

【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 1 月 11 日 (2024.1.11)

【公開番号】 特開 2023-182855 (P2023-182855A)
【公開日】 令和 5 年 12 月 26 日 (2023.12.26)
【年通号数】 公開公報 (特許) 2023-243
【出願番号】 特願 2023-184894 (P2023-184894)
【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 4 0 B 40/06 (2006.01)

C 1 2 Q 1/686 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6813 (2018.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 4 0 B 40/06 Z N A

C 1 2 Q 1/686 Z

C 1 2 Q 1/6813 Z

【手続補正書】

【提出日】 令和 5 年 12 月 26 日 (2023.12.26)

【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】

標的化遺伝学的解析のための方法であって、前記方法は、

(a) 多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュール複合体とハイブリダイズする、タグ付けされたゲノムライブラリーを提供するステップであって、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュール複合体が、パートナーオリゴヌクレオチドとハイブリダイズする多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールを含み、

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが、

(i) 前記パートナーオリゴヌクレオチドとハイブリダイズし、かつ、P C R プライマーとして機能することができる第 1 の領域と、

(i i) 特異的ゲノム標的領域とハイブリダイズすることができる第 2 の領域であって、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが、前記タグ付けされたゲノムライブラリーにおける前記特異的ゲノム標的領域と選択的にハイブリダイズする、第 2 の領域とを含む、ステップと、

(b) (a) から得られる前記タグ付けされたゲノムライブラリー—多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュール複合体を単離するステップと、

(c) ハイブリッド核酸分子を作製するために、(b) から得られる前記複合体に対して前記多機能性捕捉プローブの 5' から 3' への DNA ポリメラーゼ伸長を実行して、前記多機能性捕捉プローブの 3' にある前記ゲノム標的領域の一領域を複製するステップであって、

前記ハイブリッド核酸分子が、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールと、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが前記ゲノム標的領域とハイブリダイズする位置から 3' 方向に位置する前記ゲノム標的領域の一領域の相補体とを含む、ステップと、

10

20

30

40

50

(d) (c) から得られる前記ハイブリッド核酸分子に対して標的化遺伝学的解析を実行するステップと
を含む、方法。

【請求項 2】

前記標的化遺伝学的解析が、配列解析である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

ステップ (a) からステップ (c) が、少なくとも 2 回反復され、ステップ (d) の前記標的化遺伝学解析が、前記少なくとも 2 回の (d) ステップから得られる前記ハイブリッド核酸分子配列の配列アラインメントを含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

少なくとも 2 つの異なる多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが、前記少なくとも 2 回の (a) ステップにおいて使用され、前記少なくとも 2 回の (a) ステップが、それぞれ 1 種の多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールを使用する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

少なくとも 1 種の多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールは、前記ゲノム標的領域の下流とハイブリダイズし、少なくとも 1 種の多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールは、前記ゲノム標的領域の上流とハイブリダイズする、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記タグ付けされたゲノムライブラリーは、
血液、皮膚、毛、毛包、唾液、口腔粘膜、膣粘膜、汗、涙、上皮組織、尿、精液、精子液、精漿、前立腺液、尿道球腺液（カウパー氏腺液）、排泄物、生検、腹水、脳脊髄液、リンパ液および組織抽出物試料または生検試料からなる群から選択される生体試料に由来するゲノム DNA を含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記ステップ (b) において、前記タグ付けされたゲノムライブラリー—多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュール複合体が、ビオチン—ストレプトアビジン単離技法を使用して単離されており、前記パートナーオリゴヌクレオチドが、5' 末端又は 3' 末端においてビオチンを含むように修飾される、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記タグ付けされたゲノムライブラリーは、
(1) 断片化されたゲノム DNA を、末端修復酵素で処理して、断片化された末端修復されたゲノム DNA を生成すること、及び
(2) ランダム核酸タグ配列を、前記断片化された末端修復されたゲノム DNA にライゲーションして、前記タグ付けされたゲノムライブラリーを生成すること
により取得可能である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記タグ付けされたゲノムライブラリーは、
(1) 断片化されたゲノム DNA を、末端修復酵素で処理して、断片化された末端修復されたゲノム DNA を生成すること、及び
(2) 多機能性アダプターモジュールを、前記断片化された末端修復されたゲノム DNA にライゲーションして、前記タグ付けされたゲノムライブラリーを生成することであって、

前記多機能性アダプターモジュールが、

(i) ランダム核酸タグ配列を含む第 1 の領域と、
(i i) 試料コード配列を含む第 2 の領域と、
(i i i) PCR プライマー配列を含む第 3 の領域と
を含む、こと

により取得可能である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

10

20

30

40

50

前記試料コード配列が、マルチプレックス化された試料のセット内の試料を同定するために使用される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記ランダム核酸タグ配列が、コピー数解析に使用される、請求項 9 又は 10 に記載の方法。

【請求項 12】

リバース PCR プライマーとしての前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 1 の領域のヌクレオチド配列を含む核酸を用いて、前記ハイブリッド核酸分子の PCR 増幅を実行することをさらに含む、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 13】

前記増幅が、シーケンシングのために核酸を生成する、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

一つ又は複数の組成物であって、

(a) 多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールであって、

(i) パートナーオリゴヌクレオチドとハイブリダイズすることができる第 1 の領域と、

(ii) 特異的なゲノム標的領域とハイブリダイズすることができる第 2 の領域とを含む、多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールと

(b) 前記パートナーオリゴヌクレオチドと

を含む、

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 1 の領域のヌクレオチド配列を含む核酸は、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールと、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが前記ゲノム標的領域とハイブリダイズする位置から 3' 方向に位置する前記ゲノム標的領域の一領域の相補体とを含むハイブリッド核酸分子を増幅することができる、組成物。

