

【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】令和2年7月27日(2020.7.27)

【公表番号】特表2019-517799(P2019-517799A)

【公表日】令和1年6月27日(2019.6.27)

【年通号数】公開・登録公報2019-025

【出願番号】特願2018-564828(P2018-564828)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/54	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	15/10	(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)
C 1 2 N	9/12	(2006.01)
C 1 2 P	19/34	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/54	
C 1 2 N	15/63	Z N A Z
C 1 2 N	15/10	2 0 0 Z
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	9/12	
C 1 2 P	19/34	A
C 1 2 N	15/10	Z
C 1 2 P	21/02	C

【手続補正書】

【提出日】令和2年6月11日(2020.6.11)

【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】

鋳型鎖を用いずに核酸分子を合成することができるpolXファミリーDNAポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアントであって、前記バリアントが、E 4 5 7の位置における残基または機能的に同等な残基の少なくとも1つの置換を含み、前記置換はE 4 5 7 G / N / S / Tから選択され、示された位置は配列番号1とのアライメントにより決定され、前記バリアントは配列番号1と少なくとも70%の同一性を有する、バリアント。

【請求項2】

前記バリアントが、T 3 3 1、G 3 3 2、G 3 3 3、F 3 3 4、R 3 3 6、K 3 3 8、H 3 4 2、D 3 4 3、V 3 4 4、D 3 4 5、F 3 4 6、A 3 9 7、D 3 9 9、D 4 3 4、

V 4 3 6、A 4 4 6、L 4 4 7、L 4 4 8、G 4 4 9、W 4 5 0、G 4 5 2、R 4 5 4、
 Q 4 5 5、F 4 5 6、R 4 5 8、R 4 6 1、N 4 7 4、E 4 9 1、D 5 0 1、Y 5 0 2、
 I 5 0 3、P 5 0 5、R 5 0 8、N 5 0 9、および A 5 1 0 からなる群より選択される少
 なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の少なくとも 1 つの変異をさ
 らに含み、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、請求項 1 に
 記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断
 片のバリエント。

【請求項 3】

DNA 鎖および / または RNA 鎖を合成することができる、請求項 1 または 2 に記載の
 p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバ
 リエント。

【請求項 4】

P o l I V、P o l μ、または末端デオキシリボヌクレオチジルトランスフェラ
 ゼ (T d T) のバリエントである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の p o l X ファミ
 リー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリエント。

【請求項 5】

前記バリエントが配列番号 1 の配列と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9
 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % の同一性を有する、請求項 1 ~ 4 の一項に記載の p o l X
 ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリエント
 。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つのさらなる変異が、1 つまたは複数のアミノ酸残基の置換、欠失、
 または付加からなる、請求項 2 ~ 5 の一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラ
 ゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリエント。

【請求項 7】

前記バリエントが、R 3 3 6 および R 4 5 4 からなる群より選択される少なくとも 1 つ
 の位置における残基または機能的に同等な残基の少なくとも 1 つの変異を含み、示された
 位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、請求項 1 ~ 6 の一項に記載の p
 o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリ
 エント。

【請求項 8】

前記 3 つの位置 R 3 3 6、R 4 5 4、および E 4 5 7 における残基または機能的に同等
 な残基の少なくとも 1 つの変異を含み、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントに
 より決定される、請求項 1 ~ 7 の一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼま
 たはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリエント。

【請求項 9】

配列

(i) X₁ X₂ G G F R₁ R₂ G K X₃ X₄ (配列番号 4)

(式中、

X₁ は、M、I、V、L から選択される残基を表し、

X₂ は、T、A、M、Q から選択される残基を表し、

X₃ は、M、K、E、Q、L、S、P、R、D から選択される残基を表し、

X₄ は、T、I、M、F、K、V、Y、E、Q、H、S、R、D から選択される残基を表す)、

(i i) X₁ X₂ L G X₃ X₄ G S R₁ X₅ X₆ E R₂ (配列番号 5)

