

【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 2 月 25 日 (2021.2.25)

【公表番号】特表 2020-513784 (P2020-513784A)

【公表日】令和 2 年 5 月 21 日 (2020.5.21)

【年通号数】公開・登録公報 2020-020

【出願番号】特願 2019-539270 (P2019-539270)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/53 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 K 38/44 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/11 Z N A Z

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/53

C 1 2 N 15/113 1 3 0 Z

A 6 1 K 38/46

A 6 1 K 38/44

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 1/16

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 1 月 13 日 (2021.1.13)

【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】

細胞内の H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の発現を改変または変更するための組合せ物であって

、

(a) C a s 9 タンパク質または前記 C a s 9 タンパク質をコードする核酸 ; および

(b) 第 1 のガイド RNA または前記第 1 のガイド RNA をコードする DNA であって

、前記第 1 のガイド RNA が、第 1 の C R I S P R RNA (c r RNA) 部分および第

1 のトランス活性化 C R I S P R RNA (t r a c r RNA) 部分を含み、前記第 1 の

ガイド RNA が、前記 C a s 9 タンパク質と複合体を形成し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝

子内の第 1 のガイド RNA 標的配列を標的とし、前記第 1 のガイド RNA 標的配列が、前

記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の開始コドンを含むかまたはそれに近接する、第 1 のガイド R N A または前記第 1 のガイド R N A をコードする D N A

を含み、前記 C a s 9 タンパク質が、前記第 1 のガイド R N A 標的配列を切断し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子において標的化遺伝子改変を生成するか、または前記 C a s 9 タンパク質が、前記第 1 のガイド R N A 標的配列に結合し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の発現を変更し；

前記組合せ物が、前記細胞に導入される、
組合せ物。

【請求項 2】

(a) 前記 C a s 9 タンパク質がヌクレアーゼ活性 C a s 9 タンパク質であり、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを有さない；

(b) 前記 C a s 9 タンパク質が、転写リプレッサードメインと融合したヌクレアーゼ不活性 C a s 9 タンパク質であり、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを有さない；または

(c) 前記 C a s 9 タンパク質が、転写活性化ドメインと融合したヌクレアーゼ不活性 C a s 9 タンパク質であり、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを含む、
請求項 1 に記載の組合せ物。

【請求項 3】

(a) 前記第 1 のガイド R N A 標的配列が、配列番号 2 0 ~ 8 1 および 2 5 9 ~ 2 6 3 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記第 1 のガイド R N A が、配列番号 1 4 2 3 ~ 1 4 8 4 および 1 6 4 3 ~ 1 6 4 7 のいずれか 1 つを含む D N A 標的化セグメントを含み、かつ / または

(c) 前記第 1 のガイド R N A が、配列番号 5 0 0 ~ 5 6 1、7 3 0 ~ 7 9 1、9 6 0 ~ 1 0 2 1、1 1 9 0 ~ 1 2 5 1、7 2 0 ~ 7 2 4、9 5 0 ~ 9 5 4、1 1 8 0 ~ 1 1 8 4、および 1 4 1 0 ~ 1 4 1 4 のいずれか 1 つを含む、

請求項 1 または 2 に記載の組合せ物。

【請求項 4】

前記第 1 のガイド R N A 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 または 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 または 2 のエクソン 1 に対応する領域内にある、請求項 1 から 3 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 5】

前記第 1 のガイド R N A 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記開始コドンの約 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、1 0 0、2 0 0、3 0 0、4 0 0、5 0 0 または 1，0 0 0 ヌクレオチド内にあるか、または前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記開始コドンを含む、請求項 1 から 4 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 6】

第 2 のガイド R N A または前記第 2 のガイド R N A をコードする D N A をさらに含み、
前記第 2 のガイド R N A が、第 2 の C R I S P R R N A (c r R N A) 部分および第 2 のトランス活性化 C R I S P R R N A (t r a c r R N A) 部分を含み、

前記第 2 のガイド R N A が、前記 C a s 9 タンパク質と複合体を形成し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子内の第 2 のガイド R N A 標的配列を標的とし、かつ

前記第 2 のガイド R N A 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の開始コドンを含むかまたはそれに近接する、

請求項 1 から 5 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 7】

前記第 2 のガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記開始コドンの約 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、1 0 0、2 0 0、3 0 0、4 0 0、5 0 0 または 1、0 0 0 ヌクレオチド内にあるか、または前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記開始コドンを含む、請求項 6 に記載の組合せ物。

【請求項 8】

前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記開始コドンの破壊をもたらす、請求項 1 から 7 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 9】

第 2 のガイド RNA または前記第 2 のガイド RNA をコードする DNA をさらに含み、前記第 2 のガイド RNA が、第 2 の C R I S P R RNA (c r RNA) 部分および第 2 のトランス活性化 C R I S P R RNA (t r a c r RNA) 部分を含み、前記第 2 のガイド RNA が、前記 C a s 9 タンパク質と複合体を形成し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子内の第 2 のガイド RNA 標的配列を標的とし、前記第 2 のガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の終止コドンを含むかまたはそれに近接する、かつ前記細胞が、前記第 1 のガイド RNA 標的配列と前記第 2 のガイド RNA 標的配列との間に H S D 1 7 B 1 3 コード領域の欠失を含むように改変される、請求項 1 から 5 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 10】

