

【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23年11月10日(2011.11.10)

【公表番号】特表2010-539895(P2010-539895A)

【公表日】平成22年12月24日(2010.12.24)

【年通号数】公開・登録公報2010-051

【出願番号】特願2010-525439(P2010-525439)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/113	(2010.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/12	(2006.01)
G 0 1 N	33/58	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A G
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 Q	1/68	A
A 6 1 P	43/00	1 0 1
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	35/12	
G 0 1 N	33/58	Z

【手続補正書】

【提出日】平成23年9月21日(2011.9.21)

【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】

標的核酸の発現を調節する方法であって、前記核酸を snoRNA または修飾 snoRNA と、前記 snoRNA 若しくは修飾 snoRNA および / またはその断片が標的核酸の一部とハイブリダイズすることができる条件下で接触させるステップを含み、前記 snoRNA またはその断片の前記核酸の一部とのハイブリダイゼーションが前記標的核酸の発現および / または機能を調節する、方法。

【請求項 2】

前記標的核酸配列が RNA 配列である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 snoRNA 分子が、いわゆるボックス C / D - snoRNA またはボックス H / A C A - snoRNA を含む細胞 snoRNA に基づく、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記ボックス C / D snoRNA が、 L. collosoma b2 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、 L. collosoma B3 (GenBank アクセッション番号 AY046598)、 L. collosoma B4 (GenBank アクセッション番号 AY046598)、 L. collosoma B5 (GenBank アクセッション番号 AY046598)、 L. collosoma TS1 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、 L. collosoma TS2 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、 L. collosoma g2 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、 L. collosoma snoRNA - 2 (GenBank アクセッション番号 AF050095)、 T. brucei snoRNA 92 (GenBank アクセッション番号 Z50171、 L. tarentolae snoRNA 92 (GenBank アクセッション番号 AF016399)、 T. brucei TBC4 snoRNA (SEQ ID NO: 35)、 T. brucei sno 270 (GenBank アクセッション番号 Z50171) およびヒト U14 snoRNA (GenBank アクセッション番号 NR_000022) を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

ボックス C / D snoRNA に一般的に見出される 1 つ以上の D / D' ボックス核酸配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つ以上の D および / または D' ボックスが、例えば、 5' - C U G A - 3' , 5' - A U G A - 3' , 5' - C C G A - 3' , 5' - C A G A - 3' , 5' - C U U A - 3' , 5' - U U G G - 3' および 5' - C A G C - 3' から選択される配列を含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記修飾 snoRNA 分子が、ボックス C 配列および / または、任意に、 28S rRNA 若しくは snoRNA 修飾の他の生理学的標的と相補的な更なる領域を更に含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記 snoRNA をコードする配列が、確立された snoRNA プロセシング経路に従ってイントロンからのプロセシングを供与するために必要な構造要素を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9】

前記ボックス C 配列が 5 ~ 9 ヌクレオチド長である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

標的 RNA 配列の一部と実質的に相補的な前記配列が、イントロン若しくはエクソン配列、またはイントロン - エクソン結合配列、または前記標的核酸の 5' 若しくは 3' 非翻訳領域内の領域若しくはその接合部における領域と実質的に相補的である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記標的 RNA 配列の一部と実質的に相補的な前記核酸配列が、通常、15～45ヌクレオチド長である、請求項 1～10のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記標的 RNA 配列が、mRNA, tRNA, miRNA または rRNA 配列または RNA ウイルスゲノム配列またはこれらから生じる転写産物である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記修飾 snoRNA 分子が、標的核酸分子とハイブリダイズするように設計された 2 つ以上の配列を含む、請求項 1～12のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記標的核酸分子とハイブリダイズするように設計された 2 つ以上の配列が、同じ標的核酸分子の異なる部分または異なる標的核酸分子を標的とすることができる、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

標的核酸の発現の調節に用いる修飾 snoRNA 配列であって、前記標的核酸の一部とハイブリダイズし、且つ前記標的核酸の発現を調節するための、前記標的配列の一部と実質的に相補的な核酸配列を含む、修飾 snoRNA 配列。

【請求項 1 6】

前記標的核酸配列が RNA 配列である、請求項 1 5 に記載の修飾 snoRNA 配列。

【請求項 1 7】

前記 snoRNA 分子が、いわゆるボックス C / D - snoRNA またはボックス H / A C A - snoRNA を含む細胞 snoRNA に基づく、請求項 1 5 または 1 6 に記載の修飾 snoRNA 配列。

