

【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4月28日(2011.4.28)

【公表番号】特表2010-521978(P2010-521978A)

【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2009-554792(P2009-554792)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	15/115	(2010.01)
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
C 1 2 N	1/20	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)
C 0 7 D	487/04	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/519	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	15/00	H
C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 N	1/20	A
C 1 2 N	1/20	E
C 1 2 P	21/02	A
C 0 7 D	487/04	1 4 0
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	31/519	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	43/00	1 2 1

【手続補正書】

【提出日】平成23年3月8日(2011.3.8)

【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】

コード領域に作動可能に連結された p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含む RNA をコードする核酸分子を含む調節可能な遺伝子発現構築物であって、該リボスイッチが該 RNA の発現を調節し、該リボスイッチと該コード領域とが異種である、構築物。

【請求項2】

(a) 前記リボスイッチがアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含み、該アプタマードメインと該発現プラットフォームドメインとが異種であるか、または

(b) 前記リボスイッチが2つ以上のアプタマードメインおよび1つの発現プラットフォームドメインを含み、該アプタマードメインのうちの少なくとも1つと該発現プラットフォームドメインとが異種である、

請求項1に記載の構築物。

【請求項3】

少なくとも2つの前記アプタマードメインが協同的結合を示す、請求項2に記載の構築物。

【請求項4】

天然に存在するp r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチの非天然誘導体である、リボスイッチ。

【請求項5】

(a) 前記リボスイッチがアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含み、該アプタマードメインと該発現プラットフォームドメインとが異種であるか、

(b) 前記リボスイッチが1つまたは複数のさらなるアプタマードメインをさらに含むか、

(c) 前記リボスイッチがトリガー分子によって活性化された場合にシグナルを生成するか、または

前記リボスイッチがアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含み、該アプタマードメインと該発現プラットフォームドメインとが異種であることと、前記リボスイッチが1つまたは複数のさらなるアプタマードメインをさらに含むことと、前記リボスイッチがトリガー分子によって活性化された場合にシグナルを生成することとの組み合わせである、

請求項4に記載のリボスイッチ。

【請求項6】

少なくとも2つの前記アプタマードメインが協同的結合を示す、請求項5に記載のリボスイッチ。

【請求項7】

目的の化合物を検出する方法であって、サンプルをリボスイッチと接触させる工程を含み、該リボスイッチが該目的の化合物によって活性化され、該目的の化合物によって活性化された場合に該リボスイッチがシグナルを生成し、該サンプルが該目的の化合物を含む場合に該リボスイッチがシグナルを生成し、該リボスイッチがp r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチまたはp r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチの誘導体を含む、方法。

【請求項8】

(a) 前記目的の化合物によって活性化された場合に前記リボスイッチが高次構造を変化させ、該高次構造の変化によって高次構造依存性標識を介してシグナルが生成されるか、または

(b) 該高次構造の変化によって該リボスイッチに連結したRNAの発現が変化し、該発現の変化によってシグナルを生成する

請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記シグナルが、前記リボスイッチに連結した前記RNAから発現したレポータータンパク質によって生成される、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

(a) リボスイッチを含むRNAをコードする遺伝子の遺伝子発現の阻害について化合物を試験する工程であって、該阻害が該リボスイッチを介し、該リボスイッチがp r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチまたはp r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチの誘導体を含む、試験する工程、

(b) 工程(a)で遺伝子発現を阻害した化合物と細菌細胞との接触によって遺伝子発現を阻害する工程であって、該細菌細胞がリボスイッチを含むRNAをコードする遺伝子を含み、該化合物が該リボスイッチへの結合によって該遺伝子の発現を阻害する、阻害工程を含む、方法。

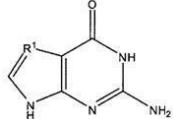
## 【請求項 1 1】

p re Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを同定する方法であって、該方法が、p re Q<sub>1</sub> の存在下および非存在下での RNA 分子のインライン自発切断 (in-line spontaneous cleavage) を評価する工程であって、該 RNA 分子が p re Q<sub>1</sub> によって調節される遺伝子によってコードされ、該 RNA 分子のインライン自発切断パターンの変化が p re Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを示す、工程を含む、方法。

