

【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31年4月11日 (2019.4.11)

【公表番号】特表2018-514208(P2018-514208A)

【公表日】平成30年6月7日 (2018.6.7)

【年通号数】公開・登録公報2018-021

【出願番号】特願2017-555766(P2017-555766)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (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 P 21/02 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/075 (2006.01)

C 0 7 K 7/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/085 (2006.01)

C 0 7 K 14/705 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

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 P 21/02 C

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 14/075

C 0 7 K 7/00

C 0 7 K 14/09

C 0 7 K 14/085

C 0 7 K 14/705

【手続補正書】

【提出日】平成31年2月26日 (2019.2.26)

【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】

次の構造：

A - X - B

を含む核酸構築物であって、

式中

A および B は、第 1 の目的のポリペプチド (P O I) および第 2 の P O I をコードする核酸配列であり；

Xは切断部位をコードする核酸配列であり、
前記第1のPOIまたは前記第2のPOIのいずれかが細胞内保持シグナルを含む膜貫通タンパク質である、核酸構築物。

【請求項2】

前記膜貫通タンパク質が前記細胞内保持シグナルを含むエンドドメインを含む、請求項1に記載の核酸構築物。

【請求項3】

前記細胞内保持シグナルが前記膜貫通タンパク質を分泌経路に向かわないように方向付ける、請求項1または2に記載の核酸構築物。

【請求項4】

前記細胞内保持シグナルが前記膜貫通タンパク質を膜結合細胞内コンパートメントへと方向付ける、請求項1から3のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項5】

前記細胞内保持シグナルが前記膜貫通タンパク質をリソソーム、エンドソームまたはゴルジコンパートメントへと方向付ける、請求項1から4のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項6】

前記細胞内保持シグナルが、次の群：エンドサイトーシスシグナル；ゴルジ保持シグナル；trans-ゴルジネットワーク(TGN)リサイクリングシグナル；小胞体(ER)保持シグナル；およびリソソームソーティングシグナルから選択される、請求項1から5のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項7】

前記細胞内保持シグナルが、チロシンベースソーティングシグナル、ジロイシンベースソーティングシグナル、酸性クラスターシグナル、リソソーム回避シグナル、NPFX'(1,2)D型シグナル、KDEL、KKX'X'またはKX'KX'X'シグナル(式中X'は任意のアミノ酸である)である、請求項1から6のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項8】

前記細胞内保持シグナルが、NPX'Y、YX'X'Z、[DE]X'X'X'LL[LI]、DX'X'LL、DP[FW]、FX'DX'F、NPF、LZX'Z[DE]、LLDLL、PWDLW、KDEL、HDEL、KKX'X'またはKX'KX'X'の群から選択される配列を含み；式中X'は任意のアミノ酸であり、Z'はかさ高い疎水性側鎖を有するアミノ酸である、請求項1から7のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項9】

前記細胞内保持シグナルが、表2から6に示される任意の配列を含む、請求項1から8のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項10】

前記細胞内保持シグナルが、チロシナーゼ関連タンパク質(TYRP)-1細胞内保持シグナルまたはアデノウイルスE3/19K保持シグナルを含む、請求項1から9のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項11】

前記細胞内保持シグナルが、配列NQPLLTD(配列番号35)、KYKSRRSFIDEKKMP(配列番号36)またはDEKKMP(配列番号37)を含む、請求項1から10のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項12】

前記細胞内保持シグナルが、前記膜貫通タンパク質の膜貫通ドメインに対して近位である、請求項1から11のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項13】

前記細胞内保持シグナルが、前記膜貫通タンパク質の膜貫通ドメインに対して遠位である、請求項1から11のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項14】

X が、自己切断ペプチド、フューリン切断部位またはタバコエッチウイルス切断部位をコードする核酸配列である、請求項 1 から 1 3 のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項 1 5】

X が、アフトもしくはカルジオウイルス由来の 2 A 自己切断ペプチドまたは 2 A 様ペプチドをコードする、請求項 1 4 に記載の核酸構築物。

【請求項 1 6】

前記膜貫通タンパク質がキメラ抗原受容体 (CAR) である、請求項 1 5 に記載の核酸構築物。

【請求項 1 7】

前記第 1 の POI および前記第 2 の POI のそれぞれが膜貫通タンパク質であり、前記膜貫通タンパク質の少なくとも 1 つが、請求項 3 から 1 1 のいずれかに記載の細胞内保持シグナルを含む、請求項 1 から 1 6 のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項 1 8】

