【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18年10月5日(2006.10.5)

【公表番号】特表2004-509622(P2004-509622A)
【公表日】平成16年4月2日(2004.4.2)
【年通号数】公開・登録公報2004-013
【出願番号】特願2002-529499(P2002-529499)
【国際特許分類】
　Ｃ１２Ｎ　15/09　　　(2006.01)
　Ａ０１Ｋ　67/027　　(2006.01)
　Ａ６１Ｋ　45/00　　　(2006.01)
　Ａ６１Ｋ　48/00　　　(2006.01)
　Ａ６１Ｐ　21/04　　　(2006.01)
　Ｃ１２Ｑ　 1/68　　　(2006.01)
【ＦＩ】
　Ｃ１２Ｎ　15/00　　　ＺＮＡＡ
　Ａ０１Ｋ　67/027
　Ａ６１Ｋ　45/00
　Ａ６１Ｋ　48/00
　Ａ６１Ｐ　21/04
　Ｃ１２Ｑ　 1/68　　　　　Ｚ

【手続補正書】
【提出日】平成18年8月16日(2006.8.16)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】特許請求の範囲
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】

【請求項１】ＲＮＡスプライシング反応系のｍＲＮＡ前駆体を、該ｍＲＮＡ前駆体に含まれる少なくとも１つのエキソンが有するエキソン封入シグナルを特異的に阻害することが可能な試薬と接触させ、そして
　該ｍＲＮＡ前駆体のスプライシングを行わせしめる
ことを包含する、ＲＮＡスプライシング反応系においてｍＲＮＡ前駆体のスプライシングを制御するための方法。

【請求項２】該ｍＲＮＡ前駆体のスプライシングによって生じるｍＲＮＡを翻訳する工程を更に包含することを特徴とする、請求項１に記載の方法。

【請求項３】該ｍＲＮＡが機能性タンパク質をコードしていることを特徴とする、請求項２に記載の方法。

【請求項４】該タンパク質が２つ以上のドメインを包含し、該ドメインの少なくとも１つは、該ｍＲＮＡ前駆体に含まれるエキソンの少なくとも一部のスキッピングによって生じたｍＲＮＡにコードされていることを特徴とする、請求項３に記載の方法。

【請求項５】該接触によって試薬と接触したエキソンの隠蔽されたスプライス部位が活性化されることを特徴とする、請求項１〜４のいずれかに記載の方法。

【請求項６】異常型タンパク質をコードするエキソンを含むｍＲＮＡ前駆体を有する細胞に対して、該エキソンの少なくとも１つが有するエキソン封入シグナルを特異的に阻害することが可能な試薬を細胞に与え、そして
　該ｍＲＮＡ前駆体のスプライシングによって生じるｍＲＮＡの翻訳を行わせしめる

ことを包含する、細胞による異常型タンパク質の産生を少なくとも部分的に減少させるための方法。

【請求項７】該エキソン封入シグナルがエキソン認識配列を包含することを特徴とする、請求項１に記載の方法。

【請求項８】該エキソン封入シグナルが強いスプライス供与部位／受容部位対を有するエキソンに存在することを特徴とする、請求項１に記載の方法。

【請求項９】該翻訳によって変異ジストロフィンタンパク質または正常ジストロフィンタンパク質が生成することを特徴とする、請求項２に記載の方法。

【請求項１０】該変異ジストロフィンタンパク質がベッカー型筋ジストロフィー患者のジストロフィンタンパク質と同等であることを特徴とする、請求項９に記載の方法。

【請求項１１】該エキソン封入シグナルが、エキソン２，８，４３，４４,４５，４６，５０，５１，５２または５３に存在することを特徴とする、請求項９または１０に記載の方法。

