

【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5年2月21日(2023.2.21)

【国際公開番号】WO2020/168051

【公表番号】特表2022-520080(P2022-520080A)

【公表日】令和4年3月28日(2022.3.28)

【年通号数】公開公報(特許)2022-054

【出願番号】特願2021-546888(P2021-546888)

【国際特許分類】

A 61K 31/7088(2006.01)

C 12N 15/09(2006.01)

C 12N 15/867(2006.01)

C 12N 15/864(2006.01)

C 12N 5/10(2006.01)

C 12N 5/0793(2010.01)

A 61P 25/00(2006.01)

A 61P 25/16(2006.01)

A 61K 48/00(2006.01)

A 61K 35/76(2015.01)

A 61K 35/12(2015.01)

A 61K 35/30(2015.01)

A 61K 31/712(2006.01)

A 61K 31/7125(2006.01)

C 12N 15/56(2006.01)

10

20

30

40

【F I】

A 61K 31/7088

C 12N 15/09 100

C 12N 15/867 Z

C 12N 15/864 100 Z

C 12N 5/10

C 12N 5/0793

A 61P 25/00

A 61P 25/16

A 61K 48/00

A 61K 35/76

A 61K 35/12

A 61K 35/30

A 61K 31/712

A 61K 31/7125

C 12N 15/56 ZNA

30

40

【手続補正書】

【提出日】令和5年2月13日(2023.2.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】1206

【補正方法】変更

【補正の内容】

【1206】

50

本開示は以下の実施形態を含む。

実施形態 1

対象における神経障害を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象の前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって対象の前記神経障害を治療する、

方法。

実施形態 2

前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ(IDUA)遺伝子であり、前記神経疾患がハーラー症候群である、実施形態1記載の方法。

実施形態 3

対象におけるハーラー症候群を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のアルファ-L-イズロニダーゼ(IDUA)遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって対象のハーラー症候群を治療する、

方法。

実施形態 4

前記投与が、ハーラー症候群に関連する少なくとも1つの症状を改善する、実施形態2または3に記載の方法。

実施形態 5

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、ハーラー症候群に関連する少なくとも1つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態4に記載の方法。

実施形態 6

前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含む、実施形態2～5のいずれか一項記載の方法。

実施形態 7

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態2～6のいずれか一項記載の方法。

実施形態 8

ハーラー症候群に関連するSNPが、配列番号4における番号付けてIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらし、ここでXは終止コドンである、実施形態6または7記載の方法。

実施形態 9

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態6～8のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 10

10

20

30

40

50

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態6～8のいずれか一項に記載の方法。

実施形態1 1

ハーラー症候群に関連するSNPにおけるAからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、実施形態6～10のいずれか一項に記載の方法。

実施形態1 2

前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態6～10のいずれか一項に記載の方法。

10

実施形態1 3

前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA(sgRNA)と複合体をなす、実施形態6～12のいずれか一項に記載の方法。

実施形態1 4

前記sgRNAが、5'-GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCA
GAGGUCUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCU
AGGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態13記載の方法。

20

実施形態1 5

前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)遺伝子であり、神経疾患がパーキンソン病である、実施形態1記載の方法。

実施形態1 6

対象におけるパーキンソン病を治療する方法であって、(i)アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

30

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって対象のパーキンソン病を治療する、方法。

実施形態1 7

前記投与がパーキンソン病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態1、15または16のいずれか一項に記載の方法。

実施形態1 8

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、パーキンソン病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態17に記載の方法。

40

実施形態1 9

LRRK2遺伝子またはその調節エレメントがパーキンソン病に関連するSNPを含む、実施形態15～18のいずれか一項記載の方法。

実施形態2 0

前記AからGへの核酸塩基改変が、パーキンソン病に関連するSNPにおけるものである、実施形態19記載の方法。

実施形態2 1

パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けてLRRK2ポリペプチ

50

ドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態19または20に記載の方法。

実施形態22

前記AからGへの核酸塩基の改変が、パーキンソン病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態19～21のいずれか一項記載の方法。

実施形態23

前記AからGへの核酸塩基の改変が、パーキンソン病に関連するSNPを、パーキンソン病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態19～21のいずれか一項に記載の方法。

10

実施形態24

前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRKK2遺伝子によってコードされるLRKK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させる、実施形態19～22のいずれか一項記載の方法。

実施形態25

前記AからGへの改変が、LRKK2遺伝子によってコードされるLRKK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させる、実施形態19～22のいずれか一項記載の方法。

実施形態26

前記AからGへの改変が、配列番号3における番号付けでLRKK2ポリペプチドまたはLRKK2遺伝子によってコードされるそのバリエントの位置144でシステイン(C)またはヒスチジン(H)をアルギニン(R)に置換するか、または位置2019でセリンをグリシン(G)に置換する、実施形態19～22のいずれか一項記載の方法。

20

実施形態27

対象におけるパーキンソン病を治療する方法であって、(i)アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してパーキンソン病に関連するLRKK2遺伝子におけるSNPにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし

30

前記SNPは、配列番号3における番号付けでLRKK2ポリペプチドにおけるG2019S変異体またはそのバリエントをコードしない、

方法。

実施形態28

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、実施形態27記載の方法。

実施形態29

前記ガイドポリヌクレオチドが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRKK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態15～28のいずれか一項に記載の方法。

