

【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つのオーブンリーディングフレーム(ORF)と、
b . 少なくとも1つの3' - 非翻訳領域エレメント(3' - UTR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' - UTR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mRNAに由
来する少なくとも1つの3' - UTRエレメント及び/又は少なくとも1つの5' - UTR
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' - 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、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
からなる人工核酸分子。

【請求項2】

前記オーブンリーディングフレームが、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つのオーブンリーディングフレーム、前記少なくとも1つの3' - UTRエレメント、及び前記少なくとも1つの5' - UTR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、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、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、DECRL1、PIGK、FAM175A、PHYH、TBC1D19、PIGB、ALG6、CRYZ、BRP44L、ACADS B、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、ABC B7、PGCP、GPD2、TMEM38B、NFU1、OMA1、LOC128322/NUTF2、NUBPL、LANCL1、HHLA3、PIR、ACAA2、CTBS、GSTM4、ALG8、Atp5e、Gstm5、Uqcr11、Ifi27I2a、Anapc13、Atp5I、Tmsb10、Nenf、Ndufa7、Atp5k、1110008P14Rik、Cox4i1、Cox6a1、Ndufs6、Sec61b、Romo1、Snrpd2、Mgst3、Aldh2、Ssr4、My16、Prdx4、Ubl5、1110001J03Rik、Ndufa13、Ndufa3、Gstp2、Tmem160、Ergic3、Pgcp、Slpi、Myeov2、Ndufs5、1810027O10Rik、Atp5o、Shfm1、Tspo、S100a6、Taldo1、Blloc1s1、Hexa、Ndufb11、Map11c3a、Gpx4、Mif、Cox6b1、RIKEN cDNA2900010J23 (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、Pcbdd2、Ecm1、Hrsp12、Mecr、Uqcrq、Gstm3、Lsm4、Park7、Usmg5、Cox8a、Ly6c1、Cox7b、Ppib、Bag1、S100a4、

Bcap31、Tecr、Rabac1、Robld3、Sod1、Nedd8、Higd2a、Trappc6a、Ldhb、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)、Ybx1 (Y-ボックス結合タンパク質1)、Ndubf8 (NADHデヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 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 (ユビキノン) 1アルファサブ複合体4)、LTA4H、DECR1、PIGK、TBC1D19、BRP44L、ACADS B、SUPT3H、TMEM14A、C9orf46、ANXA4、IFI6、C2orf34、ALDH6A1、CCDC53、CCDC104、CASP1、NDUFB6、BCKDHB、BBS2、HERC5、FAM175A、NT5DC1、RAB7A、AGA、TPK1、MBNL3、MCCC2、CAT、ANAPC4、PHKB、ABC B7、GPD2、TMEM38B、NFU1、LOC128322/NUTF2、NUBPL、LANCL1、PIR、CTBS、GSTM4、Ndufa1、Atp5e、Gstm5、Cbr2、Anapc13、Ndufa7、Atp5k、1110008P14Rik、Cox4i1、Ndufs6、Sec61b、Snrp d2、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' - UTR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' - UTRエレメントが、配列番号1～24及び配列番号49～318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50%の同一性を有する核酸配列を含むか又はからなる、或いは前記少なくとも1つの3' - UTRエレメントが、配列番号1～24及び配列番号49～318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40%の同一性を有する核酸配列の断片を含むか又はからなる請求項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' - UTRエレメントが、配列番号25～30及び配列番号319～382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50%の同一性を有する核酸配列を含むか又はからなる、或いは前記少なくとも1つの5' - UTRエレメントが、配列番号25～30及び配列番号319～382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40%の同一性を有する核酸配列の断片を含むか又はからなる請求項1から8及び10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12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' - UTR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14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を含む請求項13から14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' - UTRエレメントの3'末端の50ヌクレオチド未満下流に位置する請求項13から16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、20アデニンヌクレオチド～300アデニンヌクレオチドの長さを有する請求項23から17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、ヒストンヌクレオーム、及び/又はIRESモチーフを更に含む請求項1から18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 UTRを含み、及び/又は
前記核酸が、アルブミン遺伝子の3' - UTRに由来する核酸配列を含むか又はからなる3' - UTR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19のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項21】

前記オーブンリーディングフレームのG/C含量が、野生型オーブ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20のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項22】

前記オーブ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21のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 2 3】

m R N A 分子である請求項 1 から 2 2 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 2 4】

請求項 1 から 2 3 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 2 5】

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 2 4 に記載のベクター。

【請求項 2 6】

請求項 1 から 2 3 のいずれかに記載の人工核酸分子又は請求項 2 4 から 2 5 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 2 7】

請求項 1 から 2 3 のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項 2 4 から 2 5 のいずれかに記載のベクター、又は請求項 2 6 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 2 8】

医薬として使用するための請求項 1 から 2 3 のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項 2 4 から 2 5 のいずれかに記載のベクター、請求項 2 6 に記載の細胞、又は請求項 2 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 9】

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 2 3 のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項 2 4 から 2 5 のいずれかに記載のベクター、請求項 2 6 に記載の細胞、又は請求項 2 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 0】

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 m R N A に由来する）と連結させて、請求項 1 から 2 3 のいずれかに記載の人工核酸分子又は請求項 2 4 から 2 5 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 3 1】

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、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' - 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 3 2】

請求項 1 から 2 3 のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項 2 4 から 2 5 のいずれかに記載のベクター、請求項 2 6 に記載の細胞、及び／又は請求項 2 7 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ティ。

【請求項 3 3】

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釀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 3 2 に記載のキット。