

【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 5 年 7 月 7 日(2023.7.7)

【国際公開番号】WO2021/003149
【公表番号】特表 2022-538886(P2022-538886A)
【公表日】令和 4 年 9 月 6 日(2022.9.6)
【年通号数】公開公報(特許)2022-164
【出願番号】特願 2021-577915(P2021-577915)
【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/13(2006.01)
A 0 1 K 67/027(2006.01)
C 1 2 N 5/10(2006.01)
C 1 2 N 15/57(2006.01)
C 1 2 N 5/0735(2010.01)
C 1 2 N 5/073(2010.01)
C 1 2 N 5/0781(2010.01)
C 1 2 N 5/20(2006.01)
C 0 7 K 16/00(2006.01)

【F I】

20

C 1 2 N 15/13 Z N A
A 0 1 K 67/027
C 1 2 N 5/10
C 1 2 N 15/57
C 1 2 N 5/0735
C 1 2 N 5/073
C 1 2 N 5/0781
C 1 2 N 5/20
C 0 7 K 16/00

30

【手続補正書】
【提出日】令和 5 年 6 月 29 日(2023.6.29)
【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】

イヌ免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子セグメントを含む操作された部分的にイヌの免疫グロブリン軽鎖座位を含むゲノムを含む、トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞であって、ここで、操作された免疫グロブリン座位がイヌ可変ドメインを含む免疫グロブリンを発現でき、トランスジェニック齧歯類が 軽鎖を含む免疫グロブリンより 軽鎖を含む免疫グロブリンを多く産生するまたは産生する可能性が高い、トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

40

【請求項 2】

トランスジェニック齧歯類が少なくとも約 25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%または 95%および最大約 100% 軽鎖を含む免疫グロブリンを産生する、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類。

50

【請求項 3】

操作された免疫グロブリン座位がイヌ V 遺伝子セグメントコード配列および J 遺伝子セグメントコード配列ならびに齧歯類免疫グロブリン軽鎖可変領域遺伝子座位からの齧歯類非コード制御配列または足場配列を含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 4】

操作された免疫グロブリン座位が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋されたイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列を含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 5】

部分的にイヌの免疫グロブリン座位が 1 以上のイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列ならびに 1 以上の齧歯類免疫グロブリン 定常領域コード配列を含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 6】

操作された免疫グロブリン座位が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋されたイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列を含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 7】

操作された免疫グロブリン可変領域座位が 1 以上のイヌ V 遺伝子セグメントコード配列および 1 以上の J - C 単位を含み、ここで、各 J - C 単位がイヌ J 遺伝子セグメントコード配列および齧歯類 定常領域コード配列を含み、齧歯類 定常領域コード配列が齧歯類 C₁、C₂、C₃ コード配列またはこれらの組み合わせを含む、請求項 6 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 8】

1 以上の J - C 単位の上流に位置する 1 以上のイヌ V 遺伝子セグメントコード配列を含み、ここで、各 J - C 単位がイヌ J 遺伝子セグメントコード配列および齧歯類 C コード配列および齧歯類 C 非コード配列を含む、請求項 7 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 9】

操作された免疫グロブリン座位が齧歯類免疫グロブリン 座位を含み、ここで、1 以上の齧歯類 V 遺伝子セグメントコード配列および 1 以上の齧歯類 J 遺伝子セグメントコード配列が欠失され、それぞれ 1 以上のイヌ V 遺伝子セグメントコード配列および 1 以上の J 遺伝子セグメントコード配列で置き換えられており、座位における齧歯類 C コード配列が齧歯類 C₁、C₂、C₃ コード配列またはこれらの組み合わせで置き換えられている、請求項 6 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 10】

内因性齧歯類免疫グロブリン 軽鎖座位が、

- 全内因性齧歯類 V 遺伝子セグメントコード配列の欠失または変異；
- 全内因性齧歯類 J 遺伝子セグメントコード配列の欠失または変異；
- 全内因性齧歯類 C コード配列の欠失または変異；
- 齧歯類 C コード配列の 5' スプライス位置および隣接ポリピリミジントラクトの欠失または変異；
- 内因性イントロン エンハンサー (i E) および 3' エンハンサー配列の欠失、変異または破壊

の 1 以上により、欠失、不活性化または非機能的とされる、請求項 1 に記載のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 11】

