

【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1年7月18日(2019.7.18)

【公表番号】特表2018-523977(P2018-523977A)

【公表日】平成30年8月30日(2018.8.30)

【年通号数】公開・登録公報2018-033

【出願番号】特願2017-564333(P2017-564333)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 35/14 (2015.01)

A 6 1 K 35/28 (2015.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 35/35 (2015.01)

A 6 1 K 35/44 (2015.01)

A 6 1 K 35/545 (2015.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 P 19/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/18 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 L 27/36 (2006.01)

A 6 1 L 27/38 (2006.01)

A 6 1 L 27/40 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 5/10 Z N A

A 6 1 K 35/14 Z

A 6 1 K 35/28

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 K 35/35

A 6 1 K 35/44

A 6 1 K 35/545

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 7/06

A 6 1 P 19/00

A 6 1 P 31/18

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 37/04

A 6 1 L 27/36 1 0 0

A 6 1 L 27/36 3 0 0

A 6 1 L 27/38 1 0 0

A 6 1 L 27/38 3 0 0

A 6 1 L 27/40

【手続補正書】

【提出日】令和1年6月10日(2019.6.10)

【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】

血球中のヒト白血球抗原(HLA)遺伝子の第1の対立遺伝子の細胞表面発現を低減する方法であって、以下：

第1の対立遺伝子特異的gRNA分子およびCas9分子と前記血球を接触させて、これにより、前記HLA遺伝子の前記第1の対立遺伝子の前記細胞表面発現を低減するステップであって、

前記第1の対立遺伝子特異的gRNA分子が、前記HLA遺伝子中の標的ドメインと相補的である標的化ドメインを含み、

前記対立遺伝子特異的gRNA分子および前記Cas9分子が、前記HLA遺伝子の前記第1の対立遺伝子と結合する、
ステップ

を含む方法。

【請求項2】

対立遺伝子特異的遺伝子修飾を有する細胞の集団を含む組成物を製造する方法であって、前記方法は、

対立遺伝子特異的gRNA分子およびCas9分子と血球の集団を接触させて、前記対立遺伝子特異的gRNA分子および前記Cas9分子を、同定可能なHLA遺伝子産物をコードするHLA遺伝子の単一对立遺伝子と結合させるステップであって、前記対立遺伝子特異的gRNA分子が、前記HLA遺伝子中の標的ドメインと相補的である標的化ドメインを含むステップ；ならびに

前記同定可能なHLA遺伝子産物を発現するが、前記HLA遺伝子の前記単一对立遺伝子は発現しない細胞を富化するステップ
を含む方法。

【請求項3】

前記血球が、一次血球、幹細胞、または造血幹/前駆細胞(HSC)である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記細胞が、循環血球、動員血球、骨髓細胞、骨髓系前駆細胞、リンパ球系前駆細胞、リンパ球、複能性前駆細胞、系列特異的前駆細胞、内皮細胞、または間葉系間質細胞からなる群から選択される、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記HLA遺伝子が、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DRB1、HLA-DRB3/4/5、HLA-DQ、およびHLA-DPからなる群から選択される、請求項1~4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記細胞を、第2のgRNA分子と接触させるステップをさらに含み、ここで、前記第2のgRNA分子は、表16に記載される遺伝子を標的化する、請求項1~5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】

データベーススキーマを用いて、第1の対立遺伝子特異的gRNA分子を選択するステップをさらに含む、請求項1~6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 8】

データベーススキームを用いて、前記第 1 の対立遺伝子特異的 g R N A 分子を選択するステップが、以下：

コンピューターシステムのインターフェースを介して、第 1 の対象の前記内在性免疫原性遺伝子の第 1 の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；

前記コンピューターシステムのインターフェースを介して、第 2 の対象の前記内在性免疫原性遺伝子の第 2 の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；

前記第 1 および第 2 の複数の対立遺伝子の一覧を処理して、前記第 1 の複数の対立遺伝子と第 2 の複数の対立遺伝子との間で 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を同定するステップ；

1 つまたは複数の g R N A 分子が、前記第 2 の複数の対立遺伝子の前記 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるか否かを決定するためにデータベースに問い合わせるステップ；

前記データベースからの 1 つまたは複数の g R N A 分子が、前記 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるという決定に応じて、好適であることが判明した前記 1 つまたは複数の g R N A 分子を同定する g R N A 分子のリストを作成するステップ；

g R N A 分子のリストをランク付けするステップ；ならびに

前記 g R N A 分子のランク付けリストを表示するステップ

を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記 C a s 9 分子が、

(a) 酵素的に活性な C a s 9 (e a C a s 9) 分子であって、前記 e a C a s 9 分子が、前記内在性免疫原性遺伝子内に一本鎖切断または二本鎖切断を生成する、e a C a s 9 分子；

