

【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3年4月30日(2021.4.30)

【公表番号】特表2020-511991(P2020-511991A)

【公表日】令和2年4月23日(2020.4.23)

【年通号数】公開・登録公報2020-016

【出願番号】特願2019-553350(P2019-553350)

【国際特許分類】

|         |        |           |
|---------|--------|-----------|
| C 1 2 N | 7/01   | (2006.01) |
| C 1 2 N | 5/10   | (2006.01) |
| C 1 2 N | 15/113 | (2010.01) |
| C 1 2 N | 15/49  | (2006.01) |
| C 1 2 N | 15/09  | (2006.01) |
| C 1 2 N | 15/867 | (2006.01) |

【F I】

|         |        |       |
|---------|--------|-------|
| C 1 2 N | 7/01   | Z N A |
| C 1 2 N | 5/10   |       |
| C 1 2 N | 15/113 | Z     |
| C 1 2 N | 15/49  |       |
| C 1 2 N | 15/09  | Z     |
| C 1 2 N | 15/867 | Z     |

【手続補正書】

【提出日】令和3年3月17日(2021.3.17)

【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】

レンチウイルスベクターであって、

(a) H I V - 1 株 N L 4 - 3 の 5' 長末端反復 (L T R) と、

(b) プサイ( )パッケージングシグナルと、

(c) H I V - 1 株 N L 4 - 3 のセントラルポリプリン配列 c P P T / F L A P エメントと、

(d) R N A 核外輸送因子と、

(e) H I V - 1 e n v スプライスアクセプター配列と、

(f) ヒト B C L 1 1 A m R N A にハイブリダイズするアンチセンス配列を含む s h m i R をコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結された赤血球特異的プロモーターと、

(g) H I V - 1 株 N L 4 - 3 の 3' L T R と、を含む、レンチウイルスベクター。

【請求項2】

前記 5' L T R が、改変された 5' L T R である、請求項1に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項3】

前記改変された 5' L T R が C M V プロモーターを含む、請求項2に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項4】

前記 H I V - 1 株 N L 4 - 3 の 3' L T R が自己不活性化 ( S I N ) L T R である、  
請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 5】

前記 R N A 核外輸送因子が、H I V - 1 株 H X B 3 由来の R R E R N A 核外輸送因子  
である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 6】

前記赤血球特異的プロモーターが、ヒト グロビンプロモーターを含む、請求項 1 ~ 5  
のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 7】

ヒト グロビン L C R をさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 8】

前記ヒト グロビン L C R が、H S 3 および H S 2 D N A s e I 過敏性部位を含む  
、請求項 7 に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 9】

前記 L C R が、H S 4 D N A s e I 過敏性部位を欠く、請求項 7 または請求項 8 に  
記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 10】

a. 前記 H S 4 D N A s e I 過敏性部位が、約 6 3 8 ヌクレオチドである；および  
/ または

b. 前記 H S 4 D N A s e I 過敏性部位が、約 8 4 7 ヌクレオチドである、請求項  
8 または請求項 9 に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 11】

a. 1 つ以上の変異 A T G 開始コドンを含む g a g タンパク質をコードする約 4 5 9 ヌ  
クレオチドのポリヌクレオチド；および / または

b. H I V - 1 e n v スプライスアクセプター配列と前記 s h m i R との間に配置さ  
れた合成ポリ ( A ) 配列

をさらに含む、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 12】

a. 前記 c P P T / F L A P エレメントは約 3 8 1 ヌクレオチドである；

b. 前記 H I V - 1 e n v スプライスアクセプター配列は約 1 7 6 ヌクレオチドである；および / または

c. 前記 s h m i R は、配列番号 1 もしくは配列番号 2 に記載の配列を含む、請求項 1  
~ 1 1 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 13】

