

【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9月11日(2023.9.11)

【国際公開番号】WO2021/046265

【公表番号】特表2022-546597(P2022-546597A)

【公表日】令和4年11月4日(2022.11.4)

【年通号数】公開公報(特許)2022-203

【出願番号】特願2022-514708(P2022-514708)

【国際特許分類】

10

A 6 1 K 9/51(2006.01)

C 1 2 N 15/113(2010.01)

C 1 2 N 15/85(2006.01)

C 1 2 N 15/86(2006.01)

C 1 2 N 15/88(2006.01)

C 1 2 N 9/22(2006.01)

A 6 1 K 9/14(2006.01)

A 6 1 K 47/22(2006.01)

A 6 1 K 47/28(2006.01)

A 6 1 K 47/10(2017.01)

20

A 6 1 K 47/24(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 K 31/711(2006.01)

A 6 1 K 31/7105(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

A 6 1 K 47/26(2006.01)

A 6 1 K 31/573(2006.01)

A 6 1 K 47/12(2006.01)

A 6 1 K 47/02(2006.01)

A 6 1 P 7/00(2006.01)

30

A 6 1 P 7/06(2006.01)

A 6 1 P 7/04(2006.01)

A 6 1 P 9/00(2006.01)

A 6 1 P 3/00(2006.01)

A 6 1 P 17/00(2006.01)

A 6 1 P 21/00(2006.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 P 25/16(2006.01)

A 6 1 P 25/14(2006.01)

A 6 1 P 25/28(2006.01)

40

A 6 1 P 27/02(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

【F I】

A 6 1 K 9/51

C 1 2 N 15/113 Z Z N A

C 1 2 N 15/85 Z

C 1 2 N 15/86 Z

C 1 2 N 15/88 Z

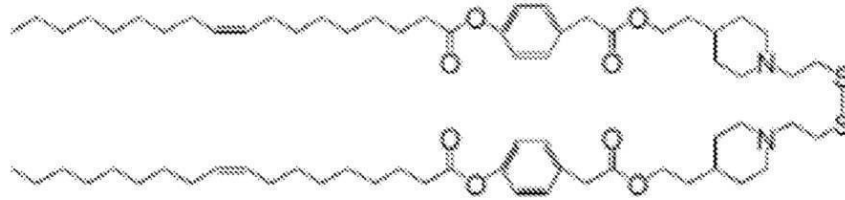
C 1 2 N 9/22

50

A 6 1 K 9 / 1 4	
A 6 1 K 4 7 / 2 2	
A 6 1 K 4 7 / 2 8	
A 6 1 K 4 7 / 1 0	
A 6 1 K 4 7 / 2 4	
A 6 1 K 4 8 / 0 0	
A 6 1 K 3 1 / 7 1 1	
A 6 1 K 3 1 / 7 1 0 5	
A 6 1 K 3 5 / 7 6	
A 6 1 K 4 7 / 2 6	10
A 6 1 K 3 1 / 5 7 3	
A 6 1 K 4 7 / 1 2	
A 6 1 K 4 7 / 0 2	
A 6 1 P 7 / 0 0	
A 6 1 P 7 / 0 6	
A 6 1 P 7 / 0 4	
A 6 1 P 9 / 0 0	
A 6 1 P 3 / 0 0	
A 6 1 P 1 7 / 0 0	
A 6 1 P 2 1 / 0 0	20
A 6 1 P 2 5 / 0 0	
A 6 1 P 2 5 / 1 6	
A 6 1 P 2 5 / 1 4	
A 6 1 P 2 5 / 2 8	
A 6 1 P 2 7 / 0 2	
A 6 1 P 3 5 / 0 0	
A 6 1 P 4 3 / 0 0	
A 6 1 P 4 3 / 0 0 1 1 1	

【手続補正書】	30
【提出日】令和5年9月1日(2023.9.1)	
【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】	
脂質ナノ粒子(LNP)を含み、前記LNPが、SS切断可能脂質および閉端DNA(c e DNA)を含む、薬学的組成物。	40
【請求項2】	
前記SS切断可能脂質が、ジスルフィド結合および三級アミンを含む、請求項1に記載の薬学的組成物。	
【請求項3】	
前記SS切断可能脂質が、式Iのss-OP脂質を含む、先行請求項のいずれか一項に記載の薬学的組成物。	

【化 1 2】



【請求項 4】

前記 LNP が、ステロール、ポリエチレングリコール (PEG)、または PEG-脂質
 コンジュゲート、および / または非カチオン性脂質をさらに含む、先行請求項のいずれか
 一項に記載の薬学的組成物。

10

【請求項 5】

前記ステロールが、コレステロール、または - シトステロールであり；
 前記 PEG または PEG-脂質コンジュゲートが、1-(モノメトキシ-ポリエチレン
 グリコール)-2,3-ジミリストイルグリセロール (PEG-DMG)、または 1,2-
 ジステアロイル-rac-グリセロ-3-メチルポリオキシエチレン (DSG-PEG
 2000) であり；かつ / または

