

【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 12 N 15/11 (2006.01)

A 61 K 48/00 (2006.01)

A 61 K 38/02 (2006.01)

C 12 P 19/34 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/11 Z

A 61 K 48/00 Z N A

A 61 K 38/02

C 12 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】

オープソ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鑄型と、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)またはそれと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ニリン酸(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 鑄型と、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

である、方法。

【請求項18】

GTPの濃度対ATPの濃度の比が2:1であり、GTPの濃度対CTPの濃度の比が4:1であり、GTPの濃度対UTPの濃度の比が4:1である、請求項17に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 3 3 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 3 3 3 】

【化 1】

60mer 5' UTR Epo F GGAAUAUAGAGAGAAAAGAAGUAGAAGAAAUAAGACGCCACCAUGGGAGUGCACG (SEQ ID NO: 31)

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

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2019533476000001.app

【手続補正4】

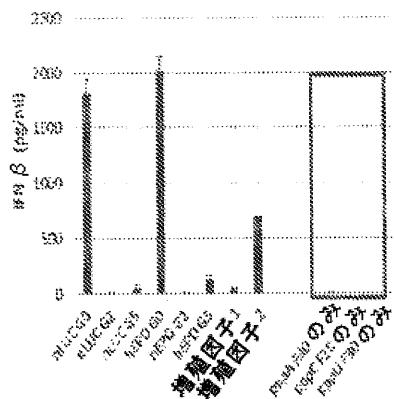
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 3 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図35】



オリゴ	配列	配列番号
AF30	AGGGAAAUAAAGAGAGAAAAAGAAGAGUAAGAA	配列番号 33
CF30	CGGGAAAUAAAGAGAGAAAAAGAAGAGUAAGAA	配列番号 34
UF30	UGGGAAAUAAAGAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAA	配列番号 35

【手続補正5】

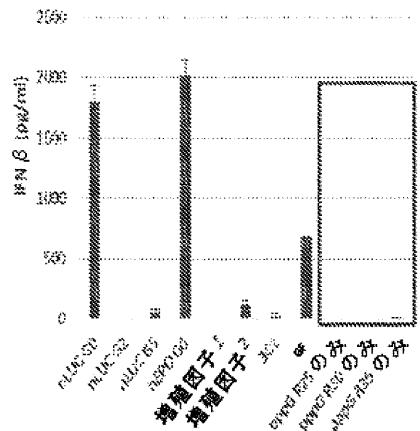
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 3 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図 3 6】



オリゴ	配列 [5' → 3']	配列番号
GR25	GACUCUUCUUCUUUCUCUCUAUUUCCC	配列番号 28
GR30	GUUCUUACUCUUCUUCUUUCUCUCUAUUUCCC	配列番号 29
GR35	GAUUCUUCUUCUACUCUUCUUCUUCUUAUUUCCC	配列番号 30