

【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7年3月3日(2025.3.3)

【公開番号】特開2023-138660(P2023-138660A)

【公開日】令和5年10月2日(2023.10.2)

【年通号数】公開公報(特許)2023-185

【出願番号】特願2023-129040(P2023-129040)

【国際特許分類】

C 12 N 5/10(2006.01)	10
C 12 N 5/0781(2010.01)	
A 61K 35/17(2025.01)	
A 61P 21/00(2006.01)	
A 61P 25/00(2006.01)	
A 61K 35/76(2015.01)	
A 61K 35/761(2015.01)	
A 61K 48/00(2006.01)	
C 12N 15/12(2006.01)	
C 12N 15/861(2006.01)	
C 12N 15/864(2006.01)	20
C 12N 15/867(2006.01)	
C 12N 15/09(2006.01)	
C 12N 15/87(2006.01)	
C 12N 15/53(2006.01)	

【F I】

C 12 N 5/10	Z N A	
C 12 N 5/0781		
A 61K 35/17		
A 61P 21/00		
A 61P 25/00		30
A 61K 35/76		
A 61K 35/761		
A 61K 48/00		
C 12N 15/12		
C 12N 15/861	Z	
C 12N 15/864	1 0 0 Z	
C 12N 15/867	Z	
C 12N 15/09	1 0 0	
C 12N 15/87	Z	
C 12N 15/53		40

【誤訳訂正書】

【提出日】令和7年2月19日(2025.2.19)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

50

組換え B 細胞の集団であって、以下の特徴：

a . プロモーターに作動可能に連結された外因的フォリスタチン遺伝子を含む、少なくとも  $2 \times 10^6$  個の B 細胞；

b . 前記集団が被験体に投与されると、B 細胞の前記集団が前記被験体に生着し、前記外因的フォリスタチン遺伝子を発現する；および

c . 前記被験体におけるフォリスタチントンパク質レベルを、前記集団を投与されていない被験体における前記フォリスタチントンパク質レベルと比較して少なくとも 2 倍に増加させる

を含む、B 細胞の集団。

**【請求項 2】**

前記フォリスタチン遺伝子が、ヒトフォリスタチン F S T - 3 4 4 のスプライス部位バリエントである、請求項 1 に記載の B 細胞の集団。 10

**【請求項 3】**

前記ヒトフォリスタチン F S T - 3 4 4 のスプライス部位バリエントが、配列番号 3 または 4 を含む、請求項 2 に記載の B 細胞の集団。

**【請求項 4】**

前記 B 細胞が、トランスポゾン系を使用して前記フォリスタチン遺伝子を形質導入されているため、前記フォリスタチン遺伝子を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の B 細胞の集団。 20

**【請求項 5】**

前記トランスポゾン系が、スリーピングビューティートランスポゾン系または P i g g y b a c トランスポゾン系である、請求項 4 に記載の B 細胞の集団。

**【請求項 6】**

前記フォリスタチントンパク質が、前記組換え B 細胞によって分泌される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の B 細胞の集団。

**【請求項 7】**

前記組換え B 細胞が被験体から得られた B 細胞に由来するか、または前記 B 細胞が被験体から得られた細胞に由来する、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞の集団。 30

**【請求項 8】**

前記組換え B 細胞が、前記被験体から得られた B 細胞の前駆細胞に由来する、請求項 7 に記載の組換え B 細胞の集団。

**【請求項 9】**

前記組換え B 細胞が、前記 B 細胞または B 細胞の前駆細胞へと脱分化した、前記被験体から得られた細胞に由来する、請求項 7 ~ 8 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞の集団。 40

**【請求項 10】**

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞の組成物を產生する in vitro 方法であって、前記 B 細胞が：

a . スリーピングビューティートランスポゾン系を使用して、前記フォリスタチンをコードする D N A を前記細胞に転位または形質導入すること；

b . 選択された細胞を ex vivo で拡大増殖させること；および

c . 前記拡大増殖された細胞を、 ex vivo で形質細胞へ、または形質芽細胞へと分化させること

によって操作される、 in vitro 方法。

**【請求項 11】**

前記被験体への前記投与の前に、前記組換え B 細胞を、組換え B 細胞の集団に拡大増殖させることをさらに含み、ここで：

a . 組換え B 細胞の前記集団が、高い程度の多クローナル性を示すか、または

b . 組換え B 細胞の前記集団におけるあらゆる特定の B 細胞クローナルが、組換え B 細胞 50

の総集団の 0 . 2 % 未満を構成する、

請求項 10 に記載の *in vitro* 方法。

**【請求項 12】**

前記組換え B 細胞が、選択可能なマーカーをコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 10 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 13】**

