

【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 6 年 10 月 28 日 (2024.10.28)

【公開番号】 特開 2023-184021 (P2023-184021A)
【公開日】 令和 5 年 12 月 28 日 (2023.12.28)
【年通号数】 公開公報 (特許) 2023-245
【出願番号】 特願 2022-97908 (P2022-97908)
【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6876 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6876 Z Z N A

C 1 2 Q 1/6851 Z

C 1 2 M 1/00 A

【手続補正書】

【提出日】 令和 6 年 10 月 18 日 (2024.10.18)

【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】

標的塩基配列を検出するための一塩基伸長反应用プライマーと、蛍光色素を有する一塩基伸長反应用の基質とを用いた一塩基伸長反応を行う工程、

前記一塩基伸長反応の反応物を電気泳動に供する工程、

前記電気泳動の移動度と前記蛍光色素の蛍光強度を測定し、複数の標的塩基配列の含有比を前記蛍光強度の大きさから定量する工程

を含む遺伝子分析方法であって、

前記一塩基伸長反応に、蛍光色素を有さない一塩基伸長反应用の基質が混合され、

前記蛍光色素を有さない基質と前記蛍光色素を有する基質との混合割合が、

(a) 少なくとも 2 種の蛍光色素を使用する場合に、検出する蛍光色素の励起効率の比に応じて設定されている、及び／又は

(b) 少なくとも 2 種のプライマーを使用する場合に、使用するプライマーへの基質の結合取り込み効率に応じて設定されている

ことを特徴とする遺伝子分析方法。

【請求項 2】

前記蛍光色素が少なくとも 2 種の蛍光色素を含み、

前記蛍光色素を有さない基質と前記蛍光色素を有する基質との混合割合が、検出する蛍光色素の励起効率の比に応じて設定されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記プライマーが少なくとも 2 種のプライマーを含み、

前記蛍光色素を有さない基質と前記蛍光色素を有する基質との混合割合が、使用するプライマーへの基質の結合取り込み効率に応じて設定されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記プライマーが少なくとも 2 種のプライマーを含み、かつ前記蛍光色素が少なくとも 2 種の蛍光色素を含み、

10

20

30

40

50

前記蛍光色素を有さない基質と前記蛍光色素を有する基質との混合割合が、検出する蛍光色素の励起効率の比、及び使用するプライマーへの基質の結合取り込み効率に応じて設定されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記複数の標的塩基配列が、野生型配列及び変異型配列を含み、

前記野生型配列に対する前記変異型配列の含有比が 0.01% から 1% の範囲で定量される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記プライマーが、鎖間架橋された二重鎖 DNA タグを有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記電気泳動がキャピラリー電気泳動である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

一塩基伸長反応、電気泳動、及び蛍光強度の測定を行う計測部と、

前記計測部で得られた計測データを記憶する計測データ記憶部とデータ処理装置とを含むデータ解析部と、

制御部と

を備えた遺伝子分析装置であって、

前記制御部は、前記計測データ記憶部に記憶した前記計測データを解析して、一塩基伸長反応に使用する、蛍光色素を有する基質と蛍光色素を有さない基質との混合割合を決定するように構成されている、遺伝子分析装置。

【請求項 9】

前記制御部が、以前の計測データを記憶する参照データベースをさらに備え、

前記制御部が、前記計測データ記憶部に記憶した前記計測データを、前記参照データベースに記憶された以前の計測データと比較して、一塩基伸長反応に使用する、蛍光色素を有する基質と蛍光色素を有さない基質との混合割合を決定するように構成されている、請求項 8 に記載の装置。

【請求項 10】

出力表示部をさらに備える、請求項 8 に記載の装置。

【請求項 11】

標的塩基配列を検出するための一塩基伸長反应用プライマー、

蛍光色素を有する一塩基伸長反应用の基質、及び

蛍光色素を有さない一塩基伸長反应用の基質

を含む遺伝子分析用キットであって、

前記蛍光色素を有さない基質と前記蛍光色素を有する基質との含有割合が、

(a) 少なくとも 2 種の蛍光色素が含まれる場合に、検出する蛍光色素の励起効率の比に応じて設定されている、及び／又は

(b) 少なくとも 2 種のプライマーが含まれる場合に、使用するプライマーへの基質の結合取り込み効率に応じて設定されている

ことを特徴とする遺伝子分析用キット。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

別の態様において、本発明は、

一塩基伸長反応、電気泳動、及び蛍光強度の測定を行う計測部と、

前記計測部で得られた計測データを記憶する計測データ記憶部とデータ処理装置とを含むデータ解析部と、

制御部と

10

20

30

40

50

を備えた遺伝子分析装置であって、

前記制御部は、前記計測データ記憶部に記憶した前記計測データを解析して、一塩基伸長反応に使用する、蛍光色素を有する基質と蛍光色素を有さない基質との混合割合を決定するように構成されている、遺伝子分析装置に関する。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0031

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0031】

例えば、図2に示すように、蛍光色素が少なくとも2種の蛍光色素を含む場合（それぞれの蛍光励起効率が異なる場合）には、蛍光色素を有さない基質と蛍光色素を有する基質との混合割合は、検出する蛍光色素の励起効率の比に応じて設定される。具体的には、蛍光励起効率が良い方の蛍光色素が結合している基質と同じ基質について、蛍光色素を結合していない基質を添加して1塩基伸長反応を行う。蛍光色素を有さない基質と蛍光色素を有する基質との混合割合は、以前の計測データに基づいてもよいし、実際の遺伝子分析の前の予備実験によって最適な混合割合を求めてもよい。また、例えば4種の塩基に対応した4種の蛍光色素を使用する場合、それぞれについて、蛍光色素を有さない基質と蛍光色素を有する基質との混合割合を求め、4種の蛍光色素の蛍光シグナル強度の計測によって、それぞれの基質を取り込んだ遺伝子を量的に分析することが可能である。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0032

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0032】

例えば、図3に示すように、プライマーが少なくとも2種のプライマーを含む（すなわち、少なくとも2種の標的塩基配列に対する少なくとも2種のプライマーを含み、プライマーへの基質の結合取り込み効率が異なる）場合、蛍光色素を有さない基質と蛍光色素を有する基質との混合割合は、使用するプライマーへの基質の結合取り込み効率に応じて設定される。具体的には、基質の結合取り込み効率が良い方のプライマーに結合する基質と同じ基質について、蛍光色素を有さない基質を添加して1塩基伸長反応を行う。蛍光色素を有さない基質と蛍光色素を有する基質との混合割合は、以前の計測データに基づいてもよいし、実際の遺伝子分析の前の予備実験によって最適な混合割合を求めてもよい。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0037

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0037】

したがって、別の態様において、本発明は、遺伝子分析装置を提供し、かかる装置は、一塩基伸長反応、電気泳動、及び蛍光強度の測定を行う計測部と、

前記計測部で得られた計測データを記憶する計測データ記憶部とデータ処理装置とを含むデータ解析部と、

制御部と

を備え、

前記制御部は、前記計測データ記憶部に記憶した前記計測データを解析して、一塩基伸長反応に使用する、蛍光色素を有する基質と蛍光色素を有さない基質との混合割合を決定するように構成されている。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0038

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0038】

制御部は、以前の計測データを記憶する参照データベースをさらに備えてもよく、
その場合、制御部は、計測データ記憶部に記憶した計測データを、参照データベースに記憶された以前の計測データと比較して、一塩基伸長反応に使用する、蛍光色素を有する基質と蛍光色素を有さない基質との混合割合を決定するように構成されている。

10

20

30

40

50