

【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) ポリメラーゼバリエントであって、野生型 RNA ポリメラーゼと比較して、前記 RNA ポリメラーゼバリエ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 ポリメラーゼバリエ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) ポリメラーゼバリエント。

【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 ポリメラーゼバリエント。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【請求項9】

前記T7 RNAポリメラーゼバリエーションが、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ポリメラーゼバリエーション。

【請求項10】

前記T7 RNAポリメラーゼが、E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、A258、G259、A260、L261、及びA262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ポリメラーゼバリエーション。

【請求項11】

E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、A258、G259、A260、L261、及びA262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ポリメラーゼバリエーション。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【請求項13】

前記アミノ酸置換が、S43Aを含む、請求項12に記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【請求項14】

前記アミノ酸置換が、G47Aを含む、請求項12に記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【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ポリメラーゼバリエーション。

【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15に記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【請求項 17】

前記RNAポリメラーゼバリエントが、配列番号108のアミノ酸配列を含む、請求項13、15、または16のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリエント。

【請求項 18】

前記RNAポリメラーゼバリエントが、配列番号110のアミノ酸配列を含む、請求項14～16のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリエント。

【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)ポリメラーゼバリエント。

【請求項 20】

FAFAX_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ポリメラーゼバリエント。

【請求項 21】

XAFAX_nモチーフ、FXFAAX_nモチーフ、FAXAX_nモチーフ、またはFAFXX_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ポリメラーゼバリエント、任意選択によりT7 RNAポリメラーゼバリエント。

【請求項 22】

RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を請求項1～21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鋳型を請求項1～21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1～21のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリエントをコードする核酸。

【請求項 25】

請求項1～21のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリエ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22または23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、ポリヌクレオチド鋳型をRNAポリメラーゼバリエント、任意選択によりT7 RNAポリメラーゼバリエント、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27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、GpppA₂omepGである、請求項29に記載のT7 RNAポリメラーゼ。