

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第1部門第1区分
 【発行日】令和7年3月17日(2025.3.17)

【国際公開番号】WO2022/189807
 【公表番号】特表2024-512397(P2024-512397A)
 【公表日】令和6年3月19日(2024.3.19)
 【年通号数】公開公報(特許)2024-051
 【出願番号】特願2023-555335(P2023-555335)
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/31(2006.01)
 C 0 7 K 14/33(2006.01)
 C 1 2 P 21/02(2006.01)
 A 6 1 K 38/48(2006.01)
 A 6 1 P 25/00(2006.01)
 A 6 1 P 21/02(2006.01)
 A 6 1 P 17/00(2006.01)
 G 0 1 N 33/68(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/31
 C 0 7 K 14/33 Z N A
 C 1 2 P 21/02 C
 A 6 1 K 38/48
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 21/02
 A 6 1 P 17/00
 G 0 1 N 33/68

20

【手続補正書】

【提出日】令和7年3月7日(2025.3.7)

30

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下を含む改変クロストリジウム神経毒:

(a) ボツリヌス神経毒A(BoNT/A)_{HCC}ドメイン、ここで、当該HCCドメインは、メチオニン1144(M1144)の改変を含み、当該改変は、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒と比較した場合に、改変クロストリジウム神経毒の酸化耐性を増大し、かつ、アミノ酸位置番号付けが、配列番号2とのアライメントによって定義される;または

40

(b) 以下を含む改変BoNT/A1_{HCC}ドメイン、改変BoNT/A3_{HCC}ドメイン、または改変BoNT/A4_{HCC}ドメイン、

(i)RX₁X₂VX₃TTNIYLN_SX₄LYX₅GT(配列番号102)、ここで、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃が酸化に対して耐性であるアミノ酸であり、X₄がSまたはTであり、X₅がMまたはRである;または

(ii)RX₁X₂VTTNIYLN_SX₃LYX₄GT(配列番号111)、ここで、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃がSまたはTであり、X₄がMまたはRである。

【請求項2】

50

改変クロストリジウム神経毒が、配列番号63～69、71～77、79～85、87～93または95～101のいずれか1つに対して少なくとも70%、80%、90%、95%または98%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、請求項1に記載の改変クロストリジウム神経毒。

【請求項3】

(a) 改変が、M1144の、酸化に対して耐性であるアミノ酸との置換であり、随意により、改変がM1144V、M1144G、M1144L、M1144T、M1144AおよびM1144Iから選択される置換であり、かつ/または、置換がM1144のみでの置換である、かつ/または、

(b) 改変H_{CC}ドメインがRX₁X₂VX₃TTNIYLN_SX₄LYX₅GT(配列番号102)を含み、ここで、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃が酸化に対して耐性であるアミノ酸であり、X₄がSまたはTであり、X₅がMまたはRであり、随意により、ここで、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃が酸化に対して耐性であるアミノ酸であり、X₄がSまたはTであり、X₅がMまたはRであり、かつ、当該改変H_{CC}ドメインが、配列番号63～69、71～77、79～85、87～93または95～101のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

請求項1に記載の改変クロストリジウム神経毒。

【請求項4】

(a) 改変がM1144の欠失である、かつ/または

(b) 改変H_{CC}ドメインが、RX₁X₂VTTNIYLN_SX₃LYX₄GT(配列番号111)を含み、ここで、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃がSまたはTであり、X₄がMまたはRであり、随意により、当該改変H_{CC}ドメインが、配列番号63～69、71～77、79～85、87～93または95～101のいずれか1つに対して少なくとも70%、80%、90%、95%または98%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

請求項1に記載の改変クロストリジウム神経毒。

【請求項5】

(a) BoNT/A H_{CC}ドメインが、BoNT/A1 H_{CC}ドメイン、BoNT/A3 H_{CC}ドメインまたはBoNT/A4 H_{CC}ドメインである、かつ/または

(b) 改変クロストリジウム神経毒が、改変BoNT/A1、改変BoNT/A3または改変BoNT/A4である、かつ/または

(c) 改変クロストリジウム神経毒は、ASN886、ASN905、GLN915、ASN918、GLU920、ASN930、ASN954、SER955、GLN991、GLU992、GLN995、ASN1006、ASN1025、ASN1026、ASN1032、ASN1043、ASN1046、ASN1052、ASP1058、HIS1064、ASN1080、GLU1081、GLU1083、ASP1086、ASN1188、ASP1213、GLY1215、ASN1216、GLN1229、ASN1242、ASN1243、SER1274およびTHR1277のうち1つ以上の改変をさらに含む改変BoNT/A1であり、

