

【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 4 年 1 月 6 日 (2022.1.6)

【公表番号】特表 2021-503933 (P2021-503933A)

【公表日】令和 3 年 2 月 15 日 (2021.2.15)

【年通号数】公開・登録公報 2021-007

【出願番号】特願 2020-529473 (P2020-529473)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/67 (2006.01)

C 1 2 N 15/86 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 Z N A Z

C 1 2 N 15/113 Z

C 1 2 N 15/67 Z

C 1 2 N 15/86 Z

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 27/02

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 48/00

C 1 2 N 5/10

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 11 月 22 日 (2021.11.22)

【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】

霊長類の網膜色素上皮の細胞中で外生遺伝子を発現させるための医薬組成物であって、配列番号 1 の核酸配列を含む、若しくはそれから成る、又は配列番号 1 の前記核酸配列と少なくとも 80 % の全体的な同一性を有する少なくとも 1500 塩基対の核酸配列を含む単離核酸分子を含み、前記単離核酸分子は、前記外生遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合、前記霊長類の網膜色素上皮の細胞中での前記外生遺伝子の発現を駆動するのに有効である、医薬組成物。

【請求項 2】

前記単離核酸分子は、配列番号 1 の前記核酸配列と少なくとも 95 % の全体的な同一性を有する少なくとも 1500 塩基対の核酸配列を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記単離核酸分子は、配列番号 1 の前記核酸配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記単離核酸分子は、前記外生遺伝子をコードする前記核酸配列に作動可能に結合している、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記単離核酸分子は、最小プロモーターを更に含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記最小プロモーターは、配列番号 2 の核酸配列を含む、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記単離核酸分子は、発現カセットの一部である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記発現カセットは、ベクターの一部である、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記ベクターは、ウイルスベクターである、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記ベクターは、アデノ随伴ウイルス (A A V) ベクターである、請求項 8 又は 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記外生遺伝子をコードする前記核酸配列は、チャンネルロドプシン又はハロロドプシンをコードする、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

前記霊長類は、ヒトである、請求項 1 ~ 11 に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

前記霊長類は、非ヒト霊長類である、請求項 1 ~ 11 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

網膜色素上皮に関連する疾患を治療するために使用するための、配列番号 1 の核酸配列を含み、若しくはそれから成る、又は配列番号 1 の前記核酸配列と少なくとも 80 % の全体的な同一性を有する少なくとも 1500 塩基対の核酸配列を含む単離核酸分子であって、前記単離核酸分子は、外生遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合、霊長類の網膜色素上皮の細胞中での前記外生遺伝子の発現を駆動するのに有効である、単離核酸分子。

【請求項 15】

網膜色素上皮に関連する前記疾患は、加齢性黄斑変性症、網膜色素変性症、糖尿病性網膜症及び網膜色素上皮肥大症から成る群から選択される、請求項 14 に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 16】

前記疾患は、加齢性黄斑変性症である、請求項 15 に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 17】

前記単離核酸分子は、配列番号 1 の前記核酸配列と少なくとも 95 % の全体的な同一性を有する少なくとも 1500 塩基対の核酸配列を含む、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 18】

前記単離核酸分子は、配列番号 1 の前記核酸配列を含む、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 19】

前記単離核酸分子は、前記外生遺伝子をコードする前記核酸配列に作動可能に結合している、請求項 14 ~ 18 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 20】

前記単離核酸分子は、最小プロモーターを更に含む、請求項 14 ~ 19 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 21】

前記最小プロモーターは、配列番号 2 の核酸配列を含む、請求項 20 に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 22】

前記単離核酸分子は、発現カセットの一部である、請求項 14 ~ 21 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 23】

前記発現カセットは、ベクターの一部である、請求項 22 に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 24】

前記ベクターは、ウイルスベクターである、請求項 23 に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 25】

前記ベクターは、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 23 又は 24 に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 26】

前記外生遺伝子をコードする前記核酸配列は、チャンネルロドプシン又はハロロドプシンをコードする、請求項 14 ~ 25 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 27】

前記霊長類は、ヒトである、請求項 14 ~ 26 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【請求項 28】

前記霊長類は、非ヒト霊長類である、請求項 14 ~ 26 のいずれか一項に記載の使用のための単離核酸分子。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0096

