

【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5月26日 (2011.5.26)

【公表番号】特表2010-532979(P2010-532979A)

【公表日】平成22年10月21日 (2010.10.21)

【年通号数】公開・登録公報2010-042

【出願番号】特願2010-515427(P2010-515427)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/12 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 9/12

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

【手続補正書】

【提出日】平成23年4月6日 (2011.4.6)

【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】

下記式：

A-G-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-F-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-S-X<sub>6</sub>-X<sub>7</sub>-Q-X<sub>8</sub>-X<sub>9</sub>-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-L-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-X<sub>14</sub>-X<sub>15</sub> (配列番号33)

[式中、

X<sub>1</sub> は、Eであり、

X<sub>2</sub> は、Pであり、

X<sub>3</sub> は、Nであり、

X<sub>4</sub> は、Iであり、

X<sub>5</sub> は、Nであり、

X<sub>6</sub> は、Pであり、

X<sub>7</sub> は、Kであり、

X<sub>8</sub> は、Vであり、

X<sub>9</sub> は、Sであり、

X<sub>10</sub> は、Rであり、

X<sub>11</sub> は、Iであり、

X<sub>12</sub> は、Fであり、

X<sub>13</sub> は、Gであり、

X<sub>14</sub> は、Kであり、そして

X<sub>15</sub> は、Lである]

を含んで成る、他の同一のDNAポリメラーゼ（ここで $X_{13}$ はD又はEである）に対して、改良された核酸拡張速度を有するDNAポリメラーゼ。

【請求項 2】

前記ポリメラーゼが、キメラポリメラーゼを含んで成り、当該キメラポリメラーゼが、CS5 DNAポリメラーゼ（配列番号20）又はCS6 DNAポリメラーゼ（配列番号21）に対して少なくとも90%の配列同一性を有する、請求項 1 に記載のDNAポリメラーゼ。

【請求項 3】

前記キメラポリメラーゼが、  
配列番号20又は配列番号21、或いはG46E、L329A及びE678Gから成る群から選択される、  
配列番号20又は配列番号21に対して 1 又は複数のアミノ酸置換を含んで成り；そして  
配列番号20又は配列番号21に対してE558G変更を包含する、請求項 2 に記載のDNAポリメラーゼ。

【請求項 4】

請求項 1 に記載のDNAポリメラーゼをコードする組換え核酸。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の組換え核酸を含んで成る発現ベクターを含んで成る宿主細胞。

【請求項 6】

請求項 5 に記載の宿主細胞を、変異DNAポリメラーゼをコードする核酸の発現のために適切な条件下で培養することを含んで成る、DNAポリメラーゼの生成方法。

【請求項 7】

請求項 1 に記載のDNAポリメラーゼと、プライマー、ポリヌクレオチド鋳型及び遊離ヌクレオチドとを、前記プライマーの拡張のために適切な条件下で接触し、それにより、拡張されたプライマーを生成することを含んで成る、プライマー拡張を行うための方法。

【請求項 8】

前記ポリヌクレオチド鋳型がRNA又はDNAである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記遊離ヌクレオチドが、従来ではないヌクレオチドを含んで成り、その後者のヌクレオチドがリボヌクレオチド又はラベルされたヌクレオチドを含んで成る、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

前記DNAポリメラーゼと、プライマーと、前記ポリヌクレオチド鋳型及び前記遊離ヌクレオチドとを、前記ポリヌクレオチドの増幅のために適切な条件下で接触することを含んで成る、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 11】

請求項 1 に記載のDNAポリメラーゼを供給する少なくとも 1 つの容器、  
（a）プライマー拡張条件下で、予定されるポリヌクレオチド鋳型にハイブリダイズできるプライマーを供給する容器；  
（b）遊離ヌクレオチドを供給する容器；及び  
（c）プライマー拡張のために適切な緩衝液を供給する容器、  
から成る群から選択された 1 又は複数の追加の容器を含んで成る、拡張されたプライマーを生成するためのキット。