

【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3部門第2区分
 【発行日】令和5年12月18日(2023.12.18)

【公開番号】特開2022-121630(P2022-121630A)
 【公開日】令和4年8月19日(2022.8.19)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-152
 【出願番号】特願2022-106089(P2022-106089)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 38/47(2006.01) 10
 A 6 1 K 47/68(2017.01)
 A 6 1 K 35/76(2015.01)
 A 6 1 K 48/00(2006.01)
 A 6 1 P 43/00(2006.01)
 C 1 2 N 15/62(2006.01)
 C 1 2 N 15/13(2006.01)
 C 1 2 N 15/56(2006.01)
 C 1 2 N 15/09(2006.01)
 C 1 2 N 15/33(2006.01)
 C 1 2 N 15/86(2006.01) 20
 C 1 2 N 15/864(2006.01)
 C 0 7 K 19/00(2006.01)
 C 0 7 K 16/28(2006.01)
 C 1 2 P 21/08(2006.01)
 C 1 2 N 5/10(2006.01)
 C 0 7 K 14/47(2006.01)
 C 1 2 N 9/26(2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 38/47
 A 6 1 K 47/68 30
 A 6 1 K 35/76
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 P 43/00 1 0 5
 C 1 2 N 15/62 Z Z N A
 C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 15/56
 C 1 2 N 15/09 1 0 0
 C 1 2 N 15/33
 C 1 2 N 15/86 Z
 C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z 40
 C 0 7 K 19/00
 C 0 7 K 16/28
 C 1 2 P 21/08
 C 1 2 N 5/10
 C 0 7 K 14/47
 C 1 2 N 9/26 Z

【誤訳訂正書】

【提出日】令和5年12月7日(2023.12.7)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

送達ドメインおよび酵素ドメインを含むマルチドメイン治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドであって、

前記送達ドメインが、CD63に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、

(a)配列番号2に記載されるアミノ酸配列、

(b)配列番号14/22、配列番号30/38、配列番号46/54および配列番号62/70からなる群より選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列ペアに含まれるHCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3アミノ酸配列、

(c)配列番号16-18-20-24-26-28、配列番号32-34-36-40-42-44、配列番号48-50-52-56-58-60および配列番号64-66-68-72-74-76からなる群より選択されるHCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3アミノ酸配列、および/または

(d)配列番号14/22、配列番号30/38、配列番号46/54または配列番号62/70に記載されるHCVR/LCVRアミノ酸ペアセットを含む、ポリヌクレオチド。

【請求項2】

前記送達ドメインが配列番号46/54に記載されるHCVR/LCVRペア内に含まれるHCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3アミノ酸配列を含む、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項3】

前記送達ドメインが配列番号46/54に記載されるHCVR/LCVRペアを含む、請求項1または2に記載のポリヌクレオチド。

【請求項4】

前記送達ドメインが単鎖可変断片(scFv)である、請求項1~3のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項5】

前記酵素ドメインがヒドロラーゼを含む、請求項1~4のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】

前記酵素ドメインがグリコシラーゼを含む、請求項1~5のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項7】

前記酵素ドメインがグリコシダーゼを含む、請求項1~6のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項8】

前記酵素ドメインがアルファ-グルコシダーゼを含む、請求項1~7のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項9】

前記マルチドメイン治療用タンパク質が、配列番号79として記載されるアミノ酸配列を含む、請求項1~8のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項10】

前記ポリヌクレオチドが、配列番号8、配列番号9、またはその両方に記載される配列を含む組織特異的調節因子をさらに含む、請求項1~9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項11】

請求項1~10のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクターであっ

10

20

30

40

50

て、前記遺伝子療法ベクターが、
 ウイルスベクター、
 裸のポリヌクレオチド、
 前記ポリヌクレオチドおよび脂質を含む脂質ナノ粒子である、ポリヌクレオチド複合体
 ならびに
 それらの任意の組み合わせ
 からなる群から選択される、遺伝子療法ベクター。

【請求項 1 2】

前記遺伝子療法ベクターが、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、
 ボックスウイルス、ワクシニアウイルス、レンチウイルス、およびアデノ随伴ウイルスか
 らなる群から選択されるウイルスベクターである、請求項 11 に記載の遺伝子療法ベクタ
 ー。

10

【請求項 1 3】

前記遺伝子療法ベクターが、肝臓に対して AAV シュードタイプである、請求項 11 または
 12 に記載の遺伝子療法ベクター。

【請求項 1 4】

前記遺伝子療法ベクターが、AAV2/8 キメラである、請求項 11 ~ 13 のいずれか 1 項に記
 載の遺伝子療法ベクター。

【請求項 1 5】

送達ドメインおよび酵素ドメインを含む組み換えマルチドメイン治療用タンパク質であっ
 て、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドによってコードされる、組み
 換えマルチドメイン治療用タンパク質。

20

【請求項 1 6】

組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を *ex vivo* 細胞で発現する方法であって、
 a . 請求項 11 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクターに前記細胞を接触させ
 ること、
 b . 前記ポリヌクレオチドを前記細胞のゲノム遺伝子座に組み込ませること、および
 c . 前記細胞に前記組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を産生させること、
 を含む、方法。

【請求項 1 7】

組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を *in vivo* 細胞で発現する方法における使用
 のための、請求項 11 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクターを含む組成物であ
 って、前記方法が、
 a . 前記組成物に前記細胞を接触させること、
 b . 前記ポリヌクレオチドを前記細胞のゲノム遺伝子座に組み込ませること、および
 c . 前記細胞に前記組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を産生させること、
 を含む、組成物。

30

【請求項 1 8】

前記遺伝子療法ベクターが、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 16 に
 記載の方法または請求項 17 に記載の組成物。

40

【請求項 1 9】

前記細胞のゲノム遺伝子座が、セーフハーバー遺伝子座であるか、または、前記ゲノム遺
 伝子座が、EESYR 遺伝子座、SARS 遺伝子座、ヒト第 1 番染色体の 188,083,272 位もしく
 くはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第 10 番染色体の 3,046,320 位もしくはそ
 の非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第 17 番染色体の 67,328,980 位もしくはその非ヒ
 ト哺乳動物のオルソログ、アデノ随伴ウイルス部位 1 (AAVS1)、ヒト第 19 番染色体上の
 AAV ウイルスの天然発生の組み込みの部位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ケ
 モカイン受容体 5 (CCR5) 遺伝子、HIV-1 共受容体をコードするケモカイン受容体遺伝子
 、マウス Rosa26 遺伝子座もしくはその非マウス哺乳動物のオルソログ、およびアルブミ
 ン (alb) 遺伝子座からなる群から選択される、遺伝子座にあるかまたは近い、請求項 16

50

もしくは18に記載の方法、または、請求項17もしくは18に記載の組成物。

【請求項20】

前記細胞がヒト細胞またはマウス細胞である、請求項16、18および19のいずれか1項に記載の方法、または、請求項17～19のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項21】

前記細胞が肝臓細胞である、請求項16および18～20のいずれか1項に記載の方法、または、請求項17～20のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項22】

