

【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20年10月2日(2008.10.2)

【公表番号】特表2008-517608(P2008-517608A)

【公表日】平成20年5月29日(2008.5.29)

【年通号数】公開・登録公報2008-021

【出願番号】特願2007-538187(P2007-538187)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 16/06 (2006.01)

A 0 1 K 67/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

A 0 1 K 67/027 Z N A

C 1 2 N 5/00 B

C 0 7 K 16/06

A 0 1 K 67/02

【手続補正書】

【提出日】平成20年8月12日(2008.8.12)

【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】

機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、トランスジェニック有蹄動物。

【請求項 2】

前記有蹄動物が、内因性重鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、請求項 1 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 3】

前記有蹄動物が、内因性軽鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、請求項 1 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 4】

前記有蹄動物が、内因性 鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、請求項 3 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 5】

前記有蹄動物が、内因性 鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、請求項 3 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 6】

前記有蹄動物が、ブタ、ウシ、ヒツジ、およびヤギからなる群から選択される、請求項 1 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 7】

前記有蹄動物がブタである、請求項 6 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 8】

前記有蹄動物が、核移植によって生成される、請求項 1 に記載のトランスジェニック有蹄

動物。

【請求項 9】

前記有蹄動物が、外因性免疫グロブリン遺伝子座を発現する、請求項 1 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 10】

前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、重鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、請求項 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 11】

前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、請求項 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 12】

前記軽鎖遺伝子座が、鎖遺伝子座またはそのフラグメントである、請求項 11 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 13】

前記軽鎖遺伝子座が、鎖遺伝子座またはそのフラグメントである、請求項 11 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 14】

前記外因性遺伝子座が、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントである、請求項 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 15】

人工染色体が、前記外因性免疫グロブリンを含む、請求項 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 16】

前記人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、請求項 15 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 17】

前記哺乳動物人工染色体が、ヒト第 14 染色体、ヒト第 2 染色体、およびヒト第 22 染色体、またはそれらのフラグメントのうちの 1 つ以上を含む、請求項 16 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 18】

内因性鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、トランスジェニック哺乳動物。

【請求項 19】

外因性免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを発現するトランスジェニック有蹄動物であって、前記免疫グロブリンが、内因性有蹄動物染色体内に組み込まれた免疫グロブリン遺伝子座から発現される、トランスジェニック有蹄動物。

【請求項 20】

前記外因性免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、請求項 19 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 21】

前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、子孫に遺伝する、請求項 19 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 22】

前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、雄生殖系列を介して子孫に遺伝する、請求項 19 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 23】

前記有蹄動物が、ブタ、ヒツジ、ヤギ、またはウシである、請求項 19 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 24】

前記有蹄動物がブタである、請求項 23 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 25】

前記有蹄動物が、核移植を介して生成される、請求項 1 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 2 6】

前記免疫グロブリン遺伝子座が B 細胞において発現されて、1 つ以上の抗原への曝露に应答して外因性免疫グロブリンを生成する、請求項 1 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 2 7】

人工染色体が、前記外因性免疫グロブリンを含む、請求項 1 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 2 8】

前記人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、請求項 2 7 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 2 9】

前記人工染色体が、酵母人工染色体を含む、請求項 2 8 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 3 0】

前記人工染色体が、ヒト第 1 4 染色体、ヒト第 2 染色体、およびヒト第 2 2 染色体、またはそれらのフラグメントのうちの 1 つ以上を含む、請求項 2 7 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 3 1】

請求項 1 に記載のトランスジェニック有蹄動物に由来する、トランスジェニック有蹄動物の細胞、組織、または器官。

【請求項 3 2】

請求項 1 9 に記載のトランスジェニック有蹄動物に由来する、トランスジェニック有蹄動物の細胞、組織、または器官。

【請求項 3 3】

前記細胞が、体細胞、生殖細胞、または胚細胞である、請求項 3 1 または請求項 3 2 に記載の細胞。

【請求項 3 4】

前記細胞が、B 細胞である、請求項 3 3 に記載の細胞。

【請求項 3 5】

前記細胞が、線維芽細胞である、請求項 3 4 に記載の細胞。

【請求項 3 6】

外因性免疫グロブリン遺伝子座を含む、ブタ動物。

【請求項 3 7】

人工染色体が、前記外因性遺伝子座を含む、請求項 3 6 に記載のブタ。

【請求項 3 8】

前記人工染色体が、再配列する 1 つ以上の外因性免疫グロブリン遺伝子座を含み、かつ該人工染色体は、1 つ以上の抗原への曝露に应答して外因性免疫グロブリンを生成し得る、請求項 3 7 に記載のブタ。

