

【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7月26日(2021.7.26)

【公表番号】特表2020-527329(P2020-527329A)

【公表日】令和2年9月10日(2020.9.10)

【年通号数】公開・登録公報2020-037

【出願番号】特願2019-567349(P2019-567349)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/54	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	9/10	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6874	(2018.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2015.01)
G 0 1 N	33/68	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/54	Z N A
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/09	Z
C 1 2 N	9/10	
C 1 2 Q	1/6874	Z
C 1 2 Q	1/6874	C
C 1 2 N	15/09	1 1 0
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	35/76	
G 0 1 N	33/68	
C 1 2 P	21/02	Z

【手続補正書】

【提出日】令和3年6月3日(2021.6.3)

【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】

配列番号 1 と、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 8 %、または少なくとも9 9 % 同一の核酸配列を含む単離された核酸分子であって、前記核酸配列が、配列番号 1 の 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7 位に対応してセリンをコードするコドンを含むことを条件とする、前記単離された核酸分子、またはその相補体。

【請求項 2】

前記核酸配列が、配列番号 2 の 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7 位に対応するヌクレオチドを含む、請求項 1 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 3】

前記核酸配列が、B 4 G A L T 1 遺伝子のエクソン 1 ~ 6 を含む配列番号 2 の部分と、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 8 %、または少なくとも9 9 % 同一である、請求項 1 または 2 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 4】

前記核酸配列が、配列番号 2 を含む、請求項 1 または 2 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子を含むベクター。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子もしくは請求項 5 に記載のベクターと、担体とを含む、組成物。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子もしくは請求項 5 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 8】

配列番号 4 と、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 8 %、または少なくとも9 9 % 同一の核酸配列を含む単離された核酸分子であって、前記核酸配列が、完全長 / 成熟型 B 4 G A L T 1 ポリペプチドの 3 5 2 位に対応する位置にセリンをコードするコドンを含むことを条件とする、前記単離された核酸分子、またはその相補体。

【請求項 9】

前記核酸配列が、B 4 G A L T 1 遺伝子のエクソン 1 ~ 6 を含む配列番号 4 の部分と、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 8 %、または少なくとも9 9 % 同一である、請求項 8 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 10】

前記核酸配列が、配列番号 4 を含む、請求項 8 または 9 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 11】

請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 12】

請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子もしくは請求項 11 に記載のベクターと、担体とを含む、組成物。

【請求項 13】

請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子もしくは請求項 11 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 14】

配列番号 8 と、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 8 %、または少なくとも9 9 % 同一であるポリペプチドをコードする核酸配列を含む単離された核酸分子であって、前記ポリペプチドが、3 5 2 位にセリンを含むことを条件とする、前記核酸分子、またはその相補体。

【請求項 15】

前記核酸配列が、配列番号 8 のポリペプチド配列をコードする、請求項 1 4 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 1 6】

請求項 1 4 または 1 5 に記載の単離された核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 1 7】

請求項 1 4 または 1 5 に記載の単離された核酸分子もしくは請求項 1 6 に記載のベクターと、担体とを含む、組成物。

【請求項 1 8】

請求項 1 4 または 1 5 に記載の単離された核酸分子もしくは請求項 1 6 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 1 9】

配列番号 6 と、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一の核酸配列を含み、ヒト - 1, 4 - ガラクトシルトランスフェラーゼ 1 (B 4 G A L T 1) タンパク質をコードする c D N A であって、前記核酸配列が、完全長 / 成熟型 B 4 G A L T 1 ポリペプチドの 3 5 2 位に対応する位置でセリンをコードすることを条件とする、前記 c D N A、またはその相補体。

【請求項 2 0】

前記核酸配列が、配列番号 6 を含む、請求項 1 9 に記載の c D N A。

【請求項 2 1】

請求項 1 9 または 2 0 に記載の c D N A を含む、ベクター。

【請求項 2 2】

請求項 1 9 または 2 0 に記載の c D N A もしくは請求項 2 1 に記載のベクターと、担体とを含む、組成物。

【請求項 2 3】

請求項 1 9 または 2 0 に記載の c D N A もしくは請求項 2 1 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 2 4】

