

【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17年6月2日(2005.6.2)

【公開番号】特開2004-275194(P2004-275194A)
 【公開日】平成16年10月7日(2004.10.7)
 【年通号数】公開・登録公報2004-039
 【出願番号】特願2004-198470(P2004-198470)
 【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 15/09
 C 0 7 K 14/00
 C 1 2 P 21/02

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A
 C 0 7 K 14/00
 C 1 2 P 21/02 C

【手続補正書】

【提出日】平成16年10月8日(2004.10.8)

【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】

(a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程とを含むことを特徴とする所望のタンパク質の選択方法。

【請求項2】

(a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程と、淘汰工程により選択された対応付け分子の遺伝子部分を増幅する増幅工程とを含み、増幅工程で得られたDNAを構築工程に供することにより、構築工程、淘汰工程及び増幅工程を繰り返し行うことを特徴とする所望のタンパク質の選択方法。

【請求項3】

(a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程

と、淘汰工程により選択された対応付け分子の遺伝子部分を増幅する増幅工程とを含むことを特徴とする所望のタンパク質をコードするDNAの取得方法。

【請求項4】

増幅工程で得られたDNAを構築工程に供することにより、構築工程、淘汰工程及び増幅工程を繰り返し行うことを特徴とする請求項3記載のDNAの取得方法。

【請求項5】

(a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程とを含むことを特徴とする所望のタンパク質をコードするRNAの選択方法。

【請求項6】

(a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程と、淘汰工程により選択された対応付け分子の遺伝子部分を増幅する増幅工程とを含み、増幅工程で得られたDNAを構築工程に供することにより、構築工程、淘汰工程及び増幅工程を繰り返し行うことを特徴とする所望のタンパク質をコードするRNAの選択方法。

【請求項7】

遺伝子を含むDNAが、さらに転写・翻訳開始配列、及び開始コドンを含む請求項1～6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

スパーサーが高分子物質からなる請求項1～7のいずれかに記載の方法。

【請求項9】

スパーサーの長さが、100～1000の範囲である請求項1～8のいずれかに記載の方法。

【請求項10】

スパーサーが核酸を含む請求項1～9のいずれかに記載の方法。

【請求項11】

核酸が、RNAもしくはDNAの一本鎖、RNAもしくはDNAとDNAとの二本鎖、RNAと短鎖のPNAもしくはDNAとの二本鎖、RNAとDNAとからなる一本鎖、または、RNAとDNAとからなる一本鎖と短鎖のDNAとの二本鎖である請求項10に記載の方法。

【請求項12】

スパーサーがポリエチレングリコールを含む請求項1～11のいずれかに記載の方法。

【請求項13】

ポリエチレングリコールの分子量が3000～30000である請求項12に記載の方法。

【請求項14】

スパーサーが、ポリエチレングリコールとDNAとからなる請求項12または13記載の方法。

【請求項15】

ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が、ピューロマイシン、3'-N-アミノアシルピューロマイシンアミノヌクレオシドまたは3'-N-アミノアシルアデノシンアミノヌクレオシドである請求項1～14のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物との連結が、共有結合によってなる請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

共有結合がアミド結合である請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

淘汰工程において選択される対応付け分子が、物質との相互作用を指標として選択されるものである請求項 1 ~ 17 のいずれかに記載の方法。

【請求項 19】

淘汰工程が、固相に結合した物質と構築工程で得られた対応付け分子との相互作用による複合体を分離する工程を含む請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

遺伝子が、抗体またはその部分の遺伝子である請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】

遺伝子が、酵素またはその部分の遺伝子である請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

【請求項 22】

遺伝子を含むDNAが、ランダム塩基配列からなる請求項 1 ~ 19のいずれかに記載の方法。

【請求項 23】

遺伝子を含むDNAが、異なる遺伝子を有する複数のDNAからなるライブラリーである請求項 1 ~ 22のいずれかに記載の方法。

【請求項 24】

遺伝子を有するRNAの3'末端に、高分子物質からなるスペーサーが結合した分子。

【請求項 25】

請求項 24 に記載の分子の3'末端側に、アミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が結合した分子。

【請求項 26】

ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が、ピューロマイシン、3'-N-アミノアシルピューロマイシンアミノヌクレオシドまたは3'-N-アミノアシルアデノシンアミノヌクレオシドである請求項 25 に記載の分子。

