

【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11月11日(2021.11.11)

【公表番号】特表2020-537543(P2020-537543A)

【公表日】令和2年12月24日(2020.12.24)

【年通号数】公開・登録公報2020-052

【出願番号】特願2020-540682(P2020-540682)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/56	(2006.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	15/113	(2010.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	15/864	(2006.01)
C 1 2 N	15/866	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 P	25/16	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2015.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/56	Z N A
C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/113	Z
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z
C 1 2 N	15/866	Z
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	
A 6 1 P	25/16	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	45/00	

【手続補正書】

【提出日】令和3年10月1日(2021.10.1)

【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、単離された核酸、

( i ) 以下を含む、導入遺伝子を含む発現構築物

( a ) 配列番号 15 に示される配列を含む配列をコードする、 - グルコセレブロシダーゼ ( G c a s e ) タンパク質；

および

( b ) 任意に、阻害性核酸が、配列番号 20 に示される配列によってコードされる、 - シヌクレインを標的とする阻害性核酸をコードするコード配列をさらに含む；

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 ( A A V ) 逆方向末端反復 ( I T R ) 配列。

【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 3 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の転写後調節要素 ( W P R E ) をさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【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 ~ 4 のいずれか一項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 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 8】

各 I T R 配列が、発現構築物に対して近位の「 D 」領域 ( 配列番号 27 ) を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 9】

少なくとも 1 つの I T R 配列が、発現構築物に対して I T R の外側に位置する「 D 」領域 ( 配列番号 27 ) を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 10】

発現構築物に対して 5' に位置する I T R 配列が、発現構築物に対して近位の「 D 」領域 ( 配列番号 27 ) を含み、および、発現構築物に対して 3' に位置する I T R 配列が、発現構築物に対して I T R 配列の外側に位置する「 D 」領域 ( 配列番号 27 ) を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項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 1 のヌクレオチド 1 ~ 145 であり、および、3' I T R の核酸配列が、配列番号 1 の核のヌクレオチド 3867 ~ 4011 である、請求項 10 に記載の単離された核酸。

【請求項 12】

5' I T R と発現構築物との間に T R Y 領域をさらに含み、ここで、 T R Y 領域が配列番号 28 に示される配列を有する、請求項 11 に記載の単離された核酸。

【請求項 13】

以下を含む、組換えアデノ随伴ウイルス ( r A A V ) ベクター：

( i ) 以下を含む、導入遺伝子を含む発現構築物

( a ) 配列番号 15 に示される配列を含む配列をコードする、 G c a s e タンパク質；

および

(b) 任意に、阻害性核酸が、配列番号20に示される配列によってコードされる、-  
シヌクレインを標的とする阻害性核酸をコードするコード配列をさらに含む；

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(AAV)逆方向末端反復(ITS)配列。

【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13に記載のrAAV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(CBA)プロモーターである、請求項14に記載のrAAVベクター。

【請求項16】

CMVエンハンサーをさらに含む、請求項15に記載のrAAVベクター。

【請求項17】

ウッドチャック肝炎ウイルスの転写後調節要素(WPRE)をさらに含む、請求項13~16のいずれか一項に記載の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13~16のいずれか一項に記載のrAAVベクター。

【請求項19】

各ITS配列が、野生型AAV2 ITS配列である、請求項13~16のいずれか一項に記載のrAAVベクター。

【請求項20】

各ITS配列が、発現構築物に対して近位の「D」領域(配列番号27)を含む、請求項13~16のいずれか一項に記載のrAAVベクター。

【請求項21】

少なくとも1つのITS配列が、発現構築物に対してITSの外側に位置する「D」領域(配列番号27)を含む、請求項13~16のいずれか一項に記載のrAAVベクター。

【請求項22】

発現構築物に対して5'に位置するITS配列が、発現構築物に対して近位の「D」領域(配列番号27)を含み、および、発現構築物に対して3'に位置するITS配列が、発現構築物に対してITS配列の外側に位置する「D」領域(配列番号27)を含む、請求項13~16のいずれか一項に記載のrAAVベクター。

【請求項23】

5'ITSの核酸配列が、配列番号1のヌクレオチド1~145であり、および、3'ITSの核酸配列が、配列番号1の核のヌクレオチド3867~4011である、請求項22に記載のrAAVベクター。

【請求項24】

5'ITSと発現構築物との間にTRY領域をさらに含み、ここで、TRY領域が配列番号28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】

以下を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV):

