

【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7年6月16日(2025.6.16)

【公開番号】 特開2025-32080(P2025-32080A)
【公開日】 令和7年3月11日(2025.3.11)
【年通号数】 公開公報(特許)2025-044
【出願番号】 特願2024-193416(P2024-193416)
【国際特許分類】

A 6 1 K 38/46(2006.01)
C 1 2 N 15/09(2006.01)
A 6 1 K 48/00(2006.01)
A 6 1 K 31/7088(2006.01)
A 6 1 P 25/00(2006.01)
A 6 1 P 43/00(2006.01)
C 1 2 N 15/11(2006.01)

10

【F I】

A 6 1 K 38/46
C 1 2 N 15/09 Z
A 6 1 K 48/00
A 6 1 K 31/7088
A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 43/00 1 2 1
C 1 2 N 15/11 Z Z N A
C 1 2 N 15/11 Z

20

【手続補正書】
【提出日】 令和7年6月5日(2025.6.5)
【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】

30

対象における神経障害の治療用の医薬組成物であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

40

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20における番号付けでI76Y、V82T、Y147T、Y147R、Q154S、およびT166Rからなる群から選択されるアミノ酸改変またはそれに対応するアミノ酸改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって前記神経障害を治療し、ここで、

i) 前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ(IDUA) 遺伝子であり、前記神経障害がハーラー症候群であるか；または

ii) 前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2(LRRK2) 遺伝子であり、前記神経障害がパーキンソン病であるか；または

50

i i i) 前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、前記神経障害がレット症候群であるか；または

i v) 前記標的遺伝子がATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり、前記神経障害がシュタルガルト病である、
医薬組成物。

【請求項2】

(i) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むか；または

(i i) 前記LRRK2遺伝子またはその調節エレメントがパーキンソン病に関連するSNPを含むか；または

(i i i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含むか；または

(i v) 前記ABCA4遺伝子またはその調節エレメントが、シュタルガルト病に関連するSNPを含む、

請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群、パーキンソン病、レット症候群、またはシュタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、請求項2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

(i) 前記ハーラー症候群に関連するSNPが、配列番号4における番号付けでIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらし、ここでXは終止コドンであるか；または

(i i) 前記パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらし、または

(i i i) 前記レット症候群に関連するSNPが、配列番号5における番号付けでMECP2ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらし、または

(i v) 前記シュタルガルト病に関連するSNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらし、または

(v) 前記レット症候群に関連するSNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異をもたらし、ここでXは終止コドンである、

請求項2または3に記載の医薬組成物。

【請求項5】

a) 前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群、パーキンソン病、レット症候群、またはシュタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させるか；または

b) 前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させるか；または

c) ハーラー症候群に関連するSNPにおけるAからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させるか；または

d) レット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、終止コドンをMECP2ポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させるか；または

e) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させるか；または

f) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させるか；または

10

20

30

40

50

g) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、配列番号3における番号付けでのLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションの位置144でシステインまたはヒスチジンをアルギニンに置換するか、または位置2019でセリンをグリシンに置換する、

請求項2に記載の医薬組成物。

【請求項6】

前記ガイドポリヌクレオチドが、

ハーラー症候群のための5'-GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群；

パーキンソン病のための5'-AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA-3'、5'-ACUACAGCAUUGCUCAGUAC-3'からなる群；

レット症候群のための5'-CUUUUCACUUCUGCCGGGG-3'、5'-AGCUUCCAU GUCCAGCCUUC-3'、5'-ACCAUGAAGUCAAAAUCAUU-3'、および5'-GCUU UCAGCCCCGUUUCUUG-3'からなる群；および

シュタルガルト病のための5'-CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3'より選択される核酸配列を含むsgRNAである、請求項1～5のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項7】

a) 前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含み；および／または

b) 前記アデノシンデアミナーゼドメインはアミノ酸改変V82Sをさらに含む、

請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項8】

神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスピボの方法であって、前記標的遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターと、(ii) ガイドポリヌクレオチドとに接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20における番号付けでI76Y、V82T、Y147T、Y147R、Q154S、およびT166Rからなる群から選択されるアミノ酸改変またはそれに対応するアミノ酸改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、ここで、

i) 前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子であり、前記神経障害がハーラー症候群であるか；または

ii) 前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子であり、前記神経障害がパーキンソン病であるか；または

iii) 前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、前記神経障害がレット症候群であるか；または

iv) 前記標的遺伝子がATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり、前記神経障害がシュタルガルト病である、

方法。

【請求項9】

a) 前記AからGへの核酸塩基改変が、前記神経障害に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させるか；または

b) 前記AからGへの核酸塩基改変が、前記神経障害に関連するSNPを、前記神経障害の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、

請求項8に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 10】

パーキンソン病に関連するロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスビボの方法であって、前記 LRRK2 遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20における番号付けで L76Y、V82T、Y147T、Y147R、Q154S、およびT166R からなる群から選択されるアミノ酸改変またはそれに対応するアミノ酸改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドが前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子のSNPにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、前記SNPは、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるG2019S変異体またはそのバリエーションをコードしない、方法。

【請求項 11】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

前記ガイドポリヌクレオチドは核酸配列 5' -AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA -3' または 5' -ACUACAGCAUUGCUCAGUAC -3' を含むsgRNAである、