【請求項 27】

RNAが、さらに転写・翻訳開始配列、及び開始コドンを含む請求項 24 ~ 26のいずれかに記載の分子。

【請求項 28】

スペーサーの長さが、100 ~ 1000 の範囲である請求項 24 ~ 27のいずれかに記載の分子。

【請求項 29】

スペーサーが、核酸を含む請求項 24 ~ 28のいずれかに記載の分子。

【請求項 30】

核酸が、RNAもしくはDNAの一本鎖、RNAもしくはDNAとDNAとの二本鎖、RNAと短鎖のPNAもしくはDNAとの二本鎖、RNAとDNAとからなる一本鎖、または、RNAとDNAとからなる一本鎖と短鎖のDNAとの二本鎖である請求項 29に記載の分子。

【請求項 31】

スペーサーが、ポリエチレングリコールを含む請求項 24 ~ 30のいずれかに記載の分子。

【請求項 32】

スペーサーが、ポリエチレングリコールとDNAとからなる請求項 31に記載の分子。

【請求項 33】

ポリエチレングリコールの分子量が、3000 ~ 30000 である請求項 31または 32。

に記載の方法。

【請求項 3 4】

遺伝子が、抗体またはその部分の遺伝子である請求項 2 4 ~ 3 3 のいずれかに記載の分子。

【請求項 3 5】

遺伝子が、酵素またはその部分の遺伝子である請求項 2 4 ~ 3 3 のいずれかに記載の分子。

【請求項 3 6】

遺伝子が、ランダム塩基配列からなる請求項 2 4 ~ 3 3 のいずれかに記載の分子。

【請求項 3 7】

請求項 2 4 ~ 3 6 のいずれかに記載の分子であって、異なる遺伝子を有する複数の分子からなるライブラリー。

【請求項 3 8】

遺伝子型を反映する塩基配列を有する核酸部と、前記遺伝子型を反映する塩基配列がコードするタンパク質を含むタンパク質部とが直接共有結合している分子であって、核酸部が DNA を含む分子。

【請求項 3 9】

核酸部が、さらに転写・翻訳開始配列、及び開始コドンを含む請求項 3 8 に記載の分子。

【請求項 4 0】

核酸部に含まれる DNA が、DNA と RNA との二本鎖である請求項 3 8 または 3 9 に記載の分子。

【請求項 4 1】

核酸部に含まれる DNA が、DNA の一本鎖である請求項 3 8 または 3 9 に記載の分子。

【請求項 4 2】

核酸部に含まれる DNA が、DNA の二本鎖である請求項 3 8 または 3 9 に記載の分子。

【請求項 4 3】

核酸部に含まれる DNA が、RNA の逆転写反応によって生成されたものである請求項 3 8 ~ 4 2 のいずれかに記載の分子。

【請求項 4 4】

核酸部が、遺伝子型を反映する塩基配列の 3' 末端側に、スパーサーを介して、アミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が結合した分子である請求項 3 8 ~ 4 3 のいずれかに記載の分子。

【請求項 4 5】

ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が、ピューロマイシン、3'-N-アミノアシルピューロマイシンアミノヌクレオシドまたは3'-N-アミノアシルアデノシンアミノヌクレオシドである請求項 4 4 に記載の分子。

【請求項 4 6】

スパーサーが、高分子物質からなる請求項 4 4 または 4 5 に記載の分子。

【請求項 4 7】

スパーサーが、100 ~ 1000 の長さを有する請求項 4 4 ~ 4 6 のいずれかに記載の分子。

【請求項 4 8】

スパーサーが核酸を含む請求項 4 4 ~ 4 7 のいずれかに記載の分子。

【請求項 4 9】

核酸が、RNA もしくは DNA の一本鎖、RNA もしくは DNA と DNA との二本鎖、RNA と短鎖の PNA もしくは DNA との二本鎖、RNA と DNA とからなる一本鎖、または、RNA と DNA とからなる一本鎖と短鎖の DNA との二本鎖である請求項 4 8 に記載の分子。

