

【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4月19日(2018.4.19)

【公表番号】特表2017-512500(P2017-512500A)

【公表日】平成29年5月25日(2017.5.25)

【年通号数】公開・登録公報2017-019

【出願番号】特願2017-502922(P2017-502922)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/741 (2015.01)

A 6 1 K 35/745 (2015.01)

A 6 1 K 35/747 (2015.01)

A 6 1 K 35/74 (2015.01)

A 6 1 K 36/062 (2006.01)

A 6 1 P 13/02 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

A 6 1 P 31/00

A 6 1 K 35/741

A 6 1 K 35/745

A 6 1 K 35/747

A 6 1 K 35/74 A

A 6 1 K 36/062

A 6 1 P 13/02 1 0 5

A 6 1 P 17/00 1 0 1

A 6 1 P 1/00

【手続補正書】

【提出日】平成30年3月7日(2018.3.7)

【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】

操作された遺伝システムであって、

毒性因子、毒素、エフェクター、病原性成分、および/または抗生物質耐性形質をコードする目的の核酸を特異的に標的とし、分解するように設計されたヌクレアーゼモジュール；ならびに

1つの宿主細胞から別の宿主細胞に前記システムを拡散させることができる合成可動性遺伝子エレメント(MGE)モジュール；

を含み、前記ヌクレアーゼモジュールが、前記MGEモジュール中に位置した遺伝子によってコードされるヌクレアーゼを含む、遺伝システム。

【請求項2】

前記ヌクレアーゼモジュールが、Casタンパク質および1つまたは複数の合成crRNAを含み、各crRNAが、前記目的の核酸に由来する標的配列を有するスペーサーを含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項3】

前記crRNA(複数可)が、CRISPRアレイから転写され、プロセッシングされる、請求項2に記載のシステム。

【請求項4】

前記CRISPRアレイが、誘導プロモーターまたは構成的プロモーターの制御下に置かれている、請求項3に記載のシステム。

【請求項5】

前記ヌクレアーゼモジュールが、前記Casタンパク質および前記crRNAと複合体を形成するtracrRNAをさらに含む、請求項2から4のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項6】

前記tracrRNAが、誘導プロモーターまたは構成的プロモーターの制御下に置かれている、請求項5に記載のシステム。

【請求項7】

前記tracrRNAおよび前記crRNAが、単一ガイドRNA中に備えられている、請求項5または6に記載のシステム。

【請求項8】

前記Casタンパク質が、構成的または誘導的に発現される、請求項2に記載のシステム。

【請求項9】

前記標的配列が、前記目的の核酸中のプロトスペーサー近接モチーフ(PAM)に直接隣接している、請求項2に記載のシステム。

【請求項10】

前記Casタンパク質が、Streptomyces pyogenes Cas9ヌクレアーゼであり、前記PAMが、前記標的配列の3'側にNGG配列を有する、請求項9に記載のシステム。

【請求項11】

前記ヌクレアーゼが、前記目的の核酸を標的とし、分解するように設計された転写アクチベーター様エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)を含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項12】

前記ヌクレアーゼが、前記目的の核酸を標的とし、分解するように設計された亜鉛フィンガーヌクレアーゼ(ZFN)を含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項13】

前記ヌクレアーゼが、前記目的の核酸を標的とし、分解するように設計されたメガヌクレアーゼを含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項14】

前記毒性因子、前記毒素、前記エフェクター、前記病原性成分、および/または前記抗生物質耐性形質が、表1および2に列挙されたものから選択される、請求項1に記載のシステム。

【請求項15】

前記MGEモジュールが、トランスポサーをコードする遺伝子、およびバクテリオファージ、接合性プラスミド、または接合性トランスポゾンから選択されるMGEを含む、請求項1に記載のシステム。

【請求項 16】

前記トランスポザーゼが、Tn3またはTn5に由来し、前記MGEが、Tn916、RK2、P1、Tn5280、またはTn4651に由来する、請求項15に記載のシステム。

【請求項 17】

疾患もしくは感染の防止および/もしくは処置、抗生物質耐性の防止および/もしくは処置、抗生物質耐性の伝播の限定、ならびに/または環境病原体の除染に使用するための組成物であって、請求項1に記載のシステムを含む操作された生物を含む組成物。

