

【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5年6月5日(2023.6.5)

【国際公開番号】WO2020/251954  
 【公表番号】特表2022-536338(P2022-536338A)  
 【公表日】令和4年8月15日(2022.8.15)  
 【年通号数】公開公報(特許)2022-148  
 【出願番号】特願2021-573242(P2021-573242)  
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/55(2006.01)

C 1 2 N 9/14(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 P 3/00(2006.01)

A 6 1 K 38/46(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

20

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 0 7 K 14/015(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 9/14 Z N A

C 1 2 N 7/01

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 3/00

A 6 1 K 38/46

30

A 6 1 K 35/76

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/11 Z

C 0 7 K 14/015

【手続補正書】

【提出日】令和5年5月26日(2023.5.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

40

【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】

組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)であって、

(a) AAVキャプシドタンパク質を含むAAVキャプシドと、

(b) サイレントに改変されたアリアルスルファターゼA(ARSA)コード配列に操作可能に連結された転写調節エレメントを含む、移入ゲノムと、を含む、rAAV。

50

## 【請求項 2】

細胞内にアリアルスルファターゼ A ( A R S A ) ポリペプチドを発現する方法であって、

( a ) A A V キャプシドタンパク質を含む A A V キャプシドと、

( b ) サイレントに改変された A R S A コード配列に操作可能に連結された転写調節エレメントを含む、移入ゲノムと、

を含む、組換えアデノ随伴ウイルス ( r A A V ) で、前記細胞を形質導入することを含む、方法。

## 【請求項 3】

前記細胞が、ニューロンおよび / またはグリア細胞であり；

10

前記細胞が、中枢神経系および / または末梢神経系のニューロンおよび / またはグリア細胞であり；

前記細胞が、脊髄、運動野、感覚野、海馬、被殻、小脳、任意選択で小脳核、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中枢神経系領域の細胞であり；および / または

前記細胞が、運動ニューロン、星状細胞、オリゴデンドロサイト、中枢神経系の大脳皮質の細胞、末梢神経系の感覚ニューロン、シュワン細胞、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細胞である、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

異染性白質ジストロフィー ( M L D ) の治療のための薬剤の製造における組換えアデノ随伴ウイルス ( r A A V ) の使用であって、前記 r A A V が、

20

( a ) A A V キャプシドタンパク質を含む A A V キャプシドと、

( b ) サイレントに改変されたアリアルスルファターゼ A ( A R S A ) コード配列に操作可能に連結された転写調節エレメントを含む、移入ゲノムと、

を含む、使用。

## 【請求項 5】

異染性白質ジストロフィーが、A R S A 遺伝子変異に関連する、請求項 4 に記載の使用。

## 【請求項 6】

前記サイレントに改変された A R S A コード配列が、配列番号 2 3 に記載されるアミノ酸配列をコードし、任意選択で前記サイレントに改変された A R S A コード配列が、配列番号 1 4、6 2 または 7 2 に記載されるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の r A A V、請求項 2 または 3 に記載の方法、及び請求項 4 または 5 に記載の使用。

30

## 【請求項 7】

前記転写調節エレメントが、サイトメガロウイルス ( C M V ) エンハンサーエレメント、ニワトリ - - アクチン ( C B A ) プロモーター、小型ニワトリ - - アクチン ( S m C B A ) プロモーター、カルモジュリン 1 ( C A L M 1 ) プロモーター、プロテオ脂質タンパク質 1 ( P L P 1 ) プロモーター、グリア線維性酸性タンパク質 ( G F A P ) プロモーター、シナプシン 2 ( S Y N 2 ) プロモーター、メタロチオネイン 3 ( M T 3 ) プロモーター、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一つ以上のエレメントを含み；

40

前記転写調節エレメントが、配列番号 2 5、3 2、3 6、5 4、5 5、および 5 8 からなる群から選択される配列に対し、少なくとも 9 0 % 同一なヌクレオチド配列を含み；

前記転写調節エレメントが、配列番号 2 5、3 2、3 6、5 4、5 5、および 5 8 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含み；

前記転写調節エレメントが 5 ' から 3 ' の方向に、配列番号 5 8、2 5、および 3 2 に記載されるヌクレオチド配列を含み；および / または

前記転写調節エレメントが、配列番号 3 6 に記載されるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 または 6 に記載の r A A V、請求項 2、3 または 6 に記載の方法、及び請求項 4