それを必要とする患者の組織中のグリコーゲン蓄積を減少させる方法における使用のための、請求項11～14のいずれか1項に記載の遺伝子療法ベクターを含む組成物であって、前記方法は、前記組成物を前記患者に投与することを含み、前記酵素ドメインが、アルファ-グルコシダーゼ(GAA)またはその部分を含む、組成物。

10

【請求項23】

(i)前記組織が、心臓、肝臓、および骨格筋からなる群から選択される；
 (ii)前記マルチドメイン治療用タンパク質が、抗CD63 scFv-GAAを含む；
 (iii)前記酵素ドメインがGAAを含み、かつ、高いGAAの血清レベルが少なくとも12週間維持される、または、12週間でのGAAの血清レベルが、抗CD63 scFv送達ドメインを含まずGAAをコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクターを投与された対象中のGAAの血清レベルよりも約2.5～3倍高い；
 (iv)心臓、骨格筋、および肝臓の組織のグリコーゲンレベルが、野生型レベルまで低減される；および/または
 (v)前記組織中のグリコーゲンレベルが、前記組成物の投与の3か月後に野生型レベルで維持される、
 請求項22に記載の組成物。

20

【請求項24】

それを必要とする患者で酵素欠損症を治療するおよび/または欠損した前記酵素に対して前記患者を寛容にする方法における使用のための、請求項11～14のいずれか1項に記載の遺伝子療法ベクターを含む組成物であって、前記方法が、前記患者に前記組成物を投与することを含む、組成物。

【請求項25】

(i)前記酵素欠損症がグリコシダーゼ酵素の欠損である、
 (ii)前記酵素欠損症がアルファ-グルコシダーゼの欠損である、
 (iii)前記マルチドメイン治療用タンパク質が、抗CD63 scFv-GAAである、
 (iv)前記酵素ドメインがGAAを含み、高いGAAの血清レベルが、前記組成物の投与後少なくとも12週間、前記患者で維持される、
 (v)前記酵素ドメインがGAAを含み、前記組成物の投与の12週間後の前記患者中のGAAの血清レベルが、抗CD63 scFv送達ドメインを含まずGAAをコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクターを投与された対象中のGAAの血清レベルよりも約2.5～3倍高い、
 (vi)前記酵素ドメインがGAAを含み、前記患者の心臓、骨格筋、および肝臓の組織における前記グリコーゲンレベルが、野生型レベルまで低減される、
 (vii)前記酵素ドメインがGAAを含み、前記患者の心臓、骨格筋、および肝臓の組織におけるグリコーゲンレベルが、前記組成物の投与の3か月後に野生型レベルで維持される、
 (viii)治療後の前記患者の筋強度が、野生型レベルまで復元される、
 (ix)前記酵素ドメインがGAAを含み、前記患者がポンペ病である、
 (x)前記患者は、前記送達ドメインの非存在下で前記酵素ドメインを受けた対照患者と比較して、前記酵素に対する抗体が低減されている、
 (xi)前記方法が、一つまたは複数の免疫抑制剤を用いて前記患者を免疫抑制することをさらに含む、

30

40

50

(xii) 前記方法が、前記欠損している酵素を前記患者に投与することを最後のステップとしてさらに含む、および/または

(xiii) 前記酵素ドメインがGAAを含み、前記患者が、治療有効量のポリヌクレオチドを投与され、その治療有効量のポリヌクレオチドは、GAA、その一部、またはGAAを含むマルチドメイン治療用ポリペプチドもしくはその一部を、前記患者へさらに投与することを不要とする、
請求項24に記載の組成物。

【請求項26】

請求項11～14のいずれか1項に記載の遺伝子療法ベクターおよび医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

10

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0013

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0013】

一態様では、本発明は、マルチドメイン治療用タンパク質をコードする核酸配列を含有するポリヌクレオチドを提供する。一実施形態では、マルチドメイン治療用タンパク質は、酵素ドメインおよび送達ドメインを含有する。一実施形態では、ポリヌクレオチドはまた、ウイルスベクター核酸配列を含有する。特定の一実施形態では、ポリヌクレオチドはまた、アデノ随伴ウイルス(AAV)核酸配列を含有する。

20

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0020

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0020】

一態様では、本発明は、細胞内に酵素ドメインおよび送達ドメインを含有するマルチドメイン治療用タンパク質を産生する方法を提供する。一実施形態では、マルチドメイン治療用タンパク質は、マルチドメイン治療用タンパク質をコードする核酸配列を含む遺伝子療法ベクターに細胞を接触させることによって産生される。続いて、核酸配列は細胞のゲノム遺伝子座内に組み込まれ、ここから、核酸配列がDNAである場合には核酸配列が転写および翻訳されるか、または核酸がRNAである場合には翻訳されて、マルチドメイン治療用タンパク質が産生される。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターなど、細胞トランスフェクションで一般的に使用されるものである。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、裸のポリヌクレオチドである。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、ポリヌクレオチド複合体、例えば脂質ナノ粒子である。一実施形態では、ゲノム遺伝子座は、マルチドメイン治療用タンパク質の高発現を可能にする一方で、必須遺伝子の発現に干渉しないか、または癌遺伝子もしくはその他の有害遺伝子の発現を促進しない、セーフハーバー遺伝子座である。一実施形態では、ゲノム遺伝子座は、アデノ随伴ウイルス部位である。

30

40

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0059

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0059】

別の態様では、本発明は、CD63および医薬的に許容可能な担体に特異的に結合する組換えヒト抗体またはその断片を含む医薬組成物を提供する。関連の態様では、本発明は、抗CD63抗体と第二の治療剤との組み合わせである組成物を特徴とする。一実施形態

50

では、第二の治療剤は、抗CD63抗体と有利に組み合わせられる任意の薬剤である。本発明の抗CD63抗体が関与する追加的な併用療法および合剤は、本明細書の他の場所で開示されている。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

送達ドメインと酵素ドメインと医薬的に許容可能な担体とを含むマルチドメイン治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、医薬での使用のための組成物。

(項目2)

前記送達ドメインが抗原結合タンパク質である、項目1に記載の組成物。

(項目3)

前記送達ドメインが単鎖可変断片(s c F v)である、項目1または項目2に記載の組成物。

(項目4)

前記送達ドメインが内部移行エフェクターに結合する、項目1~3のいずれか1項に記載の組成物。

(項目5)

前記送達ドメインが、CD63、インテグリンアルファ-7(ITGA7)、MHC-1、Kremen-1、Kremen-2、LRP5、LRP6、LRP8、トランスフェリン受容体、LDL受容体、LDL関連タンパク質1受容体、ASGR1、ASGR2、アミロイド前駆体タンパク質様タンパク質2(APLP2)、アペリン受容体(APLNR)、MAL(Myelin And Lymphocyteタンパク質(MAL))、IGF2R、液胞型H+ATPアーゼ、ジフテリア毒素受容体、葉酸受容体、グルタミン酸受容体、グルタチオン受容体、レプチン受容体、スカベンジャー受容体A1-5(SCARA1-5)、SCARB1-3、およびCD36からなる群から選択される内部移行エフェクターに結合する、項目1~4のいずれか1項に記載の組成物。

