

【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】平成22年4月22日 (2010.4.22)

【公表番号】特表2007-508846(P2007-508846A)

【公表日】平成19年4月12日 (2007.4.12)

【年通号数】公開・登録公報2007-014

【出願番号】特願2006-536845(P2006-536845)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/04 (2006.01)

A 6 1 P 25/08 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/02 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 5/06 (2006.01)

A 6 1 P 25/14 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/47

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

C 1 2 N 9/16 A

C 1 2 N 5/00 B

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 13/12

A 6 1 P 21/00

A 6 1 P 25/00 1 0 1

A 6 1 P 25/04

A 6 1 P 25/08

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 43/00 1 0 1

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 P 1/02
A 6 1 P 1/16
A 6 1 P 5/06
A 6 1 P 25/14

【手続補正書】

【提出日】平成22年3月2日(2010.3.2)

【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】

組み換え高移動性群ポリペプチド、又はその断片であって：

非核性細胞小器官への標的シグナルに機能的にリンクされたタンパク質導入領域と機能的にリンクされた少なくとも 1 種のHMGボックスを含む、ミトコンドリア転写因子A (TFAM)ポリペプチドを含み、該組み換え高移動性タンパク質がポリヌクレオチドと会合し、該ポリヌクレオチドを非核性細胞小器官への送達のためにパッケージングする、前記ポリペプチド、又はその断片。

【請求項 2】

前記組み換えポリヌクレオチドをパッケージングするポリペプチドが、約10～約100ヌクレオチドの、標的とされた細胞小器官に送達されるべきポリヌクレオチドと会合し、それにより、該標的とされた細胞小器官への送達のために該ポリヌクレオチドをパッケージングする、請求項 1 記載のポリペプチド。

【請求項 3】

前記組み換えポリペプチドが、配列番号210、又はポリヌクレオチドを結合するのに十分なその断片から選択される配列を含む、請求項 1 記載のポリペプチド。

【請求項 4】

(a)組み換え高移動性群ポリペプチド、又はその断片であって、

該組み換え高移動性群タンパク質、又はその断片が非核性細胞小器官への標的シグナルに機能的にリンクされたタンパク質導入領域と機能的にリンクされた少なくとも 1 種のHMGボックスを含む、ミトコンドリア転写因子A (TFAM)ポリペプチドを含む、前記ポリペプチド、又はその断片：及び

(b)該組み換え高移動性群タンパク質、又はその断片と物理的に会合するポリヌクレオチドを含む、組成物。

【請求項 5】

前記物理的会合が、前記ポリヌクレオチドを分解から保護する、請求項 4 記載の組成物。

【請求項 6】

前記高移動性群タンパク質、又はその断片が、ポリヌクレオチドの領域に可逆的に結合する、請求項 4 記載の組成物。

【請求項 7】

前記標的シグナルが、ミトコンドリア局在化シグナル、又は葉緑体局在化シグナルを含む、請求項 1 記載のポリペプチド。

【請求項 8】

前記ミトコンドリア局在化シグナルが、下記の群から選択されるミトコンドリア局在化シグナルに80～100%相同性を有する配列を含む、請求項 7 記載のポリペプチドであって

：該群が、ヘキソキナーゼI、アミノキシダーゼ（フラビン含有）A、ヘキソキナーゼIV、臍臓ベータ細胞型、末梢型ベンゾジアゼピン受容体関連タンパク質、メタキシニン2、推定ミトコンドリア外膜タンパク質輸入受容体(hTOM)、グルタチオントランスフェラーゼ、電位依存性アニオンチャンネル2（ミトコンドリア外膜タンパク質ポリリン）、ヘキソキナーゼIV、チトクロム b5、末梢ベンゾジアゼピン受容体、生殖細胞キナーゼアンカーS-AKAP84、A キナーゼアンカータンパク質、カルニチン0-パルミトイルトランスフェラーゼ I 前駆体、ヘキソキナーゼ II、アミノキシダーゼ（フラビン含有）B、長鎖脂肪酸-CoA リガーゼ 2、長鎖脂肪酸-CoA リガーゼ 1（パルミトイル-CoA リガーゼ）、電位依存性アニオンチャンネル1、メタキシニン 1、ヒト推定ミトコンドリア外膜34 kDa トランスロカーゼ hTOM34、電位依存性アニオンチャンネル 4（ミトコンドリア外膜タンパク質ポリリン）、チトクロムb5 還元酵素、電位依存性アニオンチャンネル3（ミトコンドリア外膜タンパク質ポリリン）、ミトコンドリア輸入受容体サブユニットTOM20ホモログ（ミトコンドリア20 k d 外膜タンパク質）（ミトコンドリア外膜受容体TOM20）、腫瘍性成虫原基ホモログ前駆体（HTID-1）、及び配列番号 18～188からなる、前記ポリペプチド。