40

実施形態30

前記アデノシン塩基エディターが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRKK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA(sgRNA)と複合体をなす、実施形態15～28のいずれか一項に記載の方法。

実施形態30

前記sgRNAが核酸配列5'-AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA-3'；または5'-ACUA-CAGCAUUGCUCAGUAC-3'を含む、実施形態30記載の方法。

実施形態31

50

前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、神経疾患がレット症候群である、実施形態1記載の方法。

実施形態3 3

対象におけるレット症候群を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって対象のレット症候群を治療する、

方法。

実施形態3 4

前記投与が、レット症候群に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態3 2または3 3に記載の方法。

実施形態3 5

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、レット症候群に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態3 4に記載の方法。

実施形態3 6

前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含む、実施形態3 2～3 5のいずれか一項記載の方法。

実施形態3 7

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態3 6記載の方法。

実施形態3 8

前記レット症候群に関連するSNPが、配列番号5における番号付けてMECP2ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態3 6または3 7に記載の方法。

実施形態3 9

前記レット症候群に関連するSNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらし、ここでXは終止コドンである、実施形態3 6または3 7記載の方法。

実施形態4 0

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態3 6～3 9のいずれか一項記載の方法。

実施形態4 1

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態3 6～3 9のいずれか一項記載の方法。

実施形態4 2

レット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、終止コドンをMECP2ポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、実施形態3 6～3 9のいずれか一項に記載の方法。

実施形態4 3

前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに対して相補的な核酸配列を含む、実施形態3 6～4 2のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 4 4

前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA(sgRNA)と複合体をなす、実施形態36～42のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 4 5

前記ガイドポリヌクレオチドが、5'-CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5'-AGCUUCCAUGUCCAGCCUUC-3'、5'-ACCAUGAAGUCAAAUCAUU-3'、および5'-GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG-3'からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態44に記載の方法。

実施形態 4 6

前記標的遺伝子がATP結合力セットサブファミリーメンバー4(ABCA4)遺伝子であり、神経疾患がシュタルガルト病である、実施形態1記載の方法。

実施形態 4 7

対象におけるシュタルガルト病を治療する方法であって、(i)アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のATP結合力セットサブファミリーメンバー4(ABCA4)遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基変換をもたらし、それによって対象のシュタルガルト病を治療する、

方法。

実施形態 4 8

前記投与が、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態46または47に記載の方法。

実施形態 4 9

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディタを用いた治療と比較して、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態48に記載の方法。

実施形態 5 0

ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含む、実施形態46～49のいずれか一項記載の方法。

実施形態 5 1

前記AからGへの核酸塩基変換が、シュタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、実施形態50記載の方法。

実施形態 5 2

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けてABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態50または51に記載の方法。

実施形態 5 3

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けてABCA4ポリペプチドにおけるG1961Eアミノ酸変異体またはそのバリエントをもたらす、実施形態52記載の方法。

実施形態 5 4

前記AからGへの核酸塩基変換が、シュタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態51～53のいずれか一項記載の方法。

実施形態 5 5

10

20

30

40

50

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを、シュタルガルト病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態51～53のいずれか一項に記載の方法。

実施形態56

前記ガイドポリヌクレオチドが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態51～55のいずれか一項記載の方法。

実施形態57

前記アデノシン塩基エディターが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA(sgRNA)と複合体をなす、実施形態51～56のいずれか一項に記載の方法。

10

実施形態58

前記sgRNAが配列5 -CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3 を含む、実施形態57記載の方法。

実施形態59

前記治療が、前記アミノ酸置換を伴わないアデノシンデアミナーゼドメインを含む塩基エディターを用いた治療と比較して、前記神経障害の症状の改善をもたらす、実施形態1～58のいずれか一項に記載の方法。

20

実施形態60

神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、前記標的遺伝子またはその調節エレメントを、(i)アデノシン塩基エディターと、(ii)ガイドポリヌクレオチドとに接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

30

方法。

実施形態61

標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)遺伝子であり、神経疾患がパークリンソン病である、実施形態60記載の方法。

実施形態62

ロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、LRRK2遺伝子またはその調節エレメントを、(i)アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とに接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

40

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

方法。

実施形態63

前記AからGへの核酸塩基改変が、パークリンソン病に関連するSNPにおけるものである、実施形態62記載の方法。

実施形態64

前記パークリンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けてLRRK2ポリペ

50

チドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態62または63に記載の方法。

実施形態65

前記AからGへの核酸塩基改変が、パーキンソン病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態62～64のいずれか一項に記載の方法。

実施形態66

前記AからGへの核酸塩基改変が、パーキンソン病に関連するSNPを、パーキンソン病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態62～64のいずれか一項に記載の方法。

10

実施形態67

前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させる、実施形態62～66のいずれか一項記載の方法。

実施形態68

前記AからGへの改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させる、実施形態62～66のいずれか一項に記載の方法。

実施形態69

前記AからGへの改変が、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエントの位置144のシステイン(C)またはヒスチジン(H)をアルギニン(R)に置換するか、または位置2019のセリンをグリシン(G)に置換する、実施形態62～66のいずれか一項記載の方法。

20

実施形態70

ロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、前記LRRK2遺伝子またはその調節エレメントを、(i)アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記ガイドポリヌクレオチドが前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子のSNPにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、前記SNPは、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるG2019S変異体またはそのバリエントをコードしない、方法。