【請求項 5 0】

スパーサーが、ポリエチレングリコールを含む請求項 4 4 ~ 4 9 のいずれかに記載の分子

。

【請求項 5 1】

スペーサーが、ポリエチレングリコールとDNAとからなる請求項 5 0 に記載の分子。

【請求項 5 2】

ポリエチレングリコールが、3000～30000の分子量を有する請求項 5 0 または 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

遺伝子が、抗体またはその部分の遺伝子である請求項 3 8 ～ 5 2 のいずれかに記載の分子。

。

【請求項 5 4】

遺伝子が、酵素またはその部分の遺伝子である請求項 3 8 ～ 5 2 のいずれかに記載の分子。

。

【請求項 5 5】

遺伝子が、ランダム塩基配列からなる請求項 3 8 ～ 5 2 のいずれかに記載の分子。

【請求項 5 6】

請求項 3 8 ～ 5 5 のいずれかに記載の分子であって、異なる遺伝子を有する複数の分子からなるライブラリー。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0024】

また、本発明の好ましい態様によれば、核酸部が、タンパク質をコードする遺伝子を含み、タンパク質部が該核酸部の遺伝子の翻訳産物である上記の対応付け分子が提供される。核酸部は、好ましくは、RNAからなる遺伝子と、前記遺伝子にスペーサーを介して連結したサプレッサー-tRNAとを含む。サプレッサー-tRNAは、好ましくは、前記遺伝子の終止コドンに対応するアンチコドンを含む。あるいは、核酸部は、RNAからなる遺伝子と、DNAとRNAまたはDNAとポリエチレングリコールからなるスペーサー部分とを含む。また、核酸部は、DNAからなる遺伝子とDNAとRNAからなるスペーサー部分とを含んでもよい。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0033

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0033】

さらに具体的には、以下のものが提供される。

(1) (a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスペーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程とを含むことを特徴とする所望のタンパク質の選択方法。

(2) (a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスペーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰す

る淘汰工程と、淘汰工程により選択された対応付け分子の遺伝子部分を増幅する増幅工程とを含み、増幅工程で得られたDNAを構築工程に供することにより、構築工程、淘汰工程及び増幅工程を繰り返し行うことを特徴とする所望のタンパク質の選択方法。

(3) (a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程と、淘汰工程により選択された対応付け分子の遺伝子部分を増幅する増幅工程とを含むことを特徴とする所望のタンパク質をコードするDNAの取得方法。

(4) 増幅工程で得られたDNAを構築工程に供することにより、構築工程、淘汰工程及び増幅工程を繰り返し行うことを特徴とする3記載のDNAの取得方法。

(5) (a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程とを含むことを特徴とする所望のタンパク質をコードするRNAの選択方法。

(6) (a) 遺伝子を含むDNAを作製し、(b) 作製したDNAを転写してRNAにし、(c) 得られたRNAの3'末端側にスパーサーを介してアミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質を連結し、(d) 得られた連結体をmRNAとして無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成を行い、遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物とを連結することを特徴とする対応付け分子の構築工程と、構築工程で得られた対応付け分子を淘汰する淘汰工程と、淘汰工程により選択された対応付け分子の遺伝子部分を増幅する増幅工程とを含み、増幅工程で得られたDNAを構築工程に供することにより、構築工程、淘汰工程及び増幅工程を繰り返し行うことを特徴とする所望のタンパク質をコードするRNAの選択方法。

(7) 遺伝子を含むDNAが、さらに転写・翻訳開始配列、及び開始コドンを含む1~6のいずれかに記載の方法。

(8) スパーサーが高分子物質からなる1~7のいずれかに記載の方法。

(9) スパーサーの長さが、100~1000の範囲である1~8のいずれかに記載の方法。

(10) スパーサーが核酸を含む1~9のいずれかに記載の方法。

(11) 核酸が、RNAもしくはDNAの一本鎖、RNAもしくはDNAとDNAとの二本鎖、RNAと短鎖のPNAもしくはDNAとの二本鎖、RNAとDNAとからなる一本鎖、または、RNAとDNAとからなる一本鎖と短鎖のDNAとの二本鎖である10に記載の方法。

