

【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10月30日(2023.10.30)

【国際公開番号】WO2021/081201

【公表番号】特表2022-553307(P2022-553307A)

【公表日】令和4年12月22日(2022.12.22)

【年通号数】公開公報(特許)2022-236

【出願番号】特願2022-523408(P2022-523408)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 1/15(2006.01)

C 1 2 N 1/19(2006.01)

C 1 2 N 1/21(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

A 6 1 P 25/28(2006.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 K 38/18(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

10

20

【F I】

C 1 2 N 15/12 Z N A

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 7/01

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 25/00

A 6 1 K 38/18

A 6 1 K 48/00

30

【手続補正書】

【提出日】令和5年10月20日(2023.10.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

40

【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】

プログラニユリンをコードする核酸配列を含む単離されたポリヌクレオチドであって、前記核酸配列が哺乳動物発現のためにコドン最適化される、前記ポリヌクレオチド。

【請求項2】

前記核酸が、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13および配列番号14からなる群より選択され

50

る配列を含む、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項3】

前記核酸が、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13および配列番号14からなる群より選択される核酸配列に対して少なくとも85%同一である配列を含む、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項4】

前記核酸配列がヒト細胞での発現のためにコドン最適化される、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項5】

前記核酸配列がcDNA配列である、請求項1～4のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】

前記核酸配列が、
機能的に連結された機能上最適化されたN末端シグナル配列；
機能的に連結されたヘマグルチニンC末端タグ；
機能的に連結されたソルチリン結合性阻害（SBI）ドメイン；
機能的に連結されたニューロン特異的ヒトシナプシン-1プロモーター（hSYN1）；
機能的に連結された普遍的に活性なCBAプロモーター；
機能的に連結されたポリアデニル化シグナルもしくはヒト成長ホルモン（hGH）ポリアデニル化シグナル；および/または
ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント（WPRE）を含む機能的に連結された3'UTR調節領域
 をさらに含む、請求項1～5のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項7】

前記プロモーターが、高プログラニューリン発現を駆動するために最適化される、請求項6に記載のポリヌクレオチド。

【請求項8】

前記ポリアデニル化シグナルがSV40ポリアデニル化シグナルである、請求項6に記載のポリヌクレオチド。

【請求項9】

ポリアデニル化シグナルに機能的に連結されたウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント（WPRE）を含む3'UTR調節領域に機能的に連結された、ニューロン特異的ヒトシナプシン-1プロモーターまたは普遍的に活性なCBAプロモーターに機能的に連結された、ヘマグルチニンC末端タグまたはソルチリン結合性阻害（SBI）ドメインを任意により含む、機能的に連結されたN末端シグナル配列をさらに含む、請求項1～4のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項10】

請求項1～9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含む宿主細胞。

【請求項11】

哺乳動物細胞である、請求項10に記載の宿主細胞。

【請求項12】

請求項1～9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含む組み換え単純ヘルペスウイルス（rHSV）。

【請求項13】

- (a) 請求項1～9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド；および
- (b) 最小調節エレメント

を含む導入遺伝子発現カセット。

【請求項14】

請求項13に記載の発現カセットを含む核酸ベクター。

10

20

30

40

50

【請求項 15】

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 14 に記載の核酸ベクター。

【請求項 16】

請求項 13 に記載の導入遺伝子発現カセットを含む宿主細胞。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項 18】

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 17 に記載のベクター。

【請求項 19】

前記 AAV ベクターのカプシド配列の血清型および ITR の血清型が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、および AAV12 からなる群より独立して選択される、請求項 18 に記載のベクター。 10

【請求項 20】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドおよび AAV ゲノムカセットを含む、組み換えアデノ随伴 (rAAV) 発現ベクター。

【請求項 21】

前記 AAV ゲノムカセットに 2 つの配列調節型逆位末端反復が隣接している、請求項 20 に記載の発現ベクター。

【請求項 22】

ポリアデニル化シグナルに機能的に連結されたウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント (WPRE) を含む 3' UTR 調節領域に機能的に連結された、ニューロン特異的ヒトシナプシン-1 プロモーターまたは遍在的に活性な CBA プロモーターに機能的に連結された、ヘマグルチニン C 末端タグまたはソルチリン結合性阻害 (SBI) ドメインを任意により含む、N 末端シグナル配列に機能的に連結された、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む組み換えアデノ随伴 (rAAV) 発現ベクターであって、2 つの配列調節型逆位末端反復 (ITR) が AAV ゲノムカセットに隣接し、かつタンパク質カプシド変異体をさらに含む、上記発現ベクター。 20