(b) 野生型 C a s 9 ；

(c) C a s 9 ニッカーゼ；

(d) 不活性型 C a s 9 (d C a s 9) ；

(e) 分割型 C a s 9 ；

(f) 誘導性 C a s 9 ；

(g) N 末端 R u v C 様ドメイン切断活性を含むが H N H 様ドメイン切断活性は含まない C a s 9 分子；

(h) 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) C a s 9 のアミノ酸位置 N 8 6 3 に対応するアミノ酸位置にアミノ酸突然変異を含む C a s 9 分子；

(i) H N H 様ドメイン切断活性を含むが N 末端 R u v C 様ドメイン切断活性を含まない C a s 9 分子；および

(j) 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) C a s 9 のアミノ酸位置 D 1 0 に対応するアミノ酸位置にアミノ酸突然変異を含む C a s 9 分子

からなる群から選択される、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記 C a s 9 分子が、C a s 9 ポリペプチドである、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記 C a s 9 ポリペプチドが、スタフィロコッカス・アウレウス (S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s) C a s 9 ポリペプチドまたは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) C a s 9 ポリペプチドである、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記 g R N A 分子と前記 C a s 9 ポリペプチドが、事前に形成されたりボヌクレオチド複合体中で結合されている、請求項 1 0 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記細胞をテンプレート核酸と接触させるステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記テンプレート核酸が、一本鎖オリゴデオキシヌクレオチド (s s O D N) である、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記細胞をトランスジーンと接触させるステップをさらに含み、ここで、前記接触ステップは、前記トランスジーンが、前記細胞の前記ゲノム、または前記細胞の集団の細胞に組み込まれることを可能にする条件下で行う、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

(a) 前記トランスジーンが、免疫同一ヒト白血球抗原 (H L A) をコードする遺伝子、化学療法選択マーカー、細胞表面抗原、または自殺遺伝子である遺伝子である ;

(b) 前記トランスジーンが、H L A 遺伝子またはその断片である ; または

(c) 前記トランスジーンが、H L A - A、H L A - B、H L A - C、H L A - D R B 1、H L A - D R B 3 / 4 / 5、H L A - D Q、および H L A - D P からなる群から選択される H L A 遺伝子またはその断片である、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記方法が、血球の集団中の前記 H L A 遺伝子の前記第 1 の対立遺伝子の前記細胞表面発現を低減するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記方法が、前記対立遺伝子特異的抗体を用いて、前記細胞の集団を選別することにより、前記 H L A 遺伝子の特定の対立遺伝子を発現する細胞を選択するステップをさらに含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法により改変される細胞または細胞の集団。

【請求項 2 0】

請求項 1 9 に記載の細胞または細胞の集団を含む医薬組成物。

【請求項 2 1】

対象の疾患を治療または予防する際に使用するための、請求項 1 9 に記載の細胞もしくは細胞の集団を含む組成物または請求項 2 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

ヒト白血球抗原 (H L A) 遺伝子の第 1 の対立遺伝子に修飾を含む血球または血球の集団であって、前記血球が、第 1 の対立遺伝子特異的修飾 g R N A 分子および C a s 9 分子と接触している血球または血球の集団。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 9 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 9 8】

さらに、処理装置による実行の命令を保存する非一時的コンピューター可読記憶媒体も提供され、命令の実行によって、処理装置はスキーマに従いデータベースを作成し、スキーマは、以下を規定する：H L A 対立遺伝子に関するデータを保存する対立遺伝子テーブル；g R N A に関するデータを保存する g R N A テーブル；対立遺伝子テーブルの記録と g R N A テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子 g R N A リレーションテーブル（ここで、対立遺伝子テーブルは、対立遺伝子 g R N A リレーションテーブ

ルと1対多のリレーションシップを有し、gRNAテーブルは、対立遺伝子gRNAリレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有する)；ハプロタイプに関するデータを保存するハプロタイプテーブル(ここで、対立遺伝子テーブルは、ハプロタイプテーブルと1対多のリレーションシップを有する)；系統情報に関するデータを保存する系統テーブル；ハプロタイプテーブルの記録と系統テーブルの記録とのリレーションシップを保存する系統ハプロタイプリレーションテーブル(ここで、ハプロタイプテーブルは、系統ハプロタイプリレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有し、系統テーブルは、系統ハプロタイプリレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有する)；複数の系統内に発生する対立遺伝子の頻度に関するデータを保存する対立遺伝子頻度テーブル(ここで、対立遺伝子テーブルは、対立遺伝子頻度テーブルと1対多のリレーションシップを有する)；ならびに対立遺伝子頻度テーブルの記録と系統テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子系統リレーションテーブル(ここで、対立遺伝子頻度テーブルは、対立遺伝子系統リレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有し、系統テーブルは、対立遺伝子系統リレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有する)。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目1)

