

【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20年7月10日(2008.7.10)

【公表番号】特表2004-524804(P2004-524804A)

【公表日】平成16年8月19日(2004.8.19)

【年通号数】公開・登録公報2004-032

【出願番号】特願2001-585328(P2001-585328)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 1/21 (2006.01)

C 12 R 1/19 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 N 1/21

C 12 N 1/21

C 12 R 1:19

【手続補正書】

【提出日】平成20年5月16日(2008.5.16)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 a) 第一のプロモータと、

b) 第二のプロモータと、

を含むDNA構築物であって、

第一のプロモータ及び第二のプロモータは互いに対立して配位しており、

c) 第一のプロモータの3'末端下流及び第二のプロモータの3'末端下流に位置する

、インタープロモータ領域を定義し、

前記DNA構築物が、

d) インターパロモータ領域に位置する、少なくとも1つのクローニング部位と、

e) 第一のプロモータの3'末端側から見て、第一のプロモータの下流及び少なくとも1つのクローニング部位の下流に位置する、少なくとも1つの第一の転写ターミネータとを更に含み、

前記第一の転写ターミネータは、第一のプロモータに操作的に連結されており、かつ、インターパロモータ領域に位置している、前記DNA構築物。

【請求項2】 f) 第二のプロモータの3'末端側から見て、第二のプロモータの下流及び少なくとも1つのクローニング部位の下流に位置する、少なくとも1つの第二の転写ターミネータであって、第二のプロモータに操作的に連結されている前記第二の転写ターミネータを更に含む、請求項1に記載のDNA構築物。

【請求項3】 第二の転写ターミネータが、インターパロモータ領域に位置している、請求項2に記載のDNA構築物。

【請求項4】 第二の転写ターミネータが、第二のプロモータの3'末端側から見て第二のプロモータの下流、少なくとも1つのクローニング部位の下流、及び第一のプロモータの5'末端下流に位置している、請求項2又は3に記載のDNA構築物。

【請求項5】 第二の転写ターミネータの3'末端が、第一のプロモータの5'末端から、2000以下のヌクレオチド、好ましくは1000以下のヌクレオチド、より好ま

しくは 500 以下のヌクレオチド、更により好ましくは 200 以下のヌクレオチド、とりわけ好ましくは 100 以下のヌクレオチド、よりとりわけ好ましくは 50 以下のヌクレオチド、更によりとりわけ好ましくは 20 以下のヌクレオチド、特に好ましくは 10 以下のヌクレオチド、より特に好ましくは 6 以下のヌクレオチド、隔てられた、請求項 4 に記載の DNA 構築物。

【請求項 6】 第一の転写ターミネータが、第一のプロモータの 3' 末端側から見て、第一のプロモータの下流及び少なくとも 1 つのクローニング部位の下流に位置しており、第二の転写ターミネータが、第二のプロモータの 3' 末端側から見て、第二のプロモータの下流及び少なくとも 1 つのクローニング部位の下流に位置している、請求項 3 に記載の DNA 構築物。

【請求項 7】 第一のプロモータ及び第二のプロモータが、それぞれ独立に原核生物由来、真核生物由来、ファージ由来及びバクテリオファージ由来のプロモータからなる群より選択される、請求項 1 乃至 6 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 8】 第一のプロモータと第二のプロモータが同一である、請求項 1 乃至 7 のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 9】 第一のプロモータと第二のプロモータが同一でない、請求項 1 乃至 7 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 10】 第一のプロモータ及び第二のプロモータが、それぞれ独立に原核生物由来、真核生物由来、ファージ由来及びバクテリオファージ由来のプロモータからなる群より選択される、請求項 1 乃至 9 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 11】 クローニング部位が、少なくとも 1 つの制限部位を含む、請求項 1 乃至 10 のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 12】 クローニング部位が、スタッフター DNA 配列の側面に位置している少なくとも 2 つの制限部位を含む、請求項 11 に記載の DNA。

