

【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 18 年 1 月 5 日 (2006.1.5)

【公表番号】特表 2005-503802 (P2005-503802A)
 【公表日】平成 17 年 2 月 10 日 (2005.2.10)
 【年通号数】公開・登録公報 2005-006
 【出願番号】特願 2003-529974 (P2003-529974)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成 17 年 9 月 16 日 (2005.9.16)

【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】

核酸を増幅する方法であって、以下：

a) プライマーをテンプレートにアニーリングする工程であって、該プライマーは、該テンプレートにアニールする第 1 部分および該テンプレートにアニールしない所定の配列の第 2 部分を有する、工程；

b) 該プライマーの第 1 部分が該テンプレートにアニールする位置と該テンプレートの末端との間の該テンプレートの部分に相補的なポリヌクレオチドを合成する工程であって、該ポリヌクレオチドが、その第 1 末端および第 2 末端に該プライマーを有する、工程；

c) 該テンプレートから、工程 (b) において合成されたポリヌクレオチドを分離する工程；

d) 工程 (b) において合成された該ポリヌクレオチドの第 2 末端に、テンプレートオリゴヌクレオチドをアニーリングする工程であって、該テンプレートオリゴヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの第 2 末端にアニールする第 1 部分、および該プライマーの第 2 部分と同一な所定の配列を有する該第 2 部分を有する、工程；

e) 工程 (b) において合成された該ポリヌクレオチドを伸長させ、該所定の配列に相補的な該ポリヌクレオチドの終結部分を提供する工程；ならびに

f) 該所定の配列を有する単一プライマーを用いて、該伸長されたポリヌクレオチドを増幅させる工程、
 を包含する、方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法であって、前記テンプレートオリゴヌクレオチドをアニーリングする工程が、異なる配列を有するテンプレートオリゴヌクレオチドのコレクションを提供する工程、および工程 (b) において合成された前記ポリヌクレオチドとテンプレートオリゴヌクレオチドの該コレクションとを接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 3】

前記テンプレートが、前記プライマーにアニーリングする前に消化される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

工程 (b) において合成された前記ポリヌクレオチドが、前記テンプレートオリゴヌクレ

オチドにアニーリングされる前に消化される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

核酸を増幅する方法であって、以下：

a) プライマーおよび境界オリゴヌクレオチドをテンプレートにアニーリングする工程であって、該プライマーは、該テンプレートにアニールする第 1 部分および該テンプレートにアニールしない所定の配列の第 2 部分を有する、工程；

b) 該プライマーの第 1 部分が該テンプレートにアニールする位置と該境界オリゴヌクレオチドがアニールする該テンプレートの部分との間の該テンプレートの部分に相補的なポリヌクレオチドを合成する工程であって、該ポリヌクレオチドが、その第 1 末端および第 2 末端に該プライマーを有する、工程；

c) 該テンプレートから、工程 (b) において合成された該ポリヌクレオチドを分離する工程；

d) 工程 (b) において合成された該ポリヌクレオチドの第 2 末端に、テンプレートオリゴヌクレオチドをアニーリングする工程であって、該テンプレートオリゴヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの第 2 末端にアニールする第 1 部分、および該プライマーの第 2 部分と同一な所定の配列を有する第 2 部分を有する、工程；

e) 工程 (b) において合成された該ポリヌクレオチドを伸長させ、該所定の配列に相補的なそれらの終結部分を提供する工程；

f) 該所定の配列を有する単一プライマーを用いて、該伸長されたポリヌクレオチドを増幅させる工程、
を包含する、方法。

【請求項 6】

請求項 5 に記載の方法であって、前記テンプレートオリゴヌクレオチドをアニーリングする工程が、異なる配列を有するテンプレートオリゴヌクレオチドのコレクションを提供する工程、および工程 (b) において合成された前記ポリヌクレオチドとテンプレートオリゴヌクレオチドの該コレクションとを接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 7】

操作された核酸鎖であって、該核酸鎖の第 1 末端に所定の配列およびそのもう一方の末端に該所定の配列に相補的な配列を有する、核酸鎖。

【請求項 8】

核酸鎖を増幅する工程であって：

操作された核酸鎖を提供する工程であって、該核酸鎖は、該核酸鎖の第 1 末端に所定の配列およびそのもう一方の末端に該所定の配列に相補的な配列を有する、工程；

ヌクレオチドの重合化に適切な条件下で、ポリメラーゼおよびヌクレオチドの存在下において該所定の配列を有するプライマーと、該操作された核酸鎖とを接触させる工程、
を包含する、方法。

