

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】平成29年10月19日 (2017.10.19)

【公表番号】特表2016-530294(P2016-530294A)

【公表日】平成28年9月29日 (2016.9.29)

【年通号数】公開・登録公報2016-057

【出願番号】特願2016-540348(P2016-540348)

【国際特許分類】

C 0 7 H 21/04 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 19/34 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 31/7125 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/00 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 H 21/04 Z

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 P 19/34

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 31/7125

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 48/00

C 0 7 K 14/00

【手続補正書】

【提出日】平成29年9月1日 (2017.9.1)

【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

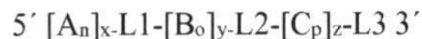
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ポリペプチドをコードするキメラポリヌクレオチドであって、式 I、

【化 1】



I

(式中：

A 及び B の各々は、独立に、連結ヌクレオシド領域を含み；

C は、任意選択の連結ヌクレオシド領域であり；

領域 A、B、又は C のうちの少なくとも 1 つは位置的に修飾されており、前記位置的に修飾された領域は、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、又はウリジンの 1 つ以上の同じヌクレオシドタイプの少なくとも 2 つの化学修飾ヌクレオシドを含み、且つ前記同じタイプのヌクレオシドの前記化学修飾の少なくとも 2 つは異なる化学修飾であり；

n、o及びpは、独立に、15～1000の整数であり；

x及びyは、独立に、1～20であり；

zは、0～5であり；

L1及びL2は、独立に、任意選択のリンカー部分であり、前記リンカー部分は核酸ベースか又は非核酸ベースかのいずれかであり；及び

L3は、任意選択のコンジュゲート又は任意選択のリンカー部分であり、前記リンカー部分は核酸ベースか又は非核酸ベースかのいずれかである）

を含む配列を有するキメラポリヌクレオチド。

【請求項2】

前記ポリヌクレオチドが2つの領域にわたってコードされている、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項3】

領域B又は領域Cが位置的に修飾されており、前記ポリペプチドが領域A内で完全にコードされている、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項4】

領域A又は領域Cが位置的に修飾されており、前記ポリペプチドが領域B内で完全にコードされている、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項5】

前記同じヌクレオチドタイプがウリジンである、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項6】

前記少なくとも2つの異なる化学修飾が、表2のウリジン修飾からなる群から選択される、請求項5に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項7】

前記同じヌクレオチドタイプがアデノシンである、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項8】

前記少なくとも2つの異なる化学修飾が、表2のアデノシン修飾からなる群から選択される、請求項7に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項9】

前記同じヌクレオチドタイプがチミジンである、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項10】

前記少なくとも2つの異なる化学修飾が、表2のチミジン修飾からなる群から選択される、請求項9に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項11】

前記同じヌクレオチドタイプがシチジンである、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項12】

前記少なくとも2つの異なる化学修飾が、表2のシチジン修飾からなる群から選択される、請求項11に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項13】

前記同じヌクレオチドタイプがグアノシンである、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項14】

前記少なくとも2つの異なる化学修飾が、表2のグアノシン修飾からなる群から選択される、請求項13に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項15】

2つ以上の前記同じヌクレオチドタイプの少なくとも2つの化学修飾ヌクレオチドを含む、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 16】**

2つの前記同じヌクレオシドタイプの少なくとも2つの化学修飾ヌクレオシドを含む、請求項15に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 17】**

前記2つの前記同じヌクレオシドタイプが、ウリジン及びシチジンからなる群から選択される、請求項16に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 18】**

3つ以上の前記同じヌクレオシドタイプ少なくとも2つの化学修飾ヌクレオシドを含む、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 19】**

4つの前記同じヌクレオシドタイプの少なくとも2つの化学修飾ヌクレオシドを含む、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 20】**

領域A、B、又はCのうちの少なくとも1つが、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、又はウリジンの1つ以上の同じヌクレオシドタイプの少なくとも3つの化学修飾ヌクレオシドを含む、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 21】**

