

【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27年10月8日(2015.10.8)

【公開番号】特開2011-244818(P2011-244818A)

【公開日】平成23年12月8日(2011.12.8)

【年通号数】公開・登録公報2011-049

【出願番号】特願2011-127433(P2011-127433)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/02 Z N A

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 14/47

【誤訳訂正書】

【提出日】平成27年8月20日(2015.8.20)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞において遺伝子と選択された表現型との関連性を明らかにするインビトロ方法であって、該方法は、

(i) 内因性の第 1 の候補遺伝子を選択する工程、

(i i) 該第 1 の候補遺伝子の第 1 の標的部位に結合するように設計された第 1 のジンクフィンガータンパク質と調節ドメインとを含む第 1 の融合タンパク質、および第 2 の遺伝子の第 2 の標的部位に結合するように設計された第 2 のジンクフィンガータンパク質と調節ドメインとを含む第 2 の融合タンパク質を提供する工程、

(i i i) 該第 1 および第 2 の融合タンパク質を第 1 および第 2 の細胞にそれぞれ導入する工程であって、該第 1 および第 2 の細胞が該第 1 および第 2 の遺伝子を含む工程、

(i v) 該第 1 の融合タンパク質が該第 1 の候補遺伝子と接触する条件下で該第 1 の細胞を培養し、且つ該第 2 の融合タンパク質が該第 2 の遺伝子と接触する条件下で該第 2 の細胞を培養する工程であって、該第 2 の遺伝子は第 2 の候補遺伝子又は対照遺伝子であり、該第 1 および第 2 の融合タンパク質が、該第 1 および該第 2 の遺伝子の発現を調節する、工程、ならびに

(v) 選択された表現型について該第 1 および第 2 の細胞をアッセイする工程であって、第 1 の融合タンパク質を導入する前の第 1 の細胞と比較して又は第 2 の細胞と比較して、該第 1 の細胞における選択された表現型の変化が該第 1 の候補遺伝子と選択された表現型との間の関連を示す工程、を含む方法。

【請求項 2】

前記第 2 の遺伝子が、対照遺伝子である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 1 の候補遺伝子が、少なくとも 200 ヌクレオチド長の E S T によって部分的にコードされる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第 1 の候補遺伝子および前記第 2 の遺伝子の両方が、前記選択された表現型と関連する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記第 1 および第 2 の細胞が同一の細胞であり、該細胞が、前記第 1 および第 2 の遺伝子を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記第 1 および第 2 の遺伝子が、内因性遺伝子である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記第 1 および第 2 の遺伝子の発現が、少なくとも 50 % 抑制される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記第 1 および第 2 の遺伝子の発現が、少なくとも 150 % 活性化される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記融合タンパク質の発現が、外因性薬剤の投与によって誘導される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 1 及び第 2 の融合タンパク質が少なくとも 2 つの調節ドメインを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記調節ドメインが、転写調節レプレッサ、メチルトランスフェラーゼ、転写調節活性化剤、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ、およびヒストンデアセチラーゼからなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記第 1 および第 2 の融合タンパク質の各々が、プロモーターに作動可能に連結された融合タンパク質核酸を含む発現ベクターによってコードされ、該方法が、該発現ベクターを前記細胞に投与する第 1 の工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記融合タンパク質の発現が、小分子の制御下にある、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記第 1 の融合タンパク質の発現、および前記第 2 の融合タンパク質の発現が、異なる小分子の制御下にあり、該第 1 および第 2 の融合タンパク質が、同じ細胞において発現される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記第 1 および第 2 の融合タンパク質の両方が、遺伝子発現を抑制する調節ドメインを含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記発現ベクターが、ウイルスベクターである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 17】

前記発現ベクターが、レトロウイルス発現ベクター、アデノウイルス発現ベクター、または AAV 発現ベクターである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

少なくとも 1 つの前記プロモーターが、誘導性プロモーターである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 19】

前記細胞が、各融合タンパク質の 1.5×10^6 個未満のコピーを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】

前記標的部位が、前記候補遺伝子の転写開始部位の上流にある、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記標的部位が、前記候補遺伝子の転写開始部位に隣接している、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記標的部位が、前記候補遺伝子の転写開始部位の下流の RNA ポリメラーゼ停止部位に隣接している、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

細胞において遺伝子と選択された表現型との関連性を明らかにするインビトロ方法であって、該方法は、

- (i) 複数の内因性候補遺伝子を同定する工程、
 - (i i) 前記候補遺伝子の一つに存在する標的部位に結合するように設計されたジンクフィンガータンパク質と調節ドメインとを含む融合タンパク質を提供する工程、
 - (i i i) 該融合タンパク質を細胞に導入する工程、
 - (i v) 該融合タンパク質が結合するように設計された候補遺伝子と、該融合タンパク質が接触する条件下で該細胞を培養する工程であって、該融合タンパク質が該候補遺伝子の発現を調節する、工程、
 - (v) 該候補遺伝子の発現パターンを決定し、該融合タンパク質が接触させられた該候補遺伝子が選択された表現型と関連するか否かを決定する工程、ならびに
 - (v i) 各候補遺伝子について、工程 (i i) ~ (v) を繰り返す工程、
- を包含する、方法。

