

【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 1 年 11 月 21 日 (2019.11.21)

【公表番号】特表 2018-534922 (P2018-534922A)

【公表日】平成 30 年 11 月 29 日 (2018.11.29)

【年通号数】公開・登録公報 2018-046

【出願番号】特願 2018-518686 (P2018-518686)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/85 (2006.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 N 15/867 (2006.01)

C 1 2 N 15/861 (2006.01)

C 1 2 N 15/86 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/85 Z N A Z

C 1 2 N 5/071

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/11 Z

C 0 7 K 14/47

C 1 2 N 15/867 Z

C 1 2 N 15/861 Z

C 1 2 N 15/86 Z

C 1 2 N 15/12

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 10 月 10 日 (2019.10.10)

【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】

非多能性細胞を初期化する方法であって、

a) (i) OCT 4、SOX 2、NANOG、KLF 4、LIN 28、C-MYC、ECAT 1、UTF 1、ESRRB、SV40LT、HESRG、CDH 1、TDGF 1、DPPA 4、DNMT 3B、ZIC 3 及び L 1TD 1 からなる群から選択した 1 つ又は複数のポリペプチドをコードする 1 つ又は複数のポリヌクレオチドと、(ii) HESRG、CDH 1、TDGF 1、DPPA 4、DNMT 3B、ZIC 3 及び L 1TD 1 からなる群から選択した 1 つ又は複数のポリペプチドをコードする 1 つ又は複数のポリヌクレオチドとを、前記非多能性細胞に導入すること、又は、

b) (i) OCT 4、SOX 2、NANOG、KLF 4、LIN 28、C-MYC、ECAT 1、UTF 1、ESRRB、SV40LT、HESRG、CDH 1、TDGF 1、DPPA 4、DNMT 3B、ZIC 3 及び L 1TD 1 からなる群から選択した 1 つ又は複数のポリペプチドと、(ii) HESRG、CDH 1、TDGF 1、DPPA 4、DNM

T 3 B、Z I C 3 及び L 1 T D 1 からなる群から選択した 1 つ又は複数のポリペプチドとを、前記非多能性細胞に接触させることを含む、方法。

【請求項 2】

1 つ又は複数のポリヌクレオチドが 1 つ又は複数のコンストラクトに含まれ、それぞれのコンストラクトは同じ又は異なる数のポリヌクレオチド又は / 及びポリヌクレオチドの組み合わせを含み、前記 1 つ又は複数のコンストラクトはベクターにより非多能性細胞に導入される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

1 つ又は複数のポリヌクレオチドを前記非多能性細胞に導入することは、1 つ又は複数のベクターであって、各ベクターが (i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 2 つの O C T 4、(i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの O C T 4 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの N A N O G、(i i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの O C T 4 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの E S R R B、(i v) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの E C A T 1 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの U T F 1、(v) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの O C T 4、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの E S R R B、及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの N A N O G、(v i) ポリヌクレオチドをコードする、C D H 1、Z I C 3 及び H E S R G のうちの少なくとも 1 つ、(v i i) ポリヌクレオチドをコードする、L 1 T D 1、D P P A 4 及び T D G F 1 のうちの少なくとも 1 つ、又は、(v i i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの D N M T 3 B、を含むものである前記 1 つ又は複数のベクターを導入することを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

1 つ又は複数のポリヌクレオチドを前記非多能性細胞に導入することは、

(a) 1 つ又は複数のベクターであって、各ベクターが (i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 2 つの O C T 4、(i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの O C T 4 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの N A N O G、(i i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの O C T 4 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの E S R R B、(i v) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの E C A T 1 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの U T F 1、又は、(v) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの O C T 4、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの E S R R B 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの N A N O G、を含むものである前記 1 つ又は複数のベクターを導入することと、

(b) 1 つ又は複数のベクターであって、各ベクターが (1) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの C D H 1、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの Z I C 3 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの H E S R G、(i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの L 1 T D 1、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの D P P A 4 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの T D G F 1、又は、(i i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも 1 つの D N M T 3 B、を含むものである前記 1 つ又は複数のベクターを導入することを含む、請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】

