

【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、

(i)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 エレメントが、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 エレメントが、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 エレメントが、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 エレメントが、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 エレメントが、ZNF460 - 5' - UTR、TG M2 - 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、TSP0 - 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、TME M33 - 5' - UTR、TUBA4A - 5' - UTR、EMP3 - 5' - UTR、TME M201 - 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、LINT7C - 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 Dpysl2 - 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、Tspy14 - 5' - UTR、Slc7a3 - 5' - UTR、Cst6 - 5' - UTR、Aacs - 5' - UTR、Nosip - 5' - UTR、Itgat7 - 5' - UTR、Ccnd2 - 5' - UTR

、E b p - 5' - UTR、S f 3 b 5 - 5' - UTR、F a s n - 5' - UTR、H m g
 c s 1 - 5' - UTR、O s r 1 - 5' - UTR、L m n b 1 - 5' - UTR、V m a 2
 1 - 5' - UTR、K i f 2 0 a - 5' - UTR、C d c a 8 - 5' - UTR、S 1 c 7
 a 1 - 5' - UTR、U b q 1 n 2 - 5' - UTR、P r p s 2 - 5' - UTR、S h m
 t 2 - 5' - UTR、A u r k b - 5' - UTR、F i g n 1 1 - 5' - UTR、C a d
 - 5' - UTR、A n 1 n - 5' - UTR、S 1 f n 9 - 5' - UTR、N c a p h - 5
 ' - UTR、P o l e - 5' - UTR、U h r f 1 - 5' - UTR、G j a 1 - 5' - U
 T R、F a m 6 4 a - 5' - UTR、K i f 2 c - 5' - UTR、T s p a n 1 0 - 5'
 - UTR、S c a n d 1 - 5' - UTR、G p r 8 4 - 5' - UTR、F a d s 3 - 5'
 - UTR、C e r s 6 - 5' - UTR、C x c r 4 - 5' - UTR、G p r c 5 c - 5'
 - UTR、F e n 1 - 5' - UTR、C s p g 4 - 5' - UTR、M r p l 3 4 - 5'
 - UTR、C o m t d 1 - 5' - UTR、A r m c 6 - 5' - UTR、E m r 4 - 5' - U
 T R、A t p 5 d - 5' - UTR、1 1 1 0 0 0 1 J 0 3 R i k - 5' - UTR、C s f
 2 r a - 5' - UTR、A a r s d 1 - 5' - UTR、K i f 2 2 - 5' - UTR、C t
 h - 5' - UTR、T p g s 1 - 5' - UTR、C c 1 1 7 - 5' - UTR、A l k b h
 7 - 5' - UTR、M s 4 a 8 a - 5' - UTR (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' - UTR に由来する核酸配列を含む請求項 8 から
 11 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 13】

前記少なくとも 1 つの 5' - UTR エレメントが、配列番号 1 ~ 配列番号 151 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 50%、好ましくは少なくとも 60%、好ましくは少なくとも 70%、より好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、更により好ましくは少なくとも 95%、更により好ましくは少なくとも 99% 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' - UTR エレメントが、配列番号 1 ~ 配列番号 151 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 40%、好ましくは少なくとも 50%、好ましくは少なくとも 60%、好ましくは少なくとも 70%、より好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは少なくとも 90%、更により好ましくは少なくとも 95%、更により好ましくは少なくとも 99% 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 12 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 14】

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' - UTR エレメントの 3' に位置する請求項 1 から 13 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 15】

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 14 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 16】

前記核酸が、5' - T O P UTR を含む請求項 1 から 15 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 17】

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 16 のいずれかに記載の人工核酸分子。

【請求項 18】

R N A、好ましくは m R N A 分子である請求項 1 から 17 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、オーブンリーディングフレームを3' - UTRエレメント（前記3' - UTRエレメントは、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エレメントのインビトロにおける使用であって、前記3' - UTRエレメントが、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。