

【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4年9月13日(2022.9.13)

【国際公開番号】WO2020/186991

【公表番号】特表2022-528252(P2022-528252A)

【公表日】令和4年6月9日(2022.6.9)

【年通号数】公開公報(特許)2022-103

【出願番号】特願2021-559486(P2021-559486)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 N 15/63(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)

10

【F I】

C 1 2 N 15/11 Z Z N A

C 1 2 N 15/63 Z

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

20

【手続補正書】

【提出日】令和4年9月1日(2022.9.1)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

30

【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】

環状RNA構築物であって、

前記環状RNA構築物は、5' - 3'方向から式Iに示される構造を有し、

TI - Z1 - Z2 (I)

式において、

TIは、翻訳開始要素であり、

Z1は、外因性タンパク質を発現させる発現カセットであり、

Z2は、なしまたは他の要素であり、

また、各「-」は、結合またはヌクレオチド接続配列であり、

ここで、TI要素の長さは、6 ~ 30 ntであり、

40

前記TI要素のヌクレオチド配列は、

(a) SEQ ID NO. : 1 ~ 40 からなる群から選択される配列と75%以上の同一性を有する、

(b) 5'末端および/または3'末端で切断または追加された1 ~ 18個のヌクレオチドを有するSEQ ID NO. : 1 ~ 40 からなる群から選択される配列である、あるいは

(c) (a) または (b) に記載の配列に相補的である、

50

ことを特徴とする、前記環状RNA構築物。

【請求項2】

前記TI要素の長さは、8～24ntであることを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

【請求項3】

前記TI要素の長さは、10～20ntであることを特徴とする、
請求項2に記載の環状RNA構築物。

【請求項4】

前記TI要素のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO. : 1～40からなる群から選
択される配列と少なくとも85%以上の同一性を有することを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

10

【請求項5】

前記TI要素のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO. : 1～40からなる群から選
択される配列と少なくとも90%以上の同一性を有することを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

【請求項6】

前記TI要素のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO. : 1～40からなる群から選
択される配列と少なくとも95%以上の同一性を有することを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

【請求項7】

前記TI要素のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO. : 1～40からなる群から選
択される配列と少なくとも98%以上の同一性を有することを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

20

【請求項8】

前記TI要素のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO. : 1～40からなる群から選
択される配列と少なくとも99%以上の同一性を有することを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

【請求項9】

前記TI要素のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO. : 1～40からなる群から選
択されることを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

30

【請求項10】

前記TI要素の一つまたは複数のアデニン(A)は、メチル化されることを特徴とする、
請求項1に記載の環状RNA構築物。

【請求項11】

ベクターであって、
前記ベクターは、請求項1に記載の環状RNA構築物を含むことを特徴とする、前記ベ
クター。

【請求項12】

遺伝子操作された細胞であって、
前記遺伝子操作された細胞のゲノムの一つまたは複数の部位には請求項1に記載の環状
RNA構築物が統合されることを特徴とする、前記遺伝子操作された細胞。

40

【請求項13】

遺伝子操作された細胞であって、
請求項11に記載のベクターを含むことを特徴とする、前記遺伝子操作された細胞。

【請求項14】

反応システムであって、
請求項1に記載の環状RNA構築物と、スプライソーム、リボソーム、翻訳開始因子
EIF4G2、翻訳開始因子EIF4A、翻訳開始因子EIF4B、およびそれらの組み
合わせからなる群から選択される反応に必要な他の成分とを含むことを特徴とする、前記

50

反応システム。

【請求項 15】

インビトロでタンパク質を合成する方法であって、

適切な条件下で、請求項 14 に記載の反応システムを T 1 時間インキュベートして、前記タンパク質を合成する段階を含むことを特徴とする、前記インビトロでタンパク質を合成する方法。

【請求項 16】

インビトロタンパク質合成用のキットであって、

(k 1) 請求項 1 に記載の環状 RNA 構築物を含む第 1 の容器と、(k 2) スプライソーム、リボソーム、翻訳開始因子 EIF 4 G 2、翻訳開始因子 EIF 4 A、翻訳開始因子 EIF 4 B、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される反応に必要な他の成分を含む第 2 の容器と、(k 3) 前記キットの使用のためのラベルまたはマニュアルとを含むことを特徴とする、前記キット。

10

【請求項 17】

環状 RNA 構築物であって、

前記環状 RNA 構築物は、5' - 3' 方向から式 I に示される構造を有し、

T I - Z 1 - Z 2 (I)

