

【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5月28日(2009.5.28)

【公表番号】特表2008-538286(P2008-538286A)

【公表日】平成20年10月23日(2008.10.23)

【年通号数】公開・登録公報2008-042

【出願番号】特願2008-505635(P2008-505635)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	7/00	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
C 0 7 K	14/075	(2006.01)
A 6 1 K	39/23	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	7/00	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 P	31/12	
C 0 7 K	14/075	
A 6 1 K	39/23	

【手続補正書】

【提出日】平成21年4月7日(2009.4.7)

【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】

親のAAVのパッケージング収量、形質導入効率および/または遺伝子導入効率を上げる方法において、

(a) 親のAAVキャップシド配列をアライメントにおいて機能的AAVキャップシド配列のライブラリーと比較する工程；

(b) 親のAAVキャップシド中の少なくとも1つのシングルトンを同定する工程であって、かつ、該シングルトンが、並置された機能的AAVキャップシド配列の対応する位置のアミノ酸が完全に保存されている親のAAVキャップシド中の該位置の可変アミノ酸である工程；

(c) シングルトンを、機能的AAVキャップシド配列中の対応する該位置に位置するアミノ酸に改変する工程、
を含んで成る上記方法。

【請求項2】

並置された機能的AAVキャップシド配列が、並置されたvp1配列の完全長にわたり少なくとも85%同一である少なくとも4つのAAV配列を含んでなり、そして少なくとも2つの異なるAAVクレードに由来するAAV配列を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

ライブラリーが各クレードに由来する少なくとも 2 つの AAV 配列を含んでなる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

並置された AAV キャプシド配列のライブラリーが、少なくとも 3 つの異なるクレードに由来する AAV 配列を含んでなる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

並置された AAV キャプシド配列のライブラリーが、少なくとも 3 ~ 100 の AAV 配列を含んでなる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

並置された AAV キャプシド配列のライブラリーが、少なくとも 6 ~ 50 の AAV 配列を含んでなる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

ライブラリーが少なくとも 12 の AAV 配列を含んでなる請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

親の AAV が複数のシングルトンを含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

親の AAV が 2 ~ 4 のシングルトンを含む請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

工程 (c) が異なるシングルトンで繰り返される請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

標的 AAV が可変アミノ酸のコドンの部位特異的突然変異誘発法により改変されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

部位特異的突然変異誘発法がプラスミド骨格上で運ばれる標的 AAV について行われる請求項 11 に記載方法。

【請求項 13】

改変した AAV を AA 粒子にパッケージングする工程をさらに含んでなる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

AAV 粒子が標的 AAV に比べて上昇したパッケージング効率を有する請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

AAV 粒子が標的 AAV に比べて上昇した形質導入効率を有する請求項 13 に記載の方法。

【請求項 16】

AAV 粒子が標的 AAV に比べて上昇した遺伝子導入効率を有する請求項 13 に記載の方法。

【請求項 17】

請求項 1 に記載の方法に従い改変されている AAV キャプシドを含んでなるウイルスベクター。

【請求項 18】

天然ではリシンであるアミノ酸残基 531 位にグルタミン酸を有することにより修飾されている配列番号 29 のアミノ酸配列を有する AAV 6.1 ;

天然ではフェニルアラニンであるアミノ酸残基 129 位にロイシンを有することにより修飾されている配列番号 29 のアミノ酸配列を有する AAV 6.2 ;

天然ではフェニルアラニンであるアミノ酸残基 129 位にリシンを、かつ、天然ではロイシンであるアミノ酸残基 531 位にグルタミン酸を有することにより修飾されている配列番号 29 のアミノ酸配列を有する AAV 6.1.2 ;

天然ではアスパラギン酸であるアミノ酸残基 531 位にグルタミン酸を有するように修飾されている配列番号 41 のアミノ酸配列を有する r h . 8 R ;

天然ではリシンであるアミノ酸残基 217 位にグルタミン酸を有するように修飾されている配列番号 44 のアミノ酸配列を有する r h . 48 . 1 ;

天然ではセリンであるアミノ酸残基 304 位にアスパラギンを有するように修飾されている配列番号 44 のアミノ酸配列を有する r h . 48 . 2 ;

天然ではリシンであるアミノ酸残基 217 位にグルタミン酸を、かつ、天然ではセリンであるアミノ酸残基 304 位にアスパラギンを有するように修飾されている配列番号 44 のアミノ酸配列を有する r h . 48 . 1 . 2 ;

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 137 位にリシンを有するように修飾されている配列番号 45 のアミノ酸配列を有する h u . 44 R 1 ;

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 137 位にリシンを、かつ、天然ではプロリノンであるアミノ酸 446 位にロイシンを有するように修飾されている配列番号 45 のアミノ酸配列を有する h u . 44 R 2 ;

