

【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27年12月17日(2015.12.17)

【公表番号】特表2015-501156(P2015-501156A)

【公表日】平成27年1月15日(2015.1.15)

【年通号数】公開・登録公報2015-003

【出願番号】特願2014-539038(P2014-539038)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	5/07	(2010.01)
C 0 7 K	14/47	(2006.01)
C 1 2 N	9/02	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2015.01)
A 6 1 P	25/28	(2006.01)
A 6 1 P	27/02	(2006.01)
A 6 1 P	27/12	(2006.01)
A 6 1 P	27/06	(2006.01)
A 6 1 P	27/10	(2006.01)
A 6 1 P	27/08	(2006.01)
A 6 1 P	27/14	(2006.01)
A 6 1 P	27/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/14	(2006.01)
A 6 1 P	25/16	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	5/00	2 0 2
C 0 7 K	14/47	
C 1 2 N	9/02	
C 1 2 P	21/02	C
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	27/12	
A 6 1 P	27/06	
A 6 1 P	27/10	
A 6 1 P	27/08	
A 6 1 P	27/14	
A 6 1 P	27/00	
A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/16	

【手続補正書】

【提出日】平成27年10月23日(2015.10.23)

【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】

R d C V F タンパク質のコード配列をコードするヌクレオチド配列を含有している核酸であって、ここでは、前記R d C V F コード配列が再コード化されたヌクレオチド配列を含有している、核酸。

【請求項2】

前記R d C V F タンパク質がR d C V F 1 タンパク質である、請求項1に記載の核酸。

【請求項3】

前記R d C V F タンパク質がR d C V F 2 タンパク質である、請求項1に記載の核酸。

【請求項4】

前記R d C V F タンパク質が短いバージョンのR d C V F タンパク質である、請求項1～3のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項5】

前記R d C V F タンパク質が長いバージョンのR d C V F タンパク質である、請求項1～3のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項6】

前記R d C V F タンパク質がヒトR d C V F タンパク質である、請求項1～5のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項7】

前記再コード化されたヌクレオチド配列が開始メチオニンコドンを欠いている、請求項1～6のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項8】

前記R d C V F タンパク質の前記コード配列が、配列番号1のヌクレオチド106～741、配列番号1のヌクレオチド106～429、配列番号3のヌクレオチド106～432、または配列番号3のヌクレオチド106～744を含有している、請求項1に記載の核酸。

【請求項9】

前記R d C V F タンパク質の前記コード配列に作動可能に連結されたN末端シグナル配列の第2のコード領域をさらに含有している、請求項1～8のいずれか1項に記載の核酸。

【請求項10】

前記シグナル配列が、I g k シグナル配列、ヒト成長ホルモン(H G H)、脳由来神経栄養因子(B D N F)、インシュリン様成長因子1(I G F - 1)および-グルクロニダーゼ(-glucoronidase)(G U S B)からなる群より選択される、請求項9に記載の核酸。

【請求項11】

前記シグナル配列が配列番号1のヌクレオチド1～105を含有している、請求項9に記載の核酸。

【請求項12】

前記シグナル配列が、配列番号15、配列番号2のアミノ酸2～34、または配列番号2のアミノ酸7～21を含有しているアミノ酸配列をコードする、請求項9に記載の核酸。

【請求項13】

前記ヌクレオチド配列が配列番号1または3を含有している、請求項1に記載の核酸。

**【請求項 14】**

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、少なくとも40%の再コード化されたコドンを有している、請求項1に記載の核酸。

**【請求項 15】**

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、対応するネイティブなヌクレオチド配列と比べると異なる、少なくとも15%のヌクレオチドを有している、請求項1に記載の核酸。

**【請求項 16】**

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、対応するネイティブなヌクレオチド配列に対して90%未満同一である、請求項1に記載の核酸。

**【請求項 17】**

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、原核生物の阻害性モチーフを持たないこと、コンセンサスプライスドナー部位を持たないこと、潜在的なスプライスドナー部位を持たないこと、およびG C含量が60~65%の間であることからなる群より選択される特徴のうちの1つ以上を有している、請求項1~7および9~16のいずれか1項に記載の核酸。

