

【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5月24日(2022.5.24)

【国際公開番号】WO2019/222136

【公表番号】特表2021-522842(P2021-522842A)

【公表日】令和3年9月2日(2021.9.2)

【出願番号】特願2020-564217(P2020-564217)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/861(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

A 6 1 P 7/04(2006.01)

A 6 1 P 1/16(2006.01)

A 6 1 P 7/10(2006.01)

A 6 1 P 7/00(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/861 Z Z N A

C 1 2 N 7/01

C 1 2 N 5/10

A 6 1 P 7/04

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 7/10

A 6 1 P 7/00

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

20

30

【手続補正書】

【提出日】令和4年5月13日(2022.5.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0145

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0145】

Bba-49キャプシド、ApoE-hAATプロモーター、アラニングリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ(AGXT)導入遺伝子を含むAAVを作製した。AAV-AGXTの1E14 vg/kgの用量を3~4週齢AGXT^{-/-} C57BL/6J雄性マウスの尾静脈に注射した。肝細胞の形質導入は、様々な供給源に由来するAAV5キャプシドを有するAAVと比較した。肝細胞中の導入遺伝子AGXTの発現は、免疫組織化学を用いて評価した。図11に示すように、Bba-49キャプシドは、試験したAAV5キャプシドよりも高いパーセンテージのAGXT発現肝細胞を生じた。AAV.Bba-49.AGXTにより、肝細胞の約96%が形質導入された。

40

本件出願は、以下の態様の発明を提供する。

(態様1)

キャプシドタンパク質を含むアデノ随伴ウイルス(AAV)であって、該キャプシドタンパク質が、(i)配列番号:1-7のいずれか1つ、(ii)配列番号:1-7のいずれか1つのV

50

P2領域、又は(iii)配列番号:1-7のいずれか1つのVP3領域と少なくとも95%一致するアミノ酸配列を含み、かつ該AAVが、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列と作用可能に連結された該異種遺伝子を含む導入遺伝子をさらに含む、前記AAV。

(態様2)

前記キャプシドタンパク質が、(i)配列番号:1-7のいずれか1つ、(ii)配列番号:1-7のいずれか1つのVP2領域、又は(iii)配列番号:1-7のいずれか1つのVP3領域のアミノ酸配列を含む、態様1記載のAAV。

(態様3)

キャプシドタンパク質を含むアデノ随伴ウイルス(AAV)であって、該キャプシドタンパク質が、配列番号:1-7のいずれか1つの機能的断片を含み、かつ該AAVが、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列と作用可能に連結された該異種遺伝子を含む導入遺伝子をさらに含む、前記AAV。

(態様4)

前記キャプシドが、配列番号:1-7のいずれか1つのアミノ酸配列の可変領域(VR)、可変領域の間に位置する定常領域、GBSドメイン、及びGHループの1以上を含む、態様3記載のAAV。

(態様5)

キャプシドタンパク質を含むアデノ随伴ウイルス(AAV)であって、該キャプシドタンパク質が、(i)配列番号:8-14のいずれか1つのヌクレオチド配列、(ii)配列番号:1-7のいずれか1つのアミノ酸配列のVP2領域をコードするヌクレオチド配列、又は(iii)配列番号:1-7のいずれか1つのアミノ酸配列のVP3領域をコードするヌクレオチド配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を含み、かつ該AAVが、宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列と作用可能に連結された該異種遺伝子を含む導入遺伝子をさらに含む、前記AAV。

(態様6)

AAV逆向き末端反復配列をさらに含む、態様1~5のいずれか1項記載のAAV。

(態様7)

態様1~6のいずれか1項記載のAAV及び生理的適合性を有する担体を含む組成物。

(態様8)

細胞に導入遺伝子を送達する方法であって、該細胞を、態様1~6のいずれか1項記載のAAVと接触させることを含む、前記方法。

(態様9)

細胞に導入遺伝子を送達するための態様1~6のいずれか1項記載のAAVを含む組成物。

(態様10)

細胞に導入遺伝子を送達するための医薬の調製のための、態様1~6のいずれか1項記載のAAVの使用。

(態様11)

前記細胞が、肝細胞である、態様8~10のいずれか1項に記載の方法、組成物、又は使用。

(態様12)

内在のタンパク質の異常な活性と関連する障害又は疾患に罹患する対象の治療方法であって、該対象に有効量のキャプシドタンパク質を含むAAVを投与することを含み、ここで該キャプシドタンパク質が、(i)配列番号:1-7のいずれか1つ、(ii)配列番号:1-7のいずれか1つのVP2領域、又は(iii)配列番号:1-7のいずれか1つのVP3領域と少なくとも95%一致するアミノ酸配列を含み、かつ該AAVが、タンパク質の生物活性を有するコピーをコードする導入遺伝子を含む、前記方法。

(態様13)