請求項10または11に記載の方法。

【請求項 13】

(i) 前記SNPが、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらすか；または

(ii) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させるか；または

(iii) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させるか；または

(iv) 前記AからGへの核酸塩基の改変が、配列番号3における番号付けでのLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションの位置144のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに置換するか、または位置2019のセリンをグリシンに置換する、

請求項10～12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

ハーラー症候群に関連するアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスビボの方法であって、IDUA遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20における番号付けで L76Y、V82T、Y147T、Y147R、Q154S、およびT166R からなる群から選択されるアミノ酸置換またはそれに対応するアミノ酸改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、方法。

【請求項 15】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項14に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 16】

(i) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むか；または

(ii) 前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPにおけるものであるか；または

(iii) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、配列番号4における番号付けでIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらしハーラー症候群に関連するSNPを含み、ここでXは終止コドンであるか；または

(iv) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させるか；または

(v) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させるか；または

(vi) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含み、ハーラー症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させるか；または

(vii) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含み、前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含むか；または

(viii) 前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含み、前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNAと複合体をなすか；または

(ix) 前記ガイドポリヌクレオチドが、5'-GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群より選択される核酸配列を含むsgRNAである、

請求項14または15に記載の方法。

【請求項 17】

レット症候群に関連するメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエクスピボの方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列を、MECP2遺伝子またはその調節エレメントに接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20における番号付けでI76Y、V82T、Y147T、Y147R、Q154S、およびT166Rからなる群から選択されるアミノ酸改変またはそれに対応するアミノ酸改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してMECP2遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、方法。

【請求項 18】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

(i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み；および／または

10

20

30

40

50

(i i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものであり；および／または

(i i i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み、前記レット症候群と関連するSNPが、配列番号5における番号付けでMECP2ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらし；またはMECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらし、ここでXは終止コドンであり；および／または

(i v) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み、レット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、MECP2ポリペプチドにおいて終止コドンをトリプトファンに変化させ；および／または

(v i i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み、前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含み；および／または

(v i i i) 前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含み、前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNAと複合体をなし；および／または

(i x) 前記ガイドポリヌクレオチドが、5' - CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5' - AGCUUCCAUGUCCAGCCUUC-3'、5' - ACCAUGAAGUCAAAAUCAUU-3'、および5' - GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG-3' からなる群より選択される核酸配列を含む、請求項17または18に記載の方法。

【請求項20】

シュタルガルト病に関連するATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子またはその調節エレメントを編集するインビトロまたはエキスビボの方法であって、前記ABCA4遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20における番号付けでI76Y、V82T、Y147T、Y147R、Q154S、およびT166Rからなる群から選択されるアミノ酸置換またはそれに対応するアミノ酸改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してABCA4遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

方法。

【請求項21】

前記接触させることが細胞内で起こる、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

(i) ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含み；および／または

(i i) ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPにおけるものであり；および／または

10

20

30

40

50

(i i i) ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含み、シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす；および／または

(i v) ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v) ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含み、前記AからGへの核酸塩基の改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを、シュタルガルト病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させ；および／または

(v i) ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含み、前記ガイドポリヌクレオチドが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含み；および／または

(v i i) ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含み、前記アデノシン塩基エディターが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNAと複合体をなし；および／または

(v i i i) 前記ガイドポリヌクレオチドが、配列5' -CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3'を含むsgRNAである、

請求項 20 または 21 に記載の方法。

【請求項 23】

a) 前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含み；および／または

b) 前記アデノシンデアミナーゼドメインはアミノ酸改変V82Sをさらに含む、
請求項 8、10、14、17、および20のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

請求項 8～23のいずれか一項に記載の方法によって産生される細胞。

【請求項 25】

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、

前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20における番号付けでI76Y、V82T、Y147T、Y147R、Q154S、およびT166Rからなる群から選択されるアミノ酸置換またはそれに対応するアミノ酸改変を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して、LRRK2、IDUA、MECP2、およびABCA4からなる群から選択される神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、ここで、

i) 前記標的遺伝子がアルファ-L-イソロニダーゼ (IDUA) 遺伝子であり、前記神経障害がハーラー症候群であるか；または

ii) 前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子であり、前記神経障害がパーキンソン病であるか；または

iii) 前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、前記神経障害がレット症候群であるか；または

iv) 前記標的遺伝子がATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり、前記神経障害がシュタルガルト病である、

塩基エディターシステム。

【請求項 26】

a) 前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがCas9であるか；

10

20

30

40

50

または

b) 前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがSpCas9もしくはSaCas9であるか；または

c) 前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、NGG、NGA、NGCG、NGN、NNGRRT、NNNRRT、NGCG、NGCN、NGTN、およびNGCからなる群より選択されるヌクレオチド配列に対するプロトスペーサー隣接モチーフ特異性を有するSpCas9を含み、ここでNはA、G、CもしくはTであり、RはAもしくはGであるか；または

d) 前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、

(i) ヌクレアーゼ不活性であるか；もしくは

(i i) ニッカーゼである、

請求項25に記載の塩基エディターシステム。

【請求項27】

(i i i) 前記アデノシンデアミナーゼが、Y147R + Q154R + Y123H；Y147R + Q154R + I76Y；Y147R + Q154R + T166R；Y147T + Q154R；Y147T + Q154S；およびY123H + Y147R + Q154R + I76Yからなる群から選択される改変の組み合わせを含むか；または

