

【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7月3日(2008.7.3)

【公表番号】特表2008-506417(P2008-506417A)

【公表日】平成20年3月6日(2008.3.6)

【年通号数】公開・登録公報2008-009

【出願番号】特願2007-527461(P2007-527461)

【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 9/12 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 N 9/12

【手続補正書】

【提出日】平成20年5月15日(2008.5.15)

【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】

血液 - 耐性ポリメラーゼを含むPCRアッセイ混合物中でDNA増幅を行うことを含む、一定の体積を有する全血から核酸標的のDNA増幅を得る方法。

【請求項2】

血液 - 耐性ポリメラーゼが、KT-6(配列番号:4)、KT-7(配列番号:6)、KT-10(配列番号:20)、KT-12(配列番号:24)、FL-10(配列番号:28)およびFL-12(配列番号:30)よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む請求項1記載の方法。

【請求項3】

一定の体積を有する全血をPCRアッセイ混合物の3%を超えて含む請求項1記載の方法。

【請求項4】

一定の体積を有する全血をPCRアッセイ混合物の5%ないし20%の範囲で含む請求項1記載の方法。

【請求項5】

さらに、さらなるDNAポリメラーゼ酵素を含む請求項1記載の方法。

【請求項6】

さらなるDNAポリメラーゼ酵素が3'-エキソヌクレアーゼ活性を有するDNAポリメラーゼを含む請求項5記載の方法。

【請求項7】

さらなるDNAポリメラーゼ酵素が、Vent DNAポリメラーゼ、Deep Vent DNAポリメラーゼ、Pfu DNAポリメラーゼおよびPwu DNAポリメラーゼよりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む請求項6記載の方法。

【請求項8】

KT-1(配列番号:2)を含むPCRアッセイ混合物中でDNA増幅を行うことを含む、一定の体積を有する全血から核酸標的のDNA増幅を得る方法。

【請求項9】

一定の体積を有する全血を反応物の最終体積の3%を超えて含む請求項8記載の方法。

【請求項 1 0】

一定の体積を有する全血を反応物の最終体積の5%ないし20%の範囲で含む請求項8記載の方法。

【請求項 1 1】

サーマルサイクリングの前に反応容器中で全血試料がDNA増幅カクテルと混合することを回避することによって、DNA増幅カクテルを用いて全血試料から核酸標的のDNA増幅を得る方法であって、

DNA増幅カクテルを反応容器に添加し、ここにDNA増幅カクテルは少なくとも1のDNAポリメラーゼを含み、

全血試料を反応容器に添加し、ここに全血試料は、反応容器へのDNA増幅カクテルおよび全血試料の添加の順序にかかわらず、DNA増幅カクテルの下方に層をなし、ついで

サーマルサイクリング・プログラムを行って核酸標的のDNA増幅を行うことを含む該方法。

【請求項 1 2】

少なくとも1のDNAポリメラーゼが、KT-6（配列番号：4）、KT-7（配列番号：6）、KT-10（配列番号：20）、KT-12（配列番号：24）、FL-10（配列番号：28）およびFL-12（配列番号：30）よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む血液 - 耐性ポリメラーゼを含む請求項11記載の方法。

