

【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7月2日 (2009.7.2)

【公表番号】特表2008-545394(P2008-545394A)

【公表日】平成20年12月18日 (2008.12.18)

【年通号数】公開・登録公報2008-050

【出願番号】特願2008-512475(P2008-512475)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (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 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 16/40 (2006.01)

G 0 1 N 21/78 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

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

C 0 7 K 16/18

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 16/40

G 0 1 N 21/78 C

【手続補正書】

【提出日】平成21年5月18日 (2009.5.18)

【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】

検出体分子、および検出体分子に特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなるキメラRNAポリメラーゼ分子と細胞を接触させることを含んでなる、DNA分子の転写の検出方法であって；

該検出体分子が

a) 該検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラRNAポリメラーゼ結合ドメイン (CRPBD)、

b) RNA分子の一部に相補的なペプチド核酸 (PNA)；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、該キメラRNAポリメラーゼがDNAを転写して新生RNA分子を産生する場合に

、該 P N A が新生 R N A 分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられてそれにより D N A 分子の転写を検出する、上記方法。

【請求項 2】

a) 検出体結合ドメインを含んでなるキメラ R N A ポリメラーゼ；ならびに
b) シグナリング部分を含んでなる検出体分子、R N A 分子の一部分に相補的な P N A、および検出体結合ドメインに結合することが可能な C R P B D
を含んでなり、
C R P B D がキメラ R N A ポリメラーゼの検出体結合ドメインに特異的に結合する、
単離されたヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

【請求項 3】

キメラ R N A ポリメラーゼが R N A ポリメラーゼおよび検出体結合ドメインを含んでなる、キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸。

【請求項 4】

配列番号 1 および配列番号 2 を含んでなり、かつ、配列番号 1 が、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3 および配列番号 2 4 よりなる群から選択される配列を有する単離された核酸により配列番号 2 から分離されている、キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸。

【請求項 5】

コードされているキメラ R N A ポリメラーゼのアミノ酸配列が配列番号 3 および配列番号 4 を含んでなり、かつ、配列番号 3 が、0 から 4 個までのプロリンを有するペプチドにより配列番号 4 から分離されている、キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸。

【請求項 6】

請求項 3、4 および 5 のいずれか 1 つに記載の単離された核酸を含んでなるベクター。

【請求項 7】

請求項 3 に記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

【請求項 8】

請求項 4 若しくは 5 のいずれか 1 つに記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

【請求項 9】

請求項 6 に記載のベクターを含んでなる組換え細胞。

【請求項 10】

キメラ R N A ポリメラーゼを含んでなる単離されたポリペプチド。

【請求項 11】

キメラ R N A ポリメラーゼが配列番号 3 および配列番号 4 を含んでなり、配列番号 3 が、0 から 4 個までのプロリンを有するポリペプチドにより配列番号 4 から分離されている、キメラ R N A ポリメラーゼを含んでなる単離されたポリペプチド。

【請求項 12】

請求項 10 若しくは 11 に記載の単離されたポリペプチドを特異的に結合する抗体。

【請求項 13】

C R P B D、P N A およびシグナリング部分を含んでなる単離された検出体分子。

【請求項 14】

請求項 13 に記載の検出体分子を特異的に結合する抗体。

【請求項 15】

キメラ R N A ポリメラーゼ、検出体分子、およびその使用のための取扱説明書を含んでなる、R N A 分子の転写を検出するためのキット。

【請求項 16】

キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸、検出体分子、およびその使用のための取扱説明書を含んでなる、R N A 分子の転写を検出するためのキット。

【請求項 17】

単離された D N A 分子をプロモーター / 制御配列に連結して、連結された D N A 分子を

形成する工程、ならびに

該連結されたDNA分子を、検出体分子に結合されたキメラRNAポリメラーゼと接触させる工程であって、該キメラRNAポリメラーゼが検出体結合ドメインを含んでなり、かつ、該検出体分子が

- a) 検出体結合ドメインに結合することが可能なCRPBD、
- b) 連結されたDNA分子の一部に相補的なPNA、および；
- c) シグナリング部分

を含んでなり、

キメラRNAポリメラーゼが該連結されたDNA分子をmRNA分子に転写する場合に、PNAがmRNA分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられてそれによりDNA分子を配列決定するものである、工程、
を含んでなる、単離されたDNA分子の配列決定方法。

【請求項18】

検出体分子、および該検出体分子に特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなるキメラリボソームサブユニットを有するキメラリボソーム分子と細胞を接触させる工程を含んでなり、該検出体分子が、