【請求項 23】

ポリアデニル化シグナルが SV40 またはヒト成長ホルモン (hGH) ポリアデニル化シグナルである、請求項 22 に記載の発現ベクター。 30

【請求項 24】

前記プロモーターが、高プログラニューリン発現を駆動するために最適化される、請求項 22 に記載の発現ベクター。

【請求項 25】

前記 rAAV が、AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、rh-AAV-10、AAV10、AAV11、および AAV12 からなる群より選択される血清型である、請求項 22 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の発現ベクター。

【請求項 26】

前記 rAAV が、AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、rh-AAV-10、AAV10、AAV11、および AAV12 からなる群より選択される血清型の変異体またはハイブリッドである、請求項 25 に記載の発現ベクター。 40

【請求項 27】

前記 rAAV が AAV ビリオン内に含まれる、請求項 22 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の発現ベクター。

【請求項 28】

請求項 22 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の発現ベクターを含む、組み換え単純ヘルペスウイルス (rHSV)。

【請求項 29】

請求項 22 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 30】

哺乳動物細胞である、請求項29に記載の宿主細胞。

【請求項31】

- (a) 請求項1～9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド；および
(b) 最小調節エレメント

を含む導入遺伝子発現カセット。

【請求項32】

請求項31に記載の発現カセットを含む核酸ベクター。

【請求項33】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである、請求項32に記載のベクター。

【請求項34】

請求項1～9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含む組成物。

【請求項35】

請求項10に記載の宿主細胞を含む組成物。

【請求項36】

請求項12に記載の組み換え単純ヘルペスウイルス(rHSV)を含む組成物。

【請求項37】

請求項13に記載の導入遺伝子発現カセットを含む組成物。

【請求項38】

請求項14または15に記載の発現ベクターを含む組成物。

【請求項39】

医薬組成物である、請求項34～38のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項40】

請求項14または15に記載の核酸ベクターを含む医薬組成物であって、それを必要とする被験体における神経変性障害を治療または予防する方法における使用のための、前記医薬組成物。

【請求項41】

請求項22～26のいずれか1項に記載の組み換えアデノ随伴(rAAV)発現ベクターを含む医薬組成物であって、それを必要とする被験体における神経変性障害を治療または予防する方法における使用のための、前記医薬組成物。

【請求項42】

前記神経変性障害が、認知の乱れ、行動障害、欠陥型リソソーム蓄積、またはそれらの組み合わせにより特徴付けられる、請求項40または41に記載の医薬組成物。

【請求項43】

前記神経変性障害が、プログラニューリン関連神経変性障害である、請求項40または41に記載の医薬組成物。

【請求項44】

前記神経変性障害が、家族性前頭側頭型認知症(FTD)、前頭側頭葉変性症(FTLD)、神経セロイドリポフスチン症(NCL)、またはアルツハイマー病(AD)である、請求項40または41に記載の医薬組成物。

【請求項45】

前記神経セロイドリポフスチン症(NCL)が11型神経セロイドリポフスチン症(CLN11)である、請求項44に記載の医薬組成物。

【請求項46】

中枢神経系に対する投与のために製剤化されている、請求項40または41に記載の医薬組成物。

【請求項47】

静脈内、脳室内、髄腔内、またはそれらの組み合わせによる投与のために製剤化されている、請求項40または41に記載の医薬組成物。

【請求項48】

それぞれがプロモーターに機能的に連結されたAAV repおよびAAV cap遺伝子をコー

10

20

30

40

50

ドする核酸を含む第1の組み換えヘルペスウイルス、ならびにプログラニュリン遺伝子、および該遺伝子に機能的に連結されたプロモーターを含む第2の組み換えヘルペスウイルスを用いて、細胞の懸濁物を共感染させるステップ；ならびに細胞に組み換えAAVウイルス粒子を産生させて、それにより組み換えAAVウイルス粒子を生成するステップを含む、組み換えAAVウイルス粒子を生成するための方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0201

【補正方法】変更

【補正の内容】

10

【0201】

本発明のさらなる実施形態が、以下の実施例を参照して説明される。本明細書中に含まれる実施例は、例示のために提供され、限定を目的としない。

本発明は、例えば以下の実施形態を包含する：

【1】プログラニュリンをコードする核酸配列を含む単離されたポリヌクレオチド。

【2】前記核酸配列が天然に存在しない配列である、【1】に記載のポリヌクレオチド。

【3】前記核酸配列が哺乳動物プログラニュリンをコードする、【1】または【2】に記載のポリヌクレオチド。

【4】前記哺乳動物プログラニュリンがヒトプログラニュリンである、【3】に記載のポリヌクレオチド。

20

【5】前記核酸が、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13および配列番号14からなる群より選択される配列を含む、【1】～【4】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【6】前記核酸が、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13および配列番号14からなる群より選択される核酸配列に対して少なくとも85%同一である配列を含む、【1】～【4】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【7】前記核酸配列が哺乳動物発現のためにコドン最適化される、【1】～【6】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【8】前記核酸配列がヒト細胞での発現のためにコドン最適化される、【7】に記載のポリヌクレオチド。

