

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7545210号
(P7545210)

(45)発行日 令和6年9月4日(2024.9.4)

(24)登録日 令和6年8月27日(2024.8.27)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76
A 6 1 K	47/02 (2006.01)	A 6 1 K	47/02
A 6 1 K	47/22 (2006.01)	A 6 1 K	47/22
請求項の数 31 (全73頁)			
(21)出願番号	特願2019-522442(P2019-522442)	(73)特許権者	000002934
(86)(22)出願日	平成29年11月3日(2017.11.3)		武田薬品工業株式会社
(65)公表番号	特表2019-537578(P2019-537578 A)		大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(43)公表日	令和1年12月26日(2019.12.26)	(74)代理人	100139723
(86)国際出願番号	PCT/US2017/059971		弁理士 樋口 洋
(87)国際公開番号	WO2018/128689	(74)代理人	100116540
(87)国際公開日	平成30年7月12日(2018.7.12)		弁理士 河野 香
審査請求日	令和2年10月27日(2020.10.27)	(72)発明者	フィードラー, クリスティアン
審判番号	不服2022-11082(P2022-11082/J 1)		オーストリア国 1 1 0 0 ウィーン ラーバーバーンガッセ 1 8 / 3 6
審判請求日	令和4年7月15日(2022.7.15)	(72)発明者	フリッチャー, エヴァ
(31)優先権主張番号	62/417,750		オーストリア国 1 0 9 0 ウィーン マリアネンガッセ 1 7 / 1 3
(32)優先日	平成28年11月4日(2016.11.4)	(72)発明者	ハスラヒャー, マインハルト
(33)優先権主張国・地域又は機関			
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 アデノ随伴ウイルス製剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

医薬組成物であって、アデノ随伴ウイルス（A A V）と、

（ i ） 約 5 m M ～ 約 2 5 m M の緩衝剤；

（ i i ） 約 5 0 m M ～ 約 1 5 0 m M の薬学的に許容される塩；

（ i i i ） 約 0 . 0 0 1 % （ w / v ） ～ 約 0 . 0 1 % （ w / v ） の非イオン性界面活性剤；および

（ i v ） 約 1 % ～ 約 1 0 % （ w / v ） の糖、糖アルコールまたはそれらの組合せを含むバッファーと、を含み、

前記薬学的に許容される塩は、塩化ナトリウム、塩化アンモニウム、塩化カリウム、およびそれらの組み合わせから選択される塩で構成され、

前記緩衝剤は、Ｌ－ヒスチジンであり、

前記非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート、ポロキサマー、ポリエーテル、またはそれらの組合せを含む、医薬組成物（但し、二価陽イオンを含むもの、ならびにエタノール、E D T A、D T P A、トリエタノールアミン、およびクエン酸ナトリウムからなる群から選択されるフリーラジカル酸化の阻害剤を含むものを除く）。

【請求項2】

前記薬学的に許容される塩が塩化ナトリウムであり、かつ前記非イオン性界面活性剤がポリソルベート 2 0 （ P S 2 0 ）、ポリソルベート 8 0 （ P S 8 0 ）またはそれらの組合せである、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記バッファーが約 10 mM～約 20 mMの L-ヒスチジンを含む、請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記バッファーが約 50 mM～約 120 mMの塩化ナトリウムを含む、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記バッファーが約 60 mM～約 100 mMの塩化ナトリウムを含む、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記非イオン性界面活性剤が PS80 である、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記バッファーが約 0.0025%～約 0.0075% (w/v) の PS80 を含む、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

PS80 が Super Refined (商標) PS80 である、請求項 6 または 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記糖が、ショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記バッファーが、約 1% (w/v)～約 5% (w/v) のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

トレハロースがトレハロース二水和物である、請求項 9 または 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

前記バッファーがグリシンをさらに含む、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

前記バッファーが約 35 mM～約 65 mMのグリシンを含む、請求項 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

前記バッファーがデキストランを含まない、請求項 1～13 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

前記バッファーが、
(i) 約 10 mMの L-ヒスチジン、
(ii) 約 100 mMの塩化ナトリウム、
(iii) 約 0.005% (w/v) のポリソルベート 80 (PS80)、
(iv) 約 5% (w/v) のトレハロース、および
(v) 約 50 mMのグリシン
を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

前記バッファーが約 6.9～約 7.7 の pH を有する、請求項 1～15 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

前記 AAV が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、または AAV10 である、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

単位用量容器中に存在する、請求項 1 ～ 17 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記単位用量容器がバイアルである、請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

前記バイアルが密封ガラスバイアルである、請求項 19 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

出血性疾患の治療に使用される、請求項 1 ～ 20 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

請求項 1 ～ 21 のいずれか一項に記載の医薬組成物を調製する方法であって、前記緩衝剤、薬学的に許容される塩、非イオン性界面活性剤、および糖、糖アルコールまたはそれらの組合せ、ならびに AAV を配合して、AAV を含む医薬組成物を得ることを含む、方法。

10

【請求項 23】

アデノ随伴ウイルス (AAV) を含む医薬組成物 (但し、二価陽イオンを含むもの、ならびにエタノール、EDTA、DTPA、トリエタノールアミン、およびクエン酸ナトリウムからなる群から選択されるフリーラジカル酸化の阻害剤を含むものを除く) を調製する方法であって、約 5 mM ～ 約 25 mM の L-ヒスチジン、約 0 mM ～ 約 150 mM の塩化ナトリウム、約 0.001 % (w/v) ～ 約 0.01 % (w/v) のポリソルベート 80 (PS80)、約 1 % (w/v) ～ 約 10 % (w/v) のトレハロース、および AAV を配合して、AAV を含む医薬組成物を得ることを含む、方法。

20

【請求項 24】

AAV を含む組成物を保管する方法であって、請求項 1 ～ 21 のいずれか一項に記載の医薬組成物の緩衝剤、薬学的に許容される塩、非イオン性界面活性剤、および糖、糖アルコールまたはそれらの組合せ、ならびに AAV を配合することを含む、方法。

【請求項 25】

AAV を含む組成物 (但し、二価陽イオンを含むもの、ならびにエタノール、EDTA、DTPA、トリエタノールアミン、およびクエン酸ナトリウムからなる群から選択されるフリーラジカル酸化の阻害剤を含むものを除く) を保管する方法であって、約 5 mM ～ 約 25 mM の L-ヒスチジン、約 0 mM ～ 約 150 mM の塩化ナトリウム、約 0.001 % (w/v) ～ 約 0.01 % (w/v) のポリソルベート 80 (PS80)、約 1 % ～ 約 10 % (w/v) のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せ、および AAV を配合することを含む、方法。

30

【請求項 26】

約 50 mM ～ 約 150 mM の塩化ナトリウムを配合することを含む、請求項 23 または 25 に記載の方法。

【請求項 27】

約 30 mM ～ 約 100 mM 未満の塩化ナトリウムを配合することを含む、請求項 23 または 25 に記載の方法。

【請求項 28】

約 0 mM ～ 約 100 mM 未満の塩化ナトリウムを配合することを含む、請求項 23 または 25 に記載の方法。

40

【請求項 29】

約 30 mM、約 60 mM、または約 0 mM の塩化ナトリウムを配合することを含む、請求項 23 または 25 に記載の方法。

【請求項 30】

医薬組成物であって、アデノ随伴ウイルス (AAV) と、

(i) 約 5 mM ～ 約 25 mM の緩衝剤；

(ii) 約 0 mM ～ 約 150 mM の薬学的に許容される塩；

(iii) 約 0.001 % (w/v) ～ 約 0.01 % (w/v) の非イオン性界面活性

50

剤；および

(i v) 約 1 % ~ 約 1 0 % (w / v) の糖、糖アルコールまたはそれらの組合せを含むバッファーと、を含み、

前記薬学的に許容される塩は、塩化ナトリウム、塩化アンモニウム、塩化カリウム、およびそれらの組み合わせから選択される塩で構成され、

前記緩衝剤は、Ｌ－ヒスチジンであり、

前記非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート、ポロキサマー、ポリエーテル、またはそれらの組合せを含む、医薬組成物（但し、二価陽イオンを含むもの、ならびにエタノール、ＥＤＴＡ、ＤＴＰＡ、トリエタノールアミン、およびクエン酸ナトリウムからなる群から選択されるフリーラジカル酸化の阻害剤を含むものを除く）。

10

【請求項 3 1】

前記バッファーが、約 8 0 m M ~ 約 1 2 0 m M、または約 1 0 0 m M ~ 約 1 5 0 m M の薬学的に許容される塩を含む、請求項 3 0 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0 0 0 1】

本出願は、参照することによってその全てが本願に援用される、2 0 1 6 年 1 1 月 4 日出願の米国仮特許出願第 6 2 / 4 1 7 , 7 5 0 号に基づく優先権を主張する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

20

アデノ随伴ウイルス (A A V) は、線状一本鎖 D N A ゲノムをパッケージングする小型の非エンベロープウイルスである。A A V による増殖感染は、例えばアデノウイルスまたはヘルペスウイルスなどのヘルパーウイルスの存在下でのみ生じるため、A A V はパルボウイルス科、ディペンドウイルス属に属する。ヘルパーウイルスの不在下ですら、A A V (血清型 2) は宿主ヒトゲノムの染色体 1 9 q 1 3 . 4 中に組み込まれることにより潜伏を達成することができる。それは、部位特異的組み込みができることが分かっている唯一の哺乳動物 D N A ウイルスである (非特許文献 1) 。

【0 0 0 3】

A A V を臨床で安全に使用するために、A A V はそのゲノム内のいくつかの位置で遺伝子改変されている。例えば、ウイルス複製に必要な R e p 遺伝子、および部位特異的組み込みに必要な因子が、多くのウイルスベクターにおいて A A V ゲノムから除去されている。この組換え A A V (r A A V) は、染色体外状態で存在し、ゲノム D N A への非常に低い組み込み効率を有する。従って、r A A V が宿主細胞においてランダム変異導入を生じさせる可能性は、全くなくなるとまではいかないとともに、低減される。これら特性および病原性欠如のため、r A A V は前臨床および臨床適用の多様な態様で遺伝子治療ベクターとして大きな見込みを示している。新たな血清型および自己相補的ベクターが臨床で試験されている。これら進行中のベクター開発と並行して、高タイター量の高い純度および力価 (potency) を有する r A A V ベクターを効率的に生成できるスケーラブルな製造プロセスに対する継続的な取り組みに力が入れている。

30

【0 0 0 4】

40

A A V の研究は、ヒトへの投与用の A A V 製剤にも注力されている。そのような A A V 製剤は、安全で、無菌で、かつ適正製造基準 (G M P) グレードであることのみならず、これら製剤は、A A V の長期安定性を示しまたそれを高めて、製造、パッケージ、および保管プロセス中における A A V 力価の損失を最小限にすべきであると理解される。製剤はさらに、A A V がその中にパッケージおよび保管される容器の表面、ならびに製造中に用いられる機械類の表面への吸着を防がなければならない。そのような A A V 製剤を設計するために多大な努力がなされてきたが、改良された A A V 製剤への要求が依然としてある。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0 0 0 5】

50

【文献】Daya and Berns, Clinical Microbiology Reviews, pages 583-593 (2008)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は、上記の満たされていない要求に対処するヒト投与に適合する製剤を提供する。有利なことに、ある実施形態では、製剤はAAVの長期保管に適し、AAV力価の損失を最小限にし、さらに好都合に、目に見える粒子形成を防ぎ、かつAAVがその中にパッケージおよび保管される容器の表面、ならびに製造中に用いられる機械類の表面への吸着を防ぐ。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMの緩衝剤、約0 mM～約150 mMの薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖または糖アルコールを含む。ある実施形態では、製剤は、約50 mM～約150 mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、製剤は、約0 mM～約100 mM未満の薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、製剤は、約30 mM～約100 mM未満の薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、製剤は、約20 mM～約40 mMの薬学的に許容される塩を含む。

10

【0007】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、AAV（例えばAAV8）、約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約0 mM～約150 mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、および約1%～約10%（w/v）のショ糖、トレハロース、マンニトールまたはそれらの組合せを含む。ある実施形態では、製剤は約50 mM～約150 mMの塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約0 mM～約100 mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約30 mM～約100 mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約20 mM～約40 mMの塩化ナトリウムを含む。

20

【0008】

一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0009】

ある態様では、本開示の凍結乾燥医薬組成物は、AAV（例えばAAV8）、約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約0 mM～約150 mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、約30 mM～約70 mMのグリシン、および約1%～約10%（w/v）のショ糖、トレハロース、マンニトールまたはそれらの組合せを含む液体製剤から凍結乾燥される。ある実施形態では、製剤は約50 mM～約150 mMの塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約0 mM～約100 mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約30 mM～約100 mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約20 mM～約40 mMの塩化ナトリウムを含む。

30

【0010】

AAVを含む医薬組成物を調製する方法をここにさらに提供する。例示的態様では、その方法は、約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約0 mM～約150 mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、約1%（w/v）～約10%（w/v）のショ糖、トレハロース、マンニトールまたはそれらの組合せ、およびAAVを配合し、それによってAAVを含む医薬組成物を得ることを含む。ある実施形態では、製剤は約50 mM～約150 mMの塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約0 mM～約100 mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約30 mM～約100 mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約20 mM～約40 mMの塩化ナトリウムを含む。

40

【0011】

遺伝子治療により治療可能な疾患に関して対象を治療する方法を本開示により提供する

50

。例示的態様では、その方法は、疾患を治療するのに有効な量で本明細書に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む。

【0012】

さらに、AAVを含む組成物を保管する方法をここに提供する。例示的態様では、その方法は、約5mM～約25mMのL-ヒスチジン、約0mM～約150mMの塩化ナトリウム、約0.001% (w/v)～約0.01% (w/v)のポリソルベート80 (PS80)、約1% (w/v)～約10% (w/v)のショ糖、トレハロース、マンニトールまたはそれらの組合せ、およびAAVを配合することを含む。ある実施形態では、製剤は約50mM～約150mMの塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約0mM～約100mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約30mM～約100mM未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は約20mM～約40mMの塩化ナトリウムを含む。

10

【0013】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約20mMのL-ヒスチジン、約70mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v)のポリソルベート80 (PS80)、および約5% (w/v)のショ糖を含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0014】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約20mMのL-ヒスチジン、約60mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v)のポリソルベート80 (PS80)、約35mMのトレハロース、および約110mMのマンニトールを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

20

【0015】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約100mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v)のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0016】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約80mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v)のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

30

【0017】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約70mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v)のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

40

【0018】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約60mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v)のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0019】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約50mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v)のポリソルベート80 (

50

PS80)、約5%(w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0020】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約40mMの塩化ナトリウム、約0.005%(w/v)のポリソルベート80(PS80)、約5%(w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0021】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約30mMの塩化ナトリウム、約0.005%(w/v)のポリソルベート80(PS80)、約5%(w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0022】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約20mMの塩化ナトリウム、約0.005%(w/v)のポリソルベート80(PS80)、約5%(w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0023】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約10mMの塩化ナトリウム、約0.005%(w/v)のポリソルベート80(PS80)、約5%(w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0024】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、AAV、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約0mMの塩化ナトリウム、約0.005%(w/v)のポリソルベート80(PS80)、約5%(w/v)のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む。一部の実施形態では、本発明は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0025】

概して、本明細書に提供されるAAV製剤は医薬投与に適している。ある実施形態では、AAVは、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、またはAAV10である。ある実施形態では、AAVは、AAV2、AAV5、AAV8、またはAAV9である。ある実施形態では、AAVはAAV8である。

【発明を実施するための形態】

【0026】

本開示は、AAVの長期保管にも適し、AAV力価の損失を最小限にする、ヒトまたは獣医投与に適合する製剤、例えば医薬組成物を提供する。本明細書に提供される製剤は、目に見える粒子の形成を防ぎ、またAAVがその中でパッケージおよび保管される容器の表面への吸着を防ぎ、さらには製造中に用いられる機械類の表面への吸着を防ぐため、好都合である。ある実施形態では、本明細書に提供される医薬組成物は、長期間保管したときに有意なAAV活性を保持する。ある実施形態では、本明細書に提供される医薬組成物は、分解(degradation)および/または凝集を減少または遅延させる。

【0027】

ある実施形態では、本発明は、治療有効量または用量のAAV、生理的濃度未満から生

10

20

30

40

50

理的濃度までの薬学的に許容される塩、安定化濃度の1つ以上の糖および／または糖アルコール、非イオン性界面活性剤、製剤に中性のpHを提供する1つ以上の緩衝剤、ならびに任意選択で、精製および／または処理中のAAVの安定性および回収に役立つアミノ酸を含む、AAVの製剤を提供する。概して、本明細書に提供されるAAV製剤は医薬投与に適している。ある実施形態では、AAVはAAV8である。

【0028】

ある実施形態では、AAVを含む組成物は脱水（dehydrated）組成物である。本明細書で用いられる場合、脱水組成物は、カールフィッシャー（KF）滴定法により測定した場合に、25%以下、または20%以下、または15%以下、または10%以下、または9%以下、または8%以下、または7%以下、または6%以下、または5%以下、または4%以下、または3%以下、または2%以下、または1%以下の水のような、少量で水を含む組成物である。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に3%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に2%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に1%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.9%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.8%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.7%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.6%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.5%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.4%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.3%以下の水を有する。ある実施形態では、脱水組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定した場合に0.2%以下の水を有する。組成物の温度を高める（例えば加熱）、圧力を下げる、凍結乾燥（フリーズドライとしても知られている）等、およびそれらの組合せなどのいずれの便利なプロトコルを用いて脱水組成物を作成してもよい。組成物の含水量を決定する他の方法として、限定はされないが、乾燥減量（LOD）（特定条件下で試料を乾燥させるときに試料中の水および揮発性物質の量を測定する）、電解センサ（例えばP205センサを用いる）、ピエゾ電気収着法、酸化物センサ、酸化アルミニウムセンサ、吸収分光法、および近赤外線（NIR）が挙げられる。

【0029】

さらに、凍結乾燥製剤中の塩濃度を下げると、凍結乾燥ケーキ（lyocake）中の残留水分が減少し、改良された凍結乾燥ケーキの形成を助けることが分かった。

【0030】

上記の凍結乾燥組成物は低含水量であるため、凍結乾燥組成物は固体状となりうる。一部の例では、固体凍結乾燥組成物は粉末である。一部の例では、凍結乾燥組成物は、（例えば、同じ組成の液体製剤と比較して）組成物の長期間の保管を容易にしうる。例えば、凍結乾燥組成物は、組成物が長期間実質的に安定である保管安定組成物（例えば、凍結乾燥した保管安定組成物）であってよい。「安定」または「保管安定」または「実質的に安定」とは、長期間にわたり有意に活性を低下および／または損なわせない組成物を意味する。例えば、保管安定組成物は、例えば、長期間にわたり、10%以下の不純物、あるいは9%以下、または8%以下、または7%以下、または6%以下、または5%以下、または4%以下、または3%以下、または2%以下、または1%以下の分解生成物であるなど、長期間にわたり組成物の分解による有意な不純物を有さないであろう。ある例では、保管安定組成物は、長期間にわたり5%以下の不純物を有する。一部の例では、保管安定組成物は、例えば、長期間にわたり、その活性の100%、あるいはその活性の99%以上、または98%以上、または97%以上、または96%以上、または95%以上、または94%以上、または93%以上、または92%以上、または91%以上、または90%以上、または85%以上、または80%以上、または75%以上を保持するなど、長期間に

わたりその活性を実質的に保持する。例えば、保管安定組成物は、長期間にわたりその活性の90%以上を保持しうる。一部の例では、保管安定組成物は、長期間にわたりその活性の95%以上を保持する。長期間とは、例えば、1週間以上、または2週間以上、または3週間以上、または1ヶ月以上、または2ヶ月以上、または3ヶ月以上、または4ヶ月以上、または6ヶ月以上、または9ヶ月以上、または1年以上、または1.5年（例えば18ヶ月）以上、または2年以上、または2.5年（例えば30ヶ月）以上、または3年以上、または3.5年（例えば42ヶ月）以上、または4年以上、または4.5年（例えば54ヶ月）以上、または5年以上などの期間である。例えば、長期間は6ヶ月以上であってよい。一部の例では、長期間は9ヶ月以上である。一部の例では、長期間は1年（例えば12ヶ月）以上である。一部の例では、長期間は1.5年（例えば18ヶ月）以上である。一部の例では、長期間は2年（例えば24ヶ月）以上である。一部の実施形態では、保管安定組成物は、例えば、20～40℃、または25～35℃、または25～30℃の温度など、周囲温度で長期間実質的に安定である。一部の例では、保管安定組成物は、0～20℃、または0～15℃、または0～10℃、または2～8℃の温度など、周囲温度より低い温度で長期間実質的に安定である。

【0031】

定義

本明細書で用いられる場合、用語「AAV」は、自然発生および組換え形態（rAAV）の両方のアデノ随伴ウイルスを意味し、AAVの突然変異型も包含する。用語AAVはさらに、それらに限定はされないが、AAV1型、AAV2型、AAV3型、AAV4型、AAV5型、AAV6型、AAV7型、AAV8型、AAV9型、AAV10型、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヒツジAAV、霊長類AAV、および非霊長類AAVを含む。ある実施形態では、AAVはAAV8である。

【0032】

本明細書に記載の組成物に関連して用いられる場合、語句「薬学的に許容される」は、生理学的に許容できかつ対象に投与したときに通常は有害反応を生じさせないそのような組成物の分子種および他の成分を意味する。好ましくは、用語「薬学的に許容される」は、連邦政府または州政府の規制当局により認可されている、あるいは米国薬局方、または他の哺乳動物および特にヒトでの使用に関して一般的に認められている薬局方に載せられていることを意味する。「薬学的に許容される塩」は、医薬用途の化合物またはコンジュゲートに配合されうる塩であり、例えば、薬物製剤において対象（例えばヒト）に投与するのに安全である、金属塩（ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなど）およびアンモニアまたは有機アミンの塩が挙げられる（例えば、Berge, et al. “Pharmaceutical Salts” J. Pharm. Sci. 1977; 66:1（その全てがおおよび全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと）。適切な「薬学的に許容される塩」として、限定はされないが、ナトリウム、カリウムおよびセシウム塩などの金属塩；カルシウムおよびマグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；トリエチルアミン、グアニジンおよびN-置換グアニジン塩、アセトアミジンおよびN-置換アセトアミジン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、およびN, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩などの有機アミン塩が挙げられる。（塩基性窒素中心の）「薬学的に許容される塩」として、限定はされないが、塩酸塩、臭化水素塩、硫酸塩、リン酸塩などの無機酸塩；トリフルオロ酢酸塩およびマレイン酸塩などの有機酸塩；メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩およびナフタレンスルホン酸塩などのスルホン酸塩；アルギニン酸塩、アラニン酸塩、アスパラギン酸塩およびグルタミン酸塩などのアミノ酸塩；ならびにグルクロン酸塩およびガラクトuron酸塩などの炭化水素塩が挙げられる。薬学的に許容される塩の選択および使用は当業界でよく知られており、例えば、Stahl and Wermuth, Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, 2nd Revised edition, Wiley, Hoboken, N.J.,（その全てがおおよび全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。薬学的に許容される塩の非限定的な例として、限定

