

【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】令和 1 年 5 月 23 日 (2019.5.23)

【公表番号】特表 2018-513127 (P2018-513127A)

【公表日】平成 30 年 5 月 24 日 (2018.5.24)

【年通号数】公開・登録公報 2018-019

【出願番号】特願 2017-548279 (P2017-548279)

【国際特許分類】

C 0 7 H 21/04 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 0 7 H 21/04 A

C 0 7 H 21/04 Z

C 1 2 N 15/00 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成 31 年 4 月 15 日 (2019.4.15)

【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) 第 1 ポリヌクレオチド組成物を多価カチオン塩と接触させて、少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンを含む第 1 ポリヌクレオチド塩を沈殿させること；ならびに

b) 前記第 1 ポリヌクレオチド塩を前記接触済み第 1 ポリヌクレオチド組成物から分離して、前記第 1 ポリヌクレオチド塩を含む第 2 ポリヌクレオチド組成物を生成すること；を含むポリヌクレオチドの調製方法であって、

前記ポリヌクレオチド組成物は、

i) 7 以上のヌクレオシドサブユニットの配列を有し、前記ヌクレオシドサブユニットの少なくとも 2 つが N 3' - P 5' チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結しているポリヌクレオチド；および

ii) 可溶性の非目標合成生成物及び試薬；を含む、方法。

【請求項 2】

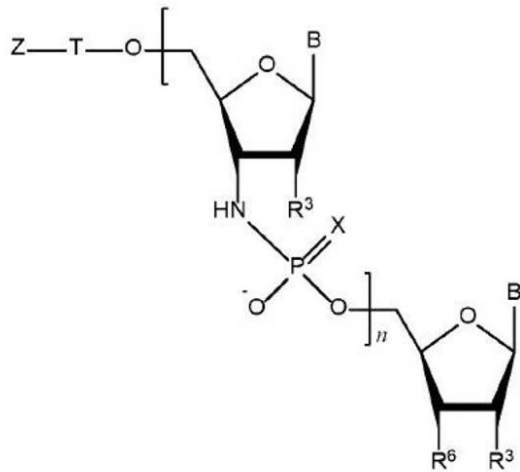
c) ステップ b) の前記第 1 ポリヌクレオチド塩を含む第 2 ポリヌクレオチド組成物を逆相クロマトグラフィー担体と接触させること；及び

d) 逆相クロマトグラフィー担体から第 2 可溶性ポリヌクレオチド塩を含む第 3 ポリヌクレオチド組成物を溶出すること；をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ポリヌクレオチドが式 (I)

【化 3】



式 (I)

によって記述され、

式中、

各 B は独立してプリン、保護プリン、ピリミジンもしくは保護ピリミジン、またはこれらのアナログであり；

各 X は独立して酸素または硫黄であり；

各 R³ は独立して水素、フルオロ、ヒドロキシル、アルコキシ、置換アルコキシまたは保護ヒドロキシルであり；

R⁶ はアミノ、ヒドロキシル、保護アミノ、保護ヒドロキシ、- O - T - Z または - N H - T - Z であり；

各 T は独立して任意選択のリンカーであり；

各 Z は独立して H、脂質、担体、オリゴヌクレオチド、ポリマー、ポリペプチド、検出可能な標識、またはタグであり；

n は 7 ~ 100 の整数である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記ポリヌクレオチドがヒテロメラーゼの RNA コンポーネントに相補的な 13 以上のヌクレオチドサブユニットを含む配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記ポリヌクレオチドがヒテロメラーゼの RNA コンポーネントに相補的な 10 ~ 50 の連続したヌクレオチドサブユニットを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記ヌクレオチドサブユニットがすべて N3' - P5' チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結している、請求項 4 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記ポリヌクレオチドが GTTAGGGTTAG (配列番号 4)、TAGGGTTAGACAA (配列番号 3) 及び CAGTTAGGGTTAG (配列番号 5) からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