式において、

T I は、翻訳開始要素であり、

Z 1 は、外因性タンパク質を発現させる発現カセットであり、

Z 2 は、なしまたは他の要素であり、

また、各「-」は、結合またはヌクレオチド接続配列であり、

ここで、T I 要素の長さは、6 ~ 30 nt であり、

前記 T I 要素は、表 1 に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択される一つまたは複数のヌクレオチド配列を含むことを特徴とする、前記環状 RNA 構築物。

20

【表 1】

1	AATATA	11	ATAAAT	21	AAAATT	31	TAAATA	41	AATAAG	51	TATACT
2	AAAATA	12	ATATTA	22	AAATAC	32	TTATAA	42	AAATTC	52	AGATAT
3	AAATAT	13	AATAAT	23	TAATAT	33	AGAAGA	43	GAGATA	53	TCAAGC
4	AAATAA	14	TATATA	24	CATATA	34	ATTATA	44	CAAAAA	54	AAGAAT
5	AAATAA	15	ATAATA	25	ATTAAT	35	TATAAA	45	AATTTA	55	AAACAT
6	ATATAA	16	AATTA	26	ACATAT	36	AACATA	46	AAGATA	56	ATTATT
7	AAAAAA	17	ATAAAA	27	AATACA	37	TTAATA	47	AACATT	57	ACAAAA
8	AAATTA	18	TATAAT	28	ATACAA	38	TATATT	48	ATTAGG	58	AAAAGA
9	ATATAT	19	ATAAGA	29	AATTAT	39	AATACT	49	ACATAA	59	AATCAA
10	AAAAAT	20	AATATT	30	ATATAG	40	ATATAC	50	GAAGAA	60	AAAGAC
61	TAAGAA	62	ATAAAC	63	TAGATT	64	ATAAAG	65	AATATC	66	TAATAA
67	ATTCGA	68	TATTTT	69	TAATTA	70	TATATG	71	GGAGAT	72	TAATCT
73	TAAAAA	74	AAATCC	75	ATCAAG	76	ATACTG	77	CATTAG	78	TGACAT
79	ATTTAA	80	AGATTA	81	TAAACA	82	CGAAAC	83	TATTAA	84	AATAGA
85	AATTC	86	ATAAGT	87	AAACAA	88	ATACTA	89	ATATCT	90	AAGAAG
91	TATACA	92	GACATA	93	TGAATA	94	TAAGAC	95	AACTGA	96	TTATAT
97	TTTAAA	98	TAATAG	99	AAATAG	100	AACAAA				

30

40

【請求項 18】

前記 T I 要素の長さは、8 ~ 24 nt であることを特徴とする、

請求項 17 に記載の環状 RNA 構築物。

50

【請求項 19】

前記 T I 要素の長さは、10 ~ 20 nt であることを特徴とする、

請求項 17 に記載の環状 RNA 構築物。

【請求項 20】

前記 T I 要素の一つまたは複数のアデニン (A) は、メチル化されることを特徴とする、

請求項 17 に記載の環状 RNA 構築物。

【請求項 21】

ベクターであって、

前記ベクターは、請求項 17 に記載の環状 RNA 構築物を含むことを特徴とする、前記ベクター。

【請求項 22】

遺伝子操作された細胞であって、

前記遺伝子操作された細胞のゲノムの一つまたは複数の部位には請求項 17 に記載の環状 RNA 構築物が統合されることを特徴とする、前記遺伝子操作された細胞。

【請求項 23】

遺伝子操作された細胞であって、

請求項 21 に記載のベクターを含むことを特徴とする、前記遺伝子操作された細胞。

【請求項 24】

反応システムであって、

請求項 17 に記載の環状 RNA 構築物と、スプライソーム、リボソーム、翻訳開始因子 E I F 4 G 2、翻訳開始因子 E I F 4 A、翻訳開始因子 E I F 4 B、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される反応に必要な他の成分とを含むことを特徴とする、前記反応システム。

【請求項 25】

インビトロでタンパク質を合成する方法であって、

適切な条件下で、請求項 24 に記載の反応システムを T 1 時間インキュベートして、前記タンパク質を合成する段階を含むことを特徴とする、前記インビトロでタンパク質を合成する方法。

【請求項 26】

インビトロタンパク質合成用のキットであって、

(k 1) 請求項 17 に記載の環状 RNA 構築物を含む第 1 の容器と、(k 2) スプライソーム、リボソーム、翻訳開始因子 E I F 4 G 2、翻訳開始因子 E I F 4 A、翻訳開始因子 E I F 4 B、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される反応に必要な他の成分を含む第 2 の容器と、(k 3) 前記キットの使用のためのラベルまたはマニュアルとを含むことを特徴とする、前記キット。

10

20

30

40

50