

【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 1 年 9 月 5 日 (2019.9.5)

【公表番号】特表 2018-529329 (P2018-529329A)

【公表日】平成 30 年 10 月 11 日 (2018.10.11)

【年通号数】公開・登録公報 2018-039

【出願番号】特願 2018-511127 (P2018-511127)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/67 (2006.01)

C 1 2 N 15/14 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/86 (2006.01)

C 1 2 N 15/85 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/39 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/67 Z N A Z

C 1 2 N 15/14

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/11 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/86 Z

C 1 2 N 15/85 Z

C 1 2 N 15/113 Z

C 1 2 N 5/10

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 29/00

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 K 39/39

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 7 月 24 日 (2019.7.24)

【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 つのオープンリーディングフレーム (ORF) と、
b. 配列番号 164 の核酸配列に対して少なくとも 90 % の同一性を有する、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) とを含み、
高い翻訳効率によって特徴付けられることを特徴とする人工核酸分子。

【請求項 2】

前記高い翻訳効率が、前記少なくとも 1 つの 3' - 非翻訳領域エレメント (3' - UTR エレメント) によって提供される請求項 1 に記載の人工核酸分子。

【請求項 3】

前記人工核酸分子の翻訳効率が、レファレンス核酸分子の翻訳効率と比較され、
前記レファレンス核酸分子が、前記人工核酸分子の少なくとも 1 つのオープンリーディングフレーム (ORF) と同一である少なくとも 1 つの ORF を含み、前記レファレンス核酸分子が、前記人工核酸分子の 3' - 非翻訳領域エレメント (3' - UTR エレメント) を含まず、

前記人工核酸分子の前記翻訳効率及び前記レファレンス核酸分子の前記翻訳効率が、
(i) 哺乳類細胞に前記人工核酸分子をトランスフェクトし、トランスフェクション後の特定の時点 (例えば、24 時間又は 48 時間) において、前記人工核酸分子の前記 ORF によってコードされているタンパク質の発現量を測定する工程、

(ii) 哺乳類細胞に前記レファレンス核酸分子をトランスフェクトし、トランスフェクション後の同時点において、前記レファレンス核酸分子の前記 ORF によってコードされているタンパク質の発現量を測定する工程、

(iii) 前記人工核酸分子から発現したタンパク質の量の前記レファレンス核酸分子から発現したタンパク質の量に対する比を計算する工程

を含む方法によって比較され、

(iii) において計算される前記比が、1、好ましくは > 1 である請求項 1 から 2 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 4】

前記レファレンス核酸分子が、前記人工核酸分子中には存在しない 3' - UTR エレメントを含む請求項 3 に記載の人工核酸分子。

【請求項 5】

前記レファレンス核酸分子が、アルブミン遺伝子の 3' - UTR、好ましくは配列番号 207 に係る配列に対応する 3' - UTR に由来する 3' - UTR エレメントを含む請求項 4 に記載の人工核酸分子。

【請求項 6】

前記レファレンス核酸分子が任意の 3' - 非翻訳領域エレメント (3' - UTR エレメント) を含まない請求項 3 に記載の人工核酸分子。

【請求項 7】

前記オープ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 から 6 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 8】

少なくとも 1 つの 5' - UTR エレメントを含む請求項 1 から 7 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 9】

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 8 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 3' - UTR エlement が、3' - UTR が欠損しているレファレンス核酸分子からのタンパク質産生と比べて少なくとも 1.2 倍、好ましくは少なくとも 1.5 倍、より好ましくは少なくとも 2 倍、更により好ましくは少なくとも 2.5 倍、前記人工核酸分子の翻訳効率を増加させる、及び / 又は前記少なくとも 1 つの 3' - UTR エlement が、3' - UTR が欠損しているレファレンス核酸分子からのタンパク質産生と比べて少なくとも 1.5 倍、好ましくは少なくとも 2 倍、より好ましくは少なくとも 2.5 倍高い翻訳効率を前記人工核酸分子に与える請求項 1 から 9 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 11】