【請求項 1 3】

血液 - 耐性ポリメラーゼがKT-6（配列番号：4）を含む請求項11記載の方法。

【請求項 1 4】

血液 - 耐性ポリメラーゼがKT-7（配列番号：6）を含む請求項11記載の方法。

【請求項 1 5】

血液 - 耐性ポリメラーゼがKT-10（配列番号：20）を含む請求項11記載の方法。

【請求項 1 6】

血液 - 耐性ポリメラーゼがKT-12（配列番号：24）を含む請求項11記載の方法。

【請求項 1 7】

血液 - 耐性ポリメラーゼがFL-10（配列番号：28）を含む請求項11記載の方法。

【請求項 1 8】

血液 - 耐性ポリメラーゼがFL-12（配列番号：30）を含む請求項11記載の方法。

【請求項 1 9】

一定の体積を有する全血を反応物の最終体積の3%を超えて含む請求項11の方法。

【請求項 2 0】

一定の体積を有する全血を反応物の最終体積の5%ないし20%の範囲で含む請求項11記載の方法。

【請求項 2 1】

核酸標的のDNA増幅のためのhot startを得る方法であって、

少なくとも第1の体積を有する成分および第2の体積を有する成分を含む反応カクテルの調製を含み、

ここに第2の体積を有する成分は第1の体積を有する成分よりもより重く、

ここに第1の体積を有する成分は、DNA増幅活性に必要な必須の構成成分を欠いているDNAポリメラーゼカクテルを含み、

ここに第2の体積を有する成分はDNA増幅活性に必要な必須の構成成分を含み、

ここに第2の体積を有する成分は、DNA増幅反応が開始される前に、過度に混合することなく第1の体積を有する成分の下方に下敷きされる該方法。

【請求項 2 2】

さらに、第2の体積を有する成分がマグネシウム塩およびデオキシヌクレオチド三リン酸を含む溶液を含む請求項21記載の方法。

【請求項 2 3】

さらに、第2の体積を有する成分が標的テンプレート核酸を含む請求項21記載の方法。

【請求項 2 4】

さらに、第2の体積を有する成分がスクロースまたはソルビトールを含む請求項21記載の方法。

【請求項 2 5】

さらに、第2の体積を有する成分がベタインを含む請求項21記載の方法。

【請求項 2 6】

さらに、第2の体積を有する成分が稠密な組成物を含む請求項21記載の方法。

【請求項 2 7】

さらに、第2の体積を有する成分が全血またはそのサブ画分を含む請求項21記載の方法。

【請求項 2 8】

さらに、第2の体積を有する成分が第1のDNAポリメラーゼ酵素を含む請求項21記載の方法。

【請求項 2 9】

第1のDNAポリメラーゼ酵素が、KT-1（配列番号：2）、KT-6（配列番号：4）、KT-7（配列番号：6）、KT-10（配列番号：20）、KT-11（配列番号：22）、KT-12（配列番号：24）、FL-10（配列番号：28）およびFL-12（配列番号：30）よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む請求項28記載の方法。

【請求項 3 0】

さらに、第2の体積を有する成分が第2のDNAポリメラーゼ酵素を含む請求項28の方法。

【請求項 3 1】

第2のDNAポリメラーゼ酵素が、3'-エキソヌクレアーゼ活性を有するDNAポリメラーゼを含む請求項30記載の方法。

【請求項 3 2】

第2のDNAポリメラーゼ酵素が、Vent DNAポリメラーゼ、Deep Vent DNAポリメラーゼ、Pfu DNAポリメラーゼおよびPwu DNAポリメラーゼよりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む請求項31記載の方法。

【請求項 3 3】

KT-6（配列番号：4）、KT-7（配列番号：6）、KT-10（配列番号：20）、KT-12（配列番号：24）、FL-10（配列番号：28）およびFL-12（配列番号：30）よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーと少なくとも80%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、血液 - 耐性ポリメラーゼを含む該ポリペプチド。

【請求項 3 4】

KT-7（配列番号：6）、KT-11（配列番号：22）、KT-12（配列番号：24）およびFL-12（配列番号：30）よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーと少なくとも80%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、より迅速に伸長するポリメラーゼを含む該ポリペプチド。

【請求項 3 5】

KT-6（配列番号：4）、KT-7（配列番号：6）、KT-10（配列番号：20）、KT-11（配列番号：22）、KT-12（配列番号：24）、FL-10（配列番号：28）およびFL-12（配列番号：30）よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む単離されたポリペプチド。

