

【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17年12月22日(2005.12.22)

【公表番号】特表2004-520833(P2004-520833A)

【公表日】平成16年7月15日(2004.7.15)

【年通号数】公開・登録公報2004-027

【出願番号】特願2002-568730(P2002-568730)

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 15/09

A 0 1 K 67/027

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 35/48

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/02

C 1 2 N 5/10

C 1 2 Q 1/68

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 K 67/027

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 35/48

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/02

C 1 2 Q 1/68 Z

C 1 2 N 5/00 B

【手続補正書】

【提出日】平成16年8月31日(2004.8.31)

【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】

標的遺伝子の発現を阻害する組成物であって、該組成物は再生可能な哺乳動物細胞に曝露されるべき核酸を含み、該核酸は、少なくとも部分的に二重鎖のリボ核酸でありそして標的遺伝子に少なくとも60%の配列同一性を有する、組成物。

【請求項2】

配列同一性が少なくとも 18 個の塩基にわたって維持される、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

標的遺伝子の発現が少なくとも 50 % だけ阻害される、請求項 1 もしくは請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

標的遺伝子が細胞性遺伝子である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5】

標的遺伝子が内在性遺伝子である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 6】

標的遺伝子ががん遺伝子である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 7】

標的遺伝子が導入遺伝子である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

核酸がエレクトロポレーションにより細胞の中に導入される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 9】

細胞が胚性である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 10】

細胞が胚性幹細胞である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 11】

細胞ががん細胞である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 12】

プロテインキナーゼ R (PKR) 阻害剤および / もしくは RNase L 阻害剤と組み合
わせて用いるための、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の組成物であって、該プロテインキナーゼ R 阻害剤および / もしくは
該 RNase L 阻害剤が PKR および / もしくは RNase L に特異的な二重鎖 RNA
である、組成物。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、該リボ核酸が自己相補的である
一つの鎖を含む、組成物。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、該リボ核酸が二つの分離した
相補的である鎖を含む、組成物。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、細胞の外における核酸の合成
をさらに含む、組成物。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、細胞の内における核酸の合成
をさらに含む、組成物。

【請求項 18】

請求項 17 に記載の組成物であって、該核酸が内在性プロモーターの制御下に転写され
る、組成物。

【請求項 19】

請求項 17 に記載の組成物であって、該核酸が細胞内における発現ベクターの産物である、組成物。

【請求項 20】

請求項 19 に記載の組成物であって、該発現ベクターが該核酸に機能し得るように結合
された構成的プロモーターを含む、組成物。

【請求項 2 1】

請求項 1 9 に記載の組成物であって、該発現ベクターが該核酸に機能し得るように結合された誘導性プロモーターを含む、組成物。

【請求項 2 2】

請求項 1 9 に記載の組成物であって、該発現ベクターが該核酸に機能し得るように結合された組織特異的プロモーターを含む、組成物。

【請求項 2 3】

請求項 1 9 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、該発現ベクターがプロモーターに機能し得るように結合された P K R および / もしくは R N A s e L d s R N A をコードする配列をさらに含む、組成物。

【請求項 2 4】

請求項 1 9 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、該発現ベクターがレポーター遺伝子に機能し得るように結合されたプロモーターをさらに含み、そこでは該プロモーターが第二のプロモーター、双方向性プロモーター、もしくはポリシストロンメッセージを駆動するプロモーターからなる群から選択される、組成物。

【請求項 2 5】

請求項 2 4 に記載の組成物であって、該レポーター遺伝子が蛍光タンパク質、抗生物質、ベータ - ガラクトシダーゼおよびルシフェラーゼからなる群から選択される、組成物。

【請求項 2 6】

請求項 2 4 もしくは請求項 2 5 に記載の組成物であって、細胞培養での拡張のために該レポーター遺伝子を発現する細胞の選択と組み合わせて用いるための、組成物。

【請求項 2 7】

細胞が胚性幹細胞である、請求項 2 4 に記載の組成物。

【請求項 2 8】

請求項 1 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、細胞は生体中に存在しそして標的遺伝子発現の阻害が機能喪失表現型を実証する、組成物。

【請求項 2 9】

興味のある標的遺伝子に少なくとも 6 0 % の配列同一性を有する少なくとも部分的に二重鎖のリボ核酸をコードする核酸、ならびに P K R 、 R N A s e L 、 2 ' , 5 ' オリゴアデニル酸サイクラーぜおよび M x タンパク質の一つもしくはそれ以上を阻害するのに有効な少なくとも一つの d s R N A 分子をコードする第二の核酸を含む、発現構築物。

【請求項 3 0】

細胞内の標的遺伝子の発現を阻害する試薬を含有するキットであって、そこでは該キットは標的遺伝子の発現を阻害するのに十分な量でリボ核酸(R N A)を哺乳動物細胞内に導入するための手段を含み、そしてそこでは R N A が標的遺伝子の一部と比較して同一なヌクレオチド配列を持つ少なくとも部分的に二重鎖の構造を有する、キット。

【請求項 3 1】

請求項 1 ~ 2 8 に記載の組成物のいずれかにより達成される遺伝子サイレンシングを示す、哺乳動物細胞。

【請求項 3 2】

請求項 3 1 に記載の少なくとも一つの細胞を用いて製造される標的遺伝子サイレンシングを示す、ヒト以外の、トランスジェニック哺乳動物。

【請求項 3 3】

D N A 配列に機能をアサインする方法であって、該方法は

a)該所望の D N A 配列の細胞性相同体の遺伝子発現を阻害するのに十分な量において、核酸に哺乳動物細胞を曝露することであって、該核酸が少なくとも部分的に二重鎖のリボ核酸でありそして機能未知の所望の D N A 配列と少なくとも 6 0 % の配列同一性を有し、

b)野生型と比較した該哺乳動物細胞の表現型を同定すること、そして

c)該表現型を該所望の核酸にアサインすること

を含む、方法。

【請求項 3 4】

請求項3_3に記載の方法であって、該所望の核酸が発現ベクターの中にクローン化されて、自己相補的である転写物の產生を可能にする、方法。

【請求項 3 5】

細胞の中に特定の表現型を授与する役割を果たすDNAを同定する方法であって、

a) プロモーター(複数を含む)に適切な転写因子を結合させて、cDNAもしくはDNAの二重鎖(ds)RNAへの転写を開始する能力のあるプロモーター(複数を含む)に対する方向において適当なベクターの中に該細胞のDNAのcDNAもしくはゲノムライブラリーを構築すること、

b) 該ライブラリーを、該転写因子を含む一つもしくはそれ以上の哺乳動物細胞に導入すること、および

c) 該ライブラリーを含む該細胞の特定の表現型を同定および単離すること、ならびに該ライブラリーから該表現型を授与する役割を果たすDNAもしくはcDNAフラグメントを同定すること

を含む、方法。