

【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 4 年 8 月 4 日(2022.8.4)

【国際公開番号】WO2020/028816

【公表番号】特表 2021-534814(P2021-534814A)

【公表日】令和 3 年 12 月 16 日(2021.12.16)

【出願番号】特願 2021-529252(P2021-529252)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/113(2010.01)

10

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 15/85(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 P 25/16(2006.01)

A 6 1 P 25/28(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 K 31/7088(2006.01)

20

A 6 1 P 43/00(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/113 Z Z N A

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/85 Z

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 7/01

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 25/28

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 P 43/00 1 2 1

30

【手続補正書】

【提出日】令和 4 年 7 月 27 日(2022.7.27)

【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

40

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第 1 の鎖および第 2 の鎖を含む RNA i であって、

a) 該第 1 の鎖および該第 2 の鎖は二本鎖を形成し；

b) 該第 1 の鎖は、ガイド領域を含み、該ガイド領域は、配列 5' - U G C U C U U U G G U C U U C U C A G C C - 3' (配列番号 24) に対して少なくとも約 90% の同一性または配列 5' - U G G G C A C A U U G G A A C U G A G C A - 3' (配列番号 8) に対して少なくとも約 90% の同一性を有する核酸を含み；ならびに

50

c) 該第 2 の鎖は、非ガイド領域を含む；

場合により；

(i) 該ガイド領域は、核酸配列 5' - U G C U C U U U G G U C U U C U C A G C C - 3' (配列番号 24) を含み、該非ガイド領域は、配列 5' - G G C U G A G A A C C A A A G A G U A - 3' (配列番号 53) を含み；

(ii) 該第 1 の鎖は、配列番号 24 に対して約 90% の同一性、または配列番号 8 に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含み；

(iii) 該ガイド領域は、核酸配列 5' - U G G G C A C A U U G G A A C U G A G C A - 3' (配列番号 8) を含み、該非ガイド領域は、配列 5' - U G C U C A G U C A A U G U G C C U A - 3' (配列番号 37) を含み；または、

(iv) 該第 2 の鎖は、配列番号 53 に対して約 90% の同一性、または配列番号 37 に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含む、

前記 RNAi。

#### 【請求項 2】

第 1 の鎖および第 2 の鎖は、RNA リンカーによって連結されており、場合により、該 RNA リンカーは、4 から 50 ヌクレオチドを含み；該 RNA リンカーは、ループ構造を形成することが可能であり、場合により該ループ構造は、4 から 20 ヌクレオチドを含む、請求項 1 に記載の RNAi。

#### 【請求項 3】

(a) RNAi は、5' から 3' に向かって、第 2 の鎖、RNA リンカー、および第 1 の鎖を含み；または、

(b) RNAi は、5' から 3' に向かって、第 1 の鎖、RNA リンカー、および第 2 の鎖を含む；

場合により、該 RNAi は、配列番号 61 もしくは配列番号 63 の核酸配列、または、配列番号 61 もしくは配列番号 63 のヌクレオチド配列に対して約 90% 同一であるヌクレオチド配列を含む、

請求項 2 に記載の RNAi。

#### 【請求項 4】

(a) RNAi は、低分子抑制性 RNA (siRNA)、microRNA (miRNA)、もしくは低分子ヘアピン RNA (shRNA) である；

(b) RNAi は、神経変性シヌクレイン病に関連するポリペプチドをコードする RNA を標的化し、場合により、該神経変性シヌクレイン病は、パーキンソン病 (PD)、多系統萎縮症 (MSA)、もしくはレビー小体型認知症 (DLB) であり；場合により、該ポリペプチドは、アルファ - シヌクレイン (SNCA)、もしくはヒトアルファ - シヌクレインである；または、

(c) (a) と (b) の両方である、

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の RNAi。

#### 【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の RNAi をコードする核酸を含む発現構築物であって；

場合により；

(a) 該 RNAi をコードする核酸は、miRNA 足場を含む；

(b) 該 RNAi をコードする核酸は、プロモーターに、機能するように連結されており、場合により、該プロモーターは、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期プロモーター、RSVLTR、MoMLV LTR、ホスホグリセリン酸キナーゼ - 1 (PGK) プロモーター、シミアンウイルス 40 (SV40) プロモーター、CK6 プロモーター、トランスレチンプロモーター (TTR)、TK プロモーター、テトラサイクリン応答プロモーター (TRE)、HBV プロモーター、hAAT プロモーター、LSP プロモーター、キメラ肝臓特異的プロモーター (LSP)、E2F プロモーター、テロメラーゼ (hTERT) プロモーター；サイトメガロウイルスエンハンサー / ニワトリベータ - アクチン /