はされないが、ナトリウム塩、アンモニウム塩、カリウム塩（例えば、塩化ナトリウム、塩化アンモニウム、および塩化カリウム；酢酸ナトリウム、酢酸アンモニウム、および酢酸カリウム；クエン酸ナトリウム、クエン酸アンモニウム、およびクエン酸カリウム；リン酸ナトリウム、リン酸アンモニウム、およびリン酸カリウム；フッ化ナトリウム、フッ化アンモニウム、およびフッ化カリウム；臭化ナトリウム、臭化アンモニウム、および臭化カリウム；ならびにヨウ化ナトリウム、ヨウ化アンモニウム、およびヨウ化カリウム）が挙げられる。

【0033】

本明細書で用いられる場合、「生理的濃度」の塩とは、約100mMと約200mMの間の塩濃度の薬学的に許容される塩を意味する。

【0034】

本明細書で用いられる場合、「生理的濃度未満」の塩とは、約100mM未満の塩濃度の薬学的に許容される塩を意味する。ある実施形態では、生理的濃度未満の塩は、約80mM未満の薬学的に許容される塩である。別の実施形態では、生理的濃度未満の塩は、約70mM未満、約60mM未満、約50mM未満、約40mM未満、約30mM未満、約20mM未満、または約10mM未満の薬学的に許容される塩である。

【0035】

本明細書で用いられる場合、状況、疾患または状態を「治療する」または「治療」には、（1）状況、疾患または状態を患っているかまたは罹患しやすくなっているが、その状況、疾患または状態の臨床的または準臨床的症状をまだ経験していないまたは表していない対象において発達している状況、疾患または状態の少なくとも1つの臨床的または準臨床的症状の発現の発症および／または可能性を予防、遅延、または低減すること；（2）状況、疾患または状態を抑制すること、すなわち、疾病またはその再発またはその少なくとも1つの臨床的または準臨床的症状の発症／進行を停止、低減または遅延させること；および（3）疾病を軽減すること、すなわち、状況、疾患または状態、あるいは少なくとも1つのその臨床的または準臨床的症状の退行を引き起こすこと；が含まれる。これら用語を用いる場合、必ずしも100%または完全な治療を意味しない。むしろ、当業者が潜在的利益または治療効果を有すると認識する様々な治療の程度がある。治療すべき対象への利益は、統計学的に有意であるか、あるいは少なくとも対象または臨床医に感じられるかのいずれかである。これに関して、本開示の疾患（例えば出血性疾患）を治療する方法は、任意の量または任意のレベルの治療を提供することができる。さらには、本開示の方法により提供される治療は、その疾患の1つまたは複数の状態または症状または兆候を治療することを包含する。

【0036】

「治療有効量または用量」あるいは「十分量または用量」とは、それが投与されて効果を生じさせる用量を意味する。正確な用量は、治療の目的に依存し、公知の技術を用いて当業者が確かめることができる（例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Pickar, Dosage Calculations (1999); および Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkinsを参照のこと）。

【0037】

用語「患者」および「対象」は交換可能に用いられ、本開示の組成物の投与により予防または治療されうる状態を患っているまたは罹患しやすい生物を指すためにその通常の意味で用いられ、ヒトおよび非ヒト動物の両方を含む。対象の例として、限定はされないが、ヒト、チンパンジー、ならびに他の類人猿およびサル種；ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギおよびウマなどの家畜；イヌおよびネコなどの飼育哺乳動物；マウス、ラットおよびモルモットなどの齧歯動物を含む実験動物；ニワトリ、シチメンチョウおよび他のキジ科鳥類、カモ、ガチョウなどの、飼育鳥、野鳥および狩猟鳥を含む鳥類が挙げられる。この用語は、特定の年齢を意味しない。従って、成人、若年者、および新生児の個体も対象となる。

【0038】

本明細書で用いられる場合、「保管」は、製剤を調製して直ぐには対象に投与せず、使用前に特定条件（例えば、特定温度など）下で一定期間維持することを意味する。例えば、液体または凍結乾燥製剤を、対象に投与する前に、冷蔵（0℃～10℃）または室温（例えば、32℃までの温度）のような様々な温度下で、数日間、数週間、数ヶ月間または数年間維持してよい。

【0039】

本明細書で用いられる場合、用語「約」は、特定数値±10%の近似範囲を表す。例えば、「約20%」という語句は、18～22%の範囲を包含する。また本明細書で用いられる場合、「約」は正確な量も包含する。従って、「約20%」は「約20%」および「20%」も意味する。

10

【0040】

本明細書で用いられる場合、用語「および／または」は、関連して記載されているものの1つまたは複数の任意のおよび全ての可能性のある組合せ、ならびに代替（「または」）で解釈される場合は組合せなしを意味しおよび包含する。

【0041】

本明細書で用いられる場合、用語「または」は、特定のリストの中の任意の1メンバーを意味し、またそのそのリストのメンバーの任意の組合せも包含する。

【0042】

本開示を説明する文脈（特に添付の特許請求の範囲の文脈）において使用される用語「a」、「an」、「the」および同様の指示対象の用語は、本明細書に別段の指示がない限り、または文脈において明らかに矛盾しない限り、単数形および複数形の両方を含むと解釈される。用語「含む」、「有する」、「包含する」および「含有する」は、特に断りのない限り、開放型用語（すなわち、「含むがそれに限定はされない」ことを意味する）として解釈される。

20

【0043】

本明細書における数値範囲の列挙は、別段の指示がない限り、単にその範囲内に含まれる各個別の値および各終点の値に対して個々に言及する省略方法としての役割を果たすことが意図され、各個別の値および各終点の値は、それが本明細書に個々に列挙されているかのように本明細書内に組み込まれる。

30

【0044】

AAV組成物および製剤

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5mM～約25mMの緩衝剤、約0mM～約150mMの薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖または糖アルコールを含む。

【0045】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5mM～約25mMの緩衝剤、約50mM～約150mMの薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖または糖アルコールを含む。

40

【0046】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5mM～約25mMの緩衝剤、約0mM～100mM未満の薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖または糖アルコールを含む。

【0047】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5mM～約25mMの緩衝剤、約30mM～100mM未満の薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1

50

% (w/v) ～約 10 % (w/v) の糖または糖アルコールを含む。

【0048】

ある例では、組成物は無菌組成物である。「無菌(sterile)」とは、例えば実質的に微生物（例えば、菌類、細菌、ウイルス、孢子形態など）がないなど、組成物中に実質的に免疫原性成分がないことを意味する。

【0049】

一部の実施形態では、本開示は液体製剤を提供する。ある実施形態では、製剤は液体製剤から凍結乾燥される。

【0050】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約 5 mM ～約 25 mM、約 5 mM ～約 15 mM、約 10 mM ～約 20 mM、または約 15 mM ～約 25 mM の緩衝剤を含む。例示的態様では、医薬組成物は、約 5 mM、約 6 mM、約 7 mM、約 8 mM、約 9 mM、約 10 mM、約 11 mM、約 12 mM、約 13 mM、約 14 mM、約 15 mM、約 16 mM、約 17 mM、約 18 mM、約 19 mM、約 20 mM、約 21 mM、約 22 mM、約 23 mM、約 24 mM、または約 25 mM の緩衝剤を含む。

10

【0051】

薬学的に許容される緩衝剤は当業界でよく知られており、限定はされないが、リン酸バッファー、ヒスチジン、クエン酸ナトリウム、HEPES、Tris、ピシン、グリシン、N-グリシルグリシン、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、グリシルグリシン、リシン、アルギニン、リン酸ナトリウム、およびそれらの混合物が含まれる。ある実施形態では、バッファーはヒスチジン（例えば L-ヒスチジン）である。

20

【0052】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約 5 mM ～約 25 mM、約 5 mM ～約 15 mM、約 10 mM ～約 20 mM、または約 15 mM ～約 25 mM の L-ヒスチジンを含む。例示的態様では、医薬組成物は、約 5 mM、約 6 mM、約 7 mM、約 8 mM、約 9 mM、約 10 mM、約 11 mM、約 12 mM、約 13 mM、約 14 mM、約 15 mM、約 16 mM、約 17 mM、約 18 mM、約 19 mM、約 20 mM、約 21 mM、約 22 mM、約 23 mM、約 24 mM、または約 25 mM の L-ヒスチジンを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 10 mM の L-ヒスチジンを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 20 mM の L-ヒスチジンを含む。

30

【0053】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約 0 mM ～約 150 mM、約 5 mM ～約 150 mM、約 5 mM ～約 100 mM、約 5 mM ～約 90 mM、約 5 mM ～約 80 mM、約 5 mM ～約 70 mM、約 5 mM ～約 60 mM、約 5 mM ～約 50 mM、約 5 mM ～約 40 mM、約 5 mM ～約 30 mM、約 30 mM ～約 100 mM、約 30 mM ～約 90 mM、約 30 mM ～約 80 mM、約 30 mM ～約 70 mM、約 30 mM ～約 60 mM、約 30 mM ～約 50 mM、約 30 mM ～約 40 mM、約 50 mM ～約 150 mM、約 50 mM ～約 120 mM、約 55 mM ～約 100 mM、約 60 mM ～約 100 mM、約 60 mM ～約 80 mM、約 70 mM ～約 100 mM、または約 70 mM ～約 80 mM の薬学的に許容される塩（上記で定義したような）を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約 80 mM ～約 120 mM、約 70 mM ～約 90 mM、約 50 mM ～約 70 mM、または約 20 mM ～約 40 mM の薬学的に許容される塩を含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約 0 mM ～約 100 mM、約 0 mM ～約 80 mM、約 0 mM ～約 70 mM、約 0 mM ～約 60 mM、約 0 mM ～約 50 mM、約 0 mM ～約 40 mM、約 0 mM ～約 30 mM、約 0 mM ～約 20 mM、約 0 mM ～約 10 mM、約 0 mM ～約 5 mM の薬学的に許容される塩を含む。例示的態様では、医薬組成物は、約 0 mM、約 5 mM、約 10 mM、約 15 mM、約 20 mM、約 25 mM、約 30 mM、約 35 mM、約 40 mM、約 45 mM、約 50 mM、約 55 mM、約 60 mM、約 65 mM、約 70 mM、約 75 mM、約 80 mM、約 85 mM、約 90 mM、約 95 mM、約 100 mM、約 105 mM、約 110 mM、約 115 mM、約 120 mM、約 125 mM、約 130 mM、約 135 mM、約 140 mM

40

50

、約145mM、または約150mMの薬学的に許容される塩を含む。他の実施形態では、医薬組成物は、約0mM～約100mM未満、約5mM～約100mM未満、約10mM～約100mM未満、約20mM～約100mM未満、約30mM～約100mM未満、約40mM～約100mM未満、約50mM～約100mM未満、約60mM～約100mM未満、または約70mM～約100mM未満の薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約0mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約30mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約40mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約50mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約60mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約70mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約80mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約100mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、薬学的に許容される塩はナトリウム塩（例えば塩化ナトリウム）である。
【0054】

有利なことに、生理的濃度未満の薬学的に許容される塩を含有する医薬組成物は、より低い含水量を有する密（compact）な凍結乾燥ケーキを形成し、改良された凍結乾燥ケーキの形成を助けることが分かった。ある実施形態では、生理的濃度未満の薬学的に許容される塩は、白い密で均質な凍結乾燥ケーキをもたらす、従って、ある実施形態では、本開示は、例えば約100mM未満の薬学的に許容される塩といった、生理的濃度未満の薬学的に許容される塩を含む低塩医薬組成物を提供する。一実施形態では、本明細書に提供される低塩製剤は、約100mM未満の薬学的塩を含む。ある実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約80mM未満の薬学的塩を含む。ある実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約70mM未満の薬学的塩を含む。別の実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約60mM未満の薬学的塩を含む。別の実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約50mM未満の薬学的塩を含む。別の実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約40mM未満の薬学的塩を含む。別の実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約30mM未満の薬学的塩を含む。別の実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約20mM未満の薬学的塩を含む。別の実施形態では、本明細書に提供される低塩医薬組成物は、約10mM未満の薬学的塩を含む。別の実施形態では、低塩医薬組成物は、約30mMと約60mMの間の薬学的に許容される塩を含む。さらに他の実施形態では、低塩医薬組成物は、約0mM、約5mM、約10mM、約15mM、約20mM、約25mM、約30mM、約35mM、約40mM、約45mM、約50mM、約55mM、約60mM、約65mM、約70mM、約75mM、約80mM、約85mM、約90mM、約95mM、または約100mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約0mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約30mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約40mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約50mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約60mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約70mMの薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約80mMの薬学的に許容される塩を含む。好ましい実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。好ましい実施形態では、塩はナトリウム塩（例えば塩化ナトリウム）である。

【0055】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約0mM～約150mM、約5mM～約150mM、約5mM～約100mM、約5mM～約90mM、約5mM～約80mM、約5mM～約70mM、約5mM～約60mM、約5mM～約50mM、約5mM～約40mM、約5mM～約30mM、約30mM～約100mM、約30mM～約90mM、約3

0 m M ~ 約 8 0 m M、約 3 0 m M ~ 約 7 0 m M、約 3 0 m M ~ 約 6 0 m M、約 3 0 m M ~ 約 5 0 m M、約 3 0 m M ~ 約 4 0 m M、約 5 0 m M ~ 約 1 5 0 m M、約 5 0 m M ~ 約 1 2 0 m M、約 5 5 m M ~ 約 1 0 0 m M、約 6 0 m M ~ 約 1 0 0 m M、約 6 0 m M ~ 約 8 0 m M、約 7 0 m M ~ 約 1 0 0 m M、または約 7 0 m M ~ 約 8 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約 8 0 m M ~ 約 1 2 0 m M、約 7 0 m M ~ 約 9 0 m M、約 5 0 m M ~ 約 7 0 m M、または約 2 0 m M ~ 約 4 0 m M の塩化ナトリウムを含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約 0 m M ~ 約 1 0 0 m M、約 0 m M ~ 約 8 0 m M、約 0 m M ~ 約 7 0 m M、約 0 m M ~ 約 6 0 m M、約 0 m M ~ 約 5 0 m M、約 0 m M ~ 約 4 0 m M、約 0 m M ~ 約 3 0 m M、約 0 m M ~ 約 2 0 m M、約 0 m M ~ 約 1 0 m M、約 0 m M ~ 約 5 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は、約 1 0 0 m M 未満、約 8 0 m M 未満、約 7 0 m M 未満、約 6 0 m M 未満の塩化ナトリウムを含む。他の実施形態では、医薬組成物は、約 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、約 5 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、約 1 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、約 2 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、約 3 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、約 4 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、約 5 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、約 6 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満、または約 7 0 m M ~ 約 1 0 0 m M 未満の塩化ナトリウムを含む。例示的態様では、医薬組成物は、約 0 m M、約 5 m M、約 1 0 m M、約 1 5 m M、約 2 0 m M、約 2 5 m M、約 3 0 m M、約 3 5 m M、約 4 0 m M、約 4 5 m M、約 5 0 m M、約 5 5 m M、約 6 0 m M、約 6 5 m M、約 7 0 m M、約 7 5 m M、約 8 0 m M、約 8 5 m M、約 9 0 m M、約 9 5 m M、約 1 0 0 m M、約 1 0 5 m M、約 1 1 0 m M、約 1 1 5 m M、約 1 2 0 m M、約 1 2 5 m M、約 1 3 0 m M、約 1 3 5 m M、約 1 4 0 m M、約 1 4 5 m M、または約 1 5 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 1 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 2 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 3 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 4 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 5 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 6 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 7 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 8 0 m M の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 1 0 0 m M の塩化ナトリウムを含む。

【0056】

有利なことに、非イオン性界面活性剤を含めると、表面での A A V の損失を実質的に低減し、さらに医薬組成物の目に見える粒子の形成を防ぐことも見出された。従って、ある実施形態では、安定化濃度の非イオン性界面活性剤を含有する医薬組成物を提供する。本明細書に記載の製剤で使用されうる薬学的に許容される非イオン性界面活性剤は薬学分野で公知であり、限定はされないが、プルロニック F-68 および B R I J 35 を含めて、ポリソルベート 80 (T w e e n 80 ; P S 80)、ポリソルベート 20 (T w e e n 20 ; P S 20)、および種々のポロキサマーもしくはプルロニック、またはそれらの混合物が挙げられる。好ましい実施形態では、本発明の医薬組成物において使用される非イオン性界面活性剤はポリソルベート 80 である。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、C r o d a H e a l t h C a r e (S n a i t h, U K) から市販されている S u p e r R e f i n e d (商標) P S 80 を含む。

【0057】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約 0.001% (w/v) ~ 約 0.01% (w/v) または約 0.0025% (w/v) ~ 約 0.0075% (w/v) の非イオン性界面活性剤を含む。例示的態様では、医薬組成物は、約 0.001% (w/v)、約 0.0015% (w/v)、約 0.002% (w/v)、約 0.0025% (w/v)、約 0.003% (w/v)、約 0.0035% (w/v)、約 0.004% (w/v)、約 0.0045% (w/v)、約 0.005% (w/v)、約 0.0055% (w/v)、約 0.006% (w/v)、約 0.0065% (w/v)、約 0.007% (w/v)、

約0.0075% (w/v)、約0.008% (w/v)、約0.0085% (w/v)、約0.009% (w/v)、約0.0095% (w/v)、約0.001% (w/v)の非イオン性界面活性剤を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約0.005% (w/v)の非イオン性界面活性剤を含む。

【0058】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約0.001% (w/v)～約0.01% (w/v)または約0.0025% (w/v)～約0.0075% (w/v)のポリソルベート80 (例えばSuper Refined (商標) PS80)を含む。例示的態様では、医薬組成物は、約0.001% (w/v)、約0.0015% (w/v)、約0.002% (w/v)、約0.0025% (w/v)、約0.003% (w/v)、約0.0035% (w/v)、約0.004% (w/v)、約0.0045% (w/v)、約0.005% (w/v)、約0.0055% (w/v)、約0.006% (w/v)、約0.0065% (w/v)、約0.007% (w/v)、約0.0075% (w/v)、約0.008% (w/v)、約0.0085% (w/v)、約0.009% (w/v)、約0.0095% (w/v)、約0.001% (w/v)のPS80を含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約0.005% (w/v)のPS80を含む。

【0059】

中程度のレベル (すなわち、約1%～約10%の間)の1つ以上の糖および/または糖アルコールを含めると、液体および/または凍結乾燥製剤の安定性に役立つことも見出された。例えば、糖および/または糖アルコールは、凍結/融解サイクル中のより良好な特性を可能にする。従って、ある実施形態では、本発明は、約2%～約10%の間の1つ以上の糖および/または糖アルコールを含有する医薬組成物を提供する。単糖、二糖または多糖、あるいは水溶性グルカンなどの任意の糖を用いてよく、そのような糖には、例えば、フルクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、キシロース、マルトース、ラクトース、ショ糖、デキストラン、トレハロース、プルラン、デキストリン、シクロデキストリン、可溶性デンプン、ヒドロキシエチルデンプンおよびカルボキシメチルセルロースが含まれる。特定の実施形態では、糖は、ショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せである。ある実施形態では、トレハロースはトレハロース二水和物である。糖アルコールは、約4個～約8個の間の炭素原子と、ヒドロキシル基とを有する炭化水素として定義される。本明細書に提供される医薬組成物で使用されうる糖アルコールの非限定的な例として、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、ガラクトール、ズルシトール、キシリトールおよびアラビトールが挙げられる。ある実施形態では、マンニトールを糖アルコール添加物として使用する。ある実施形態では、医薬組成物は糖および糖アルコール添加物の両方を含有する。

【0060】

糖および糖アルコールは、個々に使用してもまたは組み合わせて使用してもよい。一部の実施形態では、糖、糖アルコールまたはそれらの組合せは、約1%～約10% (w/v)、約1% (w/v)～約1.5% (w/v)、約2.5%～約7.5% (w/v)、または約1%～約5% (w/v)の濃度で製剤中に存在する。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約1.0% (w/v)、約1.1% (w/v)、約1.2% (w/v)、約1.3% (w/v)、約1.4% (w/v)、約1.5% (w/v)、約1.6% (w/v)、約1.7% (w/v)、約1.8% (w/v)、約1.9% (w/v)、約2.0% (w/v)、約2.5% (w/v)、約3.0% (w/v)、約3.5% (w/v)、約4.0% (w/v)、約4.5% (w/v)、約5.0% (w/v)、約5.5% (w/v)、約6.0% (w/v)、約6.5% (w/v)、約7.0% (w/v)、約7.5% (w/v)、約8.0% (w/v)、約8.5% (w/v)、約9.0% (w/v)、約9.5% (w/v)、または約10% (w/v)の糖、糖アルコールまたはそれらの組合せを含む。ある実施形態では、糖は、ショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せである。ある実施形態では、トレハロースはトレハロース二水和物である。

