

【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4年1月18日(2022.1.18)

【公開番号】特開2021-184734(P2021-184734A)

【公開日】令和3年12月9日(2021.12.9)

【年通号数】公開・登録公報2021-059

【出願番号】特願2021-130440(P2021-130440)

【国際特許分類】

C 12 N 15/864 (2006.01)

10

【F I】

C 12 N 15/864 1 0 0 Z

C 12 N 15/864 Z

【手続補正書】

【提出日】令和4年1月7日(2022.1.7)

【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

20

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

(i) 第1のスペーサー (SS1) ;

(i i) 第1のアデノ随伴ウイルス (AAV) 逆位末端反復配列 (ITR1) ;

(i i i) 異種ポリヌクレオチド分子 (HPM) ;

(i v) 第2のAAV逆位末端反復配列 (ITR2) ; および

(v) 第2のスペーサー (SS2) を含んでなり、

構成要素が5' 3' 方向に : SS1 - ITR1 - HPM - ITR2 - SS2 のとおりに互いに作動可能に連結されている核酸分子であって、

SS1は、ITR1に直接隣接してITR1の外側にあり、およびSS2は、ITR2に直接隣接してITR2の外側にあり、ならびに

SS1およびSS2は、原核生物起源の核酸を含まない、前記核酸分子。

【請求項2】

(i) 第1のスペーサー (SS1) ;

(i i) 第1のAAV逆位末端反復配列 (ITR1) ;

(i i i) クローニング部位 (CS) ;

(i v) 第2のAAV逆位末端反復配列 (ITR2) ; および

(v) 第2のスペーサー (SS2) を含んでなり、

構成要素が5' 3' 方向に : SS1 - ITR1 - CS - ITR2 - SS2 のとおりに互いに作動可能に連結されている核酸分子であって、

SS1は、ITR1に直接隣接してITR1の外側にあり、およびSS2は、ITR2に直接隣接してITR2の外側にあり、ならびに

SS1およびSS2は、原核生物起源の核酸を含まない、前記核酸分子。

【請求項3】

(v i) 真核生物プロモーター (PEuk) をさらに含んでなり、

構成要素が5' 3' 方向に : SS1 - ITR1 - PEuk - HPM - ITR2 - SS2 のとおりに互いに作動可能に連結されている、請求項1に記載の核酸分子。

【請求項4】

PEukが、組織特異的プロモーターまたは構成的プロモーターである、請求項3に記

50

載の核酸分子。

【請求項 5】

組織特異的プロモーターが、肝臓特異的プロモーター、筋特異的プロモーターまたは神経特異的プロモーターを含んでなる、請求項 4 に記載の核酸分子。

【請求項 6】

構成的プロモーターが、サイトメガロウイルスプロモーターまたはニワトリ アクチンプロモーターを含んでなる、請求項 4 に記載の核酸分子。

【請求項 7】

H P M が、阻害性 R N A 分子をコードする、請求項 3 に記載の核酸分子。

【請求項 8】

阻害性 R N A 分子が、小もしくは短ヘアピン R N A (s h R N A) 、マイクロ R N A (m i R N A) 、小もしくは短干渉 (s i) R N A 、トランススプライシング R N A 、アンチセンス R N A およびリボザイムからなる群から選択される、請求項 7 に記載の核酸分子。

【請求項 9】

H P M が、ポリペプチドをコードする、請求項 3 に記載の核酸分子であって、(v i i) ポリアデニル化部位 (p A) をさらに含んでなり、

構成要素が 5 ' 3 ' 方向に : S S 1 - I T R 1 - P u k - H P M - p A - I T R 2 - S S 2

のとおりに互いに作動可能に連結されている、前記核酸分子。

【請求項 10】

p A 部位が、ヒト グロビンポリアデニル化部位、S V 4 0 後期ポリアデニル化部位、S V 4 0 初期ポリアデニル化部位、またはウシ成長ホルモンポリアデニル化部位を含んでなる、請求項 9 に記載の核酸分子。

【請求項 11】

S S 1 または S S 2 が、S S 1 または S S 2 の核酸配列全体の 1 % 未満である総 C p G 含有率を含んでなる、請求項 1 に記載の核酸分子。

【請求項 12】

S S 1 または S S 2 が、S S 1 または S S 2 の核酸配列全体の 0 . 5 % 未満である総 C p G 含有率を含んでなる、請求項 1 1 に記載の核酸分子。

【請求項 13】

S S 1 または S S 2 が、エンハンサーを含んでなる、請求項 1 に記載の核酸分子。

【請求項 14】

エンハンサーが、組織特異的エンハンサーである、請求項 1 3 に記載の核酸分子。

【請求項 15】

組織特異的エンハンサーが、肝臓特異的エンハンサー、筋特異的エンハンサーおよび神経特異的エンハンサーからなる群から選択される、請求項 1 4 に記載の核酸分子。

【請求項 16】

組織特異的エンハンサーが、a p o E エンハンサー、a p o C 1 エンハンサーまたはこの両方を含んでなる肝臓特異的エンハンサーである、請求項 1 5 に記載の核酸分子。

【請求項 17】

H P M と、S S 1 または S S 2 とが、合わせて長さ約 5 . 0 K b ~ 約 1 0 . 0 K b である、請求項 1 に記載の核酸分子。

【請求項 18】

S S 1 、 S S 2 および H P M が、合わせて長さ約 1 0 . 0 K b ~ 約 1 5 . 0 K b である、請求項 1 に記載の核酸分子。

【請求項 19】

I T R 1 および I T R 2 が、A A V 血清型 2 型からの I T R である、請求項 1 に記載の核酸分子。

【請求項 20】

10

20

30

40

50

請求項 1 に記載の核酸分子を含んでなるベクター。

【請求項 2 1】

S S 1 の 5' 側または S S 2 の 3' 側に位置する選択可能マークー遺伝子に対して作動可能に連結された原核生物プロモーターをさらに含んでなる、請求項 2 0 に記載のベクター。

【請求項 2 2】

選択可能マークー遺伝子が、抗生物質抵抗性遺伝子である、請求項 2 1 に記載のベクター。

【請求項 2 3】

S S 1 の 5' 側または S S 2 の 3' 側に位置する原核生物性の複製起点をさらに含んでなる、請求項 2 2 に記載のベクター。

10

【請求項 2 4】

核酸分子が、環状であるかまたは直線状である、請求項 2 0 に記載のベクター。

【請求項 2 5】

請求項 2 0 に記載のベクターを含んでなる、単離された宿主細胞。

【請求項 2 6】

原核細胞である、請求項 2 5 に記載の単離された宿主細胞。

【請求項 2 7】

原核細胞が、細菌細胞である、請求項 2 6 に記載の単離された宿主細胞。

20

【請求項 2 8】

細菌細胞が、大腸菌細胞である、請求項 2 7 に記載の単離された宿主細胞。

【請求項 2 9】

真核細胞である、請求項 2 5 に記載の単離された宿主細胞。

【請求項 3 0】

真核細胞が、昆虫細胞または哺乳動物細胞である、請求項 2 9 に記載の単離された宿主細胞。

【請求項 3 1】

哺乳動物細胞が、H E K 2 9 3 細胞または H e L a 細胞である、請求項 3 0 に記載の単離された宿主細胞。

30

40

50