前記ベクターが、前記レンチウイルスゲノム R N A の転写と比較して逆配向である、前  
記赤血球特異的プロモーターと、前記 s h m i R をコードする前記ポリヌクレオチドとを  
含む発現カセットを含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクタ  
ー。

【請求項 14】

前記ベクターが、配列番号 4 に記載のポリヌクレオチド配列を含む、請求項 1 ~ 1 3 の  
いずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクターを含む細胞であって、  
前記細胞が、造血幹細胞または前駆細胞である、細胞。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクターを含む細胞であって、  
前記細胞が、C D 3 4 + 、C D 1 3 3 + 、および / または C D 3 4 + C D 3 8 L ° C D 9  
0 + C D 4 5 R A - である、細胞。

【請求項 17】

請求項 15 または請求項 16 に記載の複数の細胞を含む細胞集団を含む、組成物。

【請求項 18】

対象におけるヘモグロビン異常症を治療する際に使用するための、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記ヘモグロビン異常症が、サラセミア、サラセミアまたは鎌状赤血球症である、請求項 18 に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0077

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0077】

特定の実施形態において、造血幹細胞集団は、静脈内に投与される。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目 1)

HIV-1 株 N L 4 - 3 の 5' 長末端反復 (LTR) と、ヒト B C L 1 1 A m R N A にハイブリダイズするアンチセンス配列を含む sh m i R をコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結された赤血球特異的プロモーターと、HIV-1 株 N L 4 - 3 の 3' LTR と、を含む、レンチウイルスベクター。

(項目 2)

5' から 3' に向かって、プサイ ( ) パッケージングシグナルと、HIV-1 株 N L 4 - 3 のセントラルポリプリン配列 (c P P T) / F L A P エレメントと、R N A 核外輸送因子と、HIV-1 env スプライスアクセプター配列と、をさらに含む、項目 1 に記載のレンチウイルスベクター。

(項目 3)

改変された 5' LTR と、HIV-1 の 3' S I N LTR と、をさらに含む、項目 1 または項目 2 に記載のレンチウイルスベクター。

(項目 4)

改変された 5' LTR であって、前記改変された 5' LTR のプロモーターが C M V プロモーターで置換されている、改変された 5' LTR と、HIV-1 の 3' S I N LTR と、をさらに含む、項目 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目 5)

レンチウイルスベクターであって、

(a) HIV-1 の 5' LTR と、

(b) プサイ ( ) パッケージングシグナルと、

(c) レンチウイルス c P P T / F L A P エレメントと、

(d) R N A 核外輸送因子と、

(e) HIV-1 env スプライスアクセプター配列と、

(f) ヒト B C L 1 1 A m R N A にハイブリダイズするアンチセンス配列をコードする sh m i R に作動可能に連結された赤血球特異的プロモーターと、

(g) HIV-1 の 3' LTR と、を含む、レンチウイルスベクター。

(項目 6)

改変された 5' LTR であって、前記改変された 5' LTR のプロモーターが C M V プロモーターで置換されている、改変された 5' LTR と、HIV-1 の 3' S I N LTR と、をさらに含む、項目 5 に記載のレンチウイルスベクター。

(項目 7)

HIV-1 株 H X B 3 由来の R R E R N A 核外輸送因子をさらに含む、項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目 8)

前記赤血球特異的プロモーターが、グロビンプロモーターを含む、項目1～7のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目9)

前記赤血球特異的プロモーターが、ヒトグロビンプロモーターを含む、項目1～8のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目10)

グロビンLCRをさらに含む、項目1～9のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目11)

ヒトグロビンLCRをさらに含む、項目1～10のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目12)

自己不活性化(SIN)レンチウイルスベクターであって、

(a) 改変されたHIV-1株NL4-3の5'LTRであって、前記改変された5'LTRのプロモーターがCMVプロモーターで置換されている、改変されたHIV-1株NL4-3の5'LTRと、