前記少なくとも 1 つの 5' - UTR エlement が、5' - UTR が欠損しているレファレンス核酸分子からのタンパク質産生と比べて少なくとも 1.2 倍、好ましくは少なくとも 1.5 倍、より好ましくは少なくとも 2 倍、更により好ましくは少なくとも 2.5 倍、前記人工核酸分子の翻訳効率を増加させる、及び / 又は前記少なくとも 1 つの 5' - UTR エlement が、5' - UTR が欠損しているレファレンス核酸分子からのタンパク質産生と比べて少なくとも 1.5 倍、好ましくは少なくとも 2 倍、より好ましくは少なくとも 2.5 倍高い翻訳効率を前記人工核酸分子に与える請求項 8 から 10 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lement が、ZNF460 - 5' - UTR、TGM2 - 5' - UTR、IL7R - 5' - UTR、BGN - 5' - UTR、TK1 - 5' - UTR、RAB3B - 5' - UTR、CBX6 - 5' - UTR、FZD2 - 5' - UTR、COL8A1 - 5' - UTR、NDUFS7 - 5' - UTR、PHGDH - 5' - UTR、PLK2 - 5' - UTR、TSPO - 5' - UTR、PTGS1 - 5' - UTR、FBXO32 - 5' - UTR、NID2 - 5' - UTR、ATP5D - 5' - UTR、EXOSC4 - 5' - UTR、NOL9 - 5' - UTR、UBB4B - 5' - UTR、VPS18 - 5' - UTR、ORMDL2 - 5' - UTR、FSCN1 - 5' - UTR、TMEM33 - 5' - UTR、TUBA4A - 5' - UTR、EMP3 - 5' - UTR、TMEM201 - 5' - UTR、CRIP2 - 5' - UTR、BRAT1 - 5' - UTR、SERPINH1 - 5' - UTR、CD9 - 5' - UTR、DPYSL2 - 5' - UTR、CDK9 - 5' - UTR、TFRC - 5' - UTR、PSMB3 - 5' - UTR、FASN - 5' - UTR、PSMB6 - 5' - UTR、PRSS56 - 5' - UTR、KPNA6 - 5' - UTR、SFT2D2 - 5' - UTR、PARD6B - 5' - UTR、LPP - 5' - UTR、SPARC - 5' - UTR、SCAND1 - 5' - UTR、VASN - 5' - UTR、SLC26A1 - 5' - UTR、LCLAT1 - 5' - UTR、FBXL18 - 5' - UTR、SLC35F6 - 5' - UTR、RAB3D - 5' - UTR、MAP1B - 5' - UTR、VMA21 - 5' - UTR、CYBA - 5' - UTR、SEZ6L2 - 5' - UTR、PCOLCE - 5' - UTR、VTN - 5' - UTR、ALDH16A1 - 5' - UTR、RAVER1 - 5' - UTR、KPNA6 - 5' - UTR、SERINC5 - 5' - UTR、JUP - 5' - UTR、CPN2 - 5' - UTR、CRIP2 - 5' - UTR、EPT1 - 5' - UTR、PNPO - 5' - UTR、SSSCA1 - 5' - UTR、POLR2L - 5' - UTR、LIN7C - 5' - UTR、UQCR10 - 5' - UTR、PYCRL - 5' - UTR、AMN - 5' - UTR、MAP1S - 5' - UTR (いずれも好ましくはヒト) 及び Dpyl2 - 5' - UTR、Ccnd1 - 5' - UTR、Acox2 - 5' - UTR、Cbx6 - 5' - UTR、Ubc - 5' - UTR、Ldlr - 5' - UTR、Nudt22 - 5' - UTR、Pcyox11 - 5' - UTR、Ankrd1 - 5' - UTR、Tmem37 - 5' - UTR、Tspyl4 - 5' - UTR、Slc7a3 - 5' - UTR、Cst6 - 5' - UTR、Aacs - 5' - UTR、Nosip - 5' - UTR、Itga7 - 5' - UTR、Ccnd2 - 5' - UTR