(i v) 前記アデノシン塩基エディタードメインがアデノシンデアミナーゼ単量体を含むか；または

(v) 前記アデノシン塩基エディターがアデノシンデアミナーゼ二量体を含むか；または

(v i) 前記アデノシンデアミナーゼはアミノ酸改変V82Sをさらに含む、

請求項25または26に記載の塩基エディターシステム。

【請求項28】

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号20に対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項25に記載の塩基エディターシステム。

【請求項29】

請求項25～28のいずれか一項に記載の塩基エディターシステムを含む、インビトロまたはエクスピボの細胞。

【請求項30】

請求項25～28のいずれか一項記載の塩基エディターシステム、または請求項29に記載の細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項31】

脂質をさらに含む、請求項30記載の医薬組成物。

【請求項32】

請求項25～28のいずれか一項記載の塩基エディターシステム、または請求項29に記載の細胞を含む、キット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】1206

【補正方法】変更

【補正の内容】

【1206】

本開示は以下の実施形態を含む。

実施形態1

対象における神経障害を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

10

20

30

40

50

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象の前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって対象の前記神経障害を治療する、

方法。

実施形態 2

前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子であり、前記神経疾患がハーラー症候群である、実施形態1記載の方法。

実施形態 3

対象におけるハーラー症候群を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって対象のハーラー症候群を治療する、

方法。

実施形態 4

前記投与が、ハーラー症候群に関連する少なくとも1つの症状を改善する、実施形態2または3に記載の方法。

実施形態 5

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、ハーラー症候群に関連する少なくとも1つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態4に記載の方法。

実施形態 6

前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含む、実施形態2～5のいずれか一項記載の方法。

実施形態 7

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態2～6のいずれか一項記載の方法。

実施形態 8

ハーラー症候群に関連するSNPが、配列番号4における番号付けでIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらし、ここでXは終止コドンである、実施形態6または7記載の方法。

実施形態 9

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態6～8のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 10

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態6～8のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 11

ハーラー症候群に関連するSNPにおけるAからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、実施形態6～10のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

実施形態 1 2

前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態6～10のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 1 3

前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態6～12のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 1 4

前記sgRNAが、5' - GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA - 3'、5' - ACUCUAGGCA GAGGUCUCAA - 3'、5' - CUCUAGGCCGAAGUGUCGC - 3'、および 5' - GCUCU AGGCCGAAGUGUCGC - 3' からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態13記載の方法。

実施形態 1 5

前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子であり、神経疾患がパーキンソン病である、実施形態1記載の方法。

実施形態 1 6

対象におけるパーキンソン病を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、それによって対象のパーキンソン病を治療する方法。

実施形態 1 7

前記投与がパーキンソン病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態1、15または16のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 1 8

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、パーキンソン病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態17に記載の方法。

実施形態 1 9

LRRK2遺伝子またはその調節エレメントがパーキンソン病に関連するSNPを含む、実施形態15～18のいずれか一項記載の方法。

実施形態 2 0

前記AからGへの核酸塩基改変が、パーキンソン病に関連するSNPにおけるものである、実施形態19記載の方法。

実施形態 2 1

パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態19または20に記載の方法。

実施形態 2 2

前記AからGへの核酸塩基の改変が、パーキンソン病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態19～21のいずれか一項記載の方法。

実施形態 2 3

10

20

30

40

50

前記AからGへの核酸塩基の改変が、パーキンソン病に関連するSNPを、パーキンソン病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態19～21のいずれか一項に記載の方法。

実施形態24

前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させる、実施形態19～22のいずれか一項記載の方法。

実施形態25

前記AからGへの改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させる、実施形態19～22のいずれか一項記載の方法。

実施形態26

前記AからGへの改変が、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションの位置144でシステイン(C)またはヒスチジン(H)をアルギニン(R)に置換するか、または位置2019でセリンをグリシン(G)に置換する、実施形態19～22のいずれか一項記載の方法。

実施形態27

対象におけるパーキンソン病を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してパーキンソン病に関連するLRRK2遺伝子におけるSNPにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

前記SNPは、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるG2019S変異体またはそのバリエーションをコードしない、

方法。

実施形態28

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、実施形態27記載の方法。

実施形態29

前記ガイドポリヌクレオチドが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態15～28のいずれか一項に記載の方法。

実施形態30

前記アデノシン塩基エディターが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA(sgRNA)と複合体をなす、実施形態15～28のいずれか一項に記載の方法。

実施形態31

前記sgRNAが核酸配列5'-AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA-3';または5'-ACUACAGCAUUGCUCAGUAC-3'を含む、実施形態30記載の方法。

実施形態32

前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2(MECP2)遺伝子であり、神経疾患がレット症候群である、実施形態1記載の方法。

実施形態33

対象におけるレット症候群を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシン

10

20

30

40

50

デアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のメチルCpG結合タンパク質2（MECP2）遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、それによって対象のレット症候群を治療する、

方法。

実施形態34

前記投与が、レット症候群に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態32または33に記載の方法。

10

実施形態35

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、レット症候群に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態34に記載の方法。

実施形態36

前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含む、実施形態32～35のいずれか一項記載の方法。

実施形態37

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態36記載の方法。

20

実施形態38

前記レット症候群に関連するSNPが、配列番号5における番号付けでMECP2ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態36または37に記載の方法。

実施形態39

前記レット症候群に関連するSNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらす、ここでXは終止コドンである、実施形態36または37記載の方法。

