

【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11月12日 (2009.11.12)

【公開番号】特開2008-301828(P2008-301828A)

【公開日】平成20年12月18日 (2008.12.18)

【年通号数】公開・登録公報2008-050

【出願番号】特願2008-176378(P2008-176378)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 38/45 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 33/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 K 31/513 (2006.01)

A 6 1 K 31/522 (2006.01)

A 6 1 K 31/7072 (2006.01)

A 6 1 K 31/7068 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 9/12 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 37/52

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 33/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 K 31/513

A 6 1 K 31/522

A 6 1 K 31/7072

A 6 1 K 31/7068

C 1 2 N 5/00 B

C 1 2 N 9/12

【手続補正書】

【提出日】平成21年9月24日 (2009.9.24)

【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】

配列番号 1 を含み、Herpesviridaeチミジンキナーゼ酵素をコードする単離された核酸分子であって、ここで該核酸分子は、配列番号 1 に関係する少なくとも 2 つの

変異を含み、該核酸分子は、配列番号 107 または配列番号 108 を含むチミジンキナーゼ酵素をコードし、該配列番号 107 または配列番号 108 は、野生型アミノ酸について 159 ~ 161 位および 168 ~ 169 位にアミノ酸置換を含む、核酸分子。

**【請求項 2】**

請求項 1 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記アミノ酸置換が、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に L e u、168 位に P h e、169 位に A s n を有する変異 S R 11 を生じる、核酸分子。

**【請求項 3】**

請求項 1 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記アミノ酸置換が、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に A l a、168 位に P h e を有し、169 位にアミノ酸がない変異 S R 26 を生じる、核酸分子。

**【請求項 4】**

請求項 1 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記アミノ酸置換が、159 位に I l e、160 位に P h e、161 位に L e u、168 位に P h e、169 位に M e t を有する変異 S R 39 を生じる、核酸分子。

**【請求項 5】**

請求項 1 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記アミノ酸置換が、159 位に I l e、160 位に L e u、161 位に L e u、168 位に T y r、169 位に L e u を有する変異 S R 4 を生じる、核酸分子。

**【請求項 6】**

請求項 1 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記アミノ酸置換が、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に A l a、168 位に T y r、169 位に T y r を有する変異 S R 15 を生じる、核酸分子。

**【請求項 7】**

請求項 1 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記アミノ酸置換が、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に V a l、168 位に V a l、169 位に M e t を有する変異 S R 32 を生じる、核酸分子。

**【請求項 8】**

請求項 1 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記アミノ酸置換が、159 位に I l e、160 位に P h e、161 位に V a l、168 位に P h e、169 位に T y r を有する変異 S R 53 を生じる、核酸分子。

**【請求項 9】**

請求項 1 に記載の核酸分子に作動可能に連結されたプロモーターを含む発現ベクター。

**【請求項 10】**

請求項 9 に記載の発現ベクターであって、ここで前記プロモーターが、M o M L V L T R、サイトメガロウイルス前初期プロモーター、およびサイトメガロウイルス前後期プロモーターからなる群より選択される、発現ベクター。

**【請求項 11】**

請求項 9 に記載の発現ベクターであって、ここで前記プロモーターが、組織特異的プロモーターである、発現ベクター。

**【請求項 12】**

請求項 11 に記載の発現ベクターであって、ここで前記組織特異的プロモーターが、チロシンヒドロキシラーゼプロモーター、脂肪細胞 P 2 プロモーター、P E P C K プロモーター、フェトプロテインプロモーター、乳清酸性プロモーター、およびカゼインプロモーターからなる群より選択される、発現ベクター。

**【請求項 13】**

グアニル酸キナーゼ部分およびチミジンキナーゼ部分を含む融合タンパク質をコードする単離された核酸分子であって、ここで該融合タンパク質が、グアニル酸キナーゼの生物学的活性およびチミジンキナーゼの生物学的活性を有し、該チミジンキナーゼ部分が、H e r p e s v i r i d a e チミジンキナーゼまたは、非変異型チミジンキナーゼと比較して

増加した生物学的活性を有する変異 *Herpesviridae* チミジンキナーゼのいずれかである、核酸分子。

【請求項 14】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、前記グアニル酸キナーゼ部分および前記チミジンキナーゼ部分の少なくとも 1 つが短縮されている、核酸分子。

【請求項 15】

前記グアニル酸キナーゼ部分が哺乳動物グアニル酸キナーゼである、請求項 13 に記載の核酸分子。

【請求項 16】

前記哺乳動物グアニル酸キナーゼ部分が、マウスグアニル酸キナーゼまたはヒトグアニル酸キナーゼである、請求項 15 に記載の核酸分子。

【請求項 17】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼは、1 つ以上の変異を含む酵素であり、該変異の少なくとも 1 つは、DRHヌクレオシド結合部位から N 末端方向に位置するアミノ酸置換をコードする、核酸分子。

【請求項 18】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼは、1 つ以上の変異を含む酵素であり、該変異の少なくとも 1 つは、DRHヌクレオシド結合部位内のアミノ酸置換である、核酸分子。

【請求項 19】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼは、少なくとも 3 つの変異を含む酵素であり、該変異の少なくとも 2 つは、DRHヌクレオシド結合部位から N 末端方向に 1、2、または 3 のアミノ酸に位置するアミノ酸置換をコードし、そして該変異の少なくとも 1 つは、DRHヌクレオシド結合部位から C 末端方向に 4 または 5 のアミノ酸に位置するアミノ酸置換をコードする、核酸分子。

