオチドを含む、項目72に記載のキット。

(項目74)

融合遺伝子の切断点断片を捕捉するための方法であって、前記切断点断片を、高い親和性のポリヌクレオチドプローブと、ストリンジエントなハイブリダイゼーション条件下で

接触させるステップと、ハイブリダイゼーションさせるステップとを含み、前記ポリヌクレオチドプローブが、固体支持体に結合しており、前記ポリヌクレオチドプローブが、前記切断点断片のヌクレオチド配列に実質的または完全に相補的であるヌクレオチド配列を有する、方法。

(項目75)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、1つまたは複数のロッド核酸ヌクレオチドを含む、項目74に記載の方法。

(項目76)

試料を、融合遺伝子の切断点を含むポリヌクレオチドについて濃縮するための方法であつて、

(a) ハイブリダイゼーション条件下で、項目64に記載のプローブセットをポリヌクレオチドの混合物と接触させて、プローブ捕捉ポリヌクレオチドを生成するステップと、(b) 前記混合物から前記プローブ捕捉ポリヌクレオチドを単離して、前記融合遺伝子の切断点断片を含むポリヌクレオチドが濃縮された試料を生成するステップとを含む方法。

(項目77)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、1つまたは複数のロッド核酸ヌクレオチドを含む、項目76に記載の方法。

(項目78)

前記ポリヌクレオチドが、無細胞DNAまたは断片化されたゲノムDNAを含む、項目76に記載の方法。

(項目79)

前記プローブから捕捉ポリヌクレオチドを単離するステップをさらに含む、項目76に記載の方法。

(項目80)

前記単離ポリヌクレオチドを配列決定するステップをさらに含む、項目76に記載の方法。

(項目81)

対象におけるがんを診断する方法であつて、

(a) 対象からのポリヌクレオチドを含む試料を提供するステップと、

(b) ハイブリダイゼーション条件下で、前記試料に由来する無細胞デオキシリボ核酸を項目64に記載のプローブセットと接触させて、プローブ捕捉ポリヌクレオチドを生成するステップと、

(c) 前記混合物から前記プローブ捕捉ポリヌクレオチドを単離して、前記融合遺伝子の切断点断片を含むポリヌクレオチドが濃縮された試料を生成するステップと、

(d) 前記単離ポリヌクレオチドを配列決定して、配列を生成するステップと、

(e) 前記配列に基づいて、融合遺伝子の切断点を含むポリヌクレオチドを検出するステップと、

(f) 切断点断片の前記検出に基づいて、がんを診断するステップとを含む方法。

(項目82)

前記高い親和性のポリヌクレオチドが、1つまたは複数のロッド核酸ヌクレオチドを含む、項目81に記載の方法。