内因性齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変ドメインの発現が

- 全内因性齧歯類 V 遺伝子セグメントの欠失または変異；
- 全内因性齧歯類 J 遺伝子セグメントの欠失または変異；および

c. 全内因性齧歯類 C コード配列の欠失または変異

の 1 以上により抑制または不活性化される、請求項 1 に記載のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 1 2】

トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞のゲノムがイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列を含む操作された免疫グロブリン座位を含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 1 3】

イヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖座位に挿入され、かつイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列が、齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋される、請求項 1 2 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

10

【請求項 1 4】

トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞のゲノムが齧歯類免疫グロブリン 軽鎖座位に挿入されたイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列を含む操作された免疫グロブリン座位を含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 1 5】

イヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋される、請求項 1 4 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

20

【請求項 1 6】

操作されたイヌ免疫グロブリン軽鎖座位が齧歯類イントロン エンハンサー (i E) および 3 ' E 制御配列を含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 1 7】

トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞がイヌ免疫グロブリン重鎖可変領域遺伝子コード配列および齧歯類免疫グロブリン重鎖座位の非コード制御配列または足場配列を含む操作された部分的にイヌの免疫グロブリン重鎖座位を含み、操作されたイヌ免疫グロブリン重鎖座位がイヌ V_H、D および J_H 遺伝子セグメントを含み、各イヌ V_H、D または J_H コード遺伝子セグメントが齧歯類免疫グロブリン重鎖座位の非コード制御配列または足場配列に包埋された V_H、D または J_H コード配列を含み、重鎖足場配列に機能的 A D A M 6 A 遺伝子、A D A M 6 B 遺伝子またはこれらの組み合わせが散在する、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

30

【請求項 1 8】

齧歯類制御または足場配列がエンハンサー、プロモーター、スプライス部位、イントロン、組み換えシグナル配列またはこれらの組み合わせを含む、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 1 9】

内因性齧歯類免疫グロブリン座位が欠失され、操作された部分的にイヌの免疫グロブリン座位で置き換えられている、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 2 0】

齧歯類がマウスまたはラットである、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

40

【請求項 2 1】

齧歯類細胞がマウスもしくはラット胚幹 (E S) 細胞または初期胚のマウスもしくはラット細胞である、請求項 1 のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

【請求項 2 2】

請求項 1 ~ 2 1 の何れかのトランスジェニック齧歯類から得た B リンパ球系譜の細胞であって、ここで、操作された免疫グロブリン座位がイヌ可変領域および齧歯類免疫グロブリン定常領域を含むキメラ免疫グロブリン重鎖または軽鎖を発現する、B リンパ球系譜の細胞。

50

【請求項 2 3】

請求項 2 2 の B リンパ球系譜の細胞に由来する、ハイブリドーマ細胞または不死化細胞株。

【請求項 2 4】

請求項 2 2 の細胞により産生された、抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 2 5】

請求項 2 2 の細胞により産生された免疫グロブリン由来の V_H 、 D または J_H または V_L または J_L 遺伝子セグメントコード配列の核酸配列。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 1 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 1 5】

引用による取り込み

特許、特許出願、論文、教科書などを含む、ここで引用した全ての参考文献およびそれらに引用されている文献は、既出でない限り、全ての目的でそれら全体として、引用により本明細書に包含させる。

本開示は、例えば、以下に関する。

[1]

イヌ免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子セグメントを含むゲノムを含む操作された部分的にイヌの免疫グロブリン軽鎖座位を含む、トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞であって、ここで、操作された免疫グロブリン座位がイヌ可変ドメインを含む免疫グロブリンを発現でき、トランスジェニック齧歯類が 軽鎖を含む免疫グロブリンより 軽鎖を含む免疫グロブリンを多く産生するまたは産生する可能性が高い、トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2]

軽鎖産生細胞より多くの 軽鎖産生細胞が該齧歯類から単離される可能性が高い、前記 [1] のトランスジェニック齧歯類。

[3]

トランスジェニック齧歯類が少なくとも約 2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 % または 9 5 % および最大約 1 0 0 % 軽鎖を含む免疫グロブリンを産生する、前記 [1] のトランスジェニック齧歯類。

[4]

トランスジェニック齧歯類細胞またはその子孫が 軽鎖を含む免疫グロブリンを産生する確率が少なくとも 2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 % または 9 5 % および最大約 1 0 0 % である、前記 [1] のトランスジェニック齧歯類細胞。

[5]