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0096】

ウイルス形質移入及び組織製剤

AAV 投与は、Kunming, China において眼科医及び外部委託先と連携して実施した。アカゲザルは、ケタミン及びフェノバルビタールナトリウムにより麻酔した。2本の穿刺トンネルは、それぞれ鼻腔及び側頭胸膜領域に配置された25ゲージの穿刺針を使用して作成した。1本のトンネルを通して照明用ファイバーを硝子体腔内に注入し、50 μ L の AAV は、第2トンネルを通してハミルトンシリンジ上に取り付けた30ゲージ針を使用して網膜下に注射した。3カ月後、単離網膜を30分間に渡りPBS中の4%のPFA中で固定し、次いでPBS中で4 において洗浄ステップを行った。全網膜は、室温で1時間に渡り10%の標準ロバ血清 (NDS)、1%のBSA、PBS中の0.5%のTriton X-100により処理した。PBS中3%のNDS、1%のBSA、0.5%のTriton X-100中のモノクローナルラット抗GFP Ab (Molecular Probes Inc.; 1:500) による処理を室温で5日間実施した。二次ロバ抗ラットAlexa Fluor-488 Ab (Molecular Probes Inc.; 1:200) による処理を2時間に渡り実施した。切片を洗浄し、スライドガラス上にProLong Gold 褪色防止用試薬 (Molecular Probes Inc.) と共に載せ、Zeiss LSM 700 Axio Imager Z2 レーザー走査型共焦点顕微鏡 (Carl Zeiss Inc.) を使用してイメージングした。

本発明は、以下の態様を含み得る。

[1]

霊長類の網膜色素上皮の細胞中で外生遺伝子の特異的に発現させるための方法であって、配列番号 1 の核酸配列を含む、若しくはそれから成る、又は配列番号 1 の前記配列と、前記霊長類の前記網膜色素上皮の細胞と少なくとも 80 %の全体的な同一性を有する少なくとも 1500 bp の核酸配列から成る単離核酸分子を送達するステップを含み、前記単離核酸分子は、外生遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合、霊長類の前記網膜色素上皮の細胞中での前記外生遺伝子の発現を特異的にもたらし方法。

[2]

前記単離核酸分子は、最小プロモーター、例えば、配列番号 2 の前記最小プロモーターを更に含む、[1] に記載の方法。

[3]

前記単離核酸分子は、発現カセットの一部である、[1] 又は [2] に記載の方法。

[4]

前記発現カセットは、ベクターの一部である、[3] に記載の方法。

[5]

前記ベクターは、ウイルスベクターである、[4] に記載の方法。

[6]

配列番号 1 の核酸配列を含み、若しくはそれから成り、又は配列番号 1 の前記配列と少なくとも 80 %の全体的な同一性を有する少なくとも 1500 bp の核酸配列から成る単離核酸分子の使用であって、前記単離核酸分子は、霊長類の前記網膜色素上皮の細胞中で外生遺伝子の特異的に発現させるために、前記外生遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合、霊長類の前記網膜色素上皮の細胞中での前記外生遺伝子の発現を特異的にもたらし使用。

[7]

前記単離核酸分子は、最小プロモーター、例えば、配列番号 2 の前記最小プロモーターを更に含む、[6] に記載の使用。

[8]

前記単離核酸分子は、発現カセットの一部である、[6] 又は [7] に記載の使用。

[9]

前記発現カセットは、ベクターの一部である、[8] に記載の使用。

[10]

前記ベクターは、ウイルスベクターである、[9] に記載の使用。

[11]

網膜色素上皮に関連する疾患を治療するために使用するための、配列番号 1 の核酸配列を含み、若しくはそれから成る、又は配列番号 1 の前記配列と少なくとも 80 %の全体的な同一性を有する少なくとも 1500 bp の核酸配列から成る単離核酸分子であって、前記単離核酸分子は、外生遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合、霊長類の前記網膜色素上皮の細胞中での前記外生遺伝子の発現を特異的にもたらし単離核酸分子。

[12]

網膜色素上皮に関連する前記疾患は、加齢性黄斑変性症、網膜色素変性症、糖尿病性網膜症及び網膜色素上皮肥大症から成る群から選択される、[11] に記載の単離核酸分子の使用。