

【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19年3月15日(2007.3.15)

【公表番号】特表2002-535014(P2002-535014A)

【公表日】平成14年10月22日(2002.10.22)

【出願番号】特願2000-596180(P2000-596180)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成19年1月24日(2007.1.24)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】前立腺特異抗原(PSA)発現遺伝子配列のエクソンを含むか、又はPSA発現遺伝子配列の2つのエクソンを連結する結合点に及ぶ、PSAのターゲット核酸配列に特有の検出アッセイに使用される、少なくとも3つのオリゴヌクレオチドの組み合わせであつて：

G A T G C T G T G A A G G T C A T G G A C C T G (SEQ ID NO: 15)、

G T G C G C A A G T T C A C C C T C A G A A G G (SEQ ID NO: 16)、

G A A G G T C A T G G A C C T G C C C A C C C A (SEQ ID NO: 17)、

C T G T C A G A G C C T G C C G A G C T C A C G (SEQ ID NO: 18)、

G C T G C T C C G C C T G T C A G A G C C T G (SEQ ID NO: 19)、

G C T T G T G G C C T C T C G T G G C A G (SEQ ID NO: 20)、

T C T C G T G G C A G G G C A G T C T G C (SEQ ID NO: 21)、

T T C C A A T G A C G T G T G C G C A (SEQ ID NO: 22)、

G G A G G C T G G G A G T G C G A G A A G C A T (SEQ ID NO: 23)、

G G C T G G G A G T G C G A G A A G C A T T (SEQ ID NO: 24)、

T G G C C T C T C G T G G C A G G G C A G T (SEQ ID NO: 25)、及び

G C A G T C T G C G G C G G T G T T C T G (SEQ ID NO: 26)、又は上記配列と相補的若しくはRNA均等物からなる群から選択される、第一のPSA特異配列と特異的にハイブリダイズする、少なくとも1つの第一のオリゴヌクレオチドと；

T A A A T T A A T A C G A C T C A C T A T A G G G A G A C C A G A G G G T G A A

C T T G C G C A C A C A C G (SEQ ID NO: 30)、

T A A A T T A A T A C G A C T C A C T A T A G G G A G A C T G C A C C A C C T T

G G T G T A C A G G (SEQ ID NO: 31)、

T A A A T T A A T A C G A C T C A C T A T A G G G A G A C T C A T G G T T C A C

T G C C C C A T G A C G T G (SEQ ID NO: 32)、

A A T T T A A T A C G A C T C A C T A T A G G G A G A C T G C A C C A C C T T G G

T G T A C A G G (SEQ ID NO: 33)、

A A T T T A A T A C G A C T C A C T A T A G G G A G A C A T G G T T C A C T G C

CCCATGACGTG (SEQ ID NO: 34)、  
 AATTTAATACGACTCACTATAGGGAGAGAGGGTGAACTTG  
 CGCACACACG (SEQ ID NO: 35)、  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGACCACTCTGAG  
 GGTGAACCTTGC (SEQ ID NO: 36)、  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGAGCCAGCA  
 AGATCACGC (SEQ ID NO: 37)、  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGACTGTGGCTGACC  
 TGAAATACC (SEQ ID NO: 38)、  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGAGTGTACAGGGAA  
 GCCCTTCG (SEQ ID NO: 39)、  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGAACCCAGCAAGAT  
 CACGCTTTG (SEQ ID NO: 40)、  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGAAGGCTGTCGCCA  
 CCCAGCAAGAT (SEQ ID NO: 41)、  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGACCTGTTCTCA  
 GGATGAAACAGG (SEQ ID NO: 42)、及び  
 TAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGACTGACCTGAAAT  
 ACCTGGCCTGTG (SEQ ID NO: 43)、又は上記配列と相補的若しくはRNA均等物からなる群から選択される、別の、重複しない第二のPSA特異配列と特異的にハイブリダイズする、プロモーター-プライマ-オリゴヌクレオチドである、少なくとも一つの第二のオリゴヌクレオチドと；並びに  
 GGACCAACCTGCTACGCCCTCAG (SEQ ID NO: 1)、  
 GACCAAGTTCATGCTGTTGCTG (SEQ ID NO: 2)、  
 GACCAAGTTCATGCTGTTGCTG (SEQ ID NO: 3)、  
 GCTGTTGAAGGTCATGGACCTGCC (SEQ ID NO: 4)、  
 GAACCAAGAGGAGTTCTTGACCC (SEQ ID NO: 5)、  
 GGCCAGATGGTGCAGCCGGGAGC (SEQ ID NO: 6)、  
 GCAGTCTGCGGGCGGTGTTCTG (SEQ ID NO: 7)、  
 ACAGCTGCCCACTGCATCAGG (SEQ ID NO: 8)、  
 GTTCACCCCTCAGAAGGTGACC (SEQ ID NO: 9)、  
 GCTTGTGGCCTCTCGTGGCAG (SEQ ID NO: 11)、  
 TGGCCTCTCGTGGCAGGGCAGT (SEQ ID NO: 12)、  
 TCTCGTGGCAGGGCAGTCTGC (SEQ ID NO: 13)、及び  
 GTGCACCCCCAGTGGGTCCTC (SEQ ID NO: 14)、又は上記配列と相補的若しくはRNA均等物からなる群から選択される、第三のPSA特異配列と特異的にハイブリダイズする、少なくとも一つの第三のオリゴヌクレオチドと；を含んでなる、前記オリゴヌクレオチドの組み合わせ。