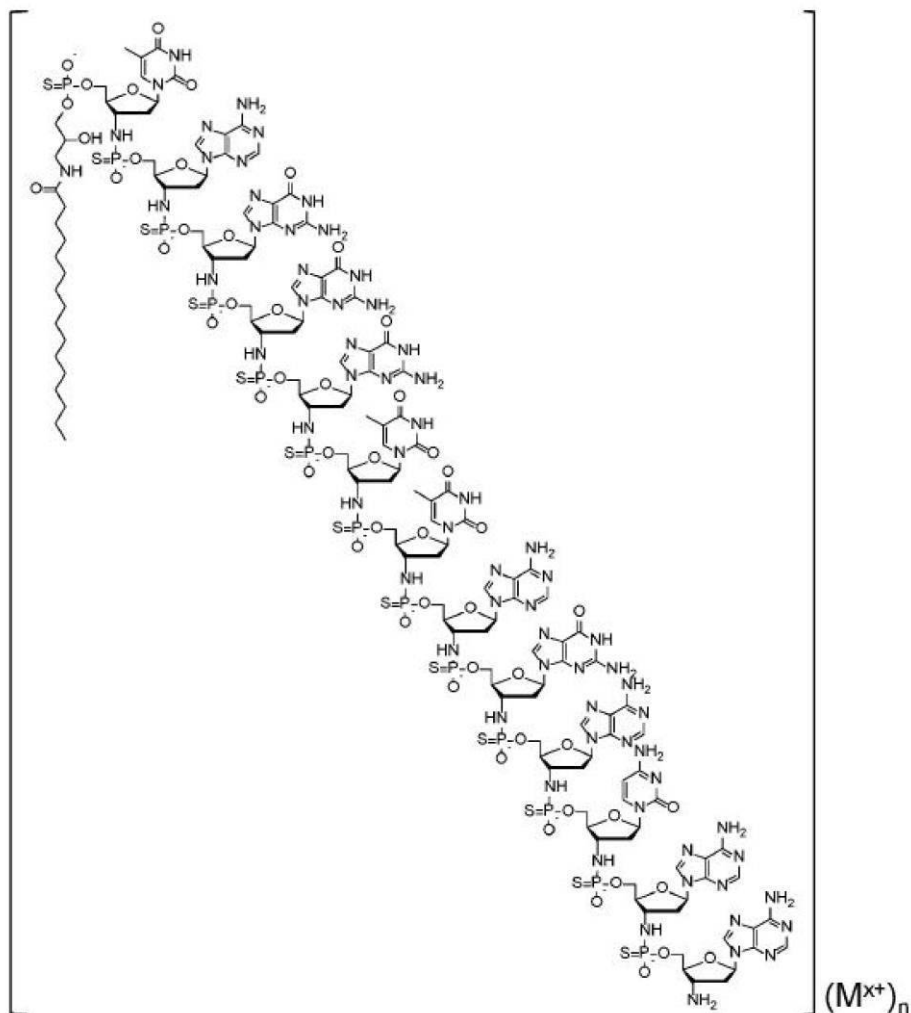
【請求項 8】

前記ポリヌクレオチドが任意選択のリンカーを介して脂質部分と結合している、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 2 ポリヌクレオチド塩が以下の構造を有し、

【化 1 6】



式中、各 M^{x+} が独立して水素またはカチオン対イオンであり、各 x が独立して 1、2 または 3 であり、 n が 5 ~ 13 の整数である、請求項 2 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記溶出ステップ d) の後に前記第 2 ポリヌクレオチド塩が前記ポリヌクレオチドの医薬品として許容可能な塩である、請求項 2 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記溶出ステップ d) の後に前記第 2 ポリヌクレオチド塩が前記ポリヌクレオチドの一価カチオン塩である、請求項 2 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記溶出ステップ d) の後に前記第 2 ポリヌクレオチド塩が前記ポリヌクレオチドのナトリウム塩である、請求項 2 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記接触ステップ a) の前に前記ポリヌクレオチドを固相合成担体から切断して前記第 1 ポリヌクレオチド組成物を前記ポリヌクレオチドの粗合成調製物として生成することをさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記接触ステップ a) の前に前記第 1 ポリヌクレオチド組成物が前記ポリヌクレオチドの一価カチオン塩を含む、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記接触ステップ a) がカチオン交換担体から前記第 1 ポリヌクレオチド組成物を添加

することおよび溶出することを含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記分離ステップ b) が前記接触済み第 1 ポリヌクレオチド組成物を遠心分離して前記第 1 ポリヌクレオチド塩の沈殿物をスピンドウンすることを含む、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記分離ステップ b) が前記接触済み第 1 ポリヌクレオチド組成物から前記第 1 ポリヌクレオチド塩を濾過することを含む、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8】