【0061】

ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約1%～約10% (w/v)、約1% (w/v)～約1.5% (w/v)、約2.5%～約7.5% (w/v)、または約1%～約5% (w/v)のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約1.0% (w/v)、約1.1% (w/v)、約1.2% (w/v)、約1.3% (w/v)、約1.4% (w/v)、約1.5% (w/v)、約1.6% (w/v)、約1.7% (w/v)、約1.8% (w/v)、約1.9% (w/v)、約2.0% (w/v)、約2.5% (w/v)、約3.0% (w/v)、約3.5% (w/v)、約4.0% (w/v)、約4.5% (w/v)、約5.0% (w/v)、約5.5% (w/v)、約6.0% (w/v)、約6.5% (w/v)、約7.0% (w/v)、約7.5% (w/v)、約8.0% (w/v)、約8.5% (w/v)、約9.0% (w/v)、約9.5% (w/v)、または約10% (w/v)のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約1.3% (w/v)のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約5% (w/v)のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、10mM～約150mM、約30mM～約40mM、または約35mM～約132mMのショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約10mM、約15mM、約20mM、約25mM、約30mM、約35mM、約40mM、約45mM、約50mM、約55mM、約60mM、約65mM、約70mM、約75mM、約80mM、約85mM、約90mM、約95mM、約100mM、約110mM、約120mM、約130mM、約140mM、または約150mMのショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約35mMのショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約132mMのショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む。例示的態様では、トレハロースはトレハロース二水和物である。

【0062】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は：アデノ随伴ウイルス(AAV)、ならびに約5mM～約25mMのL-ヒスチジン、約0mM～約150mMの薬学的に許容される塩、約0.001% (w/v)～約0.01% (w/v)の非イオン性界面活性剤、および約1% (w/v)～約10% (w/v)の糖および/または糖アルコールを含む。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約0nM～約100mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約30nM～約100mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約5nM～約150mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約50nM～約150mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は塩化ナトリウムである。

【0063】

例示的態様では、本開示の医薬組成物はグリシンをさらに含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約30mM～約70mM、約35mM～約65mMのグリシン、約40mM～約60mM、または約45mM～約55mMのグリシンを含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約30mM、約35mM、約40mM、約45mM、約50mM、約55mM、約60mM、約65mM、または約70mMのグリシンを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約50mMのグリシンをさらに含む。

【0064】

例示的態様では、本開示の医薬組成物はマンニトールをさらに含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約50mM～約150mM、約60mM～約140mM、約70mM～約130mM、約80mM～約120mM、または約90mM～約110mMのマンニトールを含む。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約110mMのマンニトールを含む。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、グリシンまたはマンニトールを含むが、グリシンおよびマンニトールの両方は含まない。

【0065】

他の実施形態では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約0 mM～約150 mMの薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖および／または糖アルコールを含む。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約0 nM～約100 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約30 nM～約100 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約5 nM～約150 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約50 nM～約150 mMである。ある実施形態では、糖および／または糖アルコールは、ショ糖、トレハロース、マンニトール、およびそれらの組合せである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は塩化ナトリウムである。

10

【0066】

他の実施形態では、本開示の医薬組成物は：アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約0 mM～約150 mMの薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖および／または糖アルコールを含む。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約0 nM～約100 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約30 nM～約100 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約5 nM～約150 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約50 nM～約150 mMである。ある実施形態では、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート80、プルロニックF-68、BRIJ35、およびそれらの組合せである。ある実施形態では、糖および／または糖アルコールは、ショ糖、トレハロース、マンニトール、およびそれらの組合せである。ある実施形態では、非イオン性界面活性剤はPS80である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は塩化ナトリウムである。

20

【0067】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約100 mM未満の薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖および／または糖アルコールを含む。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約0 nM～約100 mM未満である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は、約0 nM～約80 mM、約0 nM～約70 mM、約0 mM～約60 mM、約0 mM～約50 mM、約0 mM～約40 mM、約0 mM～約30 mM、約0 mM～約20 mM、または約0 mM～約10 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約30 nM～約100 mM未満である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約30 nM～約80 mM、約30 nM～約70 mM、約30 mM～約60 mM、約30 mM～約50 mM、または約30 mM～約40 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は塩化ナトリウムである。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、グリシンまたはマンニトールを含むが、グリシンおよび／またはマンニトールの両方は含まない。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、グリシンまたはマンニトールを含むが、グリシンおよびマンニトールの両方は含まない。ある実施形態では、製剤は液体製剤である。ある実施形態では、製剤は凍結乾燥製剤である。ある実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。

30

40

【0068】

他の実施形態では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約100 mM未満の薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖および／または糖アルコールを含む。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約0 nM～約100 mM未満である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は、約0 nM～約80 mM、約0 nM～約70 mM、約0 mM～約60 mM、約0 mM～約50 mM、約0 mM～約40 mM、約0 mM～約30 mM、約

50

0 mM～約20 mM、または約0 mM～約10 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約30 nM～約100 mM未満である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は、約30 nM～約80 mM、約30 nM～約70 mM、約30 mM～約60 mM、約30 mM～約50 mM、または約30 mM～約40 mMである。ある実施形態では、糖および／または糖アルコールは、ショ糖、トレハロース、マンニトール、およびそれらの組合せである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は塩化ナトリウムである。ある実施形態では、製剤は液体製剤である。ある実施形態では、製剤は凍結乾燥製剤である。ある実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。

【0069】

他の実施形態では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約100 mM未満の薬学的に許容される塩、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）の非イオン性界面活性剤、および約1%（w/v）～約10%（w/v）の糖および／または糖アルコールを含む。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約0 nM～約100 mM未満である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は、約0 nM～約80 mM、約0 nM～約70 mM、約0 mM～約60 mM、約0 mM～約50 mM、約0 mM～約40 mM、約0 mM～約30 mM、約0 mM～約20 mM、または約0 mM～約10 mMである。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は約30 nM～約100 mM未満である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は、約30 nM～約80 mM、約30 nM～約70 mM、約30 mM～約60 mM、約30 mM～約50 mM、または約30 mM～約40 mMである。ある実施形態では、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート80、プルロニックF-68、BRIJ35、およびそれらの組合せである。ある実施形態では、糖および／または糖アルコールは、ショ糖、トレハロース、マンニトール、およびそれらの組合せである。ある実施形態では、非イオン性界面活性剤はPS80である。ある実施形態では、薬学的に許容される塩は塩化ナトリウムである。ある実施形態では、製剤は液体製剤である。ある実施形態では、製剤は凍結乾燥製剤である。ある実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。

【0070】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約50 mM～約150 mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、および約1%（w/v）～約10%（w/v）のショ糖またはトレハロースを含む。

【0071】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約0 mM～約100 mM未満の塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、および約1%（w/v）～約10%（w/v）のショ糖またはトレハロースを含む。ある実施形態では、製剤は液体製剤である。ある実施形態では、製剤は凍結乾燥製剤である。ある実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。

【0072】

例示的態様では、本開示の医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約30 mM～約80 mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、および約1%（w/v）～約10%（w/v）のショ糖またはトレハロースを含む。ある実施形態では、製剤は液体製剤である。ある実施形態では、製剤は凍結乾燥製剤である。ある実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。

【0073】

ある実施形態では、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約5 mM～約25 mMのL-ヒスチジン、約50 mM～約150 mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、および約1%（w/v）

）～約 10 %（w／v）のショ糖またはトレハロースを含む低塩医薬組成物を提供する。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約 30 mM～約 70 mM のグリシンをさらに含む。ある実施形態では、製剤は液体製剤である。ある実施形態では、製剤は凍結乾燥製剤である。ある実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。

【0074】

ある実施形態では、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約 5 mM～約 25 mM の L-ヒスチジン、約 0 mM～約 100 mM 未満の塩化ナトリウム、約 0.001 %（w／v）～約 0.01 %（w／v）のポリソルベート 80（PS80）、および約 1 %（w／v）～約 10 %（w／v）のショ糖またはトレハロースを含む低塩医薬組成物を提供する。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は、約 30 mM～約 70 mM のグリシンをさらに含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 80 mM 未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 70 mM 未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 60 mM 未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 50 mM 未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 40 mM 未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 30 mM 未満の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 0 mM～約 80 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は、約 0 mM～約 70 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 0 mM～約 60 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 0 mM～約 50 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 0 mM～約 40 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 0 mM～約 30 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 30 mM～約 80 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 30 mM～約 70 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 30 mM～約 60 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、医薬組成物は約 30 mM～約 50 mM の塩化ナトリウムを含む。ある実施形態では、製剤は液体製剤である。ある実施形態では、製剤は凍結乾燥製剤である。ある実施形態では、低塩医薬組成物は凍結乾燥製剤である。

【0075】

本開示は、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約 20 mM の L-ヒスチジン、約 70 mM の塩化ナトリウム、約 0.005 %（w／v）のポリソルベート 80（PS80）、および約 5 %（w／v）のショ糖を含む医薬組成物も提供する。ある実施形態では、医薬組成物の pH は約 7.5 ± 0.2 でありおよび／またはオスモル濃度（osmolality）は 300 ± 10 mOsmol／kg である。

【0076】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約 20 mM の L-ヒスチジン、約 60 mM の塩化ナトリウム、約 0.005 %（w／v）のポリソルベート 80（PS80）、約 35 mM のトレハロース、および約 110 mM のマンニトールを含む医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物の pH は約 7.0 ± 0.2 でありおよび／またはオスモル濃度は 390 ± 10 mOsmol／kg である。ある実施形態では、医薬組成物の pH は約 7.0 ± 0.2 でありおよび／またはオスモル濃度は 290 ± 10 mOsmol／kg である。

【0077】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約 10 mM の L-ヒスチジン、約 100 mM の塩化ナトリウム、約 0.005 %（w／v）のポリソルベート 80（PS80）、約 5 %（w／v）のトレハロース、および約 50 mM のグリシンを含む医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物の pH は約 7.0 ± 0.2 でありおよび／またはオスモル濃度は 400 ± 10 mOsmol／kg である。

【0078】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス（AAV）、ならびに約 10 mM の L-ヒスチジ

ン、約80mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

【0079】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約70mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

10

【0080】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約60mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

【0081】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約50mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

20

【0082】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約40mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

【0083】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約30mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

30

【0084】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約20mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

40

【0085】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約10mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体であってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0±0.2である。

【0086】

本開示はさらに、アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに約10mMのL-ヒスチジン、約0mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む、液体で

50

あってもまたは凍結乾燥（例えば、液体製剤から凍結乾燥）されてもよい医薬組成物を提供する。ある実施形態では、医薬組成物の pH は約 7.0 ± 0.2 である。

【0087】

追加成分

例示の実施形態では、本開示の製剤または医薬組成物は、追加の薬学的に許容される成分を含む。例示的態様では、製剤または医薬組成物は下記の内のいずれか1つまたはそれらの組合せを含む：酸性化剤、添加剤、吸着剤、エアロゾル噴射剤、空気置換剤、アルカリ化剤、固化防止剤、抗凝固剤、抗菌防腐剤、抗酸化剤、抗腐食剤、基剤、結合剤、緩衝剤、キレート剤、コーティング剤、着色剤、乾燥剤、洗浄剤、希釈剤、殺菌消毒剤、崩壊剤、分散剤、溶解促進剤、色素、軟化剤、乳化剤、乳化安定剤、充填剤、成膜剤、風味増強剤、香味剤、流動促進剤、ゲル化剤、造粒剤、保湿剤、潤滑剤、粘着付与剤、軟膏基剤、軟膏、油性ビヒクル、有機塩基、トローチ基剤、顔料、可塑剤、研磨剤、防腐剤、金属イオン封鎖剤、皮膚浸透剤、可溶化剤、溶媒、安定化剤、坐剤の基剤、表面活性剤、界面活性剤、懸濁剤、甘味剤、治療剤、粘度付与剤、等張化剤、毒性剤、増粘剤、吸水剤、水混和性共溶媒、軟水化剤または湿潤剤など。一部の実施形態では、本開示の製剤または医薬組成物は下記の成分の内のいずれか1つまたはそれらの組合せを含む：アカシア、アセスルファムカリウム、アセチルクエン酸トリブチル、アセチルクエン酸トリエチル、寒天、アルブミン、アルコール、脱水アルコール、変性アルコール、希アルコール、アロイリット酸、アルギン酸、脂肪族ポリエステル、アルミナ、水酸化アルミニウム、ステアリン酸アルミニウム、アミロペクチン、 α -アミロース、アスコルビン酸、アスコルビルパルミタート、アスパルテム、注射用静菌水、ベントナイト、マグマベントナイト、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、安息香酸、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、ブロナポール、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、ブチルパラベン、ブチルパラベンナトリウム、アルギン酸カルシウム、アスコルビン酸カルシウム、炭酸カルシウム、シクラミン酸カルシウム、無水リン酸水素カルシウム、脱水リン酸水素カルシウム、リン酸三カルシウム、プロピオン酸カルシウム、ケイ酸カルシウム、ソルビン酸カルシウム、ステアリン酸カルシウム、硫酸カルシウム、硫酸カルシウム半水和物、キャノーラ油、カルボマー、二酸化炭素、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、 β -カロテン、カラギーナン、ひまし油、硬化ひまし油、カチオン性乳化ワックス、酢酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、エチルセルロース、微結晶セルロース、粉末セルロース、ケイ化微結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、セトステアリルアルコール、セトリミド、セチルアルコール、クロルヘキシジン、クロロブタノール、クロロクレゾール、コレステロール、酢酸クロルヘキシジン、グルコン酸クロルヘキシジン、塩酸クロルヘキシジン、クロロジフルオロエタン (HCF₂Cl)、クロロジフルオロメタン、クロロフロオロカーボン (CFC)、クロロフェノキシエタノール、クロロキシレノール、コーンシロップ固体、無水クエン酸、クエン酸一水和物、カカオバター、着色剤、コーン油、綿実油、クレゾール、m-クレゾール、o-クレゾール、p-クレゾール、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、シクラミン酸、シクロデキストリン、デキストレート、デキストリン、ブドウ糖、ブドウ糖（無水）、ジアゾリジニル尿素、フタル酸ジブチル、セバシン酸ジブチル、ジエタノールアミン、フタル酸ジエチル、ジフルオロエタン (HFC)、ジメチル- β -シクロデキストリン、Captisol（登録商標）などのシクロデキストリンタイプの化合物、ジメチルエーテル、フタル酸ジメチル、エデト酸二カリウム、エデト酸二ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、ドクサートカルシウム、ドクサートカリウム、ドクサートナトリウム、没食子酸ドデシル、ドデシルトリメチルアンモニウムブロミド、エデト酸カルシウム二ナトリウム、エデト酸、エグルミン、エチルアルコール、エチルセルロース、没食子酸エチル、ラウリン酸エチル、エチルマルトール、オレイン酸エチル、エチルパラベン、エチルパラベンカリウム、エチルパラベンナトリウム、エチルバニリン、フルクトース、フルクトース液、粉碎フルクトース、フルクトース（パイロジェンフリー）、粉末フルクトース、フマル酸、ゼラチン、グルコース、液体グルコース、飽和植物脂肪酸のグリ

10

20

30

40

50

セリド混合物、グリセリン、ベヘン酸グリセリル、モノオレイン酸グリセリル、モノステアリン酸グリセリル、自己乳化型モノステアリン酸グリセリル、パルミトステアリン酸グリセリル、グリシン、グリコール、グリコフロール、グアーガム、ヘプタフルオロプロパン（HFC）、ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド、高フルクトースシロップ、ヒト血清アルブミン、炭化水素（HC）、希塩酸、硬化植物油タイプEE、ヒドロキシエチルセルロース、2-ヒドロキシエチル-β-シクロデキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、イミド尿素、インジゴカルミン、イオン交換体、酸化鉄、イソプロピルアルコール、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、等張食塩水、カオリン、乳酸、ラクチトール、ラクトース、ラノリン、ラノリンアルコール、無水ラノリン、レシチン、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、炭酸マグネシウム、正炭酸マグネシウム、炭酸マグネシウム（無水）、炭酸水酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、ラウリル硫酸マグネシウム、酸化マグネシウム、ケイ酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、三ケイ酸マグネシウム、三ケイ酸マグネシウム（無水）、リンゴ酸、麦芽、マルチトール、マルチトール溶液、マルトデキストリン、マルトール、マルトース、マンニトール、中鎖トリグリセリド、メグルミン、メントール、メチルセルロース、メチルメタクリラート、オレイン酸メチル、メチルパラベン、メチルパラベンカリウム、メチルパラベンナトリウム、微結晶セルロースおよびカルボキシメチルセルロースナトリウム、鉍物油、軽鉍物油、鉍物油およびラノリンアルコール、油、オリーブ油、モノエタノールアミン、モンモリロナイト、没食子酸オクチル、オレイン酸、パルミチン酸、パラフィン、ピーナッツ油、ワセリン、ワセリンおよびラノリンアルコール、医薬用グレーズ、フェノール、液状フェノール、フェノキシエタノール、フェノキシプロパノール、フェニルエチルアルコール、酢酸フェニル水銀、ホウ酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、ポラクリリン、ポラクリリンカリウム、ポロキサマー、ポリデキストロース、ポリエチレングリコール、ポリエチレンオキシド、ポリアクリラート、ポリエチレン-ポリオキシプロピレン-ブロックポリマー、ポリメタクリラート、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンひまし油誘導体、ポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシエチレン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、アルギン酸カリウム、安息香酸カリウム、炭酸水素カリウム、亜硫酸水素カリウム、塩化カリウム、クエン酸カリウム、クエン酸カリウム（無水）、リン酸水素カリウム、ピロ亜硫酸カリウム、リン酸二水素カリウム、プロピオン酸カリウム、ソルビン酸カリウム、ポビドン、プロパノール、プロピオン酸、炭酸プロピレン、プロピレングリコール、アルギン酸プロピレングリコール、没食子酸プロピル、プロピルパラベン、プロピルパラベンカリウム、プロピルパラベンナトリウム、硫酸プロタミン、ナタネ油、リンゲル液、サッカリン、サッカリンアンモニウム、サッカリンカルシウム、サッカリンナトリウム、ベニバナ油、サポナイト、血清タンパク質、ゴマ油、コロイドシリカ、コロイド状二酸化ケイ素、アルギン酸ナトリウム、アスコルビン酸ナトリウム、安息香酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム（無水）、クエン酸ナトリウム（脱水）、塩化ナトリウム、シクラミン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、ドデシル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム（無水）、プロピオン酸ナトリウム、ソルビン酸ナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、フマル酸ステアリルナトリウム、亜硫酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビタンエステル（ソルビタン脂肪酸エステル）、ソルビトール、ソルビトール液70%、ダイズ油、鯨蠟、デンプン、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、アルファ化デンプン、滅菌可能なトウモロコシデンプン、ステアリン酸、精製ステアリン酸、ステアリルアルコール、ショ糖、糖、圧縮用砂糖、粉砂糖、製菓用砂糖、白糖球状顆粒、転化糖、Sugar tab、サンセットイエローFCF、合成パラフィン、タルク、酒石酸、タートラジン、テトラフルオロエタン（HFC）、カカオ油、チメロサール、二酸化チタン、アルファトコフェロー

10

20

30

40

50

ル、酢酸トコフェロール、 α -トコフェロールコハク酸エステル、 β -トコフェロール、 δ -トコフェロール、 γ -トコフェロール、トラガカント、トリアセチン、クエン酸トリブチル、トリエタノールアミン、クエン酸トリエチル、トリメチルー β -シクロデキストリン、臭化トリメチルテトラデシルアンモニウム、トリスバッファー、エデト酸三ナトリウム、バニリン、タイプIの硬化植物油、水、軟水、硬水、二酸化炭素を含まない水、発熱性物質除去水、注射用水、吸入用滅菌水、注射用滅菌水、灌水用滅菌水、ワックス、アニオン性乳剤ワックス、カルナバロウ、カチオン性乳化ワックス、セチルエステルワックス、マイクロクリスタリンワックス、非イオン性乳剤ワックス、坐剤用蠟、白蠟、黄蠟、白色ワセリン、羊毛蠟、キサンタンガム、キシリトール、ゼイン、プロピオン酸亜鉛、亜鉛塩、ステアリン酸亜鉛、あるいは、Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) Handbook of Pharmaceutical Excipients, Third Edition, A. H. Kibbe (Pharmaceutical Press, London, UK, 2000) (参照によりその全体が組み込まれる)に記載の任意の賦形剤。Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) (あらゆる意図される目的のために参照によりその全てが本明細書に組み込まれる)は、薬学的に許容される組成物を調製するのに用いられるさまざまな成分、ならびにそれを調製するための公知技術を開示する。あらゆる従来の薬剤について、それが本医薬組成物と不適合である場合を除いて、医薬組成物におけるその使用が企図されている。例示的实施形態では、本開示の製剤または医薬組成物は、上記の成分の1つまたは組合せを含まない。例示的实施形態では、本開示の製剤または医薬組成物は、これら成分のいずれも含まない。例示的態様では、本開示の医薬組成物はデキストランを含まない。例示的態様では、本開示の医薬組成物は塩化カルシウムを含まない。

【0088】

pH

例示的实施形態では、本開示の医薬組成物は生理学的に適合するpHを有する。従って、ある実施形態では、製剤を中性pHに維持するのに適した緩衝剤を含有するAAV製剤を提供する。

【0089】

例示的態様では、医薬組成物のpHは、約6.5～約9.0、約6.5～約8.0、約6.9～約7.7、または約7.0～約7.5である。ある実施形態では、製剤のpHは、約6.5または約6.6、約6.7、約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4、約7.5、約7.6、約7.7、約7.8、約7.9、約8.0、約8.1、約8.2、約8.3、約8.4、約8.5、約8.6、約8.7、約8.8、約8.9、または約9.0である。例示的態様では、医薬組成物のpHは約7.0または約7.5である。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.0である。ある実施形態では、医薬組成物のpHは約7.5である。

【0090】

オスモル濃度

例示的实施形態では、本開示の医薬組成物は、約200～約400mOsmol/kg、約250～約400mOsmol/kg、または約290～約390mOsmol/kgのオスモル濃度を有する。ある実施形態では、本明細書に提供されるAAV製剤は、例えば、約200mOsmol/L、約210mOsmol/L、約220mOsmol/L、約230mOsmol/L、約240mOsmol/L、約250mOsmol/L、約260mOsmol/L、約270mOsmol/L、約280mOsmol/L、約290mOsmol/L、約300mOsmol/L、約310mOsmol/L、約320mOsmol/L、約330mOsmol/L、約340mOsmol/L、約350mOsmol/L、約360mOsmol/L、約370mOsmol/L、約380mOsmol/L、約390mOsmol/L、または約400mOsmol/Lのオスモル濃度を有する。例示的態様では、本開示の医薬組成物は、約250mOsmol/kg～約400mOsmol/kgのオスモル濃度を有する。例示的態様では、本開示の

