

【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】平成30年11月15日(2018.11.15)

【公表番号】特表2017-532035(P2017-532035A)

【公表日】平成29年11月2日(2017.11.2)

【年通号数】公開・登録公報2017-042

【出願番号】特願2017-518840(P2017-518840)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 P 25/04 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

A 6 1 K 35/763 (2015.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 P 25/04

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 35/761

A 6 1 K 35/763

A 6 1 K 35/76

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月4日(2018.10.4)

【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】

ヒトコロニー刺激因子1(hCSF1)遺伝子中のヌクレオチド配列に結合するエンドヌクレアーゼをコードする組換え核酸に作動可能に連結された三叉神経節(TGG)または後根神経節(DRG)プロモーターを含む、ポリヌクレオチド。

【請求項2】

前記ヌクレオチド配列への前記エンドヌクレアーゼの結合が、後根神経節細胞におけるhCSF1遺伝子の発現を低下、低減、または排除する、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項3】

前記TGGまたはDRGプロモーターが、hSYN1プロモーター、TRPV1プロモーター、Nav1.7プロモーター、Nav1.8プロモーター、Nav1.9プロモーター、CAGプロモーター、及びアスピリンプロモーターから成る群から選択される、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項4】

前記hCSF1遺伝子中の前記ヌクレオチド配列が、hCSF1遺伝子の調節領域、hCSF1のプロモーター、hCSF1の転写開始点、hCSF1のエクソン配列、hCS

F1のイントロン配列、及びhCSF1の5'または3'非翻訳領域から成る群から選択される、請求項1~3のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項5】

エンドヌクレアーゼが、前記hCSF1遺伝子の前記ヌクレオチド配列に結合するように操作されたエンドヌクレアーゼである、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】

前記操作されたエンドヌクレアーゼが、ホーミングエンドヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、II型のCRISPR(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)関連(Cas9)ヌクレアーゼ、またはメガTALヌクレアーゼである、請求項5に記載のポリヌクレオチド。

【請求項7】

前記ホーミングエンドヌクレアーゼが、LAGLIDADGエンドヌクレアーゼ、GIY-YIGエンドヌクレアーゼ、His-Cysボックスエンドヌクレアーゼ、またはHNHエンドヌクレアーゼである、請求項6に記載のポリヌクレオチド。

【請求項8】

前記ホーミングエンドヌクレアーゼが、I-Onu I、I-HjeMI、I-CpaMI、I-Sce I、I-Chu I、I-Dmo I、I-Cre I、I-Csm I、PI-Sce I、PI-T11 I、PI-Mtu I、I-Ceu I、I-Sce II、I-Sce III、HO、P1-Civ I、PI-Ctr I、PI-Aae I、PI-Bsu I、PI-Dha I、PI-Dra I、PI-May I、PI-Mch I、PI-Mfu I、PI-Mfl I、PI-Mga I、PI-Mgo I、PI-Min I、PI-Mka I、PI-Mle I、PI-Mma I、PI-Msh I、PI-Msm I、PI-Mth I、PI-Mtu I、PI-Mxe I、PI-Npu I、PI-Pfu I、PI-Rma I、PI-Spb I、PI-Ssp I、PI-Fac I、PI-Mja I、PI-Pho I、PI-Tag I、PI-Thy I、PI-Tko I、またはPI-Tsp Iである、請求項6に記載のポリヌクレオチド。

【請求項9】

前記Cas9ヌクレアーゼが、ストレプトコッカス・ピオゲネス(Streptococcus pyogenes)、ストレプトコッカス・サーモフィルス(Streptococcus thermophilus)、トレボネーマ・デンティコーラ(Treponema denticola)、またはナイセリア・メニンギティジス(Neisseria meningitidis)由来である、請求項6に記載のポリヌクレオチド。

【請求項10】

前記Cas9ヌクレアーゼが、HNHもしくはRuvC様エンドヌクレアーゼドメインまたは前記HNH及び前記RuvC様エンドヌクレアーゼドメイン中に1つまたは複数の変異を含む、請求項9に記載のポリヌクレオチド。

【請求項11】

前記変異型Cas9ヌクレアーゼがニックアーゼである、請求項10に記載のポリヌクレオチド。

【請求項12】

crRNA及びtracrRNAにまたはシングルガイドRNA(sgRNA)に作動可能に連結されたRNAポリメラーゼIIIプロモーターをさらに含む、前記請求項のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項13】

前記RNAポリメラーゼIIIプロモーターが、ヒトもしくはマウスのU6 snRNAプロモーター、ヒトもしくはマウスH1 RNAプロモーター、またはヒトtRNA-

v a l プロモーターである、請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 4】

1 対のオフセット c r R N A または s g R N A を含む、請求項 1 1 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 5】