## 【請求項 1 2】

細胞中の遺伝子発現を阻害するための組成物であって、化合物を含み、該化合物が式 I :

## 【化 1 9】



(式中、

R<sup>1</sup> は、 C H、 N、 C - N H<sub>2</sub>、 C - C H<sub>2</sub> - N H<sub>2</sub>、 C - C N、 C - C (O) N H<sub>2</sub>、 C - C H = N H、 C - C H<sub>2</sub> - N (C H<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、または C - 水素結合供与体である) の構造を有し、

該細胞が p re Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含む RNA をコードする遺伝子を含み、該化合物が、該 p re Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチへの結合によって該遺伝子の発現を阻害する、組成物。

## 【請求項 1 3】

前記細胞が遺伝子発現の阻害が必要であると同定されているか、前記細胞が細菌細胞であるか、

前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは該細菌細胞の増殖を阻害するか、または前記細胞が遺伝子発現の阻害が必要であると同定されていることと、前記細胞が細菌細胞であることと、前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは該細菌細胞の増殖を阻害することとの組み合わせである、請求項 1 2 に記載の組成物。

## 【請求項 1 4】

前記組成物が被験体への投与のためのものであることを特徴とする、請求項 1 2 に記載の組成物。

## 【請求項 1 5】

前記細胞が前記被験体中の細菌細胞であり、前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは該細菌細胞の増殖を阻害するか、

前記被験体が細菌感染を有するか、

前記細胞が p re Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含むか、または

前記細胞が前記被験体中の細菌細胞であり、前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは該細菌細胞の増殖を阻害することと、前記被験体が細菌感染を有することと、前記細胞が p re Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含むこととの組み合わせである、

請求項 1 4 に記載の組成物。

## 【請求項 1 6】

前記組成物が別の抗菌化合物をさらに含むか、または

前記化合物がバイオフィルム中の細菌増殖を阻害する、請求項 1 2 に記載の組成物。

## 【請求項 1 7】

p re Q<sub>1</sub> の產生方法であって、該方法は、

(a) p re Q<sub>1</sub> を產生することができる変異細菌細胞を培養する工程であって、該変異細菌細胞が該 p re Q<sub>1</sub> リボスイッチの変異を含み、該変異を持たない細胞と比較して、

該変異が、該変異細菌細胞による p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 産生を増加させる、培養工程、  
(b) 該細胞培養物から p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> を単離し、それにより、p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> を産生する工程、  
を含む、方法。

【請求項 18】

前記 p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> リボスイッチの前記変異を含まない細菌細胞の培養と比較して、p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 産生量が少なくとも 10% 増加するか、または

前記 p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> リボスイッチの前記変異を含まない細菌細胞の培養と比較して、p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 産生量が少なくとも 25% 増加する、

請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> リボスイッチの前記変異がノックアウト変異である、請求項 17 に記載の  
方法。

【請求項 20】

p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> リボスイッチの変異を含む細菌細胞であって、該変異を持たない細胞と比較し  
た場合に、該変異が、該変異を含む細菌細胞による p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 産生を測定可能な程度に増  
加させる、細菌細胞。

【請求項 21】

細菌細胞増殖を阻害するための組成物であって、該組成物は、p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイ  
ッチに結合する化合物を含み、該細胞が p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含む RNA をコ  
ードする遺伝子を含み、該化合物が該 p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチへの結合によって細  
菌細胞増殖を阻害し、それにより、p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 産生が制限される、組成物。

【請求項 22】

前記組成物により、該組成物と接触しない細胞と比較して、細菌細胞増殖が少なくとも 1  
0% 減少する、請求項 21 に記載の組成物。

【請求項 23】

前記組成物が被験体への投与のためのものであることを特徴とする、請求項 21 に記載の  
組成物。

【請求項 24】

前記細胞が被験体中の細菌細胞であり、前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは  
該細菌細胞の増殖を阻害するか、

