

【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25年11月7日(2013.11.7)

【公表番号】特表2013-516984(P2013-516984A)

【公表日】平成25年5月16日(2013.5.16)

【年通号数】公開・登録公報2013-024

【出願番号】特願2012-548931(P2012-548931)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 A

C 12 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成25年9月20日(2013.9.20)

【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】

試料中の核酸全体の一部として存在する異常核酸の増幅を確実にするための方法であつて、該方法は、

被験体からの試料を提供する工程であつて、ここで該試料は核酸全体を含み、該全体の一部は異常核酸である、工程、

該核酸全体を該試料から抽出する工程、

該抽出された核酸を定量的に分析して、該試料中の増幅可能な核酸の量を決定する工程、および

増幅反応のために該増幅可能な核酸を、該試料中の該異常核酸の増幅を確実にする量で提供する工程であつて、ここで該提供される量は該定量的分析工程の結果に基づく、工程を含む、方法。

【請求項2】

定量的分析工程が、定量的ポリメラーゼ連鎖反応(QPCR)を実施する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記増幅反応がポリメラーゼ連鎖反応である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

抽出工程が、

前記試料をアフィニティーカラムに導入し、前記核酸を該カラムに結合させる工程、および

該結合した核酸を該カラムから溶出させる工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記増幅反応を実施して、前記異常核酸を増幅する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記異常核酸を検出する工程をさらに含む、請求項5に記載の方法。

**【請求項 7】**

正常核酸および前記異常核酸が無細胞循環核酸である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記無細胞循環核酸が部分的に分解した核酸である、請求項 7 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記異常核酸が、前記試料中の前記核酸全体の約 1 % 以下として存在する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記試料が組織または体液である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記体液が、血液、血清、血漿、尿、脊髄液、リンパ液、精液、膣分泌物、腹水、唾液、粘膜分泌物および腹膜液からなる群より選択される、請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記異常核酸が疾患を示すものである、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記疾患ががんである、請求項 12 に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記がんが、脳、腎臓、肝臓、副腎、膀胱、頸部、乳房、胃、卵巣、食道、頸、頭部、皮膚、結腸、直腸、前立腺、膵臓、肝臓、肺、膣、甲状腺、がん腫、肉腫、グリア芽細胞腫、多発性骨髓腫、血液または胃腸からなる群より選択される、請求項 13 に記載の方法。

**【請求項 15】**

体液中の無細胞循環核酸全体の一部として存在する無細胞循環異常核酸の増幅を確実にするための方法であって、該方法は、

被験体からの体液を提供する工程であって、ここで該体液は無細胞循環核酸全体を含み、該全体の一部は異常核酸である、工程、

該無細胞循環核酸全体を該体液から抽出する工程、

該抽出された核酸に対して定量的ポリメラーゼ連鎖反応を実施して、該体液中の増幅可能な核酸の量を決定する工程、および

ポリメラーゼ連鎖反応のために該増幅可能な核酸を、該体液中の該異常核酸の増幅を確実にする量で提供する工程であって、ここで該提供される量は該定量的ポリメラーゼ連鎖反応の結果に基づく、工程

を含む、方法。

**【請求項 16】**

前記ポリメラーゼ連鎖反応を実施して、前記異常核酸を増幅する工程をさらに含む、請求項 15 に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記ポリメラーゼ連鎖反応が、内部 Q P C R 対照の存在下で実施される、請求項 16 に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記異常核酸を検出する工程をさらに含む、請求項 16 に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記異常核酸が、前記体液中の前記核酸全体の分子の約 1 % 以下として存在する、請求項 15 に記載の方法。