50

から 6 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 8】

前記移入ゲノムがさらに、ポリアデニル化配列を含み、任意選択で

前記ポリアデニル化配列が、前記サイレントに改変された A R S A コード配列の 3 ' 側に含み；

前記ポリアデニル化配列が、外因性ポリアデニル化配列であり；

前記ポリアデニル化配列が、S V 4 0 ポリアデニル化配列であり；および/または

前記ポリアデニル化配列が、配列番号 4 2 に記載されるヌクレオチド配列を含み、

前記移入ゲノムがさらに、スタッファー配列を含み、任意選択で

前記スタッファー配列が、前記サイレントに改変された A R S A コード配列の 3 ' 10  
側であり；

前記スタッファー配列が、前記ポリアデニル化配列の 3 ' 側であり；および/または

前記移入ゲノムが、配列番号 4 1、4 4、4 6、6 5、6 7、7 5、および 7 9 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1、6 または 7 に記載の r A A V、請求項 2、3、6 または 7 に記載の方法、及び請求項 4 から 7 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 9】

前記移入ゲノムがさらに、前記ゲノムの 5 ' 側の 5 ' 逆位末端反復 ( 5 ' I T R )  
ヌクレオチド配列と、前記ゲノムの 3 ' 側の 3 ' 逆位末端反復 ( 3 ' I T R )  
ヌクレオチド配列とを含み、任意選択で

前記 5 ' I T R ヌクレオチド配列が、配列番号 1 8 に対し少なくとも 9 5 % の配列 20  
同一性を有し、前記 3 ' I T R ヌクレオチド配列が、配列番号 1 9 に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有し；

前記 5 ' I T R ヌクレオチド配列が、配列番号 2 6 に対し少なくとも 9 5 % の配列  
同一性を有し、前記 3 ' I T R ヌクレオチド配列が、配列番号 2 7 に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有し；または

前記 5 ' I T R ヌクレオチド配列が、配列番号 1 8 に対し少なくとも 9 5 % の配列  
同一性を有し、前記 3 ' I T R ヌクレオチド配列が、配列番号 5 7 に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する、請求項 1、6、7 または 8 に記載の r A A V、請求項 2、3、6、7 または 8 に記載の方法、及び請求項 4 から 8 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 10】

前記移入ゲノムが、配列番号 4 7、4 8、4 9、6 8、6 9、7 6、および 8 0  
からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むまたは前記ヌクレオチド配列からなる、請求項 1 および 6 から 9 のいずれか一項に記載の r A A V、請求項 2、3 および 6 から 9 のいずれか一項に記載の方法、及び請求項 4 から 9 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 11】

前記キャプシドタンパク質が、配列番号 1、2、3、4、6、7、10、11、12、13、15、16、または 17 のアミノ酸 203 ~ 736 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、任意選択で

( i ) 配列番号 16 のアミノ酸 206 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が C であり、配列番号 16 のアミノ酸 296 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が H であり、配列番号 16 のアミノ酸 312 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が Q であり、配列番号 16 のアミノ酸 346 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が A であり、配列番号 16 のアミノ酸 464 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が N であり、配列番号 16 のアミノ酸 468 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が S であり、配列番号 16 のアミノ酸 501 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が I であり、配列番号 16 のアミノ酸 505 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり、配列番号 16 のアミノ酸 590 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり、配列番号 16 のアミノ酸 626 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が G または Y であり、配列番号 16 のアミノ酸 681 に対応する前 50

記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がMであり、配列番号16のアミノ酸687に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸690に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がKであり、配列番号16のアミノ酸706に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がCであり、あるいは配列番号16のアミノ酸718に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がGであり；

(ii)(a)配列番号16のアミノ酸626に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がGであり、配列番号16のアミノ酸718に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がGであり；(b)配列番号16のアミノ酸296に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がHであり、配列番号16のアミノ酸464に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がNであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸681に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がMであり；(c)配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸687に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり；(d)配列番号16のアミノ酸346に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がAであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり；または(e)配列番号16のアミノ酸501に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がIであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸706に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がCであり；および/または

(iii)前記キャブシドタンパク質が、配列番号2、3、4、6、7、10、11、12、13、15、16、または17のアミノ酸203～736のアミノ酸配列を含み；

前記キャブシドタンパク質が、配列番号1、2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、15、16、または17のアミノ酸138～736のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、任意選択で

(i)配列番号16のアミノ酸151に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸160に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がDであり、配列番号16のアミノ酸206に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がCであり、配列番号16のアミノ酸296に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がHであり、配列番号16のアミノ酸312に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がQであり、配列番号16のアミノ酸346に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がAであり、配列番号16のアミノ酸464に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がNであり、配列番号16のアミノ酸468に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がSであり、配列番号16のアミノ酸501に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がIであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸590に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸626に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がGまたはYであり、配列番号16のアミノ酸681に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がMであり、配列番号16のアミノ酸687に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸690に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がKであり、配列番号16のアミノ酸706に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がCであり、あるいは配列番号16のアミノ酸718に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がGであり；

(ii)(a)配列番号16のアミノ酸626に対応する前記キャブシドタンパク質中の前記アミノ酸がGであり、配列番号16のアミノ酸718に対応する前記キャブシドタン

10

20

30

40

50

パク質中の前記アミノ酸がGであり；(b)配列番号16のアミノ酸296に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がHであり、配列番号16のアミノ酸464に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がNであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸681に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がMであり；(c)配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸687に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり；(d)配列番号16のアミノ酸346に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がAであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり；または(e)配列番号16のアミノ酸501に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がIであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸706に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がCであり；および/または