(i) アデノ随伴ウイルス(AAV)カプシドタンパク質；

および

(ii) 請求項13~16のいずれか一項に記載のrAAVベクター。

【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】

3'から5'の順番で、以下を含む核酸を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)ベクター：

- (a) 5'アデノ随伴ウイルス(AAV)逆方向末端反復(ITS)；
  - (b) CMVエンハンサー；
  - (c) ニワトリベータアクチン(CBA)プロモーター；
  - (d) 配列番号15に示される配列を含む配列をコードする-グルコセレブロシダーゼ(Gcase)タンパク質を含む、および任意に、阻害性核酸が、配列番号20に示される配列によってコードされる、-シヌクレインを標的とする阻害性核酸をコードするコード配列をさらに含む、導入遺伝子；
  - (e) ウッドチャック肝炎ウイルスの転写後調節要素(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 ITS。

**【請求項28】**

以下を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)：

- (i) アデノ随伴ウイルス(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。

**【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。

**【請求項30】**

請求項13～24、および27のいずれか一項に記載のrAAVベクターを含む、プラスミド。

**【請求項31】**

以下を含む、バキュロウイルスベクター

- (i) 配列番号15に示される配列、
- および

(ii) 任意に、阻害性核酸が、配列番号20に示される配列によってコードされる、-シヌクレインを標的とする阻害性核酸をコードするコード配列をさらに含む。

**【請求項32】**

以下を含む、細胞：

- (i) 1つ以上のアデノ随伴ウイルスrepタンパク質、および/または、1つ以上のアデノ随伴ウイルスcapタンパク質をコードする第1のベクター；
- および

(ii) 配列番号15に示される配列を含む配列をコードする-グルコセレブロシダーゼ(Gcase)タンパク質を含む、および任意に、阻害性核酸が、配列番号20に示される配列によってコードされる、-シヌクレインを標的とする阻害性核酸をコードするコード配列をさらに含む、第2のベクター。

**【請求項33】**

第1のベクターが、プラスミドであり、および、第2のベクターが、プラスミドである、請求項32に記載の細胞。

**【請求項34】**

哺乳動物細胞である、請求項32または33に記載の細胞。

**【請求項35】**

哺乳動物細胞が、HEK293細胞である、請求項34に記載の細胞。

**【請求項36】**

第1のベクターが、バキュロウイルスベクターであり、および、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32に記載の細胞。

**【請求項37】**

昆虫細胞である、請求項32または36に記載の細胞。

**【請求項38】**

以下を含む、請求項25、26、28、および29のいずれか一項に記載の組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を生成する方法：

(i) 細胞に、1つ以上のアデノ随伴ウイルスrepタンパク質、および／または、1つ以上のアデノ随伴ウイルスcapタンパク質をコードする第1のベクター、および配列番号15で示される配列を含むコード配列をコードする - グルコセレブロシダーゼ(Gcase)タンパク質を含む発現構築物を含むrAAVベクターを送達すること；

および

任意に、阻害性核酸が、配列番号20に示される配列によってコードされる、 - シヌクレインを標的とする阻害性核酸をコードするコード配列をさらに含む；

(ii) rAAVのパッケージングを可能にする条件の下で細胞を培養すること；

および

(iii) rAAVの収集のために培養宿主細胞または培養培地を回収すること。

**【請求項39】**

パーキンソン病、ゴーシェ病、またはレビー小体型認知症を有するかまたは有すると疑われる対象を処置するための薬物の製造における、請求項1～12のいずれか一項に記載の単離された核酸、請求項13～24および27のいずれか一項に記載のrAAVベクター、または請求項25、26、28、および29のいずれか一項に記載のrAAVの使用。

**【請求項40】**

薬物が、対象のCNSへの直接注射のために製剤化される、請求項39に記載の使用。

**【請求項41】**

対象のCNSに対する直接注射が、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40に記載の使用。

**【請求項42】**

対象のCNSに対する直接注射が、対流強化送達(CED)を含む、請求項40に記載の使用。

**【請求項43】**

薬物が、末梢注射のために製剤化され、ここで任意に、末梢注射が、静脈内注射である、請求項39に記載の使用。

**【手続補正2】**

**【補正対象書類名】**明細書

**【補正対象項目名】**0090

**【補正方法】**変更

**【補正の内容】**

**【0090】**

均等物

本出願には、以下の文献の内容全体が参照により組み込まれる：2018年10月3日に提出された代理人整理番号P1094.70003W000により参照される国際PCT出願；2018年10月3日に提出された代理人整理番号P1094.70004W000により参照される国際PCT出願；2017年10月3日に提出された米国仮出願第62/567,311号、表題「ライソゾーム病の遺伝子治療」；2017年10月3日に提出された第62/567,319号、表題「ライソゾーム病の遺伝子治療」；2017年10月3日に提出された第62/567,301号、表題「ライソゾーム病の遺伝子治療」；2017年10月3日に提出された第62/567,310号、表題「ライソゾーム病の遺伝子治療」；2017年10月3日に提出された第62/567,303号、表題「ライソゾーム病の遺伝子治療」；および2017年10月3日に提出された第62/567,305号、表題「ライソゾーム病の遺伝子治療」。