**【請求項 18】**

プロモーター配列が、前記R d C V Fタンパク質の前記コード配列に作動可能に連結されている、請求項1~17のいずれか1項に記載の核酸。

**【請求項 19】**

前記プロモーターがサイトメガロウイルス(CMV)プロモーターである、請求項18に記載の核酸。

**【請求項 20】**

前記CMVプロモーターが配列番号11の150~812を含有している、請求項19に記載の核酸。

**【請求項 21】**

イントロン配列が前記R d C V Fタンパク質の前記コード配列に作動可能に連結されている、請求項1~20のいずれか1項に記載の核酸。

**【請求項 22】**

前記イントロン配列が-グロビンイントロン配列である、請求項21に記載の核酸。

**【請求項 23】**

前記イントロン配列が配列番号11のヌクレオチド820~1312を含有している、請求項21に記載の核酸。

**【請求項 24】**

前記核酸が、配列番号11、配列番号11の150~2080のヌクレオチド配列、または配列番号11の150~812、820~1312および1340~2080のヌクレオチド配列を含有している、請求項1に記載の核酸。

**【請求項 25】**

請求項1~24のいずれか1項に記載の核酸を含有しているウイルスベクター。

**【請求項 26】**

前記ウイルスベクターがアデノ隨伴ウイルス(ADV)ベクターである、請求項25に記載のウイルスベクター。

**【請求項 27】**

前記ADVベクターがADV血清型2をベースとしている、請求項26に記載のウイルスベクター。

**【請求項 28】**

前記ADVベクターがADV血清型8をベースとしている、請求項26に記載のウイルスベクター。

**【請求項 29】**

前記ウイルスベクターがウシ免疫不全ウイルスベクターではない、請求項25に記載の

ウイルスベクター。

【請求項 3 0】

前記ウイルスベクターが 1 種類のウイルスベクターではない、請求項 2 5 に記載のウイルスベクター。

【請求項 3 1】

前記ウイルスベクターが、D N A ウイルスベクター、非エンベロープ型ウイルスベクター、およびアデノウイルスベクターからなる群より選択される、請求項 2 5 に記載のウイルスベクター。

【請求項 3 2】

R d C V F タンパク質を分泌する、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の核酸を含有している単離された細胞。

【請求項 3 3】

天然に存在するタンパク質ではない、請求項 3 2 に記載の細胞により產生された R d C V F タンパク質。

【請求項 3 4】

( i ) 薬学的に受容可能な担体、および( ii ) 請求項 1 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の核酸、請求項 2 5 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載のウイルスベクター、請求項 3 3 に記載の R d C V F タンパク質、またはこれらの組み合わせを含有している、薬学的調製物。

【請求項 3 5】

R d C V F タンパク質を產生するための方法であって、前記方法は、請求項 3 2 に記載の細胞を、前記 R d C V F タンパク質の発現と分泌を可能にする条件下で培養する工程、および前記細胞の培養物から前記 R d C V F タンパク質を単離する工程を含む、方法。

【請求項 3 6】

前記細胞の培養物の上清からの前記 R d C V F タンパク質の精製をさらに含む、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

天然に存在するタンパク質ではない、請求項 3 5 または 3 6 に記載の方法により產生された R d C V F タンパク質。

【請求項 3 8】

哺乳動物の眼において眼の桿体細胞を保存するための、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の核酸、請求項 2 5 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載のウイルスベクター、請求項 3 3 または 3 7 に記載の R d C V F タンパク質、請求項 3 4 に記載の薬学的調製物、あるいはそれらの組み合わせを含む組成物であって、前記組成物は、前記哺乳動物の前記眼に投与されることを特徴とする、組成物。

【請求項 3 9】

前記組成物が、網膜下注射により投与されることを特徴とする、請求項 3 8 に記載の組成物。

【請求項 4 0】

前記組成物が、硝子体内注射、前房への注射、結膜下注射、またはテノン嚢下注射により投与されることを特徴とする、請求項 3 9 に記載の組成物。

【請求項 4 1】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 3 8 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 4 2】

前記哺乳動物が、網膜ジストロフィー、シュタルガルト病、網膜色素変性、ドライ型加齢性黄斑変性(ドライ型 A M D )、地図状萎縮(進行期のドライ型 A M D )、滲出型加齢性黄斑変性(滲出型 A M D )、緑内障/高眼圧症、糖尿病網膜症、バルデ・ビードル症候群、バッセン-コーンツバイク症候群、ベスト病、全脈絡膜萎縮( c h o r o i d e m a )、脳回転状萎縮症、先天黒内障、レフサム病( r e f s u n s y n d r o m e )、アッシャー症候群、甲状腺関連眼疾患、グレーヴス病、網膜色素上皮細胞と関係がある疾患、前上葉区の疾患、水晶体疾患/白内障、眼杯の障害、またはぶどう膜炎からなる群より

選択される眼疾患に罹患している、請求項 38～41 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 43】

