

【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26年12月4日(2014.12.4)

【公表番号】特表2013-540445(P2013-540445A)

【公表日】平成25年11月7日(2013.11.7)

【年通号数】公開・登録公報2013-061

【出願番号】特願2013-534008(P2013-534008)

【国際特許分類】

C 1 2 N	1/21	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/74	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	1/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/04	(2006.01)
A 6 1 P	3/06	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	7/06	(2006.01)
A 6 1 P	7/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/10	(2006.01)
A 6 1 P	11/00	(2006.01)
A 6 1 P	13/02	(2006.01)
A 6 1 P	13/00	(2006.01)
A 6 1 P	13/12	(2006.01)
A 6 1 P	13/10	(2006.01)
A 6 1 P	19/10	(2006.01)
A 6 1 P	21/04	(2006.01)
A 6 1 P	27/02	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)
A 6 1 K	35/12	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	1/21	Z N A
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	35/74	A
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	7/06	

A 6 1 P 7/00  
A 6 1 P 9/10  
A 6 1 P 11/00  
A 6 1 P 13/02  
A 6 1 P 13/00  
A 6 1 P 13/12  
A 6 1 P 13/10  
A 6 1 P 19/10  
A 6 1 P 21/04  
A 6 1 P 27/02  
A 6 1 P 35/00  
A 6 1 P 37/02  
A 6 1 P 29/00  
A 6 1 P 43/00 1 0 5  
A 6 1 P 43/00 1 2 1  
A 6 1 K 31/7088  
A 6 1 K 35/12  
A 6 1 K 48/00  
C 1 2 N 15/00 A

**【手続補正書】**

**【提出日】**平成26年10月10日(2014.10.10)

**【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】**

プロモーター、および哺乳動物宿主の腸上皮細胞をグルコース応答性インスリン分泌細胞に再プログラミングすることができるシグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列を含む組換え細胞であって、ここで、

前記組換え細胞が乳酸桿菌属の細菌であり、かつ前記プロモーターおよび前記シグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列が、配列番号19を含むか；そして／あるいは

前記組換え細胞が大腸菌であり、かつ前記プロモーターおよび前記シグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列が、配列番号4または配列番号10を含む、組換え細胞。

**【請求項2】**

前記組換え細胞が乳酸桿菌属の細菌であり、かつ前記プロモーターおよび前記シグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列が、配列番号19を含む、請求項1に記載の組換え細胞。

**【請求項3】**

前記組換え細胞がエシェリキア属の細菌であり、かつ前記プロモーターおよび前記シグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列が、配列番号4または配列番号10を含む、請求項1に記載の組換え細胞。

**【請求項4】**

糖尿病を処置するための、請求項1に記載の組換え細胞を含む組成物。

**【請求項5】**

1型糖尿病、2型糖尿病またはメタボリックシンドロームから選択される疾患を処置す

るための、請求項 1 に記載の組換え細胞を含む組成物。

【請求項 6】

哺乳動物宿主において腸上皮細胞をグルコース応答性インスリン分泌細胞に分化させるための、請求項 1 に記載の組換え細胞を含む組成物。

【請求項 7】

前記組換え細胞の量が、前記宿主の体重 1 kgあたり少なくとも約  $10^4$  CFU であるように、前記組成物が投与される、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記組換え細胞の量が、1日あたり少なくとも約 5 g ~ 約 15 g または 1日あたり少なくとも約 50 mg ~ 約 150 mg であるように、前記組成物が投与される、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記組換え細胞が乳酸桿菌属の細菌であり、かつプロモーターおよびシグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列が、配列番号 19 を含む、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記組換え細胞がエシェリキア属の細菌であり、かつプロモーターおよびシグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列が、配列番号 4 または配列番号 10 を含み、そして前記シグナルタンパク質またはペプチドが、前記宿主の腸上皮細胞をグルコース応答性インスリン分泌細胞に再プログラミングすることができる、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 11】

