

【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7月31日(2024.7.31)

【公開番号】特開2024-59651(P2024-59651A)

【公開日】令和6年5月1日(2024.5.1)

【年通号数】公開公報(特許)2024-080

【出願番号】特願2024-14882(P2024-14882)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/6869(2018.01)

10

C 12 Q 1/686(2018.01)

C 40 B 40/06(2006.01)

C 12 Q 1/6876(2018.01)

C 12 Q 1/6888(2018.01)

C 12 Q 1/6886(2018.01)

【F I】

C 12 Q 1/6869 Z Z N A

C 12 Q 1/686 Z

C 40 B 40/06

20

C 12 Q 1/6876 Z

C 12 Q 1/6888 Z

C 12 Q 1/6886 Z

【手続補正書】

【提出日】令和6年7月22日(2024.7.22)

【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】

30

【特許請求の範囲】

【請求項1】

核酸ライブラリーを構築する方法であって、

核酸試料を用意すること、ならびに

一塩基多型(SNP)を含む少なくとも1つの標的配列および縦列反復配列を含む少なくとも1つの標的配列に特異的にハイブリダイズする第一の複数のプライマーを含むプライマーセットを用いて該核酸試料を多重反応において増幅させ、増幅産物を生成することであって、該プライマーセットに含まれる該第一の複数のプライマーの該プライマーのそれぞれが、60未満の融解温度を有し、該標的配列にハイブリダイズする少なくとも24ヌクレオチドの長さを有し、少なくとも60%のAT含量を有するATリッチであること、

40

一本鎖結合タンパク質(SSB)を該増幅産物に付加すること、ならびに

第二の複数のプライマーを用いて該増幅産物を増幅すること

を含む方法。

【請求項2】

第二の複数の該プライマーの少なくとも1つが、(i)第一の複数の該プライマーのプライマータグに相当する部分および(ii)1つ以上のタグ配列を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

該SSBが、該増幅産物の増幅前に該増幅産物に付加される、請求項1または2に記載の方法。

50

【請求項 4】

該核酸試料が、該核酸試料の増幅前に断片化されない、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

該標的配列が、該核酸試料の増幅前に濃縮されない、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

少なくとも1つの該SNPが、該核酸試料の供給源の祖先型または表現型の特徴を示す、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

複数の該プライマーのそれぞれが、該標的配列に相同でない1つ以上のタグ配列を含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

該核酸試料および／または該増幅産物が、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により増幅される、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

該核酸試料および／または該増幅産物が、従来方式で設計されたプライマーと共に使用される増幅緩衝液の塩濃度と比べて増加した塩濃度を有する増幅緩衝液中で増幅され、従来方式で設計されたプライマーが、18～22ヌクレオチドの長さ、55～58の範囲の融解温度、40～60%のGC含量、および4未満のジヌクレオチドAT反復を有することに特徴付けられる、請求項8に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 10】

該塩が、KCl、LiCl、NaCl、またはそれらの組合せを含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

複数の該プライマーのそれぞれが、ホモポリマーヌクレオチド配列を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

一塩基多型（SNP）および縦列反復配列の分析によるDNAプロファイルのための複数のプライマーであって、

核酸試料のSNPを含む少なくとも1つの標的配列に特異的にハイブリダイズするプライマーを含む第一のプライマーセット、および

該核酸試料の縦列反復配列を含む少なくとも1つの標的配列に特異的にハイブリダイズするプライマーを含む第二のプライマーセットを含み、

該第一のプライマーセットおよび該第二のプライマーセットのプライマーのそれぞれが、該標的配列にハイブリダイズする少なくとも24ヌクレオチドの長さを有し、60未満の融解温度を有し、少なくとも60%のAT含量を有するATリッチである、複数のプライマー。

【請求項 13】

複数の該プライマーのそれぞれが、1つ以上のタグ配列を更に含む、請求項12に記載の複数のプライマー。

【請求項 14】

1つ以上の該タグ配列が、プライマータグ、捕捉タグ、配列決定タグ、固有分子識別子タグ、またはそれらの組合せを含む、請求項13に記載の複数のプライマー。

【請求項 15】

複数の該プライマーのそれぞれが、50～60の融解温度を有する、請求項12～14のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 16】

複数の該プライマーのそれぞれが、24ヌクレオチド～38ヌクレオチドの長さを有する、請求項12～15のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 17】

複数の該プライマーのそれぞれが、ホモポリマーヌクレオチド配列を含む、請求項 12 ~ 16 のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 18】

該核酸試料がポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) により増幅される、請求項 12 ~ 17 のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 19】

該SNPが、祖先型SNP、表現型SNP、同一性SNP、またはそれらの組み合わせである、請求項 12 ~ 18 のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 20】

複数の該プライマーが、少なくとも 30 または 50 の SNP に特異的にハイブリダイズする、請求項 12 ~ 19 のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 21】

該縦列反復配列が、短鎖縦列反復配列 (STR)、中鎖縦列反復配列 (ITR)、またはそれらの変異である、請求項 12 ~ 20 のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 22】

複数の該プライマーが、少なくとも 24 または 60 の縦列反復配列に特異的にハイブリダイズする、請求項 12 ~ 21 のいずれか一項に記載の複数のプライマー。

【請求項 23】

少なくとも 1 つの容器手段を含むキットであって、少なくとも 1 つの該容器手段が、請求項 12 ~ 22 のいずれか一項に記載の複数のプライマーを含むキット。

【請求項 24】

増幅反応用試薬をさらに含む、請求項 23 に記載のキット。

【請求項 25】

該試薬が、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 用増幅緩衝液である、請求項 24 に記載のキット。

【請求項 26】

該増幅緩衝液が、従来方式で設計されたプライマーと共に使用される増幅緩衝液の塩濃度と比べて増加した塩濃度を有し、従来方式で設計された該プライマーが、18 ~ 22 ヌクレオチドの長さ、55 ~ 58 の範囲の融解温度、40 ~ 60 % の GC 含量、および 4 未満のジヌクレオチド AT 反復を有することに特徴付けられる、請求項 25 に記載のキット。

【請求項 27】

該塩が、KCl、LiCl、NaCl、またはそれらの組合せを含む、請求項 26 に記載のキット。

【請求項 28】

該塩が KCl を含み、該増幅緩衝液の KCl の濃度が 100 mM ~ 200 mM である、または 150 mM 未満である、または 145 mM である、請求項 26 または 27 に記載のキット。

10

20

30

40

50