

【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って、

(a) 前記生物学的試料を、1 つまたは複数のロックド核酸 (L N A) ヌ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；前記配列相補性を有し、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、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、30 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、15 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 90 %、少なくとも 70 %、少なくとも 50 %、少なくとも 20 %、少なくとも 10 %、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、10、15 または 20 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 500 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 500 ヌクレオチドの長さ、最大約 450 ヌクレオチドの長さ、最大約 425 ヌクレオチドの長さ、最大約 400 ヌクレオチドの長さ、最大約 375 ヌクレオチドの長さ、最大約 350 ヌクレオチドの長さ、最大約 325 ヌクレオチドの長さ、最大約 300 ヌクレオチドの長さ、最大約 275 ヌクレオチドの長さ、最大約 250 ヌクレオチドの長さ、最大約 225 ヌクレオチドの長さ、最大約 200 ヌクレオチドの長さ、最大約 180 ヌクレオチドの長さ、最大約 160 ヌクレオチドの長さ、最大約 140 ヌクレオチドの長さ、最大約 120 ヌクレオチドの長さ、最大約 100 ヌクレオチドの長さ、最大約 80 ヌクレオチドの長さ、最大約 60 ヌクレオチドの長さ、最大約 40 ヌクレオチドの長さ、または最大約 20 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プリ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で、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 (i) 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クド核酸 (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 L N A 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 (L N A) 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 (L N A) 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 2 A ~ 図 2 B 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 500 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 2 0)

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 2 1)

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 2 2)

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 2 3)

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 2 4)

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 2 5)

(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、(i i) 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 2 6)

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 2 7)

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、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を含む方法。

(項目 2 8)

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 2 9)

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 L N A 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 2 9 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クド核酸ヌクレオチドを含む、項目 3 1 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 3 1 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 3 1 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 3 1 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 3 1 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 3 1 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 3 1 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 3 8 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 3 1 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 4 0 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 3 1 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 2 A ~ 図 2 B 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 3 1 に記載のプローブセット。

(項目 4 4)

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 4 5)

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 4 6)

1 つまたは複数のロックド核酸ヌクレオチドを含む、項目 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 4 7)

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 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 4 8)

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 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 4 9)

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 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 0)

図 2 A ~ 図 2 B 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 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 1)

前記融合遺伝子の切断点から 5 0 0 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 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 2)

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 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 3)

約 5 0 0 ヌクレオチド未満の長さを有する、項目 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 4)

複数のロックド核酸 (L N A) ヌクレオチドをさらに含み、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、項目 4 6 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 5)

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、ロックド核酸ヌクレオチドである、項目 4 6 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 6)

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 4 5 に記載の高い親和性のポリヌクレオチド。

(項目 5 7)

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 5 8)

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クド核酸ヌクレオチドを含む、項目 5 7 に記載のプローブ。

(項目 5 9)

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 5 7 に記載のプローブ。

(項目 6 0)

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 5 7 に記載のプロープ。

(項目 6 1)

前記切断点断片が、約 1 4 0 ~ 約 1 8 0 ヌクレオチドの間の長さを有する、項目 6 0 に記載のプロープ。

(項目 6 2)

前記切断点断片が、無細胞 DNA またはゲノム DNA である、項目 6 0 に記載のプロープ。

(項目 6 3)

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 5 7 に記載のプロープ。

(項目 6 4)

複数のポリヌクレオチドプロープを含むプロープセットであって、各プロープが、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プを含む、プロープセット。

(項目 6 5)

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クド核酸ヌクレオチドを含む、項目 6 4 に記載のプロープセット。

(項目 6 6)

1つまたは複数の天然のポリヌクレオチドプロープを含む、項目 6 4 に記載のプロープセット。

(項目 6 7)

前記融合遺伝子に關与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プ、および前記融合遺伝子に關与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プをさらに含む、項目 6 4 に記載のプロープセット。

(項目 6 8)

前記プロープセット中の前記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プが、前記融合遺伝子に關与する遺伝子の切断点領域の少なくとも50% (少なくとも0.5x ~ 5x) のカバレッジを提供する、項目 6 4 に記載のプロープセット。

(項目 6 9)

前記ポリヌクレオチドプロープが、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 6 4 に記載のプロープセット。

(項目 7 0)

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 6 4 に記載のプロープセット。

(項目 7 1)

標的配列が、高い親和性のポリヌクレオチドプロープおよび標準的な親和性のポリヌクレオチドプロープの両方により標的にされる、項目 6 4 に記載のプロープセット。

(項目 7 2)

複数のプロープセットを含むキットであって、各プロープセットが、異なる遺伝子に特異的にハイブリダイズし、前記プロープセットのうちの少なくとも1つが、項目 6 4 に記載のプロープセットである、キット。

(項目 7 3)

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クド核酸ヌクレオチドを含む、項目 7 2 に記載のキット。

(項目 7 4)

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プと、ストリンジェ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 7 5)

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クド核酸ヌクレオチドを含む、項目 7 4 に記載の方法。

(項目 7 6)

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って、

(a) ハイブリダイゼーション条件下で、項目 6 4 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 7 7)

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クド核酸ヌクレオチドを含む、項目 7 6 に記載の方法。

(項目 7 8)

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 7 6 に記載の方法。

(項目 7 9)

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 7 6 に記載の方法。

(項目 8 0)

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 7 6 に記載の方法。

(項目 8 1)

対象におけるがんを診断する方法であって、

(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 6 4 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 8 2)

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クド核酸ヌクレオチドを含む、項目 8 1 に記載の方法。