

【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】平成30年7月5日(2018.7.5)

【公表番号】特表2017-518075(P2017-518075A)

【公表日】平成29年7月6日(2017.7.6)

【年通号数】公開・登録公報2017-025

【出願番号】特願2017-515025(P2017-515025)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 7/06 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/22 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

A 6 1 K 35/763 (2015.01)

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 9/14 (2006.01)

A 6 1 K 9/51 (2006.01)

A 6 1 K 47/10 (2006.01)

A 6 1 K 47/55 (2017.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 7/06

C 1 2 N 9/16 Z

A 6 1 K 38/46

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/22

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 35/761

A 6 1 K 35/763

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 9/14

A 6 1 K 9/51

A 6 1 K 47/10

A 6 1 K 47/55

A 6 1 K 31/7105

【手続補正書】

【提出日】平成30年5月25日(2018.5.25)

【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】

Cas9エンドヌクレアーゼまたはCas9エンドヌクレアーゼをコードする核酸；および宿主細胞内のインピボのB型肝炎ウイルス（HBV）核酸へ該Cas9エンドヌクレアーゼをターゲティングし、それによって、宿主核酸に干渉することなく、該Cas9エンドヌクレアーゼによるHBV核酸の切断を引き起こす、ガイドRNAを含む組成物。

【請求項2】

Cas9エンドヌクレアーゼ、およびB型肝炎ウイルス（HBV）核酸へ該Cas9エンドヌクレアーゼをターゲティングし、それによって、宿主核酸に干渉することなく、該Cas9エンドヌクレアーゼによるHBV核酸の切断を引き起こす、ガイドRNAをコードする核酸を含む組成物。

【請求項3】

前記核酸が肝組織特異的プロモーターをさらに含む、請求項2記載の組成物。

【請求項4】

ガイドRNAが、ウイルス機能のために必要なフィーチャー（feature）における、ヌクレアーゼによるHBV核酸の切断を引き起こすよう設計されている、請求項1～3のいずれか一項記載の組成物。

【請求項5】

前記フィーチャーが、ウイルス複製開始点、末端反復、複製因子結合部位、プロモーター、コード配列、または反復領域である、請求項4記載の組成物。

【請求項6】

HBV核酸内の異なる配列を標的とする複数種類のガイドRNAを含む、請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。

【請求項7】

前記ガイドRNAが、逆転写酵素、Hbxタンパク質、コアタンパク質、またはプレS1タンパク質をコードするHBV遺伝子を標的とする、請求項1～6のいずれか一項記載の組成物。

【請求項8】

前記ガイドRNAがプレS1タンパク質を標的とする、請求項1～6のいずれか一項記載の組成物。

【請求項9】

前記ガイドRNAがsgRNAを含む、請求項1～8のいずれか一項記載の組成物。

【請求項10】

前記核酸が送達ベクター内に提供される、請求項2～9のいずれか一項記載の組成物。

【請求項11】

送達ベクターがアデノ随伴ウイルスを含む、請求項10記載の組成物。

【請求項12】

送達ベクターが、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、ワクシニアウイルス、ナノ粒子、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、金属ナノ粒子、ナノロッド、リボソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、リボスフェア、またはポリエチレングリコール（PEG）を含む、請求項10記載の組成物。

【請求項13】

ナノ粒子、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、金属ナノ粒子、ナノロッド、リボソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、リボスフェア、またはポリエチレングリコール（PEG）を含む非ウイルスベクター内に含まれる、請求項1～9のいずれか一項記載の組成物。

【請求項14】

HBV感染の処置に使用するための、請求項1～13のいずれか一項記載の組成物。

【請求項15】

HBV感染を処置するための医薬の製造のための、請求項1～13のいずれか一項記載の組成物。

物の使用。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

提示された方法は、ウイルスゲノムの編集または破壊を可能にし、それによって、ウイルスの増殖能の欠如をもたらしかつ／または感染細胞のアポトーシスを誘導するが、非感染細胞に対する細胞傷害は観察されない。CRISPR/gRNA/Cas9複合体は、ウイルスゲノム材料（DNAまたはRNA）を選択的に標的とするよう設計され、該CRISPR/gRNA/Cas9複合体は、ウイルスゲノムを含有している細胞へ送達され、そしてウイルスゲノムが、ウイルスを無能力化するために切断される。従って、ウイルスゲノム内のエンドヌクレアーゼ作用部位を標的とすることによって引き起こされる1個または複数個の破壊を介した、ウイルスゲノム機能の標的特異的な崩壊、またはウイルス核酸の消化によって、ウイルス感染を処置することができる。いくつかの態様において、本発明の方法は、細胞増殖を完全に抑制しかつ／または感染細胞のアポトーシスを誘導するため、CRISPR/gRNA/Cas9を用いた宿主細胞のトランスフェクションのために使用され得る。

[本発明1001]

以下の工程を含む、ウイルス感染を処置する方法：

ヌクレアーゼおよび配列特異的ターゲティング部分を細胞中に導入する工程；

該配列特異的ターゲティング部分によって該ヌクレアーゼをウイルス核酸へターゲティングする工程：ならびに

宿主ゲノムに干渉することなく、該ヌクレアーゼによってウイルス核酸を切断する工程

。

[本発明1002]

前記ヌクレアーゼが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ、およびメガヌクレアーゼからなる群より選択されるヌクレアーゼである、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記ヌクレアーゼがCas9エンドヌクレアーゼを含み、前記配列特異的ターゲティング部分がガイドRNAを含む、本発明1001の方法。

[本発明1004]

ウイルス感染が潜伏性であり、ウイルス核酸が宿主ゲノム中に組み込まれている、本発明1001の方法。

[本発明1005]

