

【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16年12月9日(2004.12.9)

【公表番号】特表2000-515006(P2000-515006A)

【公表日】平成12年11月14日(2000.11.14)

【出願番号】特願平10-500755

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 Q 1/68

G 0 6 F 17/30

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 6 F 15/40 3 7 0 F

【手続補正書】

【提出日】平成16年4月1日(2004.4.1)

【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】

手続補正書

平成16年4月1日



特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成10年特許願第500755号

2. 補正をする者

住所 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94545, ヘイワード,
インダストリアル プールバード 25861

名称 リンクス セラピューティクス, インコーポレイテッド

3. 代理人

住所 〒540-6015 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号

クリスタルタワー15階

氏名 (7828) 弁理士 山本 秀策

電話(大阪) 06-6949-3910



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の内容

請求の範囲を別紙のとおり補正します。

方 式
審 査

請求の範囲

1. ポリヌクレオチド末端のヌクレオチド配列を決定する方法であって、該方法は以下の工程：

1つ以上のコードアダプターを該ポリヌクレオチドの1つまたは両方の末端に連結する工程であって、ここで各コードアダプターは、(i) 最小にクロスハイブリダイズするオリゴヌクレオチドのセットから選択されたオリゴヌクレオチドタグ、および(ii) 該ポリヌクレオチドの鎖の一部分に相補的な突出鎖、を含む2本鎖デオキシリボ核酸であり、

ここで各オリゴヌクレオチドタグは、該最小にクロスハイブリダイズするセットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも2つのヌクレオチド異なり、そして該各オリゴヌクレオチドタグは、公知の様式で該突出鎖に対応する、工程、および

タグ相補物を、該末端に連結された該1つ以上のコードアダプターの各オリゴヌクレオチドタグに特異的にハイブリダイズさせることにより、該ポリヌクレオチドの該末端における1つ以上のヌクレオチドを同定する工程、を包含する、方法。

2. 請求項1に記載の方法であって、前記連結する工程が、前記複数の異なるコードアダプターの前記突出鎖が前記ポリヌクレオチドの前記鎖の複数の異なる部分に相補的であり、そして該異なるコードアダプターと該鎖の該異なる部分との間に1対1の対応が存在するように、該複数の異なるコードアダプターを該ポリヌクレオチドの前記末端に連結することを包含する、方法。

3. 前記ポリヌクレオチドの前記鎖の前記異なる部分が連続している、請求項2に記載の方法。

4. 請求項1から3のいずれか1つに記載の方法であって、前記コードアダプターの前記突出鎖が、2から6のヌクレオチドを含み、そして前記同定する工程が、

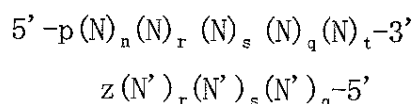
前記ポリヌクレオチドの前記部分における各ヌクレオチドの同一性が連続的に決定されるように、前記タグ相補物を前記オリゴヌクレオチドタグに特異的にハイブリダイズさせることを包含する、方法。

5. 請求項1から4のいずれか1つに記載の方法であって、前記同定する工程が、前記ポリヌクレオチドの前記部分において同定されるヌクレオチドの数に等しいタグ相補物の多数のセットを提供することをさらに包含する、方法。

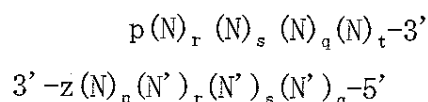
6. 請求項5に記載の方法であって、前記同定する工程が、蛍光シグナル発生部分により発生されるシグナルによって、予め決定されたヌクレオチドの存在を示し得る前記セットのそれぞれにおいて、前記タグ相補物を提供することをさらに包含し、ヌクレオチドの各種類について異なる蛍光シグナル発生部分が存在する、方法。

7. 請求項1から6のいずれか1つに記載の方法であって、前記コードアダプターの前記オリゴヌクレオチドタグが1本鎖であり、そして該オリゴヌクレオチドタグに対する前記タグ相補物が1本鎖であり、その結果、オリゴヌクレオチドタグとそのそれぞれのタグ相補物との間の特異的なハイブリダイゼーションがワトソン-クリック塩基対形成により生じる、方法。