前記第 1 の POI および前記第 2 の POI の 1 つまたは両方が、1 回貫通型膜貫通タンパク質である、請求項 1 から 1 7 のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項 1 9】

前記第 1 の POI および前記第 2 の POI の 1 つまたは両方が、I 型膜貫通タンパク質である、請求項 1 8 に記載の核酸構築物。

【請求項 2 0】

次の構造：

A - X - B - Y - C

を含む核酸構築物であって、

式中

A、B および C は、第 1 の目的のポリペプチド (POI)、第 2 の POI および第 3 の POI をコードする核酸配列であり；

X および Y は、同じまたは異なっていてよい核酸配列であり、それぞれが切断部位をコードし、

前記 POI の少なくとも 2 つが細胞内保持シグナルを含む膜貫通タンパク質である、核酸構築物。

【請求項 2 1】

膜貫通タンパク質であり、細胞内保持シグナルを含む前記少なくとも 2 つが：

(a) 異なる細胞内保持シグナルを含む；および / または

(b) 前記核酸が細胞において発現される場合に、細胞表面での前記少なくとも 2 つの POI の相対発現に差があるように前記 POI 中の異なる位置に位置している前記細胞内保持シグナルを有する、

請求項 2 0 に記載の核酸構築物。

【請求項 2 2】

請求項 1 から 2 1 のいずれかに記載の核酸構築物を含むベクター。

【請求項 2 3】

請求項 2 2 に記載のレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターまたはトランスポゾン。

【請求項 2 4】

請求項 1 から 2 1 のいずれか一項に記載の核酸構築物または請求項 2 2 もしくは 2 3 に記載のベクターを含む細胞。

【請求項 2 5】

膜貫通タンパク質をコードする核酸配列中に細胞内保持シグナルを含めることによって、第 2 のタンパク質を伴って単一の核酸構築物から発現される前記膜貫通タンパク質の相対的な細胞表面発現を調節するための方法。

【請求項 2 6】

前記核酸配列が、請求項 1 から 2 1 のいずれかにおいて規定される、請求項 2 5 に記載

の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0036】

本発明は、連結されたポリペプチドとして発現され、切断部位によって分離される3つまたはそれを超えるタンパク質の相対発現およびさまざまな活性の保持シグナルによって決定される相対表面発現を調節するために拡張されてよい。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

次の構造：

A - X - B

を含む核酸構築物であって、
式中

AおよびBは、第1の目的のポリペプチド(POI)および第2のPOIをコードする核酸配列であり；

Xは切断部位をコードする核酸配列であり、

前記第1のPOIまたは前記第2のPOIのいずれかが細胞内保持シグナルを含む膜貫通タンパク質である、核酸構築物。

(項目2)

前記膜貫通タンパク質が前記細胞内保持シグナルを含むエンドドメインを含む、項目1に記載の核酸構築物。

(項目3)

前記細胞内保持シグナルが前記膜貫通タンパク質を分泌経路に向かわないように方向付ける、項目1または2に記載の核酸構築物。

(項目4)

前記細胞内保持シグナルが前記膜貫通タンパク質を膜結合細胞内コンパートメントへと方向付ける、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目5)

前記細胞内保持シグナルが前記膜貫通タンパク質をリソソーム、エンドソームまたはゴルジコンパートメントへと方向付ける、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目6)

前記細胞内保持シグナルが、次の群：エンドサイトーシスシグナル；ゴルジ保持シグナル；trans-ゴルジネットワーク(TGN)リサイクリングシグナル；小胞体(ER)保持シグナル；およびリソソームソーティングシグナルから選択される、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目7)

前記細胞内保持シグナルが、チロシンベースソーティングシグナル、ジロイシンベースソーティングシグナル、酸性クラスターシグナル、リソソーム回避シグナル、NPFX'(1,2)D型シグナル、KDEL、KKX'X'またはKX'KX'X'シグナル(式中X'は任意のアミノ酸である)である、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目8)