(a) 前記第 2 のガイド RNA 標的配列が、配列番号 8 8 ~ 2 2 5 のいずれか 1 つを含み、かつ / または
(b) 前記第 2 のガイド RNA が、配列番号 1 4 8 5 ~ 1 6 2 8 のいずれか 1 つを含む DNA 標的化セグメントを含み、かつ / または
(c) 前記第 2 のガイド RNA が、配列番号 5 6 2 ~ 7 0 5、7 9 2 ~ 9 3 5、1 0 2 2 ~ 1 1 6 5 および 1 2 5 2 ~ 1 3 9 5 のいずれか 1 つを含む、請求項 9 に記載の組合せ物。

【請求項 11】

前記第 2 のガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 または 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 または 2 のエクソン 7 に対応する領域内にある、請求項 9 または 10 に記載の組合せ物。

【請求項 12】

前記第 2 のガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記終止コドンの約 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、1 0 0、2 0 0、3 0 0、4 0 0、5 0 0 または 1、0 0 0 ヌクレオチド内にあるか、または前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記終止コドンを含む、請求項 9 から 11 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 13】

前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の前記コード配列が欠失される、請求項 9 から 12 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 14】

前記標的化遺伝子改変が、非相同末端結合によって切断された第 1 のガイド RNA 標的配列の修復によって生成される、請求項 1 から 13 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 15】

前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の機能喪失をもたらす、請求項 1 から 14 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 16】

前記組合せ物が、発現ベクターと組み合わせて前記細胞に導入されることを特徴とし、前記発現ベクターが、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを含む組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を含む、請

求項 1 から 15 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 17】

前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子がヒト遺伝子である、請求項 16 に記載の組合せ物。

【請求項 18】

前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、前記遺伝子の 1 つまたは複数の非必須セグメントが対応する野生型 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子に対して欠失している H S D 1 7 B 1 3 ミニ遺伝子であり、前記欠失したセグメントが、1 つまたは複数のイントロン配列を含み、前記 H S D 1 7 B 1 3 ミニ遺伝子が、配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 のイントロン 6 に対応するイントロンを含む、請求項 16 または 17 に記載の組合せ物。

【請求項 19】

前記組合せ物が、発現ベクターと組み合わせて前記細胞に導入されることを特徴とし、前記発現ベクターが、配列番号 15 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % 同一である H S D 1 7 B 1 3 タンパク質をコードする核酸を含み、必要に応じて、前記 H S D 1 7 B 1 3 タンパク質をコードする前記核酸が、配列番号 7 と最適にアラインメントした場合、配列番号 7 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 D) と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % 同一である、請求項 1 から 15 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 20】

前記組合せ物が、H S D 1 7 B 1 3 タンパク質またはその断片と組み合わせて前記細胞に導入されることを特徴とし、前記 H S D 1 7 B 1 3 タンパク質またはその断片が、配列番号 15 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % 同一である、請求項 1 から 15 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 21】

前記組合せ物が、外因性ドナー配列と組み合わせて前記細胞に導入されることを特徴とし、前記外因性ドナー配列を、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子内の標的ゲノム遺伝子座と組換えて、標的化遺伝子改変を生じさせる、請求項 1 から 15 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 22】

前記外因性ドナー配列による前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の修復が、非相同末端結合媒介性挿入を介して生じる、請求項 21 に記載の組合せ物。

【請求項 23】

前記外因性ドナー配列による前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の修復が、相同組換え修復を介して生じる、請求項 21 に記載の組合せ物。

【請求項 24】

前記外因性ドナー配列が、配列番号 2 の 1 2 6 6 6 位に対応する位置の 5' 側の標的配列とハイブリダイズする 5' 相同アーム、および配列番号 2 の 1 2 6 6 6 位に対応する位置の 3' 側の標的配列とハイブリダイズする 3' 相同アームを含み、前記外因性ドナー配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子と組換えられる、請求項 23 に記載の組合せ物。

【請求項 25】

前記外因性ドナー配列が、5' 相同アームと 3' 相同アームに挟まれた核酸挿入物をさらに含む、請求項 24 に記載の組合せ物。

【請求項 26】

前記核酸挿入物がチミンを含み、前記外因性ドナー配列が H S D 1 7 B 1 3 遺伝子と組換えられると、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレ

オチドとの間に前記チミンが挿入される、請求項 25 に記載の組合せ物。

【請求項 27】

前記外因性ドナー配列が、約 50ヌクレオチド～約 1kb の長さである、請求項 21 から 26 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 28】

前記外因性ドナー配列が、約 80ヌクレオチド～約 200ヌクレオチドの長さである、請求項 27 に記載の組合せ物。

【請求項 29】

前記外因性ドナー配列が、一本鎖オリゴデオキシヌクレオチドである、21 から 28 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 30】

前記第 1 のガイド RNA が、前記第 1 の crRNA 部分が前記第 1 の tracrRNA 部分に連結している単一分子ガイド RNA である、請求項 1 から 28 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 31】

前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 1420、256、257 または 258 に記載の配列を含む、請求項 30 に記載の組合せ物。

