

【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30年12月13日 (2018.12.13)

【公開番号】特開2018-121653(P2018-121653A)

【公開日】平成30年8月9日 (2018.8.9)

【年通号数】公開・登録公報2018-030

【出願番号】特願2018-72783(P2018-72783)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/04 (2006.01)

A 6 1 K 38/28 (2006.01)

A 6 1 K 38/26 (2006.01)

A 6 1 K 38/25 (2006.01)

A 6 1 K 38/29 (2006.01)

A 6 1 K 38/24 (2006.01)

A 6 1 K 38/27 (2006.01)

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 K 38/19 (2006.01)

A 6 1 K 38/44 (2006.01)

A 6 1 K 38/20 (2006.01)

A 6 1 K 38/21 (2006.01)

A 6 1 K 38/17 (2006.01)

A 6 1 K 38/18 (2006.01)

A 6 1 K 38/45 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 K 38/55 (2006.01)

A 6 1 K 38/53 (2006.01)

A 6 1 K 38/36 (2006.01)

A 6 1 K 38/37 (2006.01)

A 6 1 K 38/51 (2006.01)

A 6 1 K 38/47 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/10 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/12

A 6 1 K 35/761

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 7/04

A 6 1 K 38/28

A 6 1 K 38/26

A 6 1 K 38/25

A 6 1 K 38/29

A 6 1 K 38/24

A 6 1 K	38/27	
A 6 1 K	38/22	
A 6 1 K	38/19	
A 6 1 K	38/44	
A 6 1 K	38/20	
A 6 1 K	38/21	
A 6 1 K	38/17	1 0 0
A 6 1 K	38/18	
A 6 1 K	38/45	
A 6 1 K	38/46	
A 6 1 K	38/55	
A 6 1 K	38/53	
A 6 1 K	38/36	
A 6 1 K	38/37	
A 6 1 K	38/51	
A 6 1 K	38/47	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	31/713	

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月30日(2018.10.30)

【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】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

高度に精製されたアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター製剤を製造するための製造方法であって、前記製造方法は、

a) 組換えAAVベクター粒子を含む細胞及び細胞上清を採取する工程と、

b) 工程(a)において採取した前記細胞及び細胞上清を接線流ろ過を用いて濃縮して濃縮採集物を作成する工程と、

c) 工程(b)において作成した前記濃縮採集物を顕微溶液化によって前記細胞を溶解して溶解物を作成する工程と、

d) 工程(c)において作成した溶解物を濾過して浄化された溶解物を作成する工程と

e) イオン交換カラムクロマトグラフィーによって工程(d)において作成した浄化された溶解物を精製して、組換えAAVベクター粒子を含むカラム溶出液を作成し、さらに、任意に、に接線流ろ過によって前記カラム溶出液を濃縮して濃縮されたカラム溶出液を作成する工程と、

f) 工程(e)において作成したカラム溶出液又は濃縮されたカラム溶出液と塩化セシウムとを混合して混合物を作成し、さらに、当該混合物を勾配超遠心分離にかけて、空カプシドAAVベクター粒子及び他のAAVベクター関連不純物から真正(bona fide) AAVベクター粒子を実質的に分離する工程と、

g) 工程(f)に続いてウイルス粒子を回収し、さらに、接線流ろ過によって同一の緩衝液交換を受けさせる工程と、

h) 界面活性剤と共に工程(g)において作成した真正AAVベクター粒子を製剤化してAAVベクター製剤を作成する工程と、

i) 工程(h)において作成したAAVベクター製剤を濾過して、前記高度に精製され

た A A V ベクター製剤中の A A V ベクター粒子の少なくとも 90 % が真正 A A V ベクター粒子である、高度に精製された A A V ベクター製剤を作成する工程と、
を有する製造方法。

【請求項 2】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、前記真正 A A V ベクター粒子は、約 100 mg / mL の濃度で存在する、製造方法。

【請求項 3】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、工程 i) の前記真正 A A V ベクター粒子は、1 mL あたり 10^{15} 粒子の濃度で存在する、製造方法。