30

実施形態71

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、実施形態70記載の方法。

実施形態72

前記ガイドポリヌクレオチドが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態61～71のいずれか一項に記載の方法。

40

実施形態73

前記アデノシン塩基エディターが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA(sgRNA)と複合体をなす、実施形態61～71のいずれか一項に記載の方法。

実施形態74

前記sgRNAが核酸配列5'-AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA-3'；または5'-ACUA-CAGCAUUGCUCAGUAC-3'を含む、実施形態73記載の方法。

実施形態75

前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ(IDUA)遺伝子であり、神経疾患がハーラー症候群である、実施形態60記載の方法。

50

実施形態 7 6

アルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、IDUA遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

10

方法。

実施形態 7 7

前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含む、実施形態75または76のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 7 8

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態75～77のいずれか一項に記載の方法。

20

実施形態 7 9

ハーラー症候群に関連する前記SNPが、配列番号4における番号付けでIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらし、ここでXは終止コドンである、実施形態77または78記載の方法。

実施形態 8 0

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態77～79のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 1

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態77～79のいずれか一項に記載の方法。

30

実施形態 8 2

ハーラー症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、実施形態77～81のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 3

前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態77～81のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 4

前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA)と複合体をなす、実施形態77～83のいずれか一項に記載の方法。

40

実施形態 8 5

前記sgRNAが、5'-GACUCUAGGCAGAGGUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCA-GAGGUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCUA-GGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態84記載の方法。

実施形態 8 6

前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、神経疾患がレット症候群である、実施形態60記載の方法。

50

実施形態 8 7

メチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列を対象に投与することを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してMECP2遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、方法。

10

実施形態8 8

前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含む、実施形態8 6または8 7に記載の方法。

実施形態8 9

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態8 8記載の方法。

実施形態9 0

前記レット症候群と関連するSNPが、配列番号5における番号付けでMECP2ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態8 8または8 9に記載の方法。

20

実施形態9 1

レット症候群に関連する前記SNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらし、ここでXは終止コドンである、実施形態8 8または8 9記載の方法。

実施形態9 2

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態8 8～8 1のいずれか一項記載の方法。

実施形態9 3

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態8 8～9 1のいずれか一項記載の方法。

30

実施形態9 4

レット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、MECP2ポリペプチドにおいて終止コドンをトリプトファンに変化させる、実施形態8 8～9 1のいずれか一項に記載の方法。

実施形態9 5

前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態8 8～9 4のいずれか一項に記載の方法。

実施形態9 6

前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態8 8～9 4のいずれか一項に記載の方法。

40

実施形態9 7

前記ガイドポリヌクレオチドが、5' - CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5' - AGCUUCCAUUGUCCAGCCUUC-3'、5' - ACCAUGAAGUAAAUCAUU-3'、および5' - GCUUUCAGCCCCGUUUUCUUG-3' からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態9 6に記載の方法。

実施形態9 8

前記標的遺伝子がATP結合力セットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり

50

、神経疾患がシュタルガルト病である、実施形態60記載の方法。

実施形態99

ATP結合力セットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、前記ABCA4遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166、またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してABCA4遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

方法。

実施形態100

前記投与が、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態98または99に記載の方法。

実施形態101

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態100に記載の方法。

実施形態102

ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含む、実施形態98～101のいずれか一項記載の方法。

実施形態103

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、実施形態102記載の方法。

実施形態104

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けてABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリアントをもたらす、実施形態102または103に記載の方法。

実施形態105

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けてABCA4ポリペプチドにおけるG1961Eアミノ酸変異体またはそのバリアントをもたらす、実施形態104記載の方法。

実施形態106

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態103～105のいずれか一項記載の方法。

実施形態107

前記AからGへの核酸塩基の改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを、シュタルガルト病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態103～105のいずれか一項記載の方法。

実施形態108

前記ガイドポリヌクレオチドが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態103～107のいずれか一項記載の方法。

実施形態109

前記アデノシン塩基エディターが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態103～108のいずれか一項に記載の方法。

実施形態110

10

20

30

40

50

sgRNAが配列5 -CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3 を含む、実施形態109記載の方法。

実施形態111

前記接触させることは細胞内で起こる、実施形態60～110のいずれか一項記載の方法。

実施形態112

前記接触させることが、細胞中のゲノムにおいて10%未満のインデルを生じ、ここでインデル率は、単一ヌクレオチド改変に隣接する配列と未改変配列との間のミスマッチ頻度によって測定される、実施形態111記載の方法。

実施形態113

前記接触させることが、細胞中のゲノムにおいて5%未満のインデルを生じ、ここでインデル率は、単一ヌクレオチド改変に隣接する配列と未改変配列との間のミスマッチ頻度によって測定される、実施形態111記載の方法。

実施形態114

前記接触させることが、細胞中のゲノムにおいて1%未満のインデルを生じ、ここでインデル率は、単一ヌクレオチド改変に隣接する配列と未改変配列との間のミスマッチ頻度によって測定される、実施形態111記載の方法。

実施形態115

前記細胞がニューロンである、実施形態111～114のいずれか一項記載の方法。

実施形態116

前記接触させることが、細胞の集団内で起こる、実施形態60～110のいずれか一項記載の方法。

実施形態117

前記接触させることが、前記接触の工程の後に前記細胞の集団の少なくとも40%においてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、実施形態116に記載の方法。

