

【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6月24日(2024.6.24)

【国際公開番号】WO2023/054671

【出願番号】特願2023-551895(P2023-551895)

【国際特許分類】

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 15/86(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 7/01 Z N A

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/86 Z

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

【手続補正書】

【提出日】令和6年3月28日(2024.3.28)

【手続補正1】

20

【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】

E 4 O R F 6 遺伝子を外来プロモーターによって発現させることを含むアデノ随伴ウイルスの製造方法であって、エンハンサー、サイトメガロウイルス由来プロモーター、K o z a k 配列、E 4 O R F 6 遺伝子及びポリAシグナル配列を含む発現ユニットを用いてE 4 O R F 6 を発現させた場合と比較して、E 4 O R F 6 の発現が低下している、アデノ随伴ウイルスの製造方法。

30

【請求項2】

E 4 O R F 6 の発現の低下が、E 4 O R F 6 のm R N A 発現の低下及び/又はE 4 O R F 6 のタンパク質発現の低下である、請求項1に記載のアデノ随伴ウイルスの製造方法。

【請求項3】

エンハンサー、サイトメガロウイルス由来プロモーター、K o z a k 配列、E 4 O R F 6 遺伝子及びポリAシグナル配列を含む発現ユニットを用いてE 4 O R F 6 を発現させた場合と比較して、E 4 O R F 6 の発現の量が1/2以下に低下している、請求項1又は2に記載のアデノ随伴ウイルスの製造方法。

【請求項4】

40

以下の(a)~(e)の何れか一以上によりE 4 O R F 6 の発現が低下している、請求項1又は2に記載のアデノ随伴ウイルスの製造方法。

(a) 外来プロモーターが、サイトメガロウイルス由来プロモーターよりも転写活性が弱いプロモーターである；

(b) E 4 O R F 6 遺伝子のK o z a k 配列が、改変されたK o z a k 配列であるか、K o z a k 配列を使用しない；

(c) エンハンサー配列が、改変されたエンハンサー配列であるか、エンハンサー配列を使用しない；

(d) ポリAシグナル配列が、改変されたポリAシグナル配列であるか、ポリAシグナル配列を使用しない；

50

(e) I R E S 配列を用いて E 4 O R F 6 遺伝子を発現させる :

【請求項 5】

R e p 遺伝子、C a p 遺伝子、E 2 A 遺伝子、V A - R N A 遺伝子、所望の治療又は予防用遺伝子のうちのいずれか一つ以上の遺伝子の細胞への導入量と比較して、E 4 O R F 6 遺伝子の細胞への導入量が $1 / 2$ 以下である、請求項 1 又は 2 に記載のアデノ随伴ウイルスの製造方法。

【請求項 6】

少なくとも E 4 O R F 6 遺伝子を含む E 4 領域を細胞に導入することを含む、アデノ随伴ウイルスの製造方法であって、R e p 遺伝子、C a p 遺伝子、E 2 A 遺伝子、V A - R N A 遺伝子、所望の治療又は予防用遺伝子のうちのいずれか一つ以上の遺伝子の細胞への導入量と比較して、E 4 O R F 6 遺伝子の細胞への導入量が $1 / 2$ 以下である、アデノ随伴ウイルスの製造方法。

10

【請求項 7】

E 4 領域の細胞への導入量が、R e p 遺伝子、C a p 遺伝子、E 2 A 遺伝子、V A - R N A 遺伝子、所望の治療又は予防用遺伝子のうちのいずれか一つ以上の遺伝子の細胞への導入量の $1 / 10$ 以下である、請求項 6 に記載のアデノ随伴ウイルスの製造方法。

【請求項 8】

E 4 領域と、E 2 A 遺伝子及び V A - R N A 遺伝子とが、異なるプラスミドベクターにより細胞に導入される、請求項 6 又は 7 に記載のアデノ随伴ウイルスの製造方法。

【請求項 9】

E 4 領域が E 4 O R F 6 遺伝子のみからなる、請求項 6 又は 7 に記載のアデノ随伴ウイルスの製造方法。

20

【請求項 10】

外来プロモーターによって発現される E 4 O R F 6 遺伝子を少なくとも有する細胞であって、エンハンサー、サイトメガロウイルス由来プロモーター、K o z a k 配列、E 4 O R F 6 遺伝子及びポリ A シグナル配列を含む発現ユニットを用いて E 4 O R F 6 を発現させた場合と比較して、E 4 O R F 6 の発現が低下している、細胞。

【請求項 11】

外来プロモーターによって発現される E 4 O R F 6 遺伝子が、以下の (a) ~ (e) の何れか一以上を満たす発現ベクターにより細胞に導入されている、請求項 10 に記載の細胞。

30

(a) 外来プロモーターが、サイトメガロウイルス由来プロモーターよりも転写活性が弱いプロモーターである ;

(b) E 4 O R F 6 遺伝子の K o z a k 配列が、改変された K o z a k 配列であるか、K o z a k 配列を有さない ;

(c) エンハンサー配列が、改変されたエンハンサー配列であるか、エンハンサー配列を有さない ;

(d) ポリ A シグナル配列が、改変されたポリ A シグナル配列であるか、ポリ A シグナル配列を有さない ;

(e) I R E S 配列を用いて E 4 O R F 6 遺伝子を発現させる :

40

【請求項 12】

外来プロモーターによって発現される E 4 O R F 6 遺伝子を少なくとも有する細胞であって、R e p 遺伝子、C a p 遺伝子、E 2 A 遺伝子、V A - R N A 遺伝子、所望の治療又は予防用遺伝子のうちのいずれか一つ以上の遺伝子の細胞への導入量よりも、E 4 O R F 6 遺伝子の細胞への導入量の方が少ない、細胞。

【請求項 13】

さらに、E 2 A 遺伝子及び V A - R N A 遺伝子を有する、請求項 10 ~ 12 の何れか一項に記載の細胞。

【請求項 14】

さらに、R e p 遺伝子を有する、請求項 10 ~ 12 の何れか一項に記載の細胞。

50

【請求項 15】

さらに C a p 遺伝子、及び/又は所望の治療又は予防用遺伝子を有する、請求項 10 ~ 12 の何れか一項に記載の細胞。

【請求項 16】

外来プロモーターに連結された E 4 O R F 6 を含む発現ベクターであって、以下の (a) ~ (e) の何れか一以上を満たす発現ベクター。

(a) 外来プロモーターが、サイトメガロウイルス由来プロモーターよりも転写活性が弱いプロモーターである；

(b) E 4 O R F 6 遺伝子の K o z a k 配列が、変更された K o z a k 配列であるか、K o z a k 配列を有さない；

(c) エンハンサー配列が、変更されたエンハンサー配列であるか、エンハンサー配列を有さない；

(d) ポリ A シグナル配列が、変更されたポリ A シグナル配列であるか、ポリ A シグナル配列を有さない；

(e) I R E S 配列を用いて E 4 O R F 6 遺伝子を発現させる；

10

20

30

40

50