

【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 1 2 N 15/09(2006.01)

10

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/11 Z

C 1 2 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 (Nm es gRNA) と比べて短縮されたりピート: アンチリピート領域および短縮された *Stem 2* 領域を含む、*Neisseria meningitidis* 単一ガイドリボ核酸 (Nm es gRNA)。

30

【請求項 2】

前記全長 Nm es gRNA 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 1 に記載の Nm es gRNA。

【請求項 3】

前記全長 Nm es gRNA 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 Nm es gRNA。

【請求項 4】

前記短縮された *Stem 2* 領域が、24 ヌクレオチド長である、請求項 1 に記載の Nm es gRNA。

【請求項 5】

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 4 に記載の Nm es gRNA。

40

【請求項 6】

前記短縮されたりピート: 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 Nm es gRNA。

【請求項 7】

配列番号 219 に示される全長 Nm es gRNA と比べて短縮されたスパーサー領域をさらに含む、請求項 1 に記載の s gRNA 配列。

50

【請求項 8】

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

【請求項 9】

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

【請求項 10】

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

【請求項 11】

前記 Nme sgRNA 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 sgRNA。

【請求項 12】

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

【請求項 13】

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

【請求項 14】

前記 Nme sgRNA 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 sgRNA 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 sgRNA 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 sgRNA 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 sgRNA) 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 sgRNA) 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 sgRNA。

【請求項 18】

前記全長 Nme sgRNA 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 sgRNA。

【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 sgRNA。

【請求項 20】

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

【請求項 21】

前記全長 Nme sgRNA 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 sgRNA。

【請求項 22】

前記短縮されたりピート：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 s g R N A。

【請求項 23】

配列番号 219 に示される全長 Nme s g R N A と比べて短縮されたスパーサー領域をさらに含む、請求項 17 に記載の Nme s g R N A 配列。

【請求項 24】

前記全長 Nme s g R N A が、残基 1 ~ 24 に対応するスパーサー領域を含む、請求項 23 に記載の Nme s g R N A。

【請求項 25】

24 ヌクレオチド長であるスパーサーをさらに含む、請求項 17 に記載の Nme s g R N A。 10

【請求項 26】

前記 Nme s g R N A が、Nme 1 s g R N A である、請求項 17 に記載の Nme s g R N A。

【請求項 27】

前記 Nme s g R N A が、Nme 2 s g R N A である、請求項 17 に記載の Nme s g R N A。

【請求項 28】

前記 Nme s g R N A 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 s g R N A 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 s g R N A 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 s g R N A 配列。

【請求項 31】

前記 Nme s g R N A 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 に記載の Nme s g R N A。 30

【請求項 32】

前記 Nme s g R N A が、101 ヌクレオチドの長さを有する、請求項 17 に記載の Nme s g R N A。

【請求項 33】

Neisseria meningitidis 単一ガイドリボ核酸 (Nme s g R N A) 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、ここで、前記 Nme s g R N A は、配列番号 219 に示される全長 Nme s g R N A と比べて短縮されたりリピート：アンチリピート領域および短縮された Stem 2 領域を含む、A A V ベクター。 40

【請求項 34】

前記 A A V 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 A A V 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 A A V ベクター。

【請求項 36】

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

【請求項 37】

前記 Nme s g R N A が、P C S K 9 および R O S A 26 から選択される目的の遺伝 50

子と相補的なスパーサー領域を含む、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 38】

前記 Nme s g RNA 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長さを有する、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 39】

前記 Nme s g RNA が、101ヌクレオチドの長さを有する、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 40】

前記全長 Nme s g 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 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 41】

前記全長 Nme s g 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 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 42】

前記短縮された Stem 2 領域が、24ヌクレオチド長である、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 43】

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 42 に記載の AAV ベクター。

【請求項 44】

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 42 に記載の AAV ベクター。

【請求項 45】

前記 Nme s g RNA が、配列番号 219 に示される全長 Nme s g RNA と比べて短縮されたスパーサー領域をさらに含む、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 46】

前記全長 Nme s g RNA が、残基 1 ~ 24 に対応するスパーサー領域を含む、請求項 45 に記載の AAV ベクター。

【請求項 47】

前記 Nme s g RNA が、24ヌクレオチド長であるスパーサー領域をさらに含む、請求項 33 に記載の AAV ベクター。

【請求項 48】

a) 医学的状态の少なくとも1つの症状を示している患者であって、前記医学的状态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) AAV ベクターを前記患者に前記医学的状态の前記少なくとも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、Neisseria meningitidis 単一ガイドリボ核酸 (Nme s g RNA) をコードする AAV ベクターを含む組成物であって、

前記 Nme s g RNA 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 Nme s g RNA が、配列番号 219 に示される全長 Nme s g 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、組成物。

【請求項 49】

前記医学的状态が、高コレステロール血症を含む、請求項 48 に記載の組成物。

【請求項 50】

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、短縮されたスパ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パーサー領域を含む、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、N₄C N₃、N₄C T、N₄C C N、N₄C C A、および N₄G N T₃ から選択されるプロトスパ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パ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、 N_4C_3 、 N_4CT 、 N_4CCN 、 N_4CCA 、および N_4GNT_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、

10

前記II-C型Cas9ヌクレアーゼタンパク質が、 N_4CN_3 、 N_4CT 、 N_4CCN 、 N_4CCA 、および N_4GNT_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】

20

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、 N_4CN_3 、 N_4CT 、 N_4CCN 、 N_4CCA 、および N_4GNT_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。

30

【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。

40

【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、リボソーム、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】

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、 N_4C_3 、 N_4CT 、 N_4CCN 、 N_4CCA 、および N_4GNT_3 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、

10

ii) 少なくとも1つの同類sgRNAを含む、方法。

【請求項73】

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72に記載の*in vitro*または*ex vivo*の方法。

【請求項74】

20

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72または73に記載の*in vitro*または*ex vivo*の方法。

30

40

50