

【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3部門第2区分
 【発行日】令和5年3月6日(2023.3.6)

【国際公開番号】WO2020/176614
 【公表番号】特表2022-521776(P2022-521776A)
 【公表日】令和4年4月12日(2022.4.12)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-065
 【出願番号】特願2021-549782(P2021-549782)
 【国際特許分類】

10

A 6 1 K 35/76(2015.01)
 C 1 2 N 15/12(2006.01)
 C 1 2 N 15/864(2006.01)
 C 1 2 N 5/10(2006.01)
 C 1 2 N 15/63(2006.01)
 A 6 1 P 21/04(2006.01)
 A 6 1 K 9/08(2006.01)
 A 6 1 K 47/18(2017.01)
 A 6 1 K 47/20(2006.01)
 A 6 1 K 47/22(2006.01)
 A 6 1 K 47/02(2006.01)
 A 6 1 K 47/12(2006.01)
 A 6 1 K 47/34(2017.01)

20

【F I】

A 6 1 K 35/76
 C 1 2 N 15/12 Z N A
 C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 N 15/63 Z
 A 6 1 P 21/04
 A 6 1 K 9/08
 A 6 1 K 47/18
 A 6 1 K 47/20
 A 6 1 K 47/22
 A 6 1 K 47/02
 A 6 1 K 47/12
 A 6 1 K 47/34

30

【手続補正書】

【提出日】令和5年2月24日(2023.2.24)

40

【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】

筋ジストロフィーの治療を必要とする対象においてそれを治療するための組成物であつて、前記組成物が、全身投与経路用に製剤化され、
 前記組成物が、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)scAAVrh74.MHCK

50

7. h S G C B を、定量標準としての線状化プラスミドに基づいて、約 1.85×10^{13} v g / k g または約 7.41×10^{13} v g / k g の用量で含む、組成物。

【請求項 2】

筋ジストロフィーの治療を必要とする対象においてそれを治療するための組成物であって、前記組成物が、組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) s c A A V r h 7 4 . M H C K 7 . h S G C B を含み、前記組成物の投与が、前記 r A A V の投与前の血清クレアチンキナーゼ (C K) と比較して、前記対象の前記血清 C K レベルを減少させる、組成物。

【請求項 3】

静脈内経路を使用する投与用に製剤化される、請求項 2 に記載の組成物。

10

【請求項 4】

前記 r A A V が、定量標準としてのスーパーコイルプラスミドに基づいて、約 1.0×10^{13} v g / k g ~ 約 5.0×10^{14} v g / k g の用量であるか、または定量標準としての線状化プラスミドに基づいて、約 1.0×10^{13} v g / k g ~ 約 1.0×10^{14} v g / k g の用量である、請求項 2 または 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

約 10 m L / k g の濃度の r A A V で投与される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

注射、注入または移植の投与用に製剤化される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 7】

組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) s c A A V r h 7 4 . M H C K 7 . h S G C B を含む、対象において筋ジストロフィーを治療するための組成物であって、前記組成物が、配列番号 3 または配列番号 19 と少なくとも 90 %、95 %、もしくは 99 % 同一であるヌクレオチド配列を含み、前記 r A A V が、定量標準としての線状化プラスミドに基づいて、約 1.0×10^{13} v g / k g ~ 約 1.0×10^{14} v g / k g の用量である、組成物。

【請求項 8】

前記 r A A V が、配列番号 1 のヌクレオチド配列を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 9】

前記 r A A V が、配列番号 4 の M H C K 7 プロモーター配列を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 r A A V が、配列番号 20 のイントロン配列を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記 r A A V が、配列番号 21 のポリ A 配列を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 12】

前記 r A A V が、配列番号 22 の 5' 逆位末端反復 (I T R) 配列を含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記 r A A V が、配列番号 23 の 3' 逆位末端反復 (I T R) 配列を含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 14】

前記筋ジストロフィーが、肢帯型筋ジストロフィーである、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 15】

50

前記筋ジストロフィーが、肢帯型筋ジストロフィー 2 E 型である、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 6】

