

【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3部門第2区分

【発行日】令和2年7月27日(2020.7.27)

【公開番号】特開2020-11959(P2020-11959A)

【公開日】令和2年1月23日(2020.1.23)

【年通号数】公開・登録公報2020-003

【出願番号】特願2019-148422(P2019-148422)

【国際特許分類】

C 0 7 K	14/00	(2006.01)
C 1 2 N	9/22	(2006.01)
C 1 2 P	19/34	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/46	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/18	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	14/00	Z N A
C 1 2 N	9/22	
C 1 2 P	19/34	A
C 0 7 K	19/00	
A 6 1 K	38/46	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	35/00	
C 1 2 N	15/09	1 0 0

【手続補正書】

【提出日】令和2年6月5日(2020.6.5)

【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】

以下を含む、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)であって、

(a) ヌクレアーゼ切断ドメイン；

(b) ヌクレアーゼ切断ドメインにコンジュゲートしたC末端ドメイン；

(c) C末端ドメインにコンジュゲートしたTALE反復アレイ；および

(d) TALE反復アレイにコンジュゲートしたN末端ドメイン、

ここで、

(i) N末端ドメインの正味電荷が、生理的pHでの標準N末端ドメイン(配列番号1)の正味電荷より少ない；および/または

(ii) C末端ドメインの正味電荷が、生理的pHでの標準C末端ドメイン(配列番号2)の正味電荷より少ない、

前記TALEN。

【請求項2】

以下を含む、転写活性化因子様エフェクタースクレアーゼ (T A L E N) であって、
 (a) スクレアーゼ切断ドメイン；
 (b) スクレアーゼ切断ドメインにコンジュゲートした C 末端ドメイン；
 (c) C 末端ドメインにコンジュゲートした T A L E 反復アレイ；および
 (d) T A L E 反復アレイにコンジュゲートした N 末端ドメイン。
 ここで、

(i) 標的核酸分子に対する N 末端ドメインの結合エネルギーが、標準 N 末端ドメイン (配列番号 1) の結合エネルギーより少ない；および / または
 (i i) 標的核酸分子に対する C 末端ドメインの結合エネルギーが、標準 C 末端ドメイン (配列番号 2 2) の結合エネルギーより少ない、

前記 T A L E N 。

【請求項 3】

C 末端ドメインの正味電荷が、+ 6 以下、+ 5 以下、+ 4 以下、+ 3 以下、+ 2 以下、+ 1 以下、+ 0 以下、- 1 以下、- 2 以下、- 3 以下、- 4 以下、または - 5 以下である、請求項 1 または 2 に記載の T A L E N 。

【請求項 4】

N 末端ドメインが、標準 N 末端ドメイン配列の少なくとも 1 つのカチオン性アミノ酸残基が生理的 pH で電荷を示さないかまたは負電荷を示すアミノ酸残基で置き換えられている点で標準 N 末端ドメイン配列と異なっているアミノ酸配列を含む、あるいは、
 C 末端ドメインが、標準 C 末端ドメイン配列の少なくとも 1 つのカチオン性アミノ酸残基が生理的 pH で電荷を示さないかまたは負電荷を示すアミノ酸残基で置き換えられている点で標準 C 末端ドメイン配列と異なっているアミノ酸配列を含む、
 請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の T A L E N 。

【請求項 5】

N 末端ドメインおよび / または C 末端ドメインにおいて、少なくとも 1 個の、少なくとも 2 個の、少なくとも 3 個の、少なくとも 4 個の、少なくとも 5 個の、少なくとも 6 個の、少なくとも 7 個の、少なくとも 8 個の、少なくとも 9 個の、少なくとも 10 個の、少なくとも 11 個の、少なくとも 12 個の、少なくとも 13 個の、少なくとも 14 個の、または少なくとも 15 個のカチオン性アミノ酸が、生理的 pH で電荷を示さないかまたは負電荷を示すアミノ酸残基で置き換えられている、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の T A L E N 。

【請求項 6】

少なくとも 1 つのカチオン性アミノ酸残基が、アルギニン (R) またはリジン (K) であり、任意に、生理的 pH で電荷を示さないかまたは負電荷を示すアミノ酸残基が、グルタミン (Q) またはグリシン (G) である、請求項 4 または 5 に記載の T A L E N 。

【請求項 7】

少なくとも 1 つのリジンまたはアルギニン残基が、グルタミン残基で置き換えられている、請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の T A L E N 。

【請求項 8】

C 末端ドメインが、1 または 2 以上の次のアミノ酸置換 : K 7 7 7 Q, K 7 7 8 Q, K 7 8 8 Q, R 7 8 9 Q, R 7 9 2 Q, R 7 9 3 Q, R 8 0 1 Q を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の T A L E N 。

【請求項 9】

C 末端ドメインが、Q 3 バリアント配列 (K 7 8 8 Q, R 7 9 2 Q, K 8 0 1 Q) または Q 7 バリアント配列 (K 7 7 7 Q, K 7 7 8 Q, K 7 8 8 Q, R 7 8 9 Q, R 7 9 2 Q, R 7 9 3 Q, R 8 0 1 Q) を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の T A L E N 。

【請求項 10】

N 末端ドメインが、標準 N 末端ドメインのトランケート型である、または、C 末端ドメインが、標準 C 末端ドメインのトランケート型である、

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の T A L E N 。

【請求項 11】

トランケートされたドメインが、標準ドメインの残基の 90 % 未満、80 % 未満、70 % 未満、60 % 未満、50 % 未満、40 % 未満、30 % 未満、または 25 % 未満を含む、請求項 10 に記載の TALEN。