前記非カチオン性脂質が、ジステアロイル-sn-グリセロ-ホスホエタノールアミン
 、ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)、ジオレオイルホスファチジルコリン
 (DOPC)、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC)、ジオレオイルホス
 ファチジルグリセロール (DOPG)、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール (D
 PPG)、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン (DPE)、パルミトイル
 オレオイルホスファチジルコリン (POPC)、パルミトイルオレオイルホスファチジル
 エタノールアミン (POPE)、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン 4-(
 N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシレート (DPE-mal)
 、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (DPPE)、ジミリストイルホスホ
 エタノールアミン (DMPE)、ジステアロイル-ホスファチジル-エタノールアミン (D
 SPE)、モノメチル-ホスファチジルエタノールアミン (16-O-モノメチルPE
 など)、ジメチル-ホスファチジルエタノールアミン (16-O-ジメチルPE など)、
 18-1-トランスPE、1-ステアロイル-2-オレオイル-ホスファチジエタノール
 アミン (SOPE)、水素化ダイズホスファチジルコリン (HSPC)、卵ホスファチジ
 ルコリン (EPC)、ジオレオイルホスファチジルセリン (DOPS)、スフィンゴミエ
 リン (SM)、ジミリストイルホスファチジルコリン (DMPC)、ジミリストイルホス
 ファチジルグリセロール (DMPG)、ジステアロイルホスファチジルグリセロール (D
 SPG)、ジエルコイルホスファチジルコリン (DEPC)、パルミトイルオレオイルホ
 スファチジルグリセロール (POPG)、ジエラドイル-ホスファチジルエタノールア
 ミン (DEPE)、1,2-ジラウロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン
 (DLPE)、1,2-ジフィタノイル (diphytanyl)-sn-グリセロ
 -3-ホスホエタノールアミン (DPHYPE)、レシチン、ホスファチジルエタノール
 アミン、リソレシチン、リゾホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、
 ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン、卵スフィンゴミエリン (ESM)、
 セファリン、カルジオリピン、ホスファチジカシド、セレプロシド、ジセチルホスフェ
 ート、リゾホスファチジルコリン、ジリノレオイルホスファチジルコリン、またはそれらの
 混合物からなる群から選択される、

20

30

40

請求項 4 に記載の薬学的組成物。

【請求項 6】

前記 PEG または PEG-脂質コンジュゲートが、約 1.5% ~ 約 3% で存在する；
 前記ステロールがコレステロールであり、前記コレステロールが、約 20% ~ 約 40%
 、もしくは約 30% ~ 約 50% のモルパーセンテージで存在する；かつ / または

50

前記 S S 切断可能脂質が、約 80% ~ 約 60%、もしくは約 50% のモルパーセンテージで存在する、

請求項 4 に記載の薬学的組成物。

【請求項 7】

前記組成物が、コレステロール、PEG または PEG - 脂質コンジュゲート、および非カチオン性脂質を含み、

前記 S S 切断可能脂質が、約 42.5% ~ 約 62.5% のモルパーセンテージで存在する；

前記 PEG または PEG - 脂質コンジュゲートが、約 1.5% ~ 約 3% で存在する；

前記コレステロールが、約 30% ~ 約 50% のモルパーセンテージで存在する；かつ / または

10

前記非カチオン性脂質が、約 2.5% ~ 約 12.5% のモルパーセンテージで存在する、
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 8】

前記コレステロールが、約 40% のモルパーセンテージで存在し、前記 S S 切断可能脂質が、約 52.5% のモルパーセンテージで存在し、前記非カチオン性脂質が、約 7.5% のモルパーセンテージで存在し、前記 PEG または PEG - 脂質コンジュゲートが、約 3% で存在する、請求項 7 に記載の薬学的組成物。

【請求項 9】

前記 LNP が、直径が約 50 nm ~ 約 110 nm の範囲のサイズにある、先行請求項のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

20

【請求項 10】

前記 LNP が、サイズが約 100 nm 未満である、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 11】

前記組成物が、約 15 : 1、約 30 : 1、約 40 : 1 または約 50 : 1 の全脂質対 ceDNA 比を有する、先行請求項のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 12】

前記組成物が、N - アセチルガラクトサミン (GalNAc) をさらに含む、先行請求項のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

30

【請求項 13】

前記 ceDNA が、閉端直鎖状二重鎖 DNA であり、前記 ceDNA が、プロモーター配列および導入遺伝子を含む発現カセットを含む、先行請求項のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 14】

前記 ceDNA が、前記発現カセットの 5' または 3' 末端のいずれかに隣接する少なくとも 1 つの逆位末端反復 (ITR) を含む、請求項 13 に記載の薬学的組成物。

【請求項 15】

前記発現カセットが、2 つの ITR に隣接し、前記 2 つの ITR が、1 つの 5' ITR および 1 つの 3' ITR を含む、請求項 14 に記載の薬学的組成物。

40

【請求項 16】

前記 5' ITR および 3' ITR のうちの少なくとも 1 つが、野生型 AAV ITR である、
前記 5' ITR および 3' ITR のうちの少なくとも 1 つが、修飾型 ITR である；かつ / または