30

【9】前記核酸配列がcDNA配列である、【1】～【8】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【10】前記核酸配列が、機能的に連結された機能上最適化されたN末端シグナル配列をさらに含む、【1】～【9】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【11】前記核酸配列が、機能的に連結されたヘマグルチニンC末端タグをさらに含む、【1】～【10】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【12】前記核酸配列が、機能的に連結されたソルチリン結合性阻害(SBI)ドメインをさらに含む、【1】～【11】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【13】前記核酸配列が、機能的に連結されたニューロン特異的ヒトシナプシン-1プロモーター(hSYN1)をさらに含む、【1】～【12】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

40

【14】前記核酸配列が、機能的に連結された遍在的に活性なCBAプロモーターをさらに含む、【1】～【12】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【15】前記プロモーターが、高プログラニュリン発現を駆動するために最適化される、【13】または【14】に記載のポリヌクレオチド。

【16】前記核酸配列が、ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE)を含む機能的に連結された3'UTR調節領域をさらに含む、【1】～【15】のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【17】前記核酸配列が、機能的に連結されたポリアデニル化シグナルをさらに含む、【

50

1] ~ [16]のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

[18]前記ポリアデニル化シグナルがSV40ポリアデニル化シグナルである、[17]に記載のポリヌクレオチド。

[19]前記ポリアデニル化シグナルがヒト成長ホルモン(hGH)ポリアデニル化シグナルである、[17]に記載のポリヌクレオチド。

[20]ポリアデニル化シグナルに機能的に連結されたウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE)を含む3'UTR調節領域に機能的に連結された、ニューロン特異的ヒトシナプシン-1プロモーターまたは遍在的に活性なCBAプロモーターに機能的に連結された、ヘマグルチニンC末端タグまたはソルチリン結合性阻害(SBI)ドメインを任意により含む、機能的に連結されたN末端シグナル配列をさらに含む、[1]~[8]のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

10

[21][1]~[20]のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む宿主細胞。

[22]哺乳動物細胞である、[21]に記載の宿主細胞。

[23][1]~[21]のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む組み換え単純ヘルペスウイルス(rHSV)。

[24](a)[1]~[21]のいずれかに記載のポリヌクレオチド；および

(b)最小調節エレメント

を含む導入遺伝子発現カセット。

[25][24]に記載の発現カセットを含む核酸ベクター。

[26]アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである、[25]に記載のベクター。

20

[27][24]に記載の導入遺伝子発現カセットを含む宿主細胞。

[28][1]~[21]のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

[29]アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである、[28]に記載のベクター。

[30]前記AAVベクターのカプシド配列の血清型およびITRの血清型が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、およびAAV12からなる群より独立して選択される、[29]に記載のベクター。

[31][1]~[21]のいずれかに記載のポリヌクレオチドおよびAAVゲノムカセットを含む、組み換えアデノ随伴(rAAV)発現ベクター。

[32]前記AAVゲノムカセットに2つの配列調節型逆位末端反復が隣接している、[31]に記載の発現ベクター。

30

[33]ポリアデニル化シグナルに機能的に連結されたウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE)を含む3'UTR調節領域に機能的に連結された、ニューロン特異的ヒトシナプシン-1プロモーターまたは遍在的に活性なCBAプロモーターに機能的に連結された、ヘマグルチニンC末端タグまたはソルチリン結合性阻害(SBI)ドメインを任意により含む、N末端シグナル配列に機能的に連結された、[1]~[8]のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む組み換えアデノ随伴(rAAV)発現ベクターであって

2つの配列調節型逆位末端反復(ITR)がAAVゲノムカセットに隣接し、かつタンパク質カプシド変異体をさらに含む、上記発現ベクター。

[34]ポリアデニル化シグナルがSV40またはヒト成長ホルモン(hGH)ポリアデニル化シグナルである、[33]に記載の発現ベクター。

40

[35]前記プロモーターが、高プログラニュリン発現を駆動するために最適化される、[33]に記載の発現ベクター。

[36]前記rAAVが、AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、rh-AAV-10、AAV10、AAV11、およびAAV12からなる群より選択される血清型である、[33]~[35]のいずれかに記載の発現ベクター。

[37]前記rAAVが、AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、rh-AAV-10、AAV10、AAV11、およびAAV12からなる群より選択される血清型の変異体またはハイブリッドである、[36]に記載の発現ベクター。