前記投与の前には、保存される前記眼の桿体細胞が請求項 1～24 のいずれか 1 項に記載の核酸を含まず、また前記ウイルスベクターが形質導入されていない、請求項 38～42 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 44】

哺乳動物の眼において眼の桿体細胞を保存するための、請求項 1～24 のいずれか 1 項に記載の核酸、または請求項 25～30 のいずれか 1 項に記載のウイルスベクターを含む組成物であって、前記組成物は、網膜下注射により投与され、前記桿体細胞が、前記網膜下注射の前記部位から少なくとも 1 mm の部位で保存されることを特徴とする、組成物。

【請求項 45】

前記桿体細胞が、前記網膜下注射の前記部位から少なくとも 2 mm の部位で保存される、請求項 44 に記載の組成物。

【請求項 46】

細胞から R d C V F タンパク質を分泌させるための、請求項 9～13 および 24 のいずれか 1 項に記載の核酸、または請求項 25～31 のいずれか 1 項に記載のウイルスベクターを含む組成物であって、前記組成物は、前記核酸または前記ウイルスベクターによりコードされる R d C V F の発現および分泌を可能にする条件下で前記細胞に投与されることを特徴とする、組成物。

【請求項 47】

前記細胞が哺乳動物細胞である、請求項 46 に記載の組成物。

【請求項 48】

前記細胞がヒト細胞である、請求項 46 に記載の組成物。

【請求項 49】

前記細胞が眼細胞である、請求項 46～48 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 50】

前記細胞が、網膜色素上皮 (R P E) 細胞、桿体細胞、錐体細胞、双極細胞、水平細胞、無軸索細胞、神経節細胞、および A R P E - 19 細胞からなる群より選択される、請求項 49 に記載の組成物。

【請求項 51】

前記細胞がインビトロにある、請求項 46～50 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 52】

前記細胞がインビオにある、請求項 46～50 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 53】

前記細胞がエクスピボにある、請求項 46～50 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 54】

前記細胞が、293 細胞、C H O 細胞、P e r C 6 細胞、V e r o 細胞、B H K 細胞、H e L a 細胞、C O S 細胞、M D C K 細胞、3 T 3 細胞、および W I 3 8 からなる群より選択される、請求項 47 および 51～52 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 55】

前記細胞が被包されている、請求項 46～54 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 56】

疾患を処置するための、請求項 1～24 のいずれか 1 項に記載の核酸、請求項 25～31 のいずれか 1 項に記載のウイルスベクター、請求項 33 に記載の R d C V F タンパク質、請求項 34 に記載の薬学的調製物、またはそれらの組み合わせを含む組成物であって、前記組成物は、哺乳動物に投与され、ここで、前記疾患が、アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、および嗅覚の疾患からなる群より選択されることを特徴とする、組成物。

【請求項 57】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 56 に記載の組成物。

**【手続補正2】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0025**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0025】**

本発明を説明する目的のために、本発明の特定の実施形態が図面で示される。しかし、本発明は、図面に示される実施形態の正確な取り合わせおよび手段に限定されない。

例えば、本発明は、以下の項目を提供する：

(項目1)

R d C V F タンパク質のコード配列をコードするヌクレオチド配列を含有している核酸であって、ここでは、前記 R d C V F コード配列が再コード化されたヌクレオチド配列を含有している、核酸。

(項目2)

前記 R d C V F タンパク質が R d C V F 1 タンパク質である、項目1に記載の核酸。

(項目3)

前記 R d C V F タンパク質が R d C V F 2 タンパク質である、項目1に記載の核酸。

(項目4)

前記 R d C V F タンパク質が短いバージョンの R d C V F タンパク質である、前述の項目のいずれか1項に記載の核酸。

(項目5)

前記 R d C V F タンパク質が長いバージョンの R d C V F タンパク質である、項目1～3のいずれか1項に記載の核酸。

(項目6)

前記 R d C V F タンパク質がヒト R d C V F タンパク質である、前述の項目のいずれか1項に記載の核酸。

(項目7)

前記再コード化されたヌクレオチド配列が開始メチオニンコドンを欠いている、前述の項目のいずれか1項に記載の核酸。

(項目8)

前記 R d C V F タンパク質の前記コード配列が、配列番号1のヌクレオチド106～741、配列番号1のヌクレオチド106～429、配列番号3のヌクレオチド106～432、または配列番号3のヌクレオチド106～744を含有している、項目1に記載の核酸。

(項目9)

前記 R d C V F タンパク質の前記コード配列に作動可能に連結されたN末端シグナル配列の第2のコード領域をさらに含有している、前述の項目のいずれか1項に記載の核酸。

(項目10)

