

【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8月18日 (2011.8.18)

【公開番号】特開2010-259439(P2010-259439A)

【公開日】平成22年11月18日 (2010.11.18)

【年通号数】公開・登録公報2010-046

【出願番号】特願2010-148212(P2010-148212)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (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)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/76

C 1 2 N 1/15

A 0 1 K 67/027

【手続補正書】

【提出日】平成23年6月27日 (2011.6.27)

【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】

単離されたポリヌクレオチドを含むベクターであって、該ポリヌクレオチドは、以下：

a．二重の互いに異なって転写されるプロモーターを含む、伸長されたメチル化されていない C p G アイランド；

b．ポリアデニル化シグナルによって終結される発現可能な核酸；

c．プロモーターに作動可能に連結された選択マーカー遺伝子

を含み、該ベクターは、該 C p G アイランドおよび該選択マーカーの両方が該発現可能な核酸に作動可能に連結され、該ベクターの成分が、該発現可能な核酸のセンス鎖に関して 5' ~ 3' の方向で、以下の順序：伸長されたメチル化されていない C p G アイランド、発現可能な核酸、選択マーカー遺伝子、で位置付けられ、そして、該発現可能な核酸の 3' 末端の該ポリアデニル化シグナルが該選択マーカーの近位末端の 2 0 0 0 b p 以内となるように、直鎖化されそして染色体に組み込まれ得ることを特徴とする、ベクター。

【請求項 2】

前記発現可能な核酸の 3' 末端の前記ポリアデニル化シグナルは、前記選択マーカーの近位末端の 1 5 0 0 b p 以内である、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 3】

前記発現可能な核酸の 3' 末端の前記ポリアデニル化シグナルは、前記選択マーカの近位末端の 1000 bp 以内である、請求項 2 に記載のベクター。

【請求項 4】

前記発現可能な核酸の 3' 末端の前記ポリアデニル化シグナルは、前記選択マーカの近位末端の 500 bp 以内である、請求項 3 に記載のベクター。

【請求項 5】

前記選択マーカが、抗生物質耐性遺伝子である、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 6】

前記抗生物質耐性遺伝子が、*Streptomyces* 種から得られる、請求項 5 に記載のベクター。

【請求項 7】

前記抗生物質耐性遺伝子が、プロマイシン耐性遺伝子；ネオマイシン耐性遺伝子；ハイグロマイシン耐性遺伝子；プレオマイシン耐性遺伝子およびプラスチジン耐性遺伝子からなる群より選択される、請求項 5 に記載のベクター。

【請求項 8】

前記プロマイシン耐性遺伝子が、*Streptomyces alboniger* 由来のプロマイシン N - アセチルトランスフェラーゼ遺伝子、必要に応じて改変された *Streptomyces alboniger* 由来のプロマイシン N - アセチルトランスフェラーゼ遺伝子である、請求項 7 に記載のベクター。

【請求項 9】

前記ネオマイシン耐性遺伝子が、*Streptomyces fradiae* 由来のアミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ遺伝子である、請求項 7 に記載のベクター。

【請求項 10】

前記ハイグロマイシン耐性遺伝子が、*Streptomyces hygrosopicus* 由来のハイグロマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子である、請求項 7 に記載のベクター。

【請求項 11】

前記プレオマイシン耐性遺伝子が、*Streptomyces verticillius* 由来のプレオマイシン結合タンパク質、必要に応じて *Streptomyces verticillius* 由来のプレオマイシン N - アセチルトランスフェラーゼである、請求項 7 に記載のベクター。

【請求項 12】

前記プラスチジン耐性遺伝子が、*Streptomyces verticillium* 由来のプラスチジン S - アセチルトランスフェラーゼ遺伝子である、請求項 7 に記載のベクター。

【請求項 13】

前記選択マーカが、*Escherichia coli* 由来の抗生物質耐性遺伝子アミノシクリトールホスホトランスフェラーゼである、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 14】

前記選択マーカが、トランスポゾン Tn5 由来の抗生物質耐性遺伝子ネオマイシンホスホトランスフェラーゼである、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 15】

前記伸長されたメチル化されていない CpG アイランドが、ヒト異種核リボ核タンパク質 A2 / B1 遺伝子にわたる 8 kb の DNA フラグメントを含む、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 16】

前記伸長されたメチル化されていない CpG アイランドが、マウス異種核リボ核タンバ

ク質 A 2 / B 1 遺伝子にわたる 8 k b の D N A フラグメントを含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 1 7】