(12) スパーサーがポリエチレングリコールを含む1~11のいずれかに記載の方法。

(13) ポリエチレングリコールの分子量が3000~30000である12に記載の方法。

(14) スパーサーが、ポリエチレングリコールとDNAとからなる9または13記載の方法。

(15) ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が、ピューロマイシン、3'-N-アミノアシルピューロマイシンアミノヌクレオシドまたは3'-N-アミノアシルアデノシンアミノヌクレオシドである1~14のいずれかに記載の方法。

(16) 遺伝子を含む核酸部と前記遺伝子の翻訳産物との連結が、共有結合によってなる1~15のいずれかに記載の方法。

(17) 共有結合がアミド結合である16に記載の方法。

(18) 淘汰工程において選択される対応付け分子が、物質との相互作用を指標として選択されるものである1~17のいずれかに記載の方法。

(19) 淘汰工程が、固相に結合した物質と構築工程で得られた対応付け分子との相互作用による複合体を分離する工程を含む18に記載の方法。

(20) 遺伝子が、抗体またはその部分の遺伝子である1~19のいずれかに記載の方法。

(21) 遺伝子が、酵素またはその部分の遺伝子である1~19のいずれかに記載の方法。

(22) 遺伝子を含むDNAが、ランダム塩基配列からなる1~19のいずれかに記載の方法。

(23) 遺伝子を含むDNAが、異なる遺伝子を有する複数のDNAからなるライブラリーである1~22のいずれかに記載の方法。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0034】

(24) 遺伝子を有するRNAの3'末端に、高分子物質からなるスペーサーが結合した分子。

(25) 24に記載の分子の3'末端側に、アミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が結合した分子。

(26) ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が、ピューロマイシン、3'-N-アミノアシルピューロマイシンアミノヌクレオシドまたは3'-N-アミノアシルアデノシンアミノヌクレオシドである25に記載の分子。

(27) RNAが、さらに転写・翻訳開始配列、及び開始コドンを含む24~26のいずれかに記載の分子。

(28) スペーサーの長さが、100~1000の範囲である24~27のいずれかに記載の分子。

(29) スペーサーが、核酸を含む24~28のいずれかに記載の分子。

(30) 核酸が、RNAもしくはDNAの一本鎖、RNAもしくはDNAとDNAとの二本鎖、RNAと短鎖のPNAもしくはDNAとの二本鎖、RNAとDNAとからなる一本鎖、または、RNAとDNAとからなる一本鎖と短鎖のDNAとの二本鎖である29に記載の分子。

(31) スペーサーが、ポリエチレングリコールを含む24~30のいずれかに記載の分子。

(32) スペーサーが、ポリエチレングリコールとDNAとからなる31に記載の分子。

(33) ポリエチレングリコールの分子量が、3000~30000である31または32に記載の方法。

(34) 遺伝子が、抗体またはその部分の遺伝子である24~33のいずれかに記載の分子。

(35) 遺伝子が、酵素またはその部分の遺伝子である24~33のいずれかに記載の分子。

(36) 遺伝子が、ランダム塩基配列からなる24~33のいずれかに記載の分子。

(37) 24~36のいずれかに記載の分子であって、異なる遺伝子を有する複数の分子からなるライブラリー。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0035】

(38) 遺伝子型を反映する塩基配列を有する核酸部と、前記遺伝子型を反映する塩基配列がコードするタンパク質を含むタンパク質部とが直接共有結合している分子であって、核酸部がDNAを含む分子。

(39) 核酸部が、さらに転写・翻訳開始配列、及び開始コドンを含む38に記載の分子。

(40) 核酸部に含まれるDNAが、DNAとRNAとの二本鎖である38または39に記載の分子。

(41) 核酸部に含まれるDNAが、DNAの一本鎖である38または39に記載の分子。

(42) 核酸部に含まれるDNAが、DNAの二本鎖である38または39に記載の分子。

(43) 核酸部に含まれるDNAが、RNAの逆転写反応によって生成されたものである38～42のいずれかに記載の分子。

(44) 核酸部が、遺伝子型を反映する塩基配列の3'末端側に、スパーサーを介して、アミノ酸またはアミノ酸に類似した化学構造骨格を有する物質と共有結合し得る、ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が結合した分子である38～43のいずれかに記載の分子。

