

【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】令和 3 年 8 月 12 日 (2021.8.12)

【公表番号】特表 2020-530980 (P2020-530980A)

【公表日】令和 2 年 11 月 5 日 (2020.11.5)

【年通号数】公開・登録公報 2020-045

【出願番号】特願 2019-572536 (P2019-572536)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/55 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 31/711 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/08 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/10 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 33/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/56 (2017.01)

A 6 1 K 47/62 (2017.01)

A 6 1 K 47/61 (2017.01)

A 6 1 K 47/54 (2017.01)

A 6 1 K 47/69 (2017.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/11 Z N A Z

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 5/10

A 6 1 K 31/711

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 P 37/02

A 6 1 P 37/08

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/10

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 33/00

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 47/56

A 6 1 K 47/62

A 6 1 K 47/61  
A 6 1 K 47/54  
A 6 1 K 47/69  
A 6 1 K 39/00 Z

【手続補正書】

【提出日】令和3年7月2日(2021.7.2)

【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】

少なくとも1つのコード領域を含む人工核酸分子であって、前記少なくとも1つのコード領域が、

K R A S に由来する少なくとも1つの抗原性ペプチド又はタンパク質と、

外部原形質膜に位置する少なくとも1つの免疫応答活性化シグナル伝達タンパク質 ( I R S T <sub>e p m</sub> ) に由来する少なくとも1つの更なるアミノ酸配列とをコードし、

前記外部原形質膜に位置する少なくとも1つの免疫応答活性化シグナル伝達タンパク質は C T L A 4 であり、

前記少なくとも1つの更なるアミノ酸配列が、少なくとも1つの膜貫通ドメインを含む又はからなることを特徴とする人工核酸分子。

【請求項2】

前記少なくとも1つの更なるアミノ酸配列が、少なくとも1つの細胞質ドメインを更に含む請求項1に記載の人工核酸分子。

【請求項3】

前記少なくとも1つのコード領域が、少なくとも1つのシグナルペプチドを更にコードし、

前記シグナルペプチドが、配列番号148に対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又はからなり、任意に、配列番号148、356、564、772、980、1188、1396、1604、1812、2020、2228、2436、2644、2852のいずれかに係る核酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体によってコードされる請求項1から2のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項4】

K R A S が、配列番号76442に対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又はからなり、配列番号76517、76592のいずれかに係る核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、若しくは誘導体によってコードされる請求項1に記載の人工核酸分子。

【請求項5】

K R A S が、G 1 2 A、G 1 2 C、G 1 2 D、G 1 2 F、G 1 2 R、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 3 C、G 1 3 D、K 1 1 7 N、Q 6 1 H、Q 6 1 K、Q 6 1 L、Q 6 1 R、又はA 1 4 6 T から選択される少なくとも1つのアミノ酸変異を含む請求項3に記載の人工核酸分子。

【請求項6】

前記変異 K R A S が、配列番号24352、27904～27920のいずれかに対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又はからなり、配列番号48879、52131～52147、72806、76358～76374のいずれかに係る核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、若しくは誘導体によってコードされる請求項3から4のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 7】

前記変異 K R A S が、配列番号 2 7 9 0 5、2 7 9 0 6、2 7 9 0 9 ~ 2 7 9 1 9 のいずれかに対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又ははからなり、配列番号 5 2 1 3 2、5 2 1 3 3、5 2 1 3 6 ~ 5 2 1 4 6、7 6 3 5 9、7 6 3 6 0、7 6 3 6 3 ~ 7 6 3 7 3 のいずれかに係る核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、若しくは誘導体によってコードされる請求項 4 から 5 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 8】

前記 I R S T<sub>e p m</sub> が、配列番号 1 5 7 ~ 1 7 9 のいずれかに対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又ははからなり、任意に、配列番号 3 6 5 ~ 3 8 7、5 7 3 ~ 5 9 5、7 8 1 ~ 8 0 3、9 8 9 ~ 1 0 1 1、1 1 9 7 ~ 1 2 1 9、1 4 0 5 ~ 1 4 2 7、1 6 1 3 ~ 1 6 3 5、1 8 2 1 ~ 1 8 4 3、2 0 2 9 ~ 2 0 5 1、2 2 3 7 ~ 2 2 5 9、2 4 4 5 ~ 2 4 6 7、2 6 5 3 ~ 2 6 7 5、2 8 6 1 ~ 2 8 8 3 のいずれかに対応する核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、若しくは誘導体によってコードされる請求項 1 から 7 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 9】

前記少なくとも 1 つの更なるアミノ酸配列が、少なくとも 1 つの膜貫通ドメインと、配列番号 7 6 6 3 6 に対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又ははからなる少なくとも 1 つの細胞質ドメインとを含む又ははからなり、配列番号 7 6 6 5 9、7 6 6 8 2、7 6 7 0 5、7 6 7 2 8、7 6 7 5 1、7 6 7 7 4、7 6 7 9 7、7 6 8 2 0、7 6 8 4 3、7 6 8 6 6、7 6 8 8 9、7 6 9 1 2、7 6 9 3 5、7 6 9 4 7、7 7 0 6 6、7 7 0 0 4 ~ 7 7 0 1 7 のいずれかに対応する核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、又は誘導体、好ましくは配列番号 7 7 0 6 6 によってコードされる請求項 1 から 8 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 10】