- a) 検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラリボソーム結合ドメイン(CRBD)、
- b) RNA分子の一部に相補的なPNA；および
- c) シグナル伝達分子

を含んでなり、

該キメラリボソーム分子がRNA分子を翻訳する場合に、PNAが、キメラリボソームのRNA出口孔を出るRNA分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられてそれによりRNA分子の翻訳を検出するものである、
RNA分子の翻訳の検出方法。

【請求項19】

キメラリボソームサブユニット成分をコードする単離された核酸であって、該キメラリボソームサブユニット成分が検出体結合ドメインを含んでなる、上記核酸。

【請求項20】

キメラリボソームサブユニット成分をコードする単離された核酸であって、該単離された核酸が配列番号6および配列番号2を含んでなり、配列番号6が、配列番号21、配列番号22、配列番号23および配列番号24よりなる群から選択される配列を有する単離された核酸により配列番号2から分離されている、上記核酸。

【請求項21】

キメラリボソームサブユニット成分をコードする単離された核酸であって、該キメラリボソームサブユニット成分のアミノ酸配列が、配列番号7および配列番号4に示されるアミノ酸配列を含んでなり、配列番号7が0から4個までのプロリンを有するペプチドにより配列番号4から分離されている、上記核酸。

【請求項22】

請求項19、20および21のいずれか1つに記載の単離された核酸を含んでなるベクター。

【請求項23】

請求項19に記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

【請求項24】

請求項20若しくは21に記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

【請求項25】

請求項22に記載のベクターを含んでなる組換え細胞。

【請求項26】

キメラリボソームサブユニット成分を含んでなる単離されたポリペプチド。

【請求項27】

キメラリボソームサブユニット成分を含んでなる単離されたポリペプチドであって、該キメラリボソームサブユニット成分が配列番号 7 および配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含んでなり、配列番号 7 は 0 から 4 個までのプロリンを有するポリペプチドにより配列番号 4 から分離されている、上記ポリペプチド。

【請求項 28】

請求項 26 若しくは 27 に記載の単離されたポリペプチドを特異的に結合する抗体。

【請求項 29】

核酸分子の転写の検出方法において、

検出体分子、および核酸分子を転写するキメラ酵素と細胞を接触させる工程であって、該キメラ酵素が該検出体分子を特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなり、該検出体分子が：

a) 該検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラ酵素結合ドメイン (C E B D)

、
b) 核酸分子の一部分に相補的な P N A ；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、該キメラ酵素が核酸を転写する場合に、P N A が、該酵素から発生する新生核酸分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられるものである、工程、ならびに該シグナルを検出してそれにより核酸分子の転写を検出する工程

を含んでなる、上記検出方法。

【請求項 30】

核酸分子の翻訳の検出方法において、

検出体分子、および核酸分子を翻訳するキメラ酵素と細胞を接触させる工程であって、該キメラ酵素が検出体分子を特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなり、該検出体分子が：

a) 検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラ酵素結合ドメイン (C E B D)、

b) 核酸分子の一部分に相補的な P N A ；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、該キメラ酵素が核酸を転写する場合、P N A がキメラ酵素から発生する R N A 分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられるものである、工程、ならびに該シグナルを検出してそれにより核酸分子の翻訳を検出する工程

を含んでなる、上記検出方法。

【請求項 31】

転写される核酸の同定方法において、

検出体分子、および核酸分子を転写するキメラ酵素と細胞を接触させる工程であって、該キメラ酵素が該検出体分子を特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなり、該検出体分子が：

a) 検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラ酵素結合ドメイン (C E B D)、

b) 核酸分子の一部分に相補的な P N A ；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、キメラ酵素が核酸を転写する場合、P N A は該酵素から発生する新生核酸分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられるものである、工程、該シグナルを検出する工程、ならびに

検出されたシグナルを特定の配列と関連するシグナルのライブラリーに適合させるための拘束局所動的時間伸縮アルゴリズム (c o n s t r a i n e d l o c a l d y n a m i c t i m e w a r p a l g o r i t h m) を使用して、転写された核酸分子を同定し、それにより転写される核酸を同定する工程