【請求項 32】

前記第 1 の crRNA 部分および前記第 1 の tracrRNA 部分が、別々の RNA 分子である、請求項 1 から 28 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 33】

前記第 1 の crRNA 部分が、配列番号 1421 に記載の配列を含み、かつ / または前記第 1 の tracrRNA 部分が、配列番号 1422 に記載の配列を含む、請求項 32 に記載の組合せ物。

【請求項 34】

前記第 1 のガイド RNA が、改変または制御された安定性をもたらす改変を含む、請求項 1 から 33 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 35】

前記 Cas9 タンパク質をコードする前記核酸を含み、前記 Cas9 タンパク質をコードする前記核酸が DNA を含む、請求項 1 から 34 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 36】

前記 Cas9 タンパク質をコードする前記核酸を含み、前記 Cas9 タンパク質をコードする前記核酸が RNA を含む、請求項 1 から 34 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 37】

RNA の形態で前記第 1 のガイド RNA を含む、請求項 1 から 36 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 38】

前記第 1 のガイド RNA をコードする DNA を含む、請求項 1 から 36 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 39】

脂質ナノ粒子中にある、請求項 1 から 38 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 40】

アデノ随伴ウイルスベクター中にある、請求項 1 から 39 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 41】

前記細胞が、マウス細胞、ラット細胞またはヒト細胞である、請求項 1 から 40 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 42】

前記細胞が、ヒト肝臓細胞、マウス肝臓細胞、ラット肝臓細胞、マウス多能性細胞またはラット多能性細胞である、請求項 4 1 に記載の組合せ物。

【請求項 4 3】

前記細胞がヒト肝臓細胞である、請求項 4 2 に記載の組合せ物。

【請求項 4 4】

前記細胞がヒト細胞であり、

(a) 前記第 1 のガイド RNA 標的配列が、配列番号 2 0 ~ 8 1 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 1 4 2 3 ~ 1 4 8 4 のいずれか 1 つを含む DNA 標的化セグメントを含み、かつ / または

(c) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 5 0 0 ~ 5 6 1、7 3 0 ~ 7 9 1、9 6 0 ~ 1 0 2 1 および 1 1 9 0 ~ 1 2 5 1 のいずれか 1 つを含み、
必要に応じて、

(a) 前記第 1 のガイド RNA 標的配列が、配列番号 2 0 ~ 4 1 のいずれか 1 つ、配列番号 2 1 ~ 2 3、3 3 および 3 5 のいずれか 1 つ、または配列番号 3 3 および 3 5 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 1 4 4 7 ~ 1 4 6 8 のいずれか 1 つ、配列番号 1 4 4 8 ~ 1 4 5 0、1 4 6 0 および 1 4 6 2 のいずれか 1 つ、または配列番号 1 4 6 0 および 1 4 6 2 のいずれか 1 つを含む DNA 標的化セグメントを含み、かつ / または

(c) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 5 2 4 ~ 5 4 5、7 5 4 ~ 7 7 5、9 8 4 ~ 1 0 0 5 および 1 2 1 4 ~ 1 2 3 5 のいずれか 1 つ、配列番号 2 9 5 ~ 2 9 7、5 2 5 ~ 5 2 7、7 5 5 ~ 7 5 7、9 8 5 ~ 9 8 7、1 2 1 5 ~ 1 2 1 7、3 0 7、3 0 9、5 3 7、5 3 9、7 6 7、7 6 9、9 9 7、9 9 9、1 2 2 7 および 1 2 2 9 のいずれか 1 つ、または配列番号 3 0 7、3 0 9、5 3 7、5 3 9、7 6 7、7 6 9、9 9 7、9 9 9、1 2 2 7 および 1 2 2 9 のいずれか 1 つを含む、

請求項 1 から 4 3 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 4 5】

前記細胞がマウス細胞であり、

(a) 前記第 1 のガイド RNA 標的配列が、配列番号 2 5 9 ~ 2 6 3 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 1 6 4 3 ~ 1 6 4 7 のいずれか 1 つを含む DNA 標的化セグメントを含み、かつ / または

(c) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 7 2 0 ~ 7 2 4、9 5 0 ~ 9 5 4、1 1 8 0 ~ 1 1 8 4 および 1 4 1 0 ~ 1 4 1 4 のいずれか 1 つを含む、

請求項 1 から 4 2 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 4 6】

前記細胞が *ex vivo* または *in vivo* である、請求項 1 から 4 5 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【請求項 4 7】

前記細胞が *in vivo* である、請求項 4 6 に記載の組合せ物。

【請求項 4 8】

前記細胞が肝臓細胞であり、前記組合せ物が *in vivo* で肝臓に導入される、請求項 4 7 に記載の組合せ物。

【請求項 4 9】

前記細胞が、慢性肝疾患を有するか、またはそのリスクがある対象における肝臓細胞であり、必要に応じて、前記慢性肝疾患が、非アルコール性肝疾患、アルコール性脂肪性肝疾患、肝硬変、または肝細胞癌であり、必要に応じて、前記対象が、脂肪性肝炎、線維症、肝硬変および / または肝細胞癌を有するか、またはそのリスクがある、請求項 1 から 4 8 までのいずれか一項に記載の組合せ物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0066