アルファ - サルコグリカンの細胞膜への局在化の増加を必要とする対象においてそれを行うための組成物であって、前記組成物が、配列番号 3 または配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含む s c A A V r h 7 4 . M H C K 7 . h S G C B 構築物を含む r A A V を含む、組成物。

【請求項 1 7】

対象の筋肉組織におけるサルコグリカン発現を増加させるための組成物であって、前記組成物が、第 1 のサルコグリカンをコードするヌクレオチド配列を含む構築物を含み、前記組成物の投与が、前記第 1 のサルコグリカンを発現する細胞の細胞膜において少なくとも第 2 のサルコグリカンの発現の増加をもたらす、組成物。

10

【請求項 1 8】

前記第 1 のサルコグリカンが、- サルコグリカン (S G C B) であり、前記第 2 のサルコグリカンが、- サルコグリカン (S G C A)、- サルコグリカン (S G C G)、および / または - サルコグリカン (S G C D) である、請求項 1 7 に記載の組成物。

【請求項 1 9】

前記対象が、4 ~ 1 5 歳のヒト対象である、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記対象が、小児対象、青年期対象または若年成人対象である、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 2 1】

前記対象が、2 5 ~ 5 5 歳のヒト対象である、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 2】

前記対象が、5 0 歳を超えるヒト対象である、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 3】

組成物であって、
r A A V ベクターと、
 緩衝剤と、
 イオン強度剤と、
 界面活性剤と、を含み、前記界面活性剤が、約 0 . 0 0 0 0 1 % ~ 約 1 % の濃度でポロキサマーを含む、組成物。

30

【請求項 2 4】

前記 r A A V が、約 $1 . 0 \times 1 0^{12}$ v g / m l ~ 約 $5 . 0 \times 1 0^{14}$ v g / m l、または約 $5 . 0 \times 1 0^{12}$ v g / m l ~ 約 $1 . 0 \times 1 0^{14}$ v g / m l の濃度である、請求項 2 3 に記載の組成物。

【請求項 2 5】

前記ポロキサマーが、ポロキサマー 1 2 4、ポロキサマー 1 8 1、ポロキサマー 1 8 4、ポロキサマー 1 8 8、ポロキサマー 2 3 7、ポロキサマー 3 3 1、ポロキサマー 3 3 8、およびポロキサマー 4 0 7 のうちの 1 つ以上を含む、請求項 2 3 または 2 4 に記載の組成物。

40

【請求項 2 6】

配列番号 2 4 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含む、ポリヌクレオチド配列。

【請求項 2 7】

前記ポリヌクレオチド配列が、配列番号 2 4 のヌクレオチド配列を含む、請求項 2 6 に記載のポリヌクレオチド配列。

50

【請求項 28】

プラスミドである、請求項 26 または 27 に記載のポリヌクレオチド配列。

【請求項 29】

組換え AAV を生成する方法であって、請求項 26 ~ 28 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド配列を細胞に移入することを含む、方法。

【請求項 30】

パッケージングプラスミドおよび / またはヘルパーウイルスを前記細胞に移入することをさらに含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記細胞が、安定に組み込まれた AAVcap 遺伝子を含む、請求項 29 または 30 に記載の方法。 10

【請求項 32】

前記細胞が、安定に組み込まれた AAVrep 遺伝子を含む、請求項 29 ~ 31 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

細胞であって、請求項 26 ~ 28 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド配列、配列番号 24 と少なくとも 90%、95%、または 99% 同一であるヌクレオチド配列を含むプラスミドを含む、細胞。

【請求項 34】

前記細胞が、昆虫細胞、カイコ細胞、蚊細胞、細菌細胞または哺乳動物細胞である、請求項 33 に記載の細胞。 20

【請求項 35】

293 細胞、COS 細胞、HeLa 細胞または KB 細胞である、請求項 33 に記載の細胞。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0098

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0098】

前述の段落は、本発明の全ての態様を定義することを意図するものではなく、追加の態様は、詳細な説明のような他のセクションに記載される。文書全体は、統一された開示として関連することが意図されており、特徴の組み合わせがこの文書と同じ文章、または段落、またはセクションで一緒に見られない場合でも、本明細書に記載される特徴のすべての組み合わせが考慮されることを理解されたい。本発明は、追加の態様として、上記の特定の段落で定義される変形よりもいくらか範囲が狭い本発明のすべての実施形態を含む。例えば、本発明の特定の態様が属として記載される場合、属の各メンバーが個々に本発明の態様であると理解されるべきである。

