

【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 2 年 9 月 3 日 (2020.9.3)

【公表番号】特表 2019-525759 (P2019-525759A)

【公表日】令和 1 年 9 月 12 日 (2019.9.12)

【年通号数】公開・登録公報 2019-037

【出願番号】特願 2019-503701 (P2019-503701)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/14 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 N 15/55 (2006.01)

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/33 (2006.01)

C 1 2 N 15/54 (2006.01)

C 1 2 N 15/31 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/0789 (2010.01)

C 1 2 N 5/078 (2010.01)

C 1 2 N 15/90 (2006.01)

C 1 2 N 15/83 (2006.01)

C 1 2 N 15/864 (2006.01)

C 1 2 N 15/867 (2006.01)

A 6 1 K 35/28 (2015.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 9/14 Z N A

C 1 2 N 9/16 Z

C 1 2 N 9/16 A

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 15/10 2 0 0 Z

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/33

C 1 2 N 15/54

C 1 2 N 15/31

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10
 C 1 2 N 5/0789
 C 1 2 N 5/078
 C 1 2 N 15/90 1 0 0 Z
 C 1 2 N 15/83 Z
 C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z
 C 1 2 N 15/867 Z
 A 6 1 K 35/28
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 K 38/46
 A 6 1 P 7/06

【手続補正書】

【提出日】令和2年7月21日(2020.7.21)

【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B細胞リンパ腫/白血病 1 1 A (B C L 1 1 A) 遺伝子中の標的部位を切断する I - O n u I ホーミングエンドヌクレアーゼ (H E) バリエーションを含み、配列番号 6 ~ 1 9 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項 2】

前記 I - O n u I H E バリエーションが、配列番号 6 ~ 1 9 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

前記 I - O n u I H E バリエーションが、

(a) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 T、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 A、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E；

(b) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 T、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E；

(c) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 3 0 Q、N 3 2 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 T、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D

、C180S、N184R、I186R、K189N、S190V、K191N、L192A、G193R、Q195R、S201E、T203S、K207R、Y223H、K225Y、K227G、F232R、D236Q、V238R、およびT240E；

(d) 配列番号1～5に示されるI-OnuI LHEアミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換：L26V、R28S、R30Q、N32K、K34N、S35Y、S36A、V37T、S40R、T41I、E42H、G44T、T48I、V68K、A70N、S72T、A76L、S78Q、K80R、T82Y、L138M、T143N、S159P、E178D、C180S、N184R、I186R、K189N、S190V、K191N、L192A、G193R、Q195R、S201E、T203S、K207R、Y223H、K225Y、K227G、F232R、D236Q、V238R、およびT240E；

(e) 配列番号1～5に示されるI-OnuI LHEアミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換：L26V、R28S、R30Q、N32R、K34D、S35Y、S36A、V37T、S40R、T41I、E42R、G44T、T48I、V68K、A70N、S72T、A76L、S78Q、K80R、T82Y、L138M、T143N、S159P、E178D、C180S、N184R、I186R、K189N、S190V、K191N、L192A、G193R、Q195R、S201E、T203S、K207R、Y223H、K225Y、K227G、F232R、D236Q、V238R、およびT240E；

(f) 配列番号1～5に示されるI-OnuI LHEアミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換：L26V、R28G、R30Q、N32R、K34D、S35Y、S36A、V37T、S40R、T41I、E42R、G44T、H50R、V68K、A70N、S72T、A76L、S78Q、K80R、T82Y、L138M、T143N、S159P、E178D、C180S、N184R、I186R、K189N、S190V、K191N、L192A、G193R、Q195R、S201E、T203S、K207R、Y223H、K225Y、K227G、F232R、D236Q、V238R、およびT240E；

(g) 配列番号1～5に示されるI-OnuI LHEアミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換：L26V、R28S、R30H、N32R、K34D、S35Y、S36A、V37T、S40R、T41I、E42H、G44R、V68K、A70N、S72T、A76H、S78Q、K80R、T82Y、L138M、T143N、S159P、E178D、C180S、N184R、I186R、K189N、S190V、K191N、L192A、G193R、Q195R、S201E、T203S、K207R、Y223H、K225Y、K227G、F232R、D236Q、V238R、およびT240E；