8. 請求項7に記載の方法であって、前記コードアダプターが以下の形態を有し：



または



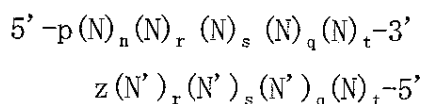
ここで、Nはヌクレオチドであり、N'はその相補物であり、pはリン酸基であり、zは3'水酸基または3'ブロック基であり、nは2から6の間の整数であ

り、 r は0から18の間の整数であり、 s は、コードアダプターがヌクレアーゼ認識部位を有する場合はいつでも4から6の間のいずれかである整数であるか、またはヌクレアーゼ認識部位がない場合はいつでも0であり、 q は0を超える整数であるかもしくは0に等しく、そして t は8を超える整数であるかしくは8に等しい、方法。

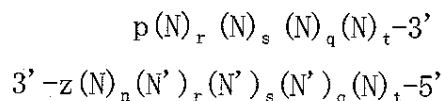
9. 請求項8に記載の方法であって、ここで r が0から12の間であり、 t が8から20の間の整数であり、そして z がリン酸基である、方法。

10. 請求項1から6のいずれか1つに記載の方法であって、前記コードアダプターの前記オリゴヌクレオチドタグが2本鎖であり、そして該オリゴヌクレオチドタグに対する前記タグ相補物が1本鎖であり、その結果、オリゴヌクレオチドタグとそのそれぞれのタグ相補物との間の特異的なハイブリダイゼーションがフーグスティーンまたは逆フーグスティーン3重鎖の形成により生じる、方法。

11. 請求項10に記載の方法であって、前記コードアダプターは以下の形態を有し：



または



ここで、 N はヌクレオチドであり、 N' はその相補物であり、 p はリン酸基であり、 z は3'水酸基または3'ブロック基であり、 n は2から6の間の整数であり、 r は0から18の間の整数であり、 s は、該コードアダプターがヌクレアーゼ認識部位を有する場合はいつでも4から6の間のいずれかである整数であるか、またはヌクレアーゼ認識部位がない場合はいつでも0であり、 q は0を超える整数であるかしくは0に等しく、そして t は8を超える整数であるかしくは8に等しい、方法。

1 2. 請求項 1 1 に記載の方法であって、 r が 0 から 12 の間であり、 t が 12 から 24 の間の整数であり、そして z がリン酸基である、方法。

1 3. 請求項 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の方法であって、前記最小にクロスハイブリダイズするセットのメンバーは、他のどのメンバーとも少なくとも 6 ヌクレオチド異なる、方法。

1 4. 複数のポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定する方法であって、該方法は以下の工程：

(a) タグレパートリー由来の第 1 のオリゴヌクレオチドタグを、ポリヌクレオチド集団中の各ポリヌクレオチドに付着させる工程であって、ここで、該レパートリーの各第 1 のオリゴヌクレオチドタグは、第 1 の最小にクロスハイブリダイズするオリゴヌクレオチドのセットから選択され、そして該第 1 の最小にクロスハイブリダイズするセットの各オリゴヌクレオチドは、該第 1 のセットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも 2 つのヌクレオチド異なる、工程；

(b) 該ポリヌクレオチドの集団をサンプリングして、サンプル中の実質に全ての異なるポリヌクレオチドが、付着された異なる第 1 のオリゴヌクレオチドタグを有するように、ポリヌクレオチドのサンプルを形成する工程；

(c) 該第 1 のオリゴヌクレオチドタグとそれらのそれぞれの相補物とを特異的にハイブリダイズさせることにより、該サンプルの該ポリヌクレオチドを選別する工程であって、該それぞれの相補物は、1 つ以上の固相支持体の上の空間的に別々の領域に実質的に同一のオリゴヌクレオチドの均一な集団として付着される、工程

(d) 1 つ以上のコードアダプターを該サンプル中の該ポリヌクレオチドの 1 つの末端または両末端に連結する工程であって、ここで各コードアダプターは、

(i) オリゴヌクレオチドの第 2 の最小にクロスハイブリダイズするセットから選択されたオリゴヌクレオチドタグ、および (ii) 該サンプル中のポリヌクレオチドの該末端部分に相補的な突出鎖を含む、2 本鎖デオキシリボ核酸であり、該

第2の最小にクロスハイブリダイズするセットの各オリゴヌクレオチドタグは、該第2のセットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも2ヌクレオチド異なり、そして該各オリゴヌクレオチドタグは、公知の様式で該突出鎖に対応する、工程；および

