

【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21年4月2日(2009.4.2)

【公表番号】特表2008-538174(P2008-538174A)

【公表日】平成20年10月16日(2008.10.16)

【年通号数】公開・登録公報2008-041

【出願番号】特願2007-556283(P2007-556283)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 5/00 A

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 37/54

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/06

【手続補正書】

【提出日】平成21年2月12日(2009.2.12)

【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】

レンチウイルストランスファクターであって、

a) レンチウイルス5'LTR；

b) 前記5'LTRの遠位のレンチウイルスパッケージング配列；

c) TATAボックス配列を含むが、該TATAボックス配列の5'に3'U3配列を欠き、低い転写活性を有する、改変されたレンチウイルス3'LTR；

を含んでなる上記ベクター。

【請求項2】

レンチウイルスヘルパープラスミドであって、

a) レンチウイルスgagおよびpolをコードするポリヌクレオチド配列と機能的に連結された機能性の天然のプロモーターを含むレンチウイルス5'LTR、および上記天然のプロモ-

ターにより駆動される転写を終結するのに有効である異種polyAシグナル；ならびに  
b) エンベロープをコードする配列と機能的に連結された異種プロモーター、および上記  
異種プロモーターにより駆動される転写を終結するのに有効である異種polyAシグナル；  
を含んでなる、上記天然のプロモーターと上記異種プロモーターが存在し、そして機能性  
のパッケージング配列を欠く上記プラスミド。

【請求項 3】

5'LTRと異なるレンチウイルス種から得たTARエレメントを含みかつ5'LTRと異なるレン  
チウイルス種から得たRREエレメントを含む、請求項2に記載のレンチウイルスヘルパー  
プラスミド。

【請求項 4】

5'LTRが天然またはHIV-1もしくはHIV-2である、請求項2に記載のレンチウイルスヘル  
パープラスミド。

【請求項 5】

プラスミドがさらに(i)プロモーターと機能的に連結されているTatポリペプチドまたは  
Revポリペプチドをコードする発現可能なポリヌクレオチド配列、または(ii)該エンベロ  
ープコード配列の翻訳を阻害するのに有効なアンチセンスポリヌクレオチドを含む、請求  
項2に記載のレンチウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 6】

レンチウイルスのgagおよびpolをコードするポリヌクレオチド配列がHIV-1 gagおよびp  
olまたはHIV-2 gagおよびpolである、請求項2に記載のレンチウイルスヘルパープラスミ  
ド。

【請求項 7】

適合しうる宿主で発現されたときにレンチウイルスのgagおよびpolをコードするポリヌ  
クレオチド配列がコード配列の翻訳を改善する少なくとも1つの非天然コドンを含む、請  
求項2に記載のレンチウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 8】

終結コドンまたはp7 KETWETWWTEコード配列であるポリヌクレオチド配列がpolとエンベ  
ロープコード配列の間に存在する、請求項2に記載のレンチウイルスヘルパープラスミド  
。

【請求項 9】

エンベロープをコードする配列がVSV-Gエンベロープまたはフィロウイルスエンベロー  
プ用である、請求項2に記載のレンチウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 10】

さらに異種ポリヌクレオチド配列と機能的に連結された異種プロモーターを含んでなる  
、請求項1に記載のレンチウイルストランスファクター。

【請求項 11】

欠いている3'U3配列はTATAボックス配列の5'から20ヌクレオチド以内にある、請求項1  
に記載のレンチウイルストランスファクター。

【請求項 12】

3'LTRがさらに第2の異種ポリヌクレオチド配列と機能的に連結された第2の異種プロモ  
ーターを含み、その場合、該プロモーターおよび異種ポリヌクレオチド配列が3'LTRの転  
写活性を低減するのに有効である位置で3'LTR中に挿入される、請求項10に記載のレン  
チウイルストランスファクター。

【請求項 13】

さらに、第2の目的の遺伝子をコードする異種配列と機能的に連結された第2の異種プロ  
モーターを含む、請求項10に記載のレンチウイルストランスファクター。

【請求項 14】

第1と第2の異種コード配列が内部リボソーム侵入部位により分離されている、請求項1  
3に記載のレンチウイルストランスファクター。

【請求項 15】

異種コード配列のそれぞれがさらに、プロモーターにより駆動される転写を終結するのに有効である異種polyAシグナルを含む、請求項 1 3 に記載のレンチウイルストランスファクター。

【請求項 1 6】

レンチウイルス形質導入ベクターを生産するためのレンチウイルスパッケージング系であって、

- a) 請求項 2 に記載のレンチウイルスヘルパープラスミド、
- b) 請求項 1 に記載のレンチウイルストランスファクター、ならびに
- c) 異種プロモーターと機能的に連結されたrevポリペプチドをコードする配列、および異種プロモーターと機能的に連結されたtatポリペプチドをコードする配列を含むプラスミド

を含む上記レンチウイルスパッケージング系。

【請求項 1 7】

請求項 2 のレンチウイルスヘルパープラスミドもしくは請求項 1 に記載のレンチウイルストランスファクター、または請求項 1 6 に記載のレンチウイルスパッケージング系を含む単離された細胞。

【請求項 1 8】

レンチウイルス形質導入ベクターを生産する方法であって、請求項 1 6 に記載のパッケージング系を含むプラスミドを宿主細胞において形質導入ベクターを生産するのに有効な条件のもとで共発現させるステップを含んでなる上記方法。