(h) 配列番号1～5に示されるI-OnuI LHEアミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換：L26R、R28S、R30Q、N32R、K34D、S35Y、S36A、V37T、S40R、T41I、E42H、G44R、V68K、A70N、S72T、A76L、S78Q、K80R、T82Y、L138M、T143N、S159P、E178D、C180S、N184R、I186R、K189N、S190V、K191N、L192A、G193R、Q195R、S201E、T203S、K207R、Y223H、K225Y、K227G、F232R、D236Q、V238R、およびT240E；

(i) 配列番号1～5に示されるI-OnuI LHEアミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換：L26Y、R28S、R30Q、N32R、K34D、S35Y、S36A、V37T、S40R、T41I、E42H、G44R、D53E、V68R、A70E、S72T、A76L、S78Q、K80R、T82Y、L138M、T143N、S159P、E178D、C180S、N184R、I186R、K189N、S190V、K191N、L192A、G193R、Q195R、S201E、T203S、K207R、Y223H、K225Y、K227G、F232R、D236Q、V238R、お

よび T 2 4 0 E ;

(j) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、D 5 3 E、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E ;

(k) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 G、V 6 8 K、S 7 2 V、A 7 6 R、S 7 8 Q、K 8 0 V、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E ;

(l) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 G、V 6 8 K、A 7 0 Q、S 7 2 M、A 7 6 R、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E ;

(m) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 G、V 6 8 K、A 7 0 L、S 7 2 V、A 7 6 H、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E ; または

(n) 配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列に関して、以下のアミノ酸置換： L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 V、V 6 8 K、A 7 0 S、S 7 2 V、A 7 6 H、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E

を含む、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

前記 I - O n u I H E バリエーションが、配列番号 6 ~ 9 のいずれか 1 つに示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

【請求項 5】

T A L E DNA 結合ドメインをさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

前記 T A L E DNA 結合ドメインが、

(a) 約 9 . 5 の T A L E 反復単位 ~ 約 1 5 . 5 の T A L E 反復単位を含む ;

(b) 前記 B C L 1 1 A 遺伝子中のポリヌクレオチド配列と結合する ; または

(c) 配列番号 2 6 に示されるポリヌクレオチド配列と結合する、

請求項 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

(i) ペプチドリンカーまたはウイルス性自己切断型 2 A ペプチド、および (i i) 末端プロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片をさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

(a) 前記末端プロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片が、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、5' - 3' アルカリエキソヌクレアーゼ、3' - 5' エキソヌクレアーゼ、5' フラップエンドヌクレアーゼ、ヘリカーゼ、鋳型依存性 DNA ポリメラーゼ、または鋳型非依存性 DNA ポリメラーゼ活性を有する ; または

(b) 前記末端プロセシング酵素が、T r e x 2 またはその生物学的に活性な断片を含む、

請求項 9 に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

前記ポリペプチドが、前記ヒト B C L 1 1 A 遺伝子を、配列番号 2 5 または配列番号 2 7 に示されるポリヌクレオチド配列において切断する、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド、m R N A または c D N A。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 12】

(a) 請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド ;

(b) 請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド ;

(c) 請求項 11 に記載のベクター

を含む細胞であって、必要に応じて、前記細胞が造血細胞、造血幹細胞もしくは造血前駆細胞、C D 3 4 + 細胞、または C D 1 3 3 + 細胞である、細胞。

【請求項 13】

(i) 請求項 12 に記載の細胞、または請求項 12 に記載の細胞および生理学的に許容される担体を含む、組成物。

【請求項 14】

異常ヘモグロビン症の少なくとも 1 つの症状またはそれと関連付けられる状態の治療、予防、または改善に使用するための、請求項 13 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記異常ヘモグロビン症が、サラセミアまたは鎌状赤血球症である、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記サラセミアが、- サラセミア、または - サラセミアである、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

対象における - グロビンまたは胎児ヘモグロビン (H b F) の量の増加において使用するための、請求項 13 に記載の組成物。

【請求項 18】

前記対象が異常ヘモグロビン症、またはそれと関連付けられる状態を有する、請求項 1

7 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記異常ヘモグロビン症が、サラセミアまたは鎌状赤血球症である、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

