

【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】 令和 6 年 6 月 13 日 (2024.6.13)

【国際公開番号】 WO2023/048291
【出願番号】 特願 2023-549778 (P2023-549778)
【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11 (2006.01)
C 4 0 B 40/08 (2006.01)
C 4 0 B 40/10 (2006.01)
C 0 7 K 1/02 (2006.01)
C 0 7 K 1/14 (2006.01)
C 1 2 P 21/02 (2006.01)
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/11 Z Z N A
C 4 0 B 40/08
C 4 0 B 40/10
C 0 7 K 1/02
C 0 7 K 1/14
C 1 2 P 21/02 C
C 1 2 Q 1/68

20

【手続補正書】

【提出日】 令和 6 年 3 月 19 日 (2024.3.19)

【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】

30

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

マイコプラズマ・ニューモニエ (*Mycoplasma pneumoniae*) のトリプトファン用
tRNA が改変された tRNA であって、
アンチコドンとして UUA を有し UAA コドンに対合する、
tRNA。

【請求項 2】

CCA 末端の 5' 側に隣接する塩基が A 又は G である、請求項 1 に記載の tRNA。

【請求項 3】

5' 末端から 3 番目の塩基と当該塩基に対合する塩基との組み合わせが UA、GU 又は
UG である、請求項 1 に記載の tRNA。

40

【請求項 4】

5' 末端から 4 番目の塩基と当該塩基に対合する塩基との組み合わせが GU である、請
求項 1 に記載の tRNA。

【請求項 5】

配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 13、配列番号 15 及び配列番号 17
からなる群から選ばれる 1 種の塩基配列を有する、tRNA。

配列番号 7: G G U G G U G U A G U U U A G U G G C A G A A C A A C A G U C
U U U A A A A C U G U C U G U G U G G G U U C G A U U C C U U C C A C C A
C C A C C A

50

配列番号 8 : G G G G G U G U A G U U U A G U G G C A G A A C A A C A G U C
U U U A A A A C U G U C U G U G U G G G U U C G A U U C C U U C C A C C U
C C A C C A

配列番号 9 : G G U G G U G U A G U U U A G U G G C A G A A C A A C A G U C
U U U A A A A C U G U C U G U G U G G G U U C G A U U C C U U C C A C C G
C C A C C A

配列番号 13 : G G G G G U G U A G U U U A G U G G C A G A A C A A C A G U
C U U U A A A A C U G U C U G U G U G G G U U C G A U U C C U U C C A C U
C C C A C C A

配列番号 15 : G G G G G U G U A G U U U A G U G G C A G A A C A A C A G U
C U U U A A A A C U G U C U G U G U G G G U U C G A U U C C U U C C A C C
C C C G C C A

配列番号 17 : G G G G G U G U A G U U U A G U G G C A G A A C A A C A G U
C U U U A A A A C U G U C U G U G U G G G U U C G A U U C C U U C C A C U
C C C G C C A

【請求項 6】

請求項 1～請求項 5 のいずれか 1 項に記載の tRNA にアミノ酸が結合した、アミノアシル tRNA。

【請求項 7】

前記アミノ酸が非天然アミノ酸、修飾化アミノ酸及びそれらの誘導体からなる群から選ばれる 1 種である、請求項 6 に記載のアミノアシル tRNA。

【請求項 8】

前記アミノ酸がクロロアセチル化リシン、N-メチルアラニン、N-メチルフェニルアラニン及び蛍光標識アミノ酸からなる群から選ばれる 1 種である、請求項 6 に記載のアミノアシル tRNA。

【請求項 9】

マイコプラズマ・カプリコラム (*Mycoplasma capricolum*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして CUA を有し UAG コドンに対合する tRNA と、

マイコプラズマ・ニューモニエ (*Mycoplasma pneumoniae*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして UUA を有し UAA コドンに対合する tRNA と、を含む、

ポリペプチド合成用試薬。

【請求項 10】

マイコプラズマ・カプリコラム (*Mycoplasma capricolum*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして CUA を有し UAG コドンに対合する tRNA に、第一の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、

マイコプラズマ・ニューモニエ (*Mycoplasma pneumoniae*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして UUA を有し UAA コドンに対合する tRNA に、第二の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、を含む、