前記 5' ITR および 3' ITR が対称 ITR である、もしくは非対称 ITR である
請求項 14 に記載の薬学的組成物。

【請求項 17】

少なくとも 1 つの ITR が、AAV 血清型に由来する ITR であり、ガチョウウイルスの ITR に由来し、B19 ウイルス ITR に由来し、またはパルボウイルスに由来する野生型 ITR である、請求項 14 に記載の薬学的組成物。

50

【請求項 18】

前記 c e DNA が、C E L i D、DNA ベースのミニサークル、M I D G E、ミニス上リング DNA、発現カセットの 5' および 3' 末端に I T R の 2 つのヘアピン構造を含むダブル型の直鎖状二重鎖閉端 DNA、または d o g g y b o n e (商標) DNA である、先行請求項のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 19】

対象における遺伝性障害を治療する方法において使用するための、先行請求項のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 20】

前記遺伝性障害が、鎌状赤血球貧血症、メラノーマ、血友病 A (凝固因子 V I I I (F V I I I) 欠損症) および血友病 B (凝固因子 I X (F I X) 欠損症)、嚢胞性線維症 (C F T R)、家族性高コレステロール血症 (L D L 受容体欠損症)、肝芽細胞腫、ウィルソン病、フェニルケトン尿症 (P K U)、先天性肝性ポルフィリン症、遺伝性肝代謝障害、レッシュナイハン症候群、サラセミア、色素性乾皮症、ファンコニ貧血、網膜色素変性症、毛細血管拡張性運動失調症、ブルーム症候群、網膜芽細胞腫、ムコ多糖蓄積症 (例えば、ハーラー症候群 (M P S I 型)、シャイエ症候群 (M P S I 型 S 型)、ハーラーシャイエ症候群 (M P S I 型 H - S 型)、ハンター症候群 (M P S I I 型)、サンフィリップ A、B、C、および D 型 (M P S I I I A、B、C、および D 型)、モルキオ A および B 型 (M P S I V A および M P S I V B)、マロトーラミー症候群 (M P S V I 型)、スライ症候群 (M P S V I I 型)、ヒアルロニダーゼ欠損症 (M P S I X 型)、ニーマンピック病 A / B、C 1 および C 2 型、ファブリー病、シンドラー病、G M 2 - ガングリオシドーシス I I 型 (サンドホフ病)、テイサックス病、異染性白質ジストロフィー、クラッペ病、ムコリピドーシス I、I I / I I I および I V 型、シアリドーシス I および I I 型、グリコーゲン蓄積症 I および I I 型 (それぞれ、グルコース - 6 - ホスファターゼ (G 6 P a s e) 欠損症、およびポンペ病)、ゴーシェ病 I、I I および I I I 型、ファブリー病、シスチン症、バッテン病、アスパルチルグルコサミン尿症、サラ病、ダノン病 (L A M P - 2 欠損症)、リソソーム酸性リパーゼ (L A L) 欠損症、神経セロイドリポフスチン症 (C L N 1 - 8、I N C L、および L I N C L)、スフィンゴリピドーシス、ガラクトシアリドーシス、筋萎縮性側索硬化症 (A L S)、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、脊髄性筋萎縮症、フリードライヒ運動失調症、デュシェンヌ筋ジストロフィー (D M D)、ベッカー筋ジストロフィー (B M D)、ジストロフィー表皮水疱症 (D E B)、エクトヌクレオチドピロホスファターゼ 1 欠損症、乳児期の全身性動脈石灰化 (G A C I)、レーバー先天性黒内障 (L C A)、シュタルガルト黄斑ジストロフィー (A B C A 4)、オルニチントランスカルバミラーゼ (O T C) 欠損症、アッシャー症候群、アルファ - 1 アンチトリプシン欠損症、ならびにカテプシン A 欠損症からなる群から選択される、請求項 19 に記載の薬学的組成物。

【請求項 21】

免疫抑制剤を投与することをさらに含む、請求項 19 または請求項 20 に記載の薬学的組成物。

【請求項 22】

前記対象が、主要なカチオン性脂質として M C 3 を含む L N P で観察された免疫応答レベルと比較して、前記薬学的組成物に対して低下した免疫応答レベルを示し、前記薬学的組成物に対する前記免疫応答レベルが、M C 3 を含む前記 L N P で観察された前記レベルよりも少なくとも 50% 低い、請求項 19 ~ 21 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 23】

前記 S S 切断可能脂質および前記閉端 DNA (c e DNA) を含む前記 L N P が、貪食されないか、または同様の条件で投与された主要なカチオン性脂質として M C 3 を含む L N P の食作用レベルと比較して、少なくとも 50% 低下した食作用レベルを示す、請求項 19 ~ 22 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0498

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0498】

考参考文献

特許および特許出願を含むがこれらに限定されない、本明細書および本明細書の実施例で引用されるすべての刊行物および参考文献は、あたかも個々の刊行物または参考文献が、完全に記載されるように参照により本明細書に組み込まれることが具体的かつ個別に示されるかのように、それらの全体が参照により組み込まれる。この出願が優先権を主張する任意の特許出願もまた、刊行物および参考文献について上述した方法で、参照により本明細書に組み込まれる。