ステップ b) の前記第 2 ポリヌクレオチド組成物を前記逆相クロマトグラフィー担体上に直接添加する、請求項 2 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記接触ステップ c) の前に前記第 2 ポリヌクレオチド組成物を溶媒中に溶解させることをさらに含む、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが二価である、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがマグネシウム、亜鉛及びカルシウムからなる群から選択される、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが三価である、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがアルミニウムである、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記第 1 ポリヌクレオチド塩が一価カチオン対イオンをさらに含む、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 5】

少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンを含むポリヌクレオチドの塩を含み、前記ポリヌクレオチドが 7 以上のヌクレオシドサブユニットの配列を有し、前記ヌクレオシドサブユニットの少なくとも 2 つが N 3 ' P 5 ' チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結している、組成物。

【請求項 2 6】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが二価である、請求項 2 5 に記載の組成物。

【請求項 2 7】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがマグネシウム、亜鉛及びカルシウムからなる群から選択される、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 2 8】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがマグネシウムである、請求項 2 5 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 9】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが三価である、請求項 2 5 に記載の組成物。

【請求項 3 0】

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがアルミニウムである、請求項 2 9 に記載の組成物。

【請求項 3 1】

前記ポリヌクレオチド塩が 3 m o l % 以上の前記多価カチオン対イオンを含む、請求項 2 5 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記ポリヌクレオチド塩が 1 . 0 重量 % 以上の前記多価カチオン対イオンを含む、請求項 2 5 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

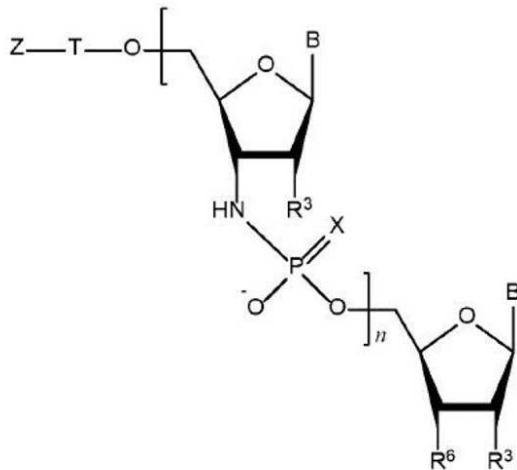
【請求項 3 3】

前記組成物が、沈殿物である、請求項 2 5 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記ポリヌクレオチドが式 (I)

【化 3】



式 (I)

によって記述され、

式中、

各 B は独立してプリン、保護プリン、ピリミジンもしくは保護ピリミジン、またはこれらのアナログであり；

各 X は独立して酸素または硫黄であり；

各 R³ は独立して水素、フルオロ、ヒドロキシル、アルコキシ、置換アルコキシまたは保護ヒドロキシルであり；

R⁶ はアミノ、ヒドロキシル、保護アミノ、保護ヒドロキシ、- O - T - Z または - N H - T - Z であり；

各 T は独立して任意選択のリンカーであり；

各 Z は独立して H、脂質、担体、オリゴヌクレオチド、ポリマー、ポリペプチド、検出可能な標識、またはタグであり；

n は 7 ~ 1 0 0 の整数である、請求項 2 5 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 5】

前記ポリヌクレオチドがヒテロメラーゼの R N A コンポーネントに相補的な 1 3 以上のヌクレオシドサブユニットを含む配列を含む、請求項 2 5 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記ポリヌクレオチドがヒテロメラーゼの R N A コンポーネントに相補的な 1 0 ~ 5 0 の連続したヌクレオシドサブユニットを含む、請求項 2 5 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記ヌクレオシドサブユニットがすべて N 3 ' P 5 ' チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結している、請求項 2 5 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 38】

前記ポリヌクレオチドが G T T A G G G T T A G (配列番号 4)、T A G G G T T A G A C A A (配列番号 3) 及び C A G T T A G G G T T A G (配列番号 5) からなる群から選択される配列を含む、請求項 25 ~ 37 のいずれか 1 項に記載の組成物。