【請求項 9】

抗体ライブラリーをコードする核酸のコレクションを作製する方法であって、該方法は、以下：

a) テンプレートの多様な集団を提供する工程；

b) 該テンプレートの多様な集団と少なくとも 1 つのプライマーとを接触させる工程であって、該少なくとも 1 つプライマーは、該テンプレートにアニールする第 1 部分、および該テンプレートにアニールしない所定の配列の第 2 部分を有する、工程；

c) 該プライマーの第 1 部分が該テンプレートにアニールする位置と該テンプレートの末端との間の該テンプレートの部分に相補的なポリヌクレオチドを合成する工程であって、該ポリヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの第 1 末端および第 2 末端に該プライマーを有する、工程；

d) 該テンプレートから、工程 (c) において合成された該ポリヌクレオチドを分離する工程；

e) 工程 (c) において合成された該ポリヌクレオチドの第 2 末端に、少なくとも 1 つ

のテンプレートオリゴヌクレオチドをアニーリングする工程であって、該少なくとも1つのテンプレートオリゴヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの第2末端にアニールする第1部分、および該プライマーの該第2部分と同一な所定の配列を有する該第2部分を有する、工程；

f) 工程(c)において合成された該ポリヌクレオチドを伸長させ、該所定の配列に相補的なそれらの終結部分を提供する工程；ならびに

g) 該所定の配列を有する単一プライマーを用いて、該伸長されたポリヌクレオチドを増幅させる工程、
を包含する、方法。

【請求項10】

抗体ライブラリーを作製する方法であって、該方法は、以下：

a) テンプレートの多様な集団を提供する工程；

b) 該テンプレートの多様な集団と少なくとも1つのプライマーとを接触させる工程であって、該少なくとも1つプライマーは、該テンプレートにアニールする第1部分、および該テンプレートにアニールしない所定の配列の第2部分を有する、工程；

c) 該プライマーの第1部分が該テンプレートにアニールする位置と該テンプレートの末端との間の該テンプレートの部分に相補的なポリヌクレオチドを合成する工程であって、該ポリヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの第1末端および第2末端に該プライマーを有する、工程；

d) 該テンプレートから、工程(c)において合成された該ポリヌクレオチドを分離する工程；

e) 工程(c)において合成された該ポリヌクレオチドの第2末端に、少なくとも1つのテンプレートオリゴヌクレオチドをアニーリングする工程であって、該少なくとも1つのテンプレートオリゴヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの第2末端にアニールする第1部分、および該プライマーの該第2部分と同一な所定の配列を有する該第2部分を有する、工程；

f) 工程(c)において合成された該ポリヌクレオチドを伸長させ、該所定の配列に相補的なそれらの終結部分を提供する工程；

g) 該所定の配列を有する単一プライマーを用いて、該伸長されたポリヌクレオチドを増幅させて、増幅核酸ライブラリーを作製する、工程；ならびに

h) 該増幅核酸ライブラリーを使用して該抗体ライブラリーを発現する工程、
を包含する、方法。

【請求項11】

核酸に所定の配列を添加して、該核酸を該添加された所定の配列を用いて増幅する方法であって、該方法は、以下：

a) オリゴヌクレオチドをテンプレートにアニーリングして、制限エンドヌクレアーゼ認識部位を含む核酸の二本鎖部分を含む複合体を形成する工程；

b) 該複合体を、制限エンドヌクレアーゼ認識部位で該複合体を切断する制限エンドヌクレアーゼとともにインキュベートして、5'末端および3'末端を有する短縮テンプレートを生成する、工程；

c) プライマーを該短縮テンプレートにアニールする工程であって、該プライマーが、該短縮テンプレートにアニールする第1部分および該短縮テンプレートにアニールしない所定の配列の第2部分を有する、工程；

d) 該プライマーの第1部分が該短縮テンプレートにアニールする位置と該短縮テンプレートの5'末端との間の、該短縮テンプレートの部分に相補的なポリヌクレオチドを合成する工程であって、該ポリヌクレオチドが、i) その第1末端のプライマー、および i i) 該短縮テンプレートの5'末端に相補的な第2末端を含む、工程；

