

【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 2 年 2 月 6 日 (2020.2.6)

【公表番号】特表 2019-506849 (P2019-506849A)  
 【公表日】平成 31 年 3 月 14 日 (2019.3.14)  
 【年通号数】公開・登録公報 2019-010  
 【出願番号】特願 2018-533890 (P2018-533890)  
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6848 (2018.01)  
 C 1 2 Q 1/6832 (2018.01)  
 C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)  
 C 1 2 N 15/09 (2006.01)  
 C 1 2 Q 1/6876 (2018.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6848 Z N A Z  
 C 1 2 Q 1/6832 Z  
 C 1 2 Q 1/6851 Z  
 C 1 2 N 15/09 Z  
 C 1 2 Q 1/6876 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 12 月 18 日 (2019.12.18)

【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】

増幅反応で増幅される一本鎖 RNA テンプレートのセグメントの分解を防止又は低減する方法であって、

a) 前記一本鎖 RNA テンプレートを提供するステップと、

b) 前記一本鎖 RNA テンプレートの前記セグメントを、増幅される前記一本鎖 RNA テンプレートの前記セグメントと完全に又は部分的に相補的である配列を有する 1 以上のオリゴヌクレオチドとハイブリダイズさせるステップと、

c) 反応条件下で前記一本鎖 RNA テンプレートの前記セグメントを逆転写し増幅するステップであって、前記反応条件によって、前記 1 以上のオリゴヌクレオチドは逆転写及び増幅を妨害せず、そして前記反応条件によって、前記 1 以上のオリゴヌクレオチドからの各々のオリゴヌクレオチドは、11ヌクレオチド～50ヌクレオチドの長さであり、そして増幅中に使用される伸長温度よりも少なくとも 5 低い融解温度を有することによって特徴付けられ、そしてここで前記 1 以上のオリゴヌクレオチドからの各々のオリゴヌクレオチドの配列は前記 1 以上のオリゴヌクレオチドからの他のオリゴヌクレオチドの配列とは重複せず、そして前記 1 以上のオリゴヌクレオチドが逆転写及び増幅中に使用されるプライマー及びプローブの濃度よりも少なくとも 50 倍低い濃度で存在することによって特徴づけられる、ステップと

を含む、前記方法。

【請求項 2】

前記 1 以上のオリゴヌクレオチドが、増幅される前記一本鎖 RNA テンプレートの前記セグメントの 48% 超とハイブリダイズするか、又は

前記 1 以上のオリゴヌクレオチドが、増幅される前記一本鎖 RNA テンプレートの前記セグメント全体とハイブリダイズする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記一本鎖 RNA テンプレートがケージ化されている、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記一本鎖 RNA テンプレートが、カプセル化、キャプシド形成、トラッピング、及び細胞の内部に存在すること、からなる群から選択される手段によってケージ化されている、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

ステップ b) とステップ c) との間に、前記一本鎖 RNA テンプレートを単離又は精製するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

増幅反応の間に核酸サンプル中の試験される RNA 配列の存在を検出する方法であって、

a) 前記核酸サンプルを提供するステップと、

b) 試験される RNA 配列の検出及び / 又は定量化において標準としての役割を果たす核酸標準を提供するステップであって、前記核酸標準が、一本鎖 RNA 対照配列と、その配列が前記一本鎖 RNA 対照配列のセグメントに対して完全又は部分的に相補的である 1 以上のオリゴヌクレオチドを含む、ステップと、

c) 前記核酸サンプルと前記核酸標準とを混合するステップと、

d) 前記試験される RNA 配列と前記一本鎖 RNA 対照配列の前記セグメントの両方の逆転写及び増幅を実施するための条件を提供するステップであって、前記条件下で、前記 1 以上のオリゴヌクレオチドは逆転写及び増幅を妨害せず、それによって、前記 1 以上のオリゴヌクレオチドからの各々のオリゴヌクレオチドが、11ヌクレオチド~50ヌクレオチドの長さであり、そして増幅の間で使用される伸長温度よりも少なくとも 5 低い融解温度を有することによって特徴付けられ、そしてここで前記 1 以上のオリゴヌクレオチドからの各々のオリゴヌクレオチドの配列は前記 1 以上のオリゴヌクレオチドからの他のオリゴヌクレオチドの配列とは重複せず、そして前記 1 以上のオリゴヌクレオチドが逆転写及び増幅の間で用いられるプライマー及びプローブの濃度よりも少なくとも 50 倍低い濃度で存在することによって特徴づけられるステップと、

e) 前記試験される RNA 配列からの増幅産物と、前記一本鎖 RNA 対照配列の前記セグメントからの増幅産物を検出するステップとを含む、前記方法。

【請求項 7】

前記 1 以上のオリゴヌクレオチドが前記一本鎖 RNA 対照配列の前記セグメントの 48 % 超とハイブリダイズするか、又は

前記 1 以上のオリゴヌクレオチドが前記一本鎖 RNA 対照配列の前記セグメント全体とハイブリダイズする、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記一本鎖 RNA 対照配列がケージ化されている、請求項 6 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

ステップ c) とステップ d) との間で、前記一本鎖 RNA 対照配列を単離又は精製するステップをさらに含む、請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記 1 以上のオリゴヌクレオチドが、その配列が配列番号 1 ~ 10、11 ~ 19、20 ~ 27、及び 28 ~ 35 からなる群から選択されるオリゴヌクレオチドの群を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

増幅反応で増幅される試験される RNA 配列の検出及び / 又は定量化において標準とし

ての役割を果たす核酸標準であって、

一本鎖RNA対照配列と、

その配列が、前記一本鎖RNA対照配列に対して完全又は部分的に相補的であり、前記一本鎖RNA対照配列全体にハイブリダイズする1以上のオリゴヌクレオチドと  
を含み、

前記1以上のオリゴヌクレオチドからの各オリゴヌクレオチドは、前記増幅反応の間に用いられる伸長温度よりも少なくとも5 低い融解温度を有することによって特徴付けられ、かつ前記1以上のオリゴヌクレオチドからの各オリゴヌクレオチドは、増幅反応の間で使用されるプライマー及びプローブの濃度よりも少なくとも50倍低い濃度で存在することによって特徴付けられ、ここで前記1以上のオリゴヌクレオチドからの各オリゴヌクレオチドが11ヌクレオチド～50ヌクレオチドの長さである、核酸標準。

【請求項12】

前記1以上のオリゴヌクレオチドが、その配列が配列番号1～10、11～19、20～27、及び28～35からなる群から選択されるオリゴヌクレオチドの群を含む、請求項11に記載の核酸標準。

【請求項13】

一本鎖RNA分子のセグメントの分解を防止又は低減する方法であって、

前記一本鎖RNA分子を提供するステップと、

一本鎖RNA分子と、その配列が前記一本鎖RNA分子に対して完全又は部分的に相補的である複数のオリゴヌクレオチドとをハイブリダイズするステップと  
を含み、

前記複数のオリゴヌクレオチドは前記一本鎖RNA分子の全体とハイブリダイズし、そしてここで前記複数のオリゴヌクレオチドからの各々のオリゴヌクレオチドの配列は、前記複数のオリゴヌクレオチドからの他のオリゴヌクレオチドの配列とは重複せず、前記複数のオリゴヌクレオチドからの各オリゴヌクレオチドは11ヌクレオチド～50ヌクレオチドの長さである、

前記方法。

【請求項14】

前記提供するステップ及びハイブリダイズするステップが溶液中で実施される、請求項13に記載の方法。