【請求項 3 9】

請求項 3 6 に記載の動物に由来する、ブタ細胞。

【請求項 4 0】

前記細胞が、体細胞、B 細胞、または線維芽細胞である、請求項 3 9 に記載のブタ細胞。

【請求項 4 1】

前記外因性免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリンである、請求項 3 6 に記載のブタ。

【請求項 4 2】

前記 1 つ以上の人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、請求項 3 7 に記載のブタ。

【請求項 4 3】

前記哺乳動物人工染色体が、ヒト第 1 4 染色体、ヒト第 2 染色体、およびヒト第 2 2 染色

体、またはそれらのフラグメントのうちの 1 つ以上を含む、請求項 4 2 に記載のブタ。

【請求項 4 4】

外因性抗体を生成する方法であって、該方法は、

(a) 1 つ以上の目的の抗原を有蹄動物に投与する工程であって、有蹄動物の細胞は、1 つ以上の人工染色体を含み、かつ機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠き、それぞれの人工染色体は、再配列して該 1 つ以上の抗原に対する外因性抗体を生成する 1 つ以上の外因性免疫グロブリン遺伝子座を含む、工程；および

(b) 該有蹄動物から該外因性抗体を回収する工程；
を包含する、方法。

【請求項 4 5】

前記免疫グロブリン遺伝子座が、B 細胞中で再配列する、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、重鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記外因性遺伝子座が、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントである、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 9】

人工染色体が、前記外因性免疫グロブリンを含む、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記哺乳動物人工染色体が、ヒト第 1 4 染色体、ヒト第 2 染色体、およびヒト第 2 2 染色体、またはそれらのフラグメントのうちの 1 つ以上を含む、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

ブタ重鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントを含む単離ヌクレオチド配列であって、該重鎖免疫グロブリンは、少なくとも 1 つの連結領域および少なくとも 1 つの免疫グロブリン定常領域を含む、単離ヌクレオチド配列。

【請求項 5 3】

前記重鎖免疫グロブリンが、少なくとも 1 つの可変領域、少なくとも 2 つの多様性領域、少なくとも 4 つの連結領域、および少なくとも 1 つの定常領域を含む、請求項 5 2 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 5 4】

前記重鎖免疫グロブリンが、配列番号 2 9 を含む、請求項 5 3 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 5 5】

前記重鎖免疫グロブリンが、配列番号 4 を含む、請求項 5 2 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 5 6】

前記配列が、配列番号 4 または配列番号 2 9 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、または 9 9 % 相同である、請求項 5 4 または請求項 5 5 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 5 7】

前記配列が、配列番号 4 の少なくとも 1 7 個、2 0 個、2 5 個、または 3 0 個連続するヌクレオチドまたは配列番号 2 9 の残基 1 ~ 9 , 0 7 0 を含む、請求項 5 4 または請求項 5 5 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 5 8】