、E b p - 5 ' - U T R、S f 3 b 5 - 5 ' - U T R、F a s n - 5 ' - U T R、H m g c s 1 - 5 ' - U T R、O s r 1 - 5 ' - U T R、L m n b 1 - 5 ' - U T R、V m a 2 1 - 5 ' - U T R、K i f 2 0 a - 5 ' - U T R、C d c a 8 - 5 ' - U T R、S l c 7 a 1 - 5 ' - U T R、U b q l n 2 - 5 ' - U T R、P r p s 2 - 5 ' - U T R、S h m t 2 - 5 ' - U T R、A u r k b - 5 ' - U T R、F i g n l 1 - 5 ' - U T R、C a d - 5 ' - U T R、A n l n - 5 ' - U T R、S l f n 9 - 5 ' - U T R、N c a p h - 5 ' - U T R、P o l e - 5 ' - U T R、U h r f 1 - 5 ' - U T R、G j a 1 - 5 ' - U T R、F a m 6 4 a - 5 ' - U T R、K i f 2 c - 5 ' - U T R、T s p a n 1 0 - 5 ' - U T R、S c a n d 1 - 5 ' - U T R、G p r 8 4 - 5 ' - U T R、F a d s 3 - 5 ' - U T R、C e r s 6 - 5 ' - U T R、C x c r 4 - 5 ' - U T R、G p r c 5 c - 5 ' - U T R、F e n 1 - 5 ' - U T R、C s p g 4 - 5 ' - U T R、M r p l 3 4 - 5 ' - U T R、C o m t d 1 - 5 ' - U T R、A r m c 6 - 5 ' - U T R、E m r 4 - 5 ' - U T R、A t p 5 d - 5 ' - U T R、1 1 1 0 0 0 1 J 0 3 R i k - 5 ' - U T R、C s f 2 r a - 5 ' - U T R、A a r s d 1 - 5 ' - U T R、K i f 2 2 - 5 ' - U T R、C t h - 5 ' - U T R、T p g s 1 - 5 ' - U T R、C c l 1 7 - 5 ' - U T R、A l k b h 7 - 5 ' - U T R、M s 4 a 8 a - 5 ' - U T R (いずれも好ましくはマウス) からなる群から選択される遺伝子の転写物の 5 ' - U T R に由来する核酸配列を含む請求項 8 から 1 1 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 1 3】

前記少なくとも 1 つの 5 ' - U T R エlement が、配列番号 1 ~ 配列番号 1 5 1 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 5 0 %、好ましくは少なくとも 6 0 %、好ましくは少なくとも 7 0 %、より好ましくは少なくとも 8 0 %、より好ましくは少なくとも 9 0 %、更により好ましくは少なくとも 9 5 %、更により好ましくは少なくとも 9 9 % 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 ' - U T R エlement が、配列番号 1 ~ 配列番号 1 5 1 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 4 0 %、好ましくは少なくとも 5 0 %、好ましくは少なくとも 6 0 %、好ましくは少なくとも 7 0 %、より好ましくは少なくとも 8 0 %、より好ましくは少なくとも 9 0 %、更により好ましくは少なくとも 9 5 %、更により好ましくは少なくとも 9 9 % 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 8 から 1 2 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 1 4】

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み、前記ポリ (A) 配列又は前記ポリアデニル化シグナルが、好ましくは、前記 3 ' - U T R エlement の 3 ' に位置する請求項 1 から 1 3 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 1 5】

5 ' - キャップ構造、ポリ (C) 配列、ヒストンステムループ、及び / 又は I R E S モチーフを更に含む請求項 1 から 1 4 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 1 6】

前記核酸が、5 ' - T O P U T R を含む請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 1 7】

前記人工核酸分子、好ましくは前記オープンリーディングフレームが、少なくとも部分的に G / C 改変されており、好ましくは、前記オープンリーディングフレームの G / C 含量が、野生型オープンリーディングフレームに比べて増加している、及び / 又は前記オープンリーディングフレームが、コドンが最適化されている領域を含み、好ましくは、前記オープ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 1 6 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 1 8】

R N A、好ましくは m R N A 分子である請求項 1 から 1 7 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 19】

請求項 1 から 18 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 20】

請求項 1 から 18 のいずれかに記載の人工核酸分子、又は請求項 19 に記載のベクターを含むことを特徴とする細胞。

【請求項 21】

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 19 に記載のベクター、又は請求項 20 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 22】

医薬として使用するための請求項 1 から 18 のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項 19 に記載のベクター、請求項 20 に記載の細胞、又は請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

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 18 のいずれかに記載の人工核酸分子、請求項 19 に記載のベクター、請求項 20 に記載の細胞、又は請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 24】

人工核酸分子の、好ましくは mRNA 分子又はベクターの翻訳効率を上昇させる方法であって、オープンリーディングフレームを 3' - UTR エLEMENT (前記 3' - UTR エLEMENT は、配列番号 164 の核酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有する核酸配列を含むか又はからなり、得られる人工核酸分子からの翻訳効率を上昇させる) と連結させて、請求項 1 から 18 のいずれかに記載の人工核酸分子、好ましくは mRNA 分子、又は請求項 19 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 25】

人工核酸分子の、好ましくは mRNA 分子又はベクターからの翻訳効率を上昇させるための 3' - UTR エLEMENT のインビトロにおける使用であって、前記 3' - UTR エLEMENT が、配列番号 164 の核酸配列に対して少なくとも 90% の同一性を有する核酸配列を含むか又はからなることを特徴とするインビトロにおける使用。

【請求項 26】

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 19 に記載のベクター、請求項 20 に記載の細胞、及び / 又は請求項 21 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ツ。