

【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6年9月17日(2024.9.17)

【公開番号】特開2024-12421(P2024-12421A)  
 【公開日】令和6年1月30日(2024.1.30)  
 【年通号数】公開公報(特許)2024-018  
 【出願番号】特願2023-185401(P2023-185401)  
 【国際特許分類】

C 1 2 P 21/06(2006.01)

C 0 7 K 14/33(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 P 21/06 Z N A

C 0 7 K 14/33

【手続補正書】

【提出日】令和6年9月6日(2024.9.6)

【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

20

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

単鎖改変クロストリジウム神経毒を、対応する二本鎖改変クロストリジウム神経毒へタンパク分解性にプロセシングする方法であって、

内因性活性化ループが、外因性活性化ループによって置き換えられている単鎖改変クロストリジウム神経毒を、エンテロキナーゼまたは第Xa因子と接触させることを含み、

当該単鎖クロストリジウム神経毒は、ポリペプチド配列Cys-(Xaa)<sub>a</sub>-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)<sub>b</sub>-Cys(配列番号1)を含む活性化ループを有し、aは少なくとも1かつbは少なくとも1であり、

30

当該改変クロストリジウム神経毒は、ボツリヌス神経毒血清型C1(BoNT/C1)ではなく、且つ

エンテロキナーゼまたは第Xa因子は、活性化ループのペプチド結合を加水分解し、それによって、二本鎖改変クロストリジウム神経毒を生成する、方法。

【請求項2】

以下の工程を含む、改変クロストリジウム神経毒を作製する方法:

クロストリジウム神経毒の内因性活性化ループを、外因性活性化ループと置き換え、それによって改変クロストリジウム神経毒を提供する工程、

ここで、該クロストリジウム神経毒は、

40

i.クロストリジウム神経毒の内因性活性化ループの外側のペプチド結合が、トリプシンまたはLys-Cによって加水分解されること

ii.内因性活性化ループが、トリプシンまたはLys-Cによって非効率的にタンパク分解性にプロセシングされること

を特徴とし;

該外因性活性化ループは、ポリペプチド配列Cys-(Xaa)<sub>a</sub>-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)<sub>b</sub>-Cys(配列番号1)を含み、aは少なくとも1かつbは少なくとも1であり;且つ

当該改変クロストリジウム神経毒は、ボツリヌス神経毒血清型C1(BoNT/C1)ではない。

【請求項3】

50

クロストリジウム神経毒が、クロストリジウム神経毒をトリプシンまたはLys-Cと接触させることおよびクロストリジウム神経毒の内因性活性化ループの外側のペプチド結合の加水分解を確認することによる方法において使用するのに適していると同定される、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

改変クロストリジウム神経毒をエンテロキナーゼまたは第Xa因子と接触させ、それによって対応する二本鎖改変クロストリジウム神経毒を生成することをさらに含む、請求項2又は3に記載の方法。

【請求項5】

クロストリジウム神経毒の内因性活性化ループが、外因性活性化ループによって置き換えられており、それによって、改変クロストリジウム神経毒を提供し、

外因性活性化ループは、ポリペプチド配列Cys-(Xaa)<sub>a</sub>-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)<sub>b</sub>-Cys(配列番号1)を含み、aは少なくとも1かつbは少なくとも1であり、且つ

当該改変クロストリジウム神経毒は、ボツリヌス神経毒血清型C1(BoNT/C1)ではない

改変クロストリジウム神経毒。

【請求項6】

内因性活性化ループが、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号61、配列番号62、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号70または配列番号71から選択される1つ以上である、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

内因性活性化ループが、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号61、配列番号62、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号70または配列番号71から選択される1つ以上である、請求項5に記載の改変クロストリジウム神経毒。

