

【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23年5月6日(2011.5.6)

【公表番号】特表2010-521973(P2010-521973A)

【公表日】平成22年7月1日(2010.7.1)

【年通号数】公開・登録公報2010-026

【出願番号】特願2009-554750(P2009-554750)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

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 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A G

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

【手続補正書】

【提出日】平成23年3月17日(2011.3.17)

【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】

ステムおよびループを形成するヌクレオチド配列を含むヌクレオチド構築物であって、ループが標的の発現を調節する第 1 のヌクレオチド配列を含み、ステムが標的の発現を調節する第 2 のヌクレオチド配列を含み、第 1 のヌクレオチド配列により調節される標的と第 2 のヌクレオチド配列により調節される標的が同一であっても異なってもよいヌクレオチド構築物。

【請求項 2】

標的の発現を調節する第 2 のヌクレオチド配列が、RNA i 経路を通じて標的の発現を調節する、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 3】

標的の発現を調節する第 1 のヌクレオチド配列が、発現のアンチセンス調節を介して前記標的の発現を調節する、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 4】

プロモーターに作動可能に連結された対象の遺伝子をさらに含み、ループが標的の発現を調節するヌクレオチド配列を含んでも含まなくてもよい、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 5】

プロモーターに作動可能に連結された対象の遺伝子がループ内に位置している、請求項 4 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 6】

ループ中に 1 つまたは複数のスプライス部位をさらに含む、請求項 1 に記載のヌクレオ

チド構築物。

【請求項 7】

ループが、標的の発現を調節する 2 つ以上のヌクレオチド配列を含有する、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 8】

標的の発現を調節する各ヌクレオチド配列が、同一標的の発現を調節してもよく、異なる標的の発現を調節してもよい、請求項 7 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 9】

ステムが、標的の発現を調節する 2 つ以上のヌクレオチド配列を含有する、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 10】

標的の発現を調節する各ヌクレオチド配列が、同一標的の発現を調節してもよく、異なる標的の発現を調節してもよい、請求項 9 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 11】

ステムが、1 つまたは複数の標的の発現を調節する 1 つまたは複数のヌクレオチド配列を含有し、ループが、1 つまたは複数の標的の発現を調節する 1 つまたは複数のヌクレオチド配列を含有する、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 12】

ヌクレオチド配列が PNA を含む、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 13】

PNA が、N - (2 - アミノエチル) グリシン PNA、シクロヘキシル PNA、レトロ - インベルソ PNA、ホスホン PNA、プロピニル PNA、およびアミノプロリン PNA からなる群から選択される、請求項 12 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 14】

ヌクレオチド配列が、Fmoc および / または tBoc プロセスにより合成される、請求項 12 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 15】

ヌクレオチド配列が合成塩基を含む、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 16】

合成塩基が、2' - O - メチル、モルフォリノ、ホスホロチオエート、および閉じ込め塩基からなる群から選択される、請求項 15 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 17】

ヌクレオチド配列が改変された糖を含む、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 18】

改変された糖が、2' - O - メチルリボース、2' - O - アルキルリボース、および 2' - O - アリルリボースからなる群から選択される、請求項 17 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 19】

標的が、遺伝子、オリゴヌクレオチド配列、および / またはタンパク質である、請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 20】

プロモーターに作動可能に連結された請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物を含むベクター。

【請求項 21】

プロモーターが、ウイルスプロモーター、レトロウイルスプロモーター、哺乳動物プロモーター、植物プロモーター、細菌プロモーター、構成的プロモーター、調節性プロモーター、真菌プロモーター、酵母プロモーター、および昆虫プロモーターからなる群から選択される、請求項 20 に記載のベクター。

【請求項 22】

植物プロモーターが、アラビドプシス、ヒマワリ、ワタ、ナタネ、トウモロコシ、コム

ギ、トウゴマ、ヤシ、タバコ、ピーナッツ、モロコシ、サトウキビ、およびダイズにおいて同定されるプロモーターからなる群から選択される、請求項 2 1 に記載のベクター。