前記細胞内保持シグナルが、NPX'Y、YX'X'Z、[DE]X'X'X'LL[LI]、DX'X'LL、DP[FW]、FX'DX'F、NPF、LZX'Z[DE]、LLDLL、PWDLW、KDEL、HDEL、KKX'X'またはKX'KX'X'の群から選択される配列を含み；式中X'は任意のアミノ酸であり、Z'はかさ高い疎水性側鎖を有するアミノ酸である、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 9)

前記細胞内保持シグナルが、表 2 から 6 に示される任意の配列を含む、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 0)

前記細胞内保持シグナルが、チロシナーゼ関連タンパク質 (T Y R P) - 1 細胞内保持シグナルまたはアデノウイルス E 3 / 1 9 K 保持シグナルを含む、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 1)

前記細胞内保持シグナルが、配列 N Q P L L T D (配列番号 3 5)、K Y K S R R S F I D E K K M P (配列番号 3 6) または D E K K M P (配列番号 3 7) を含む、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 2)

前記細胞内保持シグナルが、前記膜貫通タンパク質の膜貫通ドメインに対して近位である、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 3)

前記細胞内保持シグナルが、前記膜貫通タンパク質の膜貫通ドメインに対して遠位である、項目 1 から 1 1 のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 4)

X が、自己切断ペプチド、フューリン切断部位またはタバコエッチウイルス切断部位をコードする核酸配列である、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 5)

X が、アフトもしくはカルジオウイルス由来の 2 A 自己切断ペプチドまたは 2 A 様ペプチドをコードする、項目 1 4 に記載の核酸構築物。

(項目 1 6)

前記膜貫通タンパク質がキメラ抗原受容体 (C A R) である、項目 1 5 に記載の核酸構築物。

(項目 1 7)

前記第 1 の P O I および前記第 2 の P O I のそれぞれが膜貫通タンパク質であり、前記膜貫通タンパク質の少なくとも 1 つが、項目 3 から 1 1 のいずれかに記載の細胞内保持シグナルを含む、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 8)

前記第 1 の P O I および前記第 2 の P O I の 1 つまたは両方が、1 回貫通型膜貫通タンパク質である、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目 1 9)

前記第 1 の P O I および前記第 2 の P O I の 1 つまたは両方が、I 型膜貫通タンパク質である、項目 1 8 に記載の核酸構築物。

(項目 2 0)

次の構造：

A - X - B - Y - C

を含む核酸構築物であって、
式中

A、B および C は、第 1 の目的のポリペプチド (P O I)、第 2 の P O I および第 3 の P O I をコードする核酸配列であり；

X および Y は、同じまたは異なっていてよい核酸配列であり、それぞれが切断部位をコードし、

前記 P O I の少なくとも 2 つが細胞内保持シグナルを含む膜貫通タンパク質である、核酸構築物。

(項目 2 1)

膜貫通タンパク質であり、細胞内保持シグナルを含む前記少なくとも 2 つが：

(a) 異なる細胞内保持シグナルを含む；および / または

(b) 前記核酸が細胞において発現される場合に、細胞表面での前記少なくとも 2 つの P O I の相対発現に差があるように前記 P O I 中の異なる位置に位置している前記細胞内保持シグナルを有する、

項目 2 0 に記載の核酸構築物。

(項目 2 2)

前記項目のいずれかに記載の核酸構築物を含むベクター。

(項目 2 3)

項目 2 2 に記載のレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターまたはトランスポゾン。

(項目 2 4)

項目 1 から 2 1 のいずれか一項に記載の核酸構築物または項目 2 2 もしくは 2 3 に記載のベクターを含む細胞。

(項目 2 5)

膜貫通タンパク質をコードする核酸配列中に細胞内保持シグナルを含めることによって、第 2 のタンパク質を伴って単一の核酸構築物から発現される前記膜貫通タンパク質の相対的な細胞表面発現を調節するための方法。

(項目 2 6)

前記核酸配列が、項目 1 から 2 1 のいずれかにおいて規定される、項目 2 5 に記載の方法。