

【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7年4月25日(2025.4.25)

【公開番号】特開2024-138268(P2024-138268A)

【公開日】令和6年10月8日(2024.10.8)

【年通号数】公開公報(特許)2024-188

【出願番号】特願2024-95566(P2024-95566)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09(2006.01)

10

A 61 K 38/50(2006.01)

A 61 K 48/00(2006.01)

A 61 P 25/00(2006.01)

C 12 N 9/78(2006.01)

【F I】

C 12 N 15/09 100

A 61 K 38/50

A 61 K 48/00

A 61 P 25/00

C 12 N 9/78 Z N A

20

C 12 N 9/78

【手続補正書】

【提出日】令和7年4月1日(2025.4.1)

【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】

30

【請求項1】

レット症候群(RTT)に関連する单一ヌクレオチド多型(SNP)を含むMECP2ポリヌクレオチドを編集するin vitroまたはex vivoの方法であって、前記MECP2ポリヌクレオチドを、1つまたは複数のガイドポリヌクレオチドと複合体化した塩基エディターと接触させることを含み、前記塩基エディターが、核酸プログラム可能なDNA結合タンパク質(napDNAbp)ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記ガイドポリヌクレオチドの1つまたは複数が、前記塩基エディターをターゲティングしてRTTに関連する前記SNPのA・TからG・Cへの改変をもたらし、ここで、RTTに関連する前記SNPは、アミノ酸改変R168X、T158M、R255X、またはR270Xを含むMECP2ポリペプチドの発現をもたらすものであり、Xは停止コドンである、方法。

40

【請求項2】

RTTに関連するSNPにおける前記A・TからG・Cへの改変が、MECP2ポリペプチドにおいてメチオニンをスレオニンに、または停止コドンをアルギニンに変更する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

RTTに関連する前記SNPにおける前記改変が、アミノ酸168位、255位、もしくは270位にアルギニン、または158位にスレオニンを含むMECP2ポリペプチドの発現をもたらす、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記napDNAbpドメインが、Streptococcus pyogenesのCas9(SpCas9)である、

50

請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記 SpCas9 の napDNAbp ドメインは、配列番号 42 に対して少なくとも 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、配列番号 42 における番号付けて以下のアミノ酸置換：

D1135V または D1135L；

G1218R または G1218S；

E1219F または E1219V；

A1322R；

R1335V または R1335Q；および

T1337F、T1337H、T1337I、T1337K、T1337L、T1337M、T1337N、T1337Q、T1337R、T1337S、または T1337V

をさらに含む、請求項 4 に記載の方法。

10

**【請求項 6】**

前記 SpCas9 の napDNAbp ドメインが、

a) 配列番号 42 における番号付けて、アミノ酸置換 L1111R と、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、および D1332R からなる群から選択されるアミノ酸置換とをさらに含むか、または

b) 配列番号 42 における番号付けて、以下のアミノ酸置換：

D1135L；

20

S1136R；

G1218S または G1218R；

E1219V または E1219F；

A1322R；

R1335Q；および

T1337L、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337R、T1337H、T1337Q、または T1337M

を含み、さらに、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、および D1332R からなる群から選択されるアミノ酸置換を含む、

請求項 5 に記載の方法。

30

**【請求項 7】**

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、以下のアミノ酸配列：

SEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRIVIGEGWNRAIGLHDPTAH  
AEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGRVNAKTGA  
AGSLMDVLHYPGMNHRVEITEGILADECACALLCYFFRMPRQVFNAQKKAQSTD

に対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記 1 つまたは複数のガイド RNA が、CRISPR RNA (crRNA) およびトランスクレオチド化小 RNA を含み、前記 crRNA が、前記 MECP2 ポリヌクレオチドに相補的な核酸配列を含み、および / または、前記 塩基エディター が、前記 MECP2 ポリヌクレオチドに相補的な核酸配列を含むシングルガイド RNA と複合体化している、請求項 1 に記載の方法。

40

**【請求項 9】**

核酸プログラム可能な DNA 結合タンパク質 (napDNAbp) ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含む塩基エディター、または前記塩基エディターをコードするポリヌクレオチドと、

前記塩基エディターをターゲティングして RTT に関連する SNP の A・T から G・C への改変をもたらす 1 つもしくは複数のガイドポリヌクレオチドであって、RTT に関連する前記 SNP は、アミノ酸改変 R168X、T158M、R255X、または R270X を含む MECP2 ポリペプチドの発現をもたらすものであり、X は停止コドンである、ガイドポリヌクレオチドとを含む、in vitro または ex vivo の、細胞またはその前駆体。

