

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和4年4月26日(2022.4.26)

【公開番号】特開2022-60228(P2022-60228A)

【公開日】令和4年4月14日(2022.4.14)

【年通号数】公開公報(特許)2022-067

【出願番号】特願2022-7759(P2022-7759)

【国際特許分類】

C 12N 15/113(2010.01)

10

C 12N 15/63(2006.01)

C 12N 15/864(2006.01)

C 12N 15/86(2006.01)

C 12N 1/15(2006.01)

C 12N 1/19(2006.01)

C 12N 1/21(2006.01)

C 12N 5/10(2006.01)

C 12N 7/01(2006.01)

A 61P 25/16(2006.01)

A 61K 48/00(2006.01)

20

A 61K 35/76(2015.01)

C 12N 15/866(2006.01)

【F I】

C 12N 15/113 Z Z N A

C 12N 15/63 Z

C 12N 15/864 1 0 0 Z

C 12N 15/86 Z

C 12N 1/15

C 12N 1/19

C 12N 1/21

30

C 12N 5/10

C 12N 7/01

A 61P 25/16

A 61K 48/00

A 61K 35/76

C 12N 15/866 Z

【手続補正書】

【提出日】令和4年4月18日(2022.4.18)

【手続補正1】

40

【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】

(i) 配列番号46～61のいずれか1つに示される配列を含む阻害性核酸をコードする導入遺伝子を含む発現構築物；および

(i i) 発現構築物に隣接する2つのアデノ随伴ウイルス逆方向末端反復(I TR)配列

、

を含む、単離された核酸。

【請求項 2】

導入遺伝子が、プロモーターに作動可能に連結されている、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 3】

プロモーターが、ニワトリベータアクチン（C B A）プロモーターである、請求項 2 に記載の単離された核酸。

【請求項 4】

C M V エンハンサーをさらに含む、請求項 2 に記載の単離された核酸。

【請求項 5】

ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント（W P R E）をさらに含む、請求項 1 に記載の単離された核酸。 10

【請求項 6】

ウシ成長ホルモンポリ A シグナルテールをさらに含む、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 7】

各 I T R 配列が、野生型 A A V 2 I T R 配列である、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 8】

各 I T R 配列が、導入遺伝子に近位である「D」領域（配列番号 1 4）を含む、請求項 1 に記載の単離された核酸。 20

【請求項 9】

少なくとも 1 つの I T R 配列が、導入遺伝子に対して I T R 配列の外側に配置された「D」領域（配列番号 1 4）を含む、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 10】

導入遺伝子に対して 5' に配置された I T R 配列が、導入遺伝子に近位である「D」領域（配列番号 1 4）を含み、導入遺伝子に対して 3' に配置された I T R 配列が、導入遺伝子に対して I T R 配列の外側に配置された「D」領域（配列番号 1 4）を含む、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 11】

5' I T R の核酸配列が、配列番号 7 1 のヌクレオチド 1 ~ 1 4 5 であり、3' I T R のヌ 30 クレオチド配列が、配列番号 7 1 のヌクレオチド 4 0 1 8 ~ 4 1 6 2 である、請求項 1 0 に記載の単離された核酸。

【請求項 12】

5' I T R と導入遺伝子との間の T R Y 領域をさらに含み、ここで、T R Y 領域が、配列番号 1 5 に示される配列を有する、請求項 1 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 13】

配列番号 4 6 ~ 6 1 のいずれか 1 つの示される配列を含む阻害性核酸をコードする導入遺伝子を含む発現構築物を含む核酸を含む、組換えアデノ隨伴ウイルス（A A V）ベクターであって、導入遺伝子は、2 つのアデノ隨伴ウイルス（A A V）逆方向末端反復（I T R）に隣接される、前記 r A A V ベクター。 40

【請求項 14】

導入遺伝子が、プロモーターに作動可能に連結されている、請求項 1 3 に記載の r A A V ベクター。

【請求項 15】

プロモーターが、ニワトリベータアクチン（C B A）プロモーターである、請求項 1 4 に記載の r A A V ベクター。

【請求項 16】

C M V エンハンサーをさらに含む、請求項 1 4 に記載の r A A V ベクター。

【請求項 17】

ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント（W P R E）をさらに含む、請求項 1 50

3に記載のrAAVベクター。

**【請求項18】**

ウシ成長ホルモンポリAシグナルテールをさらに含む、請求項13に記載のrAAVベクター。

**【請求項19】**

各ITR配列が、野生型AAV2 ITR配列である、請求項13に記載のrAAVベクター。

**【請求項20】**

各ITR配列が、導入遺伝子に近位である「D」領域(配列番号14)を含む、請求項13に記載のrAAVベクター。

**【請求項21】**

少なくとも1つのITR配列が、導入遺伝子に対してITR配列の外側に配置された「D」領域(配列番号14)を含む、請求項13に記載のrAAVベクター。

**【請求項22】**

導入遺伝子に対して5'に配置されたITR配列が、導入遺伝子に近位である「D」領域(配列番号14)を含み、導入遺伝子に対して3'に配置されたITR配列が、導入遺伝子に対してITR配列の外側に配置された「D」領域(配列番号14)を含む、請求項13に記載のrAAVベクター。