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0066】

上記の方法のいずれかでは、対象は、ヒトであり得る。上記の方法のいずれかでは、慢性肝疾患は、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝硬変、または肝細胞癌であり得る。同様に、上記の方法のいずれかでは、治療または予防方法は、アルコール性肝疾患または非アルコール性肝疾患である肝疾患に対するものであり得る。上記の方法のいずれかでは、対象に導入するステップは、流体力学的送達、ウイルス媒介性送達、脂質ナノ粒子媒介性送達、または静脈内注入を含み得る。

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

（項目 1）

HSD17B13 遺伝子に結合させるかまたは HSD17B13 遺伝子を切断するように Cas 酵素を方向付けるのに有効なガイド RNA であって、前記 HSD17B13 遺伝子内のガイド RNA 標的配列を標的とする DNA 標的化セグメントを含む、ガイド RNA

（項目 2）

前記ガイド RNA 標的配列が、前記 HSD17B13 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 の 12666 位に対応する位置を含むかまたはその位置に近接している、項目 1 に記載のガイド RNA。

（項目 3）

（a）前記ガイド RNA 標的配列が、配列番号 226～239 および 264～268 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

（b）前記 DNA 標的化セグメントが、配列番号 1629～1642 および 1648～1652 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

（c）前記ガイド RNA が、配列番号 706～719；936～949；1166～1179、1396～1409、725～729、955～959、1185～1189、および 1415～1419 のいずれか 1 つを含む、項目 2 に記載のガイド RNA。

（項目 4）

（a）前記ガイド RNA 標的配列が、前記 HSD17B13 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 のエクソン 6 および / またはイントロン 6 および / またはエクソン 7 に対応する領域内であり、かつ / または

（b）前記ガイド RNA 標的配列が、前記 HSD17B13 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 の 12666 位に対応する位置から約 1000、500、400、300、200、100、50、45、40、35、30、25、20、15、10、または 5 ヌクレオチドの範囲内であり、必要に応じて、前記ガイド RNA 標的配列が、前記 HSD17B13 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 の 12666 位に対応する位置を含む、項目 2 または 3 に記載のガイド RNA。

（項目 5）

前記ガイド RNA 標的配列が、前記 HSD17B13 遺伝子の開始コドンを含むかまたはそれに近接している、項目 1 に記載のガイド RNA。

（項目 6）

（a）前記ガイド RNA 標的配列が、配列番号 20～81 および 259～263 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

（b）前記 DNA 標的化セグメントが、配列番号 1423～1484 および 1643～1647 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

（c）前記ガイド RNA が、配列番号 500～561、730～791、960～10

2 1、1 1 9 0 ~ 1 2 5 1、7 2 0 ~ 7 2 4、9 5 0 ~ 9 5 4、1 1 8 0 ~ 1 1 8 4、および 1 4 1 0 ~ 1 4 1 4 のいずれか 1 つを含む、項目 5 に記載のガイド RNA。

(項目 7)

(a) 前記ガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 のエクソン 1 に対応する領域内であり、かつ / または

(b) 前記ガイド RNA 標的配列が、前記開始コドンから約 1 0 0 0、5 0 0、4 0 0、3 0 0、2 0 0、1 0 0、5 0、4 5、4 0、3 5、3 0、2 5、2 0、1 5、1 0、または 5 ヌクレオチドの範囲内である、項目 5 または 6 に記載のガイド RNA。

(項目 8)

前記ガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の終止コドンを含むかまたはそれに近接している、項目 1 に記載のガイド RNA。

(項目 9)

(a) 前記ガイド RNA 標的配列が、配列番号 8 2 ~ 2 2 5 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記 DNA 標的化セグメントが、配列番号 1 4 8 5 ~ 1 6 2 8 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(c) 前記ガイド RNA が、配列番号 5 6 2 ~ 7 0 5、7 9 2 ~ 9 3 5、1 0 2 2 ~ 1 1 6 5、および 1 2 5 2 ~ 1 3 9 5 のいずれか 1 つを含む、項目 8 に記載のガイド RNA

。

(項目 1 0)

(a) 前記ガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 のエクソン 7 に対応する領域内であり、かつ / または

(b) 前記ガイド RNA 標的配列が、終止コドンから約 1 0 0 0、5 0 0、4 0 0、3 0 0、2 0 0、1 0 0、5 0、4 5、4 0、3 5、3 0、2 5、2 0、1 5、1 0、または 5 ヌクレオチドの範囲内である、項目 8 または 9 に記載のガイド RNA。

(項目 1 1)

前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、ヒト H S D 1 7 B 1 3 遺伝子またはマウス H s d 1 7 b 1 3 遺伝子であり、必要に応じて、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、前記ヒト H S D 1 7 B 1 3 遺伝子であり、配列番号 2 を含む、項目 1 から 1 0 までのいずれか一項に記載のガイド RNA。

(項目 1 2)

前記 DNA 標的化セグメントを含むクラスター化された規則的な配置の短い回文配列リピート (C R I S P R) RNA (c r RNA) およびトランス活性化型 C R I S P R RNA (t r a c r RNA) を含む、項目 1 から 1 1 までのいずれか一項に記載のガイド RNA。