ポリペプチド合成用試薬。

【請求項 11】

少なくとも 2 種類の非天然アミノ酸をポリペプチドに導入する方法であって、

UAG コドン及び UAA コドンを含む塩基配列を有する核酸と、

マイコプラズマ・カプリコラム (*Mycoplasma capricolum*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして CUA を有し UAG コドンに対合する tRNA に、第一の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、

マイコプラズマ・ニューモニエ (*Mycoplasma pneumoniae*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして UUA を有し UAA コドン

10

20

30

40

50

に結合する tRNA に、第二の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、
を含有する無細胞ペプチド合成システムによって前記核酸からポリペプチドを発現させること、を含む、
非天然アミノ酸の導入方法。

【請求項 12】

前記塩基配列が終止コドンである UGA コドンを含み、請求項 11 に記載の非天然アミノ酸の導入方法。

【請求項 13】

少なくとも 2 種類の非天然アミノ酸をアミノ酸配列中に含むポリペプチドを作製する方法であって、

UGA コドン及び UAA コドンを含む塩基配列を有する核酸と、

マイコプラズマ・カプリコラム (*Mycoplasma capricolum*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして CUA を有し UAG コドンに結合する tRNA に、第一の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、

マイコプラズマ・ニューモニエ (*Mycoplasma pneumoniae*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして UUA を有し UAA コドンに結合する tRNA に、第二の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、

を含有する無細胞ペプチド合成システムによって前記核酸からポリペプチドを発現させること、を含む、

ポリペプチドの作製方法。

【請求項 14】

前記塩基配列が終止コドンである UGA コドンを含み、請求項 13 に記載のポリペプチドの作製方法。

【請求項 15】

UGA コドン及び UAA コドンを含む塩基配列を有する核酸と、

マイコプラズマ・カプリコラム (*Mycoplasma capricolum*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして CUA を有し UAG コドンに結合する tRNA に、第一の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、

マイコプラズマ・ニューモニエ (*Mycoplasma pneumoniae*) のトリプトファン用 tRNA が改変された tRNA であって、アンチコドンとして UUA を有し UAA コドンに結合する tRNA に、第二の非天然アミノ酸が結合したアミノアシル tRNA と、

を含有する無細胞ペプチド合成システムによって前記核酸からポリペプチドを発現させ、核酸-ポリペプチド連結体を作製すること、を含む、

核酸ディスプレイライブラリの作製方法。

【請求項 16】

前記核酸-ポリペプチド連結体を作製することが、mRNA-ポリペプチド連結体を作製すること、及び、前記 mRNA-ポリペプチド連結体の mRNA を逆転写し cDNA-ポリペプチド連結体を作製することを含む、

請求項 15 に記載の核酸ディスプレイライブラリの作製方法。

【請求項 17】

前記核酸-ポリペプチド連結体において核酸とポリペプチドとがピュロマイシンリンカーによって連結している、請求項 15 に記載の核酸ディスプレイライブラリの作製方法。

【請求項 18】

少なくとも 2 種類の非天然アミノ酸をアミノ酸配列中に含むポリペプチドと、前記ポリペプチドをコードする塩基配列を有する核酸とが連結した核酸-ポリペプチド連結体であって、

前記塩基配列が UAG コドン及び UAA コドンを含み、

前記塩基配列において前記 UAG コドンが前記ポリペプチド中の第一の非天然アミノ酸をコードし、

10

20

30

40

50

前記塩基配列において前記 U A A コドンが前記ポリペプチド中の第二の非天然アミノ酸をコードする、

核酸-ポリペプチド連結体。

【請求項 19】

mRNA-ポリペプチド連結体又は cDNA-ポリペプチド連結体である、請求項 18 に記載の核酸-ポリペプチド連結体。

【請求項 20】

請求項 15～請求項 17 のいずれか 1 項に記載の核酸ディスプレイライブラリの作製方法によって核酸ディスプレイライブラリを作製することと、

前記核酸ディスプレイライブラリから目的の活性を有する核酸-ポリペプチド連結体を選択し、選択した核酸-ポリペプチド連結体の核酸の塩基配列を同定することと、を含む、

スクリーニング方法。

10

20

30

40

50