実施形態118

前記接触させることが、前記接触の工程の後に前記細胞の集団の少なくとも50%においてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、実施形態116に記載の方法。

実施形態119

前記接触させることが、前記接触の工程の後に前記細胞の集団の少なくとも70%においてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、実施形態116に記載の方法。

実施形態120

前記細胞の少なくとも90%が、前記接触の工程の後に生存性である、実施形態116～119のいずれか一項記載の方法。

実施形態121

前記細胞の集団が、前記接触の工程の後に濃縮されなかった、実施形態116～120のいずれか一項記載の方法。

実施形態122

前記細胞の集団がニューロンである、実施形態116～121のいずれか一項記載の方法。

実施形態123

前記接触させることがインピボまたはエクスピボで起こる、実施形態111～122のいずれか一項記載の方法。

実施形態124

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがCas9である、実施形態1～123のいずれか一項に記載の方法。

実施形態125

前記Cas9がSpCas9、SaCas9、またはそれらのバリアントである、実施形態124に記載の方法。

実施形態126

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、改変されたプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)特異性を有する改変されたSpCas9を含む、実施形態

10

20

30

40

50

124または125に記載の方法。

実施形態127

前記Cas9が、NGG、NGA、NGCG、NGN、NNGRRT、NNNRRT、NGCG、NGCN、NGTN、およびNGCからなる群より選択されるPAM配列に対する特異性を有し、ここでNはA、G、C、またはTでありRはAまたはGである、実施形態126に記載の方法。

実施形態128

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、ヌクレアーゼ不活性バリアントである、実施形態124～127のいずれか一項に記載の方法。

実施形態129

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがニッカーゼバリアントである、実施形態124～127のいずれか一項に記載の方法。

10

実施形態130

前記ニッカーゼバリアントが、アミノ酸置換D10Aまたはそれに対応するアミノ酸置換を含む、実施形態129記載の方法。

実施形態131

前記アデノシンデアミナーゼドメインがTadAドメインを含む、実施形態1～130のいずれか一項記載の方法。

20

実施形態132

前記アデノシンデアミナーゼが、V82S改変および/またはT166R改変を含むTadAデアミナーゼを含む、実施形態131記載の方法。

実施形態133

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147T、Y147R、Q154S、Y123H、Q154R、またはそれらの組み合わせのうちの1つ以上の改変をさらに含む、実施形態1～132のいずれか一項記載の方法。

実施形態134

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147R + Q154R + Y123H；Y147R + Q154R + I76Y；Y147R + Q154R + T166R；Y147T + Q154R；Y147T + Q154S；およびY123H + Y147R + Q154R + I76Yからなる群より選択される改変の組み合わせを含む、実施形態1～133のいずれか一項記載の方法。

30

実施形態135

前記アデノシン塩基エディタードメインがアデノシンデアミナーゼ単量体を含む、実施形態1～134のいずれか一項記載の方法。

実施形態136

前記アデノシン塩基エディターがアデノシンデアミナーゼ二量体を含む、実施形態1～135のいずれか一項記載の方法。

実施形態137

前記TadAデアミナーゼがTadA*8バリアントである、実施形態131～136のいずれか一項に記載の方法。

実施形態138

前記TadA*8バリアントがTadA*8.1、TadA*8.2、TadA*8.3、TadA*8.4、TadA*8.5、TadA*8.6、TadA*8.7、TadA*8.8、TadA*8.9、TadA*8.10、TadA*8.11、TadA*8.12、およびTadA*8.13からなる群から選択される、実施形態137に記載の方法。

40

実施形態139

前記アデノシン塩基エディターが、ABE8.1、ABE8.2、ABE8.3、ABE8.4、ABE8.5、ABE8.6、ABE8.7、ABE8.8、ABE8.9、ABE8.10、ABE8.11、ABE8.12、およびABE8.13からなる群より選択されるABE8塩基エディターである、実施形態138に記載の方法。

実施形態140

実施形態111～115のいずれか一項に記載の方法によって產生される細胞。

50

実施形態 141実施形態 116 ~ 122 のいずれか一項に記載の方法によって產生される細胞の集団。実施形態 142

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。実施形態 143

前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子であり、神経疾患がパーキンソン病である、実施形態142記載の塩基エディターシステム。

実施形態 144

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列を含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。実施形態 145

前記AからGへの核酸塩基改変が、LRRK2遺伝子またはその調節エレメント中のパーキンソン病に関連するSNPにおけるものである、実施形態144に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 146

前記パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態144または145に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 147

前記AからGへの核酸塩基改変が、前記パーキンソン病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態145または146のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 148

前記AからGへの核酸塩基改変が、前記パーキンソン病に関連するSNPを、パーキンソン病の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態145または146のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 149

前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシスティンまたはヒスチジンをアルギニンに変化させる、実施形態145~148のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態 150

前記AからGへの改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させる、実施形態145~148のいずれか一項に記載の塩

10

20

30

40

50

塩基エディターシステム。

実施形態 151

前記 A から G への改変が、配列番号 3 における番号付けて LRRK2 ポリペプチドまたは LRRK2 遺伝子によってコードされるそのバリエントの位置 144 でシステイン (C) もしくはヒスチジン (H) をアルギニン (R) に置換するか、または位置 2019 でセリンをグリシン (G) に置換する、実施形態 145 ~ 148 のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 152

