

【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】平成22年9月9日(2010.9.9)

【公表番号】特表2009-544711(P2009-544711A)

【公表日】平成21年12月17日(2009.12.17)

【年通号数】公開・登録公報2009-050

【出願番号】特願2009-521823(P2009-521823)

【国際特許分類】

A 6 1 K	35/12	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 K	35/28	(2006.01)
A 6 1 K	35/30	(2006.01)
A 6 1 K	35/39	(2006.01)
A 6 1 K	35/407	(2006.01)
A 6 1 K	35/55	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	35/12	Z N A
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	35/28	
A 6 1 K	35/30	
A 6 1 K	35/39	
A 6 1 K	35/407	
A 6 1 K	35/55	
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成22年7月22日(2010.7.22)

【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】

選択可能なマーカと、対象の細胞に致死的であるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む組成物であって、前記致死的であるポリペプチドの発現が少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子のプロモータにより直接的に又は間接的に制御され、以下のステップを具える方法：

- (a) 前記対象から細胞の集団を得るステップと；
- (b) 前記細胞の集団内の少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子の活性を測定するステップと；
- (c) 前記細胞内へ前記組成物を導入するステップと；
- (d) 前記ポリヌクレオチドを含む細胞を得るために選択的な条件に前記細胞をさらすステップと；
- (e) 前記致死的ポリペプチドの発現を誘導する条件で細胞を処理するステップであって、前記致死的ポリペプチドの前記発現が、前記少なくとも1つの疾患マーカ細胞遺伝子

を発現する前記細胞を殺すものであるステップと；

(f) 残りの生きている非疾患細胞から前記殺された細胞を分離するステップであって、前記生きている細胞が前記非疾患細胞を殺すのに十分な程度に前記致死的ポリペプチドを発現していないステップと；及び、

(g) 前記生きている、非疾患細胞を前記対象に戻すステップと；
に使用するための組成物。

【請求項2】

対象の細胞に致死的であるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む組成物であって、以下のステップを具える方法：

- (a) 前記対象から細胞集団を得るステップと；
- (b) 前記細胞の前記集団内の少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子の活性を測定するステップと；
- (c) 前記少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子の少なくとも1つのプロモータを単離するステップと；
- (d) 前記ポリヌクレオチドに前記プロモータを直接的に又は間接的に結合させるステップと；
- (e) 選択可能なマーカを含むベクタ内に前記結合させたポリヌクレオチドを入れるステップと；
- (f) 前記細胞内に前記組成物を導入するステップと；
- (g) 前記ポリヌクレオチドを含む細胞を得るために前記細胞を選択条件にさらすステップと；
- (h) 前記致死的ポリペプチドの発現を誘発する条件で前記細胞を処理するステップであって、前記致死ポリペプチドの前記発現が前記少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子を発現している前記細胞を殺すステップと；
- (i) 残りの生きている非疾患細胞から前記殺された細胞を分離するステップであって、前記生きている細胞が、前記非疾患細胞を殺すのに十分な程度に前記致死ポリペプチドを発現しないステップと；
- (j) 前記生きている非疾患細胞を前記対象に戻すステップと；
に使用するための組成物。

【請求項3】

細胞に致死的であるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド分子を含む組成物であって、以下のステップを具える方法：

- (a) 前記対象から細胞集団を得るステップと；
- (b) 前記細胞の前記集団内の少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子の活性を測定するステップと；
- (c) 前記組成物を前記細胞に導入するステップであって、前記致死的ポリペプチドの発現が、前記少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子の前記プロモータにより調整されており、前記プロモータが、前記致死的ポリペプチドをコード化している前記ポリヌクレオチドに操作可能に結合するステップと；
- (d) 前記致死的ポリペプチドの発現を誘発する条件で前記細胞を処理するステップであって、前記致死的ポリペプチドの前記発現が前記少なくとも1つの疾患マーカ遺伝子を発現している前記細胞を殺すステップと；
- (e) 残りの生きている非疾患細胞から、前記殺された細胞を分離するステップであって、前記生きている細胞が、前記非疾患細胞を殺すのに十分な程度に前記致死ポリペプチドを発現しないステップと；及び、
- (f) 前記生きている非疾患細胞を前記対象に戻すステップと；
に使用するための組成物。