(項目 1 3)

前記 c r RNA および前記 t r a c r RNA が、互いにハイブリダイズする別々の分子であるモジュラーガイド RNA であり、必要に応じて、前記 c r RNA が、配列番号 1 4 2 1 に記載の配列を含み、前記 t r a c r RNA が、配列番号 1 4 2 2 に記載の配列を含む、項目 1 2 に記載のガイド RNA。

(項目 1 4)

前記 c r RNA が前記 t r a c r RNA とリンカーを介して融合している単一ガイド RNA であり、必要に応じて、配列番号 1 4 2 0 および 2 5 6 ~ 2 5 8 のいずれか 1 つに記載の配列を含む、項目 1 2 に記載のガイド RNA。

(項目 1 5)

細胞内の H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を改変する方法、または細胞内の H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の発現を変更するための方法における、項目 1 から 1 4 までのいずれか一項に記載のガイド RNA の使用。

(項目 1 6)

項目 1 から 1 4 までのいずれか一項に記載のガイド RNA をコードする DNA を含む単離された核酸。

(項目 1 7)

配列番号 4 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A) 内の配列とハイブリダイズし、細胞における H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A の発現を低減するアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA。

(項目 1 8)

(a) 配列番号 7 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 D) には存在しない、配列番号 4 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A) に存在する配列とハイブリダイズし、かつ / または

(b) 配列番号 4 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A) のエクソン 6 とエクソン 7 との境界にまたがる配列とハイブリダイズする、項目 1 7 に記載のアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA。

(項目 1 9)

細胞内の H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の発現を変更するための方法における、項目 1 7 または 1 8 に記載のアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA の使用。

(項目 2 0)

項目 1 7 または 1 8 に記載のアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA をコードする DNA を含む単離された核酸。

(項目 2 1)

項目 1 6 または 2 0 に記載の単離された核酸および異種核酸を含むベクター。

(項目 2 2)

項目 1 から 1 4 までのいずれか一項に記載のガイド RNA および前記ガイド RNA の安定性を増大させる担体を含む組成物であって、必要に応じて、C a s タンパク質をさらに含み、必要に応じて、前記 C a s タンパク質が C a s 9 である、組成物。

(項目 2 3)

項目 1 7 または 1 8 に記載のアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA と、前記アンチセンス RNA、前記 s i RNA、または前記 s h RNA の安定性を増大させる担体とを含む組成物。

(項目 2 4)

項目 1 から 1 4 までのいずれか一項に記載のガイド RNA を含む細胞。

(項目 2 5)

項目 1 7 または 1 8 に記載のアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA を含む細胞。

(項目 2 6)

ヒト細胞であり、必要に応じて、肝細胞である、項目 2 4 または 2 5 に記載の細胞。

(項目 2 7)

齧歯類細胞、マウス細胞、またはラット細胞であり、必要に応じて、多能性細胞または肝細胞である、項目 2 4 または 2 5 に記載の細胞。

(項目 2 8)

細胞内の H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を改変する方法であって、前記細胞のゲノムを、

(a) C a s タンパク質 ; および

(b) 前記 C a s タンパク質と複合体を形成し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子内のガイド RNA 標的配列を標的とするガイド RNA であって、前記ガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 の 1 2 6 6 6 位に対応する位置を含むかまたはその位置に近接している、ガイド RNA と接触させるステップを含み、

前記 C a s タンパク質が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を切断する、方法。

(項目 2 9)

(a) 前記ガイド RNA 標的配列が、配列番号 2 2 6 ~ 2 3 9 および 2 6 4 ~ 2 6 8 の

いずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記 D N A 標的化セグメントが、配列番号 1 6 2 9 ~ 1 6 4 2 および 1 6 4 8 ~ 1 6 5 2 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(c) 前記ガイド R N A が、配列番号 7 0 6 ~ 7 1 9 ; 9 3 6 ~ 9 4 9 ; 1 1 6 6 ~ 1 1 7 9、1 3 9 6 ~ 1 4 0 9、7 2 5 ~ 7 2 9、9 5 5 ~ 9 5 9、1 1 8 5 ~ 1 1 8 9、および 1 4 1 5 ~ 1 4 1 9 のいずれか 1 つを含む、項目 2 8 に記載の方法。

(項目 3 0)

(a) 前記ガイド R N A 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 のエクソン 6 および / またはイントロン 6 および / またはエクソン 7 に対応する領域内であり、かつ / または

(b) 前記ガイド R N A 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 の 1 2 6 6 6 位に対応する位置から約 1 0 0 0、5 0 0、4 0 0、3 0 0、2 0 0、1 0 0、5 0、4 5、4 0、3 5、3 0、2 5、2 0、1 5、1 0、または 5 ヌクレオチドの範囲内であり、必要に応じて、前記ガイド R N A 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 の 1 2 6 6 6 位に対応する位置を含む、項目 2 8 または 2 9 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記ゲノムを、配列番号 2 の 1 2 6 6 6 位に対応する位置の 5 ' 側の標的配列とハイブリダイズする 5 ' 相同アームおよび配列番号 2 の 1 2 6 6 6 位に対応する位置の 3 ' 側の標的配列とハイブリダイズする 3 ' 相同アームを含む外因性ドナー配列と接触させるステップをさらに含み、前記外因性ドナー配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子と組換えられる、項目 2 8 から 3 0 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 2)

