【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19年7月19日(2007.7.19)

【公表番号】特表2003-501069(P2003-501069A)
【公表日】平成15年1月14日(2003.1.14)
【出願番号】特願2001-501647(P2001-501647)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｐ　19/34　(2006.01)
Ｃ１２Ｍ　1/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｐ　19/34　Ａ
Ｃ１２Ｍ　1/00　Ａ
Ｃ１２Ｎ　15/00　ＺＮＡＡ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ

【手続補正書】
【提出日】平成19年5月31日(2007.5.31)
【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）　下記工程：
ａａ）　オリゴヌクレオチドの一端を固体マトリックスとカップリングさせる工程、ここで、該カップリングは修飾により実施され、該オリゴヌクレオチドは、その認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素の認識配列を含有する、
ａｂ）　認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素の認識配列を含有する少なくとも部分的に二本鎖の追加のオリゴヌクレオチドを付加する工程、ここで、該認識配列は工程ａａ）におけるものとは異なり、このオリゴヌクレオチドはマトリックスに結合することができない、
ａｃ）　工程ａａ）及びａｂ）からのオリゴヌクレオチドを、ライゲートさせない末端の遮断により決定された方向でライゲートさせる工程、
ａｄ）　未消費の反応物及び酵素を除去する工程、
ａｅ）　認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素により、工程ａｃ）のライゲーション産物を切断する工程、ここで、該切断は、工程ａｂ）のオリゴヌクレオチドの核酸配列に生じる、
ａｆ）　工程ａｅ）において得られるような工程ａａ）の伸長オリゴヌクレオチドから反応混合物を分離する工程、
ａｇ）　工程ａｂ）～ａｆ）を少なくとも１回反復する工程
により調製されるオリゴヌクレオチドを準備する工程、

ｂ）　下記工程：
ｂａ）　オリゴヌクレオチドの一端を、固体マトリックスとカップリングさせる工程、ここで、該カップリングは、修飾により実施され、該オリゴヌクレオチドは、認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素の認識配列を含有する、
ｂｂ）　少なくとも部分的に二本鎖であり認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素の

認識配列を有する追加のオリゴヌクレオチドを付加する工程、ここで、該認識配列は、工程ｂａ）のものとは異なり、該オリゴヌクレオチドはマトリックスと結合することができない、
ｂｃ）　工程ｂａ）及びｂｂ）のオリゴヌクレオチドを、ライゲートされない末端の遮断により決定された方向でライゲートさせる工程、
ｂｄ）　未消費の反応物及び酵素を除去する工程、
ｂｅ）　認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素により、工程ｂｃ）のライゲーション産物を切断する工程、ここで、切断は、工程ｂｂ）のオリゴヌクレオチドで生じる、
ｂｆ）　このようにして伸長した核酸分子を反応混合物から分離する工程、
ｂｇ）　工程ｂｂ）～ｂｆ）を少なくとも１回反復する工程、ここで、工程ｂｃ）における最後のライゲーション、並びに未消費の反応物及び酵素の除去の後、該ライゲーション産物をＩＩＳ型制限酵素により切断し、該切断は、工程ｂａ）のオリゴヌクレオチドに生じる、
により調製される付加的なオリゴヌクレオチドを準備する工程、

ｃ）　工程ａ）及びｂ）のオリゴヌクレオチドを、ライゲートされない末端の遮断により決定された方向でライゲートさせる工程、

ｄ）　未消費の反応物及び酵素を除去する工程、

ｅ）　認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素により、工程ｃ）からのライゲーション産物を切断する工程、ここで、切断は、工程ａ）又はｂ）のオリゴヌクレオチドに生じる、