前記被験体が細菌感染を有するか、

前記組成物が別の抗菌化合物をさらに含むか、または

前記細胞が被験体中の細菌細胞であり、前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは  
該細菌細胞の増殖を阻害することと、前記被験体が細菌感染を有することと、前記組成物  
が別の抗菌化合物をさらに含むこととの組み合わせである、

請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 25】

サンプル中の p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> を検出する方法であって、該方法は、

a. p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを該サンプルと接触させる工程、および

b. p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> と該 p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチとの間の相互作用を検出する工程であ  
って、p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> と該 p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチとの間の相互作用が p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> の存  
在を示す、検出工程、

を含む、方法。

【請求項 26】

前記 p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを標識する、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

細胞中のリボスイッチを含む RNA をコードする遺伝子の遺伝子発現を阻害するための組  
成物であって、該組成物は、該遺伝子の遺伝子発現の阻害について化合物を試験すること  
によって該遺伝子の遺伝子発現を阻害する化合物として同定された化合物を含み、該阻害  
が該リボスイッチを介し、該リボスイッチが p<sub>r</sub>e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチまたは p<sub>r</sub>e

Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチの誘導体を含む、組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

コード領域に作動可能に連結されたp r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含むRNAをコードする核酸分子を含む調節可能な遺伝子発現構築物であって、リボスイッチがRNAの発現を調節し、リボスイッチとコード領域とが異種である、構築物を本明細書中に開示する。リボスイッチはアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含むことができ、アプタマードメインと発現プラットフォームドメインとは異種である。リボスイッチは2つ以上のアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含むことができ、少なくとも1つのアプタマードメインと発現プラットフォームドメインとは異種である。少なくとも2つのアプタマードメインは協同的結合を示すことができる。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

天然に存在するp r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチの非天然誘導体であるリボスイッチも、本明細書中に開示する。リボスイッチはアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含むことができ、アプタマードメインと発現プラットフォームドメインとは異種である。リボスイッチは1つまたは複数のさらなるアプタマードメインをさらに含むことができる。少なくとも2つのアプタマードメインは協同的結合を示すことができる。リボスイッチをトリガー分子によって活性化することができ、トリガー分子によって活性化された場合にリボスイッチはシグナルを生成する。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0040

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0040】

本明細書中に組み込まれ、且つ本明細書の一部を構成する添付の図面は、開示の方法および組成物のいくつかの実施形態を例示し、記載と共に、開示の方法および組成物の原理を説明するのに役立つ。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

コード領域に作動可能に連結されたp r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含むRNAをコードする核酸分子を含む調節可能な遺伝子発現構築物であって、該リボスイッチが該RNAの発現を調節し、該リボスイッチと該コード領域とが異種である、構築物。

(項目2)

前記リボスイッチがアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含み、該アプタマードメインと該発現プラットフォームドメインとが異種である、項目1に記載の構築物。

(項目3)

前記リボスイッチが2つ以上のアプタマードメインおよび1つの発現プラットフォームドメインを含み、少なくとも1つの該アプタマードメインと該発現プラットフォームドメインとが異種である、項目1に記載の構築物。

(項目4)

少なくとも2つの前記アプタマードメインが協同的結合を示す、項目3に記載の構築物。

(項目5)

天然に存在するp<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチの非天然誘導体である、リボスイッチ。

(項目6)

前記リボスイッチがアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含み、該アプタマードメインと該発現プラットフォームドメインとが異種である、項目5に記載のリボスイッチ。

(項目7)

前記リボスイッチが1つまたは複数のさらなるアプタマードメインをさらに含む、項目6に記載のリボスイッチ。

(項目8)

少なくとも2つの前記アプタマードメインが協同的結合を示す、項目7に記載のリボスイッチ。

(項目9)

前記リボスイッチがトリガー分子によって活性化され、該トリガー分子によって活性化された場合に該リボスイッチがシグナルを生成する、項目5に記載のリボスイッチ。

(項目10)