【請求項 18】

前記システムが、細菌細胞、古細菌細胞、および/または酵母細胞から選択される宿主中に導入される、請求項17に記載の組成物。

【請求項 19】

胃腸管内で使用するための経口組成物であって、請求項18に記載の操作された生物を含む操作されたプロバイオティクスを含む組成物。

【請求項 20】

尿路内で使用するための組成物であって、請求項18に記載の操作された生物を含む操作されたプロバイオティクスを含む組成物。

【請求項 21】

皮膚上で使用するための局所用組成物であって、請求項18に記載の操作された生物を含む操作されたプロバイオティクスを含む組成物。

【請求項 22】

前記宿主が、細菌のBacteroidetes、Firmicutes、Proteobacteria、Actinobacteria、Verrucomicrobia、またはFusobacteria門から選択される、請求項19から21のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 23】

前記宿主が、Bacteroides AFS519、Bacteroides sp. CCUG 39913、Bacteroides sp. Smarlab 3301186、Bacteroides ovatus、Bacteroides salyersiae、Bacteroides sp. MPN分離株群6、Bacteroides DSM 12148、Bacteroides merdae、Bacteroides distasonis、Bacteroides stercosis、Bacteroides splanchnicus、Bacteroides WH2、Bacteroides uniformis、Bacteroides WH302、Bacteroides fragilis、Bacteroides caccae、Bacteroides thetaiotamicron、Bacteroides vulgatus、およびBacteroides capillosusを含めたBacteroides種から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項 24】

前記宿主が、Clostridium leptum、Clostridium boltaea、Clostridium bartlettii、Clostridium symbiosum、Clostridium sp. DSM 6877 (FS41)、Clostridium A2-207、Clostridium scindens、Clostridium spiroforme、Clostridium sp. A2-183、Clostridium sp. SL6/1/1、Clostridium sp. GM2/1、Clostridium sp. A2-194、Clostridium sp. A2-166、Clostridium sp. A2-175、Clostridium sp. SR1/1、Clostridium sp. L1-83、Clostridium sp. L2-6、Clostridium sp. A2-231、Clostridium sp. A2-165、およびClo

stridium sp. SS2/1を含めた*Clostridium*種から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項25】

前記宿主が、*Eubacterium plautii*、*Eubacterium ventriosum*、*Eubacterium halii*、*Eubacterium siraeum*、*Eubacterium eligens*、および*Eubacterium rectale*を含めた*Eubacterium*種から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項26】

前記宿主が、*Alistipes finegoldii*、*Alistipes putredinis*、*Anaerotruncus colihominis*、*Allisonella histaminiformans*、*Bulleida moorei*、*Peptostreptococcus* sp. oral clone CK035、*Anaerococcus vaginalis*、*Ruminococcus bromii*、*Anaerofustis stercorihominis*、*Streptococcus mitis*、*Ruminococcus callidus*、*Streptococcus parasanguinis*、*Coproccoccus eutactus*、*Gemella haemolysans*、*Peptostreptococcus micros*、*Ruminococcus gnavus*、*Coproccoccus catus*、*Roseburia intestinalis*、*Roseburia faecalis*、*Ruminococcus obeum*、*Catenibacterium mitsuokai*、*Ruminococcus torques*、*Subdoligranulum variabile*、*Dorea formicigenans*、*Dialister* sp. E2_20、*Dorea longicatena*、*Faecalibacterium prausnitzii*、*Akkermansia muciniphila*、*Fusobacterium* sp. oral clone R002、*Escherichia coli*、*Haemophilus parainfluenzae*、*Bilophila wadsworthii*、*Desulfovibrio piger*、*Cornyebacterium durum*、*Bifidobacterium adolescentis*、*Actinomyces graevenitzi*、*Cornyebacterium sundsvallense*、*Actinomyces odontolyticus*、および*Collinsella aerofaciens*から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項27】

前記宿主が、*Lactobacillus*、*Bifidobacterium*、および/または*Streptococcus*属から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項28】

前記宿主が、*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus lactis*、*Lactobacillus reuteri*、*Lactobacillus rhamnosus*、*Lactobacillus acidophilus*、*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus paracasei*、*Lactobacillus bulgaricus*、*Lactobacillus fermentum*、および*Lactobacillus johnsonii*から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項29】

前記宿主が、*Bacillus coagulans* GBI-30,6086、*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12、*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* 35624、*Lactobacillus paracasei* St11(または