10

20

30

40

50

ウサギ - グロビンプロモーター (CAG) プロモーター、延長因子 1 - アルファプロモーター (EF1 - アルファ) プロモーター、ヒト - グルクロニダーゼプロモーター、ニワトリ - アクチン (CBA) プロモーター、レトロウイルス性のラウス肉腫ウイルス (RSV) LTR プロモーター、ジヒドロ葉酸レダクターゼプロモーター、および 13 - アクチンプロモーターから選択される；または、

(c) (a) と (b) の両方である、

前記発現構築物。

【請求項 6】

発現構築物は、イントロン、ポリアデニル化シグナル、もしくはその両方をさらに含む；

10

場合により；

(a) 該イントロンは、CBA イントロン、hEF1 アルファイントロン、もしくはキメライントロンであり、場合により、該発現構築物は、自己相補的なベクターであり、イントロンはデルタキメライントロンである；および / または、

(b) 該ポリアデニル化シグナルは、ウシ成長ホルモンポリアデニル化シグナル、SV40 ポリアデニル化シグナル、もしくは HSVTK ポリアデニル化シグナルである、請求項 5 に記載の発現構築物。

【請求項 7】

請求項 5 または 6 に記載の発現構築物を含むベクターであって；

場合により、該ベクターは；

20

(a) 組換えアデノ関連ウイルス (rAAV) ベクターであり、場合により、該発現構築物は、1 つまたはそれ以上の AAV の逆方向末端反復 (ITR) 配列もしくは 2 つの AAV の ITR を端に有し、場合により、該 AAV の ITR は、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAVrh8、AAVrh8R、AAV9、AAV10、AAVrh10、AAV11、AAV12、AAV2R471A、AAVDJ、ヤギ AAV、ウシ AAV、もしくはマウス AAV 血清型の ITR である；

(b) RNAi をコードする核酸の上流もしくは下流に配置された、スタッフアー核酸を、さらに含む；

(c) 自己相補的な rAAV ベクターであり、場合により、該ベクターは、RNAi をコードする第 1 の核酸配列および該 RNAi の相補物をコードする第 2 の核酸配列を含み、該第 1 の核酸配列は、その長さのほとんどまたは全てにわたり、該第 2 の核酸配列と鎖内の塩基対を形成することができ、場合により、該第 1 の核酸配列および第 2 の核酸配列は、突然変異した AAV の ITR によって連結されており、該突然変異した AAV の ITR は、D 領域の欠失を含み、末端分解配列の突然変異を含む；または、

30

(d) (a) ~ (c) のいずれかの組合せである、

前記ベクター。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のベクターを含む細胞。

【請求項 9】

40

請求項 7 に記載のベクターを含む組換え AAV 粒子 (rAAV 粒子) であって；

場合により、該 AAV ウイルス粒子は、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAVrh8、AAVrh8R、AAV9、AAV10、AAVrh10、AAV11、AAV12、AAV2R471A、AAV2 / 2 - 7m8、AAVDJ、AAV2N587A、AAV2E548A、AAV2N708A、AAVV708K、AAV2 - HBKO、AAVDJ8、AAVPHP.B、AAVPHP.eB、AAVBR1、AAVHSC15、AAVHSC17、ヤギ AAV、AAV1 / AAV2 キメラ、ウシ AAV、もしくはマウス AAV キャプシド rAAV2 / HBov1 血清型キャプシドを含み；

場合により；

50

(a) I T R および該 r A A V ウイルス粒子のキャプシドは、同じ A A V 血清型から誘導される；または、

(b) I T R および該 r A A V ウイルス粒子のキャプシドは、異なる A A V 血清型から誘導され、場合により、該 I T R は、A A V 2 から誘導され、該 r A A V 粒子のキャプシドは、A A V 1 から誘導される、  
前記 r A A V 粒子。

【請求項 1 0】

請求項 9 に記載の r A A V 粒子を含む組成物であって、場合により、該組成物は、医薬的に許容される担体をさらに含む、前記組成物。

【請求項 1 1】

10

(a) 請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の R N A i、

(b) 請求項 9 に記載の A A V 粒子、または

(c) 請求項 1 0 に記載の組成物、

を含むキットであって、

場合により、該キットは、使用するための説明書をさらに含む、

前記キット。

【請求項 1 2】

哺乳動物における神経変性シヌクレイン病を処置するための方法で使用するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の R N A i、請求項 5 もしくは 6 に記載の発現構築物、請求項 7 に記載のベクター、請求項 8 に記載の細胞、請求項 9 に記載の r A A V 粒子、または請求項 1 0 に記載の組成物を含む、医薬組成物。

20

【請求項 1 3】

神経変性疾患を有する哺乳動物におけるアルファ - シヌクレインの発現を阻害するための方法で使用するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の R N A i、請求項 5 もしくは 6 に記載の発現構築物、請求項 7 に記載のベクター、請求項 8 に記載の細胞、請求項 9 に記載の r A A V 粒子、または請求項 1 0 に記載の組成物を含む、医薬組成物。

30

40

50