50

**【請求項 10】**

RTTに関連する前記SNPにおける前記A・TからG・Cへの改変が、前記MECP2ポリペプチドにおいてメチオニンをスレオニンに、または停止コドンをアルギニンに変更する、請求項9に記載の細胞。

**【請求項 11】**

RTTに関連する前記SNPにおける前記改変が、アミノ酸168位、255位、もしくは270位にアルギニン、または158位にスレオニンを含むMECP2ポリペプチドの発現をもたらす、請求項9に記載の細胞。

**【請求項 12】**

前記napDNAbpドメインが、*Streptococcus pyogenes*のCas9 (SpCas9) である、 10 請求項9に記載の細胞。

**【請求項 13】**

前記SpCas9のnapDNAbpドメインは、配列番号42に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、配列番号42における番号付けて以下のアミノ酸置換：

D1135VまたはD1135L；

G1218RまたはG1218S；

E1219FまたはE1219V；

A1322R；

R1335VまたはR1335Q；および

T1337F、T1337H、T1337I、T1337K、T1337L、T1337M、T1337N、T1337Q、T1337R、T1337S、またはT1337V

をさらに含む、請求項12に記載の細胞。

20

**【請求項 14】**

前記SpCas9のnapDNAbpドメインが、

a) 配列番号42における番号付けて、アミノ酸置換L1111Rと、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、およびD1332Rからなる群から選択されるアミノ酸置換とをさらに含むか、または

b) 配列番号42における番号付けて、以下のアミノ酸置換：

D1135L；

30

S1136R；

G1218SまたはG1218R；

E1219VまたはE1219F；

A1322R；

R1335Q；および

T1337L、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337R、T1337H、T1337Q、またはT1337M

を含み、さらに、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、およびD1332Rからなる群から選択されるアミノ酸置換を含む、

請求項13に記載の細胞。

40

**【請求項 15】**

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、以下のアミノ酸配列：

SEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIDEGWNRAIGLHDPTAH  
AEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGA  
AGSLMDVLHYPGMNRVEITEGILADECACALLCYFFRMPRQVFNAQKKAQSSTD  
に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項9に記載の細胞。

**【請求項 16】**

対象におけるRTTを治療する方法における使用のための、請求項9～15のいずれか一項に記載の細胞を含む組成物であって、前記方法は前記細胞を前記対象に投与することを含む、組成物。

50

**【請求項 17】**

対象におけるRTTを治療する方法における使用のための、塩基エディターまたはそれをコードするポリヌクレオチドを含む組成物であって、前記方法は、  
核酸プログラム可能なDNA結合タンパク質(napDNAbp)ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含む前記塩基エディター、または前記塩基エディターをコードするポリヌクレオチドと、  
前記塩基エディターをターゲティングしてRTTに関連するSNPのA・TからG・Cへの改変をもたらす1つもしくは複数のガイドポリヌクレオチドであって、RTTに関連する前記SNPは、アミノ酸改変R168X、T158M、R255X、またはR270Xを含むMECP2ポリペプチドの発現をもたらすものであり、Xは停止コドンである、ガイドポリヌクレオチドとを前記対象に投与することを含む、組成物。

**【請求項 18】**

RTTに関連するSNPにおける前記A・TからG・Cへの改変が、前記MECP2ポリペプチドにおいてメチオニンをスレオニンに、または停止コドンをアルギニンに変更する、請求項17に記載の組成物。

**【請求項 19】**

RTTに関連する前記SNPにおける前記A・TからG・Cへの改変が、アミノ酸168位、255位、もしくは270位にアルギニン、または158位にスレオニンを含むMECP2ポリペプチドの発現をもたらす、請求項17に記載の組成物。

**【請求項 20】**

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、以下のアミノ酸配列：

SEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIDGEWGNRAIGLHDPTAH  
AEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPVCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGA  
AGSLMDVLHYPGMNHHRVEITEGILADECACALLCYFFRMPRQVFNAQKKAQSSTD  
に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項17に記載の組成物。