前記外因性ドナー配列が、前記 5 ' 相同アームと前記 3 ' 相同アームとに挟まれた核酸挿入物をさらに含む、項目 3 1 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記核酸挿入物がチミンを含み、前記外因性ドナー配列が前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子と組換えられると、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に前記チミンが挿入される、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

(a) 前記外因性ドナー配列が、約 5 0 ヌクレオチド ~ 約 1 k b の長さであり、必要に応じて、前記外因性ドナー配列が、約 8 0 ヌクレオチド ~ 約 2 0 0 ヌクレオチドの長さであり、かつ / または

(b) 前記外因性ドナー配列が、一本鎖オリゴデオキシヌクレオチドである、項目 3 1 から 3 3 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 5)

細胞内の H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を改変する方法であって、前記細胞のゲノムを、

(a) C a s タンパク質 ; および

(b) 前記 C a s タンパク質と複合体を形成し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子内の第 1 のガイド R N A 標的配列を標的とする第 1 のガイド R N A であって、前記第 1 のガイド R N A 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の開始コドンを含むか、または前記開始コドンから約 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、1 0 0、2 0 0、3 0 0、4 0 0、5 0 0、または 1, 0 0 0 ヌクレオチドの範囲内である、第 1 のガイド R N A と接触させるステップを含み、

前記 C a s タンパク質が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を切断するかまたは前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の発現を変更する、方法。

(項目 3 6)

(a) 前記第 1 のガイド R N A 標的配列が、配列番号 2 0 ~ 8 1 および 2 5 9 ~ 2 6 3 のいずれか 1 つを含み、必要に応じて、前記第 1 のガイド R N A 標的配列が、配列番号 2

0 ~ 4 1 のいずれか 1 つ、配列番号 2 1 ~ 2 3、3 3、および 3 5 のいずれか 1 つ、または配列番号 3 3 および 3 5 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 1 4 2 3 ~ 1 4 8 4 および 1 6 4 3 ~ 1 6 4 7 のいずれか 1 つを含む DNA 標的化セグメントを含み、必要に応じて、前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 1 4 4 7 ~ 1 4 6 8 のいずれか 1 つ、配列番号 1 4 4 8 ~ 1 4 5 0、1 4 6 0、および 1 4 6 2 のいずれか 1 つ；または配列番号 1 4 6 0 および 1 4 6 2 のいずれか 1 つを含む DNA 標的化セグメントを含み、かつ / または

(c) 前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 5 0 0 ~ 5 6 1、7 3 0 ~ 7 9 1、9 6 0 ~ 1 0 2 1、1 1 9 0 ~ 1 2 5 1、7 2 0 ~ 7 2 4、9 5 0 ~ 9 5 4、1 1 8 0 ~ 1 1 8 4、および 1 4 1 0 ~ 1 4 1 4 のいずれか 1 つを含み、必要に応じて、前記第 1 のガイド RNA が、配列番号 5 2 4 ~ 5 4 5、7 5 4 ~ 7 7 5、9 8 4 ~ 1 0 0 5、および 1 2 1 4 ~ 1 2 3 5 のいずれか 1 つ、または配列番号 2 9 5 ~ 2 9 7、5 2 5 ~ 5 2 7、7 5 5 ~ 7 5 7、9 8 5 ~ 9 8 7、1 2 1 5 ~ 1 2 1 7、3 0 7、3 0 9、5 3 7、5 3 9、7 6 7、7 6 9、9 9 7、9 9 9、1 2 2 7、および 1 2 2 9 のいずれか 1 つ、または配列番号 3 0 7、3 0 9、5 3 7、5 3 9、7 6 7、7 6 9、9 9 7、9 9 9、1 2 2 7、および 1 2 2 9 のいずれか 1 つを含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7)

(a) 前記 C a s タンパク質が、ヌクレアーゼ - 活性 C a s タンパク質である；または
(b) 前記 C a s タンパク質が、転写活性化ドメインまたは転写リプレッサードメインと融合したヌクレアーゼ - 不活性 C a s タンパク質である、項目 3 5 または 3 6 のいずれかに記載の方法。

(項目 3 8)

前記細胞のゲノムを、前記 C a s タンパク質と複合体を形成し、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子内の第 2 のガイド RNA 標的配列を標的とする第 2 のガイド RNA と接触させるステップをさらに含み、前記第 2 のガイド RNA 標的配列が、前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の終止コドンを含むか、または前記終止コドンから約 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、1 0 0、2 0 0、3 0 0、4 0 0、5 0 0、または 1, 0 0 0 ヌクレオチドの範囲内であり、前記細胞が、前記第 1 のガイド RNA 標的配列と前記第 2 のガイド RNA 標的配列との間に欠失を含むように改変されている、項目 3 5 から 3 7 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 9)

(a) 前記第 2 のガイド RNA 標的配列が、配列番号 8 2 ~ 2 2 5 のいずれか 1 つを含み、かつ / または

(b) 前記第 2 のガイド RNA が、配列番号 1 4 8 5 ~ 1 6 2 8 のいずれか 1 つを含む DNA 標的化セグメントを含み、かつ / または