配列番号 8 を有する B 4 G A L T 1 バリアントポリペプチドと、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、前記ポリペプチドが、配列番号 8 の 3 5 2 位に対応するセリンを含むことを条件とする、前記単離されたポリペプチド。

【請求項 2 5】

前記 B 4 G A L T 1 バリアントポリペプチドが、配列番号 8 を含む、請求項 2 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 6】

請求項 2 4 または請求項 2 5 に記載のポリペプチドと、担体または賦形剤とを含む、組成物。

【請求項 2 7】

請求項 2 4 または請求項 2 5 に記載のポリペプチドを発現する、宿主細胞。

【請求項 2 8】

前記ポリペプチドをコードする核酸分子を含む宿主細胞を培養し、それにより前記細胞に前記ポリペプチドを発現させ、前記発現させたポリペプチドを回収することを含む、請求項 2 4 または請求項 2 5 に記載のポリペプチドの製造方法。

【請求項 2 9】

ヒト対象における B 4 G A L T 1 バリアント核酸分子の検出方法であって、前記対象から採取した試料をアッセイして、前記試料中の核酸分子が、完全長 / 成熟型 B 4 G A L T 1 ポリペプチドの 3 5 2 位に対応する位置にセリンをコードする核酸配列を含むかどうかを判定することを含む、前記検出方法。

【請求項 3 0】

前記アッセイが：

前記試料中の核酸分子のB 4 G A L T 1ゲノム配列の部分を配列決定することであって、配列決定される前記部分が、配列番号2の5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7位に対応する位置を含む、前記配列決定すること、

前記試料中の核酸分子のB 4 G A L T 1 m R N A配列の部分を配列決定することであって、配列決定される前記部分が、配列番号4の1 2 4 3 ~ 1 2 4 5位に対応する位置を含む、前記配列決定すること、または

前記試料中の核酸分子のB 4 G A L T 1 c D N A配列の部分を配列決定することであって、配列決定される前記部分が、配列番号6の1 0 5 4 ~ 1 0 5 6位に対応する位置を含む、前記配列決定すること、を含む、請求項2 9に記載の方法。

【請求項3 1】

前記アッセイが：

a) 前記試料を：i) 配列番号2の5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7位に対応するB 4 G A L T 1ゲノム配列の位置に近接するB 4 G A L T 1ゲノム配列の部分、ii) 配列番号4の1 2 4 3 ~ 1 2 4 5位に対応するB 4 G A L T 1 m R N Aの位置に近接するB 4 G A L T 1 m R N A配列の部分、またはiii) 配列番号6の1 0 5 4 ~ 1 0 5 6位に対応するB 4 G A L T 1 c D N Aの位置に近接するB 4 G A L T 1 c D N A配列の部分にハイブリダイズするプライマーと接触させること、

b) 少なくとも：i) 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7位に対応するB 4 G A L T 1ゲノム配列の位置、ii) 1 2 4 3 ~ 1 2 4 5位に対応するB 4 G A L T 1 m R N Aの位置、またはiii) 1 0 5 4 ~ 1 0 5 6位に対応するB 4 G A L T 1 c D N Aの位置を介して前記プライマーを伸長すること、及び

c) 前記プライマーの伸長産物が：配列番号8の3 5 2位でセリンをコードするヌクレオチドをi) B 4 G A L T 1ゲノム配列の5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7位に対応する、ii) B 4 G A L T 1 m R N Aの1 2 4 3 ~ 1 2 4 5位に対応する、またはiii) B 4 G A L T 1 c D N Aの1 0 5 4 ~ 1 0 5 6位に対応する位置に含むかどうかを判定することを含む、請求項2 9に記載の方法。

【請求項3 2】

前記アッセイが、前記試料を、ストリンジエントな条件下で、B 4 G A L T 1バリアントゲノム配列、m R N A配列、またはc D N A配列に特異的にハイブリダイズし、対応する野生型B 4 G A L T 1配列にはハイブリダイズしないプライマーまたはプローブと接触させること、及びハイブリダイゼーションが生じたかどうかを判定することを含む、請求項2 9に記載の方法。