(式中、

X₁ は、A、C、G、S から選択される残基を表し、

X₂ は、L、T、R から選択される残基を表し、

X₃ は、W、Y から選択される残基を表し、

X₄ は、T、S、I から選択される残基を表し、

X_5 は、 Q、 L、 H、 F、 Y、 N、 E、 D、 または X_6 から選択される残基を表し、
 X_6 は、 F、 Y から選択される残基を表す)、

(i i i) L X_1 Y X_2 X_3 P X_4 X_5 R N A (配列番号 6)

(X_1 は、 D、 E、 S、 P、 A、 K から選択される残基を表し、

X_2 は、 I、 L、 M、 V、 A、 T から選択される残基を表し、

X_3 は、 E、 Q、 P、 Y、 L、 K、 G、 N から選択される残基を表し、

X_4 は、 W、 S、 V、 E、 R、 Q、 T、 C、 K、 H から選択される残基を表し、

X_5 は、 E、 Q、 D、 H、 L から選択される残基を表す)

の少なくとも 1 つの半保存領域における残基の少なくとも 1 つの変異を有する、請求項 1 ~ 8 の一項に記載の p o l X ファミリー D N A ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアント。

【請求項 1 0】

- 配列番号 4 の配列の前記半保存領域の少なくとも 1 つの位置 R_1 、 R_2 、 および / または K における残基の少なくとも 1 つの置換、ならびに / または

- 配列番号 5 の配列の前記半保存領域の少なくとも 1 つの位置 S、 R_1 、 および / または E における残基の少なくとも 1 つの置換、ならびに / または

- 配列番号 6 の配列の前記半保存領域の X 1 位における残基の欠失ならびに / または R 位および / もしくは N 位における少なくとも 1 つの置換

を有する、請求項 9 に記載の p o l X ファミリー D N A ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアント。

【請求項 1 1】

前記バリアントが、 R 3 3 6、 K 3 3 8、 H 3 4 2、 A 3 9 7、 S 4 5 3、 R 4 5 4、 R 4 6 1、 N 4 7 4、 D 5 0 1、 Y 5 0 2、 I 5 0 3、 R 5 0 8、 および N 5 0 9 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の置換、優先的には、 R 3 3 6、 A 3 9 7、 R 4 5 4、 R 4 6 1、 N 4 7 4、 D 5 0 1、 Y 5 0 2、 および I 5 0 3 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の置換を含み、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、請求項 1 ~ 1 0 の一項に記載の p o l X ファミリー D N A ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアント。

【請求項 1 2】

R 3 3 6 位、 K 3 3 8 位、 H 3 4 2 位、 A 3 9 7 位、 S 4 5 3 位、 R 4 5 4 位、 R 4 6 1 位、 N 4 7 4 位、 D 5 0 1 位、 Y 5 0 2 位、 I 5 0 3 位、 R 5 0 8 位、 および N 5 0 9 位における前記置換が、 R 3 3 6 K / H / N / G / D、 K 3 3 8 A / C / G / S / T / N、 H 3 4 2 A / C / G / S / T . N、 A 3 9 7 R / H / K / D / E、 S 4 5 3 A / C / G / S / T、 R 4 5 4 F / Y / W / A、 N 4 7 4 S / T / N / Q、 D 5 0 1 A / G / X、 Y 5 0 2 A / G / X、 I 5 0 3 A / G / X、 R 5 0 8 A / C / G / S / T、 N 5 0 9 A / C / G / S / T からなる群より選択される、請求項 1 1 に記載の p o l X ファミリー D N A ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアント。

【請求項 1 3】

前記バリアントが、表 1 に列挙される置換、欠失、置換および / または欠失の組合せを含むかまたは有し、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、請求項 1 ~ 1 2 の一項に記載の p o l X ファミリー D N A ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアント。

