

【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28年9月8日 (2016.9.8)

【公表番号】特表2015-523098(P2015-523098A)

【公表日】平成27年8月13日 (2015.8.13)

【年通号数】公開・登録公報2015-051

【出願番号】特願2015-525450(P2015-525450)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/873 (2010.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 15/00 Z N A K

A 0 1 K 67/027

C 0 7 K 14/47

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 5/00 1 0 2

【手続補正書】

【提出日】平成28年7月15日 (2016.7.15)

【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】

e I F 4 G 遺伝子に対する修飾又は外来性 e I F 4 G 遺伝子を発現する核酸を含むインビトロ細胞。

【請求項 2】

前記 e I F 4 G 遺伝子が、動物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて改変された e I F 4 G タンパク質を発現し、前記 e I F 4 G タンパク質が、口蹄疫ウイルス酵素のプロテイナーゼによる切断に抵抗性である、請求項 1 に記載の細胞。

【請求項 3】

ブタ、魚、ウサギ、ウシ、ニワトリ、ヤギ、及びヒツジからなる群から選択される、請求項 1 又は 2 に記載の細胞。

【請求項 4】

前記修飾 e I F 4 G 遺伝子によって発現される e I F 4 G タンパク質をさらに含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 5】

口蹄疫ウイルス酵素のプロテイナーゼによる切断に抵抗性である e I F 4 G タンパク質のアイソフォームをコードする単離核酸。

【請求項 6】

口蹄疫に対する抵抗性の存在に関するスクリーニング方法であって、細胞、胚、又は動物を調べて、それが修飾 e I F 4 G 遺伝子及び / 又は修飾 e I F 4 G タンパク質を含むか

どうかを決定するステップを含む方法。

【請求項 7】

遺伝子修飾生物の作出方法であって、

a. 細胞、初代細胞、又は胚の天然 e I F 4 G 遺伝子をインビトロで改変するステップ、及び前記初代細胞をクローニングするか又は母動物に前記胚を移植するステップであって、前記 e I F 4 G 遺伝子が、口蹄疫プロテアーゼによるタンパク質分解に抵抗する e I F 4 G アイソフォームを発現するように改変される、ステップ、又は

b. 外来性 e I F 4 G 遺伝子の発現を初代細胞又は胚にインビトロで加えるステップ、及び前記初代細胞をクローニングするか又は母動物に前記胚を移植するステップであって、前記外来性 e I F 4 G 遺伝子が、口蹄疫プロテアーゼによるタンパク質分解に抵抗する e I F 4 G アイソフォームを発現する、ステップ、又は

c. (a) 及び (b) の両方

を含む方法。

【請求項 8】

前記初代細胞又は前記胚に：

a. 前記天然 e I F 4 G 遺伝子のある部位を特異的に切断する部位特異的ヌクレアーゼをコードする核酸と、

b. 前記 e I F 4 G 遺伝子の少なくとも一部分を含む核酸鋳型であって、前記鋳型が前記天然 e I F 4 G 遺伝子の代替の対立遺伝子を提供し、前記代替の対立遺伝子が、口蹄疫ウイルス酵素のプロテイナーゼによる切断に抵抗性の e I F 4 G アイソフォームをコードする、核酸鋳型と

を導入するステップを含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記部位特異的ヌクレアーゼが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ (ZFN)、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ (TALEN) 及びクラスターを形成する規則的に間隔が置かれた短いパリンドロームリピート (CRISPR) からなる群から選択される、請求項 7 又は 8 に記載の方法。

【請求項 10】

請求項 7 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法により作製される動物。

【請求項 11】

e I F 4 G 遺伝子にゲノム修飾を含む遺伝子修飾された家畜動物。

【請求項 12】

前記修飾が、前記 e I F 4 G 遺伝子の 1 つ以上の塩基の挿入、欠失、又は置換を含む、請求項 11 に記載の動物。

【請求項 13】

前記 e I F 4 G 遺伝子が、前記動物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて、口蹄疫ウイルス酵素のプロテイナーゼによる切断に抵抗性となるように改変された e I F 4 G タンパク質を発現する、請求項 11 又は 12 に記載の動物。

