

【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 3 年 1 月 14 日 (2021.1.14)

【公表番号】特表 2019-536782 (P2019-536782A)

【公表日】令和 1 年 12 月 19 日 (2019.12.19)

【年通号数】公開・登録公報 2019-051

【出願番号】特願 2019-528478 (P2019-528478)

【国際特許分類】

A 6 1 K	31/7088	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2015.01)
A 6 1 P	25/02	(2006.01)
A 6 1 P	21/04	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/34	(2015.01)
A 6 1 K	35/545	(2015.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	31/7115	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(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	15/864	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/52	(2006.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	15/31	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 P	25/02	1 0 1
A 6 1 P	25/02	
A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	35/34	
A 6 1 K	35/545	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	31/7115	
A 6 1 K	48/00	
C 1 2 N	1/15	Z N A
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/52	Z
C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	15/31	

C 1 2 N 15/09 1 0 0

【手続補正書】

【提出日】令和2年11月26日(2020.11.26)

【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】

Cpf1ポリペプチドをコードする配列およびDMDガイドRNA (gRNA) をコードする配列を含む組成物であって、DMD gRNAがSEQ ID No.760および761のいずれか1つを含む、組成物。

【請求項 2】

Cpf1ポリペプチドをコードする配列が、ラクノスピラ科 (Lachnospiraceae) のCpf1ポリペプチドをコードする配列から単離されるかまたはそれに由来する、請求項1に記載の組成物。

【請求項 3】

Cpf1ポリペプチドをコードする配列が、アシダミノコッカス (Acidaminococcus) のCpf1ポリペプチドをコードする配列から単離されるかまたはそれに由来する、請求項1に記載の組成物。

【請求項 4】

RNA配列が、少なくとも1つの化学的に修飾されたヌクレオチドを含む、請求項1~3のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

Cpf1ポリペプチドをコードする配列が第一のベクターに含まれ、かつDMD gRNAをコードする配列が第二のベクターに含まれる、請求項1~4のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

Cpf1ポリペプチドをコードする配列およびDMD gRNAをコードする配列が1つのベクターに含まれる、請求項1~4のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

一つまたは複数のベクターが、プロモーターをさらに含む、請求項5~6のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 8】

プロモーターが、構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターを含む、請求項7に記載の組成物。

【請求項 9】

プロモーターが筋細胞特異的プロモーターを含み、任意で、該筋細胞特異的プロモーターが、ミオシン軽鎖-2プロモーター、 α -アクチンプロモーター、トロポニン1プロモーター、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体プロモーター、ジストロフィンプロモーター、 γ インテグリンプロモーター、脳性ナトリウム利尿ペプチドプロモーター、B-クリスタリン/低分子量熱ショックタンパク質プロモーター、 β -ミオシン重鎖プロモーター、またはANFプロモーターである、請求項7または8に記載の組成物。

【請求項 10】

一つまたは複数のベクターが、2A様自己切断ドメインをコードする配列をさらに含み、任意で、該2A様自己切断ドメインをコードする配列が、TaV-2Aペプチドを含む、請求項5~9のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

Cpf1ポリペプチドをコードする配列が、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている、請求項1~10のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 2】

一つまたは複数のベクターが非ウイルスベクターであり、任意で、該非ウイルスベクターがプラスミドである、請求項5～11のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 3】

一つまたは複数のベクターが、リボソームまたはナノ粒子に含まれる、請求項5～12のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 4】

一つまたは複数のベクターがウイルスベクターであり、任意で、該ウイルスベクターがアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターである、請求項5～13のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 5】

AAVベクターが、複製欠損体または条件付き複製欠損性である、請求項14に記載の組成物。

【請求項 1 6】

AAVベクターが、血清型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、またはそれらの任意の組み合わせのAAVベクターから単離されるかまたはそれに由来する配列を含む、請求項14～15のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 7】

薬学的に許容される担体をさらに含む、請求項1～16のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 8】