NCC2461)、Lactobacillus johnsonii La1 (Lactobacillus johnsonii NCC533)、Lactobacillus plantarum 299v、Lactobacillus reuteri ATCC 55730、Lactobacillus reuteri DSM 17938、Lactobacillus reuteri ATCC PTA 5289、Saccharomyces boulardii、Lactobacillus rhamnosus GR-1、Lactobacillus reuteri RC-14、Lactobacillus acidophilus CL1285、Lactobacillus casei LBC80R、Lactobacillus plantarum HEAL 9、Lactobacillus paracasei 8700:2、Streptococcus thermophilus、Lactobacillus paracasei LMG P 22043、Lactobacillus johnsonii BFE 6128、Lactobacillus fermentum ME-3、Lactobacillus plantarum BFE 1685、Bifidobacterium longum BB536、およびLactobacillus rhamnosus LB21 NCIMB 40564から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項30】

前記宿主が、Escherichia coli株から選択される、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項31】

前記宿主が、E. coli HS、E. coli SE11、E. coli SE15、E. coli W、およびE. coli Nissle 1917から選択される、請求項19、20、または30に記載の組成物。

【請求項32】

前記宿主が、Staphylococcus、Propionibacterium、Malassezia、Corynebacterium、Brevibacterium、Lactococcus、Lactobacillus、Micrococcus、Debaryomyces、およびCryptococcus属から選択される、請求項21に記載の組成物。

【請求項33】

前記宿主が、Staphylococcus epidermis、Staphylococcus saprophyticus、Propionibacterium acnes、Propionibacterium avidum、Lactococcus lactis、Lactobacillus reuteri、およびLactobacillus plantarumから選択される、請求項21に記載の組成物。

【請求項34】

疾患もしくは感染を防止および/もしくは処置するため、抗生物質耐性を防止および/もしくは処置するため、ならびに/または抗生物質耐性の伝播を限定するための請求項19から33のいずれか一項に記載の組成物であって、それを必要とする被験体に投与されることを特徴とする、組成物。

【請求項35】

請求項17に記載の少なくとも1種の操作された生物を含む細胞の集団であって、前記少なくとも1種の操作された生物中のMGEモジュールが、前記集団中の他の細胞内に操作された遺伝システムを伝播させることができる、細胞の集団。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0032

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0032】

本明細書に開示の少なくとも1種の操作された生物または操作されたプロバイオティクスを含む細胞の集団であって、少なくとも1種の操作された生物またはプロバイオティクス中のMGEモジュールが、集団中の他の細胞内に操作された遺伝システムを伝播させることができる細胞の集団も本明細書に提供されている。時間をわたって、細胞の集団は、細胞の集団中の目的の核酸を標的とし、分解することができる操作された遺伝システムに供される。このように、1つの操作された細胞または細胞の小さい群で細胞の集団を「ワクチン接種」すると、細胞の集団の望ましくない形質と有効に闘い、またはこれらを排除し、それによって例えば、胃腸、皮膚、もしくは尿路の疾患および感染症の処置、抗生物質耐性の伝播の防止、ならびに/または環境病原体の除染を達成することができる。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

操作された遺伝システムであって、

毒性因子、毒素、エフェクター、病原性成分、および/または抗生物質耐性形質をコードする目的の核酸を特異的に標的とし、分解するように設計されたヌクレアーゼモジュール；ならびに

1つの宿主細胞から別の宿主細胞に前記システムを拡散させることができる合成可動性遺伝子エレメント(MGE)モジュール；

を含み、前記ヌクレアーゼモジュールが、前記MGEモジュール中に位置した遺伝子によってコードされるヌクレアーゼを含む、遺伝システム。

(項目2)

前記ヌクレアーゼモジュールが、Casタンパク質および1つまたは複数の合成crRNAを含み、各crRNAが、前記目的の核酸に由来する標的配列を有するスペーサーを含む、項目1に記載のシステム。

(項目3)

前記crRNA(複数可)が、CRISPRアレイから転写され、プロセッシングされる、項目1に記載のシステム。

(項目4)

前記CRISPRアレイが、誘導プロモーターまたは構成的プロモーターの制御下に置かれている、項目2に記載のシステム。

(項目5)

前記ヌクレアーゼモジュールが、前記Casタンパク質および前記crRNAと複合体を形成するtracrRNAをさらに含む、項目2から4のいずれか一項に記載のシステム。

(項目6)

前記tracrRNAが、誘導プロモーターまたは構成的プロモーターの制御下に置かれている、項目5に記載のシステム。

(項目7)

前記tracrRNAおよび前記crRNAが、単一ガイドRNA中に備えられている、項目5または6に記載のシステム。

(項目8)