(b) プサイ( )パッケージングシグナルと、

(c) HIV-1株NL4-3のcPPT/FLAPエレメントと、

(d) HIV-1株HXB3のRRE RNA核外輸送因子と、

(e) HIV-1株NL4-3 envスプライスアクセプター配列と、

(f) ヒトBCL11A mRNAにハイブリダイズするアンチセンス配列をコードするshmirに作動可能に連結されたグロビンプロモーターと、

(g) グロビンLCRと、

(g) HIV-1株NL4-3の3'SIN LTRと、を含む、自己不活性化(SIN)レンチウイルスベクター。

(項目13)

HS3およびHS2 DNase I過敏性部位を含むヒトグロビンLCRをさらに含む、項目1～12のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目14)

HS3およびHS2 DNase I過敏性部位を含むヒトグロビンLCRをさらに含むが、HS4 DNase I過敏性部位を欠く、項目1～13のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目15)

gagタンパク質をコードする約459ヌクレオチドのポリヌクレオチドをさらに含む、項目1～14のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目16)

1つ以上の変異ATG配列を含む前記gagタンパク質をコードするポリヌクレオチドをさらに含む、項目1～15のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目17)

約176ヌクレオチドのHIV-1 envスプライスアクセプター配列をさらに含む、項目1～16のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目18)

約381ヌクレオチドのcPPT/FLAPエレメントをさらに含む、項目1～17のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目19)

約638ヌクレオチドのHS2 DNase I過敏性部位をさらに含む、項目1～18のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目20)

約847ヌクレオチドのHS3 DNase I過敏性部位をさらに含む、項目1～19のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目21)

HIV-1 envスプライスアクセプター配列と前記shmirとの間に配置された合成ポリ(A)配列をさらに含む、項目1～20のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目22)

前記shmirが、配列番号1に記載の配列をコードする、項目1～21のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目23)

前記shmirが、配列番号2に記載のガイド鎖配列を含む、項目1～22のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目24)

前記shmirが、配列番号3に記載の標的配列にハイブリダイズするガイド鎖配列を含む、項目1～23のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目25)

前記赤血球特異的プロモーターと、前記shmirをコードする前記ポリヌクレオチドとを含む発現カセットが、前記レンチウイルスゲノムRNAの転写と比較して逆配向である、項目1～24のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター。

(項目26)

配列番号4に記載のポリヌクレオチド配列を含む、レンチウイルス導入ベクター。

(項目27)

項目1～26のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクターを含む、細胞。

(項目28)

HIV-1のgagおよびpolをコードする1つ以上のポリヌクレオチドと、VSV-Gと、項目1～26のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクターと、を含む、細胞。

(項目29)

項目28に記載の細胞から産生された、レンチウイルスベクター粒子。

(項目30)

項目1～26のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクターで形質導入された、細胞。

(項目31)

前記細胞が、ポロキサマー-288、ポロキサマー-335、ポロキサマー-338、およびポロキサマー-407からなる群から選択される有効量のポロキサマー、ならびにPGE<sub>2</sub>受容体アゴニストの存在下で形質導入される、項目30に記載の細胞。

(項目32)

項目29に記載のレンチウイルスベクター粒子で形質導入された、細胞。

(項目33)

前記細胞が、ポロキサマー-288、ポロキサマー-335、ポロキサマー-338、およびポロキサマー-407からなる群から選択される有効量のポロキサマー、ならびにPGE<sub>2</sub>受容体アゴニストの存在下で形質導入される、項目32に記載の細胞。

(項目34)

前記細胞が、造血幹細胞または造血前駆細胞である、項目30～33のいずれか一項に記載の細胞。

(項目35)

前記細胞が、造血幹細胞または前駆細胞である、項目30～34のいずれか一項に記載の細胞。

(項目36)

前記細胞が、CD34<sup>+</sup>である、項目30～35のいずれか一項に記載の細胞。

(項目37)