【請求項 14】

前記 e I F 4 G 遺伝子が、前記動物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて、口蹄疫ウイルス酵素のリーダープロテイナーゼ (L^{pr}) による切断に抵抗性となるように改変された e I F 4 G タンパク質を発現する、請求項 11 ~ 13 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 15】

前記 e I F 4 G 遺伝子が、前記動物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて、口蹄疫ウイルス酵素のウイルスコード 3C プロテアーゼ (3C^{pr}) による切断に抵抗性となるように改変された e I F 4 G タンパク質を発現する、請求項 11 ~ 14 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 16】

ブタ、魚、ウサギ、ウシ、ニワトリ、ヤギ、及びヒツジからなる群から選択される、請

求項 1 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 1 7】

前記動物が第 1 の品種の動物であり、前記ゲノム修飾が、その動物の別の品種に見出される e I F 4 G 遺伝子の天然の対立遺伝子である、請求項 1 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 1 8】

前記動物が第 1 の種の動物であり、前記ゲノム修飾が、第 2 の種の別の品種における e I F 4 G 遺伝子の対立遺伝子である、請求項 1 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 1 9】

前記動物が前記修飾された e I F 4 G 遺伝子に関してホモ接合体である、請求項 1 1 に記載の動物。

【請求項 2 0】

創始動物である、請求項 1 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 2 1】

前記修飾 e I F 4 G 遺伝子によって発現される前記 e I F 4 G タンパク質をさらに含む、請求項 1 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 2 2】

口蹄疫に抵抗性である、請求項 1 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 2 3】

前記修飾 e I F 4 G タンパク質が、L^Pr^o 及び / 又は C^Pr^o の結合を防ぐように修飾される、請求項 1 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の動物。

【請求項 2 4】

口蹄疫の治療又は予防に使用するための、口蹄疫ウイルス酵素のプロテイナーゼによる切断に抵抗性の e I F 4 G タンパク質をコードする単離核酸化合物。

【請求項 2 5】

外来性 e I F 4 G 遺伝子を発現する核酸又は前記動物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて改変された e I F 4 G タンパク質を発現する核酸である、請求項 2 4 に記載の核酸。

【請求項 2 6】

請求項 2 4 又は 2 5 に記載の核酸をコードするベクター。

【請求項 2 7】

口蹄疫を治療するための、又はそれを予防するための、請求項 2 4 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の核酸又はベクターの使用。

【請求項 2 8】

前記改変が、前記 e I F 4 G 遺伝子の 1 つ以上の塩基の挿入、欠失、又は置換を含む、請求項 7 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記 e I F 4 G 遺伝子が、前記修飾生物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて、口蹄疫ウイルス酵素のプロテイナーゼによる切断に抵抗性となるように改変された e I F 4 G タンパク質を発現する、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記 e I F 4 G 遺伝子が、前記修飾生物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて、口蹄疫ウイルス酵素のリーダープロテイナーゼ (L^Pr^o) による切断に抵抗性となるように改変された e I F 4 G タンパク質を発現する、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記 e I F 4 G 遺伝子が、前記修飾生物の野生型 e I F 4 G タンパク質と比べて、口蹄疫ウイルス酵素のウイルスコード 3 C プロテアーゼ (3 C^Pr^o) による切断に抵抗性となるように改変された e I F 4 G タンパク質を発現する、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記修飾生物が、ブタ、魚、ウサギ、ウシ、ニワトリ、ヤギ、及びヒツジからなる群から選択される、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記修飾生物が第 1 の品種の動物であり、前記ゲノム改変が、その動物の別の品種に見出される e I F 4 G 遺伝子の天然の対立遺伝子である、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記修飾生物が第 1 の種の動物であり、前記ゲノム改変が、第 2 の種の別の品種における e I F 4 G 遺伝子の対立遺伝子である、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記修飾生物が前記改変された e I F 4 G 遺伝子に関してホモ接合体である、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記修飾生物が前記改変 e I F 4 G 遺伝子によって発現される前記 e I F 4 G タンパク質をさらに含む、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記修飾生物が口蹄疫に抵抗性である、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記改変 e I F 4 G タンパク質が、L^Pr^o 及び / 又は C^Pr^o の結合を防ぐように改変される、請求項 7 ~ 9 及び 2 8 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。