【請求項 4】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、工程 i) の前記真正 A A V ベクター粒子は 1 mL あたり 10^{16} 粒子の濃度で存在する、製造方法。

【請求項 5】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、工程 i) の前記 A A V ベクター粒子は 1 mL あたり 10^{17} 粒子の濃度で存在する、方法。

【請求項 6】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、前記真正 A A V ベクター粒子は、A A V 1、A A V 2、A A V 5、A A V 6、A A V 8 および A A V 9 からなる群から選択される A A V に由来する、製造方法。

【請求項 7】

薬学的に許容可能な担体中に、請求項 1 記載の方法を使用して精製された真正 A A V ベクター粒子を有し、前記真正 A A V ベクター粒子が 1 mL あたり 10^{15} 粒子の濃度で存在する A A V ベクター製剤。

【請求項 8】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、前記真正 A A V ベクター粒子は、s i R N A、アンチセンス分子、m i R N A、リボザイム、および s h R N A からなる群から選択される核酸をコードする導入遺伝子を含む、製造方法。

【請求項 9】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、前記真正 A A V ベクター粒子は、インスリン、グルカゴン、成長ホルモン (G H)、副甲状腺ホルモン (P T H)、成長ホルモン放出因子 (G R F)、卵胞刺激ホルモン (F S H)、黄体形成ホルモン (L H)、ヒト絨毛性腺刺激ホルモン (h C G)、血管内皮成長因子 (V E G F)、アングリオポエチン、アングリオスタチン、顆粒球コロニー刺激因子 (G C S F)、エリトロポエチン (E P O)、結合組織成長因子 (C T G F)、塩基性線維芽細胞成長因子 (b F G F)、酸性線維芽細胞成長因子 (a F G F)、上皮成長因子 (E G F)、形質転換成長因子 α (T G F α)、血小板由来成長因子 (P D G F)、インスリン成長因子 I および I I (I G F - I および I G F - I I)、T G F β 、アクチビン、インヒビン、骨形態形成タンパク質 (B M P)、神経成長因子 (N G F)、脳由来神経栄養因子 (B D N F)、ニュートロフィン N T - 3 および N T 4 / 5、毛様体神経栄養因子 (C N T F)、グリア細胞株由来神経栄養因子 (G D N F)、ニューロツリン、アグリニン、ネトリン - 1 およびネトリン - 2、肝細胞成長因子、エフリン、ノギン、ソニックヘッジホッグ、およびチロシン水酸化酵素からなる群から選択される遺伝子産物をコードする導入遺伝子を含む、製造方法。

【請求項 10】

請求項 1 記載の高度に精製された A A V ベクター製剤の製造方法において、前記真正 A A V ベクター粒子は、トロンプオエチン (T P O)、インターロイキン (I L 1 から I L - 17)、単球走化性タンパク質、白血病抑制因子、顆粒球 - マクロファージコロニー刺激因子、F a s リガンド、腫瘍壊死因子 α および β 、インターフェロン α 、 β および γ 、幹細胞因子、f l k - 2 / f l t 3 リガンド、I g G、I g M、I g A、I g D および I g E、キメラ免疫グロブリン、ヒト化抗体、一本鎖抗体、T 細胞受容体、キメラ T 細胞受

