

【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4月10日 (2008.4.10)

【公表番号】特表2004-529602(P2004-529602A)

【公表日】平成16年9月30日 (2004.9.30)

【年通号数】公開・登録公報2004-038

【出願番号】特願2001-561782(P2001-561782)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 16/40 (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 7/00 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 Q 1/34 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 16/40

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 7/00

C 1 2 N 9/16 Z

C 1 2 Q 1/34

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 5/00 A

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成20年2月22日 (2008.2.22)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列番号：1 の配列を有する核酸分子であって、その核酸分子がセルリから由来の約 309 個の長さのアミノ酸のエンドヌクレアーゼ蛋白をコードし、そのコードされた蛋白が複数の - ヘリックスドメインおよびフレキシブルなカルボキシ末端領域を含む、単離された核酸分子。

【請求項 2】 DNA である、請求項 1 記載の核酸分子。

【請求項 3】 エンドヌクレアーゼ蛋白をコードする長さが約 1135 塩基対の配列を含む cDNA である、請求項 2 記載の DNA 分子。

【請求項 4】 イントロンおよびエキソンを含む遺伝子であって、その遺伝子のエキソンが配列番号：1 の核酸と特異的にハイブリダイズし、そのエキソンがエンドヌクレア

ーゼ蛋白をコードする、請求項 2 記載の DNA 分子。

【請求項 5】 請求項 1 の核酸より転写される単離された RNA 分子。

【請求項 6】

- a) 請求項 1 に記載の蛋白またはポリペプチドをコードする配列；
- b) a) の相補的配列をコードする配列；
- c) 図 2 に示されるヌクレオチドの配列；
- d) a) または c) のいずれかの配列と選択的にハイブリッド形成する能力を有する配列；および
- e) a)、b) または c) の配列のいずれかのフラグメントを含む、ポリヌクレオチド。

【請求項 7】 配列番号：2 のアミノ酸配列および請求項 6 に記載の核酸分子の天然の対立遺伝子の変異体によりコードされるアミノ酸配列からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むエンドヌクレアーゼ蛋白をコードする、請求項 6 記載の核酸分子。

【請求項 8】 配列番号：1 の配列を含む、請求項 7 記載の核酸分子。

【請求項 9】 長さが約 10 個ないし約 200 個のヌクレオチドのオリゴヌクレオチドであって、配列番号：1 と特異的にハイブリダイズする、オリゴヌクレオチド。

【請求項 10】 配列番号：2 の配列を有するエンドヌクレアーゼをコードする核酸分子。

【請求項 11】 請求項 10 の核酸分子によりコードされる単離された蛋白に対して免疫学的に特異的な抗体。

【請求項 12】 モノクローナルである、請求項 11 記載の抗体。

【請求項 13】 ポリクローナルである、請求項 11 に記載の抗体。

【請求項 14】 配列番号：1 の配列を含むプラスミド。

【請求項 15】 配列番号：1 の配列を含むベクター。

【請求項 16】 配列番号：1 の配列を含むレトロウイルスベクター。

【請求項 17】 配列番号：1 の配列を有する核酸分子を含む宿主細胞。

【請求項 18】 細菌、真菌、哺乳動物、昆虫および植物細胞からなる群より選択される、請求項 17 記載の宿主細胞。

【請求項 19】 配列番号：1 の配列を含む宿主動物。

【請求項 20】 CEL I 調節化活性について試験化合物をスクリーニングする方法であって、

- a) CEL I コード化核酸を発現する宿主細胞を得；
- b) 該宿主細胞を CEL I 活性を調節すると思われる化合物と接触させ；および
- c) CEL I のエンドヌクレアーゼ活性における変化により評価されるような CEL I 調節化活性を測定することを含む、方法。

【請求項 21】 一本鎖ポリヌクレオチドの標的配列を含むポリヌクレオチドとハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドの変異していない配列との関係で、該配列を増幅させ、検出可能なマーカーで標識化し、相互にハイブリダイズさせ、エンドヌクレアーゼに曝し、その変異の存在について分析する、該標的配列中の変異を測定する方法であって、

a) 配列番号：2 の配列と 60 % より大きな同一性を有するアミノ酸配列を含む、多量の植物ミスマッチエンドヌクレアーゼを産生するために該エンドヌクレアーゼをコードする単離された核酸分子を宿主生物にて組換え操作により発現させることを含み、その組換え操作により産生されるエンドヌクレアーゼの活性が；

b) 該ハイブリッド形成された配列の間のすべてのミスマッチの検出；

c) 約 100 bp と約 3 kb の間の長さのポリヌクレオチド鎖中の配列の違いの認識；および

d) 隣接するポリヌクレオチド配列により惹起される実質的な副作用のない標的ポリヌクレオチド配列中の該変異の認識を含む、標的配列中の変異を測定する方法。

【請求項 22】 配列番号：2 の配列と 60 % より大きな同一性を有するアミノ酸配列をコードする核酸配列が、BFN1、ZEN1 および DSA6 をコードする核酸配列からなる配列の群より選択される、請求項 21 記載の方法。

【請求項 23】 一本鎖ポリヌクレオチドの標的配列を含むポリヌクレオチドとハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドの変異していない配列との関係で、該配列を増幅させ、検出可能なマーカーで標識化し、相互にハイブリダイズさせ、エンドヌクレアーゼに曝し、変異の存在について分析する、該標的配列中の変異を測定する方法であって、

a) 配列番号：2 のアミノ酸配列を含む、多量の植物ミスマッチエンドヌクレアーゼを産生するために該エンドヌクレアーゼをコードする単離された核酸分子の宿主生物における組換え発現を含み、その組換え操作により産生されるエンドヌクレアーゼの活性が：

b) 該ハイブリッド形成された配列の間のすべてのミスマッチの検出；

c) 約 100 bp と約 3 kb の間の長さのポリヌクレオチド鎖における配列の違いの認識；および

d) 隣接するポリヌクレオチド配列により惹起される実質的な副作用のない標的ポリヌクレオチド配列における該変異の認識を含む、標的配列中の変異を測定する方法。

【請求項 24】 エンドヌクレアーゼがセルリから誘導される、請求項 23 記載の方法。

【請求項 25】 ポリヌクレオチドが DNA である、請求項 23 記載の方法。

【請求項 26】 ポリヌクレオチドが cDNA である、請求項 23 記載の方法。

【請求項 27】 変異が遺伝的障害に適応する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 28】 変異が癌の素因に適応する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 29】 エンドヌクレアーゼ活性を有する CEL I のイソ酵素であり、分子量が 39 kd であり、セルリから単離される、イソ酵素。