20

【請求項 15】

前記多機能性捕捉プローブの 3' である前記ゲノム標的領域の一領域を複製するために、前記ハイブリッド核酸分子が、前記多機能性捕捉プローブの 5' から 3' への DNA ポリメラーゼ伸長により生成される、請求項 14 に記載の一つ又は複数の組成物。

30

【請求項 16】

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 1 の領域のヌクレオチド配列を含む前記核酸が、シーケンシングのために核酸を生成するよう前記ハイブリッド核酸分子を増幅することができる、請求項 14 又は 15 に記載の一つ又は複数の組成物。

【請求項 17】

前記一つ又は複数の組成物が、

(a) 前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールを含む第 1 の組成物と、

(b) 前記パートナーオリゴヌクレオチドを含む第 2 の組成物と

を含む、請求項 14 から 16 のいずれか一項に記載の一つ又は複数の組成物。

【請求項 18】

前記一つ又は複数の組成物が、多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュール複合体を含む組成物を含み、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュール複合体が、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールと、前記パートナーオリゴヌクレオチドとを含み、前記第 1 の領域が、前記パートナーオリゴヌクレオチドとハイブリダイズする、請求項 14 から 16 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 19】

前記パートナーオリゴヌクレオチドは、DNA 断片とハイブリダイズする前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールを含む複合体の単離及び／又は精製を可能にするように構成される結合対の特異的メンバーを含み、結合対の前記特異的メンバーがハプテンである、請求項 14 から 18 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 20】

前記パートナーオリゴヌクレオチドは、DNA断片とハイブリダイズする前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールを含む複合体の単離及び／又は精製を可能にするように構成される結合対の特異的メンバーを含み、結合対の前記特異的メンバーがピオチンである、請求項 14 から 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記パートナーオリゴヌクレオチドは、DNA断片とハイブリダイズする前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールを含む複合体の単離及び／又は精製を可能にするように構成される結合対の特異的メンバーを含み、結合対の前記特異的メンバーが、ジニトロフェノール分子又はジゴキシゲニン分子である、請求項 14 から 18 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 22】

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 1 の領域が、5' 末端においてテイル配列を含む、請求項 14 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが、5' 末端においてテイル配列を含む第 3 の領域を含む、請求項 14 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

複合体であって、

(a) DNA断片を含むタグ付けされたDNA分子と、

20

(b) 前記タグ付けされたDNA分子とハイブリダイズするハイブリッド核酸分子であって、

前記ハイブリッド核酸分子が、5' から 3' の順に、

(i) PCRプライマー結合部位を含むテイル配列と、

(ii) 前記DNA断片の一部がハイブリダイズする捕捉プローブと、

(iii) 前記捕捉プローブの 3' に位置する前記タグ付けされたDNA分子の一領域の相補体と

を含む、ハイブリッド核酸分子と

(c) 前記ハイブリッド核酸分子の 5' 末端とハイブリダイズするパートナーオリゴヌクレオチドと

30

を含む、複合体。

【請求項 25】

複合体であって、

(a) 多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールであって、3' から 5' の順に、

(i) パートナーオリゴヌクレオチドとハイブリダイズする第 1 の領域と、

(ii) DNA断片における特異的なゲノム標的領域とハイブリダイズすることができる第 2 の領域と、

(iii) テイル配列を含む第 3 の領域と

を含む、多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールと

(b) 前記DNA断片を含むタグ付けされたDNA分子であって、前記タグ付けされたDNA分子が、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールとハイブリダイズし、

40

前記タグ付けされたDNA分子の 3' 末端が、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 3 の領域の相補体を含む、タグ付けされたDNA分子と

を含む、複合体。

【請求項 26】

複合体であって、

(a) DNA断片を含むタグ付けされたDNA分子と、

(b) 多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールであって、

(i) パートナーオリゴヌクレオチドとハイブリダイズする第 1 の領域と、

(ii) 前記DNA断片における特異的標的領域とハイブリダイズすることができる

50

第 2 の領域と

を含み、

前記タグ付けされた DNA 分子が、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールとハイブリダイズする、多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールとを含む、複合体。

【請求項 27】

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 1 の領域が、テイル配列を含む、請求項 26 に記載の複合体。

【請求項 28】

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが、テイル配列を含む第 3 の領域を含む、請求項 26 に記載の複合体。

【請求項 29】

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 1 の領域のヌクレオチド配列を含む核酸は、ハイブリッド核酸分子を増幅することができ、

前記ハイブリッド核酸分子は、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールと、前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールが前記タグ付けされた DNA 分子とハイブリダイズする位置から 3' 方向に位置する前記特異的標的領域の相補体とを含む、請求項 26 から 28 のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 30】

前記多機能性捕捉プローブハイブリッドモジュールの前記第 1 の領域のヌクレオチド配列を含む前記核酸は、シーケンシングのために核酸を生成するように前記ハイブリッド核酸分子を増幅することができる、請求項 29 に記載の複合体。

【請求項 31】

前記パートナーオリゴヌクレオチドは、前記複合体の単離及び／又は精製を可能にするように構成される結合対の特異的メンバーを含み、結合対の前記特異的メンバーがハプテンである、請求項 24 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

前記パートナーオリゴヌクレオチドは、前記複合体の単離及び／又は精製を可能にするように構成される結合対の特異的メンバーを含み、結合対の前記特異的メンバーがビオチンである、請求項 24 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記パートナーオリゴヌクレオチドは、前記複合体の単離及び／又は精製を可能にするように構成される結合対の特異的メンバーを含み、結合対の前記特異的メンバーが、ジニトロフェノール分子又はジゴキシゲニン分子である、請求項 24 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50