

【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分子を产生する場合に

、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。

【請求項2】

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がキメラ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。

【請求項3】

キメラRNAポリメラーゼがRNA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RNA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、キメラRNA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RNA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RNA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RNA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。

【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】

CRPBD、PNA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。

【請求項16】

キメラRNA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、RNA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DNA分子をプロモーター／制御配列に連結して、連結されたDNA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CRPB D、
- b) 連結されたDNA分子の一部分に相補的な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(CRB D)、
- 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、該キメラ酵素が核酸を転写する場合に、PNA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、該キメラ酵素が核酸を転写する場合、PNAがキメラ酵素から発生する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PNA；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（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分子を產生する場合に、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)スルホンローダミン(BSR)、Cy3B、Cy5、テトラメチルローダミン(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分子のニ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 1 9 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 2 1 . 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 1 9 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 2 2 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 1 9 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 2 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 2 2 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 2 4 . P N A が R N A 分子のニ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 9 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 2 5 . 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 2 4 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

態様 2 6 . 三ヌクレオチドが C A C の核酸配列を有する、態様 2 5 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 2 7 . 複合体が細胞透過性ペプチドをさらに含んでなる、態様 1 9 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 2 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 2 7 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 2 9 . 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 1 9 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 3 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 9 に記載のヌクレオペプチドコンジュゲート複合体。

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

態様 3 4 . 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 3 1 に記載の単離された核酸。

態様 3 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。

態様 3 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 - ピルビン酸キナーゼ標識ポリペプチド、 H i s 6 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 1 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 3 4 に記載の単離された核酸。

態様 3 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 3 1 に記載の単離された核酸。

態様 3 8 . 態様 3 1 、 3 2 若しくは 3 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 3 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 3 8 に記載のベクター。

態様 4 0 . 態様 3 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 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 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 3 1 に記載の単離された核酸。

態様 4 5 . キメラ R N A ポリメラーゼが T 7 R N A 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 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。

態様 4 7 、 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。

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 がニ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) 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 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 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。

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 R N A 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) 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 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 分子のニ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 分子のニ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. CRPB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、ReA sH、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分子のニ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G TG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. 該方法が最低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、tag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 104 に記載の方法。

態様 108 . シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 103 に記載の方法。

態様 109 . 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 108 に記載の方法。

態様 110 . P N A が R N A 分子のニ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 103 に記載の方法。

態様 111 . 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 110 に記載の方法。

態様 112 . 三ヌクレオチドが核酸配列 C A C を有する、態様 111 に記載の方法。

態様 113 . 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 103 に記載の方法。

態様 114 . キメラリボソームサブユニットがキメラ 50s サブユニットである、態様 103 に記載の方法。

態様 115 . 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 103 に記載の方法。

態様 116 . R N A 分子が細胞中にある、態様 103 に記載の方法。

態様 117 . 細胞が真核生物細胞である、態様 116 に記載の方法。

態様 118 . 細胞が動物中にある、態様 116 に記載の方法。

態様 119 . 動物が哺乳動物である、態様 118 に記載の方法。

態様 120 . 細胞が生物学的サンプルである、態様 118 に記載の方法。

態様 121 . 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 122 . 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。

態様 123 . 配列番号 6 が配列番号 2 に共有結合されている、態様 122 に記載の単離された核酸。

態様 124 . 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 121 に記載の単離された核酸。

態様 1125 . 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 126 . 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 - ピルビン酸キナーゼ標識ポリペプチド、 H i s 6 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 124 に記載の単離された核酸。

態様 127 . 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 121 に記載の単離された核酸。

態様 128 . 態様 121 、 122 若しくは 125 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 129 . 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 128 に記載のベクター。

態様 130 . 態様 121 に記載の単離された核酸を含んでなる組換え細胞。

態様 131 . 態様 121 、 122 、 123 、 124 、 125 、 126 若しくは 127 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 132 . 態様 128 に記載のベクターを含んでなる組換え細胞。

態様 133. 細胞が真核生物細胞若しくは原核生物細胞である、態様 132 に記載の組換え細胞。

態様 134. 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 121 に記載の単離された核酸。

態様 135. キメラの原核生物リボソームサブユニットが 50s サブユニットの一成分である、態様 134 に記載の単離された核酸。

態様 136. 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 137. 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 138. 態様 136 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 139. 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 (CEBD)

、

b) 核酸分子の一部分に相補的な PNA；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、該キメラ酵素が核酸を転写する場合に、PNA 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 140. 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 139 に記載の方法。

態様 141. 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 139 に記載の方法。

態様 142. CEBD 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 139 に記載の方法。

態様 143. 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、tatt 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 140 に記載の方法。

態様 144. シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 139 に記載の方法。

態様 145. 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 144 に記載の方法。

態様 146. PNA が核酸分子のニ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 139 に記載の方法。

態様 147. PNA が核酸分子の三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 146 に記載の方法。

態様 148. 該三ヌクレオチドが核酸配列 CAC を有する、態様 148 に記載の方法。

態様 149. 核酸分子を転写するキメラ酵素がキメラ RNA ポリメラーゼ II である、態様 139 に記載の方法。

態様 150. 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 149 に記載の方法。

態様 151. 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 139 に記載の方法。

態様 152 核酸分子が細胞中にある、態様 139 に記載の方法。

態様 153. 細胞が真核生物細胞である、態様 152 に記載の方法。

態様 154. 細胞が動物中にある、態様 152 に記載の方法。

態様 155. 動物が哺乳動物である、態様 154 に記載の方法。

態様 156. 細胞が生物学的サンプルである、態様 152 に記載の方法。

態様 157. 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觸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 (CEBD)、

b) 核酸分子の一部分に相補的な PNA；および

c) シグナリング部分

を含んでなり、

かつ、該キメラ酵素が核酸を転写する場合、PNA がキメラ酵素から発生する 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、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 158. 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 157 に記載の方法。

態様 159. 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 157 に記載の方法。

態様 160. CEBD 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 157 に記載の方法。

態様 161. 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 158 に記載の方法。

態様 162. シグナリング部分が蛍光分子を含んでなる、態様 157 に記載の方法。

態様 163. 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 162 に記載の方法。

態様 164. PNA が、RNA 分子のニ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 157 に記載の方法。

態様 165. PNA が RNA 分子の三ヌクレオチド部分に相補的である、態様 164 に記載の方法。

態様 166. 三ヌクレオチドが核酸配列 CAC を有する、態様 165 に記載の方法。

態様 167. キメラ酵素がキメラリボソームである、態様 157 に記載の方法。

態様 168. 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 167 に記載の方法。

態様 169. 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 157 に記載の方法。

態様 170. 核酸が細胞中にある、態様 157 に記載の方法。

態様 171. 細胞が真核生物細胞である、態様 170 に記載の方法。

態様 172. 細胞が動物中にある、態様 170 に記載の方法。

態様 173. 動物が哺乳動物である、態様 172 に記載の方法。

態様 174. 細胞が生物学的サンプルである、態様 170 に記載の方法。

態様 175. 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觸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 (CEBD)、

b) 核酸分子の一部分に相補的な PNA；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 dynamictime 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。