免疫適合性血球を生成する方法であって、以下：

第1の対立遺伝子特異的修飾gRNA分子およびCas9分子と血球を接触させて、前記第1対立遺伝子特異的修飾gRNA分子および前記Cas9分子を、内在性免疫原性遺伝子の第1の対立遺伝子と結合させ、

これにより、前記内在性免疫原性遺伝子の第1の対立遺伝子を修飾して、前記免疫適合性血球を生成するステップ

を含む方法。

(項目2)

血球中の内在性免疫原性遺伝子を修飾する方法であって、以下：

データベーススキームを用いて、第1の対立遺伝子特異的gRNA分子を選択するステップ、ならびに

前記第1の対立遺伝子特異的gRNA分子およびCas9分子と前記血球を接触させて、前記対立遺伝子特異的gRNA分子および前記Cas9分子を、内在性免疫原性遺伝子の第1の対立遺伝子と結合させ、これにより、前記内在性免疫原性遺伝子の第1の対立遺伝子を修飾するステップ

を含む方法。

(項目3)

血球中の内在性免疫原性遺伝子の第1の対立遺伝子の前記細胞表面発現を低減する方法であって、以下：

第1の対立遺伝子特異的gRNA分子およびCas9分子と前記血球を接触させて、前記対立遺伝子特異的gRNA分子および前記Cas9分子を、前記内在性免疫原性遺伝子の第1対立遺伝子と結合させ、

これにより、前記内在性免疫原性遺伝子の第1の対立遺伝子の前記細胞表面発現を低減するステップ

を含む方法。

(項目4)

ハプロタイプ修飾血球を対象に移植する方法であって、以下：

内在性免疫原性遺伝子に第1ハプロタイプを有する第1の対象から血球を単離するステップ、

第1対立遺伝子特異的gRNA分子およびCas9分子と前記血球を接触させて、前記第1対立遺伝子特異的gRNA分子を、内在性免疫原性遺伝子の第1対立遺伝子と結合させ、これにより、前記内在性免疫原性遺伝子の第1の対立遺伝子を修飾するステップ、ならびに

内在性免疫原性遺伝子に第2ハプロタイプを有する第2の対象に前記血球を移入するステップを含む方法。

(項目5)

対立遺伝子特異的遺伝子修飾を有する細胞の集団を含む組成物を製造する生体外の方法であって、以下：

対立遺伝子特異的gRNA分子およびCas9分子と細胞の集団を接触させて、前記対立遺伝子特異的gRNA分子および前記Cas9分子を、同定可能な遺伝子産物をコードする遺伝子の単一对立遺伝子と結合させるステップ；ならびに

前記同定可能な遺伝子産物を発現するが、前記第1対立遺伝子は発現しない細胞を富化するステップを含む方法。

(項目6)

前記細胞の集団が、血球の集団である、項目5に記載の方法。

(項目7)

前記血球が、造血幹/前駆細胞(HSC)である、項目6に記載の方法。

(項目8)

前記細胞の集団が、循環血球の集団、動員血球の集団、骨髓細胞の集団、骨髓系前駆細胞の集団、リンパ球系前駆細胞の集団、リンパ球の集団、複能性前駆細胞の集団、系列特異的前駆細胞の集団、内皮細胞の集団、もしくは間葉系間質細胞の集団、またはこれらの組合せからなる群から選択される、項目5~7のいずれか1項に記載の方法。

(項目9)

前記血球が、幹細胞である、項目1~4のいずれか1項に記載の方法。

(項目10)

前記幹細胞が、造血幹/前駆細胞(HSC)である、項目4に記載の方法。

(項目11)

前記細胞が、循環血球、動員血球、骨髓細胞、骨髓系前駆細胞、リンパ球系前駆細胞、リンパ球、複能性前駆細胞、系列特異的前駆細胞、内皮細胞、または間葉系間質細胞からなる群から選択される、項目1~4、9および10のいずれか1項に記載の方法。

(項目12)

前記gRNA分子が、修飾gRNA分子である、項目2~11のいずれか1項に記載の方法。

(項目13)

前記gRNA分子が、ヒト白血球抗原(HLA)遺伝子中の標的ドメインと相補的である標的化ドメインを含む、項目1~12のいずれか1項に記載の方法。

(項目14)

前記HLA遺伝子が、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DRB1、HLA-DRB3/4/5、HLA-DQ、およびHLA-DPからなる群から選択される、項目13に記載の方法。

(項目15)

前記細胞、または細胞の集団を、第2のgRNA分子と接触させるステップをさらに含み、ここで、前記第2のgRNA分子は、表16に記載される遺伝子を標的化する、項目1~14のいずれか1項に記載の方法。

(項目16)

前記第2のgRNA分子が、修飾gRNA分子である、項目15に記載の方法。

(項目17)

前記細胞を第2のCas9分子と接触させるステップをさらに含み、項目1~16のいずれか1項に記載の方法。

(項目18)