e) 該短縮テンプレートから、工程(d)において合成されたポリヌクレオチドを分離する工程；

f) 入れ子式オリゴヌクレオチドを、工程(d)において合成されたポリヌクレオチド

の第2末端にアニールする工程であって、該入れ子式オリゴヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの第2末端にアニールする第1部分および該プライマーの第2部分と同一の所定の配列を有する第2部分を有する、工程；

g) 工程(d)において合成されたポリヌクレオチドを伸長して、該所定の配列に相補的なその終結部分を含む伸長されたポリヌクレオチドを生成する、工程；

h) 該所定の配列を有する単一のプライマーを使用して、該伸長されたポリヌクレオチドを増幅する、工程、
を包含する、方法。

【請求項12】

請求項11に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、工程(d)において合成されるポリヌクレオチドの第2末端にアニールした後、DNAポリメラーゼによって、3'方向に伸長され得ない、方法。

【請求項13】

請求項12に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、DNAポリメラーゼによる前記3'末端の伸長を妨げる、その3'末端における1つ以上の改変塩基を含む、方法。

【請求項14】

請求項12に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、工程(d)において合成された前記ポリヌクレオチドにアニールしない3'末端を含む、方法。

【請求項15】

請求項11に記載の方法であって、工程(a)の前に、前記テンプレートを増幅する工程をさらに包含する、方法。

【請求項16】

請求項11に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、i) 相補性決定領域、ii) フレームワーク領域、およびiii) 定常領域からなる群より選択される抗体の一部をコードする、方法。

【請求項17】

所定の配列を核酸に添加し、そして該核酸を該添加された所定の配列で増幅する方法であって、該方法が、以下の工程：

a) プライマーをテンプレートにアニールする工程であって、該プライマーが、該テンプレートにアニールする第1部分および該テンプレートにアニールしない所定の配列の第2部分を有する、工程；

b) 該プライマーの第1部分が該テンプレートにアニールする位置と該テンプレートの5'末端との間の該テンプレートの部分に相補的なポリヌクレオチドを合成する工程であって、該ポリヌクレオチドが、i) その第1末端のプライマー、およびii) 該テンプレートの5'末端に相補的な第2末端を含む、工程；

c) 該テンプレートから、工程(b)において合成されたポリヌクレオチドを分離する工程；

d) オリゴヌクレオチドを工程(c)の分離されたポリヌクレオチドにアニールして、制限エンドヌクレアーゼ認識部位を含む核酸の二本鎖部分を含む複合体を形成する、工程；

e) 該複合体を、該制限エンドヌクレアーゼ認識部位で該複合体を切断する制限エンドヌクレアーゼとともにインキュベートして、5'末端および3'末端を有する短縮ポリヌクレオチドを生成する、工程；

f) 入れ子式オリゴヌクレオチドを該短縮ポリヌクレオチドの3'末端にアニールする工程であって、該入れ子式オリゴヌクレオチドが、該ポリヌクレオチドの3'末端にアニールする第1部分および該プライマーの第2部分と同一の所定の配列を有する第2部分を有する、工程；

g) 該短縮ポリヌクレオチドを伸長して、該所定の配列に相補的なその終結部分を含む伸長されたポリヌクレオチドを生成する、工程；

h) 該所定の配列を有する単一のプライマーを使用して、該伸長されたポリヌクレオチドを増幅する、工程、
を包含する、方法。

【請求項 18】

請求項 17 に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、工程 (e) において合成される前記短縮ポリヌクレオチドの 3' 末端にアニールした後、DNA ポリメラーゼによって、3' 方向に伸長され得ない、方法。

【請求項 19】

請求項 17 に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、DNA ポリメラーゼによる前記 3' 末端の伸長を妨げる、その 3' 末端における 1 つ以上の改変塩基を含む、方法。

【請求項 20】

請求項 17 に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、工程 (e) において合成された前記短縮ポリヌクレオチドにアニールしない 3' 末端を含む、方法。

【請求項 21】

請求項 17 に記載の方法であって、工程 (a) の前に、前記テンプレートを増幅する工程をさらに包含する、方法。

【請求項 22】

請求項 17 に記載の方法であって、前記入れ子式オリゴヌクレオチドが、i) 相補性決定領域、ii) フレームワーク領域、および iii) 定常領域からなる群より選択される抗体の一部をコードする、方法。