

【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21年11月12日 (2009.11.12)

【公表番号】特表2003-501103(P2003-501103A)

【公表日】平成15年1月14日 (2003.1.14)

【出願番号】特願2001-502667(P2001-502667)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 0 1 K 67/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 K 67/00 5 0 1

C 0 7 K 16/18

C 1 2 N 5/00 B

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成21年9月18日 (2009.9.18)

【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】

導入遺伝子であって、該導入遺伝子は、ヒト第 14 染色体上の免疫グロブリン重鎖遺伝子座の連続領域の、該遺伝子座の D セグメント遺伝子から J セグメント遺伝子および定常領域遺伝子 C<sub>μ</sub> まで続く DNA 配列を含む DNA フラグメントを含み、ここで、該 DNA フラグメントは、少なくとも 1 つのヒト V セグメント遺伝子に作動可能に連結され、そしてここで、該 DNA フラグメントは、さらに、さらなる定常領域遺伝子に作動可能に連結され、該さらなる定常領域遺伝子は、( 1 ) ヒトスイッチ領域； ( 2 ) ヒト C H 1、C<sub>H</sub> ヒンジ、C H 2 および C H 3 エキソンを含む領域；および ( 3 ) ヒト膜エキソンを含み、ここで、該ヒトスイッチ領域および該ヒト膜エキソンは、同じアイソタイプ由来であり、そして該ヒト C H 1、C<sub>H</sub> ヒンジ、C H 2 および C H 3 エキソンは、該ヒトスイッチ領域および該ヒト膜エキソンとは異なるアイソタイプ由来である、導入遺伝子。

【請求項 2】

導入遺伝子であって、該導入遺伝子は、ヒト第 14 染色体上の免疫グロブリン重鎖遺伝子座の連続領域の、D セグメント遺伝子から J セグメント遺伝子および定常領域遺伝子 C<sub>μ</sub> まで続く DNA 配列を含む DNA フラグメントを含み、ここで、該 DNA フラグメントは、少なくとも 1 つのヒト V セグメント遺伝子に作動可能に連結され、そしてここで、該 DNA フラグメントは、さらに、さらなる定常領域遺伝子に作動可能に連結され、該さらなる定常領域遺伝子は、( 1 ) ヒトスイッチ領域； ( 2 ) ヒト C H 1、C<sub>H</sub> ヒンジ、C H 2 および C H 3 エキソンを含む領域；および ( 3 ) ヒト膜エキソンを含み、ここで、該ヒトスイッチ領域、該ヒト C H 1、C<sub>H</sub> ヒンジ、C H 2 および C H 3 エキソンを含む領域、および該ヒト膜エキソンは、3 つの異なるアイソタイプ由来である、導入遺伝子。

【請求項 3】

導入遺伝子であって、該導入遺伝子は、ヒト第14染色体上の免疫グロブリン重鎖遺伝子座の連続領域の、該遺伝子座のDセグメント遺伝子からJセグメント遺伝子および定常領域遺伝子C $\mu$ まで続くDNA配列を含むDNAフラグメントを含み、ここで、該DNAフラグメントは、少なくとも1つのヒトVセグメント遺伝子に作動可能に連結され、そしてここで、該DNAフラグメントは、さらに、さらなる定常領域遺伝子に作動可能に連結され、該さらなる定常領域遺伝子は、(1)ヒトスイッチ領域；(2)ヒトCH1、C $\delta$ 、CH2およびCH3エキソンを含む領域；および(3)ヒト膜エキソンを含み、ここで、該ヒトスイッチ領域および該ヒトCH1、C $\delta$ 、CH2およびCH3エキソンは、同じアイソタイプ由来であり、そして該ヒト膜エキソンは、該ヒトスイッチ領域および該ヒトCH1、C $\delta$ 、CH2およびCH3エキソンとは異なるアイソタイプ由来である、導入遺伝子。

【請求項4】

前記ヒトスイッチ領域および前記ヒト膜エキソンが、ヒト - 2 配列である、請求項1の導入遺伝子。

【請求項5】

前記ヒトCH1、C $\delta$ 、CH2およびCH3エキソンが、以下からなる群から選択されるヒト定常領域をコードする、請求項1～4のいずれか1項に記載の導入遺伝子：

ヒト - 1 定常領域、ヒト - 3 定常領域、ヒト - 4 定常領域、ヒト - 1 定常領域、ヒト - 2 定常領域およびヒト 定常領域。

【請求項6】

前記ヒトCH1、C $\delta$ 、CH2およびCH3エキソンが、ヒト - 1 定常領域をコードする、請求項5に記載の導入遺伝子。

【請求項7】

前記ヒトCH1、C $\delta$ 、CH2およびCH3エキソンが、ヒト - 4 定常領域をコードする、請求項5に記載の導入遺伝子。

【請求項8】

前記DNAフラグメントが、複数のヒトVH遺伝子に、作動可能に連結される、請求項1～7のいずれか1項に記載の導入遺伝子。

【請求項9】

前記DNAフラグメントが、少なくとも50%のヒト生殖細胞系列VH遺伝子に作動可能に連結される、請求項1～7のいずれか1項に記載の導入遺伝子。

【請求項10】

前記DNAフラグメントが、少なくとも40の異なるヒトVH遺伝子に作動可能に連結される、請求項1～7のいずれか1項に記載の導入遺伝子。

【請求項11】

前記DNAフラグメントが、十分な数の異なるヒトVH遺伝子と作動可能に連結されて、その結果、導入遺伝子が、接合部多様性または体細胞変異事象を考慮することなく、V(D)J組換えを介して、少なくとも1×10<sup>5</sup>の異なる機能的ヒト免疫グロブリン重鎖配列をコードし得る、請求項1～7のいずれか1項に記載の導入遺伝子。

