

【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7年4月17日(2025.4.17)

【公開番号】特開2024-19727(P2024-19727A)

【公開日】令和6年2月9日(2024.2.9)

【年通号数】公開公報(特許)2024-026

【出願番号】特願2023-223638(P2023-223638)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

10

C 12 N 15/11 (2006.01)

C 12 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/09 110

C 12 N 15/11 Z

C 12 N 5/10

【手続補正書】

【提出日】令和7年4月4日(2025.4.4)

【手続補正1】

20

【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】

配列番号219に示される全長Neisseria meningitidis単一ガイドリボ核酸(Nme sg RNA)と比べて短縮されたリピート：アンチリピート領域および短縮されたstem2領域を含む、Neisseria meningitidis単一ガイドリボ核酸(Nme sg RNA)。

30

【請求項2】

前記全長Nme sg RNAが、配列番号219の残基102～143に対応するstem2領域を含む、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項3】

前記全長Nme sg RNAが、配列番号219の残基25～76に対応するリピート：アンチリピート領域を含む、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項4】

前記短縮されたstem2領域が、24ヌクレオチド長である、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項5】

前記短縮されたstem2領域が、配列番号220の残基78～101を含む、請求項4に記載のNme sg RNA。

【請求項6】

前記短縮されたリピート：アンチリピート領域が、配列番号219の残基25～36に対応する第1のヌクレオチド配列、配列番号219の残基49～52に対応する第2のヌクレオチド配列、および、配列番号219の残基65～76に対応する第3のヌクレオチド配列を含む、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項7】

配列番号219に示される全長Nme sg RNAと比べて短縮されたスペーサー領域をさらに含む、請求項1に記載のsg RNA配列。

50

【請求項 8】

前記全長Nme sg RNAが、残基1～24に対応するスペーサー領域を含む、請求項7に記載のNme sg RNA。

【請求項 9】

24ヌクレオチド長であるスペーサー領域をさらに含む、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項 10】

前記Nme sg RNAが、101ヌクレオチドの長さを有する、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項 11】

前記Nme sg RNAの長さが、121ヌクレオチド、111ヌクレオチド、107ヌクレオチド、105ヌクレオチド、103ヌクレオチド、102ヌクレオチド、101ヌクレオチド、100ヌクレオチド、および99ヌクレオチドから選択される、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項 12】

前記Nme sg RNAが、Nme1 sg RNAである、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項 13】

前記Nme sg RNAが、Nme2 sg RNAである、請求項1に記載のNme sg RNA。

【請求項 14】

前記Nme sg RNAが、少なくとも1つの化学修飾を含む、請求項1に記載のNme sg RNA配列。

【請求項 15】

前記化学修飾が、リボース2'-O-メチル化を含む、請求項14に記載のNme sg RNA配列。

【請求項 16】

前記化学修飾が、ホスホロチオエート連結を含む、請求項14に記載のNme sg RNA配列。

【請求項 17】

配列番号219に示される全長Neisseria meningitidis 単一ガイドリボ核酸(Nme sg RNA)と比べて短縮されたstem 2領域を含むNeisseria meningitidis 単一ガイドリボ核酸(Nme sg RNA)であって、ここで、前記短縮されたstem 2領域が、24ヌクレオチド長である、Nme sg RNA。