前記ポリペプチドが、生物学的製剤、抗体、ワクチン、治療用タンパク質又はペプチド、細胞透過性ペプチド、分泌タンパク質、原形質膜タンパク質、細胞質又は細胞骨格タンパク質、細胞内膜結合タンパク質、核タンパク質、ヒト疾患に関連するタンパク質、標的化部分及びヒトゲノムによってコードされる任意のタンパク質からなる群から選択される、請求項1～20のいずれか一項に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 22】**

第2のタンパク質をさらにコードする、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 23】**

前記第2のタンパク質が抗体である、請求項22に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 24】**

前記異なる化学修飾が全て天然に存在するものである、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 25】**

前記異なる化学修飾が全て天然に存在しないものである、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 26】**

前記領域A、B、又はCの少なくとも1つがヒト細胞での発現にコドン最適化されている、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 27】**

前記コドン最適化領域の総G：C含量が、コドン最適化前のG：C含量以下である、請求項26に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 28】**

環状である、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 29】**

プリン類のみが位置的に修飾されている、請求項1に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 30】**

キメラポリヌクレオチドを含む組成物の作製方法であって、

(a) 20～1000個の連結ヌクレオシドの第1の領域をインビトロ転写によって酵素的に合成するステップと；

(b) 最大130個の連結ヌクレオシドの第2の領域を化学的に合成するステップであって、前記第2の領域が、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、又はウリジンの1つ以上の同じヌクレオシドタイプの少なくとも2つの化学修飾ヌクレオシドを含み、且つ前記同じタイプのヌクレオシドの前記化学修飾の少なくとも2つが異なる化学修飾で

ある、ステップと；

(c) 前記第1の領域と前記第2の領域とをライゲートするステップとを含む方法。

【請求項31】

位置的に修飾されたポリヌクレオチドを含む組成物の作製方法であって、

(a) 第1のポリヌクレオチドを化学的に合成するステップであって、前記ポリヌクレオチドが位置的に修飾されており、前記1つ又は複数の位置修飾が、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、又はウリジンの1つ以上の同じヌクレオシドタイプの少なくとも2つの化学修飾ヌクレオシドを含み、且つ前記同じタイプのヌクレオシドの前記化学修飾の少なくとも2つが異なる化学修飾である、ステップと；

(b) 前記第1のポリヌクレオチドを第2のポリヌクレオチドにライゲートするステップとを含む方法。

【請求項32】

位置的に修飾されたポリヌクレオチドの作製方法において、

(a) 連結ヌクレオシドの複数の領域を化学的に合成するステップであって、各領域が2～100ヌクレオシド長であり、前記複数の領域の少なくとも1つが位置的に修飾されている、ステップと；

(b) 前記複数の領域をライゲートして単一のポリヌクレオチドを形成するステップとを含む方法。

【請求項33】

(a) 第1の連結ヌクレオシド領域であって、ヌクレオシドタイプの各ヌクレオシドが化学的に修飾され；前記ヌクレオシドタイプが、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、及びウリジンからなる群から選択される、第1の連結ヌクレオシド領域と；

(b) n個の連結ヌクレオシドを有する第2の領域であって、前記第2の領域が位置的に修飾されており、前記1つ又は複数の位置修飾が2乃至n-1個の異なる化学修飾（式中、nは10～100の整数である）を含む、第2の領域とを含むキメラポリヌクレオチド。

【請求項34】

5'キャップ部分及びポリAテイルを含む、請求項33に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項35】

前記第1の連結ヌクレオシド領域が目的ポリペプチドをコードする、請求項34に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項36】

第3の連結ヌクレオシド領域であって、前記第1の領域の5'末端に位置する第3の領域をさらに含む、請求項35に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項37】