【請求項 1 4】

前記バリアントが、配列番号 1 の配列の T d T のバリアントであり、 C 3 7 8 位から L 4 0 6 位の間の残基または機能的に同等な残基の、配列番号 2 の配列のポリメラーゼ P o 1 μ の残基 H 3 6 3 ~ C 3 9 0 または機能的に同等な残基による置換をさらに含む、請求項 1 ~ 1 3 の一項に記載の p o l X ファミリー D N A ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアント。

【請求項 1 5】

前記バリアントが、R 3 3 6 G - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - R 4 5 4 A - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - R 4 5 4 A - E 4 5 7 G、R 3 3 6 N - E 4 5 7 G、R 3 3 6 G - R 4 5 4 A - E 4 5 7 N、R 3 3 6 G - E 4 5 7 N から選択される置換の組合せを含み、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、請求項 1 ~ 14 の一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアント。

【請求項 16】

請求項 1 から 15 の一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアントをコードする核酸。

【請求項 17】

請求項 16 に記載の核酸を含み、発現する発現カセット。

【請求項 18】

請求項 16 に記載の核酸または請求項 17 に記載の発現カセットを含むベクター。

【請求項 19】

請求項 16 に記載の核酸、または請求項 17 に記載の発現カセット、または請求項 18 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 20】

請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアントを產生するための、請求項 16 に記載の核酸、請求項 17 に記載の発現カセット、請求項 18 に記載のベクター、または請求項 19 に記載の細胞の使用。

【請求項 21】

請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアントを產生するためのプロセスであって、前記プロセスは前記バリアントをコードする核酸の発現を可能にする培養条件下で請求項 19 に記載の宿主細胞を培養するステップ、任意選択で、そのように発現した前記バリアントを培養培地または前記宿主細胞から回収するステップを含む、プロセス。

【請求項 22】

3' - OH 修飾ヌクレオチドから鑄型鎖を用いずに核酸分子を合成するための、請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアントの使用。

【請求項 23】

DNA 鎖または RNA 鎖を合成するための、請求項 22 に記載の使用。

【請求項 24】

請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアントの存在下で、少なくとも 1 つのヌクレオチド、優先的には 3' - OH 修飾ヌクレオチドにプライマー鎖を接触させるステップを含む、鑄型鎖を用いない核酸分子の酵素的合成のためのプロセス。

【請求項 25】

請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の p o l X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片の少なくとも 1 つのバリアントと、ヌクレオチド、優先的には 3' - OH 修飾ヌクレオチドと、任意選択で少なくとも 1 つのヌクレオチドプライマーとを含む、鑄型鎖を用いない核酸分子の酵素的合成のためのキット。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 3 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 3 4】

天然の TdT を用い、同様の合成実験を行った。後者は修飾ヌクレオチドを取り込むことができず、所望の配列を合成することは不可能であった。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

鑄型鎖を用いずに核酸分子を合成することができる pol X ファミリー DNA ポリメラーゼまたはそのようなポリメラーゼの機能的断片のバリアントであって、前記バリアントが、E 457、T 331、G 332、G 333、F 334、R 336、K 338、H 342、D 343、V 344、D 345、F 346、A 397、D 399、D 434、V 436、A 446、L 447、L 448、G 449、W 450、G 452、R 454、Q 455、F 456、R 458、R 461、N 474、E 491、D 501、Y 502、I 503、P 505、R 508、N 509、および A 510 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の少なくとも 1 つの変異を含み、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、バリアント。

(項目 2)

DNA 鎖および / または RNA 鎖を合成することができる、項目 1 に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 3)

pol I V、pol μ、または末端デオキシリボヌクレオチジルトランスフェラーゼ (TdT) のバリアントである、項目 1 または 2 に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 4)

配列番号 1 の配列と少なくとも 60% の同一性、優先的には配列番号 1 の配列と少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% の同一性を有する、前記項目の一項に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 5)

少なくとも 1 つの変異が、1 つまたは複数のアミノ酸残基の置換、欠失、または付加からなる、前記項目の一項に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 6)