前記細胞が、CD133<sup>+</sup>である、項目30～36のいずれか一項に記載の細胞。

## (項目38)

前記細胞が、CD34<sup>+</sup>CD38<sup>L</sup>°CD90<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>である、項目30～37のいずれか一項に記載の細胞。

## (項目39)

前記細胞が、ヘモグロビン異常症に関連する1つ以上の変異 グロビン対立遺伝子を含む、項目30～38のいずれか一項に記載の細胞。

## (項目40)

前記細胞が、E<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、C<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、0<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、E<sup>+</sup> / S<sup>+</sup>、E<sup>+</sup> / S<sup>+</sup>、C<sup>+</sup> / S<sup>+</sup>、E<sup>+</sup> / S<sup>+</sup> および S<sup>+</sup> / S<sup>+</sup> からなる群から選択される1つ以上の変異 グロビン対立遺伝子を含む、項目30～39のいずれか一項に記載の細胞。

## (項目41)

前記細胞が、E<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、C<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、0<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、C<sup>+</sup> / C<sup>+</sup>、E<sup>+</sup> / E<sup>+</sup>、E<sup>+</sup> / E<sup>+</sup>、C<sup>+</sup> / E<sup>+</sup>、C<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、0<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup>、および 0<sup>+</sup> / 0<sup>+</sup> からなる群から選択される1つ以上の変異 グロビン対立遺伝子を含む、項目30～39のいずれか一項に記載の細胞。

## (項目42)

前記細胞が、E<sup>+</sup> / S<sup>+</sup>、0<sup>+</sup> / S<sup>+</sup>、C<sup>+</sup> / S<sup>+</sup>、+ / S<sup>+</sup> および S<sup>+</sup> / S<sup>+</sup> からなる群から選択される1つ以上の変異 グロビン対立遺伝子を含む、項目30～39のいずれか一項に記載の細胞。

## (項目43)

項目30～42のいずれか一項に記載の複数の細胞を含む、細胞集団。

## (項目44)

項目30～42のいずれか一項に記載の複数の細胞を含む細胞集団を含む、組成物。

## (項目45)

薬学的に許容される担体と、項目30～42のいずれか一項に記載の複数の細胞を含む細胞集団と、を含む、薬学的組成物。

## (項目46)

造血細胞集団を形質導入する方法であって、項目1～26のいずれか一項に記載のレンチウイルスベクター、ポロキサマー、および PGE<sub>2</sub>受容体アゴニストの存在下で、培地中で細胞を培養することを含む、方法。

## (項目47)

前記ポロキサマーが、ポロキサマー288、ポロキサマー335、ポロキサマー338、およびポロキサマー407からなる群から選択される、項目46に記載の方法。

## (項目48)

前記PGE<sub>2</sub>受容体アゴニストが、15d-PGJ<sub>2</sub>、12-PGJ<sub>2</sub>、2-ヒドロキシヘプタデカトリエン酸(HHT)、トロンボキサンA2、トロンボキサンB2、イロプロスト、トレプロスチニル、トラボプロスト、カルボプロストトロメタミン、タフルプロスト、ラタノプロスト、ビマトプロスト、ウノプロストンイソプロピル、クロプロステノール、エストロファン、スーパーファン、ミソプロストール、ブタプロスト、リノール酸、13(s)-HODE、LY171883、ミード酸、エイコサトリエン酸、エポキシエイコサトリエン酸、ONO-259、Cay1039、PGE<sub>2</sub>受容体アゴニスト、16,16-ジメチルPGE<sub>2</sub>、19(R)-ヒドロキシPGE<sub>2</sub>、16,16-ジメチルPGE<sub>2</sub>p-(p-アセトアミドベンズアミド)フェニルエステル、11-デオキシ-16,16-ジメチルPGE<sub>2</sub>、9-デオキシ-9-メチレン-16,16-ジメチルPGE<sub>2</sub>、9-デオキシ-9-メチレンPGE<sub>2</sub>、スルプロストン、PGE<sub>2</sub>セリノールアミド、PGE<sub>2</sub>メチルエステル、16-フェニルテトラノルPGE<sub>2</sub>、15(S)-15-メチルPGE<sub>2</sub>、および15(R)-15-メチルPGE<sub>2</sub>からなる群から選択される、項目46または項目47に記載の方法。

