

【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(POL)および第2のPOL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 P O I または前記第 2 の P O I 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 (T G N) リサイクリングシグナル；小胞体 (E R) 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、N P F X , (1, 2) D 型シグナル、K D E L、K K X ' X ' またはK X ' K X ' 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、N P X ' Y、Y X ' X ' Z、[D E] X ' X ' X ' L [L I]、D X ' X ' L L、D P [F W]、F X ' D X ' F、N P F、L Z X ' Z [D E]、L L D L L、P W D L W、K D E L、H D E L、K K X ' X ' またはK X ' K X ' 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 (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、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 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、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13のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項15】

Xが、アフトもしくはカルジオウイルス由来の2A自己切断ペプチドまたは2A様ペプチドをコードする、請求項14に記載の核酸構築物。

【請求項16】

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15に記載の核酸構築物。

【請求項17】

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11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16のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項18】

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17のいずれかに記載の核酸構築物。

【請求項19】

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18に記載の核酸構築物。

【請求項20】

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21】

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20に記載の核酸構築物。

【請求項22】

請求項1から21のいずれかに記載の核酸構築物を含むベクター。

【請求項23】

請求項22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24】

請求項1から21のいずれか一項に記載の核酸構築物または請求項22もしくは23に記載のベクターを含む細胞。

【請求項25】

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26】

前記核酸配列が、請求項1から21のいずれかにおいて規定される、請求項25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、KKX¹X²またはKX¹KX²X³シグナル(式中X¹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、NPX¹Y、YX¹X²Z、[DE]X¹X²X³L[L¹]、DX¹X²LL、DP[FW]、FX¹DX²F、NPF、LZX¹Z[DE]、LLDL¹L、PWDLW、KDEL、HDEL、KKX¹X²またはKX¹KX²X³の群から選択される配列を含み；式中X¹は任意のアミノ酸であり、Z¹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、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目11)

前記細胞内保持シグナルが、配列NQPLLT(D(配列番号35)、KYKSRRSFIDEKKMP(配列番号36)またはDEKKMP(配列番号37)を含む、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目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、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目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、項目1から11のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目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ャ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15)

Xが、アフトもしくはカルジオウイルス由来の2A自己切断ペプチドまたは2A様ペプチドをコードする、項目14に記載の核酸構築物。

(項目16)

前記膜貫通タンパク質がキメラ抗原受容体(CAR)である、項目15に記載の核酸構築物。

(項目17)

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、項目3から11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18)

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、前記項目のいずれかに記載の核酸構築物。

(項目19)

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、項目18に記載の核酸構築物。

(項目20)

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。

(項目21)

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、

項目20に記載の核酸構築物。

(項目22)

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23)

項目22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24)

項目1から21のいずれか一項に記載の核酸構築物または項目22もしくは23に記載のベクターを含む細胞。

(項目25)

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26)

前記核酸配列が、項目1から21のいずれかにおいて規定される、項目25に記載の方法。