【請求項 9】

前記葉緑体局在化シグナルが、下記の群から選択される葉緑体局在化シグナルに80～100%相同性を有する配列を含む、請求項7記載のポリペプチドであって：該群が、アピコプラスト（apicoblast）リボソームタンパク質S9の通過ペプチド領域、マメグルタチオン還元酵素（GR）シグナルペプチド、推定グアノシン 3',5'-ビスピロリン酸（ppGpp）合成酵素-分解酵素をコードするCr-RSHのNH2末端、14-3-3タンパク質、cpSRP54、cpSRP43サブユニット、又はその断片などの葉緑体シグナル認識小片、膜貫通領域（TMD）、及びそのC-末端隣接7アミノ酸領域などの葉緑体通過ペプチド AtOEP7、THI1 N末端葉緑体通過ペプチド、及び配列番号189～205からなる、前記ポリペプチド。

【請求項 10】

組み換え高移動性群ポリペプチド、又はその断片であって：

核標的シグナルに機能的にリンクされたタンパク質導入領域と機能的にリンクされた少なくとも1種のHMGボックスを含む、ミトコンドリア転写因子A（TFAM）ポリペプチドを含み、その中で該組み換え高移動性タンパク質、又はその断片がポリヌクレオチドと会合し、該ポリヌクレオチドを該核への送達のためにパッケージングする、前記ポリペプチド、又はその断片。

【請求項 11】

前記核標的シグナルが、SV40ウイルスT抗原の核局在化シグナル（NLS）を含む、請求項 10記載のポリペプチド。

【請求項 12】

前記核局在化シグナルが、該SV40ウイルスT抗原の核局在化シグナルの少なくとも9アミノ酸を含む、請求項 10記載のポリペプチド。

【請求項 13】

前記タンパク質導入領域が、生理的条件下で正味の正電荷を有する複数のアミノ酸残基を含む、請求項 1記載のポリペプチド。

【請求項 14】

前記タンパク質導入領域が8～15アミノ酸残基を含む、請求項 13記載のポリペプチド。

【請求項 15】

前記タンパク質導入領域が11アルギニン残基を含む、請求項 1記載のポリペプチド。

【請求項 16】

前記タンパク質導入領域が下記の群から選択される、請求項1記載のポリペプチドであって：該群がYGRKKRRQRRR（配列番号：1）、RKKRRQRRR（配列番号：2）、HIV-1 TATタンパク質のアミノ酸48-60、アンテナペディアルホメオドメインの第3ヘリックス、RQIKIWFQNRRMKWKK（配列番号：207）、ポリアルギニン領域、約7アルギニン残基、RRQRTSKLMKR（配列番号：7）、GWTLSAGYLLGKINLKALAALAKKIL（配列番号：8）、WEAKLAKALAKALAKHLAKALAKALKA

CEA（配列番号：9）、その断片、又はその組合せからなる、前記ポリペプチド。

【請求項 17】

前記タンパク質導入領域が膜を通過することを促進し、かつ該膜が、細胞膜、原形質膜、細胞小器官膜、ミセル膜、二重層膜、単層膜、小胞膜、核膜、又はミトコンドリア膜である、請求項 1 ~ 13のいずれか 1 項記載のポリペプチド。