【請求項8】

a. a=1~10である、

b. a=2~4である、

c. a=3である、

d. b=4~20である、

e. b=6~10である、

f. b=8である、

g. 外因性活性化ループが、配列番号2または配列番号3に対して少なくとも70%、80%、または90%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

h. 外因性活性化ループが、配列番号2または配列番号3を有するポリペプチド配列を含む、

i. 外因性活性化ループが、配列番号2を含む、及び/又は

j. 外因性活性化ループが、配列番号2からなる、

請求項1から4又は6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

a. a=1~10である、

b. a=2~4である、

c. a=3である、

d. b=4~20である、

e. b=6~10である、

f. b=8である、

g. 外因性活性化ループが、配列番号2または配列番号3に対して少なくとも70%、80%

、または90%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

h. 外因性活性化ループが、配列番号2または配列番号3を有するポリペプチド配列を含む、

i. 外因性活性化ループが、配列番号2を含む、

j. 外因性活性化ループが、配列番号2からなる、及び/又は

k. クロストリジウム神経毒は、クロストリジウム神経毒の内因性活性化ループの外側のペプチド結合が、トリプシンもしくはLys-Cによって加水分解されることおよび/または内因性活性化ループが、トリプシンもしくはLys-Cによって非効率的にタンパク分解性にプロセシングされることを特徴とする、

請求項5又は7に記載の改変クロストリジウム神経毒。

10

【請求項10】

a. クロストリジウム神経毒が、クロストリジウム神経毒の機能的H<sub>C</sub>ドメインを欠く、

b. クロストリジウム神経毒が、非クロストリジウムの標的化部分(TM)を含む再標的化されたクロストリジウム神経毒である、

c. 改変クロストリジウム神経毒が、標的化部分(TM)を含む再標的化されたクロストリジウム神経毒であり、TMが、炭疽病毒毒素防御抗原(PA)またはその断片を含む、且つ/又は

d. クロストリジウム神経毒が、

i. 配列番号52またはその断片、および

ii. 配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号5

20

8、配列番号59または配列番号60

を含むポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有するポリペプチド配列を有する、

請求項1から4、6、又は8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

a. クロストリジウム神経毒が、クロストリジウム神経毒の機能的H<sub>C</sub>ドメインを欠く、

b. クロストリジウム神経毒が、非クロストリジウムの標的化部分(TM)を含む再標的化されたクロストリジウム神経毒である、

c. 改変クロストリジウム神経毒が、標的化部分(TM)を含む再標的化されたクロストリジウム神経毒であり、TMが、炭疽病毒毒素防御抗原(PA)またはその断片を含む、且つ/又は

30

d. クロストリジウム神経毒が、

i. 配列番号52またはその断片、および

ii. 配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号5

8、配列番号59または配列番号60

を含むポリペプチドに対して少なくとも70%の配列同一性を有するポリペプチド配列を有する、

請求項5、7、又は9に記載の改変クロストリジウム神経毒。

【請求項12】

a. クロストリジウム神経毒が、BoNT/A、BoNT/B、BoNT/D、BoNT/E、BoNT/F、BoNT/G、BoNT/XおよびTeNTから選択される、

40

b. クロストリジウム神経毒が、BoNT/X、BoNT/E、キメラBoNTまたはハイブリッドBoNTである、且つ/又は

c. クロストリジウム神経毒が、

i. 配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10もしくは配列番号12に対して少なくとも70%の配列同一性を有するヌクレオチド配列によってコードされるか、または

ii. 配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11もしくは配列番号13に対して

少なくとも70%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

請求項1から4、6、8、又は10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

50

a. クロストリジウム神経毒が、BoNT/A、BoNT/B、BoNT/D、BoNT/E、BoNT/F、BoNT/G、BoNT/XおよびTeNTから選択される、

b. クロストリジウム神経毒が、BoNT/X、BoNT/E、キメラBoNTまたはハイブリッドBoNTである、且つ/又は

c. クロストリジウム神経毒が、

i. 配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10もしくは配列番号12に対して少なくとも70%の配列同一性を有するヌクレオチド配列によってコードされるか、または

ii. 配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11もしくは配列番号13に対して少なくとも70%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、

請求項5、7、9、又は11に記載の改変クロストリジウム神経毒。

10

【請求項14】

配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11または配列番号13に対して少なくとも70%、80%、又は90%の配列同一性を有するポリペプチド配列を含む、改変クロストリジウム神経毒。

【請求項15】

請求項5、7、9、11、13、又は14に記載の改変クロストリジウム神経毒を、対応する二本鎖改変クロストリジウム神経毒にタンパク分解性にプロセシングする方法であって、改変クロストリジウム神経毒をプロテアーゼと接触させ、それによって、前記二本鎖改変クロストリジウム神経毒を生成することを含む、方法。