【請求項 12】

トランケートされた C 末端ドメインが、60 個未満、50 個未満、40 個未満、30 個未満、29 個未満、28 個未満、27 個未満、26 個未満、25 個未満、24 個未満、23 個未満、22 個未満、21 個未満、または 20 個未満のアミノ酸残基を含む、請求項 10 に記載の TALEN。

【請求項 13】

ヌクレアーゼ切断ドメインが、FokI ヌクレアーゼドメインであり、任意に、FokI ヌクレアーゼドメインが配列番号 26 ~ 30 で提供される配列を含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の TALEN。

【請求項 14】

TALEN が単量体であり、任意に、TALEN 单量体が、別の TALEN 单量体と二量体化して TALEN 二量体を形成することができ、任意に、TALEN 二量体がヘテロ二量体である、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の TALEN。

【請求項 15】

TALEN が、疾患または障害に関連することが知られている遺伝子内の標的配列に結合し、任意に、疾患が HIV / AIDS または増殖性疾患である、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の TALEN。

【請求項 16】

TALEN が、二量体化の際に標的配列を切断する、請求項 15 に記載の TALEN。

【請求項 17】

TALEN が、CCR5 標的配列、ATM 標的配列、または VEGFA 標的配列に結合する、請求項 9 ~ 16 のいずれか一項に記載の TALEN。

【請求項 18】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の TALEN と、該 TALEN と共にヘテロ二量体を形成することができる異なる TALEN とを含む組成物であって、ここで該二量体がヌクレアーゼ活性を示す、前記組成物。

【請求項 19】

請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の TALEN または請求項 18 に記載の組成物、および薬学的に許容し得る賦形剤を含む、医薬組成物であって、任意に、TALEN が疾患または障害と関連することが知られている遺伝子内の標的配列に結合し、および前記組成物が疾患または障害に関連する症状を軽減するための有効量の TALEN を含む、前記医薬組成物。

【請求項 20】

医薬としての使用のための、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の TALEN、請求項 18 に記載の組成物、または請求項 19 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

核酸分子中の標的配列を切断する *in vitro* での方法であって、標的配列を含む核酸分子を、TALEN が標的配列に結合して標的配列を切断するのに好適な条件下で、標的配列に結合する TALEN と接触させることを含み、ここで TALEN が請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の TALEN であるか、またはここで TALEN が請求項 18 に記載の組成物中もしくは請求項 19 に記載の医薬組成物中に含まれており、任意に、標的配列が細胞に含まれている、前記方法。

【請求項 22】

操作された TALEN を製造する方法であって、方法が、a) 標準 N 末端 TALEN ドメインおよび / または標準 C 末端 TALEN ドメインをトランケートして、正に荷電した断片を除去すること；または b) N 末端 TALEN ドメインおよび / または C 末端 TAL

E N ドメインの少なくとも 1 つのアミノ酸を、生理的 pH で電荷を有さないかまたは負電荷を有するアミノ酸で置き換えること；したがって、減少した正味電荷の N 末端ドメインおよび / または C 末端ドメインを有する、操作された T A L E N を生成すること、を含む、前記方法。

【請求項 2 3】

置き換えられる少なくとも 1 つのアミノ酸が、カチオン性アミノ酸または生理的 pH で正電荷を有するアミノ酸を含み、任意に、少なくとも 1 つのアミノ酸を置き換えるアミノ酸が、カチオン性アミノ酸または中性のアミノ酸である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

トランケートされた N 末端 T A L E N ドメインおよび / またはトランケートされた C 末端 T A L E N ドメインが、それぞれの標準ドメインの残基の 9 0 % 未満、 8 0 % 未満、 7 0 % 未満、 6 0 % 未満、 5 0 % 未満、 4 0 % 未満、 3 0 % 未満、または 2 5 % 未満を含む、請求項 2 2 または 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

トランケートされた C 末端ドメインが、6 0 個未満、5 0 個未満、4 0 個未満、3 0 個未満、2 9 個未満、2 8 個未満、2 7 個未満、2 6 個未満、2 5 個未満、2 4 個未満、2 3 個未満、2 2 個未満、2 1 個未満、または 2 0 個未満のアミノ酸残基を含む、請求項 2 2 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

標準 N 末端 T A L E N ドメインおよび / または標準 C 末端 T A L E N ドメインの少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 1 0 個、少なくとも 1 1 個、少なくとも 1 2 個、少なくとも 1 3 個、少なくとも 1 4 個、または少なくとも 1 5 個のアミノ酸を、生理的 pH で電荷を有さないかまたは負電荷を有するアミノ酸で置き換えることを含む、請求項 2 2 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

置き換えられるアミノ酸が、アルギニン (R) またはリジン (K) であり、任意に、生理的 pH で電荷を有さないかまたは負電荷を有するアミノ酸が、グルタミン (Q) またはグリシン (G) である、請求項 2 2 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

少なくとも 1 つのリジンまたはアルギニン残基を、グルタミン残基で置き換えることを含む、請求項 2 2 ~ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の T A L E N 、請求項 1 8 に記載の組成物、または請求項 1 9 に記載の医薬組成物を含む、キットであって、任意に、 T A L E N を賦形剤と接触させて、核酸を T A L E N と接触させるのに好適な組成物を生成するための、賦形剤および指示書を含む、前記キット。