

【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 6 年 7 月 24 日(2024.7.24)

【国際公開番号】WO2022/011457
【公表番号】特表 2023-535345(P2023-535345A)
【公表日】令和 5 年 8 月 17 日(2023.8.17)
【年通号数】公開公報(特許)2023-154
【出願番号】特願 2023-502801(P2023-502801)
【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/85(2006.01)
A 0 1 K 67/027(2024.01)
C 1 2 N 5/10(2006.01)
C 1 2 N 15/13(2006.01)
C 0 7 K 16/00(2006.01)
C 1 2 P 21/08(2006.01)
C 1 2 N 5/0735(2010.01)

【F I】

C 1 2 N 15/85 Z
A 0 1 K 67/027
C 1 2 N 5/10
C 1 2 N 15/13
C 0 7 K 16/00
C 1 2 P 21/08
C 1 2 N 5/0735

20

【手続補正書】
【提出日】令和 6 年 7 月 12 日(2024.7.12)
【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】

30

免疫グロブリン重鎖 (I g H) 遺伝子座において生殖系列改変を含むトランスジェニック非ヒト動物であって、前記 I g H 遺伝子座が、 a) 未再構成の重鎖可変 (V)、多様 (D)、及び結合 (J) 遺伝子断片、並びに b) 機能性 C H 1 ドメインを欠く少なくとも 1 つの I g G 定常領域遺伝子を含み、前記 D 及び / 又は J 遺伝子断片が、ラクダ D 及び / 又は J 遺伝子断片を含む、トランスジェニック非ヒト動物。

40

【請求項 2】

前記改変が、以下：

a . 全ての内在性非ヒト D 及び J 断片の、未再構成ラクダ D 及び J 遺伝子断片での置換であって、全ての I g G 定常領域遺伝子が、C H 1 ドメインをコードする領域での完全欠失若しくは部分欠失を含む、置換；

b . 1 つ若しくは複数の内在性非ヒト D 及び / 若しくは J 遺伝子断片の、1 つ若しくは複数の未再構成ラクダ D 及び / 若しくは J 遺伝子断片での置換、並びに少なくとも 1 つの I g G 定常領域遺伝子の C H 1 ドメインの完全欠失若しくは部分欠失；

c . 1 つ若しくは複数の未再構成ラクダ D 及び / 若しくは J 遺伝子断片の挿入、並びに少なくとも 1 つの I g G 定常領域遺伝子の C H 1 ドメインの完全欠失若しくは部分欠

50

失；又は

d. 1つ若しくは複数の内在性非ヒトD及び／若しくはJ遺伝子断片の、1つ若しくは複数の未再構成ラクダD及び／若しくはJ遺伝子断片での置換、若しくは1つ若しくは複数の未再構成ラクダD及び／若しくはJ遺伝子断片の挿入、並びに少なくとも1つのIgG定常領域遺伝子のCH1ドメインの改変を含む、請求項1に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項3】

前記ラクダD及び／又はJ遺伝子断片が、単一のラクダ種に、少なくとも2つのラクダ種に、少なくとも3つのラクダ種に、又は少なくとも4つのラクダ種に由来する、請求項1又は2に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

10

【請求項4】

前記改変が、以下：

a. ラクダV遺伝子断片の挿入、若しくは1つ若しくは複数の内在性非ヒトV遺伝子断片の、1つ若しくは複数のラクダV遺伝子断片での置換であって、前記V遺伝子断片が、ラクダVH若しくはラクダVHHポリペプチドをコードする、挿入若しくは置換；又は

b. 複数の哺乳動物種のV遺伝子断片の挿入、若しくは1つ若しくは複数の内在性非ヒトV遺伝子断片の、複数の哺乳動物種のV遺伝子断片での置換を更に含む、請求項1から3のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

20

【請求項5】

前記改変が、全ての内在性非ヒトV断片の、ラクダV遺伝子断片での置換を含む、請求項4に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項6】

前記V遺伝子断片が、少なくとも2つの種に、少なくとも3つの種に、又は少なくとも4つの種に由来する、請求項1から5のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項7】

前記トランスジェニック非ヒト動物が、フタコブラクダ由来のV断片、ラマ由来のV断片、ヒトコブラクダ由来のV断片、アルパカ由来のV断片、及び／又はビクーニャ由来のV断片を含む、請求項1から6のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