[38]前記rAAVがAAVピリオン内に含まれる、[33]~[37]のいずれかに記載

50

の発現ベクター。

[3 9] [3 3] ~ [3 7] のいずれかに記載の発現ベクターを含む、組み換え単純ヘルペスウイルス (rHSV) 。

[4 0] [3 3] ~ [3 9] のいずれかに記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

[4 1] 哺乳動物細胞である、[4 0] に記載の宿主細胞。

[4 2] (a) [1] ~ [2 1] のいずれかに記載のポリヌクレオチド；および (b) 最小調節エレメント

を含む導入遺伝子発現カセット。

[4 3] [4 2] に記載の発現カセットを含む核酸ベクター。

[4 4] アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、[4 3] に記載のベクター。

[4 5] [1] ~ [2 1] のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む組成物。

[4 6] [2 1] に記載の宿主細胞を含む組成物。

[4 7] [2 3] に記載の組み換え単純ヘルペスウイルス (rHSV) を含む組成物。

[4 8] [2 4] に記載の導入遺伝子発現カセットを含む組成物。

[4 9] [2 5] または [2 6] に記載の発現ベクターを含む組成物。

[5 0] 医薬組成物である、[4 5] ~ [4 9] のいずれかに記載の組成物。

[5 1] それを必要とする被験体に [1] ~ [2 1] のいずれかに記載のポリヌクレオチドを投与するステップを含む、神経変性障害を治療または予防する方法。

[5 2] それを必要とする被験体に [2 4] に記載の導入遺伝子発現カセットを投与するステップを含む、神経変性障害を治療または予防する方法。

[5 3] それを必要とする被験体に [2 5] または [2 6] に記載の発現ベクターを投与するステップを含む、神経変性障害を治療または予防する方法。

[5 4] それを必要とする被験体に [3 3] ~ [3 7] のいずれかに記載の組み換えアデノ随伴 (rAAV) 発現ベクターを投与するステップを含む、神経変性障害を治療または予防する方法。

[5 5] それを必要とする被験体に [1] ~ [2 1] のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む組み換えアデノ随伴 (rAAV) ウイルス粒子を投与するステップを含む、神経変性障害を治療または予防する方法。

[5 6] 前記神経変性障害が、認知の乱れ、行動障害、欠陥型リソソーム蓄積、またはこれらの組み合わせにより特徴付けられる、[5 1] ~ [5 5] のいずれかに記載の方法。

[5 7] 前記神経変性障害が、プログラニューリン関連神経変性障害である、[5 1] ~ [5 5] のいずれかに記載の方法。

[5 8] 前記神経変性障害が、家族性前頭側頭型認知症 (FTD)、前頭側頭葉変性症 (FTLD)、神経セロイドリポフスチン症 (NCL)、またはアルツハイマー病 (AD) である、[5 1] ~ [5 5] のいずれかに記載の方法。

[5 9] 前記神経セロイドリポフスチン症 (NCL) が 11 型神経セロイドリポフスチン症 (CLN11) である、[5 8] に記載の方法。

[6 0] 前記投与が中枢神経系に対する、[5 1] ~ [5 5] のいずれかに記載の方法。

[6 1] 前記投与が、静脈内、脳室内、髄腔内、またはそれらの組み合わせである、[5 1] ~ [5 5] のいずれかに記載の方法。

[6 2] それぞれがプロモーターに機能的に連結された AAV rep および AAV cap 遺伝子をコードする核酸を含む第 1 の組み換えヘルペスウイルス、ならびにプログラニューリン遺伝子、および該遺伝子に機能的に連結されたプロモーターを含む第 2 の組み換えヘルペスウイルスを用いて、細胞の懸濁物を共感染させるステップ；ならびに細胞に組み換え AAV ウイルス粒子を産生させて、それにより組み換え AAV ウイルス粒子を生成するステップを含む、組み換え AAV ウイルス粒子を生成するための方法。

[6 3] 前記 cap 遺伝子が、AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、rh-AAV-10、AAV11、および AAV12 からなる群より選択される血清型を有する AAV から選択される、[6 2] に記載の方法。

[6 4] 前記第 1 のヘルペスウイルスおよび前記第 2 のヘルペスウイルスが、サイトメガ

10

20

30

40

50

ロウイルス (CMV)、単純ヘルペスウイルス (HSV) ならびに水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) およびエプスタイン・バーウイルス (EBV) からなる群より選択されるウイルスである、[62] に記載の方法。

[65] 前記ヘルペスウイルスが複製欠損型である、[62] に記載の方法。

[66] 前記共感染が同時である、[62] に記載の方法。

10

20

30

40

50