【請求項3 3】

ヒト対象におけるB 4 G A L T 1 A s n 3 5 2 S e rの存在の検出方法であって、前記ヒト対象から採取した試料に対してアッセイを行い、前記試料中のB 4 G A L T 1タンパク質が3 5 2位にセリン残基を含むかどうかを判定することを含む、前記検出方法。

【請求項3 4】

心血管病態の発症に対するヒト対象の感受性をインビトロで判定する方法であって：

a) 前記対象から採取した試料をアッセイして、前記試料中の核酸分子が、完全長／成熟型B 4 G A L T 1ポリペプチドの3 5 2位に対応する位置にセリンをコードする核酸配列を含むかどうかを判定すること、及び

b) 前記核酸分子が完全長／成熟型B 4 G A L T 1ポリペプチドの3 5 2位に対応する位置にセリンをコードする核酸配列を含む場合、前記心血管病態を発症するリスクが低いと前記ヒト対象を分類するか、または前記核酸分子が完全長／成熟型B 4 G A L T 1ポリペプチドの3 5 2位に対応する位置にセリンをコードする核酸配列を含まない場合、前記心血管病態を発症するリスクが高いと前記ヒト対象を分類することを含む、方法。

【請求項3 5】

前記アッセイが：

前記試料中の核酸分子のB 4 G A L T 1ゲノム配列の部分を配列決定することであって、配列決定される前記部分が、配列番号2の5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7位に対応する位置を

含む、前記配列決定すること、

前記試料中の核酸分子のB4GALT1 mRNA配列の部分を配列決定することであって、配列決定される前記部分が、配列番号4の1243～1245位に対応する位置を含む、前記配列決定すること、または

前記試料中の核酸分子のB4GALT1 cDNA配列の部分を配列決定することであって、配列決定される前記部分が、配列番号6の1054～1056位に対応する位置を含む、前記配列決定すること、を含む、請求項3_4に記載の方法。

【請求項3_6】

前記アッセイが：

a) 前記試料を：i) 配列番号2の53575～53577位に対応するB4GALT1ゲノム配列の位置に近接するB4GALT1ゲノム配列の部分、ii) 配列番号4の1243～1245位に対応するB4GALT1 mRNAの位置に近接するB4GALT1 mRNA配列の部分、またはiii) 配列番号6の1054～1056位に対応するB4GALT1 cDNAの位置に近接するB4GALT1 cDNA配列の部分にハイブリダイズするプライマーと接触させること、

b) 少なくとも：i) 53575～53577位に対応するB4GALT1ゲノム配列の位置、ii) 1243～1245位に対応するB4GALT1 mRNAの位置、またはiii) 1054～1056位に対応するB4GALT1 cDNAの位置を介して前記プライマーを伸長すること、及び

c) 前記プライマーの伸長産物が：配列番号8の352位でセリンをコードするヌクレオチドをi) B4GALT1ゲノム配列の53575～53577位に対応する、ii) B4GALT1 mRNAの1243～1245位に対応する、またはiii) B4GALT1 cDNAの1054～1056位に対応する位置に含むかどうかを判定することを含む、請求項3_4に記載の方法。

【請求項3_7】

前記アッセイが、前記試料を、ストリンジェントな条件下で、B4GALT1バリアントゲノム配列、mRNA配列、またはcDNA配列に特異的にハイブリダイズし、対応する野生型B4GALT1配列にはハイブリダイズしないプライマーまたはプローブと接触させること、及びハイブリダイゼーションが生じたかどうかを判定することを含む、請求項3_4に記載の方法。