前記Cas9分子が、酵素的に活性なCas9(eaCas9)分子である、項目1~

17のいずれか1項に記載の方法。

(項目19)

前記e a C a s 9分子が、前記内在性免疫原性遺伝子内に一本鎖切断を生成する、項目18に記載の方法。

(項目20)

前記e a C a s 9分子が、前記内在性免疫原性遺伝子内に二本鎖切断を生成する、項目15に記載の方法。

(項目21)

前記C a s 9分子が、野生型C a s 9、C a s 9ニッカーゼ、不活性型C a s 9 (d C a s 9)、分割型C a s 9、および誘導性C a s 9からなる群から選択される、項目1~20のいずれか1項に記載の方法。

(項目22)

前記C a s 9分子が、N末端R u v C様ドメイン切断活性を含むが、H N H様ドメイン切断活性は含まない、項目1~18のいずれか1項に記載の方法。

(項目23)

前記C a s 9分子が、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) C a s 9のアミノ酸位置N 8 6 3に対応するアミノ酸位置にアミノ酸突然変異を含む、項目22に記載の方法。

(項目24)

前記C a s 9分子が、H N H様ドメイン切断活性を含むが、N末端R u v C様ドメイン切断活性を含まない、項目1~18のいずれか1項に記載の方法。

(項目25)

前記C a s 9分子が、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) C a s 9のアミノ酸位置D 1 0に対応するアミノ酸位置にアミノ酸突然変異を含む、項目24に記載の方法。

(項目26)

前記C a s 9分子が、C a s 9ポリペプチドである、項目1~25のいずれか1項に記載の方法。

(項目27)

前記C a s 9ポリペプチドが、スタフィロコッカス・アウレウス (S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s) C a s 9ポリペプチドである、項目26に記載の方法。

(項目28)

前記C a s 9ポリペプチドが、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) C a s 9ポリペプチドである、項目26に記載の方法。

(項目29)

前記g R N A分子と前記C a s 9ポリペプチドが、事前に形成されたりボヌクレオチド複合体中で結合されている、項目26~28のいずれか1項に記載の方法。

(項目30)

前記C a s 9分子が、C a s 9ポリペプチドをコードする核酸である、項目1~25のいずれか1項に記載の方法。

(項目31)

前記修飾g R N A分子が、5'末端キャップ構造を含む、項目1または12~30のいずれか1項に記載の方法。

(項目32)

前記5'末端キャップ構造が、3'-O-Me-m7G(5')ppp(5')G抗リバースキャップアナログ (A R C A) である、項目31に記載の方法。

(項目33)

前記修飾g R N A分子が、3'末端ポリ-Aテールを含む、項目1または12~32のいずれか1項に記載の方法。

(項目34)

前記細胞、または前記細胞の集団をテンプレート核酸と接触させるステップをさらに含む、項目 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 3 5)

前記テンプレート核酸が、一本鎖オリゴデオキシヌクレオチド (s s O D N) である、項目 3 4 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記テンプレート核酸が、アデノ関連ウイルス (A A V) または組込み欠陥レンチウイルス (I L D V) を用いて、細胞、または細胞の集団に送達される、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記 s s O D N が、5 ' ホスホロチオエート修飾を含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記 s s O D N が、3 ' ホスホロチオエート修飾を含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記 s s O D N が、5 ' ホスホロチオエート修飾と 3 ' ホスホロチオエート修飾を含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記細胞、または前記細胞の集団をトランスジーンと接触させるステップをさらに含み、ここで、前記接触ステップは、前記トランスジーンが、前記細胞の前記ゲノム、または前記細胞の集団の細胞に組み込まれることを可能にする条件下で行う、項目 1 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 1)

前記トランスジーンが、免疫同一ヒト白血球抗原 (H L A) をコードする遺伝子、化学療法選択マーカー、細胞表面抗原、または自殺遺伝子である遺伝子である、項目 4 0 に記載の方法。

(項目 4 2)

前記トランスジーンが、H L A 遺伝子またはその断片である、項目 4 1 に記載の方法。

(項目 4 3)

前記 H L A 遺伝子が、H L A - A、H L A - B、H L A - C、H L A - D R B 1、H L A - D R B 3 / 4 / 5、H L A - D Q、および H L A - D P からなる群から選択される、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記細胞、または前記細胞の集団を e i C a s 9 分子と接触させるステップをさらに含む、項目 1 ~ 4 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 5)

前記 e i C a s 9 を転写レプレッサーまたは転写アクチベーターと融合させる、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 6)

前記細胞が、細胞の集団を含む、項目 1 ~ 4、および 5 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 7)

前記対立遺伝子特異的抗体を用いて、前記細胞の集団を選別することにより、1 遺伝子の特定の対立遺伝子を発現する細胞を選択するステップをさらに含む、項目 4 6 に記載の方法。

(項目 4 8)