投与のための収集の前に、前記組換え B 細胞をメトトレキセートで処置することを含む、請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 14】**

筋障害を処置、予防、または軽減するための方法における使用のための組成物であって 10  
、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞の集団を含む、組成物。

**【請求項 15】**

前記筋障害が、筋ジストロフィーである、請求項 14 に記載の組成物。

**【請求項 16】**

前記筋ジストロフィーが、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィー、または顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである、請求項 15 に記載の組成物。

**【請求項 17】**

前記方法が、2 またはそれよりも多い逐次用量の遺伝子改変 B 細胞を被験体に投与することを含む、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項 18】**

組換え B 細胞の前記集団が、静脈内、腹腔内、皮下、髄腔内または筋肉内注射のために 20  
製剤化されている、請求項 14 ~ 17 のいずれか一項に記載の組成物。

**【誤訳訂正 2】**

**【訂正対象書類名】**明細書

**【訂正対象項目名】**0014

**【訂正方法】**変更

**【訂正の内容】**

**【0014】**

一部の実施形態では、本発明は、フォリスタチン遺伝子を含む組換え B 細胞を提供する 30  
。一部の実施形態では、フォリスタチン遺伝子は、プロモーターに作動可能に連結される。

一部の実施形態では、フォリスタチン遺伝子は、ヒトフォリスタチン遺伝子である。一部 30  
の実施形態では、フォリスタチン遺伝子は、ヒトフォリスタチン F S T - 3 4 4 のスブ

ライス部位バリアントである。一部の実施形態では、B 細胞は、ヒト B 細胞である。一部 30  
の実施形態では、B 細胞は、フォリスタチン遺伝子を形質導入されている。一部の実施形

態では、B 細胞は、スリーピングビューティートランスポゾン系を使用して、フォリスタチ 30  
ン遺伝子を形質導入されているため、フォリスタチン遺伝子を含む。一部の実施形態では、B 細胞は、フォリスタチン遺伝子を保有するウイルスによる形質導入により、フォリ

スタチン遺伝子を発現する。一部の実施形態では、B 細胞は、フォリスタチン遺伝子を含むレトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルスまたはアデノ随伴ウイルスにより形 30  
質導入されているため、フォリスタチン遺伝子を含む。一部の実施形態では、B 細胞は、

標的化組込み (targeted integration) 手法を使用して、フォリスタチン遺伝子を含有するように操作される。一部の実施形態では、標的化組込みは、1 つ 30  
または複数のジンクフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ (T A L E N ) 、および / または C R I S P R / C a s 9 系が挙げられるがこれらに限

定されない C R I S P R / C a s 系を利用する。一部の実施形態では、B 細胞は、レトロ 30  
ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、アデノウイ

ルスベクター、任意の他の R N A または D N A ウイルスベクターからなる群より選択され 30  
る方法を使用して、フォリスタチンをコードする核酸を導入することによって、フォリ

スタチン遺伝子を、リボフェクション、ポリカチオン複合体形成、エレクトロポレーション等の 30  
ような (such and) 化学的または物理的手段を使用して導入されたフォリスタチ

10

20

30

40

50

ンをコードする非ウイルスDNAおよび／またはRNAを含有するように操作される。一部の実施形態では、フォリスタチン遺伝子は、組換えB細胞によって分泌される。一部の実施形態では、組換えB細胞は、被験体から得られたB細胞または被験体から得られた細胞に由来するB細胞に由来する。一部の実施形態では、組換えB細胞は、被験体から得られたB細胞の前駆細胞に由来する。一部の実施形態では、組換えB細胞は、B細胞またはB細胞の前駆細胞へと脱分化した、被験体から得られた細胞に由来する。一部の実施形態では、組換えB細胞は、

- (a) 被験体の血液から免疫細胞を採取および単離するステップと；
  - (b) フォリスタチンをコードするDNAを細胞に形質導入するステップと；
  - (c) 選択された細胞をex vivoで拡大増殖させるステップと；
  - (d) ex vivoで拡大増殖させた細胞を形質細胞および／または形質芽細胞へと分化させるステップ
- とによって操作される。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0019

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0019】

一部の実施形態では、本発明は、フォリスタチン遺伝子とジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)遺伝子との両方を発現するように形質導入された改変B細胞を提供する。  
20

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目1)

