

【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5年12月15日(2023.12.15)

【国際公開番号】WO2020/198697

【公表番号】特表2022-525428(P2022-525428A)

【公表日】令和4年5月13日(2022.5.13)

【年通号数】公開公報(特許)2022-084

【出願番号】特願2021-557397(P2021-557397)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 15/88(2006.01)

A 6 1 K 31/713(2006.01)

A 6 1 K 38/46(2006.01)

A 6 1 K 9/127(2006.01)

A 6 1 K 9/51(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 P 25/28(2006.01)

A 6 1 P 9/04(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 15/88 Z Z N A

C 1 2 N 15/09 1 1 0

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 38/46

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 9/51

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 9/04

【手続補正書】

【提出日】令和5年12月5日(2023.12.5)

【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】

組成物であって、

(i) RNAガイドDNA結合剤をコードするオープンリーディングフレームを含む核酸であって、

a. 前記オープンリーディングフレームが、配列番号311と少なくとも93%の同一性を有する配列を含み、かつ/あるいは

b. 前記オープンリーディングフレームが、少なくともその最初の50、200、250、もしくは300のヌクレオチドにわたって配列番号311と少なくとも93%の同一性を有するか、または少なくともその最初の30、50、70、100、150、200、250、もしくは300のヌクレオチドにわたって配列番号311と少なくとも95%の同一性を有し、かつ/あるいは

10

20

30

40

50

c. 前記オープンリーディングフレームが、コドンの少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、もしくは100%が表4に列挙されるコドン、表5の低Aセット、または表5の低A/Uセットであるコドンのセットからなり、かつ/あるいは

d. 前記オープンリーディングフレームは、アデニン含有量が、その最小アデニン含有量~その最小アデニン含有量の123%の範囲であり、かつ/あるいは

e. 前記オープンリーディングフレームは、アデニンジヌクレオチド含有量が、その最小アデニンジヌクレオチド含有量~その最小アデニンジヌクレオチド含有量の150%の範囲である、核酸と、

(ii) ガイドRNAもしくはガイドRNAをコードするベクターであって、前記ガイドRNAが、配列番号23、5~22、24~72、74~78、および80~82から選択されるガイド配列を含む、ガイドRNAもしくはガイドRNAをコードするベクターと、を含む、組成物。

10

#### 【請求項2】

TTT遺伝子を修飾し、かつ/または前記TTT遺伝子内で二本鎖切断(DSB)を誘導するために用いられる組成物であって、前記組成物が、

(i) RNAガイドDNA結合剤をコードするオープンリーディングフレームを含む核酸であって、

a. 前記オープンリーディングフレームが、配列番号311と少なくとも93%の同一性を有する配列を含み、かつ/あるいは

20

b. 前記オープンリーディングフレームが、少なくともその最初の50、200、250、もしくは300のヌクレオチドにわたって配列番号311と少なくとも93%の同一性を有するか、または少なくともその最初の30、50、70、100、150、200、250、もしくは300のヌクレオチドにわたって配列番号311と少なくとも95%の同一性を有し、かつ/あるいは

c. 前記オープンリーディングフレームが、コドンの少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、もしくは100%が表4に列挙されるコドン、表5の低Aセット、または表5の低A/Uセットであるコドンのセットからなり、かつ/あるいは

d. 前記オープンリーディングフレームは、アデニン含有量が、その最小アデニン含有量~その最小アデニン含有量の123%の範囲であり、かつ/あるいは

30

e. 前記オープンリーディングフレームは、アデニンジヌクレオチド含有量が、その最小アデニンジヌクレオチド含有量~その最小アデニンジヌクレオチド含有量の150%の範囲である、核酸と、

(ii) ガイドRNAもしくはガイドRNAをコードするベクターであって、前記ガイドRNAが、配列番号23、5~22、24~72、74~78、および80~82から選択されるガイド配列を含む、ガイドRNAもしくはガイドRNAをコードするベクターと、を含む、前記組成物。

#### 【請求項3】

対象においてTTT血清濃度を低減し、TTTに関連するアミロイドーシス(ATTR)を治療し、かつ/またはTTTを含むアミロイドもしくはアミロイド原線維の蓄積を低減もしくは予防するために用いられる組成物であって、前記組成物が、

40

(i) RNAガイドDNA結合剤をコードするオープンリーディングフレームを含む核酸であって、

a. 前記オープンリーディングフレームが、配列番号311と少なくとも95%の同一性を有する配列を含み、かつ/あるいは

b. 前記オープンリーディングフレームが、少なくともその最初の30、50、70、100、150、200、250、もしくは300のヌクレオチドにわたって配列番号311と少なくとも95%の同一性を有し、かつ/あるいは

c. 前記オープンリーディングフレームが、コドンの少なくとも95%、96%、9

50

7%、98%、99%、99.5%、もしくは100%が表4に列挙されるコドン、表5の低Aセット、または表5の低A/Uセットであるコドンのセットからなり、かつ/あるいは

d. 前記オープンリーディングフレームは、アデニン含有量が、その最小アデニン含有量～その最小アデニン含有量の150%の範囲であり、かつ/あるいは

e. 前記オープンリーディングフレームは、アデニンジヌクレオチド含有量が、その最小アデニンジヌクレオチド含有量～その最小アデニンジヌクレオチド含有量の150%の範囲である、核酸と、

