

【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3部門第2区分

【発行日】令和5年1月19日(2023.1.19)

【国際公開番号】WO2020/142752

【公表番号】特表2022-516317(P2022-516317A)

【公表日】令和4年2月25日(2022.2.25)

【年通号数】公開公報(特許)2022-034

【出願番号】特願2021-538993(P2021-538993)

【国際特許分類】

A 6 1 K 38/46(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

A 6 1 K 9/08(2006.01)

A 6 1 K 47/02(2006.01)

A 6 1 K 47/26(2006.01)

A 6 1 K 47/10(2006.01)

A 6 1 K 45/00(2006.01)

A 6 1 K 31/573(2006.01)

A 6 1 K 9/14(2006.01)

A 6 1 K 47/44(2017.01)

A 6 1 K 35/12(2015.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

【F I】

A 6 1 K 38/46

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 9/08

A 6 1 K 47/02

A 6 1 K 47/26

A 6 1 K 47/10

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 31/573

A 6 1 K 9/14

A 6 1 K 47/44

A 6 1 K 35/12

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/864 Z N A

【手続補正書】

【提出日】令和4年12月31日(2022.12.31)

【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】

10

20

30

40

50

【請求項 1】

変異ウッドチャック肝炎ウイルス(WHV)転写後調節エレメント(WPRE)配列、及び少なくとも1つの - Gal A タンパク質をコードする - ガラクトシダーゼ A (- Gal A) 導入遺伝子を含む発現コンストラクト。

【請求項 2】

前記発現コンストラクトは、野生型 - Gal A 配列またはコドン最適化 - Gal A 配列を含む、請求項 1 に記載の発現コンストラクト。

【請求項 3】

前記発現コンストラクトは、以下：エンハンサー、プロモーター、イントロン、シグナルペプチドをコードする配列、及び/またはポリアデニル化(ポリA)シグナル配列のうちの1つ以上をさらに含み、前記変異WPRE配列、及び少なくとも1つの - Gal A タンパク質をコードする前記 - Gal A 導入遺伝子は、前記シグナルペプチドをコードする配列と、前記ポリAシグナル配列との間に位置する、請求項 1 または 2 に記載の発現コンストラクト。

10

【請求項 4】

前記変異WPRE配列は、mut 6 変異WPRE配列である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト。

【請求項 5】

前記発現コンストラクトは、- 1 - アンチトリプシン(hAAT)プロモーターに機能するように連結されたアポリタンパク質E(APOE)エンハンサー、ヒトヘモグロビン(HBB) - IGGイントロン、- Gal A シグナルペプチドをコードする配列、前記変異WPRE配列、及びウシ成長ホルモンポリAシグナル配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト。

20

【請求項 6】

前記発現コンストラクトは、以下：配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含む前記エンハンサー、配列番号 3 に記載のヌクレオチド配列を含む前記プロモーター、配列番号 4 に記載のヌクレオチド配列を含む前記イントロン、配列番号 9 の核酸 1052 ~ 2341 を含む前記 - Gal A 導入遺伝子、配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を含む前記変異WPRE配列、及び/または配列番号 7 に記載のヌクレオチド配列を含む前記ポリAシグナル配列のうちの1つ以上を含む、請求項 3 に記載の発現コンストラクト。

30

【請求項 7】

前記発現コンストラクトは、配列番号 9 に記載のヌクレオチド配列を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト。

【請求項 8】

前記発現コンストラクトは、アデノ随伴ウイルス(AAV)発現コンストラクトである、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト。

【請求項 9】

前記AAV発現コンストラクト血清型は、AAV 2 / 6 である、請求項 8 に記載の発現コンストラクト。

【請求項 10】

配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むエンハンサー、配列番号 3 に記載のヌクレオチド配列を含むプロモーター、配列番号 4 に記載のヌクレオチド配列を含むイントロン、配列番号 9 の核酸 1052 ~ 2341 を含む - Gal A 導入遺伝子、配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を含む変異WPRE配列、及び配列番号 7 に記載のヌクレオチド配列を含むポリAシグナル配列を含む発現コンストラクト。

40

【請求項 11】

請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクトを含む組成物。

【請求項 12】

薬学的に許容される担体をさらに含む、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

50

前記薬学的に許容される担体は、C a C l₂、M g C l₂、N a C l、スクロース、及び K o l l i p h o r (ポロクサマー) P 1 8 8を含む、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 1 4】

細胞において少なくとも1つの - G a l A タンパク質を発現させるインビトロでの方法であって、前記方法は、前記 - G a l A タンパク質が前記細胞において発現されるように、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクトを前記細胞に投与することを含む、方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクトを含む遺伝子改変細胞。