容体、一本鎖T細胞受容体、クラスIおよびクラスII MHC分子からなる群から選択される遺伝子産物をコードする導入遺伝子である、方法。

【請求項11】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、前記真正AAVベクター粒子は、カルバモイル合成酵素I、オルニチン・トランスカルバミラーゼ、アルギニノコハク酸合成酵素、アルギニノコハク酸分解酵素、アルギナーゼ、フマリルアセト酢酸ヒドラーゼ、フェニルアラニン水酸化酵素、アルファー1 アンチトリプシン、グルコース-6-ホスファターゼ、ポリホビリノゲン・デアミナーゼ、第V因子、第VII因子、第IX因子、シスタチオニンβ合成酵素、側鎖ケト酸デカルボキシラーゼ、アルブミン、イソバレリルCoA脱水素酵素、プロピオニルCoAカルボキシラーゼ、メチルマロニルCoAムターゼ、グルタリルCoA脱水素酵素、インスリン、ベーターグルコシダーゼ、ピルビン酸カルボキシラーゼ、肝臓ホスホリラーゼ、ホスホリラーゼキナーゼ、グリシンデカルボキシラーゼ、RPE65、H-タンパク質、T-タンパク質、嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子(CFTR)配列、ジストロフィンcDNA配列からなる群から選択された、代謝の先天的異常の修正に有用なタンパク質をコードする核酸を有する導入遺伝子を含む、製造方法。

【請求項12】

請求項11記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、前記遺伝子産物は、第VII因子または第IX因子である、製造方法。

【請求項13】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、工程(f)中に空のカプシド画分を回収する工程を含む、製造方法。

【請求項14】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、前記空のカプシドが、工程(i)の濾過物中に10重量%以下の量で存在する、製造方法。

【請求項15】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、前記真正AAVベクター粒子が、工程(i)の濾過物中に95重量%以下の量で存在する、製造方法。

【請求項16】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、前記空のカプシドが、工程(i)の濾過物中に5重量%以下の量で存在する、製造方法。

【請求項17】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、工程(f)における前記遠心分離が1つのステップで行われる、製造方法。

【請求項18】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、工程(f)における前記遠心分離が密度勾配超遠心分離である、製造方法。

【請求項19】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、工程(e)におけるカラム溶出液が、接線流ろ過によって前記カラム溶出液を濃縮されて、濃縮されたカラム溶出液を生成する、製造方法。

【請求項20】

請求項1記載の高度に精製されたAAVベクター製剤の製造方法において、工程(c)において作成した溶解物にヌクレアーゼを加える工程をさらに含む、製造方法。

【請求項21】

高度に精製されたアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター製剤を製造するための製造方法であって、前記製造方法は、

- a) 組換えAAVベクター粒子を含む細胞及び細胞上清を採取する工程と、
- b) 工程(a)において採取した前記細胞及び細胞上清を接線流ろ過を用いて濃縮して

濃縮採集物を作成する工程と、

c) 工程 (b) において作成した前記濃縮採集物を顕微溶液化によって前記細胞を溶解して溶解物を作成する工程と、

d) 工程 (c) において作成した溶解物を濾過して浄化された溶解物を作成する工程と、

e) イオン交換カラムクロマトグラフィーによって工程 (d) において作成した浄化された溶解物を精製して、組換え A A V ベクター粒子を含むカラム溶出液を作成し、さらに、任意に、接線流ろ過によって前記カラム溶出液を濃縮して濃縮されたカラム溶出液を作成する工程と、

f) 工程 (e) において作成したカラム溶出液又は濃縮されたカラム溶出液と塩化セシウムとを混合して混合物を作成する工程と、

g) 工程 f) の混合物を 1 回の勾配超遠心分離にかけて、空カプシド A A V ベクター粒子及び他の A A V ベクター関連不純物から、真正 (b o n a f i d e) A A V ベクター粒子を実質的に分離する工程と、

h) 工程 g) において分離された真正 A A V ベクター粒子を回収し、前記回収した真正 A A V ベクター粒子を接線流ろ過による緩衝液交換に供する工程と、

i) 界面活性剤と共に、工程 (g) において作成した真正 A A V ベクター粒子を製剤化して、A A V ベクター製剤を作成する工程と、

j) 工程 (i) において作成した A A V ベクター製剤を濾過して、高度に精製された A A V ベクター製剤を作成する工程であって、前記高度に精製された A A V ベクター製剤中の A A V ベクター粒子の少なくとも 90 % が真正 A A V ベクター粒子であり、かつ、前記真正 A A V ベクター粒子が、高度に精製された A A V ベクター製剤中に 1 m L あたり 10^{15} 粒子の濃度で存在する工程と、を有する方法。