

【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31年4月25日 (2019.4.25)

【公表番号】特表2018-501802(P2018-501802A)

【公表日】平成30年1月25日 (2018.1.25)

【年通号数】公開・登録公報2018-003

【出願番号】特願2017-534943(P2017-534943)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (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 P 21/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 1 2 P 19/34 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 P 5/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/02 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/02 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/04 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 P 15/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

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 P 21/02 C

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 P 19/34 A

C 1 2 P 19/34 Z

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P	5/00	
A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	3/02	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	19/00	
A 6 1 P	19/04	
A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 P	15/00	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	39/00	H

## 【手続補正書】

【提出日】平成31年3月14日(2019.3.14)

## 【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】

a. 少なくとも 1 つのオープンリーディングフレーム ( O R F ) と、  
 b. 少なくとも 1 つの 3' - 非翻訳領域エレメント ( 3' - U T R エレメント ) 及び /  
 又は少なくとも 1 つの 5' - 非翻訳領域エレメント ( 5' - U T R エレメント ) であって、  
 人工核酸分子からのタンパク質産生を延長及び / 又は増加させ且つ安定な m R N A に由来する少なくとも 1 つの 3' - U T R エレメント及び / 又は少なくとも 1 つの 5' - U T R エレメントと  
 を含むことを特徴とする人工核酸分子であって、

前記少なくとも 1 つの 3' - U T R エレメント及び / 又は前記少なくとも 1 つの 5' - U T R エレメントが、G N A S ( グアニンヌクレオチド結合タンパク質、アルファ刺激複合座 ) の転写物の 3' - U T R 及び / 又は 5' - U T R に由来する核酸配列を含むか又はからなる人工核酸分子。

【請求項 2】

前記オープンリーディングフレームが、前記少なくとも 1 つの 3' - U T R エレメント及び / 又は前記少なくとも 1 つの 5' - U T R エレメントが由来する遺伝子とは異なる遺伝子に由来する請求項 1 に記載の人工核酸分子。

【請求項 3】

前記少なくとも 1 つのオープンリーディングフレーム、前記少なくとも 1 つの 3' - U T R エレメント、及び前記少なくとも 1 つの 5' - U T R エレメントのそれぞれが、互いに異種である請求項 2 に記載の人工核酸分子。

## 【請求項 4】

前記少なくとも 1 つの 3' - UTR エLEMENT 及び / 又は前記少なくとも 1 つの 5' - UTR エLEMENT が由来する前記安定な mRNA が、第 1 の時点における前記 mRNA の量に対する第 2 の時点における前記 mRNA の量の比が少なくとも 0.5 (50%) である mRNA 分解を特徴とする請求項 1 から 3 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 5】

前記人工核酸分子が、リボソームタンパク質 S6、RPL36AL、rps16、又はリボソームタンパク質 L9 の 3' - UTR 及び / 又は 5' - UTR を含まず、前記人工核酸分子の前記オープンリーディングフレームが、レポータータンパク質をコードしていない請求項 1 から 4 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 6】

前記少なくとも 1 つの 3' - UTR エLEMENT 及び / 又は前記少なくとも 1 つの 5' - UTR エLEMENT が、それぞれ 3' - UTR 及び / 又は少なくとも 1 つの 5' - UTR を有しないレファレンス核酸分子からのタンパク質産生と比べて、前記人工核酸分子からのタンパク質産生を少なくとも 1.2 倍延長する、及び / 又は前記少なくとも 1 つの 3' - UTR エLEMENT 及び / 又は前記少なくとも 1 つの 5' - UTR エLEMENT が、それぞれ 3' - UTR 及び / 又は少なくとも 1 つの 5' - UTR を有しないレファレンス核酸分子からのタンパク質産生と比べて、前記人工核酸分子からのタンパク質産生を少なくとも 1.5 倍増加させる請求項 1 から 5 のいずれかに記載の人工核酸分子。