実施形態40

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態36～39のいずれか一項記載の方法。

30

実施形態41

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態36～39のいずれか一項記載の方法。

実施形態42

レット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、終止コドンMECP2ポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、実施形態36～39のいずれか一項に記載の方法。

実施形態43

40

前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに対して相補的な核酸配列を含む、実施形態36～42のいずれか一項に記載の方法。

実施形態44

前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA（sgRNA）と複合体をなす、実施形態36～42のいずれか一項に記載の方法。

実施形態45

前記ガイドポリヌクレオチドが、5'-CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5'-AGCUUCCAUGUCCAGCCUUC-3'、5'-ACCAUGAAGUCAAAAUCAUU-3'、および5

50

' - GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG - 3 ' からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態44に記載の方法。

実施形態46

前記標的遺伝子がATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり、神経疾患がシュタルガルト病である、実施形態1記載の方法。

実施形態47

対象におけるシュタルガルト病を治療する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを対象に投与することを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して対象のATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらし、それによって対象のシュタルガルト病を治療する、

方法。

実施形態48

前記投与が、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態46または47に記載の方法。

実施形態49

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態48に記載の方法。

実施形態50

ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含む、実施形態46～49のいずれか一項記載の方法。

実施形態51

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、実施形態50記載の方法。

実施形態52

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態50または51に記載の方法。

実施形態53

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるG1961Eアミノ酸変異体またはそのバリエーションをもたらす、実施形態52記載の方法。

実施形態54

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態51～53のいずれか一項記載の方法。

実施形態55

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを、シュタルガルト病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態51～53のいずれか一項に記載の方法。

実施形態56

前記ガイドポリヌクレオチドが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態51～55のいずれか一項記載の方法。

10

20

30

40

50

実施形態 5 7

前記アデノシン塩基エディターが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態51～56のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 5 8

前記sgRNAが配列5' -CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3' を含む、実施形態57記載の方法。

実施形態 5 9

前記治療が、前記アミノ酸置換を伴わないアデノシンデアミナーゼドメインを含む塩基エディターを用いた治療と比較して、前記神経障害の症状の改善をもたらす、実施形態1～58のいずれか一項に記載の方法。

10

実施形態 6 0

神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、前記標的遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターと、(ii) ガイドポリヌクレオチドとに接触させることを含み、

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

20

方法。

実施形態 6 1

標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子であり、神経疾患がパーキンソン病である、実施形態60記載の方法。

実施形態 6 2

ロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、LRRK2遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とに接触させることを含み、

30

前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインとアデノシンデアミナーゼドメインとを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

方法。

実施形態 6 3

前記AからGへの核酸塩基改変が、パーキンソン病に関連するSNPにおけるものである、実施形態62記載の方法。

40

実施形態 6 4

前記パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態62または63に記載の方法。

実施形態 6 5

前記AからGへの核酸塩基改変が、パーキンソン病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態62～64のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 6 6

50

前記AからGへの核酸塩基改変が、パーキンソン病に関連するSNPを、パーキンソン病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態62～64のいずれか一項に記載の方法。

実施形態67

前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させる、実施形態62～66のいずれか一項記載の方法。

実施形態68

前記AからGへの改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させる、実施形態62～66のいずれか一項に記載の方法。

実施形態69

前記AからGへの改変が、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションの位置144のシステイン (C) またはヒスチジン (H) をアルギニン (R) に置換するか、または位置2019のセリンをグリシン (G) に置換する、実施形態62～66のいずれか一項記載の方法。

実施形態70

ロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、前記LRRK2遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記ガイドポリヌクレオチドが前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子のSNPにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、前記SNPは、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるG2019S変異体またはそのバリエーションをコードしない、方法。

実施形態71

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、実施形態70記載の方法。

実施形態72

前記ガイドポリヌクレオチドが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態61～71のいずれか一項に記載の方法。

実施形態73

前記アデノシン塩基エディターが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態61～71のいずれか一項に記載の方法。

実施形態74

前記sgRNAが核酸配列5' -AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA -3' ; または5' -ACUACAGCAUUGCUCAGUAC -3' を含む、実施形態73記載の方法。

実施形態75

前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子であり、神経疾患がハーラー症候群である、実施形態60記載の方法。

実施形態76

アルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、IDUA遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置

10

20

30

40

50

82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントにおいてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、方法。

実施形態 7 7

前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含む、実施形態75または76のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 7 8

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態75～77のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 7 9

ハーラー症候群に関連する前記SNPが、配列番号4における番号付けでIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、ここでXは終止コドンである、実施形態77または78記載の方法。

実施形態 8 0

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態77～79のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 1

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態77～79のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 2

ハーラー症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされる終止コドンをIDUAポリペプチドにおけるトリプトファンに変化させる、実施形態77～81のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 3

前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態77～81のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 4

前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群に関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA)と複合体をなす、実施形態77～83のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 8 5

前記sgRNAが、5'-GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCA GAGGUCUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態84記載の方法。

実施形態 8 6

前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、神経疾患がレット症候群である、実施形態60記載の方法。

実施形態 8 7

メチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列を対象に投与することを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

10

20

30

40

50

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してMECP2遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、方法。

実施形態 8 8

前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含む、実施形態86または87に記載の方法。

実施形態 8 9

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態88記載の方法。

実施形態 9 0

前記レット症候群と関連するSNPが、配列番号5における番号付けでMECP2ポリペプチドにおけるR106WもしくはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態88または89に記載の方法。

