

【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 2 年 10 月 22 日 (2020.10.22)

【公表番号】特表 2019-533476 (P2019-533476A)

【公表日】令和 1 年 11 月 21 日 (2019.11.21)

【年通号数】公開・登録公報 2019-047

【出願番号】特願 2019-535224 (P2019-535224)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/02 (2006.01)

C 1 2 P 19/34 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/11 Z

A 6 1 K 48/00 Z N A

A 6 1 K 38/02

C 1 2 P 19/34 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 9 月 9 日 (2020.9.9)

【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】

オープンリーディングフレームを含むメッセンジャー RNA を生成する方法であって、
 (a) DNA 鋳型と、アデノシン三リン酸 (ATP)、シチジン三リン酸 (CTP)、
 ウリジン三リン酸 (UTP)、グアノシン三リン酸 (GTP) またはそれぞれのヌクレオ
シドの類似体を含むヌクレオシド三リン酸 (NTP) と、緩衝液とを含む反応混合物を形成
することと、

(b) 前記反応混合物をインキュベートし、メッセンジャー RNA を含む組成物を生成
することとを包含し、

ここで

GTP の濃度対 ATP の濃度の比が少なくとも 2 : 1 であり、GTP の濃度対 CTP の濃
度の比が少なくとも 2 : 1 であり、GTP の濃度対 UTP の濃度の比が少なくとも 2 : 1
である、方法。

【請求項 2】

前記反応混合物が GTP 及び GDP を含み、かつ GTP + GDP の濃度対 ATP、CTP
 P または UTP のいずれか 1 つの濃度の比が、少なくとも 2 : 1 である、請求項 1 に記載
 の方法。

【請求項 3】

GTP + GDP の濃度対 ATP、CTP 及び UTP の濃度の比が、それぞれ 少なくとも
3 : 1、少なくとも 6 : 1 及び少なくとも 6 : 1 である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記反応混合物がグアノシン三リン酸 (GDP) をさらに含む、請求項 1 に記載の方法

。

【請求項 5】

前記組成物が、逆相補体転写産物を実質的に含まない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記メッセンジャー RNA の質量の 90 % 超が一本鎖全長転写物を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記組成物が、RNAse III 非感受性断片を実質的に含まない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記組成物がセンス配向の一本鎖部分 RNA 転写物の集団を含み、かつ前記センス配向の一本鎖部分 RNA 転写物の集団の 80 % 超が 100 ヌクレオチド以下のヌクレオチド長を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記センス配向の一本鎖部分 RNA 転写物の集団の 90 % 超が 100 ヌクレオチド以下のヌクレオチド長を有する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記組成物中の前記 RNA の質量の 0.25 % 未満がサイトカイン誘導性の RNA 混入物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記組成物がサイトカイン誘導性の RNA 混入物を実質的に含まない、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記組成物中の前記 RNA の質量の 0.5 % 未満が逆相補体転写産物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記逆相補体転写産物が、前記メッセンジャー RNA の少なくとも一部の逆相補体である配列を含む鎖を含む dsRNA であるか、またはポリ U 含有配列を含む鎖を含む dsRNA である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記メッセンジャー RNA の逆相補体である配列を含む前記鎖、または前記ポリ U 配列を含む前記鎖が、5'三リン酸(5'-PPP)で開始する、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記逆相補体転写産物が、目的のポリペプチドをコードする、前記メッセンジャー RNA の 5'末端の逆相補体及び/または前記メッセンジャー RNA の 3'末端の逆相補体を含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 16】

前記メッセンジャー RNA が目的のポリペプチドをコードする RNA であり、前記目的のポリペプチドをコードするメッセンジャー RNA の逆相補体が、前記目的のポリペプチドをコードするメッセンジャー RNA のオープンリーディングフレームの全部または一部に相補的な配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

オープンリーディングフレームを含むメッセンジャー RNA を生成する方法であって、
(a) DNA 鋳型と、アデノシン三リン酸(ATP)、シチジン三リン酸(CTP)、ウリジン三リン酸(UTP)、グアノシン三リン酸(GTP)またはそれぞれのヌクレオシドの類似体を含むヌクレオシド三リン酸(NTP)と、緩衝液とを含む反応混合物を形成することと、

(b) 前記反応混合物をインキュベートし、メッセンジャー RNA を含む組成物を生成することとを包含し、

ここで

GTP の濃度対 ATP の濃度の比が少なくとも 2 : 1 であり、GTP の濃度対 CTP の濃度の比が少なくとも 4 : 1 であり、GTP の濃度対 UTP の濃度の比が少なくとも 4 : 1

【請求項 18】

【手續補正 2】

【化 1】

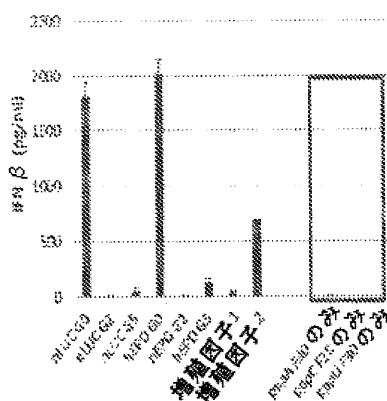
60mer 5' UTR Epo R CGUGCACUCCCAUGGUGGCUCUUAUAUUUCUUCUACUCUUCUUUUCUCUCUUAUUUCCC (SEQ ID NO: 32)

【配列表】

【手續補正4】

【補正の内容】

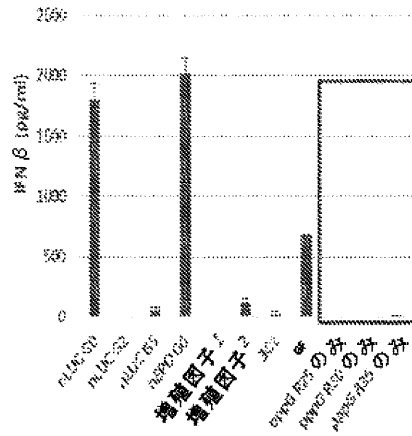
【 ㄨ 3 5 】



| | | |
|------|--------------------------------|---------|
| オリゴ | 配列 | |
| AF30 | AGGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAA | 配列番号 33 |
| CF30 | CGGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAA | 配列番号 34 |
| UF30 | UGGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAA | 配列番号 35 |

【補正の内容】

【図 36】



| オリゴ | 配列 [5'→3'] | |
|------|--|---------|
| GR25 | GACUCUUCUUUUUCUCUCUUAUUUCCC | 配列番号 28 |
| GR30 | GUUCUUACUCUCUCUUUUUCUCUCUUAUUUCCC | 配列番号 29 |
| GR35 | GAUUCUUUCUUACUCUCUCUUUUUCUCUCUUAUUUCCC | 配列番号 30 |