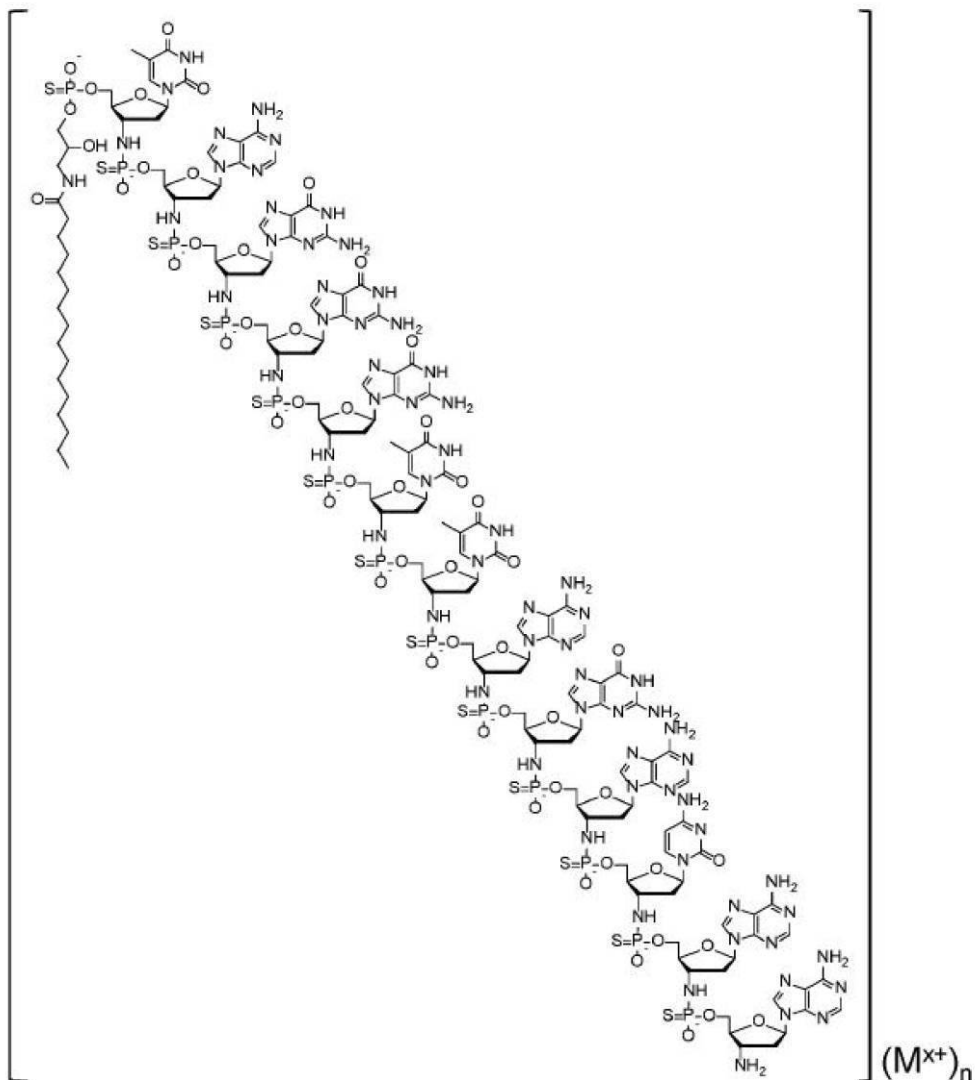
【請求項 39】

前記ポリヌクレオチドの 3' または 5' 末端が任意選択のリンカーを介して脂質部分と結合している、請求項 25 ~ 38 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 40】

前記ポリヌクレオチドが以下の構造を有し、

【化 17】



式中、各 M^{x+} が独立してカチオン対イオンであり、各 x が 1、2 または 3 であり、 n が 5 ~ 12 である、請求項 25 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

当業者は、下記の図面が例示目的のみのものであることを理解するであろう。本図面は

、決して本教示の範囲を限定することを目的としていない。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

7以上のヌクレオシドサブユニットの配列を有し、前記ヌクレオシドサブユニットの少なくとも2つがN3' P5'チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結しているポリヌクレオチド；ならびに

