

【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23年4月7日(2011.4.7)

【公表番号】特表2009-518013(P2009-518013A)

【公表日】平成21年5月7日(2009.5.7)

【年通号数】公開・登録公報2009-018

【出願番号】特願2008-543550(P2008-543550)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成23年2月16日(2011.2.16)

【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】

核酸分子の合成によるエラーコレクションのための方法であって、該方法は、

(a) オリゴヌクレオチド断片を、各断片が所望の長さの所望のヌクレオチド配列の一部を有するよう、得るステップと、

(b) 該オリゴヌクレオチド断片を增幅するステップと、

(c) 該増幅したオリゴヌクレオチド断片を、当該所望の長さを有するよう、第一セットの分子にアセンブルするステップと、

(d) 該第一セットの分子を変性するステップと、

(e) 該変性された分子を当該所望の長さを有するよう、第二セットの分子にアニーリングするステップと、

(f) 該第二セットの分子を複数のエンドヌクレアーゼと反応させ、それによって、配列エラーの部位で該第二セットの分子にプラントカットを導入し、前記所望の長さよりも短い長さの断片を含む第三セットの分子を產生し、ここで、当該複数のエンドヌクレアーゼは任意の配列エラーの部位で切断するようにさせるステップと、

(g) 断片を含む該第三セットの分子を該所望の長さの第四セットの分子にアセンブルし、それによって、当該第一セットの分子と比較して、第四セットの分子のエラー数が減少されるステップと

を含む、方法。

【請求項2】

前記所望のヌクレオチド配列は、一以上の自然に生じる遺伝子配列を含む、請求項1の方法。

【請求項3】

前記所望のヌクレオチド配列は、一以上の合成のヌクレオチド配列を含む、請求項1の方法。

【請求項4】

前記所望のヌクレオチド配列は、一以上の自然に生じる遺伝子配列と、一以上の合成のヌクレオチド配列とのハイブリッドを含む、請求項1の方法。

【請求項5】

前記オリゴヌクレオチド断片を得るステップは、前記断片を合成するステップを含む、

請求項1の方法。

【請求項 6】

前記オリゴヌクレオチド断片を得るステップは、マイクロチップ上で断片を合成するステップを含む、請求項5の方法。

【請求項 7】

前記オリゴヌクレオチド断片を得るステップは、前記所望のヌクレオチド配列の両鎖の部分を有するように意図された一セットの断片を合成するステップを含む、請求項1の方法。

【請求項 8】

さらに、アセンブルされる前に前記断片の前記配列に従って、前記ステップ(b)のオリゴヌクレオチド断片をグループ化するステップを含む、請求項1の方法。

【請求項 9】

増幅に先立って前記オリゴヌクレオチドが得られ各別(separate)の容器に保持され、固有(unique)の配列を共有する、断片の各グループが各別(separate)の容器に保持される、請求項1の方法。

【請求項 10】

前記増幅されたオリゴヌクレオチド断片をグループ化するステップは、固有(unique)のアダプタープライマーを用いるステップを含む、請求項8の方法。

【請求項 11】

前記増幅した断片を第一セットの分子にアセンブルするか、又は前記第三セットの分子を第四セットの分子にアセンブルするステップは、オーバーラップ イクステンションポリメラーゼ連鎖反応を用いることを含む、請求項1の方法。

【請求項 12】

さらに、一以上のラウンドの追加的なエラーコレクションによって、前記第四セットの分子を処理するステップを含む、請求項1の方法。

【請求項 13】

さらに、一以上のポリメラーゼ連鎖反応によって前記第四セットの分子を増幅するステップを含む、請求項1の方法。

【請求項 14】

さらに、前記第四セットの分子を、一以上のベクターにクローニングするステップを含む、請求項1の方法。

【請求項 15】

さらに、前記第四セットの分子をシーケンシングするステップを含む、請求項1の方法。

【請求項 16】

前記複数のエンドヌクレアーゼはT7エンドヌクレアーゼIを含む、請求項1の方法。

【請求項 17】

前記複数のエンドヌクレアーゼは3つのエンドヌクレアーゼを含む、請求項1の方法。

【請求項 18】

前記複数のエンドヌクレアーゼはマングビーン(Mung Bean)エンドヌクレアーゼ、T7エンドヌクレアーゼI及びE.coliエンドヌクレアーゼVを含む、請求項17の方法。

【請求項 19】

前記ステップ(f)の反応はマンガンの存在下で実行される、請求項1の方法。

【請求項 20】

前記複数のエンドヌクレアーゼとの反応は、前記第二セットの分子を配列エラーの部位およびランダムにエラーがない(error-free)部位の両部位で切断する、請求項1の方法。