

【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4年6月9日(2022.6.9)

【公開番号】特開2022-46466(P2022-46466A)

【公開日】令和4年3月23日(2022.3.23)

【年通号数】公開公報(特許)2022-051

【出願番号】特願2021-193224(P2021-193224)

【国際特許分類】

C 12 N 15/10(2006.01)

10

C 12 N 15/09(2006.01)

C 12 Q 1/6806(2018.01)

【F I】

C 12 N 15/10 ZZ N A

C 12 N 15/09 1 1 0

C 12 Q 1/6806 Z

【手続補正書】

【提出日】令和4年6月1日(2022.6.1)

20

【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】

標的核酸配列を捕捉する方法であって、

(a) アダプターにライゲートされた複数の核酸を含む試料を提供するステップであって、前記核酸は一方の末端で第1のアダプターにライゲートされており、他方の末端で第2のアダプターにライゲートされている、ステップ；

30

(b) 前記試料を複数の核酸ガイド化ヌクレアーゼ-g N A複合体と接触させ、それによって一方の末端で第1または第2のアダプターにライゲートされ、他方の末端にアダプターがない複数の核酸断片を生成するステップであって、前記g N Aは前記核酸のサブセットに含有される目的的標的化部位に相補的であり、前記複数の核酸ガイド化ヌクレアーゼ-g N A複合体と接触させるステップが、前記核酸のサブセットに含有される目的の前記標的化部位を切断する、ステップ；および

(c) 前記複数の核酸断片を第3のアダプターと接触させ、それによって、一方の末端で前記第1または第2のアダプターに、他方の末端で前記第3のアダプターにライゲートした複数の核酸断片を生成するステップ

を含む、方法。

40

【請求項2】

前記核酸ガイド化ヌクレアーゼがC R I S P R / C a s系タンパク質である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記核酸ガイド化ヌクレアーゼがC A S クラスIタイプI、C A S クラスIタイプI I I、C A S クラスIタイプI V、C A S クラスI IタイプI IおよびC A S クラスI I IタイプVからなる群より選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記核酸ガイド化ヌクレアーゼがC a s 9、C p f 1、C a s 3、C a s 8 a - c、C a s 1 0、C s e 1、C s y 1、C s n 2、C a s 4、C s m 2、C m r 5、C s f 1、

50

C 2 c 2 および N g A g o からなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 g N A が g R N A である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

第 1 または第 2 および第 3 のアダプターに特異的な P C R を使用してステップ (c) の生成物を増幅するステップをさらに含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

増幅される生成物がクローニング、配列決定または遺伝子型決定のために使用される、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記核酸が二本鎖 D N A である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記核酸がゲノム D N A からのものである、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

アダプターにライゲートされる前記核酸が 2 0 b p から 5 0 0 0 b p の長さである、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

目的の前記標的化部位が一塩基多型 (S N P) 、ショートタンデムリピート (S T R) 、がん遺伝子、挿入断片、欠失、構造的異形、エクソン、遺伝子変異または調節領域である、請求項 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記アダプターが 2 0 b p から 1 0 0 b p の長さである、請求項 1 から 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

目的の前記標的化部位が前記試料中の全核酸の 5 0 % 未満を占める、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記試料が生物学的試料、臨床試料、法医学試料または環境試料から得られる、請求項 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記第 1 および第 2 のアダプターが同一である、請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記第 1 および第 2 のアダプターが異なる、請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50