前記サラセミアが、-サラセミアの -サラセミアである、請求項 19 に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0129

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0129】

特定の実施形態において、対象は、E / S、O / S、C / S、+ / S、または S / S からなる群から選択される -グロビン遺伝子型を有する。

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)

ヒト B 細胞リンパ腫 / 白血病 11A (BCL11A) 遺伝子中の標的部位を切断するホーミングエンドヌクレアーゼ (HE) バリエントを含む、ポリペプチド。

(項目 2)

前記 HE バリエントが、LAGLIDADG ホーミングエンドヌクレアーゼ (LHE) バリエントである、項目 1 に記載のポリペプチド。

(項目 3)

前記ポリペプチドが、前記 HE バリエントの生物学的に活性な断片を含む、項目 1 または項目 2 に記載のポリペプチド。

(項目 4)

前記生物学的に活性な断片が、対応する野生型 HE と比較して、1、2、3、4、5、6、7、または 8 個の N 末端アミノ酸を欠く、項目 3 に記載のポリペプチド。

(項目 5)

前記生物学的に活性な断片が、対応する野生型 HE と比較して、4 個の N 末端アミノ酸を欠く、項目 4 に記載のポリペプチド。

(項目 6)

前記生物学的に活性な断片が、対応する野生型 HE と比較して、8 個の N 末端アミノ酸を欠く、項目 4 に記載のポリペプチド。

(項目 7)

前記生物学的に活性な断片が、対応する野生型 HE と比較して、1、2、3、4、または 5 個の C 末端アミノ酸を欠く、項目 3 に記載のポリペプチド。

(項目 8)

前記生物学的に活性な断片が、対応する野生型 HE と比較して、C 末端アミノ酸を欠く、項目 7 に記載のポリペプチド。

(項目 9)

前記生物学的に活性な断片が、対応する野生型 HE と比較して、2 個の C 末端アミノ酸を欠く、項目 7 に記載のポリペプチド。

(項目 10)

前記 HE バリエントが、I - A a b M I、I - A a e M I、I - A n i I、I - A p a M I、I - C a p I I I、I - C a p I V、I - C k a M I、I - C p a M I、I - C p a M I I、I - C p a M I I I、I - C p a M I V、I - C p a M V、I - C p a V、I - C r a M I、I - E j e M I、I - G p e M I、I - G p i I、I - G z e M I、I - G z e M I I、I - G z e M I I I、I - H j e M I、I - L t r I I、I - L t r I、

I - L t r W I、I - M p e M I、I - M v e M I、I - N c r I I、I - N c r l、I - N c r M I、I - O h e M I、I - O n u I、I - O s o M I、I - O s o M I I、I - O s o M I I I、I - O s o M I V、I - P a n M I、I - P a n M I I、I - P a n M I I I、I - P n o M I、I - S c u M I、I - S m a M I、I - S s c M I、および I - V d i 1 4 1 I からなる群から選択される、L H E のバリエーションである、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 1)

前記 H E バリエーションが、I - C p a M I、I - H j e M I、I - O n u I、I - P a n M I、および S m a M I からなる群から選択される、L H E のバリエーションである、項目 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 2)

前記 H E バリエーションが、I - O n u I L H E バリエーションである、項目 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 3)

前記 H E バリエーションが、1 個以上のアミノ酸置換を、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片の 1 9、2 4、2 6、2 8、3 0、3 2、3 4、3 5、3 6、3 7、3 8、4 0、4 2、4 4、4 6、4 8、6 8、7 0、7 2、7 5、7 6、7 7、7 8、8 0、8 2、1 6 8、1 8 0、1 8 2、1 8 4、1 8 6、1 8 8、1 8 9、1 9 0、1 9 1、1 9 2、1 9 3、1 9 5、1 9 7、1 9 9、2 0 1、2 0 3、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 2、2 3 4、2 3 6、2 3 8、および 2 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸位置に含む、項目 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 4)