【請求項 13】 少なくとも 2 つの制限部位が同一である、請求項 12 に記載の DNA 構築物。

【請求項 14】 少なくとも 1 つの制限部位又は少なくとも 2 つの制限部位が、Bst XI 部位である、請求項 1 乃至 13 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 15】 制限部位が Xcm I 部位である、請求項 1 乃至 13 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 16】 クローニング部位が、attR1 及び attR2 組換え配列を更に含む、請求項 1 乃至 15 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 17】 クローニング部位が、ccdB ヌクレオチド配列を更に含む、請求項 1 乃至 16 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 18】 ccdB ヌクレオチド配列が、少なくとも 1 つのユニークな制限部位を更に含む、請求項 17 に記載の DNA 構築物。

【請求項 19】 少なくとも 1 つのユニークな制限部位が、平滑末端制限部位である、請求項 18 に記載の DNA 構築物。

【請求項 20】 平滑末端制限部位が Srf I 部位である、請求項 19 に記載の DNA 構築物。

【請求項 21】 少なくとも 1 つのクローニング部位に挿入された DNA 断片を更に含む、請求項 1 乃至 20 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 22】 2 本鎖 RNA 生成用テンプレートを形成するヌクレオチド配列を更に含む、請求項 1 乃至 21 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 23】 プラスミド又はベクターである、請求項 1 乃至 22 のいずれか一項に記載の DNA 構築物。

【請求項 24】 図 10、図 11、図 12、図 13、図 14 又は図 15 に例示されたヌクレオチド配列を有する、請求項 23 に記載のプラスミド又はベクター。

【請求項 25】 a) 第一のプロモータと、
b) 第二のプロモータと、

を含むDNA構築物であって、

第一のプロモータ及び第二のプロモータは互いに対立して配位しており、

c) 第一のプロモータの3'末端下流及び第二のプロモータの3'末端下流に位置している、インタープロモータ領域を定義し、

前記インターパロモータ領域が2本鎖RNA生成用テンプレートを形成するヌクレオチド配列を含み、

前記DNA構築物が、d)インターパロモータ領域に位置しており、かつ、第一のプロモータの3'末端側から見て、第一のプロモータの下流に位置する、第一の転写ターミネータ、を更に含み、

前記第一の転写ターミネータが第一のプロモータに操作的に連結されている、前記DNA構築物。

【請求項26】 g)インターパロモータ領域に位置しており、かつ、第二のプロモータの3'末端側から見て、第二のプロモータの下流に位置する、第二の転写ターミネータを更に含み、前記第二の転写ターミネータが第二のプロモータに操作的に連結されている、請求項25に記載のDNA構築物。

【請求項27】 第一のプロモータと第二のプロモータが同一である、請求項25又は26に記載の構築物。

【請求項28】 第一のプロモータと第二のプロモータが同一でない、請求項25又は26に記載のDNA構築物。

【請求項29】 第一のプロモータ及び第二のプロモータが、それぞれ独立に原核生物由来、真核生物由来、ファージ由来及びバクテリオファージ由来のプロモータからなる群より選択される、請求項27又は28に記載のDNA構築物。

【請求項30】 RNA阻害に対する2本鎖RNAの生産方法であって、クローニング部位に挿入されたDNA断片、又は、2本鎖RNA生成用テンプレートを形成するヌクレオチド配列から2本鎖RNAを発現させるために、請求項1乃至29のいずれか一項に記載のDNA構築物を使用することを含む、方法。

【請求項31】 請求項1乃至29のいずれか一項に記載のDNA構築物を宿している菌株。

【請求項32】 前記菌株が大腸菌株である、請求項31に記載の菌株。

【請求項33】 RNA阻害に対する2本鎖RNAの生産のための、請求項31又は32に記載の菌株の使用。

【請求項34】 生物におけるRNA発現の阻害方法であって、前記生物と、請求項1乃至29のいずれか一項に記載のDNA構築物を使用して生成した2本鎖RNAとを接触させることを含む、方法。

【請求項35】 前記生物が線虫である、請求項34に記載の方法。

【請求項36】 前記2本鎖RNAを前記生物に組み込まれるよう前記生物に供与することによって、前記生物と前記2本鎖RNAとを接触させる、請求項34又は35に記載の方法。

【請求項37】 生物におけるRNA発現の阻害方法であって、前記生物と、請求項31又は32に記載の菌株とを接触させることを含む、方法。

【請求項38】 前記生物が線虫である、請求項37に記載の方法。

【請求項39】 前記菌株を前記生物に供与することによって、前記生物と前記菌株とを接触させる、請求項37又は38に記載の方法。