

【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7年5月20日(2025.5.20)

【国際公開番号】WO2022/241215

【公表番号】特表2024-518553(P2024-518553A)

【公表日】令和6年5月1日(2024.5.1)

【年通号数】公開公報(特許)2024-080

【出願番号】特願2023-570161(P2023-570161)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/861(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/861 Z Z N A

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

10

【手続補正書】

【提出日】令和7年5月12日(2025.5.12)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

20

【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】

(a) E 2 a タンパク質、

(b) E 4 領域、

(c) V A R N A 領域、及び

(d) L 4 領域、をコードするヌクレオチド配列を含む、アデノウイルスヘルパープラスミドであって、

30

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、

線維タンパク質またはその一部分、

L 1 - 5 2 / 5 5 K (パッケージングタンパク質3)、及び

ペントン周辺ヘキソン関連タンパク質、のうちの1つ以上をコードするヌクレオチド配列を含まない、前記アデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項2】

前記 V A R N A 領域が、配列番号 1 4 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項3】

前記 V A R N A 領域が、

(a) 配列番号 1 6 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I ヌクレオチド配列と、

(b) 配列番号 1 8 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I I ヌクレオチド配列と、

を含む、請求項 2 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

40

【請求項4】

前記 V A R N A 領域が、配列番号 1 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項5】

前記 V A R N A 領域が、

(a) 配列番号 1 7 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I ヌクレオチド配列と、

(b) 配列番号 1 9 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I I ヌクレオチド配列

50

と、を含む、請求項 4 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 6】

前記 L 4 領域が、配列番号 4 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有する L 4 (ヘキソナセンプリ) タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 7】

前記 L 4 領域が、配列番号 6 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有する部分的な L 4 (ヘキソナセンプリ) タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 8】

前記 L 4 領域が、配列番号 13 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有する部分的なヘキソン関連前駆体 (L 4 p V I I I) タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 9】

前記部分的な L 4 (ヘキソナセンプリ) タンパク質をコードする前記ヌクレオチド配列が、E 2 a プロモータ領域を含む、請求項 7 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 10】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 21 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有する部分的な DNA 末端タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 11】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、DNA 末端タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含まない、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 12】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 23 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有する部分的な 23 kDa エンドプロテアーゼをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 13】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、23 kDa エンドプロテアーゼをコードするヌクレオチド配列を含まない、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 14】

前記 E 2 a タンパク質の発現が、E 2 a プロモータの制御下にある、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 15】

前記 E 2 a タンパク質の発現が、E 2 a プロモータ及びチキン - アクチンプロモータの制御下であり、前記チキン - アクチンプロモータが、前記 E 2 a プロモータの上流にある、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 16】

前記 E 2 a タンパク質の発現が、前記チキン - アクチンプロモータの制御下にある、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 17】

前記チキン - アクチンプロモータが、配列番号 26 と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項 15 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 18】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、前記 E 2 a の下流に E 2 a ポリアデニル化シグナルを含む、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 19】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、前記 E 2 a の下流に SV 40 ポリアデニル化シグナルを含有する、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

10

20

30

40

50

## 【請求項 20】

前記 S V 40 ポリアデニル化シグナルが、前記 E 2 a ポリアデニル化シグナルの下流にある、請求項 18 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 21】

前記 S V 40 ポリアデニル化シグナルが、配列番号 28 と少なくとも 80% 同一である配列を有する、請求項 19 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 22】

H S V - 1 U L 30 及び H S V - 1 U L 42 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、

前記 U L 30 が、配列番号 30 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有し、

10

前記 U L 42 が、配列番号 32 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有し、

前記 U L 30 及び前記 U L 42 が、配列番号 34 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有する P 2 A 切断部位によって分離される、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 23】

前記 U L 30 及び前記 U L 42 の発現が、前記プラスミドの E F - 1 プロモータの制御下にある、請求項 22 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 24】

前記 E F - 1 プロモータが、配列番号 35 と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項 23 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

20

## 【請求項 25】

前記 U L 42 の下流に - グロビンポリアデニル化シグナルを更に含み、前記 - グロビンポリアデニル化シグナルが、配列番号 36 と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項 22 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 26】

H S V - 1 U L 29 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、

前記 U L 29 が、配列番号 38 と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を有する、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 27】

