

【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 12 N	15/86	(2006.01)
A 61 K	31/7088	(2006.01)
A 61 P	27/02	(2006.01)
A 61 K	35/76	(2015.01)
A 61 K	47/46	(2006.01)
A 61 K	48/00	(2006.01)
C 12 N	5/071	(2010.01)

【F I】

C 12 N	15/86	Z N A Z
A 61 K	31/7088	
A 61 P	27/02	
A 61 K	35/76	
A 61 K	47/46	
A 61 K	48/00	
C 12 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】

靈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、前記靈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、靈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、発現力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】

前記発現力セットが、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】

靈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、前記単離核酸分子は、靈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、発現力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】

前記発現力セットが、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、靈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、発現力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】

前記発現力セットが、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] 靈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つて、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 400 bp の核酸配列からなる単離核酸分子を、前記靈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、靈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す方法。

[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] 靈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 400 bp の核酸配列からなる単離核酸分子の使用であつて、前記単離核酸分子は、靈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す使用。

[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 400 bp の核酸配列からなる単離核酸分子であつて、靈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す単離核酸分子。

[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。