

【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 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 P 19/34 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 A

C 12 P 19/34 A

C 12 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、

R N A テンプレートと、R N A 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(R N A)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】

R N A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。