10

(iii)前記キャプシドタンパク質が、配列番号2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、15、16、または17のアミノ酸138~736のアミノ酸配列を含み；および/または

前記キャプシドタンパク質が、配列番号2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、15、16、または17のアミノ酸1~736のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、任意選択で

20

(i)配列番号16のアミノ酸2に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がTであり、配列番号16のアミノ酸65に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がIであり、配列番号16のアミノ酸68に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がVであり、配列番号16のアミノ酸77に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸119に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がLであり、配列番号16のアミノ酸151に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸160に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がDであり、配列番号16のアミノ酸206に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がCであり、配列番号16のアミノ酸296に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がHであり、配列番号16のアミノ酸312に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がQであり、配列番号16のアミノ酸346に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がAであり、配列番号16のアミノ酸464に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がNであり、配列番号16のアミノ酸468に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がSであり、配列番号16のアミノ酸501に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がIであり、配列番号16のアミノ酸505に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸590に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸626に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がGまたはYであり、配列番号16のアミノ酸681に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がMであり、配列番号16のアミノ酸687に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がRであり、配列番号16のアミノ酸690に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がKであり、配列番号16のアミノ酸706に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がCであり、あるいは配列番号16のアミノ酸718に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がGであり；

30

40

(ii)(a)配列番号16のアミノ酸2に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がTであり、配列番号16のアミノ酸312に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がQであり；(b)配列番号16のアミノ酸65に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がIであり、配列番号16のアミノ酸626に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸がYであり；(c)配列番号16の

50

アミノ酸 77 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり、配列番号 16 のアミノ酸 690 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が K であり；(d) 配列番号 16 のアミノ酸 119 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が L であり、配列番号 16 のアミノ酸 468 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が S であり；(e) 配列番号 16 のアミノ酸 626 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が G であり、配列番号 16 のアミノ酸 718 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が G であり；(f) 配列番号 16 のアミノ酸 296 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が H であり、配列番号 16 のアミノ酸 464 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が N であり、配列番号 16 のアミノ酸 505 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり、配列番号 16 のアミノ酸 681 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が M であり；(g) 配列番号 16 のアミノ酸 505 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり、配列番号 16 のアミノ酸 687 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり；(h) 配列番号 16 のアミノ酸 346 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が A であり、配列番号 16 のアミノ酸 505 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり；または (i) 配列番号 16 のアミノ酸 501 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が I であり、配列番号 16 のアミノ酸 505 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が R であり、配列番号 16 のアミノ酸 706 に対応する前記キャプシドタンパク質中の前記アミノ酸が C であり；および/または

10

20

(iii) 前記キャプシドタンパク質が、配列番号 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、15、16、または 17 のアミノ酸 1 ~ 736 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 および 6 から 10 のいずれか一項に記載の rAAV、請求項 2、3 および 6 から 10 のいずれか一項に記載の方法、及び請求項 4 から 10 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 12】

請求項 1 および 6 から 11 のいずれか一項に記載の rAAV を含む医薬組成物。

【請求項 13】

配列番号 14、62、および 72 に記載される核酸配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 14】

rAAV を調製するためのパッケージングシステムであって、

(a) 一つ以上の AAV Rep タンパク質をコードする第一のヌクレオチド配列と、

(b) 請求項 11 に記載の AAV のキャプシドタンパク質をコードする第二のヌクレオチド配列と、

(c) 請求項 11 に記載の AAV の rAAV ゲノム配列を含む第三のヌクレオチド配列と、を含む、パッケージングシステム。

【請求項 15】

前記第一のヌクレオチド配列および前記第二のヌクレオチド配列を含む第一のベクターと、前記第三のヌクレオチド配列を含む第二のベクターと、を含み；および/または

40

一つ以上のヘルパーウイルス遺伝子を含む第四のヌクレオチド配列をさらに含み、任意選択で前記第四のヌクレオチド配列が、第三のベクター内に含まれ、および/または前記第四のヌクレオチド配列が、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ワクシニアウイルス、およびサイトメガロウイルス (CMV) からなる群から選択されるウイルス由来の一つ以上の遺伝子を含み、任意選択で

前記第一のベクター、第二のベクター、および/または前記第三のベクターがプラスミドである、請求項 14 に記載のパッケージングシステム。

【請求項 16】

rAAV の組換え調製のための方法であって、前記 rAAV が産生される条件下で、請求項 14 または 15 に記載のパッケージングシステムを細胞内に導入することを含

50

む、方法。

【請求項 17】

M L D の治療のための薬剤の製造における、請求項 12 に記載の医薬組成物または請求項 13 に記載のポリヌクレオチド、の使用。

10

20

30

40

50