10

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)

脂質ナノ粒子 (LNP) を含み、前記 LNP が、SS 切断可能脂質および閉端 DNA (ceDNA) を含む、薬学的組成物。

(項目 2)

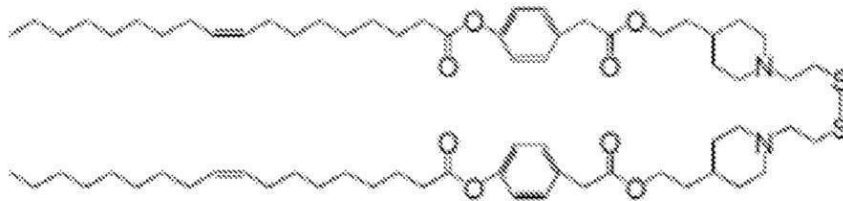
前記 SS 切断可能脂質が、ジスルフィド結合および三級アミンを含む、項目 1 に記載の薬学的組成物。

20

(項目 3)

前記 SS 切断可能脂質が、式 I の ss-OP 脂質を含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【化 12】



30

(項目 4)

前記 LNP が、ステロールをさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 5)

前記ステロールが、コレステロールである、項目 4 に記載の薬学的組成物。

(項目 6)

前記 LNP が、ポリエチレングリコール (PEG) をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 7)

前記 PEG が、1-(モノメトキシ-ポリエチレングリコール)-2,3-ジミリスチルグリセロール (PEG-DMG) である、項目 6 に記載の薬学的組成物。

40

(項目 8)

前記 LNP が、非カチオン性脂質をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 9)

前記非カチオン性脂質が、ジステアロイル-sn-グリセロ-ホスホエタノールアミン、ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)、ジオレオイルホスファチジルコリン (DOPC)、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC)、ジオレオイルホスファチジルグリセロール (DOPG)、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール (D

50

PPG)、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン(DOPE)、パルミトイル
 オレオイルホスファチジルコリン(POPC)、パルミトイルオレオイルホスファチジル
 エタノールアミン(POPE)、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン4-(
 N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシレート(DOPE-mal)、
 ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン(DPPE)、ジミリストイルホスホ
 エタノールアミン(DMPE)、ジステアロイル-ホスファチジル-エタノールアミン(
 DSPe)、モノメチル-ホスファチジルエタノールアミン(16-O-モノメチルPE
 など)、ジメチル-ホスファチジルエタノールアミン(16-O-ジメチルPEなど)、
 18-1-トランスPE、1-ステアロイル-2-オレオイル-ホスファチジエタノール
 アミン(SOPE)、水素化ダイズホスファチジルコリン(HSPC)、卵ホスファチジ
 ルコリン(EPC)、ジオレオイルホスファチジルセリン(DOPS)、スフィンゴミエ
 リン(SM)、ジミリストイルホスファチジルコリン(DMPC)、ジミリストイルホス
 ファチジルグリセロール(DMPG)、ジステアロイルホスファチジルグリセロール(D
 SPG)、ジェルコイルホスファチジルコリン(DEPC)、パルミトイルオレオイルホ
 スファチジルグリセロール(POPG)、ジェラドイル-ホスファチジルエタノールア
 ミン(DEPE)、1,2-ジラウロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミ
 ン(DLPE)、1,2-ジフィタノイル(diphytanoyl)-sn-グリセロ
 -3-ホスホエタノールアミン(DPHYPE)、レシチン、ホスファチジルエタノール
 アミン、リソレシチン、リゾホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、
 ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン、卵スフィンゴミエリン(ESM)、
 セファリン、カルジオリピン、ホスファチジカシド、セレプロシド、ジセチルホスフェ
 ート、リゾホスファチジルコリン、ジリノレオイルホスファチジルコリン、またはそれらの
 混合物からなる群から選択される、項目8に記載の薬学的組成物。

10

20

(項目10)

前記非カチオン性脂質が、ジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)、ジステア
 ロイルホスファチジルコリン(DSPC)、およびジオレオイル-ホスファチジルエタノ
 ールアミン(DOPE)からなる群から選択される、項目9に記載の薬学的組成物。

(項目11)

前記PEGまたはPEG-脂質コンジュゲートが、約1.5%~約3%で存在する、項
 目10に記載の薬学的組成物。

30

(項目12)

前記コレステロールが、約20%~約40%のモルパーセンテージで存在し、前記SS
 切断可能脂質が、約80%~約60%のモルパーセンテージで存在する、項目10または
 11に記載の薬学的組成物。

(項目13)

前記コレステロールが、約40%のモルパーセンテージで存在し、前記SS切断可能脂
 質が、約50%のモルパーセンテージで存在する、項目12に記載の薬学的組成物。

(項目14)

前記組成物が、コレステロール、PEGまたはPEG-脂質コンジュゲート、および非
 カチオン性脂質をさらに含む、項目1~3のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

40

(項目15)

