

【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10月3日(2022.10.3)

【国際公開番号】WO2020/068990

【公表番号】特表2022-502046(P2022-502046A)

【公表日】令和4年1月11日(2022.1.11)

【出願番号】特願2021-517037(P2021-517037)

【国際特許分類】

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 15/35(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

A 6 1 P 11/00(2006.01)

A 6 1 P 11/08(2006.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 P 25/02(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 7/01 Z N A

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/35

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 11/00

A 6 1 P 11/08

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 25/02

A 6 1 K 48/00

20

【手続補正書】

30

【提出日】令和4年9月22日(2022.9.22)

【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】

a) 対応する親AAVカプシドタンパク質の3回対称軸における7-merペプチド配列内に3個またはそれより多くのアミノ酸のアミノ酸置換を含むバリエーションAAVカプシドタンパク質を含むバリエーションAAVカプシドであって、前記7-merペプチド配列が、AAV9 VP1(配列番号1)のアミノ酸残基452~458に対応するアミノ酸位置にあり、前記アミノ酸置換が、ILGTGTS(配列番号45479)でも、QSSQTTPR(配列番号45479)でも、TLAVPFK(配列番号45477)でもない、バリエーションAAVカプシドと、

40

b) 遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列を含む異種ポリヌクレオチドとを含む組換えAAV(rAAV)。

【請求項2】

前記バリエーションAAVカプシドが、対象において測定されたとき、前記対応する親AAVカプシドの指向性と比較して標的組織または標的細胞に対する指向性の増加を有する、

50

請求項 1 に記載の r A A V。

【請求項 3】

前記標的組織または前記標的細胞が、中枢神経系 ( C N S ) もしくは末梢神経系 ( P N S ) またはこれらの組合せの組織または細胞を含む、請求項 1 または 2 に記載の r A A V。

【請求項 4】

前記バリエーション A A V カプシドが、対象において測定されたとき、前記対応する親 A A V カプシドの指向性と比較して、肝臓組織を含む標的外組織または肝臓細胞を含む標的外細胞に対する指向性の減少を有する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の r A A V。

【請求項 5】

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、連続する 3 個のアミノ酸を含み、各々のアミノ酸が独立して、A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 4、4 5 3 ~ 4 5 5、4 5 4 ~ 4 5 6、4 5 5 ~ 4 5 7、または 4 5 6 ~ 4 5 8 に対応する前記親 A A V カプシドタンパク質のアミノ酸位置における A、D、E、G、K、H、M、N、P、L、Q、S、T および V からなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の r A A V。

10

【請求項 6】

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、連続する 4 個のアミノ酸を含み、各々のアミノ酸が独立して、A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 5、4 5 3 ~ 4 5 6、4 5 4 ~ 4 5 7、または 4 5 5 ~ 4 5 8 に対応する前記親 A A V カプシドタンパク質のアミノ酸位置における A、D、E、G、K、H、M、N、P、L、Q、S、T および V からなる群から選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の r A A V。

20

【請求項 7】

3 個またはそれより多くのアミノ酸が、連続する少なくとも 5 個のアミノ酸を含み、各々のアミノ酸が独立して、A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 6、4 5 3 ~ 4 5 7、または 4 5 4 ~ 4 5 8 に対応する前記親 A A V カプシドタンパク質のアミノ酸位置における A、D、E、G、K、H、M、N、P、L、Q、S、T および V からなる群から選択される、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の r A A V。

【請求項 8】

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、

a) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 2 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、H、M、N、Q、S、T または V、

b) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 3 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、Q、S、T または V、

c) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 4 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、Q、S、T または V、

d) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 5 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、P、Q、S または T、

e) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 6 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、H、K、N、P、Q、S または T、

f) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 7 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、P、S、T または V、および

g) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における置換された A、E、G、H、K、L、N、Q、S、T または V

のうちの 3 個またはそれより多くを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の r A A V。