(項目6)

前記送達ドメインが内部移行エフェクターCD63に結合する、項目1~5のいずれか1項に記載の組成物。

(項目7)

前記送達ドメインが、配列番号2のアミノ酸配列、または表11に記載されるHCVRのアミノ酸配列、表11に記載されるLCVRのアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR1のアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR2のアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR3のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR1のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR2のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR3のアミノ酸配列、配列番号14/22、配列番号30/38、配列番号46/54、もしくは配列番号62/70に記載されるHCVR/LCVRアミノ酸ペア、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記HCVR/LCVRアミノ酸ペアが、N末端からC末端まで、HCVR、任意選択的なリンカー、およびLCVRを含み、ならびに/または任意選択的に、酵素ドメインが、LCVRのC末端に(例えばリンカーを介して)付加している、項目1~6のいずれか1項に記載の組成物。

(項目8)

前記酵素ドメインがヒドロラーゼを含む、項目1~7のいずれか1項に記載の組成物。

(項目9)

前記酵素ドメインがグリコシラーゼを含む、項目1~8のいずれか1項に記載の組成物。

(項目10)

前記酵素ドメインがグリコシダーゼを含む、項目1~9のいずれか1項に記載の組成物。

(項目11)

前記酵素ドメインがアルファ-グルコシダーゼを含む、項目1~10のいずれか1項に

10

20

30

40

50

記載の組成物。

(項目 1 2)

前記酵素ドメインが、配列番号 1、配列番号 1 3、配列番号 7 8 のアミノ酸配列またはその断片を含む、項目 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 3)

前記ポリヌクレオチドが、ウイルス核酸配列をさらに含む、項目 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 4)

前記ポリヌクレオチドが、ウイルス核酸配列をさらに含み、前記ウイルス核酸配列が、アデノ随伴ウイルス (AAV) 核酸配列である、項目 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

10

(項目 1 5)

前記ポリヌクレオチドが、ウイルス核酸配列および任意選択的に遺伝子座ターゲティング核酸配列をさらに含み、前記ウイルス核酸配列が、アデノ随伴ウイルス (AAV) 核酸配列であり、前記 AAV 核酸配列が、内部末端反復配列を含み、任意選択的に、肝特異的プロモーターなどの組織特異的調節因子を含む、項目 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 6)

前記ポリヌクレオチドが、ウイルス核酸配列および任意選択的に遺伝子座ターゲティング核酸配列をさらに含み、前記ウイルス核酸配列が、配列番号 6、配列番号 7、または両方と、任意選択的に、肝特異的プロモーターなどの組織特異的調節因子とを含む内部末端反復配列を含むアデノ随伴ウイルス (AAV) 核酸配列である、項目 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

20

(項目 1 7)

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 8、配列番号 9、またはその両方として記載される配列を含む組織特異的調節因子をさらに含む、項目 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

(項目 1 8)

配列番号 1 1 の核酸配列を含み、および / または配列番号 1 0 または配列番号 7 8 として記載されるアミノ酸配列をコードする、項目 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

30

(項目 1 9)

項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクター。

(項目 2 0)

項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含むウイルスベクターであって、任意選択的に天然ウイルス、工学的に操作されたウイルス、またはキメラウイルスである、ウイルスベクター、項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む裸のポリヌクレオチド、

任意選択的に項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドおよび脂質を含む脂質ナノ粒子である、ポリヌクレオチド複合体、ならびに

それらの任意の組み合わせ、からなる群から選択される、項目 1 9 に記載の遺伝子療法ベクター。

40

(項目 2 1)

前記遺伝子療法ベクターが、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、ボックスウイルス、ワクシニアウイルス、レンチウイルス、またはアデノ随伴ウイルスからなる群から選択されるウイルスベクターである、項目 1 9 または項目 2 0 に記載の遺伝子療法ベクター。

(項目 2 2)

前記遺伝子療法ベクターが、AAV 2 / 8 キメラおよび / または特定の組織、例えば肝臓に対して AAV シュードタイプである、項目 1 9 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクター。

50

(項目 23)

送達ドメインおよび酵素ドメインを含む組み換えマルチドメイン治療用タンパク質であって、項目 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドによってコードされる、組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 24)

前記送達ドメインが抗原結合タンパク質である、項目 23 に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 25)

前記送達ドメインが単鎖可変断片 (s c F v) である、項目 23 または項目 24 に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

10

(項目 26)

前記送達ドメインが内部移行エフェクターに結合する、項目 23 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 27)

前記送達ドメインが、CD63、インテグリンアルファ-7 (ITGA7)、MHC-1、Kremen-1、Kremen-2、LRP5、LRP6、LRP8、トランスフェリン受容体、LDL受容体、LDL関連タンパク質1受容体、ASGR1、ASGR2、アミロイド前駆体タンパク質様タンパク質2 (APLP2)、アペリン受容体 (APLNR)、MAL (Myelin And Lymphocyteタンパク質 (MAL))、IGF2R、液胞型H+ATPアーゼ、ジフテリア毒素受容体、葉酸受容体、グルタミン酸受容体、グルタチオン受容体、レプチン受容体、スカベンジャー受容体A1-5 (SCARA1-5)、SCARB1-3、およびCD36からなる群から選択される内部移行エフェクターに結合する、項目 23 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の組換えマルチドメイン治療用タンパク質。

20

(項目 28)

前記送達ドメインが前記内部移行エフェクターCD63に結合する、項目 23 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 29)

前記送達ドメインが、配列番号2のアミノ酸配列、または表11に記載されるHCVRのアミノ酸配列、表11に記載されるLCVRのアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR1のアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR2のアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR3のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR1のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR2のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR3のアミノ酸配列、配列番号14/22、配列番号30/38、配列番号46/54、もしくは配列番号62/70に記載されるHCVR/LCVRアミノ酸ペア、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記HCVR/LCVRアミノ酸ペアが、N末端からC末端まで、HCVR、任意選択的なリンカー、およびLCVRを含み、ならびに/または任意選択的に、酵素ドメインが、LCVRのC末端に(例えばリンカーを介して)付加している、項目 23 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の組換えマルチドメイン治療用タンパク質。

30

40

(項目 30)

前記酵素ドメインがヒドロラーゼを含む、項目 23 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 31)

前記酵素ドメインがグリコシラーゼを含む、項目 23 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 32)

前記酵素ドメインがグリコシダーゼを含む、項目 23 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 33)

50

前記酵素ドメインがアルファ - グルコシダーゼ (G A A) またはその一部分を含む、項目 2 3 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 3 4)

前記酵素ドメインが、配列番号 1、配列番号 1 3、配列番号 7 8 のアミノ酸配列またはその断片を含み、任意選択的に、前記マルチドメイン治療用タンパク質が、配列番号 7 9 として記載されるアミノ酸配列を含む、項目 2 3 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 3 5)

送達ドメインおよび酵素ドメインを含む組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を *i n v i v o* 細胞で発現する方法であって、