前記 H E バリエーションが、少なくとも 5 個、少なくとも 1 5 個、好ましくは少なくとも 2 5 個、より好ましくは少なくとも 3 5 個、またはさらにより好ましくは少なくとも 4 0 個以上のアミノ酸置換を、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片の 1 9、2 4、2 6、2 8、3 0、3 2、3 4、3 5、3 6、3 7、3 8、4 0、4 2、4 4、4 6、4 8、6 8、7 0、7 2、7 5、7 6、7 7、7 8、8 0、8 2、1 6 8、1 8 0、1 8 2、1 8 4、1 8 6、1 8 8、1 8 9、1 9 0、1 9 1、1 9 2、1 9 3、1 9 5、1 9 7、1 9 9、2 0 1、2 0 3、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 2、2 3 4、2 3 6、2 3 8、および 2 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸位置に含む、項目 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 5)

前記 H E バリエーションが、少なくとも 5 個、少なくとも 1 5 個、好ましくは少なくとも 2 5 個、より好ましくは少なくとも 3 5 個、またはさらにより好ましくは少なくとも 4 0 個以上のアミノ酸置換を、配列番号 1 ~ 1 9 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片の 2 6、2 8、3 0、3 2、3 4、3 5、3 6、3 7、4 0、4 1、4 2、4 4、4 8、5 0、5 3、6 8、7 0、7 2、7 6、7 8、8 0、8 2、1 3 8、1 4 3、1 5 9、1 7 8、1 8 0、1 8 4、1 8 6、1 8 9、1 9 0、1 9 1、1 9 2、1 9 3、1 9 5、2 0 1、2 0 3、2 0 7、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 3 2、2 3 6、2 3 8、および 2 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸位置に含む、項目 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 6)

前記 H E バリエーションが、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、L 2 6 R、L 2 6 Y、R 2 8 S、R 2 8 G、R 3 0 Q、R 3 0 H、N 3 2 R、N 3 2 S、N 3 2 K、N 3 3 S、K 3 4 D、K 3 4 N、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、E 4 2 R、G 4 4 T、G 4 4 R、T 4 8 I、T 4 8 G、T 4 8 V、H 5 0 R、D 5 3 E、V 6 8 K、V 6 8 R、A 7 0 N、A 7 0 E、A 7 0 N、A 7 0 Q、A 7 0 L、

A 7 0 S、S 7 2 A、S 7 2 T、S 7 2 V、S 7 2 M、A 7 6 L、A 7 6 H、A 7 6 R、S 7 8 Q、K 8 0 R、K 8 0 V、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E のうちの少なくとも 5 個、少なくとも 1 5 個、好ましくは少なくとも 2 5 個、より好ましくは少なくとも 3 5 個、またはさらにより好ましくは少なくとも 4 0 個以上を含む、項目 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 7)

前記 H E バリエーションが、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 T、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 A、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E を含む、項目 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 8)

前記 H E バリエーションが、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 T、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E を含む、項目 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 1 9)

前記 H E バリエーションが、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 3 0 Q、N 3 2 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 T、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E を含む、項目 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 2 0)

前記 H E バリエーションが、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 K、K 3 4 N、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 T、T 4 8 I、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、および T 2 4 0 E を含む、項目 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 2 1)

前記 H E バリエーションが、配列番号 1 ~ 5 に示される I - O n u I L H E アミノ酸配列

またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 R、G 4 4 T、T 4 8 I、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目22)

前記H E バリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 G、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 R、G 4 4 T、H 5 0 R、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目23)

前記H E バリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 H、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 H、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目24)

前記H E バリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 R、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目25)

前記H E バリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H E アミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 Y、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、D 5 3 E、V 6 8 R、A 7 0 E、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目26)

前記H E バリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H E アミノ酸配列

またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、D 5 3 E、V 6 8 K、A 7 0 N、S 7 2 T、A 7 6 L、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目27)

前記H Eバリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H Eアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 G、V 6 8 K、S 7 2 V、A 7 6 R、S 7 8 Q、K 8 0 V、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目28)

前記H Eバリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H Eアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 G、V 6 8 K、A 7 0 Q、S 7 2 M、A 7 6 R、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目29)

前記H Eバリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H Eアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 G、V 6 8 K、A 7 0 L、S 7 2 V、A 7 6 H、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目30)