**【請求項 20】**

前記体液が、血液、血清、血漿、尿、脊髄液、リンパ液、精液、膣分泌物、腹水、唾液、粘膜分泌物および腹膜液からなる群より選択される、請求項 15 に記載の方法。

**【請求項 21】**

前記無細胞循環核酸全体が部分的に分解した核酸を含む、請求項 15 に記載の方法。

**【請求項 22】**

異常核酸を検出するための方法であって、ここで異常核酸の検出は、疾患の存在を示し、該方法は、

被験体からの試料を提供する工程であって、ここで該試料は核酸全体を含み、該全体の一部は疾患を示す異常核酸である、工程、

該核酸全体を該試料から抽出する工程、

該抽出された核酸を定量的に分析して、該試料中の増幅可能な核酸の絶対量を決定する工程、

増幅反応のために該増幅可能な核酸を、該試料中の該異常核酸の増幅を確実にする量で提供する工程であって、ここで該提供される量は該定量的分析工程の結果に基づく、工程、

該増幅反応を実施する工程、および

該増幅された核酸を検出する工程であって、ここで該異常核酸の検出は該疾患の存在を示す、工程を含む、方法。

【請求項 2 3】

定量的分析工程が、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（QPCR）を実施する工程を含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記増幅反応がポリメラーゼ連鎖反応である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

正常核酸および前記異常核酸が無細胞循環核酸である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記試料が組織または体液である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記体液が、血液、血清、血漿、尿、脊髄液、リンパ液、精液、膣分泌物、腹水、唾液、粘膜分泌物および腹膜液からなる群より選択される、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記疾患ががんである、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記がんが、脳、腎臓、肝臓、副腎、膀胱、頸部、乳房、胃、卵巣、食道、頸、頭部、皮膚、結腸、直腸、前立腺、胰臓、肝臓、肺、膣、甲状腺、がん腫、肉腫、グリア芽細胞腫、多発性骨髓腫、血液または胃腸からなる群より選択される、請求項 2 8 に記載の方法。

【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】

本発明の別の一態様は、確率的なバイアスを伴わずに異常核酸の検出を可能にする量の核酸全体を含む試料の分析を含む、被験体における疾患を診断するための方法を提供する。この方法は、さらに、核酸全体を試料から抽出すること、抽出核酸を定量的に分析すること、およびそれによって疾患の徴候の存在の更なる分析に有用である試料中の増幅可能な核酸分子の量を決定することを含むことができる。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

試料中の核酸全体の一部として存在する異常核酸の増幅を確実にするための方法であつて、該方法は、

被験体からの試料を提供する工程であつて、ここで該試料は核酸全体を含み、該全体の一部は異常核酸である、工程、

該核酸全体を該試料から抽出する工程、

該抽出された核酸を定量的に分析して、該試料中の増幅可能な核酸の量を決定する工程、および

増幅反応のために該増幅可能な核酸を、該試料中の該異常核酸の増幅を確実にする量で提供する工程であって、ここで該提供される量は該定量的分析工程の結果に基づく、工程を含む、方法。

(項目2)

定量的分析工程が、定量的ポリメラーゼ連鎖反応( Q P C R )を実施する工程を含む、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記増幅反応がポリメラーゼ連鎖反応である、項目1に記載の方法。

(項目4)

抽出工程が、

前記試料をアフィニティーカラムに導入し、前記核酸を該カラムに結合させる工程、および

該結合した核酸を該カラムから溶出させる工程を含む、項目1に記載の方法。

(項目5)

前記増幅反応を実施して、前記異常核酸を増幅する工程をさらに含む、項目1に記載の方法。

(項目6)

前記異常核酸を検出する工程をさらに含む、項目5に記載の方法。

(項目7)

正常核酸および前記異常核酸が無細胞循環核酸である、項目1に記載の方法。

(項目8)

前記無細胞循環核酸が部分的に分解した核酸である、項目7に記載の方法。

(項目9)

前記異常核酸が、前記試料中の前記核酸全体の約1%以下として存在する、項目1に記載の方法。

(項目10)

前記試料が組織または体液である、項目1に記載の方法。

(項目11)

前記体液が、血液、血清、血漿、尿、脊髄液、リンパ液、精液、膣分泌物、腹水、唾液、粘膜分泌物および腹膜液からなる群より選択される、項目10に記載の方法。

(項目12)