【請求項12】

ヒトVH遺伝子の数が、導入遺伝子を含むトランスジェニックマウスにおける野生型マウスのB細胞集団の少なくとも50%を産生するのに十分である、請求項1～7のいずれか1項に記載の導入遺伝子。

【請求項13】

さらに、マウス3'エンハンサーを含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の導入遺伝子。

【請求項14】

前記マウス3'エンハンサーが、マウス生殖細胞系列3'エンハンサーの約0.9kbのコアフラグメントである、請求項13に記載の導入遺伝子。

【請求項15】

前記マウス 3' エンハンサーが、マウス生殖細胞系列 3' エンハンサーの約 4 kb のフラグメントである、請求項 13 に記載の導入遺伝子。

【請求項 16】

前記マウス 3' エンハンサーが、遺伝子座制御領域である、請求項 13 に記載の導入遺伝子。

【請求項 17】

LoxP 部位が、スイッチ領域の 3' および CH1 エキシソンの 5' に挿入される、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の導入遺伝子。

【請求項 18】

ATCC 登録番号 PTA - 2163 を有する yH2Bm 酵母人工染色体 (YAC) である導入遺伝子。

【請求項 19】

ATCC 登録番号 PTA - 2161 を有する yH2Cm 酵母人工染色体 (YAC) である導入遺伝子。

【請求項 20】

ATCC 登録番号 PTA - 2160 を有する yHG4 酵母人工染色体 (YAC) である導入遺伝子。

【請求項 21】

ATCC 登録番号 PTA - 2162 を有する yHG1/2 酵母人工染色体 (YAC) である導入遺伝子。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の導入遺伝子を含む、非ヒト胚性幹 (ES) 細胞。

【請求項 23】

マウス ES 細胞である、請求項 22 に記載の ES 細胞。

【請求項 24】

体細胞および生殖細胞が、請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の導入遺伝子を含む、トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物およびその子孫。

【請求項 25】

ヒト免疫グロブリン軽鎖をさらに含む、請求項 24 に記載のトランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物および子孫。

【請求項 26】

不活性化内因性免疫グロブリン重鎖遺伝子座および軽鎖遺伝子座をさらに含む、請求項 24 または 25 に記載のトランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物および子孫。

【請求項 27】

前記動物が、マウスである、請求項 24 ~ 26 のいずれか 1 項に記載のトランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物および子孫。

【請求項 28】

トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物およびその子孫を作製するための方法であって、該トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物およびその子孫の体細胞および生殖細胞が、請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の導入遺伝子を含み、そして該トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物およびその子孫が、目的の抗原での免疫化の後に、該目的の抗原に特異的な所望のアイソタイプの高い親和性の完全ヒト抗体を産生し、該方法が、以下：

(a) 該導入遺伝子を、ES 細胞に導入する工程；

(b) 該 ES 細胞から、該導入遺伝子を含む生殖細胞を含む、トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物を作製する工程；および

(c) トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物およびその子孫を作製するために必要とされる場合に、該トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物を交配する工程であって、ここで、該トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物およびその子孫は、目的の抗原での免疫化の後に、該目的の抗原に特異的な所望のアイソタイプの高い親和性の完

全ヒト抗体を産生する、工程  
を包含する、方法。

【請求項 29】

前記トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物が、マウスである、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

所望のアイソタイプの高い親和性の、完全ヒト抗体を産生するための方法であって、ここで、該抗体は、目的の抗原に特異的であり、該方法は、請求項 24 ~ 26 に記載のいずれか 1 項に記載のトランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物を、目的の抗原に接触させて、該動物の B 細胞における抗体産生を誘導する工程、および該抗体を回収する工程を包含する、方法。

【請求項 31】

目的の抗原で免疫化された、請求項 24 ~ 26 にいずれか 1 項に記載のトランスジェニック非ヒト動物から収集された、抗体産生 B 細胞。

【請求項 32】

不死化されている、請求項 31 に記載の B 細胞。

【請求項 33】

前記抗体が、前記トランスジェニックまたはキメラの非ヒト動物の血流から収集される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 34】

前記抗体が、請求項 32 に記載の不死化された B 細胞から収集される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 35】

前記抗体が、請求項 31 に記載の B 細胞から単離された DNA でトランスフェクトされた宿主細胞から収集される、請求項 30 に記載の方法。