(ii) ガイドRNAもしくはガイドRNAをコードするベクターであって、前記ガイドRNAが、配列番号23、5～22、24～72、74～78、および80～82から選択されるガイド配列を含む、ガイドRNAもしくはガイドRNAをコードするベクターと、を含む、前記組成物。

【請求項4】

前記ガイドRNAが、配列番号23、5、6、7、8、9、12、13、14、15、16、17、22、27、29、30、35、36、37、38、55、61、63、65、66、68、または69から選択されるガイド配列を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項5】

細胞もしくは対象において前記TTR遺伝子内の二本鎖切断(DSB)を誘導し、細胞もしくは対象において前記TTR遺伝子を修飾し、対象においてTTRに関連するアミロイドーシス(ATTR)を治療し、対象においてTTR血清濃度を低減し、または対象においてアミロイドもしくはアミロイド原線維の蓄積を低減もしくは予防する際に使用するための、請求項1または4に記載の組成物。

【請求項6】

前記組成物が、30分間より長く注入によって投与されるように製剤化される、請求項2～5のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項7】

前記組成物が、

(a) 血清TTRレベルを低減する；

(b) 前記TTR遺伝子の編集を引き起こす；

(c) 少なくとも1つの組織におけるアミロイド沈着を低減する；または

(d) 前記(a)～(c)の2つ以上の組み合わせである、

請求項2～6のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項8】

前記ガイドRNAが、前記ガイド配列を含み、かつ配列番号126のヌクレオチド配列をさらに含むcrRNAを含み、前記配列番号126のヌクレオチドが、前記ガイド配列にその3'末端で続く、請求項1～7のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項9】

前記ガイドRNAが、シングルガイド(sgRNA)である、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項10】

前記sgRNAが、配列番号3のパターンを有するガイド配列を含む、または、前記sgRNAが、配列番号3の配列を含む、請求項9に記載の組成物。

【請求項11】

前記sgRNAが、配列番号13、5～22、24～72、74～78、および80～82の前記ガイド配列、ならびに配列番号126の前記ヌクレオチドのうちのいずれか1つを含む、請求項9または10に記載の組成物。

【請求項12】

前記sgRNAが、配列番号87～113、115～120、および122～124から選択される配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%

10

20

30

40

50

%、92%、91%、または90%同一である配列を含む、請求項9または10に記載の組成物。

**【請求項13】**

前記sgRNAが、配列番号87~113、115~120、および122~124から選択される配列を含む、請求項12に記載の組成物。

**【請求項14】**

前記ガイドRNAが、少なくとも1つの修飾を含む、請求項1~13のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項15】**

前記少なくとも1つの修飾が、

(a) 2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオチド、ヌクレオチド間ホスホロチオエート(PS)結合、または2'-フルオロ(2'-F)修飾ヌクレオチド；

(b) 5'末端における最初の5個のヌクレオチドのうち1つ以上における修飾；

(c) 3'末端における最後の5個のヌクレオチドのうち1つ以上における修飾；

(d) 最初の4個のヌクレオチド間のPS結合；

(e) 最後の4個のヌクレオチド間のPS結合；

(f) 5'末端における最初の3個のヌクレオチドにおける2'-O-Me修飾ヌクレオチド；

(g) 3'末端における最後の3個のヌクレオチドにおける2'-O-Me修飾ヌクレオチド；または

(h) 前記(a)~(g)の2つ以上の組み合わせ

を含む、請求項14に記載の組成物。

**【請求項16】**

前記ガイドRNAが、配列番号3の修飾ヌクレオチドを含む、請求項14または15に記載の組成物。

**【請求項17】**

前記ガイドRNAおよびRNAガイドDNA結合剤をコードするオープンリーディングフレームを含む前記核酸が、脂質ナノ粒子(LNP)と会合している、請求項1~16のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項18】**

前記LNPが、電離していてもよい脂質を含み、任意選択で、前記電離していてもよい脂質が、脂質Aまたは脂質Bである、請求項17に記載の組成物。

**【請求項19】**

前記LNPが、ヘルパー脂質を含む、請求項17または18に記載の組成物。

**【請求項20】**

前記LNPが、ステルス脂質を含む、請求項17~19のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項21】**

前記LNPが、中性脂質を含む、請求項17~20のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項22】**