前記遺伝子が、免疫原性遺伝子である、項目 4 7 に記載の方法。

(項目 4 9)

前記細胞の集団が、蛍光活性化細胞選別 (F A C S) または免疫原性マイクロビーズ媒介性細胞選別によって選別される、項目 4 7 または項目 4 8 に記載の方法。

(項目 5 0)

前記内在性免疫原性遺伝子に第1ハプロタイプを有する第1の対象から前記血球を単離するステップをさらに含む、項目1～4のいずれか1項に記載の方法。

(項目51)

前記接触ステップ後に、前記内在性免疫原性遺伝子に第2ハプロタイプを有する第2の対象に前記血球を移入するステップをさらに含む、項目1～4または50のいずれか1項に記載の方法。

(項目52)

前記接触ステップ後に、生体外で前記細胞または細胞の集団を拡大するステップをさらに含む、項目1～51のいずれか1項に記載の方法。

(項目53)

T細胞補充療法をさらに含む、項目1～52のいずれか1項に記載の方法。

(項目54)

前記ハプロタイプ修飾血球が、ドナーとレシピエントの細胞間のマッチングの増大に基づく第2の対象による拒絶の低い尤度、ならびに混合リンパ球または白血球反応アッセイにより決定される低い免疫原性を有する、項目4に記載の方法。

(項目55)

前記ハプロタイプ修飾血球が、前記第2の対象により拒絶されない、項目4に記載の方法。

(項目56)

前記遺伝子を発現するが、前記第1対立遺伝子は発現しない細胞を富化する前記ステップが、フローサイトメトリーによって前記細胞を選別するステップを含む、項目5に記載の方法。

(項目57)

前記遺伝子を発現するが、前記第1対立遺伝子は発現しない細胞を富化する前記ステップが、前記遺伝子の第1対立遺伝子によりコードされる前記同定可能な遺伝子産物の第1変異体と特異的に結合する第1抗体および前記同定可能な産物の第2変異体と結合する第2抗体と、前記複数の細胞の各々を接触させるステップを含む、項目56に記載の方法。

(項目58)

前記同定可能な遺伝子産物が、細胞表面マーカーである、項目5、56、または57のいずれか1項に記載の方法。

(項目59)

前記同定可能な遺伝子産物が、ヒト白血球抗原(HLA)である、項目58に記載の方法。

(項目60)

前記遺伝子の第1対立遺伝子が、前記同定可能な遺伝子産物の非機能性変異体をコードする、項目59に記載の方法。

(項目61)

前記遺伝子を発現するが、前記第1対立遺伝子は発現しない細胞を富化する前記ステップが、前記複数の細胞の各細胞において、前記同定可能な遺伝子産物の機能性変異体と結合した物質またはシグナルを検出するステップを含む、項目56に記載の方法。

(項目62)

前記細胞または細胞の集団が、一次血球または一次血球の集団である、項目1～61のいずれか1項に記載の方法。

(項目63)

項目1～62のいずれか1項に記載の方法により製造される組成物。

(項目64)

薬剤として使用するための項目63に記載の組成物。

(項目65)

移植に使用するための項目63に記載の組成物。

(項目66)

項目 1 ~ 6 2 のいずれか 1 項に記載の方法により改変される細胞または細胞の集団。

(項目 6 7)

項目 6 6 に記載の細胞または細胞の集団を含む医薬組成物。

(項目 6 8)

対象の疾患を治療または予防する方法であって、修飾細胞または項目 1 ~ 6 2 のいずれか 1 項に記載の方法により改変された細胞を前記対象に投与するステップを含む方法。

(項目 6 9)

内在性免疫原性遺伝子の第 1 対立遺伝子に修飾を含む血球であって、前記血球が、第 1 対立遺伝子特異的修飾 g R N A 分子および C a s 9 分子と接触している血球。

(項目 7 0)

内在性免疫原性遺伝子の第 1 対立遺伝子に修飾を含む血球の集団であって、前記血球の集団が、第 1 対立遺伝子特異的修飾 g R N A 分子および C a s 9 分子と接触している血球の集団。

(項目 7 1)

前記免疫原性遺伝子が、ヒト白血球抗原 (H L A) 遺伝子である、項目 6 9 に記載の血球、または項目 7 0 に記載の血球の集団。

(項目 7 2)

データベーススキーマを用いて、第 1 対立遺伝子特異的 g R N A 分子を選択するステップをさらに含む、項目 1 または 3 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7 3)

データベーススキーマを用いて、前記第 1 対立遺伝子特異的 g R N A 分子を選択するステップが、以下：

コンピューターシステムのインターフェースを介して、第 1 の対象の前記内在性免疫原性遺伝子の第 1 の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；

前記コンピューターシステムのインターフェースを介して、第 2 の対象の前記内在性免疫原性遺伝子の第 2 の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；

