

【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)

【国際公開番号】WO2020/041773

【公表番号】特表 2021-533805(P2021-533805A)

【公表日】令和 3 年 12 月 9 日(2021.12.9)

【出願番号】特願 2021-510015(P2021-510015)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/12(2006.01)

10

C 1 2 N 15/117(2010.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

A 6 1 K 38/37(2006.01)

A 6 1 K 38/16(2006.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 P 37/02(2006.01)

A 6 1 P 37/08(2006.01)

A 6 1 K 38/36(2006.01)

A 6 1 K 38/43(2006.01)

20

A 6 1 K 38/47(2006.01)

A 6 1 P 29/00(2006.01)

A 6 1 P 7/10(2006.01)

A 6 1 K 38/54(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

A 6 1 K 9/14(2006.01)

A 6 1 K 47/06(2006.01)

A 6 1 K 31/7088(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 P 7/04(2006.01)

30

【F I】

C 1 2 N 15/12 Z N A

C 1 2 N 15/117 Z

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

A 6 1 K 38/37

A 6 1 K 38/16

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 37/02

A 6 1 P 37/08

40

A 6 1 K 38/36

A 6 1 K 38/43

A 6 1 K 38/47

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 7/10

A 6 1 K 38/54

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 9/14

A 6 1 K 47/06

A 6 1 K 31/7088

50

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 7/04

【手続補正書】

【提出日】令和4年4月18日(2022.4.18)

【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】

10

【特許請求の範囲】

【請求項1】

Bドメイン欠失を有する第V I I I因子タンパク質(F V I I I - B D D)をコードする核酸配列を含む発現カセットであって、配列番号1の配列と少なくとも98%同一の配列を含む、発現カセット。

【請求項2】

配列番号1の配列と少なくとも99%同一の配列を含む、請求項1に記載の発現カセット。

【請求項3】

配列番号1の配列を含む、請求項1に記載の発現カセット。

20

【請求項4】

配列番号1の配列からなる、請求項1に記載の発現カセット。

【請求項5】

Bドメイン欠失を有する第V I I I因子タンパク質(F V I I I - B D D)をコードする核酸配列に作動可能に連結されている調節エレメントを含む発現カセットであって、前記調節エレメントと前記核酸配列との間にイントロンが存在せず、前記発現カセットが、配列番号1の配列と少なくとも91%同一の配列を含む、発現カセット。

【請求項6】

a. 配列番号2～配列番号67のいずれかの配列と少なくとも90%同一の調節エレメントと、

30

b. Bドメイン欠失を有する第V I I I因子タンパク質(F V I I I - B D D)をコードする核酸配列であって、配列番号77の配列に対して少なくとも90%同一性を有する核酸配列と

を含む発現カセットであって、前記調節エレメントが、前記核酸配列に作動可能に連結されており、前記調節エレメントと前記核酸配列との間にイントロンが存在しない、発現カセット。

【請求項7】

a. 配列番号2～配列番号67のいずれかの配列と少なくとも90%同一の調節エレメントと、

40

b. Bドメイン欠失を有する第V I I I因子タンパク質(F V I I I - B D D)をコードする核酸配列であって、配列番号77の配列に対して少なくとも90%同一性を有する核酸配列と

を含む発現カセットであって、前記調節エレメントが、前記核酸配列に作動可能に連結されており、前記調節エレメントと前記核酸配列との間に、非翻訳核酸の0個～5個、5個～10個、10個～15個、15個～20個、20個～25個、25個～30個、30個～35個、35個～40個、40個～45個、45個～50個、50個～55個、55個～60個、60個～65個、65個～70個、70個～75個、75個～80個、80個～85個、85個～90個、90個～95個、95個～100個、100個～105個、106個又は107個以下のヌクレオチドが存在する、発現カセット。

【請求項8】

50

前記調節エレメントが、配列番号 2 ~ 配列番号 67 のいずれかと少なくとも 95 % 同一のヌクレオチド配列を含む、請求項 5 ~ 7 のいずれか一項に記載の発現カセット。

【請求項 9】

前記調節エレメントが、配列番号 4 ~ 配列番号 21 又は配列番号 24 ~ 配列番号 67 のいずれかの配列に記載されるものと同じ総数の低減された CpG を含む、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の発現カセット。