前記膜貫通ドメインが、配列番号 2 0 0 に対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又ははからなり、配列番号 4 0 8、6 1 6、8 2 4、1 0 3 2、1 2 4 0、1 4 4 8、1 6 5 6、1 8 6 4、2 0 7 2、2 2 8 0、2 4 8 8、2 6 9 6、2 9 0 4 のいずれかに対応する核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、若しくは誘導体によってコードされる請求項 1 から 8 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 11】

前記少なくとも 1 つのコード領域に、少なくとも 1 つのリンカーを更にコードし、  
前記リンカーが、非免疫原性リンカーであり、前記非免疫原性リンカーが、配列番号 2 9 3 6、7 6 4 9 4、7 6 5 6 9、7 6 4 7 5 ~ 7 6 4 9 3、7 6 5 5 0 ~ 7 6 5 6 8、7 7 0 5 9 ~ 7 7 0 6 1 のいずれかに係る核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、若しくは誘導体によって任意にコードされる配列番号 2 9 3 7、7 6 4 0 0 ~ 7 6 4 1 8、7 7 0 1 8 ~ 7 7 0 5 8 のいずれかに係るアミノ酸配列を任意に含む又ははからなる請求項 1 から 10 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 12】

前記少なくとも 1 つのコード領域が、少なくとも 1 つの T ヘルパーエпитープを更にコードし、  
前記ヘルパーエピトープ配列が、配列番号 2 9 2 6 に対応するアミノ酸配列、又はその断片、変異体、若しくは誘導体を含む又ははからなり、任意に、配列番号 2 9 2 1、3 2 9 5、及び 3 5 0 7 のいずれかに係る核酸配列、又は前記配列のいずれかの断片、変異体、若しくは誘導体によってコードされる請求項 1 から 11 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 13】

以下の式 (I) の少なくとも 1 つのコード領域を好ましくは 5' 3' 方向に含む請求項 1 から 12 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【化 1】

$$-(\text{SIG})_a-(\text{L})_b-[(\text{AN})_c-(\text{L})_d]_e-[(\text{IM})_m-(\text{L})_n]_o-(\text{TMD/TMCD})_p-$$

(I)

(式中、

「SIG」は、好ましくは請求項 3 で定義される、シグナルペプチドをコードし、

「L」は、好ましくは請求項 11 で定義される、リンカー配列をコードし、

各「AN」は、好ましくは請求項 4、5、6、及び 7 のいずれかで定義される、同一又は異なる抗原性ペプチド又はタンパク質をコードし、

「IM」は、好ましくは請求項 12 で定義される、ヘルパーエピトープをコードし、

「TMD/TMCD」は、外部原形質膜に位置する免疫応答シグナル伝達タンパク質に由来するアミノ酸配列、好ましくは請求項 10 で定義される好ましくは膜貫通ドメイン、及び任意に、好ましくは請求項 9 で定義される細胞質ドメインをコードし、

b、d、m、n、o はそれぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び 10 から選択される整数であり、

a、c、e、p はそれぞれ独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び 10 から選択される整数である。) )

## 【請求項 14】

前記人工核酸分子が、RNA であり、

前記 RNA が、mRNA、ウイルス RNA、レプリコン RNA、又は環状 RNA、好ましくは mRNA である請求項 1 から 13 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 15】

前記人工核酸分子が修飾され、好ましくは安定化され、

前記少なくとも 1 つのコード領域の G / C 含量が、対応する野生型人工核酸の対応するコード配列の G / C 含量と比較して増加している、及び / 又は、

前記少なくとも 1 つのコード領域の C 含量が、対応する野生型人工核酸の対応するコード配列の C 含量と比較して増加している、及び / 又は

前記少なくとも 1 つのコード領域のコドンが、ヒトのコドン使用に適合されており、コドン適合度指数 (CAI) が、好ましくは、前記人工核酸の前記少なくとも 1 つのコード配列において増加又は最大化されており、

前記人工核酸によってコードされるアミノ酸配列が、好ましくは、前記対応する野生型人工核酸によってコードされるアミノ酸配列と比較して変化しない請求項 1 から 14 のいずれかに記載の人工核酸分子、好ましくは RNA。

## 【請求項 16】

前記少なくとも 1 つのコード領域が、配列番号 417 ~ 2912、76671 ~ 76947、77004 ~ 77017、77066 のいずれかに対応する核酸配列を含む又はからなる請求項 15 に記載の人工核酸分子、好ましくは RNA。

## 【請求項 17】

以下のエレメントを好ましくは 5' → 3' 方向に含む請求項 1 から 16 のいずれかに記載の人工核酸分子、好ましくは RNA。

a) 5' - キャップ構造、好ましくは m7GpppN、ARCA Cap、又は Cap1、

b) 任意に、好ましくは配列番号 3061 又は 3063 に係る核酸配列に対応する核酸配列、又はその断片、変異体、若しくは対応する RNA 配列を含む又はからなる 5' - UTR エレメント、

c) 請求項 1 から 16 のいずれかで定義される少なくとも 1 つのコード配列、

d) 任意に、好ましくは配列番号 3065、3067、3069、3071、3073、3075、又は 3077 に係る核酸配列、又はその断片、変異体、若しくは対応する R