請求項1～17のいずれか一項に記載の組成物を含む、細胞。

【請求項 1 9】

細胞を請求項1～17のいずれか一項に記載の組成物に、Cpf1ポリペプチドおよびgRNAの発現に適した条件下で接触させる工程を含む、ジストロフィン遺伝子欠損を修正する方法であって、Cpf1ポリペプチドがジストロフィンスプライス部位を破壊し、スプライス部位の破壊が変異体DMDエクソンの選択的スキッピングをもたらす、方法。

【請求項 2 0】

請求項19に記載の方法によって生産される、細胞。

【請求項 2 1】

請求項20に記載の細胞を含む、組成物。

【請求項 2 2】

その必要のある対象における筋ジストロフィーを処置するための、請求項1～17、または21のいずれか一項に記載の組成物の治療有効量の使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 5】

[本発明1001]

Cpf1ポリペプチドをコードする配列およびDMDガイドRNA（gRNA）をコードする配列を含む組成物であって、DMD gRNAがジストロフィンスプライス部位を標的とし、かつ、DMD gRNAがSEQ ID No.448～770のいずれか1つを含む、組成物。

[本発明1002]

Cpf1ポリペプチドをコードする配列が、ラクノスピラ科（Lachnospiraceae）のCpf1ポリペプチドをコードする配列から単離されるかまたはそれに由来する、本発明1001の組成物。

[本発明1003]

Cpf1ポリペプチドをコードする配列が、アシダミノコッカス（Acidaminococcus）のCpf1ポリペプチドをコードする配列から単離されるかまたはそれに由来する、本発明1001の

組成物。

[本発明1004]

Cpf1ポリペプチドをコードする配列またはDMD gRNAをコードする配列が、RNA配列を含む、本発明1001～1003のいずれかの組成物。

[本発明1005]

RNA配列がmRNA配列である、本発明1004の組成物。

[本発明1006]

RNA配列が、少なくとも1つの化学的に修飾されたヌクレオチドを含む、本発明1004または1005の組成物。

[本発明1007]

Cpf1ポリペプチドをコードする配列がDNA配列を含む、本発明1001～1003のいずれかの組成物。

[本発明1008]

第一のベクターが、Cpf1ポリペプチドをコードする配列を含み、第二のベクターが、DMD gRNAをコードする配列を含む、本発明1001～1007のいずれかの組成物。

[本発明1009]

第一のベクターまたはCpf1ポリペプチドをコードする配列が、第一のポリA配列をさらに含む、本発明1008の組成物。

[本発明1010]

第二のベクターまたはDMD gRNAをコードする配列が、第二のポリA配列をさらに含む、本発明1008の組成物。

[本発明1011]

第一のベクターまたはCpf1ポリペプチドをコードする配列が、第一のプロモーター配列をさらに含む、本発明1008～1010のいずれかの組成物。

[本発明1012]

第二のベクターまたはDMD gRNAをコードする配列が、第二のプロモーター配列をさらに含む、本発明1008～1010のいずれかの組成物。

[本発明1013]

第一のプロモーター配列および第二のプロモーター配列が同一である、本発明1011または1012の組成物。

[本発明1014]

第一のプロモーター配列および第二のプロモーター配列が同一ではない、本発明1011または1012の組成物。

[本発明1015]

第一のプロモーター配列または第二のプロモーター配列が構成的プロモーターを含む、本発明1011～1014のいずれかの組成物。

[本発明1016]

第一のプロモーター配列または第二のプロモーター配列が誘導性プロモーターを含む、本発明1011～1014のいずれかの組成物。

[本発明1017]

第一のプロモーター配列または第二のプロモーター配列が筋細胞特異的プロモーターを含む、本発明1011～1016のいずれかの組成物。

[本発明1018]

筋細胞特異的プロモーターが、ミオシン軽鎖-2プロモーター、 α -アクチンプロモーター、トロポニン1プロモーター、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体プロモーター、ジストロフィンプロモーター、 γ インテグリンプロモーター、脳性ナトリウム利尿ペプチドプロモーター、B-クリスタリン/低分子量熱ショックタンパク質プロモーター、 β -ミオシン重鎖プロモーター、またはANFプロモーターである、本発明1017の組成物。

