(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.[6]
C12Q 1/68

(11) 공개번호 특1990-0001860
(43) 공개일자 1990년02월27일

(21) 출원번호 특1989-0009897
(22) 출원일자 1989년07월12일

(30) 우선권주장 218,103 1988년07월12일 미국(US)
(71) 출원인 프레지던트 앤드 펠로우즈 오브 하바드 칼리지
미합중국, 메사추세츠 02138, 캠브리지, 퀸시스트리트 17
(72) 발명자 스탠리 타보
미합중국, 매사추세츠 02138, 캠브리지, 훼이어웨더 스트리트 37
챨스 씨.리챠드슨
미합중국, 매사출세츠 02167, 췌스니트 힐 로오드 78
(74) 대리인 나영환

심사청구 : 없음

(54) DNA 시퀀싱

요약

내용 없음

대표도

도1

명세서

[발명의 명칭]

DNA 시퀀싱

[도면의 간단한 설명]

제 1~3도는 생거(Sanger)등이 발표한 DNA 시퀀싱 방법을 도식적으로 나타낸 것이다.

본 내용은 요부공개 건이므로 전문 내용을 수록하지 않았음

(57) 청구의 범위

청구항 1

DNA가닥을 준비하고, 상기 가닥을 그와 하이브리드를 형성할 수 있는 프라이머와 어닐링시켜 어닐링된 혼합물을 수득하고, 상기 어닐링된 혼합물을 데옥시리보뉴클레오시드 트리포스페이트, DNA 폴리머라제 및 첫번째 사슬 종결제와 함께 배양하는데 있어서, 상기 폴리머라제가 상기 프라이머를 연장사켜 연장된 프라이머의 길이만큼 다른 첫번째 시리즈의 제 1 DNA생성물을 생성시키고, 각각의 상기 제 1 DNA 생성물이 자체의 연장된 말단에 상술한 사슬 종결제를 가지며, 각각의 상기 제 1 DNA 생성물이 양 1-20개 염기 정도로 갈이가 다른 실질적으로 모든 DNA 생성물들과 거의 동일하도록 하는 조건들 하에서 배양하는 것을 특징으로 하는 단계들로 구성된 DNA가닥의 시퀀싱 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 제 1 DNA생성물들을 분자량에 따라 겔투과로 분리하여 첫번째 시리즈의 밴드들을 형성시키고, 이들 각각의 첫번째 시리즈 밴드는 특정한 분자량을 갖는 상기 제 1 DNA생성물을 나타내어, 각각의 인접한 첫번째 시리즈 밴드의 강도가 실질적으로 모든 상술한 첫번째 시리즈 밴드에 대하여 거의 동일하도록 하고, 각각의 상기 첫번째 시리즈 밴드의 위치를 측정하는 단계들을 또한 포함하는 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 어닐링된 혼합물에 1~3종의 또다른 사슬 종결제를 각각의 다른 사슬 종결제마다 각기 다른 농도로 가하여, 상기 DNA폴리머라제가 1-3개의 또다른 시리즈의 DNA생성물들을 생산하고, 각각의 부가 시리즈의 각각의 DNA생성물이 자체의 연장된 말단에 상술한 부가의 사슬 종결제들 중 1가지

를 갖고, 동일한 사슬 종결제를 갖는 상기 부가적인 DNA생성물 각각의 양이 20개 염기 범위이내의 모든 길이에 있어서 거의 동일하며, 상이한 사슬 종결제를 가지며 다른 시리즈에 속하되 거의 동일한 분자량을 갖는 모든 DNA 생성물들의 양과 명확히 다르도록 하는 것을 또한 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상술한 모든 DNA생성물을 분자량에 따라 겔투과로 분리하여 총 2-4개 시리즈의 밴드를 각각 형성시키고, 이때, 해당 시리즈내의 각각의 밴드는 특정한 분자량을 가지며 상기 시리즈내의 모든 다른 밴드와 동이한 사슬 종결제를 갖는 DNA 생성물을 나타내어 동일한 시리즈내의 각각의 인접한 밴드의 강도가 거의 동일하되 상이한 시리즈에 속하는 각각의 인접한 밴드의 강도와는 명확히 다르도록 하고, 각각의 시리즈에 속하는 각각의 밴드의 위치와 강도를 측정하는 단계들을 또한 포함하는 방법.

