【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】令和4年9月14日(2022.9.14)

【国際公開番号】WO2020/053327
【公表番号】特表2022-500046(P2022-500046A)
【公表日】令和4年1月4日(2022.1.4)
【出願番号】特願2021-514033(P2021-514033)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ 15/54(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 9/12(2006.01)
Ｃ１２Ｑ 1/6844(2018.01)
Ｃ１２Ｑ 1/6876(2018.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ 15/54
Ｃ１２Ｎ 9/12 ＺＮＡ
Ｃ１２Ｑ 1/6844 Ｚ
Ｃ１２Ｑ 1/6876 Ｚ

【手続補正書】
【提出日】令和4年9月6日(2022.9.6)
【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】
配列番号１、配列番号４０、又は配列番号４２と少なくとも９０％の配列同一性を有し、かつ対照ＤＮＡポリメラーゼと比較して増大した５’－３’ストランド置換活性並びに実質的に低減した５’－３’エキソヌクレアーゼ及びエンドヌクレアーゼ活性を有するＤＮＡポリメラーゼであって、前記ＤＮＡポリメラーゼのアミノ酸配列が、１つ以上の変異又は変異の組合せを、配列番号１の下記の位置に対応する位置：
６８６、６９３、５１６、６３３、４１５、４２０、６３６、７５２、７６８、５２５、６９４、４９１、５１６、５１５、６６６、４０２、５５５、５８２、７３７、７５９、５２１、５４６、６６８、４５６、５０７、５７１、６５２、８３２、４９８、５２４、５９８、６１６、４４４、４９８、６６０、６７３、４９３、５１１、６４８、７４９及び６３５に含み、
前記１つ以上の変異の少なくとも１つが、Ｉ６８６Ｖ、Ａ６９３Ｖ、Ｔ５１６Ｉ、Ｖ６３３Ｉ、Ｅ４２０Ｄ、Ｅ６３６Ｇ、Ｖ７６８Ｍ、Ｒ５２５Ｇ、Ｆ６９４Ｓ、Ｑ４９１Ｈ、Ｔ５１６Ｓ、Ｓ５１５Ｆ、Ｔ６６６Ｍ、Ｅ４０２Ｖ、Ｖ５５５Ａ、Ｎ５８２Ｄ Ａ７３７Ｔ、Ａ７５９Ｔ、Ｌ５２１Ｑ、Ｔ５４６Ａ、Ｎ６６８Ｓ、Ａ４５６Ｔ、Ｋ５０７Ｍ、Ｔ５７１Ａ、Ｓ６５２Ｆ、Ｓ５１５Ｆ、Ａ８３２Ｖ、Ｄ４９８Ｅ、Ｌ５２４Ｖ、Ｒ５９８Ｇ、Ｍ６１６Ｉ、Ａ４４４Ｔ、Ｄ４９８Ｅ、Ｍ６６０Ｋ、Ｙ６７３Ｎ、Ｅ４９３Ｄ、Ｔ５１１Ｓ、Ｍ６４８Ｉ、Ｍ７４９Ｌ、及び／又はＱ６３５Ｋから選択され、かつ、
前記対照ＤＮＡポリメラーゼが、配列番号１、配列番号４０、又は配列番号４２のアミノ酸配列を含む、ＤＮＡポリメラーゼ。
【請求項２】
前記ＤＮＡポリメラーゼのアミノ酸配列が、単一の変異及び／又は変異の組合せを、
ｉ．Ｉ６８６Ｖ及びＡ６９３Ｖ、