前記伸長されたメチル化されていない C p G アイランドが、図 1 9 の配列のヌクレオチド 1 ~ 7 8 9 8 を含む、請求項 1 6 に記載のベクター。

【請求項 1 8】

前記伸長されたメチル化されていない C p G アイランドが、ヒト - アクチン C p G アイランド / プロモーター領域にわたる 2 . 0 k b の D N A フラグメント、およびヒト P D C D 2 C p G アイランド / プロモーター領域にわたる 1 . 8 k b の D N A フラグメントを含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 1 9】

前記発現可能な核酸が、治療的核酸である、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 2 0】

前記発現可能な核酸が、インビトロ細胞培養系での発現のための組換えタンパク質をコードする、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 2 1】

前記発現可能な核酸がマルチクローニングサイト内に含まれ、そして該マルチクローニングサイトが、プロモーターにさらに作動可能に連結される、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載のベクター。

【請求項 2 2】

前記プロモーターが、サイトメガロウイルス最初期 / 初期 (C M V I E) プロモーターである、請求項 2 1 に記載のベクター。

【請求項 2 3】

図 1 0 の配列のヌクレオチド 1 ~ 1 0 5 5 1 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 2 4】

図 1 2 の配列のヌクレオチド 1 ~ 1 3 5 4 5 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 2 5】

前記プロマイシン耐性遺伝子が、図 1 5 の配列を有する *S t r e p t o m y c e s f r a d i a e* 由来のアミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ遺伝子で置き換えられる、請求項 2 4 に記載のベクター。

【請求項 2 6】

前記プロマイシン耐性遺伝子が、図 1 7 の配列を有する *E s c h e r i c h i a c o l i* 由来のアミノシクリトールホスホトランスフェラーゼ遺伝子で置き換えられる、請求項 2 4 に記載のベクター。

【請求項 2 7】

前記プロマイシン耐性遺伝子が、図 1 4 の配列を有する *S t r e p t m y c e s a l b o n i g e r* 由来のプロマイシン N - アセチルトランスフェラーゼ遺伝子の改変形で置き換えられる、請求項 2 4 に記載のベクター。

【請求項 2 8】

前記ヒト I E C M V プロモーターが、マウス I E C M V プロモーターで置き換えられる、請求項 2 4 に記載のベクター。

【請求項 2 9】

前記ヒト異種核リボ核タンパク質 A 2 / B 1 遺伝子にわたる 8 k b のフラグメントを含む伸長されたメチル化されていない C p G アイランドが、図 1 9 の配列を有するマウス異種核リボ核タンパク質 A 2 / B 1 遺伝子にわたる 8 k b のフラグメントを含む伸長されたメチル化されていない C p G アイランドで置き換えられる、請求項 2 4 に記載のベクター。

。

【請求項 3 0】

図 2 1 の配列のヌクレオチド 1 ~ 1 2 0 3 9 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 3 1】

図 2 3 の配列のヌクレオチド 1 ~ 1 1 6 4 6 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 3 2】

図 2 5 の配列のヌクレオチド 1 ~ 9 0 2 7 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 3 3】

図 2 7 の配列のヌクレオチド 1 ~ 1 2 2 2 1 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 3 4】

図 2 9 の配列のヌクレオチド 1 ~ 1 1 8 2 8 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 3 5】

図 3 1 の配列のヌクレオチド 1 ~ 9 2 0 9 を含む、請求項 1 に記載のベクター。

【請求項 3 6】

請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載のベクターでトランスフェクトされた宿主細胞。

【請求項 3 7】

発現可能な核酸の発現を得るための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載のベクター、または請求項 3 6 に記載の宿主細胞の使用。

【請求項 3 8】

所望の遺伝子産物の発現を得るための、細胞培養系における、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載のベクター、または請求項 3 6 に記載の宿主細胞の使用。

【請求項 3 9】

医薬としての使用のための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載のベクター、または請求項 3 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 4 0】

遺伝子治療における使用のための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載のベクター、または請求項 3 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 4 1】

遺伝子治療によって処置可能な疾患のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載のベクター、または請求項 3 6 に記載の宿主細胞の使用。

【請求項 4 2】

薬学的に受容可能な賦形剤と組み合わせて、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載のベクター、または請求項 3 6 に記載の宿主細胞を含む、薬学的組成物。