非目標合成生成物及び試薬；

を含む第1ポリヌクレオチド組成物を多価カチオン塩と接触させて、少なくとも1つの多価カチオン対イオンを含む第1ポリヌクレオチド塩を沈殿させること；ならびに

前記第1ポリヌクレオチド塩を前記接触済み第1ポリヌクレオチド組成物から分離して、

前記第1ポリヌクレオチド塩を含む第2ポリヌクレオチド組成物を生成すること；

を含むポリヌクレオチドの調製方法。

(項目2)

前記第1ポリヌクレオチド塩を逆相クロマトグラフィー担体と接触させること；及び

クロマトグラフィー担体から第2ポリヌクレオチド塩を含む第3ポリヌクレオチド組成物を溶出すること；

をさらに含む、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記ポリヌクレオチドがヒトテロメラーゼのRNAコンポーネントに相補的な13以上のヌクレオシドサブユニットを含む配列を含む、項目1～2のいずれか1項に記載の方法

。

(項目4)

前記ポリヌクレオチドがヒトテロメラーゼのRNAコンポーネントに相補的な10～50の連続したヌクレオシドサブユニットを含む、項目1～3のいずれか1項に記載の方法

。

(項目5)

ヒトテロメラーゼのRNAコンポーネントに相補的な前記ヌクレオシドサブユニットがすべてN3' P5'チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結している、項目3～4のいずれか1項に記載の方法。

(項目6)

前記ポリヌクレオチドがGTTAGGGTTAG(配列番号4)、TAGGGTTAGACAA(配列番号3)及びCAGTTAGGGTTAG(配列番号5)からなる群から選択される配列を含む、項目1～5のいずれか1項に記載の方法。

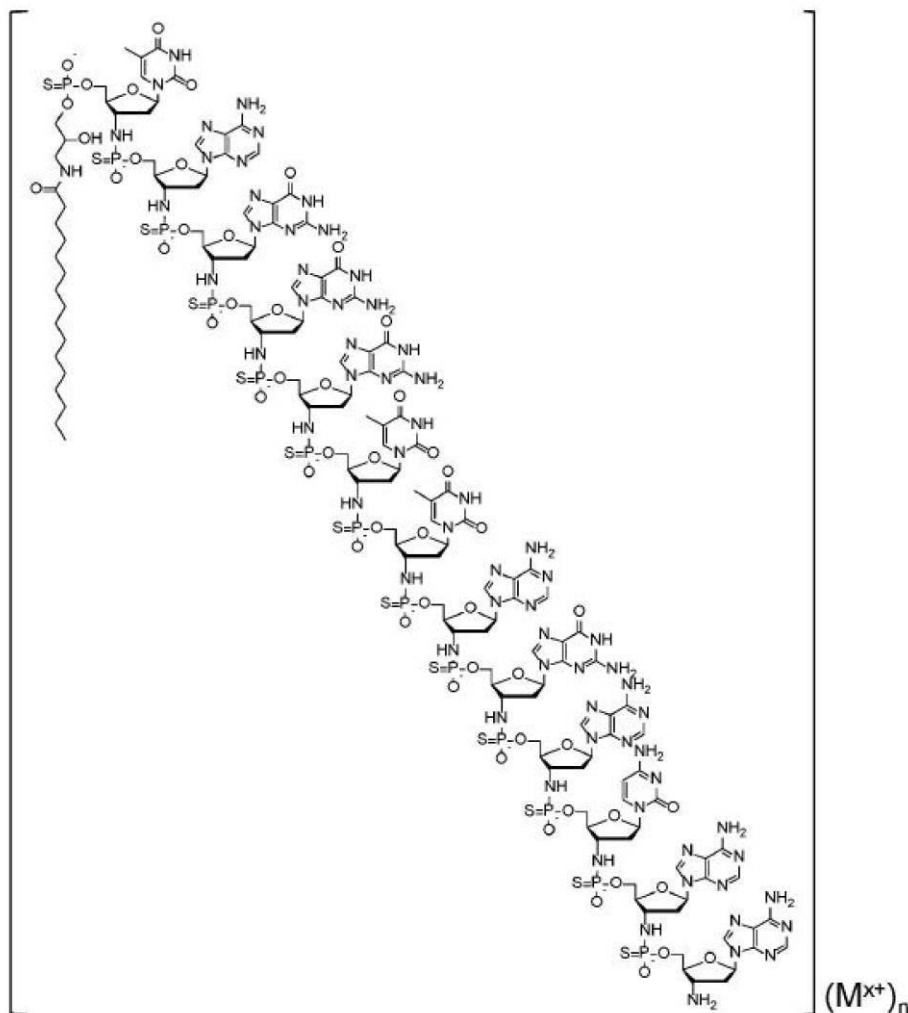
(項目7)