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、配列番号 2 における番号付けてアミノ酸位置 82 もしくは 166 またはそれに対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、実施形態 151 に記載の塩基エディターシステム。

10

実施形態 153

前記ガイドポリヌクレオチドが、パーキンソン病に関連する SNP を含む LRRK2 遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態 143 ~ 152 のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 154

前記アデノシン塩基エディターが、パーキンソン病と関連する前記 SNP を含む LRRK2 遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイド RNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態 143 ~ 152 のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 155

前記 sgRNA が核酸配列 5'-AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA-3' ; または 5'-ACUA

20

CAGCAUUGCUCAGUAC-3' を含む、実施形態 154 に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 156

前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子であり、神経疾患がハーラー症候群である、実施形態 142 に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 157

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号 2 における番号付けてアミノ酸位置 82 もしくは 166 またはそれに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

30

前記ガイドポリヌクレオチドが、前記アデノシン塩基エディターを誘導してアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子またはその調節エレメントにおける A から G への核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態 158

前記 IDUA 遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連する SNP を含む、実施形態 156 または 157 に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 159

前記 A から G への核酸塩基改変がハーラー症候群に関連する SNP におけるものである、実施形態 156 ~ 158 のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

40

実施形態 160

前記ハーラー症候群に関連する SNP が、配列番号 4 における番号付けて IDUA ポリペプチドにおける W402X もしくは W401X アミノ酸変異体または IDUA 遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらし、ここで X は終止コドンである、実施形態 158 または 159 に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 161

前記 A から G への核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連する SNP を野生型核酸塩基に変化させる、実施形態 158 ~ 160 のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態 162

50

前記AからGへの核酸塩基の改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態158～160のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態163

ハーラー症候群に関連するSNPにおけるAからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされるIDUAポリペプチドにおいて終止コドンをトリプトファンに変化させる、実施形態158～162のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態164

前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群と関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態158～162のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

10

実施形態165

前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群と関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA)と複合体をなす、実施形態158～164のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態166

前記sgRNAが、5'-GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCA
GAGGUCUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCUA
GGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態165に記載の塩基エディターシステム。

20

実施形態167

前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、神経疾患がレット症候群である、実施形態142に記載の塩基エディターシステム。

実施形態168

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付でアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

30

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態169

前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含む、実施形態167または168に記載の塩基エディターシステム。

実施形態170

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態169に記載の塩基エディターシステム。

実施形態171

レット症候群に関連するSNPが、配列番号5における番号付でMECP2ポリペプチドにおけるR106WまたはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態169または170に記載の塩基エディターシステム。

40

実施形態172

レット症候群に関連するSNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらし、ここでXは終止コドンである、実施形態169または170に記載の塩基エディターシステム。

実施形態173

50

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態169～172のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態174

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態169～172のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態175

レット症候群に関連するSNPにおけるAからGへの核酸塩基改変が、MECP2ポリペプチドにおいて終止コドンをトリプトファンに変化させる、実施形態169～172のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

10

実施形態176

前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態169～175のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態177

前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態169～175のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態178

前記ガイドポリヌクレオチドが、5'-CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5'-AGCUUCAUGUCCAGCCUUC-3'、5'-ACCAUGAAGUCAAAAUCAUU-3'、および5'-GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG-3'からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態177に記載の塩基エディターシステム。

20

実施形態179

前記標的遺伝子がATP結合力セットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり、神経疾患がシュタルガルト病である、実施形態142に記載の塩基エディターシステム。

実施形態180

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを接触させることを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付でアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

30

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してATP結合力セットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態181

投与が、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態179または180に記載の塩基エディターシステム。

40

実施形態182

投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態181に記載の塩基エディターシステム。

実施形態183

ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含む、実施形態179～182のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態184

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、実施形態183に記載の塩基エディターシステム。

50

実施形態 185

前記シユタルガルト病に関連するSNPが、配列番号6における番号付けてABC A4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABC A4遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらす、実施形態183または184に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 186

前記シユタルガルト病に関連するSNPが、配列番号6における番号付けてABC A4ポリペプチドにおけるG1961Eアミノ酸変異体またはそのバリエントをもたらす、実施形態185に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 187

前記AからGへの核酸塩基変換が、シユタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態184～186のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態 188

前記AからGへの核酸塩基変換が、シユタルガルト病に関連するSNPを、シユタルガルト病症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態184～186のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 189

前記ガイドポリヌクレオチドが、シユタルガルト病に関連するSNPを含むABC A4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態184～188のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 190

前記アデノシン塩基エディターが、前記シユタルガルト病に関連するSNPを含むABC A4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む单一ガイドRNA(sgRNA)と複合体をなす、実施形態184～189のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 191

前記sgRNAが配列5'-CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3'を含む、実施形態190に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 192

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがCas9である、実施形態142～191のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 193

前記Cas9がSpCas9、SaCas9、またはそのバリエントである、実施形態192に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 194

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、改変されたプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)特異性を有する改変されたSpCas9を含む、実施形態192または193に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 195