**【請求項2】** 第一のオリゴヌクレオチドがエクソン2、エクソン3若しくはエクソン4に含まれるか、又はエクソン2及び3若しくはエクソン3及び4を連結する結合点に及ぶ、第一のPSA特異配列と特異的にハイブリダイズするか、及び、第二のオリゴヌクレオチドがエクソン3、エクソン4若しくはエクソン5に含まれるか、又はエクソン3及び4若しくはエクソン4及び5を連結する結合点に及ぶ、第二のPSA特異配列と特異的にハイブリダイズする、請求項1に記載のオリゴヌクレオチドの組み合わせ。

**【請求項3】** 第一のオリゴヌクレオチドが、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21及びSEQ ID NO: 26、又はそれらの相補的若しくはRNA均等物からなる群から選択される配列を含み；  
 第二のオリゴヌクレオチドが、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34、

SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 40及びSEQ ID NO: 41、又はそれらの相補的若しくはRNA同等物からなる群から選択される配列を含み；並びに

第三のオリゴヌクレオチドが、SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8及びSEQ ID NO: 14、又はそれらの相補的若しくはRNA同等物からなる群から選択される配列を含む、請求項1に記載のオリゴヌクレオチドの組み合わせ。

**【請求項4】** 第一、第二、及び第三のオリゴヌクレオチドの組み合わせが、以下の配列からなる群から選択される、請求項1～3のいずれか1項記載のオリゴヌクレオチドの組み合わせ：

```

SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 30及びSEQ ID NO: 1 ;
SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 30及びSEQ ID NO: 1 ;
SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 30及びSEQ ID NO: 1 ;
SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 35及びSEQ ID NO: 1 ;
SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 30及びSEQ ID NO: 4 ;
SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 30及びSEQ ID NO: 5 ;
SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 30及びSEQ ID NO: 6 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 31及びSEQ ID NO: 2 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 31及びSEQ ID NO: 3 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 33及びSEQ ID NO: 2 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 33及びSEQ ID NO: 3 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 32及びSEQ ID NO: 2 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 32及びSEQ ID NO: 3 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 34及びSEQ ID NO: 2 ;
SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 34及びSEQ ID NO: 3 ;
SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 37及びSEQ ID NO: 8 ;
SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 38及びSEQ ID NO: 8 ;
SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 37及びSEQ ID NO: 8 ;
SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 38及びSEQ ID NO: 8 ;
SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 40及びSEQ ID NO: 14 ;
;
SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 37及びSEQ ID NO: 14 ;
;
SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 41及びSEQ ID NO: 14 ;
;
SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 40及びSEQ ID NO: 8 ;
SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 41及びSEQ ID NO: 8 ;
SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 37及びSEQ ID NO: 8 ;
SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 40及びSEQ ID NO: 8 ;

```

及び

SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 41及びSEQ ID NO: 8。

**【請求項5】** 組み合わせが少なくとも1つのヘルパーオリゴヌクレオチドをさらに含む、請求項1～4のいずれか1項記載のオリゴヌクレオチドの組み合わせ。

**【請求項6】** 組み合わせが、

GTGCACCCCCAGTGGGTCCTC (SEQ ID NO: 27) 又は  
 AACAAAGCGT GATCTT GCTGGG (SEQ ID NO: 28) の配列か、又はSEQ ID NO: 27及びSEQ ID NO: 28のオリゴヌクレオチドの組み合わせを有する少なくとも1つのヘルパーオリゴヌクレオチドをさらに含む、請求項1～5のいずれか1項記載のオリゴヌクレオチドの組み合わせ。