10

a . 前記組み換えマルチドメイン治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む有する遺伝子療法ベクターに前記細胞を接触させること、

b . 前記ポリヌクレオチドを前記細胞のゲノム遺伝子座に組み込ませること、および

c . 前記細胞に前記組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を産生させること、を含む、

前記遺伝子療法ベクターが、項目 1 9 ~ 2 2 のいずれか 1 項による、方法。

(項目 3 6)

前記遺伝子療法ベクターが、アデノ随伴ウイルス (A A V) ベクターである、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7)

20

前記細胞のゲノム遺伝子座が、セーフハーバー遺伝子座である、項目 3 5 または項目 3 6 に記載の方法。

(項目 3 8)

ゲノム遺伝子座が、E E S Y R 遺伝子座、S A R S 遺伝子座、ヒト第 1 番染色体の 1 8 8 , 0 8 3 , 2 7 2 位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第 1 0 番染色体の 3 , 0 4 6 , 3 2 0 位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第 1 7 番染色体の 6 7 , 3 2 8 , 9 8 0 もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、染色体上のアデノ随伴ウイルス部位 1 (A A V S 1)、ヒト第 1 9 番染色体上の A A V ウイルスの天然発生の組み込みの部位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ケモカイン受容体 5 (C C R 5) 遺伝子、H I V - 1 共受容体をコードするケモカイン受容体遺伝子、またはマウス R o s a 2 6 遺伝子座もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、およびヒトアルブミン (a 1 b) 遺伝子座からなる群から選択される、遺伝子座にあるかまたは近い、項目 3 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

(項目 3 9)

前記送達ドメインが抗原結合タンパク質である、項目 3 5 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 0)

前記送達ドメインが単鎖可変断片 (s c F v) である、項目 3 5 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 1)

40

前記送達ドメインが前記内部移行エフェクターに結合する、項目 3 5 ~ 4 0 のうちいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 2)

前記送達ドメインが、C D 6 3、インテグリンアルファ - 7 (I T G A 7)、M H C - 1、K r e m e n - 1、K r e m e n - 2、L R P 5、L R P 6、L R P 8、トランスフェリン受容体、L D L 受容体、L D L 関連タンパク質 1 受容体、A S G R 1、A S G R 2、アミロイド前駆体タンパク質様タンパク質 2 (A P L P 2)、アペリン受容体 (A P L N R)、M A L (M y e l i n A n d L y m p h o c y t e タンパク質 (M A L))、I G F 2 R、液胞型 H + A T P アーゼ、ジフテリア毒素受容体、葉酸受容体、グルタミン酸受容体、グルタチオン受容体、レプチン受容体、スカベンジャー受容体 A 1 - 5 (S

50

C A R A 1 - 5)、S C A R B 1 - 3、および C D 3 6 からなる群から選択される内部移行エフェクターに結合する、項目 3 5 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 3)

前記送達ドメインが内部移行エフェクター C D 6 3 に結合する、項目 3 5 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 4)

前記送達ドメインが、配列番号 2 のアミノ酸配列、または表 1 1 に記載される H C V R のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C V R のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 1 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 2 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 3 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 1 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 2 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 3 のアミノ酸配列、配列番号 1 4 / 2 2、配列番号 3 0 / 3 8、配列番号 4 6 / 5 4、もしくは配列番号 6 2 / 7 0 に記載される H C V R / L C V R アミノ酸ペア、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記 H C V R / L C V R アミノ酸ペアが、N 末端から C 末端まで、H C V R、任意選択的なリンカー、および L C V R を含み、ならびに / または任意選択的に、酵素ドメインが、L C V R の C 末端に (例えばリンカーを介して) 付加している、項目 3 5 ~ 4 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

(項目 4 5)

前記酵素ドメインがヒドロラーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

(項目 4 6)

前記酵素ドメインがグリコシラーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 7)

前記酵素ドメインがグリコシダーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 8)

前記酵素ドメインがアルファ - グルコシダーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

(項目 4 9)

前記酵素ドメインが、配列番号 1、配列番号 1 3、配列番号 7 8 のアミノ酸配列またはその任意の断片を含む、項目 3 5 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 0)

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 1 1 の核酸配列を含む、項目 3 5 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 1)

前記細胞が *e x v i v o* である、項目 3 5 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 2)

前記細胞がヒト細胞である、項目 3 5 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

(項目 5 3)

前記細胞がマウス細胞である、項目 3 5 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 4)

前記細胞が肝臓細胞である、項目 3 5 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 5)

項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の組成物または項目 1 9 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクターを患者に投与することを含む、それを必要とする患者の組織中のグリコーゲン蓄積を減少させる方法。

(項目 5 6)

前記組織が、心臓、肝臓、および骨格筋からなる群から選択される、項目 5 5 に記載の

50

方法。

(項目57)

前記マルチドメイン治療用タンパク質が、抗CD63 s c F v - G A Aを含み、任意選択的に、前記抗CD63 s c F vが、配列番号14/22、配列番号30/38、配列番号46/54、もしくは配列番号62/70に記載されるHCVR/LCVR アミノ酸ペアを含み、任意選択的に、前記HCVR/LCVRアミノ酸ペアが、N末端からC末端まで、HCVR、任意選択的なリンカー、およびLCVRを含み、任意選択的に、酵素ドメインが、LCVRのC末端に、例えばリンカーを介して付加しており、任意選択的に、前記G A Aが、配列番号1または配列番号78のアミノ酸配列を含み、および/または任意選択的に、抗CD63 s c F v - G A Aが、配列番号10もしくは配列番号79として記載される配列を含む、項目55または項目56に記載の方法。

10

(項目58)

高いG A Aの血清レベルが少なくとも12週間維持される、項目55~57のいずれか1項に記載の方法。

(項目59)

12週間でのG A Aの血清レベルが、抗CD63 s c F v送達ドメインを含まずG A Aをコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクターを投与された対象中のG A Aの血清レベルよりも約2.5~3倍高い、項目55~58のいずれか1項に記載の方法。

(項目60)

心臓、骨格筋、および肝臓の組織のグリコーゲンレベルが、野生型レベルまで低減される、項目55~59のいずれか1項に記載の方法。

20

(項目61)

前記組織中のグリコーゲンレベルが、前記遺伝子療法ベクターの投与の3か月後に野生型レベルで維持される、項目55~60のいずれか1項に記載の方法。

(項目62)

項目19~22のいずれか1項に記載の遺伝子療法ベクターを患者に投与することを含む、それを必要とする患者で酵素欠損症を治療するおよび/または欠損した前記酵素に対して患者を寛容にする方法であって、前記遺伝子療法ベクターが、酵素ドメインおよび送達ドメインを含むマルチドメイン治療用タンパク質をコードする、方法。

30

(項目63)

前記酵素欠損症がグリコシダーゼ酵素の欠損である、項目62に記載の方法。

(項目64)

前記酵素欠損症がアルファ-グルコシダーゼの欠損である、項目62または項目63に記載の方法。

(項目65)

前記マルチドメイン治療用タンパク質が、抗CD63 s c F v - G A Aであり、任意選択的に、前記抗CD63 s c F v - G A Aが、配列番号10または配列番号79として記載されるアミノ酸配列を含む、項目62~64のいずれか1項に記載の方法。

