

【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 3 年 6 月 10 日 (2021.6.10)

【公開番号】特開 2019-198236 (P2019-198236A)

【公開日】令和 1 年 11 月 21 日 (2019.11.21)

【年通号数】公開・登録公報 2019-047

【出願番号】特願 2018-93024 (P2018-93024)

【国際特許分類】

C 1 2 P 19/34 (2006.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 19/34 Z N A A

C 1 2 N 15/11 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 4 月 26 日 (2021.4.26)

【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】

二本鎖 DNA 合成方法であって、

(a) DNA を含む PCR 反応溶液を熱変性段階に供するステップと、

(b) 前記 PCR 反応溶液を、複数段階のアニーリング温度設定を含むアニーリング段階に供するステップと、

(c) 前記 PCR 反応溶液を伸長段階に供するステップと
を含み、

(a)、(b) および (c) のステップのサイクルを行うことで、目的の二本鎖 DNA 断片を取得する、

二本鎖 DNA 合成方法。

【請求項 2】

前記複数段階のアニーリング温度設定が、前記熱変性段階から前記複数段階のアニーリング温度設定の最後の段階までの温度勾配上に設定される、請求項 1 に記載の二本鎖 DNA 合成方法。

【請求項 3】

前記複数段階のアニーリング温度設定の各々が、所定の温度における所定の温度保持時間を有する、請求項 1 または 2 に記載の二本鎖 DNA 合成方法。

【請求項 4】

前記複数段階のアニーリング温度設定が、2 段階～20 段階である、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の二本鎖 DNA 合成方法。

【請求項 5】

前記複数段階のアニーリング温度設定が、60℃～85℃である温度設定の段階を含む、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の二本鎖 DNA 合成方法。

【請求項 6】

前記複数段階のアニーリング温度設定の各々が、60℃～85℃である、請求項 5 に記載の二本鎖 DNA 合成方法。

【請求項 7】

前記複数段階のアニーリング温度設定が、10秒以上2分以下である温度保持時間を有する温度設定の段階を含む、請求項1から6のいずれか1項に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項8】

前記複数段階のアニーリング温度設定の各々の温度保持時間が、10秒以上2分以下である、請求項7に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項9】

前記PCR反応溶液が、互いの末端部分に相補的に結合する領域を持つ一对の一本鎖オリゴDNAを含む、請求項1から8のいずれか1項に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項10】

前記PCR反応溶液が、オーバーラップ領域を有する複数のオーバーラップDNAを含む、請求項1から8のいずれか1項に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項11】

前記複数のオーバーラップDNAが二本鎖DNAを含む、請求項10に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項12】

前記オーバーラップ領域が10塩基～40塩基である、請求項10または11に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項13】

前記PCR反応溶液が、3～20種のオーバーラップDNAを含む、請求項10から12のいずれか1項に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項14】

前記オーバーラップDNAのサイズが100塩基～300塩基である、請求項10から13のいずれか1項に記載の二本鎖DNA合成方法。

【請求項15】

前記PCR反応溶液が、互いの末端部分に相補的に結合する領域を持つ一对の一本鎖オリゴDNAを含む、請求項1から8のいずれか1項に記載の二本鎖DNA合成方法であって、前記方法は、さらに

(a') 前記目的の二本鎖DNA断片を使用して、オーバーラップ領域を有する複数のオーバーラップDNAを含む第2のPCR反応溶液を調製するステップと、

(b') 前記第2のPCR反応溶液を熱変性段階に供するステップと、

(c') 前記第2のPCR反応溶液を、複数段階のアニーリング温度設定を含むアニーリング段階に供するステップと、

(d') 前記第2のPCR反応溶液を伸長段階に供するステップとを含み、

(b')、(c')および(d')のステップのサイクルを行うことで、第2の目的の二本鎖DNA断片を取得する、
二本鎖DNA合成方法。

【請求項16】

第1のPCR反応のプロセスおよび第2のPCR反応のプロセスを含む、二本鎖DNA合成方法であって、

前記第1のPCR反応のプロセスは、

(a) 互いの末端部分に相補的に結合する領域を持つ一对の一本鎖オリゴDNAを含む第1のPCR反応溶液を熱変性段階に供するステップと、

(b) 前記第1のPCR反応溶液を、複数段階のアニーリング温度設定を含むアニーリング段階に供するステップと、

(c) 前記第1のPCR反応溶液を伸長段階に供するステップとを含み、

(a)、(b)および(c)のステップのサイクルを行うことで、第1の目的の二本鎖DNA断片を取得し、

前記第 2 の P C R 反応のプロセスは、

(a ') 前記第 1 の目的の二本鎖 D N A 断片を使用して、オーバーラップ領域を有する複数のオーバーラップ D N A を含む第 2 の P C R 反応溶液を調製するステップと、

(b ') 前記第 2 の P C R 反応溶液を熱変性段階に供するステップと、

(c ') 前記第 2 の P C R 反応溶液を、複数段階のアニーリング温度設定を含むアニーリング段階に供するステップと、

(d ') 前記第 2 の P C R 反応溶液を伸長段階に供するステップと
を含み、

(b ') 、 (c ') および (d ') のステップのサイクルを行うことで、第 2 の目的の二本鎖 D N A 断片を取得する、

二本鎖 D N A 合成方法。

【請求項 1 7】

請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の二本鎖 D N A 合成方法を実行するプログラム。

【請求項 1 8】

請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の二本鎖 D N A 合成方法を実施するための装置であって、前記サイクルに従って P C R 反応溶液の温度を調整する手段を備え、必要に応じて請求項 1 7 に記載のプログラムが組み込まれている、装置。

【請求項 1 9】

請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の二本鎖 D N A 合成方法を実施するためのシステムであって、請求項 1 7 に記載のプログラムが組み込まれている、かつ／または請求項 1 8 に記載の装置を備える、システム。