前記配列が、配列番号 2 9 の残基 9 , 0 7 0 ~ 1 1 0 3 9 を含む、請求項 5 4 または請求

項 5 5 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 5 9】

配列番号 4 または配列番号 2 9 とハイブリダイズする、単離ヌクレオチド配列。

【請求項 6 0】

ターゲッティングベクターであって、

(a) 配列番号 2 9 と相同な少なくとも 1 7 個連続する核酸を含む、第 1 のヌクレオチド配列、

(b) 選択マーカー遺伝子；および

(c) 前記第 1 のヌクレオチド配列と重複しない、配列番号 2 9 と相同な少なくとも 1 7 個連続する核酸を含む、第 2 のヌクレオチド配列；

を含む、ターゲッティングベクター。

【請求項 6 1】

前記選択マーカーが、抗生物質耐性遺伝子を含む、請求項 6 0 に記載のターゲッティングベクター。

【請求項 6 2】

前記第 1 のヌクレオチド配列が、5 ' 組換えアームに相当する、請求項 6 0 に記載のターゲッティングベクター。

【請求項 6 3】

前記第 2 のヌクレオチド配列が、3 ' 組換えアームに相当する、請求項 6 0 に記載のターゲッティングベクター。

【請求項 6 4】

請求項 6 0 に記載のターゲッティングベクターでトランスフェクトされた、細胞。

【請求項 6 5】

ブタ重鎖免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも 1 つの対立遺伝子が不活化されている、請求項 6 4 に記載の細胞。

【請求項 6 6】

請求項 6 4 に記載の細胞を含む、ブタ動物。

【請求項 6 7】

有蹄動物の 軽鎖免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含む、単離ヌクレオチド配列。

【請求項 6 8】

前記有蹄動物がブタである、請求項 6 7 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 6 9】

前記有蹄動物の 軽鎖免疫グロブリン遺伝子座が、少なくとも 1 つの連結領域、1 つの定常領域、および / または 1 つのエンハンサー領域を含む、請求項 6 7 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 7 0】

前記ヌクレオチド配列が、少なくとも 5 つの連結領域、1 つの定常領域、および 1 つのエンハンサー領域を含む、請求項 6 7 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 7 1】

配列番号 3 0 を含む、請求項 7 0 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 7 2】

配列番号 1 2 を含む、請求項 7 0 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 7 3】

前記配列が、配列番号 1 2 または配列番号 3 0 の少なくとも 1 7 個、2 0 個、2 5 個、または 3 0 個連続するヌクレオチドを含む、請求項 7 1 または請求項 7 2 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 7 4】

配列番号 1 2 または配列番号 3 0 とハイブリダイズする、単離ヌクレオチド配列。

【請求項 7 5】

ターゲッティングベクターであって、

(a) 配列番号 30 と相同な少なくとも 17 個連続する核酸を含む、第 1 のヌクレオチド配列；

(b) 選択マーカー遺伝子；および

(c) 前記第 1 のヌクレオチド配列と重複しない、配列番号 30 と相同な少なくとも 17 個連続する核酸を含む、第 2 のヌクレオチド配列；

を含む、ターゲッティングベクター。

【請求項 76】

前記選択マーカーが、抗生物質耐性遺伝子を含む、請求項 75 に記載のターゲッティングベクター。

【請求項 77】

前記第 1 のヌクレオチド配列が、5' 組換えアームに相当する、請求項 75 に記載のターゲッティングベクター。

【請求項 78】

前記第 2 のヌクレオチド配列が、3' 組換えアームに相当する、請求項 75 に記載のターゲッティングベクター。

【請求項 79】

請求項 75 に記載のターゲッティングベクターでトランスフェクトされた、細胞。

【請求項 80】

鎖免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも 1 つの対立遺伝子が不活化されている、請求項 79 に記載の細胞。

【請求項 81】

請求項 80 に記載の細胞を含む、ブタ動物。

【請求項 82】

有蹄動物の 軽鎖免疫グロブリン遺伝子座を含む、単離ヌクレオチド配列。

【請求項 83】

前記有蹄動物がブタである、請求項 82 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 84】

前記有蹄動物がウシである、請求項 82 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 85】

前記有蹄動物の 軽鎖免疫グロブリン遺伝子座が、J 単位～C 単位のコンカテマーを含む、請求項 82 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 86】

前記有蹄動物の 軽鎖免疫グロブリン遺伝子座が、例えば、配列番号 31 に示す、少なくとも 1 つの連結領域 - 定常領域対および / または少なくとも 1 つの可変領域を含む、請求項 82 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 87】

配列番号 28 を含む、請求項 83 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 88】

配列番号 31 を含む、請求項 84 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 89】

前記配列が、配列番号 28 または配列番号 31 の少なくとも 17 個、20 個、25 個、または 30 個連続するヌクレオチドを含む、請求項 87 または請求項 88 に記載のヌクレオチド配列。