前記H Eバリエーションが、配列番号1～5に示されるI - O n u I L H Eアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に関して、以下のアミノ酸置換：L 2 6 V、R 2 8 S、R 3 0 Q、N 3 2 R、N 3 3 S、K 3 4 D、S 3 5 Y、S 3 6 A、V 3 7 T、S 4 0 R、T 4 1 I、E 4 2 H、G 4 4 R、T 4 8 V、V 6 8 K、A 7 0 S、S 7 2 V、A 7 6 H、S 7 8 Q、K 8 0 R、T 8 2 Y、L 1 3 8 M、T 1 4 3 N、S 1 5 9 P、E 1 7 8 D、C 1 8 0 S、N 1 8 4 R、I 1 8 6 R、K 1 8 9 N、S 1 9 0 V、K 1 9 1 N、L 1 9 2 A、G 1 9 3 R、Q 1 9 5 R、S 2 0 1 E、T 2 0 3 S、K 2 0 7 R、Y 2 2 3 H、K 2 2 5 Y、K 2 2 7 G、F 2 3 2 R、D 2 3 6 Q、V 2 3 8 R、およびT 2 4 0 Eを含む、項目1～16のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目31)

前記H Eバリエーションが、配列番号6～19のいずれか1項に示されるアミノ酸配列また

はその生物学的に活性な断片と、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、またはさらにより好ましくは少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む、項目1～30のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目32)

前記HEバリエーションが、配列番号6に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目33)

前記HEバリエーションが、配列番号7に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目34)

前記HEバリエーションが、配列番号8に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目35)

前記HEバリエーションが、配列番号9に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目36)

前記HEバリエーションが、配列番号10に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目37)

前記HEバリエーションが、配列番号11に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目38)

前記HEバリエーションが、配列番号12に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目39)

前記HEバリエーションが、配列番号13に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目40)

前記HEバリエーションが、配列番号14に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目41)

前記HEバリエーションが、配列番号15に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目42)

前記HEバリエーションが、配列番号16に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目43)

前記HEバリエーションが、配列番号17に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目44)

前記HEバリエーションが、配列番号18に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目45)

前記HEバリエーションが、配列番号19に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～31のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目46)

DNA結合ドメインをさらに含む、項目1～45のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目47)

前記DNA結合ドメインが、T A L E DNA結合ドメインおよびジンクフィンガーD

N A 結合ドメインからなる群から選択される、項目 4 6 に記載のポリペプチド。

(項目 4 8)

前記 T A L E D N A 結合ドメインが、約 9 . 5 の T A L E 反復単位 ~ 約 1 5 . 5 の T A L E 反復単位を含む、項目 4 7 に記載のポリペプチド。

(項目 4 9)

前記 T A L E D N A 結合ドメインが、前記 B C L 1 1 A 遺伝子中のポリヌクレオチド配列と結合する、項目 4 7 または項目 4 8 に記載のポリペプチド。

(項目 5 0)

前記 T A L E D N A 結合ドメインが、配列番号 2 6 に示されるポリヌクレオチド配列と結合する、項目 4 7 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 5 1)

前記ジンクフィンガー D N A 結合ドメインが、2、3、4、5、6、7、または 8 個のジンクフィンガーモチーフを含む、項目 4 7 に記載のポリペプチド。

(項目 5 2)

ペプチドリンカーおよび末端プロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片をさらに含む、項目 1 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 5 3)

ウイルス性自己切断型 2 A ペプチドおよび末端プロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片をさらに含む、項目 1 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 5 4)

前記末端プロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片が、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、5' - 3' アルカリエキソヌクレアーゼ、3' - 5' エキソヌクレアーゼ、5' フラップエンドヌクレアーゼ、ヘリカーゼ、鋳型依存性 D N A ポリメラーゼ、または鋳型非依存性 D N A ポリメラーゼ活性を有する、項目 5 2 または項目 5 3 に記載のポリペプチド。

(項目 5 5)

前記末端プロセシング酵素が、T r e x 2 またはその生物学的に活性な断片を含む、項目 5 2 ~ 5 4 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 5 6)

前記ポリペプチドが、前記ヒト B C L 1 1 A 遺伝子を、配列番号 2 5 または配列番号 2 7 に示されるポリヌクレオチド配列において切断する、項目 1 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 5 7)