前記第 1 および第 2 の複数の対立遺伝子の一覧を処理して、前記第 1 の複数の対立遺伝子と第 2 の複数の対立遺伝子との間で 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を同定するステップ；

1 つまたは複数の g R N A 分子が、前記第 2 の複数の対立遺伝子の前記 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるか否かを決定するためにデータベースに問い合わせるステップ；

前記データベースからの 1 つまたは複数の g R N A 分子が、前記 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるという決定に応じて、好適であることが判明した前記 1 つまたは複数の g R N A 分子を同定する g R N A 分子のリストを作成するステップ；

g R N A 分子のリストをランク付けするステップ；ならびに

前記 g R N A 分子のランク付けリストを表示するステップ

を含む、項目 2 または項目 7 2 に記載の方法。

(項目 7 4)

データベーススキーマをインプリメントするための処理装置による実行の命令を保存する非一時的コンピューター可読記憶媒体であって、前記データスキーマが、以下：

主要 H L A 対立遺伝子に関するデータを保存する対立遺伝子テーブル；

g R N A に関するデータを保存する g R N A テーブル；

前記対立遺伝子テーブルの記録と前記 g R N A テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子 - g R N A - リレーションテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記対立遺伝子 - g R N A - リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有し、前記 g R N A テーブルは、前記対立遺伝子 - g R N A - リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；

ハプロタイプに関するデータを保存するハプロタイプテーブルであって、ここで、前記

対立遺伝子テーブルは、前記ハプロタイプテーブルと1対多のリレーションシップを有する、テーブル；

複数の系統内で発生するハプロタイプの頻度に関するデータを保存するハプロタイプ - 頻度テーブルであって、ここで、前記ハプロタイプテーブルは、前記ハプロタイプ - 頻度テーブルと1対1のリレーションシップを有する、テーブル；

系統に関するデータを保存する系統テーブル；

前記ハプロタイプ - 頻度テーブルの記録と前記系統テーブルの記録とのリレーションシップを保存する系統 - ハプロタイプ - リレーションテーブルであって、ここで、前記ハプロタイプ - 頻度テーブルは、前記系統 - ハプロタイプ - リレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有し、前記系統テーブルは、前記系統 - ハプロタイプ - リレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有する、テーブル；

複数の系統内で発生する対立遺伝子の頻度に関するデータを保存する対立遺伝子頻度テーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記対立遺伝子頻度テーブルと1対1のリレーションシップを有する、テーブル；ならびに

前記対立遺伝子頻度テーブルの記録と前記系統テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子系統リレーションテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子頻度テーブルは、前記対立遺伝子 - 系統 - リレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有し、前記系統テーブルは、前記対立遺伝子 - 系統 - リレーションテーブルと1対多のリレーションシップを有するテーブル

を含む、非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目75)

前記データスキーマが、以下：

マイナー組織適合性抗原に関するデータを保存するマイナー - 抗原テーブル；およびマイナー組織適合性抗原に対するHLA制限に関するデータを保存する主要 - マイナー - 制限テーブルをさらに含み、前記マイナー - 抗原テーブルは、前記主要 - マイナー - 制限テーブルと1対多のリレーションシップを有し、前記対立遺伝子テーブルは、前記主要 - マイナー - 制限テーブルと1対多のリレーションシップを有する、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目76)

前記対立遺伝子テーブルが、対立遺伝子idキー、対立遺伝子属性、遺伝子名属性、および対立遺伝子配列属性を含む、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体

。

(項目77)

前記gRNAテーブルが、gRNAidキー、Cas変異体属性、gRNA配列(PAMを含む)属性、gRNA配列(PAMを含まない)属性、鎖属性、直交性スコア属性、およびオフターゲットリスト情報属性を含む、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目78)

前記対立遺伝子 - ガイド - リレーションテーブルが、リレーションidキー、前記対立遺伝子テーブルの対立遺伝子idキーに対応する対立遺伝子id属性、および前記gRNAテーブルのgRNAidキーに対応するgRNAid属性を含む、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目79)

前記ハプロタイプテーブルが、ハプロタイプidキー、HLA - A - 対立遺伝子属性、HLA - B対立遺伝子属性、HLA - C対立遺伝子属性、HLA - DRB1遺伝子座属性、HLA - DRB3 / DRB4 / DRB5遺伝子座属性、HLA - DQB1対立遺伝子遺伝子座属性を含む、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目80)

前記ハプロタイプ - 頻度テーブルが、ハプロタイプ頻度idキー、前記ハプロタイプテーブルのハプロタイプidキーに対応するハプロタイプid属性、ヨーロッパ系統群にお