前記第3の領域がn個の連結ヌクレオシドを含み、且つ位置的に修飾されており、前記1つ又は複数の位置修飾が2乃至n-1個の異なる化学修飾（式中、nは10～100の整数である）を含む、請求項36に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項38】

n個の連結ヌクレオシドを有する前記第2の領域が目的ポリペプチドをコードする、請求項34に記載のキメラポリヌクレオチド。

【請求項39】

前記目的ポリペプチドが、生物学的製剤、抗体、ワクチン、治療用タンパク質又はペプチド、細胞透過性ペプチド、分泌タンパク質、原形質膜タンパク質、細胞質又は細胞骨格タンパク質、細胞内膜結合タンパク質、核タンパク質、ヒト疾患に関連するタンパク質、標的化部分及びヒトゲノムによってコードされる任意のタンパク質からなる群から選択される、請求項35又は38に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 0】**

第 3 の連結ヌクレオシド領域であって、前記第 2 の領域の 3' 末端に位置する第 3 の領域をさらに含む、請求項 3 8 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 1】**

前記第 3 の領域が  $n$  個の連結ヌクレオシドを含み、且つ位置的に修飾されており、前記 1 つ又は複数の位置修飾が 2 乃至  $n - 1$  個の異なる化学修飾（式中、 $n$  は 10 ~ 100 の整数である）を含む、請求項 4 0 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 2】**

$n$  個の連結ヌクレオシドを有する第 3 の領域をさらに含む、請求項 3 3 に記載のキメラポリヌクレオチドであって、前記第 3 の領域が位置的に修飾されており、前記 1 つ又は複数の位置修飾が 2 乃至  $n - 1$  個の異なる化学修飾（式中、 $n$  は 10 ~ 100 の整数である）を含む、キメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 3】**

前記第 3 の領域が前記第 1 の領域の 5' 末端又は前記第 2 の領域の 3' 末端のいずれかに位置する、請求項 4 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 4】**

miRNA、miRNA 結合部位、miRNA シード、ロング非コード RNA、tRNA、及び snoRNA の 1 つ以上からなる群から選択される非コード RNA を含む、請求項 4 3 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 5】**

位置的に修飾されている領域における前記異なる化学修飾が、各々、天然に存在しない修飾である、請求項 3 3 又は 4 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 6】**

位置的に修飾されている領域における前記化学修飾の 5 パーセント未満が、天然に存在しない修飾である、請求項 3 3 又は 4 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 7】**

位置的に修飾されている領域における前記化学修飾の 10 ~ 20 パーセントが、天然に存在しない修飾である、請求項 3 3 又は 4 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 8】**

位置的に修飾されている領域における前記化学修飾の 50 パーセント超が、天然に存在しない修飾である、請求項 3 3 又は 4 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 4 9】**

前記天然に存在しない修飾が、表 2 に掲載されるものからなる群から選択される、請求項 4 5 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 5 0】**

プリン類（アデニン及びグアニン）のみが化学的に修飾される、請求項 4 9 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 5 1】**

ピリミジン類（ウラシル、チミジン及びシチジン）のみが化学的に修飾される、請求項 4 9 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 5 2】**

前記第 1、第 2 又は第 3 の領域の少なくとも 1 つがヒト細胞での発現にコドン最適化される、請求項 3 3 又は 4 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 5 3】**

前記コドン最適化ポリヌクレオチド（polynucleotide）の総 G : C 含量がコドン最適化前の G : C 含量以下である、請求項 5 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 5 4】**

環状である、請求項 3 3 又は 4 2 に記載のキメラポリヌクレオチド。

**【請求項 5 5】**

（a） $n$  個の連結ヌクレオシドを有する第 1 の領域と；

(b)  $n$  個の連結ヌクレオシドを有する第 2 の領域であって、前記第 1 の領域にライゲートされている第 2 の領域と；

(c) 任意選択で、前記第 1 の領域又は前記第 2 の領域のいずれかにライゲートされた、且つ  $n$  個の連結ヌクレオシドを有する第 3 の領域と、を含み、

前記第 1 及び前記第 2 の領域、及び存在する場合に前記第 3 の領域の各々が位置的に修飾されており、前記 1 つ又は複数の位置修飾が 2 乃至  $n - 1$  個の異なる化学修飾（式中、 $n$  は 10 ~ 100 の整数である）を含む、キメラポリヌクレオチド。