前記Cas9が、NGG、NGA、NGCG、NGN、NNGRRT、NNNRRT、NGCG、NGCN、NGTN、およびNGCからなる群より選択されるPAM配列に対する特異性を有し、ここでNはA、G、CまたはTであり、RはAまたはGである、実施形態194に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 196

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがヌクレアーゼ不活性バリエントである、実施形態192～195のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 197

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがニッカーゼバリエントである、実施形態192～195のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 198

10

20

30

40

50

前記ニッカーゼバリアントが、アミノ酸置換D10Aまたはそれに対応するアミノ酸置換を含む、実施形態197記載の塩基エディターシステム。

実施形態199

前記アデノシンデアミナーゼドメインがTadAドメインを含む、実施形態142～198のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態200

前記アデノシンデアミナーゼが、V82S改変および/またはT166R改変を含むTadAデアミナーゼを含む、実施形態199記載の塩基エディターシステム。

実施形態201

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147T、Y147R、Q154S、Y123H、Q154R、またはそれらの組み合わせのうちの1つ以上の改変をさらに含む、実施形態142～200のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態202

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147R + Q154R + Y123H; Y147R + Q154R + I76Y; Y147R + Q154R + T166R; Y147T + Q154R; Y147T + Q154S; およびY123H + Y147R + Q154R + I76Yからなる群から選択される改変の組み合わせを含む、実施形態142～201のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態203

前記アデノシン塩基エディタードメインがアデノシンデアミナーゼ単量体を含む、実施形態142～202のいずれか一項記載の塩基編集システム。

実施形態204

前記アデノシン塩基エディタがアデノシンデアミナーゼ二量体を含む、実施形態142～203のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態205

前記TadAデアミナーゼがTadA*8バリアントである、実施形態199～204のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態206

前記TadA*8バリアントは、TadA*8.1、TadA*8.2、TadA*8.3、TadA*8.4、TadA*8.5、TadA*8.6、TadA*8.7、TadA*8.8、TadA*8.9、TadA*8.10、TadA*8.11、TadA*8.12、およびTadA*8.13からなる群から選択される、実施形態205に記載の塩基エディターシステム。

実施形態207

前記アデノシン塩基エディターが、ABE8.1、ABE8.2、ABE8.3、ABE8.4、ABE8.5、ABE8.6、ABE8.7、ABE8.8、ABE8.9、ABE8.10、ABE8.11、ABE8.12、およびABE8.13からなる群から選択されるABE8塩基エディターである、実施形態206に記載の塩基エディターシステム。

実施形態208

実施形態142～207のいずれか一項記載のアデノシン塩基エディターをコードする核酸配列を含むベクター。

実施形態209

実施形態142～207のいずれか一項に記載のアデノシン塩基エディターおよびガイドポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクター。

実施形態210

前記ベクターがウイルスベクター、レンチウイルスベクター、またはAAVベクターである、実施形態208または209に記載のベクター。

実施形態211

実施形態142～207のいずれか一項記載の塩基エディターシステムまたは実施形態208～210のいずれか一項記載のベクターを含む、細胞。

実施形態212

中枢神経系細胞である、実施形態211記載の細胞。

10

20

30

40

50

実施形態 213

ニューロンである、実施形態211に記載の細胞。

実施形態 214

光受容体である、実施形態211記載の細胞。

実施形態 215

細胞がインビトロ、インビオまたはエクスピオである、実施形態211～214のいずれか一項記載の細胞。

実施形態 216

実施形態142～207のいずれか一項記載の塩基エディター、実施形態208～210のいずれか一項記載のベクター、又は実施形態211～215のいずれか一項記載の細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

10

実施形態 217

脂質をさらに含む、実施形態216記載の医薬組成物。

実施形態 218

ウイルスをさらに含む、実施形態216記載の医薬組成物。

実施形態 219

実施形態142～207のいずれか一項記載の塩基エディター、または実施形態208～210のいずれか一項記載のベクターを含む、キット。

実施形態 220

前記ガイドポリヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオチドが非天然の修飾を含む、実施形態1～139のいずれか一項記載の方法。

20

実施形態 221

前記核酸配列の少なくとも一つのヌクレオチドが非天然の修飾を含む、実施形態14、31、45、58、74、85、97または110のいずれか一項記載の方法。

実施形態 222

前記核酸配列の少なくとも一つのヌクレオチドが非天然の修飾を含む、実施形態155、166、178または191のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 223

前記非天然の修飾が化学修飾である、実施形態222に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 224

前記化学修飾が2'-O-メチル化である、実施形態223に記載の塩基エディターシステム。

30

実施形態 225

前記核酸配列がホスホロチオエートを含む、実施形態223に記載の塩基エディターシステム。

[他の実施形態]

以上の説明から、本明細書に記載された発明を様々な用途および条件に適合させるために、それに変形および修正を加えることができることは明らかである。そのような実施形態も、下記の特許請求の範囲の範囲内である。

【手続補正2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

40

【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】

対象における神経障害の治療用の医薬組成物であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

50

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82またはそれに対応する位置でのV82S改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって前記神経障害を治療する、
医薬組成物。

【請求項2】

前記神経障害がハーラー症候群、パーキンソン病、レット症候群、またはシユタルガルト病である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

(i) 前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ(IDUA)遺伝子であり、前記神経疾患がハーラー症候群であるか；または

(ii) 前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)遺伝子であり、前記神経障害がパーキンソン病であるか；または