【請求項16】

請求項1、3、6、8、10、12、又は15に記載の方法によって得ることができる二本鎖改変クロストリジウム神経毒。

20

【請求項17】

a. 請求項5、7、9、11、13、又は14に記載の改変クロストリジウム神経毒；又は

b. 配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、又は配列番号12に対して少なくとも70%の配列同一性を有する配列を含む改変クロストリジウム神経毒をコードする核酸によりコードされる改変クロストリジウム神経毒；

をプロテアーゼを接触させることにより得られた二本鎖改変クロストリジウム神経毒。

【請求項18】

単鎖クロストリジウム神経毒を、対応する二本鎖クロストリジウム神経毒へタンパク分解性にプロセシングする方法であって、

単鎖クロストリジウム神経毒を、エンテロキナーゼと接触させることを含み、

単鎖クロストリジウム神経毒は、ポリペプチド配列  $Cys-(Xaa)_a-Ile-Asp/Glu-Gly-Arg-(Yaa)_b-Cys$  (配列番号1) を含む活性化ループを有し、aは少なくとも1かつbは少なくとも1であり、

30

エンテロキナーゼは、活性化ループのペプチド結合を加水分解し、それによって、二本鎖クロストリジウム神経毒を生成する、方法。

【請求項19】

請求項18の方法によって得られる二本鎖クロストリジウム神経毒。

【請求項20】

請求項5、7、9、11、13、又は14に記載の改変クロストリジウム神経毒、または請求項16又は17に記載の二本鎖改変クロストリジウム神経毒、または請求項19に記載の二本鎖クロストリジウム神経毒および医薬上許容される担体、賦形剤、アジュバント、噴射剤および/または塩を含む医薬組成物。

40

【請求項21】

不要な免疫分泌と関連する状態、斜視、眼瞼痙攣、内斜視、ジストニア(例えば、痙攣性ジストニア、顎口腔ジストニア、局所性ジストニア、遅発性ジストニア、喉頭ジストニア、四肢ジストニア、頸部ジストニア)、斜頸(例えば、痙攣性斜頸)、細胞/筋肉無能力化(SNARE下方制御または不活性化による)から恩恵を受ける美容療法(美容)適用、眼性運動性の神経筋障害または状態(例えば、共同性(concomitant)斜視、上下斜視、外直筋麻

50

痺、眼振、甲状腺異常筋疾患)、書痙、眼瞼痙攣、歯ぎしり、ウィルソン病、振戦、チック、分節性ミオクロヌス、攣縮、慢性多発性硬化症による痙縮、異常な膀胱制御をもたらす痙縮、アニムス、背部痙攣、こむら返り、緊張性頭痛、骨盤拳筋症候群、二分脊椎症、遅発性ジスキネジア、パーキンソン病、吃音、片側顔面痙攣、眼瞼障害、脳性麻痺、局所性痙縮、痙攣性大腸炎、神経因性膀胱、アニスムス、四肢痙縮、チック、振戦、歯ぎしり、裂肛、アカラシア、嚥下障害、流涙、多汗症(hyperhydrosis)、過度の唾液分泌、過度の胃腸管分泌、筋肉痛(例えば、筋肉攣縮からの疼痛)、頭痛疼痛(例えば、緊張性頭痛)、皺のよった額、皮膚の皺、癌、子宮障害、泌尿生殖器障害、泌尿生殖器-神経疾患、慢性神経原性炎症および平滑筋障害のうち1以上の処置において使用するための、請求項5、7、9、11、13、又は14に記載の改変クロストリジウム神経毒、請求項16又は17

10

【請求項22】

配列番号18または配列番号19として示されるポリペプチド配列を含むポリペプチドのペプチド結合を試験管内又は生体外で加水分解するためのエンテロキナーゼの使用:ここで、エンテロキナーゼは、ポリペプチド配列内に含まれる配列番号18または配列番号19のすぐC末端側のペプチド結合を加水分解する。

【請求項23】

配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10または配列番号12に対して少なくとも70%の配列同一性を有する配列を含む改変クロストリジウム神経毒をコードする核酸。

20

30

40

50