【請求項 10】

前記調節エレメントが、配列番号 4 ~ 配列番号 21 又は配列番号 24 ~ 配列番号 67 のいずれかの配列に記載されるものと同じ位置で、CpG が CpT、CpA、TpG、又は ApG に置換された、配列番号 2 ~ 配列番号 21 又は配列番号 24 ~ 配列番号 67 のいずれかの配列を含む、請求項 5 ~ 9 のいずれか一項に記載の発現カセット。

【請求項 11】

前記核酸配列が、前記調節エレメントと前記核酸配列との間に、(a) イントロン、又は (b) 非翻訳核酸の 108 個以上のヌクレオチドを有する発現カセットからの発現と比較して、より高い発現を示す、請求項 5 ~ 10 のいずれか一項に記載の発現カセット。

【請求項 12】

コードされた前記 FVII - BDD が、前記調節エレメントと前記核酸配列との間に、(a) イントロン、又は (b) 非翻訳核酸の 108 個以上のヌクレオチドを有する発現カセットからの発現と比較して、より高い生物活性を示す、請求項 5 ~ 11 のいずれか一項に記載の発現カセット。

【請求項 13】

生物活性が、FVII アッセイ又は FVII 欠損モデルにおける凝固アッセイ又は出血の低減によって決定される、請求項 12 に記載の発現カセット。

【請求項 14】

前記調節エレメントと前記核酸配列との間に、(a) イントロン、又は (b) 非翻訳核酸の 108 個以上のヌクレオチドを有する発現カセットのパッケージングと比較して、より効率的に AAV ベクターにパッケージングされる、請求項 5 ~ 13 のいずれか一項に記載の発現カセット。

【請求項 15】

より少ないシトシン - グアニンジヌクレオチド (CpG) を有するように改変された、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 22 又は配列番号 23 の核酸配列を含む、核酸。

【請求項 16】

1 個少ない CpG を有するように改変された、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 22 又は配列番号 23 の核酸配列を含む、請求項 15 に記載の核酸。

【請求項 17】

2 個少ない CpG を有するように改変された、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 22 又は配列番号 23 の核酸配列を含む、請求項 15 に記載の核酸。

【請求項 18】

3 個少ない CpG を有するように改変された、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 22 又は配列番号 23 の核酸配列を含む、請求項 15 に記載の核酸。

【請求項 19】

4 個少ない CpG を有するように改変された、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 22 又は配列番号 23 の核酸配列を含む、請求項 15 に記載の核酸。

【請求項 20】

5 個少ない CpG を有するように改変された、配列番号 22 又は配列番号 23 の核酸配列を含む、請求項 15 に記載の核酸。

【請求項 21】

6 個少ない CpG を有するように改変された、配列番号 22 又は配列番号 23 の核酸配列を含む、請求項 15 に記載の核酸。

【請求項 22】

10

20

30

40

50

7 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 2 3】

8 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 2 4】

9 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 2 5】

1 0 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__ 10

【請求項 2 6】

1 1 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 2 7】

1 2 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 2 8】

1 3 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__ 20

【請求項 2 9】

1 4 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 3 0】

1 5 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 3 1】

1 6 個少ない C p G を有するように改変された、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 3 2】

1 個又は 0 個の C p G を有するように改変された、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__ 30

【請求項 3 3】

0 個の C p G を有するように改変された、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 の核酸配列を含む、請求項 1 5 に記載の核酸。__

【請求項 3 4】

配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 における 5' 末端から少なくとも 1 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 1 5 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の核酸。__

【請求項 3 5】

配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 における 5' 末端から少なくとも 2 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 1 5 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の核酸。__ 40

【請求項 3 6】

配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 における 5' 末端から少なくとも 3 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 1 5 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の核酸。__

【請求項 3 7】

配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 における 5' 末端から少なくとも 4 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 1 5 ~ 3 3 のいずれか一項に 50

記載の核酸。

【請求項 38】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 5 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 39】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 6 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 40】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 7 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

10

【請求項 41】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 8 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 42】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 9 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 43】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 10 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 44】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 11 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

20

【請求項 45】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 12 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 46】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 13 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 47】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 14 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

30

【請求項 48】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 15 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 49】

配列番号 22 又は配列番号 23 における 5' 末端から少なくとも 16 番目の C p G が、C p G 以外に改変されている、請求項 15 ~ 33 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 50】