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)

筋ジストロフィーの治療を必要とする対象においてそれを治療する方法であって、組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) scAAVrh74, MHCK7, hSGCB を前記対象に投与するステップを含み、

前記 rAAV が、全身投与経路を使用して、定量標準としてのスーパーコイルプラスミドに基づいて、約 1.0×10^{-12} vg/kg ~ 約 5.0×10^{-14} vg/kg の用量で投与され、前記対象における血清クレアチンキナーゼ (CK) レベルが、前記 rAAV の投与前の血清 CK レベルと比較して、前記 rAAV の投与後に減少する、方法。

(項目 2)

筋ジストロフィーの治療を必要とする対象においてそれを治療する方法であって、組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) scAAVrh74, MHCK7, hSGCB を投与

30

40

50

するステップを含み、

前記対象の細胞におけるベータ - サルコグリカン遺伝子発現のレベルが、前記 r A A V の投与前の前記ベータ - サルコグリカン遺伝子発現のレベルと比較して、前記 r A A V の投与後に増加し、

前記対象の筋肉組織におけるベータ - サルコグリカン陽性線維の数が、前記 r A A V の投与前の前記ベータ - サルコグリカン陽性線維の数と比較して、前記 r A A V の投与後に増加するか、または

運動機能が、前記 r A A V の投与前の前記対象の前記運動機能と比較して、前記対象において改善されており、前記運動機能が、100メートルの時間歩行試験によって決定される、方法。

(項目3)

前記運動機能が、遺伝子移入後1ヶ月または30日で少なくとも5%、遺伝子移入後2ヶ月または60日で少なくとも10%、または遺伝子移入後3ヶ月または90日で少なくとも15%改善する、項目2に記載の方法。

(項目4)

前記運動機能が、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、または50%改善される、項目2または3に記載の方法。

(項目5)

前記 r A A V が、静脈内経路を使用して投与される、項目1~4のいずれか一項に記載の方法。

(項目6)

前記 r A A V が、定量標準としてのスーパーコイルプラスミドに基づいて、約 5.0×10^{-13} v g / k g もしくは約 2.0×10^{-14} v g / k g で投与されるか、または定量標準としての線状化プラスミドに基づいて、約 1.85×10^{-13} v g / k g もしくは 7.41×10^{-13} v g / k g で投与される、項目1~5のいずれか一項に記載の方法。

(項目7)

前記 r A A V が、約 10 m L / k g の濃度で投与される、項目1~6のいずれか一項に記載の方法。

(項目8)

前記 r A A V が、注射、注入または移植によって投与される、項目1~7のいずれか一項に記載の方法。

(項目9)

前記 r A A V が、約1~2時間にわたって注入によって投与される、項目1~8のいずれか一項に記載の方法。

(項目10)

前記 r A A V が、末梢四肢静脈を介する静脈内経路によって投与される、項目1~8のいずれか一項に記載の方法。

(項目11)

前記 r A A V が、配列番号1のヒト - サルコグリカンヌクレオチド配列を含む、項目1~10のいずれか一項に記載の方法。

(項目12)

前記 r A A V が、配列番号4の M H C K 7 プロモーター配列を含む、項目1~11のいずれか一項に記載の方法。

(項目13)

前記 r A A V が、血清型 A A V r h . 7 4 の r A A V である、項目1~12のいずれか一項に記載の方法。

(項目14)

前記 r A A V が、配列番号3または配列番号19と少なくとも90%、95%、または99%同一であるヌクレオチド配列を含む、項目1~13のいずれか一項に記載の方法。

(項目15)

10

20

30

40

50

前記 r A A V が、配列番号 2 0 のイントロン配列を含む、項目 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6)

前記 r A A V が、配列番号 2 1 のポリ A 配列を含む、項目 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 7)

前記 r A A V が、配列番号 2 2 の 5 ' 逆位末端反復 (I T R) 配列を含む、項目 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8)