(iii) 前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2(MECP2)遺伝子であり、前記神経障害がレット症候群であるか；または

(iv) 前記標的遺伝子がATP結合力セットサブファミリーメンバー4(ABCA4)遺伝子であり、神経疾患がシユタルガルト病である、

請求項1または2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

(i) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むか；または

(ii) 前記LRRK2遺伝子またはその調節エレメントがパーキンソン病に関連するSNPを含むか；または

(iii) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含むか；または

(iv) 前記ABCA4遺伝子またはその調節エレメントが、シユタルガルト病に関連するSNPを含む、

請求項1～3のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項5】

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群、パーキンソン病、レット症候群、またはシユタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、請求項1～4のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項6】

(i) 前記ハーラー症候群に関連するSNPが、配列番号4における番号付けでIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリアントをもたらし、ここでXは終止コドンであるか；または

(ii) 前記パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリアントをもたらすか；または

(iii) 前記レット症候群に関連するSNPが、配列番号5における番号付けでMECP2ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリアントをもたらすか；または

(iv) 前記シユタルガルト病に関連するSNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリアントをもたらす、

請求項4または5に記載の医薬組成物。

【請求項7】

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群、パーキンソン病、レット症候群、またはシユタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、請求項4に記

10

20

30

40

50

載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

ハーラー症候群に関連するSNPにおけるAからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記ガイドポリヌクレオチドが、
ハーラー症候群のための5'-GACUCUAGGCAGAGGUUCUAA-3'、5'-ACUCUAGGCAGAGGUUCUAA-3'、5'-CUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUUAGGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群；

パーキンソン病のための5'-AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA-3'、5'-ACUACAGCAUUGCUCAGUAC-3'からなる群；

レット症候群のための5'-CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5'-AGCUUCCAUGUCCAGCCUUC-3'、5'-ACCAUGAAGUCAAAAUCAUU-3'、および5'-GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG-3'からなる群；および

シュタルガルト病のための5'-CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3'

より選択される核酸配列を含むsgRNAである、請求項1～9のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させるか；または

前記AからGへの改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させるか；または

前記AからGへの改変が、配列番号3における番号付けでのLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエントの位置144でシステイン(C)またはヒ

スチジン(H)をアルギニン(R)に置換するか、または位置2019でセリンをグリシン(G)に置換する。

請求項3または4に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

前記レット症候群に関連するSNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらし、ここでXは終止コドンであるか；またはレット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、終止コドンをMECP2ポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、請求項3または4に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントを編集するインヒトロまたはエクスピボの方法であって、前記標的遺伝子またはその調節エレメントを、(i)アデノシン塩基エディターと、(ii)ガイドポリヌクレオチドとに接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

方法。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

前記神経障害がハーラー症候群、パーキンソン病、レット症候群、およびシュタルガルト病からなる群から選択され；および／または、前記接触させることが細胞内で起こる、請求項13に記載の方法。

【請求項 15】

前記AからGへの核酸塩基改変が、前記神経障害に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させるか；または前記AからGへの核酸塩基改変が、前記神経障害に関連するSNPを、前記神経障害の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、請求項13または14に記載の方法。

【請求項 16】

(i) 前記パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けてLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらすか；または

(ii) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させるか；または

(iii) 前記AからGへの改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させるか；または

(iv) 前記AからGへの改変が、配列番号3における番号付けてのLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエントの位置144のシステイン(C)またはヒスチジン(H)をアルギニン(R)に置換するか、または位置2019のセリンをグリシン(G)に置換する、

10

請求項13～15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

ロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2)遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスピボの方法であって、前記LRRK2遺伝子またはその調節エレメントを、(i)アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記ガイドポリヌクレオチドが前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子のSNPにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、前記SNPは、配列番号3における番号付けてLRRK2ポリペプチドにおけるG2019S変異体またはそのバリエントをコードしない、方法。

30

【請求項 18】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置におけるアミノ酸置換を含み；および／または

前記ガイドポリヌクレオチドは核酸配列5'-AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA-3'または5'-ACUACAGCAUUGCUCAGUAC-3'を含むsgRNAである、

40

請求項17または18に記載の方法。

【請求項 20】

アルファ-L-イズロニダーゼ(IDUA)遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスピボの方法であって、IDUA遺伝子またはその調節エレメントを、(i)アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

50

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、方法。

【請求項 2 1】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

(i) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むか；または

(i i) 前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPにおけるものであるか；または

(i i i) ハーラー症候群に関連する前記SNPが、配列番号4における番号付でIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらし、ここでXは終止コドンであるか；または
(i v) 前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させるか；または

(v) 前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させるか；または

(v i) ハーラー症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させるか；または

(v i i) 前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含むか；または

(v i i i) 前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなすか；または

(i x) 前記ガイドポリヌクレオチドが、5'-GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3' からなる群より選択される核酸配列を含むsgRNAである、

請求項 2 0 または 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

メチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスピボの方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列を、MECP2遺伝子またはその調節エレメントに接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付でアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してMECP2遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、方法。

【請求項 2 4】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

(i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み；および / または

(i i) 前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものであり；および / または

(i i i) 前記レット症候群と関連するSNPが、配列番号5における番号付でMECP2

10

20

30

40

50

ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらすか；またはMECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらし、ここでXは終止コドンであり；および／または

