

【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 (T A L E N) 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 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) N 末端ドメインの正味電荷が、生理的 p H 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

(i i) C 末端ドメインの正味電荷が、生理的 p H 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 T A L E N。

【請求項 2】

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 (T A L E N) 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 バリエーション配列 (K 7 8 8 Q、R 7 9 2 Q、K 8 0 1 Q) または Q 7 バリエーション配列 (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末端ドメインのランケット型である、または、C末端ドメインが、標準C末端ドメインのランケット型である、
請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の T A L E N。

【請求項 1 1】

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 1 0 に記載の T A L E N。

【請求項 1 2】

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 1 0 に記載の T A L E N。

【請求項 1 3】

ヌクレアーゼ切断ドメインが、F o k I ヌクレアーゼドメインであり、任意に、F o k I 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 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の T A L E N。

【請求項 1 4】

T A L E N が単量体であり、任意に、T A L E N 単量体が、別の T A L E N 単量体と二量体化して T A L E N 二量体を形成することができ、任意に、T A L E N 二量体がヘテロ二量体である、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の T A L E N。

【請求項 1 5】

T A L E N 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 H I V / A I D S または増殖性疾患である、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の T A L E N。

【請求項 1 6】

T A L E N が、二量体化の際に標的配列を切断する、請求項 1 5 に記載の T A L E N。

【請求項 1 7】

T A L E N が、C C R 5 標的配列、A T M 標的配列、または V E G F A 標的配列に結合する、請求項 9 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の T A L E N。

【請求項 1 8】

請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の T A L E N と、該 T A L E N と共にヘテロ二量体を形成することができる異なる T A L E N 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 1 9】

請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の T A L E N または請求項 1 8 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、T A L E N 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 T A L E N を含む、前記医薬組成物。

【請求項 2 0】

医薬としての使用のための、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。

【請求項 2 1】

核酸分子中の標的配列を切断する in vitro の方法であって、標的配列を含む核酸分子を、T A L E N 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 T A L E N と接触させることを含み、ここで T A L E N が請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の T A L E N であるか、またはここで T A L E N が請求項 1 8 に記載の組成物中もしくは請求項 1 9 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 2 2】

操作された T A L E N を製造する方法であって、方法が、a) 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 T A L E N ドメインおよび / または C 末端 T A L

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23】

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22に記載の方法。

【請求項24】

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22または23に記載の方法。

【請求項25】

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22～24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項26】

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10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、または少なくとも15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22～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】

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22～26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項28】

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22～27のいずれか一項に記載の方法。

【請求項29】

請求項1～17のいずれか一項に記載のT A L E N、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。