

【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8月13日(2020.8.13)

【公表番号】特表2019-520079(P2019-520079A)

【公表日】令和1年7月18日(2019.7.18)

【年通号数】公開・登録公報2019-028

【出願番号】特願2019-500268(P2019-500268)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/04	(2006.01)
A 6 1 K	38/46	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/11	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/09	1 0 0
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	25/04	
A 6 1 K	38/46	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 N	15/11	Z N A Z

【手続補正書】

【提出日】令和2年7月3日(2020.7.3)

【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】

ゲノム編集によって細胞内で電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット9(SCN9A)遺伝子を編集するための方法において使用するための、1つまたは複数のデオキシリボ核酸(DNA)エンドヌクレアーゼを含む組成物であって、

前記方法は、前記細胞に1つまたは複数のデオキシリボ核酸(DNA)エンドヌクレアーゼを導入して、前記SCN9A遺伝子またはSCN9A制御エレメント内またはその近傍で1つまたは複数の一本鎖切断(SSB)または二本鎖切断(DSB)を行い、前記SCN9A遺伝子内またはその近傍に少なくとも1つのヌクレオチドの1つまたは複数の恒久的挿入、欠失または変異をもたらし、それによって、SCN9A遺伝子産物の発現または機能を低減または除去することを含む、組成物。

【請求項2】

SCN9A関連状態または障害を有する患者を処置するための、末梢神経系のニューロンを含む組成物であって、

前記末梢神経系のニューロンが、

(a)患者特異的誘導多能性幹細胞(iPSC)を電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット9(SCN9A)遺伝子または前記SCN9A遺伝子の制御エレメントをコードする他のDNA配列内またはその近傍で編集すること;及び

(b)前記編集されたiPSCを末梢神経系のニューロンに分化させること、
によって調製され、

前記組成物が前記患者に投与される、組成物。

【請求項 3】

前記編集ステップが、前記 i P S C に 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼを導入して、前記 S C N 9 A 遺伝子または S C N 9 A 制御エレメント内またはその近傍で 1 つまたは複数の一本鎖切断 (S S B) または二本鎖切断 (D S B) を行い、前記 S C N 9 A 遺伝子内またはその近傍に少なくとも 1 つのヌクレオチドの 1 つまたは複数の恒久的挿入、欠失または変異をもたらし、それによって、S C N 9 A 遺伝子産物の発現または機能を低減または除去することを含む、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

S C N 9 A 関連状態または障害を有する患者を処置するための、末梢神経系のニューロンを含む組成物であって、

前記末梢神経系のニューロンが、

(a) 間葉系幹細胞を電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット 9 (S C N 9 A) 遺伝子または前記 S C N 9 A 遺伝子の制御エレメントをコードする他の D N A 配列内またはその近傍で編集すること；及び

(b) 前記編集された間葉系幹細胞を末梢神経系のニューロンに分化させること、によって調製され、

前記組成物が前記患者に投与される、組成物。

【請求項 5】

前記編集ステップが、前記間葉系幹細胞に 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼを導入して、前記 S C N 9 A 遺伝子または S C N 9 A 制御エレメント内またはその近傍で 1 つまたは複数の一本鎖切断 (S S B) または二本鎖切断 (D S B) を行い、前記 S C N 9 A 遺伝子内またはその近傍に少なくとも 1 つのヌクレオチドの 1 つまたは複数の恒久的挿入、欠失または変異をもたらし、それによって、S C N 9 A 遺伝子産物の発現または機能を低減または除去することを含む、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

S C N 9 A 関連障害を有する患者を処置するための i n v i v o 方法において使用するための、電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット 9 (S C N 9 A) 遺伝子を編集するための、1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼを含む組成物であって、

前記方法は、前記患者の細胞内で前記電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット 9 (S C N 9 A) 遺伝子を編集することを含む、組成物。

【請求項 7】

前記編集ステップが、前記細胞に 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼを導入して、前記 S C N 9 A 遺伝子または S C N 9 A 制御エレメント内またはその近傍で 1 つまたは複数の一本鎖切断 (S S B) または二本鎖切断 (D S B) を行い、前記 S C N 9 A 遺伝子内またはその近傍に少なくとも 1 つのヌクレオチドの 1 つまたは複数の恒久的挿入、欠失または変異をもたらし、それによって、S C N 9 A 遺伝子産物の発現または機能を低減または除去することを含む、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記細胞が末梢神経系のニューロンである、請求項 6 または 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記 1 種または複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼが、直接的な神経節内もしくは髄腔内注射、または髄腔内送達を介して前記末梢神経系のニューロンに送達される、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

細胞内で S C N 9 A 遺伝子の連續ゲノム配列を変化させる方法において使用するための、1 種または複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼを含む組成物であって、

