

【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】令和 3 年 12 月 23 日 (2021.12.23)

【公表番号】特表 2021-502813 (P2021-502813A)

【公表日】令和 3 年 2 月 4 日 (2021.2.4)

【年通号数】公開・登録公報 2021-005

【出願番号】特願 2020-526394 (P2020-526394)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/86 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 47/46 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

【F I】

C 1 2 N 15/86 Z N A Z

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 P 27/02

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 47/46

A 6 1 K 48/00

C 1 2 N 5/071

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 11 月 9 日 (2021.11.9)

【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】

霊長類の網膜色素上皮の細胞中で外因性遺伝子を発現させる方法であって、配列番号 1 の核酸配列を含み、若しくはそれからなり、又は少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の前記配列と少なくとも 80% の全体同一性を有する核酸配列を含む単離核酸分子を、前記霊長類の前記網膜色素上皮の細胞に送達するステップを含み、前記単離核酸分子は、霊長類の網膜色素上皮の細胞中の外因性遺伝子の発現を、前記外因性遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合にドライブするのに効果的である、方法。

【請求項 2】

少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 80% の全体同一性を有する核酸配列が、配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 95% の全体同一性を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 80% の全体同一性を有する核酸配列が、配列番号 1 の核酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記単離核酸分子が、外因性遺伝子に作動可能に結合している、請求項 1 ～ 3 のいずれ

か 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記単離核酸分子が、最小プロモーターをさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記最小プロモーターが、配列番号 2 の核酸配列を含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記単離核酸分子が、発現カセットの一部である、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記発現カセットが、ベクターの一部である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記ベクターが、ウイルスベクターである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記ベクターが、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

霊長類の網膜色素上皮の細胞中で特異的に外因性遺伝子を発現させるための単離核酸分子の使用であって、前記単離核酸分子が、配列番号 1 の核酸配列を含み、若しくはそれらなり、又は少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の前記配列と少なくとも 80 % の全体同一性を有する核酸配列を含み、前記単離核酸分子は、霊長類の網膜色素上皮の細胞中の外因性遺伝子の発現を、前記外因性遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合にドライブするのに効果的である、使用。

【請求項 12】

少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 80 % の全体同一性を有する核酸配列が、配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 95 % の全体同一性を有する、請求項 11 に記載の使用。

【請求項 13】

少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 80 % の全体同一性を有する核酸配列が、配列番号 1 の核酸配列を含む、請求項 11 に記載の使用。

【請求項 14】

前記単離核酸分子が、外因性遺伝子に作動可能に結合している、請求項 11 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 15】

前記単離核酸分子が、最小プロモーターをさらに含む、請求項 11 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 16】

前記最小プロモーターが、配列番号 2 の核酸配列を含む、請求項 15 に記載の使用。

【請求項 17】

前記単離核酸分子が、発現カセットの一部である、請求項 11 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 18】

前記発現カセットが、ベクターの一部である、請求項 17 に記載の使用。

【請求項 19】

前記ベクターが、ウイルスベクターである、請求項 18 に記載の使用。

【請求項 20】

前記ベクターが、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 18 に記載の使用。

【請求項 21】

網膜色素上皮と関連する疾患の治療における使用のための医薬組成物であって、単離核

酸分子を含み、前記単離核酸分子が、配列番号 1 の核酸配列を含み、若しくはそれからなり、又は少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の前記配列と少なくとも 80 % の全体同一性を有する核酸配列を含み、前記単離核酸分子が、霊長類の網膜色素上皮の細胞中の外因性遺伝子の発現を、前記外因性遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合にドライブするのに効果的である、医薬組成物。

【請求項 22】

網膜色素上皮と関連する前記疾患は、加齢黄斑変性症、網膜色素変性症、糖尿病性網膜症及び網膜色素上皮肥大症からなる群から選択される、請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 80 % の全体同一性を有する核酸配列が、配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 95 % の全体同一性を有する、請求項 21 または 22 に記載の医薬組成物。

【請求項 24】

少なくとも 400 塩基対であり、かつ配列番号 1 の核酸配列と少なくとも 80 % の全体同一性を有する核酸配列が、配列番号 1 の核酸配列を含む、請求項 21 または 22 に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

前記単離核酸分子が、外因性遺伝子に作動可能に結合している、請求項 21 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前記単離核酸分子が、最小プロモーター配列をさらに含む、請求項 21 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

前記最小プロモーター配列が、配列番号 2 の核酸配列を含む、請求項 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

前記単離核酸分子が、発現カセットの一部である、請求項 21 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

前記発現カセットが、ベクターの一部である、請求項 28 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