実施形態 9 1

レット症候群に関連する前記SNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらす、ここでXは終止コドンである、実施形態88または89記載の方法。

実施形態 9 2

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態88～81のいずれか一項記載の方法。

実施形態 9 3

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態88～91のいずれか一項記載の方法。

実施形態 9 4

レット症候群に関連するSNPにおける前記AからGへの核酸塩基改変が、MECP2ポリペプチドにおいて終止コドンをトリプトファンに変化させる、実施形態88～91のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 9 5

前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態88～94のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 9 6

前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群と関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態88～94のいずれか一項に記載の方法。

実施形態 9 7

前記ガイドポリヌクレオチドが、5' - CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5' - AGCUUCCAUGUCCAGCCUUC-3'、5' - ACCAUGAAGUCAAAAUCAUU-3'、および5' - GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG-3' からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態96

実施形態 9 8

前記標的遺伝子がATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり、神経疾患がシュタルガルト病である、実施形態60記載の方法。

実施形態 9 9

ATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子またはその調節エレメントを編集する方法であって、前記ABCA4遺伝子またはその調節エレメントを、(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列と接触させることを含み、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを

10

20

30

40

50

含み、

前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166、またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してABCA4遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

方法。

実施形態100

前記投与が、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態98または99に記載の方法。

実施形態101

前記投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態100に記載の方法。

実施形態102

ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含む、実施形態98～101のいずれか一項記載の方法。

実施形態103

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、実施形態102記載の方法。

実施形態104

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態102または103に記載の方法。

実施形態105

シュタルガルト病に関連する前記SNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるG1961Eアミノ酸変異体またはそのバリエーションをもたらす、実施形態104記載の方法。

実施形態106

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態103～105のいずれか一項記載の方法。

実施形態107

前記AからGへの核酸塩基の改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを、シュタルガルト病の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態103～105のいずれか一項記載の方法。

実施形態108

前記ガイドポリヌクレオチドが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態103～107のいずれか一項記載の方法。

実施形態109

前記アデノシン塩基エディターが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態103～108のいずれか一項に記載の方法。

実施形態110

sgRNAが配列5' -CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3' を含む、実施形態109記載の方法。

実施形態111

前記接触させることは細胞内で起こる、実施形態60～110のいずれか一項記載の方法。

実施形態112

前記接触させることが、細胞中のゲノムにおいて10%未満のインデルを生じ、ここでインデル率は、単一ヌクレオチド改変に隣接する配列と未改変配列との間のミスマッチ頻

10

20

30

40

50

度によって測定される、実施形態111記載の方法。

実施形態113

前記接触させることが、細胞中のゲノムにおいて5%未満のインデルを生じ、ここでインデル率は、単一ヌクレオチド改変に隣接する配列と未改変配列との間のミスマッチ頻度によって測定される、実施形態111記載の方法。

実施形態114

前記接触させることが、細胞中のゲノムにおいて1%未満のインデルを生じ、ここでインデル率は、単一ヌクレオチド改変に隣接する配列と未改変配列との間のミスマッチ頻度によって測定される、実施形態111記載の方法。

実施形態115

前記細胞がニューロンである、実施形態111～114のいずれか一項記載の方法。

実施形態116

前記接触させることが、細胞の集団内で起こる、実施形態60～110のいずれか一項記載の方法。

実施形態117

前記接触させることが、前記接触の工程の後に前記細胞の集団の少なくとも40%においてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、実施形態116に記載の方法。

実施形態118

前記接触させることが、前記接触の工程の後に前記細胞の集団の少なくとも50%においてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、実施形態116に記載の方法。

実施形態119

前記接触させることが、前記接触の工程の後に前記細胞の集団の少なくとも70%においてAからGへの核酸塩基改変をもたらす、実施形態116に記載の方法。

実施形態120

前記細胞の少なくとも90%が、前記接触の工程の後に生存性である、実施形態116～119のいずれか一項記載の方法。

実施形態121

前記細胞の集団が、前記接触の工程の後に濃縮されなかった、実施形態116～120のいずれか一項記載の方法。

実施形態122

前記細胞の集団がニューロンである、実施形態116～121のいずれか一項記載の方法。

実施形態123

前記接触させることがインビボまたはエクスピボで起こる、実施形態111～122のいずれか一項記載の方法。

実施形態124

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがCas9である、実施形態1～123のいずれか一項に記載の方法。

実施形態125

前記Cas9がSpCas9、SaCas9、またはそれらのバリエーションである、実施形態124に記載の方法。

実施形態126

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、改変されたプロトSpacer隣接モチーフ(PAM)特異性を有する改変されたSpCas9を含む、実施形態124または125に記載の方法。

実施形態127

前記Cas9が、NGG、NGA、NGCG、NGN、NNGRRT、NNNRRT、NGCG、NGCN、NGTN、およびNGCからなる群より選択されるPAM配列に対する特異性を有し、ここでNはA、G、C、またはTでありRはAまたはGである、実施形態126に記載の方法。

実施形態128

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、ヌクレアーゼ不

10

20

30

40

50

活性バリエーションである、実施形態124～127のいずれか一項に記載の方法。

実施形態129

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがニッカーゼバリエーションである、実施形態124～127のいずれか一項に記載の方法。