【請求項 7】 組み合わせが、前立腺特異膜抗原(PSMA)と特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドをさらに含み、第一オリゴヌクレオチドがCAGATATGTCATTCTGGGAGGTC (SEQ ID NO: 48)であり、第2オリゴヌクレオチドがTAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGACCAAATTCTTCTGCATCCCCAGCTTGC (SEQ ID NO: 49)であり、及び、第3オリゴヌクレオチドが、CTCAGAGTGGAGCAGCTGTTGTT (SEQ ID NO: 50)である、請求項1～6のいずれか1項記載の方法。

【請求項 8】 組み合わせが、ヒトカリクレイン2(hK2)核酸配列と特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドをさらに含み、第一オリゴヌクレオチドがGTCAGAGCCTGCCAAGATCACAG (SEQ ID NO: 46)であり、及び、第2オリゴヌクレオチドがTAAATTAAATACGACTCACTATAGGGAGACCAACCCAGCACACAAACATGAACCTCTGTC (SEQ ID NO: 47)である、請求項1～6のいずれか1項記載の方法。

【請求項 9】 核酸を含有する生物学的サンプルにおいて前立腺関連ターゲット核酸を検出する方法であって、

前立腺特異抗原(PSA)、前立腺特異膜抗原(PSMA)又はヒトカリクレイン2(hK2)をコードする、少なくとも1つの発現遺伝子配列を含むターゲット核酸を含有する核酸サンプルを提供すること；

同一のターゲット核酸又はその相補体の配列とハイブリダイズする、少なくとも2つのプライマーオリゴヌクレオチドを前記ターゲット核酸とハイブリダイズさせることであり、ここで、前記プライマーオリゴヌクレオチドは、請求項1～4、7及び8のいずれか1項記載の第一オリゴヌクレオチド及び請求項1～4、7及び8のいずれか1項記載の第二オリゴヌクレオチドを含み；

少なくとも1つのポリメラーゼ活性及び前記プライマーオリゴヌクレオチドを用いて、ターゲット核酸の複数の増幅産物を提供すること；及び

少なくとも1つの増幅産物と特異的にハイブリダイズしたプローブオリゴヌクレオチドから生じるシグナルを検出することであり、ここで、検出プローブは、請求項1、3、4、7及び8のいずれか1項記載の第三オリゴヌクレオチドであり、それにより、サンプル中のターゲット核酸の存在が示される：

工程を含んでなる、前記方法。

【請求項 10】 ターゲット核酸がPSA・mRNAであり；

ハイブリダイズさせる工程が、請求項1～4のいずれか1項記載の少なくとも1つの第一オリゴヌクレオチド及び請求項1～4のいずれか1項記載の少なくとも1つの第二オリゴヌクレオチドを含むプライマーオリゴヌクレオチドを用い、並びに、検出する工程が、請求項1、3及び4のいずれか1項記載の第三オリゴヌクレオチドであるプローブオリゴヌクレオチドを用いる、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】 ターゲット核酸がPSA・mRNAであり；

ハイブリダイズさせる工程が、SEQ ID NO: 48及びSEQ ID NO: 49のプライマーオリゴヌクレオチドを用い、並びに、検出する工程が、SEQ ID NO: 50のプローブオリゴヌクレオチドを用いる、請求項9に記載の方法。

【請求項 12】 ターゲット核酸がhK2・mRNAであり；

ハイブリダイズさせる工程が、SEQ ID NO: 46のプライマーオリゴヌクレオチドを用い、並びに、検出する工程が、SEQ ID NO: 47のプロモータープライマーを用いる、請求項9に記載の方法。

【請求項 13】 ハイブリダイズさせる工程が、SEQ ID NO: 15～SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 46及びSEQ ID NO: 48からなる群から選択されるプライマーオリゴヌクレオチドか、又は、SEQ ID NO: 30～SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 47及びSEQ ID NO: 48からなる群から選択されるターゲット結合配列を用いる、請求項9～12のいずれか1項記載の方法。

【請求項 14】 P S A をコードする発現遺伝子配列及び P S M A 又は h K 2 をコードする少なくとも 1 つの発現遺伝子配列についてアッセイすることを含む、請求項 9 ~ 12 のいずれか 1 項記載の方法。