(45) ヌクレオシドまたはヌクレオシドに類似した化学構造骨格を有する物質が、ピユーロマイシン、3'-N-アミノアシルピユーロマイシニアミノヌクレオシドまたは3'-N-アミノアシルアデノシニアミノヌクレオシドである44に記載の分子。

(46) スパーサーが、高分子物質からなる44または45に記載の分子。

(47) スパーサーが、100～1000の長さを有する44～46のいずれかに記載の分子。

(48) スパーサーが核酸を含む44～47のいずれかに記載の分子。

(49) 核酸が、RNAもしくはDNAの一本鎖、RNAもしくはDNAとDNAとの二本鎖、RNAと短鎖のPNAもしくはDNAとの二本鎖、RNAとDNAとからなる一本鎖、または、RNAとDNAとからなる一本鎖と短鎖のDNAとの二本鎖である48に記載の分子。

(50) スパーサーが、ポリエチレングリコールを含む44～49のいずれかに記載の分子。

(51) スパーサーが、ポリエチレングリコールとDNAとからなる50に記載の分子。

(52) ポリエチレングリコールが、3000～30000の分子量を有する50または51に記載の方法。

(53) 遺伝子が、抗体またはその部分の遺伝子である38～52のいずれかに記載の分子。

(54) 遺伝子が、酵素またはその部分の遺伝子である38～52のいずれかに記載の分子。

(55) 遺伝子が、ランダム塩基配列からなる38～52のいずれかに記載の分子。

(56) 38～55のいずれかに記載の分子であって、異なる遺伝子を有する複数の分子からなるライブラリー。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0049

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0049】

そこで、mRNA-sup tRNA (mRNAの3'側にスパーサーを介してsup tRNAを連結したもの) の3'末端にタンパク質を結合させる実験の前に、mRNAと切り離れたsup tRNAでもリボソ-

ムのアサイトに入り、タンパク質と結合するかどうかを調べてみた。実際に、sup tRNAの3'末端にピューロマイシンを結合させたsup tRNAを調製し、これを無細胞タンパク質合成系に投入し、sup tRNA部分がリボゾームのアサイトの終止コドンに対応して入り、タンパク質と結合するかどうか調べた。mRNAはタウ・タンパク質の4リピート領域(127残基)を用いた(Goedert, M. (1989) EMBO J. 8, 392-399)。その結果、無細胞タンパク質合成系で翻訳させるところ、3'末端にピューロマイシンをもつsup tRNAはリボゾームのアサイトの終止コドンに対応して入り、タンパク質と結合することが確認できた(第2図)。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0070

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0070】

この核酸部の連結体の構築においては、先ず、T7プロモーター領域から4リピート翻訳領域の終りまでの連結体の構築は、前記(1)部位指定的な方法の核酸部の連結体の構築のところ述べてきた方法に準ずるが、違うところは前記で構築した連結体を鋳型にしてPCRで増幅する際に、backwardのプライマーに4リピートのC末端の二つの終止コドン、オーカー(CTG)とアンバー(TAA)をそれぞれCAG(グルタミン)とAAA(リジン)に変え、終止コドンをなくするように設計したプライマーを用いることである。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0102

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0102】

2) このゲノムからT7プロモーター領域及びシャインダルガノ配列を含んだ4リピート部分をPCRによって増幅した。この際、プライマーとして、5'側は、Left+(配列番号1)と3'側はRight-(配列番号2)を使った。また、Right-の配列はオーカー終止コドンの前のロイシンをアンバー終止コドンに変異させるようになっている。PCR条件は、変性92 /30秒、アニーリング65 /30秒、伸長反応73 /1分で30回繰り返した。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0111

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0111】

(2) 部位非指定的に結合させるためのゲノムの作成

A. 変異4リピート部分のDNA及びRNAの作成

変異4リピート部分のDNAは、基本的に上記(1)のAと同一の方法で作成した。ただし、2つの終止コドンすなわちアンバーをグルタミン、オーカーをリジンに替えて終止コドンをなくし、また、3'末端をプリンリッチ(rich)にするために、新しいプライマーNew/Right-(配列番号10)を合成し、Left+とともに変性92 /30秒、アニーリング65 /30秒、伸長反応73 /1分で30回の条件でPCRによって増幅した。このDNAを鋳型として、T7ポリメラーゼを使い37、2時間反応させることによりRNAゲノムを得た。