

【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25年3月14日(2013.3.14)

【公表番号】特表2012-516145(P2012-516145A)
 【公表日】平成24年7月19日(2012.7.19)
 【年通号数】公開・登録公報2012-028
 【出願番号】特願2011-546948(P2011-546948)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成25年1月28日(2013.1.28)

【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)(i)第1のハイブリダイズ可能な領域を含む少なくとも1つの第1のリンカーと、(ii)共有結合を形成することが可能な少なくとも1つの第1の基が共有結合する、第1の成分を準備することと；

(b)(i)前記第1のハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズ可能な第2のハイブリダイズ可能な領域を含む少なくとも1つの第2のリンカーと、(ii)前記第1の基と共有結合を形成することが可能な少なくとも1つの第2の基が共有結合する、第2の成分を準備することと；

(c)前記第1および第2のハイブリダイズ可能な領域が前記成分とハイブリダイズし、前記成分を連結することを可能にする条件下で、前記第1および第2の成分を接触させることと；及び、

(d)前記連結した成分を、前記第1および第2の基の間で共有結合の形成が可能となる条件に曝露すること；

を含む、2つ以上の成分を共有結合させる方法。

【請求項2】

(a)(i)前記少なくとも1つの第1の基が、前記第1の成分と直接的に共有結合しているか、または、別のリンカーを介して前記第1の成分と結合しており；かつ/または、

(ii)前記少なくとも1つの第2の基が、第2の成分と直接的に共有結合しているか、または、別のリンカーを介して第2の成分と結合しているか、又は、

(b)前記少なくとも1つの第1の基が、前記第1のリンカーを介して前記第1の成分と共有結合しており、かつ/または、前記少なくとも1つの第2の基が、前記第2のリンカーを介して前記第2の成分と共有結合している請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記第1の成分は、2、3または4つの第1のリンカーが、そこに共有結合し、かつ、前記第2の成分は、対応する数の第2のリンカーが、そこに結合し、前記リンカーは、第1および第2のリンカーの1つ以上の対を形成し、各対におけるハイブリダイズ可能な領域は、互いに特異的にハイブリダイズするが、その他の対におけるハイブリダイズ可能な領域のいずれともハイブリダイズしない、請求項1又は2に記載の方法であって、適宜、(a)(i)第1のハイブリダイズ可能な領域を含む第1のリンカー、(ii)共有結合

を形成することが可能な第1の基、(i i i) 第3のハイブリダイズ可能な領域を含む第3のリンカー、および(i v) 共有結合を形成することが可能な第3の基が共有結合する、第1の成分を準備することと；

(b) (i) 第1のハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズ可能な第2のハイブリダイズ可能な領域を含む第2のリンカー、(i i) 第1の基と共有結合を形成することが可能な第2の基、(i i i) 第3のハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズ可能な第4のハイブリダイズ可能な領域を含む第4のリンカー、および(i v) 第3の基と共有結合を形成することが可能な第4の基が共有結合する、第2の成分を準備することと；

(c) 前記第1および第2のハイブリダイズ可能な領域がハイブリダイズし、かつ、前記第3および第4のハイブリダイズ可能な領域がハイブリダイズして、前記成分を連結することが可能な条件下で、前記第1および第2の成分を接触させることと；及び、

(d) 前記連結した成分を、前記第1および第2の基と前記第3および第4の基との間で共有結合の形成が可能となる条件に曝露すること；

を含む、前記方法。

【請求項4】

前記第1の成分は、(i) 第1のハイブリダイズ可能な領域を含む第1のリンカー、(i i) 共有結合を形成することが可能な第1の基、(i i i) 第3のハイブリダイズ可能な領域を含む第3のリンカー、および(i v) 共有結合を形成することが可能な第3の基が共有結合し、かつ、前記第2の成分は、(i) 前記第1のハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズすることができる第2のハイブリダイズ可能な領域と、前記第3のハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズすることができる第4のハイブリダイズ可能な領域とを含む、第2のリンカー、(i i) 前記第1の基と共有結合を形成することが可能な第2の基、および(i i i) 前記第3の基と共有結合を形成することが可能な第4の基が共有結合する、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項5】

各成分が、(i) 異なる成分におけるリンカーのハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズすることができるハイブリダイズ可能な領域を含む少なくとも1つのリンカー、および(i i) 異なる成分における基と共有結合を形成することが可能な少なくとも1つの共有結合基が共有結合する、3、4または5つの成分を結合させることを含む、請求項1に記載の方法であって、適宜、

(a) (i) 第1のハイブリダイズ可能な領域を含む第1のリンカー、および(i i) 共有結合を形成することが可能な第1の基が共有結合する、第1の成分を準備することと；

(b) (i) 前記第1のハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズすることができる第2のハイブリダイズ可能な領域を含む第2のリンカー、(i i) 前記第1の基と共有結合を形成することが可能な第2の基、(i i i) 第3のハイブリダイズ可能な領域を含む第3のリンカー、および(i v) 共有結合を形成することが可能な第3の基が共有結合する、第2の成分を準備することと；

(c) (i) 前記第3のハイブリダイズ可能な領域とハイブリダイズすることができる第4のハイブリダイズ可能な領域を含む第4のリンカー、および(i i) 前記第3の基と共有結合を形成することが可能な第4の基が共有結合する、第3の成分を準備することと；