前記一对の c r R N A または s g R N A が互いに約 2 5 ~ 約 1 0 0 ヌクレオチドだけオフセットされる、請求項 1 2 ~ 1 4 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6】

前記エンドヌクレアーゼが T R E X 2 ドメインを含む、前記請求項のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 7】

h C S F 1 mRNA に結合する阻害性 R N A に作動可能に連結された、T G G または D R G で作動可能なプロモーターを含む、ポリヌクレオチド。

【請求項 1 8】

前記 T G G または D R G プロモーターが誘導性プロモーターである、請求項 1 7 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 9】

前記誘導性プロモーターが、テトラサイクリン誘導性プロモーター、L O X - s t o p - L O X ヒトもしくはマウス U 6 s n R N A プロモーター、L O X - s t o p - L O X ヒトもしくはマウス H 1 R N A プロモーター、または L O X - s t o p - L O X ヒト t R N A - v a l プロモーターを含む、請求項 1 8 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 0】

前記 T G G または D R G プロモーターが、h S Y N 1 プロモーター、T R P V 1 プロモーター、N a v 1 . 7 プロモーター、N a v 1 . 8 プロモーター、N a v 1 . 9 プロモーター、C A G プロモーター、及びアドビリンプロモーターから成る群から選択される、請求項 1 7 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 1】

C r e リコンビナーゼに作動可能に連結された T G G または D R G プロモーター及び前記阻害性 R N A に作動可能に連結された L O X - s t o p - L O X 誘導性 R N A ポリメラーゼ I I I プロモーターを含む、請求項 1 7 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 2】

前記阻害性 R N A が、s i R N A、m i R N A、s h R N A、リボザイム、または p i R N A である、請求項 1 7 ~ 2 1 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 2 4】

プラスミド系ベクターまたはウイルスベクターである、請求項 2 3 に記載のベクター。

【請求項 2 5】

エピソームまたは非組込み型である、請求項 2 3 または請求項 2 4 に記載のベクター。

【請求項 2 6】

前記ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス (A A V) ベクター、または単純ヘルペスウイルス (H S V) ベクターである、請求項 2 5 に記載のベクター。

【請求項 2 7】

前記レトロウイルスベクターがレンチウイルスベクターまたはガンマレトロウイルスベクターである、請求項 2 6 に記載のベクター。

【請求項 2 8】

前記 A A V が、A A V 9、A A V 6、A A V r h 1 0、A A V 7 M 8、及び A A V 2 4 Y F から成る群から選択される血清型を含む、請求項 2 6 に記載のベクター。

【請求項 29】

前記 H S V ベクターが、J N I 5、J N I 7、及び J N I 8 から成る群から選択される血清型を含む、請求項 25 に記載のベクター。

【請求項 30】

C a s 9 ヌクレアーゼをコードする核酸に作動可能に連結された h S Y N 1 プロモーターを含むポリヌクレオチド、及び h C S F 1 遺伝子を標的とする s g R N A に作動可能に連結された U 6 R N A ポリメラーゼ I I I プロモーターを含むポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 31】

請求項 23 ~ 30 のいずれか一項に記載のベクターを含む、神経障害性疼痛を治療するための医薬。

【請求項 32】

請求項 23 ~ 30 のいずれか一項に記載のベクターを含む、前記対象に鎮痛をもたらすための医薬。

【請求項 33】

請求項 23 ~ 30 のいずれか一項に記載のベクターを含む、前記対象の T G G または D G G における h C S F 1 発現を低下させるための医薬。

【請求項 34】

請求項 23 ~ 30 のいずれか 1 項に記載のベクターを含む、神経損傷誘導性の機械的過敏症及びミクログリア活性化を低減するための医薬。

【請求項 35】

髄腔内のボラス注射または注入、神経節内注射、神経内注射、皮下注射、または脳室内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、請求項 31 ~ 34 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 36】

D R G 導入のために、脊柱の複数のレベルでの髄腔内のボラス注射または注入によって、前記ベクターが前記対象に投与される、請求項 35 に記載の医薬。

【請求項 37】

単一の後根神経節、複数の後根神経節、または三叉神経節中への直接的な神経節内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、請求項 35 に記載の医薬。

【請求項 38】

神経束（例えば、坐骨神経、三叉神経）中への神経内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、請求項 35 に記載の医薬。

【請求項 39】

末梢神経の末端（真皮下または内臓壁）での皮下注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、請求項 35 に記載の医薬。

【請求項 40】

（三叉神経節導入のために）脳室内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、請求項 35 に記載の医薬。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0047

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0047】

特徴 41 . 上述の神経障害性疼痛が中枢神経障害性疼痛であり、上述のベクターが実質内投与、大槽内投与、頭蓋内投与、髄腔内投与または定位的脳注射によって投与される、特徴 31 ~ 15 に記載の方法。