30

40

【請求項 9】

前記アミノ酸置換が、D G A A T K N ( 配列番号 3 9 4 3 )、および D G Q S S K S ( 配列番号 2 7 6 4 ) から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の r A A V。

50

## 【請求項 10】

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、

- a) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、D、G、L、N、Q、S または T、
  - b) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 3 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、N、P、Q、R、S または、
  - c) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 4 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、D、G、N、S または T、
  - d) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 5 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、D、G、K、N、P、Q、S または T、
  - e) A A V 9 V P (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 6 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、K、N、P、R、S または T、
  - f) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 7 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、K、N、P、R、S、T または V、および
  - g) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 8 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、K、L、R、S、T または V
- のうちの 3 個またはそれより多くを含む、請求項 4 に記載の r A A V。

10

## 【請求項 11】

前記アミノ酸置換が、L Q T S S P G (配列番号 2 9 3 3)、Q Q G K Q S V (配列番号 7 9)、S I N T K T N (配列番号 4 5 4 7 5)、S N G T K Q T (配列番号 4 4 2)、G S G K T A A (配列番号 8 8)、M G D K P T R (配列番号 2 4 6 6)、Q P S G G N T (配列番号 2 6 7 2)、E R G A N T K (配列番号 5 1 9 2)、T T G G H S S (配列番号 2 7 4 3)、G T T K T S E (配列番号 3 0 6 4)、G T G T S V L (配列番号 1 1 9 5 8)、N Q S G T K G (配列番号 7 8 0)、K G P G Q M G (配列番号 4 5 4 7 6)、および G T P S K A G (配列番号 2 7 4 1) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の r A A V。

20

## 【請求項 12】

前記標的組織、または前記組織内の前記標的細胞が、肺、腸、腎臓、心臓および胃からなる群から選択される、請求項 2 ~ 11 のいずれか一項に記載の r A A V。

## 【請求項 13】

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、A A V 9 V P 1 のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 4、4 5 3 ~ 4 5 5、4 5 4 ~ 4 5 6、4 5 5 ~ 4 5 7、または 4 5 6 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 3 個のアミノ酸を含み、

30

- a) 4 5 2 が、N、K、R および T からなる群から選択され、
- b) 4 5 3 が、L、N、P および S からなる群から選択され、
- c) 4 5 4 が、A、D、G、N、S および T からなる群から選択され、
- d) 4 5 5 が、L、P、S および T からなる群から選択され、
- e) 4 5 6 が、P、R および S からなる群から選択され、
- f) 4 5 7 が、G、N、S および T からなる群から選択され、および
- g) 4 5 8 が、I、L および R からなる群から選択される、

40

請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の r A A V。

## 【請求項 14】

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、

- a) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 5、4 5 3 ~ 4 5 6、4 5 4 ~ 4 5 7、または 4 5 5 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 4 個のアミノ酸、
- b) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 6、4 5 3 ~ 4 5 7、または 4 5 3 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 5 個のアミノ酸、
- c) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 7 または 4 5 3 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 6 個のアミノ酸、および

50

d) AAV9 VP1 (配列番号1)のアミノ酸残基452~458に対応するアミノ酸位置における連続する7個のアミノ酸を含む、請求項1~13のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項15】

前記標的組織が肺であり、前記3個またはそれより多くのアミノ酸が、KDNTPGR (配列番号32538)、NNLPRNL (配列番号32867)、または図13に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、請求項12~14のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項16】

前記標的組織が腸であり、前記3個またはそれより多くのアミノ酸が、RESSPSL (配列番号26474)、KDNTPGR (配列番号26584)、または図5に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、請求項12~14のいずれか一項に記載のrAAV。 10

【請求項17】

前記組織が腎臓であり、前記3個またはそれより多くのアミノ酸が、RVPLSTI (配列番号26933)、NNLPRNL (配列番号27530)、KDNTPGR (配列番号28509)、または図6に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、請求項12~14のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項18】