医薬組成物は約 $300 \pm 10 \text{ mOsmol/kg}$ または約 $380 \pm 10 \text{ mOsmol/kg}$ のオスモル濃度を有する。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 $300 \pm 10 \text{ mOsmol/kg}$ のオスモル濃度を有する。ある実施形態では、本開示の医薬組成物は約 $380 \pm 10 \text{ mOsmol/kg}$ のオスモル濃度を有する。

【0091】

本明細書に提供される製剤で使用されうる等張化剤の例として、限定はされないが、塩化ナトリウム、ブドウ糖、ショ糖、キシリトール、フルクトース、グリセロール、ソルビトール、マンニトール、トレハロース、塩化カリウム、マンノース、塩化カルシウム、塩化マグネシウム、他の無機塩、他の糖、他の糖アルコール、およびそれらの組合せが挙げられる。ある実施形態では、AAV製剤は、少なくとも1つの等張化剤、または少なくとも2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上の等張化剤を含みうる。

10

【0092】

AAV

例示的实施形態では、本開示の医薬組成物はAAVを含む。AAVは任意のAAV血清型であってよい。例示的態様では、AAVは、AAV1血清型、AAV2血清型、AAV3血清型、AAV4血清型、AAV5血清型、AAV6血清型、AAV7血清型、AAV8血清型、AAV9血清型、またはAAV10血清型であってよい。例示的態様では、AAVはAAV8血清型である。

【0093】

本明細書に提供される製剤のある実施形態では、AAVは、米国特許出願公開第2017/023345号および米国仮特許出願第62/509,616号（その両方は、その全てがおよび全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているようなrAAVである。

20

【0094】

例示的態様では、医薬組成物は高タイターのAAV生成物を含む。例示的態様では、医薬組成物は少なくとも約 10^{10} ウイルス粒子(vp)、または少なくとも約 10^{11} ウイルス粒子(vp)、または少なくとも約 10^{12} ウイルス粒子(vp)、または少なくとも約 10^{13} ウイルス粒子(vp)を含む。例示的態様では、医薬組成物は、少なくとも約 10^{14} ウイルス粒子(vp)または少なくとも約 10^{15} ウイルス粒子(vp)、例えば少なくとも約 2×10^{15} ウイルス粒子(vp)、少なくとも約 5×10^{15} ウイルス粒子(vp)を含む。医薬組成物は、約 10^{10} ベクターゲノム(vg)、または少なくとも約 10^{11} ベクターゲノム(vg)、または少なくとも約 10^{12} ベクターゲノム(vg)、または少なくとも約 10^{13} ベクターゲノム(vg)も含む。例示的態様では、医薬組成物は、少なくとも約 10^{14} ベクターゲノム(vg)、または少なくとも約 10^{15} ベクターゲノム(vg)、例えば少なくとも約 2×10^{15} ベクターゲノム(vg)、少なくとも約 5×10^{15} ベクターゲノム(vg)を含む。

30

【0095】

製造方法および使用

AAVを含む医薬組成物を調製する方法をここにさらに提供する。例示的態様では、その方法は、約5mM～約25mMの緩衝剤、約50mM～約150mMまたは約100mM未満の薬学的に許容される塩、約0.001% (w/v)～約0.01% (w/v)の非イオン性界面活性剤、約1% (w/v)～約10% (w/v)の糖および/または糖アルコール、ならびにAAVを配合し、それによってAAVを含む医薬組成物を得ることを含む。例示的態様では、その方法は、約5mM～約25mMの緩衝剤、約50mM～約150mMまたは約100mM未満の薬学的に許容される塩、約0.001% (w/v)～約0.01% (w/v)の非イオン性界面活性剤、約1% (w/v)～約10% (w/v)の糖および/または糖アルコールを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約20mMの緩衝剤、約70mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v)の非イオン性界面活性剤、および約5% (w/v)の糖および/または糖アルコールを含む組成物、例えば水溶

40

50

液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約100mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約80mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約70mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約60mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約50mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約40mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約30mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約20mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約10mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMの緩衝剤、約0mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約5% (w/v) の糖および／または糖アルコール、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約20mMの緩衝剤、約60mMの薬学的に許容される塩、約0.005% (w/v) の非イオン性界面活性剤、約35mMの糖および／または糖アルコール、および約110mMのマニトールを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。ある実施形態では、水溶液は凍結乾燥される。

【0096】

AAVを含む医薬組成物を調製する方法をここにさらに提供する。例示的態様では、その方法は、約5mM～約25mMのL-ヒスチジン、約50mM～約150mMの塩化ナトリウム、約0.001% (w/v) ～約0.01% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約1% (w/v) ～約10% (w/v) のシヨ糖またはトレハロース、ならびにAAVを配合し、それによってAAVを含む医薬組成物を得ることを含む。例示的態様では、その方法は、約5mM～約25mMのL-ヒスチジン、約50mM～約150mMの塩化ナトリウム、約0.001% (w/v) ～約0.01% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、および約1% (w/v) ～約10% (w/v) のシヨ糖またはト

10

20

30

40

50

レハロースを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約20mMのL-ヒスチジン、約70mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、および約5% (w/v) のショ糖を含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約100mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約80mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約70mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約60mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約50mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約40mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約30mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約20mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約10mMのL-ヒスチジン、約10mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約5% (w/v) のトレハロース、および約50mMのグリシンを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。例示的態様では、その方法は、約20mMのL-ヒスチジン、約60mMの塩化ナトリウム、約0.005% (w/v) のポリソルベート80 (PS80)、約35mMのトレハロース、および約110mMのマニトールを含む組成物、例えば水溶液を調製し、さらにその組成物にAAVを添加することを含む。ある実施形態では、水溶液は凍結乾燥される。

【0097】

ある実施形態では、凍結乾燥を用いて脱水組成物を作成し、従って組成物（例えばAAVを含有する組成物）は凍結乾燥組成物である。一部の例では、凍結乾燥組成物は、組成物中の水が気体から固体へと相転移する昇華により組成物から水が除去された組成物である。例えば、凍結乾燥組成物は、組成物を凍結（すなわち、組成物中の水を凍結）し、さらにその後、組成物中の水が昇華するように組成物周囲の圧力を低下させることにより、

10

20

30

40

50

組成物から水が除去された組成物であってよい。上述したように、凍結乾燥組成物は、カールフィッシャー（KF）滴定法により測定したときに、25%以下、または20%以下、または15%以下、または10%以下、または9%以下、または8%以下、または7%以下、または6%以下、または5%以下、または4%以下、または3%以下、または2%以下、または1%以下、または0.5%以下、または0.25%以下、または0.1%以下の水のように、少量で水を含む組成物であってよい。ある実施形態では、凍結乾燥組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定したときに3%以下の水を有する。ある実施形態では、凍結乾燥組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定したときに2%以下の水を有する。ある実施形態では、凍結乾燥組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定したときに1%以下の水を有する。ある実施形態では、凍結乾燥組成物は、カールフィッシャー滴定法で測定したときに0.5%以下の水を有する。

10

【0098】

凍結乾燥中、例えば組成物中の水の凝固点（氷点）より低い温度まで、組成物の温度を低下させてよい。例えば、0℃以下、または-5℃以下、または-10℃以下、または-15℃以下、または-20℃以下、または-25℃以下、または30℃以下、または-35℃以下、または-40℃以下、または-45℃以下、または-50℃以下、または55℃以下、または-60℃以下、または-65℃以下、または-75℃以下まで、組成物の温度を低下させてよい。一部の例では、組成物の温度を-20℃まで低下させる。一部の例では、組成物の温度を $\leq -60^{\circ}\text{C}$ （設定値 -80°C ）まで低下させる。

【0099】

ある実施形態では、組成物の周囲の圧力を標準大気圧より低い圧力に低下させる。例えば、組成物の周囲の圧力を500トル（約66.7kPa）以下、例えば、250トル（約33.3kPa）以下、または100トル（約13.3kPa）以下、または50トル（約6.67kPa）以下、または10トル（約1.33kPa）以下、または1トル（約0.133kPa）以下、または500ミリトル（約66.7Pa）以下、または400ミリトル（約53.3Pa）以下、または300ミリトル（約40Pa）以下、または200ミリトル（約26.7Pa）以下、または100ミリトル（約13.3Pa）以下、または90ミリトル（約12Pa）以下、または80ミリトル（約10.7Pa）以下、または70ミリトル（約9.33Pa）以下、または60ミリトル（約8Pa）以下、または50ミリトル（約6.67Pa）以下、または40ミリトル（約5.33Pa）以下、または30ミリトル（約4Pa）以下、または20ミリトル（約2.67Pa）以下、または10ミリトル（約1.33Pa）以下、または5ミリトル（約0.667Pa）以下、または1ミリトル（約0.133Pa）以下に低下させてよい。一部の例では、組成物の周囲の圧力を40～50ミリトル（約5.33Pa～約6.67Pa）以下、および例えば1.5～2ミリトル（約0.2Pa～約0.267Pa）に低下させる。

20

30

【0100】

一部の実施形態では、凍結乾燥することは、組成物の周囲の圧力を低下させながら組成物の温度を上昇させることも含む。例えば、組成物の温度を、上記の最低温度からその最低温度よりも高い温度まで上昇させてよい。一部の例では、低下した周囲圧力で組成物中の水の昇華を促進させるために温度を高める。

40

【0101】

凍結乾燥AAV組成物を作成する方法の実施形態は、水性濃縮組成物を作成することも含んでいてよく、その後その組成物を凍結乾燥する。

【0102】

例示的態様では、その方法は、例えばガラスバイアルまたはプラスチックチューブなどのガラスまたはプラスチック容器内にAAVを含む組成物を入れることを含む。例示的態様では、ガラスまたはプラスチック容器は、当業界で知られている、市販されている、および／または本明細書に記載されている（例えば、実施例3を参照のこと）もののいずれかである。例示的態様では、その方法は、約0.1mL～約10mLのAAVを含む組成物をガラスまたはプラスチック容器内に入れることを含む。例示的態様では、その方法は

50

、約0.2mL～約6mL（例えば、約0.2mL、約0.3mL、約0.5mL、約5.6mL）のAAVを含む組成物をガラスまたはプラスチック容器内に入れることを含む。医薬組成物を調製する方法は本明細書に記載されている（例えば実施例1および2を参照のこと）。

【0103】

容器中に組成物を提供すると、無菌組成物として組成物を維持することを容易にできる。例えば、無菌環境で容器中に封入された組成物を維持するように容器を構成してよい。従って、容器は密封容器であってよく、例えば、容器は、水密および／または気密シールなどの、シールを含んでいてよい。使用者が容器の内容物を利用できるように、シールは容器から取り外し可能であってよい。一部の例では、シールは脆弱なシールであってよく、あるいは他の例では、シールを容器から取り外すことなく針、カニユーレまたはシリンジを容器の内部に挿入できるようにシールを構成してもよい。一部の例では、シールを容器から取り外すことなく容器の内部に接近できるように構成されたシールは、対象への組成物の投与の前に無菌環境に容器の内容物（例えば容器中の組成物）を維持することを容易にできる。シールの適切な材料として、例えば、限定はされないが、シリコンゴム、天然ゴム、スチレンブタジエンゴム、エチレンプロピレンコポリマー、ポリクロロプレン、ポリアクリレート、ポリブタジエン、ポリウレタン、スチレンブタジエン等、およびそれらの組合せなどのゴムまたはポリマーシールが挙げられる。例えば、ある実施形態では、シールは、針、シリンジ、またはカニユーレにより貫通可能な隔膜である。シールは、容器中の試料への便利なアクセス、ならびに容器の開口部を覆う保護バリアも提供することができる。一部の例では、シールは、ねじ込み型キャップまたはスナップオンキャップ、あるいは容器の開口部に適用できる他の適切なシール要素などの、取り外し可能なシールである。例えば、容器に試料を添加する前または後に、ねじ込み型キャップを開口部にねじ込むことができる。

【0104】

一部の例では、容器は単位用量容器(unit dosage container)である。単位用量容器は、対象への投与のための1または複数の単位用量を含む容器を意味する。一部の実施形態では、単位用量容器は、対象において所望の効果をもたらすのに十分な量で計算された所定量の対象組成物を含む。組成物のある実施形態は、正確な投薬量の個別投与に適した単位用量容器中に提供されうる。対象に投与される活性組成物の量は、治療されている対象、苦痛の重篤性、および投与方法によって異なりうる。例えば、単位用量容器は、治療されている対象において所望の効果を達成するのに有効な量で本明細書に開示される投与すべき組成物の量を含みうる。ある例では、単位用量容器は、治療有効量でAAVを有する組成物を含む。ある実施形態では、単位用量容器はバイアルである。一部の例では、バイアルは、（例えば密封容器に関して上述したような）密封されたバイアルである。

【0105】

容器は、AAVおよび組成物の他の成分と適合する任意の都合のよい材料からなるものでよい。例えば、容器は、固体（例えば凍結乾燥組成物）を含むように構成された固体適合性容器であってよい。一部の例では、容器は、液体を含むように構成された液体適合性容器である。容器は、固体および液体を含むように構成された固体および液体に適合性の容器であってもよい。一部の例では、容器中の液体は水性液体であってよく、その場合、容器は水性組成物に適合性のものであってよい。「適合性」とは、容器が液体および／または組成物あるいは容器と接触する他の成分と実質的に不活性である（例えば、有意には反応しない）ことを意味する。適切な容器材料の例として、限定はされないが、ガラスおよびプラスチックが挙げられる。例えば、容器は、限定はされないが、ケイ酸塩ガラス、ホウケイ酸塩ガラス、ホウケイ酸ナトリウムガラス（例えばPYREX（登録商標））、溶融石英ガラス、溶融シリカガラスなどのガラスでできていてよい。容器のための適切な容器材料の他の例として、限定はされないが、ポリプロピレン、ポリメチルペンテン、ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）、パーフルオロエーテル（PFE）、フッ素化エチレンプロピレン（FEP）、パーフルオロアルコキシルカン（PFA）、ポリエチレ

ンテレフタレート（PET）、ポリエチレン（PE）、ポリエーテルエーテルケトン（PEEK）、ポリスチレン等などのプラスチックが挙げられる。ある例では、上記のように、容器はバイアルであってよく、従ってガラスバイアルであってよい。上記のように、容器は密封容器であってよく、従って密封ガラスバイアルであってよい。

【0106】

例示的態様では、ガラスまたはプラスチック容器中に入れられるAAVを含む組成物の体積は、約0.1mL～約10mL、約0.1mL～約5mL、約0.2mL～約6mL、約0.2mL～約5mL、約0.25mL～約5mL、約2mL～約5mL、約2.5mL～約5mL、約3mL～約5mL、約4mL～約5mL、約5mL～約10mL、約6mL～約9mL、または約7mL～約8mLである。例示的態様では、その体積は、約0.1mL、約0.2mL、約0.25mL、約0.3mL、約0.4、約0.5mL、約0.6mL、約0.7mL、約0.75mL、約0.8mL、約0.9mL、約1mL、約2mL、約2.5mL、約3mL、約4mL、約5mL、約5.5mL、約5.6mL、約6mL、約7mL、約7.5mL、約8mL、約9mL、または約10mLである。

10

【0107】

例示的態様では、AAVを含む組成物は、約-80℃～約-10℃の温度で少なくとも1ヶ月（例えば少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月）保管される。例示的態様では、AAVを含む組成物は、約-60℃～約-20℃の温度で少なくとも1ヶ月（例えば少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月）保管される。例示的態様では、AAVを含む組成物は、3、4、5、6ヶ月またはそれ以上保管される。組成物を保管する方法は本明細書に記載されている（例えば実施例1～3を参照のこと）。例示的態様では、最初のAAVの量（例えば保管前の組成物中のAAVの量）の80%超が、保管期間（例えば、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月またはそれ以上の保管期間）後に効力を有する。例示的態様では、最初のAAVの量の90%超が、保管期間（例えば、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月またはそれ以上の保管期間）後に効力を有する。例示的態様では、最初のAAVの量の95%超が、保管期間（例えば、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月またはそれ以上の保管期間）後に効力を有する。例示的態様では、保管期間の終わりににおけるAAVの生物力価は、保管期間の初めにおけるAAVの生物力価と実質的に同じである。例示的態様では、保管期間の終わりににおけるAAVの生物力価は、保管期間の初めにおけるAAVの生物力価よりも上昇する。例示的態様では、保管期間の終わりににおける組成物の外観は、保管期間の初めにおける組成物と実質的に同じである。例示的態様では、保管期間の終わりににおける組成物の外観は、目に見える粒子がないことにより特徴づけられる。例示的態様では、保管期間の終わりににおける組成物の粒子濃度は、保管期間の初めにおける組成物の粒子濃度と実質的に同じである。例示的態様では、保管期間の終わりににおける組成物の粒子濃度は、マイクロフローイメージング（MFI）により決定される。

20

30

【0108】

遺伝子治療により治療可能な疾患に関して対象を治療する方法を本開示により提供する。例示的態様では、その方法は、疾患を治療するのに有効な量で本明細書に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む。例示的態様では、疾患は出血性疾患（例えば血友病AまたはB）であり、その方法は、出血性疾患を治療するのに有効な量で本開示の医薬組成物を対象に投与することを含む。

40

【0109】

例示的態様では、その方法は、非経口投与により医薬組成物を投与することを含む。用語「非経口」は、消化管を通さないで、いずれか他の経路によることを意味する。例えば、本明細書に開示される製剤は、例えば、静脈内投与（例えば、ボラスとして、または長時間にわたる持続注入による）、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液嚢内、髄腔内、経口、局所または吸入経路によるなど、既知の方法を介した投与のために製剤化されうる。ある実施形態では、本明細書に提供されるAAV製剤は、全身的または局所

50

的のいずれで投与してもよい。全身投与としては、限定はされないが、経口、真皮下、腹腔内、皮下、経鼻、舌下または直腸内の投与経路が挙げられる。局所投与としては、限定はされないが、局所、皮下、筋肉内および腹腔内の投与経路が挙げられる。

【0110】

目的の遺伝子治療のためにAAVを投与する方法は当業界で公知である。例えば、Monahan, Gene therapy in an era of emerging treatment options for hemophilia B, J Thromb Haemost. 2015 Jun; 13(01): S151-S160を参照のこと。

【0111】

本開示の再構成組成物は、例えば注射または静脈内投与により対象に投与することができる。これら実施形態では、再構成組成物を対象に投与する前に、例えば上記のような固体組成物を液体と配合して、例えば注射または静脈内投与によるなどの投与に適した液体組成物を提供してよい。一部の例では、組成物を対象に投与する前に、固体組成物を水（例えば注射用水、WFI）またはバッファー／緩衝剤（例えば上記のような）と配合して、例えば注射または静脈内投与によるなどの投与に適した水性組成物を提供してよい。例えば、水（例えば注射用水、WFI）またはバッファー／緩衝剤（例えば上記のような）を用いて凍結乾燥組成物を再構成し、例えば注射または静脈内投与によるなどの、対象への投与に適した再構成投薬単位（reconstituted dosage unit）を作成してよい。

【0112】

ある実施形態では、再構成投薬単位は生理的条件に適合するpHを有する。一部の例では、再構成投薬単位のpHは6～8の範囲である。一部の例では、再構成投薬単位のpHは7～8の範囲である。例えば、再構成投薬単位のpHは7～7.5の範囲であってよい。一部の例では、再構成投薬単位のpHは7.0である。一部の例では、再構成投薬単位のpHは7.1である。一部の例では、再構成投薬単位のpHは7.2である。一部の例では、再構成投薬単位のpHは7.3である。一部の例では、再構成投薬単位のpHは7.4である。

【0113】

再構成投薬単位は、対象において所望の治療効果をもたらすのに十分な量で計算された所定量の本開示の組成物を含んでいてよい。対象に投与される再構成投薬単位中の組成物の量は、治療されている対象、苦痛の重篤性、および投与方法によって異なりうる。例えば、再構成投薬単位は、治療有効量で、本明細書に開示される投与すべき組成物の量を含むうる。

【0114】

対象に投与されるとき、液体または再構成投薬単位は、再構成投薬単位が $1E+10vp/ml \sim 5E+15vp/ml$ または $1E+10cp/ml \sim 5E+15cp/ml$ を送達するように、治療有効量のAAVを含んでいてよい。

【0115】

ある実施形態では、方法は、治療レジメンに従い対象に液体または再構成投薬単位を投与することを含む。例えば、一部の例では、治療すべき対象は、医療供給者から治療レジメンを指示されていてよい。一部の例では、治療レジメンにとして、必ずしもそれらに限定されるわけではないが、1日5回、1日4回、1日3回、1日2回、1日1回、1週間に3回、1週間に2回、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、5週間に1回、6週間に1回、7週間に1回、隔月に1回、およびそれらの組合せが挙げられる。

【0116】

一部の実施形態では、治療レジメンは、長期間にわたり1または複数用量を投与することを含む。ある例では、単回投与（例えば1投薬単位）を対象に与え、その最初の投与の後に、1または複数用量を後の時間に対象に投与してよい。一部の例では、1用量より多く（例えば、1投与単位より多く）を対象に投与し、その最初の投与の後に、1または複数用量を後の時間に対象に投与してよい。例えば、単回投与（例えば1投薬単位）を対象に与え、その単回投与の後に、単回投与を後の時間に対象に与えてよい。追加の単回投与

を後の時間に対象に与えてよい。他の例では、単回投与（例えば1投薬単位）を対象に与え、その単回投与の後に、2用量を後の時間に対象に投与してよい。追加の単回または複数回投与を後の時間に対象に与えてもよい。

【0117】

ある実施形態では、例えば併用療法において、関連するまたは無関係な状態を治療するための他の活性物質の前に、それと同時に、またはその後に、本開示の再構成投薬単位を投与してよい。そのような追加治療の例として、放射線治療、外科的治療、および化学療法が挙げられる。他の活性物質と同時に提供される場合、本開示の再構成投薬単位は、同じ製剤中に提供してもまたは異なる製剤中に提供してもよい。例えば、同時治療は、特定の治療レジメンに従い、組み合わせて治療有効用量を提供する、再構成投薬単位と、少なくとも1つの他の活性物質（例えば、化学療法剤など）を有する医薬組成物とを投与することにより達成することができる。別個の医薬組成物の投与は、これら物質の組合せの治療有効効果が治療を受けている対象で生じる限りは、同時に行っても、または異なる時に（例えば、後で、いずれかの順序で、同日に、または異なる日に）行ってもよい。