フォリスタチン遺伝子を含む組換えB細胞。

(項目2)

前記フォリスタチン遺伝子が、プロモーターに作動可能に連結している、項目1に記載のB細胞。

(項目3)

前記フォリスタチン遺伝子が、ヒトフォリスタチン遺伝子である、項目1または2に記載のB細胞。  
30

(項目4)

前記フォリスタチン遺伝子が、ヒトフォリスタチンFST-344のスプライス部位バリエントである、項目1から3のいずれか一項に記載のB細胞。

(項目5)

前記B細胞が、ヒトB細胞である、先行する項目のいずれか一項に記載のB細胞。

(項目6)

前記B細胞が、前記フォリスタチン遺伝子を形質導入されているかまたは転位されている、先行する項目のいずれか一項に記載のB細胞。

(項目7)

前記B細胞が、トランスポゾン系を使用して、前記フォリスタチン遺伝子を形質導入されているため、前記フォリスタチン遺伝子を含む、項目1から6のいずれか一項に記載のB細胞。  
40

(項目8)

前記トランスポゾン系が、スリーピングビューティートランスポゾン系またはPigg  
ybacトランスポゾン系である、項目7に記載のB細胞。

(項目9)

前記B細胞が、前記フォリスタチン遺伝子を保有するウイルスによる形質導入により、前記フォリスタチン遺伝子を発現する、項目1から7のいずれか一項に記載のB細胞。

(項目10)

前記B細胞が、前記フォリスタチン遺伝子を含むレトロウイルス、レンチウイルス、ア  
50

デノウイルスまたはアデノ随伴ウイルスにより形質導入されているため、前記フォリスタチン遺伝子を含む、項目1から7のいずれか一項に記載のB細胞。

(項目11)

前記B細胞が、標的化組込み手法を使用して、前記フォリスタチン遺伝子を含有するよう操作される、項目1から7のいずれか一項に記載のB細胞。

(項目12)

前記標的化組込みが、1または複数のジンクフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクタースクレアーゼ(TALEN)、および/またはCRISPR/Cas9系が挙げられるがこれらに限定されないCRISPR/Cas系を利用する、項目11に記載のB細胞。

10

(項目13)

前記B細胞が、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、アデノウイルスベクター、任意の他のRNAまたはDNAウイルスベクターからなる群より選択される方法を使用して、フォリスタチンをコードする核酸を導入することによって、前記フォリスタチン遺伝子を、リポフェクション、ポリカチオン複合体形成、エレクトロポレーション等のような化学的または物理的手段を使用して導入されたフォリスタチンをコードする非ウイルスDNAおよび/またはRNAを含有するよう操作される、項目1から7のいずれか一項に記載のB細胞。

(項目14)

前記フォリスタチンタンパク質が、前記組換えB細胞によって分泌される、先行する項目のいずれか一項に記載のB細胞。

20

(項目15)

フォリスタチンを被験体に送達する方法であって、フォリスタチン遺伝子を含む組換えB細胞を投与するステップを含む方法。

(項目16)

フォリスタチンを、それを必要とする被験体に送達する方法であって、項目1から14のいずれか一項に記載の組換えB細胞を投与するステップを含む方法。

(項目17)

前記被験体が、哺乳動物である、項目15または16に記載の方法。

(項目18)

前記被験体が、ヒトである、項目15から17のいずれか一項に記載の方法。

30

(項目19)

前記被験体が、筋ジストロフィーを有する、項目15から18のいずれか一項に記載の方法。

(項目20)

前記被験体が、ベッカー型筋ジストロフィーを有する、項目15から19のいずれか一項に記載の方法。

(項目21)

前記組換えB細胞の前記被験体へ前記投与するステップが、前記被験体の疾患、障害、または状態の処置をもたらす、項目15から20のいずれか一項に記載の方法。

40

(項目22)

前記組換えB細胞の前記被験体へ前記投与するステップが、筋ジストロフィーの処置をもたらす、項目15から20のいずれか一項に記載の方法。

(項目23)

前記組換えB細胞の前記被験体へ前記投与するステップが、前記被験体の体重を増加させる、項目15から22のいずれか一項に記載の方法。

(項目24)

前記被験体が、少なくとも約4%体重を増加させる、項目23に記載の方法。

(項目25)

有意な体重の増加が、30日以内に生じる、項目24に記載の方法。

50

(項目 2 6 )

有意な体重の増加が、約 3 0 日の間に生じる、項目 2 4 に記載の方法。

(項目 2 7 )

