

【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 1 月 13 日(2022.1.13)

【公開番号】特開 2022-1064(P2022-1064A)

【公開日】令和 4 年 1 月 6 日(2022.1.6)

【年通号数】公開公報(特許)2022-002

【出願番号】特願 2021-165270(P2021-165270)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

A 6 1 P 21/04(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 K 38/16(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 7/01 Z N A

C 1 2 N 5/10

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 21/04

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 38/16

20

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 12 月 29 日(2021.12.29)

【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

30

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子であって、

(a)(i)配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP1 領域、(ii)配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP2 領域、または (iii)配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP3 領域と少なくとも 95 % 同一なアミノ酸配列を含む、キャプシドタンパク質；および

40

(b)トランス遺伝子を含む核酸配列であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含む、核酸配列

を含む、AAVウイルス粒子。

【請求項 2】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子であって、

50

(a) (i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 1 領域、(i i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 3 領域と少なくとも 9 5 % 同一なアミノ酸配列を含む、キャプシドタンパク質であって、前記キャプシドタンパク質が、配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の断片を含み、前記断片が配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の G B S ドメインもしくは V R I V である、キャプシドタンパク質；および

(b) トランス遺伝子を含む核酸配列であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含む、核酸配列

を含む、A A V ウイルス粒子。

10

【請求項 3】

アデノ随伴ウイルス (A A V) ウイルス粒子であって、

(a) (i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 1 領域、(i i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 3 領域と少なくとも 9 5 % 同一なアミノ酸配列を含む、キャプシドタンパク質であって、前記キャプシドタンパク質が、配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の 1 つ以上の断片を含み、前記 1 つ以上の断片が配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の G H ループ、V R V I、V R V I I および V R V I I I から選択される、キャプシドタンパク質；および

(b) トランス遺伝子を含む核酸配列であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含む、核酸配列

20

を含む、A A V ウイルス粒子。

【請求項 4】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、(i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 3 領域と少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の A A V ウイルス粒子。

30

【請求項 5】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、(i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 3 領域と同一なアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の A A V ウイルス粒子。

40

【請求項 6】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 1 領域、(i i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 3 領域と少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の A A V ウイルス粒子。

50

【請求項 7】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 84、88、40、42 もしくは 73 の VP1 領域、(ii) 配列番号 84、88、40、42 もしくは 73 の VP2 領域、または (iii) 配列番号 84、88、40、42 もしくは 73 の VP3 領域と少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % 同一なアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の AAV ウイルス粒子。

【請求項 8】

アデノ随伴ウイルス (AAV) ウイルス粒子であって、

(a) (i) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP1 領域、(ii) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP2 領域、または (iii) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP3 領域のアミノ酸配列を含む、キメラキャプシドタンパク質であって、前記キャプシドタンパク質の 1 つ以上の可変領域、GBS 領域または GH ループが、異なる AAV キャプシドの対応する 1 つ以上の可変領域、GBS 領域または GH ループで置き換えられ、前記異なる AAV キャプシドが、配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、キメラキャプシドタンパク質；および

(b) トランス遺伝子を含む核酸配列であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含む、核酸配列を含む、AAV ウイルス粒子。

【請求項 9】

アデノ随伴ウイルス (AAV) ウイルス粒子であって、

(a) (i) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP1 領域、(ii) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP2 領域、または (iii) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの VP3 領域のアミノ酸配列を含む、キメラキャプシドタンパク質であって、前記キャプシドタンパク質の 1 つ以上の可変領域、GBS 領域および GH ループが、異なる AAV キャプシドの対応する 1 つ以上の可変領域、GBS 領域および GH ループで置き換えられ、前記異なる AAV キャプシドが、配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、キメラキャプシドタンパク質；および

(b) トランス遺伝子を含む核酸配列であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含む、核酸配列を含む、AAV ウイルス粒子。

【請求項 10】

前記 1 つ以上の可変領域が、可変領域 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII および IX である、請求項 8 または 9 に記載の AAV ウイルス粒子。

【請求項 11】

アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルス粒子であって、

（a）（i）配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのVP1領域、（ii）配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのVP2領域、または（iii）配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのVP3領域のアミノ酸配列を含む、キメラAAVキャプシドタンパク質であって、前記キャプシドタンパク質の可変領域I、II、III、IV、V、VI、VII、VIIIおよびIX、GBS領域、および、GHループが、異なるAAVキャプシドの対応する可変領域、GBS領域、および、GHループで置き換えられ、前記異なるAAVキャプシドが、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、キメラAAVキャプシドタンパク質；および