(d) 前記第1、第2および第3の成分を、前記ハイブリダイズ可能な領域が前記成分とハイブリダイズし、連結させることが可能な条件下で、接触させることと；及び、

(e) 前記連結した成分を、前記基の間で共有結合の形成が可能となる条件に曝露すること；

を含む、前記方法。

【請求項6】

前記基が、前記1つ以上のハイブリダイズ可能な領域を含むリンカーを介して、それぞれの各成分と共有結合する、請求項3～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記基のいずれも、それら自体とは反応しない、請求項1～6のいずれか一項に記載の

方法。

【請求項 8】

- (a) 前記第 1 の成分および / または前記第 2 の成分が、ポリペプチド、タンパク質、核酸、化学基、色素、アフィニータグ、ポリマー、ビーズ、抗体、支持体、固定化金属アフィニティマトリックス、グルタチオンセファロース、デキストリンセファロース、アフィニティマトリックス、IgGセファロース、活性化チオール-セファロース、金属フィルム、ナノ粒子、ガラス、処理ガラス、プラスチック、樹脂表面、固体ナノ細孔、センサー表面および単一分子検出器であるか；
- (b) 前記第 1 の成分が、タンパク質であり、前記第 2 の成分が、タンパク質、核酸、レポーター基、アフィニータグまたは支持体であるか；
- (c) 前記第 1 の成分が、核酸結合タンパク質であり、前記第 2 の成分が、膜貫通タンパク質細孔であるか；
- (d) 前記第 1 の成分が、核酸結合タンパク質であり、前記核酸結合タンパク質が、エキソヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ、ポリメラーゼ、ヘリカーゼまたはトポイソメラーゼから得られるか；
- (e) 前記第 1 の成分がエキソヌクレアーゼから得られる核酸結合タンパク質であり、前記エキソヌクレアーゼが、配列番号 6 またはその変異体のいずれかに示される配列を含むか；
- (f) 前記第 1 の成分がエキソヌクレアーゼから得られる核酸結合タンパク質であり、前記エキソヌクレアーゼが、配列番号 6、52、54 および 56、または、その変異体のいずれかに示される配列を含むか；
- (g) 前記第 1 の成分が、膜貫通タンパク質細孔であり、該膜貫通タンパク質細孔が -ヘモリジン(-HL) であるか；
- (h) 前記第 1 の成分が、 -ヘモリジンであり、該細孔が配列番号 2 または 4 またはその変異体のいずれかに示される配列を含むか；
- (i) 前記第 1 の成分が核酸結合タンパク質であり、前記第 2 の成分が膜貫通タンパク質細孔であり、それぞれの成分から 0.05 nm ~ 10 nm の距離にあるか；又は
- (j) 前記第 1 の成分が核酸結合タンパク質であり、前記第 2 の成分が膜貫通タンパク質細孔であり、前記結合した第 1 の成分と第 2 の成分との間の距離が、0.1 nm ~ 500 nm である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 および第 2 のハイブリダイズ可能な領域が核酸を含み、且つ、適宜、前記核酸が、6 ~ 15 ヌクレオチド長である、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

- (a) 前記第 1 および第 2 のハイブリダイズ可能な領域が、1 pM ~ 1 mM の濃度で、0.1 fM ~ 0.1 μM の親和性を有するか；
- (b) 前記第 1 のハイブリダイズ可能な領域が、配列番号 57 の 5' 末端から初めの 15、25 または 35 ヌクレオチドに相当するか、及び / または、
- (c) 前記第 1 および第 2 のハイブリダイズ可能な領域が、それぞれ、以下の配列：
- (i) 配列番号 58 および 61 に示されるヌクレオチド配列；
 - (ii) 配列番号 59 および 62 に示されるヌクレオチド配列；
 - (iii) 配列番号 60 および 63 に示されるヌクレオチド配列；
 - (iv) 配列番号 64 および 65 に示されるヌクレオチド配列；
 - (v) 配列番号 66 および 68 に示されるヌクレオチド配列；
 - (vi) 配列番号 67 および 69 に示されるヌクレオチド配列；
 - (vii) 配列番号 70 および 73 に示されるヌクレオチド配列；
 - (viii) 配列番号 71 および 74 に示されるヌクレオチド配列；
 - (ix) 配列番号 72 および 75 に示されるヌクレオチド配列；
 - (x) 配列番号 76 および 77 に示されるヌクレオチド配列；又は、
 - (xi) 配列番号 78 および 67 に示されるヌクレオチド配列；

を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記第 1 および第 2 の基が、

(a) クリック化学により共有結合を形成し、適宜、前記第 1 の基が、アジド基であり、前記第 2 の基が、アルキン基であるか；又は、

(b) 前記第 1 および第 2 の基が、ジスルフィド結合、ヨードアセトアミド結合、またはメタセシス反応を介した結合を形成する、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法を用いて結合した第 1 および第 2 の成分。

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の第 1 および第 2 のリンカーを用いて、第 2 の成分と結合した第 1 の成分。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の第 1 および第 2 のリンカーの対。

【請求項 1 5】

第 1 の成分を第 2 の成分と結合させるための、請求項 1 4 に記載の一对のリンカーの使用。