実施形態130

前記ニッカーゼバリエーションが、アミノ酸置換D10Aまたはそれに対応するアミノ酸置換を含む、実施形態129に記載の方法。

実施形態131

前記アデノシンデアミナーゼドメインがTadAドメインを含む、実施形態1～130のいずれか一項に記載の方法。

実施形態132

前記アデノシンデアミナーゼが、V82S改変および/またはT166R改変を含むTadAデアミナーゼを含む、実施形態131に記載の方法。

実施形態133

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147T、Y147R、Q154S、Y123H、Q154R、またはそれらの組み合わせのうちの1つ以上の改変をさらに含む、実施形態1～132のいずれか一項に記載の方法。

実施形態134

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147R + Q154R + Y123H；Y147R + Q154R + I76Y；Y147R + Q154R + T166R；Y147T + Q154R；Y147T + Q154S；およびY123H + Y147R + Q154R + I76Yからなる群より選択される改変の組み合わせを含む、実施形態1～133のいずれか一項に記載の方法。

実施形態135

前記アデノシン塩基エディタードメインがアデノシンデアミナーゼ単量体を含む、実施形態1～134のいずれか一項に記載の方法。

実施形態136

前記アデノシン塩基エディターがアデノシンデアミナーゼ二量体を含む、実施形態1～135のいずれか一項に記載の方法。

実施形態137

前記TadAデアミナーゼがTadA*8バリエーションである、実施形態131～136のいずれか一項に記載の方法。

実施形態138

前記TadA*8バリエーションがTadA*8.1、TadA*8.2、TadA*8.3、TadA*8.4、TadA*8.5、TadA*8.6、TadA*8.7、TadA*8.8、TadA*8.9、TadA*8.10、TadA*8.11、TadA*8.12、およびTadA*8.13からなる群から選択される、実施形態137に記載の方法。

実施形態139

前記アデノシン塩基エディターが、ABE8.1、ABE8.2、ABE8.3、ABE8.4、ABE8.5、ABE8.6、ABE8.7、ABE8.8、ABE8.9、ABE8.10、ABE8.11、ABE8.12、およびABE8.13からなる群より選択されるABE8塩基エディターである、実施形態138に記載の方法。

実施形態140

実施形態111～115のいずれか一項に記載の方法によって産生される細胞。

実施形態141

実施形態116～122のいずれか一項に記載の方法によって産生される細胞の集団。

実施形態142

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号

10

20

30

40

50

2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導して神経障害に関連する標的遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態143

前記標的遺伝子がロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRRK2) 遺伝子であり、神経疾患がパーキンソン病である、実施形態142記載の塩基エディターシステム。

実施形態144

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列を含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してLRRK2遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態145

前記AからGへの核酸塩基改変が、LRRK2遺伝子またはその調節エレメント中のパーキンソン病に関連するSNPにおけるものである、実施形態144に記載の塩基エディターシステム。

実施形態146

前記パーキンソン病に関連するSNPが、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドにおけるA419V、R1441C、R1441H、もしくはG2019Sアミノ酸変異体またはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態144または145に記載の塩基エディターシステム。

実施形態147

前記AからGへの核酸塩基改変が、前記パーキンソン病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態145または146のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態148

前記AからGへの核酸塩基改変が、前記パーキンソン病に関連するSNPを、パーキンソン病の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態145または146のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態149

前記AからGへの核酸塩基の改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチド中のシステインまたはヒスチジンをアルギニンに変化させる、実施形態145～148のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態150

前記AからGへの改変が、LRRK2遺伝子によってコードされるLRRK2ポリペプチドにおいてセリンをグリシンに変化させる、実施形態145～148のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態151

前記AからGへの改変が、配列番号3における番号付けでLRRK2ポリペプチドまたはLRRK2遺伝子によってコードされるそのバリエーションの位置144でシステイン (C) もしくはヒスチジン (H) をアルギニン (R) に置換するか、または位置2019でセリンをグリシン (G) に置換する、実施形態145～148のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態152

10

20

30

40

50

前記アデノシンデアミナーゼドメインが、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、実施形態151記載の塩基エディターシステム。

実施形態153

前記ガイドポリヌクレオチドが、パーキンソン病に関連するSNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態143～152のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態154

前記アデノシン塩基エディターが、パーキンソン病と関連する前記SNPを含むLRRK2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態143～152のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態155

前記sgRNAが核酸配列5' -AAGCGCAAGCCUGGAGGGAA -3' ; または5' -ACUA CAGCAUUGCUCAGUAC -3' を含む、実施形態154に記載の塩基エディターシステム。

実施形態156

前記標的遺伝子がアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子であり、神経疾患がハーラー症候群である、実施形態142に記載の塩基エディターシステム。

実施形態157

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、 (ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドが、前記アデノシン塩基エディターを誘導してアルファ-L-イズロニダーゼ (IDUA) 遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態158

前記IDUA遺伝子またはその調節エレメントが、ハーラー症候群に関連するSNPを含む、実施形態156または157に記載の塩基エディターシステム。

実施形態159

前記AからGへの核酸塩基改変がハーラー症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態156～158のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態160

前記ハーラー症候群に関連するSNPが、配列番号4における番号付けでIDUAポリペプチドにおけるW402XもしくはW401Xアミノ酸変異体またはIDUA遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、ここでXは終止コドンである、実施形態158または159に記載の塩基エディターシステム。

実施形態161

前記AからGへの核酸塩基改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態158～160のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態162

前記AからGへの核酸塩基の改変が、ハーラー症候群に関連するSNPを、ハーラー症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態158～160のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態163