前記異常核酸が疾患を示すものである、項目1に記載の方法。

(項目13)

前記疾患ががんである、項目12に記載の方法。

(項目14)

前記がんが、脳、腎臓、肝臓、副腎、膀胱、頸部、乳房、胃、卵巣、食道、頸、頭部、皮膚、結腸、直腸、前立腺、脾臓、肝臓、肺、膣、甲状腺、がん腫、肉腫、グリア芽細胞腫、多発性骨髓腫、血液または胃腸からなる群より選択される、項目13に記載の方法。

(項目15)

体液中の無細胞循環核酸全体の一部として存在する無細胞循環異常核酸の増幅を確実にするための方法であって、該方法は、

被験体からの体液を提供する工程であって、ここで該体液は無細胞循環核酸全体を含み、該全体の一部は異常核酸である、工程、

該無細胞循環核酸全体を該体液から抽出する工程、

該抽出された核酸に対して定量的ポリメラーゼ連鎖反応を実施して、該体液中の増幅可能な核酸の量を決定する工程、および

ポリメラーゼ連鎖反応のために該増幅可能な核酸を、該体液中の該異常核酸の増幅を確実にする量で提供する工程であって、ここで該提供される量は該定量的ポリメラーゼ連鎖反応の結果に基づく、工程を含む、方法。

(項目16)

前記ポリメラーゼ連鎖反応を実施して、前記異常核酸を増幅する工程をさらに含む、項目15に記載の方法。

(項目17)

前記ポリメラーゼ連鎖反応が、内部QPCR対照の存在下で実施される、項目16に記載の方法。

(項目18)

前記異常核酸を検出する工程をさらに含む、項目16に記載の方法。

(項目19)

前記異常核酸が、前記体液中の前記核酸全体の分子の約1%以下として存在する、項目15に記載の方法。

(項目20)

前記体液が、血液、血清、血漿、尿、脊髄液、リンパ液、精液、膣分泌物、腹水、唾液、粘膜分泌物および腹膜液からなる群より選択される、項目15に記載の方法。

(項目21)

前記無細胞循環核酸全体が部分的に分解した核酸を含む、項目15に記載の方法。

(項目22)

被験体における疾患を診断する方法であって、該方法は、

被験体からの試料を提供する工程であって、ここで該試料は核酸全体を含み、該全体の一部は疾患を示す異常核酸である、工程、

該核酸全体を該試料から抽出する工程、

該抽出された核酸を定量的に分析して、該試料中の増幅可能な核酸の絶対量を決定する工程、

増幅反応のために該増幅可能な核酸を、該試料中の該異常核酸の増幅を確実にする量で提供する工程であって、ここで該提供される量は該定量的分析工程の結果に基づく、工程

、該増幅反応を実施する工程、および

該増幅された核酸を検出する工程であって、ここで該異常核酸の検出は該疾患の存在を示す、工程

を含む、方法。

(項目23)

定量的分析工程が、定量的ポリメラーゼ連鎖反応(QPCR)を実施する工程を含む、項目22に記載の方法。

(項目24)

前記増幅反応がポリメラーゼ連鎖反応である、項目23に記載の方法。

(項目25)

正常核酸および前記異常核酸が無細胞循環核酸である、項目22に記載の方法。

(項目26)

前記試料が組織または体液である、項目22に記載の方法。

(項目27)

前記体液が、血液、血清、血漿、尿、脊髄液、リンパ液、精液、膣分泌物、腹水、唾液、粘膜分泌物および腹膜液からなる群より選択される、項目22に記載の方法。

(項目28)

前記疾患ががんである、項目22に記載の方法。

(項目29)

前記がんが、脳、腎臓、肝臓、副腎、膀胱、頸部、乳房、胃、卵巣、食道、頸、頭部、

皮膚、結腸、直腸、前立腺、脾臓、肝臓、肺、腫、甲状腺、がん腫、肉腫、グリア芽細胞腫、多発性骨髓腫、血液または胃腸からなる群より選択される、項目 28 に記載の方法。