

【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22年4月8日 (2010.4.8)

【公表番号】特表2004-515245(P2004-515245A)

【公表日】平成16年5月27日 (2004.5.27)

【年通号数】公開・登録公報2004-020

【出願番号】特願2002-549720(P2002-549720)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/47 Z T D

C 0 7 K 19/00

C 1 2 P 21/02 C

【誤訳訂正書】

【提出日】平成22年2月8日 (2010.2.8)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 2 3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 2 3】

実施例 1 2

ファージライブラリ P h S P - D - l b 0 0 1 の構築

P h S P - D C T L D 挿入部分 (配列番号 6 1) 位置 7 4 から 7 6 又は 7 3 から 7 9 (ループ 1) 及び 1 0 0 から 1 0 4 又は 1 0 3 から 1 0 4 (ループ 4) に対応するランダムアミノ酸残基を含有するファージライブラリ P h S P - D - l b 0 0 1 は、S f i I 及び N o t I 制限 p P h S P - D ファージミド DNA (実施例 1 0 を参照のこと) 2 0 μ g を適切に無作為化したループ 1 及び 4 領域をコードする S f i I 及び N o t I 制限 DNA 断片集合体 1 0 μ g と連結することによって構築する。DNA 断片集合体は、3 個のループ 1 DNA 断片それぞれと 3 個のループ 4 DNA 断片それぞれを結合させた 9 個の組合せ反応物を鋳型として、オリゴヌクレオチド S f i - t a g 5 ' - C G G C T G A G C G G C C C A G C - 3 ' (配列番号 7 4) 及び N o t - t a g 5 ' - G C A C T C C T G C G G C C G C G - 3 ' (配列番号 7 5) をプライマーとして標準的方法を使用して増幅する。3 個のループ 1 断片のそれぞれは、p P h S P - D ファージミド DNA (実施例 1 0 を参照のこと) を鋳型として、オリゴヌクレオチド S p - d l o o p 1 a f o (配列番号 7 6)、S p - d l o o p 1 b f o (配列番号 7 7) 又は S p - d l o o p 1 c f o (配列番号 7 8) 及び S f i S P - D (配列番号 6 4) をプライマーとして 1 次 P C R 反応で増幅して、さらに S f i - t a g (配列番号 7 4) 及び S p - d l o o p 1 - t a g f o (配列番号 7 9) をプライマーとして使用した P C R 反応で増幅する。3 個の DNA ループ 4 断片は、p P h S P - D ファージミド DNA (実施例 1 0 を参照のこと) を鋳型として、オリゴヌクレオチド S p - d l o o p 4 a r e v (配列番号 8 1)、S p - d l o o p 4 b r e v (配列番号 8 2) 又は S p - d l o o p 4 c r e v (配列番号 8 3) 及び N o t S P - D (配列番号 6 5) をプライマーとして標準的方法を使用して 1 次 P C R 反応で増幅し、さらに S p - d l o o p 4 - t a g r e v (配列番号 8 0) 及

び N o t - t a g (配列番号 7 5) をプライマーとして使用した P C R 反応で増幅する。このオリゴヌクレオチド配列では、N はそれぞれヌクレオチド T、C、G、及び A それぞれ 2 5 % の混合物を表し、S は C 及び G 5 0 % の混合物を表し、適切に無作為化されたヌクレオチド配列をコードする。連結した混合物を使用していわゆるエレクトロコンピテン
トな E . c o l i T G - 1 細胞を標準的な方法を使用してエレクトロポレーションによって形質転換した。形質転換した後、E . c o l i T G - 1 細胞をアンピシリン 0 . 2 m g / m L 及び 2 % グルコースを含有する 2 × T Y - 寒天プレートに入れ、3 0 で一晩インキュベートした。