

【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 6 月 17 日(2025.6.17)

【公開番号】特開 2024-153629(P2024-153629A)
【公開日】令和 6 年 10 月 29 日(2024.10.29)
【年通号数】公開公報(特許)2024-202
【出願番号】特願 2024-104063(P2024-104063)
【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)

10

C 1 2 N 15/11(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/11 Z Z N A

C 1 2 N 15/11 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 7 年 6 月 9 日(2025.6.9)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

20

【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】

第 1 の gRNA 分子および第 2 の gRNA 分子をコードする単離ポリヌクレオチドであ
って、前記第 1 の gRNA 分子および前記第 2 の gRNA 分子は、

(i) 配列番号 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを
含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 2 のヌクレオチド配列によりコードされるター
ゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

30

(i i) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメイ
ンを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされる
ターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(i i i) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメイ
ンを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードさ
れるターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(i v) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメイ
ンを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードさ
れるターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(v) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメイ
ンを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされる
ターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

40

(v i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメイ
ンを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードさ
れるターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(v i i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメイ
ンを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードさ
れるターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(v i i i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングド
メインを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードさ

50

れるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i x) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(x) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(x i) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；ならびに

(x i i) 配列番号 4 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 4 2 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子

からなる群から選択される、単離ポリヌクレオチド。

【請求項 2】

クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート関連 9 (C a s 9) 分子をさらにコードする、請求項 1 に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 3】

前記 C a s 9 分子は、N N G R R T (配列番号 2 4) または N N G R R V (配列番号 2 5) のいずれかのプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) を認識する、請求項 2 に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 4】

前記第 1 の g R N A 分子、前記第 2 の g R N A 分子および前記 C a s 9 分子は、ヒト D M D 遺伝子のエクソン 5 1 に隣接する第 1 および第 2 のイントロン中で第 1 および第 2 の二本鎖切断を形成するように構成されている、請求項 3 に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 5】

前記第 1 の g R N A 分子、前記第 2 の g R N A 分子および / または前記 C a s 9 分子をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結された組織特異的プロモーターを含む、請求項 2 に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 6】

請求項 2 に記載の単離ポリヌクレオチドを含む細胞。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の単離ポリヌクレオチドを含む、ジストロフィン遺伝子におけるエクソン 5 1 を含むセグメントの欠失用の組成物。

【請求項 8】

ジストロフィン遺伝子におけるエクソン 5 1 を含むセグメントの欠失用の組成物であって、

(a) 第 1 のガイド R N A (g R N A) 分子と、N N G R R T (配列番号 2 4) または N N G R R V (配列番号 2 5) のいずれかのプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) を認識する第 1 の C a s 9 分子とをコードする第 1 の単離ポリヌクレオチド、および

(b) 第 2 の g R N A 分子と、N N G R R T (配列番号 2 4) または N N G R R V (配列番号 2 5) のいずれかのプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) を認識する第 2 の C a s 9 分子とをコードする第 2 の単離ポリヌクレオチドを含み、

前記第 1 の g R N A 分子、前記第 2 の g R N A 分子、前記第 1 の C a s 9 分子、および前記第 2 の C a s 9 分子は、ヒト D M D 遺伝子のエクソン 5 1 に隣接する第 1 のイントロン中に第 1 の二本鎖切断を、かつ第 2 のイントロン中に第 2 の二本鎖切断を形成するように構成され、それにより、前記ジストロフィン遺伝子におけるエクソン 5 1 を含むセグメントが欠失され、かつ

前記第 1 の g R N A 分子および前記第 2 の g R N A 分子は、

るターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v i i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v i i i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i x) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(x) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；ならびに

(x i) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子
からなる群から選択される、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 1 0】

請求項 1 に記載の単離ポリヌクレオチドを含む、細胞中で変異ジストロフィン遺伝子を修正するための組成物。

【請求項 1 1】

細胞中で変異ジストロフィン遺伝子を修正するための組成物であって、

(a) 第 1 のガイド R N A (g R N A) 分子と、N N G R R T (配列番号 2 4) または N N G R R V (配列番号 2 5) のいずれかのプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) を認識する第 1 の C a s 9 分子とをコードする第 1 の単離ポリヌクレオチド、および

(b) 第 2 の g R N A 分子と、N N G R R T (配列番号 2 4) または N N G R R V (配列番号 2 5) のいずれかのプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) を認識する第 2 の C a s 9 分子とをコードする第 2 の単離ポリヌクレオチド
を含み、

前記第 1 の g R N A 分子、前記第 2 の g R N A 分子、前記第 1 の C a s 9 分子、および前記第 2 の C a s 9 分子は、ヒト D M D 遺伝子のエクソン 5 1 に隣接する第 1 のイントロン中に第 1 の二本鎖切断を、かつ第 2 のイントロン中に第 2 の二本鎖切断を形成するように構成され、それにより、前記ジストロフィン遺伝子においてエクソン 5 1 を含むセグメントが欠失され、かつ

前記第 1 の g R N A 分子および前記第 2 の g R N A 分子は、

(i) 配列番号 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 2 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i i) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i i i) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

10

20

30

40

50

れるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v i i i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i x) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(x) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；ならびに

(x i) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子

からなる群から選択される、請求項 1 1 に記載の組成物。

10

【請求項 1 3】

請求項 1 に記載の単離ポリヌクレオチドを含む、変異ジストロフィン遺伝子を有する、必要とする対象を処置するための組成物。

【請求項 1 4】

変異ジストロフィン遺伝子を有する、必要とする対象を処置するための組成物であって

20

(a) 第 1 のガイド R N A (g R N A) 分子と、N N G R R T (配列番号 2 4) または N N G R R V (配列番号 2 5) のいずれかのプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) を認識する第 1 の C a s 9 分子とをコードする第 1 の単離ポリヌクレオチド、および

(b) 第 2 の g R N A 分子と、N N G R R T (配列番号 2 4) または N N G R R V (配列番号 2 5) のいずれかのプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) を認識する第 2 の C a s 9 分子とをコードする第 2 の単離ポリヌクレオチドを含み、

前記第 1 の g R N A 分子、前記第 2 の g R N A 分子、前記第 1 の C a s 9 分子、および前記第 2 の C a s 9 分子は、ヒトジストロフィン遺伝子のエクソン 5 1 に隣接する第 1 のイントロン中に第 1 の二本鎖切断を、かつ第 2 のイントロン中に第 2 の二本鎖切断を形成するように構成され、それにより、ジストロフィン遺伝子においてエクソン 5 1 を含むセグメントが欠失され、かつ

30

前記第 1 の g R N A 分子および前記第 2 の g R N A 分子は、

(i) 配列番号 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 2 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i i) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i i i) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

40

(i v) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v) 配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v i) 配列番号 1 4 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 9 のヌクレオチド配列によりコードされ

50

(x) 配列番号 14 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメイン

50

を含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 5 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；ならびに

(x i) 配列番号 1 1 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によりコードされるターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子
からなる群から選択される、請求項 1 4 に記載の組成物。

10

20

30

40

50