ｆ）　このようにして伸長した核酸分子を反応混合物から分離する工程
を含む、核酸分子を作製するための方法。
【請求項２】
工程ａｂ）又はｂｂ）において使用されるオリゴヌクレオチドが、請求項１記載の方法により作製された核酸分子である、請求項１記載の方法。
【請求項３】
工程ａｃ）、ｂｃ）又はｃ）の後、工程ａｃ′）、ｂｃ′）又はｃ′）として、エキソヌクレアーゼ及び／又はホスファターゼ反応を実施する、請求項１又は２記載の方法。
【請求項４】
工程ａｃ′）、ｂｃ′）又はｃ′）の反応混合物を反応後に除去する、請求項３記載の方法。
【請求項５】
工程ａ）、ａａ）又はｂａ）のオリゴヌクレオチドが、マトリックスとカップリングしていない末端で、認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素の認識配列の一部を含有し、かつこの制限酵素の認識配列のその他の部分が工程ａｂ）、ｂｂ）又はｂ）のオリゴヌクレオチドに由来する、請求項１～３いずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
該修飾がビオチン基、ジゴキシゲニン基、フルオレセインイソチオシアネート基、アミノ化合物、又はスクシニルエステルである、請求項１～５のいずれか１項記載の方法。
【請求項７】
工程ａａ）、ｂａ）若しくはａ）及び／又はａｂ）、ｂｂ）若しくはｂ）からのオリゴヌクレオチドがループを含む、請求項１～６いずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
工程ａａ）、ｂａ）又はａ）からのオリゴヌクレオチドを、ループ領域における修飾によって固体マトリックスとカップリングさせる、請求項７記載の方法。
【請求項９】

固体マトリックスがビーズ、好ましくはガラス製又はポリスチレン製のビーズ、スライド、ＤＮＡチップ、マイクロタイタープレートのウェル、又は反応チューブである、請求項１～８いずれか１項に記載の方法。

【請求項１０】

固体マトリックスが、ストレプトアビジン基、抗ジゴキシゲニン抗体、又は抗フルオレセインイソチオシアネート抗体を含む、請求項１～９いずれか１項に記載の方法。

【請求項１１】

工程ａａ）、ｂａ）又はａ）、及び、ａｂ）、ｂｂ）又はｂ）のオリゴヌクレオチドが、ライゲートされる末端に、相互に相補的な一本鎖突出を有する、請求項１～１０いずれか１項に記載の方法。

【請求項１２】

一本鎖突出が１、２、３、４又は５ヌクレオチド長である、請求項１１記載の方法。

【請求項１３】

様々なＩＩＳ型制限エンドヌクレアーゼが、類似の様式で切断するリボザイムと交換される、請求項１～１２いずれか１項記載の方法。

【請求項１４】

工程ａｂ）、ｂｂ）又はｂ）におけるオリゴヌクレオチドが、ＰＣＲ産物、プラスミドベクター、ファージもしくはウイルスのＤＮＡ、人工染色体、又はその他の合成ＤＮＡである、請求項１～１３いずれか１項に記載の方法。

【請求項１５】

ａ）突出を有する４、１６、６４、２５６及び１０２４個の異なるオリゴヌクレオチドからなるライブラリー、ここで、該オリゴヌクレオチドはその突出の配列において相違し、該オリゴヌクレオチドは一端で修飾により固体マトリックスとカップリングすることができ、かつ該オリゴヌクレオチドは認識配列の外側を切断するＩＩＳ型制限酵素の認識配列又は認識配列の一部を含有する、

ｂ）突出を有する１６、２５６、４，０９６、６５，５３６又は１，０４８，５７６個の異なるオリゴヌクレオチドからなる付加的なライブラリー、ここで、該オリゴヌクレオチドは、その突出の配列及びその後に続く配列において相違し、長さで、該突出の長さに相当し、各オリゴヌクレオチドが認識配列の外側を切断しａ）の制限酵素と相違するＩＩＳ型制限酵素の認識配列を含有する、

ｃ）固体マトリックス、

ｄ）核酸分子を作製するために必要とされる酵素及び／又は試薬のための貯蔵器

を含む、請求項１～１４いずれか１項に記載の方法に従い、核酸配列を作製するためのキット、

ここで、該突出の長さが、１個のヌクレオチドであれば、ａ）のライブラリーは、４つの異なるオリゴヌクレオチドを含み、ｂ）のライブラーは、１６個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、

該突出の長さが、２個のヌクレオチドであれば、ａ）のライブラリーは、１６個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、ｂ）のライブラリーは、２５６個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、

該突出の長さが、３個のヌクレオチドであれば、ａ）のライブラリーは、６４個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、ｂ）のライブラリーは、４，０９６個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、

該突出の長さが、４個のヌクレオチドであれば、ａ）のライブラリーは、２５６個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、ｂ）のライブラリーは、６５，５３６個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、そして

該突出の長さが、５個のヌクレオチドであれば、ａ）のライブラリーは、１，０２４個の異なるオリゴヌクレオチドを含み、ｂ）のライブラリーは、１，０４８，５７６個の異なるオリゴヌクレオチドを含む。