【請求項 1 9】

宿主細胞において目的のポリペプチドを生産する方法であって、宿主細胞をレンチウイルス形質導入ベクターを用いて形質導入して形質導入された宿主細胞を形成するステップを含んでなり、前記ベクターが、分泌される目的の異種ポリペプチドをコードする発現可能な異種ポリヌクレオチドおよび目的のポリペプチドの生産を増加させるための第2の遺伝子を含む上記方法。

【請求項 2 0】

宿主細胞がCHOまたは293細胞である、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

さらに、形質導入された宿主細胞を目的のポリペプチドを生産するのに有効な条件のもとで培養するステップを含んでなる、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 2】

宿主細胞を複数のレンチウイルス形質導入ベクターを用いて形質導入し、それぞれのベクターが異なるポリペプチドをコードする異なる異種ポリヌクレオチドを含む、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 3】

異種ポリヌクレオチドのそれぞれは少なくとも1つのウイルスカプシドのカプシドポリペプチドをコードし、前記カプシドポリペプチドが宿主細胞において発現されると、自己アセンブルして前記ウイルスのカプシドを作る、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

少なくとも1つのポリヌクレオチドが、インフルエンザウイルスの赤血球凝集素またはノイラミニダーゼポリペプチドをコードする、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

宿主細胞を、赤血球凝集素、ノイラミニダーゼ、およびマトリックス(M1)ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを用いて形質導入する、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 6】

それぞれのポリヌクレオチドが異なるウイルスの形質導入ベクター中に存在する、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記複数のレンチウイルス形質導入ベクターが、ウイルス様粒子を形成するポリペプチ

ドをコードする、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 28】

請求項 25 の方法で得られた産物。

【請求項 29】

宿主細胞におけるポリペプチドの製造を改善するポリペプチドまたは遺伝子を同定する方法であって、

お互いに配列が異なる発現可能な異種ポリヌクレオチドを含む少なくとも2つの異なるレンチウイルス形質導入ベクターを用いてそれぞれ形質導入した、複数の形質導入された宿主細胞を製造するステップ、および

上記宿主細胞を異種配列に関連する機能活性についてスクリーニングするステップを含んでなる上記方法。

【請求項 30】

異種配列がRNAi配列、ポリペプチドをコードする配列、または目的の遺伝子に対するアンチセンスである、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

ドナーリンパ球の宿主中への移植に関連するGVHD病を治療するための医薬の製造における、形質導入されたドナーリンパ球の使用であって、

形質導入されたドナーリンパ球は、場合によりレシピエントポリペプチドまたは細胞の存在のもとで、細胞分裂停止または細胞傷害エレメントをコードする発現可能なもしくは選択的に発現可能なポリヌクレオチド配列を含むレンチウイルス形質導入ベクターを用いて形質導入され、且つ

上記医薬が上記宿主中への注入に適している、  
上記使用。

【請求項 32】

誘導性プロモーターまたは選択的に発現可能な遺伝子が外因的に導入された化学品の存在のもとで活性化されるプロモーターと機能的に連結された、請求項 31 に記載の使用。

【請求項 33】

選択的に発現可能な遺伝子がRNAiまたは前アポトーシスポリペプチドをコードする、請求項 31 に記載の使用。

【請求項 34】

細胞傷害性エレメントがヘルペスチミジンキナーゼまたは多基質キナーゼ遺伝子をコードする配列である、請求項 31 に記載の使用。

【請求項 35】

さらに、前記医薬が、有効量のガンシクロビル、AZT、flurada(登録商標)またはアシクロビルを含み、その場合、前記の量が形質導入されたドナーリンパ球の細胞死をもたらすのに有効な量である、請求項 34 に記載の使用。

【請求項 36】

形質導入されたドナー細胞を、有効量の宿主自己抗原と、前記ドナー細胞を形質導入すると同時にまたはその前に接触させる、請求項 31 ~ 35 のいずれか1項に記載の使用

。

【請求項 37】

発現ベクターであって、

a) 天然のレンチウイルスgagおよびpolをコードするポリヌクレオチド配列と機能的に連結された機能的な天然のプロモーターを含むレンチウイルス5'LTR、および  
上記天然のプロモーターにより駆動された転写を終結するのに有効であって、翻訳終結シグナルがgag-pol配列の開始の下流に存在する異種polyAシグナル、

b) gag-pol配列の下流に位置するスプライスアクセプター部位、および

c) 5'LTRプロモーターと機能的に連結されたgag-pol配列の下流に位置する異種ポリヌクレオチド配列

を含んでなる上記発現ベクター。

## 【請求項 38】

T細胞レセプターおよび細胞傷害性エレメントを含むレンチウイルス形質導入ベクター。

## 【請求項 39】

VSV-Gを標的化する誘導性の遺伝子阻害性またはサイレンシング配列を発現する、レンチウイルスベクターパッケージングまたはプロデューサー細胞株。

## 【請求項 40】

末梢血液リンパ球の集団をレンチウイルスベクターを用いて形質導入する方法であって、レンチウイルスベクターを用いて形質導入する前に末梢血液リンパ球の集団をサブ集団に精製しない上記方法。

## 【請求項 41】

癌患者中への注入に適した、癌を治療するための医薬の製造における、内皮特異的プロモーターと機能的に連結された細胞傷害性エレメントを発現するレンチウイルスベクターを用いて処置した幹細胞の使用。