

【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 A A V 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 A A V キャプシド配列をアライメントにおいて機能的 A A V キャプシド配列のライブラリーと比較する工程；

(b) 親の A A V キャ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 A A V キャ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 A A V キャ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 A A V キャ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 A A V キャプシド配列が、並置された v p 1 配列の完全長にわたり少なくとも 8 5 % 同一である少なくとも 4 つの A A V 配列を含んでなり、そして少なくとも 2 つの異なる A A V クレードに由来する A A V 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 A A V 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 A A V 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 A A V 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 A A V キャプシド配列のライブラリーが、少なくとも 3 ～ 1 0 0 の A A V 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 A A V キャプシド配列のライブラリーが、少なくとも 6 ～ 5 0 の A A V 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 1 2 の A A V 配列を含んでなる請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

親の A A V 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 A A V 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 1 0】

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 1 1】

標的 A A V 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 1 2】

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 A A V について行われる請求項 1 1 に記載方法。

【請求項 1 3】

改変した A A V を A A 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 1 4】

A A V 粒子が標的 A A V に比べて上昇したパッケージング効率を有する請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

A A V 粒子が標的 A A V に比べて上昇した形質導入効率を有する請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 6】

A A V 粒子が標的 A A V に比べて上昇した遺伝子導入効率を有する請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 7】

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

【請求項 1 8】

天然ではリシンであるアミノ酸残基 5 3 1 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 2 9 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 1 2 9 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 2 9 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 1 2 9 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 5 3 1 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 2 9 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 5 3 1 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 4 1 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 2 1 7 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 4 4 のアミノ酸配列を有する r h . 4 8 . 1 ;

天然ではセリンであるアミノ酸残基 3 0 4 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 4 4 のアミノ酸配列を有する r h . 4 8 . 2 ;

天然ではリシンであるアミノ酸残基 2 1 7 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 3 0 4 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 4 4 のアミノ酸配列を有する r h . 4 8 . 1 . 2 ;

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 1 3 7 位にリシンを有するように修飾されている配列番号 4 5 のアミノ酸配列を有する h u . 4 4 R 1 ;

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 1 3 7 位にリシンを、かつ、天然ではプロリンであるアミノ酸 4 4 6 位にロイシンを有するように修飾されている配列番号 4 5 のアミノ酸配列を有する h u . 4 4 R 2 ;

天然ではグルタミン酸であるアミノ酸残基 1 3 7 位にリシンを、かつ、天然ではプロリンであるアミノ酸 4 4 6 位にロイシンを、かつ、天然ではグリシンであるアミノ酸 6 0 9 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 4 5 のアミノ酸配列を有する h u . 4 4 R 3 ;

天然ではグリシンであるアミノ酸 3 9 6 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 4 2 のアミノ酸配列を有する h u . 2 9 R ;

天然ではグリシンであるアミノ酸残基 2 7 7 位にセリンを含むように修飾された配列番号 5 0 のアミノ酸配列を有する h u . 4 8 R 1 ;

天然ではグリシンであるアミノ酸残基 2 7 7 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 3 2 2 位にリシンを含むように修飾された配列番号 5 0 のアミノ酸配列を有する h u . 4 8 R 2 ;

天然ではグリシンであるアミノ酸残基 2 7 7 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 3 2 2 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 5 5 2 位にアスパラギンを含むように修飾された配列番号 5 0 のアミノ酸配列を有する h u . 4 8 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プシドを有するウイルスベクター。

【請求項 1 9】

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 1 7 または 1 8 に記載のウイルスベクターの使用。

【請求項 2 0】

配列番号 1 のアミノ酸配列を有する r h 2 0 ;

配列番号 2 のアミノ酸配列を有する r h 3 2 / 3 3 ;

配列番号 3 のアミノ酸配列を有する r h 3 9 ;

配列番号 4 のアミノ酸配列を有する r h 4 6 ;

配列番号 5 のアミノ酸配列を有する r h 7 3 ;

配列番号 6 のアミノ酸配列を有する r h 7 4 ;

天然ではバリンであるアミノ酸残基 4 0 4 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 4 9 のアミノ酸配列を有する r h 5 4 ;

天然ではリシンであるアミノ酸残基 5 3 1 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 2 9 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 1 2 9 位にロイシンを有することにより修飾された配列番号 2 9 のアミノ酸配列を有するアミノ酸を有する 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 1 2 9 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 5 3 1 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 2 9 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 5 3 1 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 4 1 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 2 1 7 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、天然ではプロリン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 ; 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。