[本発明1019]

筋細胞特異的プロモーターがジストロフィンプロモーターである、本発明1017の組成物

。

[本発明1020]

筋細胞特異的プロモーターが -ミオシン重鎖プロモーターである、本発明1017の組成物。

[本発明1021]

第一のベクターまたは第二のベクターが、検出可能マーカークをコードする配列をさらに含む、本発明1008～1020のいずれかの組成物。

[本発明1022]

検出可能マーカークが蛍光マーカークである、本発明1021の組成物。

[本発明1023]

第一のベクターまたは第二のベクターが、2A様自己切断ドメインをコードする配列をさらに含む、本発明1008～1022のいずれかの組成物。

[本発明1024]

2A様自己切断ドメインをコードする配列が、TaV-2Aペプチドを含む、本発明1023の組成物。

[本発明1025]

ベクターが、Cpf1ポリペプチドをコードする配列およびDMD gRNAをコードする配列を含む、本発明1001～1007のいずれかの組成物。

[本発明1026]

ベクターがポリA配列をさらに含む、本発明1025の組成物。

[本発明1027]

ベクターがプロモーター配列をさらに含む、本発明1025または1026の組成物。

[本発明1028]

プロモーター配列が構成的プロモーターを含む、本発明1027の組成物。

[本発明1029]

プロモーター配列が誘導性プロモーターを含む、本発明1027の組成物。

[本発明1030]

プロモーター配列が筋細胞特異的プロモーターを含む、本発明1028または1029の組成物

。

[本発明1031]

筋細胞特異的プロモーターが、ミオシン軽鎖-2プロモーター、 -アクチンプロモーター、トロポニン1プロモーター、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体プロモーター、ジストロフィンプロモーター、 γ インテグリンプロモーター、脳性ナトリウム利尿ペプチドプロモーター、B-クリスタリン/低分子量熱ショックタンパク質プロモーター、 -ミオシン重鎖プロモーター、またはANFプロモーターである、本発明1030の組成物。

[本発明1032]

筋細胞特異的プロモーターがジストロフィンプロモーターである、本発明1030の組成物

。

[本発明1033]

筋細胞特異的プロモーターが -ミオシン重鎖プロモーターである、本発明1030の組成物。

[本発明1034]

第一のベクターまたは第二のベクターが、検出可能マーカークをコードする配列をさらに含む、本発明1025～1033のいずれかの組成物。

[本発明1035]

検出可能マーカークが蛍光マーカークである、本発明1034の組成物。

[本発明1036]

第一のベクターまたは第二のベクターが、2A様自己切断ドメインをコードする配列をさらに含む、本発明1025～1035のいずれかの組成物。

[本発明1037]

2A様自己切断ドメインをコードする配列がTaV-2Aペプチドを含む、本発明1036の組成物。

[本発明1038]

哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化された配列を含む、本発明1001～1037のいずれかの組成物。

[本発明1039]

ヒト細胞における発現のためにコドン最適化された配列を含む、本発明1001～1038のいずれかの組成物。

[本発明1040]

Cpf1ポリペプチドをコードする配列が、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている、本発明1039の組成物。

[本発明1041]

スプライス部位がスプライスドナー部位である、本発明1001～1040のいずれかの組成物。

[本発明1042]

スプライス部位がスプライスアクセプター部位である、本発明1001～1040のいずれかの組成物。

[本発明1043]

第一のベクターまたは第二のベクターが非ウイルスベクターである、本発明1008～1024のいずれかの組成物。

[本発明1044]

非ウイルスベクターがプラスミドである、本発明1043の組成物。

[本発明1045]

リボソームまたはナノ粒子が、第一のベクターまたは第二のベクターを含む、本発明1043または1044の組成物。

[本発明1046]

ベクターが非ウイルスベクターである、本発明1025～1037のいずれかの組成物。

[本発明1047]

非ウイルスベクターがプラスミドである、本発明1046の組成物。

[本発明1048]

リボソームまたはナノ粒子がベクターを含む、本発明1046または1047の組成物。

[本発明1049]

