

【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24年5月31日(2012.5.31)

【公表番号】特表2011-527570(P2011-527570A)

【公表日】平成23年11月4日(2011.11.4)

【年通号数】公開・登録公報2011-044

【出願番号】特願2011-517379(P2011-517379)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

A 6 1 K 39/00 H

【手続補正書】

【提出日】平成24年3月27日(2012.3.27)

【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】

生細胞に形質移入するための R C A 産物の生産方法であって、

二本鎖 DNA (d s DNA)、一本鎖 DNA (s s DNA) 及び RNA からなる群から選択される 1 種以上の環状核酸鋳型を、1 種以上のオリゴヌクレオチドプライマーであってその少なくとも一部分が上記環状核酸鋳型の一部と相補的であるオリゴヌクレオチドプライマーと混合し、

上記オリゴヌクレオチドプライマーを上記環状核酸鋳型にアニールさせ、

アニールしたプライマーと鋳型に、1 種以上のポリメラーゼと所定量のデオキシリボヌクレオチド三リン酸 (d N T P) を添加し、

上記環状核酸鋳型を R C A で複製して R C A 産物を得て、

R C A 産物を形質移入媒体に直接移す

ことを含む方法。

【請求項 2】

前記 DNA ポリメラーゼが 3' - 5' エキソヌクレアーゼ活性又は鎖置換活性を示し、好ましくはバクテリオファージ 29 DNA ポリメラーゼ、T t s DNA ポリメラーゼ、ファージ M2 DNA ポリメラーゼ、DNA ポリメラーゼ I のクレノウ断片、T5 DNA ポリメラーゼ、PRD1 DNA ポリメラーゼ、T4 DNA ポリメラーゼホロ酵素、T7 DNA ポリメラーゼ及び B s t DNA ポリメラーゼからなる群から選択される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記 DNA ポリメラーゼが 3' - 5' エキソヌクレアーゼ活性を示さない、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

前記 DNA ポリメラーゼが、T a q ポリメラーゼ、T f l ポリメラーゼ、T t h ポリメラーゼ、真核生物 DNA ポリメラーゼ、及び 3' - 5' エキソヌクレアーゼ活性がなくなるように改質された DNA ポリメラーゼからなる群から選択される、請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】

前記 d N T P の少なくとも一部分が、ホスホチオエート化ヌクレオチド、ロックド核酸 (L N A)、d U T P、d I T P、r N T P、5 - メチル d C T P、2 - アミノ - d A T P、2 - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d C T P 及びデアザ - d G T P からなる群から選択される修飾ヌクレオチドである、請求項 1 乃至請求項 4 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 6】

前記環状核酸鑄型が、1 以上のプロモーター配列と 1 以上のターゲット配列と 1 以上の終結配列とを含んでおり、前記プロモーター配列及び終結配列が好ましくは真核生物の配列であり、前記ターゲット配列が、宿主生物で免疫応答を誘発することのできる発現産物をコードする、請求項 1 乃至請求項 5 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

前記ターゲット配列が、表面抗原のようなタンパク質、メッセンジャー R N A (m R N A) 配列、非コード R N A 配列、マイクロ R N A (m i R N A) 配列、低分子干渉 R N A (s i R N A) 配列及びモノクローナル抗体 (m A b) 鎖の少なくともいずれかをコードする、請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

前記ターゲット配列が、細菌、ウイルス、真菌、寄生生物又は非寄生生物のうちの 1 種以上に由来する、請求項 6 又は請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

前記環状 D N A 鑄型が、各々宿主生物で免疫応答を誘発することのできる異なる発現産物をコードする 2 種以上のターゲット配列を含む、請求項 1 乃至請求項 8 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 10】

生物で免疫応答を誘発する方法であって、

1 以上のプロモーター配列と 1 以上のターゲット配列と 1 以上の終結配列とを含む二本鎖 D N A (d s D N A)、一本鎖 D N A (s s D N A) 及び R N A からなる群から選択される環状核酸鑄型であって、上記 1 以上のターゲット配列が細菌、ウイルス、真菌、寄生生物又は非寄生生物のうちの 1 種以上に由来し、かつ生物で免疫応答を誘発することのできる発現産物をコードしている、環状核酸鑄型から、R C A 産物を調製する段階と、

有効量の上記 R C A 産物を未処理の形態で上記生物に投与する段階とを含む方法。

【請求項 11】

前記 R C A 産物の少なくとも一部分が、ホスホチオエート化ヌクレオチド、ロックド核酸 (L N A)、d U T P、d I T P、r N T P、5 - メチル d C T P、2 - アミノ - d A T P、2 - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d C T P 及びデアザ - d G T P からなる群から選択される修飾ヌクレオチドを含む、請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

前記ターゲット配列が、細菌、ウイルス、真菌、寄生生物又は非寄生生物の表面抗原をコードする、請求項 10 又は請求項 11 記載の方法。

【請求項 13】

前記環状核酸鑄型が、各々宿主生物で免疫応答を誘発することのできる異なる発現産物をコードする 2 種以上のターゲット配列を含む、請求項 10 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 14】

細胞の形質移入方法であって、

ホスホチオエート化ヌクレオチド、ロックド核酸 (L N A)、d U T P、d I T P、r N T P、5 - メチル d C T P、2 - アミノ - d A T P、2 - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d C T P 及びデアザ - d G T P からなる群から選択される修飾ヌクレオチドを含む未処理 R C A 産物を得る段階と、

未処理 R C A 産物を 1 以上の細胞に形質移入する段階とを含む方法。

【請求項 1 5】

生物への投与に適した 1 種以上の未処理 R C A 産物を含むワクチンであって、前記 R C A 産物が、二本鎖 D N A (d s D N A)、一本鎖 D N A (s s D N A) 及び R N A からなる群から選択される 1 以上の核酸鋳型から少なくとも部分的に生産される、ワクチン。

【請求項 1 6】

前記未処理 R C A 産物が、ホスホチオエート化ヌクレオチド、ロックド核酸 (L N A)、d U T P、d I T P、r N T P、5 - メチル d C T P、2 - アミノ - d A T P、2 - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d C T P 及びデアザ - d G T P からなる群から選択される修飾ヌクレオチドを含む、請求項 1 5 記載のワクチン。

【請求項 1 7】

前記未処理 R C A 産物が、生物で免疫応答を誘発することのできる発現産物をコードする 1 種以上のターゲット配列を含む、請求項 1 5 記載のワクチン。

【請求項 1 8】

生細胞の形質移入に適した 1 種以上の未処理 R C A 産物を含む形質移入製品であって、前記 R C A 産物が、二本鎖 D N A (d s D N A)、一本鎖 D N A (s s D N A) 及び R N A からなる群から選択される 1 以上の核酸鋳型から少なくとも部分的に生産され、前記未処理 R C A 産物が、ホスホチオエート化ヌクレオチド、ロックド核酸 (L N A)、d U T P、d I T P、r N T P、5 - メチル d C T P、2 - アミノ - d A T P、2 - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d T T P、4 ' - チオ - d C T P 及びデアザ - d G T P からなる群から選択される修飾ヌクレオチドを適宜含む、形質移入製品。