## 【請求項 7】

前記少なくとも 1 つの 3' - UTR エLEMENT 及び / 又は前記少なくとも 1 つの 5' - UTR エLEMENT が、更に、NDUFA1 (NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファサブ複合体)、MORN2 (MORN リピート含有 2)、GSTM1 (グルタチオン S-トランスフェラーゼ、mu1)、CBR2 (カルボニルレダクターゼ 2)、MP68 (RIKEN cDNA 2010107E04 遺伝子)、NDUFA4 (NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファサブ複合体 4)、LTA4H、SLC38A6、DECR1、PIGK、FAM175A、PHYH、TBC1D19、PIGB、ALG6、CRYZ、BRP44L、ACADSB、SUPT3H、TMEM14A、GRAMD1C、C11orf80、C9orf46、ANXA4、TBCK、IFI6、C2orf34、ALDH6A1、AGTPBP1、CCDC53、LRRC28、CCDC109B、PUS10、CCDC104、CASP1、SNX14、SKAP2、NDUFB6、EFHA1、BCKDHB、BBS2、LMBRD1、ITGA6、HERC5、NT5DC1、RAB7A、AGA、TPK1、MBNL3、HADHB、MCCC2、CAT、ANAPC4、PCCB、PHKB、ABCB7、PGCP、GPD2、TMEM38B、NFU1、OMA1、LOC128322/NUTF2、NUBPL、LANCL1、HHLA3、PIR、ACAA2、CTBS、GSTM4、ALG8、Atp5e、Gstm5、Uqcrl1、Ifi27I2a、Anapc13、Atp5I、Tmsb10、Nenf、Ndufa7、Atp5k、1110008P14Rik、Cox4i1、Cox6a1、Ndufs6、Sec61b、Romo1、Snrpd2、Mgst3、Aldh2、Ssr4、Myl6、Prdx4、Ubl5、1110001J03Rik、Ndufa13、Ndufa3、Gstp2、Tmem160、Ergic3、Pgcp、Slpi、Myeov2、Ndufs5、1810027O10Rik、Atp5o、Shfm1、Tspo、S100a6、Taldol1、Bloc1s1、Hexa、Ndufb11、Map1lc3a、Gpx4、Mif、Cox6b1、RIKEN cDNA 2900010J23 (Swi5)、Sec61g、2900010M23Rik、Anapc5、Mars2、Phpt1、Ndufb8 (NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 ベータサブ複合体 8)、Pfdn5、Arpc3、Ndufb7、Atp5h、Mrpl23、Uba52、Tomm6、Mtch1、Pcbd2、Ecm1、Hrsp12、Mecr、Uqcrlq、Gstm3、Lsm4、Park7、Usmg5、Cox8a、Ly6c1、Cox7b、Ppiib、Bag1、S100a4、

Bcap31、Tecr、Rabac1、Robld3、Sod1、Nedd8、Higd2a、Trappc6a、Ldhib、Nme2、Snrpg、Ndufa2、Serf1、Oaz1、Rps4x、Rps13、Ybx1 (Y - ボックス結合タンパク質1)、Sepp1、Gaa、ACTR10、PIGF、MGST3、SCP2、HPRT1、ACSF2、VPS13A、CTH、NXT2、MGST2、C11orf67、PCCA、GLMN、DHRS1、PON2、NME7、ETFDH、ALG13、DDX60、DYNCL1、VPS8、ITFG1、CDK5、C1orf112、IFT52、CLYBL、FAM114A2、NUDT7、AKD1、MAGED2、HRSP12、STX8、ACAT1、IFT74、KIFAP3、CAPN1、COX11、GLT8D4、HACL1、IFT88、NDUFB3、ANO10、ARL6、LPCAT3、ABCD3、COPG2、MIPEP、LEPR、C2orf76、ABCA6、LY96、CROT、ENPP5、SERPINB7、TCP11L2、IRAK1BP1、CDKL2、GHR、KIAA1107、RPS6KA6、CLGN、TMEM45A、TBC1D8B、ACP6、RP6-213H19.1、SNRPN、GLRB、HERC6、CFH、GALC、PDE1A、GSTM5、CADPS2、AASS、TRIM6-TRIM34 (リードスルー転写物)、SEPP1、PDE5A、SATB1、CCPG1、CNTN1 (コンタクチン1)、LMBRD2、TLR3、BCAT1、TOM1L1、SLC35A1、GLYATL2、STAT4、GULP1、EHHADH、NBEAL1、KIAA1598、HFE、KIAA1324L、及びMANSC1からなる群から選択される遺伝子の転写物の3' - UTR及び/又は5' - UTRに由来する核酸配列を含む請求項1から6のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項8】