【請求項 1 8】

前記ボックス C / D snoRNA が、L. collosoma b2 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、L. collosoma B3 (GenBank アクセッション番号 AY046598)、L. collosoma B4 (GenBank アクセッション番号 AY046598)、L. collosoma B5 (GenBank アクセッション番号 AY046598)、L. collosoma TS1 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、L. collosoma TS2 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、L. collosoma g2 (GenBank アクセッション番号 AF331656)、L. collosoma snoRNA-2 (GenBank アクセッション番号 AF050095)、T. brucei snoRNA 92 (GenBank アクセッション番号 Z50171)、L. tarentolae snoRNA 92 (GenBank アクセッション番号 AF016399)、T. brucei TBC4 snoRNA (SEQ ID NO: 35)、T. brucei sno 270 (GenBank アクセッション番号 Z50171) およびヒト U14 snoRNA (GenBank アクセッション番号 NR_000022) を含む、請求項 1 7 に記載の修飾 snoRNA。

【請求項 1 9】

ボックス C / D snoRNA に一般的に見出される 1 つ以上の D / D' ボックス核酸配列を含む、請求項 1 5～1 8 のいずれか 1 項に記載の修飾 snoRNA。

【請求項 2 0】

前記少なくとも 1 つ以上の D および / または D' ボックスが、例えば、5' - C U G A - 3' , 5' - A U G A - 3' , 5' - C C G A - 3' , 5' - C A G A - 3' , 5' - C U U A - 3' , 5' - U U G G - 3' および 5' - C A G C - 3' から選択される配列を含む、請求項 1 9 に記載の修飾 snoRNA。

【請求項 2 1】

前記修飾 snoRNA 分子が、ボックス C 配列および / または、任意に、28S rR

N A若しくはs n o R N A修飾の他の生理学的標的と相補的な更なる領域を更に含む、請求項15～20のいずれか1項に記載の修飾s n o R N A。

【請求項22】

前記s n o R N Aをコードする配列が、確立されたs n o R N Aプロセシング経路に従ってイントロンからのプロセシングを供与するために必要な構造要素を含む、請求項17に記載の修飾s n o R N A。

【請求項23】

前記ボックスC配列が5～9ヌクレオチド長である、請求項21に記載の修飾s n o R N A。

【請求項24】

標的R N A配列の一部と実質的に相補的な前記配列が、イントロン若しくはエクソン配列、またはイントロン-エクソン結合配列、または前記標的核酸の5'若しくは3'非翻訳領域内の領域若しくはその接合部における領域と実質的に相補的である、請求項15～23のいずれか1項に記載の修飾s n o R N A。

【請求項25】

前記標的R N A配列の一部と実質的に相補的な前記核酸配列が、通常、15～45ヌクレオチド長である、請求項15～24のいずれか1項に記載の修飾s n o R N A。

【請求項26】

前記標的R N A配列が、m R N A, t R N A, m i R N Aまたはr R N A配列またはR N Aウイルスゲノム配列またはそれから生じる転写産物である、請求項16に記載の修飾s n o R N A。

【請求項27】

前記修飾s n o R N A分子が、標的核酸分子とハイブリダイズするように設計された2つ以上の配列を含む、請求項15～26のいずれか1項に記載の修飾s n o R N A。

【請求項28】

前記標的核酸分子とハイブリダイズするように設計された2つ以上の配列が、同じ標的核酸分子の異なる部分または異なる標的核酸分子を標的とすることができる、請求項27に記載の修飾s n o R N A。

【請求項29】

請求項15～28のいずれか1項に記載の少なくとも1つの修飾s n o R N A分子を発現することができる、プラスミドおよびウイルスペクターを含む核酸構築物。

【請求項30】

修飾s n o R N Aをコードすることができるイントロンの核酸の領域に隣接するエクソンの核酸の少なくとも2つの領域を含む、請求項29に記載の核酸構築物。

【請求項31】

前記核酸構築物が、1つ以上のs n o R N Aをコードすることができる配列を含む2つ以上のイントロン配列に隣接する多数のエクソン配列を含む、請求項29または30に記載の核酸構築物。

【請求項32】

前記構築物が、単一の構築物として形成され、標的細胞内における転写と同時に、エクソン配列に対応するm R N Aの生成およびイントロン配列のスプライシングアウトおよびその後の修飾s n o R N Aの生成をもたらす、請求項31に記載の核酸構築物。