前記 1 つ又は複数のポリヌクレオチドは、

(a) N a n o g、E S R R B 及び O c t 4 のうちの 1 つ又は複数にコードする 1 つ又は複数のポリヌクレオチド、

(b) E C A T 1 及び U T F 1 のうちの一方又は両方をコードする 1 つ又は複数のポリヌクレオチド、

(c) L 1 T D 1、D P P A 4 及び T D G F 1 のうちの 1 つ又は複数にコードする 1 つ又は複数のポリヌクレオチド、又は、

(d) C D H 1、Z I C 3 及び H E S R G のうちの 1 つ又は複数にコードする 1 つ又は

複数のポリヌクレオチド、を含むベクターのうちの少なくとも1つによって導入する、請求項1記載の方法。

【請求項6】

前記1つ又は複数のポリヌクレオチドは、O c t 4をコードする1つ又は複数のポリヌクレオチドを含むベクターと、

(a) N a n o g、E S R R B 及び O c t 4 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、

(b) E C A T 1 及び U T F 1 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、

(c) L 1 T D 1、D P P A 4 及び T D G F 1 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、ならびに、

(d) C D H 1、Z I C 3 及び H E S R G をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、のうちの少なくとも1つとによって導入する、請求項5記載の方法。

【請求項7】

前記ベクターが、レトロウイルス、センダイウイルス、アデノウイルス、エピソード、プラスミド、ミニサークル、発現カセットを有するベクターシステム、又はmRNAである、請求項2に記載の方法。

【請求項8】

前記ベクターはセンダイウイルスである、請求項7記載の方法。

【請求項9】

コンストラクトに含まれる前記1つ又は複数のポリヌクレオチドは、少なくとも1つの自己切断ポリペプチドにより連結されている、請求項2記載の方法。

【請求項10】

前記方法が、以下の特徴のうち少なくとも一つを有する、請求項1記載の方法；

(i) 前記非多能性細胞が多能性細胞に初期化される、(i i) 前記非多能性細胞が体細胞である、又は(i i i) 前記1つ又は複数のポリペプチドが S O X 2、K L F 4、及び c - M y c の少なくとも一つを除外する。

【請求項11】

非多能性細胞を多能性細胞に初期化することに関する組成物であって、非多能性細胞の集団を含むものであり、前記非多能性細胞は、(i) O C T 4、S O X 2、N A N O G、K L F 4、L I N 2 8、C - M Y C、E C A T 1、U T F 1、E S R R B、S V 4 0 L T からなる群から選択した1つ又は複数のポリペプチド又は外因性ポリヌクレオチド及び、(i i) H E S R G、C D H 1、T D G F 1、D P P A 4、D N M T 3 B、Z I C 3 及び L 1 T D 1 からなる群から選択した1つ又は複数のポリペプチド又は外因性ポリヌクレオチドとを含む、組成物。

【請求項12】

非多能性細胞の集団を更に含む、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

1つ又は複数の外因性ポリヌクレオチドが1つ又は複数のコンストラクトに含まれ、それぞれのコンストラクトが同じ又は異なる数の同一ポリペプチド及び/又はポリペプチドの組み合わせを含む、請求項11に記載の方法。

【請求項14】

前記1つ又は複数のコンストラクトが、以下のうち少なくとも一つを含む、請求項13に記載の組成物；

(i) O C T 4、E S R R B、E C A T 1、U T F 1、及び N A N O G からなる群から選択される1つ又は複数のポリペプチドをコードする1つ又は複数のポリヌクレオチド；

C D H 1、Z I C 3、H E S R G、L 1 T D 1、D P P A 4、T D G F 1、及び D N M T 3 B からなる群から選択される1つ又はそれ以上のポリペプチドをコードする1つ又はそれ以上の追加のポリヌクレオチド、(i i) O C T 4 をコードする少なくとも2つのポリヌクレオチド、(i i i) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つの O C T 4 及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つの N A N O G、(i v) ポリヌクレオチド

