

【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2月24日(2022.2.24)

【国際公開番号】WO2019/143950

【公表番号】特表2021-511035(P2021-511035A)

【公表日】令和3年5月6日(2021.5.6)

【出願番号】特願2020-539080(P2020-539080)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 15/57(2006.01)

C 1 2 N 15/33(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 15/113(2010.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/57

C 1 2 N 15/33

C 1 2 N 7/01

C 1 2 N 15/113 Z Z N A

20

【手続補正書】

【提出日】令和4年1月17日(2022.1.17)

【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】

30

AAVベクター形質導入における二本鎖RNAの生成を低減し、かつ/またはAAVベクター形質導入に起因し得る自然免疫応答の誘発を阻害するように設計された、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)ベクターゲノムであって、前記組換えrAAVベクターゲノムが、アデノ随伴ウイルス(AAV)の5'逆位末端反復(ITR)、プロモーターが作動可能に付随している目的のヌクレオチド配列(NOI)およびAAVの3'ITRを含み、

A)下記a)~m)から選択される1または複数のポリA(pA)配列:

a) 3'から5'への方向で、前記5'ITRの下流かつ前記プロモーターの上流のポリA(pA)配列、および、3'から5'への方向で、前記3'ITRの上流かつ前記NOIの下流のpA配列;

40

b) 3'から5'への方向で、前記3'ITRの上流かつ前記NOIの下流のpA配列;

c) 3'から5'への方向で、前記3'ITRの上流かつ前記NOIの下流の第1のpA配列、および、5'から3'への方向で、前記第1のpA配列の下流かつ前記3'ITRの上流の第2のpA配列;

d) 3'から5'への方向で、前記3'ITRの上流かつ前記NOIの下流の第1のpA配列、および、5'から3'への方向で、前記NOIの下流かつ前記第1のpAの上流の第2のpA配列;

e) 3'から5'への方向で、前記3'ITRの上流かつ前記NOIの下流の第1のpA配列、および、5'から3'への方向で、前記5'ITRの下流かつ前記プロモーターの上流の第2のpA配列;

50

- f) 3' から 5' への方で、前記 5' I T R の下流かつ前記プロモーターの上流の第 1 の p A 配列、5' から 3' への方で、前記 N O I の下流かつ第 3 の p A 配列の上流の第 2 の p A 配列、および、3' から 5' への方で、前記第 2 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 3 の p A 配列；
- g) 5' から 3' への方で、前記 5' I T R の下流かつ前記プロモーターの上流の第 1 の p A 配列、3' から 5' への方で、前記 N O I の下流かつ第 3 の p A 配列の上流の第 2 の p A 配列、および、5' から 3' への方で、前記第 2 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 3 の p A 配列；
- h) 5' から 3' への方で、前記 5' I T R の下流かつ前記プロモーターの上流の第 1 の p A 配列、5' から 3' への方で、前記 N O I の下流かつ第 3 の p A 配列の上流の第 2 の p A 配列、および、3' から 5' への方で、前記第 2 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 3 の p A 配列；
- i) 5' から 3' への方で、前記 5' I T R の下流かつ前記プロモーターの上流の第 1 の p A 配列、3' から 5' への方で、前記 N O I の下流かつ第 3 の p A 配列の上流の第 2 の p A 配列、および、5' から 3' への方で、前記第 2 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 3 の p A 配列；
- j) 3' から 5' への方で、前記 5' I T R の下流かつ第 2 の p A 配列の上流の第 1 の p A 配列、5' から 3' への方で、前記第 1 の p A 配列の下流かつ前記プロモーターの上流の前記第 2 の p A 配列；5' から 3' への方で、前記 N O I の下流かつ第 4 の p A 配列の上流の第 3 の p A 配列、および、3' から 5' への方で、前記第 3 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 4 の p A 配列；
- k) 3' から 5' への方で、前記 5' I T R の下流かつ第 2 の p A 配列の上流の第 1 の p A 配列、5' から 3' への方で、前記第 1 の p A 配列の下流かつ前記プロモーターの上流の前記第 2 の p A 配列；3' から 5' への方で、前記 N O I の下流かつ第 4 の p A 配列の上流の第 3 の p A 配列、および、5' から 3' への方で、前記第 3 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 4 の p A 配列；
- l) 5' から 3' への方で、前記 5' I T R の下流かつ第 2 の p A 配列の上流の第 1 の p A 配列、3' から 5' への方で、前記第 1 の p A 配列の下流かつ前記プロモーターの上流の前記第 2 の p A 配列；5' から 3' への方で、前記 N O I の下流かつ第 4 の p A 配列の上流の第 3 の p A 配列、および、3' から 5' への方で、前記第 3 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 4 の p A 配列；ならびに / または
- m) 5' から 3' への方で、前記 5' I T R の下流かつ第 2 の p A 配列の上流の第 1 の p A 配列、3' から 5' への方で、前記第 1 の p A 配列の下流かつ前記プロモーターの上流の前記第 2 の p A 配列；3' から 5' への方で、前記 N O I の下流かつ第 4 の p A 配列の上流の第 3 の p A 配列、および、5' から 3' への方で、前記第 3 の p A 配列の下流かつ前記 3' I T R の上流の前記第 4 の p A 配列。