**【手続補正2】**

**【補正対象書類名】**明細書

**【補正対象項目名】**0473

**【補正方法】**変更

**【補正の内容】**

**【0473】**

**[データ分析]**

配列決定リード(read)は、MiSeq Reporter(Illumina)を使用して自動的に脱マルチプレックス化され、個々のFASTQファイルを、カスタムMatlabを使用して分析した。各リードは、Smith-Watermanアルゴリズムを使用して、適切な参照配列にペアワイヤでアラインメントされた。Qスコアが31未満の塩基コールはNに置き換え、ヌクレオチド頻度の計算から除外した。この処理により、予測されるMiSeq塩基呼び出しエラー率は約1,000分の1になる。リードと参照配列がギャップを含まないアラインメント配列は、アラインメントテーブルに保存し、そこから各遺伝子座について塩基頻度を表にすることができた。インデル頻度は、前述の基準(Zuris, et al., Nature Biotechnol. 33, 73-80 (2015))を用いて、カスタムのMatlabスクリプトで定量した。配列決定リードをスキャンして、インデル(indel)が生じる可能性のあるウィンドウの両側に隣接する二つの10 bp配列との正確なマッチを探した。完全なマッチが見つかなかった場合、そのリードは分析から除外した。このインデルウィンドウの長さが参照配列と正確に一致した場合、そのリードはインデルを含まないものとして分類された。インデルウィンドウが参照配列よりも2塩基以上長いかまたは短い場合、その配列決定リードは、それぞれ挿入または欠失として分類された。

本開示は以下の実施形態を含む。

10

20

30

40

50

実施形態 1

レット症候群 (RTT) に関連する単一ヌクレオチド多型 (SNP) を含むMECP2ポリヌクレオチドを編集する方法であって、前記MECP2ポリヌクレオチドを、1つまたは複数のガイドポリヌクレオチドと複合体化した塩基エディターと接触させることを含み、前記塩基エディターが、ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記ガイドポリヌクレオチドの1つまたは複数が、前記塩基エディターをターゲティングしてRTTに関連する前記SNPのA・TからG・Cへの変更をもたらす、方法。

実施形態 2

前記接触させることが、細胞中、真核細胞中、哺乳動物細胞中、またはヒト細胞中である、実施形態1に記載の方法。 10

実施形態 3

前記細胞が、*in vivo*である、実施形態1または2に記載の方法。

実施形態 4

前記細胞が、*ex vivo*である、実施形態1または2に記載の方法。

実施形態 5

前記変更が、R106W、R168\*、R133C、T158M、R255\*、R270\*、およびR306Cのうちの1つまたは複数である、実施形態1から4のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 6

RTTに関連するSNPにおける前記A・TからG・Cへの変更が、メチルCpG結合タンパク質2 (Mecp2) ポリペプチドにおいてシスティンをアルギニンに、メチオニンをスレオニンに、または停止コドンをアルギニンに変更する、実施形態1から5のいずれか一項に記載の方法。 20

実施形態 7

RTTに関連する前記SNPが、アミノ酸168位、133位、255位、270位、もしくは306位にアルギニン、または158位にスレオニンを含むMecp2ポリペプチドの発現をもたらす、実施形態1から6のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、*Streptococcus pyogenes*のCas9 (*SpCas9*) またはそのバリエントである、実施形態1から7のいずれか一項に記載の方法。 30

実施形態 9

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、改変されたプロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) 特異性を有する改変された*SpCas9*を含む、実施形態1から8のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 10

前記改変された*SpCas9*が、核酸配列5'-NGT-3'に対する特異性を有する、実施形態9に記載の方法。

実施形態 11

前記改変された*SpCas9*が、アミノ酸置換L1111R、D1135V、G1218R、E1219F、A1322R、R1335V、T1337R、ならびにL1111、D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、D1332R、R1335Q、T1337、T1337L、T1337Q、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337H、T1337Q、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態10に記載の方法。 40

実施形態 12

前記改変された*SpCas9*が、アミノ酸置換D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、A1322R、R1335Q、およびT1337、ならびにL1111R、G1218R、E1219F、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、D1332R、T1337L、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337R、T133

7H、T1337Q、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態10に記載の方法。

#### 実施形態13

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、スクレアーゼ不活性バリアントまたはニッカーゼバリアントである、実施形態1から12のいずれか一項に記載の方法。

#### 実施形態14

前記ニッカーゼバリアントが、アミノ酸置換D10Aまたはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態13に記載の方法。

#### 実施形態15

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、デオキシリボ核酸(DNA)中のアデノシンを脱アミノ化することができる、実施形態1から14のいずれか一項に記載の方法。

#### 実施形態16

前記アデノシンデアミナーゼが、TadAデアミナーゼである、実施形態15に記載の方法

。

#### 実施形態17

前記TadAデアミナーゼが、TadA\*7.10である、実施形態15または16に記載の方法。

#### 実施形態18

前記1つまたは複数のガイドRNAが、CRISPR RNA(crRNA)およびトランスクード小RNA(tracrRNA)を含み、前記crRNAが、RTTに関連するSNPを含むMeCP2核酸配列に相補的な核酸配列を含む、実施形態1から17のいずれか一項に記載の方法。