【請求項3_8】

心血管病態の発症に対するヒト対象の感受性をインビトロで判定する方法であって：

a) 前記ヒト対象から採取した試料に対してアッセイを行い、前記試料中のB4GALT1タンパク質が352位にセリン残基を含むかどうかを判定すること、及び

b) B4GALT1ポリペプチドが完全長/成熟型B4GALT1ポリペプチドの352位に対応する位置にセリンを含む場合、前記心血管病態を発症するリスクが低いと前記ヒト対象を分類するか、またはB4GALT1ポリペプチドが完全長/成熟型B4GALT1ポリペプチドの352位に対応する位置にセリンを含まない場合、前記心血管病態を発症するリスクが高いと前記ヒト対象を分類することを含む、方法。

【請求項3_9】

前記心血管病態が、1つ以上の血清脂質レベルの上昇を含む、請求項3_4～3_8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項4_0】

前記血清脂質が、コレステロール、LDL、HDL、トリグリセリド、HDLコレステロール、及び非HDLコレステロールの1つ以上を含む、請求項3_9に記載の方法。

【請求項4_1】

前記心血管病態が、冠動脈石灰化レベルの上昇を含む、請求項3_4～3_8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項4_2】

前記心血管病態が、心膜脂肪レベルの上昇を含む、請求項3_4～3_8のいずれか一項に

記載の方法。

【請求項 4 3】

前記心血管病態が、アテローム血栓性病態を含む、請求項3 4 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記アテローム血栓性病態が、フィブリノーゲンレベルの上昇を含む、請求項4 3に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記アテローム血栓性病態が、フィブリノーゲン活性の関与から形成される血餅を含む、請求項4 3 または請求項 4 4に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記心血管病態が、フィブリノーゲンレベルの上昇を含む、請求項3 4 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記心血管病態が、フィブリノーゲン活性の関与から形成される血餅を含む、請求項4 6に記載の方法。

【請求項 4 8】

内在性 B 4 G A L T 1 遺伝子に結合または切断するように C a s 酵素を誘導するのに有效的なガイド R N A であって、前記ガイド R N A が、配列番号 1 の 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7 位に対応する位置を含むかまたはそれに近接する前記内在性 B 4 G A L T 1 遺伝子内のガイド R N A 認識配列にハイブリダイズする D N A ターゲティングセグメントを含む、前記ガイド R N A 。

【請求項 4 9】

前記ガイド R N A 認識配列が、配列番号 9 ~ 1 2 から選択される、請求項4 8に記載のガイド R N A 。

【請求項 5 0】

B 4 G A L T 1 バリアントの保因者ではなく、心血管病態を発症しているか、または発症しやすい対象を治療するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は：

a) C a s タンパク質または前記 C a s タンパク質をコードする核酸、

b) ガイド R N A または前記ガイド R N A をコードする核酸であって、前記ガイド R N A が、前記 C a s タンパク質と複合体を形成し、内在性 B 4 G A L T 1 遺伝子内のガイド R N A 認識配列にハイブリダイズし、前記ガイド R N A 認識配列が、配列番号 1 の 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7 位に対応する位置を含むかまたはそれに近接する、前記ガイド R N A または前記ガイド R N A をコードする前記核酸、及び

c) 配列番号 1 の 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7 に対応する位置の 5 ' の標的配列にハイブリダイズする 5 ' 相同性アーム、配列番号 1 の 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7 位に対応する位置の 3 ' の標的配列にハイブリダイズする 3 ' 相同性アーム、ならびに前記 5 ' 相同性アーム及び前記 3 ' 相同性アームに隣接し、配列番号 2 の 5 3 5 7 5 ~ 5 3 5 7 7 位に対応する位置にセリンをコードするヌクレオチド配列を含む核酸インサートを含む外来性ドナー配列、を含み、

前記医薬組成物は、前記対象に導入されるものである、医薬組成物。

【請求項 5 1】

B 4 G A L T 1 バリアントの保因者ではなく、心血管病態を発症しているか、または発症しやすい対象を治療するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は：

a) C a s タンパク質または前記 C a s タンパク質をコードする核酸、

b) 第 1 のガイド R N A または前記第 1 のガイド R N A をコードする核酸であって、前記第 1 のガイド R N A が、前記 C a s タンパク質と複合体を形成し、内在性 B 4 G A L T 1 遺伝子内の第 1 のガイド R N A 認識配列にハイブリダイズし、前記第 1 のガイド R N A 認識配列が、内在性 B 4 G A L T 1 遺伝子の開始コドンを含むか、または開始コドンから約 1 , 0 0 0 ヌクレオチド以内にあるか、または配列番号 9 ~ 1 2 から選択される、前記