【請求項4】

細胞に致死的であるポリペプチドをコード化しているポリヌクレオチドを含む組成物であって、以下のステップを具える方法：

- (a) 前記対象から細胞集団を得るステップと；
- (b) 前記細胞の前記集団内で少なくとも 1 つの疾患マーカ遺伝子の活性を測定するステップと；
- (c) 前記少なくとも 1 つの疾患マーカ遺伝子の少なくとも 1 つのプロモータを単離するステップと；
- (d) 前記組成物に前記プロモータを操作可能に結合させることにより、治療用ポリヌクレオチドを作製するステップと；
- (e) 前記細胞に前記組成物を導入するステップと；
- (f) 前記致死ポリペプチドの発現を誘発する条件で前記細胞を処理するステップであって、前記致死的ポリペプチドの前記発現が前記少なくとも 1 つの疾患マーカ遺伝子を発現している前記細胞を殺すステップと；
- (g) 残りの生きている非疾患細胞から、前記殺された細胞を分離するステップであって、前記生きている細胞が、前記非疾患細胞を殺すのに十分な程度に前記致死的ポリペプチドを発現しないステップと；及び
- (h) 前記生きている非疾患細胞を前記対象に戻すステップと；
に使用するための組成物。

【請求項 5】

前記致死的ポリペプチドをコード化している前記ポリヌクレオチドへ前記プロモータを操作可能に結合させるステップが、第一と第二の分子挿入ピボットの間で前記プロモータを連結させるステップを具え、前記第二の分子挿入ピボットが前記プロモータの 3' 末端に位置する、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記プロモータが、前記致死的ポリペプチドをコード化している前記ポリヌクレオチドに操作可能に結合している、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記方法が前記細胞を単離するステップを更に具える、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記細胞が、造血幹細胞、肝幹細胞、乳腺幹細胞、臍幹細胞、及び神経幹細胞からなる群から選択される、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記細胞が、造血幹細胞である、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記疾患マーカ遺伝子の前記プロモータが、第一及び第二の分子挿入ピボット間で連結されている、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 11】

ポリヌクレオチドが、少なくとも 1 つのクロマチン修飾ドメインを更に含む、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記ポリヌクレオチドを導入するステップが、前記ポリヌクレオチドのローカス特異的挿入を含む、請求項 1 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記ローカス特異的挿入が、相同組換え及びリコンビナーゼ介在ゲノム挿入からなる群から選択される、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記ポリヌクレオチドが少なくとも 2 つのゲノム取込み部位を含む、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記ポリヌクレオチドを導入するステップが、前記細胞内へ前記ポリヌクレオチドの一過性の形質移入を具える、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 16】

前記ポリヌクレオチドを導入するステップが、前記細胞内へ前記ポリヌクレオチドの安定な形質移入を具える、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 17】

前記ポリヌクレオチドが、少なくとも 2 つのリコンビナーゼ部位を更に含む請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 18】

前記第一及び第二の分子挿入ピボットが、近接して配置されている 3 又は 4 の、稀な又は珍しい制限部位を含み、前記稀な又は珍しい制限部位が、A s i S I、P a c I、S b f I、F s e I、A s c I、M l u I、S n a B I、N o t I、S a l I、S w a I、R s r I I、B S i W I、S f o I、S g r A I、A f l I I I、P v u I、N g o M I V、A s e I、F l p I、P m e I、S d a I、S g f I、S r f I 及び S s e 8 7 8 I 制限酵素に対応する制限部位からなる群から選択される、請求項 10 に記載の組成物。