操作された免疫グロブリン座位がイヌ V 遺伝子セグメントコード配列および J 遺伝子セグメントコード配列ならびに齧歯類免疫グロブリン軽鎖可変領域遺伝子座位からの齧歯類非コード制御配列または足場配列を含む、前記 [1] ~ [4] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[6]

操作された免疫グロブリン座位が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋されたイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列を含む、前記 [1] ~ [5] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[7]

10

20

30

40

50

部分的にイヌの免疫グロブリン座位が 1 以上のイヌ V₁ および J₁ 遺伝子セグメントコード配列ならびに 1 以上の齧歯類免疫グロブリン 定常領域コード配列を含む、前記 [1] ~ [6] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[8]

操作された免疫グロブリン座位が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋されたイヌ V₁ および J₁ 遺伝子セグメントコード配列を含む、前記 [1] ~ [4] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[9]

操作された免疫グロブリン可変領域座位が 1 以上のイヌ V₁ 遺伝子セグメントコード配列および 1 以上の J - C 単位を含み、ここで、各 J - C 単位がイヌ J₁ 遺伝子セグメントコード配列および齧歯類 定常領域コード配列を含む、前記 [8] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[10]

齧歯類 定常領域コード配列が齧歯類 C₁、C₂、C₃ コード配列またはこれらの組み合わせを含む、前記 [9] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[11]

1 以上の J - C 単位の上流に位置する 1 以上のイヌ V₁ 遺伝子セグメントコード配列を含み、ここで、各 J - C 単位がイヌ J₁ 遺伝子セグメントコード配列および齧歯類 C₁ コード配列を含む、前記 [9] または [10] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[12]

1 以上の J - C 単位の上流に位置する 1 以上のイヌ V₁ 遺伝子セグメントコード配列を含み、ここで、各 J - C 単位がイヌ J₁ 遺伝子セグメントコード配列および齧歯類 C₁ コード配列および齧歯類 C₁ 非コード配列を含む、前記 [9] または [10] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[13]

J - C 単位が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖座位の非コード制御配列または足場配列に包埋されたイヌ J₁ 遺伝子セグメントコード配列および齧歯類 定常領域コード配列を含む、前記 [9] ~ [12] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[14]

操作された免疫グロブリン座位が齧歯類免疫グロブリン 座位を含み、ここで、1 以上の齧歯類 V₁ 遺伝子セグメントコード配列および 1 以上の齧歯類 J₁ 遺伝子セグメントコード配列が欠失され、それぞれ 1 以上のイヌ V₁ 遺伝子セグメントコード配列および 1 以上の J₁ 遺伝子セグメントコード配列で置き換えられており、座位における齧歯類 C₁ コード配列が齧歯類 C₁、C₂、C₃ コード配列またはこれらの組み合わせで置き換えられている、前記 [8] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[15]

操作された免疫グロブリン座位が 1 以上の齧歯類 C₁ コード配列の上流である 1 以上のイヌ J₁ 遺伝子セグメントコード配列の上流に 1 以上のイヌ V₁ 遺伝子セグメントコード配列を含む、前記 [14] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[16]

内因性齧歯類免疫グロブリン 軽鎖座位が、

a. 全内因性齧歯類 V₁ 遺伝子セグメントコード配列の欠失または変異；

b. 全内因性齧歯類 J₁ 遺伝子セグメントコード配列の欠失または変異；

c. 全内因性齧歯類 C₁ コード配列の欠失または変異；

d. 齧歯類 C₁ コード配列の 5' スプライス位置および隣接ポリピリミジントラクトの欠失または変異；

e. 内因性イントロン エンハンサー (i E₁) および 3' エンハンサー配列の欠失、変異または破壊

10

20

30

40

50

の 1 以上により、欠失、不活性化または非機能的とされる、前記 [1] ~ [1 5] の何れかに記載のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[1 7]

内因性齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変ドメインの発現が

a. 全内因性齧歯類 V 遺伝子セグメントの欠失または変異；

b. 全内因性齧歯類 J 遺伝子セグメントの欠失または変異；および

c. 全内因性齧歯類 C コード配列の欠失または変異

の 1 以上により抑制または不活性化される、前記 [1] ~ [1 6] の何れかに記載のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[1 8]

操作された免疫グロブリン座位がイヌ 可変ドメインおよび齧歯類 定常ドメインを含む免疫グロブリン軽鎖を発現する、前記 [1] ~ [1 7] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[1 9]

トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞のゲノムがイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列を含む操作された免疫グロブリン座位を含む、前記 [1] ~ [4] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 0]

イヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖座位に挿入される、前記 [1 9] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 1]

イヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列が、齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋される、前記 [1 9] または [2 0] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 2]

イヌ V および J コード配列が、齧歯類免疫グロブリン 軽鎖定常領域コード配列の上流に挿入される、前記 [1 9] ~ [2 1] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 3]

トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞のゲノムが齧歯類免疫グロブリン 軽鎖座位に挿入されたイヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列を含む操作された免疫グロブリン座位を含む、前記 [1] ~ [4] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 4]

イヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列が齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変領域遺伝子座位の齧歯類非コード制御配列または足場配列に包埋される、前記 [2 3] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 5]

イヌ V および J 遺伝子セグメントコード配列の下流に挿入された齧歯類免疫グロブリン 軽鎖定常領域コード配列を含む、前記 [2 3] または [2 4] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 6]

齧歯類免疫グロブリン 軽鎖定常領域が内因性齧歯類 C₂ コード配列の上流に挿入される、前記 [2 5] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 7]

内因性齧歯類免疫グロブリン 軽鎖可変ドメインの発現が

a. 全内因性齧歯類 V 遺伝子セグメントコード配列の欠失または変異；

b. 全内因性齧歯類 J 遺伝子セグメントコード配列の欠失または変異；および

c. 全内因性 C コード配列またはスプライス部位の欠失または変異

の 1 以上により抑制または不活性化される、前記 [2 3] ~ [2 6] の何れかのトランス

10

20

30

40

50

ジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 8]

操作されたイヌ免疫グロブリン軽鎖座位が齧歯類イントロン エンハンサー(i E)および 3' E 制御配列を含む、前記 [1] ~ [2 7] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[2 9]

トランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞がイヌ免疫グロブリン重鎖可変領域遺伝子コード配列および齧歯類免疫グロブリン重鎖座位の非コード制御配列または足場配列を含む操作された部分的にイヌの免疫グロブリン重鎖座位を含む、前記 [1] ~ [2 8] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

10

[3 0]

操作されたイヌ免疫グロブリン重鎖座位がイヌ V_H、D および J_H 遺伝子セグメントを含む、前記 [2 9] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[3 1]

各イヌ V_H、D または J_H コード遺伝子セグメントが齧歯類免疫グロブリン重鎖座位の非コード制御配列または足場配列に包埋された V_H、D または J_H コード配列を含む、前記 [3 0] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[3 2]

重鎖足場配列に機能的 A D A M 6 A 遺伝子、A D A M 6 B 遺伝子またはこれらの組み合わせが散在する、前記 [3 1] のトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

20

[3 3]

齧歯類制御または足場配列がエンハンサー、プロモーター、スプライス部位、イントロン、組み換えシグナル配列またはこれらの組み合わせを含む、前記 [1] ~ [3 2] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[3 4]

内因性齧歯類免疫グロブリン座位が欠失され、操作された部分的にイヌの免疫グロブリン座位で置き換えられている、前記 [1] ~ [3 3] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[3 5]

齧歯類がマウスまたはラットである、前記 [1] ~ [3 4] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

30

[3 6]

齧歯類細胞が胚幹(E S)細胞または初期胚の細胞である、前記 [1] ~ [3 5] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[3 7]

齧歯類細胞がマウスもしくはラット胚幹(E S)細胞または初期胚のマウスもしくはラット細胞である、前記 [1] ~ [3 6] の何れかのトランスジェニック齧歯類または齧歯類細胞。

[3 8]

前記 [1] ~ [3 7] の何れかのトランスジェニック齧歯類から得た B リンパ球系譜の細胞であって、ここで、操作された免疫グロブリン座位がイヌ可変領域および齧歯類免疫グロブリン定常領域を含むキメラ免疫グロブリン重鎖または軽鎖を発現する、B リンパ球系譜の細胞。

40

[3 9]

前記 [3 8] の B リンパ球系譜の細胞に由来する、ハイブリドーマ細胞または不死化細胞株。

[4 0]

前記 [3 8] または [3 9] の細胞により産生された、抗体またはその抗原結合部分。

[4 1]

前記 [3 8] または [3 9] の細胞により産生された免疫グロブリン由来の V_H、D ま

50

たは J_H または V_L または J_L 遺伝子セグメントコード配列の核酸配列。

10

20

30

40

50