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 137 位にリシンを、かつ、天然ではプロリノンであるアミノ酸 446 位にロイシンを、かつ、天然ではグリシンであるアミノ酸 609 位にアスパラギン酸を有するように修飾されている配列番号 45 のアミノ酸配列を有する h u . 44 R 3 ;

天然ではグリシンであるアミノ酸 396 位にグルタミン酸を有するように修飾されている配列番号 42 のアミノ酸配列を有する h u . 29 R ;

天然ではグリシンであるアミノ酸残基 277 位にセリンを含むように修飾された配列番号 50 のアミノ酸配列を有する h u . 48 R 1 ;

天然ではグリシンであるアミノ酸残基 277 位にセリンを含み、かつ、天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 322 位にリシンを含むように修飾された配列番号 50 のアミノ酸配列を有する h u . 48 R 2 ;

天然ではグリシンであるアミノ酸残基 277 位にセリンを含み、かつ、天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 322 位にリシンを含み、かつ、天然ではセリンであるアミノ酸残基 552 位にアスパラギンを含むように修飾された配列番号 50 のアミノ酸配列を有する h u . 48 R 3 ;

からなる群から選択される修飾されたアデノ随伴キャップシドを有するウイルスベクター。

【請求項 19】

遺伝子産物を宿主細胞に送達するための薬剤の調製における請求項 17 または 18 に記載のウイルスベクターの使用。

【請求項 20】

配列番号 1 のアミノ酸配列を有する r h 20 ;

配列番号 2 のアミノ酸配列を有する r h 32 / 33 ;

配列番号 3 のアミノ酸配列を有する r h 39 ;

配列番号 4 のアミノ酸配列を有する r h 46 ;

配列番号 5 のアミノ酸配列を有する r h 73 ;

配列番号 6 のアミノ酸配列を有する r h 74 ;

天然ではバリンであるアミノ酸残基 404 位にメチオニンを有することにより修飾された配列番号 49 のアミノ酸配列を有する r h 54 ;

天然ではリシンであるアミノ酸残基 531 位にグルタミン酸を有することにより修飾された配列番号 29 のアミノ酸配列を有する A A V 6 . 1 ;

天然ではフェニルアラニンであるアミノ酸残基 129 位にロイシンを有することにより修飾された配列番号 29 のアミノ酸配列を有する A A V 6 . 2 ;

天然ではフェニルアラニンであるアミノ酸残基 129 位にリシンを、かつ、天然ではロイシンであるアミノ酸残基 531 位にグルタミン酸を有することにより修飾された配列番号 29 のアミノ酸配列を有する A A V 6 . 1 . 2 ;

天然ではアスパラギン酸であるアミノ酸残基 531 位にグルタミン酸を有するように修飾されている配列番号 41 のアミノ酸配列を有する r h . 8 R ;

天然ではリシンであるアミノ酸残基 217 位にグルタミン酸を有するように修飾されて

いる配列番号44のアミノ酸配列を有するr h . 48 . 1；

天然ではセリンであるアミノ酸残基304位にアスパラギンを有するように修飾されたいる配列番号44のアミノ酸配列を有するr h . 48 . 2；

天然ではリシンであるアミノ酸残基217位にグルタミン酸を、かつ、天然ではセリンであるアミノ酸残基304位にアスパラギンを有するように修飾されたいる配列番号44のアミノ酸配列を有するr h . 48 . 1 . 2；

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基137位にリシンを有するように修飾されたいる配列番号45のアミノ酸配列を有するh u . 44 R 1；

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基137位にリシンを、かつ、天然ではプロリնであるアミノ酸残基446位にロイシンを有するように修飾されたいる配列番号45のアミノ酸配列を有するh u . 44 R 2；

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基137位にリシンを、かつ、天然ではプロリンであるアミノ酸446位にロイシンを、かつ、天然ではグリシンであるアミノ酸609位にアスパラギン酸を有するように修飾されたいる配列番号45のアミノ酸配列を有するh u . 44 R 3；

天然ではグリシンであるアミノ酸396位にグルタミン酸を有するように修飾されたいる配列番号42のアミノ酸配列を有するh u . 29 R；

天然ではグリシンであるアミノ酸残基277位にセリンを含むように修飾された配列番号50のアミノ酸配列を有するh u . 48 R 1；

天然ではグリシンであるアミノ酸残基277位にセリンを含み、かつ、天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基322位にリシンを含むように修飾された配列番号50のアミノ酸配列を有するh u . 48 R 2；および

天然ではグリシンであるアミノ酸残基277位にセリンを含み、かつ、天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基322位にリシンを含み、かつ、天然ではセリンであるアミノ酸残基552位にアスパラギンを含むように修飾された配列番号50のアミノ酸配列を有するh u . 48 R 3；

からなる群から選択されるA A V配列をコードする核酸配列を含んでなる核酸分子。