【請求項33】

2つ以上のs n o R N A配列を生成するために2つ以上のイントロン配列が用いられ、各s n o R N Aが同じまたは異なる標的R N A分子を標的とするように設計された、請求項29～32のいずれか1項に記載の核酸構築物。

【請求項34】

前記核酸構築物が形質転換され、またはトランスフェクトされた細胞の同定を容易にするための選択マーカー遺伝子を更に含む、請求項29～33のいずれか1項に記載の核酸構築物。

【請求項 3 5】

少なくとも 1 つのプロモーター、例えば、構成的または制御可能なプロモーターを含む、請求項 2 9 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の核酸構築物。

【請求項 3 6】

宿主細胞のゲノムへの部位特異的組込みを容易にするように設計された部位特異的組換え部位を更に含む、請求項 2 9 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の核酸構築物。

【請求項 3 7】

請求項 2 9 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の核酸構築物で形質転換され、またはトランスフェクトされる宿主細胞。

【請求項 3 8】

前記細胞が、真核細胞、特に哺乳動物細胞（例えば、HeLa 細胞、Cos 細胞）、酵母細胞（例えば、AH109, HHY10, KDY80）昆蟲細胞（例えば、Sf9）、トリパノソーマ細胞（例えば、L. collosoma, L. major, T. brucei 29-13）、細菌細胞（例えば、JM109, RP437, MM509, SW10）または植物細胞から選択される、請求項 3 7 に記載の宿主細胞。

【請求項 3 9】

修飾 snoRNA 分子を生成するのに用いる核酸ベクター構築物であって、5' から 3' 方向に、

i) 転写を制御するためのプロモーター配列と、

ii) 第一のエクソン配列と、

iii) 第一のイントロンスプライシング配列と、

iv) 請求項 1 5 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の修飾 snoRNA をコードする核酸配列のクローニングを促進するためのクローニング部位または配列と、

v) 第二のイントロンスプライシング配列と、

vi) 第二のエクソン配列と

を含む、核酸ベクター構築物。

【請求項 4 0】

5' から 3' 方向に、

vii) 第三の、または更なるイントロンスプライシング配列と、

viii) 請求項 1 5 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の修飾 snoRNA をコードする核酸配列のクローニングを促進するための第二の、または更なるクローニング部位または配列と、

ix) 第四の、または更なるイントロンスプライシング配列と、

x) 第三の、または更なるエクソン配列と

を更に含む、請求項 3 9 に記載の核酸ベクター構築物。

【請求項 4 1】

標的 RNA または前記 1 つ以上の snoRNA によって調節されるタンパク質を機能的に置換するためにタンパク質、RNA、標識タンパク質、変異タンパク質などをコードする発現可能なコード配列を更に含む、請求項 3 9 または 4 0 に記載の核酸ベクター構築物。

【請求項 4 2】

前記 snoRNA 核酸および、標的 RNA 若しくは前記 1 つ以上の snoRNA によって調節されるタンパク質を機能的に置換するためにタンパク質、RNA、標識タンパク質、変異タンパク質などをコードする発現可能なコード配列が、同じプロモーターの制御下にあり、単一の転写物として発現される、請求項 4 1 に記載の核酸ベクター構築物。

【請求項 4 3】

標的核酸の発現を調節し、特に下方制御することが望ましい患者における疾患または病状を処置するのに用いる、snoRNA、修飾 snoRNA、snoRNA 若しくは修飾 snoRNA をコードする核酸構築物、または snoRNA 若しくは修飾 snoRNA を発現することができる細胞。

【請求項 4 4】

snoRNA、修飾snoRNA、snoRNA若しくは修飾snoRNAをコードする核酸構築物、またはsnoRNA若しくは修飾snoRNAを発現することができる細胞、および医薬的に許容可能な担体を含む、医薬組成物。

【請求項 4 5】

請求項1 5～4 2のいずれか1項に記載の修飾snoRNA、snoRNA若しくは修飾snoRNAをコードする核酸構築物、またはsnoRNA若しくは修飾snoRNAを発現することができる細胞を含む、請求項4 3または4 4に記載の生成物または組成物。

【請求項 4 6】

変異表現型を評価し、または薬物スクリーニング戦略を支援し、または標的を検証し、既存の未標識細胞型からの競合なしに標識形態のタンパク質を分析するための、または他の適用若しくは研究用途のための、請求項4 1または4 2に記載のベクターの使用。