項目 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド。

(項目 5 8)

項目 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする、m R N A。

(項目 5 9)

項目 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする、c D N A。

(項目 6 0)

項目 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ベクター。

(項目 6 1)

項目 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドを含む、細胞。

(項目 6 2)

項目 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、細胞。

(項目 6 3)

項目 6 0 に記載のベクターを含む、細胞。

(項目 6 4)

項目 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドによって導入される 1 個以上のゲノ

△修飾を含む、細胞。

(項目65)

前記細胞が造血細胞である、項目61～64のいずれか1項に記載の細胞。

(項目66)

前記細胞が造血幹細胞または造血前駆細胞である、項目61～65のいずれか1項に記載の細胞。

(項目67)

前記細胞がCD34⁺細胞である、項目61～66のいずれか1項に記載の細胞。

(項目68)

前記細胞がCD133⁺細胞である、項目61～67のいずれか1項に記載の細胞。

(項目69)

項目61～68のいずれか1項に従う細胞を含む、組成物。

(項目70)

項目61～68のいずれか1項に従う細胞および生理学的に許容される担体を含む、組成物。

(項目71)

BCL11A遺伝子を細胞の集団中で編集する方法であって、項目1～56のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを前記細胞に導入することを含み、前記ポリペプチドの発現により、前記BCL11A遺伝子中の標的部位において二本鎖破断が創出される、方法。

(項目72)

BCL11A遺伝子を細胞の集団中で編集する方法であって、項目1～56のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを前記細胞に導入することを含み、前記ポリペプチドの発現により、前記BCL11A遺伝子中の標的部位において二本鎖破断が創出され、前記破断が、非同末端結合(NHEJ)によって修復される、方法。

(項目73)

BCL11A遺伝子を細胞の集団中で編集する方法であって、項目1～56のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドとドナー修復鋳型とを前記細胞に導入することを含み、前記ポリペプチドの発現により、BCL11A遺伝子中の標的部位において二本鎖破断が創出され、前記ドナー修復鋳型が、前記二本鎖破断(DSB)の部位における相同組換え修復(HDR)によって、前記BCL11A遺伝子に組み込まれる、方法。

(項目74)

前記細胞が造血細胞である、項目71～73のいずれか1項に記載の方法。

(項目75)

前記細胞が造血幹細胞または造血前駆細胞である、項目71～74のいずれか1項に記載の方法。

(項目76)

前記細胞がCD34⁺細胞である、項目71～75のいずれか1項に記載の方法。

(項目77)

前記細胞がCD133⁺細胞である、項目71～76のいずれか1項に記載の方法。

(項目78)

前記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドがmRNAである、項目71～77のいずれか1項に記載の方法。

(項目79)

5'-3'エキソヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチドが前記細胞に導入される、項目71～78のいずれか1項に記載の方法。

(項目80)

Trex2またはその生物学的に活性な断片をコードするポリヌクレオチドが前記細胞

に導入される、項目 7 1 ~ 7 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 1)

前記ドナー修復鋳型が、前記 D S B の B C L 1 1 A 遺伝子配列 5' に相同である 5' 相同アームと、前記 D S B の B C L 1 1 A 遺伝子配列 3' に相同である 3' 相同アームと、を含む、項目 7 3 ~ 8 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 2)

前記 5' 相同アームおよび 3' 相同アームの長さが、独立して、約 1 0 0 b p ~ 約 2 5 0 0 b p から選択される、項目 8 1 に記載の方法。

(項目 8 3)

前記 5' 相同アームおよび 3' 相同アームの長さが、独立して、約 6 0 0 b p ~ 約 1 5 0 0 b p から選択される、項目 8 1 または項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 4)

前記 5' 相同アームが約 1 5 0 0 b p であり、前記 3' 相同アームが約 1 0 0 0 b p である、項目 8 1 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 5)

前記 5' 相同アームが約 6 0 0 b p であり、前記 3' 相同アームが約 6 0 0 b p である、項目 8 1 ~ 8 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 6)

ウイルスベクターを使用して、前記ドナー修復鋳型を前記細胞に導入する、項目 7 3 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 7)