前記組織が心臓であり、前記3個またはそれより多くのアミノ酸が、KDNTPGR (配列番号25633)、または図4に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、請求項12~14のいずれか一項に記載のrAAV。 20

【請求項19】

前記組織が胃であり、前記3個またはそれより多くのアミノ酸が、RESSPSL (配列番号31904)、または図12の任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、請求項12~14のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項20】

前記対応する親AAVカプシドタンパク質が、AAV9 VP1またはそのバリエーションである、請求項1~19のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項21】

前記AAV9 VP1バリエーションが、配列番号1に対して90%のまたはそれより高い配列同一性を有する、請求項20に記載のrAAV。 30

【請求項22】

前記AAV9 VP1バリエーションが、配列番号1に対して95%のまたはそれより高い配列同一性を有する、請求項20に記載のrAAV。

【請求項23】

前記対応する親AAVカプシドタンパク質が、前記AAV9 VP1 (配列番号1)の588\_\_589に対応するアミノ酸位置におけるTLAXPFK (配列番号46424)、TLAX (配列番号46425)、LAVX (配列番号46426)、AVPX (配列番号46427)、およびVPFX (配列番号46428)からなる群から選択されるアミノ酸配列の挿入をさらに含み、Xが、V以外の任意のアミノ酸である、請求項1~22のいずれか一項に記載のrAAV。 40

【請求項24】

前記親AAVカプシドタンパク質が、AAV-PHP.BまたはAAV-PHP.eBからのものである、請求項1~23のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項25】

単離され、精製されている、請求項1~24のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項26】

請求項1~25のいずれか一項に記載のrAAVおよび医薬賦形剤を含む医薬製剤。

【請求項27】

静脈内、動脈内、鼻腔内、くも膜下腔内、大槽内または皮下注射用に製剤化されている、請求項 26 に記載の医薬製剤。

【請求項 28】

対象における疾患または状態を処置するための、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の rAAV を含む組成物または請求項 26 もしくは 27 に記載の医薬製剤であって、前記遺伝子産物が治療用遺伝子産物である、組成物または医薬製剤。

【請求項 29】

前記組成物または医薬製剤が、静脈内、動脈内、鼻腔内、くも膜下腔内、大槽内または皮下注射によって投与されることを特徴とする、請求項 28 に記載の組成物または医薬製剤。

10

【請求項 30】

前記疾患または前記状態が、肺線維症、サーファクタントタンパク質障害、ペルオキシソーム生合成障害、または慢性閉塞性肺疾患 (COPD) からなる群から選択される、請求項 28 に記載の組成物または医薬製剤。

【請求項 31】

前記疾患または前記状態が、中枢神経系 (CNS) または末梢神経系 (PNS) 障害である、請求項 28 に記載の組成物または医薬製剤。

【請求項 32】

請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の rAAV を製造する方法であって、

a) 細胞に、

20

a) 5' および 3' 逆方向末端反復 (ITR) 配列で囲まれた治療用遺伝子発現産物をコードする第 1 の核酸配列と、

b) 5' ITR 配列、複製 (Rep) 遺伝子、カプシド (Cap) 遺伝子、および 3' ITR を含むウイルスゲノムをコードし、前記 Cap 遺伝子が rAAV カプシドタンパク質をコードする、第 2 の核酸配列と、

c) E4orf6、E2a および VA RNA からなる群から選択される第 1 のヘルパーウイルスタンパク質をコードし、必要に応じて、E1a または E1b55k を含む第 2 のヘルパーウイルスタンパク質をコードする、第 3 の核酸配列とを含む核酸を導入するステップ、

b) 前記細胞において前記 AAV カプシドタンパク質を発現させるステップ、

30

c) 請求項 1 ~ 23 のいずれか一項に記載の rAAV を構築するステップ、および

d) 前記第 1 の核酸配列を前記 rAAV にパッケージングするステップ

を含む方法。

【請求項 33】

a) 霊長類対象の肝臓において前記霊長類対象に静脈内送達されたときに測定される、配列番号 1 の AAV カプシドタンパク質を有する対応する親 AAV カプシドと比較して特異性減少および形質導入効率低下のうちの少なくとも一方、および

b) 前記霊長類対象の中枢神経系 (CNS) において前記霊長類対象に静脈内送達されたときに測定される、前記対応する親 AAV カプシドと比較して特異性増加および形質導入効率向上のうちの少なくとも一方