(c) 前記第 2 のガイド RNA が、配列番号 5 6 2 ~ 7 0 5、7 9 2 ~ 9 3 5、1 0 2 2 ~ 1 1 6 5、および 1 2 5 2 ~ 1 3 9 5 のいずれか 1 つを含む、項目 3 8 に記載の方法。

。

(項目 4 0)

細胞内の H S D 1 7 B 1 3 遺伝子の発現を低減するための方法であって、前記細胞のゲノムを、配列番号 4 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A) 内の配列とハイブリダイズし、H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A の発現を低減するアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA と接触させるステップを含む、方法。

(項目 4 1)

前記アンチセンス RNA、前記 s i RNA、または前記 s h RNA が、配列番号 7 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 D) には存在しない配列番号 4 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A) に存在する配列とハイブリダイズし、必要に応じて、前記アンチセンス RNA、前記 s i RNA、または前記 s h RNA が、配列番号 4 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A) のエクソン 6 とエクソン 7 との境界にまたがる配列とハイブリダイズする、項目 4 0 に記載の方法。

。

(項目 4 2)

前記細胞に発現ベクターを導入するステップをさらに含み、前記発現ベクターが、組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを含む前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を含み、必要に応じて、前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子がヒト遺伝子である、項目 3 5 から 4 1 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 3)

前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、前記遺伝子の 1 つまたは複数の非必須セグメントが対応する野生型 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子に対して欠失している H S D 1 7 B 1 3 ミニ遺伝子であり、必要に応じて、前記欠失したセグメントが、1 つまたは複数のイントロン配列を含み、必要に応じて、前記 H S D 1 7 B 1 3 ミニ遺伝子が、配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 のイントロン 6 に対応するイントロンを含む、項目 4 2 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記細胞に発現ベクターを導入するステップをさらに含み、前記発現ベクターが、配列番号 1 5 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一である H S D 1 7 B 1 3 タンパク質をコードする核酸を含み、必要に応じて、前記 H S D 1 7 B 1 3 タンパク質をコードする前記核酸が、配列番号 7 と最適にアラインメントした場合、配列番号 7 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 D) と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、項目 3 5 から 4 1 までのいずれか一項に記載の方法。

。

(項目 4 5)

前記細胞に H S D 1 7 B 1 3 タンパク質またはその断片を導入するステップをさらに含み、前記 H S D 1 7 B 1 3 タンパク質またはその断片が、配列番号 1 5 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、項目 3 5 から 4 1 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 6)

前記 C a s タンパク質が C a s 9 である、項目 2 8 から 4 5 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 7)

細胞を改変するための方法であって、前記細胞に発現ベクターを導入するステップを含み、前記発現ベクターが、組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを含む前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を含み、必要に応じて、前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子がヒト遺伝子である、方法。

(項目 4 8)

前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子が、前記遺伝子の 1 つまたは複数の非必須セグメントが対応する野生型 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子に対して欠失している H S D 1 7 B 1 3 ミニ遺伝子であり、必要に応じて、前記欠失したセグメントが、1 つまたは複数のイントロン配列を含み、必要に応じて、前記 H S D 1 7 B 1 3 ミニ遺伝子が、配列番号 2 と最適にアラインメントした場合、配列番号 2 のイントロン 6 に対応するイントロンを含む、項目 4 7 に記載の方法。

(項目 4 9)

細胞を改変するための方法であって、前記細胞に発現ベクターを導入するステップを含み、前記発現ベクターが、配列番号 1 5 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8

%、少なくとも99%、または100%同一であるHSD17B13タンパク質をコードする核酸を含み、必要に応じて、前記HSD17B13タンパク質をコードする前記核酸が、配列番号7と最適にアラインメントした場合、配列番号7（HSD17B13転写産物D）と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一である、方法。

（項目50）

細胞を改変するための方法であって、前記細胞にHSD17B13タンパク質またはその断片を導入するステップを含み、前記HSD17B13タンパク質またはその断片が、配列番号15（HSD17B13アイソフォームD）と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一である、方法。

（項目51）

前記細胞が、齧歯類細胞、マウス細胞、またはラット細胞であり、必要に応じて、前記細胞が、多能性細胞または肝細胞である、項目28から50までのいずれか一項に記載の方法。

（項目52）

前記細胞が、ヒト細胞であり、必要に応じて、前記細胞が、肝細胞である、項目28から50までのいずれか一項に記載の方法。

（項目53）

前記細胞が、*ex vivo*または*in vivo*にある、項目28から52までのいずれか一項に記載の方法。

（項目54）

HSD17B13 rs72613567バリエーションの保因者ではなく、慢性肝疾患を有するかまたはそれを発症しやすい対象を処置する方法であって、前記対象に、

（a）Casタンパク質または前記Casタンパク質をコードする核酸；

（b）ガイドRNAまたは前記ガイドRNAをコードする核酸であって、前記ガイドRNAが、前記Casタンパク質と複合体を形成し、HSD17B13遺伝子内のガイドRNA標的配列を標的とし、前記ガイドRNA標的配列が、前記HSD17B13遺伝子を配列番号2と最適にアラインメントした場合、配列番号2の12666位に対応する位置を含むかまたはその位置に近接している、ガイドRNAまたは前記ガイドRNAをコードする核酸；および