切断する工程がウイルス核酸において二本鎖破壊を生じさせることを含む、本発明1001の方法。

[本発明1006]

宿主が生存ヒト対象であり、前記工程がインビボで実施される、本発明1001の方法。

[本発明1007]

ポリヌクレオチドをウイルス核酸へ挿入する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1008]

ウイルス核酸が、アデノウイルス、単純ヘルペス1型、単純ヘルペス2型、水痘帯状疱疹ウイルス、エプスタインバーウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス8型、ヒトパピローマウイルス、BKウイルス、JCウイルス、天然痘、B型肝炎ウイルス、ヒトボカウイルス、パルボウイルスB19、ヒトアストロウイルス、ノーウォークウイルス、コクサッキーウイルス、A型肝炎ウイルス、ポリオウイルス、ライノウイルス、重症急性呼吸器症候群ウイルス、C型肝炎ウイルス、黄熱病ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、風疹ウイルス、E型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、イ

ンフルエンザウイルス、グアナリト（Guanarito）ウイルス、フニンウイルス、ラッサウイルス、マチュポウイルス、サビアウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、エボラウイルス、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヘンドラウイルス、ニパウイルス、狂犬病ウイルス、D型肝炎、ロタウイルス、オルビウイルス、コルティウイルス、およびバンナ（Banna）ウイルスからなる群より選択されるウイルスに由来する、本発明1001の方法。

[本発明1009]

ヌクレアーゼおよび配列特異的ターゲティング部分を導入する工程が、該ヌクレアーゼおよび該配列特異的ターゲティング部分をコードするウイルスベクターを細胞中に導入することを含む、本発明1001の方法。

[本発明1010]

ウイルスベクターが、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ボックスウイルス、アルファウイルス、ワクシニアウイルス、およびアデノ随伴ウイルスからなる群より選択される、本発明1009の方法。

[本発明1011]

ヌクレアーゼおよび配列特異的ターゲティング部分を導入する工程が、非ウイルスベクターを細胞中に導入することを含む、本発明1001の方法。

[本発明1012]

非ウイルスベクターが、ナノ粒子、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、金属ナノ粒子、ナノロッド、リボソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、およびリボスフェアからなる群より選択される、本発明1011の方法。

[本発明1013]

非ウイルスベクターがポリエチレングリコール（PEG）を含む、本発明1011の方法。

[本発明1014]

ベクターにエネルギーを適用する工程をさらに含む、本発明1011の方法。

[本発明1015]

エネルギーが超音波またはエレクトロポレーションを介して導入される、本発明1011の方法。

[本発明1016]

ヌクレアーゼ；および
宿主細胞内のインビボのウイルス核酸へ該ヌクレアーゼをターゲティングし、それによって、宿主核酸に干渉することなく、該ヌクレアーゼによるウイルス核酸の切断を引き起こす、配列特異的ターゲティング部分
を含む、ウイルス感染の処置のための組成物。

[本発明1017]

前記ヌクレアーゼが、Cas9エンドヌクレアーゼであり、配列特異的結合モジュールが、ウイルスゲノムの一部分を特異的に標的とするガイドRNAを含む、本発明1016の組成物。

[本発明1018]

Cas9エンドヌクレアーゼおよびガイドRNAが、ウイルスに感染した宿主細胞において共発現される、本発明1017の組成物。

[本発明1019]

前記ヌクレアーゼが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ、およびメガヌクレアーゼからなるリストより選択されるヌクレアーゼである、本発明1016の組成物。

[本発明1020]

ウイルス核酸が、単純ヘルペスウイルス（HSV）-1、HSV-2、水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）、サイトメガロウイルス（CMV）、ヒトヘルペスウイルス（HHV）-6、HHV-7、カボジ肉腫関連ヘルペスウイルス（KSHV）、JCウイルス、BKウイルス、パルポウイルスb19、アデノ随伴ウイルス（AAV）、およびアデノウイルスからなる群より選択されるウイルスに由

来する、本発明1016の組成物。

[本発明1021]

ヌクレアーゼ、および

ウイルス核酸へ該ヌクレアーゼをターゲティングし、それによって、宿主核酸に干渉することなく、該ヌクレアーゼによるウイルス核酸の切断を引き起こす、配列特異的ターゲティング部分

をコードする核酸を含む、ウイルス感染の処置のための組成物。

[本発明1022]

前記配列特異的ターゲティング部分がガイドRNAを含む、本発明1021の組成物。

[本発明1023]

ガイドRNAがウイルスゲノム的一部分に相補的である、本発明1022の組成物。

[本発明1024]

ガイドRNAが、ウイルス機能のために必要なフィーチャー（feature）における、ヌクレアーゼによるウイルスゲノムの切断を引き起こすよう設計されている、本発明1023の組成物。

[本発明1025]

前記フィーチャーが、ウイルス複製開始点、末端反復、複製因子結合部位、プロモーター、コード配列、および反復領域からなるリストより選択されるものである、本発明1024の組成物。

[本発明1026]

前記核酸が送達ベクター内に提供される、本発明1021の組成物。

[本発明1027]

送達ベクターがアデノ随伴ウイルスを含む、本発明1026の組成物。

[本発明1028]

送達ベクターが、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ボックスウイルス、アルファウイルス、ワクシニアウイルス、ナノ粒子、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、金属ナノ粒子、ナノロッド、リボソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、リボスフェア、およびポリエチレングリコール（PEG）からなる群より選択されるものを含む、本発明1027の組成物。

[本発明1029]

前記ヌクレアーゼがCas9エンドヌクレアーゼである、本発明1021の組成物。