【請求項 1 6】

前記細胞は、請求項 1 4 に記載の方法によって作製された、請求項 1 4 に記載の遺伝子改変細胞。

【請求項 1 7】

(a) 前記細胞は、幹細胞または前駆細胞である、あるいは (b) 前記細胞は、肝臓細胞または筋細胞である、請求項 1 5 または 1 6 に記載の遺伝子改変細胞。

【請求項 1 8】

ファブリー病もしくはファブリー病と関連する1つ以上の症状を予防、阻害、または処置することにおける使用のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト、請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 1 5 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の細胞の使用。

【請求項 1 9】

前記症状は、正常を上回る G b 3 レベル、正常を上回る l y s o - G b 3 レベル、腎疾患、心疾患、肢端触覚異常、被角血管腫、胃腸管の痛み、角膜及び水晶体混濁、または脳血管疾患のうちの一つ以上を含む、請求項 1 8 に記載の使用。

【請求項 2 0】

前記発現コンストラクトは、静脈内注入によって対象に投与される、請求項 1 8 または 1 9 に記載の使用。

【請求項 2 1】

前記発現コンストラクトは、1用量だけ前記対象に投与される、請求項 2 0 に記載の使用。

【請求項 2 2】

前記対象は、前記発現コンストラクトの投与前及び/または投与中に免疫抑制剤を投与される、請求項 2 0 または 2 1 に記載の使用。

【請求項 2 3】

前記免疫抑制剤は、プレドニゾンを含む、請求項 2 2 に記載の使用。

【請求項 2 4】

前記少なくとも1つの - G a l A タンパク質の発現は、少なくとも3か月、少なくとも9か月、または少なくとも12か月間維持される、請求項 2 0 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 2 5】

前記導入遺伝子から発現される前記 - G a l A タンパク質は、前記対象においてスフィンゴ糖脂質の量を、少なくとも約2分の1に低減する、請求項 2 0 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 2 6】

前記導入遺伝子から発現される前記 - G a l A タンパク質は、前記対象においてスフィンゴ糖脂質の量を、少なくとも約80%低減する、請求項 2 0 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 2 7】

前記導入遺伝子から発現される前記 - G a l A タンパク質は、前記対象の血漿、肝臓、心臓、腎臓、または脾臓のうちの一つ以上においてスフィンゴ糖脂質の量を低減する、

10

20

30

40

50

請求項 20 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 28】

HEK293細胞系において製造された前記発現コンストラクトは、前記対象において、Sf9細胞系において製造された前記発現コンストラクトを投与された対象における - GalAタンパク質レベルと比較して約21倍高い - GalAタンパク質レベルをもち、 請求項 20 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 29】

前記対象における前記 - GalAタンパク質活性は、生理学的正常/野生型よりも約100倍から1,500倍の間高い、 請求項 20 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 30】

前記導入遺伝子から発現される前記 - GalAタンパク質は、前記対象の腎臓、肝臓及び/または心臓において活性である、 請求項 20 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 31】

ファブリー病の処置のための - GalAタンパク質を生成するインビトロでの方法であって、前記方法は、請求項 14 に記載の方法により単離細胞において前記 - GalAタンパク質を発現させること、及び前記細胞によって産生された前記 - GalAタンパク質を単離することを含む、方法。

【請求項 32】

ファブリー病もしくはファブリー病と関連する1つ以上の症状を予防、阻害、または処置することにおける使用のための、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクトを含む組成物、請求項 11 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 15 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の細胞を含む組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0312

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0312】

理解を明確にするために図及び例によりある程度詳しく開示を行ったが、本開示の趣旨または範囲から逸脱することなくさまざまな変更及び改変を行うことができることは当業者には明らかであろう。したがって、前述の説明及び例は、限定するものと解釈されるべきではない。

一実施形態において、例えば、以下の項目が提供される。

(項目 1)

細胞において少なくとも1つの ガラクトシダーゼ A (- GalA) タンパク質を発現させる方法であって、前記 - GalAタンパク質が前記細胞において発現されるように、変異WPRE配列、任意に、mut6変異WPRE配列、及び少なくとも1つの - GalAタンパク質をコードするGLA導入遺伝子を含む発現コンストラクトを前記細胞に投与することを含む、前記方法。

(項目 2)