（b）トランス遺伝子を含む核酸配列であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含む、核酸配列

を含む、AAVウイルス粒子。

【請求項12】

配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78、51もしくは52と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78、51もしくは52の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78、51もしくは52のVR-II、VR-IV、GBS、VR-VIII、GHループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項1または4に記載のAAVウイルス粒子。

【請求項13】

配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52のGBS、VR-V、VR-VIII、GHループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項1または4に記載のAAVウイルス粒子。

【請求項14】

配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89のVR-VI、GHループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項1または4に記載のAAVウイルス粒子。

【請求項15】

前記核酸配列がAAV逆方向末端反復配列をさらに含む、請求項1～14のいずれか一項に記載のAAVウイルス粒子。

【請求項16】

10

20

30

40

50

前記トランス遺伝子が治療タンパク質をコードする、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の A A V ウイルス粒子。

【請求項 17】

前記トランス遺伝子が、疾患または障害を治療するための肝臓および / または筋細胞において発現される治療タンパク質をコードする、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の A A V ウイルス粒子。

【請求項 18】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の A A V ウイルス粒子と、生理学的に適合する担体とを含む組成物。

【請求項 19】

細胞にトランス遺伝子を送達するための組成物であって、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の A A V ウイルス粒子を含む、組成物。

【請求項 20】

前記細胞が肝臓および / または筋細胞である、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

障害または疾患の治療に使用するための、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の A A V 粒子を含む組成物。

【請求項 22】

肝臓に関連する、および / または、筋肉に関連する障害または疾患の治療に使用するための、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の A A V 粒子を含む組成物。

【請求項 23】

前記障害または疾患が、内在性タンパク質の異常な活性に関連し、前記トランス遺伝子が機能的遺伝子産物をコードする、請求項 21 または 22 に記載の組成物。

【請求項 24】

前記トランス遺伝子が、第 V I I I 因子、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ (P A H) またはジストロフィンをコードし、前記疾患または障害がそれぞれ、血友病 A、フェニルケトン尿症、またはデュシェンヌ型筋ジストロフィーである、請求項 22 または 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

アデノ随伴ウイルス (A A V) キャプシドタンパク質をコードする核酸配列を含む、ベクターであって、

前記 A A V キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの V P 1 領域、(i i) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88 および 89 のいずれか 1 つの V P 3 領域と少なくとも 95 % 同一なアミノ酸配列を含む、ベクター。

【請求項 26】

アデノ随伴ウイルス (A A V) キャプシドをコードする核酸配列を含む、ベクターであって、

前記 A A V キャプシドが、(i) 配列番号 84、88 もしくは 40 の V P 1 領域、(i i) 配列番号 84、88 もしくは 40 の V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 84、88 もしくは 40 の V P 3 領域と少なくとも 95 % 同一なアミノ酸配列を含み、前記キャプシドタンパク質が、配列番号 84、88 もしくは 40 の断片を含み、前記断片が配列番号 84、88 もしくは 40 の G B S ドメインもしくは V R I V である、ベクター。

【請求項 27】

アデノ随伴ウイルス (A A V) キャプシドタンパク質をコードする核酸配列

を含む、ベクターであって、

前記 A A V キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 1 領域、(i i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 3 領域と少なくとも 9 5 % 同一なアミノ酸配列を含み、前記キャプシドタンパク質が、配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の 1 つ以上の断片を含み、前記 1 つ以上の断片が配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の G H ループ、V R V I、V R V I I および V R V I I I から選択される、ベクター。

【請求項 2 8】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、(i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 3 領域と少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含む、請求項 2 5 に記載のベクター。

10

【請求項 2 9】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、(i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 3 領域と同一なアミノ酸配列を含む、請求項 2 5 に記載のベクター。

20

【請求項 3 0】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 1 領域、(i i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 8 4、8 8 もしくは 4 0 の V P 3 領域と少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含む、請求項 2 6 に記載のベクター。

30

【請求項 3 1】

前記キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 1 領域、(i i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 8 4、8 8、4 0、4 2 もしくは 7 3 の V P 3 領域と少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含む、請求項 2 7 に記載のベクター。

40

【請求項 3 2】

キメラ A A V キャプシドタンパク質をコードする核酸配列を含む、ベクターであって、

前記キメラ A A V キャプシドタンパク質が、(i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、(i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2、8 3、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 2 領域、または (i i i) 配列番号 4 0、4 1、4 2、4 3、5 1、5 2、7 1、7 2、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 1、8 2

50

、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 3 領域、 のアミノ酸配列を含み、 前記キャプシドタンパク質の 1 つ以上の可変領域、 G B S 領域または G H ループが、 異なる A A V キャプシドの対応する 1 つ以上の可変領域、 G B S 領域または G H ループで置き換えられ、 前記異なる A A V キャプシドが、 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、 ベクター。