前記ベクターが、ウイルスベクターである、請求項 29 に記載の医薬組成物。

【請求項 31】

前記ベクターが、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 29 に記載の医薬組成物。

【請求項 32】

前記外因性遺伝子が、チャンネルロドプシンまたはハロロドプシンをコードする、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法、請求項 11 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の使用、または請求項 21 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0096

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0096】

ウイルス形質移入及び組織調製

AAV 投与のため、麻酔した動物の眼球をレンズに近い強膜中で鋭利な 30 ゲージ針により穿刺した。2 マイクロ L の AAV 粒子懸濁液を Hamilton シリンジにより網膜下注射した。3 週間後、単離網膜を PBS 中 4 % の PFA 中で 30 分間固定し、次いで洗

浄ステップをPBS中で4 において行った。全網膜をPBS中10%の正常ロバ血清(NDS)、1%のBSA、0.5%のTriton X-100により室温において1時間処理した。PBS中3%のNDS、1%のBSA、0.5%のTriton X-100中のモノクローナルラット抗GFP Ab (Molecular Probes Inc.; 1:500) 及びポリクローナルヤギ抗ChAT (Millipore: 1:200) による処理を、室温において5日間実施した。二次ロバ抗ラットAlexa Fluor-488 Ab (Molecular Probes Inc.; 1:200)、抗ヤギAlexa Fluor-633及びヘキストによる処理を2時間行った。切片を洗浄し、ProLong Gold退色防止試薬(Molecular Probes Inc.) によりスライドガラス上にマウントし、Zeiss LSM 700 Axio Imager Z2レーザー走査型共焦点顕微鏡(Carl Zeiss Inc.) を使用して撮影した。

以下の態様を包含し得る。

[ 1 ] 霊長類の網膜色素上皮の細胞中で特異的に外因性遺伝子を発現させる方法であって、配列番号1の核酸配列を含み、若しくはそれからなり、又は配列番号1の前記配列と少なくとも80%の全体同一性を有する少なくとも400bpの核酸配列からなる単離核酸分子を、前記霊長類の前記網膜色素上皮の細胞に送達するステップを含み、前記単離核酸分子は、霊長類の網膜色素上皮の細胞中の外因性遺伝子の発現を、前記外因性遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合に特異的にもたらず方法。

[ 2 ] 前記単離核酸分子が、最小プロモーター、例えば、配列番号2の最小プロモーターをさらに含む、上記[ 1 ]に記載の方法。

[ 3 ] 前記単離核酸分子が、発現カセットの一部である、上記[ 1 ]又は[ 2 ]に記載の方法。

[ 4 ] 前記発現カセットが、ベクターの一部である、上記[ 3 ]に記載の方法。

[ 5 ] 前記ベクターが、ウイルスベクターである、上記[ 4 ]に記載の方法。

[ 6 ] 霊長類の網膜色素上皮の細胞中で特異的に外因性遺伝子を発現させるための、配列番号1の核酸配列を含み、若しくはそれからなり、又は配列番号1の前記配列と少なくとも80%の全体同一性を有する少なくとも400bpの核酸配列からなる単離核酸分子の使用であって、前記単離核酸分子は、霊長類の網膜色素上皮の細胞中の外因性遺伝子の発現を、前記外因性遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合に特異的にもたらず使用。

[ 7 ] 前記単離核酸分子が、最小プロモーター、例えば、配列番号2の最小プロモーターをさらに含む、上記[ 6 ]に記載の使用。

[ 8 ] 前記単離核酸分子が、発現カセットの一部である、上記[ 6 ]又は[ 7 ]に記載の使用。

[ 9 ] 前記発現カセットが、ベクターの一部である、上記[ 8 ]に記載の使用。

[ 10 ] 前記ベクターが、ウイルスベクターである、上記[ 9 ]に記載の使用。

[ 11 ] 網膜色素上皮と関連する疾患の治療における使用のための、配列番号1の核酸配列を含み、若しくはそれからなり、又は配列番号1の前記配列と少なくとも80%の全体同一性を有する少なくとも400bpの核酸配列からなる単離核酸分子であって、霊長類の網膜色素上皮の細胞中の外因性遺伝子の発現を、前記外因性遺伝子をコードする核酸配列が前記単離核酸分子に作動可能に結合している場合に特異的にもたらず単離核酸分子。

[ 12 ] 網膜色素上皮と関連する前記疾患は、加齢黄斑変性症、網膜色素変性症、糖尿病性網膜症及び網膜色素上皮肥大症からなる群から選択される、上記[ 11 ]に記載の使用のための単離核酸分子。