前記 r A A V が、配列番号 2 3 の 3 ' 逆位末端反復 (I T R) 配列を含む、項目 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9)

前記筋ジストロフィーが、肢帯型筋ジストロフィーである、項目 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 0)

前記筋ジストロフィーが、肢帯型筋ジストロフィー 2 E 型である、項目 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 1)

肢帯型筋ジストロフィーの治療を必要とする対象においてそれを治療する方法であって、定量標準としてのスーパーコイルプラスミドに基づいて、約 5.0×10^{13} v g / k g もしくは約 2.0×10^{14} v g / k g、または定量標準としての線状化プラスミドに基づいて、約 1.85×10^{13} v g / k g もしくは 7.41×10^{13} v g / k g の用量で、およそ 1 ~ 2 時間かけて r A A V 静脈内注入を前記対象に投与することを含み、前記 r A A V が、配列番号 3 または配列番号 1 9 のヌクレオチド配列を含む含む、方法。

(項目 2 2)

対象の細胞においてベータ - サルコグリカン遺伝子を発現する方法であって、配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含む s c A A V r h 7 4、M H C K 7、h S G C B 構築物を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 2 3)

対象の筋肉組織においてベータ - サルコグリカン陽性線維を増加させ、および / または C K レベルを減少させる方法であって、配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一である s c A A V r h 7 4、M H C K 7、h S G C B 構築物ヌクレオチド配列を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 2 4)

前記ベータ - サルコグリカン遺伝子の発現または陽性ベータ - サルコグリカン陽性線維の数が、前記 r A A V 投与の前および後の筋生検におけるウエスタンブロットでベータ - サルコグリカントタンパク質レベルを測定することによって検出される、項目 2 2 または 2 3 に記載の方法。

(項目 2 5)

前記ベータ - サルコグリカントタンパク質の発現が、r A A V 投与後に少なくとも 3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、3 6、3 7、3 8、3 9、または 4 0 % 増加する、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 6)

ベータ - サルコグリカン遺伝子の発現またはベータ - サルコグリカン陽性筋肉線維の数が、前記 r A A V 投与の前および後の筋生検における免疫組織化学によって前記ベータ - サルコグリカントタンパク質レベルを測定することによって検出される、項目 2 2 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 7)

前記ベータ - サルコグリカントタンパク質の発現が、r A A V 投与後に少なくとも 3 9 %

10

20

30

40

50

増加する、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 8)

前記対象の前記筋肉組織におけるベータ - サルコグリカン陽性線維の数が、前記 r A A V の投与前の前記ベータ - サルコグリカン陽性線維の数と比較して、前記 r A A V の投与後少なくとも 4 0、4 1、または 4 2 % 増加する、項目 2 3 に記載の方法。

(項目 2 9)

前記細胞が、1 より多い A A V ウイルスコピー数を有する、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 0)

前記対象における前記血清 C K レベルが、前記 r A A V のこの投与前の血清 C K レベルと比較して、前記 r A A V の投与後に減少する、項目 2 2 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

10

(項目 3 1)

前記対象における前記血清 C K レベルが、前記 r A A V の投与前の前記血清 C K レベルと比較して、前記 r A A V の投与後 6 0 日 ~ 9 0 日、6 0 日、または 9 0 日に少なくとも 8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8、8 9、または 9 0 % 減少する、項目 3 0 に記載の方法。

(項目 3 2)

前記対象におけるアルファ - サルコグリカンのレベルが、前記 r A A V の投与前の前記アルファ - サルコグリカンのレベルと比較して、前記 r A A V の投与後に増加する、項目 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

20

(項目 3 3)

アルファ - サルコグリカンの発現の増加を必要とする対象においてそれを行う方法であって、配列番号 3 または配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を有する s c A A V r h 7 4、M H C K 7、h S G C B 構築物を含む r A A V を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 3 4)

アルファ - サルコグリカンの細胞膜への局在化の増加を必要とする対象においてそれを行う方法であって、配列番号 3 または配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一である s c A A V r h 7 4、M H C K 7、h S G C B 構築物ヌクレオチド配列を前記対象に投与することを含む、方法。

