

PATENTKRAV

1. Fremgangsmåte for asymmetrisk PCR som omfatter å:
 - tilveiebringe en nukleinsyreprøve som anvendes som en måltemplat ;
- 5 - identifisere måltemplatene(e)
- utføre en polymerase kjedereaksjon, ved å utnytte svært komplementære primere der enten fremover- eller revers primerkonsentrasjonen reduseres for å oppheve blokkeringen av PCR-reaksjonen ved først å fremme lineær amplifisering som gradvis vil skifte mot eksponensiell amplifisering ved COMplementary-Primer-ASymmetric (COMPAS)-PCR;
- 10 - identifisere den amplifiserte nukleotid-målesekvensen(er);

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, der nukleinsyre-målesekvensen omfatter direkte tandem repetisjoner.

- 15 3. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 2, der de svært komplementære primerne har en felles overlappende DNA-målesekvens.

4. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, der de direkte tandem repetisjonene er i 5s-rDNA regionen.
- 20 5. Fremgangsmåte for påvisning, identifisering eller overvåking av laksearter som omfatter å:
 - tilveiebringe en nukleinsyreprøve fra laksefisk til bruk som mål-templat(er);
 - utføre en polymerase kjedereaksjon (PCR) COMplementary-Primer-ASymmetric (COMPAS)-PCR i følge kravene 1-4, for å amplifisere en nukleinsyre-målesekvens i templatene(e), ved å
- 25 benytte et sett eller flere sett av svært komplementære primer-par i stand til å prime nevnte mål;
 - identifisere den amplifiserte nukleotid-målesekvensen(er);
 - bestemme arten.

- 30 6. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-5, der bestemmelsen av arten foretas ved en smeltekurveanalyse av PCR-produktet, eller ved elektroforeseanalyse.

7. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, der den fremre primeren er forlenget i 3'-ende for å favorisere priming til målet og ikke til den reverse primeren.
- 35 8. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7, der den reverse primeren er forlenget i 3'-ende for å favorisere priming til målet, og ikke til den fremre primeren.

9. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, der enten den reverse eller fremover primeren har en SNP i sin 3'-ende.

5 10. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, der primerne i primerparet er oligonukleotider som hver har en lengde på omtrent 12 til omtrent 30, fortrinnsvis omtrent 20 bp.

11. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, der det komplementære primersettet er valgt fra et sett av primerpar(ene), der den fremre primeren er valgt fra Tabell 1, 10 eller en komplementære sekvens derav, og den andre primeren er valgt fra Tabell 2, eller en komplementær sekvens derav, eller en hvilken som helst kombinasjon derav.

12. Fremgangsmåten ifølge kravene 1-11, der nevnte laksefisk omfatter *Salmo trutta*, *Salmo salar* og hybrider av disse.

15 13. Oligonukleotidprimere, valgt fra oligonukleotidene fra Tabell 1 eller 2, eller en hvilken som helst kombinasjon derav, eller oligonukleotider med komplementære sekvenser eller funksjonelle tilsvarende sekvenser.

20 14. Fremgangsmåte for å bestemme kjønn hos laksefisk som omfatter å:
 - tilveiebringe en nukleinsyreprøve fra laksefisk for å anvendes som (en) mål templat(er);
 - utføre en to-trinns tosidig sanntid polymerase kjedereaksjon (qPCR), for å amplifisere en nukleinsyre målsekvens av templat(en), ved å benytte et sett eller flere sett av primerpar valgt fra Tabell 3,
 25 - identifisere den amplifiserte nukleotid-målsekvensen(e);
 - bestemme kjønn ved en smeltekurveanalyse av PCR-produktet.

15. Fremgangsmåten ifølge krav 14, der trinn på smeltekurveanalysen er 0,4 °C, fortrinnsvis 0,3 °C, mer foretrukket 0,2 °C.

30 16. Fremgangsmåten ifølge krav 14 eller 15, der annealingstemperaturen er 62 °C, mer foretrukket 63 °C, mest foretrukket 64 °C.

17. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 14-16, der to-trinns amplifiseringen 35 varer i 30 sek., fortrinnsvis 25 sek., mer foretrukket 20 sek.

18. Fremgangsmåte for påvisning og identifisering av laksearter og/eller kjønn som omfatter fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-17, og "High Resolution Melt analysis",

der primersettene er valgt fra Tabellene 1, 2 og/eller 3, eller komplementære sekvenser derav, i en hvilken som helst kombinasjon.

19. Sett for deteksjon og identifisering av laksearter, som omfatter en samling
5 oligonukleotidprimere valgt fra Tabellene 1 og 2 i hvilke som helst kombinasjoner eller komplementære sekvenser derav, som er i stand til å detektere laksearter ved fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12.
20. Sett for påvisning og identifikasjon av laksearter og/eller kjønn som består av en samling av
10 primere valgt fra Tabellene 1, 2 og/eller 3, eller komplementære sekvenser derav, i en hvilken som helst kombinasjon som er i stand til å detektere laksearter og/eller kjønn ved fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-18.
21. Anvendelse av en fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12, eller
15 oligonukleotidprimerne ifølge krav 13.
22. Anvendelse av en fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 14-18.
23. Anvendelse av settene i følge kravene 19 eller 20.