を含んでなる、上記同定方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0415

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0415】

本発明の主たる特徴若しくは態様は次のとおりである：

態様 1．検出体分子、および検出体分子に特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなるキメラ RNA ポリメラーゼ分子と細胞を接触させることを含んでなる、DNA 分子の転写の検出方法であって；該検出体分子が a) 該検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラ RNA ポリメラーゼ結合ドメイン (CRPBD)、b) RNA 分子の一部分に相補的なペプチド核酸 (PNA)；および c) シグナリング部分を含んでなり、かつ、該キメラ RNA ポリメラーゼが DNA を転写して新生 RNA 分子を産生する場合に、該 PNA が新生 RNA 分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられてそれにより DNA 分子の転写を検出する、上記方法。

態様 2．検出体分子が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 1 に記載の方法。

態様 3．検出体結合ドメインが、SH3 ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 1 に記載の方法。

態様 4．CRPBD が、-PAK ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 1 に記載の方法。

態様 5．細胞透過性ペプチドが、トランスポータンペプチド (TP)、TP10 ペプチド、pVEC ペプチド、ペネトラチンペプチド、tat フラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される、態様 2 に記載の方法。

態様 6．シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 1 に記載の方法。

態様 7．蛍光分子が、ReAsH、ビス-((N-ヨードアセチル)ピペラジニル)スルホンロードミン (BSR)、Cy3B、Cy5、テトラメチルロードミン (TAMRA) およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 6 に記載の方法。

態様 8．PNA が、新生 RNA 分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチドに相補的である、態様 1 に記載の方法。

態様 9．PNA が新生 RNA 分子の三ヌクレオチドに相補的である、態様 8 に記載の方法。

態様 10．三ヌクレオチドが核酸配列 CAC を有する、態様 9 に記載の方法。

態様 11．キメラ RNA ポリメラーゼがキメラ RNA ポリメラーゼ II である、態様 1 に記載の方法。

態様 12．キメラ RNA ポリメラーゼがキメラ T7 RNA ポリメラーゼである、態様 1 に記載の方法。

態様 13．シグナルが、蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) シグナル若しくは極性変化シグナルである、態様 1 に記載の方法。

態様 14．新生 RNA 分子が細胞中にある、態様 1 に記載の方法。

態様 15．細胞が真核生物細胞である、態様 14 に記載の方法。

態様 16．細胞が動物中にある、態様 14 に記載の方法。

態様 17．動物が哺乳動物である、態様 16 に記載の方法。

態様 18．細胞が生物学的サンプルである、態様 14 に記載の方法。

態様 19．a) 検出体結合ドメインを含んでなるキメラ RNA ポリメラーゼ；ならびに b) シグナリング部分を含んでなる検出体分子、RNA 分子の一部分に相補的な PNA、および検出体結合ドメインに結合することが可能な CRPBD を含んでなり、CRPBD はキメラ RNA ポリメラーゼの検出体結合ドメインに特異的に結合する、単離されたヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 20．検出体結合ドメインが、SH3 ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群か

ら選択される、態様 19 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 21 . C R P B D が、 - P A K ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 19 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 22 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 19 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 23 . 蛍光分子が、R e A s H、ビス - ((N - ヨードアセチル) ピペラジニル) スルホンローダミン (B S R)、C y 3 B、C y 5、T A M R A およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 22 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 24 . P N A が R N A 分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチドに相補的である、態様 19 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 25 . P N A が R N A 分子の三ヌクレオチドに相補的である、態様 24 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 26 . 三ヌクレオチドが C A C の核酸配列を有する、態様 25 に記載のヌクレオチペプチドコンジュゲート複合体。

態様 27 . 複合体が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 19 に記載のヌクレオチペプチドコンジュゲート複合体。

態様 28 . 細胞透過性ペプチドが、トランスポータンペプチド (T P)、T P 10 ペプチド、p V E C ペプチド、ペネトラチンペプチド、t a t フラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される、態様 27 に記載のヌクレオチペプチドコンジュゲート複合体。

態様 29 . キメラ R N A ポリメラーゼがキメラ R N A ポリメラーゼ I I である、態様 19 に記載のヌクレオチペプチドコンジュゲート複合体。

態様 30 . キメラ R N A ポリメラーゼがキメラ T 7 R N A ポリメラーゼである、態様 19 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 31 . キメラ R N A ポリメラーゼが R N A ポリメラーゼおよび検出体結合ドメインを含んでなる、キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸。

態様 32 . 配列番号 1 および配列番号 2 を含んでなり、かつ、配列番号 1 が、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3 および配列番号 2 4 よりなる群から選択される配列を有する単離された核酸により配列番号 2 から分離されている、キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸。