30

(項目 3 5)

前記アルファ - サルコグリカンが、前記 r A A V 投与前および後の筋生検における免疫組織化学によってアルファ - サルコグリカントタンパク質レベルを測定することによって検出される、項目 3 3 または 3 4 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記アルファ - サルコグリカンが、前記 r A A V 投与前および後の筋生検におけるウェスタンブロットによってアルファ - サルコグリカントタンパク質レベルを測定することによって検出される、項目 3 3 または 3 4 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記アルファ - サルコグリカンが、s c A A V r h 7 4、M H C K 7、h S G C B によってコードされるベータ - サルコグリカンを発現する細胞の膜に共局在化する、項目 3 4 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

(項目 3 8)

対象の筋肉組織におけるサルコグリカン発現を増加させるか、または筋肉機能を改善する方法であって、配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含む r A A V を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 3 9)

前記対象が、サルコグリカンをコードする遺伝子中に遺伝子変異を有するか、または筋ジストロフィーに罹患している、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 0)

50

前記サルコグリカンが、 - サルコグリカン (S G C B)、 - サルコグリカン (S G C A)、 - サルコグリカン (S G C G)、または - サルコグリカン (S G C D) である、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 1)

前記ヌクレオチド配列が、 配列番号 1 9 のポリヌクレオチド配列を含む、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 2)

対象の筋肉組織におけるサルコグリカン発現を増加させる方法であって、 第 1 のサルコグリカンをコードするヌクレオチド配列を含む構築物を前記対象に投与することと、前記第 1 のサルコグリカンを発現する細胞の細胞膜において少なくとも第 2 のサルコグリカンの発現の増加を検出することと、を含む、方法。

10

(項目 4 3)

前記第 1 のサルコグリカンが、 - サルコグリカン (S G C B) であり、前記第 2 のサルコグリカンが、 - サルコグリカン (S G C A)、 - サルコグリカン (S G C G)、および / または - サルコグリカン (S G C D) である、項目 4 2 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記対象が、 4 ~ 1 5 歳のヒト対象である、項目 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 5)

前記対象が、 小児対象、青年期対象または若年成人対象である、項目 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

20

(項目 4 6)

前記対象が、 4 ~ 1 5 歳のヒト対象であり、両方の対立遺伝子においてベータ - サルコグリカン (S G C B) 変異が確認されており、A A V r h 7 4 抗体に対して陰性であり、および / または 1 0 0 メートル歩行試験が 4 0 % を超えるか、または正常であった、項目 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 7)

前記対象が、 中年成人または高齢対象である、項目 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 8)

前記対象が、 2 5 ~ 5 5 歳のヒト対象である、項目 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

30

(項目 4 9)

前記対象が、 5 0 歳を超えるヒト対象である、項目 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 0)

組成物であって、

r A A V s c A A V r h 7 4 . M H C K 7 . h S G C B ベクターと、

緩衝剤と、

イオン強度剤と、

界面活性剤と、を含む、組成物。

40

(項目 5 1)

前記 r A A V が、 約 $1 . 0 \times 1 0^{-12}$ v g / m l ~ 約 $5 . 0 \times 1 0^{-14}$ v g / m l、または約 $5 . 0 \times 1 0^{-12}$ v g / m l ~ 約 $1 . 0 \times 1 0^{-14}$ v g / m l の濃度である、項目 5 0 に記載の組成物。

(項目 5 2)

前記 r A A V が、 約 $2 . 0 \times 1 0^{-13}$ v g / m l、 $4 \times 1 0^{-13}$ v g / m l、 $5 \times 1 0^{-13}$ v g / m l の濃度である、項目 5 0 に記載の組成物。

(項目 5 3)

前記緩衝剤が、 トリス、トリシン、ピス - トリシン、H E P E S、M O P S、T E S、T A P S、P I P E S、および C A P S のうちの 1 つ以上を含む、項目 5 0 に記載の組成

50

物。

(項目54)

前記緩衝剤が、約5mM～約40mMの濃度でpH8.0の前記トリスを含む、項目53に記載の組成物。

(項目55)

前記緩衝剤が、約20mMでpH8.0の前記トリスを含む、項目53に記載の組成物。

(項目56)