前記少なくとも1つの3' - UTRエレメント及び/又は前記少なくとも1つの5' - UTRエレメントが、更に、NDUFA1 (NADHデヒドロゲナーゼ (ユビキノ) 1アルファサブ複合体)、MORN2 (MORNリピート含有2)、GSTM1 (グルタチオンS - トランスフェラーゼ、mu1)、CBR2 (カルボニルレダクターゼ2)、MP68 (RIKEN cDNA 2010107E04 遺伝子)、NDUFA4 (NADHデヒドロゲナーゼ (ユビキノ) 1アルファサブ複合体4)、Ybx1 (Y - ボックス結合タンパク質1)、Ndufb8 (NADHデヒドロゲナーゼ (ユビキノ) 1ベータサブ複合体8)、及びCNTN1 (コンタクチン1) からなる群から選択される遺伝子の転写物の3' - UTR及び/又は5' - UTRに由来する核酸配列を含む請求項1から6のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項9】

前記少なくとも1つの3' - UTRエレメントが、ヒト又はマウスのGNAS (グアニンヌクレオチド結合タンパク質、アルファ刺激複合座) からなる群から選択される遺伝子の転写物の3' - UTRに由来する核酸配列を含む請求項1から6のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項10】

前記少なくとも1つの5' - UTRエレメントが、更に、MP68 (RIKEN cDNA 2010107E04 遺伝子)、NDUFA4 (NADHデヒドロゲナーゼ (ユビキノ) 1アルファサブ複合体4)、LTA4H、DECR1、PIGK、TBC1D19、BRP44L、ACADSB、SUPT3H、TMEM14A、C9orf46、ANXA4、IFI6、C2orf34、ALDH6A1、CCDC53、CCDC104、CASP1、NDUFB6、BCKDHB、BBS2、HERC5、FAM175A、NT5DC1、RAB7A、AGA、TPK1、MBNL3、MCCC2、CAT、ANAPC4、PHKB、ABCB7、GPD2、TMEM38B、NFU1、LOC128322/NUTF2、NUBPL、LANCL1、PIR、CTBS、GSTM4、Ndufa1、Atp5e、Gstm5、Cbr2、Anapc13、Ndufa7、Atp5k、1110008P14Rik、Cox4i1、Ndufs6、Sec61b、Snrpd2、Mgst3、Prdx4、Pgcp、Myeov2、Ndufs5、Gstm

1、A t p 5 o、T s p o、T a l d o 1、B l o c 1 s 1、及びH e x aからなる群から選択される遺伝子の転写物の5' - U T Rに由来する核酸配列を含む請求項7から8のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項11】**

前記少なくとも1つの3' - U T Rエレメントが、配列番号1 ~ 2 4及び配列番号4 9 ~ 3 1 8からなる群から選択される核酸配列に対して、少なくとも5 0 %の同一性を有する核酸配列を含むか又ははからなる、或いは前記少なくとも1つの3' - U T Rエレメントが、配列番号1 ~ 2 4及び配列番号4 9 ~ 3 1 8からなる群から選択される核酸配列の断片に対して、少なくとも4 0 %の同一性を有する核酸配列の断片を含むか又ははからなる請求項1から9のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項12】**

前記少なくとも1つの5' - U T Rエレメントが、配列番号2 5 ~ 3 0及び配列番号3 1 9 ~ 3 8 2からなる群から選択される核酸配列に対して、少なくとも5 0 %の同一性を有する核酸配列を含むか又ははからなる、或いは前記少なくとも1つの5' - U T Rエレメントが、配列番号2 5 ~ 3 0及び配列番号3 1 9 ~ 3 8 2からなる群から選択される核酸配列に対して、少なくとも4 0 %の同一性を有する核酸配列の断片を含むか又ははからなる請求項1から8及び1 0のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項13】**

c . ポリ ( A ) 配列及び / 又はポリアデニル化シグナルを更に含む請求項1から1 2のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項14】**

前記ポリ ( A ) 配列又はポリアデニル化シグナルが、前記3' - U T Rエレメントの3'に位置する請求項13に記載の人工核酸分子。

**【請求項15】**

前記ポリアデニル化シグナルが、コンセンサス配列N N ( U / T ) A N A ( N = A又はU ) を含む請求項13から1 4のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項16】**

