

【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 6 月 25 日 (2020.6.25)

【公表番号】特表 2019-522461 (P2019-522461A)

【公表日】令和 1 年 8 月 15 日 (2019.8.15)

【年通号数】公開・登録公報 2019-033

【出願番号】特願 2018-558287 (P2018-558287)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/864 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/04 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/12 Z N A

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 21/04

A 6 1 K 35/76

C 1 2 N 5/10

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 5 月 11 日 (2020.5.11)

【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】

(a) 第 1 のガイド RNA (gRNA) 分子と、
 (b) 第 2 の gRNA 分子と、
 (c) NNGRRRT (配列番号 24) または NNGRRV (配列番号 25) のいずれかの
 プロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) を認識する少なくとも 1 つの Cas9 分子と
 を含む CRISPR / Cas9 システム であって、
 前記第 1 の gRNA 分子と第 2 の gRNA 分子のそれぞれが、19 ~ 24 ヌクレオチド長
 のターゲティングドメインを有し、かつ、前記システムが、ヒト DMD 遺伝子のエクソン
 51 にそれぞれ隣接する第 1 および第 2 のイントロン中で第 1 および第 2 の二本鎖切断を
 形成することによってエクソン 51 を含むジストロフィン遺伝子のセグメントを欠失させ
 るように構成される、システム。

【請求項 2】

前記セグメントが、約 800 ~ 900、約 1500 ~ 2600、約 5200 ~ 5500
 、約 20,000 ~ 30,000、約 35,000 ~ 45,000、または約 60,000 ~ 72,000 塩基対の長さを有する、請求項 1 に記載の システム。

【請求項 3】

前記少なくとも 1 つの Cas9 分子が、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) Cas9

分子である、請求項 1 又は 2 に記載のシステム。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 つの Cas9 分子が、変異黄色ブドウ球菌 (S. aureus) Cas9 分子である、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 5】

ウイルスベクターによりコードされる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 6】

前記ベクターが、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターである、請求項 5 に記載のシステム。

【請求項 7】

第 1 のガイド RNA 分子と、第 2 の gRNA 分子と、少なくとも 1 つの Cas9 分子とを含む CRISPR/Cas9 システムであって、前記第 1 の gRNA 分子および前記第 2 の gRNA 分子が、以下からなる群から選択されるシステム：

(i) 配列番号 1 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(ii) 配列番号 3 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(iii) 配列番号 4 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 5 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(iv) 配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 5 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(v) 配列番号 7 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(vi) 配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 8 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(vii) 配列番号 9 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 10 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(viii) 配列番号 11 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 12 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(ix) 配列番号 13 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 10 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(x) 配列番号 14 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 15 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(xi) 配列番号 11 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 10 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；ならびに

(xii) 配列番号 14 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子；および配列番号 16 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子。

【請求項 8】

前記少なくとも 1 つの Cas 9 分子が、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) Cas 9 分子である、請求項 7 に記載のシステム。

【請求項 9】

前記少なくとも 1 つの Cas 9 分子が、変異黄色ブドウ球菌 (S. aureus) Cas 9 分子である、請求項 8 に記載のシステム。

【請求項 10】

ウイルスベクターによりコードされる、請求項 7 ~ 9 のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 11】

前記ベクターが、AAVベクターである、請求項 10 に記載のシステム。

【請求項 12】

医薬品に使用するための、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 13】

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの治療に使用するための、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のシステムを含む組成物。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のシステムを含む細胞。

【請求項 16】

細胞中で変異ジストロフィン遺伝子を修正する方法であって、以下のうちの 1 つ以上を前記細胞に投与することを含む方法：

(a) 第 1 のガイド RNA (gRNA) 分子と、第 2 の gRNA 分子と、NNGRRRT (配列番号 24) または NNGRRV (配列番号 25) のいずれかの PAM を認識する少なくとも 1 つの Cas 9 分子とを含む CRISPR / Cas 9 システムであって、前記第 1 の gRNA 分子と第 2 の gRNA 分子のそれぞれが、19 ~ 24 ヌクレオチド長のターゲティングドメインを有し、かつ、前記システムが、ヒト DMD 遺伝子のエクソン 51 にそれぞれ隣接する第 1 および第 2 のイントロン中で第 1 および第 2 の二本鎖切断を形成することによってエクソン 51 を含むジストロフィン遺伝子のセグメントを欠失させるように構成される、システム；または

(b) 第 1 のガイド RNA 分子と、第 2 の gRNA 分子と、少なくとも 1 つの Cas 9 分子とを含む CRISPR / Cas 9 システムであって、前記第 1 の gRNA 分子および前記第 2 の gRNA 分子が、以下からなる群から選択されるシステム：

(i) 配列番号 1 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(ii) 配列番号 3 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(iii) 配列番号 4 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 5 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(iv) 配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 5 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(v) 配列番号 7 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の gRNA 分子、および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の gRNA 分子；

(vi) 配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1

の g R N A 分子、および配列番号 8 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v i i) 配列番号 9 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 0 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(v i i i) 配列番号 1 1 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i x) 配列番号 1 3 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 0 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(x) 配列番号 1 4 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 5 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(x i) 配列番号 1 1 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 0 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；ならびに

(x i i) 配列番号 1 4 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 6 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子。

【請求項 1 7】

前記第 1 の g R N A 分子および前記第 2 の g R N A 分子が、

(i) 配列番号 1 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；

(i i) 配列番号 3 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 2 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子；ならびに

(i i i) 配列番号 9 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 1 の g R N A 分子、および配列番号 1 0 に記載のヌクレオチド配列を含むターゲティングドメインを含む第 2 の g R N A 分子

からなる群から選択される、請求項 1 6 に記載の方法。