(項目66)

高いG A Aの血清レベルが、前記遺伝子療法ベクターの投与後少なくとも12週間、患者で維持される、項目62~65のいずれか1項に記載の方法。

40

(項目67)

前記遺伝子療法ベクターの投与の12週間後のG A Aの血清レベルが、抗CD63 s c F v送達ドメインを含まずG A Aをコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクターを投与された対象中のG A Aの血清レベルよりも約2.5~3倍高い、項目62~66のいずれか1項に記載の方法。

(項目68)

前記患者の心臓、骨格筋、および肝臓の組織における前記グリコーゲンレベルが、野生型レベルまで低減される、項目62~67のいずれか1項に記載の方法。

50

(項目 69)

前記患者の心臓、骨格筋、および肝臓の組織におけるグリコーゲンレベルが、前記遺伝子療法ベクターの投与の3ヵ月後に野生型レベルで維持される、項目62～68のいずれか1項に記載の方法。

(項目 70)

治療後の前記患者の筋強度が、野生型レベルまで復元される、項目62～69のいずれか1項に記載の方法。

(項目 71)

前記患者がポンペ病である、項目62～70のいずれか1項に記載の方法。

(項目 72)

前記患者は、前記送達ドメインの非存在下で前記酵素ドメインを受けた対照患者と比較して、前記酵素に対する抗体が減少し低減されている、項目62～71のいずれか1項に記載の方法。

(項目 73)

一つまたは複数の免疫抑制剤を用いて前記患者を免疫抑制することをさらに含む、項目62～71のいずれか1項に記載の方法。

(項目 74)

前記欠損している酵素を前記患者に投与することを最後のステップとしてさらに含む、項目62～73のいずれか1項に記載の方法。

(項目 75)

前記患者が、マルチドメイン治療用タンパク質を介して、欠損している酵素を投与され、任意選択的に、前記マルチドメイン治療剤が、抗CD63抗体またはその抗原結合部分を含む、項目74に記載の方法。

(項目 76)

前記患者が、治療有効量のポリヌクレオチドを投与され、その治療有効量のポリヌクレオチドは、GAA、その一部、またはGAAを含むマルチドメイン治療用ポリペプチドもしくはその一部を、前記患者へさらに投与することを不要とする、項目35～75のいずれか1項に記載の方法。

(項目 77)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、表11に記載されるようなHCVR/LCVRアミノ酸配列ペアを含む参照抗体と、ヒトCD63との結合について競合する、単離された抗CD63抗体またはその抗原結合断片。

(項目 78)

前記参照抗体が、配列番号14/22、配列番号30/38、配列番号46/54、または配列番号62/70からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列ペアを含む、項目77に記載の抗CD63抗体または抗原結合断片。

(項目 79)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、表11に記載されるようなHCVR/LCVRアミノ酸配列ペアを含む参照抗体としてヒトCD63上の同じエピトープに結合する、項目77または項目78に記載の抗CD63抗体または抗原結合断片。

(項目 80)

項目19～22のいずれか1項に記載の遺伝子療法ベクターおよび医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0062

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0062】

【図2】図2は、送達された酵素の機能として組織ミリグラム当たりのマイクログラムで

10

20

30

40

50

貯蔵グリコーゲンの量を図示する棒グラフである。X軸はCD63^{hu/hu};GAA^{-/-}マウス由来の組織を図示し、左から右まで：心臓、四頭筋、腓腹筋、横隔膜、ヒラメ筋、長指伸筋(EDL)筋肉である。黒いボックス(「1」)は、未処置のマウスポンペ病モデルにおける貯蔵グリコーゲンの量を図示する。オレンジ色のボックス(「2」)は、未処置の野生型マウスモデルにおける貯蔵グリコーゲンの量を図示する。ライムグリーンのボックス(「3」)は、 10^{10} vgの用量でAAV-hGAA(ヒトGAAをコードする遺伝子を含むアデノ随伴ウイルスベクター)を処置されたマウスポンペ病モデルにおける貯蔵グリコーゲンの量を図示する。フォレストグリーンのボックス(「4」)は、 10^{11} vgの用量でAAV-hGAAで処置されたマウスポンペ病モデルにおける貯蔵グリコーゲンの量を図示する。ライトブルーのボックス(「5」)は、 10^{10} vgの用量でAAV-抗hCD63scFv::hGAA(ヒトGAAに連結された抗hCD63 scFvドメインをコードする遺伝子を含むアデノ随伴ウイルスベクター)で処置された貯蔵グリコーゲンの量を図示する。ダークブルーのボックス(「6」)は、 10^{11} vgの用量でAAV-抗hCD63scFv::hGAAで処理されたマウスポンペ病モデルにおける貯蔵グリコーゲンの量を図示する。

10

【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0142

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

20

【0142】

一部の実施形態では、マルチドメイン治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドが組み込まれているゲノム遺伝子座は、「セーフハーバー遺伝子座」である。一実施形態では、「セーフハーバー遺伝子」は、マルチドメイン治療用タンパク質の高い発現を可能にする一方で、必須遺伝子の発現に干渉しないか、または癌遺伝子もしくは他の有害遺伝子の発現を促進しない。一実施形態では、ゲノム遺伝子座は、肝臓で発現されるアルブミン(Alb)遺伝子座、EESYR遺伝子座、SARS遺伝子座、ヒト第1番染色体の188,083,272位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第10番染色体の3,046,320位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第17番染色体の67,328,980もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、染色体上のアデノ随伴ウイルス部位1(AAVS1)、ヒト第19番染色体上のAAVウイルスの天然発生の組込み部位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ケモカイン受容体5(CCR5)遺伝子、HIV-1共受容体をコードするケモカイン受容体遺伝子、またはマウスRosas26遺伝子座もしくはその非マウス哺乳動物のオルソログである。一実施形態では、ゲノム遺伝子座は、アデノ随伴ウイルス部位である。一実施形態では、組込みのためのゲノム遺伝子座は、遺伝子療法ベクターの組込みに用いるセーフハーバーゲノム遺伝子座のステップワイズ選択のために参照により本明細書に組み込まれるPapapetrou and Schambach, J. Molecular Therapy, vol. 24(4):678-684、2016年4月の方法に従って選択されるが、その全体が参照により本明細書に組み込まれる肝臓発現アルブミン(Alb)遺伝子座内のプロモーターレス遺伝子ターゲティングについてのBarzel et al. Nature, vol. 517:360-364も参照されたい。

30

40

【誤訳訂正7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0146

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0146】

一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、ウイルスであり、そのようなものとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、ワクシニ

50

アウイルス、レンチウイルス、またはアデノ随伴ウイルスが挙げられる。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、アデノ随伴ウイルス(AAV)であり、そのようなものとしては、血清型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、およびAAV11、またはそれらの工学的に操作されたもしくは天然の選択されたバリエーションが挙げられる。