B) 細胞質 dsRNA センサーを標的化する干渉 RNA (RNAi) をコードする 1 または複数の核酸分子；および / または

C) MAVS シグナル伝達の阻害剤をコードする核酸分子
をさらに含む、組換え rAAV ベクターゲノム。

40

【請求項 2】

前記 5' I T R および / または前記 3' I T R が、前記 5' I T R および / または前記 3' I T R からプロモーター活性を減少させまたは除去するように改変されている、請求項 1 に記載の rAAV ベクターゲノム。

【請求項 3】

前記 N O I 配列が、前記 B) の 1 または複数の核酸分子および / または前記 C) の核酸分子と融合している、請求項 1 に記載の rAAV ベクターゲノム。

【請求項 4】

前記 B) の 1 または複数の核酸分子が第 2 のプロモーターが作動可能に付随している、請求項 1 に記載の rAAV ベクターゲノム。

50

【請求項 5】

前記RNAiが、低分子干渉RNA(s iRNA)、短鎖ヘアピンRNA(s hRNA)、マイクロRNA(miRNA)、長鎖二本鎖RNA(長鎖dsRNA)、アンチセンスRNAまたはリボザイムである、請求項1に記載のrAAVベクターゲノム。

【請求項 6】

AAVの5' ITR、第1のプロモーターが作動可能に付随してはるs hRNA、第2のプロモーターが作動可能に付随しているNOI、3'から5'への方向のpA配列およびAAVの3' ITRを含む、請求項5に記載のrAAVベクターゲノム。

【請求項 7】

AAVの5' ITR、両方ともにプロモーターが作動可能に付随しているNOIおよびm iRNA、3'から5'への方向のpA配列、ならびにAAVの3' ITRをこの順序で含む、請求項5に記載のrAAVベクターゲノム。 10

【請求項 8】

AAVの5' ITR、両方ともにプロモーターが作動可能に付随してはるm iRNAおよびNOI、3'から5'への方向のpA配列、ならびにAAVの3' ITRをこの順序で含む、請求項5に記載のrAAVベクターゲノム。

【請求項 9】

AAVの5' ITR、プロモーターが作動可能に付随している、NOI内にmiRNAイントロン配列を含むNOI、3'から5'への方向のpA配列、およびAAVの3' ITRをこの順序で含む、請求項5に記載のrAAVベクターゲノム。 20

【請求項 10】

MASシグナル伝達の前記阻害剤が、C型肝炎ウイルスからのセリンプロテアーゼNS3-4A、A型肝炎ウイルスからのプロテアーゼ、GBウイルスBからのプロテアーゼ、B型肝炎ウイルス(HBV)Xタンパク質、ポリ(rC)結合タンパク質2、20SプロテアソームサブユニットPSMA7、マイトフュージン2、およびその任意の組合せからなる群から選択される、請求項1に記載のrAAVベクターゲノム。

【請求項 11】

rAAV粒子中に含まれたものである、請求項1に記載のrAAVベクターゲノム。

【請求項 12】

請求項11に記載のrAAVベクターゲノムを含む組成物。 30

【請求項 13】

細胞質dsRNAセンサーを標的化する干渉RNA(RNAi)をコードする組換え核酸分子および/またはMASシグナル伝達の阻害剤をコードする組換え核酸分子をさらに含む、請求項12に記載の組成物。

【請求項 14】

対象の細胞中へのAAVベクターの形質導入を増進する方法であって、前記対象にAAVベクターおよび前記対象の細胞中でdsRNA活性化経路に干渉する剤を投与することを含む方法。

【請求項 15】

対象の細胞中へのAAVベクターの形質導入を増進する方法であって、前記対象に請求項1に記載のrAAVベクターゲノムを含むAAVベクターを投与することを含む方法。 40

【請求項 16】

前記対象の細胞におけるdsRNA活性化経路に干渉する剤を投与することをさらに含む、請求項15に記載の方法。

【請求項 17】

前記対象の細胞中でdsRNA活性化経路に干渉する前記剤が2-アミノプリンである、請求項14または16に記載の方法。

【請求項 18】

前記AAVベクターおよび前記剤が前記対象に同時に投与されるか、別々の時点において投与される、請求項14、16または17に記載の方法。 50

【請求項 19】

プラスミド中に含まれたものである、請求項 1 に記載の r A A V ベクターゲノム。

10

20

30

40

50