前記発現コンストラクトは、野生型GLA配列またはコドン最適化GLA配列を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記発現コンストラクトは、エンハンサー、プロモーター、イントロン、シグナルペプチド及び/またはポリアデニル化シグナルをコードする配列のうちの1つ以上をさらに含み、前記変異WPRE配列、任意に、前記mut6変異WPRE配列、及び少なくとも1つの - GalAタンパク質をコードする前記GLA導入遺伝子は、前記シグナルペプチドと、前記ポリアデニル化シグナルをコードする前記配列との間に位置する、項目 1 または 2 に記載の方法。

(項目 4)

10

20

30

40

50

前記発現コンストラクトは、配列番号 9 の配列を含む、項目 3 に記載の方法。

(項目 5)

前記細胞は、ファブリー病の対象にある、項目 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6)

前記細胞は、男性対象にある、項目 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7)

薬学的に許容される担体中の前記発現コンストラクトが投与される、項目 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8)

前記薬学的に許容される担体は、CaCl₂、MgCl₂、NaCl、スクロース及び Kolliphor (ポロキサマー) P188 を含有するリン酸緩衝食塩水を含む、項目 7 に記載の方法。

10

(項目 9)

発現コンストラクト配列は、表 1 に示される配列を含み、前記発現コンストラクトは、AAV ウイルスベクターによって前記細胞に送達される、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 10)

AAV ウイルスベクター血清型は、AAV2 / 6 である、項目 9 に記載の方法。

(項目 11)

前記発現コンストラクトは、1 キログラム当たり約 5 . 0 E + 12 から 1 . 0 E + 14 ベクターゲノム (vg / kg) の間の用量で前記対象に投与される、項目 5 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

(項目 12)

前記発現コンストラクトは、前記対象の肝臓に投与される、項目 5 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 13)

発現ベクターは、静脈内注入によって前記対象に投与される、項目 5 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 14)

前記発現コンストラクトは、1 用量だけ前記対象に投与される、項目 5 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

(項目 15)

前記対象は、前記発現コンストラクトの投与前及び / または投与中に免疫抑制剤を投与される、項目 5 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 16)

前記免疫抑制剤は、プレドニゾンを含む、項目 15 に記載の方法。

(項目 17)

前記少なくとも 1 つのガラクトシダーゼ A (GalA) タンパク質の発現は、少なくとも 3 か月、少なくとも 9 か月、または少なくとも 12 か月間維持される、項目 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

(項目 18)

前記導入遺伝子から発現される前記 GalA タンパク質は、前記対象においてスフィンゴ糖脂質の量を、未処置の対象と比較して少なくとも約 2 分の 1 から約 9 分の 1 の間に低減する、項目 5 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 19)

前記導入遺伝子から発現される前記 GalA タンパク質は、前記対象においてスフィンゴ糖脂質の量を、少なくとも約 80 % 低減する、項目 5 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 20)

前記導入遺伝子から発現される前記 GalA タンパク質は、前記対象の血漿、肝臓

50

心臓、腎臓、または脾臓のうちの1つ以上においてスフィンゴ糖脂質の量を低減する、項目5～19のいずれか1項に記載の方法。

(項目21)

HEK293細胞系において製造された前記発現コンストラクトは、前記対象において、Sf9細胞系において製造された前記発現コンストラクトを投与された対象におけるGLAレベルと比較して約21倍高いGLAレベルをもたらす、項目5～20のいずれか1項に記載の方法。

(項目22)

対象におけるGalAタンパク質活性は、生理学的正常/野生型よりも約100倍から1,500倍の間高い、項目5～21のいずれか1項に記載の方法。

(項目23)

前記導入遺伝子から発現される前記GalAタンパク質は、前記対象の腎臓、肝臓及び心臓において活性である、項目5～22のいずれか1項に記載の方法。

(項目24)

前記GLA導入遺伝子は、染色体外に保持され、前記細胞のゲノムに組み込まれない、項目1～23のいずれか1項に記載の方法。

(項目25)

前記導入遺伝子が内在性アルブミン遺伝子に組み込まれ、そこから発現されるように、対象の肝臓細胞において前記アルブミン遺伝子を切断する1つ以上のヌクレアーゼを投与することをさらに含む、項目1～23のいずれか1項に記載の方法。

(項目26)

項目1～4のいずれか1項に記載の方法によって作製された、外来性GLA導入遺伝子を含む遺伝子改変細胞。

(項目27)

前記細胞は、幹細胞または前駆細胞である、項目26に記載の遺伝子改変細胞。

(項目28)

前記細胞は、肝臓または筋細胞である、項目27に記載の遺伝子改変細胞。

(項目29)

前記GLA導入遺伝子は、染色体外に保持され、前記細胞のゲノムに組み込まれない、項目26～28のいずれか1項に記載の遺伝子改変細胞。

(項目30)