前記 U L 29 の発現が、前記プラスミドの H S V T K プロモータの制御下にある、請求項 26 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

30

## 【請求項 28】

前記 H S V - T K プロモータが、配列番号 39 と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項 27 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 29】

前記 U L 29 の下流に H S V T K ポリアデニル化シグナルを更に含み、前記 H S V T K ポリアデニル化シグナルが、配列番号 40 と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項 26 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 30】

前記 E 4 領域が、E 4 o r f 1 を含まず、前記 E 4 領域が、E 4 o r f 2 を含まない、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

40

## 【請求項 31】

前記 E 4 領域が、前記 E 4 ミニプロモータに操作可能に連結され、前記 E 4 ミニプロモータが、配列番号 1 と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 32】

前記 E 4 領域が、前記 S V 40 プロモータに操作可能に連結され、前記 S V 40 プロモータが、配列番号 2 と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

## 【請求項 33】

50

以下のアデノウイルスDNA配列または領域：

( a ) E 2 a、

( b ) E 4 領域、及び

( c ) V A R N A 領域、を含む、アデノウイルスヘルパープラスミドであって、前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、以下の構成要素：

線維またはその一部分、

L 1 - 5 2 / 5 5 K ( パッケージングタンパク質 3 )、

ペントン周辺ヘキソン関連タンパク質、及び

L 4 領域、のうちの 1 つ以上を含まない、前記アデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 3 4】

配列番号 4 1 ~ 6 6 のうちのいずれか 1 つと 8 0 % の配列同一性を有する、アデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 3 5】

組換えアデノウイルス関連ウイルスベクターを産生する方法であって、

A A V ベクタープラスミド、A A V R e p - C a p 発現プラスミド、及び請求項 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載のアデノウイルスヘルパープラスミドで産生細胞をトランスフェクトすることを含む、前記方法。

【請求項 3 6】

前記 A A V ベクタープラスミドが、A A V 逆位末端反復 ( I T R ) 及び目的の導入遺伝子を含む、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

組換えアデノウイルス関連ウイルスベクターを産生する方法であって、

A A V ベクタープラスミド及び請求項 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載のアデノウイルスヘルパープラスミドで産生細胞をトランスフェクトすることを含み、

前記産生細胞が、安定的に R e p - C a p を発現する、前記方法。

【請求項 3 8】

前記 A A V ベクタープラスミドが、A A V 逆位末端反復 ( I T R ) 及び目的の導入遺伝子を含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記 L 4 領域が、配列番号 3 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、L 4 ( ヘキソンアセンブリ ) タンパク質をコードする、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 0】

前記 L 4 領域が、配列番号 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的な L 4 ( ヘキソンアセンブリ ) タンパク質をコードする、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 1】

前記 L 4 領域が、配列番号 1 2 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的なヘキソン関連前駆体 ( L 4 p V I I I ) タンパク質をコードする、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 2】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 2 0 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的な DNA 末端タンパク質をコードする、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 3】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 2 2 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的な 2 3 k D a エンドプロテアーゼをコードする、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 4】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、H S V - 1 U L 3 0 及び H S V - 1 U

10

20

30

40

50

L 4 2 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、

前記ヌクレオチド配列のうちの少なくとも1つが、配列番号 2 9 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

前記ヌクレオチド配列のうちの少なくとも1つが、配列番号 3 1 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

前記 U L 3 0 及び前記 U L 4 2 が、配列番号 3 3 と少なくとも 8 0 % 同一である核酸配列によってコードされる P 2 A 切断部位によって分離される、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 5】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、H S V - 1 U L 2 9 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、

前記ヌクレオチド配列が、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 % 同一である、請求項 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 6】

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、耐性遺伝子を含む、請求項 1 ~ 3 4 および 3 9 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【請求項 4 7】

前記耐性カセットが、カナマイシン耐性遺伝子である、請求項 4 6 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 2 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 2 5】

均等物

当業者は、本明細書に記載の本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識し、または日常的な実験のみを使用して確認することができるであろう。本発明の範囲は、上の記載に限定されることを意図せず、以下の特許請求の範囲に記述される。

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

( 項目 1 )

