

【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5年7月14日(2023.7.14)

【国際公開番号】WO2022/092170  
 【出願番号】特願2022-559212(P2022-559212)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 1 5 / 1 1 3 ( 2 0 1 0 . 0 1 )  
 C 1 2 N 1 5 / 0 9 ( 2 0 0 6 . 0 1 )  
 A 0 1 K 6 7 / 0 3 3 ( 2 0 0 6 . 0 1 )

10

【F I】

C 1 2 N 1 5 / 1 1 3            Z Z N A  
 C 1 2 N 1 5 / 0 9    1 0 0  
 A 0 1 K 6 7 / 0 3 3 5 0 1

【手続補正書】

【提出日】令和5年4月27日(2023.4.27)

【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

20

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

(i) AMPK、TBC1D7、TSC1、TSC2およびRhebからなる群より選ばれる少なくとも1つのmTORパスウェイの因子、

(ii) Aktパスウェイの因子、

(iii) mTORパスウェイおよびAktパスウェイの上流因子、および

(iv) mTORパスウェイおよびAktパスウェイの下流因子

からなる群より選ばれる少なくとも1つの成長調節関連遺伝子と、

30

任意選択でさらに脱皮関連因子より選ばれる少なくとも1つの脱皮関連遺伝子とを含む遺伝子の機能、または当該遺伝子の転写産物もしくは翻訳産物の機能を調節する工程を含む、十脚目に属する動物の成長を調節する方法。

【請求項2】

前記遺伝子が、EcR、Kr-h1、MetおよびMIHからなる群より選ばれる少なくとも1つの脱皮関連遺伝子を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記Aktパスウェイの因子が、Akt、FOXO、PKDおよびPTENからなる群より選ばれる少なくとも1つである、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記mTORパスウェイおよびAktパスウェイの下流因子がp27である、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項5】

前記mTORパスウェイおよびAktパスウェイの上流因子が、FGF1およびILPからなる群より選ばれる少なくとも1つである、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法

【請求項6】

前記遺伝子が、成長調節関連遺伝子として、AMPK、TBC1D7、TSC1、TSC2およびPKDからなる群より選ばれる少なくとも1つを含み、前記工程が、当該成長調節関連遺伝子またはその転写産物もしくは翻訳産物の機能を阻害するよう調節すること

50

を含み、前記十脚目に属する動物の成長を促進するよう調節するものである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記成長調節関連遺伝子が、少なくとも AMPK と TSC1 または TSC2 とを含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記遺伝子が、成長調節関連遺伝子として少なくとも Akt を含み、前記工程が、当該成長調節関連遺伝子またはその転写産物もしくは翻訳産物の機能を増強するよう調節することを含み、前記十脚目に属する動物の成長を促進するよう調節するものである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 9】

前記遺伝子が、成長調節関連遺伝子として少なくとも Akt を含み、前記工程が、当該成長調節関連遺伝子またはその転写産物もしくは翻訳産物の機能を阻害するよう調節することを含み、前記十脚目に属する動物の成長を抑制するよう調節するものである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記遺伝子が、成長調節関連遺伝子として少なくとも PTEN を含み、かつ脱皮関連遺伝子として少なくとも MTH を含み、前記工程が、当該成長調節関連遺伝子および脱皮関連遺伝子またはそれらの転写産物もしくは翻訳産物の機能を阻害するよう調節することを含み、前記十脚目に属する動物の成長を促進するよう調節するものである、請求項 1 ~ 5

20

【請求項 11】

前記遺伝子またはその転写産物もしくは翻訳産物の機能の調節が阻害であり、RNA 干渉法 (RNAi 法)、アンチセンス法またはゲノム編集による、前記遺伝子の発現の抑制により行われる、請求項 1 ~ 7、9 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

(i) AMPK、TBC1D7、TSC1、TSC2 および Rheb からなる群より選ばれる少なくとも 1 つの mTOR パスウェイの因子、

(ii) Akt パスウェイの因子、

(iii) mTOR パスウェイおよび Akt パスウェイの上流因子、および

(iv) mTOR パスウェイおよび Akt パスウェイの下流因子

30

からなる群より選ばれる少なくとも 1 つの成長調節関連遺伝子と、

任意選択でさらに脱皮関連因子より選ばれる少なくとも 1 つの脱皮関連遺伝子とを含む遺伝子の機能、またはその転写産物もしくは翻訳産物の機能が調節されている、十脚目に属する動物。