【請求項 18】

前記ポリヌクレオチドが、ポリペプチド、siRNA、又はアンチセンスポリヌクレオチドをコードする核酸配列に機能的にリンクされたプロモーターを含む、請求項 4 記載のポリペプチド。

【請求項 19】

前記ポリヌクレオチドがRNA、DNA、又はその組合せを含む、請求項 4 記載のポリペプチド。

【請求項 20】

前記ポリヌクレオチドが酵素領域を含む、請求項 4 記載のポリペプチド。

【請求項 21】

前記ポリヌクレオチドが酵素RNA、又は酵素DNAを含む、請求項 4 記載のポリペプチド。

【請求項 22】

前記ポリヌクレオチドが一本鎖、又は多重鎖である、請求項 4 記載のポリペプチド。

【請求項 23】

ポリヌクレオチドをパッケージングする方法であって：ポリヌクレオチドを、該ポリヌクレオチドをパッケージングするのに十分な組み換えポリペプチドと組合せること含み、その中で該組み換えポリペプチドが機能的にリンクされたタンパク質導入領域と機能的にリンクされた少なくとも 1 種のHMGボックス領域を含むTFAMポリペプチドを含み、該タンパク質導入領域、及び該標的シグナルがパッケージングされたポリヌクレオチドの外面に示される、前記方法。

【請求項 24】

前記組み換えポリペプチドが、前記ポリヌクレオチドと可逆的に会合する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 25】

前記組み換えポリペプチドが、前記ポリヌクレオチドをコーティングする、請求項 23 記載の方法。

【請求項 26】

前記組み換えポリペプチドの前記ポリヌクレオチドとの会合が、該ポリヌクレオチドの立体構造変化を誘導する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 27】

前記HMGボックス領域が、配列特異的様式で前記ポリヌクレオチドと会合する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 28】

前記HMGボックス領域が、前記ポリヌクレオチドと非特異的に会合する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 29】

前記組合せ工程がインビトロで生じる、請求項 23 記載の方法。

【請求項 30】

治療に使用するための請求項 1 ~ 22のいずれか 1 項記載のポリペプチド。

【請求項 31】

ポリヌクレオチド - ポリペプチド複合体であって：

(1) 非核性細胞小器官への標的シグナルに機能的にリンクされたタンパク質導入領域と機能的にリンクされた少なくとも 1 種のHMGボックス領域を含むTFAMポリペプチドを含むポリペプチド；及び、

(2) 第一の酵素的ポリペプチド又は酵素的核酸、及び少なくとも第二のポリペプチドを

コードするポリヌクレオチド；
を含む、前記ポリヌクレオチド - ポリペプチド複合体。

【請求項 3 2】

前記ポリペプチドが、ミトコンドリアゲノム又はその断片を含む、請求項 3 1記載の複合体。

【請求項 3 3】

前記非核性細胞小器官がミトコンドリアである、請求項 3 1記載の複合体。

【請求項 3 4】

前記第一の酵素的ポリペプチドがエンドヌクレアーゼである、請求項 3 1記載の複合体。

【請求項 3 5】

前記酵素的核酸が、DNA、RNA、又はその組合せを含む、請求項 3 1記載の複合体。

【請求項 3 6】

前記ポリヌクレオチドが、2 種以上のミトコンドリアポリペプチドをコードする、請求項 3 1記載の複合体。

【請求項 3 7】

非核性細胞小器官のゲノムを修飾する方法において使用するための請求項 3 1 ~ 3 6 のいずれか 1 項記載のポリヌクレオチド - ポリペプチド複合体であって、該方法が：

(a) 細胞を該ポリヌクレオチド - ポリペプチド複合体と接触させる工程；及び

(b) 前記ポリヌクレオチドを非核性細胞小器官で発現させる工程であって、前記第一の酵素的ポリペプチドは、非核性細胞小器官に内在性の核酸を切断し、かつ該ポリヌクレオチドを切断しない、前記工程；

を含む、前記ポリヌクレオチド - ポリペプチド複合体。

【請求項 3 8】

前記組み換えポリペプチドが、配列番号211、又はポリヌクレオチドを結合するのに十分なその断片から選択される配列を含む、請求項 1 0 記載のポリペプチド。