

【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 26 年 7 月 3 日 (2014.7.3)

【公表番号】特表 2013-526273 (P2013-526273A)
 【公表日】平成 25 年 6 月 24 日 (2013.6.24)
 【年通号数】公開・登録公報 2013-033
 【出願番号】特願 2013-510047 (P2013-510047)
 【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/48 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/48

C 1 2 Q 1/48 Z N A Z

C 1 2 N 9/10

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 26 年 5 月 13 日 (2014.5.13)

【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】

5' → 3' エキソヌクレアーゼ活性を有する DNA 依存性 DNA ポリメラーゼと、少なくとも 1 つの天然デオキシヌクレオシドを含むキットにおいて、前記少なくとも 1 つの天然デオキシヌクレオシドが、デオキシチミジンおよび / またはデオキシシチジンまたはこれらの混合物から選択されることを特徴とするキット。

【請求項 2】

DNA 依存性 DNA ポリメラーゼと、少なくとも 1 つの天然デオキシヌクレオシドと、
 鋳型 DNA 分子、DNA プライマー分子、および前記 DNA 依存性ポリメラーゼによって合成される ds DNA から置換されるかあるいは前記 ds DNA に結合されることが可能である蛍光部分を含む検出システムとを含むことを特徴とするキット。

【請求項 3】

請求項 2 に記載のキットにおいて、前記少なくとも 1 つの天然デオキシヌクレオシドが、
デオキシチミジンおよび / またはデオキシシチジンまたはこれらの混合物から選択されることを特徴とするキット。

【請求項 4】

請求項 1 または 2 に記載のキットにおいて、少なくとも、ホスホトランスフェラーゼをさらに含むことを特徴とするキット。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のキットにおいて、少なくとも 1 つの修飾デオキシヌクレオシドをさらに含むことを特徴とするキット。

【請求項 6】

請求項 5 に記載のキットにおいて、前記少なくとも 1 つの修飾デオキシヌクレオシドが、B r d U および / または I d U、またはこれらの混合物などの修飾チミジンおよび修飾シチジンから選択されることを特徴とするキット。

【請求項 7】

請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載のキットにおいて、前記蛍光部分が一本鎖 DNA プローブに結合されることを特徴とするキット。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のキットにおいて、前記蛍光部分および消光部分が、一本鎖 DNA プローブに結合されることを特徴とするキット。

【請求項 9】

請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載のキットにおいて、前記蛍光部分が、P i c o G r e e n、E v a d y e または S Y B R G r e e n I などの二本鎖 DNA 表面結合または挿入分子であることを特徴とするキット。

【請求項 10】

請求項 6 または 7 に記載のキットにおいて、前記一本鎖 DNA プローブがその無傷の形態である場合に、前記プローブに結合された前記蛍光部分が消光されることを特徴とするキット。

【請求項 11】

請求項 1 に記載のキットにおいて、前記 DNA 依存性 DNA ポリメラーゼが、T a q DNA ポリメラーゼまたは T t h ポリメラーゼを有することを特徴とするキット。

【請求項 12】

請求項 6 または 7 に記載のキットにおいて、前記一本鎖 DNA プローブに結合された前記蛍光部分が、その無傷の形態でその標的鋳型とハイブリッド形成した場合に最大蛍光を達成することを特徴とするキット。

【請求項 13】

サンプル中のデオキシヌクレオシドキナーゼ活性を測定するための方法において、

a . 容器中のサンプルを、DNA 依存性 DNA ポリメラーゼと、少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドと、少なくとも一のシチジル酸キナーゼ、d T M P キナーゼ、及びヌクレオシドニリン酸塩キナーゼと、鋳型 DNA 分子、DNA プライマー分子、および前記 DNA 依存性ポリメラーゼによって合成される d s DNA に取り込まれるか前記 d s DNA から置換されるかあるいは前記 d s DNA に結合されることが可能である蛍光部分を含む検出システムとを含む反応混合物と接触させるステップと、

b . 前記容器をインキュベートするステップと、

c . 前記蛍光部分からのシグナルを測定するステップと、

d . 前記蛍光部分からのシグナルを、前記サンプル中のデオキシヌクレオシドキナーゼ活性と関連付けるステップと
を特徴とする方法。

【請求項 14】

請求項 13 に記載の方法において、前記少なくとも 1 つのデオキシヌクレオシドが、天然もしくは修飾デオキシヌクレオシドまたはこれらの混合物であることを特徴とする方法。

【請求項 15】

請求項 13 または 14 に記載の方法において、前記少なくとも 1 つの天然デオキシヌクレオシドが、デオキシチミジンおよび / またはデオキシシチジンまたはこれらの混合物から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 16】

請求項 13 または 14 に記載の方法において、前記少なくとも 1 つの修飾デオキシヌクレオシドが、B r d U および / または I d U、またはこれらの混合物などの修飾チミジンおよび修飾シチジンから選択されることを特徴とする方法。

【請求項 17】

請求項 13 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法において、前記蛍光部分が一本鎖 DNA プローブに結合されることを特徴とする方法。

【請求項 18】

請求項 13 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法において、前記蛍光部分および消光部分が、一本鎖 DNA プローブに結合されることを特徴とする方法。

【請求項 19】

請求項 13 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法において、前記蛍光部分が、Pico Green、Eva dye または SYBR Green I などの二本鎖 DNA 表面結合または挿入分子であることを特徴とする方法。

【請求項 20】

請求項 13 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法において、前記一本鎖 DNA プローブがその無傷の形態である場合に、前記プローブに結合された前記蛍光部分が消光されることを特徴とする方法。

【請求項 21】

請求項 20 に記載の方法において、前記 DNA 依存性 DNA ポリメラーゼが、Taq DNA ポリメラーゼまたは Tth ポリメラーゼなどの 5' → 3' エキソヌクレアーゼ活性を有することを特徴とする方法。

【請求項 22】

請求項 17 または 18 に記載の方法において、前記一本鎖 DNA プローブに結合された前記蛍光部分が、その無傷の形態でその標的鋳型とハイブリッド形成した場合に最大蛍光を達成することを特徴とする方法。