

【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27年8月27日 (2015.8.27)

【公表番号】特表2014-520525(P2014-520525A)

【公表日】平成26年8月25日 (2014.8.25)

【年通号数】公開・登録公報2014-045

【出願番号】特願2014-518468(P2014-518468)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年7月9日 (2015.7.9)

【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】

試料中の標的ヌクレオチド配列の決定方法であって、以下の工程：

(a) 各標的ヌクレオチド配列 (T) について、第1のプロープ (P1) 及び第2のプロープ (P2) を提供する工程；

ここで、前記第1のプロープは、第1の標的特異的セクション (TS1) 及び標的ヌクレオチド配列に非相補的であり、第1のプライマー結合配列 (PBS1) を含んでいてもよい、第1のタグセクション (TAG1) を含み、ここで、前記第1のタグセクションは第1の制限酵素のための第1の認識配列 (RE1) を含み、

ここで、前記第2のプロープは、第2の標的特異的セクション (TS2) 及び標的ヌクレオチド配列に非相補的であり、第2のプライマー結合配列 (PBS2) を含んでいてもよい、第2のタグセクション (TAG2) を含み、ここで、前記第2のタグセクションは第2の制限酵素のための第2の認識配列 (RE2) を含み、

(b) 第1及び第2のプロープの第1及び第2の標的特異的セクションをそれぞれ標的配列にハイブリダイズさせる工程；

(c) 標的配列の基本的に隣接するセクションにプロープのそれぞれの標的特異的セクションがハイブリダイズした場合に、第1及び第2のプロープをライゲーションしてライゲーションされたプロープ (LP) を提供する工程；

(d) 任意の第 1 及び / 又は任意の第 2 のプライマーで、ライゲーションされたプロープを任意に増幅してアンプリコン (A) を提供する工程；

(e) 第 1 及び / 又は第 2 の制限酵素でライゲーションされたプロープ又はアンプリコンを制限して制限されたライゲーションされたプロープ (RLP) 又は制限されたアンプリコン (RA) を提供し、アダプターベースの識別子 (AD ID1, AD ID2) を含む第 1 及び第 2 のアダプターを、制限されたライゲーションされたプロープ (RLP) 又は制限されたアンプリコン (RA) にライゲーションする工程；

(f) アダプターがライゲーションされた、制限されたライゲーションされたプロープ (RLP) 又は、アダプターがライゲーションされた、制限されたアンプリコン (RA) をハイスループットシーケンシング技術に供して、制限されたライゲーションされたプロープ又

は制限されたアンブリコンのヌクレオチド配列の少なくとも一部を決定する工程；
(g) 試料中の標的ヌクレオチド配列の存在、不存在又は量を同定する工程；
を含む方法。

【請求項 2】

第 1 の標的特異的セクションが第 1 のプローブの 3' 末端に位置し、第 2 の標的特異的セクションが第 2 のプローブの 5' 末端に位置する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

第 1 のプローブベースの識別子配列 (ID1) が第 1 のタグセクション中に位置する、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

第 2 のプローブベースの識別子 (ID2) が第 2 のタグセクション中に位置する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

第 1 のプローブベースの識別子が、制限酵素の第 1 の認識配列と、第 1 の標的特異的セクションとの間に位置する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

第 2 のプローブベースの識別子が、任意の制限酵素の第 2 の認識配列と、第 2 の標的特異的セクションとの間に位置する、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

第 1 及び第 2 のタグセクションがいずれも制限酵素の認識部位を有する、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

ハイブリダイゼーション、ライゲーション及び任意のギャップ充填が結合された工程において行われる、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

第 1 のタグセクションのための制限酵素の認識部位が、第 2 のタグセクションのための制限酵素の認識部位に比べて異なるヌクレオチド配列を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

ハイスループットシーケンシングが合成によるシーケンシングを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

ハイスループットシーケンシングがブリッジ増幅又はエマルジョン増幅を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

ハイスループットシーケンシングが一方向単一読み取りシーケンシングを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

ハイスループットシーケンシングが一方向単一読み取りダブルプライミングシーケンシングを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

ハイスループットシーケンシングが双方向 (ペアエンド) シーケンシングを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

ハイスループットシーケンシングがメイトペアシーケンシングを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

一つの試料中で複数の標的配列が決定される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

複数の試料中で一つの標的配列が決定される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

複数の試料中で複数の標的配列が決定される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

プローブが環状化可能プローブ、キーロックプローブおよび/または化合物プローブである、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

少なくとも二つのプローブを含むオリゴヌクレオチド・ライゲーション・アッセイを用いた、試料中の標的配列の存在、不存在又は量について、生物学的試料をジェノタイピングする方法であって、プローブの少なくとも一つが標的セクションに加えて制限酵素の認識配列を含み、該方法が、ライゲーションされたプローブを提供するライゲーション工程をさらに含み、ライゲーション後、ライゲーションされたプローブは制限され、もしくは増幅されてから制限されて、制限されたライゲーションされたプローブ (RLP) もしくは制限されたアンプリコン (RA) が提供され、得られた RLP/RA に対し、一つ以上の識別子を含む一つまたは二つのアダプターがライゲーションされ、得られたアダプターがライゲーションされた RLP/RA がシーケンスされる、方法。