【請求項 3 3】

キメラキャプシドタンパク質をコードする核酸配列

を含む、 ベクターであって、

前記キメラキャプシドタンパク質が、 (i) 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、 (i i) 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 2 領域、 または (i i i) 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 3 領域、 のアミノ酸配列を含み、 前記キャプシドタンパク質の 1 つ以上の可変領域、 G B S 領域および G H ループが、 異なる A A V キャプシドの対応する 1 つ以上の可変領域、 G B S 領域および G H ループで置き換えられ、 前記異なる A A V キャプシドが、 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、 ベクター。

【請求項 3 4】

前記 1 つ以上の可変領域が、 可変領域 I、 I I、 I I I、 I V、 V、 V I、 V I I、 V I I I および I X である、 請求項 3 2 または 3 3 に記載のベクター。

【請求項 3 5】

キメラ A A V キャプシドタンパク質をコードする核酸配列

を含む、 ベクターであって、

前記キャプシドタンパク質が、 (i) 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、 (i i) 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 2 領域、 または (i i i) 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 3 領域のアミノ酸配列を含み、 前記キャプシドタンパク質の可変領域 I、 I I、 I I I、 I V、 V、 V I、 V I I、 V I I I および I X、 G B S 領域、 および、 G H ループが、 異なる A A V キャプシドの対応する可変領域、 G B S 領域、 および、 G H ループで置き換えられ、 前記異なる A A V キャプシドが、 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、 ベクター。

【請求項 3 6】

配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 5 1 もしくは 5 2 と少なくとも 9 5 %、 少なくとも 9 6 %、 少なくとも 9 7 %、 少なくとも 9 8 % または 少なくとも 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、 配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 5 1 もしくは 5 2 の 1 つ以上の断片を含み、 前記 1 つ以上の断片が、 配列番号 4 0、 4

10

20

30

40

50

1、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78、51もしくは52のVR-II、VR-IV、GBS、VR-VIII、GHグループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項25または28に記載のベクター。

【請求項37】

配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52のGBS、VR-V

10

【請求項38】

配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89のVR-VI、GHグループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項25または28に記載のベクター。

20

【請求項39】

前記核酸配列が、宿主細胞中で前記キャプシドタンパク質の発現を制御する異種調節配列に作動可能に連結される、請求項25～38のいずれか一項に記載のベクター。

【請求項40】

請求項25～39のいずれか一項に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項41】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子を生成する方法であって、

(a)キャプシドタンパク質をコードするヌクレオチド配列、AAV repタンパク質をコードするヌクレオチド配列、および、トランス遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む細胞を培養して、前記AAVウイルス粒子を産生させる工程であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含み、前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのVP1領域、VP2領域またはVP3領域と少なくとも95%の配列同一性であるアミノ酸配列を含む、工程と

30

；
(b)前記細胞培養物から前記AAVウイルス粒子を回収する工程とを含む、方法。

【請求項42】

前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのVP1領域、VP2領域またはVP3領域と少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む、請求項41に記載の方法。

40

【請求項43】

前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのVP1領域、VP2領域またはVP3領域と同一なアミノ酸配列を含む、請求項41に記載の方法。

【請求項44】

50

配列番号 40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78、51もしくは52と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78、51もしくは52の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78、51もしくは52のVR-II、VR-IV、GBS、VR-VIII、GHループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項41または42に記載の方法。

【請求項45】

配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52のいずれか1つと少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号40、41、42、43、71、72、73、74、75、76、77、78もしくは52のGBS、VR-V、VR-VIII、GHループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項41または42に記載の方法。

【請求項46】

配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む前記キャプシドタンパク質が、配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が、配列番号79、80、81、82、83、84、85、86、87、88もしくは89のVR-VI、GHループまたはこれらの組み合わせから選択される、請求項41または42に記載の方法。

【請求項47】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子を生成する方法であって、

(a) キャプシドタンパク質をコードするヌクレオチド配列、AAV repタンパク質をコードするヌクレオチド配列、および、トランス遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む細胞を培養して、前記AAVウイルス粒子を産生させる工程であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含み、前記キャプシドタンパク質が、配列番号84、88もしくは40のVP1領域、VP2領域またはVP3領域と少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含み、前記キャプシドタンパク質が、配列番号84、88もしくは40の断片を含み、前記断片が配列番号84、88もしくは40のGBSドメインもしくはVR-IVである、工程と；

