

【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 17 年 9 月 8 日 (2005.9.8)

【公表番号】特表 2002-511745 (P2002-511745A)

【公表日】平成 14 年 4 月 16 日 (2002.4.16)

【出願番号】特願平 10-548248

【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 Q 1/68

G 0 1 N 33/53

G 0 1 N 33/566

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/566

【手続補正書】

【提出日】平成 16 年 11 月 22 日 (2004.11.22)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】補正の内容のとおり

【補正方法】変更

【補正の内容】

手 続 補 正 書

平成16年11月22日

特許庁長官 殿



1. 事件の表示

平成10年特許願第548248号

2. 補正をする者

名 称 ジェンブローブ・インコーポレーテッド



3. 代 理 人

住 所 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区
ユアサハラ法律特許事務所

電 話 3270-6641~6

氏 名 (8970) 弁理士 社 本 一 夫



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の内容

別紙の通り



(別紙)

(1) 請求の範囲を次の通り補正する。

『

請求の範囲

1. 試料中に存在する標的ポリヌクレオチドを捕捉する方法であって、固体支持体に間接的に標的ポリヌクレオチドを結合することを含み、該方法が本質的に：

標的ポリヌクレオチド、捕捉プローブ、および固定プローブを含む混合物を提供する段階と；

捕捉プローブおよび標的ポリヌクレオチドを含む捕捉プローブ：標的ハイブリダイゼーション複合体の T_m より低く、そして固定プローブおよび捕捉プローブを含む固定プローブ：捕捉プローブハイブリダイゼーション複合体の T_m より高い温度を用い、それにより捕捉プローブ：標的ハイブリダイゼーション複合体の形成を助けそして固定プローブ：捕捉プローブハイブリダイゼーション複合体の形成を助けない、第一のハイブリダイゼーション条件において、該混合物をインキュベーションする段階と；そして

その後、固定プローブ：捕捉プローブハイブリダイゼーション複合体の T_m より低い温度を用い、それにより固定プローブ：捕捉プローブハイブリダイゼーション複合体の形成を助け、そして固定プローブ、捕捉プローブおよび標的ポリヌクレオチドを含む、固定プローブ：捕捉プローブ：標的ハイブリダイゼーション複合体中に標的ポリヌクレオチドを捕捉する、第二のハイブリダイゼーション条件において、該混合物をインキュベーションする段階と

からなることにより特徴付けられる、方法。

2. 第二のハイブリダイゼーション条件のインキュベーション段階が、第一のハイブリダイゼーション条件の温度を少なくとも約 10℃下げることを含む、請求項 1 の方法。
3. 第二のハイブリダイゼーション条件のインキュベーション段階が、第一のハイブリダイゼーション条件の温度を少なくとも約 20℃下げることを含む、請求項 1 の方法。
4. 第一のハイブリダイゼーション条件のインキュベーション段階が約 60℃の

温度を用い、そして第二のハイブリダイゼーション条件のインキュベーション段階が約 40℃またはそれより低い温度を用いる、請求項 1 の方法。

5. 固定プローブ：捕捉プローブ：標的ハイブリダイゼーション複合体を精製する段階により特徴付けられる、請求項 1、2、3 または 4 の方法。
6. 標識プローブを標的ポリヌクレオチドにハイブリダイズさせ、ハイブリダイズした標識プローブを検出することにより、固定プローブ：捕捉プローブ：標的ハイブリダイゼーション複合体中の標的ポリヌクレオチドを検出する段階によりさらに特徴付けられる、請求項 5 の方法。
7. ハイブリダイズした標識プローブを検出することが、ハイブリダイズした標識プローブを検出する前にハイブリダイズしなかった標識プローブを除去することを含み、請求項 6 の方法。
8. 増幅核酸を産生するために標的ポリヌクレオチドを特異的に増幅する段階によりさらに特徴付けられる、請求項 5 の方法。
9. 増幅段階が標的特異的転写関連増幅法を含む、請求項 8 の方法。
10. 増幅核酸を検出する段階によりさらに特徴付けられる、請求項 8 の方法。
11. 検出段階が、標的ポリヌクレオチドに相補的な増幅核酸に標識プローブをハイブリダイズさせること、およびハイブリダイズした標識プローブを検出することを含み、請求項 10 の方法。
12. ハイブリダイズした標識プローブを検出することが、ハイブリダイズした標識プローブを検出する前にハイブリダイズしなかった標識プローブを除去することを含み、請求項 11 の方法。
13. 提供段階が、長さにして少なくとも 5 ヌクレオチド塩基認識基の固定プローブ結合領域を含む捕捉プローブと、長さにして少なくとも 5 ヌクレオチド塩基認識基の捕捉プローブ結合領域を含む固定プローブとを含む混合物、但し捕捉プローブ結合領域が固定プローブ結合領域と相補的である、を提供する、請求項 1 の方法。
14. 固定プローブの捕捉プローブ結合領域が：
 - (a) 少なくとも 1 つの糖-リン酸ジエステル結合、少なくとも 1 つのペプチド核酸基、少なくとも 1 つのホスホロチオエート結合、または