#### 実施形態19

前記塩基エディターが、RTTに関連するSNPを含むMeCP2核酸配列に相補的な核酸配列を含むシングルガイドRNA(sgRNA)と複合体化している、実施形態1から18のいずれか一項に記載の方法。

#### 実施形態20

ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含む塩基エディターもしくは前記塩基エディターをコードするポリヌクレオチド、ならびに

前記塩基エディターをターゲティングしてRTTに関連するSNPのA・TからG・Cへの改変をもたらす1つもしくは複数のガイドポリヌクレオチドを、細胞またはその前駆体に導入することによって生成される、細胞。

#### 実施形態21

ニューロンである、実施形態20に記載の細胞。

#### 実施形態22

前記ニューロンはMeCP2ポリペプチドを発現する、実施形態20または21に記載の細胞。

#### 実施形態23

RTTを有する対象からのものである、実施形態20から22のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態24

哺乳動物細胞である、実施形態20から23のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態25

ヒト細胞である、実施形態20から24のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態26

前記改変が、R106W、R168\*、R133C、T158M、R255\*、R270\*、およびR306Cのうち1つまたは複数である、実施形態20から25のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態27

RTTに関連するSNPにおける前記A・TからG・Cへの改変が、メチルCpG結合タンパク質2(MeCP2)ポリペプチドにおいてシステインをアルギニンに、メチオニンをスレオ

10

20

30

40

50

ニンに、または停止コドンをアルギニンに変更する、実施形態20から26のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態28

RTTに関連するSNPが、アミノ酸168位、133位、255位、270位、もしくは306位にアルギニン、または158位にスレオニンを含むMecp2ポリペプチドの発現をもたらす、実施形態20から27のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態29

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、Streptococcus pyogenesのCas9 (SpCas9) またはそのバリエントである、実施形態20から28のいずれか一項に記載の細胞。

10

#### 実施形態30

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、改変されたプロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) 特異性を有する改変されたSpCas9を含む、実施形態20から29のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態31

前記改変されたSpCas9が、核酸配列5'-NGT-3'に対する特異性を有する、実施形態30に記載の細胞。

#### 実施形態32

前記改変されたSpCas9が、アミノ酸置換L1111R、D1135V、G1218R、E1219F、A1322R、R1335V、T1337R、ならびにL1111、D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、D1332R、R1335Q、T1337、T1337L、T1337Q、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337H、T1337Q、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態31に記載の細胞。

20

#### 実施形態33

前記改変されたSpCas9が、アミノ酸置換D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、A1322R、R1335Q、およびT1337、ならびにL1111R、G1218R、E1219F、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、D1332R、T1337L、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337R、T1337H、T1337Q、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態31に記載の細胞。

30

#### 実施形態34

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、ヌクレアーゼ不活性バリエントまたはニッカーゼバリエントである、実施形態20から33のいずれか一項に記載の細胞。

#### 実施形態35

前記ニッカーゼバリエントが、アミノ酸置換D10Aまたはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態34に記載の細胞。

#### 実施形態36

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、デオキシリボ核酸 (DNA) 中のアデノシンを脱アミノ化することができる、実施形態20から35のいずれか一項に記載の細胞。

40

#### 実施形態37

前記アデノシンデアミナーゼが、TadAデアミナーゼである、実施形態36に記載の細胞。

#### 実施形態38

前記TadAデアミナーゼが、TadA\*7.10である、実施形態36または37に記載の細胞。

#### 実施形態39

前記1つまたは複数のガイドRNAが、CRISPR RNA (crRNA) およびトランスクード化小RNA (tracrRNA) を含み、前記crRNAが、RTTに関連するSNPを含むMecp2核酸配列に相補的な核酸配列を含む、実施形態20から38のいずれか一項に記載の細胞。

50

実施形態 4 0

前記塩基エディターが、RTTに関連するSNPを含むMecp2核酸配列に相補的な核酸配列を含むシングルガイドRNA(sgRNA)と複合体化している、実施形態20から39のいずれか一項に記載の細胞。

実施形態 4 1

対象におけるRTTを治療する方法であって、実施形態1から40のいずれか一項に記載の細胞を対象に投与することを含む、方法。

実施形態 4 2

対象におけるRTTを治療する方法であって、

ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含む塩基エディターまたは前記塩基エディターをコードするポリヌクレオチド、および

前記塩基エディターをターゲティングしてRTTに関連するSNPのA・TからG・Cへの改変をもたらす1つもしくは複数のガイドポリヌクレオチドを前記対象に投与することを含む、