請求項 15 ~ 49 のいずれか一項に記載の核酸配列の配列と少なくとも 95 % 同一の核酸。

40

【請求項 51】

5' 及び / 又は 3' に隣接する 5 個 ~ 7 個のヌクレオチドを有するか、又は有さない配列番号 4 ~ 配列番号 21 又は配列番号 24 ~ 配列番号 67 のいずれかの配列と少なくとも 95 % 同一の核酸配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 52】

配列番号 4 ~ 配列番号 21 又は配列番号 24 ~ 配列番号 67 のいずれかの配列と少なくとも 95 % 同一の核酸配列を含み、配列番号 4 ~ 配列番号 21 又は配列番号 24 ~ 配列番号 67 のいずれかに記載されるものと同じ数の低減された C p G を有する、ポリヌクレオチド。

【請求項 53】

50

配列番号 4 ~ 配列番号 2 1 又は配列番号 2 4 ~ 配列番号 6 7 のいずれかの配列と少なくとも 9 5 % 同一の核酸配列を含み、配列番号 4 ~ 配列番号 2 1 又は配列番号 2 4 ~ 配列番号 6 7 のいずれかに記載されるものと同じ位置で、低減された C p G を有する、ポリヌクレオチド。

【請求項 5 4】

前記改変された前記配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 は、少なくとも 1 つの C p G における G ヌクレオチドが T 若しくは A ヌクレオチドで置換されて C p T 若しくは C p A ジヌクレオチドになっているか、又は少なくとも 1 つの C p G における C ヌクレオチドが T 若しくは A ヌクレオチドで置換されて T p G 若しくは A p G ジヌクレオチドになっている、請求項 1 5 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

10

【請求項 5 5】

前記改変された前記配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 における 5' 末端から 7 番目の C p G は、G ヌクレオチドが置換されていない、請求項 1 5 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

【請求項 5 6】

前記改変された前記配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 における 5' 末端から 7 番目の C p G は、G ヌクレオチドが T 又は A ヌクレオチドで置換されて C p T 又は C p A ジヌクレオチドになっている、請求項 1 5 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

【請求項 5 7】

前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 における 5' 末端から 7 番目の C p G は、G ヌクレオチドが T 若しくは A ヌクレオチドで置換されて C p T 若しくは C p A ジヌクレオチドになっているか、又は前記改変された配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 における少なくとも 1 つのさらなる C p G ジヌクレオチドは、G ヌクレオチドが T ヌクレオチドで置換されて前記改変された配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 において C p T ジヌクレオチドになっている、請求項 1 5 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

20

【請求項 5 8】

前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 における 5' 末端から 7 番目の C p G は、G ヌクレオチドが T 若しくは A ヌクレオチドで置換されて C p T 若しくは C p A ジヌクレオチドになっているか、又は前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 における少なくとも 1 つのさらなる C p G は、G ヌクレオチドが A ヌクレオチドで置換されて前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 において C p A ジヌクレオチドになっている、請求項 1 5 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

30

【請求項 5 9】

前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 における 5' 末端から 7 番目の C p G は、G ヌクレオチドが T 若しくは A ヌクレオチドで置換されて C p T 若しくは C p A ジヌクレオチドになっているか、又は前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 における少なくとも 2 つのさらなる C p G は、G ヌクレオチドが T ヌクレオチドで置換されて前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 において C p T ジヌクレオチドになっている、請求項 1 5 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

40

【請求項 6 0】

前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 における 5' 末端から 7 番目の C p G は、G ヌクレオチドが T 若しくは A ヌクレオチドで置換されて C p T 若しくは C p A ジヌクレオチドになっているか、又は前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 における少なくとも 2 つのさらなる C p G は、G ヌクレオチドが T ヌクレオチドで置換されて前記改変された配列番号 2 2 若しくは配列番号 2 3 において C p A ジヌクレオチドになっている、請求項 1 5 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

【請求項 6 1】

前記改変された前記配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 は、少なくとも 1 つの C p G における G 及び / 又は C ヌクレオチドが欠失している、請求項 1 5 ~ 6

50

0 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

【請求項 6 2】

導入遺伝子に作動可能に連結されている、請求項 1 5 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

【請求項 6 3】

未変更の前記配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 によって付与される転写の約 5 0 % 以内である、作動可能に連結されている導入遺伝子上での転写を付与する、請求項 1 5 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