目的の化合物を検出する方法であって、サンプルをリボスイッチと接触させる工程を含み、該リボスイッチが該目的の化合物によって活性化され、該目的の化合物によって活性化された場合に該リボスイッチがシグナルを生成し、該サンプルが該目的の化合物を含む場合に該リボスイッチがシグナルを生成し、該リボスイッチがp<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチまたはp<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチの誘導体を含む、方法。

(項目11)

前記目的の化合物によって活性化された場合に前記リボスイッチが高次構造を変化させ、該高次構造の変化によって高次構造依存性標識を介してシグナルが生成される、項目10に記載の方法。

(項目12)

前記目的の化合物によって活性化された場合に前記リボスイッチが高次構造を変化させ、該高次構造の変化によって該リボスイッチに連結したRNAの発現が変化し、該発現の変化によってシグナルを生成する、項目10に記載の方法。

(項目13)

前記シグナルが、前記リボスイッチに連結した前記RNAから発現したレポータータンパク質によって生成される、項目12に記載の方法。

(項目14)

(a) リボスイッチを含むRNAをコードする遺伝子の遺伝子発現の阻害について化合物を試験する工程であって、該阻害が該リボスイッチを介し、該リボスイッチがp<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチまたはp<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチの誘導体を含む、試験する工程

(b) 工程(a)で遺伝子発現を阻害した化合物と細胞との接触によって遺伝子発現を阻害する工程であって、該細胞がリボスイッチを含むRNAをコードする遺伝子を含み、該化合物が該リボスイッチへの結合によって該遺伝子の発現を阻害する、阻害工程を含む、方法。

(項目15)

p<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチを同定する方法であって、該方法が、p<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>の存在下および非存在下でのRNA分子のインライン自発切断(in-linen spontaneous cleavage)を評価する工程であって、該RNA分子がp<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>によって調節される遺伝子によってコードされ、該RNA分子のインライン自発切断パターンの変化がp<sub>r</sub>eQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチを示す、工程

を含む、方法。

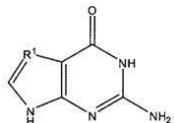
(項目16)

遺伝子発現を阻害する方法であって、

(a) 化合物を細胞と接触させる工程を含み、

(b) 該化合物が式I:

【化19】



(式中、

R<sup>1</sup>は、C H、N、C - N H<sub>2</sub>、C - C H<sub>2</sub> - N H<sub>2</sub>、C - C N、C - C (O) N H<sub>2</sub>、C - C H = N H、C - C H<sub>2</sub> - N (C H<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、またはC - 水素結合供与体である)

の構造を有し、

該細胞がp r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチを含むRNAをコードする遺伝子を含み、該化合物が、該p r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチへの結合によって該遺伝子の発現を阻害する、方法。

(項目17)

前記細胞が遺伝子発現の阻害が必要であると同定されている、項目16に記載の方法。

(項目18)

前記細胞が細菌細胞である、項目16に記載の方法。

(項目19)

前記化合物が前記細菌細胞を死滅させるかもしくは前記細菌細胞の増殖を阻害する、項目18に記載の方法。

(項目20)

前記化合物および前記細胞が被験体への該化合物の投与によって接触する、項目16に記載の方法。

(項目21)

前記細胞が前記被験体中の細菌細胞であり、前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは該細菌細胞の増殖を阻害する、項目20に記載の方法。

(項目22)

前記被験体が細菌感染を有する、項目21に記載の方法。

(項目23)

前記細胞がp r e Q<sub>1</sub>応答性リボスイッチを含む、項目22に記載の方法。

(項目24)

前記化合物を別の抗菌化合物と組み合わせて投与する、項目16に記載の方法。

(項目25)

前記化合物がバイオフィルム中の細菌増殖を阻害する、項目16に記載の方法。

(項目26)

p r e Q<sub>1</sub>の产生方法であって、該方法は、

(a) p r e Q<sub>1</sub>を产生することができる変異細菌細胞を培養する工程であって、該変異細菌細胞が該p r e Q<sub>1</sub>リボスイッチの変異を含み、該変異を持たない細胞と比較して、該変異が、該変異細菌細胞によるp r e Q<sub>1</sub>产生を増加させる、培養工程、