【誤訳訂正8】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0147

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0147】

一実施形態では、ポリヌクレオチドはまた、アデノ随伴ウイルス(AAV)核酸配列を含有する。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、二つ以上の血清型に由来する遺伝子因子を含有するキメラアデノ随伴ウイルスである。例えば、AAV1由来のrep遺伝子とAAV2由来のcap遺伝子とを有するAAVベクター(AAV1/2またはAAVRC1/2とよぶ)が、マルチドメイン治療用タンパク質のポリヌクレオチドを細胞または必要とする患者の細胞に送達するための遺伝子療法ベクターとして、使用されてもよい。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、AAV1/2、AAV1/3、AAV1/4、AAV1/5、AAV1/6、AAV1/7、AAV1/8、AAV1/9、AAV1/10、AAV1/11、AAV2/1、AAV2/3、AAV2/4、AAV2/5、AAV2/6、AAV2/7、AAV2/8、AAV2/9、AAV2/10、AAV2/11、AAV3/1、AAV3/2、AAV3/4、AAV3/5、AAV3/6、AAV3/7、AAV3/8、AAV3/9、AAV3/10、AAV3/10、AAV4/1、AAV4/2、AAV4/3、AAV4/5、AAV4/6、AAV4/7、AAV4/8、AAV4/9、AAV4/10、AAV4/11、AAV5/1、AAV5/2、AAV5/3、AAV5/4、AAV5/6、AAV5/7、AAV5/8、AAV5/9、AAV5/10、AAV5/11、AAV6/1、AAV6/2、AAV6/3、AAV6/4、AAV6/5、AAV6/7、AAV6/8、AAV6/9、AAV6/10、AAV6/10、AAV7/1、AAV7/2、AAV7/3、AAV7/4、AAV7/5、AAV7/6、AAV7/8、AAV7/9、AAV7/10、AAV7/11、AAV8/1、AAV8/2、AAV8/3、AAV8/4、AAV8/5、AAV8/6、AAV8/7、AAV8/9、AAV8/10、AAV8/11、AAV9/1、AAV9/2、AAV9/3、AAV9/4、AAV9/5、AAV9/6、AAV9/7、AAV9/8、AAV9/10、AAV9/11、AAV10/1、AAV10/2、AAV10/3、AAV10/4、AAV10/5、AAV10/6、AAV10/7、AAV10/8、AAV10/9、AAV10/11、AAV11/1、AAV11/2、AAV11/3、AAV11/4、AAV11/5、AAV11/6、AAV11/7、AAV11/8、AAV11/9、AAV11/10、それらのキメラピリオンまたは誘導体である。Gao et al., "Novel adeno-associated viruses from rhesus monkeys as vectors for human gene therapy," PNAS 99(18): 11854-11859, Sep. 3, 2002は、遺伝子療法ベクターとして有用なAAVベクターおよびキメラピリオン、ならびにそれらの構築対および使用のために、参照により本明細書に組み込まれる。

【誤訳訂正9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0265

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0265】

10

20

30

40

50

(項目1)

送達ドメインと酵素ドメインとを含むマルチドメイン治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチド。

(項目2)

前記送達ドメインが抗原結合タンパク質である、項目1に記載のポリヌクレオチド。

(項目3)

前記送達ドメインが単鎖可変断片(s c F v)である、項目1または項目2に記載のポリヌクレオチド。

(項目4)

前記送達ドメインが内部移行エフェクターに結合する、項目1～3のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。 10

(項目5)

前記送達ドメインが、CD63、インテグリンアルファ-7(ITGA7)、MHC-1、Kremen-1、Kremen-2、LRP5、LRP6、LRP8、トランスフェリン受容体、LDL受容体、LDL関連タンパク質1受容体、ASGR1、ASGR2、アミロイド前駆体タンパク質様タンパク質2(APLP2)、アペリン受容体(APLNR)、MAL(Myelin And Lymphocyteタンパク質(MAL))、IGF2R、液胞型H+ATPアーゼ、ジフテリア毒素受容体、葉酸受容体、グルタミン酸受容体、グルタチオン受容体、レプチン受容体、スカベンジャー受容体A1-5(SCARA1-5)、SCARB1-3、およびCD36からなる群から選択される内部移行エフェクターに結合する、項目1～4のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。 20

(項目6)

前記送達ドメインが内部移行エフェクターCD63に結合する、項目1～5のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

(項目7)

前記送達ドメインが、配列番号2のアミノ酸配列、または表11に記載されるHCVRのアミノ酸配列、表11に記載されるLCVRのアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR1のアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR2のアミノ酸配列、表11に記載されるHCDR3のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR1のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR2のアミノ酸配列、表11に記載されるLCDR3のアミノ酸配列、配列番号14/22、配列番号30/38、配列番号46/54、もしくは配列番号62/70に記載されるHCVR/LCVRアミノ酸ペア、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記HCVR/LCVRアミノ酸ペアが、N末端からC末端まで、HCVR、任意選択的なリンカー、およびLCVRを含み、ならびに/または任意選択的に、酵素ドメインが、LCVRのC末端に(例えばリンカーを介して)付加している、項目1～6のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。 30

(項目8)

前記酵素ドメインがヒドロラーゼを含む、項目1～7のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。 40

(項目9)

前記酵素ドメインがグリコシラーゼを含む、項目1～8のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

(項目10)

前記酵素ドメインがグリコシダーゼを含む、項目1～9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

(項目11)

前記酵素ドメインがアルファ-グルコシダーゼを含む、項目1～10のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

(項目12)

前記酵素ドメインが、配列番号 1、配列番号 13、配列番号 78 のアミノ酸配列またはその断片を含む、項目 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

(項目 13)

ウイルス核酸配列および遺伝子座ターゲティング核酸配列をさらに含む、項目 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

(項目 14)

ウイルス核酸配列および遺伝子座ターゲティング核酸配列をさらに含み、前記ウイルス核酸配列が、アデノ随伴ウイルス (AAV) 核酸配列である、項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

(項目 15)

ウイルス核酸配列および遺伝子座ターゲティング核酸配列をさらに含み、前記ウイルス核酸配列が、アデノ随伴ウイルス (AAV) 核酸配列であり、前記 AAV 核酸配列が、内部末端反復配列を含み、任意選択的に、肝特異的プロモーターなどの組織特異的調節因子を含む、項目 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

(項目 16)

ウイルス核酸配列および遺伝子座ターゲティング核酸配列をさらに含み、前記ウイルス核酸配列が、配列番号 6、配列番号 7、または両方と、任意選択的に、肝特異的プロモーターなどの組織特異的調節因子とを含む内部末端反復配列を含むアデノ随伴ウイルス (AAV) 核酸配列である、項目 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

(項目 17)

配列番号 8、配列番号 9、またはその両方として記載される配列を含む組織特異的調節因子をさらに含む、項目 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

(項目 18)

配列番号 11 の核酸配列を含み、および/または配列番号 10 または配列番号 78 として記載されるアミノ酸配列をコードする、項目 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

(項目 19)

項目 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクター。

(項目 20)

任意選択的に天然ウイルス、工学的に操作されたウイルス、またはキメラウイルスである、ウイルスベクター、

項目 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む裸のポリヌクレオチド、任意選択的に項目 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドおよび脂質を含む脂質ナノ粒子である、ポリヌクレオチド複合体、ならびに