10

【0118】

従って、本開示の態様は、併用療法をさらに含む。ある実施形態では、その方法は、治療有効量の1つ以上の追加の活性物質を投与することを含む。併用療法とは、A A V 組成物（例えば本明細書に記載のような）が、単一の疾病または状態を治療するために別の治療物質と組み合わせて使用されうることの意味する。ある実施形態では、本開示の化合物は、別の治療物質と同時に投与され、その別の治療物質は、本開示の化合物を含む組成物の成分として投与しても、あるいは異なる組成物の成分として投与してもよい。ある実施形態では、本開示の化合物を含む組成物は、別の治療物質の投与の前または後に投与される。

20

【0119】

以下の実施例は、単に本発明を説明するためのものであり、決してその範囲を限定するためのものではない。

【実施例】

【0120】

実施例1

この実施例は、更なる開発のための3つの製剤の選択につながる最初の試験を示す。

30

【0121】

6つの異なる製剤を製造した。簡単に説明すると、主に空カプシド材料を含む単一口ットをPBS/NaCl/ソルビトールバッファーで希釈して180.8gを生成した。その溶液に0.005%のCroda super refined Tween80を添加して吸着による過剰な材料損失を防いだ。この溶液を、それぞれが30gの材料を含むように6分割した。次に、Slide-A-Lyzer透析カセットを用いて6つのバッファーのうちの1つに交換し、このステップを100倍体積で3回実施した。3回の透析ステップの後、透析した溶液の各々を2mLのSiO₂バイアル（注入容量=0.25mL）に注入し、その後-20±2℃および≤-60℃（設定値：-80℃）で6か月までの間および5±3℃で4ヶ月までの間保管した。表1～6はそれぞれ、製剤1～6（バッファー1～6、および試料1～6とも称する）について記載する。

40

【0122】

【表 1】

表1: 製剤1: ポリソルベート80 (PS80) を用いるPBS/NaCl/ソルビトールバッファー

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
塩化ナトリウム	350	20.45
塩化カリウム	2.68	0.20
リン酸水素二ナトリウム二水和物	8.09	1.44
リン酸一カリウム	1.47	0.20
D-ソルビトール	5%	50.00
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.05
25% HCl		pH調整
1M NaOH		
精製水		
pH値	7.4±0.3	

10

【0 1 2 3】

【表 2】

表2: 製剤2

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	20	3.103
NaCl	70	4.091
ショ糖	5%	50.00
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.050
精製水		1kgまで添加
pH値		
	7.5	

20

【0 1 2 4】

【表 3】

表3: 製剤3

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	20	3.103
NaCl	60	3.506
マンニトール	110	20.039
トレハロース二水和物	35	13.24
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

30

40

【0 1 2 5】

50

【表 4】

表4：製剤4

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	100	5.844
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50.00
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水	7.0±0.1	1kgまで添加
pH値		

10

【 0 1 2 6 】

【表 5】

表5：製剤5

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
クエン酸三ナトリウム二水和物	15	4.41
グリシン	15	1.13
マンニトール	2%	20.00
トレハロース二水和物	1%	10.00
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.05
精製水	7.3±0.1	1kgまで添加
pH値		

20

【 0 1 2 7 】

【表 6】

表6：製剤6

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
TRIS	80	9.691
デキストラン T40	1.77%	17.70
デキストラン T10	0.53%	5.30
ショ糖	6.9%	69.00
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.1

30

40

【 0 1 2 8 】

全粒子タイター（空＋完全）を r A A V 粒子 E L I S A により試験した。A A V 純度および化学的分解を S D S − P A G E （蛍光染色、4 − 1 2 % B i s T r i s ゲル／ F l a m i n g o ゲルステイン）により試験した。物理的劣化（損傷カプシドまたは断片）を S E C および M F I により試験した。外観および p H も試験した。

【 0 1 2 9 】

− 2 0 ± 2 ° C および ≤ − 6 0 ° C （設定値： − 8 0 ° C ）で保管した製剤を、M F I 、外観、p H 、全 r A A V 8 粒子 E L I S A 、S D S − P A G E 、および S E C に関して、表 7 に指示する試験時点に試験した。「−」は試料が取得されなかったことを示す。

50

【表 7】

表7: $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ および $\leq -60^{\circ}\text{C}$ (* 設定値 -80°C) で保管した試料の試験概要

試験	試料体積	試験時点(ヶ月)					試料の総数
		0	1	2 (8 週)	3	6	
MFI	3 ml	x	-	-	-	x	50
外観	1 ml	x	x	x	x	x	10
pH値		x	x	x	x	x	
全rAAV8粒子ELISA	2x 0.3 ml	x	x	x	x	x	100
SDS-PAGE (蛍光染色、 4-12% BisTris ゲル/ Flamingo ゲルステイン)	0.3 ml	x	x	x	x	x	50
SEC	0.3 ml	x	x	x	x	x	50

10

【0130】

$5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ で保管した製剤を、MFI、外観、pH、全rAAV8粒子ELISA、SDS-PAGE、およびSECに関して、表8に指示する試験時点に試験した「-」は試料が取得されなかったことを示す。

20

【表 8】

表8: $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ で保管した試料の試験概要

試験	試料体積	試験時点(ヶ月)				試料の総数
		0	1	2 (8 週)	4	
MFI	3 ml	x	-	-	-	x
外観	1 ml	x	x	x	x	20
pH値		x	x	x	x	
全rAAV8粒子ELISA	2x 0.3 ml	x	x	x	x	40
SDS-PAGE (蛍光染色、 4-12% BisTris ゲル/ Flamingo ゲルステイン)	0.3 ml	x	x	x	x	20
SEC	0.3 ml	x	x	x	x	20

30

【0131】

外観試験の結果を表9に示しており、肉眼での粒子検査の分類は以下のとおりである：
レベルA＝粒子が見えない；レベルB＝小さな単一粒子がわずかに見える；レベルC＝小さな単一粒子が容易に見える；レベルD＝多くの小さな粒子が容易に見える；およびレベルE＝1mm以上の粒子が見える。

40

50

【表 9】

表9: +5±3℃、−20±2℃、および≤−60℃で保管した試料の外観

試験時点／バッファー、+5±3℃	0ヶ月	1ヶ月	8週	4ヶ月	
バッファー1、+5±3℃	A	A-B	A-B	C	
バッファー2、+5±3℃	A	A	A	A	
バッファー3、+5±3℃	A	A	A	A	
バッファー4、+5±3℃	A	A	A	A	
バッファー5、+5±3℃	A	A	A	A	
バッファー6、+5±3℃	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)	
試験時点／バッファー、−20±2℃	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、−20±2℃	A	A-B	A-B	A-B	A-B
バッファー2、−20±2℃	A	A	A	A	A
バッファー3、−20±2℃	A	A	A	A	A
バッファー4、−20±2℃	A	A	A	A	A
バッファー5、−20±2℃	A	A	A	A	A
バッファー6、−20±2℃	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)
試験時点／バッファー、≤−60℃	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、≤−60℃	A	A-B	A-B	A	A
バッファー2、≤−60℃	A	A	A	A	A
バッファー3、≤−60℃	A	A	A	A	A
バッファー4、≤−60℃	A	A	A	A	A
バッファー5、≤−60℃	A	A	A	A	A
バッファー6、≤−60℃	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)	A (黄色)

10

20

【0132】

pHアッセイの結果を表10に示す。それらを融解した後、5±3℃で4ヶ月までの間、ならびに−20±2℃および≤−60℃で6ヶ月までの間保管した後のpHに関して有意なシフトは見られない。

30

40

50

【表 10】

表10: +5±3℃、−20±2℃、および≤−60℃で保管した試料の全pH値

試験時点／バッファー、+5±3℃	目標 pH値	0ヶ月	1ヶ月	8週	4ヶ月	
バッファー1、+5±3℃	7.4	7.24	7.29	7.31	7.31	
バッファー2、+5±3℃	7.5	7.37	7.38	7.40	7.47	
バッファー3、+5±3℃	7.0	6.86	6.95	7.00	7.01	
バッファー4、+5±3℃	7.0	6.93	6.89	7.01	7.01	
バッファー5、+5±3℃	7.3	7.22	7.08	7.13	7.23	
バッファー6、+5±3℃	7.1	7.12	7.11	7.10	7.09	
試験時点／バッファー、−20±2℃	目標 pH値	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、−20±2℃	7.4	7.24	7.32	7.33	7.34	7.33
バッファー2、−20±2℃	7.5	7.37	7.37	7.42	7.40	7.38
バッファー3、−20±2℃	7.0	6.86	7.00	7.02	7.00	7.00
バッファー4、−20±2℃	7.0	6.93	6.97	6.99	6.97	6.99
バッファー5、−20±2℃	7.3	7.22	6.90	6.93	6.92	6.93
バッファー6、−20±2℃	7.1	7.12	6.88	6.98	6.98	6.98
試験時点／バッファー、≤−60℃	目標 pH値	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、≤−60℃	7.4	7.24	7.31	7.34	7.34	7.31
バッファー2、≤−60℃	7.5	7.37	7.40	7.42	7.41	7.39
バッファー3、≤−60℃	7.0	6.86	6.98	7.04	7.01	7.00
バッファー4、≤−60℃	7.0	6.93	6.89	7.00	7.00	7.00
バッファー5、≤−60℃	7.3	7.22	6.88	6.93	6.94	6.92
バッファー6、≤−60℃	7.1	7.12	6.86	6.98	6.98	6.97

10

20

【0133】

AAV8 滴定 ELISA の結果を表 11 に示す。5 ± 3℃、−20 ± 2℃、および ≤ −60℃ で保管中の全ての結果は、調べた 6 つの製剤間での有意差を全く示さない。調和させた結果（0.44 で計算した）を示す。

【表 11】

表11: +5±3℃、−20±2℃、および≤−60℃で保管した試料の計算したAAV8滴定ELISA

試験時点／バッファー、+5±3℃	0ヶ月	1ヶ月	8週	4ヶ月	
バッファー1、+5±3℃	1.45E+13	1.74E+13	2.43E+13	1.77E+13	
バッファー2、+5±3℃	1.45E+13	1.57E+13	1.93E+13	1.80E+13	
バッファー3、+5±3℃	1.31E+13	1.49E+13	1.94E+13	1.64E+13	
バッファー4、+5±3℃	1.46E+13	1.57E+13	2.00E+13	1.92E+13	
バッファー5、+5±3℃	1.41E+13	1.52E+13	2.02E+13	1.72E+13	
バッファー6、+5±3℃	1.74E+13	1.88E+13	2.42E+13	2.09E+13	
試験時点／バッファー、−20±2℃	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、−20±2℃	1.45E+13	1.58E+13	1.93E+13	1.89E+13	1.92E+13
バッファー2、−20±2℃	1.45E+13	1.59E+13	1.83E+13	1.87E+13	1.89E+13
バッファー3、−20±2℃	1.31E+13	1.48E+13	1.70E+13	1.74E+13	1.71E+13
バッファー4、−20±2℃	1.46E+13	1.57E+13	1.82E+13	1.86E+13	1.96E+13
バッファー5、−20±2℃	1.41E+13	1.47E+13	1.78E+13	1.78E+13	1.81E+13
バッファー6、−20±2℃	1.74E+13	1.89E+13	2.22E+13	2.29E+13	2.19E+13
試験時点／バッファー、≤−60℃	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、≤−60℃	1.45E+13	1.58E+13	2.03E+13	1.80E+13	1.72E+13
バッファー2、≤−60℃	1.45E+13	1.57E+13	2.19E+13	1.86E+13	1.72E+13
バッファー3、≤−60℃	1.31E+13	1.56E+13	1.76E+13	1.76E+13	1.73E+13
バッファー4、≤−60℃	1.46E+13	1.65E+13	1.94E+13	1.78E+13	1.43E+13
バッファー5、≤−60℃	1.41E+13	1.51E+13	1.82E+13	1.80E+13	1.64E+13
バッファー6、≤−60℃	1.74E+13	1.98E+13	2.44E+13	2.13E+13	1.54E+13

30

40

【0134】

表 12 に示すように凝集体のパーセンテージを測定した。0 か月目、ならびに 5 ± 3℃

50

および $\leq -60^{\circ}\text{C}$ で保管後の製剤3に関してより高い凝集体値が見られた。他の全てのバッファーは変動する値を示す。

【表 1 2】

表12: $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、および $\leq -60^{\circ}\text{C}$ で保管した試料の凝集体[%]

試験時点／バッファー、 $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$	0ヶ月	1ヶ月	8週	4ヶ月	
バッファー1、 $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$	1.55	1.50	1.90	1.84	
バッファー2、 $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$	1.59	1.50	1.57	1.85	
バッファー3、 $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$	2.34	1.75	2.00	1.98	
バッファー4、 $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$	1.56	1.57	1.50	1.69	
バッファー5、 $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$	1.72	1.81	1.49	1.81	
バッファー6、 $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$	1.64	1.76	1.88	1.85	
試験時点／バッファー、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$	1.55	1.47	2.21	1.31	1.41
バッファー2、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$	1.59	1.52	2.24	1.43	1.42
バッファー3、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$	2.34	1.49	1.74	1.37	1.44
バッファー4、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$	1.56	1.58	1.58	1.38	1.50
バッファー5、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$	1.72	1.70	1.43	1.90	1.54
バッファー6、 $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$	1.64	1.69	2.78	2.41	1.87
試験時点／バッファー、 $\leq -60^{\circ}\text{C}$	0ヶ月	1ヶ月	8週	3ヶ月	6ヶ月
バッファー1、 $\leq -60^{\circ}\text{C}$	1.55	1.54	2.30	1.38	1.47
バッファー2、 $\leq -60^{\circ}\text{C}$	1.59	1.53	1.70	1.46	1.51
バッファー3、 $\leq -60^{\circ}\text{C}$	2.34	2.25	1.95	1.61	2.27
バッファー4、 $\leq -60^{\circ}\text{C}$	1.56	1.52	1.63	1.49	1.46
バッファー5、 $\leq -60^{\circ}\text{C}$	1.72	2.81	2.07	2.26	1.95
バッファー6、 $\leq -60^{\circ}\text{C}$	1.64	1.58	1.93	1.47	1.59

【0 1 3 5】

S D S - P A G E アッセイの結果を表 1 3 ~ 1 8 に示しており、0、1、2、3、4、および6ヶ月目の測定値を示す。5 $\pm$ 3 $^{\circ}\text{C}$ で4か月の保管後に1 6 3 k D aの位置に余計なバンドを示すバッファー1を除いて、全試料が全ての温度に関して保管期間中安定性を示す。

【0 1 3 6】

【表 1 3】

表13: 保管時間=0ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	15.85	15.33	16.11	16.58	16.62	16.43
VP2	22.55	22.92	22.08	23.58	23.4	24.51
VP3	61.6	61.75	61.82	59.84	59.98	59.06
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

【0 1 3 7】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

表14A: $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ で保管時間=1ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 3	レーン 4	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	15.8	16.7	16.5	16.6	16.6	17.3
VP2	27.1	27.1	26.3	26.7	26.2	26.7
VP3	57.2	56.2	57.3	56.6	57.2	56.0
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

10

表14B: $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$ で保管時間=1ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 9	レーン 10	レーン 11	レーン 12	レーン 13	レーン 14
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	16.8	16.7	16.3	17.1	16.6	17.0
VP2	26.1	26.2	26.2	26.2	25.4	26.3
VP3	57.2	57.1	57.5	56.8	58.1	56.7
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

表14C: $\leq -60^{\circ}\text{C}$ で保管時間=1ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 15	レーン 16	レーン 17	レーン 18	レーン 19	レーン 20
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	16.5	16.5	16.3	16.4	16.4	17.7
VP2	26.3	26.8	26.1	26.9	26.5	27.2
VP3	57.2	56.7	57.6	56.7	57.1	55.1
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

20

【 0 1 3 8】

30

40

50

【表 1 5】

表15A: +5±3℃で保管時間=2ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 3	レーン 4	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	15.3	16.2	16.3	16.3	16.6	16.9
VP2	26.6	26.5	26.4	26.4	26.5	26.4
VP3	58.1	57.3	57.3	57.4	56.9	56.7
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

10

表15B: -20±2℃で保管時間=2ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 9	レーン 10	レーン 11	レーン 12	レーン 13	レーン 14
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	16.1	16.5	16.1	16.2	16.2	16.8
VP2	26.6	27.2	26.5	26.7	26.1	26.6
VP3	57.4	56.3	57.4	57.1	57.7	56.6
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

20

表15C: ≤-60℃で保管時間=2ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 15	レーン 16	レーン 17	レーン 18	レーン 19	レーン 20
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	16.4	16.5	16.4	16.7	16.9	17.7
VP2	26.5	26.8	26.4	26.5	26.7	27.3
VP3	57.1	56.6	57.2	56.7	56.5	55.0
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

【 0 1 3 9】

30

40

50

【表 1 6】

表16A: $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$ で保管時間=3ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8	レーン 9	レーン 10
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	19.58	18.95	18.78	18.6	18.69	18.45
VP2	27.6	27.33	27.65	27.32	27.31	27.21
VP3	52.82	53.72	53.57	54.08	53.99	54.35
SUM VP1+VP2+VP3	100	100	100	100	100	100

10

表16B: $\leq -60^{\circ}\text{C}$ で保管時間=3ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 12	レーン 13	レーン 14	レーン 15	レーン 16	レーン 17
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	18.6	18.49	18.91	19.14	19.08	19.07
VP2	27.06	26.6	27.69	27.04	27.81	27.57
VP3	54.34	54.92	53.4	53.82	53.12	53.36
SUM VP1+VP2+VP3	100	100	100	100	100	100

20

【0 1 4 0】

【表 1 7】

表17: $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$ で保管時間=4ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8	レーン 9	レーン 10
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
	5.39					
VP1	15.75	17.96	18.03	18.42	17.99	17.66
VP2	27.73	27.83	28.56	28.27	29.06	28.2
VP3	51.12	54.21	53.42	53.31	52.94	54.14
SUM VP1+VP2+VP3	94.6	100	100	100	100	100

30

【0 1 4 1】

40

50

【表 18】

表18A: $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ で保管時間=6ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8	レーン 9	レーン 10
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	19.26	19.27	19.01	18.81	18.59	18.72
VP2	27.79	27.64	26.85	27.25	26.93	26.83
VP3	52.95	53.09	54.14	53.94	54.48	54.45
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

10

表18B: $\leq -60^\circ\text{C}$ で保管時間=6ヶ月での純度および概要

バンド	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	試料 6
	レーン 12	レーン 13	レーン 14	レーン 15	レーン 16	レーン 17
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	18.63	18.33	18.46	18.73	18.8	18.94
VP2	26.83	26.61	27.29	26.5	26.53	27.16
VP3	54.54	55.07	54.25	54.77	54.67	53.9
SUM VP1+VP2+VP3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

20

【0142】

MFIを用いて測定した材料のサブミクロン粒子濃度の結果を表19～23に示す。このアッセイは、 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ で4ヶ月間、ならびに $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ および $\leq -60^\circ\text{C}$ で6ヶ月間のAAV材料の保管中におけるサブミクロン粒子の生成を観察するために実施した。

【0143】

【表 19】

表19: $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子(数/ml)の比較

試料	0ヶ月	4ヶ月 $+5 \pm 3^\circ\text{C}$	6ヶ月 $-20 \pm 2^\circ\text{C}$	6ヶ月 $\leq -60^\circ\text{C}$
試料 1	515.89		478.03	606.05
試料 2	548.45	826.43	748.80	688.69
試料 3	550.95	1179.54	1570.22	1450.01
試料 4	578.50	593.53		688.66
試料 5	813.91	5086.30	4299.94	4675.59
試料 6	1014.25	437.65		

30

【0144】

【表 20】

表20: $\geq 25 \mu\text{m}$ の粒子(数/ml)の比較

試料	0ヶ月	4ヶ月 $+5 \pm 3^\circ\text{C}$	6ヶ月 $-20 \pm 2^\circ\text{C}$	6ヶ月 $\leq -60^\circ\text{C}$
試料 1	100.17		117.63	157.77
試料 2	95.16	127.72	175.30	152.76
試料 3	107.69	383.13	250.43	185.32
試料 4	120.21	107.69		152.76
試料 5	127.72	833.94	558.47	548.45
試料 6	272.97	83.00		

40

【0145】

50

【表 2 1】

表21:0ヶ月での粒子濃度

大きさ	$\geq 1 \mu\text{m}$	$\geq 2 \mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$	$\geq 10 \mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$	$\geq 50 \mu\text{m}$	$\geq 70 \mu\text{m}$
試料 1	29107.85	9408.77	1803.12	515.89	100.17	20.03	7.51
試料 2	34912.89	10653.43	1878.25	548.45	95.16	12.52	2.50
試料 3	35030.59	10250.23	1783.08	550.95	107.69	25.04	10.02
試料 4	30908.46	9303.59	1798.11	578.50	120.21	17.53	5.01
試料 5	48681.70	12366.39	2376.61	813.91	127.72	20.03	2.50
試料 6	39713.69	11710.25	2784.82	1014.25	272.97	67.62	35.06

10

【0 1 4 6】

【表 2 2】

表22: +5 $\pm$ 3 $^{\circ}\text{C}$ で4ヶ月後の粒子濃度

大きさ	$\geq 1 \mu\text{m}$	$\geq 2 \mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$	$\geq 10 \mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$	$\geq 50 \mu\text{m}$	$\geq 70 \mu\text{m}$
試料 2 +5 $\pm$ 3 $^{\circ}\text{C}$	22999.78	11469.84	3551.14	826.43	127.72	22.54	2.50
試料 3 +5 $\pm$ 3 $^{\circ}\text{C}$	11504.90	5088.80	2033.52	1179.54	363.13	72.63	40.07
試料 4 +5 $\pm$ 3 $^{\circ}\text{C}$	28096.10	9498.93	1808.13	593.53	107.69	27.55	10.02
試料 5 +5 $\pm$ 3 $^{\circ}\text{C}$	19516.26	11943.16	7798.49	5080.30	633.94	75.13	22.54
試料 6 +5 $\pm$ 3 $^{\circ}\text{C}$	20710.38	6235.25	1466.38	437.65	83.00	22.64	7.55

20

【0 1 4 7】

【表 2 3】

表23: -20 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$ および $\leq$ -60 $^{\circ}\text{C}$ で6ヶ月後の粒子濃度