【請求項 3 6】

少なくとも2のアミノ酸残基置換を有するKT-1（配列番号：2）を含む単離されたポリペプチドであって、少なくとも2のアミノ酸残基置換のうちの1が、単離されたポリペプチドが血液 - 耐性ポリメラーゼ、より迅速に伸長するポリメラーゼ、または血液 - 耐性でより迅速に伸長するポリメラーゼをコードするように、アミノ酸残基ポジション430を含む該ポリペプチド。

【請求項 3 7】

少なくとも3のアミノ酸残基置換を有するTaq DNAポリメラーゼ（配列番号：26）を含む

単離されたポリペプチドであって、少なくとも3のアミノ酸残基置換のうちの1が、単離されたポリペプチドが血液 - 耐性ポリメラーゼ、より迅速に伸長するポリメラーゼ、または血液 - 耐性でより迅速に伸長するポリメラーゼをコードするように、アミノ酸残基ポジション708を含む該ポリペプチド。

【請求項 38】

KT-1 (配列番号：1)、KT-6 (配列番号：3)、KT-7 (配列番号：5)、KT-10 (配列番号：19)、KT-12 (配列番号：23)、Taq DNAポリメラーゼ (配列番号：25)、FL-10 (配列番号：27) および FL-12 (配列番号：29) よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーと少なくとも80%のヌクレオチド配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む単離された核酸であって、血液 - 耐性ポリメラーゼをコードする該核酸。

【請求項 39】

KT-1 (配列番号：1)、KT-7 (配列番号：5)、KT-11 (配列番号：21)、KT-12 (配列番号：23)、Taq DNAポリメラーゼ (配列番号：25) および FL-12 (配列番号：29) よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーと少なくとも80%のヌクレオチド配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む単離された核酸であって、より迅速に伸長するポリメラーゼをコードする該核酸。

【請求項 40】

KT-6 (配列番号：3)、KT-7 (配列番号：5)、KT-10 (配列番号：19)、KT-11 (配列番号：21)、KT-12 (配列番号：23)、FL-10 (配列番号：27) および FL-12 (配列番号：29) よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む単離された核酸。

【請求項 41】

少なくとも2のコドン置換を有するKT-1 (配列番号：1) を含む単離された核酸であって、少なくとも2のコドン置換のうちの1が、単離された核酸が血液 - 耐性ポリメラーゼ、より迅速に伸長するポリメラーゼ、または血液 - 耐性でより迅速に伸長するポリメラーゼをコードするように、コドンポジション430を含む該核酸。

【請求項 42】

少なくとも3のコドン置換を有するTaq DNAポリメラーゼ (配列番号：25) を含む単離された核酸であって、少なくとも3のコドン置換のうちの1が、単離された核酸が血液 - 耐性ポリメラーゼ、より迅速に伸長するポリメラーゼ、または血液 - 耐性でより迅速に伸長するポリメラーゼをコードするように、コドンポジション708を含む該核酸。

【請求項 43】

より迅速に伸長するDNAポリメラーゼを含むPCRアッセイ混合物中で核酸標的の迅速なDNA増幅を得る方法。

【請求項 44】

より迅速に伸長するDNAポリメラーゼが、KT-7 (配列番号：6)、KT-11 (配列番号：22)、KT-12 (配列番号：24) および FL-12 (配列番号：30) よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む請求項43記載の方法。

【請求項 45】

全血の試料に対してPCRアッセイを行うためのキットであって、血液 - 耐性ポリメラーゼを含む該キット。

【請求項 46】

血液 - 耐性ポリメラーゼが、KT-6 (配列番号：4)、KT-7 (配列番号：6)、KT-10 (配列番号：20)、KT-12 (配列番号：24)、FL-10 (配列番号：28) および FL-12 (配列番号：30) よりなる群から選択される少なくとも1のメンバーを含む請求項45記載のキット。

【請求項 47】

全血の試料に対してPCRアッセイを行うためのキットであって、KT-1 (配列番号：2) を含む該キット。