

【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 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 R 1/19 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 1/21

C 1 2 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) インタープ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、
インタープ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、インタープ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、スタッファー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、BstXI部位である、請求項11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XcmI部位である、請求項11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、ccdBNuk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】 ccdBNuk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SrfI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、

前記インタープロモータ領域が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) インタープ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) インタープ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。