前記ウイルスベクターが、組換えアデノ随伴ウイルスベクター (r A A V) またはレトロウイルスである、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記 r A A V が、A A V 2 由来の 1 個以上の I T R を有する、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記 r A A V が、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、および A A V 1 0 からなる群から選択される血清型を有する、項目 8 7 または項目 8 8 に記載の方法。

(項目 9 0)

前記 r A A V が、A A V 2 血清型または A A V 6 血清型を有する、項目 8 7 ~ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 1)

前記レトロウイルスがレンチウイルスである、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記レンチウイルスがインテグラーゼ欠乏レンチウイルス (I D L V) である、項目 9 1 に記載の方法。

(項目 9 3)

異常ヘモグロビン症の少なくとも 1 つの症状またはそれと関連付けられる状態を治療、予防、または改善する方法であって、対象に有効量の項目 6 9 または項目 7 0 に記載の組成物を投与することを含む、方法。

(項目 9 4)

前記対象が、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{0}{+}$ 、 $\frac{E}{S}$ 、 $\frac{C}{S}$ 、 $\frac{0}{S}$ 、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{0}{+}$ 、 $\frac{E}{S}$ 、 $\frac{C}{S}$ 、 $\frac{0}{S}$ からなる群から選択される - グロビン遺伝子型を有する、項目 9 3 に記載の方法。

(項目 9 5)

前記組成物の前記量が、前記対象の輸血を減少させるのに有効である、項目 9 3 または 9 4 に記載の方法。

(項目 9 6)

サラセミアの少なくとも１つの症状またはそれと関連付けられる状態を治療、予防、または改善する方法であって、前記対象に有効量の項目６９または項目７０に記載の組成物を投与することを含む、方法。

(項目９７)

前記対象が、 - サラセミア、またはそれと関連付けられる状態を有する、項目９６に記載の方法。

(項目９８)

前記対象が、 - サラセミア、またはそれと関連付けられる状態を有する、項目９６に記載の方法。

(項目９９)

前記対象が、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{0}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{0}{+}$ 、または $\frac{+}{+}$ からなる群から選択される - グロビン遺伝子型を有する、項目９８に記載の方法。

(項目１００)

鎌状赤血球症の少なくとも１つの症状またはそれと関連付けられる状態を治療、予防、または改善する方法であって、前記対象に有効量の項目６９または項目７０に記載の組成物を投与することを含む、方法。

(項目１０１)

前記対象が、 $\frac{E}{S}$ 、 $\frac{0}{S}$ 、 $\frac{C}{S}$ 、 $\frac{+}{S}$ 、または $\frac{S}{S}$ からなる群から選択される - グロビン遺伝子型を有する、項目１００に記載の方法。

(項目１０２)

対象における - グロビンの量を増加させる方法であって、前記対象に有効量の項目６９または項目７０の組成物を投与することを含む、方法。

(項目１０３)

対象における胎児ヘモグロビン（HbF）の量を増加させる方法であって、前記対象に有効量の項目６９または項目７０の組成物を投与することを含む、方法。

(項目１０４)

前記対象が異常ヘモグロビン症を有する、項目１０２または項目１０３に記載の方法。

(項目１０５)

前記対象が、 - サラセミア、またはそれと関連付けられる状態を有する、項目１０４に記載の方法。

(項目１０６)

前記対象が、 - サラセミア、またはそれと関連付けられる状態を有する、項目１０４に記載の方法。

(項目１０７)

前記対象が、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{0}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{E}{+}$ 、 $\frac{C}{+}$ 、 $\frac{0}{+}$ 、または $\frac{+}{+}$ からなる群から選択される - グロビン遺伝子型を有する、項目１０６に記載の方法。

(項目１０８)

前記対象が、鎌状赤血球症、またはそれと関連付けられる状態を有する、項目１０４に記載の方法。

(項目１０９)

前記対象が、 $\frac{E}{S}$ 、 $\frac{0}{S}$ 、 $\frac{C}{S}$ 、 $\frac{+}{S}$ 、または $\frac{S}{S}$ からなる群から選択される - グロビン遺伝子型を有する、項目１０８に記載の方法。