【請求項 18】

前記全長Nme sg RNAが、配列番号219の残基102～143に対応するstem 2領域を含む、請求項17に記載のNme sg RNA。

【請求項 19】

前記短縮されたstem 2領域が、配列番号220の残基78～101を含む、請求項17に記載のNme sg RNA。

【請求項 20】

配列番号219に示される全長Nme sg RNAと比べて短縮されたリピート：アンチリピート領域をさらに含む、請求項17に記載のNme sg RNA。

【請求項 21】

前記全長Nme sg RNAが、配列番号219の残基25～76に対応するリピート：アンチリピート領域を含む、請求項20に記載のNme sg RNA。

【請求項 22】

前記短縮されたリピート：アンチリピート領域が、配列番号219の残基25～36に対応する第1のヌクレオチド配列、配列番号219の残基49～52に対応する第2のヌ

10

20

30

40

50

クレオチド配列、および、配列番号 219 の残基 65 ~ 76 に対応する第 3 のヌクレオチド配列を含む、請求項 20 に記載の Nme sg RNA。

【請求項 23】

配列番号 219 に示される全長 Nme sg RNA と比べて短縮されたスペーサー領域をさらに含む、請求項 17 に記載の Nme sg RNA 配列。

【請求項 24】

前記全長 Nme sg RNA が、残基 1 ~ 24 に対応するスペーサー領域を含む、請求項 23 に記載の Nme sg RNA。

【請求項 25】

24 ヌクレオチド長であるスペーサーをさらに含む、請求項 17 に記載の Nme sg RNA。 10

【請求項 26】

前記 Nme sg RNA が、 Nme 1 sg RNA である、請求項 17 に記載の Nme sg RNA。

【請求項 27】

前記 Nme sg RNA が、 Nme 2 sg RNA である、請求項 17 に記載の Nme sg RNA。

【請求項 28】

前記 Nme sg RNA が、少なくとも 1 つの化学修飾を含む、請求項 17 に記載の Nme sg RNA 配列。 20

【請求項 29】

前記化学修飾が、リボース 2' - O - メチル化を含む、請求項 28 に記載の Nme sg RNA 配列。

【請求項 30】

前記化学修飾が、ホスホロチオエート連結を含む、請求項 28 に記載の Nme sg RNA 配列。

【請求項 31】

前記 Nme sg RNA の長さが、 121 ヌクレオチド、 111 ヌクレオチド、 107 ヌクレオチド、 105 ヌクレオチド、 103 ヌクレオチド、 102 ヌクレオチド、 101 ヌクレオチド、 100 ヌクレオチド、および 99 ヌクレオチドから選択される、請求項 17 記載の Nme sg RNA。 30

【請求項 32】

前記 Nme sg RNA が、 101 ヌクレオチドの長さを有する、請求項 17 に記載の Nme sg RNA。

【請求項 33】

Neisseria meningitidis 単一ガイドリボ核酸 (Nme sg RNA) をコードするアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターであって、ここで、前記 Nme sg RNA は、配列番号 219 に示される全長 Nme sg RNA と比べて短縮されたリピート：アンチリピート領域および短縮された Stem 2 領域を含む、AAV ベクター。

【請求項 34】

前記 AAV ベクターが、少なくとも 1 つのプロモーターを含む、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 35】

前記少なくとも 1 つのプロモーターが、U6 プロモーターおよび U1a プロモーターから選択される、請求項 34 に記載の AAV ベクター。

【請求項 36】

前記 AAV ベクターが、コザック配列を含む、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 37】

前記 Nme sg RNA が、PCSK9 および ROSA26 から選択される目的の遺伝 50

子と相補的なスペーサー領域を含む、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 3 8】

前記 N m e s g R N A が、1 2 1 ヌクレオチド、1 1 1 ヌクレオチド、1 0 7 ヌクレオチド、1 0 5 ヌクレオチド、1 0 3 ヌクレオチド、1 0 2 ヌクレオチド、1 0 1 ヌクレオチド、1 0 0 ヌクレオチド、および 9 9 ヌクレオチドから選択される長さを有する、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 3 9】

前記 N m e s g R N A が、1 0 1 ヌクレオチドの長さを有する、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 0】

前記全長 N m e s g R N A が、配列番号 2 1 9 の残基 1 0 2 ~ 1 4 3 に対応する S t e m 2 領域を含む、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 1】

前記全長 N m e s g R N A が、配列番号 2 1 9 の残基 2 5 ~ 7 6 に対応するリピート：アンチリピート領域を含む、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 2】

前記短縮された S t e m 2 領域が、2 4 ヌクレオチド長である、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 3】

前記短縮された S t e m 2 領域が、配列番号 2 2 0 の残基 7 8 ~ 1 0 1 を含む、請求項 4 2 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 4】

前記短縮されたリピート：アンチリピート領域が、配列番号 2 1 9 の残基 2 5 ~ 3 6 に対応する第 1 のヌクレオチド配列、配列番号 2 1 9 の残基 4 9 ~ 5 2 に対応する第 2 のヌクレオチド配列、および、配列番号 2 1 9 の残基 6 5 ~ 7 6 に対応する第 3 のヌクレオチド配列を含む、請求項 4 2 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 5】

前記 N m e s g R N A が、配列番号 2 1 9 に示される全長 N m e s g R N A と比べて短縮されたスペーサー領域をさらに含む、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 6】

前記全長 N m e s g R N A が、残基 1 ~ 2 4 に対応するスペーサー領域を含む、請求項 4 5 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 7】

