

【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28年8月12日 (2016.8.12)

【公表番号】特表2015-526069(P2015-526069A)

【公表日】平成27年9月10日 (2015.9.10)

【年通号数】公開・登録公報2015-057

【出願番号】特願2015-520511(P2015-520511)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 19/34 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 P 19/34 A

C 1 2 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成28年6月22日 (2016.6.22)

【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】

核酸分子の増幅方法であって、当該方法が、
RNA テンプレートと、RNA テンプレートにハイブリダイズすることができる 1 以上のプライマーと、逆転写酵素と、デオキシヌクレオシド三リン酸 (d N T P) とを含む第 1 の反応混合物を使用して、リボ核酸 (RNA) テンプレートを逆転写して c D N A を形成する工程と、

1 以上の鎖置換 D N A ポリメラーゼと、1 以上のイノシン含有プライマーと、プライマーのイノシン残基の 3' 側の D N A にニックを入れることができるヌクレアーゼとを含む第 2 の反応混合物を使用して、c D N A を増幅して増幅産物を形成する工程と

を含んでおり、

c D N A テンプレートを変性させずに等温条件下で実施される、方法。

【請求項 2】

逆転写及び増幅が、単一の反応混合物中で達成される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

RNA にハイブリダイズすることができるプライマーの少なくとも 1 つが、イノシン含有プライマー、オリゴ (d T) プライマー、ロックド核酸 (L N A)、ペプチド核酸 (P N A) 及びそれらの組合せを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

第 1 及び第 2 の反応混合物の一方又は両方が、c D N A にアニーリングするための複数のフォワード及びリバースイノシン含有プライマーを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

逆転写酵素が、M M L V 逆転写酵素、A M V 逆転写酵素、H I V 逆転写酵素又はそれらの保存的変異体の 1 つ以上から選択される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

イノシン含有プライマーがホスホロチオエート結合を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

第 1 及び第 2 の反応混合物の一方又は両方が、1 以上の伸長テンプレートを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】

鎖置換 DNA ポリメラーゼがエキソヌクレアーゼ欠損ポリメラーゼである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】

ヌクレアーゼがエンドヌクレアーゼ V を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】

エンドヌクレアーゼ V が、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3 又はそれらの保存的変異体の配列を有するタンパク質から選択される、請求項 9 記載の方法。

【請求項 11】

第 1 及び第 2 の反応混合物の一方又は両方が、1 以上の一本鎖 DNA 結合タンパク質 (SSB) をさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 12】

リボ核酸 (RNA) テンプレートからデオキシリボ核酸 (DNA) を増幅するためのキットであって、
1 以上のイノシン含有プライマーと、
逆転写酵素活酵素と、
鎖置換 DNA ポリメラーゼと、
プライマーのイノシン残基の 3' 側の DNA にニックを入れるためのヌクレアーゼと
を含む、キット。

【請求項 13】

ヌクレアーゼがエンドヌクレアーゼ V である、請求項 12 記載のキット。

【請求項 14】

DNA ポリメラーゼがエキソヌクレアーゼ欠損 DNA ポリメラーゼである、請求項 12 記載のキット。

【請求項 15】

1 以上の伸長テンプレートをさらに含む、請求項 12 記載のキット。