

【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6年3月7日(2024.3.7)

【公開番号】特開2023-90955(P2023-90955A)

【公開日】令和5年6月29日(2023.6.29)

【年通号数】公開公報(特許)2023-121

【出願番号】特願2023-78304(P2023-78304)

【国際特許分類】

C 12 N 15/31(2006.01)

10

C 07 K 14/33(2006.01)

C 12 P 21/02(2006.01)

【F I】

C 12 N 15/31

C 07 K 14/33 Z N A

C 12 P 21/02 C

【手続補正書】

【提出日】令和6年2月28日(2024.2.28)

20

【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】

少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む改変クロストリジウム毒素:ここで、

当該少なくとも1つのアミノ酸修飾は、改変クロストリジウム毒素の等電点(pI)を、当該少なくとも1つのアミノ酸修飾を欠く、その他の点においては同一のクロストリジウム毒素のpIよりも、少なくとも0.2pI単位高い値に増大し、

30

当該少なくとも1つのアミノ酸修飾は、クロストリジウム毒素転位置ドメイン(H_Nドメイン)中に位置し、又は、当該少なくとも1つのアミノ酸修飾は、クロストリジウム毒素軽鎖中に位置し且つクロストリジウム毒素軽鎖中にE3リガーゼ認識モチーフを導入せず、当該少なくとも1つのアミノ酸修飾は、クロストリジウム毒素結合ドメイン(H_Cドメイン)中に位置せず、

当該少なくとも1つのアミノ酸修飾は、表面露出アミノ酸残基の修飾であり、

当該少なくとも1つのアミノ酸修飾は、酸性アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基による置換:酸性アミノ酸残基の非荷電アミノ酸残基による置換:非荷電アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基による置換:塩基性アミノ酸残基の挿入:及び/又は酸性アミノ酸残基の欠失を含み、

40

当該改変クロストリジウム毒素は、1箇所から90箇所の間のアミノ酸修飾を含み、

当該改変クロストリジウム毒素は二本鎖形態であり、当該二本鎖改変クロストリジウム毒素は標的細胞結合、転位置および標的SNAREタンパク質(単数または複数)の切断の能力を保持し、

当該改変クロストリジウム毒素の軽鎖はE3リガーゼ認識モチーフを含まず、且つ

当該改変クロストリジウム毒素は:

(i) 少なくとも6.6のpIを有する改変ボツリヌスA型神経毒(BoNT/A);

(ii) 少なくとも5.5のpIを有する改変ボツリヌスB型神経毒(BoNT/B);

(iii) 少なくとも5.7のpIを有する改変ボツリヌスC型神経毒(BoNT/C₁);

(iv) 少なくとも5.7のpIを有する改変ボツリヌスD型神経毒(BoNT/D);

50

- (v) 少なくとも6.2のpIを有する改変ボツリヌスE型神経毒(BoNT/E);
 (vi) 少なくとも5.8のpIを有する改変ボツリヌスF型神経毒(BoNT/F);
 (vii) 少なくとも5.4のpIを有する改変ボツリヌスG型神経毒(BoNT/G);又は
 (viii) 少なくとも6.0のpIを有する改変破傷風神経毒(TeNT)である。

【請求項2】

前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾が、改変クロストリジウム毒素の等電点(pI)を、前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾を欠く、その他の点においては同一のクロストリジウム毒素のpIよりも、少なくとも0.5pI単位高い値に増大する、請求項1に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項3】

前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾が、改変クロストリジウム毒素の等電点(pI)を、前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾を欠く、その他の点においては同一のクロストリジウム毒素のpIよりも、少なくとも1pI単位高い値に増大する、請求項1又は2に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項4】

前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾が、改変クロストリジウム毒素の等電点(pI)を、前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾を欠く、その他の点においては同一のクロストリジウム毒素のpIよりも、少なくとも2pI単位高い値に増大する、請求項1又は2に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項5】

前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾が、改変クロストリジウム毒素の等電点(pI)を、前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾を欠く、その他の点においては同一のクロストリジウム毒素のpIよりも、2から5の間のpI単位高い値に増大する、請求項1又は2に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項6】

