

請求の範囲

- [請求項1] 以下の工程を含む乾燥濾紙血中の標的核酸をリアルタイムPCRにより検出する方法；
- (1) 乾燥濾紙血パンチ片及びPCR試薬を含む試料溶液にサーマルサイクルを施すことにより乾燥濾紙血中の標的核酸を増幅する工程であって、PCR試薬が蛍光標識プローブを含むものである、前記工程
- (2) サーマルサイクル毎の試料溶液の蛍光強度を光学的に検出する工程
- (3) 光学的に検出したデータのうち、所定サイクル数以降のデータを用いて標的核酸の定量解析を行う工程
- [請求項2] 前記(3)の所定サイクル数が10サイクル以上25サイクル以下である請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記(3)の所定サイクル数以降のデータが、サーマルサイクルの開始より遅れて開始される光学的検出により得られるデータである、請求項1又は2に記載の方法。
- [請求項4] PCR試薬は蛍光標識プローブのほかに、少なくともプライマー、ポリメラーゼ及びdNTPを含む請求項1～3のいずれかに記載の方法。
- [請求項5] 前記蛍光標識プローブが、蛍光物質とクエンチャーとを有し且つ核酸増幅反応の鋳型に相補的な部分配列を含み、前記蛍光物質への励起光照射によって発生する蛍光の検出により、前記増幅された標的核酸を検出する、請求項1～4のいずれかに記載の方法。
- [請求項6] 蛍光標識が、500nm～600nmの範囲の蛍光検出波長を有するものである請求項1～5のいずれかに記載の方法。
- [請求項7] 標的核酸が、TREC、KREC及びSMN1からなる群から選ばれる1つ以上の遺伝子の核酸である、請求項1～6のいずれかに記載の方法。
- [請求項8] (2)のサーマルサイクル毎の試料溶液の蛍光強度を光学的に検出す

る工程が、サーマルサイクラーに設定された測光パラメーターにもとづく工程であり、サーマルサイクル開始から所定サイクル数は未測光パラメーターが設定され、所定サイクル数以降は測光パラメーターが設定されていることにより、光学的な検出がサーマルサイクルの開始より遅れて開始される工程である、請求項 3～6 のいずれかに記載の方法。

- [請求項9] 以下の工程を含む乾燥濾紙血中の標的核酸をリアルタイムPCRにより検出する方法におけるベースラインの乱れを低減する方法。
- (1) 乾燥濾紙血パンチ片及びPCR試薬を含む試料溶液にサーマルサイクルを施すことにより乾燥濾紙血中の標的核酸を増幅する工程であって、PCR試薬が蛍光標識プローブを含むものである、前記工程
- (2) サーマルサイクル毎の試料溶液の蛍光強度を光学的に検出する工程
- (3) 光学的に検出したデータのうち、所定サイクル数以降のデータを用いて標的核酸の定量解析を行う工程
- [請求項10] 前記(3)の所定サイクル数が10サイクル以上25サイクル以下である請求項9に記載の方法。
- [請求項11] 前記(3)の所定サイクル数以降のデータが、サーマルサイクルの開始より遅れて開始される光学的検出により得られるデータである、請求項9又は10に記載の方法。
- [請求項12] PCR試薬は蛍光標識プローブのほかに、少なくともプライマー、ポリメラーゼ及びdNTPを含む請求項9～11のいずれかに記載の方法。
- [請求項13] 前記蛍光標識プローブが、蛍光物質とクエンチャーとを有し且つ核酸増幅反応の鋳型に相補的な部分配列を含み、前記蛍光物質への励起光照射によって発生する蛍光の検出により、前記増幅された標的核酸を検出する、請求項9～12のいずれかに記載の方法。
- [請求項14] 蛍光標識が、500nm～600nmの範囲の蛍光検出波長を有する

ものである請求項 9 ～ 1 3 のいずれかに記載の方法。

[請求項15] 標的核酸が、TREC、KREC及びSMN1からなる群から選ばれる1つ以上の遺伝子の核酸である、請求項 9 ～ 1 4 のいずれかに記載の方法。

[請求項16] 前記（2）のサーマルサイクル毎の試料溶液の蛍光強度を光学的に検出する工程が、サーマルサイクラーに設定された測光パラメーターにもとづく工程であり、サーマルサイクル開始から所定サイクル数は未測光パラメーターが設定され、所定サイクル数以降は測光パラメーターが設定されていることにより、光学的な検出がサーマルサイクルの開始より遅れて開始される工程である、請求項 1 1 ～ 1 5 のいずれかに記載の方法。