30

【請求項8】

前記ラクダD及び／又はJ遺伝子断片が、アルパカに、フタコブラクダに、ラマに、ヒトコブラクダに、及び／又はビクーニャに由来する、請求項1から7のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項9】

前記改変が、全ての内在性非ヒトD及びJ断片の、未再構成ラクダD及びJ遺伝子断片での置換を含む、請求項1から8のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項10】

全てのIgG定常領域遺伝子が、CH1ドメインをコードする領域での完全欠失又は部分欠失を含む、請求項1から9のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

40

【請求項11】

前記トランスジェニック非ヒト動物が、ホモ接合型又はヘテロ接合型である、請求項1から10のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項12】

前記トランスジェニック非ヒト動物が、トランスジェニックマウス又はトランスジェニックラットである、請求項1から11のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項13】

抗原特異的な重鎖のみの抗体(HCAb)又は前記HCAbの抗原結合ドメイン若しく

50

はその一部をコードする核酸を取得する方法であって、前記方法が、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物を抗原で免疫化する工程を含む、方法。

【請求項 14】

前記 H C A b 種の 1 つ又は複数の相補性決定領域又は可変領域のアミノ酸配列又は核酸配列を決定する工程を更に含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

請求項 13 若しくは 14 に記載の方法によって取得されるアミノ酸配列を含むか、若しくは請求項 13 若しくは 14 に記載の方法によって取得される核酸配列によってコードされるか、又は請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のトランスジェニック非ヒト動物から単離若しくは取得される、結合剤。

10

【請求項 16】

免疫グロブリン重鎖 (I g H) 遺伝子座において生殖系列改変を含む単離非ヒト胚性幹細胞であって、前記 I g H 遺伝子座が、a) 未再構成の重鎖可変 (V)、多様 (D)、及び結合 (J) 遺伝子断片、並びに b) 機能性 C H 1 ドメインを欠く少なくとも 1 つの I g G 定常領域遺伝子を含み、前記 D 及び / 又は J 遺伝子断片が、ラクダ D 及び / 又は J 遺伝子断片を含む、単離非ヒト胚性幹細胞。

【請求項 17】

前記単離非ヒト胚性幹細胞が、マウス胚性幹細胞であり、前記改変が、A) a) 1 つ若しくは複数の未再構成ラクダ V 遺伝子断片の挿入、若しくは内在性マウス V 遺伝子断片の 1 つ若しくは複数の、1 つ若しくは複数の未再構成ラクダ V 遺伝子断片での置換、b) 内在性マウス D 及び J 断片の少なくとも 1 つ若しくは全ての、ラクダ D 及び J 断片での置換、並びに c) 内在性マウス 1、2 a、2 b 及び 3 遺伝子から発現するポリペプチドが機能性 C H 1 ドメインを含まないような、前記内在性マウス 1、2 a、2 b 及び 3 遺伝子の少なくとも 1 つ若しくは全ての C H 1 ドメインの欠失若しくは改変、又は B) 内在性 3 遺伝子、1 遺伝子、2 b 遺伝子及び 2 a 遺伝子の各々の C H 1 ドメインの欠失、内在性マウス D 及び J 遺伝子断片の、未再構成ラクダ D 及び J 遺伝子断片での置換、複数のラクダ種に由来するラクダ V 遺伝子断片の挿入、並びに場合により、少なくとも 1 つ若しくは全ての内在性マウス V 遺伝子断片の欠失、を含む、請求項 16 に記載の単離非ヒト胚性幹細胞。

20

30

【請求項 18】

トランスジェニック非ヒト動物の作製における、請求項 16 又は 17 に記載の非ヒト胚性幹細胞の使用。

【請求項 19】

請求項 16 又は 17 に記載の胚性幹細胞を微量注入した胚盤胞を移植する工程、同腹仔からキメラマウスを選択する工程、及び場合により、キメラマウスを野生型動物と戻し交配することにより、F1 ヘテロ接合型動物を生成する工程、及び場合により、F1 動物を交配することにより、F2 ホモ接合型動物を生成する工程を含む、トランスジェニックマウスを作製する方法。

【請求項 20】

請求項 16 又は 17 に記載の胚性幹細胞を含む非ヒト胚盤胞又は胚。

40