

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年9月12日(12.09.2024)



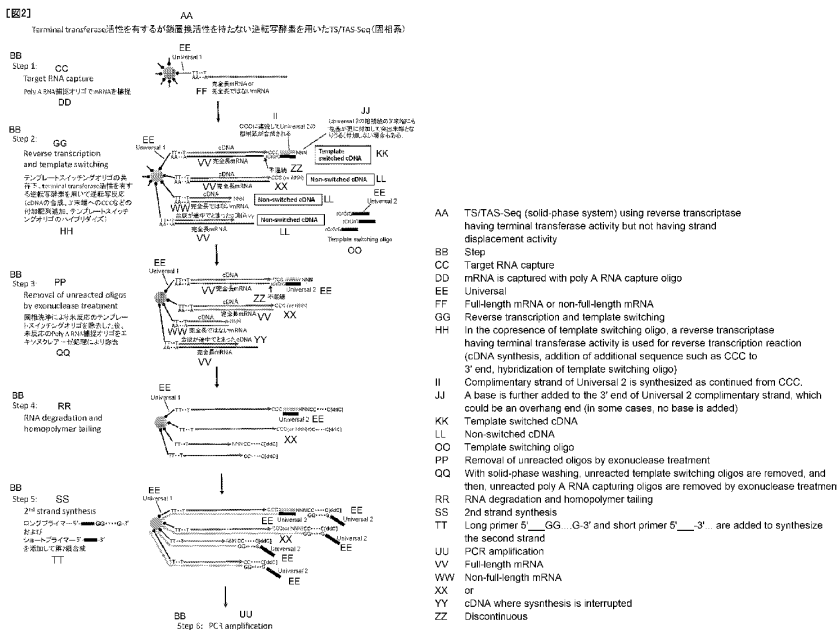
(10) 国際公開番号
WO 2024/185884 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/6855 (2018.01) C12Q 1/686 (2018.01)
C12N 15/10 (2006.01) C12Q 1/6869 (2018.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2024/008998
- (22) 国際出願日: 2024年3月8日(08.03.2024)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2023-036275 2023年3月9日(09.03.2023) JP
- (71) 出願人: イムノジェネテクス株式会社 (IMMUNOGENETEQS, INC.) [JP/JP];

- 〒1080075 東京都港区港南4-6-3
-2004 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 七野 成之 (SHICHINO, Shigeyuki);
〒2780022 千葉県野田市山崎2669 東京理
科大学野田キャンパス17号館1階 イムノ
ジェネテクス株式会社内 Chiba (JP).
- (74) 代理人: 弁理士法人谷川国際特許事
務所 (TANIGAWA AND PARTNERS, PATENT
FIRM); 〒1020072 東京都千代田区飯田橋一丁
目7番10号山京別館801 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN,
CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,

(54) Title: METHOD FOR AMPLIFYING COMPLIMENTARY DNA STRAND

(54) 発明の名称: 相補DNA鎖を増幅する方法



(57) Abstract: Disclosed is a cDNA amplification method in which mRNA can be amplified from a very small amount of a cell sample, comprehensively, with high efficiency, and at low bias. A complimentary DNA strand amplification method according to the present invention comprises a step in which: a reverse transcriptase having terminal transferase activity is used to capture, in a liquid-phase system or solid-phase system, a target RNA and to synthesize a complimentary DNA strand; a base such as CCC is added to the end of the complimentary DNA strand; and thereafter homopolymer tailing is

[続葉有]

EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG,
KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU,
LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

carried out via a TdT reaction in the copresence of a chain terminating nucleotide triphosphate. If a template switching reaction is further combined, the complementary DNA strand can be amplified with higher efficiency and at lower bias.

(57) 要約: ごく微量の細胞サンプルからも mRNA を高い効率かつ低いバイアスで網羅的に増幅できる cDNA 増幅方法が開示されている。本発明の相補 DNA 鎖増幅方法は、ターミナルトランスフェラーゼ活性を有する逆転写酵素を用いて液相系又は固相系で標的 RNA 捕捉及び相補 DNA 鎖合成を行い、相補 DNA 鎖末端に CCC 等の塩基を付加した後、連鎖停止ヌクレオチド三リン酸共存下での TdT 反応によりホモポリマーテーリングを実施するステップを含む。テンプレートスイッチング反応をさらに組み合わせることで、より高い効率かつ低いバイアスで相補 DNA 鎖を増幅することができる。