【請求項 6 4】

未変更の前記配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 によって付与される転写の約 2 5 % ~ 5 0 % 以内である、作動可能に連結されている導入遺伝子上での転写を付与する、請求項 1 5 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

10

【請求項 6 5】

未変更の前記配列番号 2、配列番号 3、配列番号 2 2 又は配列番号 2 3 によって付与される転写の約 5 % ~ 1 0 0 % 以内である、作動可能に連結されている導入遺伝子上での転写を付与する、請求項 1 5 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチド。

【請求項 6 6】

請求項 1 5 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の核酸又はポリヌクレオチドと、導入遺伝子とを含む発現カセット。

【請求項 6 7】

前記核酸又はポリヌクレオチドが、前記導入遺伝子の 5 ' に配置されている、請求項 6 6 に記載の発現カセット。

20

【請求項 6 8】

前記導入遺伝子が、肝臓細胞において発現され体循環に分泌される治療用タンパク質をコードする、請求項 6 6 又は 6 7 に記載の発現カセット。

【請求項 6 9】

前記治療用タンパク質が、神経変性疾患又は中枢神経系 (C N S) 疾患を治療又は防止する、請求項 6 8 に記載の発現カセット。

【請求項 7 0】

前記治療用タンパク質が、防御用 A p o E アイソフォームである、請求項 6 9 に記載の発現カセット。

30

【請求項 7 1】

前記治療用タンパク質が、A p o E 2 アイソフォームである、請求項 7 0 に記載の発現カセット。

【請求項 7 2】

前記治療用タンパク質が、自己免疫疾患又はアレルギー疾患を治療又は防止する、請求項 6 8 に記載の発現カセット。

【請求項 7 3】

前記治療用タンパク質が、望ましくない抗原と、前記細胞からの前記治療用タンパク質の分泌を駆動するリーダー配列とを含む融合タンパク質である、請求項 7 2 に記載の発現カセット。

40

【請求項 7 4】

前記望ましくない抗原が、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質 (M O G) の細胞外ドメイン又はその断片である、請求項 7 3 に記載の発現カセット。

【請求項 7 5】

前記治療用タンパク質が、血液凝固又は凝固因子タンパク質である、請求項 6 8 に記載の発現カセット。

【請求項 7 6】

前記血液凝固又は凝固因子タンパク質が、第 I X 因子 (F I X)、第 V I I I 因子 (F V I I I)、第 V I I 因子 (F V I I) 又はプロテイン C である、請求項 7 5 に記載の発現

50

カセット。

【請求項 77】

前記第 V I I I 因子が、配列番号 68 の配列と少なくとも 95 % 同一の核酸配列によってコードされる、請求項 76 に記載の発現カセット。

【請求項 78】

前記治療用タンパク質が、リソソーム貯蔵酵素である、請求項 68 に記載の発現カセット。

【請求項 79】

前記リソソーム貯蔵酵素が、酸性アルファ - グルコシダーゼ (G A A) 又はアルファ - ガラクトシダーゼ (G L A) である、請求項 78 に記載の発現カセット。

10

【請求項 80】

前記治療用タンパク質が、炎症性疾患又は障害を治療又は防止する、請求項 68 に記載の発現カセット。

【請求項 81】

前記治療用タンパク質が、遺伝性血管浮腫 (H A E) を治療又は防止する、請求項 68 に記載の発現カセット。

【請求項 82】

前記治療用タンパク質が、C1 エステラーゼ阻害剤 (C1 E I) である、請求項 81 に記載の発現カセット。

【請求項 83】

請求項 1 ~ 82 のいずれか一項に記載の核酸、又はポリヌクレオチド又は発現カセットを含むアデノ随伴ウイルス (A A V) ベクター。

20

【請求項 84】

a) A A V キャプシド、及び

b) 1 つ又は複数の A A V 末端逆位配列 (I T R) であって、前記核酸配列、前記ポリヌクレオチド、及び / 又は前記導入遺伝子の 5 ' 又は 3 ' 末端に隣接する、A A V I T R のうちの 1 つ又は複数を含む、請求項 83 に記載の A A V ベクター。

【請求項 85】

前記隣接する 5 ' 又は 3 ' I T R 内に配置されるイントロンをさらに含む、請求項 84 に記載の A A V ベクター。

30

【請求項 86】

前記イントロン又は 1 つ若しくは複数の I T R の少なくとも 1 つが、低減された C p G を有するように改変されている、請求項 85 に記載の A A V ベクター。