第1のガイドRNAまたは前記第1のガイドRNAをコードする前記核酸、及び
c)配列番号2の53575~53577位に対応する位置にセリンをコードするヌクレオチド配列を含む組換えB4GALT1遺伝子を含む発現ベクター、を含み、
前記医薬組成物は、前記対象に導入されるものである、医薬組成物。

【請求項52】

B4GALT1バリアントの保因者ではなく、心血管病態を発症しているか、または発症しやすい対象を治療するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は、前記対象の細胞の内在性B4GALT1遺伝子内の配列にハイブリダイズしてB4GALT1ポリペプチドの発現を低下させるアンチセンスRNA、siRNA、またはshRNAを含む、医薬組成物。

【請求項53】

前記心血管病態が、1つ以上の血清脂質レベルの上昇を含む、請求項52に記載の医薬組成物。

【請求項54】

前記血清脂質が、コレステロール、LDL、HDL、トリグリセリド、HDLコレステロール、及び非HDLコレステロールの1つ以上を含む、請求項53に記載の医薬組成物。

【請求項55】

前記心血管病態が、冠動脈石灰化レベルの上昇を含む、請求項52に記載の医薬組成物。

【請求項56】

前記心血管病態が、心膜脂肪レベルの上昇を含む、請求項52に記載の医薬組成物。

【請求項57】

前記心血管病態が、アテローム血栓性病態を含む、請求項52に記載の医薬組成物。

【請求項58】

前記アテローム血栓性病態が、フィブリノーゲンレベルの上昇を含む、請求項57に記載の医薬組成物。

【請求項59】

前記アテローム血栓性病態が、フィブリノーゲン活性の関与から形成される血餅を含む、請求項58に記載の医薬組成物。

【請求項60】

前記心血管病態が、フィブリノーゲンレベルの上昇を含む、請求項52に記載の医薬組成物。

【請求項61】

前記心血管病態が、フィブリノーゲン活性の関与から形成される血餅を含む、請求項60に記載の医薬組成物。

【請求項62】

B4GALT1バリアントの保因者ではなく、心血管病態を発症しているか、または発症しやすい対象を治療するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は、配列番号2の53575~53577位に対応する位置にセリンをコードするヌクレオチド配列を含む組換えB4GALT1遺伝子を含む発現ベクターを含み、前記医薬組成物は、前記対象に導入されるものである、医薬組成物。

【請求項63】

B4GALT1バリアントの保因者ではなく、心血管病態を発症しているか、または発症しやすい対象を治療するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は、配列番号8(B4GALT1 Asn352Ser)と、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるB4GALT1ポリペプチドをコードする核酸を含む発現ベクターを含み、前記医薬組成物は、前記対象に導入されるものである、医薬組成物。

【請求項64】

B 4 G A L T 1 バリアントの保因者ではなく、心血管病態を発症しているか、または発症しやすい対象を治療するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は、配列番号 8 (B 4 G A L T 1 A s n 3 5 2 S e r) と、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 % 同一である B 4 G A L T 1 ポリペプチドをコードする m R N A を含み、前記医薬組成物は、前記対象に導入されるものである、医薬組成物。

【請求項 6 5】

B 4 G A L T 1 バリアントの保因者ではなく、心血管病態を発症しているか、または発症しやすい対象を治療するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は B 4 G A L T 1 A s n 3 5 2 S e r タンパク質またはその断片を含み、前記 B 4 G A L T 1 ポリペプチドが、配列番号 8 (B 4 G A L T 1 A s n 3 5 2 S e r) と、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 % 同一であり、前記医薬組成物は、前記対象に導入されるものである、医薬組成物。