

【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 1 年 8 月 15 日 (2019.8.15)

【公表番号】特表 2018-531614 (P2018-531614A)

【公表日】平成 30 年 11 月 1 日 (2018.11.1)

【年通号数】公開・登録公報 2018-042

【出願番号】特願 2018-521965 (P2018-521965)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/67 (2006.01)

C 1 2 N 15/864 (2006.01)

C 1 2 N 7/01 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/37 (2006.01)

A 6 1 K 38/43 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/67 Z N A Z

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 7/01

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 38/37

A 6 1 K 38/43

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 7/04

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 43/00 1 2 1

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 7 月 8 日 (2019.7.8)

【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】

配列番号：28、29、30 および 38 から選択されるインスレーター配列を含む 1 つまたは 2 つのスペーサー配列、野生型セルピン 1 エンハンサーもしくは変異セルピン 1 エンハンサーからなる肝臓特異的エンハンサー配列、野生型トランスサイレチン (T T R) プロモーターもしくは変異 T T R プロモーターからなるプロモーター配列および導入遺伝子を含む、ポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 2】

イントロンをさらに含む請求項 1 に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクトであっ

て、前記イントロン配列が野生型マウス微小ウイルス（MVM）イントロン配列もしくは変異MVMイントロン配列を含む、前記コンストラクト。

【請求項 3】

前記肝臓特異的エンハンサー配列、前記プロモーター配列、前記イントロン配列および前記導入遺伝子に隣接する、2つのスペーサー配列を含む、請求項 1 ~ 2 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 4】

前記導入遺伝子が血友病またはリソソーム蓄積症において欠如または欠損するタンパク質をコードする、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 5】

前記導入遺伝子が、ZFN、TALEN、TtAgoおよびCRISPR/Cas系から選択される 1 つまたは複数のヌクレアーゼをさらにコードする、請求項 4 に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 6】

肝臓特異的エンハンサー配列、プロモーター配列、配列番号：15、16、17 または配列番号：37のヌクレオチド340 ~ 432のうちの任意の1つ中で示されるようなイントロン配列、および導入遺伝子を含む、ポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 7】

前記エンハンサー配列が野生型セルピン1エンハンサーまたは変異セルピン1エンハンサーを含む、請求項 6 に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 8】

前記プロモーター配列が野生型トランスサイレチン（TTR）プロモーターもしくは変異TTRプロモーターを含む、請求項 6 に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 9】

インスレーター配列を含む1 つまたは2つのスペーサー配列をさらに含む、請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 10】

ポリアデニル化シグナルをさらに含む、請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 11】

前記導入遺伝子が血友病またはリソソーム蓄積症において欠如または欠損するタンパク質をコードする、請求項 6 ~ 10 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 12】

前記導入遺伝子が、ZFN、TALEN、TtAgoおよびCRISPR/Cas系から選択される 1 つまたは複数のヌクレアーゼをさらにコードする、請求項 6 ~ 11 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 13】

配列番号：1 ~ 13のうちの任意のものの位置1、5、14、32および39のいずれかで突然変異を有する肝臓特異的エンハンサー配列を含むポリヌクレオチド発現コンストラクトであって、プロモーター配列、および導入遺伝子をさらに含む、ポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 14】

イントロン配列をさらに含む請求項 13 に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト
°

【請求項 15】

前記プロモーター配列が野生型トランスサイレチン（TTR）プロモーターもしくは変異TTRプロモーターを含む、請求項 13 に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト
°

【請求項 16】

前記イントロン配列が野生型マウス微小ウイルス（MVM）イントロン配列もしくは変異MVMイントロン配列を含む、請求項14に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 17】

インスレーター配列を含む1つまたは2つのスパーサー配列、ポリアデニル化シグナルまたはそれらの組み合わせをさらに含む、請求項13～16のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 18】

前記導入遺伝子が血友病またはリソソーム蓄積症において欠如または欠損するタンパク質をコードする、請求項13～17のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 19】

前記導入遺伝子が、ZFN、TALEN、TtAgoおよびCRISPR/Cas系から選択される1つまたは複数のヌクレアーゼをさらにコードする、請求項13～18のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 20】

配列番号：37を含むポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 21】

配列番号：34を含むポリヌクレオチド発現コンストラクト。

【請求項 22】

請求項1～21のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクトを含むAAVベクターであって、前記ポリヌクレオチド発現コンストラクトが前記AAVベクターの5'逆方向末端反復（ITR）と3'ITRとの間にある、前記ベクター。

【請求項 23】

請求項22に記載のAAVベクターを含む、医薬組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0038

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0038】

これらおよび他の態様は、開示に照らして全体として当業者に容易に明らかである。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

