

【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26年12月4日(2014.12.4)

【公表番号】特表2014-513534(P2014-513534A)

【公表日】平成26年6月5日(2014.6.5)

【年通号数】公開・登録公報2014-029

【出願番号】特願2014-506607(P2014-506607)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成26年9月26日(2014.9.26)

【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】

試料中に含有される核酸標的配列の鋳型を増幅するための方法であって、

前記核酸標的配列の鋳型に相補的なプライマーを含有する増幅反応混合物と前記試料を接触させることと、

反応の温度を上位温度と下位温度との間で周期的に変動させ、温度の変化を、複数回の温度サイクル中、20 以下とすることと、

前記核酸標的配列の鋳型を増幅することと、
を含む、方法。

【請求項 2】

前記温度の変化が、複数回の温度サイクル中、15 以下である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記温度の変化が、複数回の温度サイクル中、10 以下である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記温度の変化が、複数回の温度サイクル中、5 以下である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記上位温度または前記下位温度に到達した後、前記反応の温度が、設定期間にわたり温度のゆらぎ内に維持される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記温度範囲内で上位または下位温度に到達した後、前記反応の温度が他の温度に変化させられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記下位温度が50 以上である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記上位温度が85 以下である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記核酸標的配列の鋳型が 1 本鎖 DNA または RNA である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記核酸標的配列の鋳型が2本鎖DNAまたはRNAである、請求項1に記載の方法。

【請求項 11】

前記核酸標的配列の鋳型がRNAである、請求項1に記載の方法。

【請求項 12】

前記核酸標的配列の鋳型がDNAである、請求項1に記載の方法。

【請求項 13】

前記標的核酸の長さが1000bp未満であり得る、請求項1に記載の方法。

【請求項 14】

前記標的核酸の長さが250bp未満であり得る、請求項1に記載の方法。

【請求項 15】

前記標的核酸の長さが150bp未満であり得る、請求項1に記載の方法。

【請求項 16】

前記標的核酸の長さが100bp未満であり得る、請求項1に記載の方法。

【請求項 17】

前記増幅反応混合物が、前記核酸の鋳型の逆鎖に結合するプライマー対を含む、請求項1から請求項16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記プライマー対が、その溶融温度が65 以上となるような長さおよびGC含量を有する、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

前記プライマー対が、その溶融温度が70 以上となるような長さおよびGC含量を有する、請求項17に記載の方法。

【請求項 20】

前記プライマー対が、35から70塩基対の間の長さを有する、請求項17に記載の方法。

【請求項 21】

前記プライマー対の各プライマーの溶融温度が、70から80 の間である、請求項17に記載の方法。

【請求項 22】

前記プライマー対が、それぞれ40から47塩基対の間の長さを有するフォワードプライマーおよびリバースプライマーを含む、請求項17に記載の方法。

【請求項 23】

試料中に含有される核酸標的配列の鋳型を増幅させるための方法であって、
前記試料を、

35から70塩基対の長さを有し、前記核酸標的配列の鋳型に対して相補的であるプライマーまたはプライマー対であって、前記プライマー対の各プライマーの溶融温度が70から80 の間である、プライマーまたはプライマー対と、

DMSOと、

一価陽イオンと、

二価陽イオンと、

dNTPと、

DNAポリメラーゼと、

を含む増幅反応混合物と、を接触させることと、

反応の温度を上位温度と下位温度との間で周期的に変動させ、前記温度の変化を、複数回の温度サイクル中、約20 以下とすることと、

前記核酸標的配列の鋳型を増幅することと、
を含む、方法。

【請求項 24】

前記二価陽イオンが、マグネシウム、マンガン、銅、亜鉛またはそれらの任意の組み合わせ

わせからなる群から選択される塩である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記一価陽イオンが、ナトリウム、カリウム、リチウム、ルビジウム、セシウム、アンモニウム、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される塩である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記増幅反応混合物が核酸不安定化剤を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記増幅反応が、DNA ポリメラーゼを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記 DNA ポリメラーゼが、耐熱性 DNA ポリメラーゼである、請求項 2 3 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記 DNA ポリメラーゼが、T A Q DNA ポリメラーゼ、V e n t R DNA ポリメラーゼおよび、D e e p V e n t R DNA ポリメラーゼからなる群から選択される、請求項 2 3 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記 DNA ポリメラーゼが、鎖置換活性を含む、請求項 2 3 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記 DNA ポリメラーゼが、3' 5' エキソヌクレアーゼ活性を有さない、請求項 2 3 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記増幅反応混合物が、逆転写酵素および DNA ポリメラーゼを含む、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記逆転写酵素が耐熱性逆転写酵素である、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記逆転写酵素が、A M V - R T、S u p e r s c r i p t I I 逆転写酵素、S u p e r s c r i p t I I I 逆転写酵素または M M L V - R T から選択される、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記増幅反応混合物が、1 本鎖結合タンパク質を含む、請求項 1 または 2 3 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記 1 本鎖結合タンパク質が、耐熱性の 1 本鎖結合タンパク質である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記 1 本鎖結合タンパク質が、非耐熱性の 1 本鎖結合タンパク質である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記不安定化剤がジメチルスルホキシド (D M S O) またはホルムアミドである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記試料がアルコール不含ではない、請求項 1 または 2 3 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記試料が塩不含ではない、請求項 1 または 2 3 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記増幅反応混合物が、増幅反応混合緩衝液を含み、該増幅反応混合緩衝液は、
1 本鎖または 2 本鎖核酸不安定化剤と、
一価陽イオンと、

二価陽イオンと、
d N T P と、
活性を支えるために p H で緩衝化されている D N A ポリメラーゼと、
を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4 2】

1 本鎖結合タンパク質をさらに含む、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記不安定化剤がジメチルスルホキシド (D M S O) またはホルムアミドである、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記二価陽イオンが、マグネシウム、マンガン、銅、亜鉛またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される塩である、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記一価陽イオンが、ナトリウム、カリウム、リチウム、ルビジウム、セシウム、アンモニウムまたはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される塩である、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記 D N A ポリメラーゼが、耐熱性 D N A ポリメラーゼである、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記 D N A ポリメラーゼが、T A Q D N A ポリメラーゼ、V e n t R D N A ポリメラーゼおよび D e e p V e n t R D N A ポリメラーゼからなる群から選択される、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記 D N A ポリメラーゼが、鎖置換活性を含む、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記 D N A ポリメラーゼが、3 ' 5 ' エキソヌクレアーゼ活性を有さない、請求項 4 1 に記載の方法。