( a ) E 2 a タンパク質、

( b ) E 4 領域、

( c ) V A R N A 領域、及び

( d ) L 4 領域、をコードするヌクレオチド配列を含む、アデノウイルスヘルパープラスミドであって、

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、

線維タンパク質またはその一部分、

L 1 - 5 2 / 5 5 K ( パッケージングタンパク質 3 )、及び

ペントン周辺ヘキソン関連タンパク質、のうちの 1 つ以上をコードするヌクレオチド配列を含まない、前記アデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 2 )

前記 V A R N A 領域が、配列番号 1 4 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 3 )

前記 V A R N A 領域が、

( a ) 配列番号 1 6 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I ヌクレオチド配列と、

( b ) 配列番号 1 8 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I I ヌクレオチド配列と、を含む、項目 2 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 4 )

10

20

30

40

50

前記 V A R N A 領域が、配列番号 1 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 5 )

前記 V A R N A 領域が、

( a ) 配列番号 1 7 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I ヌクレオチド配列と、

( b ) 配列番号 1 9 と少なくとも 8 0 % 同一である V A R N A I I ヌクレオチド配列と、を含む、項目 4 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 6 )

前記 L 4 領域が、配列番号 4 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する L 4

(ヘキソンアセンブリ) タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 7 )

前記 L 4 領域が、配列番号 6 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する部分的な L 4 (ヘキソンアセンブリ) タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 8 )

前記 L 4 領域が、配列番号 1 3 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する部分的なヘキソン関連前駆体 ( L 4 p V I I I ) タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 9 )

前記部分的な L 4 (ヘキソンアセンブリ) タンパク質をコードする前記ヌクレオチド配列が、E 2 a プロモータ領域を含む、項目 7 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド

( 項目 1 0 )

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 2 1 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する部分的な D N A 末端タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 1 1 )

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、D N A 末端タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含まない、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 1 2 )

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 2 3 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する部分的な 2 3 k D a エンドプロテアーゼをコードするヌクレオチド配列を含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 1 3 )

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、2 3 k D a エンドプロテアーゼをコードするヌクレオチド配列を含まない、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 1 4 )

前記 E 2 a タンパク質の発現が、E 2 a プロモータの制御下にある、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 1 5 )

前記 E 2 a タンパク質の発現が、E 2 a プロモータ及びチキン - アクチンプロモータの制御下であり、前記チキン - アクチンプロモータが、前記 E 2 a プロモータの上流にある、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 1 6 )

前記 E 2 a タンパク質の発現が、前記チキン - アクチンプロモータの制御下にある、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

( 項目 1 7 )

前記チキン - アクチンプロモータが、配列番号 2 6 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を有する、項目 1 5 または 1 6 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミ

10

20

30

40

50

ド。

(項目 1 8 )

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、前記 E 2 a の下流に E 2 a ポリアデニル化シグナルを含む、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 1 9 )

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、前記 E 2 a の下流に S V 4 0 ポリアデニル化シグナルを含有する、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 0 )

前記 S V 4 0 ポリアデニル化シグナルが、前記 E 2 a ポリアデニル化シグナルの下流にある、項目 1 8 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 1 )

前記 S V 4 0 ポリアデニル化シグナルが、配列番号 2 8 と少なくとも 8 0 % 同一である配列を有する、項目 1 9 または 2 0 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 2 )

H S V - 1 U L 3 0 及び H S V - 1 U L 4 2 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、

前記 U L 3 0 が、配列番号 3 0 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有し、

前記 U L 4 2 が、配列番号 3 2 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有し、

前記 U L 3 0 及び前記 U L 4 2 が、配列番号 3 4 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する P 2 A 切断部位によって分離される、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 3 )

前記 U L 3 0 及び前記 U L 4 2 の発現が、前記プラスミドの E F - 1 プロモータの制御下にある、項目 2 2 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 4 )

前記 E F - 1 プロモータが、配列番号 3 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を有する、項目 2 3 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 5 )

前記 U L 4 2 の下流に - グロビンポリアデニル化シグナルを更に含み、前記 - グロビンポリアデニル化シグナルが、配列番号 3 6 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を有する、項目 2 2 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 6 )

H S V - 1 U L 2 9 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、前記 U L 2 9 が、配列番号 3 8 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 7 )

前記 U L 2 9 の発現が、前記プラスミドの H S V T K プロモータの制御下にある、項目 2 6 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 8 )