大きさ	$\geq 1 \mu\text{m}$	$\geq 2 \mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$	$\geq 10 \mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$	$\geq 50 \mu\text{m}$	$\geq 70 \mu\text{m}$
試料 1 -20 $^{\circ}\text{C}$	24131.83	6790.05	1501.67	478.03	117.63	45.05	12.51
試料 1 $\leq$ -60 $^{\circ}\text{C}$	24144.26	6836.93	1510.11	606.05	157.77	35.06	22.54
試料 2 -20 $^{\circ}\text{C}$	44356.72	16899.23	3591.21	748.80	175.30	42.57	12.52
試料 2 $\leq$ -60 $^{\circ}\text{C}$	32438.61	9433.82	2036.02	688.69	152.76	40.07	22.54
試料 3 -20 $^{\circ}\text{C}$	51606.76	9498.93	3032.75	1578.22	250.43	75.13	55.10
試料 3 $\leq$ -60 $^{\circ}\text{C}$	43041.95	9493.92	2874.97	1450.01	185.32	35.06	17.53
試料 4 $\leq$ -60 $^{\circ}\text{C}$	31191.45	8807.73	1930.84	668.66	152.76	32.56	10.02
試料 5 -20 $^{\circ}\text{C}$	82750.63	17525.31	7695.81	4299.94	558.47	50.09	25.04
試料 5 $\leq$ -60 $^{\circ}\text{C}$	77216.06	19578.87	8812.74	4675.59	548.45	50.09	22.54

30

【0 1 4 8】

オスモル濃度測定の結果を表 2 4 に示す。

40

【表 2 4】

表24:オスモル濃度測定

名前および組成	mOsmol/kg
バッファー1 ⁷ : Chatham バッファー+0.005% PS80	990
バッファー2 ⁷ : 20mM His、70mM NaCl、5%ショ糖、0.005% PS80	309
バッファー3 ⁷ : 20mM His、60mM NaCl、110mM マンニトール、35mMトレハロース二水和物、0.005% PS80	296
バッファー4 ⁷ : 10mM His、100mM NaCl、50mM グリシン、5%トレハロース二水和物、0.005% PS80	386
バッファー5 ⁷ : 15mM Na3Cit バッファー、15mM グリシン、20gマンニトール、10gトレハロース二水和物、0.005% PS80	212
バッファー6 ⁷ : 80mM TRIS、デキストラン T10 および T40、6.9%ショ糖、0.005% PS80	417

10

【0149】

結論として、 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ で4ヶ月後、ならびに $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ および $\leq -60^\circ\text{C}$ で6ヶ月後のAAV8滴定ELISAに関して、6つの製剤間で有意差はなかった。外観は、製剤2～5に関して適合するが、製剤1に関して少量の粒子が形成し、また製剤6においてわずかに黄色が観察された。製剤6および対照を除いて全ての製剤が、SDS-PAGE（デンシトメトリー法）により試験して、全ての温度に関して保管期間中の安定性を示した。外観、サブミクロン粒子アッセイ（MFI）データ、およびオスモル濃度値に基づき、更なる開発のために製剤2、3、および4を選択した。

20

【0150】

実施例2

この実施例は、3つの製剤の追加試験および更なる開発を実証する。

【0151】

製剤2、3、および4（バッファー2、3、および4、試料2、3、および4）を本質的に実施例1に記載のように製造した。簡単に説明すると、単一口ットをPBS/NaCl/ソルビトールバッファーで全90mLに希釈した。その溶液に0.005%のCroda super refined PS80を添加し、それを3等分した。Slide-A-Lyzer透析カセットにより3つの異なるバッファーのうちの1つまたは対照バッファーに交換し、このステップを試料の100倍体積で全3回繰り返した。3つの異なる溶液を、SiO₂層を有する2mLのSchott Type Iガラスバイアルに注入し、下記の温度で間保管した。

30

【0152】

この実施例では、「バッファー1」は、実施例1の製剤/バッファー/試料2を指し、「バッファー2」は、実施例1の製剤/バッファー/試料4を指し、「バッファー3」は、実施例1の製剤/バッファー/試料3を指し、また「バッファー4」はPBS/NaCl/ソルビトールバッファー対照を指す。明確にするため、表25～28は、この実施例のバッファー1～3およびPBS/NaCl/ソルビトールバッファー対照を説明する。

40

【0153】

50

【表 2 5】

表25: バッファー1 (製剤2)

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	20	3.103
NaCl	70	4.09
ショ糖	5%	50.00
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		
		7.5

10

【 0 1 5 4】

【表 2 6】

表26: バッファー2 (製剤4)

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	100	5.844
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		
7.0±0.1		

20

【 0 1 5 5】

【表 2 7】

表27: バッファー3 (製剤3)

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	20	3.103
NaCl	60	3.506
マンニトール	110	20.039
トレハロース二水和物	35	13.24
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		
7.0±0.1		

30

【 0 1 5 6】

40

50

【表 2 8】

表28: PBS／NaCl／ソルビトールバッファー対照

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
塩化ナトリウム	350	20.45
塩化カリウム	2.68	0.2
リン酸水素二ナトリウム二水和物	8.09	1.44
リン酸一カリウム	1.47	0.2
D-ソルビトール	5%	50.00
Croda super refined Tween 80 (PS80)	0.005%	0.05
25% HCl		pH 調整
1M NaOH		
精製水		
pH値	7.4±0.3	

10

【0 1 5 7】

≤ − 6 0 ° C (設定値 : − 8 0 ° C) および − 2 0 ± 2 ° C で 5 ヶ月まで (0 、 1 、 2 、 3 、 および 5 ヶ月) の間、ならびに 5 ± 3 ° C で 4 ヶ月まで (0 、 1 、 2 、 および 4 ヶ月) の間、中長期安定性試験を実施した。製剤は S i O₂ 層を有する 2 m L の S c h o t t T y p e I ガラスバイアル中で保管した。各バイアルに 0 . 3 m L の製剤を注入した。表 2 9 に記載する分析試験を実施し、指示される保管温度での各アッセイの試験時点を表 3 0 および 3 1 に示す。表 3 0 または 3 1 における「-」は試料が取得されなかったことを示す。

20

【0 1 5 8】

【表 2 9】

表29: 分析アッセイ

品質特性	分析法／原理による検出
一般	ポリソルベート80
	外観
	pH値
活性	In vitro 生物力価
	In vivo 生物力価
	FIX-qPCR
全粒子タイター(空+完全)	全 rAAV8 粒子 ELISA
AAV純度	SDS-PAGE (蛍光染色、4-12% BisTris ゲル／ Flamingo ゲルステイン)
化学的分解	
物理的劣化 (損傷カプシドまたは断片)	WAX [弱陰イオン交換 HPLC]
	SEC [サイズ排除 HPLC]

30

40

【0 1 5 9】

50

【表 3 0】

表30: $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ および $\leq -60^\circ\text{C}$ (設定値: -80°C) で保管した試料の試験概要

試験	試料体積	試験時点[ヶ月]					試料の総数
		0	1	2	3	5	
SDS-PAGE (蛍光染色、4-12% BisTris ゲル／Flamingo ゲルステイン)	0.3 ml	x	x	x	x	x	36
WAX [弱陰イオン交換 HPLC]	0.3 ml	x	x	x	x	x	36
SEC [サイズ排除 HPLC]	0.3 ml	x	x	x	x	x	36
In vitro 生物力価	0.3 ml	x	x	x	x	x	36
In vivo 生物力価	0.3 ml	x	x	-	-	x	20
FIX-qPCR	0.3 ml	x	x	x	x	x	36
全 rAAV8 粒子 ELISA	2 x 0.3 ml	x	x	x	x	x	72
外観	1 ml	x	x	-	-	-	136
pH値		x	x	-	-	-	12
ポリソルベート 80	0.3 ml	-	-	-	-	x	3

10

20

【 0 1 6 0】

【表 3 1】

表31: $+5 \pm 3^\circ\text{C}$ で保管した試料の試験概要

試験	試料体積	試験時点[ヶ月]				試料の総数
		0	1	2	4	
SDS-PAGE (蛍光染色、4-12% BisTris ゲル／Flamingo ゲルステイン)	0.3 ml	x	x	x	x	16
WAX [弱陰イオン交換 HPLC]	0.3 ml	x	x	x	x	16
SEC [サイズ排除 HPLC]	0.3 ml	x	x	x	x	16
In vitro 生物力価	0.3 ml	x	x	x	x	16
In vivo 生物力価	0.3 ml	x	x	-	x	12
FIX-qPCR	0.3 ml	x	x	x	x	16
全 rAAV8 粒子 ELISA	2 x 0.3 ml	x	x	x	x	32
外観	1 ml	x	x	x	x	56
pH値		x	x	-	-	8

30

40

【 0 1 6 1】

ELISAの結果を表32に示す。AAV8 滴定 ELISAは、 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ での保管中のバッファー4（対照）における大量の材料損失を示した。0ヶ月での 5.61×10^{12} [cp/ml]を4か月後の 2.71×10^{12} と比較のこと。 $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ および $\leq -60^\circ\text{C}$ で保存した同じ材料に関して、追加損失は観察されなかった。バッファー1および2は材料損失を全く示さなかった。バッファー3はより少ない開始材料の量を示したが、それは保管期間中に減少しない。

50

【表 3 2】

表32: AAV8 滴定 ELISA

AAV8 滴定 ELISA [cp/ml]、+5±3°C	0 ヶ月	+5±3°Cで 1 ヶ月	+5±3°Cで 2 ヶ月	+5±3°Cで 4 ヶ月	
バッファ-1	9.39E+12	7.46E+12	9.33E+12	8.56E+12	
バッファ-2	1.01E+13	7.46E+12	9.17E+12	9.90E+12	
バッファ-3	8.05E+12	6.69E+12	7.55E+12	8.03E+12	
バッファ-4	5.61E+12	4.80E+12	3.82E+12	2.71E+12	
AAV8 滴定 ELISA [cp/ml]、-20±2°C	0 ヶ月	-20±2°Cで 1 ヶ月	-20±2°Cで 2 ヶ月	-20±2°Cで 3 ヶ月	-20±2°Cで 5 ヶ月
バッファ-1	9.39E+12	7.59E+12	8.73E+12	8.67E+12	9.83E+12
バッファ-2	1.01E+13	7.81E+12	8.78E+12	9.17E+12	1.00E+13
バッファ-3	8.05E+12	6.60E+12	7.55E+12	7.52E+12	8.17E+12
バッファ-4	5.61E+12	5.35E+12	5.68E+12	5.17E+12	6.79E+12
AAV8 滴定 ELISA [cp/ml]、≤ -60°C	0 ヶ月	≤ -60°Cで 1 ヶ月	≤ -60°Cで 2 ヶ月	≤ -60°Cで 3 ヶ月	≤ -60°Cで 5 ヶ月
バッファ-1	9.39E+12	7.35E+12	9.13E+12	8.58E+12	9.62E+12
バッファ-2	1.01E+13	7.35E+12	9.46E+12	8.82E+12	9.98E+12
バッファ-3	8.05E+12	6.14E+12	7.77E+12	7.22E+12	8.59E+12
バッファ-4	5.61E+12	4.91E+12	6.45E+12	5.26E+12	6.00E+12

10

20

【 0 1 6 2】

qPCRの結果を表33に示す。このアッセイを用いて得られた全てのデータは、ELISAおよびin vitro生物力価アッセイを確認する。バッファ-4は高い試験変動量を示す。

【表 3 3】

表33: FIX-qPCR[v_g/ml]

FIX-qPCR [vg/ml]、+5±3°C	0 ヶ月	+5±3°Cで 1 ヶ月	+5±3°Cで 2 ヶ月	+5±3°Cで 4 ヶ月	
バッファ-1	6.11E+12	4.34E+12	1.74E+12	4.65E+12	
バッファ-2	4.34E+12	4.60E+12	5.16E+12	4.14E+12	
バッファ-3	3.66E+12	3.53E+12	3.86E+12	3.49E+12	
バッファ-4	1.62E+12	1.63E+12	1.92E+12	4.98E+12	
FIX-qPCR [vg/ml]、-20±2°C	0 ヶ月	-20±2°Cで 1 ヶ月	-20±2°Cで 2 ヶ月	-20±2°Cで 3 ヶ月	-20±2°Cで 5 ヶ月
バッファ-1	6.11E+12	3.42E+12	4.42E+12	4.10E+12	4.07E+12
バッファ-2	4.34E+12	3.57E+12	4.12E+12	4.01E+12	4.20E+12
バッファ-3	3.66E+12	2.23E+12	3.44E+12	3.51E+12	3.79E+12
バッファ-4	1.62E+12	4.33E+12	2.70E+12	3.29E+12	2.06E+12
FIX-qPCR [vg/ml]、≤ -60°C	0 ヶ月	≤ -60°Cで 1 ヶ月	≤ -60°Cで 2 ヶ月	≤ -60°Cで 3 ヶ月	≤ -60°Cで 5 ヶ月
バッファ-1	6.11E+12	4.59E+12	4.67E+12	4.06E+12	4.35E+12
バッファ-2	4.34E+12	3.78E+12	4.77E+12	2.78E+12	4.37E+12
バッファ-3	3.66E+12	2.57E+12	3.68E+12	3.48E+12	3.37E+12
バッファ-4	1.62E+12	1.47E+12	1.97E+12	1.60E+12	1.86E+12

30

40

50

【 0 1 6 3 】

%凝集体測定の結果を表 3 4 に示す。5 ± 3 °C で 4 か月間保管した後、凝集体値の通減が見られた。バッファー 4 は、3 か月後に 1 . 5 5 % から 3 . 3 9 % への増加を示し、4 か月後には全く凝集体を示さなかった。バッファー 3 は、≤ − 6 0 °C で 2 か月後に 6 . 6 4 % の高値に達し、それは 3 か月後に 3 . 2 5 % および 5 か月後に 3 . 9 4 % に下がった。
【表 3 4】

表34:凝集体[%]

凝集体 [%]、+5±3°C	0 ヶ月	+5±3°Cで 1 ヶ月	+5±3°Cで 2 ヶ月	+5±3°Cで 4 ヶ月	
バッファー1	2.39	2.34	2.26	1.40	
バッファー2	2.46	2.13	2.55	1.36	
バッファー3	2.65	2.49	2.79	1.39	
バッファー4	1.55	3.39	3.39	0.00	
凝集体 [%]、-20±2°C	0 ヶ月	-20±2°Cで 1 ヶ月	-20±2°Cで 2 ヶ月	-20±2°Cで 3 ヶ月	-20±2°Cで 5 ヶ月
バッファー1	2.39	2.35	2.49	2.46	2.81
バッファー2	2.46	2.30	2.48	2.42	2.47
バッファー3	2.65	2.62	2.91	2.79	2.85
バッファー4	1.55	3.06	3.24	3.73	3.66
凝集体 [%]、≤ -60°C	0 ヶ月	≤ -60°Cで 1 ヶ月	≤ -60°Cで 2 ヶ月	≤ -60°Cで 3 ヶ月	≤ -60°Cで 5 ヶ月
バッファー1	2.39	2.24	2.26	2.12	2.56
バッファー2	2.46	2.20	2.50	2.57	2.39
バッファー3	2.65	3.39	6.64	3.25	3.94
バッファー4	1.55	2.28	2.01		2.90

【 0 1 6 4 】

完全カプシドを測定する弱陰イオン交換（W A X）アッセイの結果は、全ての試験時点および保管温度に関して何ら意義のある差を示さなかった（表 3 5）。

【表 3 5】

表35: 完全カプシド[%]

完全カプシド [%]、+5±3℃	0ヶ月	+5±3℃で 1ヶ月	+5±3℃で 2ヶ月	+5±3℃で 4ヶ月	
バッファー1	61	62	67	62	
バッファー2	62	64	65	61	
バッファー3	63	62	64	63	
バッファー4	62	62	66	58	
完全カプシド [%]、-20±2℃	0ヶ月	-20±2℃で 1ヶ月	-20±2℃で 2ヶ月	-20±2℃で 3ヶ月	-20±2℃で 5ヶ月
バッファー1	61	64	68	63	62
バッファー2	62	63	66	61	61
バッファー3	63	62	66	63	61
バッファー4	62	62	64	63	60
完全カプシド [%]、≤ -60℃	0ヶ月	≤ -60℃で 1ヶ月	≤ -60℃で 2ヶ月	≤ -60℃で 3ヶ月	≤ -60℃で 5ヶ月
バッファー1	61	64	64	61	60
バッファー2	62	62	65	63	63
バッファー3	63	63	65	62	61
バッファー4	62	63	66	62	61

【0165】

in vitro 生物力価アッセイの結果を表36に示す。試験変動の範囲において、バッファー1、バッファー2、およびバッファー3に関して同様の変動する値が示される。バッファー4は、5±3℃で4か月間保管した後、大きな低下を示す。他の全てのバッファー、試験時点、および温度に関して同程度の結果が検出された。

【表 3 6】

表36:In vitro生物力価[BPU]

In vitro 生物力価 [BPU]、+5±3℃	0ヶ月	+5±3℃で 1ヶ月	+5±3℃で 2ヶ月	+5±3℃で 4ヶ月	
バッファ-1	1.05	0.87	1.05	1.22	
バッファ-2	0.85	1.02	1.02	1.07	
バッファ-3	0.78	0.90	1.14	1.20	
バッファ-4	0.67	0.65	0.57	0.13	
In vitro 生物力価 [BPU]、-20±2℃	0ヶ月	-20±2℃で 1ヶ月	-20±2℃で 2ヶ月	-20±2℃で 3ヶ月	-20±2℃で 5ヶ月
バッファ-1	1.05	0.83	1.23	1.09	1.24
バッファ-2	0.85	0.84	1.11	0.97	1.35
バッファ-3	0.78	0.68	0.94	1.13	1.25
バッファ-4	0.67	1.93	1.76	0.79	1.18
In vitro 生物力価 [BPU]、≤ -60℃	0ヶ月	≤ -60℃で 1ヶ月	≤ -60℃で 2ヶ月	≤ -60℃で 3ヶ月	≤ -60℃で 5ヶ月
バッファ-1	1.05	1.15	1.10	1.01	1.34
バッファ-2	0.85	1.09	0.80	0.96	1.21
バッファ-3	0.78	0.83	0.96	0.94	1.12
バッファ-4	0.67	0.80	0.98	0.68	1.08

【0166】

in vivo生物力価アッセイの結果を表37に示す。バッファ-1～3の結果は、試験変動の範囲において変動する結果を示す。バッファ-4では、5±3℃で0ヶ月における3.70 [IU/ml] から4か月後における1.33 [IU/ml] に低下し、また≤-60℃では0ヶ月における3.70 [IU/ml] から4か月後における6.73 [IU/ml] に上昇する。7日目の結果は、14日目の結果と同様であった。≤-60℃で1ヶ月保管した後の結果を、全ての保管温度に関する0ヶ月を表す基準値とした。

【0167】

10

20

30

40

50

【表 3 7】

表37:In vivo生物力価[IU/ml] 14日目の結果

In vivo 生物力価 [IU/ml]、+5±3℃	0ヶ月 14 日目	+5±3℃で 1ヶ月、 14 日目	+5±3℃で 2ヶ月、 14 日目	+5±3℃で 3ヶ月、 14 日目	+5±3℃で 4ヶ月、 14 日目	
バッファー1	3.48±1.28	5.91±1.33	4.82±0.63		4.76±0.55	
バッファー2	4.99±0.74	5.49±0.64	5.27±0.84		5.36±1.80	
バッファー3	4.43±1.15	6.42±0.89	4.64±1.42		5.58±0.68	
バッファー4	3.79±0.70	3.43±0.61	2.77±0.44		1.33±0.26	
In vivo 生物力価 [IU/ml]、-20±2℃	0ヶ月 14 日目	-20±2℃で 1ヶ月、 14 日目	-20±2℃で 2ヶ月、 14 日目	-20±2℃で 3ヶ月、 14 日目	-20±2℃で 4ヶ月、 14 日目	-20±2℃で 5ヶ月、 14 日目
バッファー1	3.48±1.28			5.09±2.25	4.97±1.30	5.28±0.55
バッファー2	4.99±0.74			5.85±0.74	4.88±1.44	5.04±0.70
バッファー3	4.43±1.15			4.34±1.62	5.16±0.79	5.03±1.00
バッファー4	3.79±0.70			3.42±1.46	4.20±1.74	4.39±0.76
In vivo 生物力価 [IU/ml]、≤ -60℃	0ヶ月 14 日目	≤ -60℃で 1ヶ月、 14 日目	≤ -60℃で 2ヶ月、 14 日目	≤ -60℃で 3ヶ月、 14 日目	≤ -60℃で 4ヶ月、 14 日目	≤ -60℃で 5ヶ月、 14 日目
バッファー1	3.48±1.28	3.48±1.28				5.99±1.58
バッファー2	4.99±0.74	4.99±0.74				5.68±1.02
バッファー3	4.43±1.15	4.43±1.15				4.63±1.33
バッファー4	3.79±0.70	3.79±0.70				6.73±0.90

【 0 1 6 8 】

【表 3 8】

表38: In vivo生物力価[IU/ml] 7日目の結果

In vivo 生物力価 [IU/ml]、+5±3℃	0ヶ月 7日目	+5±3℃で 1ヶ月、 7日目	+5±3℃で 2ヶ月、 7日目	+5±3℃で 3ヶ月、 7日目	+5±3℃で 4ヶ月、 7日目	
バッファ-1	2.35±0.79	3.86±0.93	3.15±0.29		2.70±0.32	
バッファ-2	3.41±0.55	3.31±0.68	3.81±0.74		3.46±0.23	
バッファ-3	3.29±0.25	3.58±0.59	3.09±0.76		3.12±0.36	
バッファ-4	2.30±0.48	2.00±0.40	1.68±0.30		0.80±0.04	
In vivo 生物力価 [IU/ml]、-20±2℃	0ヶ月 7日目	-20±2℃で 1ヶ月、 7日目	-20±2℃で 2ヶ月、 7日目	-20±2℃で 3ヶ月、 7日目	-20±2℃で 4ヶ月、 7日目	-20±2℃で 5ヶ月、 7日目
バッファ-1	2.35±0.79			3.20±1.40	2.91±0.81	3.29±0.56
バッファ-2	3.41±0.55			3.60±0.55	3.01±0.80	3.01±0.64
バッファ-3	3.29±0.25			3.04±1.11	3.12±0.56	3.18±0.69
バッファ-4	2.30±0.48			1.84±0.80	0.80±0.04	2.46±0.45
In vivo 生物力価 [IU/ml]、≤ -60℃	0ヶ月 7日目	≤ -60℃で 1ヶ月、 7日目	≤ -60℃で 2ヶ月、 7日目	≤ -60℃で 3ヶ月、 7日目	≤ -60℃で 4ヶ月、 7日目	≤ -60℃で 5ヶ月、 7日目
バッファ-1	2.35±0.79	2.35±0.79				4.02±1.11
バッファ-2	3.41±0.55	3.41±0.55				3.58±1.07
バッファ-3	3.29±0.25	3.29±0.97				2.67±0.74
バッファ-4	2.30±0.48	2.30±0.48				3.53±0.46