[本発明1001]

ヒトコロニー刺激因子1 (h C S F 1) 遺伝子中のヌクレオチド配列に結合するエンドヌ

クラーゼをコードする組換え核酸に作動可能に連結された三叉神経節 (T G G) または後根神経節 (D R G) プロモーターを含む、ポリヌクレオチド。

[本発明1002]

前記ヌクレオチド配列への前記エンドヌクレアーゼの結合が、後根神経節細胞における h C S F 遺伝子の発現を低下、低減、または排除する、本発明1001のポリヌクレオチド。

[本発明1003]

前記 T G G または D R G プロモーターが、 h S Y N 1 プロモーター、 T R P V 1 プロモーター、 N a v 1 . 7 プロモーター、 N a v 1 . 8 プロモーター、 N a v 1 . 9 プロモーター、 C A G プロモーター、及びアドピリンプロモーターから成る群から選択される、本発明1001のポリヌクレオチド。

[本発明1004]

前記 h C S F 1 遺伝子中の前記ヌクレオチド配列が、 h C S F 1 遺伝子の調節領域、 h C S F 1 のプロモーター、 h C S F 1 の転写開始点、 h C S F 1 のエクソン配列、 h C S F 1 のイントロン配列、及び h C S F 1 の 5 ' または 3 ' 非翻訳領域から成る群から選択される、本発明1001 ~ 1003 のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1005]

エンドヌクレアーゼが、前記 h C S F 1 遺伝子の前記ヌクレオチド配列に結合するように操作されたエンドヌクレアーゼである、本発明1001のポリヌクレオチド。

[本発明1006]

前記操作されたエンドヌクレアーゼが、ホーミングエンドヌクレアーゼ、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)、ジンクフィンガーヌクレアーゼ (Z F N)、I I 型の C R I S P R (c l u s t e r e d r e g u l a r l y i n t e r s p a c e d s h o r t p a l i n d r o m i c r e p e a t s) 関連 (C a s 9) ヌクレアーゼ、またはメガ T A L ヌクレアーゼである、本発明1005のポリヌクレオチド。

[本発明1007]

前記ホーミングエンドヌクレアーゼが、 L A G L I D A D G エンドヌクレアーゼ、 G I Y - Y I G エンドヌクレアーゼ、 H i s - C y s ボックスエンドヌクレアーゼ、または H N H エンドヌクレアーゼである、本発明1006のポリヌクレオチド。

[本発明1008]

前記ホーミングエンドヌクレアーゼが、 I - O n u I、I H j e M I、I - C p a M I、I - S c e I、I - C h u I、I - D m o I、I - C r e I、I - C s m I、P I - S c e I、P I - T 11 I、P I - M t u I、I - C e u I、I - S c e I I、I - S c e I I I、H O、P 1 - C i v I、P I - C t r I、P I - A a e I、P I - B s u I、P I - D h a I、P I - D r a I、P I - M a y I、P I - M c h I、P I - M f u I、P I - M f l I、P I - M g a I、P I - M g o I、P I - M i n I、P I - M k a I、P I - M l e I、P I - M m a I、P I - M s h I、P I - M s m I、P I - M t h I、P I - M t u I、P I - M x e I、P I - N p u I、P I - P f u I、P I - R m a I、P I - S p b I、P I - S s p I、P I - F a c I、P I - M j a I、P I - P h o I、P I - T a g I、P I - T h y I、P I - T k o I、または P I - T s p I である、本発明1006のポリヌクレオチド。

[本発明1009]

前記 C a s 9 ヌクレアーゼが、ストレプトコッカス・ピオゲネス (S t r e p t o c o c c u s p y o g e n e s)、ストレプトコッカス・サーモフィルス (S t r e p t o c o c c u s t h e r m o p h i l u s)、トレボネーマ・デンティコーラ (T r e p o n e m a d e n t i c o l a)、またはナイセリア・メニンギティディス (N e i s s e r i a m e n i n g i t i d i s) 由来である、本発明1006のポリヌクレオチド。

[本発明1010]

前記 C a s 9 ヌクレアーゼが、H N H もしくは R u v C 様エンドヌクレアーゼドメインまたは前記 H N H 及び前記 R u v C 様エンドヌクレアーゼドメイン中に1つまたは複数の

変異を含む、本発明1009のポリヌクレオチド。

[本発明1011]

前記変異型 Cas9ヌクレアーゼがニッカーゼである、本発明1010のポリヌクレオチド

[本発明1012]

crRNA及びtracrRNAにまたはシングルガイドRNA (sgRNA) に作動可能に連結されたRNAポリメラーゼIIIプロモーターをさらに含む、前記本発明のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1013]