N A 配列に対応する核酸配列を含む又はからなる 3' - U T R エlement、

e) 任意に、好ましくは 10 ~ 1000 個、10 ~ 500 個、10 ~ 300 個、10 ~ 200 個、10 ~ 100 個、40 ~ 80 個、又は 50 ~ 70 個のアデノシンヌクレオチドからなるポリ ( A ) テール、

f) 任意に、好ましくは 10 ~ 200 個、10 ~ 100 個、20 ~ 70 個、20 ~ 60 個、又は 10 ~ 40 個のシトシンヌクレオチドからなるポリ ( C ) テール、及び

g) 任意に、配列番号 3079 又は 3080 に対応する核酸配列を任意に含む又はからなるヒストンステムループ。

**【請求項 18】**

請求項 1 から 17 のいずれかに記載の少なくとも 1 つの人工核酸分子、好ましくは R N A、及び薬学的に許容される担体及び / 又は賦形剤を含み、

前記人工核酸分子、好ましくは R N A が、好ましくは 1 つ以上のカチオン性又はポリカチオン性化合物、より好ましくはカチオン性又はポリカチオン性ポリマー、カチオン性又はポリカチオン性ペプチド又はタンパク質、例えば、プロタミン、カチオン性又はポリカチオン性多糖、及び / 又はカチオン性又はポリカチオン性脂質と複合体化され、

前記カチオン性又はポリカチオン性化合物が、好ましくはポリマー担体であることを特徴とする組成物、好ましくは医薬組成物又はワクチン。

**【請求項 19】**

請求項 1 から 17 のいずれかに記載の少なくとも 2 つの複数の人工核酸分子を含み、好ましくは前記複数の人工核酸分子の少なくとも 2 つは、異なる抗原性ペプチド又はタンパク質をコードし、前記抗原性ペプチド又はタンパク質は、任意に、請求項 4、5、6、及び 7 のいずれかで定義される抗原性ペプチド又はタンパク質、又はその断片、変異体、若しくは誘導体から選択される請求項 18 に記載の組成物。

**【請求項 20】**

前記人工核酸分子、好ましくは R N A の、前記 1 つ以上のカチオン性又はポリカチオン性化合物に対する N / P 比が、約 0.3 ~ 4、約 0.5 ~ 2、約 0.7 ~ 2、及び約 0.7 ~ 1.5 の範囲を含む約 0.1 ~ 10 の範囲である請求項 18 に記載の ( 医薬 ) 組成物又はワクチン。

**【請求項 21】**

前記人工核酸分子、好ましくは R N A が、1 つ以上の脂質と複合体を形成して、脂質ナノ粒子、リポプレックス、及び / 又は好ましくはリボソームを形成する請求項 18 から 20 のいずれかに記載の ( 医薬 ) 組成物又はワクチン。

**【請求項 22】**

請求項 1 から 17 のいずれかに記載の人工核酸分子、好ましくは R N A、又は請求項 18 から 21 のいずれかに記載の ( 医薬 ) 組成物又はワクチンと、任意に液体ビヒクル及び / 又は任意に前記人工核酸分子又は前記組成物の用法及び用量に関する情報を含む技術的指示とを含むことを特徴とするキット、好ましくはキットオブパーツ。

**【請求項 23】**

がんの治療又は予防のための医薬としての使用のための、請求項 1 から 17 のいずれかに記載の人工核酸分子、好ましくは R N A、請求項 18 から 21 のいずれかに記載の ( 医薬 ) 組成物又はワクチン、又は請求項 22 に記載のキット。

**【請求項 24】**

投与が、非経口、好ましくは皮内、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、経皮、又は腫瘍内で行われる請求項 23 に係る使用のための人工核酸分子、好ましくは R N A。

**【請求項 25】**

前記患者を以下の追加療法の少なくとも 1 つ以上に供することを更に含む請求項 23 から 24 のいずれかに係る使用のための人工核酸分子、好ましくは R N A：化学療法 ( 例えば、第 1 選択又は第 2 選択化学療法 )、放射線療法、化学放射線療法 ( 化学療法と放射線療法の組合せ )、キナーゼ阻害剤、抗体療法及び / 又はチェックポイントモジュレーター ( 例えば、C T L A 4 阻害剤、P D 1 経路阻害剤 ) 又はペプチドプロセッシング障害に関連

する T 細胞エピトープ ( T E I P P ) の発現を誘導する阻害剤。

【請求項 26】

インビトロ細胞培養又は細胞処理方法であって、( a ) 細胞をインビトロで提供すること、( b ) 前記細胞を、請求項 1 から 17 のいずれかに記載の人工核酸分子、好ましくは R N A、請求項 18 から 21 のいずれかに記載の(医薬)組成物又はワクチン、又は請求項 22 に記載のキットと接触させることを含むインビトロ細胞培養又は細胞処理方法。