をコードする少なくとも1つのOCT4及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのESRRB、(v)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのECAT1及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのUTF1、及び/又は、(vi)少なくとも1つのOCT4をコードするポリヌクレオチド、少なくとも1つのESRRBをコードするポリヌクレオチド、及び少なくとも1つのNANOGをコードするポリヌクレオチド、

ここで、1つ又は複数のコンストラクトは、1つ又は複数のSOX2、KLF、及びc-Mycを場合により含まない。

【請求項15】

前記1つ又は複数のコンストラクトが、以下のうち少なくとも一つを含む、請求項13記載の組成物：(i)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのCDH1、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのZIC3及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのHESRG、(ii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのL1TD1、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのDPPA4及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのTDGF1、ならびに/又は、(iii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのDNMT3B。

【請求項16】

前記1つ又は複数のコンストラクトが以下の少なくとも一つを含む、請求項13記載の組成物。

(i)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも2つのOCT4、(ii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのOCT4及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのNANOG、(iii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのOCT4及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのESRRB、(iv)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのECAT1及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのUTF1、(v)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのOCT4、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのESRRB及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのNANOG、(vi)ポリヌクレオチドをコードする、CDH1、ZIC3及びHESRGのうちの少なくとも1つ、(vii)ポリヌクレオチドをコードする、L1TD1、DPPA4及びTDGF1のうちの少なくとも1つ、又は、(viii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのDNMT3B。

【請求項17】

前記1つ又はそれ以上のコンストラクトが、グループ(a)からの少なくとも1つの組み合わせ及びグループ(b)からの少なくとも1つの組み合わせを含む、請求項13記載の組成物：

(a)：

(i)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも2つのOCT4；
 (ii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのOCT4及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのNANOG；
 (iii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのOCT4及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのESRRB；
 (iv)少なくとも1つのECAT1をコードするポリヌクレオチド及び少なくとも1つのUTF1をコードするポリヌクレオチド；又は
 (v)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのOCT4、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのESRRB、及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのNANOG。及び、

(b)：

(i)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのCDH1、ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのZIC3、及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのHESRG；
 (ii)ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのL1TD1、ポリヌクレオチド

をコードする少なくとも1つのDPPA4、及びポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのTDGF1；又は

(iii) ポリヌクレオチドをコードする少なくとも1つのDNMT3B。

【請求項18】

非多能性細胞が以下の組み合わせの少なくとも1つを含む、請求項12に記載の組成物：

(a) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするNanog、ESRRB及びOCT4、

(b) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするECAT1及びUTF1、

(c) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするL1TD1、DPPA4及びTDGF1、又は

(d) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするCDH1、ZIC3、及びHESRG。

【請求項19】

1つ又は複数のコンストラクトが、レトロウイルス、センダイウイルス、アデノウイルス、エピソード、プラスミド、ミニサークル、又はmRNAによって非多能性細胞に導入され得る、請求項13に記載の組成物。

【請求項20】

非多能性細胞を初期化する方法であって、

(a) OCT4及び、任意にKLF、Sox2、Myo、Nanog及びESRRBのうちの1つ又は複数とをコードする、1つ又は複数のポリヌクレオチドを、前記非多能性細胞に導入すること、及び、

(b) ECAT1、UTF1、L1TD1、DPPA4、TDGF1、CDH1、ZIC3及びHESRGのうちの少なくとも1つをコードする、1つ又は複数のポリヌクレオチドを、前記非多能性細胞に導入すること、及び、それによって多能性細胞を取得することを含む、方法。

【請求項21】

前記(a)及び(b)の1つ又は複数のポリヌクレオチドは、1つ又は複数のコンストラクトに含まれ、及び前記コンストラクトは同じ又は異なる数の同一ポリペプチド及び/又はポリペプチドの組み合わせを含む、請求項20記載の方法。