態様 33 . 配列番号 1 が配列番号 2 に共有結合している、態様 32 に記載の単離された核酸。

態様 34 . 共有結合した標識ポリペプチドをコードする核酸をさらに含んでなる、態様 31 に記載の単離された核酸。

態様 35 . コードされているキメラ R N A ポリメラーゼのアミノ酸配列が配列番号 3 および配列番号 4 を含んでなり、かつ、配列番号 3 が、0 から 4 個までのプロリンを有するペプチドにより配列番号 4 から分離されている、キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸。

態様 36 . 標識ポリペプチドが、m y c 標識ポリペプチド、グルタチオン - S - トランスフェラーゼ標識ポリペプチド、緑色蛍光タンパク質標識ポリペプチド、m y c - ビルビン酸キナーゼ標識ポリペプチド、H i s₆ 標識ポリペプチド、インフルエンザウイルスヘマグルチニン標識ポリペプチド、f l a g 標識ポリペプチドおよびマルトース結合タンパク質標識ポリペプチドよりなる群から選択される、態様 34 に記載の単離された核酸。

態様 37 . 作動可能に連結されたプロモーター / 制御配列を指定する核酸をさらに含んでなる、態様 31 に記載の単離された核酸。

態様 38 . 態様 31、32 若しくは 35 のいずれか 1 つに記載の単離された核酸を含んでなるベクター。

態様 39 . 作動可能に連結されたプロモーター / 制御配列を指定する核酸をさらに含んでなる、態様 38 に記載のベクター。

態様 40 . 態様 31 に記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

態様 4 1 . 態様 3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、3 6 若しくは 3 7 のいずれか 1 つに記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

態様 4 2 . 態様 3 7 に記載のベクターを含んでなる組換え細胞。

態様 4 3 . 細胞が真核生物細胞若しくは原核生物細胞である、態様 4 2 に記載の組換え細胞。

態様 4 4 . キメラ RNA ポリメラーゼがキメラ RNA ポリメラーゼ II である、態様 3 1 に記載の単離された核酸。

態様 4 5 . キメラ RNA ポリメラーゼが T 7 RNA ポリメラーゼである、態様 3 1 に記載の単離された核酸。

態様 4 6 . キメラ RNA ポリメラーゼを含んでなる単離されたポリペプチド。

態様 4 7 . キメラ RNA ポリメラーゼが配列番号 3 および配列番号 4 を含んでなり、配列番号 3 が、0 から 4 個までのプロリンを有するポリペプチドにより配列番号 4 から分離されている、キメラ RNA ポリメラーゼを含んでなる単離されたポリペプチド。

態様 4 8 . 態様 4 6 に記載の単離されたポリペプチドを特異的に結合する抗体。

態様 4 9 . C R P B D、P N A およびシグナリング部分を含んでなる単離された検出体分子。

態様 5 0 . C R P B D が検出体結合ドメインに結合することが可能である、態様 4 9 に記載の検出体分子。

態様 5 1 . C R P B D が配列番号 5 に示されるアミノ酸配列に対する 7 5 % 同一性を有する、態様 5 0 に記載の検出体分子。

態様 5 2 . P N A が二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチドに相補的である、態様 4 9 に記載の検出体分子。

態様 5 3 . P N A が三ヌクレオチドに相補的である、態様 5 2 に記載の検出体分子。

態様 5 4 . 三ヌクレオチドが核酸配列 C A C を有する、態様 5 3 に記載の検出体分子。

態様 5 5 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 4 9 に記載の検出体分子。

態様 5 6 . 蛍光分子が、R e A s H、ビス - ((N - ヨードアセチル) ビペラジニル) スルホンローダミン (B S R)、C y 3 B、C y 5、T A M R A およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 5 5 に記載の検出体分子。

態様 5 7 . 細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 4 9 に記載の検出体分子。

態様 5 8 . 細胞透過性ペプチドが、T P ペプチド、T P 1 0 ペプチド、p V E C ペプチド、ペネトラチンペプチド、t a t フラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチド、トランスポータンペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される、態様 5 7 に記載の検出体分子。

態様 5 9 . 態様 4 9 に記載の検出体分子を特異的に結合する抗体。

態様 6 0 . キメラ RNA ポリメラーゼ、検出体分子、およびその使用のための取扱説明書を含んでなる、RNA 分子の転写を検出するためのキット。

態様 6 1 . 検出体分子が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 6 0 に記載のキット。

態様 6 2 . キメラ RNA ポリメラーゼが、S H 3 ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される検出体結合ドメインを含んでなる、態様 6 0 に記載のキット。