前記組換え B 細胞の前記被験体へ前記投与するステップが、前記被験体の筋肉量を増加させる、項目 1 5 から 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 8 )

前記組換え B 細胞の前記被験体へ前記投与するステップが、前記被験体の強度をより強くする、項目 1 5 から 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 )

前記組換え B 細胞の前記投与するステップが、前記被験体のフォリスタチン血漿中レベルを上昇させる、項目 1 5 から 2 8 のいずれか一項に記載の方法。 10

(項目 3 0 )

フォリスタチン遺伝子を含む組換え B 細胞を投与することによって、筋障害を処置、予防、または軽減する方法。

(項目 3 1 )

項目 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞を投与することによって、筋ジストロフィーを処置、予防、または軽減する方法。

(項目 3 2 )

前記組換え B 細胞が、前記被験体から得られた B 細胞または前記被験体から得られた細胞に由来する B 細胞に由来する、項目 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞。 20

(項目 3 3 )

前記組換え B 細胞が、前記被験体から得られた B 細胞の前駆細胞に由来する、項目 3 2 に記載の組換え B 細胞。

(項目 3 4 )

前記組換え B 細胞が、前記 B 細胞または B 細胞の前駆細胞へと脱分化した、前記被験体から得られた細胞に由来する、項目 3 2 に記載の組換え B 細胞。

(項目 3 5 )

前記組換え B 細胞が、

- ( a ) 前記被験体の血液から免疫細胞を採取および単離するステップと；
- ( b ) 前記フォリスタチンをコードする D N A を前記細胞に形質導入するステップと；
- ( c ) 選択された細胞を e x v i v o で拡大増殖させるステップと；
- ( d ) e x v i v o で前記拡大増殖させた細胞を形質細胞および / または形質芽細胞へと分化させるステップ

とによって操作される、項目 1 から 1 3 および 3 2 から 3 4 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞。

(項目 3 6 )

ステップ a から 単離された前記免疫細胞が、 C D 1 9 陽性細胞である、項目 3 5 に記載の組換え B 細胞。

(項目 3 7 )

前記ステップ b の形質導入するステップは、エレクトロポレーションによる、項目 3 5 または 3 6 に記載の組換え B 細胞。 40

(項目 3 8 )

前記エレクトロポレーションには、前記スリーピングビューティートランスポゾン系が利用される、項目 3 7 に記載の組換え B 細胞。

(項目 3 9 )

前記分化した細胞が、 C D 3 8 ( + ) および C D 2 0 ( - ) である、項目 3 5 から 3 8 のいずれか一項に記載の組換え B 細胞。

(項目 4 0 )

項目 3 5 から 3 9 のいずれか一項に記載の組換え B 紹介を被験体に投与するステップを含む方法。 50

(項目41)

2またはそれよりも多い逐次用量の遺伝子改変B細胞を被験体に投与するステップを含む、項目15から31および35から40のいずれか一項に記載の方法。

(項目42)

投与するステップが、最適に満たない単回用量濃度で2またはそれよりも多い用量の前記遺伝子改変B細胞を含む、項目41に記載の方法。

(項目43)

投与するステップが、3またはそれよりも多い用量の遺伝子改変B細胞を含む、項目41に記載の方法。

(項目44)

前記遺伝子改変B細胞が、前記被験体に対して自家である、項目41に記載の方法。

(項目45)

前記遺伝子改変B細胞が、前記被験体に対して同種異系である、項目41に記載の方法。

(項目46)

前記被験体が、ヒトである、項目41に記載の方法。

(項目47)

前記遺伝子改変B細胞が、CD20-、CD38-かつCD138-である、項目41に記載の方法。

(項目48)

前記遺伝子改変B細胞が、CD20-、CD38+かつCD138+である、項目41に記載の方法。

(項目49)

前記遺伝子改変B細胞が、CD20-、CD38+かつCD138-である、項目41に記載の方法。

(項目50)

前記投与するステップが、静脈内、腹腔内、皮下、髄腔内、前房内または筋肉内注射を含む、項目41に記載の方法。

(項目51)

前記投与するステップが、静脈内注射を含む、項目50に記載の方法。

(項目52)

前記遺伝子改変B細胞が、培養後2日目または3日目に操作される、項目15から31および35から51のいずれか一項に記載の方法。

(項目53)

前記遺伝子改変B細胞が、エレクトロポレーションを含む方法を使用して操作される、項目52に記載の方法。

(項目54)