40

を含むバリエーションアデノ随伴ウイルス (AAV) カプシド。

【請求項 34】

a) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 452 ~ 458 に対応するアミノ酸位置における 7-mer ペプチド配列内の 3 個またはそれより多くのアミノ酸のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含むバリエーション AAV カプシドタンパク質、および

b) 対象の標的組織において前記対象に鼻腔内または静脈内送達されたときに測定される、配列番号 1 または配列番号 2 の対応する親 AAV カプシドタンパク質と比較して前記標的組織における特異性増加および形質導入効率向上のうちの少なくとも一方

を含み、前記標的組織が、肺、腸、腎臓、心臓および胃からなる群から選択される、バリエーションアデノ随伴ウイルス (AAV) カプシド。

50

【手続補正2】【補正対象書類名】明細書【補正対象項目名】0041【補正方法】変更【補正の内容】

【0041】

本明細書で開示される態様は、(a) 5' から 3' の方向に、(i) 5' 逆方向末端反復 (ITR) 配列、(ii) 複製 (Rep) 遺伝子、(iii) 本明細書に記載の AAV カプシドタンパク質をコードするカプシド (Cap) 遺伝子、および (iv) 3' ITR を含む、ウイルスゲノムをコードする第 1 の核酸配列を含む第 1 のベクターと、(b) 必要に応じて、E4orf6、E2a、VA RNA、E1a および E1b55k のうちの少なくとも 1 つを含むヘルパーウイルスタンパク質をコードする第 2 の核酸配列を含む第 2 のベクターとを含む、キットを提供する。一部の事例では、キットは、細胞をさらに含む。一部の事例では、細胞は、哺乳動物細胞である。一部の事例では、細胞は、不死化細胞である。一部の事例では、不死化細胞は、胚性幹細胞である。一部の事例では、胚性幹細胞は、ヒト胚性幹細胞である。一部の事例では、ヒト胚性幹細胞は、ヒト胎児腎臓 293 (HEK-293) 細胞である。一部の事例では、キットは、治療用遺伝子発現産物をコードする異種核酸を含むベクターをさらに含む。一部の事例では、ベクターは、エピソームである。

10

20

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目 1)

a) 対応する親 AAV カプシドタンパク質の 3 回対称軸における 7-mer ペプチド配列内に 3 個またはそれより多くのアミノ酸のアミノ酸置換を含むバリエーション AAV カプシドタンパク質を含むバリエーション AAV カプシドであって、前記 7-mer ペプチド配列が、AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 452 ~ 458 に対応するアミノ酸位置にあり、前記アミノ酸置換が、ILGTGTS (配列番号 45479) でも、QSSQTTPR (配列番号 45479) でも、TLAVPFK (配列番号 45477) でもない、バリエーション AAV カプシドと、

b) 遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列を含む異種ポリヌクレオチドとを含む組換え AAV (rAAV)。

30

(項目 2)

前記バリエーション AAV カプシドが、対象において測定されたとき、前記対応する親 AAV カプシドの指向性と比較して標的組織または標的細胞に対する指向性の増加を有する、項目 1 に記載の rAAV。

(項目 3)

前記標的組織または前記標的細胞が、中枢神経系 (CNS) もしくは末梢神経系 (PNS) またはこれらの組合せの組織または細胞を含む、前記項目のいずれかに記載の rAAV。

(項目 4)

