

【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】平成20年1月10日(2008.1.10)

【公表番号】特表2007-512027(P2007-512027A)

【公表日】平成19年5月17日(2007.5.17)

【年通号数】公開・登録公報2007-018

【出願番号】特願2006-541617(P2006-541617)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

A 01 K 67/027 (2006.01)

C 12 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

A 01 K 67/027

C 12 N 5/00 B

【手続補正書】

【提出日】平成19年11月14日(2007.11.14)

【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】

i RNA分子をコードするDNA構築物を細胞のゲノムの所定の位置に挿入する工程を含む、トランスジェニック細胞を產生するための方法。

【請求項2】

i RNA分子をコードするDNA構築物を細胞のゲノムの所定の位置に挿入する工程を含み、該挿入が該細胞の正常な遺伝子発現を破壊しない、トランスジェニック細胞を產生するための方法。

【請求項3】

(i) 標的mRNAに対して相補的な少なくとも1つのiRNA配列を同定する工程；

(ii) 細胞中の標的内因性遺伝子配列を同定する工程；

(iii) iRNA配列をコードするDNA構築物及び該内因性標的配列に対して相同な標的配列を製造する工程；

(iv) 該DNA構築物を該細胞に導入する工程；及び

(v) 該iRNA分子が発現され、それによって該標的mRNAの発現を調節する条件下で、該細胞を増殖させる工程

を含む、標的mRNAの発現を調節するための方法。

【請求項4】

前記挿入が標的遺伝子のエキソン内へのものである、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記挿入が標的遺伝子のインtron内へのものである、請求項3に記載の方法。

【請求項6】

前記挿入が前記標的遺伝子の機能を破壊しない、請求項3に記載の方法。

【請求項7】

前記DNA構築物が、該標的遺伝子と前記DNA構築物との間の相同的組換えを可能にするために、標的遺伝子に対して相同な配列を含有する、請求項3に記載の方法。

【請求項 8】

前記 D N A 構築物が合成イントロン内に含有される、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9】

前記合成イントロンが機能性イントロンである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記合成イントロンが内因性イントロン内に挿入される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記合成イントロンが内因性エキソン内に挿入される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞がヒト細胞である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞が非ヒト哺乳動物細胞である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 14】

前記 D N A 構築物が、D r o s h a 基質である R N A 分子をコードする、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 15】

i R N A 分子が s i R N A 分子である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 16】

前記 D N A が相同的組換えを介して前記遺伝子内に挿入される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 17】

請求項 1 又は 2 に従って產生されるトランスジェニック細胞。

【請求項 18】

請求項 1 7 に記載の細胞を含むトランスジェニック動物。

【請求項 19】

第 1 の標的 m R N A に対して相補的な第 1 のヌクレオチド配列と、第 2 の標的 m R N A に対して相補的な第 2 のヌクレオチド配列とを含み、該第 1 及び第 2 のヌクレオチド配列が実質的に共にハイブリダイズして二本鎖 i R N A 分子を形成する、二本鎖 i R N A 分子。

【請求項 20】

前記第 1 及び第 2 の標的 m R N A が同じである、請求項 1 9 に記載の i R N A 分子。

【請求項 21】

前記第 1 及び第 2 の標的 m R N A が異なる、請求項 1 9 に記載の i R N A 分子。

【請求項 22】

前記第 1 及び第 2 のヌクレオチド配列が反復性である、請求項 1 9 に記載の i R N A 分子。

【請求項 23】

前記第 1 及び第 2 のヌクレオチド配列を分離する第 3 のヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 1 9 に記載の i R N A 分子。

【請求項 24】

前記第 1 及び第 2 のヌクレオチド配列が 1 9 ~ 3 2 ヌクレオチド長である、請求項 1 9 に記載の i R N A 分子。

【請求項 25】

前記第 3 のヌクレオチド配列が 4 ~ 1 0 ヌクレオチド長である、請求項 2 3 に記載の i R N A 分子。

【請求項 26】

第 1 の標的 m R N A に対して相補的な第 1 のヌクレオチド配列と、第 2 の標的 m R N A に対して相補的な第 2 のヌクレオチドとを含み、該第 1 及び第 2 のヌクレオチド配列が実質的に共にハイブリダイズして二本鎖 i R N A 分子を形成する、二本鎖 i R N A 分子をコードする D N A 構築物。

【請求項 27】

(i) 標的mRNAに対して相補的な少なくとも1つのヌクレオチド配列を同定する工程；

(ii) 該相補的な配列を分析して、共にハイブリダイズ可能な配列の一部分を同定する工程；

(iii) 工程(iii)で同定された2つの相補的な配列を含有するiRNA分子を製造する工程

を含み、該製造する工程を細胞中で行なうことができる、標的mRNAの発現を調節するために二本鎖iRNA分子を產生するための方法。

【請求項 28】

前記iRNAがDNA構築物によってコードされる、請求項27に記載の方法。

【請求項 29】

前記iRNA分子が、共にハイブリダイズする2個の相補的なヌクレオチド配列を分離する第3のヌクレオチド配列をさらに含む、請求項27に記載の方法。

【請求項 30】

前記相補的な配列が約19～32ヌクレオチド長である、請求項27に記載の方法。

【請求項 31】

1つの遺伝子の少なくとも2つの領域の発現を調節し、前記遺伝子の発現が機能的に排除される、1個のiRNA分子。

【請求項 32】

標的mRNAの同じ領域を標的化する2つのiRNA分子を投与する工程を含む、標的mRNAの発現を排除するための方法。

【請求項 33】

遺伝子ファミリーの全てのメンバーに共通の相同性領域を標的化することによって、前記遺伝子ファミリーの発現を調節する1個のiRNA分子。

【請求項 34】

ブタ内因性レトロウイルスの発現を阻害するiRNA分子。

【請求項 35】

複数の種類のブタ内因性レトロウイルス(PERV)に結合する、請求項34に記載のiRNA。

【請求項 36】

前記iRNAがPERV-A及びPERV-Bに結合する、請求項34に記載のiRNA。

【請求項 37】

前記iRNAがPERV-A及びPERV-Cに結合する、請求項34に記載のiRNA。

【請求項 38】

前記iRNAがPERV-B及びPERV-Cに結合する、請求項34に記載のiRNA。

【請求項 39】

前記ブタ内因性レトロウイルスのenv領域を標的化する、請求項34に記載のiRNA分子。

【請求項 40】

前記ブタ内因性レトロウイルスのgag領域を標的化する、請求項39に記載のiRNA分子。

【請求項 41】

前記ブタ内因性レトロウイルスのpol領域を標的化する、請求項40に記載のiRNA分子。

【請求項 42】

以下のgag配列を標的化する、請求項40に記載のiRNA分子：

G T T A G A T C C A G G G C T C A T A A T、又はこれに実質的に相同意を有するか、
又はこれにハイブリダイズする配列。

【請求項 4 3】

以下の p o l 配列を標的化する、請求項 4 1 に記載の i R N A 分子：

G T T A G A T C C A G G G C T C A T A A T、又はこれに実質的に相同意を有するか、
又はこれにハイブリダイズする配列。