

【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 (S C N 9 A) 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 (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、組成物。

【請求項 2】

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) 患者特異的誘導多能性幹細胞 (i P S C) 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 i P S C 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 遺伝子の連続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 (DSB) 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 SCN9A 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 (DNA) エンドヌクレアーゼが、配列番号 1 ~ 620 の配列のいずれか、及び配列番号 1 ~ 620 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 90 % 相同性を有するバリエーションから選択される、請求項 1 ~ 11 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 (DNA) 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 (DNA) エンドヌクレアーゼが、前記 1 つまたは複数の DNA 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 (DNA) エンドヌクレアーゼが、前記 1 つまたは複数の DNA 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 (RNA) 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 (RNA) が、1 つまたは複数の化学修飾 RNA 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 (RNA) 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 (RNA) 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 gRNA または 1 つもしくは複数の sgRNA 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 gRNA または 1 つもしくは複数の sgRNA が、前記 SCN9A 遺伝子内またはその近傍の DNA 配列に対して相補的であるスパーサー配列を含む、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 gRNA または 1 つもしくは複数の sgRNA 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 gRNA または 1 つもしくは複数の sgRNA が、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 gRNA または 1 種もしくは複数の sgRNA と前記 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 (DNA) エンドヌクレアーゼがリボ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 も含みリボ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 *Acidaminococcus* 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% 同一性を有するバリエーション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 Cas9 または Cpf1 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。