前記シグナル配列が、Igkシグナル配列、ヒト成長ホルモン(HGH)、脳由来神経栄養因子(BDNF)、インシュリン様成長因子1(IGF-1)および-グルクロニダーゼ(-glucoronidase)(GUSB)からなる群より選択される、項目9に記載の核酸。

(項目11)

前記シグナル配列が配列番号1のヌクレオチド1～105を含有している、項目9に記載の核酸。

(項目12)

前記シグナル配列が、配列番号15、配列番号2のアミノ酸2～34、または配列番号2のアミノ酸7～21を含有しているアミノ酸配列をコードする、項目9に記載の核酸。

(項目13)

前記ヌクレオチド配列が配列番号1または3を含有している、項目1に記載の核酸。

(項目14)

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、少なくとも40%の再コード化されたコドンを有している、項目1に記載の核酸。

(項目15)

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、対応するネイティブなヌクレオチド配列と比べると異なる、少なくとも15%のヌクレオチドを有している、項目1に記載の核酸。

(項目16)

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、対応するネイティブなヌクレオチド配列に対して90%未満同一である、項目1に記載の核酸。

(項目17)

前記再コード化されたヌクレオチド配列が、原核生物の阻害性モチーフを持たないこと、コンセンサスプライスドナー部位を持たないこと、潜在的なスプライスドナー部位を持たないこと、およびG C含量が60~65%の間であることからなる群より選択される特徴のうちの1つ以上を有している、項目1~7および9~16のいずれか1項に記載の核酸。

(項目18)

プロモーター配列が、前記R d C V Fタンパク質の前記コード配列に作動可能に連結されている、前述の項目のいずれか1項に記載の核酸。

(項目19)

前記プロモーターがサイトメガロウイルス(CMV)プロモーターである、項目18に記載の核酸。

(項目20)

前記CMVプロモーターが配列番号11の150~812を含有している、項目19に記載の核酸。

(項目21)

イントロン配列が前記R d C V Fタンパク質の前記コード配列に作動可能に連結されている、前述の項目のいずれか1項に記載の核酸。

(項目22)

前記イントロン配列が-グロビンイントロン配列である、項目21に記載の核酸。

(項目23)

前記イントロン配列が配列番号11のヌクレオチド820~1312を含有している、項目21に記載の核酸。

(項目24)

前記核酸が、配列番号11、配列番号11の150~2080のヌクレオチド配列、または配列番号11の150~812、820~1312および1340~2080のヌクレオチド配列を含有している、項目1に記載の核酸。

(項目25)

前述の項目のいずれか1項に記載の核酸を含有しているウイルスベクター。

(項目26)

前記ウイルスベクターがアデノ随伴ウイルス(AdV)ベクターである、項目25に記載のウイルスベクター。

(項目27)

前記AdVベクターがAdV血清型2をベースとしている、項目26に記載のウイルスベクター。

(項目28)

前記AdVベクターがAdV血清型8をベースとしている、項目26に記載のウイルスベクター。

(項目29)

前記ウイルスベクターがウシ免疫不全ウイルスベクターではない、項目25に記載のウイルスベクター。

(項目30)

前記ウイルスベクターが1種類のウイルスベクターではない、項目25に記載のウイルスベクター。

(項目31)

前記ウイルスベクターが、DNAウイルスベクター、非エンベロープ型ウイルスベクター、およびアデノウイルスベクターからなる群より選択される、項目25に記載のウイルスベクター。

(項目32)

RdCVFタンパク質を分泌する、項目1～4のいずれか1項に記載の核酸を含有している単離された細胞。

(項目33)

天然に存在するタンパク質ではない、項目32に記載の細胞により産生されたRdCVFタンパク質。

(項目34)

(i)薬学的に受容可能な担体、および(ii)項目1～24のいずれか1項に記載の核酸、項目25～31のいずれか1項に記載のウイルスベクター、項目33に記載のRdCVFタンパク質、またはこれらの組み合わせを含有している、薬学的調製物。

(項目35)

RdCVFタンパク質を产生するための方法であって、前記方法は、項目32に記載の細胞を、前記RdCVFタンパク質の発現と分泌を可能にする条件下で培養する工程、および前記細胞の培養物から前記RdCVFタンパク質を単離する工程を含む、方法。

(項目36)

前記細胞の培養物の上清からの前記RdCVFタンパク質の精製をさらに含む、項目35に記載の方法。

(項目37)

天然に存在するタンパク質ではない、項目35または36に記載の方法により産生されたRdCVFタンパク質。

(項目38)

