

【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4月2日(2015.4.2)

【公表番号】特表2014-510520(P2014-510520A)

【公表日】平成26年5月1日(2014.5.1)

【年通号数】公開・登録公報2014-022

【出願番号】特願2013-554547(P2013-554547)

【国際特許分類】

A 01 K 67/027 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

A 01 K 67/027 Z N A

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年2月10日(2015.2.10)

【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】

Rag2遺伝子ノックアウト；

IL2rg遺伝子ノックアウト；および

ヒト化M-CSFマウスのゲノムに組み込まれた、ヒトM-CSFタンパク質をコードし、かつマウスM-CSF座でマウスM-CSF遺伝子の内因性プロモーターに機能的に連結されている核酸配列；

を含み、該核酸配列によってコードされるM-CSF RNAを骨髄、脾臓、血液、肝臓、脳、肺、精巣、および腎臓において発現する、ヒト化M-CSFマウス。

【請求項2】

前記核酸配列を2コピー含む、請求項1記載のヒト化M-CSFマウス。

【請求項3】

少なくとも1つのマウスM-CSF対立遺伝子においてヌル変異を含む、請求項1記載のヒト化M-CSFマウス。

【請求項4】

ヌル変異がマウスM-CSFエキソン2～9の欠失である、請求項3記載のヒト化M-CSFマウス。

【請求項5】

ヒト細胞を含む、請求項1記載のヒト化M-CSFマウス。

【請求項6】

前記ヒト細胞が造血細胞である、請求項5記載のヒト化M-CSFマウス。

【請求項7】

ヒト病原体による感染症を含む、請求項6記載のヒト化M-CSFマウス。

【請求項8】

(a)以下を含む、マウス：

Rag2遺伝子ノックアウト；

IL2rg遺伝子ノックアウト；

マウスのゲノムに組み込まれた、ヒトM-CSFタンパク質をコードし、かつマウスM-CSF座

でマウスM-CSF遺伝子の内因性プロモーターに機能的に連結された核酸配列；および
(b)ヒト造血細胞

を含み、マウスが該核酸配列によってコードされるM-CSF RNAを骨髓、脾臓、血液、肝臓
、脳、肺、精巣、および腎臓において発現する、ヒト造血系のマウスモデル。

【請求項9】

マウスが、少なくとも1つのマウスM-CSF対立遺伝子に関してヌル欠失を含む、請求項8
記載のマウスモデル。

【請求項10】

a . hM-CSFを発現しない細胞生着マウスにおけるhCD14⁺CD33⁺より2倍から6倍高い脾臓の
hCD14⁺CD33⁺細胞の出現率を示すこと；

b . hM-CSFを発現しない細胞生着マウスにおけるhCD14⁺CD33⁺より2倍から8倍高い末梢血の
hCD14⁺CD33⁺細胞の出現率を示すこと；

c . 約15%から約40%のhCD14⁺CD33⁺単球／マクロファージ系列細胞の血中レベルを示す
こと；

d . 約20週齢で約5%から約15%のhCD14⁺CD33⁺単球／マクロファージ系列細胞の血中レ
ベルを示すこと；

e . ヒトM-CSFを欠如しているマウスより肝臓においてhCD14⁺CD33⁺細胞のパーセンテー
ジに関して約1.5倍から約6倍大きい、LPS注射に対する反応を示すこと；

f . LPS注射後約48時間で脾臓においてhCD14⁺CD33⁺hCD45⁺細胞の産生の増強を示し、こ
こで、増強が、hM-CSFを欠如している細胞生着マウスに対して約2倍から約5倍である、こ
と；

g . LPSに反応して血清中ヒトIL-6の産生の増強を示し、ここで、LPS注射後約6時間での
hIL-6のレベルが、hM-CSFを欠如している細胞生着マウスに対して約2倍から約5倍増強さ
れる、こと；

h . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhTNF に関して約2倍から3倍高い
、LPS刺激時の単球および／またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと；

i . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhIL-6に関して約2倍から4倍高い、
LPS刺激時の単球および／またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと；

j . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhIFN に関して約3倍から6倍高い
、poly I:C刺激時の単球および／またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと
；

k . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhIFN に関して約2倍から3倍高い
、poly I:C刺激時の単球および／またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと
；

l . hM-CSF遺伝子を欠如している遺伝子改変細胞生着マウスと比較して増強された貪食を示すこと；

m . hM-CSF遺伝子を欠如している遺伝子改変細胞生着マウスと比較してMip3 に反応し
てインビトロで増強された走化性を示すこと；ならびに

n . LPS刺激に反応した共刺激分子のインビトロでのアップレギュレーションを示し、こ
こで、共刺激分子がヒトCD40、ヒトCD80、ヒトCD86、ヒトHLA-DRおよびそれらの組み合
せから選択される、こと

から選択される1つまたは複数の特徴をマウスが示す、請求項8記載のマウスモデル。

【請求項11】

マウスが、前記特徴の2つまたはそれより多くを示す、請求項10記載のマウスモデル。

【請求項12】

マウスが、前記特徴の3つまたはそれより多くを示す、請求項10記載のマウスモデル。

【請求項13】

(a)以下を含むマウス：

Rag2遺伝子ノックアウト；

IL2rg遺伝子ノックアウト；

マウスのゲノムに組み込まれた、ヒトM-CSFタンパク質をコードし、かつマウスM-CSF座でマウスM-CSF遺伝子の内因性プロモーターに機能的に連結された核酸配列；

(b)ヒト造血細胞；および

(c)ヒト病原体による感染症

を含み、マウスが該核酸配列によってコードされるM-CSF RNAを骨髓、脾臓、血液、肝臓、脳、肺、精巣、および腎臓において発現する、ヒト病原体のマウスモデル。

【請求項14】

前記病原体がウイルス、真菌、および細菌から選択される、請求項13記載のマウスモデル。

【請求項15】

前記細菌がマイコバクテリウム(mycobacterium)または腸内細菌である、請求項14記載のマウスモデル。

【請求項16】

ヌル欠失が、マウスM-CSFエキソン2~9の欠失である、請求項9記載のマウスモデル。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0058

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0058】

本発明のいくつかの局面において、治療物質による処置に対する個体の反応性を予測する方法が提供される。いくつかの態様において、方法は、個体からのヒト造血細胞を生着させたヒト化M-CSFマウス、たとえば細胞生着Rag2^{-/-}IL2rg^{-/-}hM-CSFマウス、または致死下量の放射線を照射した細胞生着hM-CSFマウスに治療物質を接触させる段階、および候補物質を接触させたマウスモデルにおける造血細胞の生存率および/または機能を、候補物質に接触させなかったヒト造血細胞を生着させたヒト化M-CSFマウスにおける造血細胞の生存率および/または機能と比較する段階を含み、候補物質を接触させたマウスにおける造血細胞の生存率および/または機能が調整されれば、個体が治療物質による処置に対して反応を有することを示している。

[本発明1001]

ヒトM-CSFタンパク質をコードし、かつマウスM-CSF遺伝子のプロモーターに機能的に連結されている核酸配列を含む、ヒト化M-CSFマウス。

[本発明1002]

前記核酸配列を2コピー含む、本発明1001のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1003]

前記核酸配列が、マウスM-CSF座で内因性のマウスM-CSFプロモーターに機能的に連結されている、本発明1001のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1004]

少なくとも1つのマウスM-CSF対立遺伝子においてヌル変異を含む、本発明1001のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1005]

ヌル変異がマウスM-CSFエキソン2~9の欠失である、本発明1004のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1006]

Rag2に関してホモ接合ヌルである、本発明1001のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1007]

IL2rgに関してホモ接合ヌルである、本発明1006のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1008]

ヒト細胞を含む、本発明1001のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1009]

前記ヒト細胞が造血細胞である、本発明1008のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1010]

ヒト病原体による感染症を含む、本発明1009のヒト化M-CSFマウス。

[本発明1011]