【請求項22】

1つ以上のコンストラクトが、以下のうちの少なくとも1つを含む、請求項21に記載の方法：

(a) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするNanog、ESRRB及びOCT4；

(b) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするECAT1及びUTF1；

(c) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするL1TD1、DPPA4及びTDGF1；又は

(d) 1つ又は複数のポリヌクレオチドをコードするCDH1、ZIC3、及びHESRG。

【請求項23】

少なくとも1つのコンストラクトが、OCT4をコードする少なくとも2つのポリヌクレオチドを含む、請求項21記載の方法。

【請求項24】

1つ以上のコンストラクトが、レトロウイルス、センダイウイルス、アデノウイルス、エピソード、プラスミド、ミニサークル、又はmRNAによって非多能性細胞に導入される、請求項21記載の方法。

【請求項25】

ベクターコンストラクトがセンダイウイルスによって導入される、請求項24記載の方法。

【請求項 26】

センダイウイルスを用いて非多能性細胞を再プログラミングする方法であって、

(a) OCT4 及び、1つ又はそれ以上の KLF、Sox2、Myc、Nanog 及び ESRRB を任意にコードする1つ又はそれ以上のポリヌクレオチドを、前記非多能性細胞に導入すること、及び、

(b) ECAT1、UTF1、L1TD1、DPPA4、TDGF1、CDH1、ZIC3 及び HESRG のうちの少なくとも1つをコードする1つ又はそれ以上のポリヌクレオチドを、前記非多能性細胞に導入すること、及び、

それによって多能性細胞を取得することを含む、方法。

【請求項 27】

(a) 及び (b) の前記1つ又は複数のポリヌクレオチドは、1つ又は複数のベクターによって導入され、前記1つ又は複数のポリヌクレオチドは、同一又は異なるポリペプチドをコードする、請求項 26 記載の方法。

【請求項 28】

ベクターのうちの1つ又は複数が、

(a) Nanog、ESRRB 及び Oct4 のうちの1つ又は複数をコードする1つ又は複数のポリヌクレオチド、

(b) ECAT1 及び UTF1 のうちの一方又は両方をコードする1つ又は複数のポリヌクレオチド、

(c) L1TD1、DPPA4 及び TDGF1 のうちの1つ又は複数をコードする1つ又は複数のポリヌクレオチド、又は、

(d) CDH1、ZIC3 及び HESRG のうちの1つ又は複数をコードするポリヌクレオチドのうちの1つ又は複数、を含むコンストラクトを含む、請求項 27 記載の方法。

【請求項 29】

前記1つ又は複数のポリヌクレオチドは、Oct4 をコードする1つ又は複数のポリヌクレオチドを含むベクターと、

(a) Nanog、ESRRB 及び Oct4 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、

(b) ECAT1 及び UTF1 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、

(c) L1TD1、DPPA4 及び TDGF1 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、ならびに、

(d) CDH1、ZIC3 及び HESRG をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、のうちの少なくとも1つとを介して導入するものであって、

前記ベクターは、センダイウイルスによって運ばれる、請求項 26 記載の方法。

【請求項 30】

センダイウイルスを用いて非多能性細胞を初期化する方法であって、

(a) OCT4 と、任意に KLF、Sox2、Myc、Nanog 及び ESRRB のうちの1つ又は複数とをコードするポリヌクレオチドを、前記非多能性細胞に導入することと、

(b)

(i) ECAT1 及び UTF1 のうちの一方又は両方をコードするポリヌクレオチド、

(ii) L1TD1、DPPA4 及び TDGF1 のうちの1つ又は複数をコードするポリヌクレオチド、又は、

(iii) CDH1、ZIC3 及び HESRG のうちの1つ又は複数をコードするポリヌクレオチド、を含むコンストラクトのうちの1つを前記非多能性細胞に導入することと

、

それによって多能性細胞を取得することを含む、方法。

【請求項 31】

前記1つ又は複数のポリヌクレオチドは、OCT4 をコードする1つ又は複数のポリヌクレオチドを含むベクターと、

- (a) N a n o g、E S R R B 及び O C T 4 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、
 - (b) E C A T 1 及び U T F 1 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、
 - (c) L 1 T D 1、D P P A 4 及び T D G F 1 をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、ならびに、
 - (d) C D H 1、Z I C 3 及び H E S R G をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、のうちの少なくとも 1 つとを介して導入するものであって、
- 前記ベクターは、センダイウイルスによって運ばれる、請求項 3 0 記載の方法。