ｉｉ．Ｔ５１６Ｉ及びＶ６３３Ｉ、
ｉｉｉ．Ｑ４１５Ｈ、Ｅ４２０Ｄ、Ｅ６３６Ｇ、Ｎ７５２Ｓ、及びＶ７６８Ｍ、
ｉｖ．Ｒ５２５Ｇ及びＦ６９４Ｓ、
ｖ．Ｑ４９１Ｈ及びＴ５１６Ｓ、
ｖｉ．Ｓ５１５Ｆ及びＴ６６６Ｍ、
ｖｉｉ．Ｅ４０２Ｖ、Ｖ５５５Ａ、及びＮ５８２Ｄ、
ｖｉｉｉ．Ａ７３７Ｔ及びＡ７５９Ｔ、
ｉｘ．Ｌ５２１Ｑ及びＴ５４６Ａ、
ｘ．Ｎ６６８Ｓ、
ｘｉ．Ａ４５６Ｔ、
ｘｉｉ．Ｋ５０７Ｍ、Ｔ５７１Ａ、及びＳ６５２Ｆ、
ｘｉｉｉ．Ｓ５１５Ｆ及びＡ８３２Ｖ、
ｘｉｖ．Ｄ４９８Ｅ、Ｌ５２４Ｖ、Ｒ５９８Ｇ及びＭ６１６Ｉ、
ｘｖ．Ａ４４４Ｔ、Ｄ４９８Ｅ、Ｍ６６０Ｋ及びＹ６７３Ｎ、
ｘｖｉ．Ｅ４９３Ｄ、Ｔ５１１Ｓ、Ｍ６４８Ｉ及びＭ７４９Ｌ、並びに／又は
ｘｖｉｉ．Ｑ６３５Ｋ
から選択される配列番号１の対応する位置に含む、請求項１に記載のＤＮＡポリメラーゼ。

【請求項３】
配列番号１又は配列番号４０と少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含む、請求項１又は２に記載のＤＮＡポリメラーゼ。

【請求項４】
前記増大した５’－３’ストランド置換活性並びに実質的に低減した５’－３’エキソヌクレアーゼ及びエンドヌクレアーゼ活性が、高温で出現する、請求項１から３のいずれか一項に記載のＤＮＡポリメラーゼ。

【請求項５】
配列番号１の５８０位に対応するアミノ酸が、Ｌ、Ｇ、Ｔ、Ｑ、Ａ、Ｓ、Ｎ、Ｒ及びＫからなる群から選択される、請求項１から４のいずれか一項に記載のＤＮＡポリメラーゼ。

【請求項６】
配列番号１の７０９位に対応するアミノ酸が、Ｉ以外の任意のアミノ酸である、請求項１から５のいずれか一項に記載のＤＮＡポリメラーゼ。

【請求項７】
配列番号１の７０９位に対応するアミノ酸が、Ｋ、Ｒ、Ｓ、Ｇ及びＡからなる群から選択される、請求項６に記載のＤＮＡポリメラーゼ。

【請求項８】
請求項１から７のいずれか一項に記載のＤＮＡポリメラーゼをコードする、組換え核酸。

【請求項９】
配列番号４１と少なくとも９０％同一の核酸配列を含む、請求項８に記載の組換え核酸。

【請求項１０】
プライマー伸長を行うための方法であって、
－請求項１から７のいずれか一項に記載のＤＮＡポリメラーゼを、プライマー、ポリヌクレオチド鋳型及びヌクレオシド三リン酸と、前記プライマーの伸長に好適な条件下で接触させ、それにより、伸長したプライマーを生成するステップを含む、方法。

【請求項１１】
前記プライマー伸長方法が、ストランド置換反応、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）、等温増幅、又は、ループ媒介増幅（ＬＡＭＰ）、クロスプライミング増幅（ＣＳＡ）及びポリメラーゼ鎖置換反応（ＰＣＤＲ）から選択される増幅反応を含む、請求項１０に記載

の方法。
【請求項１２】
前記条件が、高温を含む、請求項１０又は１１に記載の方法。
【請求項１３】
伸長したプライマーを生成するためのキットであって、
請求項１から７のいずれか一項に記載のＤＮＡポリメラーゼを提供する少なくとも１つの容器を含む、キット。
【請求項１４】
（ａ）プライマー伸長条件下で所定のポリヌクレオチド鋳型にハイブリダイズ可能なプライマーを提供する容器、
（ｂ）ヌクレオシド三リン酸を提供する容器、及び
（ｃ）プライマー伸長に好適な緩衝液を提供する容器からなる群から選択される１つ以上の更なる容器をさらに含む、請求項１３に記載のキット。
【請求項１５】
請求項１から７のいずれか一項に記載のＤＮＡポリメラーゼ、少なくとも１つのプライマー、ポリヌクレオチド鋳型、及びヌクレオシド三リン酸を含む、反応混合物。