【請求項 87】

前記 A A V キャプシド血清型が、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 3 B、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11、R h 10、R h 74 若しくは A A V - 2 i 8 V P 1、V P 2 及び / 若しくは V P 3 配列に対して 90 % 以上の配列同一性を有する改変若しくはバリエーション A A V V P 1、V P 2 及び / 若しくは V P 3 キャプシド、又は A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11、A A V 12、R h 10、R h 74、A A V - 2 i 8、配列番号 91 若しくは配列番号 92 V P 1、V P 2 及び / 若しくは V P 3 配列に対して 95 % 以上の配列同一性を有するキャプシド、又は A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11、R h 10、R h 74、A A V - 2 i 8、配列番号 91 若しくは配列番号 92 V P 1、V P 2 及び / 若しくは V P 3 配列に対して 100 % の配列同一性を有するキャプシドを含む、請求項 83 ~ 86 のいずれか一項に記載の A A V ベクター。

40

【請求項 88】

前記 I T R が、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 3 B、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11、R h 10、若しくは R

50

h 7 4 A A V 血清型、又はそれらの組合せを含む、請求項 8 3 ~ 8 7 のいずれか一項に記載の A A V ベクター。

【請求項 8 9】

I T R、ポリ A シグナル及び / 又はイントロン配列をさらに含む、請求項 8 3 ~ 8 8 のいずれか一項に記載の A A V ベクター。

【請求項 9 0】

請求項 8 3 ~ 8 9 のいずれか一項に記載の複数の A A V ベクターを生物学的に適合可能な担体又は賦形剤中に含む医薬組成物。

【請求項 9 1】

空の A A V キャプシドをさらに含む、請求項 9 0 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 9 2】

前記空の A A V キャプシドと前記 A A V ベクターの比が、約 1 0 0 : 1 ~ 5 0 : 1、約 5 0 : 1 ~ 2 5 : 1、約 2 5 : 1 ~ 1 0 : 1、約 1 0 : 1 ~ 1 : 1、約 1 : 1 ~ 1 : 1 0、約 1 : 1 0 ~ 1 : 2 5、約 1 : 2 5 ~ 1 : 5 0、又は約 1 : 5 0 ~ 1 : 1 0 0 内又は間に存在する、請求項 9 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 9 3】

前記空の A A V キャプシドと前記 A A V ベクターの比が、約 2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、又は 1 0 : 1 である、請求項 9 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 9 4】

20

界面活性剤をさらに含む、請求項 9 0 ~ 9 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9 5】

血液凝固又は凝固因子を必要とするヒトを治療するための、

請求項 1 ~ 1 4、請求項 6 6 ~ 6 8 及び請求項 7 5 ~ 7 7 のいずれか一項に記載の発現カセット若しくは請求項 8 3 ~ 8 9 のいずれか一項に記載の A A V ベクターを含む医薬組成物、又は請求項 9 0 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物であって、
前記血液凝固又は凝固因子が、前記ヒトにおいて発現されるものである、医薬組成物。

【請求項 9 6】

前記ヒトが、血友病 A 又は血友病 B を有するものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 9 7】

前記医薬組成物が、静脈内に、動脈内に、腔内に、筋内に、又はカテーテルによって、前記ヒトに投与されるためのものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 9 8】

前記血液凝固又は凝固因子が、増加したレベルで発現されるものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 9 9】

前記血液凝固又は凝固因子が、血液凝固又は凝固因子を必要としないヒトで見られる血液凝固又は凝固因子のレベルの 1 % を上回って発現されるものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 1 0 0】

前記血液凝固又は凝固因子が、血液凝固又は凝固因子を必要としないヒトで見られる血液凝固又は凝固因子のレベルの約 1 % ~ 4 0 % で発現されるものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 0 1】

前記血液凝固又は凝固因子が、血液凝固又は凝固因子を必要としないヒトで見られる血液凝固又は凝固因子のレベルの約 5 % ~ 3 0 % で発現されるものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 0 2】

前記 A A V ベクターを、前記ヒトの体重 1 キログラム当たり約 1×10^8 ~ 約 1×10^{11}

50

4 ベクターゲノム (v g / k g) の範囲で投与するためのものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 0 3】