（c）配列番号2の12666位に対応する位置の5'側の標的配列とハイブリダイズする5'相同アーム、配列番号2の12666位に対応する位置の3'側の標的配列とハイブリダイズする3'相同アーム、および前記5'相同アームと前記3'相同アームに挟まれたチミンを含む核酸挿入物を含む外因性ドナー配列を導入するステップを含み、

前記Casタンパク質が、前記対象の肝細胞内で前記HSD17B13遺伝子を切断し、前記外因性ドナー配列が、前記肝細胞内で前記HSD17B13遺伝子と組換えられ、前記外因性ドナー配列が前記HSD17B13遺伝子と組換えられると、前記HSD17B13遺伝子を配列番号1と最適にアラインメントした場合、配列番号1の12665位に対応するヌクレオチドと12666位に対応するヌクレオチドとの間に前記チミンが挿入される、方法。

（項目55）

HSD17B13 rs72613567バリエーションの保因者ではなく、慢性肝疾患を有するかまたはそれを発症しやすい対象を処置する方法であって、前記対象に、

（a）Casタンパク質または前記Casタンパク質をコードする核酸；

（b）第1のガイドRNAまたは前記第1のガイドRNAをコードする核酸であって、前記第1のガイドRNAが、前記Casタンパク質と複合体を形成し、HSD17B13遺伝子内の第1のガイドRNA標的配列を標的とし、前記第1のガイドRNA標的配列が、前記HSD17B13遺伝子の開始コドンを含むか、または前記開始コドンから約10

、 2 0、 3 0、 4 0、 5 0、 1 0 0、 2 0 0、 3 0 0、 4 0 0、 5 0 0、 または 1 , 0 0 0 ヌクレオチドの範囲内であるか、または配列番号 2 0 ~ 8 1 から選択される、第 1 のガイド RNA または前記第 1 のガイド RNA をコードする核酸；および

(c) 組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを含む前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を含む発現ベクタ

ー

を導入するステップを含み、

前記 C a s タンパク質が、前記対象の肝細胞内で前記 H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を切断するか、またはその発現を変更し、前記発現ベクターが、前記対象の前記肝細胞内で前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を発現する、方法。

(項目 5 6)

H S D 1 7 B 1 3 r s 7 2 6 1 3 5 6 7 バリエーションの保因者ではなく、慢性肝疾患を有するかまたはそれを発症しやすい対象を処置する方法であって、前記対象に、前記対象の肝細胞内で配列番号 4 (H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A) 内の配列とハイブリダイズし、H S D 1 7 B 1 3 転写産物 A の発現を低減するアンチセンス RNA、s i RNA、または s h RNA を導入するステップを含む、方法。

(項目 5 7)

H S D 1 7 B 1 3 r s 7 2 6 1 3 5 6 7 バリエーションの保因者ではなく、慢性肝疾患を有するかまたはそれを発症しやすい対象を処置する方法であって、前記対象に発現ベクターを導入するステップを含み、前記発現ベクターが、組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を配列番号 1 と最適にアラインメントした場合、配列番号 1 の 1 2 6 6 5 位に対応するヌクレオチドと 1 2 6 6 6 位に対応するヌクレオチドとの間に挿入されたチミンを含む前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を含み、前記発現ベクターが、前記対象の肝細胞内で前記組換え H S D 1 7 B 1 3 遺伝子を発現する、方法。

(項目 5 8)

H S D 1 7 B 1 3 r s 7 2 6 1 3 5 6 7 バリエーションの保因者ではなく、慢性肝疾患を有するかまたはそれを発症しやすい対象を処置する方法であって、前記対象に発現ベクターを導入するステップを含み、前記発現ベクターが、配列番号 1 5 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一である H S D 1 7 B 1 3 タンパク質をコードする核酸を含み、前記発現ベクターが、前記対象の肝細胞内で前記 H S D 1 7 B 1 3 タンパク質をコードする前記核酸を発現する、方法。

(項目 5 9)

H S D 1 7 B 1 3 r s 7 2 6 1 3 5 6 7 バリエーションの保因者ではなく、慢性肝疾患を有するかまたはそれを発症しやすい対象を処置する方法であって、前記対象にメッセンジャー RNA を導入するステップを含み、前記メッセンジャー RNA が、配列番号 1 5 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一である H S D 1 7 B 1 3 タンパク質をコードし、前記 mRNA が、前記対象の肝細胞内で前記 H S D 1 7 B 1 3 タンパク質を発現する、方法。

(項目 6 0)

H S D 1 7 B 1 3 r s 7 2 6 1 3 5 6 7 バリエーションの保因者ではなく、慢性肝疾患を有するかまたはそれを発症しやすい対象を処置する方法であって、前記対象の肝臓に H S D 1 7 B 1 3 タンパク質またはその断片を導入するステップを含み、前記 H S D 1 7 B 1 3 タンパク質またはその断片が、配列番号 1 5 (H S D 1 7 B 1 3 アイソフォーム D) と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 同一である、方法。