けるハプロタイプの発生頻度の属性、ヨーロッパ系統群におけるハプロタイプ発生のランクの属性、アフリカ系アメリカ人系統群におけるハプロタイプの発生頻度の属性、アフリカ系アメリカ人系統群におけるハプロタイプ発生のランクの属性、アジア系統群におけるハプロタイプの発生頻度の属性、アジア系統群におけるハプロタイプ発生のランクの属性、ヒスパニック系統群におけるハプロタイプの発生頻度の属性、ヒスパニック系統群におけるハプロタイプ発生のランクの属性、ユダヤ人系統群におけるハプロタイプの発生頻度の属性、およびユダヤ人系統群におけるハプロタイプ発生のランクの属性を含む、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目81)

前記対立遺伝子 - 頻度テーブルが、対立遺伝子頻度 i d キー、前記対立遺伝子テーブルの対立遺伝子 i d キーに対応する対立遺伝子 i d 属性、ヨーロッパ系統群における対立遺伝子の発生頻度の属性、ヨーロッパ系統群における対立遺伝子発生のランクの属性、アフリカ系アメリカ人系統群における対立遺伝子の発生頻度の属性、アフリカ系アメリカ人系統群における対立遺伝子発生のランクの属性、アジア系統群における対立遺伝子の発生頻度の属性、アジア系統群における対立遺伝子発生のランクの属性、ヒスパニック系統群における対立遺伝子の発生頻度の属性、ヒスパニック系統群における対立遺伝子発生のランクの属性、ユダヤ人系統群における対立遺伝子の発生頻度の属性、およびユダヤ人系統群における対立遺伝子発生のランクの属性を含む、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目82)

前記対立遺伝子 - 頻度テーブルが、前記対立遺伝子テーブルと依存リレーションシップを有し、前記対立遺伝子テーブルに完全に依存的である、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目83)

前記ハプロタイプ - 頻度テーブルが、ハプロタイプテーブルと依存リレーションシップを有し、前記ハプロタイプテーブルに完全に依存的である、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目84)

前記 g R N A が、H L A 対立遺伝子を編集するために設計される、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目85)

前記ハプロタイプが、異なる H L A 遺伝子の対立遺伝子群である、項目74に記載の非一時的コンピューター可読記憶媒体。

(項目86)

1つまたは複数の対立遺伝子を編集するための g R N A を同定するコンピューターシステムを用いて実施される方法であって、以下：

前記コンピューターシステムのインターフェースを介して、標的化移植片レシピエントの第1の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；

前記コンピューターシステムのインターフェースを介して、標的化移植片ドナーの第2の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；

前記第1および第2の複数の対立遺伝子の一覧を処理して、前記第1の複数の対立遺伝子と前記第2の複数の対立遺伝子との間で1つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を同定するステップ；

1つまたは複数の g R N A 分子が、前記第2の複数の対立遺伝子の前記1つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるか否かを決定するためにデータベースに問い合わせるステップ；

前記データベースからの1つまたは複数の g R N A が、前記1つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるという決定に応じて、好適であることが判明した前記1つまたは複数の g R N A を同定する g R N A のリストを作成するステップ；

前記 g R N A のリストをランク付けするステップ；ならびに

前記 g R N A のランク付けリストを表示するステップを含む方法。

(項目 8 7)

前記 g R N A のリストからの g R N A が、前記標的化移植片ドナーの前記第 2 の複数の対立遺伝子からのミスマッチ対立遺伝子を編集して、前記第 1 の複数の対立遺伝子と前記第 2 の複数の対立遺伝子間でマッチする対立遺伝子の数を増加させることができる、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記 g R N A のリストからの g R N A が、1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集して、標的化移植片レシピエントに移植片対宿主病 (G V H D) が発生する尤度を低減することができる、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記第 1 の複数の対立遺伝子の各々について前記 D N A 配列を表示するステップをさらに含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 0)

前記データベースが、1 つの人種群に発生する対立遺伝子の尤度を示す数を保存する、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 1)

1 系統内の前記第 1 の複数の対立遺伝子の各々の発生頻度を表示するステップをさらに含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記第 1 の複数の対立遺伝子の各々とマイナー組織適合性抗原との制限リレーションシップを表示するステップをさらに含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記第 1 の複数の対立遺伝子が、前記標的化移植片レシピエントの母系遺伝性主要 H L A ハプロタイプであり、前記第 2 の複数の対立遺伝子が、前記標的化移植片ドナーの母系遺伝性主要 H L A ハプロタイプである、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記第 1 の複数の対立遺伝子の一覧が、1 つの対立遺伝子、2 つの対立遺伝子、3 つの対立遺伝子、4 つの対立遺伝子、5 つの対立遺伝子、6 つの対立遺伝子、7 つの対立遺伝子、または 8 つの対立遺伝子を含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 5)

前記第 2 の複数の対立遺伝子の一覧が、1 つの対立遺伝子、2 つの対立遺伝子、3 つの対立遺伝子、4 つの対立遺伝子、5 つの対立遺伝子、6 つの対立遺伝子、7 つの対立遺伝子、または 8 つの対立遺伝子を含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 6)