前記PEGまたはPEG-脂質コンジュゲートが、約1.5%~約3%で存在する、項
 目14に記載の薬学的組成物。

(項目16)

前記コレステロールが、約30%~約50%のモルパーセンテージで存在する、項目1
 4または15に記載の薬学的組成物。

(項目17)

前記SS切断可能脂質が、約42.5%~約62.5%のモルパーセンテージで存在す
 る、項目14~16のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目18)

50

前記非カチオン性脂質が、約 2.5% ~ 約 12.5% のモルパーセンテージで存在する、項目 14 ~ 17 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 19)

前記コレステロールが、約 40% のモルパーセンテージで存在し、前記 S S 切断可能脂質が、約 52.5% のモルパーセンテージで存在し、前記非カチオン性脂質が、約 7.5% のモルパーセンテージで存在し、前記 P E G が、約 3% で存在する、項目 14 ~ 18 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 20)

前記組成物が、パルミチン酸デキサメタゾンを含み、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 21)

前記 L N P が、直径が約 50 nm ~ 約 110 nm の範囲のサイズにある、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 22)

前記 L N P が、サイズが約 100 nm 未満である、項目 1 ~ 20 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 23)

前記 L N P が、サイズが約 70 nm 未満である、項目 22 に記載の薬学的組成物。

(項目 24)

前記 L N P が、サイズが約 60 nm 未満である、項目 23 に記載の薬学的組成物。

(項目 25)

前記組成物が、約 15 : 1 の全脂質対 c e D N A 比を有する、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 26)

前記組成物が、約 30 : 1 の全脂質対 c e D N A 比を有する、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 27)

前記組成物が、約 40 : 1 の全脂質対 c e D N A 比を有する、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 28)

前記組成物が、約 50 : 1 の全脂質対 c e D N A 比を有する、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 29)

前記組成物が、N - アセチルガラクトサミン (G a l N A c) をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 30)

前記 G a l N A c が、前記全脂質の 0.5% のモルパーセンテージで前記 L N P 中に存在する、項目 29 に記載の薬学的組成物。

(項目 31)

前記組成物が、約 10 mM ~ 約 30 mM のリンゴ酸をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 32)

前記組成物が、約 20 mM のリンゴ酸を含む、項目 31 に記載の薬学的組成物。

(項目 33)

前記組成物が、約 30 mM ~ 約 50 mM の N a C l をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目 34)

前記組成物が、約 40 mM の N a C l を含む、項目 33 に記載の薬学的組成物。

(項目 35)

前記組成物が、約 20 mM ~ 約 100 mM の M g C l ₂ をさらに含む、項目 1 ~ 33 の

10

20

30

40

50

いずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目36)

前記ceDNAが、閉端直鎖状二重鎖DNAである、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目37)

前記ceDNAが、プロモーター配列および導入遺伝子を含む発現カセットを含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目38)

前記ceDNAが、ポリアデニル化配列を含む発現カセットを含む、項目37に記載の薬学的組成物。

(項目39)

前記ceDNAが、前記発現カセットの5'または3'末端のいずれかに隣接する少なくとも1つの逆位末端反復(ITR)を含む、項目36~38のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目40)

前記発現カセットが、2つのITRに隣接し、前記2つのITRが、1つの5'ITRおよび1つの3'ITRを含む、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目41)

前記発現カセットが、3'末端でITR(3'ITR)に連結される、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目42)

前記発現カセットが、5'末端でITR(5'ITR)に連結される、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目43)

5'ITRおよび3'ITRのうちの少なくとも1つが、野生型AAVITRである、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目44)

5'ITRおよび3'ITRのうちの少なくとも1つが、修飾型ITRである、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目45)

前記ceDNAが、5'ITRと前記発現カセットとの間にスペーサー配列をさらに含む、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目46)

前記ceDNAが、3'ITRと前記発現カセットとの間にスペーサー配列をさらに含む、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目47)

前記スペーサー配列が、長さが少なくとも5塩基対の長さである、項目45または項目46に記載の薬学的組成物。

(項目48)

前記スペーサー配列が、長さが5~100塩基対の長さである、項目47に記載の薬学的組成物。

(項目49)

前記スペーサー配列が、長さが5~500塩基対の長さである、項目47に記載の薬学的組成物。

(項目50)

前記ceDNAが、ニックまたはギャップを有する、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目51)

前記ITRが、AAV血清型に由来するITRであり、ガチョウウイルスのITRに由来し、B19ウイルスITRに由来し、パルボウイルスからの野生型ITRである、項目

10

20

30

40

50

39に記載の薬学的組成物。

(項目52)

前記AAV血清型が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11およびAAV12を含む群から選択される、項目51に記載の薬学的組成物。

(項目53)

前記ITRが、変異体ITRであり、前記ceDNAが、第1のITRとは異なる追加のITRを任意選択的に含む、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目54)

前記ceDNAが、前記発現カセットの5'および3'末端の両方に2つの変異体ITRを含み、任意選択的に、前記2つの変異体ITRが、対称変異体である、項目39に記載の薬学的組成物。

(項目55)