第一のベクターまたは第二のベクターがウイルスベクターである、本発明1008～1024のいずれかの組成物。

[本発明1050]

ベクターがウイルスベクターである、本発明1025～1037のいずれかの組成物。

[本発明1051]

ウイルスベクターがアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである、本発明1049または1050の組成物。

[本発明1052]

AAVベクターが、複製欠損体または条件付き複製欠損性である、本発明1051の組成物。

[本発明1053]

AAVベクターが組換えAAVベクターである、本発明1051または1052の組成物。

[本発明1054]

AAVベクターが、血清型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、またはそれらの任意の組み合わせのAAVベクターから単離されるかまたはそれに由来する配列を含む、本発明1051～1053のいずれかの組成物。

[本発明1055]

一本鎖DMDオリゴヌクレオチドをさらに含む、本発明1001～1054のいずれかの組成物。

[本発明1056]

薬学的に許容される担体をさらに含む、本発明1001～1055のいずれかの組成物。

[本発明1057]

本発明1001～1056のいずれかの組成物を含む、細胞。

[本発明1058]

筋細胞、衛星細胞、またはその前駆体である、本発明1057の細胞。

[本発明1059]

iPSCまたはiCMである、本発明1057の細胞。

[本発明1060]

本発明1057～1059のいずれかの細胞を含む、組成物。

[本発明1061]

細胞と本発明1001～1059のいずれかの組成物とを、Cpf1ポリペプチドおよびgRNAの発現に適した条件下で接触させる工程を含む、ジストロフィン遺伝子欠損を修正する方法であって、Cpf1ポリペプチドがジストロフィンスプライス部位を破壊し、スプライス部位の破壊が変異体DMDエクソンの選択的スキッピングをもたらす、方法。

[本発明1062]

変異体DMDエクソンがエクソン23である、本発明1061の方法。

[本発明1063]

変異体DMDエクソンがエクソン51である、本発明1061の方法。

[本発明1064]

細胞が、インビボ、エクスピボ、インビトロ、またはインサイチューにある、本発明1061～1063のいずれかの方法。

[本発明1065]

本発明1061～1064のいずれかの方法によって生産される、細胞。

[本発明1066]

本発明1065の細胞を含む、組成物。

[本発明1067]

本発明1001～1056、1060、または1066のいずれかの組成物の治療有効量を対象に投与する工程を含む、その必要のある対象における筋ジストロフィーを処置する方法。

[本発明1068]

組成物が局所投与される、本発明1067の方法。

[本発明1069]

組成物が筋組織に直接投与される、本発明1067または1068の方法。

[本発明1070]

組成物が、筋肉内注入または注射によって投与される、本発明1069の方法。

[本発明1071]

筋組織が、前脛骨筋組織、大腿四頭筋組織、ヒラメ筋組織、隔膜組織、または心組織を含む、本発明1069または1070の方法。

[本発明1072]

組成物が、静脈内注入または注射などによって全身投与される、本発明1067の方法。

[本発明1073]

組成物の投与後に、対象が、正常なジストロフィン陽性筋線維、および中心核を含有するモザイクジストロフィン陽性筋線維、またはそれらの組み合わせを示す、本発明1067～1072のいずれかの方法。

[本発明1074]

組成物の投与前の正常なジストロフィン陽性筋線維の非存在またはその存在量のレベルと比較して、組成物の投与後に、対象が、正常なジストロフィン陽性筋線維の出現またはその存在量のレベルの増加を示す、本発明1067～1072のいずれかの方法。

[本発明1075]

組成物の投与前の中心核を含有するモザイクジストロフィン陽性筋線維の非存在またはその存在量のレベルと比較して、組成物の投与後に、対象が、中心核を含有するモザイク

ジストロフィン陽性筋線維の出現またはその存在量のレベルの増加を示す、本発明1067～1072のいずれかの方法。

[本発明1076]

組成物の投与前の血清CKレベルと比較して、組成物の投与後に、対象が、減少した血清CKレベルを示す、本発明1067～1072のいずれかの方法。

[本発明1077]

