

【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とを含む、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 R N A 対照配列と、

その配列が、前記一本鎖 R N A 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 R N A 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、前記增幅反応の間に用いられる伸長温度よりも少なくとも 5 度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、增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 1 2】

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 1 に記載の核酸標準。

【請求項 1 3】

一本鎖 R N A 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 R N A 分子を提供するステップと、

一本鎖 R N A 分子と、その配列が前記一本鎖 R N A 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 R N A 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 1 4】

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 1 3 に記載の方法。