前記ポリヌクレオチドが任意選択のリンカーを介して脂質部分と結合している、項目1～6のいずれか1項に記載の方法。

(項目8)

前記第2ポリヌクレオチド塩が以下の構造を有し、

【化 16】



式中、各 M^{x+} が独立して水素またはカチオン対イオンであり、各 x が独立して 1、2 または 3 であり、 n が 5 ～ 13 の整数である、項目 2 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9)

前記第 2 ポリヌクレオチド塩が前記ポリヌクレオチドの医薬品として許容可能な塩である、項目 2 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 10)

前記第 2 ポリヌクレオチド塩が前記ポリヌクレオチドの一価カチオン塩である、項目 2 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 11)

前記第 2 ポリヌクレオチド塩が前記ポリヌクレオチドのナトリウム塩である、項目 2 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 12)

前記ポリヌクレオチドを担体から切断して前記第 1 ポリヌクレオチド組成物を生成することをさらに含む、項目 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 13)

前記第 1 組成物が前記ポリヌクレオチドの一価カチオン塩を含む、項目 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 14)

前記接触ステップがカチオン交換担体から前記第 1 ポリヌクレオチド組成物を溶出することを含む、項目 1 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 5)

前記分離ステップが前記接触済み第 1 ポリヌクレオチド組成物を遠心分離して前記ポリヌクレオチド塩の沈殿物をスピンドウンすることを含む、項目 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 6)

前記分離ステップが前記接触済み第 1 ポリヌクレオチド組成物から前記ポリヌクレオチド塩を濾過することを含む、項目 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 7)

前記第 2 ポリヌクレオチド組成物を前記逆相クロマトグラフィー担体上に直接添加する、項目 2 に記載の方法。

(項目 1 8)

前記第 2 ポリヌクレオチド組成物を溶媒中に溶解させることをさらに含む、項目 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 9)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが二価である、項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 2 0)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがマグネシウム、亜鉛及びカルシウムからなる群から選択される、項目 1 9 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが三価である、項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 2 2)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがアルミニウムである、項目 2 1 に記載の方法。

(項目 2 3)

前記ポリヌクレオチド塩が一価カチオン対イオンをさらに含む、項目 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 2 4)

少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンを含むポリヌクレオチドの塩を含み、前記ポリヌクレオチドがヒテロメラゼの RNA コンポーネントに相補的な 7 以上のヌクレオシドサブユニットの配列を有し、前記ヌクレオシドサブユニットの少なくとも 2 つが N 3 ' P 5 ' チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結している、組成物。

(項目 2 5)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが二価である、項目 2 4 に記載の組成物。

(項目 2 6)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがマグネシウム、亜鉛及びカルシウムからなる群から選択される、項目 2 5 に記載の組成物。

(項目 2 7)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがマグネシウムである、項目 2 4 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 2 8)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンが三価である、項目 2 4 に記載の組成物。

(項目 2 9)

前記少なくとも 1 つの多価カチオン対イオンがアルミニウムである、項目 2 8 に記載の組成物。

(項目 3 0)

前記ポリヌクレオチドが前記ポリヌクレオチドのポリアニオン主鎖に対して 3 m o l % 以上の前記多価カチオン対イオンを含む、項目 2 4 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の組成物

°

(項目 3 1)

前記ポリヌクレオチドが前記ポリヌクレオチドに対して 1 . 0 重量 % 以上の前記多価カチオン対イオンを含む、項目 2 4 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 2)

前記組成物が、沈殿物である、項目 2 4 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 3)

前記ポリヌクレオチドがヒテロメラゼの R N A コンポーネントに相補的な 1 3 以上のヌクレオシドサブユニットを含む配列を含む、項目 2 4 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 4)

前記ポリヌクレオチドがヒテロメラゼの R N A コンポーネントに相補的な 1 0 ~ 5 0 の連続したヌクレオシドサブユニットを含む、項目 2 4 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 5)