ハーラー症候群に関連するSNPにおけるAからGへの改変が、IDUA遺伝子によってコードされるIDUAポリペプチドにおいて終止コドンをトリプトファンに変化させる、実施形態158～162のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態 164

前記ガイドポリヌクレオチドが、ハーラー症候群と関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態158～162のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態 165

前記アデノシン塩基エディターが、ハーラー症候群と関連するSNPを含むIDUA遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA)と複合体をなす、実施形態158～164のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 166

前記sgRNAが、5'-GACUCUAGGCAGAGGUCUCAA-3'、5'-ACUCUAGGCA GAGGUCUCAA-3'、5'-CUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'、および5'-GCUCUAGGCCGAAGUGUCGC-3'からなる群より選択される核酸配列を含む、実施形態165に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 167

前記標的遺伝子がメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子であり、神経疾患がレット症候群である、実施形態142に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 168

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれらに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してメチルCpG結合タンパク質2 (MECP2) 遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態 169

前記MECP2遺伝子またはその調節エレメントが、レット症候群に関連するSNPを含む、実施形態167または168に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 170

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPにおけるものである、実施形態169に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 171

レット症候群に関連するSNPが、配列番号5における番号付けでMECP2ポリペプチドにおけるR106WまたはT158Mアミノ酸変異体またはMECP2遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態169または170に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 172

レット症候群に関連するSNPが、MECP2遺伝子によってコードされるMECP2ポリペプチドにおけるR255XまたはR270Xアミノ酸変異体をもたらす、ここでXは終止コドンである、実施形態169または170に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 173

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態169～172のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 174

前記AからGへの核酸塩基改変が、レット症候群に関連するSNPを、レット症候群の1つ以上の症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態169～172のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 175

レット症候群に関連するSNPにおけるAからGへの核酸塩基改変が、MECP2ポリペプチドにおいて終止コドントリプトファンに変化させる、実施形態169～172のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態176

前記ガイドポリヌクレオチドが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態169～175のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態177

前記アデノシン塩基エディターが、レット症候群に関連するSNPを含むMECP2遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態169～175のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態178

前記ガイドポリヌクレオチドが、5'-CUUUUCACUUCCUGCCGGGG-3'、5'-AGCUUCCAUGUCCAGCCUUC-3'、5'-ACCAUGAAGUCAAAAUCAUU-3'、および5'-GCUUUCAGCCCCGUUUCUUG-3'からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態177に記載の塩基エディターシステム。

実施形態179

前記標的遺伝子がATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子であり、神経疾患がシュタルガルト病である、実施形態142に記載の塩基エディターシステム。

実施形態180

(i) アデノシン塩基エディターまたはそれをコードする核酸配列と、(ii) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸配列とを接触させることを含む、塩基エディターシステムであって、前記アデノシン塩基エディターが、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびアデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記アデノシンデアミナーゼドメインは、配列番号2における番号付けでアミノ酸位置82もしくは166またはそれに対応する位置でのアミノ酸置換を含み、

前記ガイドポリヌクレオチドは、前記アデノシン塩基エディターを誘導してATP結合カセットサブファミリーメンバー4 (ABCA4) 遺伝子またはその調節エレメントにおけるAからGへの核酸塩基改変をもたらす、

塩基エディターシステム。

実施形態181

投与が、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状を改善する、実施形態179または180に記載の塩基エディターシステム。

実施形態182

投与が、アデノシンデアミナーゼにおける前記アミノ酸置換を伴わない塩基エディターを用いた治療と比較して、シュタルガルト病に関連する少なくとも一つの症状のより迅速な改善をもたらす、実施形態181に記載の塩基エディターシステム。

実施形態183

ABCA4遺伝子が、シュタルガルト病に関連するSNPを含む、実施形態179～182のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態184

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPにおけるものである、実施形態183に記載の塩基エディターシステム。

実施形態185

前記シュタルガルト病に関連するSNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリペプチドにおけるA1038VもしくはG1961Eアミノ酸変異体またはABCA4遺伝子によってコードされるそのバリエーションをもたらす、実施形態183または184に記載の塩基エディターシステム。

実施形態186

前記シュタルガルト病に関連するSNPが、配列番号6における番号付けでABCA4ポリ

10

20

30

40

50

ペプチドにおけるG1961Eアミノ酸変異体またはそのバリエーションをもたらし、実施形態185に記載の塩基エディターシステム。

実施形態187

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを野生型核酸塩基に変化させる、実施形態184～186のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態188

前記AからGへの核酸塩基改変が、シュタルガルト病に関連するSNPを、シュタルガルト病症状の改善をもたらす非野生型核酸塩基に変化させる、実施形態184～186のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態189

前記ガイドポリヌクレオチドが、シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む、実施形態184～188のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態190

前記アデノシン塩基エディターが、前記シュタルガルト病に関連するSNPを含むABCA4遺伝子またはその調節エレメントに相補的な核酸配列を含む単一ガイドRNA (sgRNA) と複合体をなす、実施形態184～189のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態191

前記sgRNAが配列5'-CUCCAGGGCGAACUUCGACACACAGC-3'を含む、実施形態190に記載の塩基エディターシステム。

実施形態192

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがCas9である、実施形態142～191のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態193

前記Cas9がSpCas9、SaCas9、またはそのバリエーションである、実施形態192に記載の塩基エディターシステム。

実施形態194

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインが、改変されたプロトSpacer隣接モチーフ (PAM) 特異性を有する改変されたSpCas9を含む、実施形態192または193に記載の塩基エディターシステム。