前記宿主が高血糖性であり、前記組成物を前記高血糖性宿主に投与することにより外因性インスリンを前記宿主に治療的に投与する必要性が低下するか、または排除される、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 12】

プロモーターおよびシグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列を含む組換え細胞であって、ここで：

前記シグナルタンパク質またはペプチドが、宿主における標的核酸のシグナル依存性発現を調節し；

前記組換え細胞が腸内細菌または共生細菌に由来し；そして

前記シグナルタンパク質またはペプチドが、GLP-2、その断片、もしくはその類似体、またはそれらの組合せである、組換え細胞。

【請求項 13】

2型糖尿病またはメタボリックシンドロームを処置するための組成物であって、前記組成物は、プロモーター、および哺乳動物宿主の腸上皮細胞をグルコース応答性インスリン分泌細胞に再プログラミングすることができるシグナルタンパク質またはペプチドをコードするコード配列を含む組換え細胞を含み、ここで、

前記組換え細胞が腸内細菌または共生細菌に由来し；そして

前記哺乳動物宿主の腸上皮細胞をグルコース応答性インスリン分泌細胞に再プログラミングすることができる前記シグナルタンパク質またはペプチドが、GLP-1、GIP、PDX-1、1つまたは複数のその断片、その類似体、およびそれらの組合せからなる群より選択される、組成物。

【請求項 14】

前記シグナルタンパク質またはペプチドが、GLP-1、その生物学的に活性な断片またはその類似体である、請求項 13 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記シグナルタンパク質またはペプチドが、GLP-1-(1~37)、GLP-1-

(6~37)、GLP-1-(7~37)およびGLP-1-(7~36)NH<sub>2</sub>からなる群より選択される、請求項13に記載の組成物。

【請求項16】

前記プロモーターおよびシグナルタンパク質またはペプチドをコードする前記コード配列が、配列番号4、配列番号10および配列番号19からなる群より選択される配列を含む、請求項13に記載の組成物。

【請求項17】

前記組換え細胞が、エシェリキア属、シュードモナス属、バクテロイデス属、乳酸桿菌属、ラクトコッカス属、バチルス属、プロテウス属、ビフィドバクテリウム属、連鎖球菌属、ブドウ球菌属、およびコリネバクテリウム属からなる群より選択される細菌である、請求項13に記載の組成物。

【請求項18】

前記プロモーターが、SLPプロモーター、flicプロモーター、リポタンパク質(LPP)プロモーターおよびユビキチン特異的ペプチダーゼ45(USP45)プロモーターからなる群より選択される、請求項13に記載の組成物。

【請求項19】

前記シグナルタンパク質またはペプチドが、分泌タグをさらに含む、請求項13に記載の組成物。

【請求項20】

前記分泌タグが、USP45-LEEISS分泌タグ、flic分泌タグおよびアルファ溶血素(HlyA)分泌タグからなる群より選択される、請求項19に記載の組成物。

【請求項21】

前記組換え細胞が、融合タンパク質として前記シグナルタンパク質またはペプチドを発現し、前記融合タンパク質は、シグナルタンパク質またはペプチド配列および細胞透過性ペプチド配列を含む、請求項13に記載の組成物。

【請求項22】

前記組換え細胞が乳酸桿菌属の細菌であり、かつ前記プロモーターおよび前記シグナルタンパク質またはペプチドをコードする前記コード配列が、配列番号19を含む、請求項13に記載の組成物。

【請求項23】

前記組換え細胞がエシェリキア属の細菌であり、かつ前記プロモーターおよび前記シグナルタンパク質またはペプチドをコードする前記コード配列が、配列番号4または配列番号10を含む、請求項13に記載の組成物。

