

【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 12 N	15/85	(2006.01)
C 12 N	5/071	(2010.01)
C 12 N	5/10	(2006.01)
C 12 N	15/11	(2006.01)
C 07 K	14/47	(2006.01)
C 12 N	15/867	(2006.01)
C 12 N	15/861	(2006.01)
C 12 N	15/86	(2006.01)
C 12 N	15/12	(2006.01)

【F I】

C 12 N	15/85	Z N A Z
C 12 N	5/071	
C 12 N	5/10	
C 12 N	15/11	Z
C 07 K	14/47	
C 12 N	15/867	Z
C 12 N	15/861	Z
C 12 N	15/86	Z
C 12 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) OCT4、SOX2、NANOG、KLF4、LIN28、C-MYC、E-CAT1、UTF1、ESRRB、SV40LT、HESRG、CDH1、TDGF1、DPPA4、DNMT3B、ZIC3及びL1TD1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、CDH1、TDGF1、DPPA4、DNMT3B、ZIC3及びL1TD1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) OCT4、SOX2、NANOG、KLF4、LIN28、C-MYC、E-CAT1、UTF1、ESRRB、SV40LT、HESRG、CDH1、TDGF1、DPPA4、DNMT3B、ZIC3及びL1TD1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、CDH1、TDGF1、DPPA4、DNMT3B、ZIC3及びL1TD1からなる群から選択した1つ又は複数のポリヌクレオチドと、

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ノ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つ又は複数をコードする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つ又は複数をコードする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、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、エピソーム、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、(ii) 前記非多能性細胞が体細胞である、又は(iii) 前記1つ又は複数のポリペプチドがSOX2、KLF4、及びc-MYC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) OCT4、SOX2、NANOG、KLF4、LINC28、C-MYC、ECAT1、UTF1、ESRRB、SV40LT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、(ii) HESRG、CDH1、TDGF1、DPPA4、DNMT3B、ZIC3及びL1TD1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) OCT4、ESRRB、ECAT1、UTF1、及びNANOG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；CDH1、ZIC3、HESRG、L1TD1、DPPA4、TDGF1、及びDNMT3B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、(ii) OCT4をコードする少なくとも2つのポリヌクレオチド、(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NANOG、(iv) 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】**

前記一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、エピソーム、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、Myc、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、エピソーム、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、MyoG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、MyoG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 30 記載の方法。