態様 6 3 . 検出体分子が、検出体結合ドメインに結合することが可能な C R P B D を含んでなるが - P A K ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 6 0 に記載のキット。

態様 6 4 . 細胞透過性ペプチドが、トランスポータンペプチド (T P)、T P 1 0 ペプチド、p V E C ペプチド、ペネトラチンペプチド、t a t フラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される、態様 6 1 に記載のキット。

態様 6 5 . 検出体分子がシグナリング部分を含んでなる、態様 6 0 に記載のキット。

態様 6 6 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 6 5 に記載のキット。

態様 6 7 . 蛍光分子が、R e A s H、ビス - ((N - ヨードアセチル) ビペラジニル) ス

ルホンローダミン (B S R)、C y 3 B、C y 5、T A M R A およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 6 6 に記載のキット。

態様 6 8 . 検出体分子が、R N A 分子の一部分に相補的な P N A を含んでなる、態様 6 0 に記載のキット。

態様 6 9 . P N A が、R N A 分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチドに相補的である、態様 6 8 に記載のキット。

態様 7 0 . P N A が三ヌクレオチドに相補的である、態様 6 9 に記載のキット。

態様 7 1 . 三ヌクレオチドが核酸配列 C A C を有する、態様 7 0 に記載のキット。

態様 7 2 . キメラ R N A ポリメラーゼがキメラ R N A ポリメラーゼ I I である、態様 6 0 に記載のキット。

態様 7 3 . キメラ R N A ポリメラーゼがキメラ T 7 R N A ポリメラーゼである、態様 6 0 に記載のキット。

態様 7 4 . キメラ R N A ポリメラーゼをコードする単離された核酸、検出体分子、およびその使用のための取扱説明書を含んでなる、R N A 分子の転写を検出するためのキット。

態様 7 5 . 検出体分子が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 7 4 に記載のキット。

態様 7 6 . 単離された核酸が、配列番号 1 に示される核酸配列を含んでなる、態様 7 4 に記載のキット。

態様 7 7 . 検出体分子が、 - P A K ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択され態様 7 6 に記載のキット。

態様 7 8 . 細胞透過性ペプチドが、トランスポータンペプチド (T P)、T P 1 0 ペプチド、p V E C ペプチド、ペネトラチンペプチド、t a t フラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される、態様 7 5 に記載のキット。

態様 7 9 . 検出体分子がシグナリング部分を含んでなる、態様 7 4 に記載のキット。

態様 8 0 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 7 9 に記載のキット。

態様 8 1 . 蛍光分子が、R e A s H、ビス - ((N - ヨードアセチル) ピペラジニル) スルホンローダミン (B S R)、C y 3 B、C y 5、T A M R A およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 8 0 に記載のキット。

態様 8 2 . 検出体分子が、R N A 分子の一部分に相補的な P N A を含んでなる、態様 7 4 に記載のキット。

態様 8 3 . P N A が R N A 分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチドに相補的である、態様 8 2 に記載のキット。

態様 8 4 . P N A が三ヌクレオチドに相補的である、態様 8 3 に記載のキット。

態様 8 5 . 三ヌクレオチドが核酸配列 C A C を有する、態様 8 4 に記載のキット。

態様 8 6 . キメラ R N A ポリメラーゼがキメラ R N A ポリメラーゼ I I である、態様 7 4 に記載のキット。

態様 8 7 . キメラ R N A ポリメラーゼがキメラ T 7 R N A ポリメラーゼである、態様 7 4 に記載のキット。

態様 8 8 . 単離された D N A 分子をプロモーター / 制御配列に連結して、連結された D N A 分子を形成すること、ならびに

該連結された D N A 分子を、検出体分子に結合されたキメラ R N A ポリメラーゼと接触させることであって、該キメラ R N A ポリメラーゼは検出体結合ドメインを含んでなり、かつ、該検出体分子は

- a) 検出体結合ドメインに結合することが可能な C R P B D、
- b) 連結された D N A 分子の一部分に相補的な P N A、および ;
- c) シグナリング部分

を含んでなり、

キメラ R N A ポリメラーゼが該連結された D N A 分子を m R N A 分子に転写する場合に、P N A が m R N A 分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられてそれによ

りDNA分子を配列決定する、

を含んでなる、単離されたDNA分子の配列決定方法。

態様89．単離されたDNA分子が二本鎖cDNAを含んでなる、態様88に記載の方法。

態様90．プロモーター／制御配列がT7プロモーターである、態様89に記載の方法。

態様91．検出体結合ドメインが、SH3ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様88に記載の方法。