【請求項 90】

配列番号 28 または配列番号 31 とハイブリダイズする、単離ヌクレオチド配列。

【請求項 91】

ターゲッティングベクターであって、

(a) 配列番号 28 または配列番号 31 と相同な少なくとも 17 個連続する核酸を含む、第 1 のヌクレオチド配列；

(b) 選択マーカー遺伝子；および

(c) 該第1のヌクレオチド配列と重複しない、配列番号28または配列番号31と相同な少なくとも17個連続する核酸を含む、第2のヌクレオチド配列；を含む、ターゲッティングベクター。

【請求項92】

前記選択マーカーが、抗生物質耐性遺伝子を含む、請求項91に記載のターゲッティングベクター。

【請求項93】

前記第1のヌクレオチド配列が、5'組換えアームに相当する、請求項91に記載のターゲッティングベクター。

【請求項94】

前記第2のヌクレオチド配列が、3'組換えアームに相当する、請求項91に記載のターゲッティングベクター。

【請求項95】

請求項91に記載のターゲッティングベクターでトランスフェクトされた、細胞。

【請求項96】

鎖免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも1つの対立遺伝子が不活化された、請求項95に記載の細胞。

【請求項97】

請求項96に記載の細胞を含む、ブタ動物。

【請求項98】

少なくとも100kbのDNAを環状化する方法であって、

その後、該DNAを部位特異的リコンビナーゼによって宿主ゲノムに組み込み得る、方法。

【請求項99】

少なくとも100kb、200kb、300kb、400kb、500kb、1000kb、2000kb、5000kb、10,000kbのDNAを環状化し得る、請求項98に記載の方法。

【請求項100】

前記DNAの環状化が、前記DNA配列の各末端にて部位特異的リコンビナーゼ標的部位を結合すること、およびその後、該DNA配列への部位特異的リコンビナーゼを適用すること、によって行われ得る、請求項98に記載の方法。

【請求項101】

前記部位特異的リコンビナーゼ標的部位が、Loxである、請求項98に記載の方法。

【請求項102】

人工染色体が、前記DNA配列を含む、請求項98に記載の方法。

【請求項103】

前記人工染色体が、酵母人工染色体または哺乳動物人工染色体である、請求項102に記載の方法。

【請求項104】

前記人工染色体が、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントをコードするDNA配列を含む、請求項102に記載の方法。

【請求項105】

前記ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントが、ヒト第14染色体、ヒト第2染色体、および/またはヒト第22染色体を含む、請求項104に記載の方法。

【請求項106】

内因性免疫グロブリンの少なくとも1つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物であって、該免疫グロブリンは、重鎖、軽鎖、および軽鎖、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、トランスジェニック有蹄動物。

【請求項107】

外因性免疫グロブリンが発現される、請求項 1 0 6 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 1 0 8】

請求項 1 0 7 に記載のトランスジェニック有蹄動物を生成するための方法であって、

内因性免疫グロブリンの少なくとも 1 つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物が、外因性免疫グロブリンを発現する有蹄動物と交配させられ、該内因性免疫グロブリンは、重鎖、軽鎖、および 軽鎖、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、方法。

【請求項 1 0 9】

前記有蹄動物が、ブタである、請求項 1 0 6 ~ 請求項 1 0 8 のうちいずれか 1 項に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 1 1 0】

前記外因性免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントである、請求項 1 0 7 または請求項 1 0 8 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 1 1 1】

人工染色体が、前記ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含む、請求項 1 1 0 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 1 1 2】

請求項 1 0 6 に記載の有蹄動物に由来する、細胞。

【請求項 1 1 3】

異種抗原の発現を消失させるためのさらなる遺伝子改変をさらに含む、請求項 1、請求項 1 9、請求項 1 0 6、または請求項 1 0 7 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 1 1 4】

前記有蹄動物が、 - 1 , 3 - ガラクトシルトランスフェラーゼ遺伝子の少なくとも 1 つの対立遺伝子の発現を欠く、請求項 1 1 3 に記載のトランスジェニック有蹄動物。

【請求項 1 1 5】

前記有蹄動物がブタである、請求項 1 1 3 に記載のトランスジェニック有蹄動物。