(a) 前記遺伝子改変B細胞が、in vitro培養の1日目から12日目までの範囲の日に被験体への投与のために収集され、

(b) 前記遺伝子改変B細胞が、操作後の培養における4日目、5日目、6日目、または7日目、または8日目に、被験体への投与のために収集される、

項目15から31および35から53のいずれか一項に記載の方法。

(項目55)

前記遺伝子改変B細胞が、操作後の培養の開始から8日目またはそれよりも後に、被験体への投与のために収集される、項目15から31および35から54のいずれか一項に記載の方法。

(項目56)

前記遺伝子改変B細胞が、操作後の培養の開始から10日目またはそれよりも前に、被験体への投与のために収集される、項目55に記載の方法。

(項目57)

10

20

30

40

50

前記収集された遺伝子改変 B 細胞が、有意なレベルの炎症性サイトカインを產生しない、項目 15 から 31 および 35 から 56 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 58)

前記遺伝子改変 B 細胞が、有意なレベルの炎症性サイトカインを產生しないことが決定される培養中の時点で収集される、項目 15 から 31 および 35 から 57 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 59)

前記遺伝子改変 B 細胞を、操作前および操作後の培養期間全体にわたって、IL-2、IL-4、IL-10、IL-15、IL-31 および多量体化 CD40 リガンドのそれを含む培養系において成長させる、項目 15 から 31 および 35 から 58 のいずれか一項に記載の方法。 10

(項目 60)

前記多量体化 CD40 リガンドが、抗 his 抗体を使用して多量体化される、HIS タグ付き CD40 リガンドである、項目 59 に記載の方法。

(項目 61)

前記被験体へ前記投与するステップの前に、前記遺伝子改変 B 細胞を拡大増殖させるステップをさらに含む、項目 15 から 31 および 35 から 60 のいずれか一項に記載の方法。 20

(項目 62)

拡大増殖させた遺伝子改変 B 細胞の最終集団が、高い程度の多クローン性を示す、項目 61 に記載の方法。 20

(項目 63)

拡大増殖させた遺伝子改変 B 細胞の最終集団におけるあらゆる特定の B 細胞クローニングが、総 B 細胞集団の 0.2 % 未満を構成する、項目 61 に記載の方法。

(項目 64)

拡大増殖させた遺伝子改変 B 細胞の最終集団におけるあらゆる特定の B 細胞クローニングが、総 B 細胞集団の 0.05 % 未満を構成する、項目 61 に記載の方法。

(項目 65)

前記遺伝子改変 B 細胞が、選択可能なマーカーをコードするポリヌクレオチドを含む、項目 15 から 31 および 35 から 64 のいずれか一項に記載の方法。 30

(項目 66)

前記選択可能なマーカーが、メトトレキセートに対して増強された耐性を有するヒト DHFR 遺伝子である、項目 65 に記載の方法。

(項目 67)

メトトレキセートに対して増強された耐性を有する前記ヒト DHFR 遺伝子が、アミノ酸 22 におけるロイシンからチロシンへの置換変異およびアミノ酸 31 におけるフェニルアラニンからセリンへの置換変異を含有する、項目 66 に記載の方法。

(項目 68)

投与のための収集の前に、前記遺伝子改変 B 細胞をメトトレキセートで処置するステップを含む、項目 15 から 31 および 35 から 67 のいずれか一項に記載の方法。 40

(項目 69)

前記メトトレキセートによる処置が、100 nM ~ 300 nM の間である、項目 68 に記載の方法。

(項目 70)

前記メトトレキセートによる処置が、200 nM である、項目 69 に記載の方法。

(項目 71)

前記遺伝子改変 B 細胞が、前記被験体に投与されると、多様な組織へと遊走する、項目 15 から 31 および 35 から 70 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 72)

前記被験体に投与される遺伝子改変 B 細胞の集団のうち少なくとも 1 個の遺伝子改変 B 50

細胞が、骨髓、腸、筋肉、脾臓、腎臓、心臓、肝臓、肺および脳からなる群より選択される1種または複数種の組織へと遊走する、項目15から31および35から71のいずれか一項に記載の方法。

(項目73)

前記被験体に投与される遺伝子改変B細胞の集団のうち少なくとも1個の遺伝子改変B細胞が、前記被験体の骨髓、腸、筋肉、脾臓、腎臓、心臓、肝臓、肺および脳へと遊走する、項目72に記載の方法。

(項目74)

フォリスタチン遺伝子とDHF-R遺伝子とを発現するように形質導入された改変B細胞。

10

(項目75)