前記Casタンパク質が、構成的または誘導的に発現される、項目2に記載のシステム。

(項目9)

前記標的配列が、前記目的の核酸中のプロトスペーサー近接モチーフ(PAM)に直接隣接している、項目2に記載のシステム。

(項目10)

前記Casタンパク質が、*Streptomyces pyogenes* Cas9又

クレーゼであり、前記 P A M が、前記標的配列の 3' 側に N G G 配列を有する、項目 9 に記載のシステム。

(項目 1 1)

前記ヌクレアーゼが、前記目的の核酸を標的とし、分解するように設計された転写アクチベーター様エフェクターヌクレアーゼ (T A L E N) を含む、項目 1 に記載のシステム。

(項目 1 2)

前記ヌクレアーゼが、前記目的の核酸を標的とし、分解するように設計された亜鉛フィンガーヌクレアーゼ (Z F N) を含む、項目 1 に記載のシステム。

(項目 1 3)

前記ヌクレアーゼが、前記目的の核酸を標的とし、分解するように設計されたメガヌクレアーゼを含む、項目 1 に記載のシステム。

(項目 1 4)

前記毒性因子、前記毒素、前記エフェクター、前記病原性成分、および/または前記抗生物質耐性形質が、表 1 および 2 に列挙されたものから選択される、項目 1 に記載のシステム。

(項目 1 5)

前記 M G E モジュールが、トランスポサーゼをコードする遺伝子、およびバクテリオファージ、接合性プラスミド、または接合性トランスポゾンから選択される M G E を含む、項目 1 に記載のシステム。

(項目 1 6)

前記トランスポサーゼが、T n 3 または T n 5 に由来し、前記 M G E が、T n 9 1 6、R K 2、P 1、T n 5 2 8 0、または T n 4 6 5 1 に由来する、項目 1 5 に記載のシステム。

(項目 1 7)

疾患もしくは感染の防止および/もしくは処置、抗生物質耐性の防止および/もしくは処置、抗生物質耐性の伝播の限定、ならびに/または環境病原体の除染に使用するための、項目 1 に記載のシステムを含む操作された生物。

(項目 1 8)

前記システムが、細菌細胞、古細菌細胞、および/または酵母細胞から選択される宿主中に導入される、項目 1 7 に記載の操作された生物。

(項目 1 9)

胃腸管内で使用するための経口プロバイオティクスである、項目 1 8 に記載の操作された生物を含む操作されたプロバイオティクス。

(項目 2 0)

尿路内で使用するためのプロバイオティクスである、項目 1 8 に記載の操作された生物を含む操作されたプロバイオティクス。

(項目 2 1)

皮膚上で使用するための局所用プロバイオティクスである、項目 1 8 に記載の操作された生物を含む操作されたプロバイオティクス。

(項目 2 2)

前記宿主が、細菌の B a c t e r o i d e t e s、F i r m i c u t e s、P r o t e o b a c t e r i a、A c t i n o b a c t e r i a、V e r r u c o m i c r o b i a、または F u s o b a c t e r i a 門から選択される、項目 1 9 から 2 1 のいずれか一項に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目 2 3)

前記宿主が、B a c t e r o i d e s A F S 5 1 9、B a c t e r o i d e s s p . C C U G 3 9 9 1 3、B a c t e r o i d e s s p . S m a r l a b 3 3 0 1 1 8 6、B a c t e r o i d e s o v a t u s、B a c t e r o i d e s s a l y e r s i a e、B a c t e r o i d e s s p . M P N 分離株群 6、B a c t e r o i

des DSM 12148、Bacteroides merdae、Bacteroides distasonis、Bacteroides stercosis、Bacteroides splanchnicus、Bacteroides WH2、Bacteroides uniformis、Bacteroides WH302、Bacteroides fragilis、Bacteroides caccae、Bacteroides thetaiotamicron、Bacteroides vulgatus、およびBacteroides capillosusを含めたBacteroides種から選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目24)

前記宿主が、Clostridium leptum、Clostridium boltaea、Clostridium bartlettii、Clostridium symbiosum、Clostridium sp. DSM 6877 (FS41)、Clostridium A2-207、Clostridium scindens、Clostridium spiroforme、Clostridium sp. A2-183、Clostridium sp. SL6/1/1、Clostridium sp. GM2/1、Clostridium sp. A2-194、Clostridium sp. A2-166、Clostridium sp. A2-175、Clostridium sp. SR1/1、Clostridium sp. L1-83、Clostridium sp. L2-6、Clostridium sp. A2-231、Clostridium sp. A2-165、およびClostridium sp. SS2/1を含めたClostridium種から選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目25)