内在のタンパク質の異常な活性と関連する障害又は疾患に罹患する対象の治療方法であって、該対象に有効量の態様1~8のいずれか1項記載のAAVを投与することを含み、前記方法。

10

20

30

40

50

(熊様14)

前記障害又は疾患が肝細胞中で発現する内在の遺伝子の異常な活性と関連する、熊様12又は13記載の方法。

(熊様15)

前記障害又は疾患が血友病A、血友病B、ウィルソン病、遺伝性血管浮腫(HAE)、1アンチトリプシン欠損症及び乳糖血症からなる群から選択される、熊様12~14のいずれか1項記載の方法。

(熊様16)

(i) 配列番号:1-7のいずれか1つ、(ii) 配列番号:1-7のいずれか1つのVP2領域、又は(iii) 配列番号:1-7のいずれか1つのVP3領域と少なくとも95%一致するアミノ酸配列を有するアデノ随伴ウイルス(AAV)キャプシドタンパク質をコードする核酸配列を含む、ベクター。

(熊様17)

ヌクレオチド配列が、(i) 配列番号:8-14のいずれか1つの核酸配列、(ii) 配列番号:1-7のいずれか1つのVP2領域をコードするヌクレオチド配列、又は(iii) 配列番号:1-7のいずれか1つのVP3領域をコードするヌクレオチド配列とハイブリダイズする、アデノ随伴ウイルス(AAV)キャプシドタンパク質をコードする核酸配列を含む、ベクター。

(熊様18)

キャプシドタンパク質をコードする核酸配列を含むベクターであって、該キャプシドタンパク質が、配列番号:1-7のいずれか1つの機能的断片を含む、前記ベクター。

(熊様19)

前記キャプシドが、配列番号:1-7のいずれか1つのアミノ酸配列の可変領域(VR)、可変領域の間に位置する定常領域、GBSドメイン、及びGHループの1以上を含む、熊様18記載のベクター。

(熊様20)

前記核酸配列が、宿主細胞中で前記キャプシドタンパク質の発現を制御する異種調節エレメントと作用可能に連結されている、熊様16~19のいずれか1項記載のベクター。

(熊様21)

熊様16~20のいずれか1項記載のベクターを含む細胞。

(熊様22)

障害又は疾患の治療のための医薬の調製のための、熊様1~8のいずれか1項記載のAAVの使用。

(熊様23)

前記障害又は疾患が、内在のタンパク質の異常な活性と関連し、かつさらに前記AAVが前記タンパク質の生物活性を有するコピーをコードする導入遺伝子を含む、熊様22記載の使用。

(熊様24)

前記障害又は疾患が血友病A、血友病B、ウィルソン病、遺伝性血管浮腫(HAE)、1アンチトリプシン欠損症及び乳糖血症からなる群から選択される、熊様22又は23記載の使用。

(熊様25)

疾患又は障害の治療のための、熊様1~8のいずれか1項記載のAAVを含む組成物。

(熊様26)

前記障害又は疾患が、内在のタンパク質の異常な活性と関連し、かつさらに前記AAVが前記タンパク質の生物活性を有するコピーをコードする導入遺伝子を含む、熊様25記載の組成物。

(熊様27)

前記障害又は疾患が血友病A、血友病B、ウィルソン病、遺伝性血管浮腫(HAE)、1アンチトリプシン欠損症及び乳糖血症からなる群から選択される、熊様26記載の組成物。

10

20

30

40

50

(態様 28)

態様 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載のアデノ随伴ウイルス (AAV) を生産する方法であって :
(a) 宿主細胞中で異種遺伝子の発現を制御する調節配列と作用可能に連結された異種遺
伝子を含む導入遺伝子と隣接する 5' 及び 3' AAV 逆向き末端反復配列を含む、第 1 の核酸
ベクター、及び AAV rep 及び cap 核酸配列を含む第 2 の核酸ベクターを導入したウイルス
生産細胞を培養することであって、前記 cap 核酸配列が配列番号 : 1-7 のいずれかと少な
くとも 95% 一致する AAV キャプシドをコードする、前記培養すること ; 並びに
(b) ウイルス生産細胞培養物の上清から、該 AAV を回収すること、を含む、前記方法。

(態様 29)

前記ウイルス生産細胞が哺乳動物細胞である、態様 28 記載の方法。

10

(態様 30)

前記哺乳動物細胞が、HEK293、HeLa、CHO、NS0、SP2/0、PER.C6、Vero、R
D、BHK、HT 1080、A549、Cos-7、ARPE-19、及び MRC-5 細胞からなる群から選
択される、態様 29 記載の方法。

(態様 31)

前記哺乳動物細胞が HEK293 細胞である、態様 30 記載の方法。

(態様 32)

態様 28 ~ 31 のいずれか 1 項記載の方法によって生産される、アデノ随伴ウイルス (AA
V) 。

20

30

40

50