前記ヒトが、第 V I I I 因子 (F V I I I) に対する阻害抗体を有する血友病 A を有するものである、請求項 9 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 0 4】

血友病 A の治療を必要とするヒトにおいて、第 V I I I 因子 (F V I I I) に対する阻害抗体を有する血友病 A を治療するための、

請求項 1 ~ 1 4、請求項 6 6 ~ 6 8 及び請求項 7 5 ~ 7 7 のいずれか一項に記載の発現カセット若しくは請求項 8 3 ~ 8 9 のいずれか一項に記載の A A V ベクターを含む医薬組成物、又は請求項 9 0 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物であって、

前記血液凝固又は凝固因子が、第 V I I I 因子 (F V I I I) であり、前記ヒトにおいて発現されるものである、医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 4 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 4 4】

[0164] バリエーション F V I I I は、S F S Q N P P V L K R H Q R (配列番号 6 9) として記載される「S Q」配列を包含し得る。通常、S Q を有するかかるバリエーション F V I I I (F V I I I / S Q) は、B D D を有し、例えば、B D の少なくとも全て又は一部が欠失されている。F V I I I - B D D 等のバリエーション F V I I I は、「S Q」配列の全て又は一部、即ち、配列番号 6 9 の全て又は一部を有し得る。したがって、例えば、S Q 配列 (S F S Q N P P V L K R H Q R、配列番号 6 9) を有するバリエーション F V I I I - B D D は、アミノ酸配列 S F S Q N P P V L K R H Q R (配列番号 6 9) の全て又はほんの一部を有し得る。例えば、F V I I I - B D D は、含まれる S F S Q N P P V L K R H Q R (配列番号 6 9) の 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個又は 1 3 個のアミノ酸残基を有し得る。したがって、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個又は 1 3 個の内部欠失並びに 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個又は 1 3 個のアミノ又はカルボキシ末端欠失を有する S F S Q N P P V L K R H Q R (配列番号 6 9) は、本明細書に記載されるバリエーション F V I I I タンパク質中に含まれる。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 3 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 3 4】

[0254] ある特定の実施形態において、自己免疫疾患タンパク質は、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質 (M O G、例えば、多発性硬化症用)、ミエリン塩基性タンパク質 (M B P、例えば、多発性硬化症用)、プロテオリピドタンパク質 (P L P、多発性硬化症用)、ミエリン関連糖タンパク質 (M A G、抗 M A G 末梢神経障害用)、インスリン (例えば、1 型糖尿病用)、膵島特異的なグルコース - 6 - ホスファターゼ触媒サブユニット関連タンパク質 (I G R P、例えば、1 型糖尿病用)、プレプロインスリン (例えば、1 型糖尿病用)、グルタミン酸デカルボキシラーゼ (G A D、例えば、1 型糖尿病用)、チロシンホスファターゼ様自己抗原 (例えば、1 型糖尿病用)、インスリンノーマ抗原 - 2 (例えば、1 型糖尿病用)、膵島細胞抗原 (例えば、1 型糖尿病用)、甲状腺刺激ホルモン (T S H) 受容体 (例えば、グレーブス病用)、サイトロロピン受容体 (例えば、グレーブス病用)、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン (例えば、関節リウマチ用)、C

D 4 + T 細胞エピトープ（例えば、G R V R V N S A Y（配列番号 9 8））（例えば、プロテオグリカン誘導性の関節炎（P G I A）又は関節リウマチ用）、又はアセチルコリン受容体（例えば、重症筋無力症用）である。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 7 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 7 6】

【表 3】

10

表 2. 配列番号及び詳細な記述

配列番号	詳細な記述
配列番号 1	AAV-INTL カセット(5'ITR、TTRm、hFVIII-BDD コード配列(配列番号 77)、ポリ A、及び 3'ITR)の全核酸配列
配列番号 2	野生型 TTR プロモーターの核酸配列
配列番号 3	野生型から 4 個のヌクレオチド変化を有する、変異 TTR プロモーター「TTRm」の核酸配列
配列番号 4	全ての 4 個の CpG に関して、あらゆる C が T に変更されている、 CpG1-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 5	制限酵素部位を有する、全ての 4 個の CpG に関して、あらゆる C が T に変更されている、 CpG1-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 6	2 番目、3 番目及び 4 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG2-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 7	制限酵素部位を有する、2 番目、3 番目及び 4 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG2-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 8	1 番目、3 番目及び 4 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG3-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 9	制限酵素部位を有する、1 番目、3 番目及び 4 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG3-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 10	1 番目、2 番目及び 4 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG4-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 11	制限酵素部位を有する、1 番目、2 番目及び 4 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG4-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 12	1 番目、2 番目及び 3 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG5-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 13	制限酵素部位を有する、1 番目、2 番目及び 3 番目の CpG において、C が T に変更されている、 CpG5-TTRm プロモーターの核酸配列
配列番号 14	ハイブリッド 6 プロモーターの核酸配列