好ましくは、改変が以下から選択される：

(i) 酸性アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基との置換；

(ii) 酸性アミノ酸残基の無電荷アミノ酸残基との置換；

(iii) 無電荷アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基との置換；

(iv) 塩基性アミノ酸残基の挿入；および

(v) 酸性アミノ酸残基の欠失、かつ/または

(d) 改変クロストリジウム神経毒が、配列番号3～9、12～18、21～27、30～36、39～45、47～53または55～61のいずれか1つに対して少なくとも70%、80%、90%、95%または98%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、かつ/または

(e) 改変クロストリジウム神経毒が、単鎖改変クロストリジウム神経毒である、または、ジスルフィド結合によって一緒に繋がられた軽鎖および重鎖を含む二本鎖改変クロストリジウム神経毒である、かつ/または

(f) 改変クロストリジウム神経毒が、軽鎖中に1つ以上のさらなる改変を含まない(例えば、未改変軽鎖と比較した場合に)、

10

20

30

40

50

請求項1～4のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム神経毒。

【請求項6】

以下を含む、改変クロストリジウム神経毒を生成する方法:

(a)(少なくとも)ボツリヌス神経毒A(BoNT/A)H_{CC}ドメインをコードする第1の核酸を提供し、コードされるH_{CC}ドメインのメチオニン1144(M1144)で改変を導入するように第1の核酸を改変し、それによって、第2の核酸を生成すること、ここで、当該改変は、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒と比較した場合に改変クロストリジウム神経毒の酸化耐性を増大する;または

(b)請求項1に記載の改変クロストリジウム神経毒をコードする核酸を合成し、それによって、合成された核酸を提供すること;または

(c)(少なくとも)ボツリヌス神経毒A(BoNT/A)H_{CC}ドメインをコードする核酸を合成し、ここで、当該H_{CC}ドメインは、メチオニン1144(M1144)の改変を含み、当該改変は、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒と比較した場合に改変クロストリジウム神経毒の酸化耐性を増大する、それによって、合成された核酸を提供すること;および

(d)第2の核酸または合成された核酸をそれぞれ発現させ、それによって、改変クロストリジウム神経毒を生成すること;

ここで、アミノ酸位置番号付けは、配列番号2とのアライメントによって定義される。

【請求項7】

(a)改変が、M1144の、酸化に対して耐性であるアミノ酸との置換であり、随意により、改変がM1144V、M1144G、M1144L、M1144T、M1144AおよびM1144Iから選択される置換であり、かつ/または、置換がM1144のみでの置換である、かつ/または

(b)改変H_{CC}ドメインがRX₁X₂VX₃TTNIYLN_SX₄LYX₅GT(配列番号102)を含み、ここで、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃が酸化に対して耐性であるアミノ酸であり、X₄がSまたはTであり、X₅がMまたはRであり、随意により、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃が酸化に対して耐性であるアミノ酸であり、X₄がSまたはTであり、X₅がMまたはRであり、かつ、当該改変H_{CC}ドメインが、配列番号63～69、71～77、79～85、87～93または95～101のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

請求項6に記載の方法。

【請求項8】

(a)改変がM1144の欠失である、かつ/または

(b)改変H_{CC}ドメインが、RX₁X₂VTTNIYLN_SX₃LYX₄GT(配列番号111)を含み、ここで、X₁がDまたはGであり、X₂がSまたはNであり、X₃がSまたはTであり、X₄がMまたはRであり、随意により、当該改変H_{CC}ドメインが、配列番号63～69、71～77、79～85、87～93または95～101のいずれか1つに対して少なくとも70%、80%、90%、95%または98%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

請求項6に記載の方法。

【請求項9】

(a)BoNT/A H_{CC}ドメインが、BoNT/A1 H_{CC}ドメイン、BoNT/A3 H_{CC}ドメインまたはBoNT/A4 H_{CC}ドメインである、かつ/または

(b)改変クロストリジウム神経毒が、改変BoNT/A1、改変BoNT/A3または改変BoNT/A4である、かつ/または

(c)改変クロストリジウム神経毒は、ASN886、ASN905、GLN915、ASN918、GLU920、ASN930、ASN954、SER955、GLN991、GLU992、GLN995、ASN1006、ASN1025、ASN1026、ASN1032、ASN1043、ASN1046、ASN1052、ASP1058、HIS1064、ASN1080、GLU1081、GLU1083、ASP1086、ASN1188、ASP1213、GLY1215、ASN1216、GLN1229、ASN1242、ASN1243、SER1274およびTHR1277のうち1つ以上の改変をさらに含む改変BoNT/A1であり、