それらの組み合わせを含む第一の骨格と、および

- (b) 第一の骨格に連結する少なくとも 10 ヌクレオチド塩基認識基と、ここで各ヌクレオチド認識基は、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシルまたはイノシンと水素結合することが可能である

を含み、そして

捕捉プローブの固定プローブ結合領域が：

- (a) 少なくとも 1 つの糖-リン酸ジエステル結合、少なくとも 1 つのペプチド核酸基、少なくとも 1 つのホスホロチオエート結合、またはそれらの組み合わせを含む第二の骨格と、および
- (b) 第一の骨格に連結したヌクレオチド塩基認識基と水素結合することが可能であり、第二の骨格に連結した少なくとも 10 ヌクレオチド塩基認識基と

を含む、請求項 13 の方法。

15. 捕捉プローブ結合領域が少なくとも 10 ヌクレオチドを含むホモポリマーからなり、そして固定プローブ結合領域が少なくとも 25 ヌクレオチドを含むホモポリマーであって、このうち少なくとも 10 ヌクレオチドが捕捉プローブ結合領域の 10 ヌクレオチドと相補的であるホモポリマーからなる、請求項 13 または請求項 14 の方法。
16. 捕捉プローブ結合領域が約 14 の連続する A または T 塩基を含み、そして固定プローブ結合領域が捕捉プローブ結合領域の連続する塩基に相補的な約 30 塩基の配列を含む、請求項 15 の方法。
17. 提供段階が、デオキシヌクレオチド、リボヌクレオチド、2'-メトキシ置換ヌクレオチド、2'-ハロ置換ヌクレオチド構成要素、またはそれらの組み合わせを含む捕捉プローブと、デオキシヌクレオチド、リボヌクレオチド、2'-メトキシ置換ヌクレオチド、2'-ハロ置換ヌクレオチド構成要素、またはそれらの組み合わせを含む固定プローブとを含む混合物を提供する、請求項 1 の方法。
18. 試料中に標的ポリヌクレオチドが存在するか決定する方法であって、標的ポリヌクレオチドを間接的に固体支持体に結合させ、標的ポリヌクレオチドを増幅し、そして増幅標的ポリヌクレオチドを検出することを含み、該方法が本質

的に：

試料中に存在する標的ポリヌクレオチドにハイブリダイズすることが可能な捕捉プローブ、および捕捉プローブにハイブリダイズすることが可能な固定プローブを提供する段階と；

捕捉プローブおよび固定プローブを、標的ポリヌクレオチドを含むと疑われる試料と、捕捉プローブと標的ポリヌクレオチドのハイブリダイゼーションを助け、固定プローブと捕捉プローブのハイブリダイゼーションを助けない第一のインキュベーション温度で混合し、それにより捕捉プローブ：標的ポリヌクレオチド複合体を産生する段階と；

捕捉プローブ：標的ポリヌクレオチド複合体および固定プローブを、固定プローブおよび捕捉プローブのハイブリダイゼーションを助ける第二のインキュベーション温度でインキュベーションし、それにより固定プローブ：捕捉プローブ：標的ポリヌクレオチド複合体を含む捕捉された標的ポリヌクレオチドを産生する段階と；

捕捉された標的ポリヌクレオチドを試料の他の構成要素から精製し、それにより精製標的ポリヌクレオチドを産生する段階と；

標的ポリヌクレオチドに特異的なプライマーを用いて、精製標的ポリヌクレオチドを特異的に増幅し、それにより増幅核酸を産生する段階と；そして

標的ポリヌクレオチドが試料中に存在するか決定するために増幅核酸を検出する段階と

からなることで特徴付けられる方法。

19. 検出段階が、標識プローブを増幅核酸にハイブリダイズさせること、およびハイブリダイズした標識プローブを検出することを含む、請求項 18 の方法。
20. 増幅段階が、標的特異的転写関連増幅法を含み、そして検出段階が、標的ポリヌクレオチドまたはその一部に相補的な増幅核酸に標識プローブをハイブリダイズさせること、およびハイブリダイズした標識プローブを検出することを含む、請求項 18 の方法。』