前記GLA導入遺伝子は、前記細胞のゲノムに組み込まれる、項目26～28のいずれか1項に記載の遺伝子改変細胞。

(項目31)

ファブリー病もしくはファブリー病と関連する1つ以上の症状を予防、阻害、または処置する方法であって、発現コンストラクトを、それを必要とする対象に投与することを含み、前記発現コンストラクトは、変異WPRE配列、任意に、mut6変異WPRE配列、及び少なくとも1つのGalAタンパク質をコードするGLA導入遺伝子を含む、前記方法。

(項目32)

前記症状は、正常を上回るGb3レベル、正常を上回るlys-Gb3レベル、腎疾患、心疾患、肢端触覚異常、被角血管腫、胃腸管の痛み、角膜及び水晶体混濁、または脳血管疾患のうちの1つ以上を含む、項目31に記載の方法。

(項目33)

前記対象は、男性であり、前記対象は、約5%未満のGalA酵素活性を有する、項目31または32に記載の方法。

(項目34)

前記発現コンストラクトは、野生型GLA配列またはコドン最適化GLA配列を含む、項目31に記載の方法。

(項目35)

10

20

30

40

50

前記発現コンストラクトは、エンハンサー、プロモーター、イントロン、シグナルペプチド及び/またはポリアデニル化シグナルをコードする配列のうちの1つ以上をさらに含み、前記変異WPRE配列、任意に、前記mut6変異WPRE配列、及び少なくとも1つの - GalAタンパク質をコードする前記GLA導入遺伝子は、前記シグナルペプチドと、前記ポリアデニル化シグナルをコードする前記配列との間に位置する、項目31、33、または34に記載の方法。

(項目36)

薬学的に許容される担体中の前記発現コンストラクトが投与される、項目31に記載の方法。

(項目37)

前記薬学的に許容される担体は、CaCl₂、MgCl₂、NaCl、スクロース及びKolliphor(ポロクサマー)P188を含有するリン酸緩衝食塩水を含む、項目36に記載の方法。

(項目38)

発現コンストラクト配列は、表1に示される配列を含み、前記発現コンストラクトは、AAVウイルスベクターによって前記対象の細胞に送達される、項目31に記載の方法。

(項目39)

AAVウイルスベクター血清型は、AAV2/6である、項目38に記載の方法。

(項目40)

前記発現コンストラクトは、1キログラム当たり約5.0E+12から1.0E+14ベクターゲノム(vg/kg)の間の用量で前記対象に投与される、項目31~39のいずれか1項に記載の方法。

(項目41)

前記発現コンストラクトは、前記対象の肝臓に投与される、項目31~40のいずれか1項に記載の方法。

(項目42)

発現ベクターは、静脈内注入によって前記対象に投与される、項目31~41のいずれか1項に記載の方法。

(項目43)

前記発現コンストラクトは、1用量だけ前記対象に投与される、項目31~42のいずれか1項に記載の方法。

(項目44)

前記対象は、前記発現コンストラクトの投与前及び/または投与中に免疫抑制剤を投与される、項目31~43のいずれか1項に記載の方法。

(項目45)

前記免疫抑制剤は、プレドニゾンを含む、項目44に記載の方法。

(項目46)

前記少なくとも1つのガラクトシダーゼA(-GalA)タンパク質の発現は、少なくとも3か月、少なくとも9か月、または少なくとも12か月間維持される、項目31~45のいずれか1項に記載の方法。

(項目47)

前記導入遺伝子から発現される前記-GalAタンパク質は、前記対象においてスフィンゴ糖脂質の量を、未処置の対象と比較して少なくとも約3分の1から約9分の1の間に低減する、項目31~46のいずれか1項に記載の方法。

(項目48)

前記導入遺伝子から発現される前記-GalAタンパク質は、前記対象においてスフィンゴ糖脂質の量を、少なくとも約80%低減する、項目31~46のいずれか1項に記載の方法。

(項目49)

前記導入遺伝子から発現される前記-GalAタンパク質は、前記対象の血漿、肝臓

10

20

30

40

50

心臓、腎臓、または脾臓のうちの1つ以上においてスフィンゴ糖脂質の量を低減する、項目31～48のいずれか1項に記載の方法。

(項目50)

前記発現コンストラクトは、HEK293細胞系において製造され、前記対象におけるGLAレベルは、Sf9細胞系において製造された前記発現コンストラクトを投与された対象におけるGLAレベルと比較して21倍高い、項目31～49のいずれか1項に記載の方法。

(項目51)