(i v) 前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v) 前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v i) レット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、MECP2ポリペプチドにおいて終止コドンをトリプトファンに変化させ；および／または

(v i i) 前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含み；および／または

(v i i i) 前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む单一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなし；および／または

(i x) 前記ガイドポリヌクレオチドが、5' - CUUUUCACUUCUCCUGCCGGGG-3'、5' - AGCUUCCAUGUCCAGCCUUC-3'、5' - ACCAUGAAGUAAAUCAUU-3'、および 5' - GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG-3' からなる群より選択される核酸配列を含む、

請求項23または24に記載の方法。

【請求項26】

ATP結合力セットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスピボの方法であって、前記ABCA4遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けてアミノ酸位置82もしくは166、またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してABCA4遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

方法。

【請求項27】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

(i) ABCA4遺伝子が、シユタルガルト病に関連するSNPを含み；および／または

(i i) 前記AからGへの核酸塩基改変が、シユタルガルト病に関連するSNPにおけるものであり；および／または

(i i i) シユタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けてABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリエントをもたらし；および／または

(i v) 前記AからGへの核酸塩基改変が、シユタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、シユタルガルト病に関連するSNPを、シユタルガルト病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v i) 前記ガイドポリヌクレオチドが、シユタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含み；および／または

(v i i) 前記アデノシン塩基エディターが、シユタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む单一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなし；および／または

10

20

30

40

50

(viii) 前記ガイドポリヌクレオチドが、配列5'-CUCCAGGGCGAACUUCGACA-CACAGC-3'を含むsgRNAである、

請求項26または27に記載の方法。

【請求項29】

請求項13~28のいずれか一項に記載の方法によって產生される細胞。

【請求項30】

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して、LRRK2、IDUA、MECP2、およびABCA4からなる群から選択される神經障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

【請求項31】

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがCas9である、請求項30に記載の塩基エディターシステム。

【請求項32】

前記Cas9がSpCas9、SaCas9、またはそのバリアントである、請求項31に記載の塩基エディターシステム。

【請求項33】

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、NGG、NGA、NGCG、NGN、NNGRRT、NNNRRT、NGCG、NGCN、NGTN、およびNGCからなる群より選択される改変されたプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)特異性を有する改変されたSpCas9を含み、ここでNはA、G、CまたはTであり、RはAまたはGである、請求項30~32のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

【請求項34】

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、

(i) ヌクレアーゼ不活性バリアントであるか；または

(ii) ニッカーゼバリアントであるか；または

(iii) アミノ酸置換D10Aまたはそれに対応するアミノ酸置換を含むニッカーゼバリアントである。

請求項30~33のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

【請求項35】

(i) 前記アデノシンデアミナーゼドメインがTadAドメインを含むか；または

(ii) 前記アデノシンデアミナーゼが、V82S改変および/またはT166R改変を含むTadAデアミナーゼを含むか；または

(iii) 前記アデノシンデアミナーゼが、Y147T、Y147R、Q154S、Y123H、Q154R、またはそれらの組み合わせのうちの1つ以上の改変をさらに含むか；または

(iv) 前記アデノシンデアミナーゼが、Y147R+Q154R+Y123H; Y147R+Q154R+I76Y; Y147R+Q154R+T166R; Y147T+Q154R; Y147T+Q154S；およびY123H+Y147R+Q154R+I76Yからなる群から選択される改変の組み合わせを含むか；または

(v) 前記アデノシン塩基エディタードメインがアデノシンデアミナーゼ単量体を含むか；または

(vi) 前記アデノシン塩基エディタがアデノシンデアミナーゼ二量体を含むか；または

(vii) 前記TadAデアミナーゼがTadA*8バリアントであるか；または

(viii) 前記前記TadAデアミナーゼが、TadA*8.1、TadA*8.2、TadA*8.3、Ta

10

20

40

50

dA*8.4、TadA*8.5、TadA*8.6、TadA*8.7、TadA*8.8、TadA*8.9、TadA*8.10、TadA*8.11、TadA*8.12、およびTadA*8.13からなる群から選択されるTadA*8バリアントであるか；または

(i x) 前記アデノシン塩基エディターが、ABE8.1、ABE8.2、ABE8.3、ABE8.4、ABE8.5、ABE8.6、ABE8.7、ABE8.8、ABE8.9、ABE8.10、ABE8.11、ABE8.12、およびABE8.13からなる群から選択されるABE8塩基エディターである、

請求項30～34のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

【請求項36】

請求項30～35のいずれか一項に記載のアデノシン塩基エディターをコードする核酸配列を含むベクター。

10

【請求項37】

前記ベクターがウイルスベクター、レンチウイルスベクター、またはAAVベクターである、請求項36に記載のベクター。

【請求項38】

請求項30～35のいずれか一項に記載の塩基エディターシステムまたは請求項36もしくは37に記載のベクターを含む、細胞。

20

【請求項39】

請求項30～35のいずれか一項記載の塩基エディター、請求項36もしくは37に記載のベクター、又は請求項38に記載の細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項40】

脂質をさらに含む、請求項39記載の医薬組成物。

【請求項41】

請求項30～35のいずれか一項記載の塩基エディター、請求項36もしくは37に記載のベクター、または38に記載の細胞を含む、キット。

30

40

50