前記バリアントが、T 331、G 332、G 333、F 334、R 336、D 343、L 447、L 448、G 449、W 450、G 452、R 454、Q 455、E 457、R 461、および R 508 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の少なくとも 1 つの変異、優先的には、R 336、R 454、および E 457 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の少なくとも 1 つの変異を含み、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、前記項目の一項に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 7)

R 336、R 454、および E 457 からなる群より選択される少なくとも 2 つの位置における残基の少なくとも 1 つの変異、優先的には、前記 3 つの位置 R 336、R 454、および E 457 における残基の変異を含む、前記項目の一項に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 8)

配列

(i) X₁ X₂ G G F R₁ R₂ G K X₃ X₄ (配列番号 4)

(式中、

X₁ は、M、I、V、L から選択される残基を表し、

X₂ は、T、A、M、Q から選択される残基を表し、

X₃ は、M、K、E、Q、L、S、P、R、D から選択される残基を表し、

X₄ は、T、I、M、F、K、V、Y、E、Q、H、S、R、D から選択される残基を

表す）、

(i i) X₁ X₂ L G X₃ X₄ G S R₁ X₅ X₆ E R₂ (配列番号 5)

(式中、

X₁ は、 A、 C、 G、 S から選択される残基を表し、

X₂ は、 L、 T、 R から選択される残基を表し、

X₃ は、 W、 Y から選択される残基を表し、

X₄ は、 T、 S、 I から選択される残基を表し、

X₅ は、 Q、 L、 H、 F、 Y、 N、 E、 D、 または から選択される残基を表し、

X₆ は、 F、 Y から選択される残基を表す)、

(i i i) L X₁ Y X₂ X₃ P X₄ X₅ R N A (配列番号 6)

(X₁ は、 D、 E、 S、 P、 A、 K から選択される残基を表し、

X₂ は、 I、 L、 M、 V、 A、 T から選択される残基を表し、

X₃ は、 E、 Q、 P、 Y、 L、 K、 G、 N から選択される残基を表し、

X₄ は、 W、 S、 V、 E、 R、 Q、 T、 C、 K、 H から選択される残基を表し、

X₅ は、 E、 Q、 D、 H、 L から選択される残基を表す)

の少なくとも 1 つの半保存領域における残基の少なくとも 1 つの変異を有する、前記項目の一項に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 9)

- 配列番号 4 の配列の前記半保存領域の少なくとも 1 つの位置 R₁、 R₂、 および / または K における残基の少なくとも 1 つの置換、ならびに / または

- 配列番号 5 の配列の前記半保存領域の少なくとも 1 つの位置 S、 R₁、 および / または E における残基の少なくとも 1 つの置換、ならびに / または

- 配列番号 6 の配列の前記半保存領域の X₁ 位における残基の欠失ならびに / または R 位および / もしくは N 位における少なくとも 1 つの置換

を有する、項目 8 に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 10)

前記バリアントが、 R 3 3 6、 K 3 3 8、 H 3 4 2、 A 3 9 7、 S 4 5 3、 R 4 5 4、 E 4 5 7、 R 4 6 1、 N 4 7 4、 D 5 0 1、 Y 5 0 2、 I 5 0 3、 R 5 0 8、 および N 5 0 9 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の置換、優先的には、 R 3 3 6、 A 3 9 7、 R 4 5 4、 E 4 5 7、 R 4 6 1、 N 4 7 4、 D 5 0 1、 Y 5 0 2、 および I 5 0 3 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の置換、より優先的には、 R 3 3 6、 R 4 5 4 、および E 4 5 7 からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置における残基または機能的に同等な残基の置換、さらにより優先的には、 E 4 5 7 位における残基または機能的に同等な残基の少なくとも 1 つの置換を含み、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、前記項目の一項に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 11)

