

【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21年9月3日(2009.9.3)

【公表番号】特表2009-501530(P2009-501530A)

【公表日】平成21年1月22日(2009.1.22)

【年通号数】公開・登録公報2009-003

【出願番号】特願2008-521706(P2008-521706)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 9/10

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成21年7月15日(2009.7.15)

【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】

DNA 結合領域およびポリメラーゼ領域を含むキメラDNAポリメラーゼであって、前記DNA結合領域が配列番号2のアミノ酸位置13、16、40、41、45、55、56、61もしくは63、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する位置に1つ以上の変異を有する、キメラDNAポリメラーゼ。

【請求項 2】

前記1つ以上の変異が、E 1 3 Q、I 1 6 T、T 4 0 S、G 4 1 A、V 4 5 L、L 5 5 V、Q 5 6 D、Q 6 1 E、およびK 6 3 R、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する変異からなる群から選択される、請求項1に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項 3】

前記DNA結合領域が、S s h 7 b、R i b o P 3、S t o 7 e、S a c 7 d、S a c 7 eおよびS a c 7 aからなる群から選択される、請求項1に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項 4】

前記DNA結合領域が、配列番号8、9、10、12、14、および16からなる群から選択される、請求項3に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項 5】

DNA結合領域およびポリメラーゼ領域を含むキメラDNAポリメラーゼであって、前記DNA結合領域が配列番号2のアミノ酸位置40、41、もしくは45、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する位置に1つ以上の変異を有する、キメラDNAポリメラーゼ。

【請求項6】

前記1つ以上の変異が、T 4 0 S、G 4 1 A、およびV 4 5 L、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する変異からなる群から選択される、請求項5に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項7】

前記DNA結合領域が、S s h 7 b、R i b o P 3、S t o 7 e、S a c 7 d、S a c 7 e、およびS a c 7 aからなる群から選択される、請求項5に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項8】

前記DNA結合領域が、配列番号8、9、10、12、14、および16からなる群から選択される、請求項7に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項9】

DNA結合領域およびポリメラーゼ領域を含むキメラDNAポリメラーゼであって、前記DNA結合領域が配列番号2のアミノ酸位置40、41、45、55、61もしくは63、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する位置に1つ以上の変異を有する、キメラDNAポリメラーゼ。

【請求項10】

前記DNA結合領域変異が、T 4 0 S、G 4 1 A、V 4 5 L、L 5 5 V、Q 6 1 EもしくはK 6 3 R、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する変異からなる群から選択される、請求項9に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項11】

前記DNA結合領域が、S s h 7 b、R i b o P 3、S t o 7 e、S a c 7 d、S a c 7 e、およびS a c 7 aからなる群から選択される、請求項9に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項12】

前記DNA結合領域が、配列番号8、9、10、12、14、および16からなる群から選択される、請求項11に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項13】

DNA結合領域およびポリメラーゼ領域を含むキメラDNAポリメラーゼであって、前記DNA結合領域が配列番号2のアミノ酸位置13、16、40、45、55、56、および63、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する位置に変異を有する、キメラDNAポリメラーゼ。

【請求項14】

前記変異が、E 1 3 Q、I 1 6 T、T 4 0 S、V 4 5 L、L 5 5 V、Q 5 6 D、およびK 6 3 R、またはS s o 7 d様タンパク質中の対応する変異である、請求項13に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項15】

DNA結合領域およびポリメラーゼ領域を含むキメラDNAポリメラーゼであって、前記DNA結合領域が配列番号4のアミノ酸配列を含む、キメラDNAポリメラーゼ。

【請求項16】

前記DNA結合領域がS s h 7 b、R i b o P 3、S t o 7 e、S a c 7 d、S a c 7 e、およびS a c 7 aからなる群から選択される、請求項13に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項17】

前記DNA結合領域が配列番号8、9、10、12、14および16からなる群から選択される、請求項16に記載のキメラDNAポリメラーゼ。

【請求項 18】

DNA 結合領域およびポリメラーゼ領域を含むキメラ DNA ポリメラーゼであって、前記 DNA 結合領域が配列番号 2 のアミノ酸位置 13、16、40、41、45、55、56、61、および 63、または S s o 7 d 様タンパク質中の対応する位置に変異を有する、キメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 19】

前記ポリメラーゼ領域が古細菌 DNA ポリメラーゼを含む、請求項 1、5、9、13、15、または 18 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 20】

前記ポリメラーゼ領域が熱安定性ポリメラーゼ活性を有する、請求項 1、5、9、13、15、または 18 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 21】

前記ポリメラーゼ領域が P f u DNA ポリメラーゼを含む、請求項 1、5、9、13、15 または 18 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 22】

前記ポリメラーゼ領域が配列番号 18 のアミノ酸配列と少なくとも 95% は同一である、請求項 21 に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 23】

前記ポリメラーゼ領域が T a q DNA ポリメラーゼを含む、請求項 1、5、9、13、15 または 18 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 24】

配列番号 20 のアミノ酸配列を含む、キメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 25】

請求項 1、5、9、13、15 または 18、または 24 のいずれか一項に記載の DNA ポリメラーゼを含む組成物。

【請求項 26】

請求項 1、5、9、13、15 または 18、または 24 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼをコードする、単離された核酸。

【請求項 27】

請求項 26 に記載の核酸を含む、発現ベクター。

【請求項 28】

請求項 27 に記載のベクターで形質移入される、宿主細胞。

【請求項 29】

請求項 1、5、9、13、15 または 18、または 24 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ、およびそのための包装材料を含むキット。

【請求項 30】

a) 請求項 1、5、9、13、15 または 18、または 24 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼを提供するステップと、

b) 前記キメラ DNA ポリメラーゼを核酸鋳型に接触させることで、前記酵素の DNA 合成を可能にするステップと、

を含む、DNA を合成する方法。

【請求項 31】

前記ポリメラーゼ領域が変異ポリメラーゼを含む、請求項 1、5、9、13、15 または 18 のいずれか一項に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 32】

前記変異ポリメラーゼが、ウラシル検知活性の低下をもたらす V 9 3 R、V 9 3 E、V 9 3 D、V 9 3 K または V 9 3 N 変異を有する、請求項 31 に記載のキメラ DNA ポリメラーゼ。

【請求項 33】

前記変異ポリメラーゼが、3' - 5' エキソヌクレアーゼ活性低下をもたらす D 1 4 1

A および / または E 1 4 3 A 変異を有する、請求項 3 1 に記載のキメラ D N A ポリメラーゼ。