【請求項24】

前記組換え細胞の量が、前記宿主の体重1kgあたり少なくとも約10<sup>4</sup>CFUであるように、前記組成物が投与される、請求項13に記載の組成物。

【請求項25】

前記組換え細胞の量が、1日あたり少なくとも約5g~約15gまたは1日あたり少なくとも約50mg~約150mgであるように、前記組成物が投与される、請求項13に記載の組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0074

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0074】

一実施形態では、宿主は高血糖であり、組換え細胞を高血糖宿主に投与することにより、外因性インスリンを宿主に治療的投与する必要性が低下するまたは排除される。

例えば、本願発明は、以下の項目を提供する：

(項目1)

シグナル配列およびプロモーターを含む組換え細胞であって、

- a . 上記シグナル配列が、宿主における標的核酸のシグナル依存性発現を調節し、
- b . 上記組換え細胞が腸内細菌または共生細菌に由来し、
- c . 上記シグナル配列が、G L P - 2、その断片、もしくはその類似体、またはそれらの組合せである、組換え細胞。

(項目2)

シグナル配列およびプロモーターを含む組換え細胞であって、

- a . 上記シグナル配列が、宿主における標的核酸のシグナル依存性発現を調節し、
- b . 上記組換え細胞が腸内細菌または共生細菌に由来し、
- c . 上記標的核酸が、上記宿主の第1の細胞を第2の細胞に再プログラミングすることができる哺乳動物因子をコードする、組換え細胞。

(項目3)

上記宿主が哺乳動物である、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目4)

上記第2の細胞が 横細胞、甲状腺細胞、肝細胞または免疫応答性細胞である、項目2に記載の組換え細胞。

(項目5)

上記宿主の上記第1の細胞が腸上皮細胞である、項目2に記載の組換え細胞。

(項目6)

上記第2の細胞がグルコース応答性インスリン分泌細胞である、項目2に記載の組換え細胞。

(項目7)

上記シグナル配列が、環境刺激に応答して標的核酸のシグナル依存性発現を調節する、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目8)

上記プロモーターがグルコース応答性プロモーターである、項目7に記載の組換え細胞。

(項目9)

上記シグナル配列が、G L P - 1、G I P、P D X - 1、1つまたは複数のその断片、その類似体、およびそれらの組合せからなる群より選択される、項目2に記載の組換え細胞。

(項目10)

上記シグナル配列が、G L P - 1、P D X - 1、G I P、G L P - 2、インスリン、成長ホルモン、プロラクチン、カルシトニン、黄体形成ホルモン、副甲状腺ホルモン、ソマトスタチン、甲状腺刺激ホルモン、血管作動性腸管ポリペプチド、トレフォイルファクター、細胞および組織修復因子、トランスホーミング増殖因子、ケラチノサイト成長因子；逆平行4ヘリックス束構造をとる構造的第1群サイトカインであるI L - 2、I L - 3、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 9、I L - 10、I L - 11、I L - 12、I L - 13、G M - C S F、M - C S F、S C F、I F N - 、E P O、G - C S F、L I F、O S M、C N T F、G H、P R L、I F N / ；構造的第2群サイトカインであるT N F - ファミリーサイトカイン、T N F 、T N F 、C D 4 0、C D 2 7、F A S リガンド、I L - 1 - ファミリーサイトカイン、線維芽細胞成長因子、血小板由来増殖因子、トランスホーミング増殖因子p、神経成長因子；短鎖 / 分子を含む構造的第3群サイトカインである上皮成長因子ファミリーサイトカイン、C - C ケモカインまたはC - X - C ケモカイン、インスリン関連サイトカイン；構造的第4群サイトカインであるヘレグリン、ニューゲグリン、E G F、免疫グロブリン様ドメイン、クリングルドメイン；1つまたは複数のその断片、その類似体、ならびにそれらの組合せからなる群より選択される、項目2に記載の組換え細胞。

(項目11)

上記シグナル配列および上記プロモーターが上記組換え細胞内のプラスミドにコードされている、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目12)

プロバイオティクス細菌に由来する、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目13)