(e) タグ相補物を、該末端に連結された該1つ以上のコードアダプターの各第2のオリゴヌクレオチドタグに特異的にハイブリダイズさせることにより、該ポリヌクレオチドの該末端における複数のヌクレオチドを同定する工程、を包含する、方法

15. 請求項14に記載の方法であって、(f) 新たな突出鎖が前記ポリヌクレオチドのそれぞれの前記末端に形成されるように、その切断部位から離れたヌクレアーゼ認識部位を有するヌクレアーゼを用いて前記コードアダプターを該ポリヌクレオチドから切断する工程、および(g) 工程(d) から(f) を反復する工程、をさらに包含する、方法。

16. mRNA分子の集団を同定する方法であって、該方法は以下の工程：

(a) 各cDNA分子が、付着された第1のオリゴヌクレオチドタグを有するように、該mRNA分子の集団からcDNA分子の集団を形成する工程であって、該第1のオリゴヌクレオチドタグが、第1の最小にクロスハイブリダイズするオリゴヌクレオチドのセットから選択され、ここで該第1の最小にクロスハイブリダイズするセットの各オリゴヌクレオチドは、該第1のセットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも2つのヌクレオチド異なる、工程；

(b) 該cDNA分子の集団をサンプリングして、実質的に全ての異なるcDNA分子が、付着された異なる第1のオリゴヌクレオチドタグを有するように、cDNA分子のサンプルを形成する工程；

(c) 該第1のオリゴヌクレオチドタグをそれらのそれぞれの相補物と特異的にハイブリダイズさせることにより該cDNA分子を選別する工程であって、該それぞれの相補物は、1つ以上の固相支持体上の空間的に別々の領域において実質的に同一の相補物の均一な集団として付着される、工程；

(d) 1つ以上のコードアダプターを該集団中の該cDNA分子の末端に連結する工程であって、ここで各コードアダプターは、(i) 第2の最小にクロスハイブリダイズするオリゴヌクレオチドのセットから選択されたオリゴヌクレオチドタグ、および(ii) 該集団中のcDNA分子の該末端の一部分に相補的な突出鎖を含む、2本鎖デオキシリボ核酸であり、ここで該第2の最小にクロスハイブリダイズするセットの各オリゴヌクレオチドタグは、該第2のセットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも2つのヌクレオチド異なり、そして該各オリゴヌクレオチドタグは、公知の様式で該突出鎖に対応する、工程；

(e) タグ相補物を、該末端に連結された該1つ以上のコードアダプターの各オリゴヌクレオチドタグに特異的にハイブリダイズさせることにより、該cDNA分子の該末端のそれぞれにおける複数のヌクレオチドの同一性および順序を決定する工程、ならびに

(f) 該cDNA分子の配列の一部分の頻度分布により、該mRNA分子の集団を同定する工程、
を包含する、方法。

17. 請求項16に記載の方法であって、(f) 新たな突出鎖が前記cDNA分子のそれぞれの前記末端に形成されるように、その切断部位から離れたヌクレアーゼ認識部位を有するヌクレアーゼを用いて前記コードアダプターを前記ポリヌクレオチドから切断する工程、および(g) 工程(d) から(f) を反復する工程、をさらに包含する、方法。

18. ポリヌクレオチド末端のヌクレオチド配列を決定する方法であって、該方法は以下の工程：

(a) コードアダプターを該ポリヌクレオチドの末端に連結する工程であって、ここで各コードアダプターは、(i) 最小にクロスハイブリダイズするオリゴヌクレオチドのセットから選択されたオリゴヌクレオチドタグ、および(ii) 該ポリヌクレオチドの該末端の一部分に相補的な突出鎖を含む、2本鎖デオキシリボ核酸であり、

そして、ここで各オリゴヌクレオチドタグは、該最小にクロスハイブリダイズするセットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも2つのヌクレオチド異なり、そして該各オリゴヌクレオチドタグは、公知の様式で該突出鎖に対応する、
工程；

(b) タグ相補物を、該末端に連結されたコードアダプターの該オリゴヌクレオチドタグに特異的にハイブリダイズさせることにより、該ポリヌクレオチドの該末端における1つ以上のヌクレオチドを同定する工程；

(c) 新たな突出鎖が該ポリヌクレオチドの末端に形成されるように、その切断部位から離れたヌクレアーゼ認識部位を有するヌクレアーゼを用いて、該コードアダプターを該ポリヌクレオチド末端から切断する工程；および