前記ポリアデニル化シグナルが、A A ( U / T ) A A A又はA ( U / T ) ( U / T ) A A Aを含む請求項13から1 4のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項17】**

前記ポリアデニル化シグナルが、前記3' - U T Rエレメントの3'末端の5 0ヌクレオチド未満下流に位置する請求項13から1 6のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項18】**

前記ポリ ( A ) 配列が、2 0アデニンヌクレオチド ~ 3 0 0アデニンヌクレオチドの長さを有する請求項2 3から1 7のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項19】**

5' - キャップ構造、ポリ ( C ) 配列、ヒストンステムループ、及び / 又はI R E Sモチーフを更に含む請求項1から1 8のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項20】**

前記核酸が、5' - T O P U T Rを含み、及び / 又は  
前記核酸が、アルブミン遺伝子の3' - U T Rに由来する核酸配列を含むか又ははからなる3' - U T Rを含み、及び / 又は  
前記人工核酸分子が、少なくとも部分的にG / C改変されている請求項1から1 9のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項21】**

前記オープンリーディングフレームのG / C含量が、野生型オープンリーディングフレームに比べて増加している請求項1から2 0のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項22】**

前記オープンリーディングフレームのコドンが最適化されている請求項1から2 1のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項 23】**

mRNA分子である請求項1から22のいずれかに記載の人工核酸分子。

**【請求項 24】**

請求項1から23のいずれかに記載の人工核酸分子を含むことを特徴とするベクター。

**【請求項 25】**

プラスミドベクター又はウイルスベクターである請求項24に記載のベクター。

**【請求項 26】**

請求項1から23のいずれかに記載の人工核酸分子又は請求項24から25のいずれかに記載のベクターを含むことを特徴とする細胞。

**【請求項 27】**

請求項1から23のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項24から25のいずれかに記載のベクター、又は請求項26に記載の細胞を含むことを特徴とする医薬組成物。

**【請求項 28】**

医薬として使用するための請求項1から23のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項24から25のいずれかに記載のベクター、請求項26に記載の細胞、又は請求項27に記載の医薬組成物。

**【請求項 29】**

ワクチンとして使用するための又は遺伝子治療において使用するための請求項1から23のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項24から25のいずれかに記載のベクター、請求項26に記載の細胞、又は請求項27に記載の医薬組成物。

**【請求項 30】**

人工核酸分子からのタンパク質産生を増加及び／又は延長させる *in vitro* の方法であって、オープンリーディングフレームを3' - UTRエレメント及び／又は5' - UTRエレメント（前記3' - UTRエレメント及び／又は前記5' - UTRエレメントは、得られる人工核酸分子からのタンパク質産生を延長及び／又は増加させ、前記少なくとも1つの3' - UTRエレメント及び／又は前記少なくとも1つの5' - UTRエレメントは、安定なmRNAに由来する）と連結させて、請求項1から23のいずれかに記載の人工核酸分子又は請求項24から25のいずれかに記載のベクターを得る工程を含むことを特徴とする方法。

**【請求項 31】**

人工核酸分子からのタンパク質産生を増加及び／又は延長させるための3' - UTRエレメント及び／又は5' - UTRエレメントの使用であって、前記3' - UTRエレメント及び／又は前記5' - UTRエレメントが、GNAS（グアニンヌクレオチド結合タンパク質、アルファ刺激複合座）の転写物の3' - UTR及び／又は5' - UTRに由来する核酸配列を含むか又はからなることを特徴とする使用。

**【請求項 32】**

請求項1から23のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項24から25のいずれかに記載のベクター、請求項26に記載の細胞、及び／又は請求項27に記載の医薬組成物を含むことを特徴とするキット又はキットオブパーツ。

**【請求項 33】**

使用説明書と、トランスフェクション用の細胞と、アジュバントと、前記医薬組成物の投与手段と、前記人工核酸分子、前記ベクター、前記細胞、又は前記医薬組成物を溶解又は希釈するための薬学的に許容できる担体及び／又は薬学的に許容できる溶液とを更に含む請求項32に記載のキット。