

請求の範囲

- [請求項1] 標的核酸領域内の基準配列に対する差異を検出する方法であって、
該標的核酸領域を含む核酸を鋳型として基準配列を含む範囲を増幅させる鋳型依存的核酸増幅反応において、該標的核酸領域内の基準配列にハイブリダイズする10～200塩基からなる一本鎖核酸を反応系に添加して反応を行う工程と、増幅産物を確認する工程とを含み、
該一本鎖核酸は、基準配列と相補的な配列を含むRNAまたはRNAと他の核酸とのキメラであり、一本鎖核酸の基準配列に対する相補率は、基準配列に対する差異を含む基準外配列に対する相補率より高いことを特徴とする検出方法。
- [請求項2] 標的核酸領域内の基準配列に対する差異が、基準配列における1塩基以上の欠失、挿入または置換である請求項1に記載の検出方法。
- [請求項3] 鋳型依存的核酸増幅反応が、PCR法、RT-PCR法、LAMP法、ICAN法、NASBA法、LCR法、SDA法、TRC法、TMA法およびRPA法からなる群より選択されるいずれかである請求項1または2に記載の検出方法。
- [請求項4] 鋳型依存的核酸増幅反応がPCR法である請求項3に記載の検出方法。
- [請求項5] PCR法が、変性ステップ、アニーリングステップおよび伸長ステップからなる請求項4に記載の検出方法。
- [請求項6] アニーリングステップおよび伸長ステップが、同じ温度で実施される請求項5に記載の検出方法。
- [請求項7] 一本鎖核酸が15～30塩基からなることを特徴とする請求項1～6のいずれかに記載の検出方法。
- [請求項8] 一本鎖核酸が一本鎖RNAである請求項1～7のいずれかに記載の検出方法。
- [請求項9] 標的核酸領域を含む核酸が被験者の臨床検体から取得した核酸である請求項1～8のいずれかに記載の検出方法。
- [請求項10] 標的核酸領域内の基準配列に対する差異を有する細胞をスクリーニ

ングする方法であって、被験細胞から核酸を調製する工程、得られた核酸を鋳型として請求項 1 ～ 9 のいずれかに記載の検出方法に供し、増幅産物の有無を確認する工程、および増幅産物が確認された細胞を選択する工程、を含むことを特徴とするスクリーニング方法。

[請求項11] 標的核酸領域内の基準配列に対する差異を有する核酸の割合を増加させる方法であって、被験細胞集団から核酸を調製する工程、得られた核酸を鋳型として請求項 1 ～ 9 のいずれかに記載の検出方法に供し増幅産物を回収する工程、を含むことを特徴とする方法。

[請求項12] 請求項 1 ～ 9 のいずれかに記載の検出方法において使用するためのキットであって、標的核酸領域内の基準配列と相補的な配列を含むRNAまたはRNAと他の核酸とのキメラである一本鎖核酸を含むキット。

[請求項13] 請求項 1 ～ 9 のいずれかに記載の検出方法において使用するための検出剤であって、標的核酸領域内の基準配列と相補的な配列を含むRNAまたはRNAと他の核酸とのキメラである一本鎖核酸を含む検出剤。