10

20

30

40

50

好ましくは、改変が以下から選択される：

(i) 酸性アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基との置換；

(ii) 酸性アミノ酸残基の無電荷アミノ酸残基との置換；

(iii) 無電荷アミノ酸残基の塩基性アミノ酸残基との置換；

(iv) 塩基性アミノ酸残基の挿入；および

(v) 酸性アミノ酸残基の欠失、かつ/または

(d) 改変クロストリジウム神経毒が、配列番号3～9、12～18、21～27、30～36、39～45、47～53または55～61のいずれか1つに対して少なくとも70%、80%、90%、95%または98%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、かつ/または

(e) 改変クロストリジウム神経毒が、単鎖改変クロストリジウム神経毒である、または、ジスルフィド結合によって一緒に繋がられた軽鎖および重鎖を含む二本鎖改変クロストリジウム神経毒である、かつ/または

(f) 改変クロストリジウム神経毒が、軽鎖中に1つ以上のさらなる改変を含まない(例えば、未改変軽鎖と比較した場合に)、

請求項6～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

以下を含む、酸化耐性クロストリジウム神経毒を選択する方法：

(a) クロストリジウム神経毒重鎖またはその部分の酸化可能アミノ酸残基を同定すること；

(b) 前記酸化可能アミノ酸残基が改変されている改変クロストリジウム神経毒を生成すること；

(c) 改変クロストリジウム神経毒を酸化条件に付すこと；

(d) 改変クロストリジウム神経毒の活性レベルを決定すること；

(e) ステップ(d)において決定された活性レベルを、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒の活性レベルと比較すること、ここで、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒は酸化条件に付されている；および

(f) 活性レベルが、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒の活性レベルよりもより高い場合に、当該改変クロストリジウム神経毒を選択すること；または

(g) 活性レベルが、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒の活性レベルと同一またはそれより低い場合に、当該改変クロストリジウム神経毒を破棄すること；

随意により、ここで、クロストリジウム神経毒重鎖の部分は、転位置ドメイン(H_Nドメイン)もしくはその一部分または受容体結合ドメイン(H_Cドメイン)もしくはその一部分を含む(好ましくは、それからなる)。

【請求項11】

好ましくは、改変クロストリジウム神経毒が酸化耐性である、請求項10に記載の方法によって選択される改変クロストリジウム神経毒。

【請求項12】

請求項1～5または11のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム神経毒をコードする核酸配列を含む核酸。

【請求項13】

軽鎖および重鎖を有する単鎖改変クロストリジウム神経毒を生成する方法であって、請求項12に記載の核酸を適した宿主細胞において発現させること、宿主細胞を溶解して単鎖改変クロストリジウム神経毒を含有する宿主細胞ホモジネートを提供すること、および単鎖改変クロストリジウム神経毒を単離することを含む、方法。

【請求項14】

以下を含む、改変クロストリジウム神経毒を活性化する方法：

請求項13に記載の方法によって得ることができる単鎖改変クロストリジウム神経毒を提供すること；

当該単鎖改変クロストリジウム神経毒を、軽鎖および重鎖の間に位置する認識部位(切断部位)で単鎖改変クロストリジウム神経毒を切断するプロテアーゼと接触させ、それによって、単鎖改変クロストリジウム神経毒を二本鎖改変クロストリジウム神経毒に変換す

ること、

ここで、当該軽鎖および重鎖はジスルフィド結合によって一緒に繋がられる。

【請求項 15】

請求項 14 に記載の方法によって得ることができる二本鎖改変クロストリジウム神経毒。

【請求項 16】

請求項 1~5 または 11 のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム神経毒または請求項 15 に記載の二本鎖改変クロストリジウム神経毒ならびに薬学的に許容される担体、賦形剤、アジュバント、噴射剤および/または塩を含む医薬組成物。

【請求項 17】

請求項 1~5 または 11 のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム神経毒、請求項 15 に記載の二本鎖改変クロストリジウム神経毒または請求項 16 に記載の医薬組成物を含む医薬。