実施形態195

前記Cas9が、NGG、NGA、NGCG、NGN、NNGRRT、NNNRRT、NGCG、NGCN、NGTN、およびNGCからなる群より選択されるPAM配列に対する特異性を有し、ここでNはA、G、CまたはTであり、RはAまたはGである、実施形態194に記載の塩基エディターシステム。

実施形態196

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがヌクレアーゼ不活性バリエーションである、実施形態192～195のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態197

前記ポリヌクレオチドによりプログラム可能なDNA結合ドメインがニックアーゼバリエーションである、実施形態192～195のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態198

前記ニックアーゼバリエーションが、アミノ酸置換D10Aまたはそれに対応するアミノ酸置換を含む、実施形態197に記載の塩基エディターシステム。

実施形態199

前記アデノシンデアミナーゼドメインがTadAドメインを含む、実施形態142～198のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態200

前記アデノシンデアミナーゼが、V82S改変および/またはT166R改変を含むTadAデ

10

20

30

40

50

アミナーゼを含む、実施形態199記載の塩基エディターシステム。

実施形態201

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147T、Y147R、Q154S、Y123H、Q154R、またはそれらの組み合わせのうちの1つ以上の改変をさらに含む、実施形態142～200のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態202

前記アデノシンデアミナーゼが、Y147R + Q154R + Y123H; Y147R + Q154R + I76Y; Y147R + Q154R + T166R; Y147T + Q154R; Y147T + Q154S; および Y123H + Y147R + Q154R + I76Yからなる群から選択される改変の組み合わせを含む、実施形態142～201のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態203

前記アデノシン塩基エディタードメインがアデノシンデアミナーゼ単量体を含む、実施形態142～202のいずれか一項記載の塩基編集システム。

実施形態204

前記アデノシン塩基エディターがアデノシンデアミナーゼ二量体を含む、実施形態142～203のいずれか一項記載の塩基エディターシステム。

実施形態205

前記TadAデアミナーゼがTadA*8バリエントである、実施形態199～204のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

実施形態206

前記TadA*8バリエントは、TadA*8.1、TadA*8.2、TadA*8.3、TadA*8.4、TadA*8.5、TadA*8.6、TadA*8.7、TadA*8.8、TadA*8.9、TadA*8.10、TadA*8.11、TadA*8.12、およびTadA*8.13からなる群から選択される、実施形態205に記載の塩基エディターシステム。

実施形態207

前記アデノシン塩基エディターが、ABE8.1、ABE8.2、ABE8.3、ABE8.4、ABE8.5、ABE8.6、ABE8.7、ABE8.8、ABE8.9、ABE8.10、ABE8.11、ABE8.12、およびABE8.13からなる群から選択されるABE8塩基エディターである、実施形態206に記載の塩基エディターシステム。

実施形態208

実施形態142～207のいずれか一項記載のアデノシン塩基エディターをコードする核酸配列を含むベクター。

実施形態209

実施形態142～207のいずれか一項に記載のアデノシン塩基エディターおよびガイドポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクター。

実施形態210

前記ベクターがウイルスベクター、レンチウイルスベクター、またはAAVベクターである、実施形態208または209に記載のベクター。

実施形態211

実施形態142～207のいずれか一項記載の塩基エディターシステムまたは実施形態208～210のいずれか一項記載のベクターを含む、細胞。

実施形態212

中枢神経系細胞である、実施形態211記載の細胞。

実施形態213

ニューロンである、実施形態211に記載の細胞。

実施形態214

光受容体である、実施形態211記載の細胞。

実施形態215

細胞がインビトロ、インビボまたはエクスピボである、実施形態211～214のいずれか一項記載の細胞。

10

20

30

40

50

実施形態 2 1 6

実施形態 142～207のいずれか一項記載の塩基エディター、実施形態 208～210のいずれか一項記載のベクター、又は実施形態 211～215のいずれか一項記載の細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

実施形態 2 1 7

脂質をさらに含む、実施形態 216記載の医薬組成物。

実施形態 2 1 8

ウイルスをさらに含む、実施形態 216記載の医薬組成物。

実施形態 2 1 9

実施形態 142～207のいずれか一項記載の塩基エディター、または実施形態 208～210のいずれか一項記載のベクターを含む、キット。

10

実施形態 2 2 0

前記ガイドポリヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオチドが非天然の修飾を含む、実施形態 1～139のいずれか一項記載の方法。

実施形態 2 2 1

前記核酸配列の少なくとも一つのヌクレオチドが非天然の修飾を含む、実施形態 14、31、45、58、74、85、97または110のいずれか一項記載の方法。

実施形態 2 2 2

前記核酸配列の少なくとも一つのヌクレオチドが非天然の修飾を含む、実施形態 155、166、178または191のいずれか一項に記載の塩基エディターシステム。

20

実施形態 2 2 3

前記非天然の修飾が化学修飾である、実施形態 222に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 2 2 4

前記化学修飾が2'-O-メチル化である、実施形態 223に記載の塩基エディターシステム。

実施形態 2 2 5

前記核酸配列がホスホロチオエートを含む、実施形態 223に記載の塩基エディターシステム。

〔他の実施形態〕

以上の説明から、本明細書に記載された発明を様々な用途および条件に適合させるために、それに変形および修正を加えることができることは明らかである。そのような実施形態も、下記の特許請求の範囲の範囲内である。

30

40

50