エシェリキア属、シュードモナス属、バクテロイデス属、乳酸桿菌属、ラクトコッカス属、バチルス属、プロテウス属、ビフィドバクテリウム属、連鎖球菌属、ブドウ球菌属、およびコリネバクテリウム属からなる群より選択される細菌である、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目14)

上記標的核酸が、上記宿主における生理的プロセスの所望の機能を促進することができる、または上記宿主における非感染性の疾患を処置することができる哺乳動物因子をコードする、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目15)

上記非感染性の疾患が、自己免疫疾患、癌、内分泌疾患、胃腸疾患、癌およびそれらの組合せからなる群より選択される、項目14に記載の組換え細胞。

(項目16)

上記非感染性の疾患が糖尿病である、項目14に記載の組換え細胞。

(項目17)

上記糖尿病が1型糖尿病、2型糖尿病またはメタボリックシンドromeである、項目16に記載の組換え細胞。

(項目18)

上記非感染性の疾患が、クローン病、肥満症、フェニルケトン尿症、カエデシロップ病、ヒスチジン血症、高血糖症、糖尿病性網膜症、冠動脈心疾患、毛細管内糸球体硬化症、腎症、ニューロパシー、四肢の潰瘍または壞疽、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症、高血圧、高タンパク血症、タンパク尿症、骨粗鬆症、貧血、高リポタンパク血症、ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、乳酸アシドーシス、心筋症、ウィルソン病、白質ジストロフィー、フコース蓄積症、癌、化学療法誘導性下痢、炎症性腸疾患、心室細動および心房細動、術後臓器不全、過敏性腸症候群、間質性膀胱炎／膀胱疼痛症候群、短腸症候群、潰瘍性大腸炎、ならびにそれらの組合せからなる群より選択される、項目14に記載の組換え細胞。

(項目19)

上記癌が胃腸癌、胃癌、胆囊癌、消化管間質腫瘍、肝臓癌、肺癌、または結腸癌である、項目18に記載の組換え細胞。

(項目20)

上記哺乳動物因子が、腸の傷害または外科手術後の生理的プロセスの所望の機能を促進する、項目14に記載の組換え細胞。

(項目21)

上記宿主の体循環内に吸収されることなく腸絨毛に到達することができる、項目2に記載の組換え細胞。

(項目22)

上記プロモーターが誘導性プロモーターまたは構成的プロモーターである、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目23)

上記プロモーターがflicプロモーターである、項目1または2に記載の組換え細胞。

。

(項目24)

分泌タグをさらに含む、項目1または2に記載の組換え細胞。

(項目25)

上記分泌タグが f 1 i C 分泌タグである、項目 1 または 2 に記載の組換え細胞。

(項目 26)

上記分泌タグがアルファ溶血素 (H 1 y A) 分泌タグである、項目 1 または 2 に記載の組換え細胞。

(項目 27)

細胞透過性ペプチド (C P P) 配列をさらに含む、項目 1 に記載の組換え細胞。

(項目 28)

上記シグナル配列を、上記シグナル配列にコードされるシグナルおよび上記細胞透過性ペプチド配列にコードされる細胞透過性ペプチドを含む融合タンパク質として発現する、項目 26 に記載の組換え細胞。

(項目 29)

宿主における糖尿病を処置するための方法であって、上記宿主に項目 2 に記載の組換え細胞を投与するステップを含む、方法。

(項目 30)

標的シグナル配列が、疾患予防因子の発現を刺激する、または糖尿病の原因因子の発現を阻害する、項目 29 に記載の方法。

(項目 31)

上記糖尿病が 1 型糖尿病、2 型糖尿病またはメタボリックシンドロームである、項目 29 に記載の方法。

(項目 32)

上記シグナル配列が、環境刺激に応答して標的核酸のシグナル依存性発現を調節する、項目 29 に記載の方法。

(項目 33)

上記環境刺激がグルコースである、項目 32 に記載の方法。

(項目 34)