前記ceDNAが、CELiD、DNAベースのミニサークル、MIDGE、ミニスタリング(ministering)DNA、発現カセットの5'および3'末端にITRの2つのヘアピン構造を含むダンベル型の直鎖状二重鎖閉端DNA、またはdoggybone(商標)DNAである、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目56)

薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

(項目57)

対象における遺伝性障害を治療する方法であって、前記方法が、先行項目のいずれか一項に記載の有効量の薬学的組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目58)

前記対象が、ヒトである、項目50に記載の方法。

(項目59)

前記遺伝性障害が、鎌状赤血球貧血症、メラノーマ、血友病A(凝固因子VIIII(FVIIII)欠損症)および血友病B(凝固因子IX(FIX)欠損症)、嚢胞性線維症(CFTR)、家族性高コレステロール血症(LDL受容体欠損症)、肝芽細胞腫、ウィルソン病、フェニルケトン尿症(PKU)、先天性肝性ポルフィリン症、遺伝性肝代謝障害、レッシュナイハン症候群、鎌状赤血球貧血症、サラセミア、色素性乾皮症、ファンコニ貧血、網膜色素変性症、毛細血管拡張性運動失調症、ブルーム症候群、網膜芽細胞腫、ムコ多糖蓄積症(例えば、ハーラー症候群(MPS I型)、シャイエ症候群(MPS I型 S型)、ハーラーシャイエ症候群(MPS I型 H-S型)、ハンター症候群(MPS I I型)、サンフィリップA、B、C、およびD型(MPS I I I A、B、C、およびD型)、モルキオAおよびB型(MPS I V AおよびMPS I V B)、マロトーラミー症候群(MPS V I型)、スライ症候群(MPS V I I型)、ヒアルロニダーゼ欠損症(MPS I X型)、ニーマンピック病A/B、C1およびC2型、ファブリー病、シンドラー病、GM2-ガングリオシドーシスI I型(サンドホフ病)、テイサックス病、異染性白質ジストロフィー、クラッペ病、ムコリピドーシスI、I I/I I IおよびI V型、シアリドーシスIおよびI I型、グリコーゲン蓄積症IおよびI I型(ポンペ病)、ゴーシェ病I、I IおよびI I I型、ファブリー病、シスチン症、バッテン病、アスパルチルグルコサミン尿症、サラ病、ダノン病(LAMP-2欠損症)、リソソーム酸性リパーゼ(LAL)欠損症、神経セロイドリポフスチン症(CLN1-8、INCL、およびLINCL)、スフィンゴリピドーシス、ガラクトシアリドーシス、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、脊髄性筋萎縮症、フリードライヒ運動失調症、デュシェンヌ筋ジストロフィー(DMD)、ベッカー筋ジストロフィー(BMD)、ジストロフィー表皮水疱症(DEB)、エクトヌクレオチドピロホスファターゼ1欠損症、乳児期の全身性動脈石灰化(GACI)、レーバー先天性黒内障、シュタルガルト黄斑ジストロフィー(ABCA4)、オ

10

20

30

40

50

ルニチントランスカルバミラーゼ (O T C) 欠損症、アッシャー症候群、アルファ - 1 アンチトリプシン欠損症、ならびにカテプシン A 欠損症からなる群から選択される、項目 5 7 または 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0)

前記遺伝性障害が、レーバー先天性黒内障 (L C A) である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 1)

前記 L C A が、L C A 1 0 である、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 6 2)

前記遺伝性障害が、ニーマンピック病である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 3)

前記遺伝性障害が、シュタルガルト黄斑ジストロフィーである、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 4)

前記遺伝性障害が、グルコース - 6 - ホスファターゼ (G 6 P a s e) 欠損症 (グリコーゲン蓄積症 I 型) またはポンペ病 (グリコーゲン蓄積症 I I 型) である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 5)

前記遺伝性障害が、血友病 A (因子 V I I I 欠損症) である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 6)

前記遺伝性障害が、血友病 B (因子 I X 欠損症) である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 7)

前記遺伝性障害が、ハンター症候群 (ムコ多糖症 I I 型) である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 8)

前記遺伝性障害が、嚢胞性線維症である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 6 9)

前記遺伝性障害が、ジストロフィー表皮水疱症 (D E B) である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 7 0)

前記遺伝性障害が、フェニルケトン尿症 (P K U) である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 7 1)

前記遺伝性障害が、ヒアルロニダーゼ欠損症である、項目 5 9 に記載の方法。

(項目 7 2)

免疫抑制剤を投与することをさらに含む、項目 5 7 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 3)

前記免疫抑制剤が、デキサメタゾンである、項目 7 2 に記載の方法。

(項目 7 4)

前記対象が、主要なカチオン性脂質として M C 3 を含む L N P で観察された免疫応答レベルと比較して、前記薬学的組成物に対して低下した免疫応答レベルを示し、前記薬学的組成物に対する前記免疫応答レベルが、M C 3 を含む前記 L N P で観察された前記レベルよりも少なくとも 5 0 % 低い、項目 5 7 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 5)