(b) 該細胞培養物からp r e Q<sub>1</sub>を単離し、それにより、p r e Q<sub>1</sub>を产生する工程、を含む、方法。

(項目27)

前記p r e Q<sub>1</sub>リボスイッチの前記変異を含まない細菌細胞の培養と比較して、前記p r e Q<sub>1</sub>产生量が少なくとも10%増加する、項目26に記載の方法。

(項目28)

前記 p r e Q<sub>1</sub> リボスイッチの前記変異を含まない細菌細胞の培養と比較して、前記 p r e Q<sub>1</sub> 產生量が少なくとも 10 % 増加する、項目 2 6 に記載の方法。

(項目 29)

前記 p r e Q<sub>1</sub> リボスイッチの前記変異を含まない細菌細胞の培養と比較して、前記 p r e Q<sub>1</sub> 產生量が少なくとも 25 % 増加する、項目 2 6 に記載の方法。

(項目 30)

前記 p r e Q<sub>1</sub> リボスイッチの前記変異がノックアウト変異である、項目 2 6 に記載の方法。

(項目 31)

p r e Q<sub>1</sub> リボスイッチの変異を含む細菌細胞であって、該変異を持たない細胞と比較した場合に、該変異が、該変異を含む細胞による p r e Q<sub>1</sub> 產生を測定可能な程度に増加させる、細菌細胞。

(項目 32)

細菌細胞増殖を阻害する方法であって、該方法は、該細胞を p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチに結合する化合物と接触させる工程であって、該細胞が p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを含む RNA をコードする遺伝子を含み、該化合物が該 p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチへの結合によって該細菌細胞増殖を阻害し、それにより、 p r e Q<sub>1</sub> 產生が制限される、工程を含む方法。

(項目 33)

前記化合物と接触しない細胞と比較して、細菌細胞増殖が少なくとも 10 % 減少する、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 34)

被験体への前記化合物の投与によって、該化合物および前記細胞を接触させる、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 35)

前記細胞が前記被験体中の細菌細胞であり、前記化合物が該細菌細胞を死滅させるかもしくは該細菌細胞の増殖を阻害する、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 36)

前記被験体が細菌感染を有する、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 37)

前記化合物を別の抗菌化合物と組み合わせて投与する、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 38)

サンプル中の p r e Q<sub>1</sub> を検出する方法であって、該方法は、

a. p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを該サンプルと接触させる工程、および

b. 該 p r e Q<sub>1</sub> と該 p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチとの間の相互作用を検出する工程であって、該 p r e Q<sub>1</sub> と該 p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチとの間の相互作用が該 p r e Q<sub>1</sub> の存在を示す、検出工程、

を含む、方法。

(項目 39)

前記 p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチを標識する、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 40)

遺伝子の遺伝子発現の阻害について化合物を試験することによって該遺伝子の遺伝子発現を阻害する化合物として同定された化合物と細胞との接触によってリボスイッチを含む RNA をコードする遺伝子の遺伝子発現を阻害する工程を含む方法であって、該阻害が該リボスイッチを介し、該リボスイッチが p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチまたは p r e Q<sub>1</sub> 応答性リボスイッチの誘導体を含む、方法。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0058