前記 N m e s g R N A が、2 4 ヌクレオチド長であるスペーサー領域をさらに含む、請求項 3 3 に記載の A A V ベクター。

【請求項 4 8】

a) 医学的状態の少なくとも 1 つの症状を示している患者であって、前記医学的状態に関連する複数の遺伝子を含む患者を提供するステップと、

b) A A V ベクターを前記患者に前記医学的状態の前記少なくとも 1 つの症状が軽減する条件下で投与するステップと

を含む方法において使用するための、 N e i s s e r i a m e n i n g i t i d i s 単一ガイドリボ核酸 (N m e s g R N A) をコードする A A V ベクターを含む組成物であつて、

前記 N m e s g R N A が、前記複数の遺伝子のうちの少なくとも 1 つの一部と相補的な核酸配列を含み、前記 N m e s g R N A が、配列番号 2 1 9 に示される全長 N m e s g R N A と比べて短縮されたリピート：アンチリピート領域および短縮された S t e m 2 領域を含む、組成物。

【請求項 4 9】

前記医学的状態が、高コレステロール血症を含む、請求項 4 8 に記載の組成物。

【請求項 5 0】

10

20

30

40

50

前記複数の遺伝子のうちの前記少なくとも1つが、P C S K 9 遺伝子である、請求項48に記載の組成物。

【請求項51】

前記N m e s g R N Aが、前記P C S K 9 遺伝子の一部と相補的である、請求項50に記載の組成物。

【請求項52】

前記N m e s g R N Aが、短縮されたスペーサー領域をさらに含む、請求項48に記載の組成物。

【請求項53】

前記N m e s g R N Aが、24ヌクレオチド長であるスペーサー領域を含む、請求項48に記載の組成物。 10

【請求項54】

前記N m e s g R N Aが、101ヌクレオチドの長さを有する、請求項48に記載の組成物。

【請求項55】

前記N m e s g R N Aが、121ヌクレオチド、111ヌクレオチド、107ヌクレオチド、105ヌクレオチド、103ヌクレオチド、102ヌクレオチド、100ヌクレオチド、および99ヌクレオチドから選択される長さを有する、請求項48に記載の組成物。

【請求項56】

前記短縮されたS t e m 2 領域が、24ヌクレオチド長である、請求項48に記載の組成物。 20

【請求項57】

I I - C型C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質をコードするアデノ随伴ウイルス(A A V)ベクターであって、前記I I - C型C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質が、N e i s s e r i a m e n i n g i t i d i s 株D e 1 0 4 4 4 N m e 2 C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質、H a e m o p h i l u s p a r a i n f l u e n z a e H p a C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質およびS i m o n s i e l l a m u e l l e r i S m u C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質から選択され、前記I I - C型C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質が、N 4 C N 3 、N 4 C T 、N 4 C C N 、N 4 C C A 、およびN 4 G N T 3 から選択されるプロトスペーサー隣接モチーフ配列に対する結合部位とともに構成されるプロトスペーサー隣接モチーフ認識ドメインを含む、A A Vベクター。 30

【請求項58】

前記I I - C型C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質が、N e i s s e r i a m e n i n g i t i d i s 株D e 1 0 4 4 4 N m e 2 C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質である、請求項57に記載のA A Vベクター。

【請求項59】

前記I I - C型C a s 9 ヌクレアーゼタンパク質が、配列番号307に対して少なくとも86%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項57または58に記載のA A Vベクター。 40

【請求項60】

前記A A Vベクターが、配列番号219に示される全長N m e s g R N Aと比べて短縮されたリピート：アンチリピート領域を含む短縮されたs g R N Aをさらにコードする、請求項57に記載のA A Vベクター。

【請求項61】

前記A A Vベクターが、配列番号219に示される全長N m e s g R N Aと比べて短縮されたS t e m 2 領域を含む短縮されたs g R N Aをさらにコードする、請求項57または60に記載のA A Vベクター。

【請求項62】

a) 医学的状態の少なくとも1つの症状を示している患者であって、前記医学的状態に 50

関連する複数の遺伝子を含み、前記複数の遺伝子が、N₄C₃、N₄C_T、N₄C_{CN}、N₄C_{CA}、およびN₄G_{NT}₃から選択されるプロトスペーサー隣接モチーフを含む、患者を提供するステップと、

b) 組成物を前記患者に前記医学的状態の前記少なくとも1つの症状が軽減する条件下で投与するステップと

を含む方法において使用するための、II-C型Cas9ヌクレアーゼをコードする少なくとも1つの核酸を含む送達プラットフォームを含む組成物であって、

前記II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質が、Neisseria meningitidis株De10444 Nme2Cas9ヌクレアーゼタンパク質、Haemophilus parainfluenzae Hpacas9ヌクレアーゼタンパク質およびSimonsiella muelleri Smucas9ヌクレアーゼタンパク質から選択され、