前記 g R N A のリストが、1 つのミスマッチ対立遺伝子を編集するための 1 つの g R N A を同定する、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 7)

前記 g R N A のリストが、2 つ以上のミスマッチ対立遺伝子を編集するための 2 つ以上の g R N A を同定する、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 8)

前記 g R N A のリストが、2 つ以上のミスマッチ対立遺伝子を編集するための 1 つの g R N A を同定する、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 9)

前記データベースが、項目 7 4 に記載のデータベーススキーマを用いてインプリメントされる、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 1 0 0)

データベーススキーマをインプリメントするためのシステムであって、前記システムが、以下：

プロセッサ；および

データベーススキーマを保存するメモリーを含み、このデータスキーマは、以下：

H L A 対立遺伝子に関するデータを保存する対立遺伝子テーブル；

g R N A に関するデータを保存する g R N A テーブル；

前記対立遺伝子テーブルの記録と前記 g R N A テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子 g R N A リレーションテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記対立遺伝子 g R N A リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有し、前記 g R N A テーブルは、対立遺伝子 g R N A リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有するテーブル；

ハプロタイプに関するデータを保存するハプロタイプテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記ハプロタイプテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；

系統情報に関するデータを保存する系統テーブル；

前記ハプロタイプテーブルの記録と前記系統テーブルの記録とのリレーションシップを保存する系統ハプロタイプリレーションテーブルであって、ここで、前記ハプロタイプテーブルは、前記系統ハプロタイプリレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有し、前記系統テーブルは、前記系統ハプロタイプリレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；

複数の系統内に発生する対立遺伝子の頻度に関するデータを保存する対立遺伝子頻度テーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記対立遺伝子頻度テーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；ならびに

前記対立遺伝子頻度テーブルの記録と前記系統テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子系統リレーションテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子頻度テーブルは、前記対立遺伝子系統リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有し、前記系統テーブルは、前記対立遺伝子系統リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブルを含むシステム。

(項目 1 0 1)

1 つまたは複数の対立遺伝子を編集するための g R N A を同定するシステムであって、前記システムが、以下：

プロセッサ；および

命令を保存するメモリーを含み、これらの命令は、実行されると以下：

標的化移植片レシピエントの第 1 の複数の対立遺伝子の一覧を受信すること；

標的化移植片ドナーの第 2 の複数の対立遺伝子の一覧を受信すること；

前記第 1 および第 2 の複数の対立遺伝子の一覧を処理して、前記第 1 の複数の対立遺伝子と前記第 2 の複数の対立遺伝子との間で 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を同定すること；

データベースに問い合わせて、1 つまたは複数の g R N A 分子が、前記第 2 の複数の対立遺伝子の 1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるか否かを決定すること；

前記データベースからの 1 つまたは複数の g R N A が、1 つまたは複数のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるという決定に応じて、好適であることが判明した 1 つまたは複数の g R N A を同定する g R N A のリストを作成すること；

g R N A のリストをランク付けすること；ならびに

g R N A の前記ランク付けリストを表示すること

を前記プロセッサに行わせるシステム。

(項目 1 0 2)

処理装置による実行の命令を保存する非一時的コンピューター可読記憶媒体であって、前記命令の実行によって、前記処理装置は、

前記スキーマに従いデータベースを作成し、前記スキーマは、以下：

H L A 対立遺伝子に関するデータを保存する対立遺伝子テーブル；

g R N A に関するデータを保存する g R N A テーブル；

前記対立遺伝子テーブルの記録と前記 g R N A テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子 g R N A リレーションテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記対立遺伝子 g R N A リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有し、前記 g R N A テーブルは、前記対立遺伝子 g R N A リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；

ハプロタイプに関するデータを保存するハプロタイプテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記ハプロタイプテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；

系統情報に関するデータを保存する系統テーブル；

前記ハプロタイプテーブルの記録と前記系統テーブルの記録とのリレーションシップの記録を保存する系統ハプロタイプリレーションテーブルであって、ここで、前記ハプロタイプテーブルは、前記系統ハプロタイプリレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有し、前記系統テーブルは、前記系統ハプロタイプリレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；

複数の系統内に発生する対立遺伝子の頻度に関するデータを保存する対立遺伝子頻度テーブルであって、ここで、前記対立遺伝子テーブルは、前記対立遺伝子頻度テーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル；ならびに

前記対立遺伝子頻度テーブルの記録と前記系統テーブルの記録とのリレーションシップを保存する対立遺伝子系統リレーションテーブルであって、ここで、前記対立遺伝子頻度テーブルは、前記対立遺伝子系統リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有し、前記系統テーブルは、前記対立遺伝子系統リレーションテーブルと 1 対多のリレーションシップを有する、テーブル

を規定する、非一時的コンピューター可読記憶媒体。