態様92．CRPBDが、-PAKドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様88に記載の方法。

態様93．シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様88に記載の方法。

態様94．蛍光分子が、ReAsH、ビス-((N-ヨードアセチル)ピペラジニル)スルホンローダミン(BSR)、Cy3B、Cy5、TAMRAおよびフルオレセインよりなる群から選択される、態様93に記載の方法。

態様95．PNAが、連結されたDNA分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチド部分に相補的である、態様88に記載の方法。

態様96．PNAが、連結されたDNA分子の三ヌクレオチド部分に相補的である、態様95に記載の方法。

態様97．キメラRNAポリメラーゼがキメラRNAポリメラーゼIIである、態様88に記載の方法。

態様98．キメラRNAポリメラーゼがキメラT7 RNAポリメラーゼである、態様88に記載の方法。

態様99．シグナルが、蛍光共鳴エネルギー転移(FRET)シグナル若しくは極性変化シグナルである、態様88に記載の方法。

態様100．三ヌクレオチドが核酸配列GTGを有する、態様96に記載の方法。

態様101．プロモーター／制御配列が支持体に結合されている、態様88に記載の方法。

態様102．该方法が最低1回反復され、かつ、各反復における検出体分子が、連結されたDNA分子の異なる一部分に相補的である異なるPNAを含んでなる、態様88ないし99のいずれか1つに記載の方法。

態様103．検出体分子、および該検出体分子に特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなるキメラリボソームサブユニットを有するキメラリボソーム分子と細胞を接触させることを含んでなり、該検出体分子が、

a) 検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラリボソーム結合ドメイン(CRBD)、

b) RNA分子の一部分に相補的なPNA；および

c) シグナル伝達分子

を含んでなり、

該キメラリボソーム分子がRNA分子を翻訳する場合に、PNAが、キメラリボソームのRNA出口孔を出るRNA分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられてそれによりRNA分子の翻訳を検出する、

RNA分子の翻訳の検出方法。

態様104．検出体分子が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様103に記載の方法。

態様105．検出体結合ドメインが、SH3ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様103に記載の方法。

態様106．CRBDが、-PAKドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様103に記載の方法。

態様107．細胞透過性ペプチドが、トランスポータンペプチド(TP)、TP10ペプチド、pVECペプチド、ペネトラチンペプチド、tatフラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される

、態様 1 0 4 に記載の方法。

態様 1 0 8 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 1 0 3 に記載の方法。

態様 1 0 9 . 蛍光分子が、R e A s H、ビス - ((N - ヨードアセチル) ピペラジニル) スルホンローダミン (B S R)、C y 3 B、C y 5、T A M R A およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 1 0 8 に記載の方法。

態様 1 1 0 . P N A が R N A 分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 1 0 3 に記載の方法。

態様 1 1 1 . P N A が R N A 分子の三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 1 1 0 に記載の方法。

態様 1 1 2 . 三ヌクレオチドが核酸配列 C A C を有する、態様 1 1 1 に記載の方法。

態様 1 1 3 . キメラリボソーム分子がキメラの原核生物リボソーム分子である、態様 1 0 3 に記載の方法。

態様 1 1 4 . キメラリボソームサブユニットがキメラ 5 0 s サブユニットである、態様 1 0 3 に記載の方法。

態様 1 1 5 . シグナルが、蛍光共鳴エネルギー転移 (F R E T) シグナル若しくは極性変化シグナルである、態様 1 0 3 に記載の方法。

態様 1 1 6 . R N A 分子が細胞中にある、態様 1 0 3 に記載の方法。

態様 1 1 7 . 細胞が真核生物細胞である、態様 1 1 6 に記載の方法。

態様 1 1 8 . 細胞が動物中にある、態様 1 1 6 に記載の方法。

態様 1 1 9 . 動物が哺乳動物である、態様 1 1 8 に記載の方法。

態様 1 2 0 . 細胞が生物学的サンプルである、態様 1 1 8 に記載の方法。

態様 1 2 1 . キメラリボソームサブユニット成分をコードする単離された核酸であって、該キメラリボソームサブユニット成分が検出体結合ドメインを含んでなる、上記核酸。

態様 1 2 2 . キメラリボソームサブユニット成分をコードする単離された核酸であって、該単離された核酸が配列番号 6 および配列番号 2 を含んでなり、配列番号 6 が、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3 および配列番号 2 4 よりなる群から選択される配列を有する単離された核酸により配列番号 2 から分離されている、上記核酸。