筋障害を処置するための方法であって、フォリスタチンを発現するように遺伝子改変されたB細胞を被験体に投与するステップを含む方法。

(項目76)

前記筋障害が、筋ジストロフィー、炎症性筋障害、筋損傷または筋外傷、筋廃用、および筋萎縮または筋衰弱から選択される、項目75に記載の方法。

(項目77)

前記筋ジストロフィーが、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィーまたは顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである、項目75または76に記載の方法。

20

(項目78)

前記炎症性筋障害が、封入体筋炎である、項目75または76に記載の方法。

(項目79)

前記筋廃用が、長期の床上安静または四肢固定の後に起こる、項目75または76に記載の方法。

(項目80)

前記筋萎縮または筋衰弱が、加齢、がんまたは慢性疾患によって引き起こされる、項目75または76に記載の方法。

(項目81)

前記筋障害が、筋肉減少症である、項目75に記載の方法。

(項目82)

30

前記筋障害が、脊髄性筋萎縮(SMA)である、項目75に記載の方法。

(項目83)

前記筋障害が、筋萎縮性側索硬化症(ALS)である、項目75に記載の方法。

(項目84)

前記筋障害が、ポンペ病である、項目75に記載の方法。

(項目85)

前記フォリスタチンが、配列番号1～4のうちのいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含む、項目75から84のいずれか一項に記載の方法。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

40

【訂正対象項目名】0112

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0112】

一実施形態では、細胞は、トランスポゾンを使用してトランسفェクトされる。本明細書において、用語「転位された」は、一部の実施形態では、トランスポゾンを用いてトランسفェクトされるような細胞を指し得る。多数のトランスポゾン系が当技術分野で公知であり、本発明において使用するのに好適である。例えば、スリーピングビューティートランスポゾン系およびPiggybacトランスポゾン系は、当技術分野で周知であり、本発明において使用するのに好適である。例えば、これらのそれぞれが、それらの全体を

50

参考により本明細書に組み込む、Hackett P.B., et al., Evaluating Risks of Insertional Mutagenesis by DNA Transposons in Gene Therapy, Transl Res. 2013 April ; 161(4): 265-283 ; Hudecek M, et al., Going non-viral: the Sleeping Beauty transposon system breaks on the rough to the clinical side, Crit Rev Biochem Mol Biol. 2017 Aug;52(4):355-380を参照されたい。一部の実施形態では、細胞は、スリーピングビューティートランスポゾンを使用してトランスフェクトされる。スリーピングビューティートランスポゾンは、一部の実施形態では、T 2スリーピングビューティートランスポゾンまたはT 4スリーピングビューティートランスポゾンであってもよい。一部の実施形態では、スリーピングビューティートランスポゾン系の利用は、B 細胞を、トランスポゾン系の機構をコードするDNA 構築物およびフォリスタチンポリペプチドをコードするDNA 構築物を用いてトランスフェクトすることを（例えば、エレクトロポレーションにより）含み得る。一部の実施形態では、トランスポゾン系機構をコードするDNA 構築物は、p CMV - SB 100×であってもよい。一部の実施形態では、スリーピングビューティートランスポゾン系の利用は、B 細胞を、フォリスタチンポリペプチドをコードするDNA 構築物でトランスフェクトすること（例えば、エレクトロポレーションによる）、さらに、B 細胞を、トランスポゾン系機構をコードするmRNA を用いてトランスフェクトすることを含む。一部の実施形態では、トランスポゾン系機構をコードするmRNA は、SB 100×トランスポサーゼをコードする。一部の実施形態では、細胞は、Piggycatトランスポゾンを使用してトランスフェクトされる。一実施形態では、細胞は、in vitro 培養の1日目から12日目までの範囲の日に、トランスポゾン（例えば、T 2もしくはT 4スリーピングビューティートランspoゾンまたはPiggycatトランspoゾン）を使用してトランスフェクトされる。一実施形態では、細胞は、in vitro 培養の1、2、3、4、5、6、7、8、または9日目に、トランspoゾン（例えば、T 2もしくはT 4スリーピングビューティートランspoゾンまたはPiggycatトランspoゾン）を使用してトランスフェクトされる。一実施形態では、細胞は、in vitro 培養の1日目から12日目までの範囲の日に、ミニサークルを使用してトランスフェクトされる。一実施形態では、細胞は、in vitro 培養の1、2、3、4、5、6、7、8、または9日目に、ミニサークルを使用してトランスフェクトされる。

10

20

30

40

50