哺乳動物の眼において眼の桿体細胞を保存する方法であって、前記方法は、前記哺乳動物の前記眼に、前記眼の桿体細胞を保存するために有効な量の、項目1～24のいずれか1項に記載の核酸、項目25～31のいずれか1項に記載のウイルスベクター、項目33または37に記載のRdCVFタンパク質、項目33に記載の薬学的組成物、あるいはそれらの組み合わせを投与する工程を含む、方法。

(項目39)

前記ウイルスベクターまたは前記核酸が、網膜下注射により投与される、項目38に記載の方法。

(項目40)

前記ウイルスベクターまたは前記核酸が、硝子体内注射、前房への注射、結膜下注射、またはテノン嚢下注射により投与される、項目39に記載の方法。

(項目41)

前記哺乳動物がヒトである、項目38～40のいずれか1項に記載の方法。

(項目42)

前記哺乳動物が、網膜ジストロフィー、シュタルガルト病、網膜色素変性、ドライ型加齢性黄斑変性(ドライ型AMD)、地図状萎縮(進行期のドライ型AMD)、滲出型加齢性黄斑変性(滲出型AMD)、緑内障/高眼圧症、糖尿病網膜症、バルデ・ビードル症候群、バッセン-コーンツバイク症候群、ベスト病、全脈絡膜萎縮(choroiderema)、脳回転状萎縮症、先天黒内障、レフサム病(refsum syndrome)、アッシャー症候群、甲状腺関連眼疾患、グレーヴス病、網膜色素上皮細胞と関係がある疾患

、前上葉区の疾患、水晶体疾患／白内障、眼杯の障害、またはぶどう膜炎からなる群より選択される眼疾患に罹患している、項目38～41のいずれか1項に記載の方法。

(項目43)

前記投与の前には、保存される前記眼の桿体細胞が項目1～24のいずれか1項に記載の核酸を含まず、また前記ウイルスベクターが形質導入されていない、項目38～42のいずれか1項に記載の方法。

(項目44)

哺乳動物の眼において眼の桿体細胞を保存する方法であって、前記哺乳動物の前記眼に、項目1～24のいずれか1項に記載の核酸、または項目25～30のいずれか1項に記載のウイルスベクターを投与する工程を含み、前記核酸または前記ウイルスベクターが、網膜下注射により投与され、前記桿体細胞が、前記網膜下注射の前記部位から少なくとも1mmの部位で保存される、方法。

(項目45)

前記桿体細胞が、前記網膜下注射の前記部位から少なくとも2mmの部位で保存される、項目44に記載の方法。

(項目46)

細胞からRdCVFタンパク質を分泌させる方法であって、前記方法は、前記細胞に、項目9～13および24のいずれか1項に記載の核酸、または項目25～31のいずれか1項に記載のウイルスベクターを、前記核酸または前記ウイルスベクターによりコードされるRdCVFの発現および分泌を可能にする条件下で投与する工程を含む、方法。

(項目47)

前記細胞が哺乳動物細胞である、項目46に記載の方法。

(項目48)

前記細胞がヒト細胞である、項目46に記載の方法。

(項目49)

前記細胞が眼細胞である、項目46～48のいずれか1項に記載の方法。

(項目50)

前記細胞が、網膜色素上皮(RPE)細胞、桿体細胞、錐体細胞、双極細胞、水平細胞、無軸索細胞、神経節細胞、およびARPE-19細胞からなる群より選択される、項目49に記載の方法。

(項目51)

前記細胞がインビトロにある、項目46～50のいずれか1項に記載の方法。

(項目52)

前記細胞がインビオにある、項目46～50のいずれか1項に記載の方法。

(項目53)

前記細胞がエクスピオにある、項目46～50のいずれか1項に記載の方法。

(項目54)

前記細胞が、293細胞、CHO細胞、PerC6細胞、Vero細胞、BHK細胞、HeLa細胞、COS細胞、MDCK細胞、3T3細胞、およびWI38からなる群より選択される、項目47および51～52のいずれか1項に記載の方法。

(項目55)

前記細胞が被包されている、項目46～54のいずれか1項に記載の方法。

(項目56)

疾患を処置する方法であって、前記方法は、哺乳動物に、項目1～24のいずれか1項に記載の核酸、項目25～31のいずれか1項に記載のウイルスベクター、項目33に記載のRdCVFタンパク質、項目34に記載の薬学的調製物、またはそれらの組み合わせを投与する工程を含み、ここで、前記疾患が、アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、および嗅覚の疾患からなる群より選択される、方法。

(項目57)

前記哺乳動物がヒトである、項目56に記載の方法。