20

30

40

50

配列番号 15	制限酵素部位を有する、 ハイブリッド6 プロモーターの核酸配列
配列番号 16	ハイブリッド7 プロモーターの核酸配列
配列番号 17	制限酵素部位を有する、 ハイブリッド7 プロモーターの核酸配列
配列番号 18	ハイブリッド8 プロモーターの核酸配列
配列番号 19	制限酵素部位を有する、 ハイブリッド8 プロモーターの核酸配列
配列番号 20	ハイブリッド9 プロモーターの核酸配列
配列番号 21	制限酵素部位を有する、 ハイブリッド9 プロモーターの核酸配列
配列番号 22	CpG が低減されていない ApoE/hAAT 調節エレメントの核酸配列
配列番号 23	隣接する制限酵素部位を有する、CpG が低減されていない ApoE/hAAT 調節エレメントの核酸配列
配列番号 24	CpG1-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 25	制限酵素部位を有する、 CpG1-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 26	CpG2-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 27	制限酵素部位を有する、 CpG2-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 28	CpG3-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 29	制限酵素部位を有する、 CpG3-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 30	CpG4-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 31	制限酵素部位を有する、 CpG4-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 32	CpG5-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 33	制限酵素部位を有する、 CpG5-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 34	CpG6-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 35	制限酵素部位を有する、 CpG6-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列

10

20

30

40

50

配列番号 36	CpG7-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 37	制限酵素部位を有する、 CpG7-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 38	CpG8-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 39	制限酵素部位を有する、 CpG8-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 40	CpG9-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 41	制限酵素部位を有する、 CpG9-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 42	CpG10-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 43	制限酵素部位を有する、 CpG10-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 44	CpG11-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 45	制限酵素部位を有する、 CpG11-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 46	CpG12-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 47	制限酵素部位を有する、 CpG12-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 48	CpG13-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 49	制限酵素部位を有する、 CpG13-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 50	CpG14-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 51	制限酵素部位を有する、 CpG14-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 52	CpG15-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 53	制限酵素部位を有する、 CpG15-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 54	CpG16-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 55	制限酵素部位を有する、 CpG16-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 56	CpG17-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列

10

20

30

40

50

配列番号 57	制限酵素部位を有する、 CpG17-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 58	CpG18-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 59	制限酵素部位を有する、 CpG18-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 60	CpG19-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 61	制限酵素部位を有する、 CpG19-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 62	CpG20-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 63	制限酵素部位を有する、 CpG20-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 64	CpG21-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 65	制限酵素部位を有する、 CpG21-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 66	CpG22-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 67	制限酵素部位を有する、 CpG22-ApoE/hAAT プロモーターの核酸配列
配列番号 68	FVIII-BDD のアミノ酸配列
配列番号 69	SFSQNPPVLKRHQR(配列番号 69)(「SQ 配列」)のアミノ酸配列
配列番号 70	FVIII-BDD をコードする野生型核酸配列
配列番号 71	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 72	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 73	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 74	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 75	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 76	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 77	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 78	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 79	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 80	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 81	FVIII-BDD をコードする核酸配列

10

20

30

40

50

配列番号 82	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 83	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 84	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 85	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 86	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 87	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 88	FVIII-BDD をコードする核酸配列
配列番号 89	FVIII-V3 をコードする cDNA
配列番号 90	FVIII-CO3 をコードする cDNA
配列番号 91	LK03 キャプシドタンパク質
配列番号 92	SPK キャプシドタンパク質
配列番号 93	AAV-WINT カセットにおけるイントロンの核酸配列
配列番号 94	ヒト FIX をコードする核酸
配列番号 95	フォワードプライマー
配列番号 96	リバースプライマー
配列番号 97	プローブ

10

20

30

40

50