前記方法は、前記細胞を前記組成物と接触させて、1 種または複数の一本鎖切断 (S S

B) または二本鎖切断 (D S B) を行うことを含む、組成物。

【請求項 1 1】

前記連続ゲノム配列の変化が前記 S C N 9 A 遺伝子の 1 つまたは複数のエキソンで生じる、請求項 1 0 に記載の組成物。

【請求項 1 2】

前記 1 種または複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼが、配列番号 1 ~ 6 2 0 の配列のいずれか、及び配列番号 1 ~ 6 2 0 において開示されている配列のいずれかに対して少なくとも 9 0 % 相同性を有するバリアントから選択される、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 3】

前記 1 種または複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼが 1 つまたは複数のタンパク質またはポリペプチドである、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 1 4】

前記 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼが、前記 1 つまたは複数の D N A エンドヌクレアーゼをコードする 1 種または複数のポリヌクレオチドである、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼが、前記 1 つまたは複数の D N A エンドヌクレアーゼをコードする 1 つまたは複数のリボ核酸 (R N A) である、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

前記 1 つまたは複数のリボ核酸 (R N A) が、1 つまたは複数の化学修飾 R N A である、請求項 1 5 に記載の組成物。

【請求項 1 7】

前記 1 つまたは複数のリボ核酸 (R N A) が、前記コード領域で化学修飾されている、請求項 1 6 に記載の組成物。

【請求項 1 8】

前記 1 つもしくは複数のポリヌクレオチドまたは 1 つもしくは複数のリボ核酸 (R N A) がコドン最適化されている、請求項 1 4 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 9】

前記細胞に、1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A を導入することをさらに含む、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A が、前記 S C N 9 A 遺伝子内またはその近傍の D N A 配列に対して相補的であるスペーサー配列を含む、請求項 1 9 に記載の組成物。

【請求項 2 1】

前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A が化学修飾されている、請求項 1 9 または 2 0 に記載の組成物。

【請求項 2 2】

前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A が、前記 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼと事前複合体化されている、請求項 1 9 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記事前複合体化が、前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 種もしくは複数の s g R N A と前記 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼとの共有結合を伴う、請求項 2 2 に記載の組成物。

【請求項 2 4】

前記 1 つまたは複数のデオキシリボ核酸 (D N A) エンドヌクレアーゼがリポソームまたは脂質ナノ粒子に製剤化されている、請求項 1 2 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

。

【請求項 25】

前記 1つまたは複数のデオキシリボ核酸(DNA)エンドヌクレアーゼが、前記 1つもしくは複数のgRNAまたは1つもしくは複数のsgRNAも含むリポソームまたは脂質ナノ粒子に製剤化されている、請求項19～23のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項 26】

前記 1つまたは複数のデオキシリボ核酸(DNA)エンドヌクレアーゼがAAVベクター粒子内でコードされる、請求項10、19および20のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項 27】

前記 1つもしくは複数のgRNAまたは1つもしくは複数のsgRNAがAAVベクター粒子内でコードされる、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項 28】

前記 1つまたは複数のデオキシリボ核酸(DNA)エンドヌクレアーゼが、前記 1つもしくは複数のgRNAまたは1つもしくは複数のsgRNAもコードするAAVベクター粒子内でコードされる、請求項19または20に記載の組成物。

【請求項 29】

前記AAVベクター粒子が、配列番号4734～5302及び表2に開示されているもののうちのいずれかからなる群から選択される、請求項26～28のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項 30】

配列番号5305～125469のいずれかに対応するRNA配列である少なくとも1つのスペーサー配列を含む、一分子ガイドRNA。

【請求項 31】

前記一分子ガイドRNAがスペーサーエクステンション領域をさらに含む、請求項30に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項 32】

前記一分子ガイドRNAがtracrRNAエクステンション領域をさらに含む、請求項30に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項 33】

前記一分子ガイドRNAが化学修飾されている、請求項30～32に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項 34】

DNAエンドヌクレアーゼと事前複合体化している、請求項30～33のいずれか1項に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項 35】

前記DNAエンドヌクレアーゼがCas9またはCpf1エンドヌクレアーゼである、請求項34に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項 36】

前記Cas9またはCpf1エンドヌクレアーゼが、S. pyogenes Cas9、S. aureus Cas9、N. meningitidis Cas9、S. thermophilus CRISPR1 Cas9、S. thermophilus CRISPR3 Cas9、T. denticola Cas9、L. bacterium ND2006 Cpf1及びA. c. idaminooccus sp. BV3L6 Cpf1、ならびに前記エンドヌクレアーゼに対して少なくとも90%相同性を有するバリアントからなる群から選択される、請求項35に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項 37】

前記Cas9またはCpf1エンドヌクレアーゼが1つまたは複数の核移行シグナル(NLS)を含む、請求項36に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項 38】

少なくとも1つのNLSが、前記Cas9またはCpf1エンドヌクレアーゼのアミノ

末端に、またはその 50 アミノ酸以内にあり、及び／または少なくとも 1 つの NLS が、前記 Cas 9 または Cpf 1 エンドヌクレアーゼのカルボキシ末端に、またはその 50 アミノ酸以内にある、請求項 37 に記載の一分子ガイド RNA。

【請求項 39】

請求項 30 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の一分子ガイド RNA をコードする DNA。