

【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22年1月7日(2010.1.7)

【公表番号】特表2009-519705(P2009-519705A)

【公表日】平成21年5月21日(2009.5.21)

【年通号数】公開・登録公報2009-020

【出願番号】特願2008-540686(P2008-540686)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 27/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A Z

C 1 2 N 15/00 A

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 27/00 Z

【手続補正書】

【提出日】平成21年11月11日(2009.11.11)

【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】

個々のヌクレオチドを同定する方法であって、

(a) 該ヌクレオチドを膜貫通タンパク質細孔と接触させ、その結果、該ヌクレオチドが該細孔と相互作用する工程、および

(b) 該相互作用の間に該細孔を通過する電流を測定し、それによって該ヌクレオチドの実体を決定する工程

を含む、方法。

【請求項2】

相互作用が、ヌクレオチドが細孔のチャネルへ可逆的に結合することを伴う、請求項1記載の方法。

【請求項3】

前記細孔が、(a) 7つの同一の、配列番号2に示されるサブユニットから形成されている溶血素、または(b) 7つのサブユニットのうち1つ以上が、全配列にわたって、アミノ酸同一性に基づいて配列番号2に対して少なくとも50%の相同性を有し、かつ細孔活性を保持する、その変異体である、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

前記7つのサブユニットのうち1つ以上が(M113R)₇である、請求項3記載の方法。

【請求項5】

前記細孔が、前記ヌクレオチドと前記細孔との相互作用を促進する分子アダプターを含む、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

前記分子アダプターが、ヘプタキス-6-アミノ-β-シクロデキストリン(am₇-β-CD)である、請求項5記載の方法。

【請求項 7】

前記個々のヌクレオチドが、モノホスフェート、ジホスフェート、またはトリホスフェートである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

前記個々のヌクレオチドがリボヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチドである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

工程 (a) の前にリボ核酸 (RNA) 配列を消化し前記個々のヌクレオチドを提供する工程をさらに含む、請求項8記載の方法。

【請求項 10】

工程 (a) の前にデオキシリボ核酸 (DNA) 配列を消化し前記個々のヌクレオチドを提供する工程をさらに含む、請求項8記載の方法。

【請求項 11】

前記RNAまたはDNA配列の2つ以上の前記個々のヌクレオチドを、連続して、前記細孔と接触させ、その結果、該配列の全部または一部の実体が決定され得る、請求項9または10記載の方法。

【請求項 12】

標的核酸配列を配列決定する方法であって、

(a) プロセッシブエキソヌクレアーゼ (processive exonuclease) を使用して該標的配列の一方の末端から個々のヌクレオチドを消化する工程；

(b) 該ヌクレオチドを膜貫通タンパク質細孔と接触させ、その結果、該ヌクレオチドが該細孔と相互作用する工程；

(c) 該相互作用の間に該細孔を通過する電流を測定し、それによって該ヌクレオチドの実体を決定する工程；および

(d) 該核酸配列の同一の末端で工程 (a) ~ (c) を繰り返し、それによって該核酸の配列を決定する工程を含む、方法。

【請求項 13】

核酸を配列決定するためのキットであって、

- シクロデキストリン；および
 - プロセッシブエキソヌクレアーゼ
- を含む、キット。

【請求項 14】

貫通膜タンパク質細孔をさらに含む、請求項13記載のキット。