

【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6年2月5日(2024.2.5)

【国際公開番号】WO2021/152147
 【公表番号】特表2023-511992(P2023-511992A)
 【公表日】令和5年3月23日(2023.3.23)
 【年通号数】公開公報(特許)2023-054
 【出願番号】特願2022-545423(P2022-545423)
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/113(2010.01)
 C 1 2 N 15/63(2006.01)
 C 1 2 N 15/86(2006.01)
 A 6 1 K 31/713(2006.01)
 A 6 1 K 48/00(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/113 Z Z N A
 C 1 2 N 15/63 Z
 C 1 2 N 15/86 Z
 A 6 1 K 31/713
 A 6 1 K 48/00

20

【手続補正書】
 【提出日】令和6年1月26日(2024.1.26)
 【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】

30

【請求項1】

ヘアピンループにより両末端にて共有結合的に閉じられた目的の二本鎖DNA配列を含むステム領域からなり、少なくとも2個の修飾ヌクレオチドを含む、閉じた直鎖DNA(c1DNA)。

【請求項2】

- 前記少なくとも2個の修飾ヌクレオチドが、前記c1DNAの一方の若しくは両方の一本鎖末端ループに位置するか、
 - 少なくとも1個の修飾ヌクレオチドが前記一本鎖末端ループのうち1つに位置し、少なくとも別の修飾ヌクレオチドが前記c1DNAのアダプタのステム領域を形成する前記鎖のうち1つに位置するか、又は代替的には、
 - 前記少なくとも2個の修飾ヌクレオチドが前記c1DNAのアダプタのステム領域を形成する一方の若しくは両方の鎖に存在する、
 請求項1に記載のc1DNA。

40

【請求項3】

前記少なくとも1個の修飾ヌクレオチドが前記ステム領域を形成する前記鎖のうち1つに存在する場合、前記修飾ヌクレオチドが、
 - 前記ループを形成する最後のヌクレオチドに対し、1~5位のヌクレオチドによって定義された鎖領域内に位置するか、又は代替的には、
 - 前記目的のDNA配列の一部を形成する最後のヌクレオチドに対し、1~10位のヌクレオチドによって定義された鎖領域内に位置する、請求項2に記載のc1DNA。

50

【請求項 4】

前記少なくとも 2 個の修飾ヌクレオチドが、2 - アミノ - デオキシアデノシン、5 - メチル - デオキシシチジン、チオホスファートヌクレオチド、イノシンヌクレオチド、ロックス核酸 (LNA) ヌクレオチド、L - DNA ヌクレオチド、8 - オキソ - デオキシアデノシンヌクレオチド、及び 5 - フルオロ - デオキシウラシルヌクレオチドからなる群から独立して選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 5】

3 ~ 20 個の修飾ヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 6】

少なくとも 2 個の L N A ヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 7】

2 個の L N A ヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 8】

少なくとも 2 個のチオホスファートヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 9】

前記ステム領域が、前記目的の D N A 配列に隣接している 2 つの制限部位を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 10】

前記 c l D N A がプライマーゼ認識部位を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 11】

前記ループのうち少なくとも 1 個がプライマーゼ認識部位を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 12】

前記目的の配列が逆位末端反復 (I T R) を含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 13】

前記目的の D N A 配列が発現カセットを含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の c l D N A。

【請求項 14】

治療有効量の請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の c l D N A 及び薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の少なくとも 2 個の修飾ヌクレオチドを含む c l D N A を作製するためのプロセスであって、

a) 目的の D N A 配列を含む鋳型 D N A を提供する工程；

b) 工程 (a) の前記鋳型 D N A から D N A を増幅させ、前記目的の D N A 配列の反復を含む鎖状体 D N A を作製する工程であって、前記目的の繰り返された D N A のそれぞれ 1 個が制限部位に隣接する、工程；

c) (c 1) 前記鎖状体 D N A と少なくとも 1 個の制限酵素とを接触させ、それによって前記目的の D N A 配列をそれぞれ含有している複数の開いた二本鎖 D N A 断片を作製する工程と、(c 2) 前記開いた二本鎖 D N A 断片の末端のそれぞれ 1 つでヘアピン D N A アダプタを結合させる工程であって、前記アダプタのそれぞれ 1 個が少なくとも 1 個の修飾ヌクレオチドを有するか、又は代替的には前記 D N A 断片に結合した前記アダプタの 1 個のみが、前記少なくとも 2 個の修飾ヌクレオチドを含む、工程と、によって、工程 (b) で作製された前記増幅 D N A を用いて閉じた直鎖 D N A を生成する工程；並びに

d) 工程 (c) で作製された前記閉じた直鎖 D N A を精製する工程を含む、プロセス。

10

20

30

40

50

【請求項 16】

目的の DNA 配列を含む前記鋳型 DNA が c l DNA である、請求項 15 に記載のプロセス。

【請求項 17】

前記鋳型 c l DNA がプライマーゼ認識部位を含まない、請求項 16 に記載のプロセス。

【請求項 18】

工程 (b) の増幅が、ランダムサイクル増幅 (RCA) により実施される、請求項 15 ~ 17 のいずれか一項に記載のプロセス。

【請求項 19】

前記ヘアピン DNA アダプタが、長さにして 6 ~ 600 ヌクレオチドである、請求項 15 ~ 18 のいずれか一項に記載の c l DNA を作製するためのプロセス。

10

【請求項 20】

前記ヘアピン DNA アダプタが、長さにして 6 ~ 200 ヌクレオチドである、請求項 15 ~ 19 のいずれか一項に記載の c l DNA を作製するためのプロセス。

【請求項 21】

請求項 15 ~ 20 のいずれか一項に記載のプロセスによって得られる、閉じた直鎖 DNA。

【請求項 22】

担体及び請求項 1 ~ 13 又は 21 のいずれか一項に記載の c l DNA を含む組成物。

20

【請求項 23】

前記担体が遺伝子ベクターである、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 24】

前記遺伝子ベクターがウイルス性ベクターである、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

前記遺伝子ベクターが非ウイルス性ベクターである、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 26】

前記非ウイルス性ベクターがポリカチオン性ポリマーである、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 27】

ポリマー及び請求項 1 ~ 13 又は 21 のいずれか一項に記載の c l DNA を含むポリプレックス。

30

【請求項 28】

前記ポリマーがポリカチオン性ポリマーである、請求項 27 に記載のポリプレックス。

40

50