前記バリエーション AAV カプシドが、対象において測定されたとき、前記対応する親 AAV カプシドの指向性と比較して、肝臓組織を含む標的外組織または肝臓細胞を含む標的外細胞に対する指向性の減少を有する、前記項目のいずれかに記載の rAAV。

40

(項目 5)

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、連続する 3 個のアミノ酸を含み、各々のアミノ酸が独立して、AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 452 ~ 454、453 ~ 455、454 ~ 456、455 ~ 457、または 456 ~ 458 に対応する前記親 AAV カプシドタンパク質のアミノ酸位置における A、D、E、G、K、H、M、N、P、L、Q、S、T および V からなる群から選択される、前記項目のいずれかに記載の rAAV。

(項目 6)

50

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、連続する 4 個のアミノ酸を含み、各々のアミノ酸が独立して、AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 452 ~ 455、453 ~ 456、454 ~ 457、または 455 ~ 458 に対応する前記親 AAV カプシドタンパク質のアミノ酸位置における A、D、E、G、K、H、M、N、P、L、Q、S、T および V からなる群から選択される、前記項目のいずれかに記載の rAAV。

(項目 7)

3 個またはそれより多くのアミノ酸が、連続する少なくとも 5 個のアミノ酸を含み、各々のアミノ酸が独立して、AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 452 ~ 456、453 ~ 457、または 454 ~ 458 に対応する前記親 AAV カプシドタンパク質のアミノ酸位置における A、D、E、G、K、H、M、N、P、L、Q、S、T および V からなる群から選択される、前記項目のいずれかに記載の rAAV。

(項目 8)

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、

a) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 452 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、H、M、N、Q、S、T または V、

b) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 453 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、Q、S、T または V、

c) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 454 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、Q、S、T または V、

d) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 455 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、P、Q、S または T、

e) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 456 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、H、K、N、P、Q、S または T、

f) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 457 に対応するアミノ酸位置における置換された A、D、E、G、K、N、P、S、T または V、および

g) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 458 に対応するアミノ酸位置における置換された A、E、G、H、K、L、N、Q、S、T または V

のうちの 3 個またはそれより多くを含む、前記項目のいずれかに記載の rAAV。

(項目 9)

前記アミノ酸置換が、DGAATKN (配列番号 3943)、および DGQSSKS (配列番号 2764) から選択されるアミノ酸配列を含む、前記項目のいずれかに記載の rAAV。

(項目 10)

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、

a) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 452 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、D、G、L、N、Q、S または T、

b) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 453 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、N、P、Q、R、S または、

c) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 454 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、D、G、N、S または T、

d) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 455 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、D、G、K、N、P、Q、S または T、

e) AAV9 VP (配列番号 1) のアミノ酸残基 456 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、K、N、P、R、S または T、

f) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 457 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、K、N、P、R、S、T または V、および

g) AAV9 VP1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 458 に対応する位置におけるアミノ酸における置換された A、G、K、L、R、S、T または V

のうちの 3 個またはそれより多くを含む、項目 4 に記載の rAAV。

(項目 11)

10

20

30

40

50

前記アミノ酸置換が、L Q T S S P G (配列番号 2 9 3 3)、Q Q G K Q S V (配列番号 7 9)、S I N T K T N (配列番号 4 5 4 7 5)、S N G T K Q T (配列番号 4 4 2)、G S G K T A A (配列番号 8 8)、M G D K P T R (配列番号 2 4 6 6)、Q P S G G N T (配列番号 2 6 7 2)、E R G A N T K (配列番号 5 1 9 2)、T T G G H S S (配列番号 2 7 4 3)、G T T K T S E (配列番号 3 0 6 4)、G T G T S V L (配列番号 1 1 9 5 8)、N Q S G T K G (配列番号 7 8 0)、K G P G Q M G (配列番号 4 5 4 7 6)、および G T P S K A G (配列番号 2 7 4 1) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記項目のいずれかに記載の r A A V。

(項目 1 2)