【請求項１２】該試薬が、核酸またはそれと同等の機能を有する分子を含有することを特徴とする、請求項１に記載の方法。

【請求項１３】該核酸が１５～２５個のヌクレオチドまたはそれと同等の機能を有する分子を含有することを特徴とする、請求項１２に記載の方法。

【請求項１４】該ｍＲＮＡ前駆体に含まれる他のエキソンの有するエキソン封入シグナルを阻害する他の試薬を該細胞に与える工程を更に包含することを特徴とする、請求項１に記載の方法。

【請求項１５】目的エキソンの一部に対して相補的な核酸またはそれと同等の機能を有する分子が、該エキソンの有するエキソン封入シグナルを特異的に阻害することが可能であることを確認するための方法であって、

目的のエキソンを含むｍＲＮＡ前駆体を有する細胞に被験核酸を与え、

該細胞を培養して該ｍＲＮＡ前駆体からｍＲＮＡを生成せしめ、そして

生成した該ｍＲＮＡに該エキソンが存在しないことを確認する

ことを包含する方法。

【請求項１６】試験管内の条件において、該核酸またはそれと同等の機能を有する分子と該目的エキソンを包含するｍＲＮＡ分子との相対的な結合親和性を測定する工程を更に包含することを特徴とする、請求項１５に記載の方法。

【請求項１７】請求項１５または１６に記載の方法によって得られる核酸またはそれと同等の機能を有する分子。

【請求項１８】請求項１７に記載の核酸またはその相補鎖を包含する核酸運搬体。

【請求項１９】請求項１７に記載の核酸を放出することが可能な核酸運搬体。

【請求項２０】医薬の調製に用いる、請求項１７に記載の核酸または請求項１８または１９に記載の核酸運搬体。

【請求項２１】遺伝病の治療または疾病素質の改善を目的とした医薬の調製に用いる、請求項１７に記載の核酸または請求項１８または１９に記載の核酸運搬体。

【請求項２２】医薬の調製に用いる、エキソン封入シグナル阻害性を有する核酸またはそれと同等の機能を有する分子。

【請求項２３】請求項１７に記載の核酸を導入したヒト以外の動物。

【請求項２４】ヒトタンパク質をコードする核酸またはそれと同等の機能を有する分子を更に導入した、請求項２３に記載のヒト以外の動物。

【請求項２５】該ヒト以外の動物は、自らが有する該ヒトタンパク質の相同体をコードする遺伝子にサイレント突然変異が導入されていることを特徴とする、請求項２４に記載のヒト以外の動物。

【手続補正２】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】００１８

【補正方法】変更

【補正の内容】
【００１８】
細胞に試薬を導入するための種々の方法が当業界では知られている。特に核酸の導入方法は広範にわたって開発されている。当業者はある導入方法が本発明を実施するのに適しているかどうかを十分確認することができる。このような方法の一例は、本発明の試薬をリポソームに封入し、該リポソームを目的ｍＲＮＡ前駆体を有する細胞に与えることを包含するが、本発明はこの例に限定されるものではない。リポソームは核酸を細胞に導入するための運搬体として特に適している。エキソンスキッピングを誘導することのできるアンチセンス分子は、アンチセンスＲＮＡを生成するための転写単位を包含する核酸を導入し、細胞に生成させることが可能である。適切な転写単位としては核内低分子ＲＮＡまたはｔＲＮＡ転写単位が挙げられるが、これらに限定されるものではない。従って、本発明は、エキソン封入シグナルを阻害することが可能な本発明の核酸またはそれと同等の機能を有する分子を包含する核酸運搬体を更に提供する。１つの態様において、該運搬体は本発明の核酸を発現させることが可能である。一本鎖ウイルスを運搬体として利用した場合には、当然のことながら、そのようなウイルスが本発明の試薬のアンチセンス配列だけを包含するものであっても本発明の範囲に含まれる。また、このような一本鎖ウイルスの他の１つの態様においては、本発明のＡＯＮは、運搬体としてのウイルスに封入されているウイルス核に存在する核内低分子ＲＮＡまたはｔＲＮＡ転写単位によってコードされている。好ましい一本鎖ウイルスはアデノ随伴ウイルスである。