R 3 3 6 位、 K 3 3 8 位、 H 3 4 2 位、 A 3 9 7 位、 S 4 5 3 位、 R 4 5 4 位、 E 4 5 7 位、 R 4 6 1 位、 N 4 7 4 位、 D 5 0 1 位、 Y 5 0 2 位、 I 5 0 3 位、 R 5 0 8 位、 および N 5 0 9 位における前記置換が、 R 3 3 6 K / H / N / G / D、 K 3 3 8 A / C / G / S / T / N、 H 3 4 2 A / C / G / S / T . N、 A 3 9 7 R / H / K / D / E、 S 4 5 3 A / C / G / S / T、 R 4 5 4 F / Y / W / A、 E 4 5 7 G / N / S / T、 N 4 7 4 S / T / N / Q、 D 5 0 1 A / G / X、 Y 5 0 2 A / G / X、 I 5 0 3 A / G / X、 R 5 0 8 A / C / G / S / T、 N 5 0 9 A / C / G / S / T からなる群より選択される、項目 1 0 に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 12)

前記バリアントが、表 1 に列挙される置換、欠失、置換および / または欠失の組合せを含むかまたは有し、示された位置は配列番号 1 とのアラインメントにより決定される、前記項目の一項に記載の pol X ファミリー DNA ポリメラーゼのバリアント。

(項目 13)

前記バリアントが、配列番号1の配列のT d Tのバリアントであり、C 3 7 8位からL 4 0 6位の間の残基または機能的に同等な残基の、配列番号2の配列のポリメラーゼP o 1 μの残基H 3 6 3 ~ C 3 9 0または機能的に同等な残基による置換をさらに含む、前記項目の一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼのバリアント。

(項目 14)

前記バリアントが、R 3 3 6 G - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - R 4 5 4 A - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - E 4 5 7 N、R 3 3 6 N - R 4 5 4 A - E 4 5 7 G、R 3 3 6 N - E 4 5 7 G、R 3 3 6 G - R 4 5 4 A - E 4 5 7 N、R 3 3 6 G - E 4 5 7 Nから選択される置換の組合せを含み、示された位置は配列番号1とのアラインメントにより決定される、前記項目の一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼのバリアント。

(項目 15)

項目1から14の一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼのバリアントをコードする核酸。

(項目 16)

項目15に記載の核酸のための発現カセット。

(項目 17)

項目15に記載の核酸または項目16に記載の発現カセットを含むベクター。

(項目 18)

項目15に記載の核酸、または項目16に記載の発現カセット、または項目17に記載のベクターを含む、宿主細胞。

(項目 19)

項目1から14のいずれか一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼのバリアントを产生するための、項目15に記載の核酸、項目16に記載の発現カセット、項目17に記載のベクター、または項目18に記載の細胞の使用。

(項目 20)

項目1から14のいずれか一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼのバリアントを产生するためのプロセスであって、前記バリアントをコードする核酸の発現を可能にする培養条件下で項目18に記載の宿主細胞を培養し、任意選択で、そのように発現した前記バリアントを培養培地または前記宿主細胞から回収する、プロセス。

(項目 21)

3' - OH修飾ヌクレオチドから鑄型鎖を用いずに核酸分子を合成するための、項目1から14のいずれか一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼのバリアントの使用。

(項目 22)

DNA鎖またはRNA鎖を合成するための、項目21に記載の使用。

(項目 23)

項目1から14のいずれか一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼのバリアントの存在下で、少なくとも1つのヌクレオチド、優先的には3' - OH修飾ヌクレオチドにプライマー鎖を接触させる、鑄型鎖を用いない核酸分子の酵素的合成のためのプロセス。

(項目 24)

項目1から14のいずれか一項に記載のp o 1 XファミリーDNAポリメラーゼの少なくとも1つのバリアントと、ヌクレオチド、優先的には3' - OH修飾ヌクレオチドと、任意選択で少なくとも1つのヌクレオチドプライマーとを含む、鑄型鎖を用いない核酸分子の酵素的合成のためのキット。