【請求項 13】

前記遺伝子が、EcR、Kr-h1、Met および MTH からなる群より選ばれる少なくとも 1 つの脱皮関連遺伝子を含む、請求項 12 に記載の動物。

【請求項 14】

前記 Akt パスウェイの因子が、Akt、FOXO、PKD および PTEN からなる群より選ばれる少なくとも 1 つである、請求項 12 または 13 に記載の動物。

40

【請求項 15】

前記 mTOR パスウェイおよび Akt パスウェイの下流因子が p27 である、請求項 12 ~ 14 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 16】

前記 mTOR パスウェイおよび Akt パスウェイの上流因子が、FGF1 および ILP からなる群より選ばれる少なくとも 1 つである、請求項 12 ~ 15 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 17】

前記遺伝子が、成長調節関連遺伝子として、AMPK、TBC1D7、TSC1、TSC

50

2 および P D K からなる群より選ばれる少なくとも 1 つを含み、当該成長調節関連遺伝子またはその転写産物もしくは翻訳産物の機能を阻害するよう調節され、前記十脚目に属する動物の成長を促進するよう調節されている、請求項 1 2 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 1 8】

前記成長調節関連遺伝子が、少なくとも A M P K と T S C 1 または T S C 2 とを含む、請求項 1 7 に記載の動物。

【請求項 1 9】

前記遺伝子またはその転写産物もしくは翻訳産物の機能の調節が阻害であり、体内に、R N A 干渉法 ( R N A i 法 ) による前記遺伝子の発現抑制用の二本鎖 R N A またはベクター、前記遺伝子の機能が欠損した染色体、あるいは前記遺伝子の翻訳産物またはその受容体に対する阻害剤を含む、請求項 1 2 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の動物。

10

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 1】

【図 1】図 1 は、実施例 1 における、T S C 2 機能阻害区 ( T S C 2<sup>RNAi</sup> ) と対照区としての G F P 機能阻害区 ( G F P<sup>RNAi</sup> ) の成長の違いに関する結果を表す。[ A ] T S C 2 機能阻害個体 ( 開始 2 5 日後 ) と対照区 ( 開始 3 1 日後 ) の個体の体サイズの比較 ( 開始時個体重はともに 2 8 m g ) 。 [ B ] 実験開始後の経過日数に対する個体重の推移。脱皮 1 日後に個体重の計測を行った結果に基づき、経過日数に対する個体重の関係を線形回帰分析により分析した。その結果、1 日あたりの成長速度を示す回帰係数は、対照区に対して T S C 2 機能阻害区において約 2 倍の値を示した。[ C ] 脱皮ごとの個体重増加率の推移。[ D ] 脱皮ごとの脱皮間隔の推移。[ E ] 脱皮ごとの個体重の推移。T S C 2 機能阻害区では、脱皮成長量が増加するとともに、実験期間内に脱皮が 1 回分早くなった。\* : n = 7 ~ 9 ; Students' t-test または Welch's t-test ; P < 0 . 0 5 。

20

【図 2】図 2 は、実施例 2 における、T S C 1 および A M P K の同時機能阻害区 ( T S C 1<sup>RNAi</sup> & A M P K<sup>RNAi</sup> ) ( 開始 1 9 日後 ) と対照区 ( G F P<sup>RNAi</sup> ) ( 開始 1 6 日後 ) の体サイズを比較した写真である ( 開始時個体重はともに 2 0 m g ) 。

30

【図 3】図 3 は、m T O R シグナリングパスウェイの概略図である ( Journal of Cell Science 122, 3589-3594. doi:10.1242/jcs.051011 より引用 ) 。

【図 4】図 4 は、実施例 4 において作成した数理モデルを用いて脱皮前の個体の状態から予測された脱皮後の成長 P C 1 の主成分得点と実際の脱皮後の成長 P C 1 の主成分得点の関係を示す。

【図 5】図 5 は、実施例 4 で得られた成長 P C 1 との遺伝子発現量の相関を示す。[ A ] A k t パスウェイおよび m T O R パスウェイの上流リガンド候補因子との相関。破線で囲まれた F G F 1 および I L P の 2 因子のみにおいて有意な相関がみられた。[ B ] m T O R および A k t パスウェイを構成する因子のうち、成長 P C 1 と特に高い相関がみられたもの一例として R h e b の遺伝子発現動態を示す。

40

【図 6】図 6 は、実施例 4 の表 6 および表 7 の結果に基づき作成した、各遺伝子の発現動態と成長の関係を示したパス図モデルである。