10

20

【0169】

SDS PAGE デンシトメトリーアッセイの結果を表39～44に示す。5 ± 3℃で4か月までの間の保管中、ならびに-20 ± 2℃および≤ -60℃で5か月までの間の保管中に余計なバンドは観察されなかった。

30

【0170】

【表 3 9】

表39: 0ヶ月保管での純度および概要

ベクタータンパク質	HT6AR00G (基準) 10µg/ml	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4
	レーン 3	平均値 L5-L7	平均値 L9-L11	平均値 L13-L15	平均値 L17-L19
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	11.4	17.5	17.5	17.2	15.6
VP2	10.9	19.9	20.9	20.4	18.8
VP3	77.7	62.6	61.6	62.4	65.6
合計 VP1+VP2+VP3 (純度)	100	100	100	100	100

40

【0171】

50

【表 4 0】

表40: 1ヶ月保管での純度および概要

ベクター タンパク質	基準	+5±3℃ 1ヶ月				-20±2℃ 1ヶ月				-60±2℃ 1ヶ月			
	HT6AR00G 10µg/ml	バッフ アー1	バッフ アー2	バッフ アー3	バッフ アー4	バッフ アー1	バッフ アー2	バッフ アー3	バッフ アー4	バッフ アー1	バッフ アー2	バッフ アー3	バッフ アー4
	レーン 3	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8	レーン 10	レーン 11	レーン 12	レーン 13	レーン 15	レーン 16	レーン 17	レーン 18
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	7.49	15.63	15.95	15.82	14.06	14.91	15.34	15.72	14.22	15.31	15.27	14.99	14.35
VP2	10.96	18.16	18.18	18.56	16.12	17.05	18.33	18.14	17.65	19.18	19.48	18.33	17.36
VP3	81.54	66.21	65.88	65.62	69.82	68.04	66.32	66.14	68.13	65.51	65.25	66.69	68.29
合計 VP1+VP2+VP3 (純度)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

10

【 0 1 7 2】

【表 4 1】

表41: 2ヶ月保管での純度および概要

ベクター タンパク質	基準	+5±3℃ 2ヶ月				-20±2℃ 2ヶ月				-60±2℃ 2ヶ月			
	HT6AR00G 10µg/ml	バッフ アー1	バッフ アー2	バッフ アー3	バッフ アー4	バッフ アー1	バッフ アー2	バッフ アー3	バッフ アー4	バッフ アー1	バッフ アー2	バッフ アー3	バッフ アー4
	レーン 3	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8	レーン 10	レーン 11	レーン 12	レーン 13	レーン 15	レーン 16	レーン 17	レーン 18
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	6.33	12.14	12.92	12.1	8.7	12.28	14.09	11.8	10.82	12.28	12.61	12.25	10.96
VP2	7.46	19.79	19.24	17.78	14.62	18.84	18.26	16.97	15.28	18.77	19.45	17.87	16.08
VP3	86.21	68.07	67.84	70.12	76.68	68.87	67.65	71.24	73.9	68.95	67.95	69.88	72.96
合計 VP1+VP2+VP3 (純度)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

20

30

【 0 1 7 3】

40

50

【表 4 2】

表42:3ヶ月保管での純度および概要

ベクター タンパク質	基準	-20±2℃ 3ヶ月				-60±2℃ 3ヶ月			
	HT6AR00G 10µg/ml	バッファー 1	バッファー 2	バッファー 3	バッファー 4	バッファー 1	バッファー 2	バッファー 3	バッファー 4
	レーン 3	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8	レーン 10	レーン 11	レーン 12	レーン 13
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	7.1	16.73	16.75	16.63	14.98	15.93	16	16.05	13.3
VP2	6.56	20.94	21.9	21.02	17.77	21.07	21.89	19.95	16.14
VP3	86.34	62.32	61.35	62.36	67.25	63	62.11	64.01	70.55
合計 VP1+VP2+VP3 (純度)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

10

【 0 1 7 4】

【表 4 3】

表43:3ヶ月保管での純度および概要

ベクタータンパク質	基準	+5±3℃ 4ヶ月			
	HT6AR00G 10µg/ml	バッファー1	バッファー2	バッファー3	バッファー4
	レーン 3	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	12.13	16.16	17.45	16.44	11.35
VP2	14.66	24.2	22.36	21.25	10.1
VP3	73.2	59.65	60.19	62.3	78.55
合計 VP1+VP2+VP3 (純度)	100	100	100	100	100

20

30

【 0 1 7 5】

【表 4 4】

表44:5ヶ月保管での純度および概要

	基準	-20±2℃ 5ヶ月				-60±2℃ 5ヶ月			
	HT6AR00G 10µg/ml	バッファー 1	バッファー 2	バッファー 3	バッファー 4	バッファー 1	バッファー 2	バッファー 3	バッファー 4
	レーン 3	レーン 5	レーン 6	レーン 7	レーン 8	レーン 10	レーン 11	レーン 12	レーン 13
	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %	バンド %
VP1	11.51	17.45	17.52	17.2	14.68	16.65	16.91	16.83	15.24
VP2	16.44	22.43	23.27	22.5	19.7	22.46	22.69	22.38	20.38
VP3	72.05	60.12	59.2	60.3	65.62	60.89	60.4	60.79	64.37
合計 VP1+VP2+VP3 (純度)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

40

50

【 0 1 7 6 】

外観試験の結果を表 4 5 ～ 4 8 に示しており、肉眼での粒子検査の分類は以下のとおりである：レベル A = 粒子が見えない；レベル B = 小さな単一粒子がわずかに見える；レベル C = 小さな単一粒子が容易に見える；レベル D = 多くの小さな粒子が容易に見える；およびレベル E = 1 mm 以上の粒子が見える。5 ± 3 °C、− 2 0 ± 2 °C、および ≤ − 6 0 °C（設定値：− 8 0 °C）での 1 か月後の全ての試料の外観は、目に見える粒子のない澄明で無色の溶液（下記においておよび明細書を通して「適合する」と表示される）を示した。

【 0 1 7 7 】

【表 4 5】

表 45: +25±2°C で 48 時間の間の外観

+25±2°Cでの外観	開始材料	1.5 時間	3 時間	4.5 時間	6 時間	24 時間	48 時間
AAV8 粒子の濃度: 8.8E+12 [cp/ml]							
バッファー1	A	A	A	A	A	A	A
バッファー2	A	A	A	A	A	A	A
バッファー3	A	A	A	A	A	A	A
バッファー4	A	A	A	A-B	A-B	A	A-B
AAV8 粒子の濃度: 17.6E+12 [cp/ml]							
バッファー1	A	A	A	A	A	A	A
バッファー2	A	A	A	A	A	A	A
バッファー3	A	A	A	A	A	A	A
バッファー4	A	A	B	A-B	A-B	A-B	A-B

【 0 1 7 8 】

【表 4 6】

表 46: +5±3°C で 4 ヶ月の間の外観

+5±3°Cでの外観	滅菌ろ過後短時間の開始材料	+5±3°Cで6日後の開始材料	1 ヶ月	2 ヶ月	4 ヶ月	4 ヶ月
AAV8 粒子の濃度: 8.8E+12 [cp/ml]						
バッファー1	A	基準に適合する	A	A	A	適合する
バッファー2	A		A	A	A	適合する
バッファー3	A		A	A	A	適合する
バッファー4	A	澄明、無色 目に見える粒子有	A-B	A-B (2 繊維)	A-B (2 繊維)	適合する
AAV8 粒子の濃度: 17.6E+12 [cp/ml]						
バッファー1	A	基準に適合する	A	A	A	適合する
バッファー2	A		A	A	A	適合する
バッファー3	A		A	A	A	適合する
バッファー4	A	澄明、無色、 目に見える粒子有	A-B	A-B (4 繊維)	A-B (4 繊維、 >5 粒子)	適合しない、 白い粒子 >10

【 0 1 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 4 7】

表47: -20±2℃で6ヶ月の間の外観

-20±2℃での外観	滅菌ろ過後短時間の開始材料	-20±2℃で凍結後の開始材料	-20±2℃で凍結後の開始材料	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月	4ヶ月	6ヶ月	6ヶ月
AAV8 粒子の濃度: 8.8E+12 [cp/ml]									
バッファー1	A	A	適合する	A	A	A	適合する	A	適合する
バッファー2	A	A-B	適合する	A	A	A	適合する	A	適合する
バッファー3	A	A	適合する	A	A	A-B	適合する	A-B	適合する
バッファー4	A	B (1 粒子)	澄明、無色 目に見える粒子有	A-B	A-B (3 繊維)	B (>5 粒子)	適合しない、白い 粒子> 5	C (> 6 繊維)	澄明、無色溶液 目に見える粒子有 > 10
AAV8 粒子の濃度: 17.6E+12 [cp/ml]									
バッファー1	A	A-B	適合する	A	A	A-B	適合する	A-B	適合する
バッファー2	A	A-B	適合する	A	A	A	適合する	A	適合する
バッファー3	A	A-B	適合する	A	A	A-B	適合する	A-B	適合する
バッファー4	A	B	澄明、無色 目に見える粒子有	A-B	A-B (2 繊維)	C (3 繊維, > 5 粒子)	適合しない、白い 粒子 > 5	C (3 繊維, > 10 粒子)	澄明、無色溶液 目に見える粒子有 > 10

【 0 1 8 0】

【表 4 8】

表48: ≤-60℃で6ヶ月の間の外観

≤ -60℃での外観	滅菌ろ過後短時間の開始材料	≤ -60℃で凍結後の開始材料	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	6ヶ月
AAV8 粒子の濃度: 8.8E+12 [cp/ml]							
バッファー1	A	A	A	A	A	A	適合する
バッファー2	A	A	A	A	A	A	適合する
バッファー3	A	A	A	A	A	A	適合する
バッファー4	A	A-B	A-B	A-B (3 繊維)	A-B (4 繊維)	A-B	適合する
AAV8 粒子の濃度: 17.6E+12 [cp/ml]							
バッファー1	A	A	A	A	A	A	適合する
バッファー2	A	A	A	A	A	A	適合する
バッファー3	A	A	A	A	A	A	適合する
バッファー4	A	A-B	A-B	A-B (3 繊維)	A-B (4 繊維)	B-C (> 5 繊維)	澄明、無色溶液 目に見える粒子有 > 10

【 0 1 8 1】

0ヶ月および指示温度で1ヶ月保管後のバッファー／製剤に関するpH値を表49に示す。

【表 4 9】

表49: 1ヶ月でのpH値

+5±3℃でのpH値	目標pH値	0ヶ月	+5±3℃で 1ヶ月
バッファー1	7.5	7.45	7.46
バッファー2	7.0	6.95	6.94
バッファー3	7.0	7.00	6.98
バッファー4	7.4	7.34	7.31
-20±2℃でのpH値	目標pH値	0ヶ月	-20±2℃で 1ヶ月
バッファー1	7.5	7.45	7.44
バッファー2	7.0	6.95	6.96
バッファー3	7.0	7.00	6.99
バッファー4	7.4	7.34	7.33
≤ -60℃でのpH値	目標pH値	0ヶ月	≤ -60℃で 1ヶ月
バッファー1	7.5	7.45	7.43
バッファー2	7.0	6.95	6.95
バッファー3	7.0	7.00	6.98
バッファー4	7.4	7.34	7.33

【0182】

≤ − 6 0℃で5ヶ月間保管後にポリソルベート80（P S 8 0）測定を実施した。その結果（表50に示される）は、≤ − 6 0℃で5ヶ月間保管後にP S 8 0の量が減少しなかったことを確認する。

【表 5 0】

表50: ポリソルベート80(HPLC法)

試料	μg/ml	回収率[%]
目標濃度	50	100%
試料1(バッファー1-製剤2)	62.6	125%
試料2(バッファー2-製剤4)	65.7	131%
試料3(バッファー3-製剤3)	47.8	96%

【0183】

この試験でのデータに基づき、試験した3つのバッファー／製剤のいずれか1つにおいて製剤化したときに、A A V 8の安定性プロファイルに有意差は見られなかった。従って、3つ全てがA A V 8 遺伝子治療製品の保管に適していると考えることができる。

【0184】

実施例 3

この実施例は、異なるバイアルおよびチューブの内部表面への吸着に関する2つの製剤の追加検査を実証する。

【0185】

実施例2に記載のバッファー1（製剤2）および2（製剤4）を、異なるバイアルおよびチューブの内部表面への吸着に関して試験した。バッファー1（ 1.717×10^{11} cp/ml）およびバッファー2（ 1.431×10^{11} cp/ml）を 1.1×10^{13} cp/mlの目標濃度まで希釈し、さらにP A L L E K Vフィルターを用いて滅菌ろ過した。後の参照のために、試料を2 ml ガラスバイアルに入れて凍結した。次いで、材料を表51に記載のようにバイアルおよびチューブに入れた。

10

20

30

40

50

【表 5 1】

表51

試料容器	注入体積
2 ml SiO ₂ ガラスバイアル 品番 3000375	0.3 ml
10 ml SiO ₂ ガラスバイアル 品番 3000727	5.6 ml
1.8 ml Nunc(登録商標)クライオチューブ(PP)	0.5 ml
0.5 ml Eppendorf セーフロックチューブ(登録商標)(PP)	0.2 ml
1.5 ml Eppendorf セーフロックチューブ(登録商標)(PP)	0.5 ml
0.5 ml Eppendorf Protein LoBind チューブ(登録商標)(PP)	0.2 ml
1.5 ml Eppendorf Protein LoBind チューブ(登録商標)(PP)	0.5 ml

10

【 0 1 8 6 】

試料を $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ で 8 時間保管し、その後 P D T S / A A V 8 滴定 E L I S A により試験した。アッセイの結果を表 5 2 に示す。

【表 5 2】

表52

保管容器	バッファー1 [cp/ml]	回収率[%]	バッファー2 [cp/ml]	回収率[%]
2 ml SiO ₂ バイアル, 開始材料	1.61E+13	100	1.04E+13	100
+25±2°Cで 8 時間後				
2 ml SiO ₂ バイアル	1.53E+13	95	1.05E+13	101
10 ml SiO ₂ バイアル	1.61E+13	100	1.03E+13	99
1.8 ml Nunc	1.56E+13	97	1.03E+13	99
0.5 ml セーフロックチューブ	1.60E+13	99	1.01E+13	97
1.5 ml セーフロックチューブ	1.69E+13	105	1.06E+13	102
0.5 ml LowBind チューブ	1.57E+13	97	9.85E+12	95
1.5 ml LowBind チューブ	1.62E+13	100	1.05E+13	101

20

30

【 0 1 8 7 】

これら結果は、開始遺伝子治療材料の 9 0 % 超が 2 m l の S i O ₂ バイアルから回収可能であることを実証する。吸着は全く見られず、2 つの試験バッファー間で有意差は見られなかった。

【 0 1 8 8 】

実施例 4

この実施例は、製剤 4 における様々な A A V サブタイプの安定性を実証する。

【 0 1 8 9 】

A A V サブタイプ、A A V 2、A A V 5、A A V 8、および A A V 9 を作成し (マサチューセッツ大学医学部 (ウースター校)、V e c t o r C o r e F a c i l i t y)、(実施例 1 ~ 3 に記載のような) 製剤 4 において保管し、その後、目に見える粒子が生じないことを確認するため外観に関して試験し、また i n v i t r o 生物力価アッセイでの投薬用にベクターゲノムを定量化するために I T R - q P C R により試験した。これらのサブタイプはそれぞれ、緑色蛍光タンパク質 (G r e e n F l u o r e s c e n c e P r o t e i n) をコードする e G F P パッケージインサート (C B 6 - P L - e G F P) を含んでいた。試験は、時点 0 に実施し、さらに $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ で保管の 6 週間後に再度実

40

50

施した。

【0190】

> 5 E + 1 2 v g / m I A A V 粒子の濃度で P B S 系バッファ（1 x P B S + 0 . 0 0 1 % プルロニック F - 6 8）中に提供された 2 m L の試料を周囲温度で融解し、製剤 4 を用いて 4 m l（およそ > 2 . 5 E + 1 2 v g / m l）に希釈した。製剤 4 からのおおよそ 0 . 0 0 2 5 % のポリソルベート 8 0 は、吸着（例えば、装置の内部表面への）による過度の材料損失を防いだ。各試料の全バッファを S l i d e - A - L y z e r（登録商標）1 0 K 透析カセットを用いて製剤 4 に交換し、1 0 0 倍体積でこのステップを 3 回実施し、各ステップについて最低 4 時間透析が行われた。バッファを製剤 4 に交換した後、最初の 0 週の試験時点用の試料を採取し、その後 + 5 ± 3 °C で 6 週間保管した。

10

【0191】

6 週間の保管後でさえ、製剤 4 において保管された様々な A A V サブタイプについて、目に見える粒子は観察されなかった（表 5 3）。従って、時点 0 で観察された賦形剤が 6 週までに消失した可能性がある。

【表 5 3】

表53: +5±3°Cで製剤4において保管中の外観

サブタイプ	試験時点	
	0 週	6 週
AAV2	粒子のない無色の溶液 混濁	
AAV5	粒子のない無色の溶液 ごくわずかに混濁	粒子のない澄明で無色の溶液
AAV8	粒子のない無色の溶液 わずかに混濁	粒子のない澄明で無色の溶液
AAV9	粒子のない澄明で無色の溶液	粒子のない澄明で無色の溶液

20

30

【0192】

I T R - q P C R アッセイの変動性（I T R - q P C R アッセイは ± 0 . 5 l o g の試験変動を有する）のせいかもしれないが A A V 2 の回収率は低かったが、他の A A V サブタイプは試験した 6 週間安定である。製剤 4 の使用は、A A V 8 サブタイプの驚くべき安定性をもたらした。

【表 5 4】

表54: +5±3°Cで製剤4において保管中のITR-qPCR[vg/ml]

サブタイプ	ITR-qPCR [vg/ml], 0 週	ITR-qPCR [vg/ml], 6 週	6 週後の回収率[%]
AAV2	6.45E+10	2.65E+10	41
AAV5	1.64E+12	1.44E+12	88
AAV8	1.85E+10	2.11E+10	114
AAV9	6.38E+11	5.24E+11	82

40

50

【0193】

実施例5

この実施例は、AAV製剤を凍結乾燥すること、特に製剤4におけるAAVの凍結乾燥の、実施可能性を実証する。

【0194】

AAV製剤4を凍結乾燥し、+5±3℃で10か月までの間保管した。簡単に説明すると、AAV8含有遺伝子治療材料を製造および凍結乾燥し、その後で凍結乾燥材料を含むバイアルを+5±3℃で保管した（SIZに連結したEurotherm Systemで制御）。各試験時点（1、2、3、6および10）に、1つのバイアルを5.5mlの精製水で再構成し、その液体を表55に従い分注した。バッファ「製剤4」のみを用いて凍結乾燥を2回実施し、それら実験の後に、製剤4に含まれる活性遺伝子治療材料を用いて凍結乾燥を実施した。活性遺伝子治療材料を含むバイアルを棚の前方、中央、または後方に置いた。AAVを含まない製剤4を入れた同じSiO₂ガラスバイアルで隙間を閉じた。

【表55】

表55: +5±3℃で保管した試料の試験概要

試験	試料体積	試験時点[ヶ月]					試料の 総数	判定基準
		1	2	3	6	10		
SDS-PAGE (蛍光染色、4-12% BisTris ゲル ／Flamingo ゲルステイン)	0.2 ml	x	x	x	x	x	5	報告結果
WAX [弱陰イオン交換 HPLC]	0.2 ml	x	x	x	x	x	5	
SEC [サイズ排除 HPLC]	0.2 ml	x	x	x	x	x	5	
In vitro 生物力価	0.5 ml	x	x	x	x	x	5	
外観	2 ml	x	x	x	x	x	5	
pH値		x	x	x	x	x		
In vivo 生物力価	0.5 ml	x	x	-	x	x	5	
FIX-qPCR	0.2 ml	x	x	x	x	x	5	
全 rAAV8 粒子 ELISA	2 x 0.2 ml	x	x	x	x	x	10	

【0195】

凍結乾燥の前後に異なるパラメータについて測定をおこなった。各測定に関して、3つの測定値（前方、中央および後方の試料）の平均を表56に報告する。残留水分を除いて、試験したパラメータに関して有意差は見られなかった。残留水分は、前方の試料に関して0.7%であり、前方では後方（3.6%が検出された）よりも速い乾燥が生じる。中央のバイアルは3.7%の残留水分であった。

【0196】

【表 5 6】

表56A:凍結乾燥後の遺伝子治療材料に関する異なるパラメータ

凍結乾燥 遺伝子治療製品の安定性	AAV8 滴定 ELISA [cp/ml]	FIX-qPCR [vg/ml]	In vitro 生物力価 [BPU]	In vivo 生物力価, 14 日目 [IU/ml]	外観	pH	残留水分	凝集体 [%]	WAX, 完全カプシド[%]
凍結乾燥前の開始材料	1.30E+13	4.99E+12	1.27	2.64	粒子のない 澄明で無色の溶液	7.02	0.7	3.1	55
前方	1.21E+13	2.73E+12	1.24	2.91	粒子のない 澄明で無色の溶液			4.2	50
中央	1.29E+13	4.02E+12	1.31	2.24	1 個の目に見える粒子 (2-3 mm の繊維)を有する 澄明で無色の溶液	7.02	3.7	3.8	57
後方	1.16E+13	3.99E+12	1.45	2.34	粒子のない 澄明で無色の溶液	7.02	3.6	4.2	56

