

【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29年6月22日(2017.6.22)

【公表番号】特表2016-526876(P2016-526876A)

【公表日】平成28年9月8日(2016.9.8)

【年通号数】公開・登録公報2016-054

【出願番号】特願2016-514422(P2016-514422)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2006.01)

B 82 Y 5/00 (2011.01)

C 12 M 1/00 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 Z

B 82 Y 5/00

C 12 M 1/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年5月9日(2017.5.9)

【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】

(a) 2本のストランドを有する標的核酸を準備するステップと、

(b) 加ビロリン酸分解によって前記2本のストランドのうち第1のストランドからヌクレオチドを順次除去する条件下で、前記標的核酸をポリメラーゼと接触させ、それによって、多様な相異なる塩基部分を有するヌクレオチド三リン酸を順次生成させるステップと、

(c) 前記順次生成したヌクレオチド三リン酸について、前記相異なる塩基部分を識別し、それによって、前記標的核酸の配列を決定するステップと  
を含み、

前記順次生成したヌクレオチド三リン酸について、前記相異なる塩基部分を識別する前記ステップが、前記ヌクレオチド三リン酸をナノポアに通過させるステップを含む、標的核酸の配列を決定する方法。

【請求項2】

前記ポリメラーゼが、前記ナノポアに連結されている、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

加ビロリン酸分解によって、前記2本のストランドのうち一方からヌクレオチドを順次除去するための前記条件が、前記ポリメラーゼを加ビロリン酸分解濃度のピロリン酸塩と接触させるステップを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

ピロリン酸塩を前記ポリメラーゼとの接触から除去することにより、前記ヌクレオチド三リン酸の順次生成を休止させて、次いで前記ポリメラーゼをピロリン酸塩と接触させることによって、ヌクレオチド三リン酸の順次生成を再開するステップをさらに含む、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記多様な相異なる塩基部分が、少なくとも2つの相異なる種の塩基部分および最大で

4つの異なる種の塩基部分を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

決定される配列が、4ヌクレオチドより長い、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記塩基部分が、天然のアデニン、グアニン、シトシン、またはチミンを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

前記塩基部分の少なくとも1つが、DNAまたはRNAでは非天然である部分を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

(a) 第1の流体リザーバーを第2の流体リザーバーから隔てる流体不透過性障壁と、

(b) 通路を形成するために前記流体不透過性障壁内に配置されるナノポアであって、これを通じてヌクレオチド三リン酸が、前記第1の流体リザーバーから前記第2の流体リザーバーに通過可能であるナノポアと、

(c) 前記第1の流体リザーバー内の反応混合物であって、ポリメラーゼ、2本のストランドを有する標的核酸、および加ピロリン酸分解濃度のピロリン酸塩を含む反応混合物と

を備える装置。

【請求項10】

前記ポリメラーゼが、前記ナノポアに連結されている、請求項9に記載の装置。

【請求項11】

前記流体不透過性障壁が、メンブレンを含み、

前記標的核酸のストランドが、前記メンブレンに連結されている、請求項9に記載の装置。

【請求項12】

前記標的核酸が、DNAまたはRNAでは非天然である少なくとも1つの塩基部分を含む、請求項11に記載の装置。

【請求項13】

前記ナノポアが、ソリッドステートナノポアを含む、請求項9に記載の装置。

【請求項14】

前記ポリメラーゼが、3' 5'エキソヌクレアーゼ活性を欠く、請求項9に記載の装置。