上記疾患予防因子がインスリンを含む、項目 30 に記載の方法。

(項目 35)

上記標的核酸が、上記宿主における血中グルコースレベルの低下を促進する哺乳動物因子をコードする、項目 29 に記載の方法。

(項目 36)

上記標的核酸が、上記宿主における血中インスリンレベルの上昇を促進する哺乳動物因子をコードする、項目 29 に記載の方法。

(項目 37)

哺乳動物宿主において腸の細胞を別の細胞型に分化させるための方法であって、上記宿主に項目 2 に記載の組換え細胞を投与するステップを含む、方法。

(項目 38)

上記別の細胞型が 様細胞、甲状腺細胞、肝細胞または免疫応答性細胞である、項目 37 に記載の方法。

(項目 39)

上記 様細胞がグルコース応答性細胞である、項目 38 に記載の方法。

(項目 40)

有効量の上記組換え細胞が投与される、項目 29 または 37 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 41)

上記組換え細胞の上記有効量が少なくとも約  $10^4$  C F U / k g である、項目 29 または 37 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 42)

上記組換え細胞を、相乗効果を有する化合物と組み合わせて投与する、項目 29 または 37 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 43)

上記相乗効果を有する化合物が、DPP-4阻害剤、GLP-2、GLP-1アゴニスト、ジメチルスルホキシド、インスリン、アルファ-グルコシダーゼ阻害剤、プラムリンチド、メグリチニド、レパグリニド、ナテグリニド、クロルプロパミド、メトホルミン、スルホニル尿素、グリピジド、グリブリド、グリメビリド、チアゾリジンジオン、その類似体、その断片、およびそれらの組合せからなる群より選択される、項目29または37のいずれか一項に記載の方法。

(項目44)

上記シグナル配列が、GLP-1、PDX-1、GIP、GLP-2、インスリン、成長ホルモン、プロラクチン、カルシトニン、黄体形成ホルモン、副甲状腺ホルモン、ソマトスタチン、甲状腺刺激ホルモン、血管作動性腸管ポリペプチド、トレフォイルファクター、細胞および組織修復因子、ranspoホーミング増殖因子、ケラチノサイト成長因子；逆平行4ヘリックス束構造をとる構造的第1群サイトカインであるIL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、GM-CSF、M-CSF、SCF、IFN-、EPO、G-CSF、LIF、OSM、CNTF、GH、PRL、IFN/；構造的第2群サイトカインであるTNF-ファミリーサイトカイン、TNF、TNF、CD40、CD27、FASリガンド、IL-1-ファミリーサイトカイン、線維芽細胞成長因子、血小板由来増殖因子、ranspoホーミング増殖因子p、神経成長因子；短鎖/分子を含む構造的第3群サイトカインである上皮成長因子ファミリーサイトカイン、C-CケモカインまたはC-X-Cケモカイン、インスリン関連サイトカイン；構造的第4群サイトカインであるヘレグリン、ニューレグリン、EGF、免疫グロブリン様ドメイン、クリングルドメイン；1つまたは複数のその断片、その類似体、ならびにそれらの組合せからなる群より選択される、項目29または37のいずれか一項に記載の方法。

(項目45)

上記シグナル配列がGIP、GLP-1、GLP-2、PDX-1、その断片、その類似体、およびそれらの組合せである、項目29または37のいずれか一項に記載の方法。

(項目46)

宿主において腸の細胞をグルコース応答性インスリン分泌細胞に再プログラミングするための方法であって、GLP-1、GIP、PDX-1、その断片、その類似体、およびそれらの組合せからなる群より選択されるシグナル配列、ならびにプロモーターを含む組換え細胞を投与するステップを含む、方法。

(項目47)

上記宿主が高血糖性であり、上記組換え細胞を上記高血糖性宿主に投与することにより外因性インスリンを上記宿主に治療的に投与する必要性が低下するか、または排除される、項目46に記載の方法。