方法。

実施形態 4 3

前記対象が、哺乳動物またはヒトである、実施形態42に記載の方法。

実施形態 4 4

前記塩基エディターまたはそれをコードするポリヌクレオチドと、前記1つもしくは複数のガイドポリヌクレオチドとを、前記対象の細胞に送達することを含む、実施形態42または43に記載の方法。

実施形態 4 5

前記細胞がニューロンである、実施形態42から44のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 4 6

前記改変が、R106W、R168\*、R133C、T158M、R255\*、R270\*、およびR306Cのうち1つまたは複数である、実施形態42から45のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 4 7

RTTに関連するSNPにおける前記A・TからG・Cへの改変が、メチルCpG結合タンパク質2(Mecp2)ポリペプチドにおいてシステインをアルギニンに、メチオニンをスレオニンに、または停止コドンをアルギニンに変更する、実施形態42から46のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 4 8

RTTに関連するSNPが、アミノ酸168位、133位、255位、270位、もしくは306位にアルギニン、または158位にスレオニンを含むMecp2ポリペプチドの発現をもたらす、実施形態42から47のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 4 9

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、*Streptococcus pyogenes*のCas9(SpCas9)またはそのバリエントである、実施形態42から48のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 5 0

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、改変されたプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)特異性を有する改変されたSpCas9を含む、実施形態42から49のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 5 1

前記改変されたSpCas9が、核酸配列5'-NGT-3'に対する特異性を有する、実施形態50に記載の方法。

実施形態 5 2

前記改変されたSpCas9が、アミノ酸置換L1111R、D1135V、G1218R、E1219F、A1322R、R1335V、T1337R、ならびにL1111、D1135L、S1136R、G1218S

10

20

30

40

50

、E1219V、D1332A、R1335Q、T1337、T1337L、T1337Q、T1337I、T1337V、T1337F、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態51に記載の方法。

### 実施形態53

前記改変されたSpCas9が、アミノ酸置換D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、A1322R、R1335Q、およびT1337、ならびにL1111R、D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、D1332R、R1335Q、T1337、T1337L、T1337Q、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337R、T1337H、T1337Q、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態52に記載の方法。

10

### 実施形態54

前記ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインが、ヌクレアーゼ不活性バリエントまたはニッカーゼバリエントである、実施形態42から53のいずれか一項に記載の方法。

### 実施形態55

前記ニッカーゼバリエントが、アミノ酸置換D10Aまたはその対応するアミノ酸置換を含む、実施形態54に記載の方法。

### 実施形態56

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、デオキシリボ核酸(DNA)中のアデノシンを脱アミノ化することができる、実施形態42から55のいずれか一項に記載の方法。

20

### 実施形態57

前記アデノシンデアミナーゼが、TadAデアミナーゼである、実施形態55または56に記載の方法。

### 実施形態58

前記TadAデアミナーゼが、TadA\*7.10である、実施形態55から57のいずれか一項に記載の方法。

### 実施形態59

前記1つまたは複数のガイドRNAが、CRISPR RNA(crRNA)およびトランスクード化小RNA(tracrRNA)を含み、前記crRNAが、RTTに関連するSNPを含むMecp2核酸配列に相補的な核酸配列を含む、実施形態55から58のいずれか一項に記載の方法。

30

### 実施形態60

前記塩基エディターが、RTTに関連するSNPを含むMecp2核酸配列に相補的な核酸配列を含むシングルガイドRNA(sgRNA)と複合体化している、実施形態55から59のいずれか一項に記載の方法。

### 実施形態61

(i)アミノ酸置換L1111R、D1135V、G1218R、E1219F、A1322R、R1335V、T1337R、ならびにL1111、D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、D1332R、R1335Q、T1337、T1337L、T1337Q、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337H、T1337Q、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、改変されたSpCas9と、

40

(ii)アデノシンデアミナーゼと

を含む、塩基エディター。

### 実施形態62

(i)アミノ酸置換D1135L、S1136R、G1218S、E1219V、A1322R、R1335Q、およびT1337、ならびにL1111R、G1218R、E1219F、D1332A、D1332S、D1332T、D1332V、D1332L、D1332K、D1332R、T1337L、T1337I、T1337V、T1337F、T1337S、T1337N、T1337K、T1337R、T1337H、T1337Q、およびT1337Mのうち1つもしくは複数、またはその対応するアミノ酸置換を含む、改変されたSp

50

Cas9と、

(ii) アデノシンデアミナーゼと  
を含む、塩基エディター。

10

20

30

40

50