（項目1）

インスレーター配列を含む少なくとも1つのスパーサー配列、肝臓特異的エンハンサー配列、プロモーター配列および導入遺伝子を含む、ポリヌクレオチド発現コンストラクト。

（項目2）

イントロン配列をさらに含む項目1に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクトであって、前記エンハンサー配列が野生型セルピン1エンハンサーもしくは変異セルピン1エンハンサーを含む；および/または、前記プロモーター配列が野生型トランスサイレチン（TTR）プロモーターもしくは変異TTRプロモーターを含む；および/または、前記イントロン配列が野生型マウス微小ウイルス（MVM）イントロン配列もしくは変異MVMイントロン配列を含む、前記コンストラクト。

（項目3）

前記インスレーター配列が、配列番号：28、29および/または30のうちの任意の1つである、項目1または項目2のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

（項目4）

前記肝臓特異的エンハンサー配列、前記プロモーター配列、前記イントロン配列および前記導入遺伝子に隣接する、2つのスパーサー配列を含む、項目1～3のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目5)

前記インスレーター配列が、配列番号：28、29、30および/または38である、項目4に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目6)

前記導入遺伝子が血友病またはリソソーム蓄積症において欠如または欠損するタンパク質をコードする、項目1～5のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目7)

前記導入遺伝子が1つまたは複数のヌクレアーゼをさらにコードする、項目6に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目8)

肝臓特異的エンハンサー配列、プロモーター配列、配列番号：15、16または17のうちの任意の1つ中で示されるようなイントロン配列、および導入遺伝子を含む、ポリヌクレオチド発現コンストラクト。

(項目9)

前記エンハンサー配列が野生型セルピン1エンハンサーまたは変異セルピン1エンハンサーを含む；および/または、前記プロモーター配列が野生型トランスサイレチン(TTR)プロモーターもしくは変異TTRプロモーターを含む、項目8に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクト。

(項目10)

インスレーター配列を含む少なくとも1つのスパーサー配列および/またはポリアデニル化シグナルをさらに含む、項目8または項目9のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目11)

前記導入遺伝子が血友病またはリソソーム蓄積症において欠如または欠損するタンパク質をコードする、項目8～10のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目12)

前記導入遺伝子が1つまたは複数のヌクレアーゼをさらにコードする、項目8～11のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目13)

配列番号：1～13のうちの任意のものの位置1、5、14、32および/または39で突然変異を有する肝臓特異的エンハンサー配列、プロモーター配列、および導入遺伝子を含む、ポリヌクレオチド発現コンストラクト。

(項目14)

イントロン配列をさらに含む項目13に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクトであって、前記プロモーター配列が野生型トランスサイレチン(TTR)プロモーターもしくは変異TTRプロモーターを含む、および/または、前記イントロン配列が野生型マウス微小ウイルス(MVM)イントロン配列もしくは変異MVMイントロン配列を含む、前記コンストラクト。

(項目15)

インスレーター配列を含む少なくとも1つのスパーサー配列および/またはポリアデニル化シグナルをさらに含む、項目13または14のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目16)

前記導入遺伝子が血友病またはリソソーム蓄積症において欠如または欠損するタンパク質をコードする、項目13～14のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット

。

(項目17)

前記導入遺伝子が1つまたは複数のヌクレアーゼをさらにコードする、項目13～16のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット。

(項目18)

項目1～17のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現コンストラクトを含むAAVベクターであって、前記ポリヌクレオチド発現コンストラクトが前記AAVベクターの5'逆方向末端反復(I T R)と3' I T Rとの間にある、前記ベクター。

(項目19)

前記AAVベクターがCRMSBS1(配列番号:34)またはCRMSBS2(配列番号:37)と表記される、項目18に記載のAAVベクター。

(項目20)

項目18または19のいずれか一項に記載のAAVベクターを含む、医薬組成物。

(項目21)

タンパク質を、それを必要とする被験体へ提供する方法であって、項目18もしくは19のいずれか一項に記載のAAVベクターを前記被験体の肝臓へ、または項目20に記載の医薬組成物を前記被験体へ、投与することを含み、前記導入遺伝子が前記タンパク質をコードし、前記タンパク質が前記被験体中で産生される、前記方法。

(項目22)

前記導入遺伝子が肝細胞のゲノムの中へ組み込まれる、項目21に記載の方法。

(項目23)

1つまたは複数のヌクレアーゼを被験体へ投与することをさらに含む、項目21または22のいずれか一項に記載の方法であって、前記ヌクレアーゼが内在性アルブミン遺伝子を切断し、前記導入遺伝子が内在性アルブミン遺伝子の中へ組み込まれる、前記方法。

(項目24)

哺乳動物において治療用タンパク質への寛容を誘導する方法であって、項目21～23のいずれか一項に記載の方法に従ってタンパク質を産生するように前記哺乳動物における細胞を修飾すること、ならびに前記哺乳動物が治療用タンパク質へ寛容化されるようになるように、1つまたは複数のステロイドおよび/またはB細胞阻害因子により哺乳動物を治療することを含む、前記方法。

(項目25)

項目1～17のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド発現カセット、項目18もしくは項目19のいずれか一項に記載のAAVベクター、および/または項目20に記載の医薬組成物を含む、キット。