前記RNAポリメラーゼIIIプロモーターが、ヒトもしくはマウスのU6 snRNAプロモーター、ヒトもしくはマウスH1 RNAプロモーター、またはヒトtRNA-valプロモーターである、本発明1012のポリヌクレオチド。

[本発明1014]

1対のオフセットcrRNAまたはsgRNAを含む、本発明1011のポリヌクレオチド

[本発明1015]

前記一对のcrRNAまたはsgRNAが互いに約25~約100ヌクレオチドだけオフセットされる、本発明1012~1014のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1016]

前記エンドヌクレアーゼがTREX2ドメインを含む、前記本発明のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1017]

hCSF1 mRNAに結合する阻害性RNAに作動可能に連結された、TGGまたはDRGで作動可能なプロモーターを含む、ポリヌクレオチド。

[本発明1018]

前記TGGまたはDRGプロモーターが誘導性プロモーターである、本発明1017のポリヌクレオチド。

[本発明1019]

前記誘導性プロモーターが、テトラサイクリン誘導性プロモーター、LOX-stop-LOXヒトもしくはマウスU6 snRNAプロモーター、LOX-stop-LOXヒトもしくはマウスH1 RNAプロモーター、またはLOX-stop-LOXヒトtRNA-valプロモーターを含む、本発明1018のポリヌクレオチド。

[本発明1020]

前記TGGまたはDRGプロモーターが、hSYN1プロモーター、TRPV1プロモーター、Nav1.7プロモーター、Nav1.8プロモーター、Nav1.9プロモーター、CAGプロモーター、及びアドビリンプロモーターから成る群から選択される、本発明1017のポリヌクレオチド。

[本発明1021]

Creリコンビナーゼに作動可能に連結されたTGGまたはDRGプロモーター及び前記阻害性RNAに作動可能に連結されたLOX-stop-LOX誘導性RNAポリメラーゼIIIプロモーターを含む、本発明1017のポリヌクレオチド。

[本発明1022]

前記阻害性RNAが、siRNA、miRNA、shRNA、リボザイム、またはpiRNAである、本発明1017~1021のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1023]

本発明1001~1022のいずれかのポリヌクレオチドを含む、ベクター。

[本発明1024]

プラスミド系ベクターまたはウイルスベクターである、本発明1023のベクター。

[本発明1025]

エピソームまたは非組込み型である、本発明1023または本発明1024のベクター。

[本発明1026]

前記ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター、または単純ヘルペスウイルス(HSV)ベクターである、本発明1025のベクター。

[本発明1027]

前記レトロウイルスベクターがレンチウイルスベクターまたはガンマレトロウイルスベクターである、本発明1026のベクター。

[本発明1028]

前記AAVが、AAV9、AAV6、AAVrh10、AAV7M8、及びAAV24YFから成る群から選択される血清型を含む、本発明1026のベクター。

[本発明1029]

前記HSVベクターが、JNI5、JNI7、及びJNI8から成る群から選択される血清型を含む、本発明1025のベクター。

[本発明1030]

Cas9ヌクレアーゼをコードする核酸に作動可能に連結されたhSYN1プロモーターを含むポリヌクレオチド、及びhCSF1遺伝子を標的とするsgRNAに作動可能に連結されたU6RNAポリメラーゼIIIプロモーターを含むポリヌクレオチドを含む、ベクター。

[本発明1031]

本発明1023~1030のいずれかのベクターを、それを必要とする対象に投与する段階を含む、神経障害性疼痛を治療する方法。

[本発明1032]

本発明1023~1030のいずれかのベクターを対象に投与する段階を含む、前記対象に鎮痛をもたらす方法。

[本発明1033]

本発明1023~1030のいずれかのベクターを対象に投与する段階を含む、前記対象のTGGまたはDGGにおけるhCSF1発現を低下させる方法。

[本発明1034]

本発明1023~1030のいずれかのベクターを対象に投与する段階を含む、神経損傷誘導性の機械的過敏症及びミクログリア活性化を低減する方法。

[本発明1035]

髄腔内のボラス注射または注入、神経節内注射、神経内注射、皮下注射、または脳室内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、本発明1031~1034のいずれかの方法。

[本発明1036]

DRG導入のために、脊柱の複数のレベルでの髄腔内のボラス注射または注入によって、前記ベクターが前記対象に投与される、本発明1035の方法。

[本発明1037]

単一の後根神経節、複数の後根神経節、または三叉神経節中への直接的な神経節内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、本発明1035の方法。

[本発明1038]

神経束(例えば、坐骨神経、三叉神経)中への神経内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、本発明1035の方法。

[本発明1039]

末梢神経の末端(真皮下または内臓壁)での皮下注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、本発明1035の方法。

[本発明1040]

(三叉神経節導入のために)脳室内注射によって、前記ベクターが前記対象に投与される、本発明1035の方法。