(d) 工程(a)から(c)を反復する工程、
を包含する、方法。

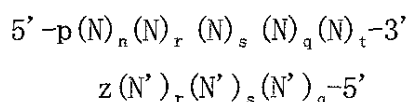
19. 請求項18に記載の方法であって、前記コードアダプターの前記突出鎖が2から6のヌクレオチドを含み、そして前記同定する工程が、前記ポリヌクレオチドの前記部分における各ヌクレオチドの同一性が連続的に決定されるように、連続的に前記タグ相補物を前記オリゴヌクレオチドタグに特異的にハイブリダイズさせる工程を包含する、方法。

20. 請求項19に記載の方法であって、前記同定する工程が、前記ポリヌクレオチドの前記部分において同定されたヌクレオチドの数に等しいタグ相補物の多数のセットを提供することをさらに包含する、方法。

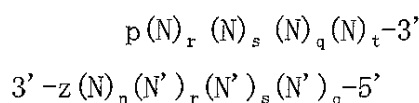
21. 請求項20に記載の方法であって、前記同定する工程が、蛍光シグナル発生部分により発生されるシグナルにより予め決定されたヌクレオチドの存在を示し得る前記セットのそれぞれにおいて、前記タグ相補物を提供することをさらに包含し、ヌクレオチドの各種類について異なる蛍光シグナル発生部分が存在する、方法。

22. 請求項18から21のいずれか1つに記載の方法であって、ここで前記コードアダプターの前記オリゴヌクレオチドタグが1本鎖であり、そして前記オリゴヌクレオチドタグに対する前記タグ相補物が1本鎖であり、その結果、オリゴヌクレオチドタグとそのそれぞれのタグ相補物との間の特異的なハイブリダイゼーションがワトソン-クリック塩基対形成により生じる、方法。

23. 以下の形態を有する複数の2本鎖オリゴヌクレオチドアダプターを含む物質の組成物：



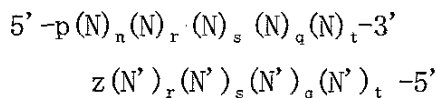
または



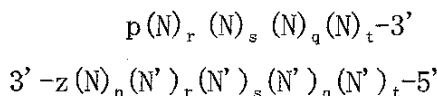
ここで、Nはヌクレオチドであり、N'はその相補物であり、pはリン酸基であり、zは3'水酸基または3'ブロック基であり、nは2から6の間の整数であり、rは0から18の間の整数であり、sは、コードアダプターがヌクレアーゼ認識部位を有する場合はいつでも4から6の間のいずれかである整数であるか、またはヌクレアーゼ認識部位がない場合はいつでも0であり、qは0を超える整数であるかもしくは0に等しく、そしてtは8を超える整数であるかもしくは8に等しく、そして(N)_tは、1本鎖であり、そして最小にクロスハイブリダイズするオリゴヌクレオチドのセットの各オリゴヌクレオチドが、該セットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも2塩基対異なるような該セットから選択される、組成物。

24. 請求項23に記載の組成物であって、ここでrが0から12の間であり、tが8から20の間の整数であり、そしてzがリン酸基である、組成物。

25. 以下の形態を有する複数の2本鎖オリゴヌクレオチドアダプターを含む物質の組成物：



または



ここで、Nはヌクレオチドであり、N'はその相補物であり、pはリン酸基であり、zは3'水酸基または3'ブロッキング基であり、nは2から6の間の整数であり、rは0から18の間の整数であり、sは、コードアダプターがヌクレアーゼ認識部位を有する場合はいつでも4から6の間のいずれかである整数であるか、またはヌクレアーゼ認識部位がない場合はいつでも0であり、qは0を超える整数であるかもしくは0に等しく、そしてtは8を超える整数であるかしくは8に等しく、その結果、



は、最小にクロスハイブリダイズするオリゴヌクレオチドのセットの各オリゴヌクレオチドが、該セットの他のどのオリゴヌクレオチドとも少なくとも2つの塩基対異なるように、該セットから選択される2本鎖部分を形成する、組成物。

26. 請求項25に記載の組成物であって、ここでrが0から12の間であり、tが12から24の間の整数であり、そしてzがリン酸基である、組成物。

27. 請求項23から26のいずれか1つに記載の組成物であって、ここで前記最小にクロスハイブリダイズするセットのメンバーは、他のどのメンバーとも少なくとも6つのヌクレオチド異なる、組成物。