前記免疫応答が、炎症誘発性サイトカインまたはケモカインの前記レベルを検出することによって測定される、項目 7 4 に記載の方法。

(項目 7 6)

前記炎症誘発性サイトカインまたはケモカインが、I L - 6、I F N、I F N、I L - 1 8、T N F、I P - 1 0、M C P - 1、M I P 1、M I P 1、および R A N T E S からなる群から選択される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7)

前記炎症誘発性サイトカインのうちの少なくとも 1 つが、前記薬学的組成物の投与の 6 時間後に前記対象の血清中で検出可能なレベル未満である、項目 7 6 に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目78)

前記SS切断可能脂質および前記閉端DNA (ceDNA)を含む前記LNPが、食食されないか、または同様の条件で投与された主要なカチオン性脂質としてMC3を含むLNPの食作用レベルと比較して、少なくとも50%低下した食作用レベルを示す、項目57~77のいずれか一項に記載の方法。

(項目79)

前記SS切断可能脂質が、式Iのss-OPである、項目78に記載の方法。

(項目80)

前記LNPが、コレステロールおよびPEG-脂質コンジュゲートをさらに含む、項目79に記載の方法。

(項目81)

前記LNPが、非カチオン性脂質をさらに含む、項目80に記載の方法。

(項目82)

前記非カチオン性脂質が、ジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)、およびジオレオイル-ホスファチジエタノールアミン(DOPE)からなる群から選択される、項目81に記載の方法。

(項目83)

前記LNPが、N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)をさらに含む、項目80または81に記載の方法。

(項目84)

前記GalNAcが、全脂質の0.5%のモルパーセンテージで前記LNP中に存在する、項目83に記載の方法。

(項目85)

治療を必要とする対象の肝臓を標的とする治療用核酸を増加させる方法であって、前記方法が、治療用核酸、ss切断可能脂質、ステロール、ならびにポリエチレングリコール(PEG)およびN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)を含む有効量の脂質ナノ粒子LNPを前記対象に投与することを含む、方法。

(項目86)

前記PEGが、1-(モノメトキシ-ポリエチレングリコール)-2,3-ジミリスチルグリセロール(PEG-DMG)である、項目85に記載の方法。

(項目87)

前記LNPが、非カチオン性脂質をさらに含む、項目85に記載の方法。

(項目88)

前記非カチオン性脂質が、ジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)、およびジオレオイル-ホスファチジエタノールアミン(DOPE)からなる群から選択される、項目87に記載の方法。

(項目89)

前記GalNAcが、全脂質の0.5%のモルパーセンテージで前記LNP中に存在する、項目85に記載の薬学的組成物。

(項目90)

前記対象が、遺伝性障害に罹患している、項目85に記載の方法。

(項目91)

前記遺伝性障害が、血友病A(因子VII欠損症)である、項目90に記載の方法。

(項目92)

前記遺伝性障害が、血友病B(因子IX欠損症)である、項目90に記載の方法。

(項目93)

前記遺伝性障害が、フェニルケトン尿症(PKU)である、項目90に記載の方法。

(項目94)

前記治療用核酸が、ミニ遺伝子、プラスミド、ミニサークル、低分子干渉RNA(sRNA)、マイクロRNA(miRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)

10

20

30

40

50

リボザイム、c e DNA、ミニストリング、doggy bone (商標)、プロテロメア閉端DNA、またはダンベル直鎖状DNA、ダイサー基質dsRNA、低分子ヘアピンRNA (shRNA)、非対称干渉RNA (aiRNA)、マイクロRNA (miRNA)、mRNA、tRNA、rRNA、DNAウイルスベクター、ウイルスRNAベクター、非ウイルスベクター、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、項目85に記載の方法。

(項目95)

前記治療用核酸が、c e DNAである、項目85に記載の方法。

(項目96)

前記c e DNAが、プロモーター配列および導入遺伝子を含む発現カセットを含む、項目95に記載の方法。

(項目97)

前記c e DNAが、前記発現カセットの5'または3'末端のいずれかに隣接する少なくとも1つの逆位末端反復 (ITR) を含む、項目96に記載の方法。

(項目98)

前記c e DNAが、CELiD、MIDGE、ミニスタリングDNA、発現カセットの前記5'および3'末端にITRの2つのヘアピン構造を含むダンベル型の直鎖状二重鎖閉端DNA、またはdoggy bone (商標) DNAからなる群から選択され、前記c e DNAが、カプシド不含および直鎖状二重鎖DNAである、項目95に記載の方法。

(項目99)

治療用核酸 (TNA) による治療を必要とする対象における補体応答を軽減する方法であって、前記方法が、前記TNA、ss切断可能脂質、ステロール、ポリエチレングリコール (PEG) およびN-アセチルガラクトサミン (GalNAc) を含む有効量の脂質ナノ粒子 (LNP) を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目100)

前記対象が、遺伝性障害に罹患している、項目99に記載の方法。

(項目101)