【請求項 2 3】

ベクターが、プラスミド、コスミド、レトロウイルスベクター、アグロバクテリウム、ウイルスベクター、細菌ベクター、酵母ベクター、真核生物ベクター、植物ベクター、および哺乳動物ベクターからなる群から選択される、請求項 2 0 に記載のベクター。

【請求項 2 4】

プロモーターに作動可能に連結された請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物のゲノムへの組込みを促進する配列をさらに含む、請求項 2 0 に記載のベクター。

【請求項 2 5】

標的の発現を調節する方法であって、
請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物を細胞に提供すること、および
前記細胞を培養することを含む方法。

【請求項 2 6】

細胞が、原核生物、真核生物、細菌、アグロバクテリウム、酵母、植物、哺乳動物、およびヒトの細胞からなる群から選択される、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

植物細胞が、アラビドプシス、ヒマワリ、ワタ、ナタネ、トウモロコシ、コムギ、トウゴマ、ヤシ、タバコ、ピーナッツ、モロコシ、サトウキビ、およびダイズの細胞において同定されるプロモーターからなる群から選択される、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

標的が、遺伝子、オリゴヌクレオチド配列、および / またはタンパク質である、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 9】

標的の発現を調節する方法であって、
請求項 2 0 に記載のベクターを含むベクターを細胞に提供すること、および
前記細胞中の前記ベクターから請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物を発現することを含む方法。

【請求項 3 0】

標的が、遺伝子、オリゴヌクレオチド配列、および / またはタンパク質である、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

細胞が、原核生物、真核生物、細菌、アグロバクテリウム、酵母、植物、哺乳動物、およびヒトの細胞からなる群から選択される、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 2】

植物細胞が、アラビドプシス、ヒマワリ、ワタ、ナタネ、トウモロコシ、コムギ、トウゴマ、ヤシ、タバコ、ピーナッツ、モロコシ、サトウキビ、およびダイズの細胞からなる群から選択される、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物ならびに薬学的に許容できる担体、希釈剤、および / またはアジュバンドを含む薬物。

【請求項 3 4】

請求項 2 0 に記載のベクターならびに薬学的に許容できる担体、希釈剤、および / またはアジュバンドを含む薬剤組成物。

【請求項 3 5】

請求項 1 に記載のヌクレオチド構築物を含む細胞。

【請求項 3 6】

細胞が、原核生物、真核生物、細菌、アグロバクテリウム、酵母、植物、哺乳動物、およびヒトの細胞からなる群から選択される、請求項 3 5 に記載の細胞。

【請求項 3 7】

植物が、アラビドプシス、ヒマワリ、ワタ、ナタネ、トウモロコシ、コムギ、トウゴマ、ヤシ、タバコ、ピーナッツ、モロコシ、サトウキビ、およびダイズからなる群から選択される、請求項 3 6 に記載の細胞。

【請求項 3 8】

標的を調節するための構築物を作製する方法であって、
塩基対合して構築物中にステム - ループ構造を形成することができる第 1 と第 2 の配列と、第 1 と第 2 の配列の間に配置された第 3 の配列とを組み合わせる単一核酸配列にすることを含み、
前記第 1 と第 2 の配列が塩基対合すると、s i R N A を生成することができ、前記第 3 の配列が、第 1 と第 2 の配列を互いに安定的に対合させるのに十分な長さであり、
前記第 3 の配列が、アンチセンス抑制を通じて標的を調節することができる配列を含む、方法。

【請求項 3 9】

プロモーターに作動可能に連結された対象の遺伝子を含む第 4 の配列を、第 1 と第 2 の配列と組み合わせることをさらに含み、第 3 の配列が存在しても存在しなくてもよい、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

第 4 の配列が第 1 と第 2 の配列の間に配置されている、請求項 3 8 に記載の方法。