

【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9月30日(2021.9.30)

【公表番号】特表2020-532963(P2020-532963A)

【公表日】令和2年11月19日(2020.11.19)

【年通号数】公開・登録公報2020-047

【出願番号】特願2020-509060(P2020-509060)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/54	(2006.01)
C 1 2 N	15/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	9/12	(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	5/10	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6844	(2018.01)
C 1 2 Q	1/48	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/54	
C 1 2 N	15/10	Z N A Z
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	9/12	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 Q	1/6844	Z
C 1 2 Q	1/48	Z

【手続補正書】

【提出日】令和3年8月17日(2021.8.17)

【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】

リボ核酸(RNA)ポリメラーゼバリアントであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、前記RNAポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて前記RNAポリメラーゼバリアントのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせるアミノ酸置換を含む、前記リボ核酸(RNA)ポリメラーゼバリアント。

【請求項2】

前記アミノ酸置換が、野生型アミノ酸と比較して高いヘリックス性向を有する、請求項1に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項3】

前記RNAポリメラーゼが、T7 RNAポリメラーゼである、請求項1または2に記

載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 4】

前記ループ構造が、C ヘリックス構造中にある、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 5】

前記ループ構造が、C リンカー構造中にある、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 6】

前記アミノ酸置換が、高ヘリックス性向アミノ酸置換である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 7】

前記高ヘリックス性向酸置換が、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及びグルタミン酸から選択される、請求項 6 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 8】

前記高ヘリックス性向アミノ酸置換が、アラニンである、請求項 7 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 9】

前記 T 7 RNA ポリメラーゼバリアントが、配列番号 1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 10】

前記 T 7 RNA ポリメラーゼが、E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、G 4 7、A 2 5 5、R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び A 2 6 2 から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 11】

E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、G 4 7、A 2 5 5、R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び A 2 6 2 から選択される少なくとも 1 つの位置にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 12】

前記アミノ酸置換が、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及びグルタミン酸から選択される、請求項 10 又は 11 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 13】

前記アミノ酸置換が、S 4 3 A を含む、請求項 1 2 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 14】

前記アミノ酸置換が、G 4 7 A を含む、請求項 1 2 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 15】

追加の C 末端アミノ酸をさらに含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 16】

前記追加の C 末端アミノ酸が、グリシン (G) を含む、請求項 1 5 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 17】

前記 RNA ポリメラーゼバリアントが、配列番号 108 のアミノ酸配列を含む、請求項 1_3 、 1_5 、または 1_6 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 18】

前記 RNA ポリメラーゼバリアントが、配列番号 110 のアミノ酸配列を含む、請求項 1_4 ~ 1_6 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 19】

野生型 RNA ポリメラーゼと比較して追加の C 末端アミノ酸を含む、リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼバリアント。

【請求項 20】

$F_A F_A X_n$ (配列番号 171) モチーフを含む C 末端を含み、X が任意のアミノ酸であり、n がゼロより大きい任意の整数である、RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 21】

$X_A F_A X_n$ モチーフ、 $F_X F_A X_n$ モチーフ、 $F_A X_A X_n$ モチーフ、または $F_A F_{XX_n}$ モチーフを含む C 末端を含み、各 X が任意のアミノ酸であり、n はゼロより大きい任意の整数である、RNA ポリメラーゼバリアント、任意選択により T7 RNA ポリメラーゼバリアント。

【請求項 22】

RNA 転写物の生成をもたらす条件下で、DNA 鑄型を請求項 1 ~ 2_1 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼと接触させることを含む、リボ核酸 (RNA) を生成する方法。

【請求項 23】

RNA 転写物の生成をもたらす条件下で、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、DNA 鑄型を請求項 1 ~ 2_1 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼと接触させることを含む、インビトロ転写 (IVT) 反応を行う方法。

【請求項 24】

請求項 1 ~ 2_1 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアントをコードする核酸。

【請求項 25】

請求項 1 ~ 2_1 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリアント及び任意選択によりインビトロ転写 (IVT) 試薬を含む、組成物またはキット。

【請求項 26】

請求項 2_2 または 2_3 に記載の方法により生成される、リボ核酸 (RNA) 、任意選択によりメッセンジャー RNA (mRNA) 。

【請求項 27】

RNA 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鑄型を RNA ポリメラーゼバリアント、任意選択により T7 RNA ポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む、リボ核酸 (RNA) 合成のための共転写キャッピング方法。

【請求項 28】

前記キャップ類似体が、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップである、請求項 2_7 に記載の方法。

【請求項 29】

野生型 T7 RNA ポリメラーゼと少なくとも 90 % の同一性を有し、(a) 配列番号 1 のアミノ酸 47 位に対応するアミノ酸位置のアラニン及び (b) 追加の C 末端グリシンを含むように修飾されているアミノ酸配列を含む、T7 リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼ。

【請求項 30】

前記トリヌクレオチドキャップが、G p p p A₂ o m e p G である、請求項 2_9 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。