【請求項 18】

請求項 1~5 または 11 のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム神経毒、請求項 15 に記載の二本鎖改変クロストリジウム神経毒または請求項 16 に記載の医薬組成物を含む、望まれない免疫分泌と関連する状態、斜視、眼瞼痙攣、内斜視、ジストニア、斜頸、眼性運動性の神経筋障害または状態、美容的障害、書痙、歯ぎしり、ウィルソン病、振戦、チック、分節性ミオクローヌス、攣縮、慢性多発性硬化症による痙縮、異常な膀胱制御をもたらす痙縮、背部痙攣、こむら返り、緊張性頭痛、骨盤拳筋症候群、二分脊椎症、遅発性ジスキネジア、パーキンソン病、吃音、片側顔面痙攣、眼瞼障害、脳性麻痺、局所性痙縮、痙攣性大腸炎、神経因性膀胱、アニスムス、四肢痙縮、裂肛、アカラシア、嚔下障害、流涙、多汗症(hyperhydrosis)、過度の唾液分泌、過度の胃腸管分泌、筋肉痛、頭痛の疼痛、癌、子宮障害、泌尿生殖器障害、泌尿生殖器-神経疾患、慢性神経原性炎症および平滑筋障害から選択された障害の処置において使用するための医薬。

【請求項 19】

望まれない免疫分泌と関連する状態、斜視、眼瞼痙攣、内斜視、ジストニア、斜頸、眼性運動性の神経筋障害または状態、美容的障害、書痙、歯ぎしり、ウィルソン病、振戦、チック、分節性ミオクローヌス、攣縮、慢性多発性硬化症による痙縮、異常な膀胱制御をもたらす痙縮、背部痙攣、こむら返り、緊張性頭痛、骨盤拳筋症候群、二分脊椎症、遅発性ジスキネジア、パーキンソン病、吃音、片側顔面痙攣、眼瞼障害、脳性麻痺、局所性痙縮、痙攣性大腸炎、神経因性膀胱、アニスムス、四肢痙縮、裂肛、アカラシア、嚔下障害、流涙、多汗症(hyperhydrosis)、過度の唾液分泌、過度の胃腸管分泌、筋肉痛、頭痛の疼痛、癌、子宮障害、泌尿生殖器障害、泌尿生殖器-神経疾患、慢性神経原性炎症および平滑筋障害から選択される障害を処置するための医薬の製造における、請求項 1~5 または 11 のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム神経毒、請求項 15 に記載の二本鎖改変クロストリジウム神経毒または請求項 16 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 20】

請求項 1~5 または 11 のいずれか一項に記載の改変クロストリジウム神経毒；請求項 15 に記載の二本鎖改変クロストリジウム神経毒；または請求項 16 に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む美容的治療の方法に使用するための美容用組成物であって、

ここで、美容的治療は美容的障害の治療であり、かつ、美容的障害は、顔の線、眉間線、眉間のしわ、皮膚のしわ、くも膜下腔内線、額の線、パニーライン、笑顔の凸凹、顎の凸凹、広頸帯、マリオネットライン、唇の線、目尻のしわ、眉の凸凹、しかめっ面の線、心配の線、皮膚線条、創傷、アクシデント、咬傷、手術、眼、頬、鼻、唇、額および/もしくは首のような領域の輪郭の欠損および/または細胞/筋肉無能力化から恩恵を受ける美容療法から選択される障害である、美容用組成物。

【請求項 21】

以下を含む、クロストリジウム神経毒の酸化耐性を増大する方法：

(a) (少なくとも) ボツリヌス神経毒 A (BoNT/A) H_{CC} ドメインをコードする第 1 の核酸を提供し、コードされる H_{CC} ドメインのメチオニン 1144 (M1144) で改変を導入するよう

に第1の核酸を改変し、それによって、第2の核酸を生成すること、ここで、当該改変は、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒と比較した場合に改変クロストリジウム神経毒の酸化耐性を増大する;または

(b)請求項1に記載の改変クロストリジウム神経毒をコードする核酸を合成し、それによって、合成された核酸を提供すること;または

(c)(少なくとも)ボツリヌス神経毒A(BoNT/A)_{HCC}ドメインをコードする核酸を合成し、ここで、当該HCCドメインは、メチオニン1144(M1144)の改変を含み、当該改変は、改変を欠く点以外は同一のクロストリジウム神経毒と比較した場合に改変クロストリジウム神経毒の酸化耐性を増大する、それによって、合成された核酸を提供すること;および

10

(d)第2の核酸または合成された核酸をそれぞれ発現させ、それによって、改変クロストリジウム神経毒を生成すること;

ここで、アミノ酸位置番号付けは、配列番号2とのアライメントによって定義される。

20

30

40

50