それらの任意の組み合わせ、からなる群から選択される、項目 19 に記載の遺伝子療法ベクター。

(項目 21)

前記遺伝子療法ベクターが、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、ボックスウイルス、ワクシニアウイルス、レンチウイルス、またはアデノ随伴ウイルスからなる群から選択されるウイルスベクターである、項目 19 または項目 20 に記載の遺伝子療法ベクター。

(項目 22)

前記遺伝子療法ベクターが、AAV2/8 キメラおよび/または特定の組織、例えば肝臓に対して AAV シュードタイプである、項目 19 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクター。

(項目 23)

送達ドメインおよび酵素ドメインを含む組み換えマルチドメイン治療用タンパク質であって、項目 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドによってコードされる、組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 24)

10

20

30

40

50

前記送達ドメインが抗原結合タンパク質である、項目 2 3 に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 2 5)

前記送達ドメインが単鎖可変断片 (s c F v) である、項目 2 3 または項目 2 4 に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 2 6)

前記送達ドメインが内部移行エフェクターに結合する、項目 2 3 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 2 7)

前記送達ドメインが、C D 6 3、インテグリンアルファ - 7 (I T G A 7)、M H C - 1、K r e m e n - 1、K r e m e n - 2、L R P 5、L R P 6、L R P 8、トランスフェリン受容体、L D L 受容体、L D L 関連タンパク質 1 受容体、A S G R 1、A S G R 2、アミロイド前駆体タンパク質様タンパク質 2 (A P L P 2)、アペリン受容体 (A P L N R)、M A L (M y e l i n A n d L y m p h o c y t e タンパク質 (M A L))、I G F 2 R、液胞型 H + A T P アーゼ、ジフテリア毒素受容体、葉酸受容体、グルタミン酸受容体、グルタチオン受容体、レプチン受容体、スカベンジャー受容体 A 1 - 5 (S C A R A 1 - 5)、S C A R B 1 - 3、および C D 3 6 からなる群から選択される内部移行エフェクターに結合する、項目 2 3 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載の組換えマルチドメイン治療用タンパク質。

10

(項目 2 8)

前記送達ドメインが前記内部移行エフェクター C D 6 3 に結合する、項目 2 3 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

20

(項目 2 9)

前記送達ドメインが、配列番号 2 のアミノ酸配列、または表 1 1 に記載される H C V R のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C V R のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 1 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 2 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 3 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 1 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 2 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 3 のアミノ酸配列、配列番号 1 4 / 2 2、配列番号 3 0 / 3 8、配列番号 4 6 / 5 4、もしくは配列番号 6 2 / 7 0 に記載される H C V R / L C V R アミノ酸ペア、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記 H C V R / L C V R アミノ酸ペアが、N 末端から C 末端まで、H C V R、任意選択的なリンカー、および L C V R を含み、ならびに / または任意選択的に、酵素ドメインが、L C V R の C 末端に (例えばリンカーを介して) 付加している、項目 2 3 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の組換えマルチドメイン治療用タンパク質。

30

(項目 3 0)

前記酵素ドメインがヒドロラーゼを含む、項目 2 3 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 3 1)

前記酵素ドメインがグリコシラーゼを含む、項目 2 3 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

40

(項目 3 2)

前記酵素ドメインがグリコシダーゼを含む、項目 2 3 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 3 3)

前記酵素ドメインがアルファ - グルコシダーゼ (G A A) またはその一部分を含む、項目 2 3 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 3 4)

前記酵素ドメインが、配列番号 1、配列番号 1 3、配列番号 7 8 のアミノ酸配列またはその断片を含み、任意選択的に、前記マルチドメイン治療用タンパク質が、配列番号 7 9

50

として記載されるアミノ酸配列を含む、項目 23 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の組み換えマルチドメイン治療用タンパク質。

(項目 35)

送達ドメインおよび酵素ドメインを含む組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を細胞で発現する方法であって、

a. 前記組み換えマルチドメイン治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含有する遺伝子療法ベクターに前記細胞を接触させること、

b. 前記ポリヌクレオチドを前記細胞のゲノム遺伝子座に組み込ませること、および

c. 前記細胞に前記組み換えマルチドメイン治療用タンパク質を産生させること、を含み、

前記遺伝子療法ベクターが、項目 19 ~ 22 のいずれか 1 項による、方法。

(項目 36)

前記遺伝子療法ベクターが、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、項目 35 に記載の方法。

(項目 37)

前記細胞のゲノム遺伝子座が、セーフハーバー遺伝子座である、項目 35 または項目 36 に記載の方法。

(項目 38)

ゲノム遺伝子座が、EESYR 遺伝子座、SARS 遺伝子座、ヒト第 1 番染色体の 188,083,272 位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第 10 番染色体の 3,046,320 位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ヒト第 17 番染色体の 67,328,980 位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、染色体上のアデノ随伴ウイルス部位 1 (AAVS1)、ヒト第 19 番染色体上の AAV ウイルスの天然発生の組み込みの部位もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、ケモカイン受容体 5 (CCR5) 遺伝子、HIV-1 共受容体をコードするケモカイン受容体遺伝子、またはマウス Rosa26 遺伝子座もしくはその非ヒト哺乳動物のオルソログ、およびヒトアルブミン (alb) 遺伝子座からなる群から選択される、遺伝子座にあるかまたは近い、項目 35 ~ 37 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 39)

前記送達ドメインが抗原結合タンパク質である、項目 35 ~ 38 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 40)

前記送達ドメインが単鎖可変断片 (scFv) である、項目 35 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 41)

前記送達ドメインが前記内部移行エフェクターに結合する、項目 35 ~ 40 のうちいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 42)

前記送達ドメインが、CD63、インテグリンアルファ-7 (ITGA7)、MHC-1、Kremen-1、Kremen-2、LRP5、LRP6、LRP8、トランスフェリン受容体、LDL 受容体、LDL 関連タンパク質 1 受容体、ASGR1、ASGR2、アミロイド前駆体タンパク質様タンパク質 2 (APLP2)、アペリン受容体 (APLNR)、MAL (Myelin And Lymphocyte タンパク質 (MAL))、IGF2R、液胞型 H+ATPアーゼ、ジフテリア毒素受容体、葉酸受容体、グルタミン酸受容体、グルタチオン受容体、レプチン受容体、スカベンジャー受容体 A1-5 (SCARA1-5)、SCARB1-3、および CD36 からなる群から選択される内部移行エフェクターに結合する、項目 35 ~ 41 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 43)

前記送達ドメインが内部移行エフェクター CD63 に結合する、項目 35 ~ 42 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 4 4)

