

【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20年11月20日(2008.11.20)

【公表番号】特表2008-522628(P2008-522628A)

【公表日】平成20年7月3日(2008.7.3)

【年通号数】公開・登録公報2008-026

【出願番号】特願2007-545717(P2007-545717)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 M	1/00	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/16	(2006.01)
A 6 1 P	31/18	(2006.01)
A 6 1 P	31/22	(2006.01)
A 6 1 P	31/06	(2006.01)
A 6 1 P	31/10	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	31/20	(2006.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/711	(2006.01)
A 6 1 K	47/48	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2006.01)
A 6 1 K	38/43	(2006.01)
A 6 1 K	38/36	(2006.01)
A 6 1 K	39/29	(2006.01)
A 6 1 K	39/145	(2006.01)
A 6 1 K	39/21	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 M	1/00	A
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	31/16	
A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	31/22	
A 6 1 P	31/06	
A 6 1 P	31/10	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	31/20	
A 6 1 K	39/00	H
A 6 1 K	31/711	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	37/48	
A 6 1 K	37/46	
A 6 1 K	39/29	
A 6 1 K	39/145	
A 6 1 K	39/21	

【手続補正書】

【提出日】平成20年9月24日(2008.9.24)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0082

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0082】

b) P C Rに基づく鑄型 L a c Z - D U を p V A X ^{T M} 2 0 0 - G W / l a c Z ベクタ - (I n v i t r o g e n C a r l s b a d , C A , U S A) から B a m H I インドヌクレアーゼ認識部位を含むプライマー対，フォワード(5 ' - C G G G A T C C G A C T C T T C G C G A T G T A C - 3 ' (配列番号1)) 及びリバース(5 ' - C G G G A T C C C C A G C A T G C C T G C - 3 ' (配列番号2)) を用いて増幅した。 L a c Z - D U は各プライマー 2 0 0 n g , 1 0 n g p V A X ^{T M} 2 0 0 - G W / l a c Z ベクター； 0 . 2 m M d N T P ; 1 x ヘラクレス緩衝液及び 2 . 5 U ヘラクレス ^{T M} ポリメラーゼ(S t r a t a g e n e , L a J o l l a , C A , U S A) を含む 5 0 μ l の反応液で増幅した。増幅はロボサイクラーグラジエント 4 0 (S t r a t a g e n e , L a J o l l a , C A , U S A) において以下の条件で行った： 9 4 で 2 分； 5 サイクル(9 2 で 3 0 秒， 4 0 で 3 0 秒， 7 2 で 5 分)； 2 5 サイクル(9 2 で 3 0 秒， 5 5 で 3 0 秒， 7 2 で 5 分)及び 7 2 で 1 0 分。約 4 . 2 k b の増幅産物を B a m H I で切断し，ゲル精製及び T 4 D N A リガーゼによる環状化を行った。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0084

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0084】

d) 特異的プライマーによる増幅 先述と同様の条件を用い，規定された配列及び反対の相補鎖のプライマーニフを 2 7 8 8 塩基対 D U の選択的な増幅に利用した。規定されたプライマー対は各々 2 0 0 p m o l の濃度で用い，以下の配列からなる。フォワードプライマー： 5 ' - C T G C C A A C A A G G T A C T C G - 3 ' (配列番号3) ； リバースプライマー： 5 ' - A G C T G C T A C T G G G T C T A G - 3 ' (配列番号4) である。増幅は先述と同様に行われ増幅反応の成功はゲル電気泳動によって評価された。