前記II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質が、N₄C_N₃、N₄C_T、N₄C_{CN}、N₄C_{CA}、およびN₄G_{NT}₃から選択されるプロトスペーサー隣接モチーフ配列に対する結合部位とともに構成されるプロトスペーサー隣接モチーフ認識ドメインを含む、組成物。

【請求項63】

前記送達プラットフォームが、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを含む、請求項62に記載の組成物。

【請求項64】

前記送達プラットフォームが、微小粒子を含む、請求項62に記載の組成物。

【請求項65】

短縮されたsgRNAをさらに含む、請求項62に記載の組成物。

【請求項66】

前記医学的状態が、高脂血症およびチロシン血症から選択される、請求項62に記載の組成物。

【請求項67】

II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質をコードする核酸を含む送達プラットフォームを含む組成物であって、前記II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質が、Neisseria meningitidis Nme2Cas9ヌクレアーゼタンパク質、Neisseria meningitidis Nme3Cas9ヌクレアーゼタンパク質、Haemophilus parainfluenzae Hpacas9ヌクレアーゼタンパク質およびSimonsiella muelleri Smucas9ヌクレアーゼタンパク質から選択され、前記II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質が、N₄C_N₃、N₄C_T、N₄C_{CN}、N₄C_{CA}、およびN₄G_{NT}₃から選択されるプロトスペーサー隣接モチーフ配列に対する結合部位とともに構成されるプロトスペーサー隣接モチーフ認識ドメインを含む、組成物。

【請求項68】

前記II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質が、Neisseria meningitidis株De10444 Nme2Cas9ヌクレアーゼタンパク質である、請求項67に記載の組成物。

【請求項69】

前記II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質が、配列番号307に対して少なくとも86%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項67または68に記載の組成物。

【請求項70】

前記送達プラットフォームが、微小粒子、ナノ粒子、マイクロスフェア、リポソーム、および、アデノ随伴ウイルスベクターから選択される、請求項67に記載の組成物。

【請求項71】

さらに同類sgRNAを含む、請求項67に記載の組成物。

【請求項72】

10

20

30

40

50

in vitro または *ex vivo* における遺伝子編集の方法であって、前記方法は、遺伝子を含む細胞に送達プラットフォームを送達するステップを包含し、前記遺伝子は、N₄C₃、N₄CT、N₄CCN、N₄CCA、およびN₄GNT₃ から選択されるプロトスペーサー隣接モチーフを含み、そして、前記送達プラットフォームは、以下：

i) II - C型 Cas9 ヌクレアーゼタンパク質をコードする少なくとも 1 つの核酸であって、前記 II - C型 Cas9 ヌクレアーゼタンパク質が、*Neisseria meningitidis* Nme2Cas9 ヌクレアーゼタンパク質、*Neisseria meningitidis* Nme3Cas9 ヌクレアーゼタンパク質、*Haemophilus parainfluenzae* HpaCas9 ヌクレアーゼタンパク質および *Simonsiella muelleri* SmuCas9 ヌクレアーゼタンパク質から選択され、ここで、前記 II - C型 Cas9 ヌクレアーゼタンパク質が、プロトスペーサー隣接モチーフ配列に対する結合部位とともに構成されるプロトスペーサー隣接モチーフ認識ドメインを含む、少なくとも 1 つの核酸；ならびに、

ii) 少なくとも 1 つの同類 sgRNA を含む、方法。

【請求項 7 3】

前記 II - C型 Cas9 ヌクレアーゼタンパク質が、*Neisseria meningitidis* 株 De 10444 Nme2Cas9 ヌクレアーゼタンパク質である、請求項 7 2 に記載の *in vitro* または *ex vivo* の方法。

【請求項 7 4】

前記 II - C型 Cas9 ヌクレアーゼタンパク質が、配列番号 307 に対して少なくとも 86 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 7 2 または 7 3 に記載の *in vitro* または *ex vivo* の方法。

10

20

30

40

50