ヒテロメラゼの R N A コンポーネントに相補的な前記ヌクレオシドサブユニットがすべて N 3 ' P 5 ' チオホスホルアミデートサブユニット間結合によって連結している、項目 2 4 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 6)

前記ポリヌクレオチドが G T T A G G G T T A G (配列番号 4)、T A G G G T T A G A C A A (配列番号 3) 及び C A G T T A G G G T T A G (配列番号 5) からなる群から選択される配列を含む、項目 2 4 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

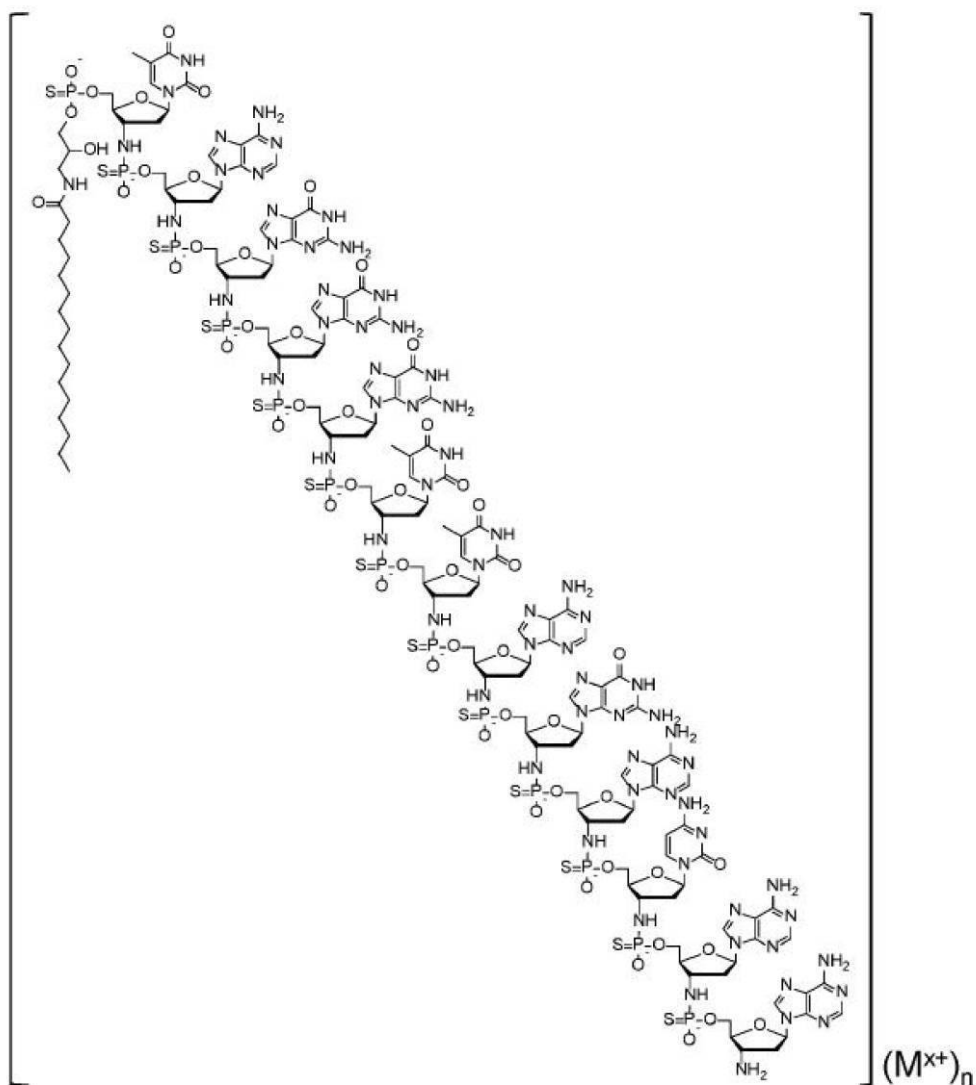
(項目 3 7)

前記ポリヌクレオチドが任意選択のリンカーを介して脂質部分と結合している、項目 2 4 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 3 8)

前記ポリヌクレオチドが以下の構造を有し、

【化 17】



式中、各 M^{x+} が独立してカチオン対イオンであり、各 x が 1、2 または 3 であり、 n が 5 ~ 12 である、項目 24 ~ 37 のいずれか 1 項に記載の組成物。