청구항 5

전술한 항들중 어느 한 항에 있어서, 상기 어닐링된 혼합물에 망간 또는 철이온을 가하여 상기 이온이 폴리머라제로 하여금 상술한 사슬 종결제들을 구별하지 못하도록 하는 것을 또한 특징으로 하는 방법.

청구항 6

전술한 항들중 어느 한 항에 있어서, 상기 DNA폴리머라제가 T7-형 DNA폴리머라제, 이.콜리 DNA콜리머라제의 거대단편 및 Taq 폴리머라제로부터 선택된 것임을 또한 특징으로하는방법.

청구항 7

전술한 항들중 어느 한 항에 있어서, 상기 사슬 종결제가 디데옥시뉴클레오시드 트리포스페이트인 것을 또한 특징으로 하는 방법.

청구항 8

전술한 항들중 어느 한 항에 있어서, 상기 어닐링된 혼합물에 킬레이터

(chelator)를 가하는 것을 또한 특징으로 하는 방법.

청구항 9

망간 또는 철이온을 함유하는 것을 특징으로 하는 DNA폴리머라제 공급원과 사슬 종결제를 포함하는 DNA 시퀀시용 키트.

청구항 10

제 9 하에 있어서, 상기 폴리머라제가 T7-형 DNA 폴리머라제, 클레노우

(Klenow) 또는 Taq-폴리머라제이고, 상기 사슬 종결제는 디데옥시뉴클레오시드 트리포스페이트인 것을 특징으로 하는 키트.

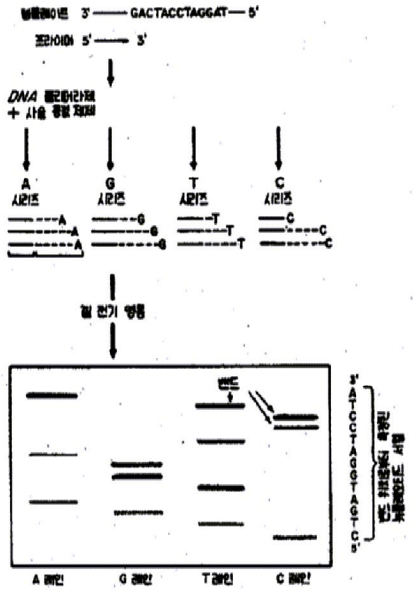
청구항 11

제 9 항에 있어서, 피로포스파타제를 함유하는 것을 특징으로 하는 키트.

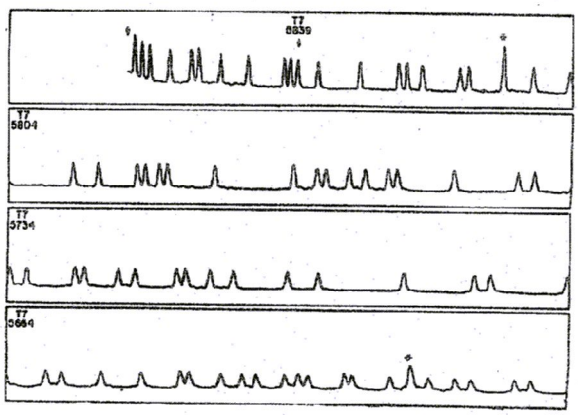
※ 참고사항 : 최초출원 내용에 의하여 공개하는 것임.

도면

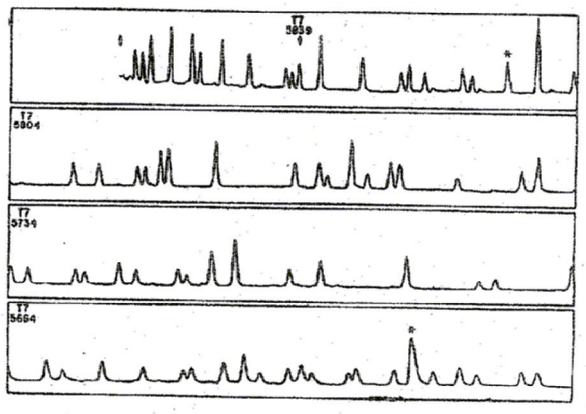
도면1


GACTACCTAGGAT
A 시리즈
G 시리즈
T 시리즈
C 시리즈

도면2


T7
5839
T7
5804
T7
5734
T7
5664

도면3


T7
5839
T7
5804
T7
5734
T7
5664