**【請求項23】**

5'ITRの核酸配列が、配列番号71のヌクレオチド1~145であり、3'ITRのヌクレオチド配列が、配列番号71のヌクレオチド4018~4162である、請求項22に記載のrAAVベクター。

**【請求項24】**

5'ITRと導入遺伝子との間のTRY領域をさらに含み、ここで、TRY領域が、配列番号15に示される配列を有する、請求項23に記載のrAAVベクター。

**【請求項25】**

(i) AAVカプシドタンパク質；および  
(ii) 請求項13に記載のrAAVベクター  
を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)。

**【請求項26】**

AAVカプシドタンパク質がAAV9カプシドタンパク質である、請求項25に記載のrAAV。

**【請求項27】**

5'から3'の順で以下を含む核酸：

(a) 5'AAV ITR；  
(b) CMVエンハンサー；  
(c) CBAプロモーター；  
(d) 配列番号46~61のいずれか1つに示される配列を含む阻害性核酸をコードする導入遺伝子；  
(e) WPRE；  
(f) ウシ成長ホルモンポリAシグナルテール；および

(g) 3'AAV ITR  
を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)ベクター。

**【請求項28】**

(i) AAVカプシドタンパク質；および  
(ii) 請求項27に記載のrAAVベクター  
を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)。

**【請求項29】**

AAVカプシドタンパク質が、AAV9カプシドタンパク質である、請求項28に記載のrAAV。

10

30

40

50

**【請求項 3 0】**

請求項 1 5 に記載の r A A V ベクターを含む、プラスミド。

**【請求項 3 1】**

配列番号 4 6 ~ 6 1 のいずれか 1 つに示される配列を含む阻害性核酸をコードする核酸を含む、バキュロウイルスベクター。

**【請求項 3 2】**

( i ) 1 以上のアデノ随伴ウイルス r e p タンパク質および / または 1 以上のアデノ随伴ウイルス c a p タンパク質をコードする第 1 のベクター ; および

( i i ) 配列番号 4 6 ~ 6 1 のいずれか 1 つに示される配列を含む阻害性核酸をコードする核酸を含む第 2 のベクター

10

を含む、細胞。

**【請求項 3 3】**

第 1 のベクターがプラスミドであり、第 2 のベクターがプラスミドである、請求項 3 2 に記載の細胞。

**【請求項 3 4】**

細胞が哺乳動物細胞であり、任意に、哺乳動物細胞が H E K 2 9 3 細胞である、請求項 3 3 に記載の細胞。

**【請求項 3 5】**

第 1 のベクターがバキュロウイルスベクターであり、第 2 のベクターがバキュロウイルスベクターである、請求項 3 2 に記載の細胞。

20

**【請求項 3 6】**

細胞が昆虫細胞であり、任意に、昆虫細胞が S F 9 細胞である、請求項 3 5 に記載の細胞。

**【請求項 3 7】**

請求項 2 5 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の r A A V を生成する方法であって、

( i ) 1 以上のアデノ随伴ウイルス r e p タンパク質および / または 1 以上のアデノ随伴ウイルス c a p タンパク質をコードする第 1 のベクター、ならびに、配列番号 4 6 ~ 6 1 のいずれか 1 つに示される配列を含む阻害性核酸をコードする導入遺伝子を含む組換え A A V ベクターを、細胞へ送達すること ;

( i i ) r A A V のパッケージングを許容する条件下で細胞を培養すること ; および

( i i i ) r A A V の収集のために、培養した宿主細胞または培養培地を回収することを含む、前記方法。

30

**【請求項 3 8】**

アルツハイマー病または前頭側頭型認知症 ( F T D ) を有するか、またはこれを有することが疑われる対象を処置するための医薬組成物であって、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の単離された核酸、請求項 1 3 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の r A A V ベクター、または請求項 2 5 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の r A A V を含む、前記組成物。

**【請求項 3 9】**

組成物が対象に投与され、および、投与が対象の C N S への直接注射を含み、任意に、直接注射が、脳内注射、実質内注射、髄腔内注射、大槽内注射、またはそれらの任意の組み合わせである、請求項 3 8 に記載の組成物。

40

**【請求項 4 0】**

対象の C N S への直接注射が、対流強化送達 ( C E D ) を含む、請求項 3 9 に記載の組成物。

**【請求項 4 1】**

投与が末梢注射を含み、任意に、末梢注射が静脈内注射である、請求項 3 8 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の組成物。

50