前記イオン強度剤が、塩化カリウム(KCl)、酢酸カリウム、硫酸カリウム、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム(NH₄Cl)、酢酸アンモニウム、塩化マグネシウム(MgCl₂)、酢酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化マンガン(MnCl₂)、酢酸マンガン、硫酸マンガン、塩化ナトリウム(NaCl)、酢酸ナトリウム、塩化リチウム(LiCl)、および酢酸リチウムのうちの1つ以上を含む、項目50に記載の組成物。

(項目57)

前記イオン強度剤が、約0.2mM～約4mMの濃度でMgCl₂を含む、項目50に記載の組成物。

(項目58)

前記イオン強度剤が、約50mM～約500mMの濃度でNaClを含む、項目50に記載の組成物。

(項目59)

前記イオン強度剤が、約0.2mM～約4mMの濃度でMgCl₂を含み、約50mM～約500mMの濃度でNaClを含む、項目50に記載の組成物。

(項目60)

前記イオン強度剤が、約1mMの濃度でMgCl₂を含み、約200mMの濃度でNaClを含む、項目50に記載の組成物。

(項目61)

前記界面活性剤が、スルホネート、サルフェート、ホスホネート、ホスフェート、ポロキサマー、およびカチオン性界面活性剤のうちの1つ以上を含む、項目50に記載の組成物。

(項目62)

前記ポロキサマーが、ポロキサマー124、ポロキサマー181、ポロキサマー184、ポロキサマー188、ポロキサマー237、ポロキサマー331、ポロキサマー338、およびポロキサマー407のうちの1つ以上を含む、項目61に記載の組成物。

(項目63)

前記界面活性剤が、約0.00001%～約1%の濃度で前記ポロキサマーを含む、項目61に記載の組成物。

(項目64)

前記界面活性剤が、約0.001%の濃度でポロキサマー188を含む、項目61に記載の組成物。

(項目65)

組換えAAV(rAAV)scAAVrh74.MHCK7.hSGCBを含み、前記scAAVrh74.MHCK7.hSGCBが、配列番号19と少なくとも95%または99%同一であるヌクレオチド配列を含む、医薬組成物。

(項目66)

前記scAAVrh74.MHCK7.hSGCBが、配列番号19のヌクレオチド配列を含む、項目65に記載の医薬組成物。

(項目67)

組換えAAVscAAVrh74.MHCK7.hSGCBを生成する方法であって、プラスミドを細胞に移入することを含み、前記プラスミドが、配列番号24と少なくとも90%、95%、または99%同一であるヌクレオチド配列を含む、方法。

10

20

30

40

50

(項目 6 8)

前記プラスミドが、配列番号 2 4 のヌクレオチド配列を含む、項目 8 3 に記載の方法。

(項目 6 9)

前記プラスミドが、配列番号 1、3、または 1 9 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含む、項目 6 7 に記載の方法。

(項目 7 0)

前記プラスミドが、配列番号 1 9 のヌクレオチド配列を含む、項目 6 7 ~ 6 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 1)

パッケージングプラスミドおよび / またはヘルパーウイルスを前記細胞に移入することをさらに含む、項目 6 7 ~ 7 0 のいずれか一項に記載の方法。 10

(項目 7 2)

前記細胞が、安定に組み込まれた A A V c a p 遺伝子を含む、項目 6 7 ~ 7 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 3)

前記細胞が、安定に組み込まれた A A V r e p 遺伝子を含む、項目 6 7 ~ 7 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 4)

細胞であって、配列番号 2 4 と少なくとも 9 0 %、9 5 %、または 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含むプラスミドを含む、細胞。 20

(項目 7 5)

前記プラスミドが、配列番号 2 4 のヌクレオチド配列を含む、項目 7 4 に記載の細胞。

(項目 7 6)

配列番号 1 9 のヌクレオチド配列を含む、項目 7 4 または 7 5 に記載の細胞。

(項目 7 7)

前記細胞が、昆虫細胞、蚊細胞、または哺乳動物細胞である、項目 7 4 ~ 7 6 のいずれか一項に記載の細胞。

30

40

50