態様 1 2 3 . 配列番号 6 が配列番号 2 に共有結合されている、態様 1 2 2 に記載の単離された核酸。

態様 1 2 4 . 共有結合された標識ポリペプチドをコードする核酸をさらに含んでなる、態様 1 2 1 に記載の単離された核酸。

態様 1 1 2 5 . キメラリボソームサブユニット成分をコードする単離された核酸であって、該キメラリボソームサブユニット成分のアミノ酸配列が、配列番号 7 および配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含んでなり、配列番号 7 が 0 から 4 個までのプロリンを有するペプチドにより配列番号 4 から分離されている、上記核酸。

態様 1 2 6 . 標識ポリペプチドが、m y c 標識ポリペプチド、グルタチオン - S - トランスフェラーゼ標識ポリペプチド、緑色蛍光タンパク質標識ポリペプチド、m y c - ビルビン酸キナーゼ標識ポリペプチド、H i s₆ 標識ポリペプチド、インフルエンザウイルスヘマグルチニン標識ポリペプチド、f l a g 標識ポリペプチドおよびマルトース結合タンパク質標識ポリペプチドよりなる群から選択される、態様 1 2 4 に記載の単離された核酸。

態様 1 2 7 . 作動可能に連結されたプロモーター / 制御配列を指定する核酸をさらに含んでなる、態様 1 2 1 に記載の単離された核酸。

態様 1 2 8 . 態様 1 2 1、1 2 2 若しくは 1 2 5 のいずれか 1 つに記載の単離された核酸を含んでなるベクター。

態様 1 2 9 . 作動可能に連結されたプロモーター / 制御配列を指定する核酸をさらに含んでなる、態様 1 2 8 に記載のベクター。

態様 1 3 0 . 態様 1 2 1 に記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

態様 1 3 1 . 態様 1 2 1、1 2 2、1 2 3、1 2 4、1 2 5、1 2 6 若しくは 1 2 7 のいずれか 1 つに記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

態様 1 3 2 . 態様 1 2 8 に記載のベクターを含んでなる組換え細胞。

態様 1 3 3 . 細胞が真核生物細胞若しくは原核生物細胞である、態様 1 3 2 に記載の組換え細胞。

態様 1 3 4 . キメラリボソームサブユニット成分がキメラの原核生物リボソームサブユニットである、態様 1 2 1 に記載の単離された核酸。

態様 1 3 5 . キメラの原核生物リボソームサブユニットが 5 0 s サブユニットの一成分である、態様 1 3 4 に記載の単離された核酸。

態様 1 3 6 . キメラリボソームサブユニット成分を含んでなる単離されたポリペプチド。

態様 1 3 7 . キメラリボソームサブユニット成分を含んでなる単離されたポリペプチドであって、該キメラリボソームサブユニット成分が配列番号 7 および配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含んでなり、配列番号 7 は 0 から 4 個までのプロリンを有するポリペプチドにより配列番号 4 から分離されている、上記ポリペプチド。

態様 1 3 6 . 態様 1 3 6 に記載の単離されたポリペプチドを特異的に結合する抗体。

態様 1 3 9 . 検出体分子、および核酸分子を転写するキメラ酵素と細胞を接触させることであって、該キメラ酵素は該検出体分子を特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなり、該検出体分子は：

a) 該検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラ酵素結合ドメイン (C E B D)

、

b) 核酸分子の一部に相補的な P N A ; および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、該キメラ酵素が核酸を転写する場合に、P N A が、該酵素から発生する新生核酸分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられ、ならびに

該シグナルを検出してそれにより核酸分子の転写を検出すること

を含んでなる、核酸分子の転写の検出方法。

態様 1 4 0 . 検出体分子が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 4 1 . 検出体結合ドメインが、S H 3 ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 4 2 . C E B D が、 - P A K ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 4 3 . 細胞透過性ペプチドが、トランスポータンペプチド (T P)、T P 1 0 ペプチド、p V E C ペプチド、ペネトラチンペプチド、t a t フラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される、態様 1 4 0 に記載の方法。

態様 1 4 4 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 4 5 . 蛍光分子が、R e A s H、ビス - ((N - ヨードアセチル) ピペラジニル) スルホンローダミン (B S R)、C y 3 B、C y 5、T A M R A およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 1 4 4 に記載の方法。

態様 1 4 6 . P N A が核酸分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 4 7 . P N A が核酸分子の三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 1 4 6 に記載の方法。