## (項目49)

前記 P G E , 受容体アゴニストが、 P G E , または 1 6 , 1 6 - ジメチル P G E , である、項目 4 6 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 0 )

前記レンチウイルスベクターが、約 1 0 ~ 約 3 0 の M O I または約 1 0 ~ 約 2 5 の M O I で存在する、項目 4 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 1 )

前記レンチウイルスベクターが、約 1 0 ~ 約 2 0 の M O I で存在する、項目 4 6 ~ 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 2 )

前記レンチウイルスベクターが、約 1 0 、約 1 1 、約 1 2 、約 1 3 、約 1 4 、約 1 5 、約 1 6 、約 1 7 、約 1 8 、約 1 9 、約 2 0 、約 2 1 、約 2 2 、約 2 3 、約 2 4 、約 2 5 、約 2 6 、約 2 7 、約 2 8 、約 2 9 、または約 3 0 の M O I で存在する、項目 4 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 3 )

項目 4 3 に記載の細胞集団、項目 4 4 に記載の組成物、または項目 4 5 に記載の薬学的組成物の有効量を、対象に投与することを含む、前記対象におけるヘモグロビン異常症を治療する方法。

(項目 5 4 )

対象におけるヘモグロビン異常症の少なくとも 1 つの症状を寛解させる方法であって、項目 4 3 に記載の細胞集団、項目 4 4 に記載の組成物、または項目 4 5 に記載の薬学的組成物の有効量を、前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 5 5 )

前記対象の前記 グロビン対立遺伝子が、 E / 0 、 C / 0 、 0 / 0 、 E / E 、 C / + 、 E / + 、 0 / + 、 + / + 、 C / C 、 E / S 、 0 / S 、 C / S 、 + / S または S / S である、項目 5 4 に記載の方法。

(項目 5 6 )

対象におけるサラセミアを治療する方法であって、項目 4 3 に記載の細胞集団、項目 4 4 に記載の組成物、または項目 4 5 に記載の薬学的組成物の有効量を、前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 5 7 )

前記サラセミアが、 サラセミアである、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 5 8 )

前記サラセミアが、 サラセミアである、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 5 9 )

前記対象の前記 グロビン対立遺伝子が、 E / 0 、 C / 0 、 0 / 0 、 C / C 、 E / E 、 E / + 、 C / E 、 C / + 、 0 / + 、 または + / + である、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 6 0 )

対象における鎌状赤血球症を治療する方法であって、項目 4 3 に記載の細胞集団、項目 4 4 に記載の組成物、または項目 4 5 に記載の薬学的組成物の有効量を、前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 6 1 )

前記対象の前記 グロビン対立遺伝子は、 E / S 、 0 / S 、 C / S 、 + / S または S / S である、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 6 2 )

対象における サラセミアを治療する方法であって、有効量の項目 4 3 に記載の細胞集団、項目 4 4 に記載の組成物、または項目 4 5 に記載の薬学的組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 6 3 )

前記対象の前記 グロビン対立遺伝子が、 E / 0 、 C / 0 、 0 / 0 、 C / C

/ C 、 E / E 、 E / + 、 C / E 、 C / + 、 0 / + 、 または + /  
+ である、項目 6 2 に記載の方法。

(項目 6 4)

前記造血幹細胞集団が、静脈内経路、髄内経路、または骨内経路で投与される、項目 5  
3 ~ 6 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 5)

前記造血幹細胞集団が、静脈内に投与される、項目 5 3 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の  
方法。