(b) 前記細胞培養物から前記AAVウイルス粒子を回収する工程とを含む、方法。

【請求項48】

前記キャプシドタンパク質が、配列番号84、88もしくは40のVP1領域、VP2領域またはVP3領域と少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む、請求項47に記載の方法。

【請求項49】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子を生成する方法であって、

(a) キャプシドタンパク質をコードするヌクレオチド配列、AAV repタンパク質をコードするヌクレオチド配列、および、トランス遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む細胞を培養して、前記AAVウイルス粒子を産生させる工程であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含み、前記キャプシドタンパク質が、配列番号84、88、40、42もしくは73のVP1領域、VP2領域もしくはVP3領域と少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含み、前記キャプシドタンパク質が、配列番号84、88、40、42もしくは7

10

20

30

40

50

3の1つ以上の断片を含み、前記1つ以上の断片が配列番号84、88、40、42もしくは73のGHループ、VR VI、VR VIIおよびVR VIIIから選択される、工程と；

(b)前記細胞培養物から前記AAVウイルス粒子を回収する工程とを含む、方法。

【請求項50】

前記キャプシドタンパク質が、配列番号84、88、40、42もしくは73のVP1領域、VP2領域またはVP3領域と少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一なアミノ酸配列を含む、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子を生成する方法であって、

(a)キメラAAVキャプシドタンパク質をコードするヌクレオチド配列、AAV repタンパク質をコードするヌクレオチド配列、および、トランス遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む細胞を培養して、前記AAVウイルス粒子を産生させる工程であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含み、前記キメラAAVキャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89いずれか1つのVP1領域、VP2領域もしくはVP3領域のアミノ酸配列を含み、前記キャプシドタンパク質の1つ以上の可変領域、GBS領域またはGHループが、異なるAAVキャプシドの対応する1つ以上の可変領域、GBS領域またはGHループで置き換えられ、前記異なるAAVキャプシドが、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、工程と；

(b)前記細胞培養物から前記AAVウイルス粒子を回収する工程とを含む、方法。

【請求項52】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子を生成する方法であって、

(a)キメラAAVキャプシドタンパク質をコードするヌクレオチド配列、AAV repタンパク質をコードするヌクレオチド配列、および、トランス遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む細胞を培養して、前記AAVウイルス粒子を産生させる工程であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含み、前記キメラAAVキャプシドタンパク質が、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのVP1領域、VP2領域もしくはVP3領域のアミノ酸配列を含み、前記キャプシドタンパク質の1つ以上の可変領域、GBS領域およびGHループが、異なるAAVキャプシドの対応する1つ以上の可変領域、GBS領域およびGHループで置き換えられ、前記異なるAAVキャプシドが、配列番号40、41、42、43、51、52、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88および89のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、工程と；

(b)前記細胞培養物から前記AAVウイルス粒子を回収する工程とを含む、方法。

【請求項53】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルス粒子を生成する方法であって、

(a)キメラAAVキャプシドタンパク質をコードするヌクレオチド配列、AAV repタンパク質をコードするヌクレオチド配列、および、トランス遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む細胞を培養して、前記AAVウイルス粒子を産生させる工程であって、前記トランス遺伝子が、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列に作動可能に連結された前記異種遺伝子を含み、前記キメラAAVキャプシドタンパク質が、配列番号40

10

20

30

40

50

、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つの V P 1 領域、 V P 2 領域もしくは V P 3 領域のアミノ酸配列を含み、前記キャプシドタンパク質の可変領域 I、 I I、 I I I、 I V、 V、 V I、 V I I、 V I I I および I X、 G B S 領域、および、 G H ループが、異なる A A V キャプシドの対応する可変領域、 G B S 領域、および、 G H ループで置き換えられ、前記異なる A A V キャプシドが、配列番号 4 0、 4 1、 4 2、 4 3、 5 1、 5 2、 7 1、 7 2、 7 3、 7 4、 7 5、 7 6、 7 7、 7 8、 7 9、 8 0、 8 1、 8 2、 8 3、 8 4、 8 5、 8 6、 8 7、 8 8 および 8 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、工程と；

(b) 前記細胞培養物から前記 A A V ウイルス粒子を回収する工程とを含む、方法。

10

【請求項 5 4】

前記トランス遺伝子を含む前記ヌクレオチド配列が A A V 逆方向末端反復配列をさらに含む、請求項 4 1 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記トランス遺伝子が治療タンパク質をコードする、請求項 4 1 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記トランス遺伝子が、第 V I I I 因子、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ (P A H) またはジストロフィンをコードする、請求項 4 1 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 5 7】

前記培養細胞が昆虫細胞または哺乳動物細胞である、請求項 4 1 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

30

40

50