前記 H S V - T K プロモータが、配列番号 3 9 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を有する、項目 2 7 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 2 9 )

前記 U L 2 9 の下流に H S V T K ポリアデニル化シグナルを更に含み、前記 H S V T K ポリアデニル化シグナルが、配列番号 4 0 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を有する、項目 2 6 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 3 0 )

前記 E 4 領域が、E 4 o r f 1 を含まず、前記 E 4 領域が、E 4 o r f 2 を含まない、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 3 1 )

前記 E 4 領域が、前記 E 4 ミニプロモータに操作可能に連結され、前記 E 4 ミニプロモ

10

20

30

40

50

ータが、配列番号 1 と少なくとも 80 % 同一であるヌクレオチド配列を有する、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 3 2)

前記 E 4 領域が、前記 S V 4 0 プロモータに操作可能に連結され、前記 S V 4 0 プロモータが、配列番号 2 と少なくとも 80 % 同一であるヌクレオチド配列を有する、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 3 3)

以下のアデノウイルス DNA 配列または領域：

( a ) E 2 a、

( b ) E 4 領域、及び

( c ) V A R N A 領域、を含む、アデノウイルスヘルパープラスミドであって、前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、以下の構成要素：

線維またはその一部分、

L 1 - 5 2 / 5 5 K (パッケージングタンパク質 3)、

ペントン周辺ヘキソン関連タンパク質、及び

L 4 領域、のうちの 1 つ以上を含まない、前記アデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 3 4)

配列番号 4 1 ~ 6 6 のうちのいずれか 1 つと 80 % の配列同一性を有する、アデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 3 5)

組換えアデノウイルス関連ウイルスベクターを産生する方法であって、

A A V ベクタープラスミド、A A V R e p - C a p 発現プラスミド、及び項目 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載のアデノウイルスヘルパープラスミドで産生細胞をトランスフェクトすることを含む、前記方法。

(項目 3 6)

前記 A A V ベクタープラスミドが、A A V 逆位末端反復 ( I T R ) 及び目的の導入遺伝子を含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7)

組換えアデノウイルス関連ウイルスベクターを産生する方法であって、

A A V ベクタープラスミド及び項目 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載のアデノウイルスヘルパープラスミドで産生細胞をトランスフェクトすることを含み、

前記産生細胞が、安定的に R e p - C a p を発現する、前記方法。

(項目 3 8)

前記 A A V ベクタープラスミドが、A A V 逆位末端反復 ( I T R ) 及び目的の導入遺伝子を含む、項目 3 7 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記 L 4 領域が、配列番号 3 と少なくとも 80 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、L 4 (ヘキソンアセンブリ) タンパク質をコードする、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 0)

前記 L 4 領域が、配列番号 5 と少なくとも 80 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的な L 4 (ヘキソンアセンブリ) タンパク質をコードする、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 1)

前記 L 4 領域が、配列番号 1 2 と少なくとも 80 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的なヘキソン関連前駆体 ( L 4 p V I I I ) タンパク質をコードする、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 2)

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 2 0 と少なくとも 80 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的な DNA 末端タンパク質を

10

20

30

40

50

コードする、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 3)

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、配列番号 2 2 と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記ヌクレオチド配列が、部分的な 2 3 k D a エンドプロテアーゼをコードする、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 4)

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、H S V - 1 U L 3 0 及び H S V - 1 U L 4 2 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、

前記ヌクレオチド配列のうちの少なくとも 1 つが、配列番号 2 9 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

前記ヌクレオチド配列のうちの少なくとも 1 つが、配列番号 3 1 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

前記 U L 3 0 及び前記 U L 4 2 が、配列番号 3 3 と少なくとも 8 0 % 同一である核酸配列によってコードされる P 2 A 切断部位によって分離される、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 5)

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、H S V - 1 U L 2 9 をコードするヌクレオチド配列を更に含み、

前記ヌクレオチド配列が、配列番号 3 7 と少なくとも 8 0 % 同一である、項目 1 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 6)

前記アデノウイルスヘルパープラスミドが、耐性遺伝子を含む、先行項目のいずれか 1 項に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

(項目 4 7)

前記耐性カセットが、カナマイシン耐性遺伝子である、項目 4 6 に記載のアデノウイルスヘルパープラスミド。

10

20

30

40

50