【請求項 2 4】

細胞において遺伝子と選択された表現型との関連性を明らかにするインビトロ方法であって、該方法は、

- (i) 内因性の第 1 の候補遺伝子を選択する工程、
- (i i) 該第 1 の候補遺伝子の第 1 の標的部位に結合するように設計された第 1 のジンクフィンガータンパク質と調節ドメインとを含む第 1 の融合タンパク質、および該第 1 の候補遺伝子の第 2 の標的部位に結合する第 2 のジンクフィンガータンパク質と調節ドメインとを含む第 2 の融合タンパク質を提供する工程、
- (i i i) 該第 1 のおよび第 2 の融合タンパク質を第 1 のおよび第 2 の細胞にそれぞれ導入する工程であって、該第 1 および第 2 の細胞が該第 1 の候補遺伝子を含む工程、
- (i v) 該第 1 の融合タンパク質が該第 1 の候補遺伝子と接触する条件下で該第 1 の細胞を培養し、且つ該第 2 の融合タンパク質が該第 1 の候補遺伝子と接触する条件下で第 2 の細胞を培養する工程であって、該第 1 および第 2 の融合タンパク質が、該第 1 の候補遺伝子の発現を調節する、工程、ならびに
- (v) 選択された表現型について該第 1 および第 2 の細胞をアッセイする工程であって、第 1 および第 2 の融合タンパク質を導入する前の第 1 および第 2 の細胞と比較して、該第 1 および第 2 の細胞における選択された表現型の変化が該第 1 の候補遺伝子と選択された表現型との間の関連を示す工程、を含む方法。

【請求項 2 5】

前記細胞が、動物細胞、植物細胞、細菌細胞、原生動物細胞、または真菌細胞からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記細胞が、哺乳動物細胞である、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記細胞が、ヒト細胞である、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記発現の調節が遺伝子発現の活性化である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 9】

細胞において遺伝子と選択された表現型との関連性を明らかにするインビトロ方法であって、該方法は、

- (i) 内因性の第 1 の候補遺伝子を選択する工程；
(i i) 該第 1 の候補遺伝子の第 1 の標的部位に結合するように設計された第 1 のジンクフィンガータンパク質と調節ドメインとを含む第 1 の融合タンパク質を提供する工程、
(i i i) 該第 1 の融合タンパク質を第 1 の細胞に導入する工程であって、該第 1 の細胞が該第 1 の遺伝子を含む工程、
(i v) 該第 1 の融合タンパク質が該第 1 の候補遺伝子と接触する条件下で該第 1 の細胞を培養する工程であって、該第 1 の融合タンパク質は、該第 1 の候補遺伝子の発現を調節する、工程、ならびに
(v) 選択された表現型についてアッセイする工程であって、第 1 の融合タンパク質を導入する前の第 1 の細胞と比較して、該第 1 の細胞における選択された表現型の変化が該第 1 の候補遺伝子と選択された表現型との間の関連を示す工程、を含む方法。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 2 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 2 5】

一実施形態において、第 1 の候補遺伝子は、少なくとも約 2 0 0 ヌクレオチド長の E S T によって部分的にコードされる。一実施形態において、第 1 の候補遺伝子および第 2 の遺伝子の両方は、選択された表現型に関連する。一実施形態において、第 2 の遺伝子は、対照遺伝子である。一実施形態において、第 1 および第 2 の細胞は同一の細胞であり、ここでこの細胞は第 1 および第 2 の候補遺伝子を含む。一実施形態において、第 1 および第 2 の候補遺伝子は内因性遺伝子である。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 4 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 4 5】

本明細書中で記載されるように、2 つのジンクフィンガータンパク質は、異なった標的遺伝子（例えば、候補遺伝子および対照遺伝子、または 2 つの候補遺伝子、または同じ遺伝子についての 2 つの異なった標的部位）を認識する細胞に投与される。必要に応じて、複数のジンクフィンガータンパク質が投与され得、そのタンパク質は、同じ遺伝子における 2 つ以上の異なった標的部位を認識する。2 つの候補遺伝子が調査される場合、第 1 および第 2 の遺伝子の両方は、表現型ごとに必要とされ得る。候補遺伝子は、内因性または外因性遺伝子であり得る。1 つの実施形態において、1 つ以上の候補遺伝子は、選択された表現型に関連する。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 4 9

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 4 9】

「候補遺伝子」とは、細胞、ウイルス、エピソーム、微生物、原生動物、真菌、動物、植物、葉緑体、またはミトコンドリアの遺伝子をいう。この用語はまた、微生物またはウイルス感染細胞において天然に存在する微生物またはウイルスゲノムの一部である微生物またはウイルス遺伝子をいう。この微生物またはウイルスゲノムは染色体外ゲノムであるか、または宿主染色体に導入され得る。この用語はまた、内因性または外因性遺伝子ならびに E S T として同定された細胞性遺伝子を包含する。しばしば、本発明の候補遺伝子は、生物学的機能が未知の遺伝子である。選り抜きのアッセイは、この遺伝子が、ジンクフィ

ンガータンパク質を有する候補遺伝子発現の調節の際に、選択された表現型に関連しているか否かを決定するために使用される。生物学的機能が公知の場合、代表的に候補遺伝子は、対照遺伝子として作用するか、または、1つ以上のさらなる遺伝子が、同じ表現型に関連しているか否かを決定するために使用されるか、または、この遺伝子が、特定の表現型において他の遺伝子と関連しているか否かを決定するために使用される。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0158

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0158】

遺伝子発現の調節および選択された表現型と候補遺伝子の関連は、本明細書中に記載されるインビトロアッセイまたはインビボアッセイの1つを使用して試験される。候補遺伝子を含む細胞または被験体動物は、ジンクフィンガータンパク質と接触され、そして対照遺伝子または第2の候補遺伝子と比較されて表現型調節の範囲を調べる。遺伝子発現の調節について、ジンクフィンガータンパク質は、必要に応じて200nM以下、より好ましくは100nM以下、より好ましくは50nM、最も好ましくは25nM以下のKdを有する。