前記標的組織、または前記組織内の前記標的細胞が、肺、腸、腎臓、心臓および胃からなる群から選択される、項目 2 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の r A A V。

10

(項目 1 3)

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、A A V 9 V P 1 のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 4、4 5 3 ~ 4 5 5、4 5 4 ~ 4 5 6、4 5 5 ~ 4 5 7、または 4 5 6 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 3 個のアミノ酸を含み、

- a) 4 5 2 が、N、K、R および T からなる群から選択され、
- b) 4 5 3 が、L、N、P および S からなる群から選択され、
- c) 4 5 4 が、A、D、G、N、S および T からなる群から選択され、
- d) 4 5 5 が、L、P、S および T からなる群から選択され、
- e) 4 5 6 が、P、R および S からなる群から選択され、
- f) 4 5 7 が、G、N、S および T からなる群から選択され、および
- g) 4 5 8 が、I、L および R からなる群から選択される、

20

前記項目のいずれかに記載の r A A V。

(項目 1 4)

前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、

- a) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 5、4 5 3 ~ 4 5 6、4 5 4 ~ 4 5 7、または 4 5 5 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 4 個のアミノ酸、
- b) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 6、4 5 3 ~ 4 5 7、または 4 5 3 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 5 個のアミノ酸、
- c) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 7 または 4 5 3 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 6 個のアミノ酸、および
- d) A A V 9 V P 1 (配列番号 1) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における連続する 7 個のアミノ酸

30

を含む、前記項目のいずれかに記載の r A A V。

(項目 1 5)

前記標的組織が肺であり、前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、K D N T P G R (配列番号 3 2 5 3 8)、N N L P R N L (配列番号 3 2 8 6 7)、または図 1 3 に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、項目 1 2 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の r A A V。

40

(項目 1 6)

前記標的組織が腸であり、前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、R E S S P S L (配列番号 2 6 4 7 4)、K D N T P G R (配列番号 2 6 5 8 4)、または図 5 に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、項目 1 2 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の r A A V。

(項目 1 7)

前記組織が腎臓であり、前記 3 個またはそれより多くのアミノ酸が、R V P L S T I (配列番号 2 6 9 3 3)、N N L P R N L (配列番号 2 7 5 3 0)、K D N T P G R (配列番号 2 8 5 0 9)、または図 6 に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、項目 1 2 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の r A A V。

50

(項目 18)

前記組織が心臓であり、前記3個またはそれより多くのアミノ酸が、KDNT PGR (配列番号25633)、または図4に示される任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、項目12~14のいずれか一項に記載のrAAV。

(項目 19)

前記組織が胃であり、前記3個またはそれより多くのアミノ酸が、RESSPSL (配列番号31904)、または図12の任意のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列内に備えられている、項目12~14のいずれか一項に記載のrAAV。

(項目 20)

前記対応する親AAVカプシドタンパク質が、AAV9 VP1またはそのバリエーションである、前記項目のいずれかに記載のrAAV。

10

(項目 21)

前記AAV9 VP1バリエーションが、配列番号1に対して90%のまたはそれより高い配列同一性を有する、項目20に記載のrAAV。

(項目 22)

前記AAV9 VP1バリエーションが、配列番号1に対して95%のまたはそれより高い配列同一性を有する、項目20に記載のrAAV。

(項目 23)

前記対応する親AAVカプシドタンパク質が、前記AAV9 VP1 (配列番号1)の588~589に対応するアミノ酸位置におけるTLAXPFK (配列番号46424)、TLAX (配列番号46425)、LAVX (配列番号46426)、AVPX (配列番号46427)、およびVPFX (配列番号46428)からなる群から選択されるアミノ酸配列の挿入をさらに含み、Xが、V以外の任意のアミノ酸である、前記項目のいずれかに記載のrAAV。

20

(項目 24)

前記親AAVカプシドタンパク質が、AAV-PHP.BまたはAAV-PHP.eBからのものである、前記項目のいずれかに記載のrAAV。

(項目 25)