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0058】

## A. リボスイッチ

リボスイッチは、発現するRNA分子の一部であり、トリガー分子によって結合した場合に状態が変化する発現調節エレメントである。リボスイッチを、典型的には、以下の2つの個別のドメインに分けることができる：1つは標的に選択的に結合するドメイン（アプタマードメイン）および他は遺伝子調節に影響を及ぼすドメイン（発現プラットフォームドメイン）である。遺伝子発現が代謝産物依存性にアロステリック調節されるこれらの2ドメイン間の動的相互作用がもたらされる。単離および組換えリボスイッチ、かかるリボスイッチを含む組換え構築物、かかるリボスイッチに作動可能に連結された異種配列、かかるリボスイッチを保有する細胞およびトランスジェニック生物、リボスイッチ組換え構築物、ならびに異種配列に作動可能に連結されたリボスイッチを開示する。異種配列は、例えば、目的のタンパク質またはペプチド（レポータータンパク質またはペプチドが含まれる）をコードする配列であり得る。好みのリボスイッチは、天然に存在するリボスイッチ（天然に存在するpreQ<sub>1</sub>リボスイッチなど）であるか、天然に存在するリボスイッチに由来する。リボスイッチは、人工アプタマーを含むか、任意選択的に排除することができる。例えば、人工アプタマーには、in vitro進化および/またはin vitro選択を介してデザインまたは選択されるアプタマーが含まれる。リボスイッチは、天然に存在するリボスイッチのコンセンサス配列（preQ<sub>1</sub>リボスイッチのコンセンサス配列など）を含むことができる。preQ<sub>1</sub>リボスイッチのコンセンサス配列を、図1および図3aに示す。

## 【手続補正6】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0062

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0062】

異種アプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含むキメラリボスイッチを開示する。すなわち、キメラリボスイッチは、ある供給源由来のアプタマードメインおよび別の供給源由来の発現プラットフォームドメインから構成される。異種供給源は、例えば、異なる特異的リボスイッチ、異なるリボスイッチ型、または異なるリボスイッチクラスに由来し得る。異種アプタマーは、非リボスイッチアプタマーにも由来し得る。異種発現プラットフォームドメインは、非リボスイッチ供給源にも由来し得る。

## 【手続補正7】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0071

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0071】

コード領域に作動可能に連結されたpreQ<sub>1</sub>応答性リボスイッチを含むRNAをコードする核酸分子を含む調節可能な遺伝子発現構築物であって、リボスイッチがRNAの発現を調節し、リボスイッチとコード領域とが異種である、構築物を開示する。リボスイッチはアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含むことができ、アプタマードメインと発現プラットフォームドメインとは異種である。リボスイッチは2つ以上のアプタマードメインおよび発現プラットフォームドメインを含むことができ、アプタマードメインの少なくとも1つと発現プラットフォームドメインとは異種である。少なくとも2つのアプタマードメインは協同的結合を示すことができる。

## 【手続補正8】

## 【補正対象書類名】明細書

## 【補正対象項目名】0072

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0072】

異種リボスイッチおよびコード領域を含むRNA分子を開示する。すなわち、かかるRNA分子は、ある供給源由来のリボスイッチおよび別の供給源由来のコード領域から構成される。異種供給源は、例えば、異なるRNA分子、異なる転写物、異なる遺伝子由来のRNAまたは転写物、異なる細胞由来のRNAまたは転写物、異なる生物由来のRNAまたは転写物、異なる種由来のRNAまたは転写物、天然の配列および人工または操作された配列、特異的リボスイッチ、異なるリボスイッチ型、または異なるリボスイッチクラスに由来し得る。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0151

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0151】

2.ウイルスプロモーターおよびエンハンサー

哺乳動物宿主細胞中のベクターからの転写を調節する好ましいプロモーターを、種々の供給源（例えば、ポリオーマ、シミアンウイルス40（SV40）、アデノウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス、および最も好ましくはサイトメガロウイルスなどのウイルスゲノム）、または異種哺乳動物プロモーター（例えば、アクチンプロモーター）から得ることができる。SV40ウイルスの初期および後期プロモーターを、SV40ウイルス複製起点も含むSV40制限フラグメントとして得ることが都合が良い（Fiers et al. , Nature , 273 : 113 (1978)）。ヒトサイトメガロウイルスの最初期プロモーターを、Hind III E制限フラグメントとして得ることが都合が良い（Greenway , P. J. et al. , Gene 18 : 355 - 360 (1982)）。勿論、宿主細胞または関連種由来のプロモーターも本明細書中で有用である。