表56B:凍結乾燥後の遺伝子治療材料に関する異なるパラメータ、回収率[%]

回収率[%]	AAV8 滴定 ELISA	FIX-qPCR	In vitro 生物力価	In vivo 生物力価, 14 日目
凍結乾燥前の開始材料	100	100	100	100
前方	93	55	98	110
中央	99	81	103	85
後方	89	80	114	89

【 0 1 9 7 】

10

20

30

40

50

【表 5 7】

表57: +5±3℃で10ヶ月までの間凍結乾燥ケーキとして保管後の遺伝子治療材料に関する異なるパラメータ

製剤4		外観	pH 値	AAV8 滴 定 ELISA [cp/ml]	回 収 率 [%]	FIX-qPCR [vg/ml]	回 収 率 [%]	In vitro 生物 力価 [BPU]	回 収 率 [%]	凝 集 体 [%]	WAX, 完全 カプ シド [%]	In vivo BP, 14 日 目	In vivo BP, 14 日 目, 回収 率[%]
凍結乾燥中 棚に載せる	凍結乾燥 前の開始 材料.	適合する		1.30E+13	100	4.99E+12	100	1.27	100	3.1	55	2.64	100
	凍結乾燥 後	前方:粒子のない澄明で無色 の溶液, 中央:1 個の目に見える粒子 (2-3 mm の繊維)を有する澄 明で無色の溶液 後方:粒子のない澄明で無色 の溶液	7.02	1.22E+13	94	3.58E+12	72	1.33	105	4.1	54	2.50	95
左前方	1 ヶ月	粒子のない澄明で無色の溶液	7.03	1.16E+13	89	1.64E+12	33	0.89	70	3.9	55	1.76	67
右前方	2 ヶ月	多くの目に見える粒子を有す る澄明で無色の溶液	7.05	1.14E+13	88	3.71E+12	74	0.95	75	4.1	50	2.14	81
中央	3 ヶ月	粒子のない澄明で無色の溶液	7.03	1.15E+13	89	3.07E+12	62	0.89	70	4.0	59	2.02	77
右前方	6 ヶ月	粒子のない澄明で無色の溶液	7.09	1.20E+13	92	3.97E+12	80	0.81	64	4.6	55	1.72	65
右後方	10 ヶ月	粒子のない澄明で無色の溶液	7.07	1.07E+13	83	4.22E+12	85	0.89	70	3.9	52	--	

【0198】

結論として、10ヶ月の時点で85%の回収率が得られた。in vitro生物力価（10ヶ月後に70%の回収率）、ならびにin vivo生物力価（6ヶ月後に65%の回収率）は、凍結乾燥の直後には損失を示さなかったが、保管の1ヶ月後にわずかな低下があった。しかしながら、10ヶ月の時点までに更なる活性の低下は見られなかった。完全カプシドのパーセンテージ、ならびに凝集体の結果は安定であった。

【0199】

実施例 6

この実施例は、凍結乾燥製剤の追加試験および更なる開発を実証する。

【0200】

異なるNaCl濃度を有する4つの異なる製剤を、2つの異なる凍結乾燥速度を用いて試験した（表58～61）。簡単に説明すると、凍結乾燥プログラムは、一次乾燥中-55℃～+2℃の間の温度勾配において異なっていた。一方のサイクルでは温度は1.5時間（プログラム1）の時間にわたり上昇したが、他方のサイクルでは温度は12時間（プログラム2）にわたり上昇した。

【0201】

10

20

30

40

50

【表 5 8】

表58: 製剤4

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	100	5.844
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

10

【 0 2 0 2】

【表 5 9】

表59: 製剤7

賦形剤	濃度 [mM]	濃度/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	80	4.675
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

20

【 0 2 0 3】

【表 6 0】

表60: 製剤8

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	70	4.091
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

30

40

【 0 2 0 4】

50

【表 6 1】

表61:製剤9

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	60	3.506
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

10

【 0 2 0 5 】

遺伝子治療材料を融解およびプールし、29.2 mLのプールした材料をSlide-A-Lyzer（登録商標）10 K透析カセットに充填した。バッファーを上記の製剤4、7、8、または9のいずれかに交換した。全ての試料を、最低3時間、100倍体積で3回透析した。透析後、5.5 mLの各材料を10 mLのSiO₂バイアルに入れた。凍結乾燥前に、凍結乾燥ストッパーを閉じないでガラスバイアルにセットした。凍結乾燥生成物を+5±3℃で12か月までの間保管した。

20

【 0 2 0 6 】

NaCl濃度が低くなるにつれ、残留水分が少なくなった（表62）。

【表 6 2】

表62:凍結乾燥直後の残留水分[%]の比較

残留水分 NaCl濃度／ プログラム	前方		中央			後方	
	前方 30/2 バッファー	前方 30/2 活性材料	中央 30/2 バッファー	中央 30/2 活性材料	中央 30/2a バッファー	後方 30/2 バッファー	後方 30/2 活性材料
100 mM	2.4	3.2	2.1	2.8	3.7	2.7	2.5
80 mM	2.1	1.7	1.6	1.7	2.7	1.8	2.1
70 mM	1.6	1.8	1.5	1.8	2.2	1.8	1.9
60 mM	1.2	1.2	1.3	0.9	1.4	1.2	1.3

30

【 0 2 0 7 】

凍結乾燥生成物を+5±3℃で12ヶ月までの間保管し、活性、全粒子タイター（空＋完全）、純度、分解、およびpHに関して試験した（表63および64）。各試験時点（0、1、3、6、および12ヶ月）において、1つのバイアルを5.5 mLの精製水で再構成し、その液体を表63に従い分注した。試料を≤−60℃（設定値：−80℃）で凍結し、試験した。凍結乾燥後、値の意義のある差は全く検出されず、全てのデータがアッセイ変動内であることが分かった。

40

【 0 2 0 8 】

50

【表 6 3】

表63: +5±3℃で保管した試料の試験概要

試験	試料体積	試験時点[ヶ月]					試料の総数	判定基準
		0	1	3	6	12		
SDS-PAGE (蛍光染色、 4-12% BisTris ゲル／ Flamingo ゲルステイン)	0.2 ml	x	x	x	x	x	40	報告結果
WAX [弱陰イオン交換 HPLC]	0.2 ml	x	x	x	x	x	40	
SEC [サイズ排除 HPLC]	0.2 ml	x	x	x	x	x	40	
外観	2 ml	x	x	x	x	x	40	
pH値		x	x	x	x	x		
In vitro 生物力価	0.5 ml	x	x	x	x	x	40	
In vivo 生物力価	0.5 ml	x	x	-	x	x	最低 8 (36)	
FIX-qPCR	0.2 ml	x	x	x	x	x	40	
全 rAAV8 粒子 ELISA	2 x 0.2 ml	x	x	x	x	x	80	
残留水分	1 バイアル	x	x	x	x	x	12	
再構成時間	1 バイアル	x	x	x	x	x	40	

【 0 2 0 9 】

10

20

30

40

50

【表 6 4】

表64:プログラム1の結果

NaCl濃度／ パラメータ	AAV8 粒 子 ELISA [vp/ml]	FIX-qPCR [vg/ml]	In vitro 生物力価 用量 FIX-qPCR [BPU]	In vitro 生物力価 用量 AAV8-ELISA タイター [BPU]	完全カプ シドの％ [%]	凝集体 [%]	pH	外観
開始材料 (100 mM)	1.39E+13				61	2.3	7.00	粒子のない 澄明で無色 の溶液
100 mM	1.17E+13	4.80E+12	0.75	0.68	63	3.5	7.00	粒子のない 澄明で無色 の溶液
80 mM	1.08E+13	5.06E+12	0.70	0.75	57	4.1	7.02	粒子のない 澄明で無色 の溶液
70 mM	1.20E+13	4.17E+12	0.77	0.74	54	4.1	7.00	粒子のない 澄明で無色 の溶液
60 mM	1.32E+13	4.73E+12	0.67	0.68	55	3.9	7.04	粒子のない 澄明で無色 の溶液

【 0 2 1 0 】

要約すると、プログラム 1 はより挑戦的なプログラムであったが、より密でかつ均質な凍結乾燥ケーキをもたらした。NaCl 濃度が低くなると、残留水分の値が低くなった。外観は、開始材料、ならびに透析、凍結乾燥および再構成後の各 NaCl 濃度に関して、「目に見える粒子のない澄明で無色の溶液」に適合した。pH 測定、AAV8 粒子 ELISA、FIX-qPCR および in vitro 生物力価アッセイの結果は、各 NaCl 濃度に関して同様の値を示した。WAX アッセイ（完全カプシドのパーセンテージ）は、54%～63%の範囲内の試験変動を示した（表 6 9）。凝集体は、未処置開始材料の 2.3% から、透析および凍結乾燥した遺伝子治療材料における 3.5% および 4.1% への増加を示した。各 NaCl 濃度に関して凍結乾燥ケーキは白く、密でかつ均質である。

【 0 2 1 1 】

実施例 7

この実施例は更なる製剤を実証する。

【 0 2 1 2 】

製剤 1 0 および 1 1 を本質的に実施例 1 に記載のように製造した。

【 0 2 1 3 】

10

20

30

40

50

【表 6 5】

表65: 製剤10

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	30	1.753
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

10

【 0 2 1 4】

【表 6 6】

表66: 製剤11

賦形剤	濃度 [mM]	濃度/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	0	0
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

20

【 0 2 1 5】

実施例 8

この実施例は更なる製剤を実証する。

30

【 0 2 1 6】

製剤 1 2 ～ 1 5 を本質的に実施例 1 に記載のように製造した。

【 0 2 1 7】

【表 6 7】

表67: 製剤12

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
Ｌ－ヒスチジン	10	1.552
NaCl	50	2.922
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値		7.0±0.1

40

【 0 2 1 8】

50

【表 6 8】

表68: 製剤13

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
L-ヒスチジン	10	1.552
NaCl	40	2.338
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値	7.0±0.1	

10

【 0 2 1 9】

【表 6 9】

表69: 製剤14

賦形剤	濃度 [mM]	濃度 g/kg バッファー
L-ヒスチジン	10	1.552
NaCl	20	1.169
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値	7.0±0.1	

20

【 0 2 2 0】

【表 7 0】

表70: 製剤15

賦形剤	濃度 [mM]	濃度/kg バッファー
L-ヒスチジン	10	1.552
NaCl	10	0.584
グリシン	50	3.754
トレハロース二水和物	5%	50
Croda super refined Tween 80	0.005%	0.05
精製水		1kgまで添加
pH値	7.0±0.1	

30

40

【 0 2 2 1】

本明細書で引用される、出版物、特許出願および特許を含むあらゆる参考文献は、各参考文献が個別におよび具体的にその全体が参照により組み込まれることが指摘されているかのように、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 2 2 2】

本明細書に記載される全ての方法は、本明細書に別段の指示がない限り、または文脈において明らかに矛盾しない限り、任意の適切な順序で実施されうる。本明細書に提供される任意のおよび全ての例、または例示的な言語（例えば、「など」）の使用は、単に本開示をより明確に説明することを意図しており、別段に特許請求の範囲に記載されていない

50

限り、本開示の範囲に限定を課すものではない。本明細書における言語は、特許請求の範囲に記載されていないいずれの要素も本開示の実施に必須であるとして指示すると解釈されるべきではない。

【0223】

本開示を実施するために発明者に分かっているベストモードを含む、本開示の好ましい実施形態を明細書中に記載する。それら好ましい実施形態の変形は、上記の説明を読むことにより当業者に明らかになるであろう。発明者は、当業者がそのような変形が適切であるとして利用することを予測し、さらに発明者は、具体的に明細書中に記載されているものとは別のやり方でその発明が実施されることを意図している。従って、本開示は、適用法に容認される、添付の特許請求の範囲に記載の主題の全ての変形および等価物を包含する。さらには、本明細書に別段の指示がない限り、または文脈において明らかに矛盾しない限り、上記の要素のあらゆる組合せもその全ての可能な変形において本開示に包含される。

最後に、本発明の好ましい実施態様を項分け記載する。

【実施形態1】

アデノ随伴ウイルス(AAV)；ならびに

(i) 約5 mM～約25 mMの緩衝剤；

(ii) 約50 mM～約150 mMの薬学的に許容される塩；

(iii) 約0.001% (w/v)～約0.01% (w/v)の非イオン性界面活性剤；および

(iv) 約1%～約10% (w/v)の糖、糖アルコールまたはそれらの組合せを含む、医薬組成物。

【実施形態2】

アデノ随伴ウイルス(AAV)；ならびに

(i) 約5 mM～約25 mMの緩衝剤；

(ii) 約100 mM未満の薬学的に許容される塩；

(iii) 約0.001% (w/v)～約0.01% (w/v)の非イオン性界面活性剤；および

(iv) 約1%～約10% (w/v)の糖、糖アルコールまたはそれらの組合せを含む、医薬組成物。

【実施形態3】

約6.9～約7.7のpH、任意選択で約7.0または約7.5のpHを有する、実施形態1または2に記載の医薬組成物。

【実施形態4】

前記緩衝剤がL-ヒスチジンである、実施形態1～3のいずれかに記載の医薬組成物。

【実施形態5】

約5 mM～約25 mMまたは約10 mM～約20 mMのL-ヒスチジンを含む、実施形態4に記載の医薬組成物。

【実施形態6】

前記薬学的に許容される塩が、ナトリウム塩、アンモニウム塩、またはカリウム塩である、実施形態1～5のいずれかに記載の医薬組成物。

【実施形態7】

約50 mM～約120 mMの塩化ナトリウムを含む、実施形態6に記載の医薬組成物。

【実施形態8】

約0 mM～約100 mM、約0 mM～約60 mM、30 mM～約100 mM、30 mM～約80 mM、または30 mM～約60 mMの塩化ナトリウムを含む、実施形態6または7に記載の医薬組成物。

【実施形態9】

約60 mM～約100 mMまたは約60 mM～約80 mMの塩化ナトリウムを含む、実施形態6～8のいずれかに記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

〔実施形態 10〕

前記非イオン性界面活性剤が P S 8 0 である、実施形態 1 ～ 9 のいずれかに記載の医薬組成物。

〔実施形態 11〕

約 0.0025% ～ 約 0.0075% (w/v) の P S 8 0 を含む、実施形態 10 に記載の医薬組成物。

〔実施形態 12〕

前記糖が、ショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せである、実施形態 1 ～ 11 のいずれかに記載の医薬組成物。

〔実施形態 13〕

約 1% (w/v) ～ 約 5% (w/v) のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せを含む、実施形態 12 に記載の医薬組成物。

〔実施形態 14〕

トレハロースはトレハロース二水和物である、実施形態 12 または 13 に記載の医薬組成物。

〔実施形態 15〕

グリシンをさらに含む、実施形態 1 ～ 14 のいずれかに記載の医薬組成物。

〔実施形態 16〕

約 35mM ～ 約 65mM のグリシンを含む、実施形態 15 に記載の医薬組成物。

〔実施形態 17〕

マンニトールをさらに含む、実施形態 1 ～ 16 のいずれかに記載の医薬組成物。

〔実施形態 18〕

約 80mM ～ 約 120mM のマンニトールを含む、実施形態 17 に記載の医薬組成物。

〔実施形態 19〕

デキストランを含まない、実施形態 1 ～ 18 のいずれかに記載の医薬組成物。

〔実施形態 20〕

グリシンまたはマンニトールを含む、実施形態 1 ～ 19 のいずれかに記載の医薬組成物。

〔実施形態 21〕

P S 8 0 が Super R e f i n e d (商標) P S 8 0 である、実施形態 10 ～ 20 のいずれかに記載の医薬組成物。

〔実施形態 22〕

アデノ随伴ウイルス (A A V)、ならびに
(i) 約 20mM の L - ヒスチジン、
(i i) 約 70mM の塩化ナトリウム、
(i i i) 約 0.005% (w/v) のポリソルベート 80 (P S 8 0)、および
(i v) 約 5% (w/v) のショ糖
を含む、医薬組成物。

〔実施形態 23〕

アデノ随伴ウイルス (A A V)、ならびに
(i) 約 10mM の L - ヒスチジン、
(i i) 約 100mM の塩化ナトリウム、
(i i i) 約 0.005% (w/v) のポリソルベート 80 (P S 8 0)、
(i v) 約 5% (w/v) のトレハロース、および
(v) 約 50mM のグリシン
を含む、医薬組成物。

〔実施形態 24〕

アデノ随伴ウイルス (A A V)、ならびに
(i) 約 10mM の L - ヒスチジン、
(i i) 約 100mM 未満の塩化ナトリウム、
(i i i) 約 0.005% (w/v) のポリソルベート 80 (P S 8 0)、

10

20

30

40

50

(i v) 約 5 % (w / v) のトレハロース、および
(v) 約 50 mM のグリシン
を含む、医薬組成物。

[実施形態 25]

約 80 mM の塩化ナトリウムを含む、実施形態 1 ～ 21 および 24 のいずれかに記載の
医薬組成物。

[実施形態 26]

約 70 mM の塩化ナトリウムを含む、実施形態 1 ～ 21 および 24 のいずれかに記載の
医薬組成物。

[実施形態 27]

約 60 mM の塩化ナトリウムを含む、実施形態 1 ～ 21 および 24 のいずれかに記載の
医薬組成物。

[実施形態 28]

約 50 mM の塩化ナトリウムを含む、実施形態 1 ～ 21 および 24 のいずれかに記載の
医薬組成物。

[実施形態 29]

約 40 mM の塩化ナトリウムを含む、実施形態 1 ～ 21 および 24 のいずれかに記載の
医薬組成物。

[実施形態 30]

約 30 mM の塩化ナトリウムを含む、実施形態 1 ～ 21 および 24 のいずれかに記載の
医薬組成物。

[実施形態 31]

約 0 mM の塩化ナトリウムを含む、実施形態 1 ～ 21 および 24 のいずれかに記載の医
薬組成物。

[実施形態 32]

アデノ随伴ウイルス (AAV)、ならびに

(i) 約 20 mM の L-ヒスチジン、

(i i) 約 60 mM の塩化ナトリウム、

(i i i) 約 0.005 % (w / v) のポリソルベート 80 (PS80)、

(i v) 約 35 mM のトレハロース、および

(v) 約 110 mM のマンニトール

を含む、医薬組成物。

[実施形態 33]

AAV を含む、実施形態 1 ～ 32 のいずれかに記載の医薬組成物。

[実施形態 34]

AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8
、AAV9、または AAV10 含む、実施形態 1 ～ 33 のいずれかに記載の医薬組成物。

[実施形態 35]

AAV8 含む、実施形態 1 ～ 34 のいずれかに記載の医薬組成物。

[実施形態 36]

液体である、実施形態 1 ～ 35 のいずれかに記載の医薬組成物。

[実施形態 37]

凍結乾燥されている、実施形態 1 ～ 36 のいずれかに記載の医薬組成物。

[実施形態 38]

単位用量容器中に存在する、実施形態 1 ～ 37 のいずれかに記載の医薬組成物。

[実施形態 39]

前記単位用量容器がバイアルである、実施形態 38 に記載の医薬組成物。

[実施形態 40]

前記バイアルが密封ガラスバイアルである、実施形態 39 に記載の医薬組成物。

[実施形態 41]

10

20

30

40

50

アデノ随伴ウイルス（AAV）を含む医薬組成物を調製する方法であって、実施形態1～40のいずれかに記載の医薬組成物の緩衝剤、薬学的に許容される塩、非イオン性界面活性剤、および糖、糖アルコールまたはそれらの組合せを配合して、AAVを含む医薬組成物を得ることを含む、方法。

〔実施形態42〕

アデノ随伴ウイルス（AAV）を含む医薬組成物を調製する方法であって、約5mM～約25mMのL-ヒスチジン、約0mM～約150mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、約1%（w/v）～約10%（w/v）のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せ、およびAAVを配合して、AAVを含む医薬組成物を得ることを含む、方法。

10

〔実施形態43〕

対象において出血性疾患を治療する方法であって、疾患または疾病を治療するのに有効な量で実施形態1～40のいずれかに記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法。

〔実施形態44〕

疾患または疾病が出血性疾患である、実施形態43に記載の方法。

〔実施形態45〕

AAVを含む組成物を保管する方法であって、実施形態1～40のいずれかに記載の医薬組成物の緩衝剤、薬学的に許容される塩、非イオン性界面活性剤、および糖、糖アルコールまたはそれらの組合せを配合することを含む、方法。

20

〔実施形態46〕

AAVを含む組成物を保管する方法であって、約5mM～約25mMのL-ヒスチジン、約0mM～約150mMの塩化ナトリウム、約0.001%（w/v）～約0.01%（w/v）のポリソルベート80（PS80）、約1%～約10%（w/v）のショ糖、トレハロースまたはそれらの組合せ、およびAAVを配合することを含む、方法。

〔実施形態47〕

約50mM～約150mMの塩化ナトリウムを含む、実施形態42または46に記載の方法。

〔実施形態48〕

約30mM～約100mM未満の塩化ナトリウムを含む、実施形態42または46に記載の方法。

30

〔実施形態49〕

約0mM～約100mM未満の塩化ナトリウムを含む、実施形態42および46～48のいずれかに記載の方法。

〔実施形態50〕

約30mMの塩化ナトリウムを含む、実施形態42および46～49のいずれかに記載の方法。

〔実施形態51〕

約60mMの塩化ナトリウムを含む、実施形態42および46～49のいずれかに記載の方法。

40

〔実施形態52〕

約0mMの塩化ナトリウムを含む、実施形態42および46～49のいずれかに記載の方法。

フロントページの続き

米国(US)
オーストリア国 1020 ウィーン フォルガルテンシュトラッセ 221/1/7
(72)発明者 ミッテルグラトネッガー, ドミニク
オーストリア国 1020 ウィーン ファニー--ミンツ ガッセ 3/142
(72)発明者 タビシュ, タンヴィール
オーストリア国 1210 ウィーン ブルナー シュトラッセ 213 アパートメント 213
合議体
審判長 松波 由美子
審判官 富永 みどり
審判官 岡山 太一郎
(56)参考文献 特表2003-525909 (JP, A)
特表平2-503266 (JP, A)
特表2002-506048 (JP, A)
特表平9-504429 (JP, A)
国際公開第2016/154055 (WO, A1)
米国特許出願公開第2003/0153065 (US, A1)
(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
A61K
Caplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (ST
N)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)