単離され、精製されている、前記項目のいずれかに記載のrAAV。

(項目 26)

前記項目のいずれかに記載のrAAVおよび医薬賦形剤を含む医薬製剤。

30

(項目 27)

静脈内、動脈内、鼻腔内、くも膜下腔内、大槽内または皮下注射用に製剤化されている、項目26に記載の医薬製剤。

(項目 28)

対象における疾患または状態を処置する方法であって、項目1~25のいずれか一項に記載のrAAVまたは項目26~27のいずれか一項に記載の医薬製剤の治療有効量を前記対象に投与するステップを含み、前記遺伝子産物が治療用遺伝子産物である、方法。

(項目 29)

前記投与するステップが、静脈内、動脈内、鼻腔内、くも膜下腔内、大槽内または皮下注射による、項目28に記載の方法。

40

(項目 30)

前記疾患または前記状態が、肺線維症、サーファクタントタンパク質障害、ペルオキシソーム生合成障害、または慢性閉塞性肺疾患(COPD)からなる群から選択される、項目28に記載の方法。

(項目 31)

前記疾患または前記状態が、中枢神経系(CNS)または末梢神経系(PNS)障害である、項目28に記載の方法。

(項目 32)

項目1~25のいずれか一項に記載のrAAVを製造する方法であって、

50

- a) 細胞に、
- a) 5' および 3' 逆方向末端反復 ( I T R ) 配列で囲まれた治療用遺伝子発現産物をコードする第 1 の核酸配列と、
- b) 5' I T R 配列、複製 ( R e p ) 遺伝子、カプシド ( C a p ) 遺伝子、および 3' I T R を含むウイルスゲノムをコードし、前記 C a p 遺伝子が r A A V カプシドタンパク質をコードする、第 2 の核酸配列と、
- c) E 4 o r f 6、E 2 a および V A R N A からなる群から選択される第 1 のヘルパーウイルスタンパク質をコードし、必要に応じて、E 1 a または E 1 b 5 5 k を含む第 2 のヘルパーウイルスタンパク質をコードする、第 3 の核酸配列と
- を含む核酸を導入するステップ、
- b) 前記細胞において前記 A A V カプシドタンパク質を発現させるステップ、
- c) 項目 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の r A A V を構築するステップ、および
- d) 前記第 1 の核酸配列を前記 r A A V にパッケージングするステップ
- を含む方法。
- ( 項目 3 3 )
- a) 霊長類対象の肝臓において前記霊長類対象に静脈内送達されたときに測定される、配列番号 1 の A A V カプシドタンパク質を有する対応する親 A A V カプシドと比較して特異性減少および形質導入効率低下のうちの少なくとも一方、および
- b) 前記霊長類対象の中枢神経系 ( C N S ) において前記霊長類対象に静脈内送達されたときに測定される、前記対応する親 A A V カプシドと比較して特異性増加および形質導入効率向上のうちの少なくとも一方
- を含むバリエーションアデノ随伴ウイルス ( A A V ) カプシド。
- ( 項目 3 4 )
- a) A A V 9 V P 1 ( 配列番号 1 ) のアミノ酸残基 4 5 2 ~ 4 5 8 に対応するアミノ酸位置における 7 - m e r ペプチド配列内の 3 個またはそれより多くのアミノ酸のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含むバリエーション A A V カプシドタンパク質、および
- b) 対象の標的組織において前記対象に鼻腔内または静脈内送達されたときに測定される、配列番号 1 または配列番号 2 の対応する親 A A V カプシドタンパク質と比較して前記標的組織における特異性増加および形質導入効率向上のうちの少なくとも一方
- を含み、前記標的組織が、肺、腸、腎臓、心臓および胃からなる群から選択される、
- バリエーションアデノ随伴ウイルス ( A A V ) カプシド。
- 参照による組込み

10

20

30

40

50