【請求項 20】

前記変異チミジンキナーゼが、Q 基質結合ドメイン中に少なくとも 1 つの変異を含む酵素である、請求項 17 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 21】

前記チミジンキナーゼが、単純ヘルペスウイルス 1 型チミジンキナーゼおよび単純ヘルペスウイルス 2 型チミジンキナーゼからなる群より選択される、請求項 13 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 22】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子を含む、発現ベクター。

【請求項 23】

前記核酸分子に作動可能に連結されるプロモーターをさらに含む、請求項 22 に記載の発現ベクター。

【請求項 24】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に L e u、168 位に P h e、169 位に A s n を有する変異 S R 11 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 25】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に A l a、168 位に P h e を有し、169 位にアミノ酸がない変異 S R 26 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 26】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位に I l e、160 位に P h e、161 位に L e u、168 位に P h e、169 位に M e t を有する変異 S R 39 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 27】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位に I l e、160 位に L e u、161 位に L e u、168 位に T y r、169 位に L e u を有する変異 S R 4 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 28】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に A l a、168 位に T y r、169 位に T y r を有する変異 S R 15 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 29】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位にアミノ酸がなく、160 位に P h e、161 位に V a l、168 位に V a l、169 位に M e t を有する変異 S R 32 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 30】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位に I l e、160 位に P h e、161 位に V a l、168 位に P h e、169 位に T y r を有する変異 S R 53 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 31】

請求項 13 に記載の単離された核酸分子であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159 位に I l e、160 位に L e u、161 位に A l a、168 位に T y r、169 位に P h e を有する変異体 30 を生じるアミノ酸置換を含む、核酸分子。

【請求項 32】

グアニル酸キナーゼ部分およびチミジンキナーゼ部分を含む融合タンパク質であって、ここで該融合タンパク質は、該グアニル酸キナーゼの生物学的活性および該チミジンキナーゼの生物学的活性を有し、ここで該チミジンキナーゼ部分は、H e r p e s v i r i d a e チミジンキナーゼ、または非変異型チミジンキナーゼと比較して増加した生物学的活性を有する変異 H e r p e s v i r i d a e チミジンキナーゼのいずれかである、融合タンパク質。

【請求項 33】

前記グアニル酸キナーゼ部分および前記チミジンキナーゼ部分のうちの少なくとも 1 つが短縮型である、請求項 32 に記載の融合タンパク質。

【請求項 34】

前記グアニル酸キナーゼ部分が哺乳動物グアニル酸キナーゼである、請求項 32 に記載の融合タンパク質。

【請求項 35】

前記哺乳動物グアニル酸キナーゼ部分が、マウスグアニル酸キナーゼまたはヒトグアニル酸キナーゼである、請求項 34 に記載の融合タンパク質。

【請求項 36】

請求項 32 に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼは、1 つ以上の変異を含む酵素であり、該変異の少なくとも 1 つは、D R H ヌクレオシド結合部位から N 末端方向に位置するアミノ酸置換をコードする、融合タンパク質。

【請求項 37】

請求項 32 に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼは、1 つ以上の変異を含む酵素であり、該変異の少なくとも 1 つは、D R H ヌクレオシド結合部位内のアミノ酸置換である、融合タンパク質。

【請求項 38】

請求項 32 に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼは、少なくとも 3 つの変異を含む酵素であり、該変異の少なくとも 2 つは、D R H ヌクレオシド結合部位から N 末端方向に 1、2、または 3 のアミノ酸に位置するアミノ酸置換をコードし、そして該変異の少なくとも 1 つは、D R H ヌクレオシド結合部位から C 末端方向に 4 または 5 のアミノ酸に位置するアミノ酸置換をコードする、融合タンパク質。

【請求項 39】

前記変異チミジンキナーゼが、Q基質結合ドメイン中に少なくとも1つの変異を含む酵素である、請求項36に記載の融合タンパク質。

**【請求項40】**

前記チミジンキナーゼが、単純ヘルペスウイルス1型チミジンキナーゼおよび単純ヘルペスウイルス2型チミジンキナーゼからなる群より選択される、請求項32に記載の融合タンパク質。

**【請求項41】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にアミノ酸がなく、160位にPhe、161位にLeu、168位にPhe、169位にAsnを有する変異SR11を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質。

**【請求項42】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にアミノ酸がなく、160位にPhe、161位にAla、168位にPheを有し、169位にアミノ酸がない変異SR26を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質

。

**【請求項43】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にIle、160位にPhe、161位にLeu、168位にPhe、169位にMetを有する変異SR39を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質。

**【請求項44】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にIle、160位にLeu、161位にLeu、168位にTyr、169位にLeuを有する変異SR4を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質。

**【請求項45】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にアミノ酸がなく、160位にPhe、161位にAla、168位にTyr、169位にTyrを有する変異SR15を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質。

**【請求項46】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にアミノ酸がなく、160位にPhe、161位にVal、168位にVal、169位にMetを有する変異SR32を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質。

**【請求項47】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にIle、160位にPhe、161位にVal、168位にPhe、169位にTyrを有する変異SR53を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質。

**【請求項48】**

請求項32に記載の融合タンパク質であって、ここで前記変異チミジンキナーゼが、159位にIle、160位にLeu、161位にAla、168位にTyr、169位にPheを有する変異体30を生じるアミノ酸置換を含む、融合タンパク質。