

【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5年9月7日(2023.9.7)

【国際公開番号】WO2022/196245  
 【出願番号】特願2023-506894(P2023-506894)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/11                    Z Z N A

C 1 2 N 15/63                    Z

10

【手続補正書】

【提出日】令和5年7月30日(2023.7.30)

【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】

20

【特許請求の範囲】

【請求項1】

発現調節配列DNAを備え、

前記発現調節配列DNAは、1又は複数の副発現調節配列DNAを備え、

前記副発現調節配列DNAは、改変型Kozak配列DNAと前記改変型Kozak配列DNAの下流に上流ORF配列DNAとを備え、

前記副発現調節配列DNAの塩基配列は、開始コドンの塩基配列を1つだけ備える、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセット。

【請求項2】

前記1又は複数の副発現調節配列DNAは、1つ、2つ又は3つの副発現調節配列DNAである、

30

請求項1に記載の薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセット。

【請求項3】

前記上流ORF配列DNAは、配列番号：1又は2で表される塩基配列、

又は

その塩基配列と、

1) 95%以上の配列相同性を有する塩基配列、又は、

2) 1または数塩基が欠失、置換、付加されている塩基配列、又は、

3) 相補的な配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることができる塩基配列

40

からなる

請求項1又は2に記載の薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセット。

【請求項4】

前記改変型Kozak配列DNAは、配列番号：3で表される塩基配列、

又は、

その塩基配列と、

1) 95%以上の配列相同性を有する塩基配列、又は、

2) 1または数塩基が欠失、置換、付加されている塩基配列、又は、

3) 相補的な配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることができる塩基配列

50

からなる

請求項 1 から 3 のいずれかに記載の薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセット。

【請求項 5】

請求項 1 から 4 のいずれかに記載の薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットを備える、  
発現ベクター。

【請求項 6】

2 つの末端 tDNA インシュレーターを更に備え、  
前記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットは、前記 2 つの末端 tDNA インシュレーターの間位置する、  
請求項 5 に記載の発現ベクター。

10

【請求項 7】

1 又は複数の目的タンパク質発現カセットを更に備え、  
前記 1 又は複数の目的タンパク質発現カセットは、前記 2 つの末端 tDNA インシュレーターの間位置する、  
請求項 6 に記載の発現ベクター。

【請求項 8】

更に、1 又は複数の中間 tDNA インシュレーターを備え、  
前記 1 又は複数の目的タンパク質発現カセットは、複数の目的タンパク質発現カセットであり、  
少なくとも 1 の前記中間 tDNA インシュレーターが、前記複数の目的タンパク質発現カセットのうちの 1 つと隣接する目的タンパク質発現カセットとの間に存在する、  
請求項 7 に記載の発現ベクター。

20

【請求項 9】

前記中間 tDNA インシュレーターは、マウス tRNA 遺伝子由来の塩基配列を有する、  
請求項 8 に記載の発現ベクター。

【請求項 10】

前記末端 tDNA インシュレーターは、マウス tRNA 遺伝子由来の塩基配列を有する、  
請求項 6 から 9 に記載の発現ベクター。

30

【請求項 11】

前記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットは、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー遺伝子を更に備え、  
前記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー遺伝子は、前記発現調節配列 DNA の下流に位置する、  
請求項 5 から 10 のいずれかに記載の発現ベクター。

【請求項 12】

前記上流 ORF 配列 DNA の塩基配列が配列番号：2 からなる場合、前記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー遺伝子の開始コドン配列は、前記上流 ORF 配列 DNA の塩基配列中に含まれる、  
請求項 11 に記載の発現ベクター。

40

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

本発明の目的は、

発現調節配列 DNA を備え、

上記発現調節配列 DNA は、1 又は複数の副発現調節配列 DNA を備え、

50

上記副発現調節配列DNAは、改変型Kozak配列DNAと上記改変型Kozak配列DNAの下流に上流ORF配列DNAとを備え、

上記副発現調節配列DNAの塩基配列は、開始コドンの塩基配列を1つだけ備える、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットを提供することである。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

本発明にかかる薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットを用いることで、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカーの発現を減弱化させ、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー遺伝子の翻訳効率を低下させることができる。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

本発明の別の目的は、上記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットを備える、発現ベクターを提供することである。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

本発明にかかる発現ベクターを用いることで、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカーの発現を減弱化させ、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー遺伝子の翻訳効率を低下させることができる。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

上記発現ベクターは、2つの末端tDNAインシュレーターを更に備えていてもよい。上記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットは、上記2つの末端tDNAインシュレーターの間位置してもよい。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

上記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー発現カセットは、薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー遺伝子を更に備えていてもよい。上記薬剤選択マーカー及び/又は栄養選択マーカー遺伝子は、上記発現調節配列DNAの下流に位置してもよい。

10

20

30

40

50

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0023】

上記上流ORF配列DNAの塩基配列が配列番号：2からなる場合、上記薬剤選択マーカ  
ー及び/又は栄養選択マーカ遺伝子の開始コドン配列は、上記上流ORF配列DNAの塩  
基配列中に含まれていてもよい。

10

20

30

40

50