前記送達ドメインが、配列番号 2 のアミノ酸配列、または表 1 1 に記載される H C V R のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C V R のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 1 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 2 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される H C D R 3 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 1 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 2 のアミノ酸配列、表 1 1 に記載される L C D R 3 のアミノ酸配列、配列番号 1 4 / 2 2、配列番号 3 0 / 3 8、配列番号 4 6 / 5 4、もしくは配列番号 6 2 / 7 0 に記載される H C V R / L C V R アミノ酸ペア、およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、任意選択的に、前記 H C V R / L C V R アミノ酸ペアが、N 末端から C 末端まで、H C V R、任意選択的なリンカー、および L C V R を含み、ならびに / または任意選択的に、酵素ドメインが、L C V R の C 末端に (例えばリンカーを介して) 付加している、項目 3 5 ~ 4 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

(項目 4 5)

前記酵素ドメインがヒドロラーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 6)

前記酵素ドメインがグリコシラーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 7)

前記酵素ドメインがグリコシダーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

(項目 4 8)

前記酵素ドメインがアルファ - グルコシダーゼを含む、項目 3 5 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 9)

前記酵素ドメインが、配列番号 1、配列番号 1 3、配列番号 7 8 のアミノ酸配列またはその任意の断片を含む、項目 3 5 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 0)

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 1 1 の核酸配列を含む、項目 3 5 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

(項目 5 1)

前記細胞が *ex vivo* である、項目 3 5 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 2)

前記細胞が *in vivo* である、項目 3 5 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 3)

前記細胞がヒト細胞である、項目 3 5 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 4)

前記細胞がマウス細胞である、項目 3 5 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 5)

前記細胞が肝臓細胞である、項目 3 5 ~ 5 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

(項目 5 6)

項目 1 8 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクターを患者に投与することを含む、それを必要とする患者の組織中のグリコーゲン蓄積を減少させる方法。

(項目 5 7)

前記組織が、心臓、肝臓、および骨格筋からなる群から選択される、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 5 8)

前記マルチドメイン治療用タンパク質が、抗 C D 6 3 s c F v - G A A を含み、任意選択的に、前記抗 C D 6 3 s c F v が、配列番号 1 4 / 2 2、配列番号 3 0 / 3 8、

50

配列番号 46 / 54、もしくは配列番号 62 / 70 に記載される H C V R / L C V R アミノ酸ペアを含み、任意選択的に、前記 H C V R / L C V R アミノ酸ペアが、N 末端から C 末端まで、H C V R、任意選択的なリンカー、および L C V R を含み、任意選択的に、酵素ドメインが、L C V R の C 末端に、例えばリンカーを介して付加しており、任意選択的に、前記 G A A が、配列番号 1 または配列番号 78 のアミノ酸配列を含み、および / または任意選択的に、抗 C D 6 3 s c F v - G A A が、配列番号 10 もしくは配列番号 79 として記載される配列を含む、項目 56 または項目 57 に記載の方法。

(項目 59)

高い G A A の血清レベルが少なくとも 12 週間維持される、項目 56 ~ 58 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

(項目 60)

12 週間での G A A の血清レベルが、抗 C D 6 3 s c F v 送達ドメインを含まず G A A をコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクターを投与された対象中の G A A の血清レベルよりも約 2 . 5 ~ 3 倍高い、項目 56 ~ 58 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 61)

心臓、骨格筋、および肝臓の組織のグリコーゲンレベルが、野生型レベルまで低減される、項目 56 ~ 60 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 62)

前記組織中のグリコーゲンレベルが、前記遺伝子療法ベクターの投与の 3 か月後に野生型レベルで維持される、項目 56 ~ 61 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

(項目 63)

項目 19 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクターを患者に投与することを含む、それを必要とする患者で酵素欠損症を治療するおよび / または欠損した前記酵素に対して患者を寛容にする方法であって、前記遺伝子療法ベクターが、酵素ドメインおよび送達ドメインを含むマルチドメイン治療用タンパク質をコードする、方法。

(項目 64)

前記酵素欠損症がグリコシダーゼ酵素の欠損である、項目 63 に記載の方法。

(項目 65)

前記酵素欠損症がアルファ - グルコシダーゼの欠損である、項目 63 または項目 64 に記載の方法。

30

(項目 66)

前記マルチドメイン治療用タンパク質が、抗 C D 6 3 s c F v - G A A であり、任意選択的に、前記抗 C D 6 3 s c F v - G A A が、配列番号 10 または配列番号 79 として記載されるアミノ酸配列を含む、項目 63 ~ 65 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 67)

高い G A A の血清レベルが、前記遺伝子療法ベクターの投与後少なくとも 12 週間、患者で維持される、項目 63 ~ 66 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 68)

前記遺伝子療法ベクターの投与の 12 週間後の G A A の血清レベルが、抗 C D 6 3 s c F v 送達ドメインを含まず G A A をコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子療法ベクターを投与された対象中の G A A の血清レベルよりも約 2 . 5 ~ 3 倍高い、項目 63 ~ 67 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

(項目 69)

前記患者の心臓、骨格筋、および肝臓の組織における前記グリコーゲンレベルが、野生型レベルまで低減される、項目 63 ~ 68 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 70)

前記患者の心臓、骨格筋、および肝臓の組織におけるグリコーゲンレベルが、前記遺伝子療法ベクターの投与の 3 ヶ月後に野生型レベルで維持される、項目 63 ~ 69 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

(項目 7 1)

治療後の前記患者の筋強度が、野生型レベルまで復元される、項目 6 3 ~ 7 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 2)

前記患者がボンペ病である、項目 6 3 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 3)

前記患者は、前記送達ドメインの非存在下で前記酵素ドメインを受けた対照患者と比較して、前記酵素に対する抗体が減少し低減されている、項目 6 3 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 4)

一つまたは複数の免疫抑制剤を用いて前記患者を免疫抑制することをさらに含む、項目 6 3 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 5)

前記欠損している酵素を前記患者に投与することを最後のステップとしてさらに含む、項目 6 3 ~ 7 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 6)

前記患者が、マルチドメイン治療用タンパク質を介して、欠損している酵素を投与され、任意選択的に、前記マルチドメイン治療剤が、抗 C D 6 3 抗体またはその抗原結合部分を含む、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7)

前記患者が、治療有効量のポリヌクレオチドを投与され、その治療有効量のポリヌクレオチドは、G A A、その一部、または G A A を含むマルチドメイン治療用ポリペプチドもしくはその一部を、前記患者へさらに投与することを不要とする、項目 3 5 ~ 7 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 8)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、表 1 1 に記載されるような H C V R / L C V R アミノ酸配列ペアを含む参照抗体と、ヒト C D 6 3 との結合について競合する、単離された抗 C D 6 3 抗体またはその抗原結合断片。

(項目 7 9)

前記参照抗体が、配列番号 1 4 / 2 2、配列番号 3 0 / 3 8、配列番号 4 6 / 5 4、または配列番号 6 2 / 7 0 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列ペアを含む、項目 7 8 に記載の抗 C D 6 3 抗体または抗原結合断片。

(項目 8 0)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、表 1 1 に記載されるような H C V R / L C V R アミノ酸配列ペアを含む参照抗体としてヒト C D 6 3 上の同じエピトープに結合する、項目 7 8 または項目 7 9 に記載の抗 C D 6 3 抗体または抗原結合断片。

(項目 8 1)

項目 1 9 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の遺伝子療法ベクターおよび医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

10

20

30

40

50