態様 1 4 8 . 該三ヌクレオチドが核酸配列 C A C を有する、態様 1 4 8 に記載の方法。

態様 1 4 9 . 核酸分子を転写するキメラ酵素がキメラ R N A ポリメラーゼ I I である、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 5 0 . キメラ R N A ポリメラーゼがキメラ T 7 R N A ポリメラーゼである、態様 1 4 9 に記載の方法。

態様 1 5 1 . シグナルが、蛍光共鳴エネルギー転移 (F R E T) シグナル若しくは極性変化シグナルである、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 5 2 核酸分子が細胞中にある、態様 1 3 9 に記載の方法。

態様 1 5 3 . 細胞が真核生物細胞である、態様 1 5 2 に記載の方法。

態様 1 5 4 . 細胞が動物中にある、態様 1 5 2 に記載の方法。

態様 1 5 5 . 動物が哺乳動物である、態様 1 5 4 に記載の方法。

態様 1 5 6 . 細胞が生物学的サンプルである、態様 1 5 2 に記載の方法。

態様 1 5 7 . 検出体分子、および核酸分子を翻訳するキメラ酵素と細胞を接触させることであって、

該キメラ酵素は検出体分子を特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなり、該検出体分子は；

a) 検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラ酵素結合ドメイン (C E B D)、

b) 核酸分子の一部に相補的な P N A ；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、該キメラ酵素が核酸を転写する場合、P N A がキメラ酵素から発生する R N A 分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられ、ならびに

該シグナルを検出してそれにより核酸分子の翻訳を検出すること

を含んでなる、核酸分子の翻訳の検出方法。

態様 1 5 8 . 検出体分子が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 5 9 . 検出体結合ドメインが、S H 3 ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 6 0 . C E B D が、 - P A K ドメインおよびロイシンジッパーよりなる群から選択される、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 6 1 . 細胞透過性ペプチドが、トランスポータンペプチド (T P)、T P 1 0 ペプチド、p V E C ペプチド、ペネトラチンペプチド、t a t フラグメントペプチド、シグナル配列をベースとするペプチドおよび両親媒性モデルペプチドよりなる群から選択される、態様 1 5 8 に記載の方法。

態様 1 6 2 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 6 3 . 蛍光分子が、R e A s H、ビス - ((N - ヨードアセチル) ピペラジニル) スルホンローダミン (B S R)、C y 3 B、C y 5、T A M R A およびフルオレセインよりなる群から選択される、態様 1 6 2 に記載の方法。

態様 1 6 4 . P N A が、R N A 分子の二ヌクレオチド若しくは三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 6 5 . P N A が R N A 分子の三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 1 6 4 に記載の方法。

態様 1 6 6 . 三ヌクレオチドが核酸配列 C A C を有する、態様 1 6 5 に記載の方法。

態様 1 6 7 . キメラ酵素がキメラリボソームである、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 6 8 . キメラリボソームがキメラの原核生物リボソームである、態様 1 6 7 に記載の方法。

態様 1 6 9 . シグナルが、蛍光共鳴エネルギー転移 (F R E T) シグナル若しくは極性変化シグナルである、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 7 0 . 核酸が細胞中にある、態様 1 5 7 に記載の方法。

態様 1 7 1 . 細胞が真核生物細胞である、態様 1 7 0 に記載の方法。

態様 1 7 2 . 細胞が動物中にある、態様 1 7 0 に記載の方法。

態様 1 7 3 . 動物が哺乳動物である、態様 1 7 2 に記載の方法。

態様 1 7 4 . 細胞が生物学的サンプルである、態様 1 7 0 に記載の方法。

態様 1 7 5 . 検出体分子、および核酸分子を転写するキメラ酵素と細胞を接触させることであって、該キメラ酵素は該検出体分子を特異的に結合する検出体結合ドメインを含んでなり、該検出体分子は；

a) 検出体結合ドメインに結合することが可能なキメラ酵素結合ドメイン (C E B D)、

b) 核酸分子の一部に相補的な P N A ；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、キメラ酵素が核酸を転写する場合、PNAは該酵素から発生する新生核酸分子に結合し、そしてシグナルが検出体分子により発せられ、

該シグナルを検出すること、ならびに

検出されたシグナルを特定の配列と関連するシグナルのライブラリーに適合させるための拘束局所動的時間伸縮アルゴリズム (constrained local dynamic time warp algorithm) を使用して、転写された核酸分子を同定し、それにより転写される核酸を同定すること

を含んでなる、転写される核酸の同定方法。