前記宿主が、Eubacterium plautii、Eubacterium ventriosum、Eubacterium halii、Eubacterium siraeum、Eubacterium eligens、およびEubacterium rectaleを含めたEubacterium種から選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目26)

前記宿主が、Alistipes finegoldii、Alistipes putredinis、Anaerotruncus colihominis、Allisonella histaminiformans、Bulleida moorei、Peptostreptococcus sp. oral clone CK035、Anaerococcus vaginalis、Ruminococcus bromii、Anaerofustis stercorihominis、Streptococcus mitis、Ruminococcus callidus、Streptococcus parasanguinis、Coprococcus eutactus、Gemella haemolysans、Peptostreptococcus micros、Ruminococcus gnavus、Coprococcus catus、Roseburia intestinalis、Roseburia faecalis、Ruminococcus obeum、Catenibacterium mitsuokai、Ruminococcus torques、Subdoligranulum variabile、Dorea formicigenans、Dialister sp. E2_20、Dorea longicatena、Faecalibacterium prausnitzii、Akkermansia muciniphila、Fusobacterium sp. oral clone R002、Escherichia coli、Haemophilus parainfluenzae、Bilophila wadsworthii、Desulfovibrio piger、Corynebacterium durum、Bif

idobacterium adolescentis、Actinomyces graevenitzi、Corynebacterium sundsvallense、Actinomyces odontolyticus、およびCollinsella aerofaciensから選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目27)

前記宿主が、Lactobacillus、Bifidobacterium、および/またはStreptococcus属から選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目28)

前記宿主が、Lactobacillus casei、Lactobacillus lactis、Lactobacillus reuteri、Lactobacillus rhamnosus、Lactobacillus acidophilus、Lactobacillus plantarum、Lactobacillus paracasei、Lactobacillus bulgaricus、Lactobacillus fermentum、およびLactobacillus johnsoniiから選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目29)

前記宿主が、Bacillus coagulans GBI-30, 6086、Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12、Bifidobacterium longum subsp. infantis 35624、Lactobacillus paracasei St11(またはNCC2461)、Lactobacillus johnsonii La1(Lactobacillus johnsonii NCC533)、Lactobacillus plantarum 299v、Lactobacillus reuteri ATCC 55730、Lactobacillus reuteri DSM 17938、Lactobacillus reuteri ATCC PTA 5289、Saccharomyces boulardii、Lactobacillus rhamnosus GR-1、Lactobacillus reuteri RC-14、Lactobacillus acidophilus CL1285、Lactobacillus casei LBC80R、Lactobacillus plantarum HEAL 9、Lactobacillus paracasei 8700:2、Streptococcus thermophilus、Lactobacillus paracasei LMG P 22043、Lactobacillus johnsonii BFE 6128、Lactobacillus fermentum ME-3、Lactobacillus plantarum BFE 1685、Bifidobacterium longum BB536、およびLactobacillus rhamnosus LB21 NCIMB 40564から選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目30)

前記宿主が、Escherichia coli株から選択される、項目19または20に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目31)

前記宿主が、E. coli HS、E. coli SE11、E. coli SE15、E. coli W、およびE. coli Nissle 1917から選択される、項目19、20、または30に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目32)

前記宿主が、Staphylococcus、Propionibacterium、Malassezia、Corynebacterium、Brevibacterium、Lactococcus、Lactobacillus、Micrococcus、

Debaryomyces、およびCryptococcus属から選択される、項目21に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目33)

前記宿主が、Staphylococcus epidermis、Staphylococcus saprophyticus、Propionibacterium acnes、Propionibacterium avidum、Lactococcus lactis、Lactobacillus reuteri、およびLactobacillus plantarumから選択される、項目21に記載の操作されたプロバイオティクス。

(項目34)

疾患もしくは感染を防止および/もしくは処置するため、抗生物質耐性を防止および/もしくは処置するため、ならびに/または抗生物質耐性の伝播を限定するための方法であって、それを必要とする被験体に有効量の項目19から33のいずれか一項に記載の操作されたプロバイオティクスを投与することを含む、方法。

(項目35)

項目17に記載の少なくとも1種の操作された生物を含む細胞の集団であって、前記少なくとも1種の操作された生物中のMGEモジュールが、前記集団中の他の細胞内に操作された遺伝システムを伝播させることができる、細胞の集団。