対象におけるGalAタンパク質活性は、生理学的正常よりも約100倍から1,500倍の間高い、項目31～50のいずれか1項に記載の方法。

(項目52)

前記導入遺伝子から発現される前記GalAタンパク質は、前記対象の腎臓、肝臓及び心臓において活性である、項目31～51のいずれか1項に記載の方法。

(項目53)

前記GLA導入遺伝子は、染色体外に保持され、前記対象の細胞のゲノムに組み込まれない、項目31～52のいずれか1項に記載の方法。

(項目54)

前記導入遺伝子が内在性アルブミン遺伝子に組み込まれ、そこから発現されるように、対象の肝臓細胞において前記アルブミン遺伝子を切断する1つ以上のヌクレアーゼを投与することをさらに含む、項目31～52のいずれか1項に記載の方法。

(項目55)

発現コンストラクトを含む組成物であって、前記発現コンストラクトは、変異WPRE配列、任意に、mut6変異WPRE配列、及びファブリー病の処置のための少なくとも1つのGalAタンパク質をコードするGLA導入遺伝子を含む、前記組成物。

(項目56)

薬学的に許容される担体をさらに含む、項目55に記載の組成物。

(項目57)

前記薬学的に許容される担体は、CaCl₂、MgCl₂、NaCl、スクロース及びKolliphor (ポロキサマー) P188を含む、項目56に記載の組成物。

(項目58)

前記発現コンストラクトは、野生型GLA配列またはコドン最適化GLA配列を含む、項目55に記載の組成物。

(項目59)

前記発現コンストラクトは、エンハンサー、プロモーター、イントロン、シグナルペプチド及び/またはポリアデニル化シグナルをコードする配列のうちの1つ以上をさらに含む、前記変異WPRE配列、任意に、前記mut6変異WPRE配列、及び少なくとも1つのGalAタンパク質をコードする前記GLA導入遺伝子は、前記シグナルペプチドと、前記ポリアデニル化シグナルをコードする前記配列との間に位置する、項目55～58のいずれか1項に記載の組成物。

(項目60)

発現コンストラクト配列は、表1に示される配列を含み、前記発現コンストラクトは、AAVウイルスベクターによって細胞に送達される、項目55～59のいずれか1項に記載の組成物。

(項目61)

AAVウイルスベクター血清型は、AAV2/6である、項目55～60のいずれか1項に記載の組成物。

(項目62)

前記発現コンストラクトは、対象1キログラム当たり約5.0E+12から1.0E+14の間のベクターゲノム(vg/kg)を含む、項目60または61に記載の組成物。

(項目63)

10

20

30

40

50

前記発現コンストラクトは、配列番号 9 の配列を含む、項目 5 9 に記載の組成物。

(項目 6 4)

ファブリー病の処置のための - G a l A タンパク質を生成する方法であって、項目 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法により単離細胞において前記 - G a l A タンパク質を発現させること、及び前記細胞によって産生された前記 - G a l A タンパク質を単離することを含む、前記方法。

(項目 6 5)

項目 1 に記載の方法に使用するための、変異 W P R E 配列、任意に、m u t 6 W P R E 配列及び G L A 導入遺伝子を含む、送達ベクター。

(項目 6 6)

前記送達ベクターは、ウイルスベクターまたは脂質ナノ粒子 (L N P) である、項目 6 5 に記載のベクター。

(項目 6 7)

前記ウイルスベクターは、A A V 2 / 6 を含み、前記ウイルスベクターは、前記発現コンストラクトを少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、または少なくとも 8 0 % の細胞に送達する、項目 6 6 に記載のベクター。

(項目 6 8)

ファブリー病の処置のための、先行項目のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト、A A V ベクター及び / または遺伝子改変細胞の使用。

(項目 6 9)

前記エンハンサーは、配列番号 2 を含み、前記プロモーターは、配列番号 3 を含み、前記イントロンは、配列番号 4 を含み、前記 G L A 導入遺伝子は、配列番号 5 を含み、前記変異 W P R E 配列は、配列番号 6 を含み、前記ポリアデニル化シグナルは、配列番号 7 を含む、項目 3 に記載の方法。

(項目 7 0)

前記エンハンサーは、配列番号 2 を含み、前記プロモーターは、配列番号 3 を含み、前記イントロンは、配列番号 4 を含み、前記 G L A 導入遺伝子は、配列番号 5 を含み、前記変異 W P R E 配列は、配列番号 6 を含み、前記ポリアデニル化シグナルは、配列番号 7 を含む、項目 5 9 に記載の組成物。

10

20

30

40

50