前記の少なくとも1つのアミノ酸修飾が、酸性アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基による置換、酸性アミノ酸残基の非荷電アミノ酸残基による置換及び/又は非荷電アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基による置換を含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項7】

少なくとも3つのアミノ酸修飾を含む、請求項1から6のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項8】

4箇所から40箇所の間のアミノ酸修飾を含む、請求項1から7のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項9】

少なくとも1つのアミノ酸修飾が、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、ヒスチジン残基、アスパラギン残基、グルタミン残基、セリン残基、トレオニン残基、アラニン残基、グリシン残基、バリン残基、ロイシン残基およびイソロイシン残基から選択されるアミノ酸残基の修飾を含む、請求項1から8のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項10】

アミノ酸残基が、リジン残基またはアルギニン残基で置換される、請求項9に記載の改変クロストリジウム毒素。

【請求項11】

請求項1から10のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム毒素をコードする核酸配列を含む核酸。

【請求項12】

軽鎖および重鎖を有する単鎖改変クロストリジウム毒素を製造する方法であって、請求項1に記載の核酸を、適した宿主細胞中で発現させることと、宿主細胞を溶解して、単

10

20

30

40

50

鎖改変クロストリジウム毒素を含有する宿主細胞ホモジネートを提供することと、单鎖改変クロストリジウム毒素を単離することとを含む、方法。

【請求項 13】

改変クロストリジウム毒素を活性化する方法であって、請求項12に記載の方法によって得られる单鎖改変クロストリジウム毒素を提供することと、当該单鎖改変クロストリジウム毒素を軽鎖と重鎖の間に位置する認識部位(切断部位)で切断するプロテアーゼと、当該单鎖改変クロストリジウム毒素とを接触させることと、当該单鎖改変クロストリジウム毒素を、軽鎖および重鎖がジスルフィド結合によって一緒に連結している二本鎖ポリペプチドに変換することとを含む、方法。

【請求項 14】

10

請求項13に記載の方法によって得られる二本鎖改変クロストリジウム毒素。

【請求項 15】

請求項1から10のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム毒素又は請求項14に記載の二本鎖改変クロストリジウム毒素、を含む医薬。

【請求項 16】

請求項1から10のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム毒素又は請求項14に記載の二本鎖改変クロストリジウム毒素を含む、斜視(strabismus)、眼瞼痙攣、斜視(squint)、ジストニア、痙性ジストニア、顎口腔ジストニア、限局性ジストニア、遅発性ジストニア、喉頭ジストニア、四肢ジストニア、頸部ジストニア、斜頸、痙性斜頸、細胞/筋肉を無能力にすること(SNARE下方制御または不活性化による)から恩恵を受ける美容療法(美容)適用、眼球運動の神経筋障害または状態、共同性斜視(concomitant strabismus)、上下斜視(vertical strabismus)、外直筋麻痺、眼振、甲状腺異常筋疾患、書痙、歯ぎしり、ウィルソン病、振戦、チック、分節性ミオクロヌス、痙攣、慢性多発性硬化症による痙縮、異常な膀胱制御をもたらす痙縮、背中の痙攣、脚の痙攣、緊張性頭痛、拳筋骨盤症候群、二分脊椎症、遅発性ジスキネジア、パーキンソン病、吃音、片側顔面痙攣、眼瞼障害、脳性麻痺、限局性痙縮、痙性大腸炎、神経性膀胱、アニスムス、四肢痙縮、裂肛、アカラシア、嚥下障害、流涙、多汗症、過剰な唾液分泌、過剰な胃腸分泌、筋肉疼痛、筋肉痙攣からの疼痛、頭痛疼痛、緊張性頭痛、額の深いしわ、皮膚の細かいしわ、癌、子宮障害、泌尿生殖器障害、泌尿生殖器神経疾患、慢性神経性炎症および平滑筋障害から選択される疾患または状態の予防または治療において使用するための医薬。

20

30

40

50