(i) 前記電離していてもよい脂質が、脂質Aまたは脂質Bであり、さらに任意選択で、前記電離していてもよい脂質が、脂質Aである；

(ii) 前記ヘルパー脂質が、コレステロールである；

(iii) 前記ステルス脂質が、PEG-DMGである；

(iv) 前記中性脂質が、DSPCである；または

(v) 前記(i)~(iv)の2つ以上の組み合わせである、

請求項17~21のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項23】**

(i) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約50~60mol%の電離していてもよい脂質と、約8~10mol%の中性脂質と、約2.5~4mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり

10

20

30

40

50

前記LNP組成物のN/P比が、約6であり、

(ii) 前記LNPが、約50~60mol%の電離していてもよい脂質と、約27~39.5mol%のヘルパー脂質と、約8~10mol%の中性脂質と、約2.5~4mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記LNP組成物のN/P比が、約5~7(例えば、約6)であり、

(iii) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約50~60mol%の電離していてもよい脂質と、約5~15mol%の中性脂質と、約2.5~4mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が約3~10であり、

(iv) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約40~60mol%の電離していてもよい脂質と、約5~15mol%の中性脂質と、約2.5~4mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が、約6であり、

(v) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約50~60mol%の電離していてもよい脂質と、約5~15mol%の中性脂質と、約1.5~10mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が、約6であり、

(vi) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約40~60mol%の電離していてもよい脂質と、約0~10mol%の中性脂質と、約1.5~10mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が、約3~10であり、

(vii) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約40~60mol%の電離していてもよい脂質と、約1mol%未満の中性脂質と、約1.5~10mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が約3~10であり、

(viii) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約40~60mol%の電離していてもよい脂質と、約1.5~10mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が約3~10であり、前記LNP組成物が、中性リン脂質を本質的に含まないか、または含まず、

(ix) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約50~60mol%の電離していてもよい脂質と、約8~10mol%の中性脂質と、約2.5~4mol%のステルス脂質(例えば、PEG脂質)とを含み、前記脂質成分の残りが、ヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が約3~7であり、

(x) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約50mol%の電離していてもよい脂質と、約9mol%のDSPCなどの中性脂質と、約3mol%のPEG脂質などのステルス脂質(例えば、PEG-DMG)とを含み、前記脂質成分の残りが、コレステロールなどのヘルパー脂質であり、前記LNP組成物のN/P比が、約6であり、あるいは

(xi) 前記LNPが、脂質成分を含み、前記脂質成分が、約50mol%の脂質Aと、約9mol%のDSPCと、約3mol%のPEG-DMGとを含み、前記脂質成分の残りが、コレステロールであり、前記LNP組成物のN/P比が、約6である、請求項17~22のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項24】

前記LNPが、約6のN/P比を有する、請求項17~23のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項25】

(1) 前記RNAガイドDNA結合剤が、Casクリパーゼであり、任意選択で、前記Casクリパーゼが、Cas9クリパーゼである、および/または

(2) 前記RNAガイドDNA結合剤が修飾されており、任意選択で、修飾された前記R

10

20

30

40

50

NAガイドDNA結合剤が、核局在化シグナル(NLS)を含む、請求項1～24のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項26】**

前記組成物が、薬学的製剤であり、薬学的に許容される担体をさらに含む、請求項1～25のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項27】**

前記対象が、ATTRwtまたは遺伝性ATTRなどのATTRを有する、請求項2～26のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項28】**

前記対象が、ヒトである、請求項2～27のいずれか一項に記載の組成物。

10

**【請求項29】**

前記組成物または薬学的製剤が、ウイルスベクターまたは脂質ナノ粒子を介して送達または投与される、請求項2～28のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項30】**

配列番号23、5～22、24～72、74～78、および80～82から選択される配列が、配列番号23、5、6、9、13、14、15、16、17、22、27、30、35、36、37、38、55、63、65、66、68、または69である、請求項1～29のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項31】**

前記オープンリーディングフレームが、配列番号311と少なくとも94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、または100%の同一性を有する配列を含む、請求項1～30のいずれか一項に記載の組成物。

20

**【請求項32】**

前記オープンリーディングフレームの前記コドンの少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、または100%が、表4、表5、または表7に列挙されるコドンである、請求項1～31のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項33】**

前記オープンリーディングフレームが、配列番号377と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、または100%の同一性を有する配列を含む、請求項1～32のいずれか一項に記載の組成物。

30

**【請求項34】**

前記核酸が、前記ウリジンの少なくとも10%が修飾ウリジンで置換されるmRNAであり、任意選択で、前記修飾ウリジンが、N1-メチル-シュードウリジン、シュードウリジン、5-メトキシウリジン、または5-ヨードウリジンのうちの1つ以上である、請求項1～33のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項35】**

ATTRを有するヒト対象を治療するための医薬の調製のための、請求項1または4～34のいずれか一項に記載の組成物または製剤の使用。

40

50