Rag2における2個のヌル変異；

IL2rgにおける2個のヌル変異；

マウスM-CSF遺伝子のプロモーターに機能的に連結された、ヒトM-CSFタンパク質をコードする核酸配列；および

ヒト造血細胞

を含む、ヒト造血系のマウスモデル。

[本発明1012]

前記核酸配列が、マウスM-CSF座で内因性のマウスM-CSFプロモーターに機能的に連結されている、本発明1011のマウスモデル。

[本発明1013]

マウスM-CSFに関してヌル欠失を含む、本発明1011のマウスモデル。

[本発明1014]

a . 野生型マウスにおけるマウスM-CSFの発現と同等のレベルで、骨髓、脾臓、血液、肝臓、脳、肺、精巣、および腎臓においてヒトM-CSFを発現すること；

b . hM-CSFを発現しない細胞生着マウスにおけるhCD14⁺CD33⁺より2倍から6倍高い脾臓のhCD14⁺CD33⁺細胞の出現率を示すこと；

c . hM-CSFを発現しない細胞生着マウスにおけるhCD14⁺CD33⁺より2倍から8倍高い末梢血のhCD14⁺CD33⁺細胞の出現率を示すこと；

d . 約15%から約40%のhCD14⁺CD33⁺単球 / マクロファージ系列細胞の血中レベルを示すこと；

e . 約20週齢で約5%から約15%のhCD14⁺CD33⁺単球 / マクロファージ系列細胞の血中レベルを示すこと；

f . ヒトM-CSFを欠如しているマウスより肝臓においてhCD14⁺CD33⁺細胞のパーセンテージに関して約1.5倍から約6倍大きい、LPS注射に対する反応を示すこと；

g . LPS注射後約48時間で脾臓においてhCD14⁺CD33⁺hCD45⁺細胞の產生の増強を示し、ここで、増強が、hM-CSFを欠如している細胞生着マウスに対して約2倍から約5倍である、こと；

h . LPSに反応して血清中ヒトIL-6の产生の増強を示し、ここで、LPS注射後約6時間でのhIL-6のレベルが、hM-CSFを欠如している細胞生着マウスに対して約2倍から約5倍増強される、こと；

i . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhTNF に関して約2倍から3倍高い、LPS刺激時の単球および / またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと；

j . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhIL-6に関して約2倍から4倍高い、LPS刺激時の単球および / またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと；

k . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhIFN に関して約3倍から6倍高い、poly I:C刺激時の単球および / またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと；

l . hM-CSF遺伝子を欠如している細胞生着マウスよりhIFN に関して約2倍から3倍高い、poly I:C刺激時の単球および / またはマクロファージによるインビトロ分泌を示すこと；

m . hM-CSF遺伝子を欠如している遺伝子改変細胞生着マウスと比較して増強された貪食を示すこと；

n . hM-CSF遺伝子を欠如している遺伝子改変細胞生着マウスと比較してMip3 に反応してインビトロで増強された走化性を示すこと；ならびに

o . LPS刺激に反応した共刺激分子のインビトロでのアップレギュレーションを示し、ここで、共刺激分子がヒトCD40、ヒトCD80、ヒトCD86、ヒトHLA-DRおよびそれらの組み合せから選択される、こと

から選択される1つまたは複数の特徴を示す、本発明1011のマウスモデル。

[本発明1015]

マウスが、前記特徴の2つまたはそれより多くを示す、本発明1014のマウスモデル。

[本発明1016]

マウスが、前記特徴の3つまたはそれより多くを示す、本発明1014のマウスモデル。

[本発明1017]

Rag2における2個のヌル変異；

IL2RGにおける2個のヌル変異；

マウスM-CSF遺伝子のプロモーターに機能的に連結された、ヒトM-CSFタンパク質をコードする核酸配列；

ヒト造血細胞；および

ヒト病原体による感染症

を含む、ヒト病原体のマウスモデル。

[本発明1018]

前記病原体がウイルス、真菌、および細菌から選択される、本発明1017のマウスモデル。

。

[本発明1019]

前記細菌がマイコバクテリウム (mycobacterium) または腸内細菌である、本発明1018のマウスモデル。