前記遺伝性障害が、鎌状赤血球貧血症、メラノーマ、血友病A (凝固因子VIIII (FVIIII) 欠損症) および血友病B (凝固因子IX (FIX) 欠損症)、嚢胞性線維症 (CFTR)、家族性高コレステロール血症 (LDL受容体欠損症)、肝芽細胞腫、ウィルソン病、フェニルケトン尿症 (PKU)、先天性肝性ポルフィリン症、遺伝性肝代謝障害、レッシュナイハン症候群、鎌状赤血球貧血症、サラセミア、色素性乾皮症、ファンconi貧血、網膜色素変性症、毛細血管拡張性運動失調症、ブルーム症候群、網膜芽細胞腫、ムコ多糖蓄積症 (例えば、ハーラー症候群 (MPS I型)、シャイエ症候群 (MPS I型 S型)、ハーラーシャイエ症候群 (MPS I型 H-S型)、ハンター症候群 (MPS II型)、サンフィリップA、B、C、およびD型 (MPS III A、B、C、およびD型)、モルキオAおよびB型 (MPS IVAおよびMPS IVB)、マロトーラミー症候群 (MPS VI型)、スライ症候群 (MPS VII型)、ヒアルロニダーゼ欠損症 (MPS IX型)、ニーマンピック病A/B、C1およびC2型、ファブリー病、シンドラー病、GM2-ガングリオシドーシスII型 (サンドホフ病)、テイサックス病、異染色性白質ジストロフィー、クラッペ病、ムコリピドーシスI、II/IIIおよびIV型、シアリドーシスIおよびII型、グリコーゲン蓄積症IおよびII型 (ポンペ病)、ゴーシェ病I、IIおよびIII型、ファブリー病、シスチン症、バッテン病、アスパルチルグルコサミン尿症、サラ病、ダノン病 (LAMP-2欠損症)、リソソーム酸性リパーゼ (LAL) 欠損症、神経セロイドリポフスチン症 (CLN1-8、INCL、およびLINCL)、スフィンゴリピドーシス、ガラクトシアリドーシス、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、脊髄性筋萎縮症、フリードライヒ運動失調症、デュシェンヌ筋ジストロフィー (DMD)、ベッカー筋ジストロフィー (BMD)、ジストロフィー表皮水疱症 (DEB)、エクトヌクレオチドピロホスファターゼ1欠損症、乳児期の全身性動脈石灰化 (GA

10

20

30

40

50

C I)、レーバー先天性黒内障、シュタルガルト黄斑ジストロフィー (A B C A 4)、オルニチントランスカルパミラーゼ (O T C) 欠損症、アッシャー症候群、アルファ - 1 アンチトリプシン欠損症、ならびにカテプシン A 欠損症からなる群から選択される、項目 1 0 0 に記載の方法。

(項目 1 0 2)

前記治療用核酸が、ミニ遺伝子、プラスミド、ミニサークル、低分子干渉 RNA (s i R N A)、マイクロ RNA (m i R N A)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (A S O)、リボザイム、c e D N A、ミニストリング、d o g g y b o n e (商標)、プロテロメア閉端 DNA、またはダンベル直鎖状 DNA、ダイサー基質 d s R N A、低分子ヘアピン RNA (s h R N A)、非対称干渉 RNA (a i R N A)、マイクロ RNA (m i R N A)、m R N A、t R N A、r R N A、DNA ウイルスペクター、ウイルス RNA ベクター、非ウイルスベクター、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、項目 9 9 に記載の方法。

10

(項目 1 0 3)

前記 c e D N A が、C E L i D、M I D G E、ミニスタリング DNA、発現カセットの前記 5 ' および 3 ' 末端に I T R の 2 つのヘアピン構造を含むダンベル型の直鎖状二重鎖閉端 DNA、または d o g g y b o n e (商標) DNA からなる群から選択され、前記 c e D N A が、カプシド不含および直鎖状二重鎖 DNA である、項目 1 0 2 に記載の方法。

(項目 1 0 4)

前記 P E G が、1 - (モノメトキシ - ポリエチレングリコール) - 2 , 3 - ジミリストイルグリセロール (P E G - D M G) である、項目 9 9 に記載の方法。

20

(項目 1 0 5)

前記 P E G が、約 2 ~ 4 % の分子パーセンテージで前記 L N P 中に存在する、項目 1 0 4 に記載の方法。

(項目 1 0 6)

前記 P E G が、約 3 % の分子パーセンテージで前記 L N P 中に存在する、項目 1 0 5 に記載の方法。

(項目 1 0 7)

前記 L N P が、非カチオン性脂質をさらに含む、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 8)

前記非カチオン性脂質が、ジオレオイルホスファチジルコリン (D O P C)、ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C)、およびジオレオイル - ホスファチジルエタノールアミン (D O P E) からなる群から選択される、項目 1 0 7 に記載の方法。

30

(項目 1 0 9)

前記 G a l N A c が、全脂質の約 0 . 3 ~ 1 % のモルパーセンテージで前記 L N P 中に存在する、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 1 0)

前記 G a l N A c が、全脂質の約 0 . 5 % のモルパーセンテージで前記 L N P 中に存在する、項目 1 0 7 に記載の方法。

40

50