組成物の投与前の握力と比較して、組成物の投与後に、対象が、改善された握力を示す、本発明1067～1072のいずれかの方法。

[本発明1078]

本発明1060または1066の組成物の治療有効量を投与する工程を含み、細胞が自己由来である、本発明1067～1077のいずれかの方法。

[本発明1079]

本発明1060または1066の組成物の治療有効量を投与する工程を含み、細胞が同種異系である、本発明1067～1077のいずれかの方法。

[本発明1080]

対象が、新生児、幼児、子供、若年成人、または成人である、本発明1067～1079のいずれかの方法。

[本発明1081]

対象が、筋ジストロフィーを有する、本発明1067～1080のいずれかの方法。

[本発明1082]

対象が、筋ジストロフィーの遺伝的保因者である、本発明1067～1080のいずれかの方法。

[本発明1083]

対象が男性である、本発明1067～1082のいずれかの方法。

[本発明1084]

対象が女性である、本発明1067～1082のいずれかの方法。

[本発明1085]

対象が、無症候性であるように見え、遺伝子診断が、DMD遺伝子産物の機能を損なうDMD遺伝子の一方または両方のコピーにおける変異を明らかにする、本発明1067～1084のいずれかの方法。

[本発明1086]

対象が、筋ジストロフィーの初期の徴候または症状を呈する、本発明1067～1084のいずれかの方法。

[本発明1087]

筋ジストロフィーの初期の徴候または症状が、筋肉量の損失または近位筋衰弱を含む、本発明1086の方法。

[本発明1088]

筋肉量の損失または近位筋衰弱が、一方もしくは両方の足および/または骨盤、続いて、1つまたは複数の上体筋に起こる、本発明1087の方法。

[本発明1089]

筋ジストロフィーの初期の徴候または症状が、仮性肥大、低持久力、起立困難、歩行困難、階段を上ることが困難、またはそれらの組み合わせをさらに含む、本発明1086の方法。

。

[本発明1090]

対象が、筋ジストロフィーの進行性の徴候または症状を呈する、本発明1067～1084のいずれかの方法。

[本発明1091]

筋ジストロフィーの進行性の徴候または症状が、筋組織消耗、筋組織が脂肪で置き換えられること、または筋組織が線維性組織で置き換えられることを含む、本発明1090の方法。

。

[本発明1092]

対象が、筋ジストロフィーの後期の徴候または症状を呈する、本発明1067～1084のいずれかの方法。

[本発明1093]

筋ジストロフィーの後期の徴候または症状が、異常な骨発達、脊柱湾曲、運動の消失、および麻痺を含む、本発明1092の方法。

[本発明1094]

対象が、筋ジストロフィーの神経学的な徴候または症状を呈する、本発明1067～1084のいずれかの方法。

[本発明1095]

筋ジストロフィーの神経学的徴候または症状が、知的障害および麻痺を含む、本発明1094の方法。

[本発明1096]

対象が筋ジストロフィーの進行性の、後期の、または神経学的な徴候または症状の1つまたは複数を呈する前に、組成物の投与を行う、本発明1067～1095のいずれかの方法。

[本発明1097]

対象が10歳未満である、本発明1067～1096のいずれかの方法。

[本発明1098]

対象が5歳未満である、本発明1097の方法。

[本発明1099]

対象が2歳未満である、本発明1097の方法。

[本発明1100]

その必要のある対象における筋ジストロフィーを処置するための、本発明1001～1056、1060、または1066のいずれかの組成物の治療有効量の使用。

[本発明1101]

細胞が自己由来である、その必要のある対象における筋ジストロフィーを処置するための本発明1060または1066の組成物の治療有効量の使用。

[本発明1102]

細胞が同種異系である、その必要のある対象における筋ジストロフィーを処置するための本発明1060または1066の組成物の治療有効量の使用。

本開示の他の目的、特徴、および利点は、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。しかしながら、本開示の精神および範囲内の様々な変更および改変がこの詳細な説明から当業者に明らかになるので、詳細な説明および具体例は、本開示の具体的な態様を示しながらも、例証の目的で与えられているにすぎないものと理解されるべきである。